

**Einfluss von Licht und Temperatur auf die Kultivierung von
Mikroalgen –
Auslegung und Betrieb von Freiland-Pilotanlagen zur
Bestimmung prozessrelevanter Kinetiken**

zur Erlangung des akademischen Grades eines
DOKTORS DER INGENIEURWISSENSCHAFTEN (Dr.-Ing.)

der Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des
Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte
DISSERTATION

von
M. Sc. Sven Raymond Steinbusch
aus Bedburg Erft

Referent: Prof. Dr.-Ing. Clemens Posten
Korreferent: Prof. Dr.-Ing. Georg Schaub
Tag der mündlichen Prüfung: 10.07.2015

„Alles was gegen die Natur ist, hat auf die Dauer keinen Bestand“

Charles Darwin

Vorwort

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeiten am Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich III: Bioverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT).

Bedanken möchte ich mich zunächst herzlich bei Herrn Prof. Dr.-Ing. Clemens Posten, der es mir ermöglichte die Arbeit an seinem Institut durchzuführen. Das entgegengebrachte Vertrauen hat mir die Möglichkeit gegeben, eigene Ideen zu verfolgen und weiter zu entwickeln. Die wissenschaftlichen Diskussionen erbrachten stets die notwendigen Inspirationen, um die wissenschaftlichen Fragestellungen zu lösen.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Prof. Dr.-Ing. Georg Schaub für die freundliche Übernahme des Korreferats.

Ein weiterer Dank geht an Dr. Wolfgang Frey und Herrn Klaus Leber für die tatkräftige Unterstützung während der Freilandexperimente wie auch für die Nutzung der wissenschaftlichen Einrichtungen des Instituts für Hochleistungsimpuls- und Mikrowellen-technik am Karlsruher Institut für Technologie (KIT).

Johanna Becker danke ich herzlich für die gute Zusammenarbeit, die nicht nur angenehm und produktiv war, sondern mir auch einen Blick in die Komplexität analytischer Methoden erlaubte.

An Herrn Prof. Ben Hankamer und seiner Arbeitsgruppe möchte ich meinen Dank richten, die mich in der Projektzeit wie auch während meiner Zeit in Australien unterstützt haben.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Dipl.-Ing. (FH) Christian Steinweg und Herrn Dipl.-Ing. (FH) Thomasz Duczmal. Ohne Ihre unentwegte Entwicklungsarbeit und Ihren Beistand bei technischen Fragestellungen, wären viele Projekte nie verwirklicht worden.

Auch gilt mein Dank Frau Dr. Meike Dössel. Die gemeinsamen Diskussionen halfen mir stets meinen Weg zu finden. Vielen Dank für das Korrekturlesen.

Bedanken möchte ich mich auch bei allen Kollegen für die angenehme Zeit und für das gute Arbeitsumfeld. Insbesondere freue ich mich über die gewonnenen Freunde. Sie standen mir

stets mit Rat und Tat zur Seite und ich hoffe, dass Sie auch zukünftig mein Leben bereichern werden. Mein tiefer Dank und Respekt geht besonders an Dr.-Ing. Robert Dillschneider, Cand. Dr.-Ing. Mark Fresewinkel und Dipl.-Ing. (FH) Thomasz Duzmal.

Einen Dank möchte ich auch meinen Studenten aussprechen. Ihre Mitarbeit trug zum Gelingen bei und Ihre Arbeiten bildeten die Grundlage dieser Arbeit. Vielen Dank an Andreas Trautmann, Alexander Kunz, Carlos Pereira, Eva Krolitzki, Florian Oswald, Florian Bär, Julie Wintgens, Christoph Krolovitsch, Sophia Müller, Johannes Blaich und Lukas Käßer.

Im höchsten Maße möchte ich mich zuletzt bei meiner Familie und Charlotte bedanken. Vor allem danke ich meinen Eltern, die meine Entwicklung immer gefördert haben und mir bei Entscheidungen mit Rat und viel Geduld zur Seite standen.

Insbesondere meinen Großeltern habe ich Vieles zu verdanken. Sie unterstützten mich stets in allen Lebenslagen. Vielen Dank, dass Ihr immer für mich da seid.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	i
Nomenklatur.....	v
1	Einleitung 1
1.1	Ausgangssituation..... 1
1.2	Zielsetzung der Arbeit..... 2
2	Theoretische Grundlagen 4
2.1	Stoffwechselaktivität von Mikroalgen 4
2.1.1	Prozess der Photosynthese 4
2.1.2	Die Dynamik des phototrophen Wachstums..... 7
2.1.3	Die Wachstumskinetik im phototrophen Satzbetrieb..... 15
2.1.4	Die Versorgung phototropher Prozesse mit Kohlenstoffdioxid..... 17
2.1.5	Die Photokonversionseffizienz als Kennzahl der Prozessführung..... 19
2.1.6	Photobioreaktoren – Anforderungen und Klassifikation 21
3	Material und Methoden 26
3.1	Algenstämme..... 26
3.1.1	<i>Chlorella</i> 26
3.1.2	<i>Micractinium pusillum</i> 27
3.2	Kultivierungsbedingungen 27
3.2.1	Nährmedien 27

3.2.2	Kultivierungen im Schüttelkolben	31
3.2.3	Satzkultivierung in 11-Plattenreaktoren.....	31
3.2.4	Kultivierungen im Rührkesselreaktor	34
3.2.5	Kultivierungen im Pilot-Maßstab am Solar Biofuels Research Centre (SBRC).....	37
3.2.6	Kultivierungen im Pilotmaßstab an der Karlsruhe ALgae Factory (KALF).....	44
3.3	Analytische Methoden.....	47
3.3.1	Bestimmung des Inokulierungsvolumens	47
3.3.2	Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration.....	47
3.3.3	Bestimmung der Pigmentkonzentration	48
3.3.4	Bestimmung der Kohlenhydratkonzentration	49
3.3.5	Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration.....	50
3.3.6	Bestimmung der Ionenkonzentrationen im Kulturmedium.....	50
3.3.7	Bestimmung der Zellzusammensetzung mit spektroskopischen Messverfahren	51
3.3.8	Charakterisierung von Materialien zur Rückhaltung von Wärmestrahlung (IR-Strahlung)	61
3.4	Kalkulationen	64
3.4.1	Bestimmung der Wachstumskinetiken für den 11-Plattenreaktor	64
3.4.2	Bestimmung der Photokonversionseffizienz (PCE).....	65
3.4.3	Bestimmung der volumetrischen und flächenbezogenen Produktivität.....	69
3.4.4	Bestimmung des Extinktionskoeffizienten.....	69

3.4.5	Bestimmung des Kohlenstoffdioxid-Transportkoeffizienten für Pilotreaktoren.....	70
3.4.6	Bestimmung der Mischzeiten für Pilotreaktoren	74
3.4.7	Bestimmung des Wirkungsgrades für Pilotreaktoren.....	76
3.4.8	Bestimmung der Regelparameter für Pilotreaktoren.....	78
4	Ergebnisse	80
4.1	Kultivierungen im Labormaßstab.....	80
4.1.1	Reduzierung der Kohlenstoffdioxidzuführung und die Zufütterung von Stickstoff in Photobioreaktoren.....	80
4.1.2	Temperatur/Licht-Kinetik der Mikroalge <i>Chlorella vulgaris</i>	84
4.1.3	Einfluss von Temperatur und Lichtintensität auf das Wachstumsverhalten von <i>Chlorella vulgaris</i>	86
4.2	Auslegung und Inbetriebnahme der Pilotanlage am Solar Biofuels Research Centre (SBRC).....	94
4.2.1	Zielsetzung und Standortauswahl.....	94
4.2.2	Auslegung und Planung der Versuchsanlage und deren Infrastruktur	97
4.3	Kultivierungen im Pilotmaßstab.....	104
4.3.1	Vergleichskultivierungen von Pilotreaktoren.....	105
4.3.2	Einfluss unterschiedlicher temperaturabhängiger Prozessführungsstrategien auf das Wachstumsverhalten von <i>Chlorella vulgaris</i>	110
4.3.3	Einfluss der Reflexions-/Absorptionseigenschaften der Standfläche auf das Wachstumsverhalten von <i>Chlorella vulgaris</i>	114

5	Diskussion	118
5.1	Einfluss der Prozessführung auf das Wachstum und die Produkt-bildung von Mikroalgen	118
5.1.1	Optimierung der Prozessführung in Bezug auf die Kohlenstoffdioxid-versorgung	118
5.1.2	Wachstumsverhalten in Abhängigkeit von Lichtintensität und Temperatur ...	119
5.2	Kultivierungen im Pilotmaßstab.....	122
5.2.1	Bestimmung wichtiger Parameter in Freilandkultivierungen	123
5.3	Übertragung der Laborergebnisse auf den Pilotmaßstab	127
5.3.1	Erstellung und Validierung eines Wachstumsmodells in Bezug auf Temperatur und Licht.....	127
6	Zusammenfassung und Ausblick	137
7	Literaturverzeichnis.....	145
Anhang	160
A 1	Windlastenanalyse.....	160
A 2	Lichtsimulation.....	162
A 3	Nährmedien	168
A 4	Abbildungen	170
A 5	Matlab Programmcode	180
A 6	Maple Programmcode	190

Nomenklatur

α	Wachstumseffizienz [$\text{m}^2 \cdot \text{s} / \mu\text{mol} / \text{d}$]
α	Höhenwinkel der Sonne [$^\circ$]
$\alpha_{\text{Stärke}}$	Lichtbildungseffizienz für Stärke [$\text{mg} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s} / \mu\text{mol} / \text{g}_{\text{Biomasse}}$]
β_i	Vertikale Ausrichtung des Reaktors für i [$^\circ$]
γ	Horizontale Ausrichtung des Reaktors für i [$^\circ$]
$\delta^1\text{H}$	Chemische Verschiebung [ppm]
δ	Deklinationwinkel [$^\circ$]
ε	Extinktionskoeffizient [$1/\text{g}/\text{m}$]
η	Wirkungsgrad [%]
η'	Effizienz der Photonenausnutzung [$\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}/\text{d}$]
θ	Einstrahlwinkel auf Reaktoroberfläche [$^\circ$]
κ	Meridian der Zeitzone [$^\circ$]
λ	Wellenlänge [nm]
λ	Längengrad [$^\circ$]
μ_i	Spezifische Wachstumsrate zum Parameter i [$1/\text{d}$]
ρ	Optische Luftmasse [-]
τ_{PAR}	Transmissionsfaktor im PAR-Bereich [-]
$\tau_{\text{respiration}}$	Respirationsanteil [-]
ν	Frequenz [$1/\text{s}$]
φ	Breitengrad [$^\circ$]
ψ	Winkel zwischen Sonneneinstrahlung und Reaktoroberfläche [$^\circ$]
ω	Stundenwinkel [$^\circ$]
$\tilde{\nu}$	Wellenzahl [$1/\text{cm}$]
\dot{m}	Massenstrom des Kühlwassers [kg/s]
\vec{r}_i	Ortsvektor des Parameters i [m]
A	Absorption [-]
a	Erddposition [$^\circ$]
A_i	Fläche des Parameters i [m^2]
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat

b	Korrelationsfaktor [g/l/OD _{750nm}]
C ₆ H ₁₂ O ₆	Glucose
c _i	Konzentration des Parameters [g/l], [mg/l], [Zellen/ml], [mol/l]
c _{Wasser}	Spezifische Wärmekapazität von Wasser [J/kg/K]
CCM	Kohlenstoffdioxid-konzentrierende Mechanismen (carbon concentration mechanism)
CO ₃ ⁻	Carbonat
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
Cyt b ₆ f	Cytochrom-b ₆ f-Komplex
D	Anteil diffuser Strahlung [-]
dCO ₂	Gelöstkohlenstoffdioxidkonzentration [%]
e	Zeitgleichung [min]
e ⁻	Elektron
E _i	Energiegehalt des Parameters i [J/mol], [J/g], [mol/d]
e _i	Massenanteil [g/g _{Biomasse}]
FD	Ferredoxin
F _G	Gewichtskraft [kg·m/s ²]
FNR	Ferredoxin-NADP ⁺ -Reduktase
F _W	Auftreffende Windkraft [kg·m/s ²]
GAP	Glycerinaldehyd-3-Phosphat
H ⁺	Wasserstoffproton
h	Planck'sches Wirkungsquantum [J·s]
h _i	Höhenangabe für den Parameter i [m]
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat
H ₂ O	Wasser
HSP	Hitze-Schock-Proteine
I _i	Lichtintensität des Parameters i [μmol/m ² /d], [μmol/m ² /s]
I _I	Lichtinhibierungspunkt [μmol/m ² /s]
I _K	Lichtkompensationspunkt [μmol/m ² /s]
I _{NMR}	Intensität [-]
I _S	Lichtsättigungspunkt [μmol/m ² /s]
k	Anpassungskonstante [-]
K ₁	Gleichgewichtskonstante für Hydrogencarbonat [mol/l]
K ₂	Gleichgewichtskonstante für Carbonat [mol/l]

K_{CO_2}	Affinitätskonstante [%]
K_H	Henry-Koeffizient [mol/l/Pa]
K_{Inh}	Inhibierungskonstante [%]
k_{La}	Massentransportkoeffizient [1/s]
K_w	Gleichgewichtskonstante für Wasser [mol/l]
l	Schichtdicke [m]
l	Länge des Hebelarms [m]
l	Reaktortiefe [m]
LHC	Lichtsammelkomplex (light harvesting complex)
M	Mischgüte [%]
m_i	Massenschwerpunkt am Ortsvektor i [kg]
M_{gas}	Molare Masse des Gases [g/mol]
MPE	Maximale photosynthetische Effizienz (maximum photosynthetic efficiency)
N	Tag im Jahr [-]
n	Anpassungskonstante [-]
N_i	Menge des Parameters i [mol]
NADP ⁺	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NADPH/H ⁺	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NPQ	Nicht-photochemische Löschung (non-photochemical quenching)
O ₂	Sauerstoff
OD _{i}	Optische Dichte des Parameters i [-]
P_i	Leistungseintrag des Parameters i [W], [J/s]
p_i	Druck des Parameters i [Pa]
P_A	Flächenbezogene Produktivität [g/m ² /d]
PAR	Photosynthetisch aktiver Bereich (photosynthetically active radiation)
PC	Plastocyanin
PCE	Photokonversionseffizienz (photo conversion efficiency) [%]
PE	Photosynthetische Effizienz
PFD	Photonenflussdichte [μmol/m ² /s]
PQ	Plastochinon
PSI	Photosystem I
PSII	Photosystem II

PSU	Photosynthetische Einheit (photosynthetic unit)
P_{vol}	Volumetrische Produktivität [g/l/d]
q_i	Gasvolumenstrom der Komponente i [l/s]
$Q_{\text{Temperierung}}$	Temperierungsmenge [l]
R	Universelle Gaskonstante [J/mol/K]
RuBisCO	Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/-Oxygenase
t	Zeit [h], [d]
t_p	Prozesszeit [h], [d]
T_i	Temperatur des Parameters i [°C], [K]
t_{solar}	Sonnenzeit [min]
V_i	Volumen des Parameters i [l]
V_m	Molare Gasvolumen [l/mol]
v_{vvm}	Gasvolumendurchsatz [l/l/min], [vvm]
y_i	Spezifischer Gehalt der Substanz i [mg/g]

1 Einleitung

1.1 Ausgangssituation

Im Interesse des Klima- und Umweltschutzes trat das „Erneuerbare-Energien-Gesetz“ (EEG) erstmalig im Jahr 2000 in Kraft und leitete damit die Energiewende in Deutschland ein [2]. Das Gesetz zielt darauf ab, die Energieversorgung, welche bisher vorwiegend auf fossilen Energieressourcen beruht, kontinuierlich durch erneuerbare Energien zu decken. Der Anteil erneuerbarer Energien zur Stromerzeugung soll bis zum Jahr 2050 mindestens 80 % betragen. Neben den nationalen Anstrengungen nimmt Deutschland auch eine führende Position in der internationalen Klimapolitik ein [3, 4]. Der anthropogen verursachte Klimawandel soll hierbei durch Verringerung des Ausstoßes von Treibhausgasen reduziert und deren Konzentration in der Atmosphäre auf ein Maß stabilisiert werden, dass einen weiteren Klimawandel abmildert. Insbesondere die drastische Zunahme des atmosphärischen Kohlenstoffdioxids beeinflusst das globale Klima signifikant.

Die Zunahme der Weltbevölkerung [5, 6] und die Industrialisierung der Entwicklungsländer führen zu einem stetigen Anstieg des globalen Energiebedarfs. Ein jährlicher weltweiter Bedarf von 27 TW wird für das Jahr 2050 prognostiziert [7] (zum Vergleich im Jahr 2004 wurden 15 TW verbraucht [8, 9]). Ferner steigt auch der Bedarf an chemischen Grundstoffen, die durch fossile Rohstoffe in Zukunft nicht mehr ausreichend bereitgestellt werden können.

Das Sonnenlicht stellt eine unerschöpfliche und umweltfreundliche Energiequelle dar, die auf der gesamten Erde kostenlos zur Verfügung steht. Die Photosynthese bietet einen Prozess, diese Energie in Biomasse umzuwandeln und gleichzeitig Kohlenstoffdioxid zu fixieren. Aus so genannten „Energiepflanzen“ – wie Raps oder Mais – können dabei Energieträger und chemische Grundstoffe gewonnen werden. Jedoch steht diese Nutzung in direkter Konkurrenz zur Nahrungsmittelversorgung [10] und wird in der „Tank oder Teller Problematik“ diskutiert [11, 12]. Durch die wachsende Weltbevölkerung wird die Sicherstellung der Nahrungsmittelversorgung zudem erschwert.

Die Nutzung von Mikroalgen gehört zur nächsten Generation der nachhaltigen Energie- und Rohstoffherzeugung. Gegenüber Energiepflanzen ist deren Produktion standortunabhängig, da die Kultivierung in Reaktorsystemen erfolgt. Zudem besitzen Mikroalgen einen geringeren Nährstoff- und Wasserbedarf. Letzterer kann durch das Recyceln des Kulturmediums weiter minimiert werden, so ist die Kultivierung auch in ariden Gebieten möglich. Mikroalgen erzielen im Vergleich zu Energiepflanzen eine höhere Produktivität und eine gesteigerte Konversionseffizienz der Sonnenenergie, da u. a. keine Differenzierung der Zellen in Organstrukturen erfolgt. Aus der erzeugten Biomasse ist die Herstellung von Biogas (aus der gesamten Biomasse), Biodiesel (aus Lipiden) oder Bioethanol (aus gespeicherter Stärke) möglich [13]. Neben der energetischen Nutzung, bietet die Biomasse aus Mikroalgen auch weitere wichtige Anwendungsmöglichkeiten. Beispielsweise können höherwertige Produkte, wie Farbstoffe, Antioxidantien oder Nahrungsergänzungsmittel aus den Organismen gewonnen werden. Die Biomasse kann auch als Nahrungsmittel oder Tierfutter Verwendung finden.

1.2 Zielsetzung der Arbeit

Die Photobiotechnologie birgt ein hohes Potential für eine nachhaltige industrielle Wirtschaft. Sonnenlicht dient als natürliche Energiequelle, daher findet die großtechnische Kultivierung von Mikroalgen im Freiland statt. Photobioreaktoren ermöglichen hierbei die Einstellung spezifischer Umgebungsparameter, die eine Kultivierung des jeweiligen Mikroorganismus zulassen. Licht stellt dabei eine inhomogene Energiequelle dar. Um die Kultur dennoch ausreichend mit Licht zu versorgen, wurden deshalb viele Reaktorkonzepte weltweit entwickelt. Die etablierten Reaktoren (Raceway Pond, Flat-Plate und Rohrreaktoren) miteinander zu vergleichen war aufgrund der unterschiedlichen geographischen und klimatischen Gegebenheiten bisher schwierig. Um das Potential der Photobiotechnologie gegenüber etablierten Technologien weiter auszubauen, sollte diese Problematik untersucht werden.

Im Zuge der Arbeit sollte eine Freiland-Versuchsanlage in Australien geplant und errichtet werden, die eine Bewertung von Photobioreaktoren im direkten Vergleich ermöglicht. Eine ausreichende Kohlenstoffdioxidversorgung, bei gleichzeitiger Reduzierung des Kohlenstoff-

dioxidverbrauchs, war für die Verringerung der Betriebskosten von hoher Bedeutung. Dies sollte durch die Etablierung eines Regelungssystems für den Kohlenstoffdioxideintrag erzielt werden. Ferner sollte die Mess- und Regelungsperipherie sowie die Infrastruktur für das Kühlsystem entwickelt werden.

Die Produktion im Freiland wird stark von der Umgebungstemperatur geprägt. Veränderungen der Kultivierungstemperatur verursachen physiologische Reaktionen und können sogar zum Absterben der Kultur führen. Die Temperierung – insbesondere die Kühlung – von großtechnischen Freilandanlagen ist jedoch mit einem hohen energetischen und damit kostenintensiven Aufwand verbunden, wodurch sich der Wirkungsgrad stark verringert. Vor diesem Hintergrund sollte der kombinierte Einfluss von Licht und Temperatur auf das Wachstums- und Produktbildungsverhalten der Mikroalge *Chlorella vulgaris* untersucht werden. Laborexperimente unter kontrollierten und definierten Bedingungen sollten zunächst kinetische Parameter erfassen, die im weiteren Verlauf durch Experimente unter Freilandbedingungen validiert werden sollten. Ein Wachstumsmodell, das diese beiden Parameter berücksichtigt, sollte die Validierung unterstützen. Darüber hinaus sollte untersucht werden, wie sich unterschiedliche Temperierungsstrategien auf die Produktivität unter Freilandbedingungen auswirken. Neuartige Materialien sollten außerdem auf ihre Wirksamkeit zur Reduzierung der Wärmeeinstrahlung in Photobioreaktoren untersucht und der verminderte Kühlungsbedarf ermittelt werden. Letztlich sollte der Einfluss der Reflexions- und Absorptionseigenschaften der Reaktorstandfläche zur Steigerung der Produktivität betrachtet werden.

2 Theoretische Grundlagen

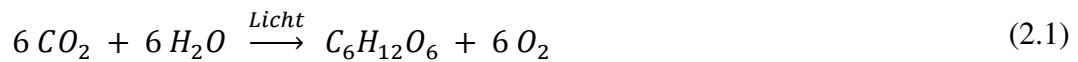
2.1 Stoffwechselaktivität von Mikroalgen

In der Literatur lassen sich verschiedene Definitionen für den Begriff „Alge“ finden [14-17]. Algen lassen sich dabei nicht in eine feste Verwandtschaftsgruppe einordnen, sondern weisen vielmehr einen polyphyletischen Charakter auf [18]. Meistens werden Algen jedoch als photosynthetische Organismen bezeichnet, die keine Differenzierung in Organen (Wurzeln, Stämme, Blätter oder Reproduktionssysteme) aufweisen [17, 19, 20]. Der Begriff „Mikroalge“ wird dabei verwendet um Algen im mikroskopischen Maßstab zu beschreiben, wobei es sich für gewöhnlich um einzellige Organismen handelt [19]. Zur Klassifizierung werden neben den morphologischen und phänotypischen Kriterien auch verstärkt genetische Methoden (Gensequenzierung und -analyse) zur Taxonomie der Algen herangezogen. Neben den eukaryotischen Mikroalgen besitzen auch manche Prokaryoten – s. g. Cyanobakterien – die Fähigkeit Photosynthese zu betreiben.

2.1.1 Prozess der Photosynthese

Die Photosynthese ist einer der bedeutsamsten Stoffwechselfvorgänge, in deren Zentrum die Konvertierung von elektromagnetischer in chemische Energie steht [21]. Durch die Fixierung von Kohlenstoffdioxid und die gleichzeitige Synthese von Sauerstoff bildet dieser biologische Prozess die Basis aller erzeugten organischen Kohlenstoffverbindungen. Der Ursprung der Photosynthese ist dabei in den Cyanobakterien zu finden und wurde durch Endosymbiose im Zuge der Evolution auf die Eukaryonten übertragen [22]. Neben diesem zentralen Stoffwechsel besitzen Mikroalgen auch die Fähigkeit des heterotrophen und mixotrophen Wachstums [23].

In einer Gesamtbetrachtung des Photosyntheseprozesses wird Lichtenergie zunächst in chemische Energie transformiert, die wiederum im Ana- und Katabolismus verbraucht werden kann (2.1).



CO_2	<i>Kohlenstoffdioxid</i>
H_2O	<i>Wasser</i>
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	<i>Glucose</i>
O_2	<i>Sauerstoff</i>

In der endothermen Reaktion der Photosynthese erfolgt zunächst die Absorption von Photonen durch die Pigmentsysteme (Abbildung 2.1), welche in der Thylakoidmembran der Chloroplasten lokalisiert sind [24]. Diese bestehen aus Chromophoren, die mit Proteinen assoziiert sind und als Lichtsammelkomplex (light harvesting complex, LHC) das Reaktionszentrum des Pigments trichterförmig umgeben [25]. Der Verbund aus LHC und Reaktionszentrum wird dabei als photosynthetische Einheit (photosynthetic Unit, PSU) zusammengefasst [26]. Durch diese Struktur können auf großer Fläche Photonen absorbiert und auf die jeweiligen Reaktionszentren konzentriert werden. Die Reaktionszentren der Photosysteme II (PSII) und I (PSI) absorbieren dabei das Licht der Wellenlängen 680 bzw. 700 nm und gehen dadurch in einen angeregten Zustand über [27, 28]. In der darauffolgenden linearen Elektronentransportkette werden die angeregten Elektronen auf die oxidierte Form des Nicotinamidadenindinukleotidphosphats (NADP^+) übertragen und dieses zu NADPH/H^+ reduziert [29]. Durch die Photolyse von Wassermolekülen (H_2O) am PSII zu Sauerstoff und Wasserstoffprotonen (H^+) wird die Elektronlücke geschlossen. Die gebildeten H^+ -Protonen dienen dem Aufbau eines Protonengradienten an der Thylakoidmembran, der zur Synthese von Adenosintriphosphat (ATP) aus Adenosindiphosphat (ADP) durch das Enzym ATP-Synthase genutzt wird [30, 31]. Alternativ zum so genannten linearen Elektronentransport können die Elektronen auch durch eine zyklische Elektronentransportkette übertragen werden. Durch diesen Prozess werden Elektronen aus der NADPH/H^+ -Synthese entzogen und zur Synthese von ATP verwendet. Das Verhältnis an gebildeten ATP und NADPH/H^+ kann somit reguliert und dadurch aktiv auf variierende Stoffwechselforgänge reagiert werden [21]. Zusätzlich wird der zyklische Elektronentransport benötigt, um ausreichend ATP für die Dunkelreaktion bereitzustellen [29]. Dieser Teil der Photosynthese wird als Lichtreaktion bezeichnet und stellt primär Energie für den Anabolismus zur Verfügung.

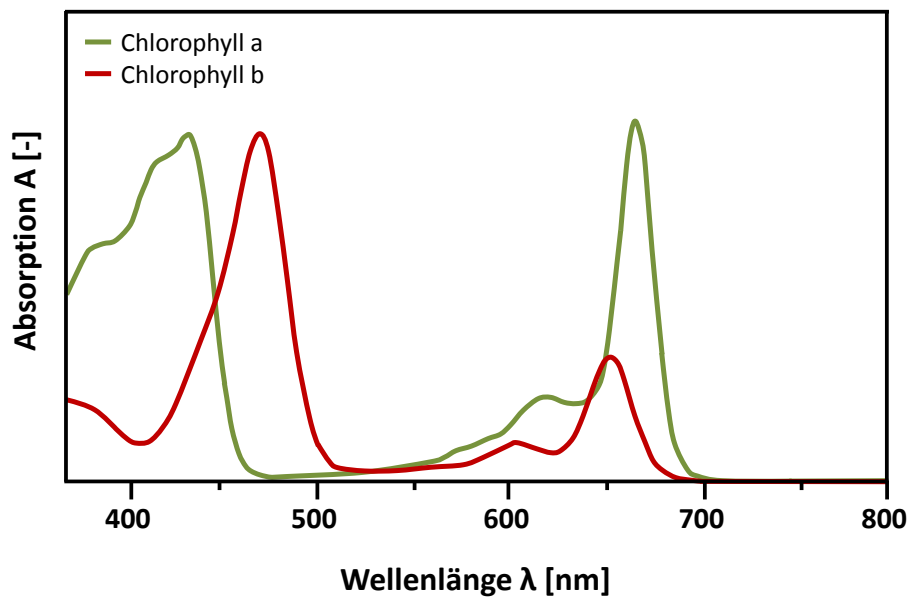


Abbildung 2.1 In vitro Absorptionsspektrum von Chlorophyll a und b in Methanol. Spektren normalisiert zur jeweiligen Soret-Bande. Abbildung modifiziert nach Chen und Blankenship [32]

In der darauffolgenden Dunkelreaktion wird mittels ATP und NADPH/H⁺ Kohlenstoffdioxid (CO₂) im reduktiven Pentosephosphatzyklus (Calvin-Zyklus) fixiert und assimiliert [21, 33]. Der Zyklus lässt sich dabei in drei Stufen gliedern. In der ersten Stufe findet die Fixierung von CO₂ durch die Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase (RuBisCO) statt. In der zweiten Stufe wird das entstandene 3-Phosphoglycerat weiter reduziert. Die Regeneration des CO₂-Akzeptors Ribulose-1,5-bisphosphat erfolgt in der letzten Stufe. Wird dieser Zyklus dreimal durchlaufen, entsteht netto ein Molekül Triosephosphat, das für den Anabolismus genutzt werden kann. Für die Synthese von einem Glycerinaldehyd-3-phosphat (GAP) werden insgesamt 9 ATP und 6 NADPH/H⁺ benötigt. In der darauffolgenden Glykolyse wird GAP unter der Bildung von 2 ATP und 1 NADPH/H⁺ zu Pyruvat verstoffwechselt. Dieses kann im weiteren Anabolismus zur Bildung neuer Biomasse genutzt werden. Außerdem dient Pyruvat als Ausgangsstoff für die Fettsäure- und Lipidbildung. Für den Aufbau eines Kohlenhydratspeichers – wie Stärke – wird GAP in der Gluconeogenese unter Verwendung von 2 ATP zu Glucose reduziert. Glucose kann des Weiteren genutzt werden um Energie und Ausgangsverbindungen für den heterotrophen Stoffwechsel bereitzustellen. Eine kurze Übersicht über diese Stoffwechselschritte befindet sich im Anhang (Abbildung A.12) [34].

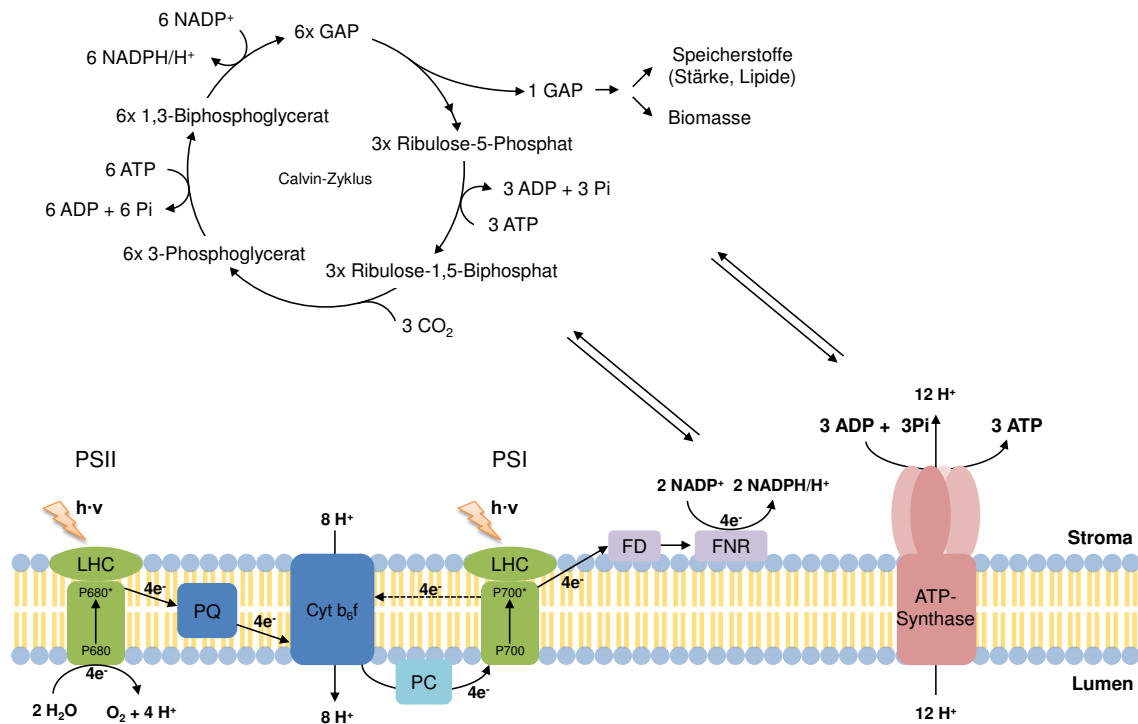


Abbildung 2.2 Schematische Darstellung der Photosynthese. PSII: Photosystem II; PSI: Photosystem I; P680: Chlorophyll im Reaktionszentrum des PSII; P700: Chlorophyll im Reaktionszentrum des PSI; PQ: Plastoquinon; Cyt b_6f : Cytochrom- b_6f -Komplex; PC: Plastocyanin; FD: Ferredoxin; FNR: Ferredoxin-NADP⁺-Reduktase; e⁻: Elektron, GAP: Glycerinaldehyd-3-phosphat; LHC: Lichtsammelkomplex (light-harvesting-complex)

Der Photosyntheseprozess (Abbildung 2.2) kann auch als eine Kette von Redox-Reaktionen betrachtet werden, in der Elektronen von Wasser auf Kohlenstoffdioxid übertragen werden. Licht liefert dabei die benötigte Energie zur Oxidation des Wassers sowie zur Reduktion des Kohlenstoffdioxids [35].

2.1.2 Die Dynamik des phototrophen Wachstums

Viele Umweltfaktoren beeinflussen den Photosyntheseprozess und bewirken eine Veränderung in den Abläufen der Photosynthese. Licht, Temperatur, Kohlenstoffdioxid und Nährstoffe sind dabei die primär variierenden Parameter, die auf den Metabolismus einwirken. Die Reaktion des Mikroorganismus kann dabei in drei Klassen differenziert werden [36]:

- **Adaptation:** Die Adaption beschreibt die langfristige evolutionäre Anpassung der Spezies an die äußeren Umwelteinflüsse.
- **Akklimation:** Die Akklimation ist die phänotypische Anpassung des Mikroorganismus an die äußeren Umweltfaktoren innerhalb der Grenzen seines Genotyps. Der Zeitraum der Anpassung liegt zwischen Stunden bis Tagen und bewirkt eine Umstrukturierung des Metaboloms.
- **Regulation:** Die Regulation ist eine direkte Anpassung der metabolischen Effizienz an die aktuellen Umgebungsbedingungen. Hierbei findet keine Synthese oder Abbau von metabolischen Strukturen statt, sondern die Anpassung der katalytischen Effizienz an die momentane Umgebung. Die Prozesse finden in Sekunden bis Minuten statt.

Adaptation, Akklimation und Regulation stellen dabei Optimierungsstrategien der Natur zur Maximierung des Wachstums und der Reproduktion der jeweiligen Spezies unter den vorherrschenden Umweltbedingungen dar.

2.1.2.1 Lichtintensität

Die Lichtintensität ist ein wesentlicher Parameter des phototrophen Wachstums. Variierende Lichtintensitäten führen zu unterschiedlichen Wirkungsgraden der Photosynthese und damit zu einer stetigen Anpassung des Prozesses an die Umgebungsbedingungen. Der Einfluss der Lichtintensität auf das Wachstumsverhalten kann grundsätzlich durch eine direkte Bestimmung der Wachstumsrate in lichtadaptierten Satzkultivierungen oder im Turbidostat erfasst werden (alternativ können auch die Sauerstoffbildungsrate oder die Messung der Energiedissipation als Maß der Photosynthese-Effizienz herangezogen werden [37, 38]). Die Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Lichtintensität bzw. Photonendichte (PFD) wird gewöhnlich durch die Photosynthese-Irradiation-Kurve (PI-Kurve) wiedergegeben (Abbildung 2.3) [39]. Bei niedrigen PFD ist die Kultur lichtlimitiert und die photosynthetischen Prozesse nicht ausgelastet. Die Wachstumsrate korreliert mit der Lichtintensität und nimmt zunächst proportional. Im Lichtkompensationspunkt I_K findet dabei kein Wachstum statt, da durch den Bedarf des Erhaltungsstoffwechsels die gesamte bereitgestellte Energie für diesen aufgebraucht wird. Unterhalb des Lichtkompensationspunkts dominiert der respiratorische Stoffwechsel, da keine photosynthetische Aktivität vorhanden ist. Mit höheren Lichtintensitäten wird der Lichtsättigungspunkt I_S erreicht, bei der die maximale Wachstumsrate vorliegt und die Kapazität des photosynthetischen Apparates gesättigt ist. Mit

zunehmender PFD wird überschüssige absorbierte Energie dissipiert und der Wirkungsgrad der Photosynthese nimmt ab. Oberhalb des Lichtinhibierungspunktes I_I bewirken hohe Lichtintensitäten eine Inhibierung der Photosynthese. In dieser Phase führt der extreme Energieüberschuss zur Bildung von Sauerstoffradikalen, die das Photosystem schädigen und zur Abnahme der Wachstumsrate führen [40]. Die Effizienz der energetischen Konversion η' kann durch den Quotienten aus Wachstumsrate und Photonenflussdichte beschrieben werden. Innerhalb der Lichtlimitierung ist dieser konstant und wird in diesem Zusammenhang auch als die Wachstumseffizienz α bezeichnet.

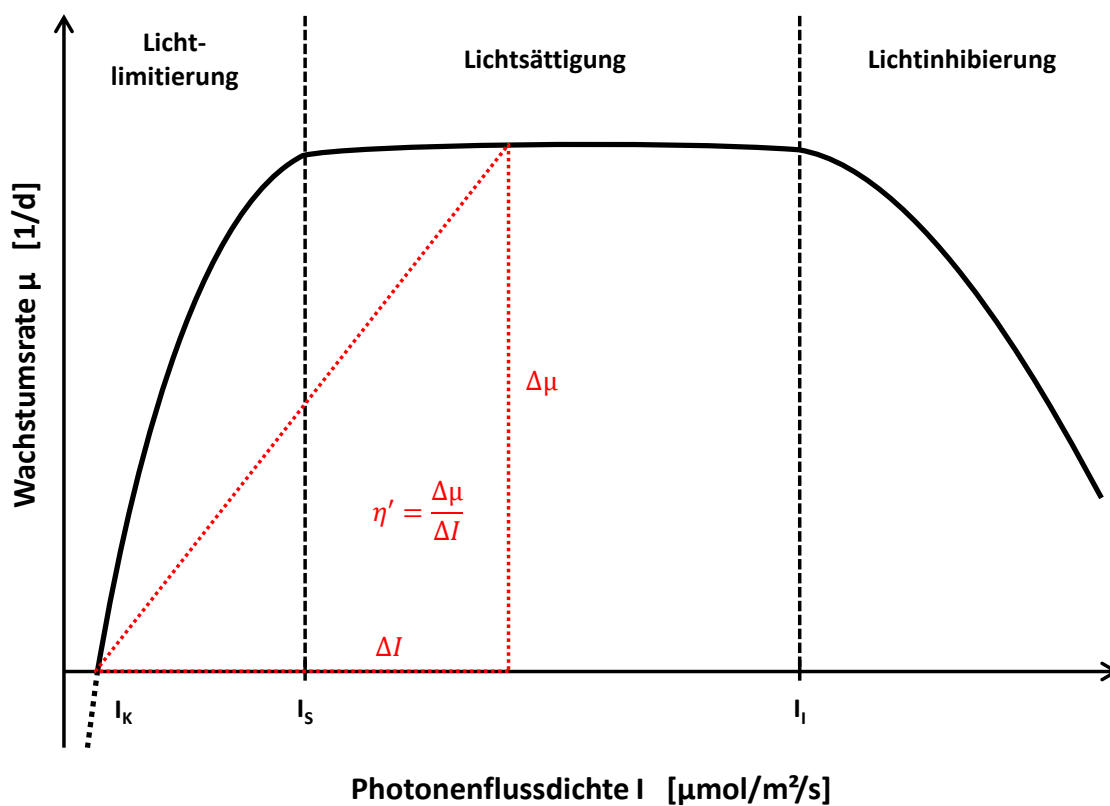


Abbildung 2.3 Schematische Darstellung der PI-Kurve. I_K : Lichtkompensationspunkt; I_S : Lichtsättigungspunkt, I_I : Lichtinhibierungspunkt; η' : Effizienz der Photonenausnutzung

Aufgrund schwankender PFD unterliegt der phototrophe Metabolismus einer stetigen Dynamik, sodass das energetische Gleichgewicht zwischen bereitgestellter Energie in der Lichtreaktion und verbrauchter Energie in der Dunkelreaktion konstant gehalten werden kann. Verschiedene Regulations- und Akklimationsmechanismen sind deshalb im Metabolismus etabliert. Diese werden in der Literatur als short-term (schnell) bzw. long-term (langsam) Antworten bezeichnet [41]. Durch die short-term Antworten wird der Elektronenfluss in die

Elektronentransportkette reguliert und mögliche Zellschädigungen durch Photoinhibierung verhindert. Bei geringer Lichtsättigung findet der reversible enzymatische Prozess des Zustandswechsels (state transition) statt. Durch Dephosphorylierungs- und Phosphorylierungsprozesse werden LHC-Moleküle zwischen den beiden Photosystemen umverteilt, wodurch sich die Menge an absorbierte Energie aufgrund der unterschiedlichen Anregungsmaxima der Photosysteme verändert. Gesteuert wird dieser Prozess über den Plastoquinon-Pool, wobei ein Überangebot an reduziertem Plastoquinon den Zustandswechsel induziert. Höhere Lichtsättigungen induzieren die nicht-photochemische Löschung der Exzitonen (non-photochemical quenching, NPQ) [25]. Bei diesem Prozess wird die absorbierte Energie in Form von Wärme oder Fluoreszenz mit Hilfe des induzierten Xanthophyllzyklus [42] abgeleitet und gelangt somit nicht in die Elektronentransportkette. Das NPQ wird durch den pH-Wert des Lumens gesteuert, der indirekt den Auslastungsgrad der ATP-Synthese widerspiegelt (Abbildung 2.2) [41, 43]. Weiterhin findet auch eine Regulation der RuBisCO in Abhängigkeit der PFD statt. Dadurch kann der Verbrauch an ATP und NADPH/H⁺ an die aktuellen Syntheseraten angepasst werden [36]. Enzyme des Calvin-Zyklus induzieren per Feedback-Regulation ebenfalls den Elektronenfluss in die Elektronentransportkette, falls der Pool an NADPH/H⁺ und ATP absinkt [29].

Kontinuierliche Veränderungen in der Quantität und Qualität des absorbierten Lichtes führen zur Photoakklimation (long-term Antwort), wodurch die Genexpression und damit die Zellzusammensetzung angepasst wird. Das Gleichgewicht zwischen absorbierter und benötigter Energie ist dabei der sensorische Parameter und führt im Wesentlichen zu einer Anpassung der photosynthetischen Pigmente und zu einer veränderten Lichtabsorption [44]. Während in der Lichtsättigung die LHC und die PSU reduziert werden, führt die Lichtlimitierung zu einer entgegengesetzten Reaktion, um die bereitgestellte Energie an den Verbrauch zu adaptieren [37, 45]. Ein energetisches Ungleichgewicht beeinflusst außerdem die enzymatische Aktivität des Calvin-Zyklus und somit den energetischen Konsum. Änderungen in der Lichtqualität resultieren in einer Verschiebung des PSI zu PSII Verhältnisses und bewirken eine Anpassung der photosynthetischen Pigmente an die unterschiedlichen Lichtspektren [46]. Diese qualitative Anpassung wird als chromatische Akklimation bezeichnet [47-49]. Lichtsättigung und Photoinhibierung bewirken zusätzlich den Aufbau von Schutzpigmenten (Karotinoide) und die Synthese von Reparaturenzymen, um die Photosysteme vor oxidativem Stress zu schützen bzw. die Schäden zu kompensieren [50,

51]. Die Speicherung von überschüssiger Energie in Speichermoleküle, wie Lipide oder Stärke, ist ebenfalls möglich.

2.1.2.2 Temperatur

Biologische Prozesse basieren auf biochemischen Reaktionen, die mittels Enzymen katalysiert werden. Die Temperatur beeinflusst maßgeblich die Umsatzrate als auch die Stabilität der Enzyme. Der charakteristische Verlauf der Enzymaktivität in Abhängigkeit zur Temperatur wird durch die Aktivierungs- und Inaktivierungskonstanten beschrieben und ist in Abbildung 2.4 schematisch dargestellt [52-54]. Eine Abnahme der Temperatur bewirkt eine Verminderung der enzymatischen Umsatzrate. Die Kombination aus Aktivierung und Enzymstabilität resultiert in den charakteristischen glockenförmigen Verlauf. Im Gegensatz führt eine Zunahme der Temperatur zunächst zu einer reversiblen Instabilität des Enzyms. Die Steigerung von intramolekularen Molekülschwingungen kann zu einer nicht optimalen Struktur des Proteins – insbesondere des aktiven Zentrums – führen, sodass die Biokatalyse verlangsamt wird. Ein weiterer Temperaturanstieg führt letztlich zu einer irreversiblen Denaturierung des Enzyms. Als Resultat der enzymatischen Temperaturabhängigkeit wird auch die Wachstumsrate beeinträchtigt, da diese primär auf der Umsatzrate der Enzyme beruht.

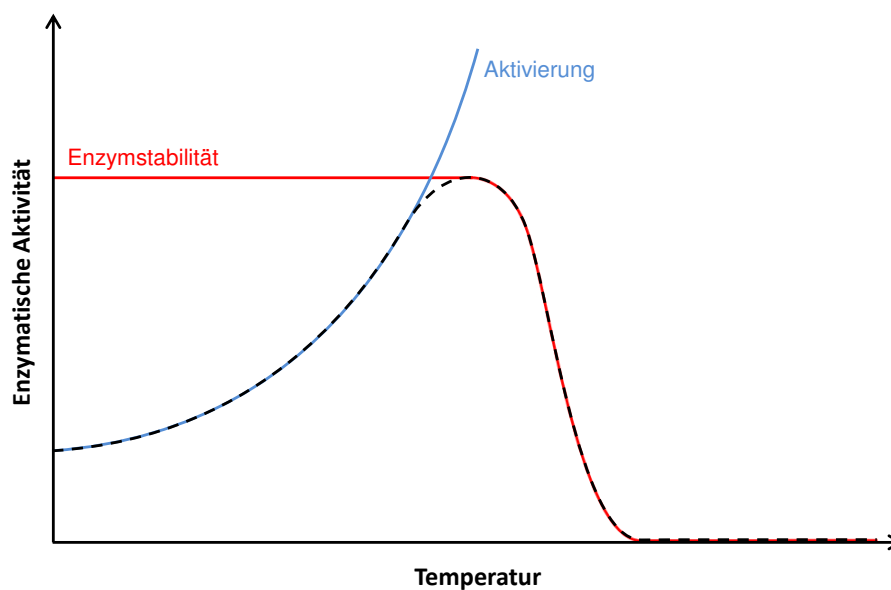


Abbildung 2.4 Schematische Darstellung der enzymatischen Aktivität in Abhängigkeit von der Temperatur

Die Lichtabsorptionsrate durch den LHC ist aufgrund des Förster-Resonanz- und Dexter-Energietransfers weitestgehend temperaturunabhängig, da keine Enzymreaktionen involviert sind [55]. Enzymatische Reaktionen lassen sich erst in der Elektronentransportkette und dem Calvin-Zyklus der Photosynthese finden. Verringerte enzymatische Aktivitäten besitzen dabei eine reduzierte energetische Umsatzrate, sodass sich bei konstanter Lichtabsorption ein Energieüberschuss im Photosystem bildet [56]. Zusätzlich wird durch niedrige Temperaturen die Membranfluidität herabgesetzt. Diffusionsprozesse wie auch membrangebundene Enzyme werden hierdurch beeinträchtigt. Ein Anstieg der Temperatur bewirkt wiederum eine gesteigerte Membranfluidität bis hin zur Membranstabilität. Durch die gesteigerte Instabilität der Enzyme wird auch dessen Umsatzrate durch die Temperatur negativ beeinflusst.

Für den Organismus sind Abweichungen vom Temperaturoptimum mit Akklimationsprozessen verknüpft, die im Wesentlichen die Anpassungen des Metaboloms und der Membranzusammensetzung beinhalten (Tabelle 2.1). Hierdurch werden die Umsatzraten wichtiger Schlüsselenzyme im Stoffwechsel angepasst. Bei niedrigen Temperaturen ist generell ein erhöhtes Redoxpotential an der Thylakoidmembran zu beobachten, da bestimmte Stoffwechselschritte limitiert sind [57, 58]. Dabei induziert der Überschuss an bereitgestellter Energie aus der Lichtreaktion Akklimationsmechanismen, die u. a. eine Steigerung der enzymatischen Kapazität, aufgrund von erhöhten Enzymkonzentrationen oder Expressionen von kältestabilen Isoformen, hervorrufen. Des Weiteren wird durch Umstrukturierung der Phospholipidzusammensetzung die Membranfluidität erhöht, sodass membranassoziierte Enzymreaktionen weiterhin ablaufen können [59]. Der Überschuss an Energie verstärkt außerdem die Synthese von Speicherstoffen, wie Kohlenhydraten [45, 58].

Eine Temperaturerhöhung führt zunächst zu einer gesteigerten photosynthetischen Rate. Oberhalb des Temperaturoptimums wird diese jedoch durch die RuBisCO-Aktivität limitiert. Dabei wird die RuBisCO Aktivase inaktiviert. Weiterhin ist auch das PSII von der thermischen Inaktivierung betroffen. Hitzestress induziert Reparaturmechanismen sowie die Expression von Hitze-Schock-Proteinen (HSP) und Chaperonen, die die Stabilität der betroffenen Enzyme unterstützen. Außerdem wird die Membranfluidität durch die Reduktion von ungesättigten Fettsäuren und der Synthese von Zeaxanthin entgegengewirkt [60].

Tabelle 2.1 Akklimationsprozesse der Photosynthese in Abhängigkeit zur Temperatur

unterhalb des Temperaturoptimums	oberhalb des Temperaturoptimums
Anstieg der photosynthetischen Kapazität	Anstieg der Photosyntheserate
Induktion von Speicherstoffen	Induktion von Reparaturmechanismen (speziell PSII)
Expression von kältestabilen Enzym-Isoformen	Expression von hitzestabiler RuBisCO Aktivasen und Hitze-Schock-Proteinen (HSP) und Chaperonen
Erhöhung der Membranfluidität durch Einlagerung von ungesättigten Fettsäuren	Erniedrigung der Membranfluidität durch Reduktion von ungesättigten Fettsäuren und Synthese von Zeaxanthin
Erniedrigung der Pigmente	Erhöhung der Pigmente

2.1.2.3 Kohlenstoffdioxid

Kohlenstoffdioxid (CO_2) wird während der Photosynthese assimiliert und für den Aufbau von Biomasse und organischen Verbindungen verwendet. Am Enzym RuBisCO wird CO_2 durch Carboxylierung im Calvin-Zyklus fixiert (Abbildung 2.2). Die enzymatische Aktivität der RuBisCO ist vom CO_2 -Partialdruck abhängig [61]. Der Prozess konkurriert mit der Oxygenase-Aktivität der RuBisCO, die auch als Photorespiration bezeichnet wird. Die Affinität zur Oxygenasereaktion, wird durch den Partialdruck von Sauerstoff bestimmt [61, 62]. Der intrazelluläre Partialdruck von CO_2 sowie das Verhältnis von CO_2 zu O_2 an der RuBisCO bestimmen dessen katalytische Reaktion. Niedrige intrazelluläre CO_2 -Konzentrationen führen zu einer Limitierung der Carboxylierungsreaktion und zu geringeren Wachstumsraten aufgrund der verminderten Kohlenstofffixierung. Durch die Affinität der RuBisCO sowohl zu CO_2 als auch zu O_2 steigert sich der Anteil an Oxygenasereaktionen mit Anstieg des O_2 -Partialdruckes im Verhältnis zum CO_2 -Partialdruck. Durch die verringerte Kohlenstofffixierung und das energieaufwändige Recyclen von Oxygenierungsprodukten wird die Wachstumsrate des Organismus verringert [63].

Die Aufnahme und Bereitstellung von CO_2 an der RuBisCO erfolgt bei ausreichender Gelöstkonzentration von CO_2 über Diffusion sowie über passive Transportmechanismen. Das Konzentrationsgefälle zwischen der Umgebung und dem Chloroplasten wird dabei durch die enzymatische Aktivität der RuBisCO erzeugt. Bei CO_2 -Partialdrücken, die eine Verminderung des Wachstums hervorrufen, werden im Metabolismus Akklimations-

mechanismen induziert. In der Literatur werden diese als CO₂-konzentrierende Mechanismen (Carbon Concentrating Mechanisms, CCM) bezeichnet. Diese steigern über aktive Transportmechanismen die CO₂-Konzentration in der Umgebung der RuBisCO und erhöhen somit die Fixierungsrate von CO₂ [61, 64-67]. Die für den Transport benötigte Energie wird durch ATP bereitgestellt, welches zuvor über die Photosynthese generiert wurde. Neben dem direkten Transport von gelöstem CO₂, wird überwiegend die deprotonierte Form (Hydrogencarbonat, HCO₃⁻) genutzt, da diese nur minimal membrandurchgängig ist. An der RuBisCO wird das konzentrierte Hydrogencarbonat durch Carboanhydrasen wieder zu CO₂ dehydratisiert und steht dem Carboxylierungsprozess wieder zur Verfügung. Carboanhydrasen dienen auch zur beschleunigten Gleichgewichtseinstellung in den einzelnen Kompartimenten. Die CCM-Aktivität wird wesentlich vom CO₂-Partialdruck an der RuBisCO reguliert, welche wiederum von der Umsatzrate am Enzym und von der Diffusionsrate in die Zelle abhängig ist. Faktoren, wie Licht, Temperatur oder Metabolit- und Nährstoffkonzentrationen, nehmen dabei Einfluss auf die Aktivität der RuBisCO und dadurch auch auf die Umsatzrate von CO₂.

Daraus resultiert, dass der Partialdruck an gelöstem CO₂ (dCO_2) die Wachstumsrate der Algenkultur beeinflusst. Dabei verringern die aktiven CO₂-Transportmechanismen (CCM) als auch der verminderte Partialdruck von CO₂ an der RuBisCO die Wachstumsrate. Eine Wachstumskinetik für den Stamm *Chlorella vulgaris* ist in Abbildung 2.5 wiedergeben.

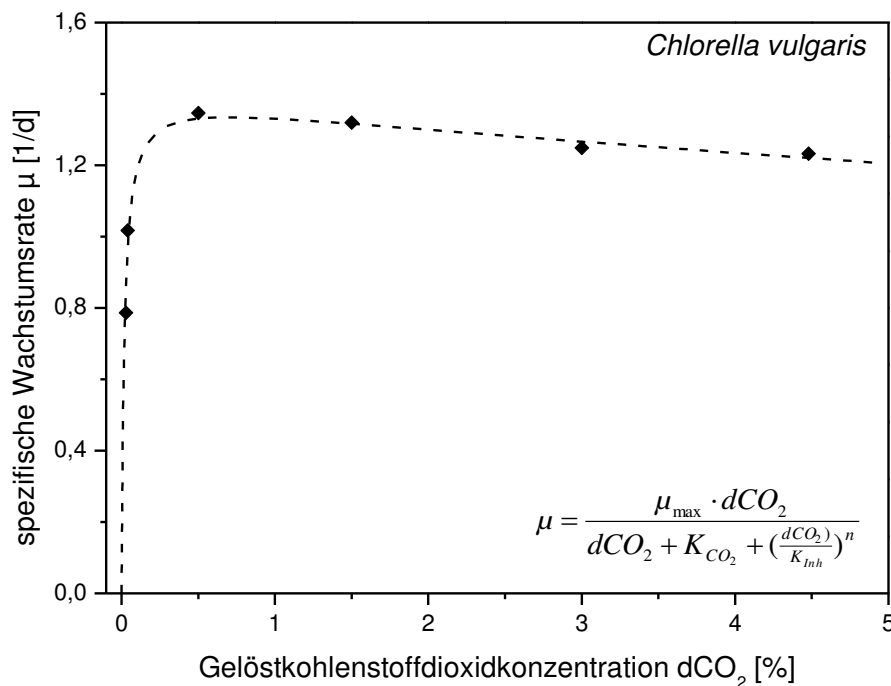


Abbildung 2.5 Wachstumskinetik der Alge *Chlorella vulgaris* in Abhängigkeit von der Gelöstkohlenstoffdioxidkonzentration (dCO_2). Modifiziert nach Dillschneider [39]. μ : spezifische Wachstumsrate; μ_{\max} : maximale spezifische Wachstumsrate (1,41 1/d); dCO_2 : Gelöstkohlenstoffdioxidkonzentration, K_{CO_2} : Affinitätskonstante zu CO_2 (0,019 %); K_{Inh} : Inhibierungskonstante (65,9 %); n : Konstante (1,85)

2.1.3 Die Wachstumskinetik im phototrophen Satzbetrieb

Allgemein ist für den Satz- oder Batchbetrieb von Kultivierungen charakteristisch, dass diese ideal homogen durchmischt sind und dass zu Beginn der Kultivierung alle Nährstoffkomponenten vorgelegt werden. Daher ändern sich die Konzentrationen der Nährstoffe über den Kultivierungszeitraum [52].

Für phototrophe Kultivierungen ist Licht essentiell (Kapitel 2.1.1). Da Licht nicht homogen im Reaktor verteilt werden kann, ist der effiziente Lichteintrag in Photobioreaktoren ein wichtiger Parameter. Infolge der Lichtabsorption durch die Zellen entstehen Abschattungseffekte, die im Reaktor einen Lichtgradienten hervorrufen. Bei flachen Geometrien und unter Vernachlässigung von Lichtstreuung, kann der Lichtgradient durch die Exponentialfunktion nach Lambert-Beer beschrieben werden [35, 68]. Über die Reaktortiefe bildet sich dabei ein Lichtprofil aus, welches alle Bereiche der PI-Kurve widerspiegelt (Kapitel 2.1.2.1). Der Anteil der Bereiche wird durch die Lichtintensität und die Biomassekonzentration geprägt (Abbildung 2.6).

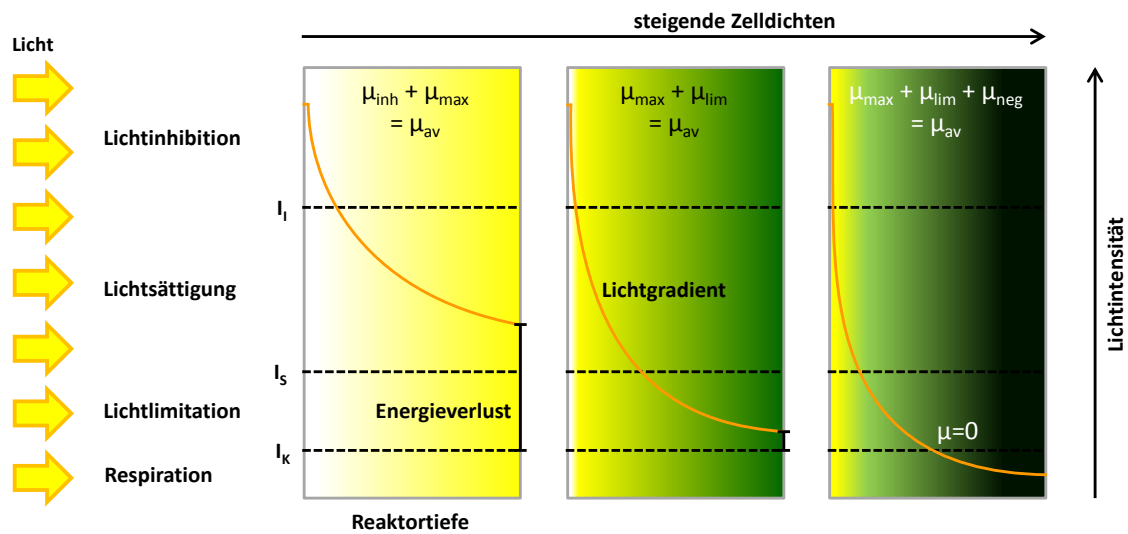


Abbildung 2.6 Schematische Darstellung der unterschiedlichen Wachstumszonen in einem einseitig beleuchtetem Photobioreaktor in Abhängigkeit von der Zelldichte (modifiziert nach Jacobi [13]). μ_{inh} : spezifische lichtinhibierte Wachstumsrate; μ_{max} : spezifische maximale Wachstumsrate; μ_{lim} : spezifische lichtlimitierte Wachstumsrate; μ_{neg} : spezifische negative Wachstumsrate; μ_{av} : durchschnittliche spezifische Wachstumsrate; I_l : Lichtinhibierungspunkt; I_s : Lichtsättigungspunkt; I_k : Licht-kompensationspunkt

Durch die Zunahme der Zelldichte während der Kultivierung wird mehr Licht absorbiert. Daher nimmt der Lichtgradient über der Reaktortiefe zu, wodurch sich stetig eine neue Lichtzonenverteilung im Reaktor einstellt. Während bei geringen Zelldichten überwiegend nicht limitiertes Wachstum vorhanden ist, ergeben sich für größere Zelldichten niedrigere spezifische Wachstumsraten. Hierdurch verringert sich die photosynthetische Rate, während sich der Respirationsanteil erhöht. Überschreitet der Lichtgradient innerhalb des Reaktors den Lichtkompensationspunkt findet außerdem negatives Wachstum statt, da in dieser Dunkelzone keine Photosynthese möglich ist. Auf diese stetige Änderung der Lichtverteilung innerhalb des Reaktors reagieren die Zellen mit Photoakklimation (Kapitel 2.1.2.2), indem sie ihre Pigmentzusammensetzung und ihren photosynthetischen Apparat adaptieren.

In diesem Zusammenhang wird in der Literatur [13, 69-71] auch der „flashing light“ Effekt erwähnt. Hierbei entstehen durch die radiale Durchmischung positive Effekte auf die Wachstumsrate, wobei die Zellen die Licht- und Dunkelzone abwechselnd durchlaufen. Diese Licht/Dunkel-Zyklen bewirken bei hohen Frequenzen eine optimale Abstimmung der Licht- und Dunkelreaktionsraten. Moleküle die in der Lichtreaktion angeregt wurden können in der Dunkelzone ihre Anregungsenergien abführen. Mögliche Energiedissipation, die durch weitere Lichtenergie entstehen würde, wird somit vermieden. Die Verweilzeiten in den Zonen

sind dabei so gewählt, dass weder Energiedissipation noch Respiration auftreten und das Photosystem optimal ausgelastet wird.

Für den phototrophen Satzbetrieb ergibt sich damit ein charakteristischer Verlauf der Biomassekonzentration, der maßgeblich durch die Lichtverteilung und dem daraus folgendem Verhältnis aus Photosynthese- und Respirationsrate bestimmt wird (Abbildung 2.6 und Abbildung 2.7). Nach der lag-Phase findet zunächst ein exponentielles Wachstum statt. Dieses geht aufgrund des zunehmenden Lichtgradienten in ein lichtlimitiertes lineares Wachstum über. Bei steigenden Zelldichten nimmt der Lichtgradient stetig zu und resultiert in eine verminderte photosynthetische Aktivität und in geringere spezifische Wachstumsraten.

Bei mittleren Photonenflussdichten kann über eine ortspezifische Integration der spezifischen Wachstumsraten der Kultivierungsverlauf beschrieben. Bei signifikantem Einfluss des o.g. flashing light Effektes kann das Wachstum auch durch eine Lichtintegration über die Reaktortiefe dargestellt werden.

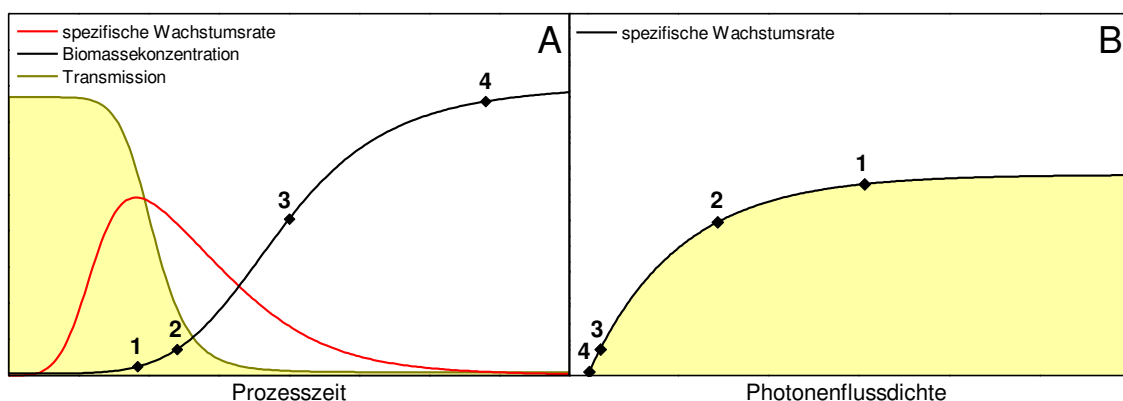


Abbildung 2.7 A: Verlauf einer phototrophen Satzkultivierung bzgl. der Biomassekonzentration, der spezifischen Wachstumsrate und der Transmission. B: Lichtsättigungskurve

2.1.4 Die Versorgung phototropher Prozesse mit Kohlenstoffdioxid

Kohlenstoffdioxid (CO_2) dient im phototrophen Kultivierungssystem als Kohlenstoffquelle zur Synthese von Biomasse und wird gewöhnlich über die Gasphase kontinuierlich in die Submerskultur eingetragen. Innerhalb der Flüssigphase geht das gelöste CO_2 unter Wasserspaltung in Hydrogencarbonat und Carbonat über, wobei die einzelnen Spezies im Gleichgewicht zueinander stehen (2.2) [72, 73]. Die Anteile des gelösten CO_2 korrelieren mit dem pH-Wert der Lösung. Der Einfluss des pH-Wertes auf die Stoffmengenanteile ist in

Abbildung 2.8 dargestellt. Die Aufnahme von gelöstem CO_2 durch den phototropen Stoffwechsel (Kapitel 2.1.2.3) wie auch das Nachlösen von CO_2 aus der Gasphase in Abhängigkeit von dessen Partialdruck beeinflusst den pH-Wert der Lösung [74].



$\text{CO}_{2(g)}$	<i>Kohlenstoffdioxid in der Gasphase</i>
$\text{CO}_{2(l)}, \text{H}_2\text{CO}_3$	<i>Kohlenstoffdioxid in der Flüssigphase</i>
H_2O	<i>Wasser</i>
H^+	<i>Wasserstoffproton</i>
HCO_3^-	<i>Hydrogencarbonat</i>
CO_3^{2-}	<i>Carbonat</i>
K_1	<i>Gleichgewichtskonstante</i>
K_2	<i>Gleichgewichtskonstante</i>

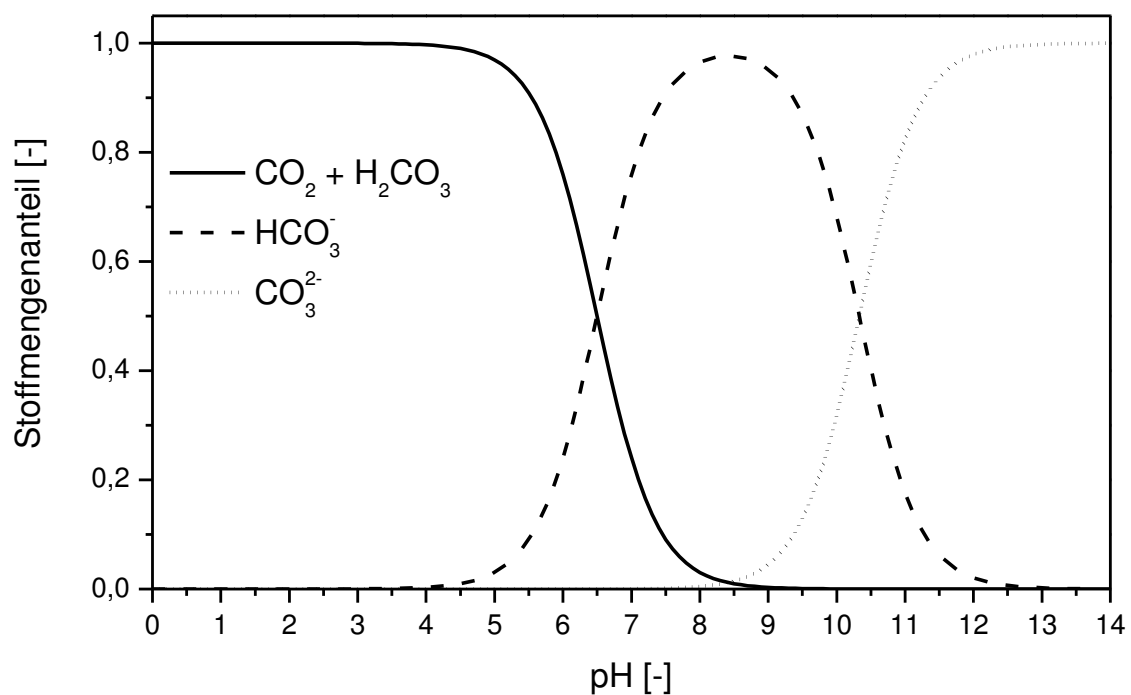


Abbildung 2.8 Einfluss des pH-Wertes auf die Stoffmengenanteile von Gelöstkohlenstoffdioxid ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3$), Hydrogencarbonat (HCO_3^-) und Carbonat (CO_3^{2-}) [39]

In der Prozessführung wird die Versorgung an CO_2 für gewöhnlich über die Begasung erzielt, wobei der Zuluft CO_2 im bestimmten Mischverhältnis beigefügt wird. Für maximale

Wachstumsraten ist dabei eine ausreichende CO₂-Versorgung der Kultur unerlässlich. Ein konstant hoher an CO₂-Anteil im Zugas führt zu einem hohen und ungenutzten Verbrauch an CO₂. Zunehmend werden deshalb Regelungssysteme verwendet um die CO₂-Zuführung an den aktuellen Stoffwechselbedarf anzupassen. Dabei ist die Regelung über den pH-Wert als Messgröße ein gängiges Verfahren [75, 76]. Die Realisierung erfolgt über P- und PI-Regler. PI-Regler besitzen dabei ein besseres Regelverhalten, da diese durch den integralen Anteil die stetigen Regelabweichungen effizient ausgleichen können [77, 78]. Diese Regelabweichungen entstehen durch den Tagesverlauf wie auch durch die konstante Zunahme der Biomasse und die damit verbundenen unterschiedlichen CO₂-Aufnahmeraten.

2.1.5 Die Photokonversionseffizienz als Kennzahl der Prozessführung

Phototrophe Organismen synthetisieren mittels Lichtenergie organische Verbindungen. Die Photokonversionseffizienz (Photo Conversion Efficiency, PCE) beschreibt dabei die Effizienz mit der die eingestrahlte Lichtenergie in Biomasse konvertiert wird. Da sie die wichtigen Einflussfaktoren – verfügbare Lichtenergie und Biomasseproduktivität – beinhaltet, wird sie als Kennzahl zur Bewertung und Vergleich phototropher Prozessführungen herangezogen.

Auf physiologischer Ebene ist eine maximal theoretische Effizienz der Photosynthese (Maximum Photosynthetic Efficiency, MPE) unter Sonnenlicht von 12 % möglich [35] und folgendermaßen zu begründen. Das Sonnenlicht wird nur im so genannten photosynthetisch aktiven Bereich (Photosynthetically Active Radiation, PAR) von 400 - 700 nm absorbiert. Der Anteil im Sonnenspektrum liegt somit bei 45 %. Des Weiteren verursachen Reflexion und Transmission an den Pigmentsystemen Verlusteffekte. Aufgrund der unterschiedlichen Energien der Photonen im roten und blauen Bereich wird überschüssige Energie dissipiert. Insgesamt verringert sich die Effizienz um 21 %. Durch die Fixierung von CO₂ werden 477 kJ/mol_{CO₂} im Organismus gespeichert. Die Assimilation benötigt jedoch eine Energiemenge von 1368 kJ/mol_{CO₂} (8 Photonen pro Molekül CO₂), sodass die energetische Nutzung der Photonen bei 35 % liegt [79].

Anabolische Stoffwechselwege mindern maßgeblich (Protein-, Lipid-, Stärke- oder Nukleinsäuresynthese) die Effizienz der Photosynthese. Die Effizienz wird weiterhin durch metabolische Vorgänge, wie Photorespiration, Respiration, Lichtsättigung sowie Lichtinhibierung, vermindert [80]. Somit kann von einem minimalen Quantenbedarf von

10-12 mol Photonen pro mol CO₂, welches in Biomasse assimiliert wird, ausgegangen werden. Als Resultat ergibt sich eine PCE von unter 10 % [35, 80].

Neben den physiologischen Effekten beeinflusst auch das Kultivierungssystem die PCE. Dieses definiert maßgeblich den Lichteintrag und Lichtverteilung in die Submerskultur, wobei u. a. Reflexionen an der Oberfläche und die Ausprägung des Lichtgradienten im Reaktor Einfluss nehmen. In der Praxis ist somit ein Wert für die PCE von ca. 5 % zu erwarten (Tabelle 2.2).

Tabelle 2.2 Übersicht der Energieverluste zur Photokonversionseffizienz (PCE). MPE: Maximale Effizienz der Photosynthese; PAR: photosynthetisch aktiver Bereich.

Energieverlust	Verlust [%]	Energetischer Restbetrag [%]	Optimierungsmöglichkeit
Totale Sonneneinstrahlung	-	100,0	
Anteil des nicht PAR-Bereiches ¹	55	45,0	nicht möglich
Reaktorreflexion ¹	10	40,5	Reaktoranpassung zur Reflexionsminderung
Verlust an Pigmenten ¹	21	32,0	Vermeidung von Lichtsättigung durch Reaktoranpassung
Konversion in chemische Energie (inklusive Anabolismus) ¹	65	11,2	Genetische Anpassung
Respiration ¹	20	9,0	Anpassung der Prozessdurchführung
Lichtsättigung und Lichtinhibierung ¹	40	5,4	Reaktorkonstruktion und genetische Anpassung

¹Tredici 2010 [35]

Im Labormaßstab wird anhand der PCE überwiegend die Effizienz unterschiedlicher Prozessfahrweisen und Organismen bewertet. Bei der Freilandkultivierung ermöglicht die PCE auch eine Eignung von Reaktorsystemen zur Kultivierung von Mikroalgen. Sie dient außerdem zum Vergleich von Reaktorsystemen, sofern die Rahmenbedingungen für alle Reaktoren identisch sind. Entscheidend ist, wie effizient das verfügbare Licht, in das Kultivierungssystem eingetragen und verteilt wird. Die Standfläche des Reaktors (Kapitel 3.4.2) in Kombination mit der eingestrahelten Lichtintensität ergibt dabei die Menge an nutzbarer photonischer Energie pro Reaktor.

2.1.6 Photobioreaktoren – Anforderungen und Klassifikation

2.1.6.1 Anforderungen an das Kultivierungssystem

Bioreaktoren können als ein Dreiphasensystem definiert werden, bei der die Zellen die Feststoffphase, das Medium die Flüssigphase und das eingetragene Gas die Gasphase darstellen. Beim Photobioreaktor kann eingestrahktes Licht als vierte Phase betrachtet werden [81]. Während der Kultivierung nehmen viele Parameter Einfluss auf das Wachstum, wobei Licht, Temperatur und die Nährstoffversorgung (Nährsalze, CO₂) die dominierenden Parameter darstellen. Abbildung 2.9 zeigt die Haupteinflussfaktoren auf das phototrophe Wachstum.

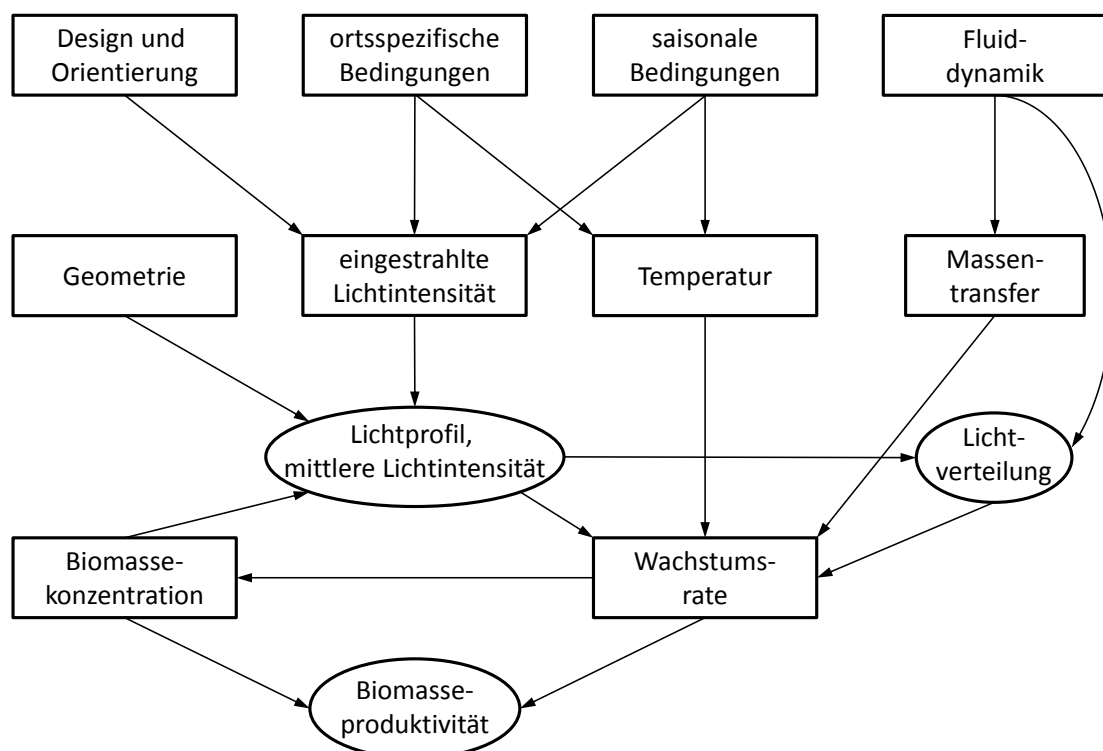


Abbildung 2.9 Übersicht der Haupteinflussfaktoren auf die Kultivierung von Mikroalgen unter Freilandbedingungen (modifiziert nach Flickinger [82]).

Die optimale Versorgung der Zellen mit Licht ist einer der wesentlichen Herausforderungen der Photobiotechnologie und wird durch das Reaktordesign bestimmt. Sowohl der Lichteintrag in den Reaktor als auch die Lichtverteilung innerhalb der Kultur wirken sich auf das Wachstum der Zellen aus. Um eine Photoinhibierung in Freilandkultivierungen –

aufgrund der hohen Lichtintensitäten – zu vermeiden, muss daher das auftreffende Licht soweit verdünnt werden, dass eine maximale Lichtausbeute erzielt werden kann (Abbildung 2.3). Carozzi prägte dabei den Begriff der „photic ratio“, welcher das Verhältnis von Beleuchtungsfläche zur Standfläche des Reaktorsystems darstellt [83, 84]. Innerhalb des Reaktors führen Abschattungseffekte durch die Mikroalgen zu einem Lichtprofil, das überwiegend von der Biomassekonzentration und der Reaktorschichtdicke definiert wird (Kapitel 2.1.3). Diesem Effekt kann durch Steigerung des Oberflächen/Volumen-Verhältnisses entgegengewirkt werden. Des Weiteren beeinflusst auch die Fluidynamik das Wachstumsverhalten, da durch das Mischen der Zellsuspension die Verweilzeit der einzelnen Zellen in den ausgebildeten Lichtzonen geprägt wird. Dabei führt eine optimale Frequenz des Hell/Dunkel-Zyklus zur Steigerung der Wachstumsrate („flashing light effect“, Kapitel 2.1.3) [81, 85, 86]. Weiterhin wird durch alternative Prozessführungsstrategien die photosynthetische Effizienz (PE) gesteigert, wobei im Wesentlichen die Zelldichte angepasst wird. Gängige Prozessfahrweisen sind in diesem Zusammenhang ein wiederholender Satzbetrieb (repeated Batch) als auch ein Turbidostat- oder Luminostat-Betrieb [87-89]. Eine weitere Anforderung an das Kultivierungssystem stellt die Temperierung des Kulturmediums dar. Dieses muss je nach Tagesverlauf gekühlt werden, da durch Infrarotstrahlung des Sonnenlichts als auch durch Energiedissipation der Mikroalgen eine Erwärmung des Mediums erfolgt. Um den energieaufwendigen Temperierungsprozess zu optimieren sind neue Technologien und Reaktorkonzepte zur Reduktion der dominierenden Infrarotstrahlung erforderlich [90] (Kapitel 3.3.8). Neben der Nährstoffversorgung, ist ein effizienter Gasaustausch zur CO₂-Versorgung als auch zur O₂-Abführung ein weiteres entscheidendes Kriterium für einen Photobioreaktor. Bioreaktoren haben somit die generelle Aufgabe optimale Bedingungen für das Wachstum und für die Produktbildung bereitzustellen und diese über den Kultivierungszeitraum konstant zu halten. Eine detaillierte Betrachtung der einzelnen Einflussfaktoren findet sich in der Literatur [60, 81, 91-97].

2.1.6.2 Klassifikation von Photobioreaktoren

Für die Kultivierung unter Freilandbedingungen haben sich drei Reaktorarten etabliert, die sich in offene und geschlossene Systeme einordnen lassen [60, 86, 90, 92, 94-96, 98, 99] (Kapitel 3.2.5 und Abbildung 2.10):

Open und Raceway Ponds

Diese Art der Reaktoren ist die einfachste und älteste Bauform für Photobioreaktoren und gehört durch ihre teichartige offene Struktur (Open Pond) zu den offenen Systemen. Für Raceway Ponds ist charakteristisch, dass sie durch ein Schaufelrad durchmischt werden und so gleichzeitig ein Gasaustausch mit der Umgebungsluft stattfinden kann.

Plattenreaktoren

Plattenreaktoren oder Flat-Plate-Reaktoren gehören zu den moderneren Reaktortypen und werden aufgrund ihrer Konstruktion zu den geschlossenen Systemen gezählt. Gewöhnlich findet bei diesen Reaktoren die Durchmischung durch Begasung statt. Durch ihre rechteckige, transparente und dünne Form werden geringe Reaktortiefen und große Beleuchtungsflächen erzielt. Diese resultieren in einen hohen Lichteintrag und eine gute Lichtverteilung.

Rohrreaktoren

Rohrreaktoren oder tubuläre Reaktoren gehören ebenfalls zu den geschlossenen Reaktorsystemen. Sie bestehen aus langen transparenten Röhren, die vertikal oder horizontal angeordnet sind. Das Medium wird stetig durch das Röhrensystem gefördert und zentral begast. Die zylindrische Grundform liefert ein gutes Oberflächen/Volumen-Verhältnis und bewirkt gleichzeitig eine Lichtfokussierung.

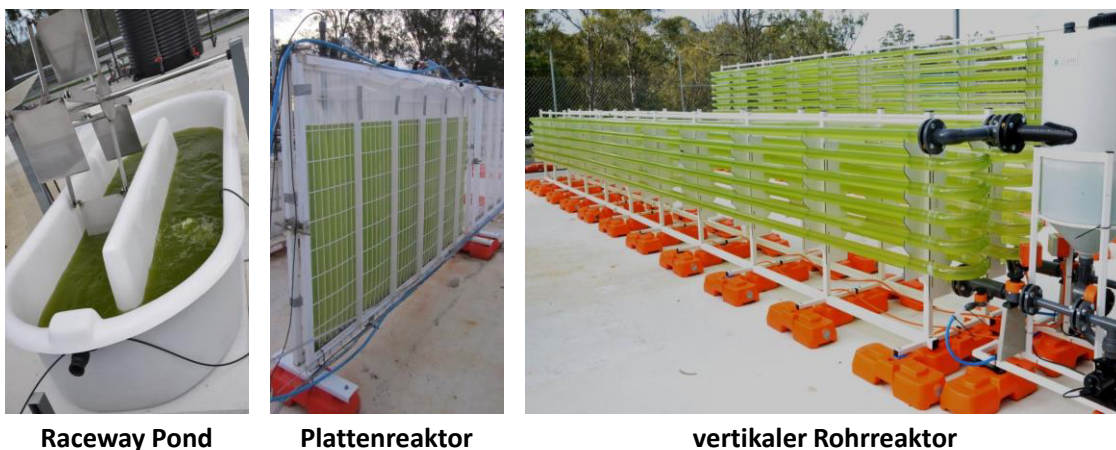


Abbildung 2.10 Übersicht der drei typischen Reaktorsysteme für Freilandkultivierungen (Aufnahmen vom Solar Biofuels Research Centre, SBRC)

In Tabelle 2.3 und Tabelle 2.4 sind die einzelnen Charakteristika der drei Reaktortypen und deren Kennzahlen wiedergeben.

Tabelle 2.3 Übersicht über die wichtigsten Kennzahlen der typischen Reaktorsysteme. PCE: Photokonversions-effizienz; SVR: Oberflächen/Volumen-Verhältnis

Parameter	Raceway Pond	Plattenreaktor	Rohrreaktor
Produktivität [g/l/d]	0,04 – 2,50	0,27 – 4,30	0,25 – 6,64
Produktivität [g/m ² /d]	11 – 27	19 – 72	19 – 130
PCE [%]	1 – 3	1,4 – 6,9	1,3 – 6,5
SVR [1/m]	2,3 – 10	10 – 83	22 – 179
Kosten [€/m ³]	~200	~3.000	~5.000
Energie [W/m ³]	1 – 4	~50	500 – 2.500

Referenzen: [83, 86, 92, 94-96, 98-103]

Tabelle 2.4 Übersicht über die Vor- und Nachteile der typischen Reaktorsysteme

Reaktor	Vorteil	Nachteil
<i>offene Systeme</i>		
Raceway Pond	geringe Investitions- und Betriebskosten geringer Energieverbrauch gute Skalierbarkeit	geringe Prozessregelungsmöglichkeit hohe Kontaminationsgefahr geringe Lichtverteilung u. -verdünnung geringe Produktivitäten Evaporation
<i>geschlossene Systeme</i>		
Plattenreaktor	gute Prozessregelung mittlere bis hohe Produktivitäten geringe Kontaminationsgefahr hohe Lichtverteilung u. -verdünnung gute Durchmischung u. Massentransfer geringer CO ₂ -Verlust geringer Flächenbedarf	schlechte Skalierbarkeit hydrodynamischer Stress Biofouling mittlere Investitions- und Betriebskosten
Rohrreaktor	hohe Lichtverteilung u. -verdünnung hohe Produktivitäten geringe Kontaminationsgefahr gute Prozessregelungsmöglichkeit geringer CO ₂ -Verlust geringer Flächenbedarf	schlechte Durchmischung u. Massentransfer Gradientenbildung (pH, Sauerstoff) hoher Nutzflächenbedarf geringe Skalierbarkeit hohe Investitions- und Betriebskosten

Referenzen: [93, 94, 99]

Neben diesen etablierten Reaktorsystemen finden auch weitere Reaktoren Anwendung. Blasensäulenreaktoren [104] als auch neuartige Entwicklungen werden in der Literatur oftmals beschrieben [81, 105, 106].

2.1.6.3 Kultivierungen im Freiland – Entwicklung von Pilotanlagen

Phototrophe Kultivierungen unter Freilandbedingungen unterliegen gegenüber Laborkultivierungen gesonderten Anforderungen. Die Infrastruktur muss dabei an die jeweiligen Ziele und örtlichen Gegebenheiten adaptiert werden – besonders, wenn es sich um wissenschaftliche Einrichtungen mit speziellen Fragestellungen handelt [107]. Für die Entwicklung und den Bau von Pilotanlagen sind daher die Fragestellungen und Ziele klar zu definieren. Insbesondere die Wahl eines geeigneten Versuchsstandortes stellt eine Herausforderung dar – soll dieser doch die bestmöglichen Voraussetzungen für den Reaktorbetrieb bieten. Die installierten peripheren Einrichtungen, wie auch die Mess- und Regeltechnik, müssen dabei den Vorgaben entsprechen, um den Fragestellungen gerecht zu werden. Ferner sind Abschattungseffekte durch eine geeignete Positionierung der Einrichtungen zu vermeiden. Ebenso ist die Wahl der eingesetzten Materialien von Bedeutung, da diese kontinuierlich den Umwelteinflüssen, wie UV-Strahlung, Wind und Niederschlag, ausgesetzt sind. Daher ist die Auslegung und Dimensionierung der gesamten Infrastruktur bedeutsam für die Planung einer Versuchsanlage. Die Erstellung und Anwendung von Standardvorgehensweisen (Standard Operating Procedures, SOP) ist für den reibungslosen und sicheren Betrieb einer Versuchsanlage außerdem ein wertvolles Werkzeug. SOPs beinhalten die Arbeitsanweisungen sowie wichtige sicherheitsrelevante Hinweise und Vorschriften. HAZOP (Hazard and Operability) Studien sind außerdem eine sinnvolle Methode zur Beurteilung möglicher Gefahren und nötiger Gegenmaßnahmen während des Arbeitsbetriebes [108, 109]. Sie dienen der Reduzierung von Gefahren sowie Unfällen und erhöhen somit die Sicherheit der Anlage. Eine detaillierte Planung und Entwicklung ist daher ein zentraler Faktor für den erfolgreichen Betrieb einer Pilotanlage.

3 Material und Methoden

3.1 Algenstämme

3.1.1 *Chlorella*

Die Süßwasser-alge *Chlorella vulgaris* gehört zu der Gattung der *Trebouxiophyceae* und zeichnet sich durch hohe Wachstumsraten mittels asexueller Vermehrung und einer hohen mechanischen Stabilität aus. Die Morphologie ist kugelförmig und die Zellgröße beträgt 5-10 µm. Die Mikroalge enthält als Pigmente Chlorophyll a und b sowie Karotinoide. Die Zellzusammensetzung weist außerdem signifikante Anteile von Proteinen, Lipiden Kohlenhydraten und Vitaminen auf, wodurch *Chlorella vulgaris* als Nährstofflieferant in der Nahrungs- und Futtermittelindustrie eingesetzt wird [110]. Außerdem dient der Stamm als Modellorganismus zur Erforschung metabolischer Vorgänge [111].

3.1.1.1 *Chlorella vulgaris*

Der verwendete Stamm 211-12 wurde von der Sammlung von Algenkulturen Göttingen (SAG) bezogen und wurde aus eutrophen Gewässern nahe Delft (Niederlande) isoliert.

3.1.1.2 *Chlorella sorokiniana*

Der eingesetzte Stamm 12_A9 wurde vom Institut für molekulare Biowissenschaften (IMB) der Universität Queensland [112] isoliert und bereitgestellt.

3.1.1.3 *Chlorella pyrenoidosa*

Der verwendete Stamm 10_B9 wurde vom Institut für molekulare Biowissenschaften (IMB) der Universität Queensland isoliert und stammt aus einer Gärtnerei in Brisbane, Australien.

3.1.2 *Micractinium pusillum*

Der Stamm 5-H4 wurde vom Institut für molekulare Biowissenschaften (IMB) der Universität Queensland in den Pinjarra Hills (Brisbane, Australien) isoliert und bereitgestellt.

3.2 Kultivierungsbedingungen

3.2.1 Nährmedien

3.2.1.1 *Chlorella vulgaris*

Das Kultivierungsmedium (Tabelle 3.1) für *Chlorella vulgaris* basiert auf Gorman und Levine [113] und Hutner [114]. Die genaue Zusammensetzung des Mediums für *Chlorella vulgaris* befindet sich im Anhang (Tabelle A.1).

Tabelle 3.1 Kultivierungsmedium für *Chlorella vulgaris* [113, 114]

¹Carl-Roth (analyserein, p.a.)

Komponente	Summenformel	Konzentration [g/l]
Di-Kaliumhydrogenphosphat ¹	K_2HPO_4	0,108
Kaliumdihydrogenphosphat ¹	KH_2PO_4	0,054
Ammoniumchlorid ¹	NH_4Cl	0,938
Magnesiumsulfat-Heptahydrat ¹	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0,250
Calciumchlorid-Dihydrat ¹	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0,125
Di-Natrium-EDTA ¹	$Na_2C_{10}H_{14}N_2O_8$	0,05
Borsäure ¹	H_3BO_3	0,011
Zinksulfat-Heptahydrat ¹	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0,022
Mangan(II)chlorid-Tetrahydrat ¹	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0,005
Eisen(II)sulfat-Heptahydrat ¹	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,005
Cobalt(II)chlorid-Hexahydrat ¹	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0,002
Kupfersulfat-Pentahydrat ¹	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,002
Ammoniumheptamolybdat-Tetrahydrat ¹	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	0,001

3.2.1.2 *Chlorella sorokiniana*

Als Kultivierungsmedien für *Chlorella sorokiniana* wurde das Tris-Acetat-Phosphat-Medium von Harris [115] verwendet und vom Institut für molekulare Biowissenschaften (IMB) der Universität Queensland an den Stamm adaptiert. Eingesetzt wurden sowohl Medien mit analysereinen Chemikalien als auch solche, die mit Chemikalien technischer Qualität angefertigt wurden (Tabelle 3.2 und Tabelle 3.3).

Tabelle 3.2 Kultivierungsmedium für *Chlorella sorokiniana* (alle Chemikalien sind analyserein)

¹Chem-Supply, ²Amresco

Komponente	Summenformel	Konzentration [g/l]
Ammoniumnitrat ¹	NH ₄ NO ₃	0,905
Kaliumdihydrogenphosphat ¹	KH ₂ PO ₄	0,272
Calciumchlorid-Dihydrat ¹	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,063
Magnesiumchlorid-Heptahydrat ¹	MgCl ₂ ·7H ₂ O	0,185
Borsäure ¹	H ₃ BO ₃	0,011
Eisen(II)sulfat-Heptahydrat ¹	FeSO ₄ ·7H ₂ O	0,001
Kupfersulfat-Pentahydrat ¹	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,002
Mangan(II)chlorid-Tetrahydrat ¹	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0,005
Zinksulfat-Heptahydrat ¹	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,002
Natriumselenat ¹	Na ₂ SeO ₄	1,73·10 ⁻⁵
Vanadylsulfat ¹	VO ₂ SO ₄	1,47·10 ⁻⁶
Natriummetasilicat-Pentahydrat ¹	Na ₂ SiO ₃ ·5H ₂ O	0,058
Cobalt(II)chlorid-Hexahydrat ¹	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,002
Ammoniumheptamolybdat-Tetrahydrat ¹	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	9,5·10 ⁻⁴
Di-Natrium-EDTA ²	Na ₂ C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈	0,200
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan ²	C ₄ H ₁₁ NO ₃	12,114
Vitamin B1 ¹	C ₁₂ H ₁₈ N ₄ OS	0,0156
Vitamin B12 ¹	C ₆₂ H ₈₈ CoN ₁₃ O ₁₄ P	1,355·10 ⁻⁴

Tabelle 3.3 Kultivierungsmedium für *Chlorella sorokiniana* mit Chemikalien technischer Qualität.
¹Westfarmers, ²Chem-Supply, ³Acros Organics, ⁴p.a. Chemikalien

Komponente	Summenformel	Konzentration [g/l]
Ammoniumsulfat ¹	(NH ₄)SO ₄	1,206
Calciumnitrat ¹	Ca(NO ₃) ₂	0,090
Kaliumnitrat ¹	K(NO ₃) ₂	0,203
Ammoniumphosphat ¹	(NH ₄) ₃ PO ₄	0,233
Magnesiumsulfat ¹	MgSO ₄	0,191
Eisen(II)sulfat-Heptahydrat ¹	FeSO ₄ ·7H ₂ O	2,94·10 ⁻⁴
Mangansulfat ¹	MnSO ₄	0,005
Kupfersulfat ¹	CuSO ₄	0,002
Zinksulfat ¹	ZnSO ₄	0,023
Dinatriumborat-Decahydrat ¹	B ₈ H ₈ Na ₂ O ₁₇ ·8H ₂ O	0,01
Natriummolybdat ¹	Na ₂ MoO ₄	0,001
Natriumchlorid ¹	NaCl	0,100
Cobalt(II)chlorid-Hexahydrat ^{2,4}	CoCl ₂ ·6H ₂ O	3,95·10 ⁻⁴
Natriumselenat ^{2,4}	Na ₂ SeO ₄	7,23·10 ⁻⁶
Vanadylsulfat ^{3,4}	VO ₂ SO ₄	3,76·10 ⁻⁷
Natriummetasilicat-Pentahydrat ^{2,4}	Na ₂ SiO ₃ ·5H ₂ O	0,008

3.2.1.3 *Chlorella pyrenoidosa*

Die Vorkulturführungen von *Chlorella pyrenoidosa* erfolgten in Tris-Acetat-Phosphat-Medium von Gorman und Hutner [113, 114] (vgl. Tabelle 3.1). Die Hauptkulturführung wurde mit dem Kulturmedium aus Tabelle 3.4 durchgeführt. Dieses wurde am Institut für molekulare Biowissenschaften (IMB) der Universität Queensland entwickelt.

Tabelle 3.4 Kultivierungsmedium für *Chlorella pyrenoidosa* mit analytischen Chemikalien¹Chem-Supply, ²Sigma-Aldrich, ³Acros Organics, ⁴Amresco

Komponente	Summenformel	Konzentration [g/l]
Ammoniumchlorid ²	NH ₄ Cl	0,674
Kaliumdihydrogenphosphat ¹	KH ₂ PO ₄	0,272
Calciumchlorid-Dihydrat ²	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,062
Magnesiumsulfat-Heptahydrat ¹	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,185
Borsäure ¹	H ₃ BO ₃	0,011
Kupfersulfat-Pentahydrat ¹	CuSO ₄ ·5H ₂ O	1,60·10 ⁻³
Manganchlorid-Tetrahydrat ¹	MnCl ₂ ·4H ₂ O	5,11·10 ⁻³
Zinksulfat-Heptahydrat ¹	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,044
Natriumselenat ³	Na ₂ O ₄ Se	1,73·10 ⁻⁵
Vanadylsulfat ³	VO ₂ SO ₄	1,47·10 ⁻⁵
Natriumsilikat-Pentahydrat ¹	Na ₂ SiO ₃ ·5H ₂ O	0,058
Cobaltchlorid-Hexahydrat ¹	CoCl ₂ ·6H ₂ O	1,59·10 ⁻³
Di-Natrium-EDTA ⁴	Na ₂ C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₈	7,44·10 ⁻³
Ammoniumheptamolybdat-Tetrahydrat ¹	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	1,10·10 ⁻³

3.2.1.4 *Micractinium pusillum*

Das Kultivierungsmedium für *Micractinium pusillum* basiert auf dem Tris-Acetat-Phosphat-Medium von Gorman und Levine [113] und Hutner [114]. In Tabelle 3.1 ist die Nährstoffzusammensetzung wiedergeben. Ergänzend wurde konzentrierte Essigsäure (Chem-Supply) als zusätzliche Kohlenstoffquelle dem Medium zugesetzt. Die Konzentration betrug hierbei 1 ml/l.

3.2.2 Kultivierungen im Schüttelkolben

Die Kultivierungen im Schüttelkolben erfolgten mit *Micractinium pusillum*.

3.2.2.1 Stammhaltung

Eine Emerskultur von *Micractinium pusillum* wurde als Stammhaltung verwendet. TAP-Medium mit 1 % Agar als Geliermittel wurde als Medium verwendet [113, 114]. Als zusätzliche Kohlenstoffquelle wurde dem Medium 0,1 % (v/v) Essigsäure zugesetzt.

3.2.2.2 Vor- und Hauptkulturführung

Für die Vorkulturführung wurde ein 1l-Schüttelkolben mit *Micractinium pusillum* inokuliert und bei 100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ bei Raumtemperatur und einer Schüttelfrequenz von 120 rpm (Bioline Orbital Shaker, Edwards Froup Pty Ltd) inkubiert. Als Medium wurde 250 ml TAP-Medium mit 0,1 % (v/v) Essigsäure [113, 114] verwendet. Nach einer Inkubationszeit von 4 Tagen wurde die Hauptkultur inokuliert, wobei eine optische Dichte von 0,1 zu Beginn der Kultivierung eingestellt wurde (Kapitel 3.3.1). Die Hauptkulturführung war identisch zur Vorkulturführung.

3.2.3 Satzkultivierung in 1l-Plattenreaktoren

Die Untersuchung des kombinierten Einflusses der Lichtintensität und der Kultivierungstemperatur auf das Wachstumsverhalten von Mikroalgen wurde im Labormaßstab durchgeführt, da hier kontrollierte und reproduzierbare Bedingungen vorlagen. Durch die kurze Rüstzeit der Reaktoren konnte außerdem die Dauer der Experimente verkürzt werden.

3.2.3.1 Stammhaltung und Vorkulturführung

Die Stammhaltung für *Chlorella vulgaris* erfolgte submers in 500ml-Schüttelkolben mit einem Füllvolumen von 200 ml. Dabei wurden diese auf einem Rotationschüttler (KS 501 digital, IKA Werke GmbH) bei einer Schüttelfrequenz von 100 rpm und einem Schüttelradius von 50 mm in Inkubatoren (MK 1200, Flohr Instruments) bei 25 °C inkubiert. Als Lichtquelle wurden Beleuchtungsmodule (Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich III:

Bioverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)), ausgestattet mit SMD-LEDs, verwendet. Die Photonenflussdichte (PFD) wurde auf $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ eingestellt. Die Begasung erfolgte über einen Wattestopfen per Diffusion. Als Kultivierungsmedium wurde die Nährstoffzusammensetzung aus Tabelle 3.1 verwendet. Um den pH-Wert zu regulieren, wurde Tris(hydroxymethyl)-aminomethan-Puffer in einer Konzentration von $2,42 \text{ g/l}$ zugegeben und der pH-Wert vor dem Autoklavieren mit 2M Salzsäure auf pH 7,5 eingestellt. Im Intervall von 7 Tagen wurde die Kultur in frisches Medium überführt. Im Zyklus von 4 Monaten wurde die Submersstammhaltung durch Überimpfen aus einer Emerskultur (SAG) erneuert.

3.2.3.2 Hauptkulturführung

Die Hauptkulturführungen erfolgten im Parallelansatz in drei 1l-Plattenreaktoren, welche vom Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich III: Bioverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) entwickelt wurden [116]. Das Verfahrensfließbild für den Reaktor im Satzbetrieb ist in Abbildung 3.1 wiedergeben. Die Reaktoren bestehen aus einem Stahlrahmen mit zwei Borosilikat-Glasplatten an der Front- und Rückseite. Die Abmessungen betragen $350 \text{ mm} \times 200 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$ [H \times B \times T]. Die Kultivierungstemperatur wird über die seitlichen Edelstahlteile des Rahmens durch Anschluss von Kühl- und Heizwasser reguliert. Eine gleichmäßige Begasung wird durch eine Polytetrafluorethylen (PTFE)-Membran mit $1 \mu\text{m}$ Porengröße (THOMAPOR, Reichelt Chemietechnik), welche in das Bodensegment installiert ist, erzielt. Gleichzeitig findet durch die Begasung eine Durchmischung der Kultivierungssuspension statt. Mittels eines PTFE Spritzenvorsatzfilters mit $0,2 \mu\text{m}$ Porengröße (Minisart SRP15, Sartorius) wird das Zugas sterilisiert. Um das Bersten der Glasscheiben durch Überdruck zu vermeiden, befindet sich vor dem Reaktor ein Überdruckventil, welche auf $0,5 \text{ bar}$ eingestellt ist. Luer-Lock-Anschlüsse zur Stellmittel- und Medienzugabe sowie zur Probennahme über ein Safeflow- Membranventil (Braun) sind in der Edelstahlkopfplatte angebracht. Zusätzlich befinden sich weitere Anschlussmöglichkeiten für Messsonden in der Kopfplatte. Zur Minimierung von Evaporations-Effekten wird die Abluft über eine Edelstahl-Kühlfalle, welche mit dem Kühlwasser verbunden ist, geleitet. Eine Schaumfalle und ein PTFE Spritzenvorsatzfilter mit $0,2 \mu\text{m}$ Porengröße (Minisart SRP15, Sartorius) befinden sich hinter der Kühlfalle. Die Beleuchtungseinheit ist im Abstand von 10 cm von der Oberfläche installiert und besteht aus lichtemittierenden Dioden (LEDs) des Typs

NS6L083AT (Nichia). Eine Fokussierung des warmweißen Lichtes auf die Reaktoroberfläche wird mit Kollimatoren mit 6° Abstrahlwinkel (IMM Photonics) erreicht. Die Lichtintensität wurde durch Variation der Stromstärke, bei konstant gehaltener Spannung, eingestellt. Die Messung der PFD erfolgte hinter der ersten Glasscheibe mit dem planaren Lichtsensor LI-250 (LI-Cor).

Über das auf LabView (National Instruments) basierende Prozessleitsystem BioProCon wurden die prozessrelevanten Parameter aufgezeichnet und geregelt. Dabei erfolgte die Temperaturregelung über einen P-Regler und die Messung der Temperatur über ein PT100 Widerstandsthermometer. Der pH-Wert wurde mit dem Polylite Plus Arc 225 pH Sensor von Hamilton gemessen und durch Zugabe von 2 M Natronlauge über eine Schlauchpumpe reguliert. Als Regler wurde ein P-Regler eingesetzt. Mittels Massendurchflussregler (Mass-Flow, MKS Instruments) wurden die Gasvolumenströme von Kohlenstoffdioxid und Druckluft für den Zugasstrom eingestellt.

Die Autoklavierung der Reaktoren erfolgte separat vom Medium im Kammerautoklaven (Variaklav, H+P Labortechnik). Um Beschädigung an den zuvor kalibrierten pH-Sonden zu vermeiden, wurden diese separat in 3M Kaliumchloridlösung autoklaviert. Unter sterilen Umgebungsbedingungen (Sterilbank) wurden die pH-Sonden im Reaktor installiert und autoklaviertes Medium sowie die autoklavierte Abgasflasche über Luer-Lock Kupplungen an den Reaktor angeschlossen. Stellmittel und Medium wurden nachträglich über Luer-Lock Kupplungen angebracht und das Medium bei eingeschalteter Begasung in den Reaktor überführt. Vor Beginn der Kultivierung wurde das Medium mit Kohlenstoffdioxid (CO₂) angereicherter Druckluft (Anteil: 2,5 %) gesättigt, um Wachstumslimitierungen durch eine zu geringe Kohlenstoffdioxidkonzentration in der Flüssigphase zu vermeiden. Eine pH-Verschiebung des Mediums während der Sättigung wurde durch Zugabe von Natronlauge kompensiert.

Für die Kultivierungen von *Chlorella vulgaris* wurde das Nährmedium aus Tabelle 3.1 verwendet. Um höhere Biomassekonzentrationen zu erreichen, wurden die Konzentrationen von Ammoniumchlorid, Magnesiumsulfat, Calciumchlorid, Kaliumdihydrogenphosphat sowie von Di-Kaliumhydrogenphosphat um das 2,5-fache gesteigert. Das Flüssigvolumen betrug 1 l. Um den Verbrauch an CO₂ während der Kultivierung zu kompensieren wurde eine Begasungsrate von 0,4 vvm bei einem CO₂-Anteil im Gasvolumenstrom von 2,5 % gewählt.

Der pH-Wert wurde durch Zugabe von Stellmittel (2M Natronlauge) auf einen Wert von pH 7,5 geregelt. Um die Vergleichbarkeit der einzelnen Experimente zu gewährleisten, wurde das Inokulierungsvolumen so gewählt, dass stets eine optische Dichte (OD) von 0,07 zu Beginn der Kultivierung vorlag (Kapitel 3.3.1).

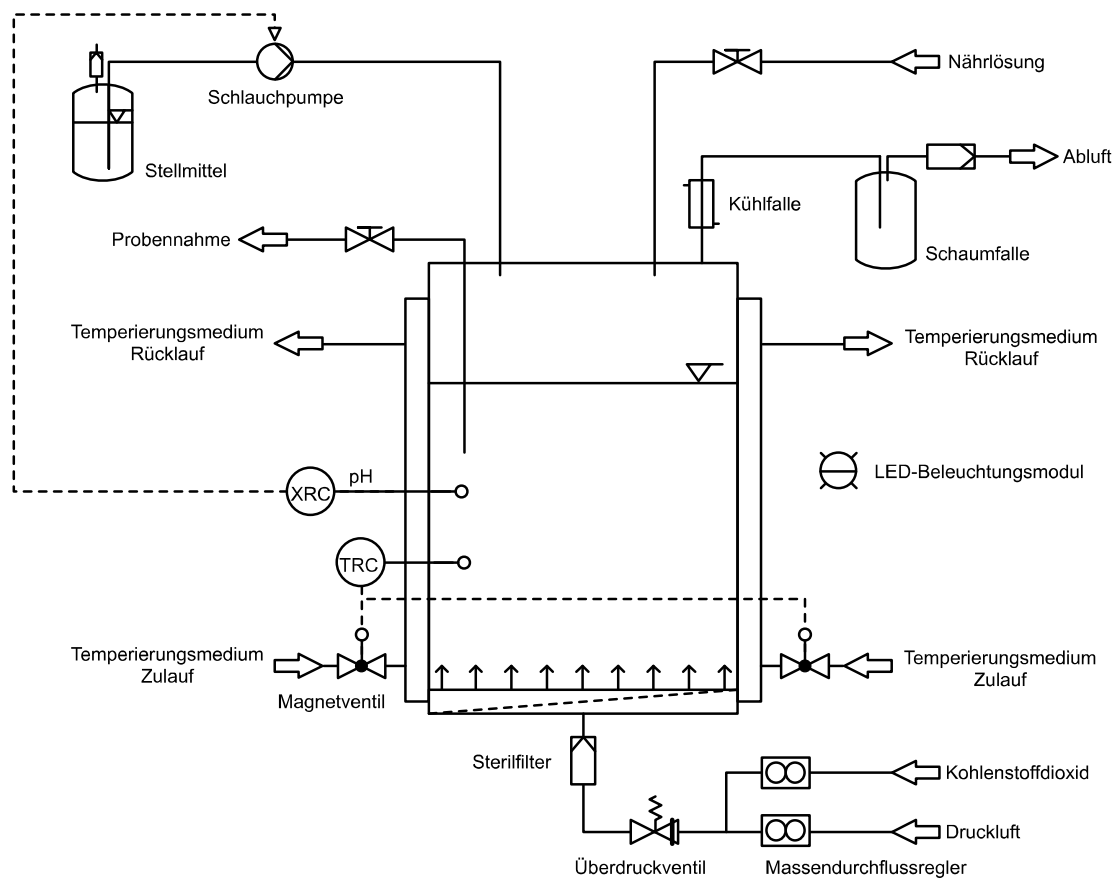


Abbildung 3.1 Verfahrensfliessschema zur Batchkultivierung im 11-Plattenreaktor

3.2.4 Kultivierungen im Rührkesselreaktor

Im 2l-Modell-Photobioreaktor (Abbildung 3.2) des Typs KLF 2000 (Bioengineering) [68] wurden Kultivierungen zur Reduzierung des CO₂-Verbrauchs im Satzbetrieb durchgeführt. Des Weiteren wurde der Reaktor als zweite Vorkulturstufe (Kapitel 3.2.6) verwendet.

3.2.4.1 Stammhaltung und Vorkulturführung

Die Stammhaltung und Vorkulturführung erfolgte wie in Kapitel 3.2.3.1.

3.2.4.2 Hauptkulturführung

Um den Rührkesselreaktor für die Kultivierung von phototrophen Organismen nutzbar zu machen, wurde ein LED-Beleuchtungsmodul (Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich III: Bioverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)) eingesetzt. Das Modul besteht aus zwei Halbschalen, welche den Glaszylinder des Reaktors vollständig umfassen und ist mit lichtemittierenden Dioden (LEDs) des Typs NS6L083AT (Nichia) bestückt. Eine Fokussierung des warmweißen Lichtes auf die Reaktoroberfläche wird mit Kollimatoren mit 6° Abstrahlwinkel (IMM Photonics) erreicht. Die PFD kann über die Variation der Stromstärke eingestellt werden. Die Temperierung des Reaktors erfolgt über einen elektrischen Heizstab und über einen Kühlwasser führenden Kühlstab. Die Begasung erfolgt über einen Begasungsring. Die Dispergierung der Gasblasen als auch die Durchmischung der Kultur wird über zwei radial fördernde Scheibenblattrührer mit jeweils 6 Rührblättern gewährleistet. Da der totale Begasungsstrom für eine direkte Messung des Abgases durch die Abgasanalytik (Mutor 610, Maihak) zur gering ist, wird das Abgas in einer PE-Abgastüte gesammelt und chargenweise der Abgasanalytik zugeführt. In Intervallen von ca. 10 min können so die Partialdrücke von CO₂ und O₂ im Abgas ermittelt werden. Die Steuerung erfolgt hierbei durch zwei kombinierte Magnetventile.

Über das auf LabView (National Instruments) basierende Prozessleitsystem BioProCon wurden die prozessrelevanten Parameter aufgezeichnet und geregelt. Dabei erfolgte die Temperaturregelung über einen P-Regler und die Messung der Temperatur über ein PT100 Widerstandsthermometer. Der pH-Wert wurde über den Easyferm Plus 225 pH Sensor von Hamilton gemessen und durch die Zugabe von Stellmittel über eine Schlauchpumpe reguliert. Als Regler wurde ein P-Regler eingesetzt. Mittels Massendurchflussregler (Mass-Flow, MKS Instruments) wurden die Gasvolumenströme von Kohlenstoffdioxid und Druckluft für den Zugasstrom eingestellt. Für die CO₂-Reduzierungsversuche wurden die Gasvolumenströme über einen dCO₂-Sensor (dissolved CO₂) InPro5000 (Mettler-Toledo) reguliert. Als Regelungssystem wurde hier ein P-Regler verwendet.

Die Autoklavierung des mit Medium (Tabelle 3.1) gefüllten Reaktors erfolgte in situ, wobei Ammoniumchlorid, Magnesiumsulfat und Calciumchlorid als Stocklösung nach der Autoklavierung steril zugegeben wurden. Vor Beginn der Kultivierung wurde das Medium mit Kohlenstoffdioxid (CO₂) angereicherter Druckluft gesättigt und durch Zugabe von Stellmittel der pH-Wert konstant gehalten.

Die Kultivierungen von *Chlorella vulgaris* wurden im Nährmedium aus Tabelle 3.1 durchgeführt. Für die CO₂-Reduzierungsversuche wurde zunächst das Medium mit CO₂ gesättigt und mit 2M Natronlauge neutralisiert. Während der Kultivierung wurde der pH mittels 2,5 %iger Ammoniaklösung geregelt. Die Zugabe von CO₂ erfolgte durch Variation des CO₂-Partialdruckes im Zugas. Als Regelgröße diente hier das dCO₂-Signal, wobei ein Wert von 0,05 % bzw. 0,5 % als Sollwert definiert wurde.

Für die Vorkulturführung der Freilandexperimente (Kapitel 3.2.6) wurden die Konzentrationen von Ammoniumchlorid, Magnesiumsulfat, Calciumchlorid, Kaliumdihydrogenphosphat sowie von Di-Kaliumhydrogenphosphat um das 2,5-fache gesteigert. Der Partialdruck von CO₂ im Zugas wurde hier auf 4 % eingestellt um Wachstumslimitierungen zu vermeiden. Die Lichtintensität betrug zu Beginn der Kultivierung 150 µmol/m²/s und wurde im späteren Verlauf auf 300 µmol/m²/s erhöht um Lichtlimitationen zu kompensieren. Der pH-Wert wurde durch Zugabe von 2 M Natronlauge geregelt. Alle Kultivierungen wurden bei einer Temperatur von 25 °C bei einer Rührdrehzahl von 250 rpm und einer Begasungsrate von 0,056 vvm durchgeführt. Das Flüssigvolumen betrug jeweils 1,7 l.

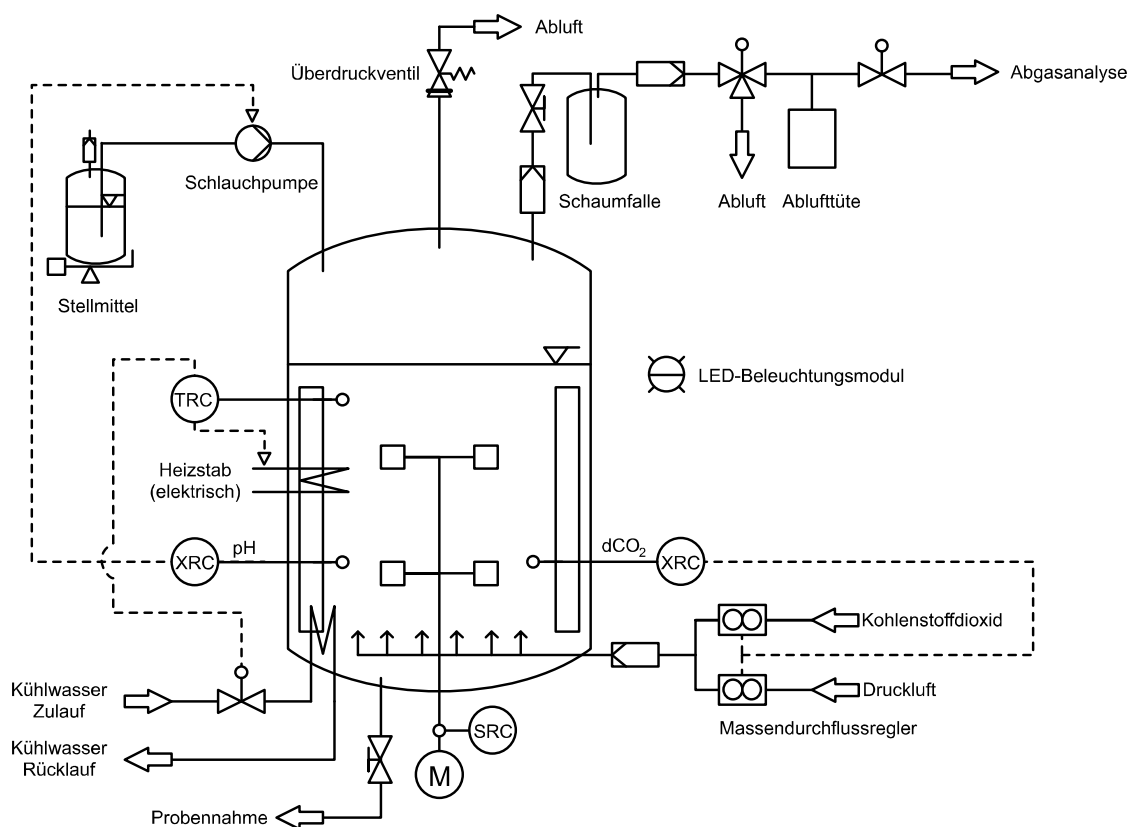


Abbildung 3.2 Verfahrensfliessschema zur Batchkultivierung im 2l-Modell-Photobioreaktor

3.2.5 Kultivierungen im Pilot-Maßstab am Solar Biofuels Research Centre (SBRC)

Das Solar Biofuels Research Centre (SBRC) ist eine Freiland-Versuchsanlage für Photobioreaktoren im Pilotmaßstab und befindet sich im australischen Brisbane (Kapitel 4.2). Die Effizienz unterschiedlicher Photobioreaktoren im Pilotmaßstab wurde hier unter identischen Bedingungen untersucht. Hierbei lag der Fokus auf der Konvertierung der Lichtenergie in Biomasse und die daraus resultierende Biomasseproduktivität, welche maßgeblich durch die Reaktorgeometrie bestimmt wird.

3.2.5.1 Stammhaltung und Vorkulturführung

Die Stammhaltung basierte auf einer Emerskultur von *Chlorella sorokiniana* auf TAP-Medium mit 1 % Agar als Geliermittel [115]. Diese wurde verwendet, um einen 200ml-Schüttelkolben mit 10ml TAP-Medium zu inokulieren. Die Inkubation erfolgte bei einer Lichtstärke von $30 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ auf einem Rotationsschüttler (Bioline Orbital Shaker, Edwards Froup Pty Ltd) bei einer Schüttelfrequenz von 80 rpm und bei Umgebungstemperatur.

Während der Kultivierung wurde in regelmäßigen Abständen frisches Medium der Kultur zugeführt, sodass ein Endvolumen von 40 ml vorlag. Nach 14 Tagen wurde die Vorkultur verwendet um einen 5l-Schüttelkolben mit 750 ml TAP-Medium zu beimpfen. Dieser wurde bei einer Lichtstärke von $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ sowie einer Schüttelfrequenz von 70 rpm bei Raumtemperatur kultiviert. Wie bei der vorherigen Vorkultur wurde regelmäßig frisches Medium hinzugefügt, sodass nach 7 Tagen ein Endvolumen von 1000 ml vorlag. Ein steriler Kultivierungsbeutel (Pure Biomass, USA) mit 4l TP-Medium (ohne Essigsäure) wurde mit der Vorkultur inokuliert. Dieser wurde mit 0,5 l/min Druckluft begast und mit einer Lichtintensität $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ bestrahlt. Die Kultivierung fand unter Umgebungstemperaturen statt. In regelmäßigen Abständen wurde der pH-Wert offline bestimmt und ggf. mit 3M Natronlauge auf einen pH-Wert von 7 eingestellt. Außerdem wurde der Kultur frisches Medium in zyklischen Abständen zugeführt, sodass nach 16 Tagen ein Endvolumen von 18 l vorlag. Zur Adaption an den Tag/Nacht-Zyklus wurde die Kultivierung nach 10 Tagen im Freiland fortgesetzt. In der letzten Vorkulturstufe wurde ein großer Flat-Plate-Reaktor mit 300 l Medium aus Tabelle 3.2 inokuliert. Die Begasungsrate betrug hier 0,03 vvm. Der CO_2 -Anteil im Zugas wurde über einen P-Regler auf einem Arbeitspunkt von 1 % gehalten. Der pH-Wert wurde mit 1,5M Ammoniumhydroxid auf einem pH-Wert von 7 mittels eines P-Reglers gehalten. Während der Kultivierung fand keine Temperaturregelung statt.

3.2.5.2 Hauptkulturführung

Die im Satzbetrieb durchgeführten Hauptkulturen erfolgten parallel in verschiedenen Reaktortypen. Es handelte sich dabei um Raceway Pond Systeme, Flat-Plate-Reaktoren und tubuläre Photobioreaktoren, die im Folgenden detailliert betrachtet werden.

Raceway Pond Reaktoren

Die verwendeten Reaktoren wurden vom Projektpartner KBR für das SBRC entwickelt. Ein Verfahrensfließbild der Reaktoren befindet sich in Abbildung 3.3. Die Reaktoren wurden bei einem Füllvolumen von 292 l betrieben und besitzen die Abmessungen von $2715 \text{ mm} \times 1000 \text{ mm} \times 500 \text{ mm}$ [L \times B \times H]. Sie bestehen aus glasfaserverstärktem Kunststoff (GFK) und haben die Form einer Wanne, in deren Mitte eine Trennwand integriert ist. In Kombination mit einem Schaufelrad (paddle wheel) wird die Algensuspension sowohl durchmischt als auch

in eine zyklische Rotationsbewegung versetzt. An der oberen Seitenwand befindet sich eine Einlassöffnung für Nährlösung und im Boden ist eine Auslassöffnung mit Absperrventil vorhanden. Durch eine Begasungsfritte, welche aus einem gelöchertem Polyvinylchlorid (PVC) Rohr (Rohrlänge: 2280 mm, Rohrdurchmesser: 20 mm, Lochdurchmesser 0,2 mm, Lochabstand: 100 mm) besteht, wird CO₂ angereicherte Druckluft zur CO₂-Versorgung der Mikroorganismen in die Kultur geleitet. Die jeweiligen Gasströme werden hierbei durch Massendurchflussregler (Mass-Flow, MKS Instruments) eingestellt. Über eine Sondenplatte, die sich an der Oberseite befindet, können Messsonden ins Reaktorsystem integriert werden. Die Zuführung von Stellmittel erfolgt durch eine Druckluft überlagerte Stellmittelflasche, wobei über ein Magnetventil (2-Wege NC Quetschventil 075P2NC24-01S, Bio-Chem Fluidics) die Stellmittelzugabe ermöglicht wird. Dabei verhindert ein Überdruckventil, dass sich ein zu hoher Überlagerungsdruck aufbaut. Für die Kultivierung unter Freilandbedingungen ist es notwendig, die gesamte Mess- und Regelungsperipherie vor den äußeren Umgebungsbedingungen zu schützen. Deshalb wurden s.g. Control Units konstruiert, welche die Peripherie beinhalten.

Die Fermentationen wurden über das auf LabView basierende Prozessleitsystem BioProCon gesteuert und geregelt. Der pH-Wert wurde mit dem PolyLite Plus Arc 225 pH Sensor der Firma Hamilton gemessen, wobei über die Messgröße sowohl die Regulierung des CO₂-Flusses als auch die Zugabe von Stellmittel (1,5 M Ammoniumhydroxid) erfolgte. Als Regelungssystem wurde jeweils ein P-Regler verwendet.

Die Kultivierung von *Chlorella sorokiniana* erfolgte im optimierten Medium (Tabelle 3.3). Das Kultivierungsvolumen betrug hierbei 292 l bei einer Begasungsrate von 5 l/min. Der pH-Wert wurde auf 7 geregelt. Eine aktive Temperaturregelung fand nicht statt, da eine Regulierung für dieses Reaktorsystem über Evaporation vorgesehen ist. Vor dem Start der Kultivierung wurde außerdem das Kultivierungsmedium mit CO₂ auf einen Partialdruck im Zugas von 1 % gesättigt. Eine pH-Verschiebung im Medium wurde dabei durch Zugabe von 2 M Natronlauge kompensiert. Der eingestellte Gasvolumenstrom wurde als Arbeitspunkt festgelegt. Das Inokulierungsvolumen wurde so gewählt, dass stets eine optische Dichte (OD) von 0,38 zu Beginn der Kultivierung vorlag (Kapitel 3.3.1).

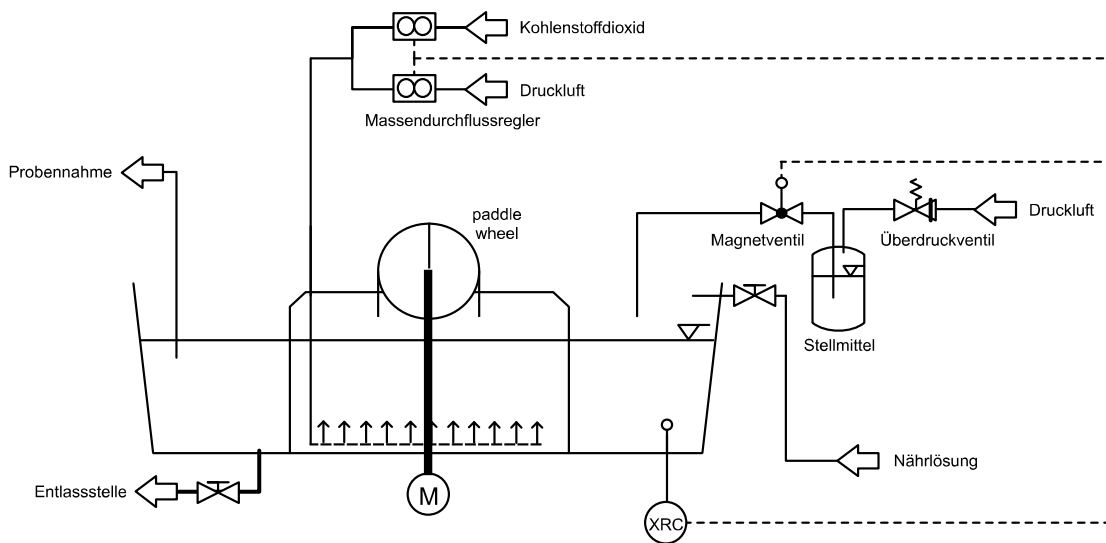


Abbildung 3.3 Verfahrensfliesschema zur Satzkultivierung im Raceway Pond Reaktor

Flat-Plate Reaktoren

Die Flat-Plate Reaktoren wurden von der Firma TBN bezogen und von M. Grima (Spanien) entwickelt. Für die Kultivierungen standen zwei Reaktortypen zur Verfügung. Abbildung 3.4 zeigt ein Verfahrensfliessbild der Reaktoren. Diese besitzen die Abmessungen von 2615 mm × 500 mm × 850 mm sowie 2615 mm × 500 mm × 1700 mm [L × B × H]. Zwei Metallgitterrahmen stützen dabei eine Reaktortüte aus Polyethylen (PE). Der Abstand zwischen den Metallgitterrahmen ist dabei variabel und kann auf 50 mm bis 200 mm eingestellt werden. Durch eine Begasungsfritte, welche aus einem gelöchertem PVC-Rohr (Rohrlänge: 2280 mm, Rohrdurchmesser: 20 mm, Lochdurchmesser 0,2 mm, Lochabstand: 100 mm) besteht, wird CO₂ angereicherte Druckluft zur CO₂-Versorgung der Mikroorganismen in die Kultur geleitet. Die jeweiligen Gasströme werden durch Massendurchflussregler (Mass-Flow, MKS Instruments) eingestellt. Über eine Sondenkopfplatte, die sich an der Oberseite befindet, können Messsonden ins Reaktorsystem integriert werden. Die Zuführung von Stellmittel erfolgt durch eine Druckluft überlagerte Stellmittelflasche, wobei über ein Magnetventil (2-Wege NC Quetschventil 075P2NC24-01S, Bio-Chem Fluidics) die Stellmittelzugabe ermöglicht wird. Dabei verhindert ein Überdruckventil, dass sich ein zu hoher Überlagerungsdruck aufbaut. Zur Temperierung des Reaktors steht eine Kühlschlange aus Edelstahl zur Verfügung, durch die Kühlwasser geleitet wird. Die Regulierung des Flüssigkeitsstroms erfolgt durch einen einstellbaren

Druckminderer (DRW 12 B, Landefeld). Zur Messung der Kultivierungstemperatur wurde ein PT100 Widerstandsthermometer verwendet. Zur Messung der Partialdrücke von CO₂ und O₂ wird aus dem Reaktorkopfraum aktiv Abluft entnommen und der Abgasanalytik (Ultramat 23, Siemens) zugeführt. Um die Kondensatbildung im Analysator zu vermindern wird die Abluft zuvor durch einen Kondensatabscheider (AK 20 V, Buehler Technologies) geleitet. Zur Installation der Messsensorik im Reaktorsystem wurden vom Instituts für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich III: Bioverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) sowohl Sondenkopfleche als auch Sondenröhren entwickelt, die es ermöglichen die Sensorik an verschiedenen Stellen im Reaktor zu positionieren. Des Weiteren wird durch das Sondenkopflech das offene Reaktorsystem von der Umgebung weitestgehend separiert. Für die Kultivierung unter Freilandbedingungen ist es notwendig, die gesamte Mess- und Regelungsperipherie vor den äußeren Umgebungsbedingungen zu schützen. Deshalb wurden so genannte Control Units konstruiert, welche die Peripherie umschließen.

Die Fermentationen wurden über das LabView basierte Prozessleitsystem BioProCon gesteuert und geregelt. Der pH-Wert wurde mit dem PolyLite Plus Arc 225 pH Sensor der Firma Hamilton gemessen, wobei über diese Messgröße sowohl die Regulierung des CO₂-Flusses als auch die Zugabe von Stellmittel (1,5 M Ammoniumhydroxid) erfolgte. Als Regelungssystem wurde jeweils ein P-Regler verwendet. Die Temperatur wurde ebenfalls über einen P-Regler gesteuert. Die Kultivierung von *Chlorella sorokiniana* erfolgte im optimierten Medium (Tabelle 3.3). Die Kultivierungsvolumina betragen hierbei 120 l bzw. 320 l bei einer Rahmendistanz von 50 mm und einer Begasungsrate von je 0,05 vvm. Der pH-Wert wurde auf 7 geregelt. Die Temperatur wurde nicht geregelt. Vor dem Start der Kultivierung wurde außerdem das Kultivierungsmedium mit CO₂ auf einen Partialdruck im Zugas von 1 % gesättigt. Eine pH-Verschiebung im Medium wurde dabei durch Zugabe von 2 M Natronlauge kompensiert. Der eingestell Gasvolumenstrom wurde als Arbeitspunkt festgelegt. Das Inokulierungsvolumen wurde so gewählt, dass stets eine optische Dichte (OD) von 0,38 zu Beginn der Kultivierung vorlag (Kapitel 3.3.1).

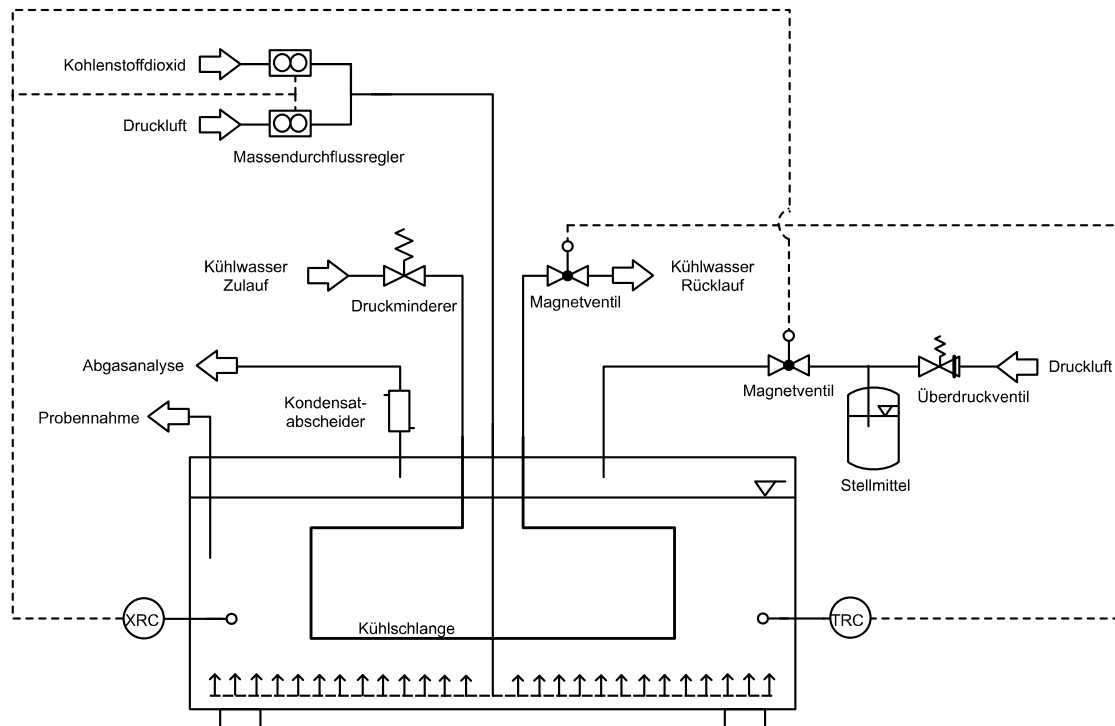


Abbildung 3.4 Verfahrensfliesschema zur Satzkultivierung im Flat-Plate Reaktor

Tubuläre Photobioreaktoren

Die tubulären Photobioreaktoren wurden von der Firma LGem (Niederlande) in zwei Ausführungen bezogen. Abbildung 3.5 zeigt ein Verfahrensfliessbild der Reaktoren. Die Beleuchtungsröhren bestehen aus transparentem PVC mit einem Innendurchmesser von 62 mm. Die Röhren sind serpentinenförmig angeordnet und besitzen jeweils eine Länge von 10453 mm, wobei eine Gesamtlänge pro Reaktor von 253000 mm erreicht wird. Für den hohen Reaktortyp sind 24 Röhren übereinander angeordnet, sodass eine Gesamthöhe des Reaktors von 1900 mm vorliegt. Der flache Reaktor besteht aus zwei Modulen mit je 12 Röhren, wobei die Module im Abstand von 540 mm (bezogen auf die Mittelachsen) angeordnet sind. Diese besitzen dabei eine Höhe von 1150 mm. Die Abstände zwischen den Röhren betragen in der vertikalen Richtung jeweils 125 mm (bezogen auf die Mittelpunkte) und in der horizontalen Richtung 265 mm (bezogen auf die Mittelpunkte). Über eine Flüssigkeitspumpe (PondEco 8000, SuperFish®) wird Kulturmedium aus einem Ausgleichsmischbehälter vom Boden angesaugt, durch die Beleuchtungsstrecke gefördert und im Kopfteil des Behälters wieder zurückgeführt. Die Begasung erfolgt über Recyclingpumpen, die aus dem Reaktorkopfraum des Ausgleichsmischbehälters Abluft

ansaugen und diese dem Kulturmedium hinter der Flüssigkeitspumpe wieder zugeführt wird. Für den hohen Reaktor wurde die Pumpe AL80-SB und für den flachen Reaktor die Pumpe AL120-SB von Alital verwendet. Eventuell angesaugtes Kulturmedium wird dabei durch eine Schaumfalle vor der Recyclingpumpe abgeschieden. Hinter der Recyclingpumpe wird über Massendurchflussregler (Mass-Flow, MKS Instruments) mit CO₂ angereicherte Druckluft dem System zugeführt. Überschüssige Abluft kann dabei durch eine Öffnung im Ausgleichsmischbehälter entweichen. Durch diesen Aufbau soll das eingespeiste CO₂ recycelt und der Verbrauch von CO₂ gemindert werden. Zur Messung der Partialdrücke von CO₂ und O₂ wird aus dem Recyclingstrom aktiv Abluft entnommen und der Abgasanalytik (Ultramat 23, Siemens) zugeführt. Um Kondensatbildung im Analysator zu vermindern wird die Abluft zuvor durch einen Kondensatabscheider (AK 20 V, Buehler Technologies) geleitet. Die Zuführung von Stellmittel erfolgt durch eine Druckluft überlagerte Stellmittelflasche, wobei über ein Magnetventil (2-Wege NC Quetschventil 075P2NC24-01S, Bio-Chem Fluidics) die Stellmittelzugabe in den Ausgleichsmischbehälter ermöglicht wird. Die Temperierung des Reaktors erfolgt über eine Sprühnebelkühlung mit Zerstäuberdüsen der Firma Pope. Zur Messung der Reaktortemperatur wird ein PT100 Widerstandsthermometer verwendet.

Für die Kultivierung unter Freilandbedingungen ist es notwendig, die gesamte Mess- und Regelungperipherie vor den äußeren Umgebungsbedingungen zu schützen. Deshalb wurden so genannte Control Units konstruiert, welche die Peripherie enthalten.

Die Fermentationen wurden über das LabView basierte Prozessleitsystem BioProCon gesteuert und geregelt. Der pH-Wert wurde mit dem PolyLite Plus Arc 225 pH Sensor der Firma Hamilton gemessen, wobei über diese Messgröße sowohl die Regulierung des CO₂-Flusses als auch die Zugabe von Stellmittel (1,5 M Ammoniumhydroxid) erfolgte. Als Regelungssystem wurde jeweils ein P-Regler verwendet. Die Temperatur wurde ebenfalls über einen P-Regler eingestellt. Die Kultivierung von *Chlorella sorokiniana* erfolgte im optimierten Medium (Tabelle 3.3). Die Kultivierungsvolumina betragen jeweils 600 l, bei einer Begasungsrate von je 0,067 vvm. Hierbei wurden der flache Reaktor ohne Recyclingstrom und der hohe Reaktor mit Recyclingstrom betrieben. Der pH-Wert wurde auf 7 geregelt. Die Temperatur wurde nicht geregelt. Vor dem Start der Kultivierung wurde außerdem das Kultivierungsmedium mit CO₂ auf einen Partialdruck im Zugas von 1 % gesättigt. Eine pH-Verschiebung im Medium wurde dabei durch Zugabe von 2 M Natronlauge kompensiert. Der eingestellte Gasvolumenstrom wurde als Arbeitspunkt festgelegt. Das

Inokulierungsvolumen wurde so gewählt, dass stets eine optische Dichte (OD) von 0,38 zu Beginn der Kultivierung vorlag (Kapitel 3.3.1).

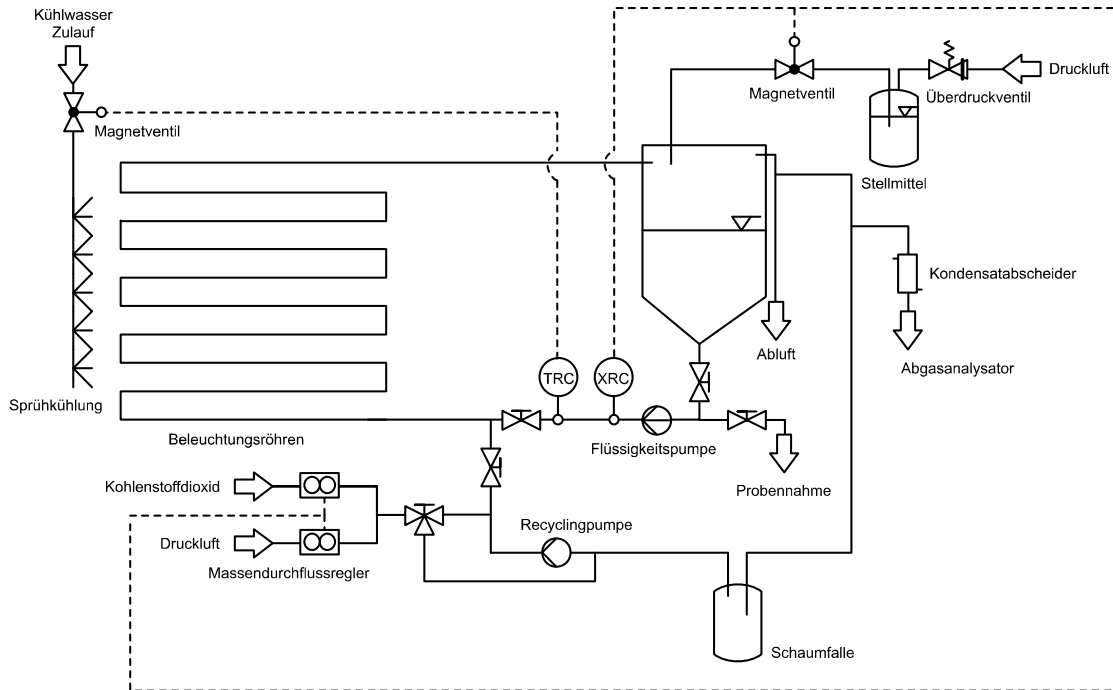


Abbildung 3.5 Verfahrensfliesschema zur Satzkultivierung im Röhrenreaktor

3.2.6 Kultivierungen im Pilotmaßstab an der Karlsruhe ALgae Factory (KALF)

Die Karlsruhe ALgae Factory (KALF) ist eine Freiland-Versuchsanlage und befindet sich in Karlsruhe (Deutschland) (Abbildung 3.6). Die Produktion von Algenbiomasse wie auch die Untersuchungen verschiedener Prozessführungsstrategien stehen im Fokus der Forschung. In dieser Arbeit wurde der Einfluss verschiedener Temperierungsstrategien in parallel-betriebenen Reaktoren auf das Wachstumsverhalten von *Chlorella vulgaris* untersucht.



Abbildung 3.6 photographische Aufnahme der Freiland-Versuchsanlage am Karlsruhe Institut für Technologie (KIT)

3.2.6.1 Stammhaltung und Vorkulturführung

Die Stammhaltung und die erste Vorkulturstufe werden in Kapitel 3.2.3.1 erläutert. Für die zweite Vorkulturführung wurde der 2l-Modell-Photobioreaktor des Typs KLF 2000 (Bioengineering) im Satzbetrieb verwendet (Kapitel 3.2.4). Die Inokulierung erfolgte mit 120 ml der ersten Vorkultur, die zuvor 7 Tage inkubiert wurde. Die Kultivierungsdauer betrug 4 Tage. Die dritte Vorkulturstufe wurde im 40l-Vorkulturreaktor unter Freilandbedingungen durchgeführt. Hierdurch wurde sowohl die Kultur an die Tag/Nacht-Zyklen adaptiert wie auch ausreichend Inokulumsvolumen für die Hauptkultur erzeugt. Der Reaktor besitzt die Abmessungen von $1.000 \times 1.000 \times 50$ mm [H \times B \times T]. Für den Vorkulturreaktor werden die gleichen peripheren Einrichtungen und Regelungsparameter wie für die Hauptkulturreaktoren genutzt (Kapitel 3.2.6.2). Als Inokulum wurden 1,7 l der zweiten Vorkulturführung verwendet.

3.2.6.2 Hauptkulturführung

Für die Hauptkulturführung standen 5 Flat-Plate-Reaktoren mit einem Füllvolumen von je 210 l zur Verfügung, die vom Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich III: Bioverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) entwickelt und konstruiert wurden. Ein Verfahrensfließbild der Reaktoren ist in Abbildung 3.4 dargestellt. Die Reaktoren haben die Abmessungen von $1000 \times 6000 \times 50$ mm [H \times B \times T] und wurden in einem Abstand von 1 m zueinander aufgestellt. Reaktorattrappen, die mit einem grünen

feinmaschigen Sichtschutz bestückt sind, flankieren dabei die 5 Reaktoren und simulieren weitere Reaktoren. Die Reaktoren bestehen aus zwei Metallgitterrahmen, die eine Reaktortüte aus PE stützen. Durch eine Begasungsmembran (Bewässerungsschlauch, TorQ) wird mit CO₂ angereicherte Druckluft zur CO₂-Versorgung der Mikroorganismen in die Kultur geleitet. Die jeweiligen Gasströme werden über Massendurchflussregler (Mass-Flow, MKS Instruments) eingestellt. Über eine Sondenkopfplatte, die sich an der Oberseite befindet, können Messsonden ins Reaktorsystem integriert werden. Die Zuführung von Stellmittel erfolgt durch eine Druckluft überlagerte Stellmittelflasche, wobei über ein Magnetventil (2-Wege NC Quetschventil 075P2NC24-01S, Bio-Chem Fluidics) die Stellmittelzugabe ermöglicht wird. Dabei verhindert ein Überdruckventil, dass sich ein zu hoher Überlagerungsdruck aufbaut. Zur Temperierung des Reaktors stehen Kühlschlangen aus Edelstahl zur Verfügung, durch die Kühlwasser geleitet wird. Über druckluftgesteuerte Ventile wird die Zufuhr von Kühlwasser reguliert. Die Kultivierungstemperatur wurde mit dem PT100 Widerstandsthermometer gemessen. Des Weiteren sind zur Messung der Kühlleistung PT100 Widerstandsthermometer an den Ein- und Auslässen von zwei Reaktoren installiert.

Die Fermentationen wurden über das auf LabView basierende Prozessleitsystem BioProCon gesteuert und geregelt. Der pH-Wert wurde mit dem PolyLite Plus Arc 225 pH Sensor der Firma Hamilton gemessen, wobei über diese Messgröße sowohl die Regulierung des CO₂-Flusses als auch die Zugabe von Stellmittel (2 M Natronlauge) erfolgte. Die Zugabe des Stellmittels erfolgte über einen P-Regler, während die Zugabe von CO₂ über einen PI-Regler gesteuert wurde. Die Temperatur wurde ebenfalls über einen P-Regler eingestellt.

Für die Kultivierungen von *Chlorella vulgaris* wurde das Nährmedium aus Tabelle 3.1 verwendet. Um höhere Biomassekonzentrationen zu erreichen wurden die Konzentrationen von Ammoniumchlorid, Magnesiumsulfat, Calciumchlorid, Kaliumdihydrogenphosphat sowie von Di-Kaliumhydrogenphosphat um das 2,5-fache gesteigert. Vor Beginn der Kultivierung wurde das Medium mit CO₂ gesättigt, wobei hierfür ein Partialdruck von 1 % CO₂ im Zugas eingestellt wurde. Der pH-Wert wurde durch Zugabe von Stellmittel (2 M Natronlauge) auf einen Wert von 7,5 geregelt. Um den Verbrauch an CO₂ während der Kultivierung zu kompensieren, wurde der Anteil an CO₂ im Zugas mittels eines PI-Reglers gesteuert. Als Stellgröße diente hierbei das pH-Signal. Der Regler war außerdem nach unten begrenzt, sodass ein Unterschreiten des Grundpartialdrucks von CO₂ im Zugas nicht möglich

war. Um die Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Experimenten zu gewährleisten, wurde das Inokulierungsvolumen so gewählt, dass stets eine optische Dichte (OD) von 0,1 zu Beginn der Kultivierung vorlag (Kapitel 3.3.1).

3.3 Analytische Methoden

3.3.1 Bestimmung des Inokulierungsvolumens

Um die Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Experimenten zu gewährleisten wurde die optische Dichte zu Beginn der Kultivierungen stets eingestellt. Hierzu wurde die optische Dichte (OD) von der Vorkultur bei einer Wellenlänge von 750 nm ermittelt und über die Gleichung (3.1) das Inokulierungsvolumen V_{In} errechnet.

$$V_{In} = \frac{OD_{HK}}{OD_{VK}} \cdot V_{HK} \quad (3.1)$$

V_{In}	<i>Inokulierungsvolumen</i>	[l]
V_{HK}	<i>Hauptkulturvolumen</i>	[l]
OD_{HK}	<i>Sollwert der optischen Dichte der Hauptkultur bei 750 nm</i>	[-]
OD_{VK}	<i>Optische Dichte der Vorkultur bei 750 nm</i>	[-]

3.3.2 Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration

3.3.2.1 Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration für den 1l-Plattenreaktor und 2l-Modell-Photobioreaktor

Zur Ermittlung der Biotrockenmassekonzentration (BTM) wurde zunächst die optische Dichte (OD) der Zellsuspension bei einer Wellenlänge von 750 nm mit dem L35-Spektrometer von Perkin-Elmer gemessen. Da in diesem Wellenlängenbereich keine spezifische Lichtabsorption durch Pigmente der Mikroorganismen vorlag, gab das Signal überwiegend die Streuung des Lichts durch die Zellsuspension wieder. Die Optische Dichte bei 750nm (OD_{750}) war dabei im

Bereich bis maximal 0,4 linear und korrelierte zur Dichte der Zellsuspension. Bei höheren Messwerten musste die Suspension mit vollentsalztem Wasser (VE-Wasser) verdünnt werden. Zur Kalibrierung der BTM mit der OD_{750} wurden Proben mit unterschiedlichen Zelldichten vermessen. Hierfür wurden zunächst 2ml-Eppendorfreaktionsgefäße 24 h bei 80 °C getrocknet, im Exsikkator abgekühlt und auf der Analysewaage ABJ 320-4 von Kern gewogen. 2 ml der Probensuspension wurden in die Reaktionsgefäße überführt und für 10 min bei 11.769 g und 4 °C abzentrifugiert. Nach Verwerfen des Überstandes wurde das Pellet bei 80 °C für 72 h getrocknet, danach im Exsikkator abgekühlt und das Gewicht bestimmt. Aus der Massendifferenz konnte die Biomassekonzentration c_X [g/l] für die jeweilige optische Dichte in einer Dreifachbestimmung ermittelt werden (3.2). Für den Stamm *Chlorella vulgaris* ergab sich ein Faktor von $b = 0,139$ (Anhang Abbildung A.8 A).

$$c_X = b \cdot OD_{750} \quad (3.2)$$

c_X	Biomassekonzentration	[g/l]
b	Korrelationsfaktor	[g// OD_{750nm}]
OD_{750}	Optische Dichte bei 750 nm	[-]

3.3.2.2 Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration für Pilotreaktoren

Aufgrund der nicht-sterilen Bedingungen und der größeren Kultivierungsvolumina der Freilandkultivierungen wurde bei jeder Probennahme auch die Biotrockenmasse ermittelt. Hierfür wurden 50ml-Falcon-Tubes 24 h bei 80 °C getrocknet, im Exsikkator abgekühlt und die Leergewichte mit der Analysewaage (ABJ 320-4, Kern) bestimmt. 50 ml der Probensuspension wurden in die Falcon-Tubes überführt und diese bei 8.872 g bei 4 °C 10 min abzentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand abdekantiert und das Pellet bei -18 °C eingefroren, gefriergetrocknet (ALPHA 1-2 LDplus, Christ) und danach die Biomasse gravimetrisch ermittelt. Die Bestimmungen erfolgten stets dreifach.

3.3.3 Bestimmung der Pigmentkonzentration

Zur Quantifizierung der spezifischen Pigmentgehalte der Biomasse und der Konzentrationen von Chlorophyll a, Chlorophyll b und der Karotinoide wurde die Aceton-Extraktionsmethode

nach Lichtenthaler [28] angewandt. 1 ml der Probensuspension wurde in ein 2ml-Eppendorfreaktionsgefäß überführt und bei 11.769 g 10 min bei 4 °C abzentrifugiert. Die Überstand wurde verworfen und das Zellsediment bei -18 °C eingefroren. Für die Extraktion wurde das Zellsediment in 1,2 ml eiskaltem mit Calciumcarbonat gesättigtem Aceton resuspendiert und für 10 min im Eisbad inkubiert. Nach Zugabe von 5 Edelstahlkugeln (Durchmesser 3mm) wurden die Zellen im Kugel-Homogenisator bei 30 Hz 5 min lang aufgeschlossen. Im Anschluss daran wurde die Probe 5 min auf Eis gekühlt und die Zellfragmente bei 11.769 g 10 min bei 4 °C abzentrifugiert. 1 ml des Überstandes wurde in ein frisches 2ml-Eppendorfreaktionsgefäß überführt. Der Probe wurde 1 ml Acetonlösung erneut zugefügt und die Extraktion wiederholt. Von den vereinigten Überständen der beiden Extraktionsschritte wurde die Lichtabsorption bei den Wellenlängen 470 nm, 645 nm, 662 nm und 750 nm bestimmt. Anhand der Absorption bei 750 nm lassen sich Zellfragmente im Überstand identifizieren. So kann eine Korrektur der Pigment-Bestimmung erfolgen. Alle Proben wurden gegen die Acetonlösung als Referenz vermessen. Die Berechnung der Pigmentkonzentrationen erfolgte nach Lichtenthaler [28] ((3.3) (3.4) (3.5)).

$$c_{Chl a} = 11,24 \cdot (A_{662} - A_{750}) - 2,04 \cdot (A_{645} - A_{750}) \quad (3.3)$$

$$c_{Chl b} = 20,13 \cdot (A_{645} - A_{750}) - 4,19 \cdot (A_{662} - A_{750}) \quad (3.4)$$

$$c_{Kar} = \frac{1000 \cdot (A_{470} - A_{750}) - 1,90 \cdot c(Chl a) - 63,14 \cdot c(Chl b)}{214} \quad (3.5)$$

$c_{Chl a}$	<i>Chlorophyll a Konzentration</i>	<i>[mg/l]</i>
$c_{Chl b}$	<i>Chlorophyll b Konzentration</i>	<i>[mg/l]</i>
c_{Kar}	<i>Karotinoidkonzentration</i>	<i>[mg/l]</i>
A_i	<i>Absorption bei der Wellenlänge i</i>	<i>[-]</i>

3.3.4 Bestimmung der Kohlenhydratkonzentration

Die Kohlenhydratkonzentration wurde auf kolorimetrischem Weg mit dem Farbstoff 10H-Anthracen-9-on (Anthron) bestimmt [116, 117]. Dazu wurden 1 ml der Probensuspension bei 11.769 g 10 min bei 4 °C abzentrifugiert, der Überstand verworfen und die

Zellsedimente bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Zur Analyse wurden die Zellfragmente in VE-Wasser resuspendiert, wobei eine maximale Biomassekonzentration von $0,2\text{ g/l}$ nicht überschritten wurde. Damit wurde sichergestellt, dass der Kalibrierbereich nicht verlassen wurde. Für die Analyse wurden $400\text{ }\mu\text{l}$ der resuspendierten Probe mit $800\text{ }\mu\text{l}$ Anthronreagenz ($0,1\text{ }\%$ (w/v) Anthron (Merck) in Schwefelsäure ($96\text{ }\%$) versetzt und die Probe für 5 min im Eisbad inkubiert. Anschließend wurde die Probe für 16 min bei $96\text{ }^{\circ}\text{C}$ auf einem Thermoschüttler bei 300 rpm geschüttelt. Nach der Inkubation im Eisbad (5 min) wurden die Zellfragmente durch einen Zentrifugationsschritt (11.769 g , 10 min , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$) abgetrennt. Der Überstand wurde bei 625 nm vermessen. Als Kalibriersubstanz diente Stärke nach Zulkowsky (Merck) [118]. Diese wurde im Konzentrationsbereich von 20 mg/l bis 200 mg/l , wie oben beschrieben, vermessen. Da die Kalibrierung mit Stärke erfolgte, wurde in der folgenden Arbeit die Kohlenhydratkonzentration als Stärkekonzentration bezeichnet.

3.3.5 Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration

Die Bestimmung der Gesamtproteinkonzentration erfolgte kolorimetrisch nach Bradford [119]. Zur Bestimmung wurde das Protein Assay Kit II (BIO-Rad) verwendet, wobei die Analyse in Mikrotiterplatten durchgeführt wurde. 1 ml der Probe wurde zunächst bei 5.000 g 10 min bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ abzentrifugiert (Centrifuge 5471C, Eppendorf), der Überstand verworfen und das Zellpellet mit 1 ml VE-Wasser gewaschen und nochmals abzentrifugiert [120]. Nach Verwerfen des Überstandes wurde das Pellet bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Für die Analyse wurde das Pellet in $100\text{ }\mu\text{l}$ VE-Wasser resuspendiert und $10\text{ }\mu\text{l}$ der Suspension in eine 96-well Mikrotiterplatte überführt. Dann wurden $200\text{ }\mu\text{l}$ der Bradford-Reagenz zugegeben und die Probe 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde die Absorption bei 595 nm gemessen (Spectrophotometer T60 UV-Visible, PG Instruments Ltd.). Die Kalibrierung erfolgte mit Bovine Serum Albumin (BSA) Standard (Thermo Scientific) im Bereich von $0 - 0,9\text{ mg/ml}$.

3.3.6 Bestimmung der Ionenkonzentrationen im Kulturmedium

Die Konzentrationen von Kationen und Anionen wurden ionenchromatographisch ermittelt. Hierzu wurden 2 ml Probensuspension bei 11.769 g und $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min abzentrifugiert und die Überstände bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Für die Analyse wurden die Proben $1:10$ mit Reinstwasser

verdünnt und in einem Ionenchromatographen (882 Compact IC plus, Metrohm), ausgestattet mit einer Autosampler (Professional Sample Processor 858), analysiert. Über die einen Leitfähigkeitssensor (Metrohm) wurden den Ionen detektiert. Für die Analyse von Anionen wurde eine Polyvinylalkohol-Säule (Metrosep A 5, Metrohm) verwendet. Der Elutionspuffer bestand aus Di-Natriumcarbonat (3,2 mM, VWR), Natriumhydrogencarbonat (1,0 mM, VWR) und Acetonitril (12,5 (v/v), VWR) gelöst in Reinstwasser (Ultra Pure water, ELGA). Für die Analyse von Kationen wurde eine Silicalgel-Säule mit Carboxylgruppen (Metrosep C4 150/4.0, Metrohm) verwendet. Als Elutionspuffer diente eine wässrige Lösung aus Salpetersäure (1,7 mM, Roth), Pyridin-2,6-dicarbonsäure (0,7 mM, Fluka) und Reinstwasser.

3.3.7 Bestimmung der Zellzusammensetzung mit spektroskopischen Messverfahren

Nasschemische Methoden sind für die Bestimmung der Zellzusammensetzung weit verbreitet und sind oftmals mit einem hohen zeitlichen Aufwand verbunden. Des Weiteren werden große Probenmengen für eine genaue Quantifizierung benötigt [121]. Viele Verfahren basieren weiterhin auf einem kolorimetrischen Nachweis und sind oftmals anfällig gegenüber Temperatur, Licht und chemischen Substanzen.

Spektroskopische Verfahren besitzen gegenüber den klassischen analytischen Verfahren eine geringe Probenvorbereitung und sind gegenüber der Zellzusammensetzung sensitiver. Die geringe benötigte Probenmenge und die Detektion bieten außerdem den Vorteil, zeitlich stark aufgelöste Verläufe der Biomassezusammensetzung zu erzeugen. Aus den durchgeführten Experimenten (Kapitel 3.3.7.1 und 3.3.7.2) ist ersichtlich, dass der Verwendung solcher Messverfahren eine zeit- und wissensintensive Etablierung vorausgeht, da sowohl die Entwicklung der Probenvorbereitung und -messung wie auch die Interpretation der Messergebnisse aufwendig und komplex ist. Ist dies jedoch vollzogen, sind diese Messmethoden ein geeignetes Werkzeug zur detaillierten und quantitativen Bestimmung wichtiger Zellzusammensetzungen.

3.3.7.1 Fourier-Transformations-Infrarotspektroskopie (FTIR) zur Messung an Algen

Für die FTIR-Messung wurde das Nicolet 6700 (Thermo Electron) Spektrometer in Kombination mit einem XY-Autosampler (PIKE Technology) und einer 96-well Mikrotiterplatte aus Silizium (PIKE Mid-Infrared) verwendet. Als Analyse-Software wurde OMNIC (Version 8.3.103, Thermo Fisher Scientific Inc.) verwendet. Für die Analyse im Spektrometer ist es notwendig die Atmosphäre des Messgerätes von IR-aktiven Substanzen zu befreien. Vor jeder Messreihe wurde deshalb das Gerät zunächst 20 min mit Stickstoff gespült und dies während der Messung fortgesetzt. Die 96-well Mikrotiterplatte wurde zur Reinigung mit 70 % Ethanol abgewaschen und für 10 min in Reinstwasser einweichen lassen. Nach einem Trocknungsschritt wurde die Platte mit einer 5 M Harnstoff-Lösung für 10 min behandelt um Proteinrückstände zu entfernen. Im letzten Reinigungsschritt wurde die Platte mit Isopropanol gespült und im Exsikkator getrocknet. Für die Analyse und Vergleichbarkeit der Kultivierungsproben wurden diese auf eine Zellzahl von $6,5 \cdot 10^7$ Zellen/ml normiert. Hierfür wurden 1ml Probenvolumen bei 5000 g 10 min bei 4 °C (Centrifuge 5471C, Eppendorf) abzentrifugiert und im entsprechenden Volumen VE-Wasser resuspendiert (3.6). Anschließend wurden 1 µl der Suspension auf die 96-well Mikotiterplatte überführt und 30 min bei 55 °C getrocknet, im Exsikkator abgekühlt und vermessen. Die Referenzsubstanzen wurden nach dem gleichen Verfahren vermessen. Diese sind in Tabelle 3.5 angegeben.

$$V_{resuspendiert} = \frac{c_{Zellen}}{c_{Zellen,Probe}} \cdot V_{Probe} \quad (3.6)$$

$V_{resuspendiert}$	Resuspendierungsvolumen	[l]
c_{Zellen}	Zielkonzentration der Zellen	[Zellen/ml]
$c_{Zellen,Probe}$	Konzentration der Zellen in Probe	[Zellen/ml]
V_{Probe}	Abzentrifugiertes Probenvolumen	[l]

Die Messung erfolgte im Transmissionsmodus von $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ mit 50 Scans pro Well und einem 8-fachen Gain sowie einer Auflösung von 4 cm^{-1} . Außerdem wurde eine Blackman-Harris-Anpassung etabliert um die Nebeneffekte durch die Fourier-Transformation zu minimieren [120]. Weiterhin wurde ein Durchmesser des Laserstrahles auf 2 mm gewählt und die Spiegel mit einer Geschwindigkeit von 0,6329 cm/s bewegt.

Tabelle 3.5 Referenzsubstanzen und Kalibrierungsbereich für FTIR

Referenzsubstanz	Zellbestandteil	Lösungsmittel
wasserfreie D-Glucose	Kohlenhydrate	Reinstwasser
Glycerin-Tridecansäure	Lipide	Aceton
Bovine Serum Albumin (BSA)	Proteine	Reinstwasser

Die IR-Spektren der Referenzsubstanzen aus Tabelle 3.5 sind in Abbildung 3.7 dargestellt. Substanzspezifische Peaks in den Spektren konnten zugeordnet werden [120, 122]. Hierbei weist Glycerin-Tridecansäure, exemplarisch für Lipide, eine charakterliche Infrarot-(IR)-Bande für die C=O-Valenzschwingung bei 1746 cm^{-1} auf. Für Proteine wurde aus dem Bovine Serum Albumin (BSA) Spektrum die Amid I Schwingung bei 1654 cm^{-1} ausgewählt, während für Glukose (für Kohlenhydrate) der Peak bei 1080 cm^{-1} zu finden ist. In den Algenspektren der verwendeten Mikroalge konnten diese Identifikationspeaks sowohl mit und ohne Zusatz der Referenzsubstanzen eindeutig wiedergefunden werden (Abbildung 3.8). Im Verlauf einer Satzkultivierung konnte außerdem gezeigt werden, dass sich während der Kultivierung die Zellbestandteile signifikant verändern (Abbildung 3.9). Die FTIR-Methode ist somit für eine schnelle Identifikation und qualitative Analyse der Hauptzellbestandteile von Mikroalgenkultivierungen geeignet. Die Ergebnisse wurden durch die Offline-Analyse bestätigt (Abbildung 3.10).

Quantitative Aussagen für die jeweiligen Zellbestandteile lassen sich jedoch nicht über die Absorptionsintensität oder über eine Peakintegration treffen, da sich die einzelnen Komponenten im Spektrum überlagern. Um aussagekräftige Konzentrationsbestimmungen treffen zu können, müssen diese Überlagerungen herausgerechnet werden. Verwendete algorithmische Verfahren sind hierbei Strukturgleichungsmodelle (partial least square, PLS) oder Hauptkomponentenanalyse-Verfahren (principal component analysis, PCA) [120, 123]. Die quantitative Analyse war nicht Bestandteil der vorliegenden Arbeit.

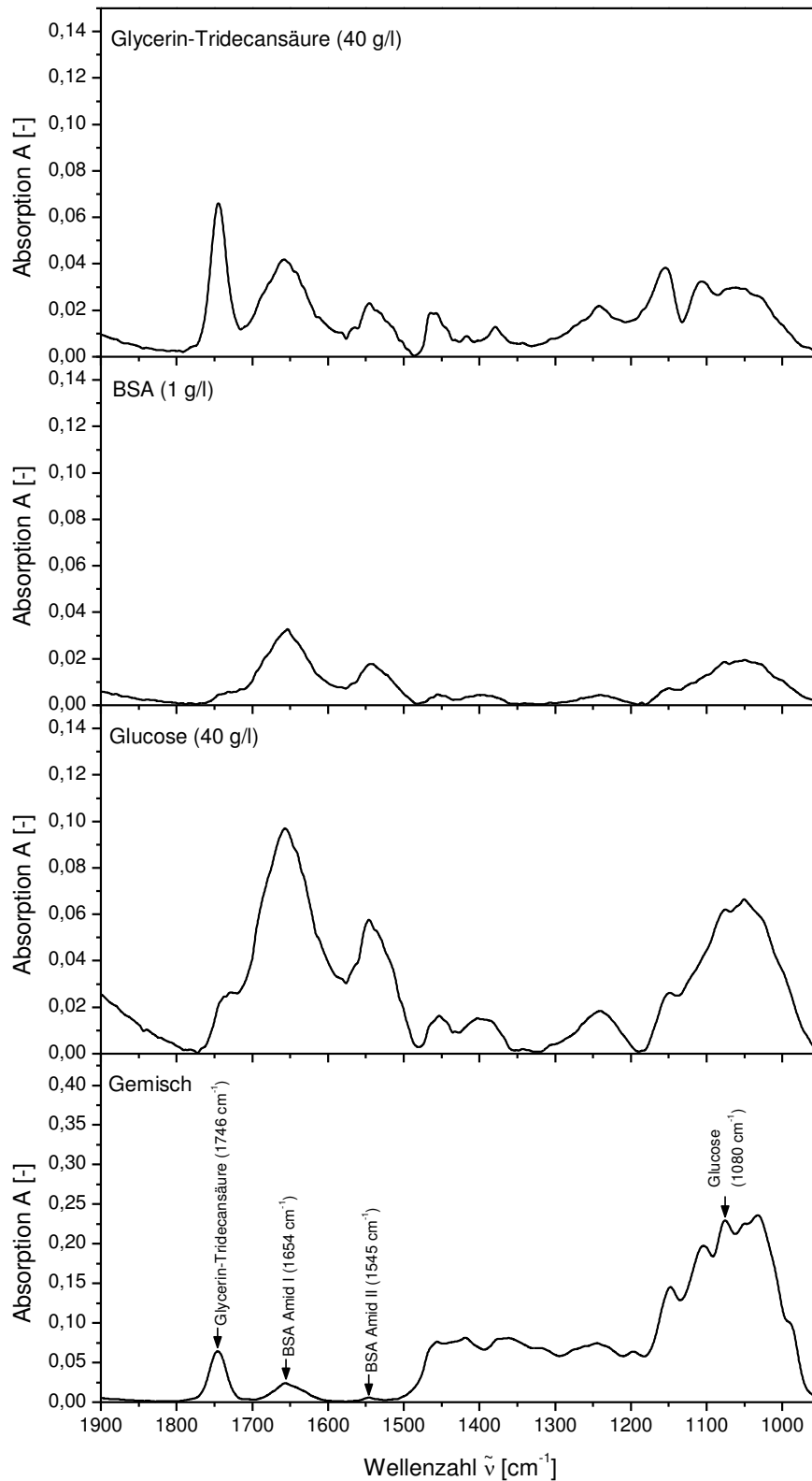


Abbildung 3.7 FTIR-Absorptionsspektren verschiedener Referenzsubstanzen. Der Hintergrund wurde subtrahiert und die Basislinie automatisch korrigiert (OMNIC 8.3.103, Thermo Fisher Scientific Inc.)

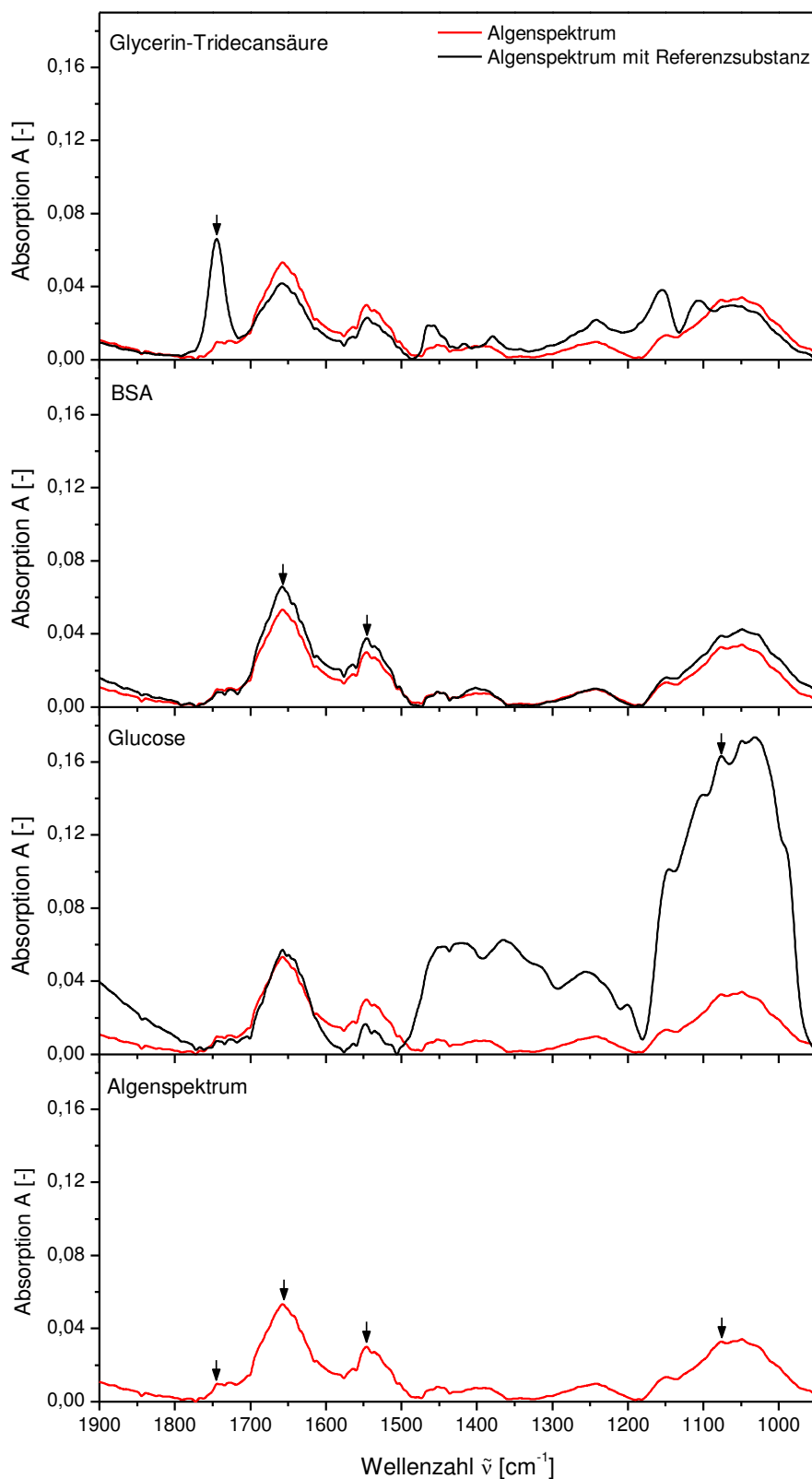


Abbildung 3.8 FTIR-Absorptionsspektren der Mikroalge *Micractinium pusillum* mit und ohne Referenzsubstanzen. Der Hintergrund wurde subtrahiert und die Basislinie automatisch korrigiert (OMNIC 8.3.103, Thermo Fisher Scientific Inc.). Pfeile beschreiben die substanzspezifischen Peaks (vgl. Abbildung 3.7)

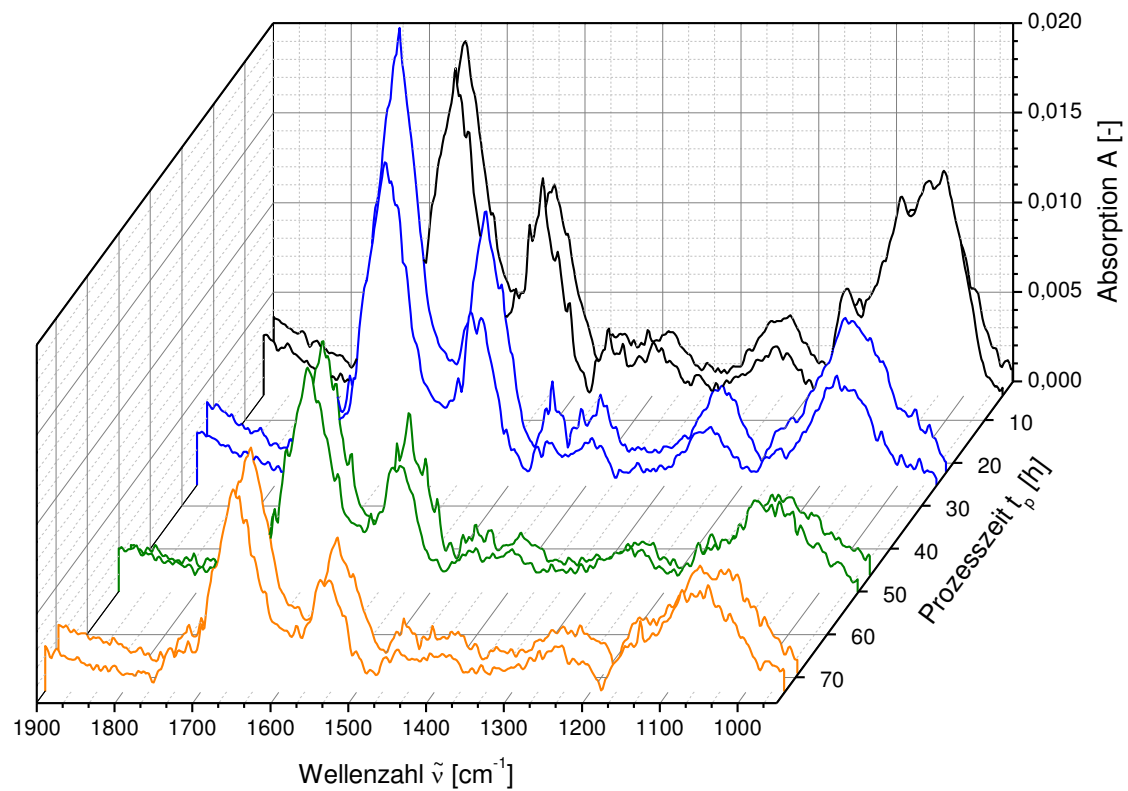


Abbildung 3.9 FTIR-Absorptionsspektren der Mikroalge *Micractinium pusillum* aufgetragen über den Kultivierungszeitraum. Satzkultivierung in TAP-Medium (Kapitel 3.2.2) bei einer konstanten Lichtintensität von $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. Jedes Spektrum entspricht den Mittelwerten aus fünf individuellen Messungen, wobei jeweils $6,5 \cdot 10^7$ Zellen in $1 \mu\text{l}$ Probenvolumen aufgetragen wurden. Der Hintergrund wurde subtrahiert und die Basislinie automatisch korrigiert (OMNIC 8.3.103, Thermo Fisher Scientific Inc.)

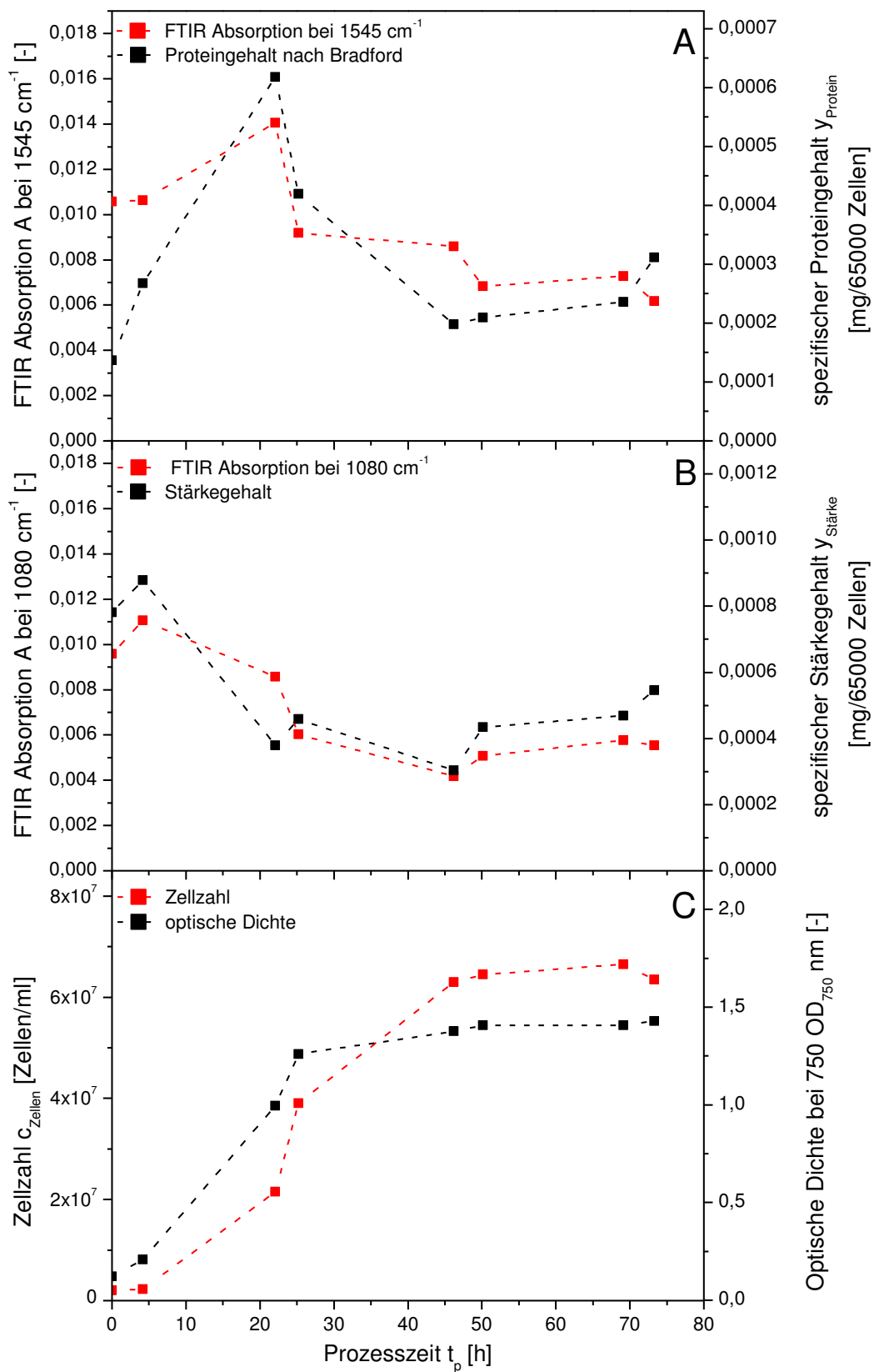


Abbildung 3.10 Vergleich der FTIR-Analyse mit der chemischen Analyse für Proteine und Stärke für die Kultivierung mit *Micractinium pusillum*. Details zur Prozessführung und Analyse befinden sich in den Kapiteln 3.2.2, 3.3.4 und 3.3.5

3.3.7.2 Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spektroskopie zur Messung an Algen

Die Vermessung der Proben erfolgte in Kooperation mit dem Institut für Organische Chemie des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT). Die Durchführung, wie auch die folgende Methodenbeschreibung, wurde von Johanna Becker (wissenschaftliche Mitarbeiterin des Instituts) durchgeführt bzw. verfasst.

Für die Untersuchung der Proben wurde eine wässrige Pufferlösung hergestellt, die jeweils 20 mmol/l Di-Kaliumhydrogenphosphat und Kaliumdihydrogenphosphat enthielt. Zusätzlich enthielt die Pufferlösung 50 mmol/l Natriumchlorid und 10 % deuteriertes Wasser. Die Biomassesedimente wurden in 1 ml Pufferlösung aufgenommen und 15 min bei 6600 g abzentrifugiert. Der Überstand des Waschschrittes wurde verworfen. Das Zentrifugat wurde in 500 µl Pufferlösung erneut resuspendiert und in ein 5 mm NMR-Röhrchen überführt.

Die NMR Experimente wurden bei 300 K an einem 600 MHz Bruker Avance II Spektrometer, ausgestattet mit einem invers detektierenden BBI Probenkopf mit z-Gradient, (Bruker, Rheinstetten), durchgeführt. Die Spektren wurden mit Hilfe der Software Topspin 3.2 prozessiert. Die Protonen Pulslängen wurden für jede Probe einzeln kalibriert. Die 1D ¹H NMR Spektren wurden unter der Verwendung eines 1D-NOESY Experiments aufgenommen. Die Erholzeit zwischen zwei Scans betrug 4 s, die Mischzeit 10 ms. Es wurden 32 Scans pro Experiment akkumuliert, zusätzlich wurden je 4 Dummy-Scans vorangeschaltet. Aufgenommen wurden 98304 komplexe Datenpunkte. Die spektrale Bandbreite betrug 18028 Hz. Die Spektren wurden unter Verwendung einer exponentiellen Apodisierungsfunktion mit einer Linienverbreiterung von 0,3 Hz prozessiert. Es wurde eine automatisierte Phasen- und Basislinienkorrektur durchgeführt. Das Konzept des Zero Fillings wurde angewandt, sodass das Spektrum letztlich 131072 Punkte enthielt.

Die Ergebnisse der spektroskopischen Vermessung sind in Abbildung 3.11 und Abbildung 3.12 dargestellt. Für die Berechnung der Integrale der einzelnen Substanzen wurden die Bereiche aus Tabelle 3.6 verwendet.

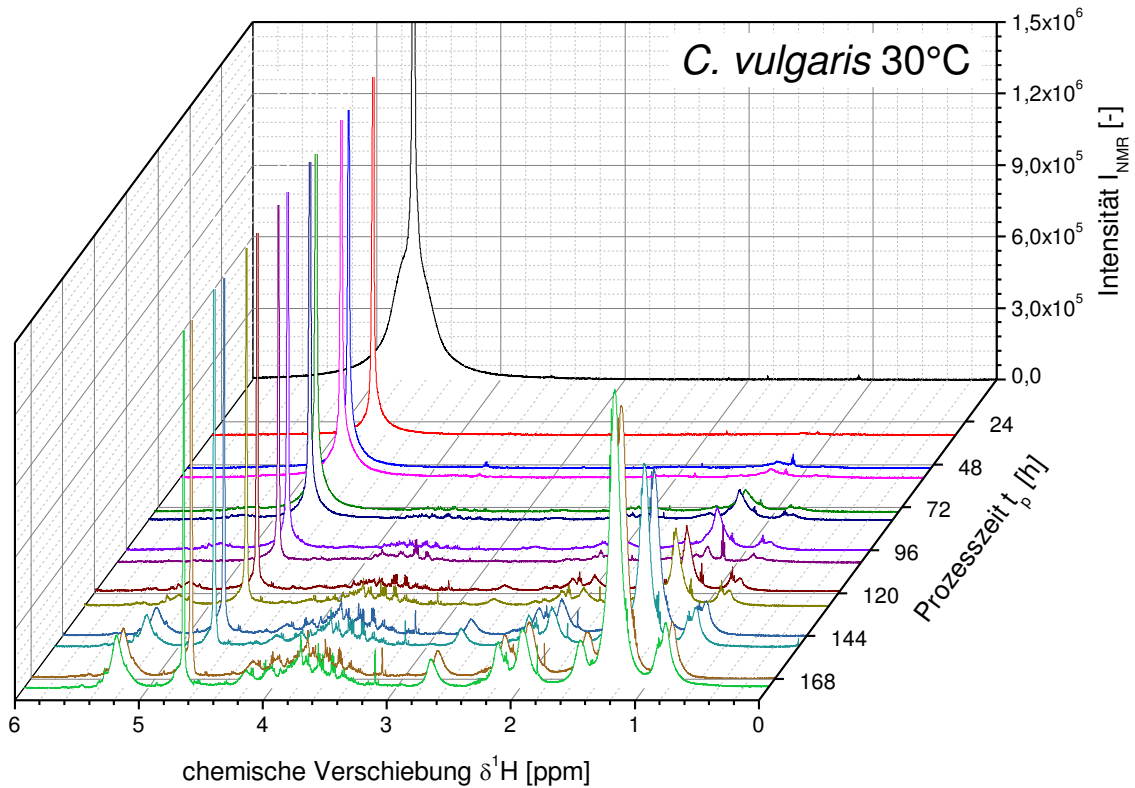
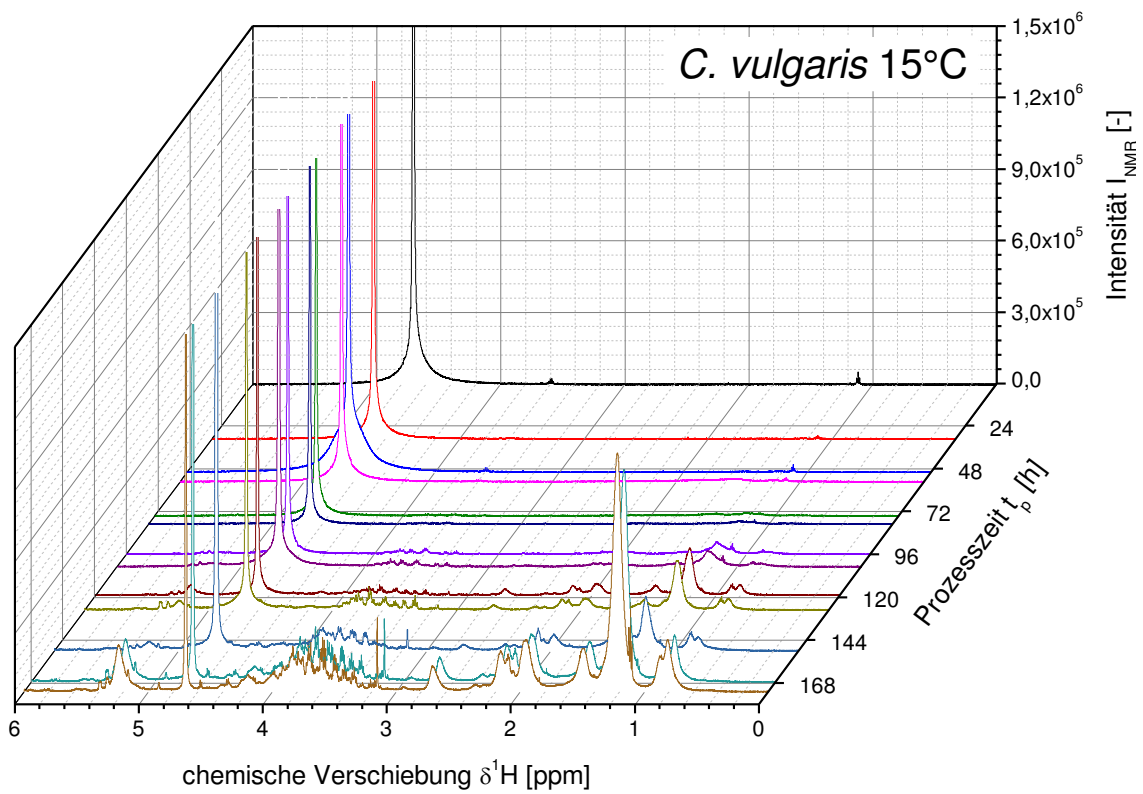


Abbildung 3.11 NMR-Intensitätsspektren der Mikroalge *C. vulgaris* aufgetragen über den Kultivierungszeitraum für 15 °C und 30 °C. Details zur Prozessführung und Analyse befinden sich im Kapitel 3.2.3 und 3.3.7.2.

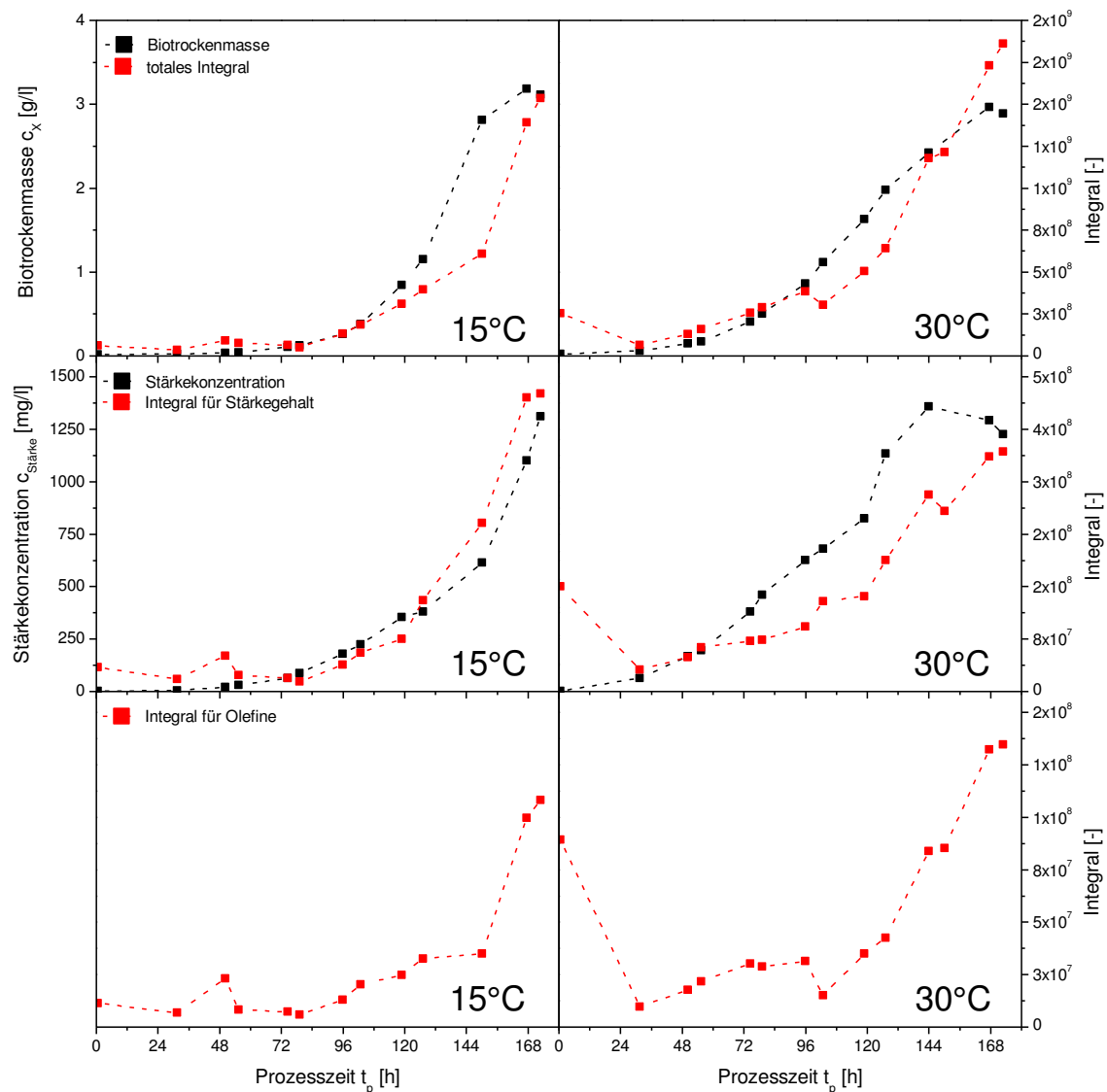


Abbildung 3.12 Vergleich der Integralbereiche der NMR-Analyse mit der chemischen Analyse für Biotrockenmasse, Kohlenhydrate und Olefine für die Kultivierungen von *C. vulgaris* bei 15 °C und 30 °C. Details zur Prozessführung und Analyse befinden sich im Kapitel 3.2.3, 3.3.2, 3.3.4 und 3.3.7.2

Tabelle 3.6 Integralbereiche der NMR-Analyse für die Kultivierungen mit *C. vulgaris* (Kapitel 3.2.3)

Parameter / Substanzklasse	Integralbereich [ppm]	
	15 °C	30 °C
Kultivierungstemperatur	15 °C	30 °C
Kohlenhydrate	4,3926 – 3,1179	4,4623 – 2,9914
Olefine	5,4144 – 5,0452	5,4173 – 5,0387

Die ersten Ergebnisse der NMR-Spektroskopie zeigen grundsätzlich den gleichen Verlauf wie die Messdaten der Biotrockenmasse und des Stärkegehaltes. Hierbei ist zu beachten, dass bei

den anfänglichen spektroskopischen Messdaten (Prozesszeit 0 - 72 h), die Biomassekonzentration sehr niedrig war, sodass die Messwerte mit einem großem Fehler behaftet sind. Für spätere Versuche wäre eine Konzentrierung der Biomasse oder die Messung einer größeren Probenmenge sinnvoll, um so aussagekräftigere Ergebnisse zu erhalten. Der Einsatz von deuterierten Resuspensionslösungen, wie Deuteriumoxid, ist außerdem in Erwägung zu ziehen, um die dominierende Wasserbande in den Spektren zu entfernen. Aus den hier durchgeführten Versuchen und der Literatur [124-128] kann jedoch festgehalten werden, dass sich die NMR-Spektroskopie für eine mögliche Identifizierung und Quantifizierung von Mikroalgenbestandteilen eignet.

3.3.8 Charakterisierung von Materialien zur Rückhaltung von Wärmestrahlung (IR-Strahlung)

Das Sonnenspektrum setzt sich aus ultravioletter, sichtbarer Strahlung und aus Infrarotstrahlung zusammen. Der Anteil an Infrarotstrahlung am Sonnenspektrum beträgt dabei etwa 50 %. Ein Standard-Sonnenspektrum ist in Abbildung 3.13 dargestellt. Die Infrarotstrahlung ist maßgeblich für die Erwärmung von Photobioreaktoren unter Freilandbedingungen verantwortlich. Die Temperierung und die damit verbundenen Energiekosten stehen in direkter Korrelation zu der auftreffenden Infrarotstrahlung.

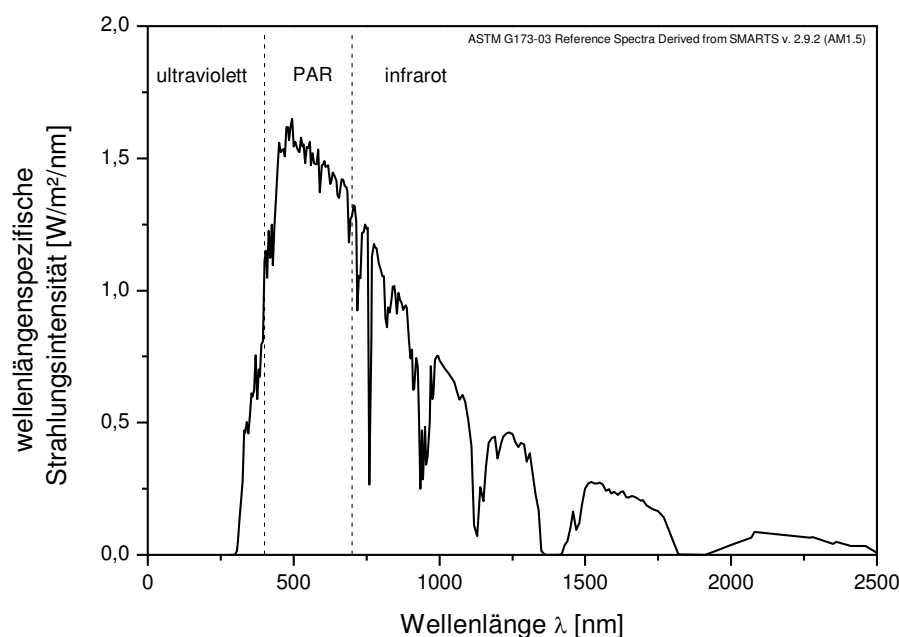


Abbildung 3.13 terrestrisches Standard-Sonnenspektrum [129]. PAR: photosynthetisch aktiver Bereich

Zur Verminderung des energetischen Aufwandes zur Temperierung von Photobioreaktoren wurden neuartige Materialien hinsichtlich ihrer infrarotabschirmenden Eigenschaften am Lichttechnischen Institut des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) untersucht. Hierzu wurden die Reflexions-, Transmissions- und Absorptionseigenschaften verschiedener Folien bei unterschiedlichen Wellenlängen nach der Norm 5036-3 des Deutschen Instituts für Normung (DIN) spektrometrisch vermessen (Lambda 105, Perkin Elmer). Eine Übersicht der Transmissionsspektren für die einzelnen Folien ist in Abbildung 3.14 wiedergeben.

Die Analyse der Spektren ergab, dass die Folie Opalfilm Neutral 75N (Haverkamp GmbH) die besten Eigenschaften besitzt, obwohl sie höhere Transmissionswerte im Infrarotbereich gegenüber den anderen Folien aufweist, sind im Vergleich die Transmissionswerte im photosynthetisch aktiven Bereich (PAR-Bereich) am höchsten. In diesem Vergleich besitzt sie somit das optimalste Verhältnis zwischen Infrarotabschirmung und PAR-Durchlässigkeit. Die Effizienz der Folie wurde im weiteren Verlauf der Arbeit in Freilandversuchen hinsichtlich der Biomasseproduktivität und des Temperierungsaufwandes untersucht (Kapitel 4.3.2).

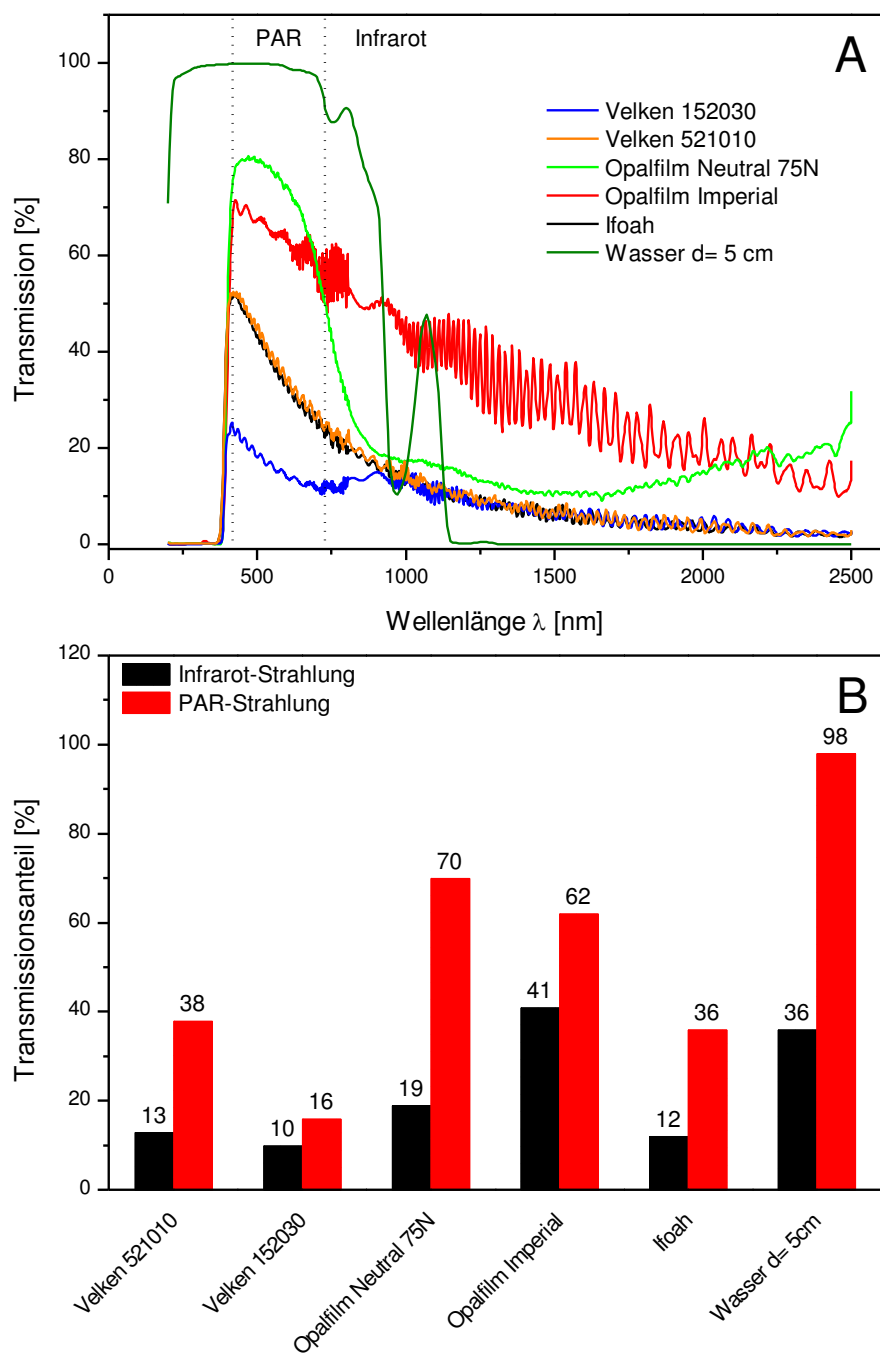


Abbildung 3.14 spektrometrische Analyse unterschiedlicher Infrarotschutzfolien. A: Transmissionspektren; B: Säulendiagramm der transmittierten Anteile im PAR- und Infrarot-Bereich (PAR: photosynthetisch aktiver Bereich); d: Schichtdicke

3.4 Kalkulationen

3.4.1 Bestimmung der Wachstumskinetiken für den 1l-Plattenreaktor

Die Bestimmung der spezifischen Wachstumsrate μ und der volumetrischen Produktivität P_{vol} ist mit den herkömmlichen Verfahren nicht möglich, da Licht – als primäre Energiequelle – nicht homogen im Reaktor verteilt wird (Kapitel 2.1.3). Die Wachstumsbedingungen ändern sich während der Kultivierung stetig und eine Ermittlung der Parameter über längere Zeitintervalle führt zu verfälschten Ergebnissen (Abbildung 2.7). Da das Wachstumsverhalten phototropher Kultivierungen einen logistischen Charakter besitzt, wurde mit den Messdaten der Biomassekonzentrationen die Gleichung (3.7) an die jeweilige Kultivierung angepasst. Zur Anpassung wurde die Analyse-Software Origin verwendet.

$$c_X(t_p) = c_{X,start} + (c_{X,ende} - c_{X,start}) \cdot \frac{t_p^n}{k^n + t_p^n} \quad (3.7)$$

$c_X(t_p)$	Biomassekonzentration zur Prozesszeit t_p	[g/l]
$c_{X,start}$	angepasste Biomassekonzentration Startpunkt	[g/l]
$c_{X,ende}$	angepasste Biomassekonzentration Endpunkt	[g/l]
k	Anpassungskonstante	[-]
n	Anpassungskonstante	[-]
t_p	Prozesszeit	[d]

Durch die Ableitung der Gleichung (3.7) erhält man die volumetrische Produktivität P_{vol} zu jedem Zeitpunkt (3.8). Diese dividiert durch die aktuelle Biomassekonzentration ergibt die spezifische Wachstumsrate μ (3.9). Für ein Experiment im Satzbetrieb konnten so die erforderlichen Parameter ermittelt werden. Die Berechnungen wurden mit der Computeralgebra-Software Maple durchgeführt. Der Programmcode befindet sich in Anhang Abbildung A 6.

$$P_{vol}(t_p) = \frac{(c_{X,ende} - c_{X,start}) \cdot t_p^n \cdot n}{t_p \cdot (k^n + t_p^n)} - \frac{(c_{X,ende} - c_{X,start}) \cdot (t_p^n)^2 \cdot n}{(k^n + t_p^n)^2 \cdot t_p} \quad (3.8)$$

$$\mu = \frac{P_{vol}(t_p)}{c_X(t_p)} \quad (3.9)$$

$P_{vol}(t_p)$	volumetrische Produktivität zur Prozesszeit t_p	[g/l/d]
μ	spezifische Wachstumsrate	[1/d]
$c_{X,start}$	angepasste Biomassekonzentration Startpunkt	[g/l]
$c_{X,ende}$	angepasste Biomassekonzentration Endpunkt	[g/l]
k	Anpassungskonstante	[-]
n	Anpassungskonstante	[-]
$c_X(t_p)$	Biomassekonzentration zur Prozesszeit t_p	[g/l]
t_p	Prozesszeit	[d]

3.4.2 Bestimmung der Photokonversionseffizienz (PCE)

Die Photokonversionseffizienz (PCE) ist eine Kennzahl zur Beschreibung des Wirkungsgrades mit der Lichtenergie in Biomasse gespeichert wird (Kapitel 2.1.5).

3.4.2.1 Bestimmung der PCE für künstliches Licht

Das Spektrum der verwendeten LED-Beleuchtungseinheiten wurde vom Lichttechnischen Institut des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) ermittelt und weist einen durchschnittlichen Energiegehalt von 210,48 kJ/mol (Abbildung 3.15) [116] auf. Es ist demnach vergleichbar mit dem Energiegehalt von Sonnenlicht (217,00 kJ/mol) [35].

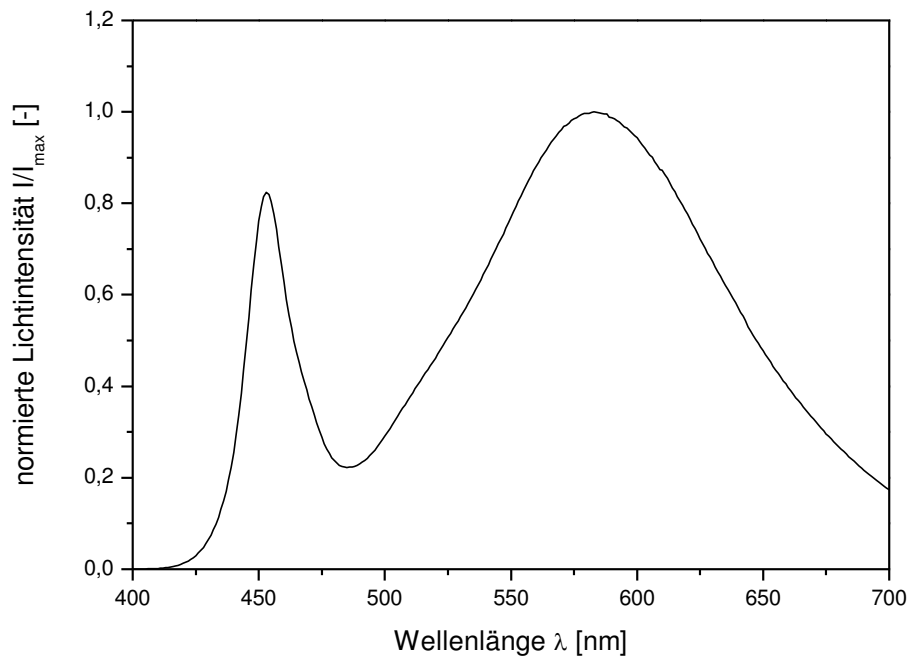


Abbildung 3.15 Spektrum einer warmweißen LED (NS6L083AT, Nichia). I : Lichtintensität; λ : Wellenlänge [39]

Die gesamte durch die Algenkultur absorbierte Lichtenergie $E_{\text{Licht,abs}}$ zum Zeitpunkt t_p kann mit Gleichung (3.10) berechnet werden.

$$A_{\text{Licht,abs}}(t_p) = (I_0(t_p) - I_{\text{trans}}(t_p)) \cdot E_{\text{Photon,LED}} \cdot A_{\text{Reaktor,bel}} \quad (3.10)$$

$A_{\text{Licht,abs}}(t_p)$	absorbierte Lichtenergie zur Prozesszeit t_p	[J/d]
$I_0(t_p)$	eingestrahlte Lichtintensität zur Prozesszeit t_p	[mol/m ² /d]
$I_{\text{trans}}(t_p)$	transmittierte Lichtintensität zur Prozesszeit t_p	[mol/m ² /d]
$A_{\text{Reaktor,bel}}$	beleuchtete Oberfläche des Reaktors	[m ²]
$E_{\text{Photon,LED}}$	Energiegehalt der Photonen	[J/mol]
t_p	Prozesszeit	[d]

Um die transmittierte Lichtenergie zu jedem Zeitpunkt zu ermitteln, wurde Gleichung (3.7) an die Transmissionsmesswerte angepasst. Mittels Gleichung (3.8) lässt sich die volumetrische Produktivität der Algenbiomasse zu einem beliebigen Zeitpunkt der Kultivierung kalkulieren.

Wird ein Energiegehalt der Biomasse von $20 \text{ kJ/g}_{\text{Biomasse}}$ angenommen [35], ergibt sich für die *PCE* folgender Zusammenhang (3.11):

$$PCE(t_p) = \frac{P_{vol}(t_p) \cdot V_R \cdot E_X}{A_{Licht,abs}(t_p)} \cdot 100 \% \quad (3.11)$$

$PCE(t_p)$	<i>Photokonversionseffizienz</i>	[%]
$P_{vol}(t_p)$	<i>volumetrische Produktivität der Biomasse zur Prozesszeit t_p</i>	[g/l/d]
E_X	<i>Energiegehalt der Biomasse ($20 \cdot 10^3$) [35]</i>	[J/g]
V_R	<i>Kultivierungsvolumen</i>	[l]
$A_{Licht,abs}(t_p)$	<i>absorbierte Lichtenergie zur Prozesszeit t_p</i>	[J/d]
t_p	<i>Prozesszeit</i>	[d]

3.4.2.2 Bestimmung der *PCE* und für Sonnenlicht

In den Freilandexperimenten war es nicht möglich die auf die Reaktoroberfläche einstrahlende und transmittierte Lichtenergie direkt zu bestimmen, da der Reaktor von beiden Seiten dem Sonnenlicht ausgesetzt war. Um dennoch Aussagen über die Effizienz der Energiekonversion treffen zu können, wurde mittels des PAR-Sensors (BF5, AT Delta-T Devices) die totale (direkte und diffuse) auf die Standfläche auftreffende Lichtenergie des PAR-Bereiches des Sonnenlichtes gemessen. Die pro Zeitintervall potentiell zur Konversion verfügbare Lichtenergie $E_{Licht,ver}$ ergibt sich dabei aus der Standfläche des Reaktors $A_{R,Standfläche}$ [81] und dem Integral der Sonnenlichtintensität über die Zeit (3.12). Die *PCE* ergibt sich durch Gleichung (3.13)

$$E_{\text{Licht,ver}} = A_{\text{Reaktor,Standfläche}} \cdot \int_{t_{p,\text{start}}}^{t_{p,\text{end}}} I_{\text{Sonne}} dt_p \quad (3.12)$$

$$PCE = \frac{c_X(t_{p,2}) - c_X(t_{p,1}) \cdot V_R \cdot E_X}{E_{\text{Licht,ver}}} \cdot 100 \% \quad (3.13)$$

$E_{\text{Licht,ver}}$	verfügbare Lichtenergie	[J]
$A_{\text{Reaktor,Standfläche}}$	Standfläche des Reaktors	[m ²]
I_{Sonne}	Sonnenlichtintensität	[J/m ² /d]
PCE	Photokonversionseffizienz	[%]
E_X	Energiegehalt der Biomasse (20·10 ³)[35]	[J/g]
V_R	Kultivierungsvolumen	[l]
$c_X(t_{p,i})$	Biomassekonzentration zur Prozesszeit i	[g/l]
$t_{p,i}$	Prozesszeit zum Zeitpunkt i	[d]

3.4.3 Bestimmung der volumetrischen und flächenbezogenen Produktivität

Die volumetrische Produktivität P_{vol} ergibt sich über die zeitliche Änderung der Biomassekonzentration (3.14). Das Verhältnis aus volumetrischer Produktivität und Standfläche liefert außerdem die flächenbezogene Produktivität P_A (3.15).

$$P_{vol} = \frac{c_X(t_{p,2}) - c_X(t_{p,1})}{t_{p,2} - t_{p,1}} \quad (3.14)$$

$$P_A = \frac{P_{vol} \cdot V_R}{A_{Standfläche}} \quad (3.15)$$

P_{vol}	volumetrische Produktivität	[g/l/d]
P_A	flächenbezogene Produktivität	[g/m ² /d]
$c_X(t_{p,i})$	Biomassekonzentration zum Zeitpunkt i	[g/l]
V_R	Kultivierungsvolumen	[l]
$A_{Standfläche}$	Standfläche des Reaktors	[m ²]
$t_{p,i}$	Prozesszeit zum Zeitpunkt i	[d]

3.4.4 Bestimmung des Extinktionskoeffizienten

Der Extinktionskoeffizient ε ist ein auf die Strecke bezogenes Maß für die Schwächung von elektromagnetischer Strahlung durch ein Medium. Die Schwächung wird durch Streu- und Absorptionseffekte hervorgerufen und kann durch das Gesetz von Lambert-Beer wiedergegeben werden (3.16). Der Extinktionskoeffizient, die Biomassekonzentration und die Schichtdicke nehmen Einfluss auf die Lichtverteilung in Photobioreaktoren und sind daher für die Ermittlung der Lichtverteilung essentiell (Kapitel 2.1.3)

$$I = I_0 \cdot e^{-\varepsilon \cdot c_X \cdot l_{\text{Reaktor}}} \quad (3.16)$$

I	Transmissionswert der Lichtintensität I_0	$[\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}]$
I_0	Auftreffende Lichtintensität	$[\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}]$
ε	Extinktionskoeffizient	$[\text{l}/\text{g}/\text{m}]$
c_X	Konzentration der Biomasse	$[\text{g}/\text{l}]$
l_{Reaktor}	Schichtdicke des Reaktors	$[\text{m}]$

Durch den messtechnischen Aufbau in Abbildung 3.16 konnte der Extinktionskoeffizient über die Kultivierungsdauer und der vorherrschenden Lichtquelle bestimmt werden. Hierfür wurden 2 ml Probenvolumen in einer 2ml-Küvette überführt und der Transmissionswert durch den PAR-Sensor (LI-250, LI-Cor) bestimmt. Die Proben wurden gegen VE-Wasser gemessen und mit VE-Wasser verdünnt, falls der Transmissionswert unter $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ lag.

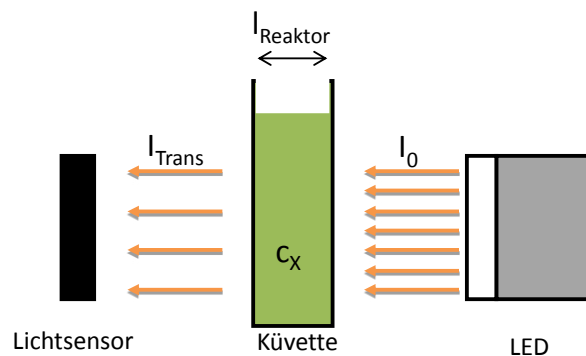


Abbildung 3.16 schematische Darstellung des messtechnischen Aufbaus für die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten (vgl. (3.16))

3.4.5 Bestimmung des Kohlenstoffdioxid-Transportkoeffizienten für Pilotreaktoren

Der Massentransportkoeffizient $k_L a$ ist eine Kennzahl für den Transport von Stoffen zwischen einer Gas- und einer Flüssigphase und beschreibt die Effizienz des Stoffaustausches. Er ergibt sich aus dem Produkt der Stoffübergangszahl (k_L) der Flüssigphase und der volumenbezogenen Phasengrenzfläche (a). Da der Wert charakteristisch für ein Reaktorsystem ist, können dadurch unterschiedliche Systeme miteinander verglichen werden. Der Übergang eines Stoffes zwischen der Gas- und Flüssigphase kann dabei durch das Zweifilmmodell beschrieben werden [130, 131] (3.17).

$$\frac{dc}{dt_p} = k_L a \cdot (c_{gas}^* - c_{gas}) \quad (3.17)$$

$k_L a$	Massentransportkoeffizient	[1/s]
c_{gas}^*	Gleichgewichtskonzentrationen an der Phasengrenze	[mol/l]
c_{gas}	Gelöstkonzentration des Gases	[mol/l]

Die Gleichgewichtskonzentration an der Phasengrenze kann dabei über das Henry-Gesetz aus dem Partialdruck des jeweiligen Gases berechnet werden (3.18). Für CO₂ beträgt der Koeffizient bei 25 °C $3,36 \cdot 10^{-7}$ mol/l/Pa [132, 133].

$$c_{gas}^* = K_H \cdot p \cdot M_{gas} \cdot \frac{q_1}{q_1 + q_2} \quad (3.18)$$

c_{gas}^*	Gleichgewichtskonzentrationen an der Phasengrenze	[mol/l]
p	Druck	[Pa]
K_H	Henry-Koeffizient	[mol/l/Pa]
M_{gas}	Molare Masse des Gases	[g/mol]
q_i	Gasvolumenstrom der Komponente i	[l/s]

Der $k_L a$ -Wert für Kohlenstoffdioxid wurde hier mittels der dynamischen Methode bestimmt, da die statische Methode aufgrund der ungenauen Bestimmung der Abgaskonzentrationen nicht anwendbar war. Hierzu wurde der Reaktor mit VE-Wasser gefüllt und mit definierten Gasvolumenströmen von Luft und CO₂ begast. Nach Einstellen des Fließgleichgewichtes zwischen der Gas- und der Flüssigphase wurde über einen sprungartigen Anstieg des CO₂-Volumenanteils im Zugas die Änderung des pH-Wertes in der Flüssigphase bis zur Gleichgewichtseinstellung gemessen (Kapitel 2.1.4). Durch Lösen der Differentialgleichung (3.17) ist es möglich die CO₂-Konzentration $c_{CO_2,t+\Delta t}$ zu jedem Zeitpunkt aus der zuvor ermittelten Konzentration $c_{CO_2,t}$ und dem Konzentrationsgefälle Δc_{CO_2} zwischen der Flüssig- und Gasphase zu berechnen (3.19) [39].

$$c_{CO_2, t_p + \Delta t_p} = \Delta c_{CO_2} \cdot (1 - e^{-k_L a \cdot \Delta t_p}) + c_{CO_2, t_p} \quad (3.19)$$

c_{CO_2}	Gelöstkonzentration an CO_2	[mol/l]
t_p	Prozesszeit	[s]
Δt_p	Zeitdifferenz	[s]
Δc_{CO_2}	Gelöstkonzentrationsdifferenz an CO_2	[mol/l]
$k_L a$	Massentransportkoeffizient	[1/s]

Mittels der Gleichung (3.20) von Rubio et al. konnte die Änderung des pH-Wertes errechnet werden [74] (siehe auch Gleichung (2.2))

$$\frac{d[H^+]}{d[CO_2]} = \frac{\frac{K_1}{[H^+]} + 2 \frac{K_1 \cdot K_2}{[H^+]^2}}{1 + \frac{K_w}{[H^+]^2} + \frac{K_1 \cdot [CO_2]}{[H^+]^2} + 8 \frac{K_1 \cdot K_2 \cdot [CO_2]}{[H^+]^3}} \quad (3.20)$$

$[H^+]$	molare Konzentration von H^+	[mol/l]
$[CO_2]$	molare Konzentration von CO_2	[mol/l]
K_1	Gleichgewichtskonstante ($10^{-6,381}$)	[mol/l]
K_2	Gleichgewichtskonstante ($10^{-10,377}$)	[mol/l]
K_w	Gleichgewichtskonstante von Wasser (10^{-14})	[mol/l]

Mit Hilfe der Gleichungen (3.19) und (3.20) konnte der Stoffübergang von CO_2 und die daraus resultierende pH-Wert Änderung simuliert werden. Mittels der Nonlinear Solving Methode [134] wurde eine quadratische Fehlerminimierung zwischen den simulierten und den experimentellen Daten durchgeführt und so der Massentransportkoeffizient ermittelt. Für die Pilotreaktoren am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) (Kapitel 3.2.6) wurde ein $k_L a$ -Wert für CO_2 von $0,045 \pm 0,0038$ 1/min bei einem Gasvolumendurchsatz von 0,05 l/min (Kapitel 3.4.6) errechnet.

Abbildung 3.17 zeigt die Auswertungsergebnisse eines typischen Sprungexperimentes. In der Literatur lassen sich $k_L a$ -Werte für Sauerstoff finden. Aus diesem Grunde wurden die Messergebnisse von Sierra [135] nach Talbot [136] und mit Unterstützung von Cussler [137]

in $k_L a$ -Werte für CO_2 umgerechnet. Die umgerechneten Werte von 0,048 l/min lieferten dabei ähnliche Werte.

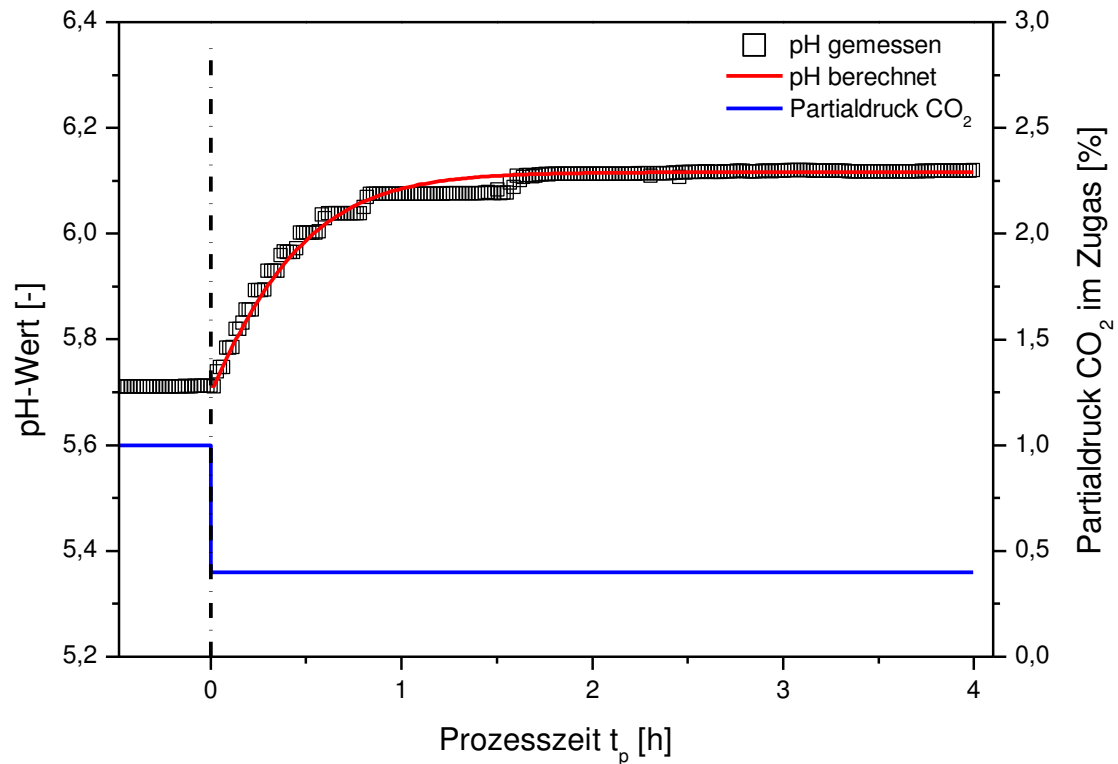


Abbildung 3.17 Sprungversuch zur Bestimmung des $k_L a$ -Wertes für Kohlenstoffdioxid (CO_2) in den Pilotreaktoren des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT). Das Reaktorvolumen betrug 210 l VE-Wasser bei einer Begasungsrate von 10 l/min.

3.4.6 Bestimmung der Mischzeiten für Pilotreaktoren

Für die Beurteilung von Mischeffekten wurden die Mischzeit t_m und die Mischgüte M als Kriterien herangezogen. Die Mischgüte (3.21) ist definiert als die Zeit, die benötigt wird, um einen bestimmten Homogenisierungsgrad herzustellen. Der Zeitraum bis zum Erreichen der Mischgüte wird als Mischzeit bezeichnet [52, 131, 138]. Mischgüte und Mischzeit sind direkt miteinander verknüpft.

$$M = \frac{c_\infty - c_{t_p}}{c_\infty - c_0} \cdot 100 \% \quad (3.21)$$

M	Mischgüte	[%]
c_∞	Homogenisierte Endkonzentration	[mol/l]
c_{t_p}	Konzentration zum Prozesszeitpunkt t_p	[mol/l]
c_0	Anfangskonzentration	[mol/l]

Zur Bestimmung der Mischzeit wurde ein definiertes Volumen Natronlauge in den Reaktor gegeben und die pH-Änderung im Reaktor bis zum Erreichen der angestrebten Mischgüte gemessen. Die Mischzeiten wurden bei unterschiedlichen Begasungsraten bestimmt, um die bestmögliche Konfiguration für Begasung und Durchmischung zu erhalten. 95 % wurde als Mischgüte festgelegt.

Die Ergebnisse der Mischzeitversuche für die Pilotreaktoren am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) (Kapitel 3.2.6) sind in Abbildung 3.18 wiedergegeben. Eine exemplarische Darstellung eines Mischzeitversuches befindet sich im Anhang (Abbildung A.3). Da der Gasvolumenstrom von CO₂ im Zugas vom Gesamtgaseintrag abhängt, wird zur Einsparung von CO₂ ein geringer Gesamtgasvolumenstrom q angestrebt (Kapitel 3.4.5). Für die Experimente wurde ein Gasvolumenstrom von 10 l/min (Gasvolumendurchsatz 0,05 vvm) gewählt.

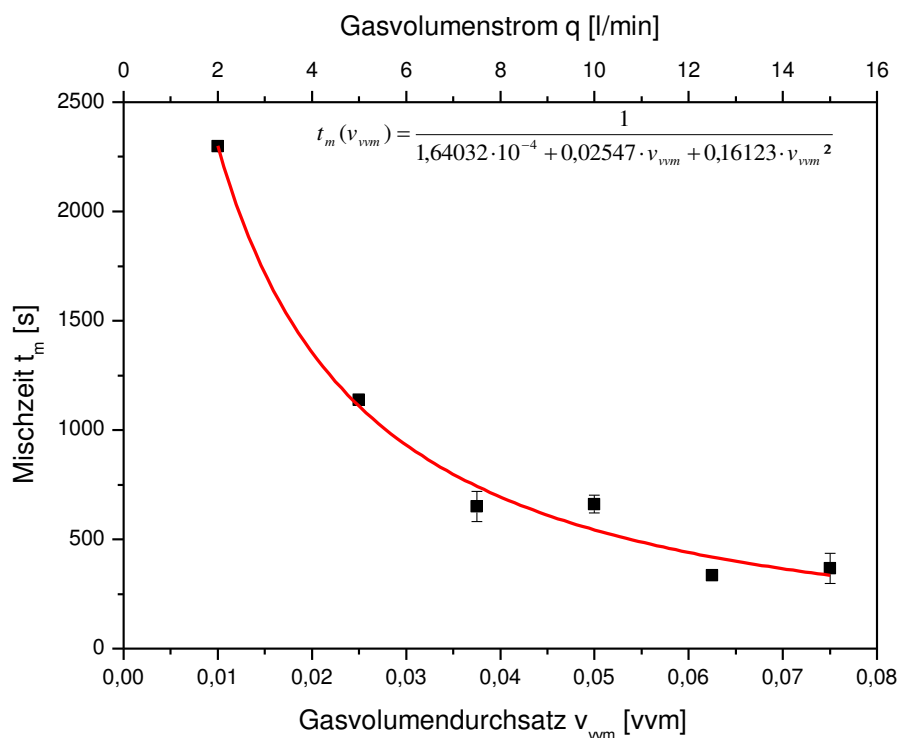


Abbildung 3.18 Mischzeiten in Abhängigkeit zum Gasvolumendurchsatz für die Pilotreaktoren des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT). Die Mischgüte beträgt 95 %; Reaktorvolumen: 210 l.

Im Vergleich zu den von Sierra [135] ermittelten Zeiten, liegen hier die Mischzeiten deutlich höher. Die beiden Reaktorsysteme haben jedoch unterschiedliche Höhen/Längen-Verhältnisse. Der Reaktor von Sierra weist ein Verhältnis von 0,417 auf, der KIT Reaktor eins von 0,167. Die Zeit für die Quervermischung der Flüssigkeit ist folglich größer, wodurch die Mischzeit ebenfalls ansteigt. Um detaillierte Aussagen über das Mischverhalten treffen zu können, sind weitere Untersuchungen bzgl. horizontalen sowie vertikalen Vermischung als auch der Quervermischung nötig. 3D-Fluidmodelle können dabei das Verständnis Mischvorgänge erweitern und zu Optimierung beitragen. Die horizontale Vermischung bestimmt in diesem Zusammenhang die Effizienz des Gastransfers. Währenddessen beeinflusst die Quermischung die Verweilzeit der Mikroorganismen in den einzelnen Lichtzonen und kann somit zu flashing light Effekt beitragen (Kapitel 2.1.3).

Bei kritischer Betrachtung der Versuchsauswertung ist anzumerken, dass durch die Begasung mit Druckluft auch das Carbonatsystem den pH-Wert während der Experimente beeinflusst (Kapitel 2.1.4). Eine detailliertere Untersuchung dieses Einflusses konnte aus zeitlichen

Gründen nicht durchgeführt werden. Die gewonnenen Ergebnisse sollten deshalb durch Experimente mit CO₂-freier Druckluft oder Stickstoff validiert werden.

3.4.7 Bestimmung des Wirkungsgrades für Pilotreaktoren

Die nachhaltige Kultivierung phototropher Organismen unter Freilandbedingungen wird maßgeblich von der eingebrachten Energie beeinflusst. Der Energiebedarf für die Kultivierung für pneumatisch betriebene Reaktoren – wie Flat-Plate-Reaktoren – setzt sich dabei aus der Begasungs- und Temperierungsenergie sowie aus dem Bedarf für den Betrieb der Mess- und Regeltechnik zusammen. Das Verhältnis aus eingesetzter Energie zu produzierter Energie – in Form von Biomasse – ergibt den energetischen Wirkungsgrad η des Prozesses (3.22). Das Sonnenlicht wurde bei dieser Betrachtung nicht berücksichtigt, da es unbegrenzt zur Verfügung steht. Für den Gehalt der Bioamssse wurde ein Wert von $20 \cdot 10^3$ J/g angenommen [35].

$$\eta = \frac{(c_{X,t_{p,2}} - c_{X,t_{p,1}}) \cdot V_R \cdot E_X}{\int_{t_{p,1}}^{t_{p,2}} (P_{Temperierung} + P_{Begasung}) dt_p} \cdot 100 \% \quad (3.22)$$

η	Wirkungsgrad	[%]
c_X	Biomassekonzentration zur Zeit t	[g/l]
V_R	Kultivierungsvolumen	[l]
E_X	Energiegehalt der Biomasse	[J/g]
$P_{Temperierung}$	Leistungseintrag der Temperierung	[J/s]
$P_{Begasung}$	Leistungseintrag der Begasung	[J/s]
$t_{p,i}$	Prozesszeit zum Zeitpunkt i	[s]

3.4.7.1 Bestimmung der Kühl- und Heizleistung für Pilotreaktoren

Zur Ermittlung der Kühlleistung $P_{Temperierung}$ während der Kultivierungen wird die Eingangs- und Ausgangstemperatur des Kühlsystems aufgezeichnet. Mittels der bekannten Massenströme kann eine Bilanzierung für den Reaktor vorgenommen werden. Die Kühlleistung kann wie folgt bestimmt werden [139, 140] (3.23).

$$P_{Temperierung} = \dot{m} \cdot c_{Wasser} \cdot (T_{in} - T_{out}) \quad (3.23)$$

$P_{Temperierung}$	Kühlleistung	[W]
\dot{m}	Massenstrom Kühlwasser	[kg/s]
c_{Wasser}	Spezifische Wärmekapazität von Wasser	[J/kg/K]
T_{in}	Eingangstemperatur Kühlwasser	[K]
T_{out}	Ausgangstemperatur Kühlwasser	[K]

Die Bestimmung der Heizleistung erfolgte über die Anschaltzeit und der Leistung der elektrischen Heizelemente.

3.4.7.2 Bestimmung des Energiebedarfs für die Begasung von Pilotreaktoren

In pneumatisch betriebenen Photobioreaktoren bestimmen der hydrostatische Druck, die Dichte des Mediums und der Widerstand der Begasungseinrichtung maßgeblich den benötigten Energieeintrag $P_{Begasung}$. Der Leistungseintrag ist außerdem vom Gasvolumenstrom abhängig. Die benötigte Energie resultiert aus der Expansion von verdichtetem Gas, welches zuvor durch Verdichter komprimiert wurde. Bei einer isothermen Verdichtung kann die aufzubringende Leistung wie folgt bestimmt werden (3.24).

$$P_{\text{Begasung}} = \frac{q}{V_{m0}} \cdot R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{p_2}{p_1}\right) \quad (3.24)$$

P_{Begasung}	Begasungsleistung	[W]
q	Gasvolumenstrom	[l/s]
V_{m0}	Molare Gasvolumen	[l/mol]
R	Universelle Gaskonstante	[J/mol/K]
p_1	Atmosphärendruck	[Pa]
p_2	Begasungsdruck	[Pa]
T	Temperatur	[K]

Messungen bei einem Gasvolumenstrom von 0,167 l/s und einer Temperatur von 25 °C (298,15 K) ergaben eine Druckdifferenz im Begasungssystem von 40.000 Pa (0,4 bar) gegenüber dem Atmosphärendruck mit 101.325 Pa, sodass sich ein Leistungseintrag von 6,13 W pro Reaktor ergab. Der Begasungsdruck lag bei 141.325 Pa. Kommerzielle Verdichter haben dabei einen durchschnittlichen Wirkungsgrad von 0,75. Somit erhöht sich der Energiebedarf auf 8,18 W.

3.4.8 Bestimmung der Regelparame ter für Pilotreaktoren

Der CO₂-Bedarf der Mikroorganismen ist abhängig von der momentanen photosynthetischen Aktivität. Diese korreliert wiederum mit der Intensität des eingestrahlt en Lichtes (Kapitel 2.1.2). Um Limitationen zu vermeiden und den aktuellen Verbrauch an gelöstem CO₂ zu kompensieren, wurde ein Reglersystem zur Steuerung des CO₂-Partialdruckes im Zugas etabliert. Als Messgröße wurde das pH-Signal verwendet, da der Verbrauch von gelösten CO₂ zu einer Änderung des pH-Wertes führt (Kapitel 2.1.4). Zunächst wurde der pH-Wert des Kultivierungsmediums auf einen Wert von 7,5 eingestellt, wobei im Zugas ein Partialdruck für CO₂ von 1 % vorlag. Nach der Sättigung des Kultivierungsmediums mit CO₂ wurde über einen sprungartigen Abfall des CO₂-Partialdruckes im Zugas die Übergangsdynamik des pH-Wertes bis zur Gleichgewichtseinstellung erfasst. Die Auswertung erfolgte nach der Chien-Hrones-Reswick-Methode [77] über die Wendetangentenbestimmung. Für die Reglereinstellung wurde ein Verstärkungsfaktor von 7,128 % errechnet. Die Nachstellzeit betrug

10,496 min, mit einem Faktor für die Nachstellzeitberechnung von 10. Dadurch wurde die Trägheit des Systems besser durch den Regler erfasst.

4 Ergebnisse

4.1 Kultivierungen im Labormaßstab

Der Labormaßstab bietet den Vorteil Experimente unter kontrollierten und reproduzierbaren Bedingungen durchzuführen. Wichtige Parameter, wie Wachstums- oder Produktbildungsraten, können bestimmt werden und essentielle Einflussparameter identifiziert werden. Des Weiteren ermöglicht der Labormaßstab mehrere Experimente simultan durchzuführen. Die gewonnenen Erkenntnisse können dann in den Pilotmaßstab übertragen und dort validiert werden.

4.1.1 Reduzierung der Kohlenstoffdioxidzuführung und die Zufütterung von Stickstoff in Photobioreaktoren

Für die Kultivierung phototropher Organismen ist eine stetige Versorgung der Kultur mit Kohlenstoffdioxid unabdingbar. Der zeitliche CO_2 -Bedarf und der daraus resultierende Gaseintrag variiert mit der Lichtintensität, Biomassekonzentration und Nährstoffversorgung (Kapitel 2.1.4). Die Prozessführung mit einem stetigen hohen CO_2 -Partialsdruck im Zugas ist bei der Kultivierung im Labormaßstab möglich, jedoch beim Betrieb von Pilot-Anlagen ineffizient. Durch den hohen CO_2 -Partialsdruck im Zugas wird zwar eine ausreichende Kohlenstoffdioxidversorgung gewährleistet, die jedoch mit einem signifikanten Verlust an CO_2 im Abgas einhergeht. Für eine Pilotanlage mit 1000 l Kultivierungsvolumen und einer Begasungsrate von 0,05 vvm (mit einem Anteil von 5 % CO_2) bedeutet dies einen täglichen Verbrauch an CO_2 von 3600 l und damit Verbrauchskosten von 63,50 €/d. In Laborversuchen konnte gezeigt werden, dass durch einen geregelten CO_2 Eintrag der CO_2 -Bedarf um bis zu 70 % gesenkt werden konnte (Abbildung 4.1). Durch den Einsatz einer CO_2 -Regelung ist es somit möglich die Verbrauchskosten für den Betrieb von Pilotanlagen signifikant zu vermindern.

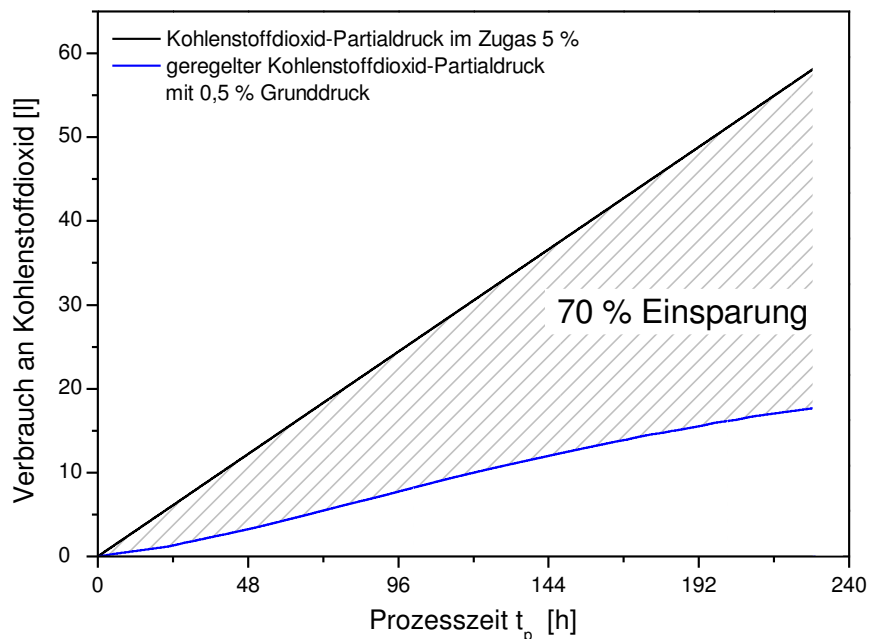


Abbildung 4.1 Verbrauch an Kohlenstoffdioxid für Satzbetrieb-Kultivierungen im 2l-Modellreaktor mit *Chlorella vulgaris*. Details zur Prozessführung finden sich im Kapitel 3.2.4.

Die Regelung des CO_2 -Eintrages in Photobioreaktoren ist über verschiedene Parameter möglich. Neben der Verwendung des pH-Signals als Messgröße, ist auch eine direkte Regelung über den Gelöst- CO_2 -Gehalt im Kulturmedium möglich. Das Messprinzip beruht dabei auf der selektiven Diffusion von gelöstem CO_2 durch eine Membran und die darauffolgende vollständige Dissoziation zu Carbonat aufgrund der vorliegenden basischen Umgebung. Der resultierende Anstieg der Wasserstoffionenkonzentration wird durch eine pH-Sonde erfasst. Der pH-Wert korreliert dabei direkt mit der Gelöst-Konzentration an CO_2 im Medium. Um den Verbrauch von Stickstoff während der Kultivierung zu kompensieren wurde des Weiteren die Zugabe von Ammoniaklösung etabliert. Die Dosierung wurde über den pH-Wert geregelt.

Die kombinierte CO_2 - und Stickstoff-Regelung wurde erfolgreich im Labormaßstab getestet (Abbildung 4.2). Die Regelung der Gelöst- CO_2 -Konzentration, wie auch der Stellmittelzugabe, erfolgte über einen P-Regler, wodurch beide Größen auf einen Sollwert gehalten wurden. Eine Erniedrigung der eingestellten Gelöst- CO_2 -Konzentration durch die Photosynthese führte zu einer Erhöhung des CO_2 -Partialdruckes im Zugas. Im Gegensatz konnte die eingestellte Gelöst- CO_2 -Konzentration von 0,05 % nicht unterschritten werden.

Des Weiteren erfolgte die Zugabe von Ammoniaklösung, wenn sich der pH-Wert unterhalb des Setpoints befand.

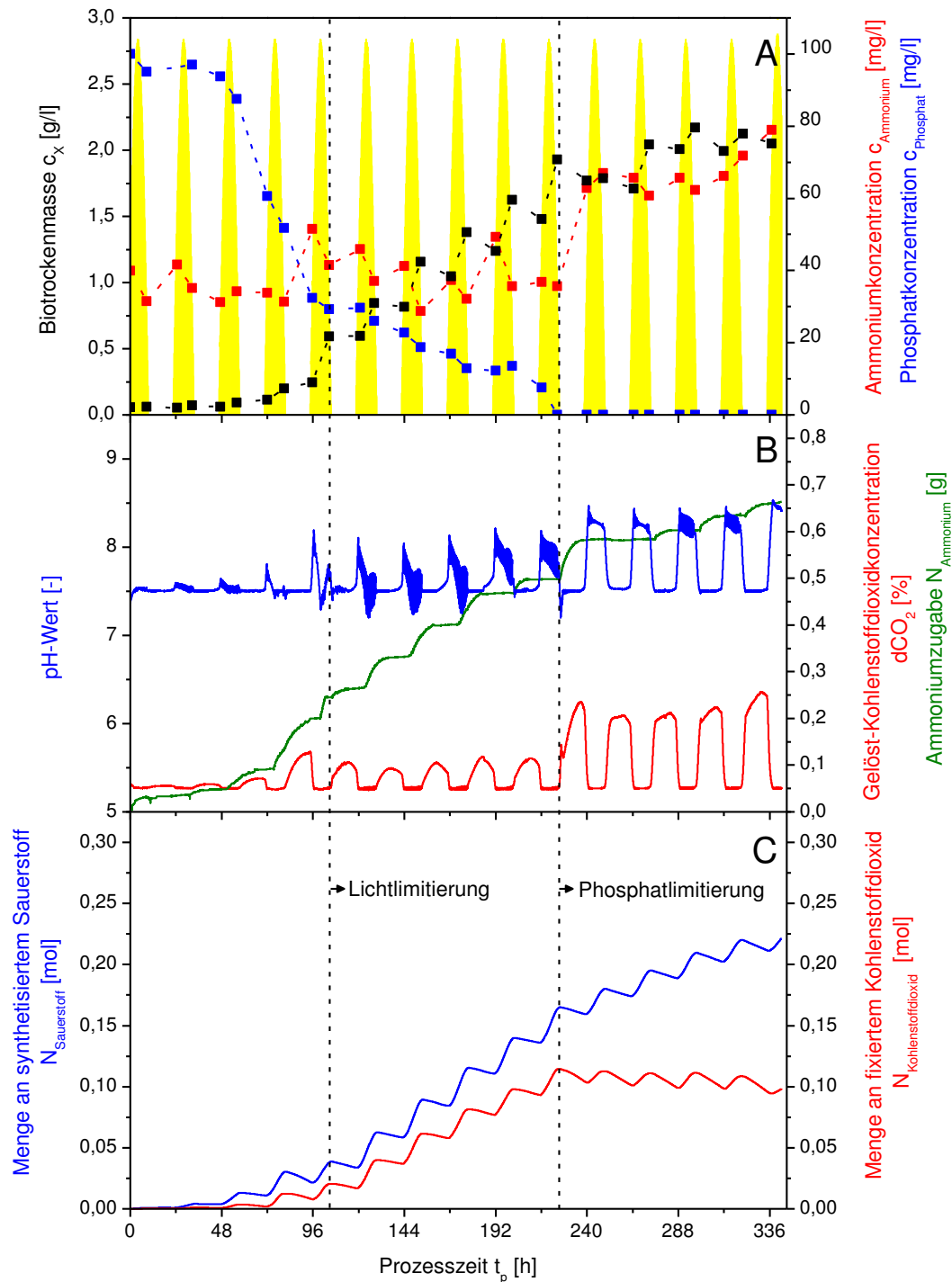


Abbildung 4.2 Kohlenstoffdioxid/Stickstoff-Regelung bei Kultivierungen von *Chlorella vulgaris* im Tag/Nacht-Zyklus. Reaktor: 2l-Modellreaktor (Kapitel 3.2.4); Prozessfahrweise: Satzbetrieb; Reaktorvolumen: 1,7 l; Temperatur: 25 °C; Rührerdrehzahl: 250 rpm, Begasungsrate: 0,05 vvm, Stellmittel: 2,5 %ige Ammoniaklösung, Kultivierungsmedium: Tabelle 3.1; Prozessführungsdetails finden sich in Kapitel 3.2.4.

Die Biotrockenmasse zeigte den typischen Verlauf einer Satzkultivierung im Tag-/Nacht-Zyklus. In den ersten 96 h war die Kultur lichtgesättigt. In der darauffolgenden lichtlimitierten Phase konnte eine lineare Biotrockenmassezunahme beobachtet werden. Die Biotrockenmasse nahm in dieser Zeit in den Tagphasen zu und verringerte sich in den Nachtphasen. Nach etwa 216 h trat eine Phosphatlimitierung ein.

Während den Tagphasen wird die Energie für die Bildung neuer Biomasse durch die Photosynthese bereitgestellt. Bereitgestellte Energie, die nicht zur Bildung neuer Biomasse verwendet wird, dient zum Aufbau von Speicherstoffen (wie Stärke oder Lipide). Die Menge an gebildeten Speicherstoffen korreliert dabei mit der verfügbaren Photonenmenge, (Abbildung 4.4 rechts). Da in den Nachtphasen lediglich der heterotrophe Stoffwechsel aktiv ist, wird die benötigte Energie für den Erhaltungsstoffwechsel durch den Abbau der Speicherstoffe bereitgestellt. Ferner wird durch die Umwandlung von Speicherstoffen auch neue Biomasse gebildet. Die Verringerung der Biotrockenmasse in den Nachtphasen ist somit auf den Abbau der Speicherstoffe – und nicht auf den Verlust von Biomasse – zurückzuführen. Der Abbau und Umwandlung von Speicherstoffen geht weiterhin mit dem Verlust an fixiertem CO₂ und O₂ einher und wird durch die Ergebnisse aus Abbildung 4.2 C und Abbildung A.11 bestätigt. In diesem Zusammenhang prägte Dillschneider [141] den Begriff der aktiven Biomasse und differenzierte dadurch die Biomasse, welche zum Wachstum fähig ist, von den Speicherstoffen.

In den Tagphasen wurde das Gelöst-CO₂-Signal (dCO₂) erfolgreich auf den Sollwert geregelt. In den Nachtphasen stieg jedoch die Gelöst-CO₂-Konzentration aufgrund der Respiration der Mikroalgen. Dies hatte zur Folge, dass Stellmittel zugeführt werden musste. Während den Tagphasen stieg der pH-Wert an, da hier nur eine verminderte Respiration stattfand. In der vierten Nachtphase wurde eine erhöhte Ammoniumkonzentration im Medium festgestellt, die auf eine erhöhte Respiration zurückzuführen ist. Durch den Verbrauch von Stickstoff sank während der Tagphase die Ammoniumkonzentration wieder auf den Ausgangswert zurück. Aus dem Verlauf ist ersichtlich, dass eine geregelte Zufütterung von Stickstoff möglich ist.

Nach Eintritt der Phosphatlimitierung war eine signifikante Zunahme der Respiration in den Nachtphasen zu beobachten, die mit einer Erhöhung der Ammoniumkonzentration einherging. Danach wurde nur noch geringfügig Ammoniak zugegeben. Betrachtet man die Synthese und Fixierung von O₂ und CO₂ im Verlauf der Kultivierung, so ist bis zum Eintritt

der Phosphatlimitierung eine konstante Zunahme von synthetisierten O₂ und fixiertem CO₂ zu beobachten. Danach stagnierte die CO₂-Fixierung. Die Synthese von Sauerstoff blieb weiterhin konstant. Daraus lässt sich schließen, dass der photosynthetische Apparat weiterhin aktiv war. Da keine neue Biomasse gebildet werden kann, wird die gebildete Energie für den Erhaltungsstoffwechsel und den Aufbau von Energiespeichern verwendet [142, 143]. In den Nachtphasen wurden die Energiereserven aufgebraucht.

Das Experiment zeigte, dass eine kombinierte CO₂-Regelung mit einer geregelten Stickstofffütterung im Satzbetrieb möglich ist. Jedoch resultierte hieraus auch Optimierungsbedarf, der bei späteren Kultivierungen berücksichtigt wurde. Ein kritischer Punkt ergab sich durch die Respiration in den Nachtphasen und die Ansäuerung des Mediums in dieser Zeit. Abbildung 2.5 ergibt, dass eine Erhöhung des Grundpartialdruckes von CO₂ auf 1 % sinnvoll wäre, um eine Wachstumslimitierung auszuschließen und die respiratorische Ansäuerung des Mediums durch Verminderung des Partialdruckes im Zugas zu kompensieren. Die Erweiterung der geregelten Zufütterung auf andere Komponenten, wie Phosphat, ist auch denkbar. Hierfür müssen jedoch die jeweiligen stöchiometrischen Verhältnisse berücksichtigt werden, da eine direkte Regelung über den pH-Wert nicht möglich ist.

4.1.2 Temperatur/Licht-Kinetik der Mikroalge *Chlorella vulgaris*

Biologische Systeme zeigen bezüglich des Wachstums- und Stoffwechselverhaltens eine Abhängigkeit von der Temperatur (Kapitel 2.1.2.2). Die Auftragung der spezifischen Wachstumsrate μ gegen die Temperatur T ergibt eine Temperaturkinetik. Diese ermöglicht es, die optimale Temperatur für die Kultivierung des Organismus zu identifizieren. In Abbildung 4.3 ist eine solche Kinetik für den Stamm *Chlorella vulgaris* dargestellt.

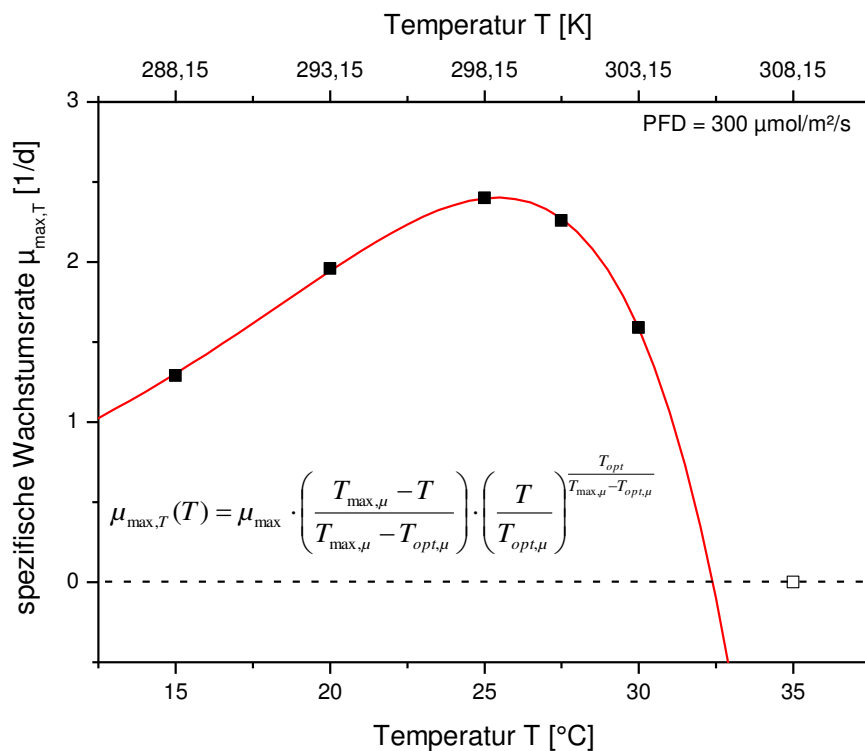


Abbildung 4.3 Temperaturkinetik bei einer Photonenflussdichte (PFD) von 300 μmol/m²/s für die Kultivierung von *Chlorella vulgaris*. Details zur Prozessführung in Kapitel 3.2.3. Anpassungsfunktion nach Yan [144] mittels der Nonlinear Solving Methode [134]; geschlossene Symbole (■) wurden für den Anpassung berücksichtigt.

Die Messdaten wurden mit der Funktion nach Yan [144] und durch die Nonlinear Solving Methode [134] angepasst. Die Ergebnisse der Anpassung ergaben für die maximale spezifische Wachstumsrate μ_{max} einen Wert von 2,40 d⁻¹, für die maximale Temperatur $T_{max,\mu}$ 305,54 K (32,39 °C) und für die optimale Kultivierungstemperatur $T_{opt,\mu}$ 298,59 K (25,44 °C). Die ermittelte optimale Kultivierungstemperatur für *Chlorella vulgaris* liegt im ähnlichen Bereich, wie die Literaturangaben [145].

$$\mu_{max,T}(T) = \mu_{max} \cdot \left(\frac{T_{max,\mu} - T}{T_{max,\mu} - T_{opt,\mu}} \right) \cdot \left(\frac{T}{T_{opt,\mu}} \right)^{\frac{T_{opt,\mu}}{T_{max,\mu} - T_{opt,\mu}}} \quad (4.1)$$

$\mu_{max,T}(T)$	spezifische Wachstumsrate bei der Temperatur T	[1/d]
$\mu_{max,\mu}$	Maximale spezifische Wachstumsrate	[1/d]
$T_{max,\mu}$	Anpassungskonstante für die maximale Temperatur	[°C]
$T_{opt,\mu}$	Anpassungskonstante für die optimale Temperatur	[°C]
T	Temperatur	[°C]

4.1.3 Einfluss von Temperatur und Lichtintensität auf das Wachstumsverhalten von *Chlorella vulgaris*

Das Wachstumsverhalten von phototrophen Kultivierungen wird maßgeblich von der Temperatur und dem Licht beeinflusst (Kapitel 2.1.2). Die Kombination dieser Faktoren wurde in der Literatur untersucht [145-150], wobei die beschriebenen Experimente oft unter Kohlenstoffdioxidlimitierung oder bei kultivierungsuntypischen Temperaturen stattfanden. Die grundsätzlichen Aussagen zum Einfluss der Temperatur auf die Lichtkinetik gleichen sich jedoch und ergeben eine Zunahme des Lichtkompensationspunktes mit steigender Temperatur. Des Weiteren wurde auch eine Zunahme der photosynthetischen Aktivität mit zunehmender Temperatur festgestellt. Die Aussagen zur Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsrate vom Licht im limitierten Bereich sind allerdings widersprüchlich. Während einige Autoren keinen Einfluss der Temperatur auf die Wachstumsrate beobachten [147], sehen andere eine Temperaturabhängigkeit der Wachstumseffizienz α_{μ} (Abbildung 2.3) [145, 146, 150].

In den hier durchgeführten Experimenten wurde der Einfluss der Lichtintensität und der Kultivierungstemperatur auf das Wachstumsverhalten von *Chlorella vulgaris* untersucht. Dabei wurden die Kultivierungen bei einem erhöhten Kohlenstoffdioxidpartialdruck durchgeführt, um Limitationen zu vermeiden. Die Kultivierungstemperaturen wurden so gewählt, dass diese den Bedingungen im Freiland entsprachen. Abbildung 4.4 (links) und Tabelle 4.1 stellen die Ergebnisse für die spezifische Wachstumsrate in Abhängigkeit von der

Temperatur und der Lichtintensität dar. Da die Lichtkinetik des Wachstums im Wesentlichen durch den lichtlimitierten und den lichtgesättigten Teil definiert wird, kann eine abschnittsweise definierte Funktion zur Beschreibung der Messergebnisse angewendet werden (Gleichung (4.2)). Die Anpassung der Funktion erfolgte nach der Nonlinear Solving Methode [134].

$$\mu(I_{PAR}) = \begin{cases} I_{PAR} \cdot \frac{\mu_{max}}{I_{S,\mu}}, & I_{PAR} < I_{S,\mu} \\ \mu_{max}, & I_{PAR} \geq I_{S,\mu} \end{cases} \quad (4.2)$$

$$y_{Stärke}(I_{PAR}) = \begin{cases} I_{PAR} \cdot \frac{y_{max,Stärke}}{I_{S,Stärke}}, & I_{PAR} < I_{S,Stärke} \\ y_{max,Stärke}, & I_{PAR} \geq I_{S,Stärke} \end{cases}$$

$\mu(I_{PAR})$	spezifische Wachstumsrate der Biomasse bei einer PAR-Lichtintensität I_{PAR}	[1/d]
μ_{max}	maximale spezifische Wachstumsrate	[1/d]
$I_{S,\mu}$	Lichtsättigungspunkt für die spezifische Wachstumsrate μ	[$\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$]
$y_{Stärke}(I_{PAR})$	spezifischer Stärkegehalt bei einer PAR-Lichtintensität I_{PAR}	[mg/g _{Biomasse}]
$I_{S,Stärke}$	Lichtsättigungspunkt für den spezifischen Stärkegehalt $y_{Stärke}$	[$\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$]
$y_{max,Stärke}$	Maximaler spezifischer Stärkegehalt	[mg/g _{Biomasse}]
I_{PAR}	Photonenflussdichte im PAR-Bereich	[$\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$]

Die Wachstumseffizienzen α_μ und $\alpha_{Stärke}$ wurde nach Gleichung (4.3) bestimmt.

$$\alpha_\mu = \frac{\mu_{max}}{I_{S,\mu}} \quad (4.3)$$

$$\alpha_{Stärke} = \frac{y_{Stärke,max}}{I_{S,Stärke}}$$

α_μ	Wachstumseffizienz für die spezifische Wachstumsrate μ_x	$[m^2 \cdot s / \mu mol / d]$
μ_{max}	Maximale spezifische Wachstumsrate der Biomasse	$[1/d]$
$I_{S,\mu}$	Lichtsättigungspunkt für die spezifische Wachstumsrate μ	$[\mu mol / m^2 / s]$
$\alpha_{Stärke}$	Produktionseffizienz für Stärke	$[mg \cdot m^2 \cdot s / g_{Biomasse} / \mu mol]$
$y_{Stärke,max}$	maximaler spezifischer Stärkegehalt	$[mg / g_{Biomasse}]$
$I_{S,Stärke}$	Lichtsättigungspunkt für den spezifischen Stärkegehalt $y_{Stärke}$	$[\mu mol / m^2 / s]$

Tabelle 4.1 Anpassungswerte für die Anpassungsfunktion (4.2) und (4.3).

Parameter	Einheit	15 °C	20 °C	30 °C
μ_{max}	[1/d]	1,29	1,89	1,64
$I_{S,\mu}$	$[\mu mol / m^2 / s]$	58,65	67,29	86,64
α_μ	$[m^2 \cdot s / \mu mol / d]$	0,02	0,03	0,019
$y_{Stärke,max}$	$[mg / g_{Biomasse}]$	723,43	457,11	780,23
$I_{S,Stärke}$	$[\mu mol / m^2 / s]$	84,42	57,26	64,69
$\alpha_{Stärke}$	$[mg \cdot m^2 \cdot s / g_{Biomasse} / \mu mol]$	8,57	6,80	12,06

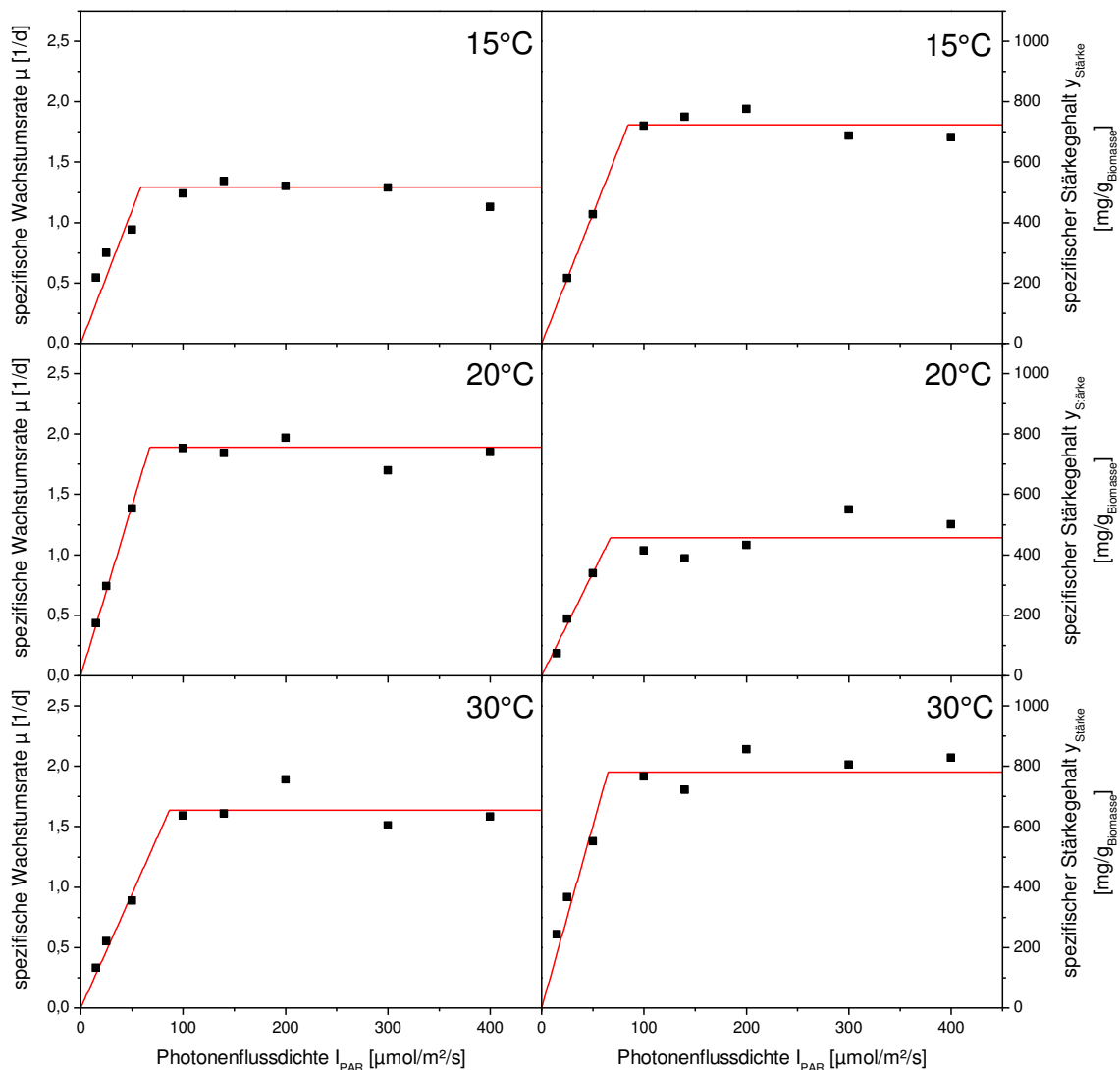


Abbildung 4.4 spezifische Wachstumsrate (links) und Stärkegehalt (rechts) in Abhängigkeit von der Photonenflussdichte bei 15 °C, 20 °C und 30 °C für die Mikroalge *Chlorella vulgaris*. Details zur Prozessführung und Auswertung in den Kapiteln 3.2.3, 3.3.2.1 und 3.3.4

Die ermittelten spezifischen maximalen Wachstumsraten entsprechen den Ergebnissen der bei der Untersuchung der Temperaturkinetik festgestellten Werte (Abbildung 4.3). Des Weiteren ist eine Zunahme des Lichtsättigungspunktes bei höheren Temperaturen zu beobachten. Der photosynthetische Apparat weist eine steigende Kapazität bezüglich der Lichtintensität bei zunehmenden Temperaturen auf. In Verbindung mit den aufgenommenen spezifischen Wachstumsraten bei 25 °C für *Chlorella vulgaris* von Dillschneider [39] konnte die Wachstumseffizienz in Bezug auf die Temperatur detailliert beschrieben werden (Abbildung 4.5). Die entsprechende Lichtkinetik ist im Anhang (Abbildung A.4) dargestellt. Die Auftragung der in Gleichung (4.4) eingesetzten Messdaten zeigt eine tendenzielle

Abhängigkeit der Wachstumseffizienz $\alpha_{\mu,T}$ von der Temperatur. Für die maximale Wachstumseffizienz α_{max} wurde ein Wert von $0,028 \text{ m}^2\cdot\text{s}/\mu\text{mol}/\text{d}$ bestimmt. Für die maximale und optimale Temperatur $T_{max,\alpha}$ bzw. $T_{opt,\alpha}$ ergaben sich Werte von $306,85 \text{ K}$ ($33,70 \text{ }^\circ\text{C}$) bzw. $296,41 \text{ K}$ ($23,26 \text{ }^\circ\text{C}$). Diese Ergebnisse zeigen die Temperaturabhängigkeit der Wachstumseffizienz. Die Lichtabsorption durch die LHC ist temperaturunabhängig. Erst die Synthese neuer Biomasse unterliegt dabei einer Temperaturabhängigkeit. Aufgrund der Anzahl und Fehlerbeschaffenheit der Daten, sollte diese Aussage jedoch mit zusätzlichen Untersuchungen weiter validiert werden.

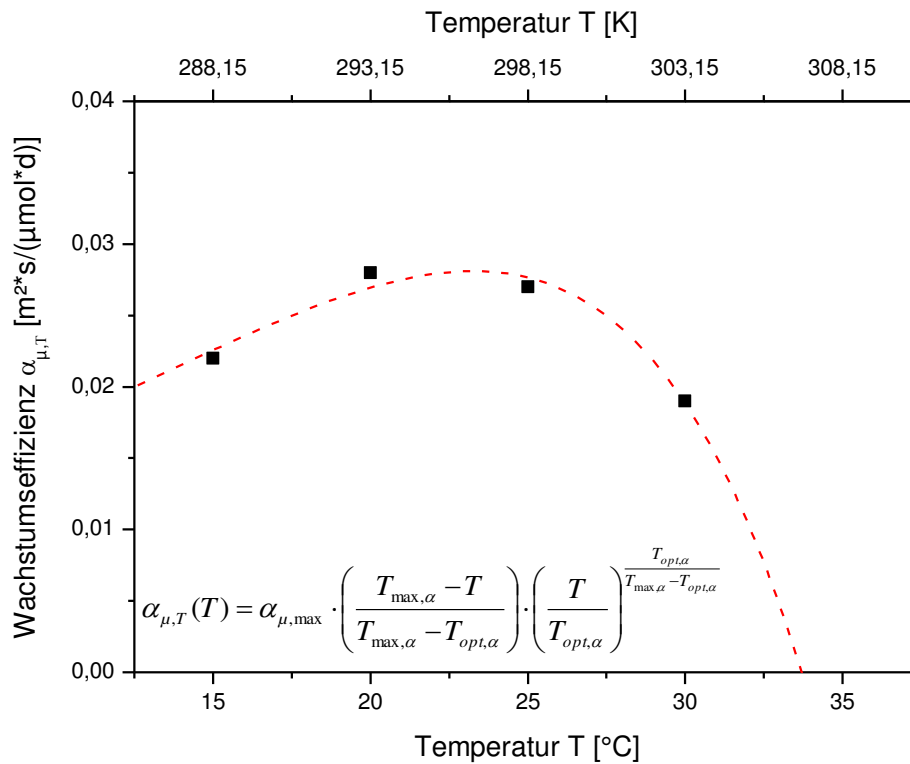


Abbildung 4.5 Wachstumseffizienz in Abhängigkeit von der Temperatur. Anpassungsfunktion nach Yan [144] und nach der Nonlinear Solving Methode [134] angepasst.

$$\alpha_{\mu,T}(T) = \alpha_{X,max} \cdot \left(\frac{T_{max,\alpha} - T}{T_{max,\alpha} - T_{opt,\alpha}} \right) \cdot \left(\frac{T}{T_{opt,\alpha}} \right)^{\frac{T_{opt,\alpha}}{T_{max,\alpha} - T_{opt,\alpha}}} \quad (4.4)$$

$\alpha_{\mu,T}(T)$	Wachstumseffizienz für die spezifische Wachstumsrate μ bei einer Temperatur T	$[m^2 \cdot s / (\mu mol \cdot d)]$
α_{max}	maximale Wachstumseffizienz	$[m^2 \cdot s / (\mu mol \cdot d)]$
$T_{max,\alpha}$	Anpassungskonstante für die maximale Temperatur	$[^{\circ}C]$
$T_{opt,\alpha}$	Anpassungskonstante für die optimale Temperatur	$[^{\circ}C]$
T	Temperatur	$[^{\circ}C]$

Die Auswertung des Einflusses der Lichtintensität und der Temperatur auf den spezifischen Stärkegehalt $y_{Stärke}$ (bzw. Kohlenhydratgehalt, siehe hierzu Kapitel 3.3.4) ist in Abbildung 4.4 (rechts) wiedergegeben und zeigte ein der ermittelten Lichtkinetik entsprechendes Verhalten. In Kombination mit den Ergebnissen aus Abbildung 4.6 B war eine Abhängigkeit des spezifischen Stärkegehaltes bzgl. der Lichtintensität und Temperatur festzuhalten. Die Untersuchungen zeigten, dass bei erhöhter Lichtintensität überschüssige Energie aus dem Photosynthesemetabolismus in Speicherstoffe – hier in Form von Stärke – konvertiert wird. Innerhalb des lichtlimitierten Bereiches wird der spezifische Stärkegehalt von der Lichtintensität bestimmt und erreicht im lichtgesättigten Bereich sein temperatur-spezifisches Maximum. In diesem Bereich bestimmt die Kultivierungstemperatur die zeitliche Biomassezunahme (Kapitel 2.1.2.2). Überschüssige Energie aus der Elektronentransportkette, die nicht in s. g. aktive Biomasse umgewandelt wird, wird dabei für die Synthese von Speichermolekülen verwendet. Bei unlimitiertem Wachstum erfolgt dies in Form von Stärkebildung [45, 58]. Da für die Bildung von Stärke ebenfalls CO_2 durch die RuBisCO fixiert werden muss, kann diese als limitierendes Enzym ausgeschlossen werden. Schlussfolgernd müssen andere Enzyme im anabolischen Stoffwechsel limitierend sein, die letztlich zu einer Umstrukturierung der metabolischen Stoffflüsse führen und dadurch in eine vermehrte Bildung von Speicherstoffen – wie Stärke – resultieren.

Die Stärkekonzentration wurde kolorimetrisch bestimmt (Kapitel 3.3.4). Bei der sauren Hydrolyse der Biomasse entstehen diverse Neben- und Zwischenprodukte, die ebenfalls mit der Nachweisreagenz reagieren und so das Messergebnis verfälschen. Des Weiteren wird mit

dieser Analyse nur der unspezifische Gehalt in der Zelle erfasst und erschwert somit eine exakte physiologische Betrachtung. Eine Validierung der Messergebnisse mit genaueren Messverfahren, wie FTIR, NMR oder chromatographischen Verfahren, wäre erstrebenswert. Aufgrund des kleinen Reaktorvolumens konnten nur geringe Probenmengen untersucht werden. Dies führte vor allem bei geringen Biomassekonzentrationen zu einem erhöhten Fehler. Eine höhere Messgenauigkeit könnte erzielt werden, wenn die Kultivierungen im Turbidostatbetrieb durchgeführt werden. Die homogenen Bedingungen ermöglichen die Entnahme größerer Probenvolumina.

Der Verlauf der Photokonversionseffizienz (PCE) in Abhängigkeit von der Temperatur ist in Abbildung 4.6 A dargestellt. Wie die Temperaturkinetik für das Wachstum, zeigte auch die PCE eine Temperaturabhängigkeit. Im Bereich des Temperaturoptimums kann eine maximale PCE für die künstliche Beleuchtung im lichtgesättigten Bereich von 5,71 % (bei 300 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) bestimmt werden. Außerhalb des Temperaturoptimums verringert sich die Effizienz aufgrund der verminderten spezifischen Wachstumsrate, die sich dabei direkt auf die Produktivität auswirkt.

Das spezifische Chlorophyll a zu Chlorophyll b Verhältnis (Abbildung 4.6 C) fällt mit steigender Temperatur kontinuierlich ab. Ein Vergleich mit dem Absorptionsspektrum der photosynthetischen Pigmente (Abbildung 2.1) zeigt, dass sich das Spektrum des absorbierten Lichtes verändert. Mit zunehmender Temperatur erhöht sich der Anteil an Chlorophyll b. Dieses Verhalten wird durch die Ergebnisse von Maxwell [151] bestätigt. Des Weiteren kann auch die Abhängigkeit des Pigmentgehaltes von der Temperatur gezeigt werden (Abbildung A.5 und Abbildung A.6). Die Verminderung des spezifischen Pigmentgehaltes und die Veränderung der Pigmentzusammensetzung in Abhängigkeit zur Temperatur begründet sich im energetischen Ungleichgewicht, da aufgrund der verringerten metabolischen Aktivität eine Akkumulation von Energie aus der Elektronentransportkette auftritt (Kapitel 2.1.2.1). Als Resultat des Energieüberschusses passt der Organismus den photosynthetischen Apparat an, indem die quantitative und qualitative Absorption von Photonen durch die Photosysteme adaptiert wird. Ebenso kann ein Ungleichgewicht zwischen ATP und NADPH/ H^+ dazu führen, dass der Organismus seinen photosynthetischen Apparat anpasst. Hierbei könnten energieverbrauchende Reparaturmechanismen – die z. B. durch hohe Temperaturen induziert werden – dazu führen, dass mehr ATP verbraucht wird. Dies müsste durch den zyklischen Elektronentransport wie auch durch die Veränderung der Photosysteme ausgeglichen werden.

Ein signifikanter Einfluss der Temperatur auf die Aufnahme von Stickstoff, Phosphor und Schwefel geht aus den gewonnenen Ergebnissen nicht hervor (Abbildung 4.6 D-F). Da sich sowohl der Pigmentgehalt als auch die metabolische Kapazität mit der Temperatur gegenläufig verhalten, ändert sich die Zellzusammensetzung von *Chlorella vulgaris* nur geringfügig.

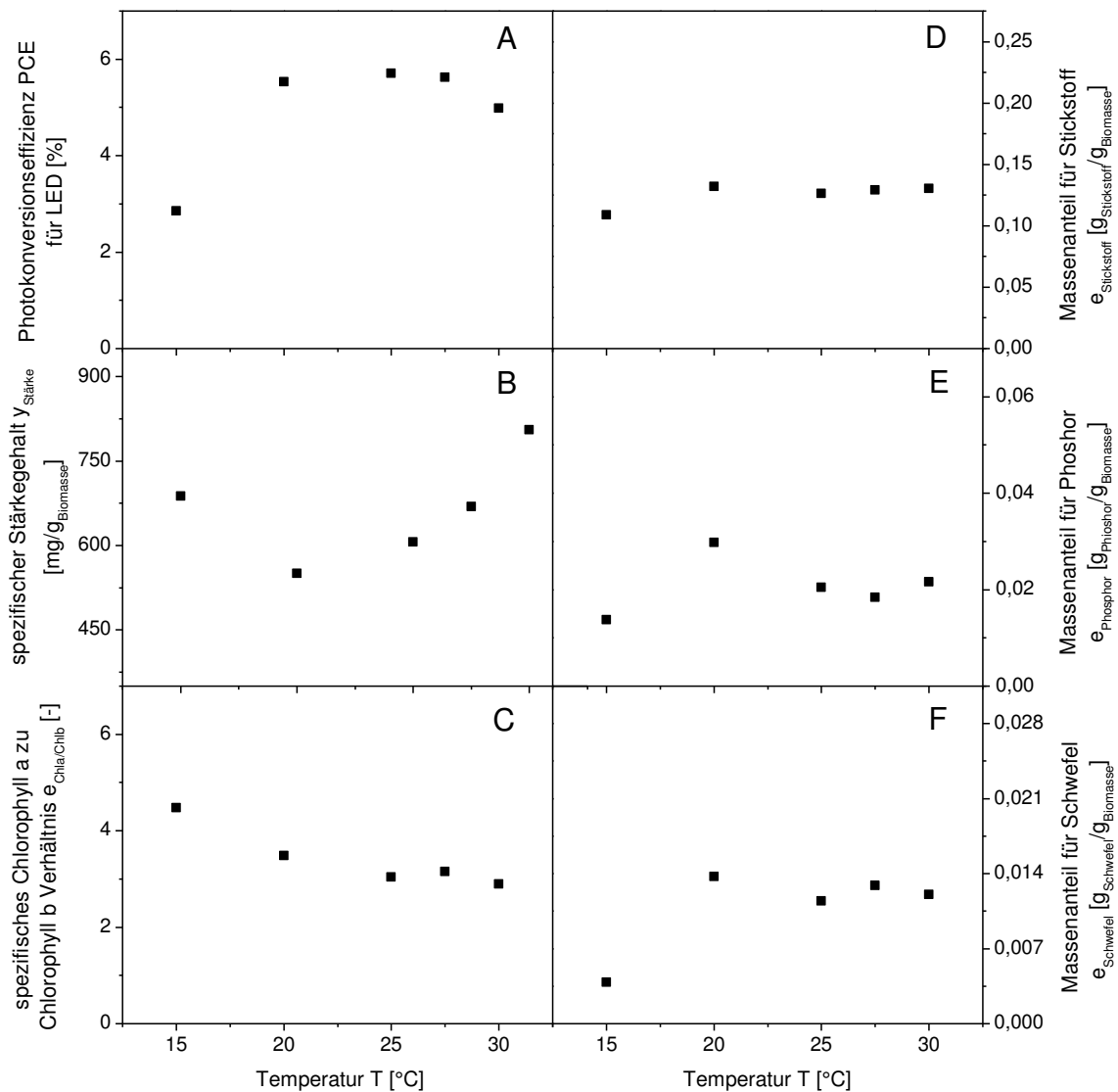


Abbildung 4.6 Darstellung prozessspezifischer Parameter über die Temperatur für eine Photonenflussdichte von $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. Details zur Prozessführung finden sich Kapitel 3.2.3

4.2 Auslegung und Inbetriebnahme der Pilotanlage am Solar Biofuels Research Centre (SBRC)

Das Solar Biofuels Research Centre (SBRC) wurde von einem internationalen Konsortium aus Industrie- und Akademiern gegründet, um die Wirtschaftlichkeit der Photobiotechnologie weiter voranzutreiben. In Tabelle 4.2 werden die wichtigsten Partner und deren Aufgaben im Projekt aufgeführt. Weitere Partner waren außerdem Cement Australia, Neste Oil, Siemens und die Regierung Queensland.

Tabelle 4.2 Kooperationspartner und deren Projektaufgaben im SBRC-Projekt

Kooperationspartner	Projektaufgabe
Universität Queensland Institut für molekulare Biowissenschaften	Organisation und Administration des Projektes in Brisbane
Universität Bielefeld Zentrum für Biotechnologie (CeBiTec)	Stammentwicklung und Metabolismusforschung
Karlsruher Institut für Technologie (KIT) Bioverfahrenstechnik	Anlagenentwicklung, Reaktor- und Prozessentwicklung
Kellogg Brown & Root Pty Ltd (KBR)	Anlagenentwicklung und -bau

4.2.1 Zielsetzung und Standortauswahl

Das Projektziel war wichtige wissenschaftliche Fragestellungen detailliert zu untersuchen, um die Photobiotechnologie und deren Konkurrenzfähigkeit gegenüber etablierten Technologien weiter auszubauen. Zunächst standen dabei die Entwicklung und der Bau einer wissenschaftlich orientierten Versuchsanlage für phototrophe Reaktorsysteme im Fokus. Diese Anlage diente als Versuchsplattform, um erstmalig kommerzielle Photobioreaktoren unter identischen und kontrollierten Versuchsbedingungen zu betreiben. Ein direkter Vergleich der unterschiedlichen Reaktortypen in Kombination mit analytischen Methoden sollte dabei die Vor- und Nachteile der einzelnen Systeme offen legen. Dadurch sollten die Prozessführung und das Reaktordesign hinsichtlich der Produktivitäten und dem Energieeinsatz optimieren werden. Außerdem sollte der Einfluss verschiedener Reaktorgeometrien und die geographische Ausrichtung eines Reaktorsystems auf die Produktivität und PCE untersuchen werden, um die optimale Anlagenkonfiguration zu

ermitteln. Neben der Reaktor- und Prozessentwicklung wurden auch Untersuchungen zur Stamm- und Medienauswahl getätigt. Daher wurden unterschiedliche Fachkompetenzen aus Biologie und Ingenieurwissenschaften zusammengeführt und eine moderne Mess- und Regeltechnik etabliert. Für die Validierung der Laborexperimente im Pilotmaßstab war es notwendig eine Infrastruktur zu installieren, die einen Vergleich der unterschiedlichen Maßstäbe zulässt. Eine zentralisierte Medienherstellung, eine effiziente Kühlwasserversorgung wie auch die Erfassung wichtiger Messgrößen (wie Temperatur und Lichtintensität) sind wichtige infrastrukturelle Einrichtungen. Um repräsentative Ergebnisse zu erhalten, wurde für die Anlage ein Standort ausgewählt, der von seinen klimatischen Bedingungen her den späteren Produktionsbedingungen ähnelt. Brisbane (Australien) mit seinem subtropischen Klima stellte sich als geeigneter Standort heraus (Abbildung 4.7).

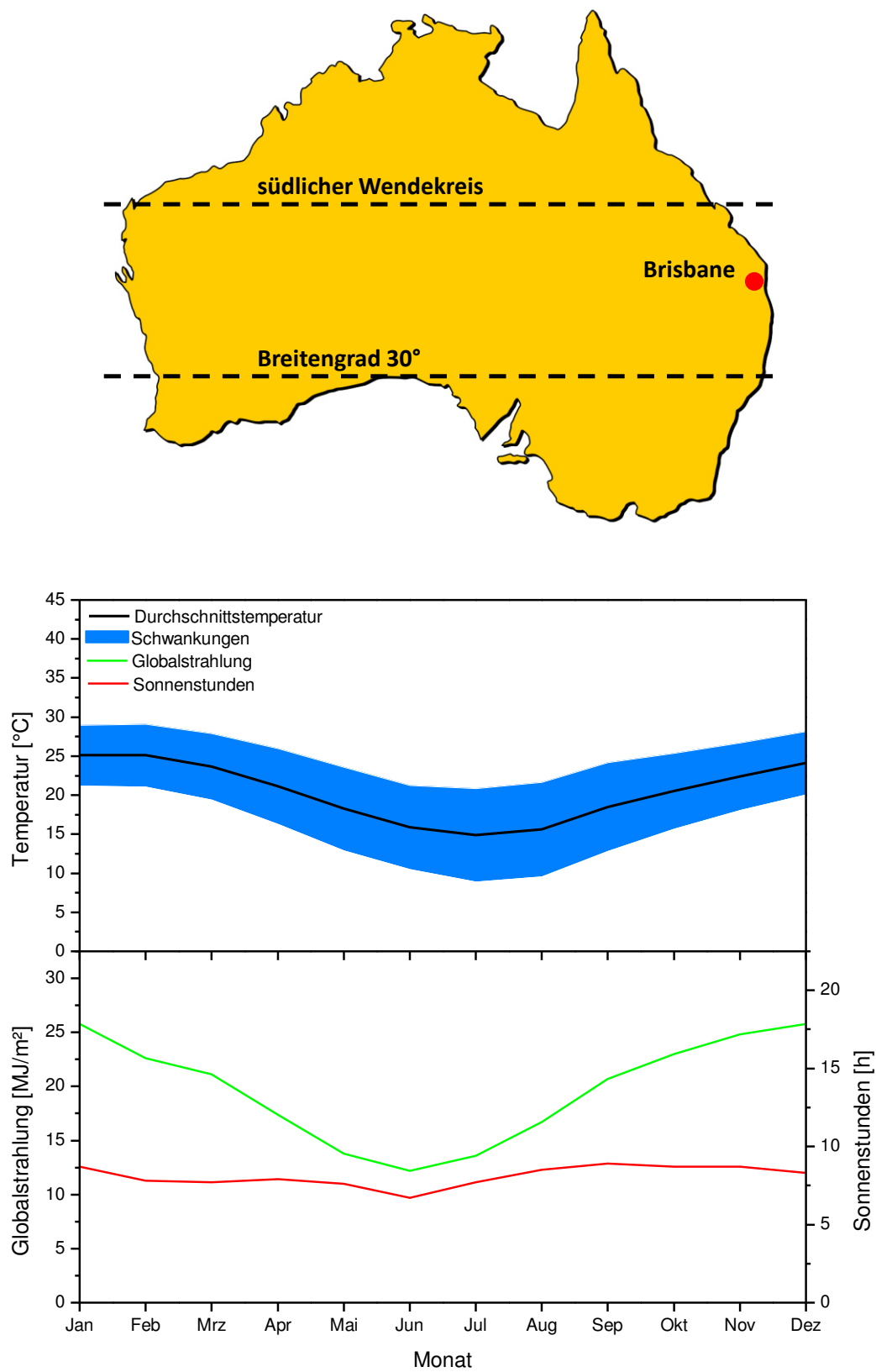


Abbildung 4.7 OBEN: graphische Darstellung des australischen Kontinentes modifiziert nach[152]; UNTEN: Gemittelte Klimadaten für den Standort Brisbane (Australien) basierend auf den Daten des australischen Wetterdienstes [153]. Temperaturzeitraum von 1994-2010; Globalstrahlung und Sonnenstunden von 2000-2010.

4.2.2 Auslegung und Planung der Versuchsanlage und deren Infrastruktur

An die Versuchsanlage wurden verschiedene Anforderungen gestellt. So sollten die Reaktorsysteme und die Mess- und Regeltechnik flexibel sein, damit verschiedene Reaktorkonfigurationen – wie die geographische Ausrichtung – untersucht werden können. Neuartige Reaktorsysteme sollten ebenso eingesetzt und bewertet werden. Diese Aspekte mussten bei der Entwicklung der Infrastruktur berücksichtigt werden.

4.2.2.1 Auslegung der Versuchsplattform und der Infrastruktur

Das Versuchsgelände besitzt eine Grundfläche von 23,62 m × 22,42 m (529,56 m²). Um Kontaminationen der Umgebung durch Chemikalien oder Biomasse zu verhindern, wurde der asphaltierte Boden wasserdicht versiegelt. Das Abwasser kann durch einen Abfluss kontrolliert abgeleitet werden. Des Weiteren umgibt ein Überlaufschutz die Plattform. Bei der Planung war die Vermeidung von Schattenbildung auf die Photobioreaktoren wichtig. Da auf der Südhalbkugel ein Ost-Nord-West-Verlauf der Sonne vorliegt, wurden alle infrastrukturellen Einrichtungen auf der Südseite der Anlage installiert. Hierzu gehörten primär die Medien- und Entsorgungstanks wie auch die Erntestation (Abbildung 4.8). Entlang der Anlage verlaufen alle wichtigen Versorgungs- und Entsorgungsleitungen, wobei in regelmäßigen Abständen Abnahmestationen etabliert wurden. Da für elektrische Einrichtungen im Freilandbetrieb besondere Sicherheitsvorschriften gelten, wurden Druckluftpumpen für die Förderung von Flüssigkeiten installiert und alle elektrischen Einrichtungen – mit Ausnahme der Control-Units (Kapitel 4.2.2.3) – in Gebäuden untergebracht. In Zusammenarbeit mit KBR wurden die prozessrelevanten infrastrukturellen Einrichtungen ausgelegt. Hierzu zählten die Versorgungsleitungen für Druckluft und CO₂ wie auch die Kühlwasserversorgung.

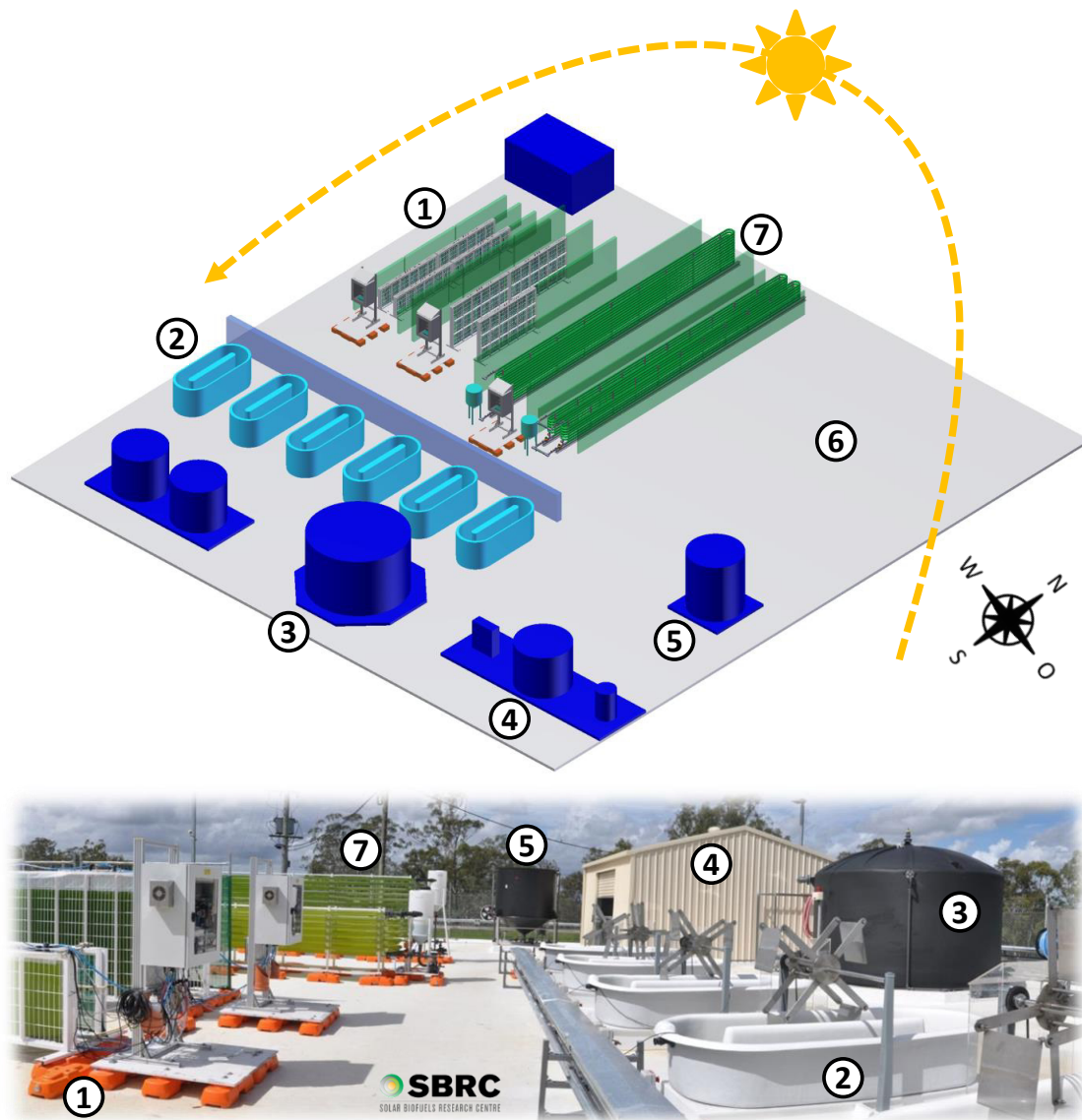


Abbildung 4.8 Übersicht des Solar Biofuels Research Centre (SBRC). Oben: CAD-Zeichnung; Unten: Panoramaaufnahme (Foto: Florian Oswald); 1: Flat-Plate-Reaktoren; 2: Raceway Ponds; 3: Abwassertank; 4: Erntestation; 5: Medientank; 6: freie Fläche; 7: Rohrreaktoren.

4.2.2.2 Installation der Reaktorsysteme

Bei der Installation der Reaktorsysteme stand die Flexibilität im Vordergrund, da verschiedene Anordnungsvarianten in Bezug auf die Ausrichtung zum Sonnenverlauf sowie unterschiedliche Abstände der Reaktoren zueinander untersucht werden sollten. Für Freilandkultivierungen ist der Einfluss des Wetters, in diesem Falle besonders der vom Wind, von entscheidender Bedeutung. Die Reaktorsysteme – insbesondere die Flat-Panel-Reaktoren – sind aufgrund ihrer Reaktorgeometrie windanfällig. Eine Verankerung im Boden kam

wegen der gewünschten Flexibilität und wegen der besonderen Bodeneigenschaften (Kapitel 4.2.2.1) nicht in Frage. Daher wurde eine Verlagerung des vertikalen Schwerpunktes durch Anbringung von Betonfüßen an die Reaktorsysteme vorgenommen, um diese gegen Windkräfte beständig zu machen. Die Berechnung der Windlasten für die einzelnen Reaktoren erfolgte nach der Norm 1055-4 des Deutschen Instituts für Normung (DIN) [154]. Über eine Drehmoment-Bilanzierung (Windlast und Gewichtskraft) konnten die maximalen Windkräfte für die jeweiligen Systeme ermittelt werden [155] (Anhang Kapitel A 1). Die vorherrschenden Windgeschwindigkeiten am Standort wurden der offiziellen Webseite des australischen Wetterdienstes entnommen [153]. In den letzten 30 Jahren wurden am gewählten Standort Windgeschwindigkeiten von bis zu 143 km/h (40 m/s) gemessen. Aus der Windlastberechnung konnten die maximal zulässigen Windgeschwindigkeiten für die einzelnen Systeme berechnet werden. Diese sind in Tabelle 4.3 für die Reaktoren und für die Control-Units wiedergegeben. Die Flat-Plate-Reaktoren sind dabei bis zum Grad 8 bzw. 10 auf der Beaufort-Skala [156] windstabil und müssen bei höheren Windgeschwindigkeiten zusätzlich gesichert werden. Alle anderen Systeme gelten in Bezug auf die vorherrschenden klimatischen Bedingungen als ausreichend gesichert. Neben der Windbeständigkeit bietet die gewählte Konstruktion den Vorteil der Mobilität der einzelnen Systeme.

Tabelle 4.3 Windlastanalyse der Reaktorsysteme und der Peripherie am Solar Biofuels Research Centre (SBRC). Berechnungsgrundlagen befinden sich im Anhang A 1.

Reaktorsystem/Peripherie	maximale Windgeschwindigkeiten [km/h]	Beaufort-Grad [-]
Flat-Plate-Reaktor klein	90 (25 m/s)	10
Flat-Pate-Reaktor groß	63 (17 m/s)	8
Rohrreaktor klein	331 (64 m/s)	12
Rohrreaktor groß	149 (29 m/s)	12
Control-Unit		
Seite	548 (107 m/s)	12
Frontseite	380 (74 m/s)	12
Rückseite	628 (122 m/s)	12

4.2.2.3 Entwicklung der Mess- und Regeleinrichtungen

Die Prozessregelung und -aufzeichnung erfolgte über das Prozessleitsystem BioProCon, welches am Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich III: Bioverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) entwickelt wurde. Die zugehörige Mess- und Regel-Hardware wurde in mobilen wetterfesten Schränken, den so genannten Control Units, installiert. Diese wurden am KIT entwickelt und angefertigt. Jede Reaktorgruppe besitzt eine eigene Control-Unit, die speziell auf die Reaktorsysteme ausgelegt wurde. Um die elektronischen Bauteile vor Überhitzung zu schützen, wurden die Schränke über Peltier-Kühlaggregate bzw. über wassergekühlte Kühlrippen temperiert. Zur Kommunikation und Steuerung der Grundoperationen wurde das Steuersystem Simatic S7-1200 der Firma Siemens verwendet. Die Messsensorik, welche auf der speicherprogrammierten Steuerung „Modbus“ basiert, stammt von der Firma Hamilton. Diese Technik ermöglicht den universellen Einsatz der Messsensoren innerhalb der Control-Units und dem Prozessleitsystem. Zur Einsparung elektrischer Geräte und des verfügbaren Platzes, wurde die Stellmittelzugabe über druckluftüberlagerte Stellmittelflaschen mit Magnetventilen gesteuert. Abbildung 4.9 zeigt die Control-Units für die Flat-Plate-Reaktoren am SBRC.



Abbildung 4.9 Control-Units am Solar Biofuels Research Centre (SBRC), Australien. Foto: Florian Oswald

Für die Control-Units wurde ebenfalls eine Windlastanalyse durchgeführt (Tabelle 4.3). Diese ergab eine ausreichende Windstabilität für den Standort Brisbane.

Phototrophe Kultivierungen im Freiland werden entscheidend durch Licht und Temperatur beeinflusst. Deshalb wurde am Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Bereich III: Bioverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) eine Wetterstation bereitgestellt, die alle wichtigen Versuchsparameter dokumentiert. Um den Einfluss des auftretenden Sonnenlichtes auf die Reaktoren zu bestimmen, wurden zwei unterschiedliche Lichtsensoren installiert. Das Pyranometer CMP11 (Kipp und Zonen) erfasst die direkt auftreffende globale Sonnenstrahlung und der PAR-Sensor BF5 (Delta-T Devices Ltd) ermittelt die direkte und diffuse PAR-Strahlung. Eine Aufschlüsselung der einzelnen Lichtanteile im Sonnenlichtspektrum ist dadurch möglich. Durch die Differenzierung in direkte und diffuse PAR-Strahlung kann der jeweilige Einfluss auf die Biomasseproduktivität untersucht werden. Alle weiteren gängigen meteorologischen Parameter werden durch den Klimasensor US NHTFB (Thies Clima) erfasst. Auch der Einfluss von Niederschlag und Wind auf die Kultivierungstemperatur der Reaktoren kann somit untersucht werden. Die Sensoren sind in Abbildung 4.10 dargestellt.

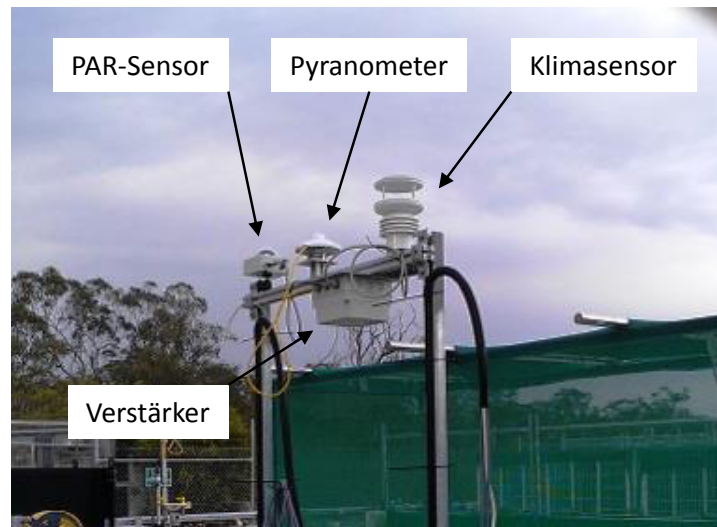


Abbildung 4.10 Wetterstation am Solar Biofuels Research Centre (SBRC), Australien. Foto: Juliane Wolf

4.2.2.4 Auslegung der peripheren Einrichtungen – Kühlwasserversorgung

Die Temperierung der Reaktoren stellt einen zentralen Aspekt in der Kultivierung phototropher Organismen im Freiland dar. Insbesondere in Australien muss die Kapazität der Kühlwasserversorgung an die vorliegenden Bedingungen angepasst sein, um eine ausreichende Temperierung zu erzielen. Zu diesem Zweck wurde die eintreffende Lichtstrahlung für die Flat-Plate-Reaktoren simuliert. Mittels der numerischen Simulationssoftware Matlab wurde die direkte Sonneneinstrahlung, die auf die Reaktoren im Tagesverlauf und über den Jahrverlauf auftrifft, berechnet und die daraus resultierende aufzubringende Kühlleistung bestimmt. Eine detaillierte Beschreibung der Simulation und des Programmcodes befindet sich im Anhang (Abbildung A 5). In Abbildung 4.11 ist die auftreffende Wärmestrahlung für einen Flat-Plate-Reaktor im Reaktorverband dargestellt. Da sich die Reaktoren in Nord-Süd-Ausrichtung befinden, treten jeweils zwei Maximalpeaks – aufgrund der direkten Sonneneinstrahlung – über den Tagesverlauf auf. Die auftreffende Sonnenstrahlung kann mit der nötigen Kühlleistung gleichgesetzt werden. Es ergeben sich somit über den Tages- und Jahresverlauf Maximalwerte von bis zu 1,9 kW pro Reaktor. Da das zu temperierende Kultivierungsvolumen bis um das 10-fach höher liegt, ist eine Kühlleistung von 21 kW (mit einem Sicherheitsfaktor von 10 %) erforderlich.

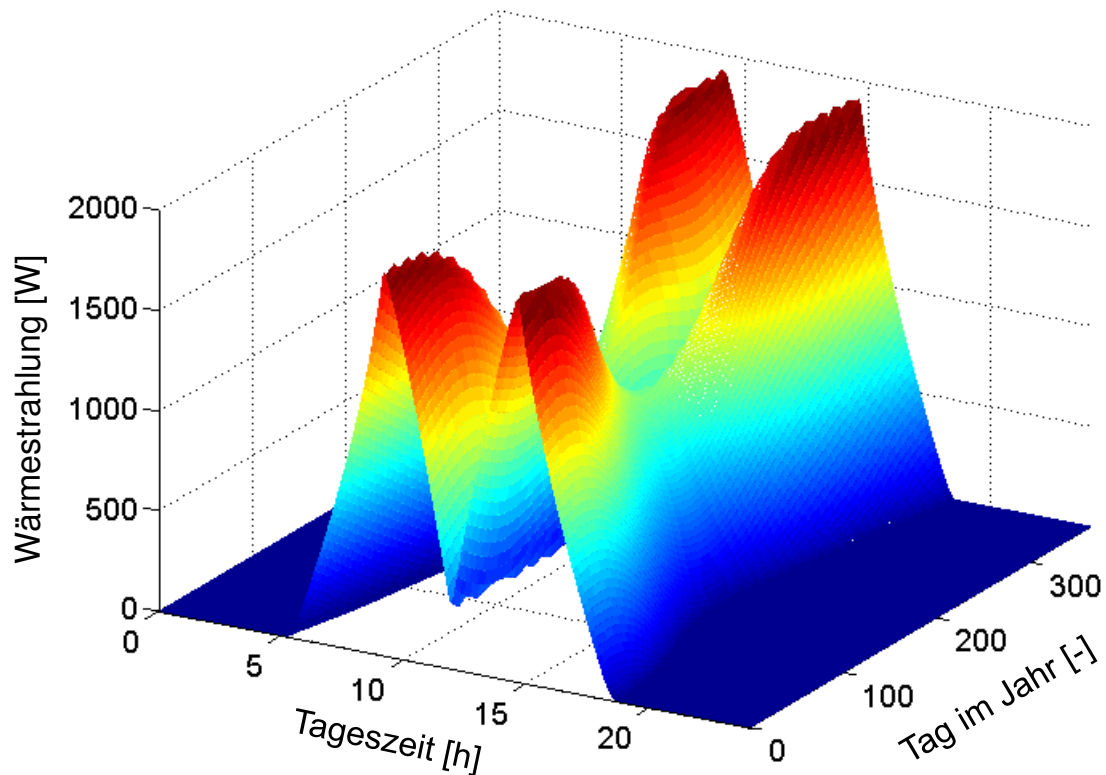


Abbildung 4.11 Simulation der auftretenden Wärmestrahlung auf einen kleinen Flat-Plate-Photobioreaktor in Nord-Süd-Ausrichtung für den Standort Brisbane. Details zur Simulation finden sich im Anhang (Kapitel A 5)

Für die Versuchsanlage wurde ein Kühlaggregat der Firma AHI-Carrier (Model: 30RB-021CH) mit einer Gesamtkühlleistung von 21,6 kW (bei einer Kühlwassertemperatur von 7 °C und einer Außentemperatur von 48 °C) bereitgestellt. Zur Ermittlung der Kühlleistung über die Kultivierungsdauer ist es erforderlich den aktuellen Massenstrom des Kühlwassers zu kennen (Kapitel 3.4.7). Bei einer zentralen Kühlwasserversorgung variiert jedoch je nach Kühlbedarf der Massenstrom zu den einzelnen Reaktoren, da innerhalb des Kühlwasserkreislaufes ein Druckabfall entsteht. Eine kontinuierliche Messung der jeweiligen Massenströme ist aufwendig und mit einem erhöhten Kostenaufwand verbunden. Durch druckregulierende Förderpumpen kann der Druckabfall innerhalb des Systems ausgeglichen und ein konstanter Massenstrom gewährleistet werden. Über den Betriebsdruck kann der Massenstrom dann reguliert werden. Die Auslegung hat ergeben, dass Volumenströme bis zu 15 l/min pro Reaktor bei einem Betriebsdruck von 3,0 bar erforderlich sind, um eine ausreichende Kühlung der Reaktoren zu gewährleisten. Als Förderpumpe wurde die MHIE 403 der Firma Wilo Economy gewählt. Aufgrund der besonderen Ansprüche an den Kühlkreislauf und um Kühlleistungsspitzen im Tagesverlauf effizient entgegenzuwirken,

wurde ein optionaler Kühlwassertank mit 1.000 l Fassungsvermögen zwischen Kühlaggregat und Kühlkreislauf installiert. Über regelbare Stellventile kann dieser ins Kühlsystem teilweise oder vollständig integriert werden (Abbildung 4.12). Die Kühlkapazität des Kühlsystems kann so an die jeweiligen Freiland- und Versuchsbedingungen angepasst werden.

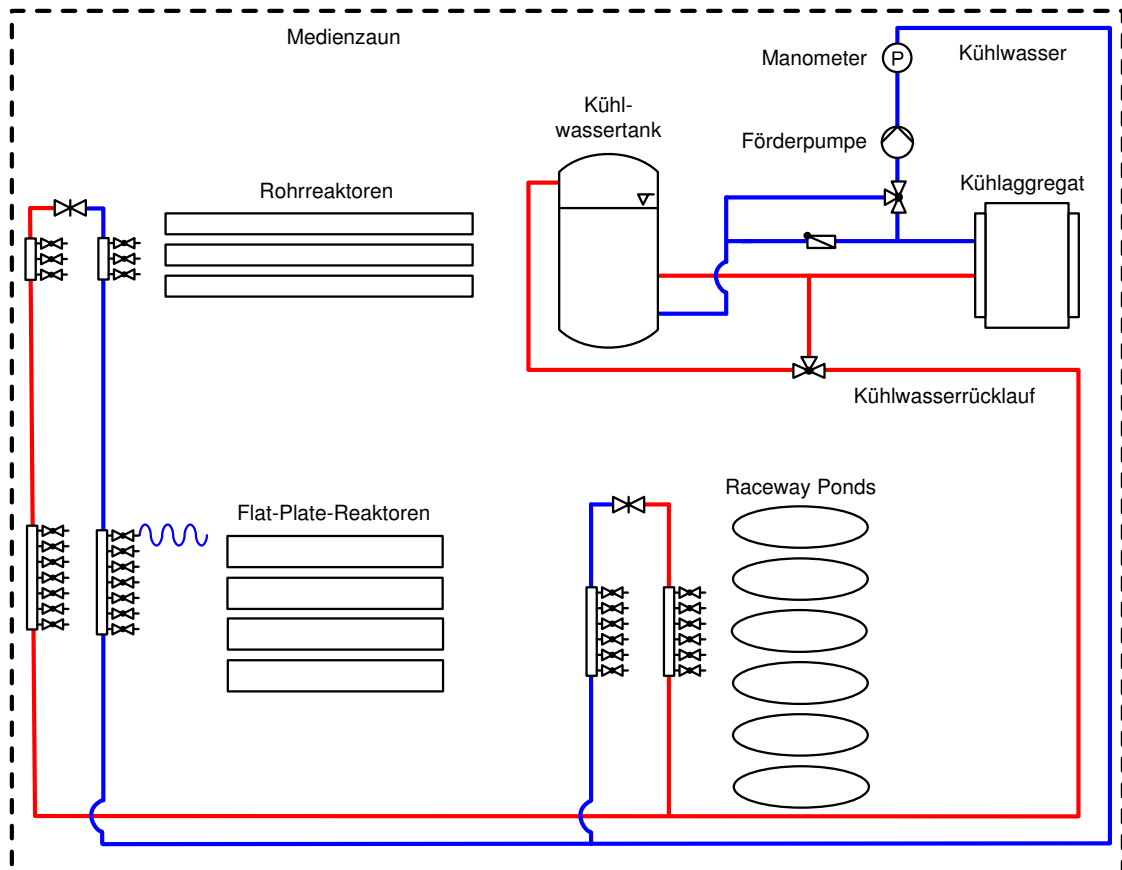


Abbildung 4.12 Verfahrensfließschema der Kühlwasserversorgung am Solar Biofuels Research Centre (SBRC)

4.3 Kultivierungen im Pilotmaßstab

Die Kultivierung im Pilotmaßstab ermöglicht es die Erkenntnisse aus Laborversuchen unter produktionsnahen Bedingungen zu validieren und dabei den direkten Einfluss der Umgebungsparameter zu ermitteln. Dadurch können mögliche Besonderheiten, bedingt durch den größeren Reaktor-Maßstab, identifiziert werden.

4.3.1 Vergleichskultivierungen von Pilotreaktoren

Ein Vergleich von Photobioreaktoren unter Freilandbedingungen ist aufgrund stetig wechselnder Umgebungsbedingungen schwierig, da vor allem die Lichtintensität und die Temperatur Einfluss auf die Biomasseproduktivität nehmen. Ein Ziel des Solar Biofuels Research Centre (SBRC) war es unter identischen Umgebungsbedingungen kommerzielle Photobioreaktoren zu betreiben, um Aussagen über die Effizienz der unterschiedlichen Systeme treffen zu können. Nährstoff- und CO₂-Limitierungen mussten dabei ausgeschlossen werden, sodass nur die Verfügbarkeit des Sonnenlichtes das Wachstum der Kulturen beeinflusst. Hierbei musste sichergestellt werden, dass das Beleuchtungsfläche/Standfläche-Verhältnis für alle Reaktoren nahezu identisch war und so jedem Reaktorsystem die gleiche Lichtintensität zur Verfügung stand. Da die Beleuchtungsfläche unveränderlich war, konnte das Verhältnis nur durch Veränderung der Standfläche angepasst werden. Dies erfolgte durch Veränderung der Abstände der einzelnen Reaktoren zueinander. Tabelle 4.4 gibt eine Übersicht der Reaktorkonfigurationen. Aufgrund der geometrischen Besonderheiten des Raceway-Pond Systems konnte hier das Verhältnis von Beleuchtungsfläche zu Standfläche nicht eingehalten werden.

Tabelle 4.4 Übersicht der Reaktorkonfigurationen für die Vergleichskultivierung am Solar Biofuels Research Centre (SBRC), Australien

Parameter	Raceway Pond	Flat-Plate Reaktor klein	Flat-Plate Reaktor groß	Rohrreaktor klein	Rohrreaktor groß
Reaktorvolumen [l]	292,000	120,000	320,000	600,000	600,000
Beleuchtungsfläche [m ²]	2,030	3,750	7,500	49,480	49,480
Reaktorabstand [m]	-	0,340	0,680	1,040	1,040
Standfläche [m ²]	2,500	0,890	1,780	10,450	10,450
Beleuchtungsfläche/ Standfläche-Verhältnis [-]	0,810	4,210	4,210	4,730	4,730
Beleuchtungsfläche/ Volumen-Verhältnis [m ⁻¹]	6,950	31,250	23,440	82,470	82,470
Reaktorvolumen/ Standfläche-Verhältnis [m]	116,800	134,831	179,775	57,416	57,416
Gasdurchflussrate [vvm]	0,017	0,042	0,031	0,067	0,067

Die Ergebnisse der Vergleichskultivierung von *Chlorella sorokiniana* sind in Abbildung 4.13 und Abbildung 4.14 dargestellt. Die Prozessführung erfolgte wie in Kapitel 3.2.5 beschrieben. Der pH-Wert wurde auf pH 7 geregelt und ein Partialdruck von CO₂ im Zugas von 1 % eingestellt. Die Temperatur wurde nicht geregelt. Aus einer Korrelation von optischer Dichte zu Biomassekonzentration für die Rohrreaktoren wurden die jeweiligen Biotrockenmassen für die Reaktorsysteme aus den OD-Werten berechnet (Abbildung A.8 B).

In den verschiedenen Reaktorsystemen wurden unterschiedliche Endbiomassekonzentrationen und Produktivitäten erreicht. Hinsichtlich der volumetrischen Produktivitäten ist zu erkennen, dass diese mit den zugehörigen Oberflächen/Volumen-Verhältnissen der Reaktoren korrelieren. Verhältnisse zugunsten der Oberfläche steigern dabei den Lichteintrag in das Medium und resultieren in eine bessere Lichtverteilung (Kapitel 2.1.3). Die Betrachtung des Beleuchtungsflächen/Standflächen-Verhältnisses zeigte, dass bei den flächenbezogenen Produktivitäten die Flat-Plate Reaktoren die höchsten Werte aufzeigten. Dies begründet sich in ihrem geringen volumetrischen Flächenbedarf. Das Verhältnis von Reaktorvolumen zu Standfläche verdeutlicht dies, wobei hohe Verhältnisse einen geringen volumetrischen Flächenbedarf darstellen (Tabelle 4.4).

Geometrische Unterschiede innerhalb eines Reaktortypes beeinflussen zusätzlich die Produktivitäten. Insbesondere bei den Rohrreaktoren wird durch eine verstärkte vertikale Ausrichtung der Röhren eine Steigerung der Produktivität von 26 % (volumetrisch und auch flächenbezogen) erzielt. Bei den Flat-Plate Reaktoren werden höhere volumetrische Produktivitäten durch eine Verringerung der Reaktorhöhe erreicht. Ursache hierfür ist das bessere Oberflächen/Volumen-Verhältnis. Durch den hydrostatischen Druck wölben sich die hohen Reaktoren konstruktionsbedingt stärker und dies resultiert in eine schlechtere Lichtverteilung im Reaktor. Eine detaillierte Betrachtung der Reaktortemperaturen (Abbildung 4.15) verdeutlicht deren Einfluss auf die Produktivitäten. Die Temperaturverläufe für die Rohrreaktoren bestätigen nochmals ihre Eigenschaft Sonnenlicht – und somit auch Infrarotstrahlung – effizient ins Kulturmedium einzutragen. Aufgrund ihres großen Oberflächen/Volumen-Verhältnisses unterliegen sie starken Temperaturschwankungen, die auf dem direkten Wärmeaustausch mit der Umgebung beruhen. Raceway Ponds und Flat-Plate Reaktoren sind diesbezüglich weniger sensitiv und reagieren langsamer auf Temperaturänderungen. Die unterschiedlichen Temperaturverläufe in den Reaktoren beeinflussen das Wachstumsverhalten der Mikroalgen und führen zu unterschiedlichen

Produktivitäten. Dieser Aspekt wurde in späteren Experimenten detailliert betrachtet (Kapitel 4.3.2).

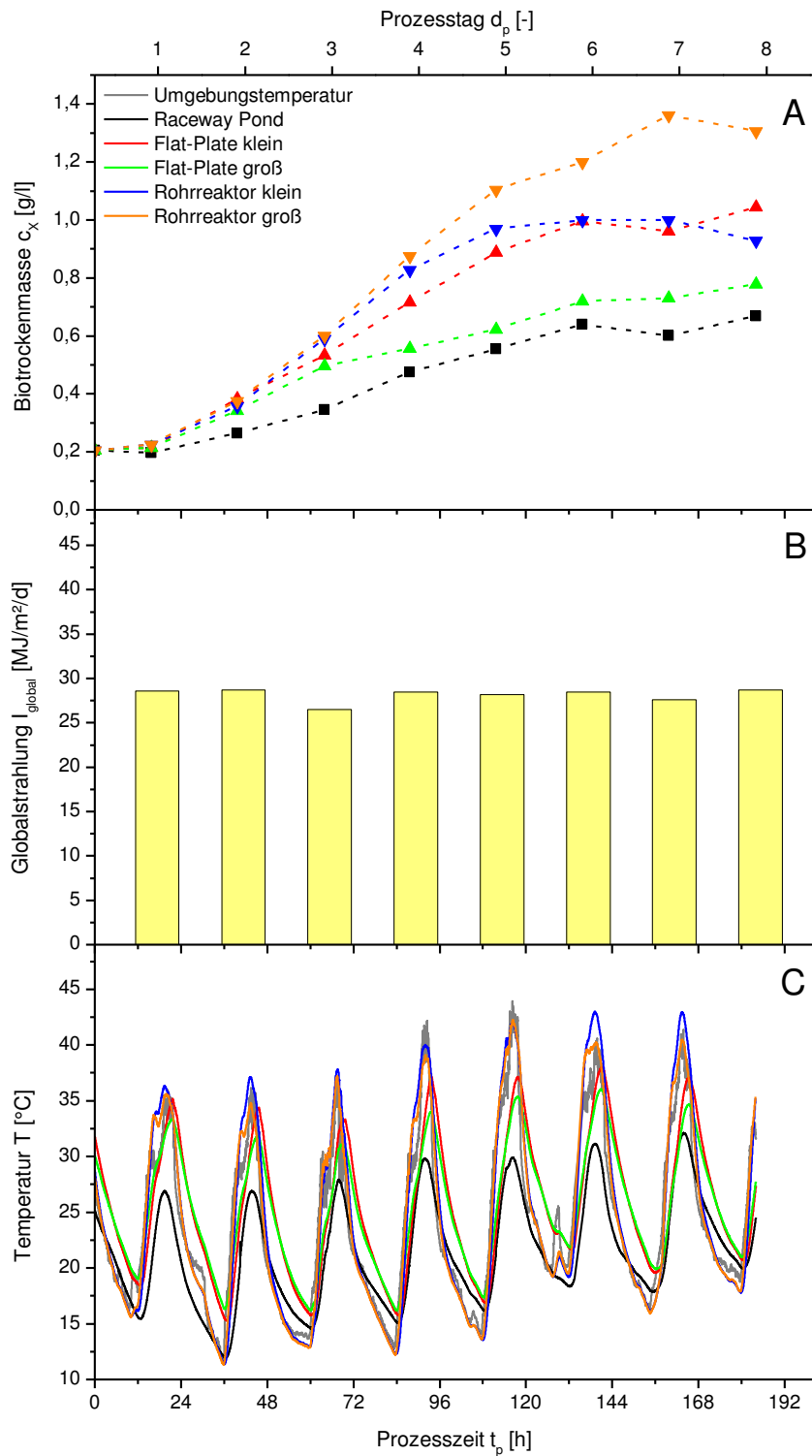


Abbildung 4.13 Vergleichskultivierung von *Chlorella sorokiniana* unter Freilandbedingungen am Solar Biofuels Research Centre (SBRC). Details zur Prozessführung sind in Kapitel 3.2.5 wiedergegeben. Die Werte für die Globalstrahlung wurden vom australischen Wetterdienst [153] bezogen

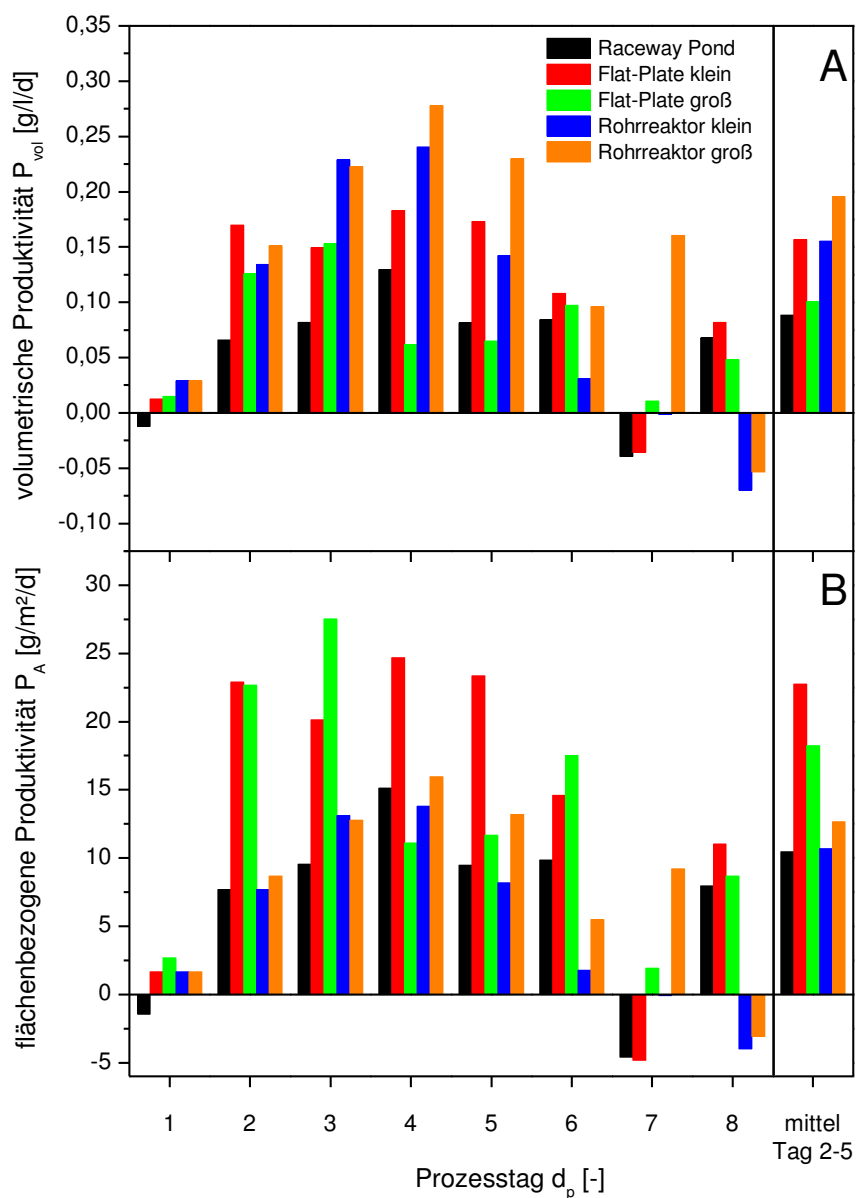


Abbildung 4.14 volumetrische und flächenbezogene Produktivitäten der Vergleichskultivierung von *Chlorella sorokiniana* unter Freilandbedingungen am Solar Biofuels Research Centre (SBRC). Mittel: arithmetisches Mittel der Produktivitäten von Tag 2 bis 5. Details zur Prozessführung sind in Kapitel 3.2.5 wiedergegeben

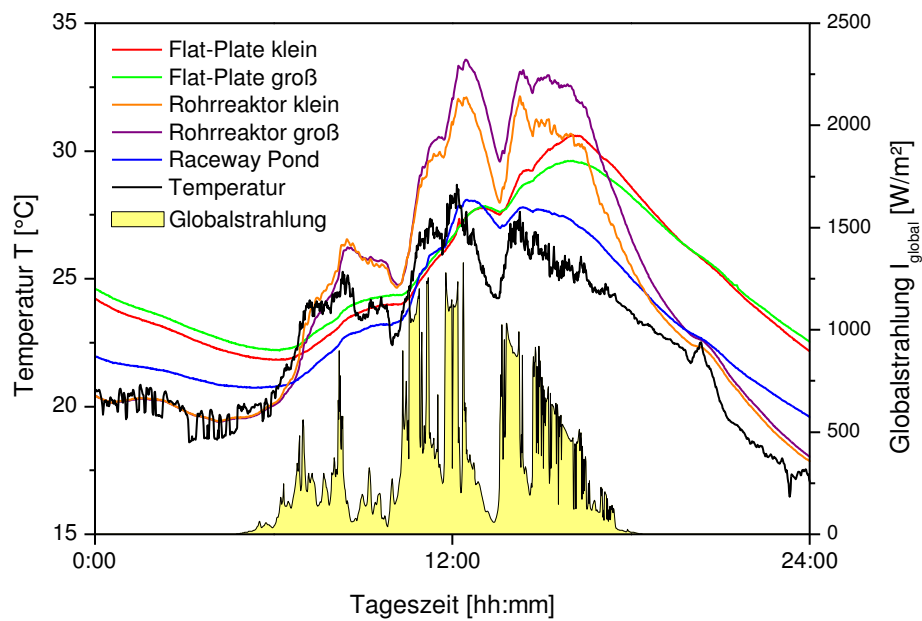


Abbildung 4.15 Reaktortemperatur für unterschiedliche Pilotreaktoren im Tagesverlauf am Solar Biofuels Research Centre (SBRC).

Die Flat-Plate Reaktoren stellen unter der gewählten Prozesskonfiguration das produktivste Reaktorsystem dar. Um den Prozess weiter zu optimieren, sind jedoch zusätzliche Experimente erforderlich. Durch Variation der Reaktorabstände und geographische Ausrichtung) ist es möglich die Vor- und Nachteile der Systeme klarer zu identifizieren. Auch der Einfluss der Temperatur auf das Wachstumsverhalten sollte durch eine Temperierung der Reaktoren ausgeschlossen werden.

4.3.2 Einfluss unterschiedlicher temperaturabhängiger Prozessführungsstrategien auf das Wachstumsverhalten von *Chlorella vulgaris*

Der parallele Betrieb von mehreren identischen Flat-Plate Reaktoren erlaubte unterschiedliche Prozessstrategien zur Temperierung von Photobioreaktoren zu untersuchen. Neben dem direkten Vergleich von temperierten und nicht-temperierten Reaktoren, wurde auch der Einfluss von infrarotabweisenden Materialien (Kapitel 3.3.8) zur Verminderung des Kühlbedarfs untersucht. Durch die Bestimmung der Kühl- und Heizleistung der einzelnen Reaktorsysteme und durch die Ermittlung der Hilfsenergie konnten die einzelnen Strategien hinsichtlich ihres energetischen Wirkungsgrades (Kapitel 3.4.7) bewertet werden. Abbildung 4.16 zeigt die Versuchsanlage. In Abbildung 4.17 und Abbildung 4.18 sind die Ergebnisse der Temperaturexperimente dargestellt.

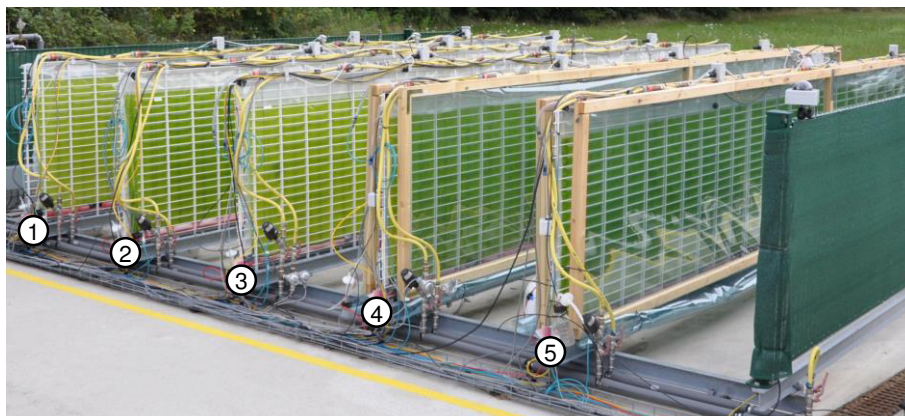


Abbildung 4.16 Flat-Plate Reaktoren am Karlsruher Institut für Technologie während der Temperierungsexperimente. 1: konstante Temperatur von 25 °C; 2: unregelte Temperatur; 3: maximale Temperatur von 25 °C; 4: maximale Temperatur von 25 °C mit Infrarotfolie; 5: unregelte Temperatur mit Infrarotfolie; Infrarotfolie: Opalfilm Neutral 75N (Haverkamp). Foto: Florian Oswald

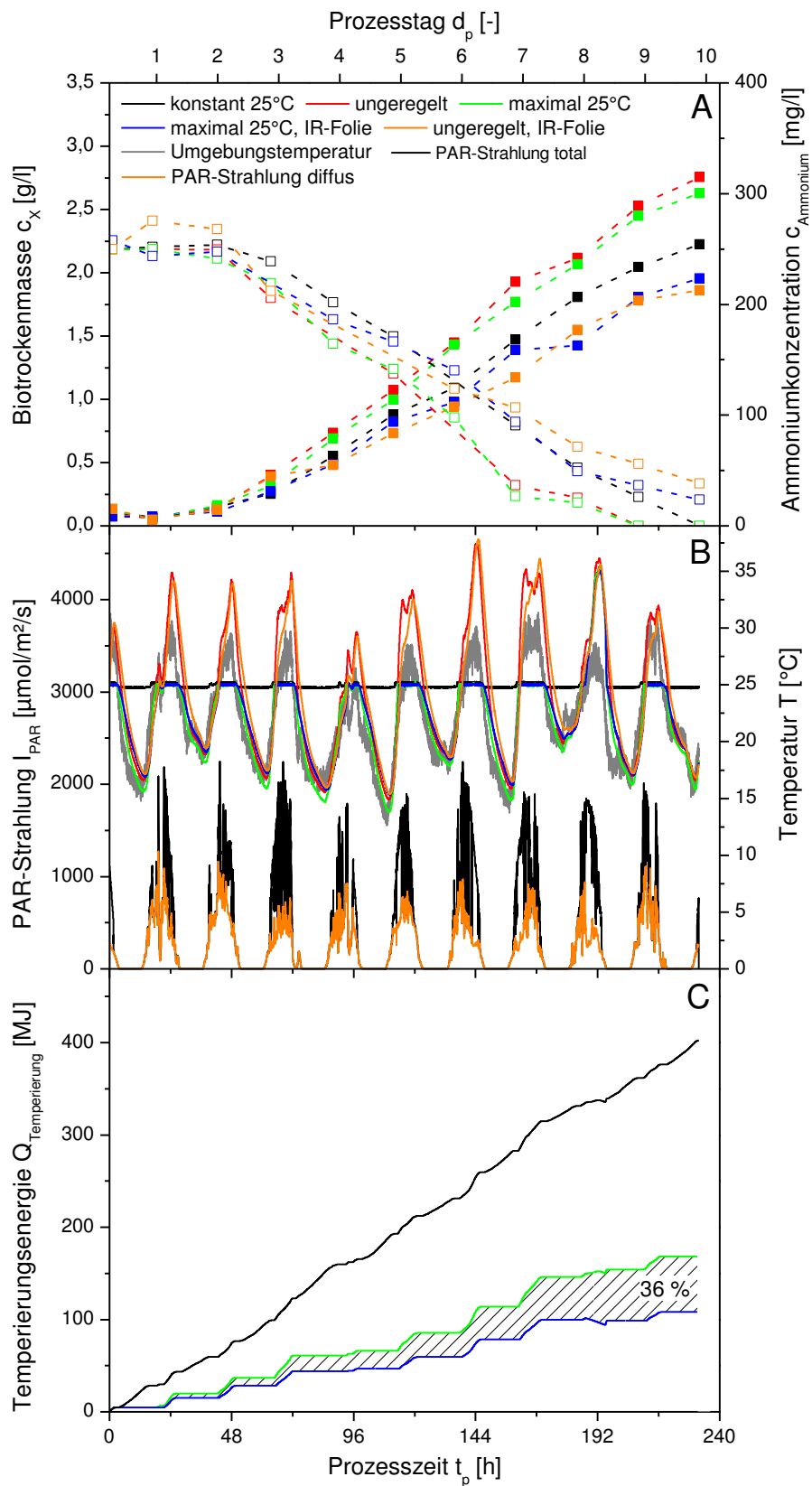


Abbildung 4.17 Ergebnisse des Temperierungsexperimentes mit *Chlorella vulgaris* am Karlsruher Institut für Technologie. Geschlossene Quadrate: Biotrockenmasse; offene Quadrate: Ammoniumkonzentration. Details zur Prozessführung finden sich in Kapitel 3.2.6

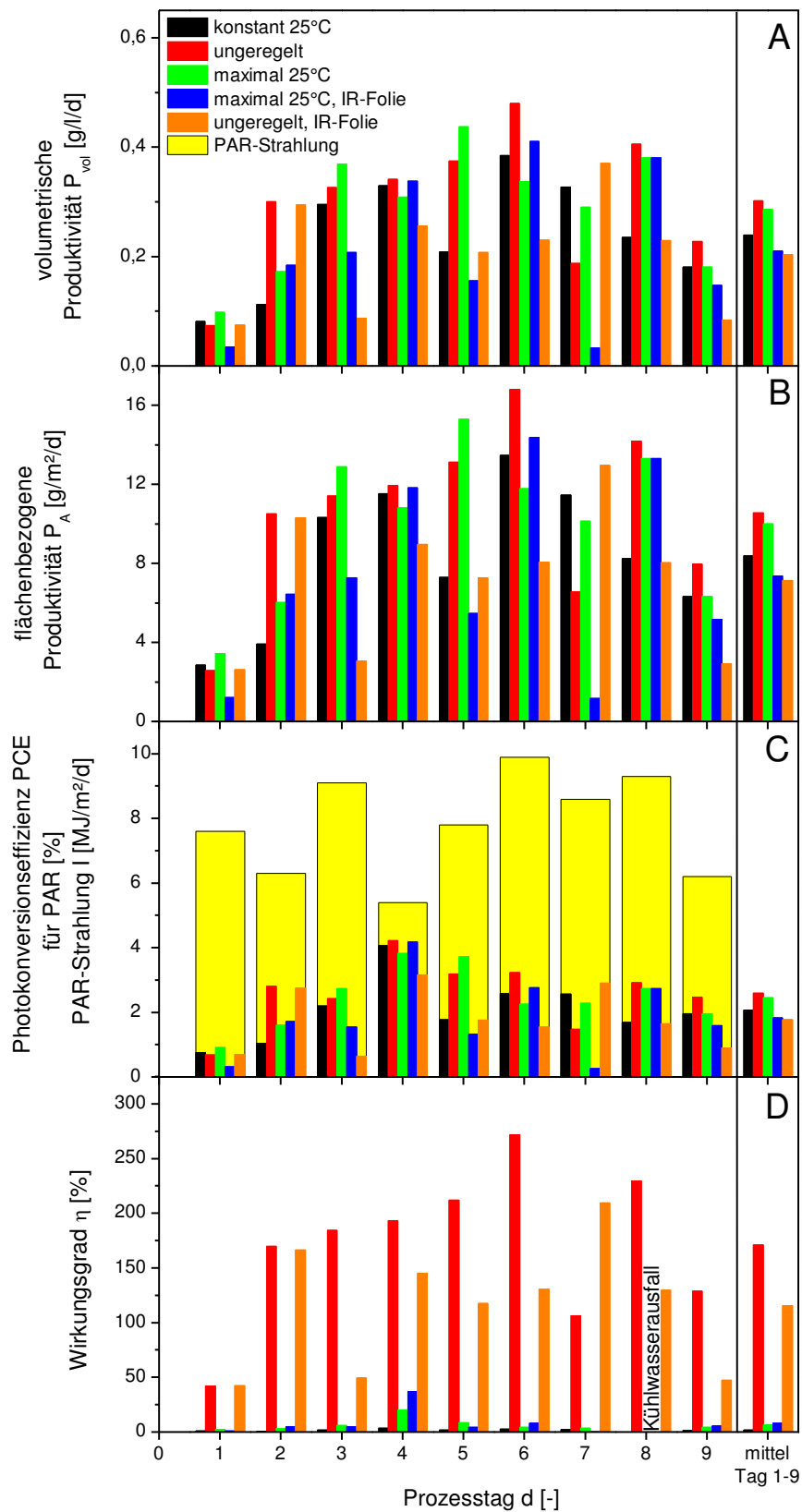


Abbildung 4.18 Ergebnisse des Temperierungsexperimentes mit *Chlorella vulgaris* am Karlsruher Institut für Technologie. Mittel: arithmetischer Mittelwert von Tag 1 bis 9. Details zur Prozessführung finden sich in Kapitel 3.2.6. PCE-PAR: Photokonversionseffizienz für den PAR-Bereich.

Die Verläufe der Biotrockenmassekonzentrationen und Ammoniumkonzentrationen sind typisch für phototrophe Kultivierungen im Satzbetrieb (Kapitel 2.1.3). Nach dem achten Prozesstag ist eine Limitation durch den Verbrauch von Ammonium zu beobachten (weiterführende Daten im Anhang Abbildung A.9). Aus den Kultivierungsdaten ist ersichtlich, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen dem gekühlten (grün) und ungekühlten Reaktor (rot) hinsichtlich Wachstumsverhalten und Produktivitäten vorlagen. Ferner zeigte sich, dass eine konstante Kultivierungstemperatur (schwarz) zu einer Verminderung der Biomasseproduktivität führte und sich die volumetrische Produktivität P_{vol} um bis zu 16 % gegenüber dem gekühlten Reaktor (grün) verringerte. Die IR-Folie minderte außerdem die Biomasseproduktivitäten. Unterschiede im Wachstumsverhalten zwischen dem gekühlten (blau) und nicht temperierten Reaktor (orange) konnten – wie bei den Reaktoren ohne IR-Folie – nicht beobachtet werden.

Die Auswertung der Ergebnisse für die Produktivitäten und der Photokonversionseffizienz (PCE) zeigten, dass diese auch von der Temperatur abhängig waren. Die Reaktoren mit unregelmäßiger und auf 25 °C limitierter Temperatur (rot und grün) erzielten die höchsten Produktivitäten und PCE-Werte. Der bei konstanter Temperatur gehaltene Reaktor (schwarz) wies aufgrund der verminderten Biomasseproduktivität eine geringe PCE auf. Die mit Infrarotfolie versehenen Reaktoren zeigten die geringste PCE, wobei kein signifikanter Unterschied bzgl. der Temperierungsstrategien zu beobachten war. Im Vergleich zur Literatur (Tabelle 2.3) wurden geringere Produktivitäten und PCE-Werte erreicht. Dabei beeinflusst die Standfläche maßgeblich die flächenbezogene Produktivität und die PCE (Kapitel 3.4.2). Dieser Aspekt der Kultivierung stand jedoch nicht im Fokus der Untersuchungen.

Aus den Berechnungen der Temperierungsenergien (Abbildung 4.17 C) ist ersichtlich, dass mit der eingesetzten IR-Folie 36 % der erforderlichen Temperierungsenergie eingespart werden konnte. Jedoch sank die volumetrische Produktivität im Durchschnitt um 26 %. Die PCE-Werte lieferten hierbei ähnliche Werte. Aus der Charakterisierung der IR-Folien ging hervor, dass die eingesetzte Folie zu einem Verlust der Lichtintensität im PAR-Bereich von 30 % führte (Abbildung 3.14), wobei sich dies vorwiegend auf Reflexionen an der Oberfläche begründete. Dieser Verlust wirkte sich direkt auf das Wachstum und auf die Biomasseproduktivität aus. Insbesondere in der lichtlimitierten Phase (ab 96 h) zeigte sich die direkte Abhängigkeit der Biomasseproduktivität von der eingestrahelten Lichtintensität – eine Minderung der Lichtintensität von 30 % resultierte in eine Verringerung der Biomasse-

produktivität von 26 % bzw. 32 %. Dennoch konnte durch den Einsatz der IR-Folie eine Steigerung im Wirkungsgrad (Kapitel 3.4.7) von 25 % gegenüber dem gekühlten Reaktor (grün) erzielt werden. Die weitere Betrachtung des Wirkungsgrades für die Versuchsanlage (Abbildung 4.18 D) zeigte, dass eine Temperierung der Reaktoren zu einer drastischen Verminderung des Wirkungsgrades führte. Im Gegensatz konnten bei einer unregelmäßigen Temperierung Wirkungsgrade von 171 % (rot) bzw. 116 % (orange) bezogen auf die zugeführte Energie erreicht werden.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass eine zeitweise Überschreitung der optimalen Kultivierungstemperatur zu keiner Beeinträchtigung der Produktivitäten führt und eine Temperierung nicht erforderlich macht. Der Einsatz von neuartigen Materialien zur Rückhaltung von Wärmestrahlung zeigte, dass hierdurch die erforderliche Kühlleistung deutlich reduziert werden kann. Außerdem kann durch weitere Energieeinsparungen in den peripheren Einrichtungen der Wirkungsgrad gesteigert werden. Eine Vergrößerung der Reaktoranlage vermindert dabei auch den reaktorspezifischen Energieverbrauch, da für den Betrieb von weiteren Reaktoren nur geringfügig die Peripherie vergrößert werden muss.

Weiterführende Experimente unter kontrollierten Bedingungen zur Untersuchung des zeitweisen Überschreitens der optimalen Wachstumstemperatur könnten außerdem zeigen, ab welcher Stressdauer eine Beeinträchtigung des Wachstums auftritt. Diese Erkenntnisse könnten dazu dienen die Kühlung effizient zu gestalten.

4.3.3 Einfluss der Reflexions-/Absorptionseigenschaften der Standfläche auf das Wachstumsverhalten von *Chlorella vulgaris*

Der parallele Betrieb von mehreren identischen Flat-Plate-Reaktoren am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) erlaubte es den Einfluss der Reflexions-/Absorptionseigenschaften der Standfläche auf das Wachstumsverhalten phototropher Freilandkultivierungen zu untersuchen. Für den Versuch wurden lichtabsorbierende Standflächen aus schwarzer Silofolie und eine lichtreflektierende Standfläche (silberbeschichtete Folie) verwendet. Als Referenz diente die weißgestrichene Standfläche der Versuchsanlage. Durch die Bestimmung der Produktivitäten und PCE-Werte können somit Aussagen über den Einfluss von indirektem bzw. diffusem Licht getroffen werden. Die Ergebnisse des Versuches sind in Abbildung 4.19 und Abbildung 4.20 dargestellt.

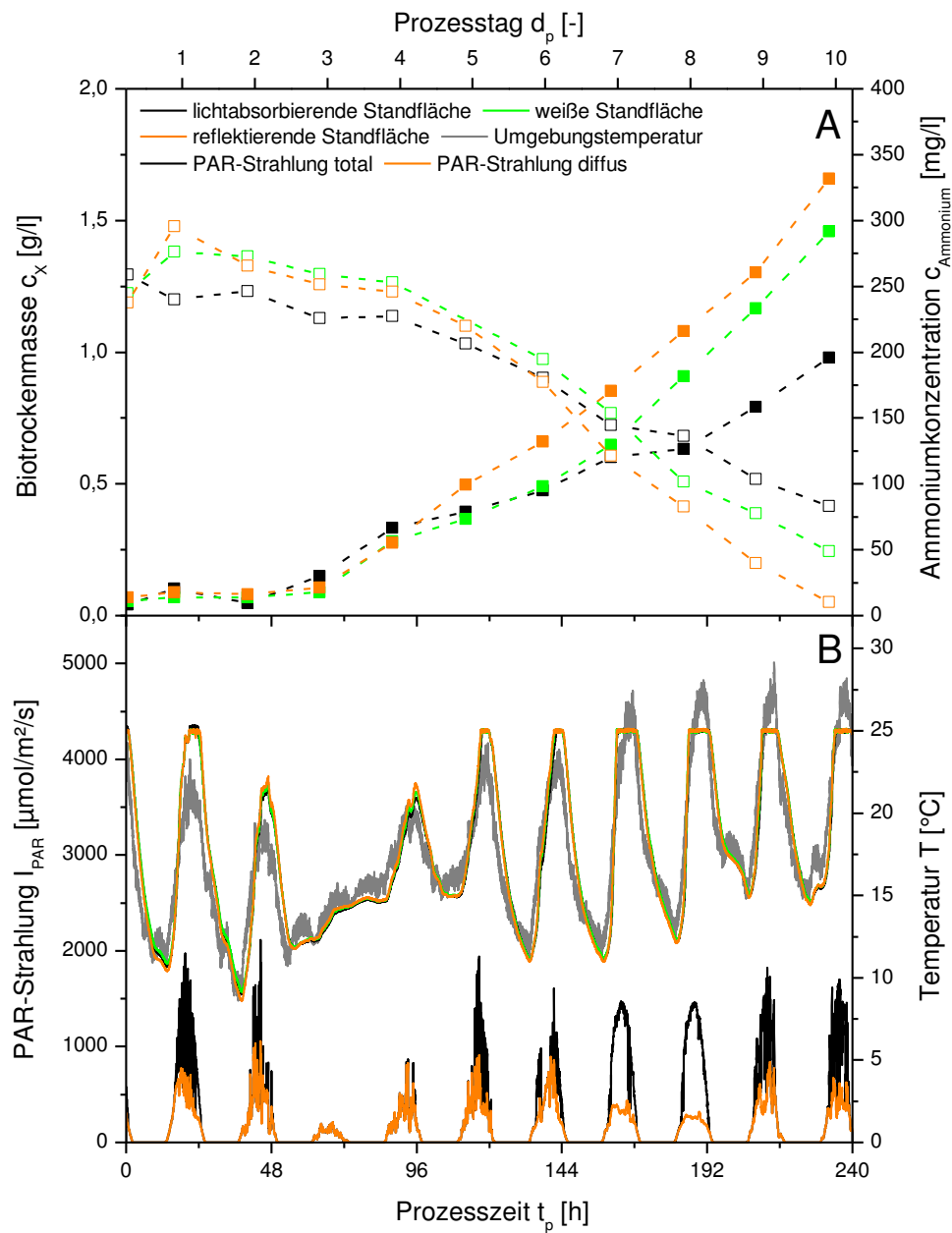


Abbildung 4.19 Ergebnisse zur Standflächenbeschaffenheit bezüglich Reflexion und Absorption von Kultivierungen mit *Chlorella vulgaris* am Karlsruher Institut für Technologie. Geschlossene Quadrate: Biotrockenmasse; offene Quadrate: Ammoniumkonzentration. Details zur Prozessführung finden sich in Kapitel 3.2.6

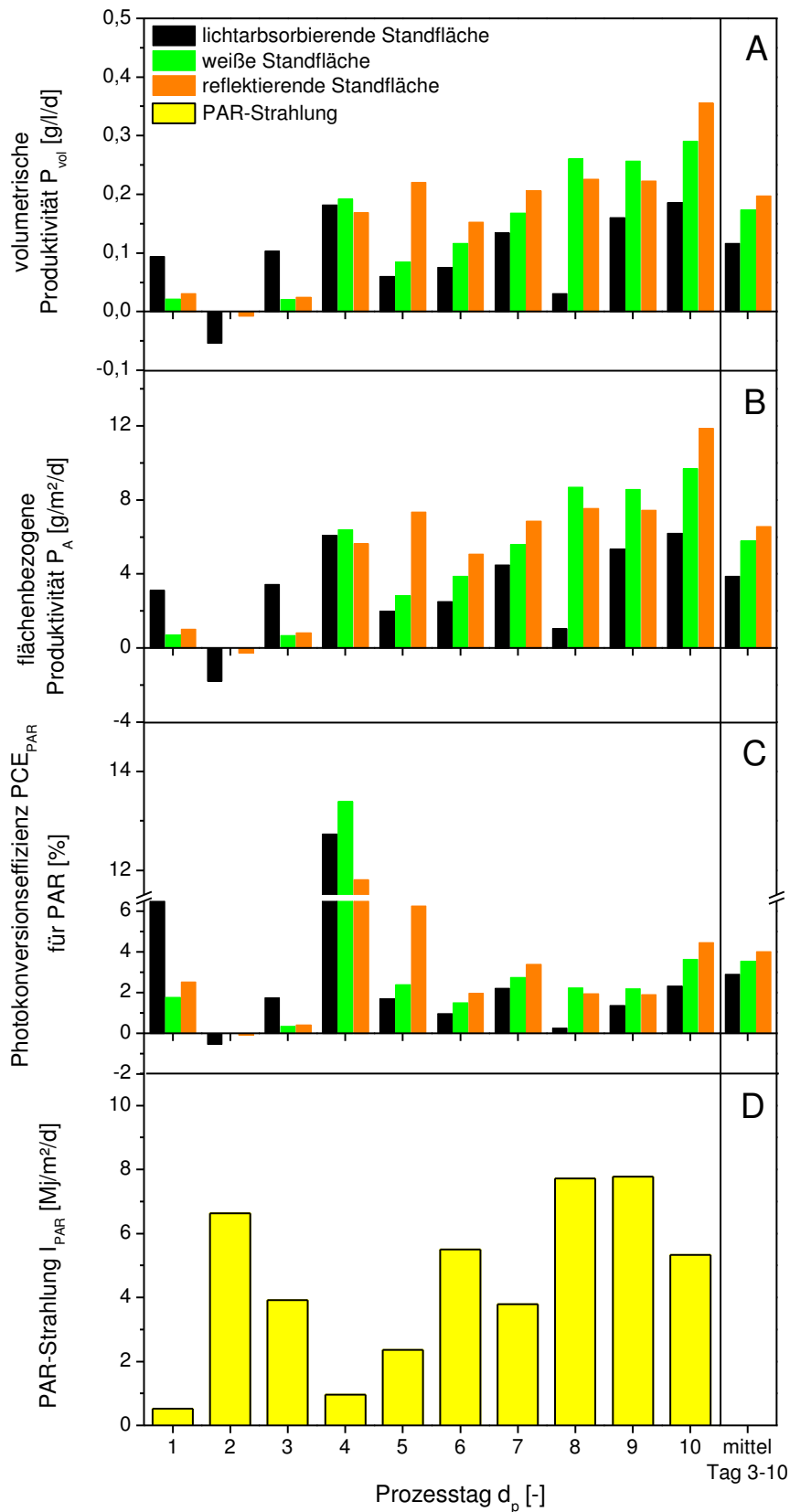


Abbildung 4.20 Ergebnisse des Standflächenexperimentes von *Chlorella vulgaris* Kultivierungen am Karlsruher Institut für Technologie. Mittelwert: arithmetische Mittelwerte von Tag 3 bis 10. Details zur Prozessführung finden sich in Kapitel 3.2.6. PCE-PAR: Photokonversionseffizienz für den PAR-Bereich

Die Biotrockenmassenkonzentrationen zeigten den typischen Verlauf einer phototrophen Kultivierung im Satzbetrieb (Kapitel 2.1.3). Es konnte keine primäre Nährstofflimitierung (Stickstoff) festgestellt werden. Es sind Unterschiede in den Wachstumsverläufen in den einzelnen Reaktoren zu beobachten. Dabei wurden im Reaktor mit der reflektierenden Standfläche mit 1,66 g/l die höchste Endbiomassekonzentration und auch die stärkste Produktivität erzielt. Im Gegensatz dazu lieferte der Reaktor mit der lichtabsorbierenden Standfläche mit 0,98 g/l die schlechtesten Werte für die Endbiomassekonzentration. Das Ergebnis für die Kultivierung auf dem weißen Referenzboden liegt mit 1,46 g/l Endbiomassekonzentration dazwischen.

Bei der Betrachtung der PCE-Werte kann der gleiche Trend beobachtet werden. Durch die reflektierende Standfläche konnte die PCE im Mittel um 13 % gegenüber dem Referenzreaktor gesteigert werden. Die absorbierende Standfläche führte zu einer um 22 % niedrigeren PCE im Vergleich zum Referenzexperiment. Aus den Resultaten lässt sich schlussfolgern, dass das Reflexions-/Absorptionsverhalten der Standfläche einen Einfluss auf das Wachstumsverhalten phototropher Freilandkultivierung hat. Insbesondere bei Kultivierungstagen mit geringen Lichtintensitäten ist das Reflexions-/Absorptionsverhalten der Standfläche für einen effizienten Lichteintrag in die Reaktoren entscheidend. Neben dem Lichteintrag und der Lichtintensität ist auch die Lichtverteilung im Reaktor ein wichtiger Parameter. Er wird im Wesentlichen von der aktuellen Biomassekonzentration beeinflusst (Kapitel 2.1.3). Dadurch kann es zu Beginn der Kultivierung – mit niedrigen Biomassekonzentrationen – zu einer Photoinhibierung kommen, während bei höherer Biomassekonzentration ein verstärkter Lichteintrag die PCE begünstigt.

Die Daten ergaben, dass ein signifikanter Anteil der Lichtenergie durch Reflexionsprozesse in den Reaktor gelangt und somit die Ausbeute an Biomasse beeinflusst wird. Weitere Untersuchungen sollten den Einfluss der Reaktorabstände und die tatsächlichen Lichtintensitäten auf der Reaktoroberfläche berücksichtigen. Durch die Identifizierung dieser Parameter könnten detaillierte Aussagen zum Lichteintrag und zur Lichtverteilung getroffen werden.

5 Diskussion

5.1 Einfluss der Prozessführung auf das Wachstum und die Produktbildung von Mikroalgen

5.1.1 Optimierung der Prozessführung in Bezug auf die Kohlenstoffdioxidversorgung

Die Labor- und Freilandkultivierungen zeigten, dass eine Regelung der CO₂-Versorgung durch die Messung von pCO₂ und pH möglich ist. Eine weitere Optimierung der Prozessregelung wurde in dieser Hinsicht nicht verfolgt, da eine ausreichende Reduzierung des CO₂-Bedarfs für die Experimente erzielt werden konnte. Die Regelung des CO₂-Eintrages über die Messung des pH-Wertes ist gegenüber der dCO₂-Messung kostengünstiger, weist jedoch in Bezug auf die CO₂-Einsparung und -regelung noch Optimierungsbedarf auf. Für ein unlimitiertes Wachstum der Mikroalgen ist ein stetiger Mindestpartialdruck an CO₂ erforderlich (Kapitel 2.1.2.3 und Kapitel 2.1.4). Dies resultiert in einem erhöhten Gehalt an CO₂ im Abgasstrom. Insbesondere bei Rohrreaktoren, die einen erhöhten Gasvolumenstrom zur Austreibung von gebildeten Sauerstoff benötigen [157, 158], führt dies zu hohen Mengen ungenutztem CO₂. Ein Recyceln des Abgases durch eine Abgasrückführung reduziert den CO₂-Bedarf und wurde für die Kultivierung am Solar Biofuels Research Centre erfolgreich getestet (Kapitel 3.2.5 und Abbildung 5.1). Durch die Abgasrückführung konnten hierbei bis zu 40 % CO₂ eingespart werden.

Der Einsatz einer modellprädikativen Regelung (Model Predictive Control, MPC) zur Regelung des CO₂-Eintrages ist ebenfalls in der Literatur beschrieben. Die Qualität der Regelung wurde dort erheblich verbessert [39, 75, 159, 160]. Insbesondere kann hierdurch die Respiration während der Nachtphase durch Verminderung des CO₂-Partialdruckes im Zugas ausgeglichen werden. Des Weiteren sind effizientere Zufütterungsstrategien von Nährsalzen denkbar.

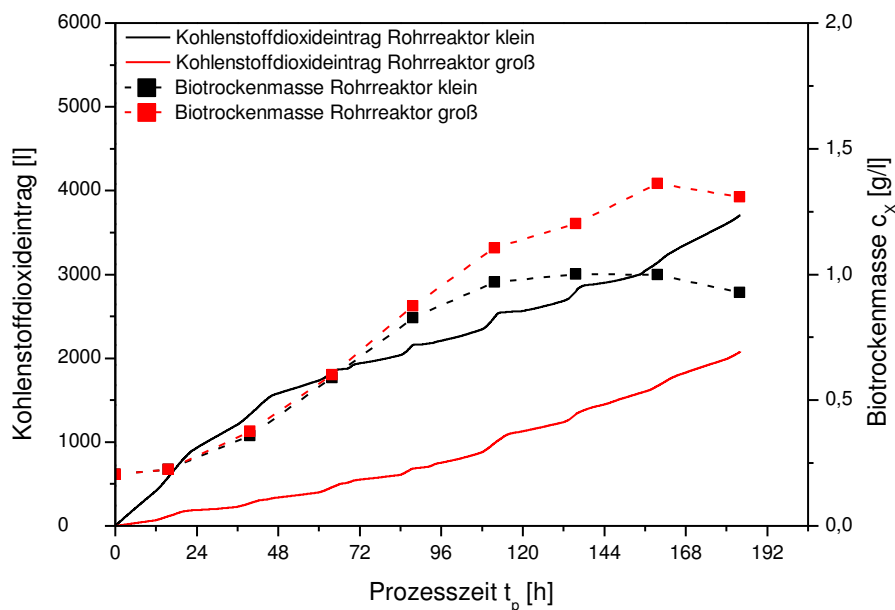


Abbildung 5.1 Vergleich des Kohlenstoffdioxideintrages mit und ohne Abgasrückführung in Rohrreaktoren. Die Kultivierungen erfolgten im Satzbetrieb mit der Mikroalge *Chlorella sorokiniana* am Solar Biofuels Research Centre (SBRC). Details zur Prozessführung befinden sich in Kapitel 3.2.5.

5.1.2 Wachstumsverhalten in Abhängigkeit von Lichtintensität und Temperatur

Die ökonomische und ökologische Effizienz phototropher Produktionsanlagen ist immer noch nicht in ihrer Gesamtheit erfasst und wird kritisch debattiert [161-164]. Neben vielen Faktoren, wie pH-Wert, Sauerstoffkonzentration, Nährstoffversorgung oder Temperatur, wird die Produktivität solcher Systeme maßgeblich durch den Lichteintrag bestimmt [165]. Viele dieser Faktoren können über die Prozessführung und Reaktorwahl minimiert werden [165-167]. Die Regelung der Temperatur ist jedoch aus ökonomischer Sicht schwierig [168, 169]. Zur Auslegung von Produktionsanlagen und -prozessen ist ein detailliertes Wissen über den Einfluss von Licht und Temperatur auf das Wachstums- und Produktbildungs-verhalten von entscheidender Bedeutung.

Aus den experimentell ermittelten Daten (Kapitel 4.1.2 und 4.1.3) lässt sich für die Mikroalge *Chlorella vulgaris* ein Modell zum Wachstumsverhalten in Bezug auf Licht und Temperatur erstellen. Da sowohl die spezifische Wachstumsrate μ , der Lichtsättigungspunkt I_S wie auch die Wachstumseffizienz α licht- und temperaturabhängig sind, müssen diese Parameter im Modell berücksichtigt werden. Das Wachstumsverhalten in Bezug auf die Lichtintensität bei einer gegebenen Temperatur ist nach Gleichung (4.2) definiert. Lichtsättigungspunkt I_S und die maximale spezifische Wachstumsrate μ_{max} ergeben sich aus den Temperaturkinetiken für die

Wachstumseffizienz α und der spezifischen Wachstumsrate μ (Gleichung (4.1), (4.3), (4.4)). Die Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsrate μ von der Photonenflussdichte I und Temperatur T ist in Abbildung 5.2 dargestellt. Besonders hervorzuheben ist hierbei der Einfluss der Temperatur auf die Wachstumseffizienz α – insbesondere bei Temperaturen oberhalb des Temperaturoptimums. Der optimale Wachstums- und Effizienzbereich liegt bei Photonenflussdichten von $75 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ und Temperaturen zwischen $20 \text{ }^\circ\text{C}$ und $25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Mit dem Ziel durch Mikroalgen Produkte (wie z.B. Stärke) zu erzeugen, können sich die optimalen Kultivierungsbedingungen verschieben. Dies wird durch Abbildung 5.3 für die Bildung von Stärke in Abhängigkeit zur Temperatur verdeutlicht. Die bereitgestellte Energie aus der Lichtreaktion (in Form von ATP und NADPH/H⁺) wird primär in den Erhaltungsstoffwechsel und in den Aufbau aktiver Biomasse geleitet. Sind diese Stoffwechselprozesse maximal ausgelastet, wird überschüssige bereitgestellte Energie in Speicherstoffe akkumuliert. Diese werden dem Stoffwechsel wieder zugeführt, wenn die oben genannten Stoffwechselprozesse durch die Lichtreaktion nicht ausreichend versorgt werden – vorwiegend bei geringen Lichtintensitäten oder während der Nachtphasen [143]. Außerhalb des Temperaturoptimums verringern sich die Wachstumsraten und resultieren in einer verminderten Konvertierung der bereitgestellten Energie in Zellmasse und die Akkumulation von Speicherstoffen, wie Stärke, wird induziert.

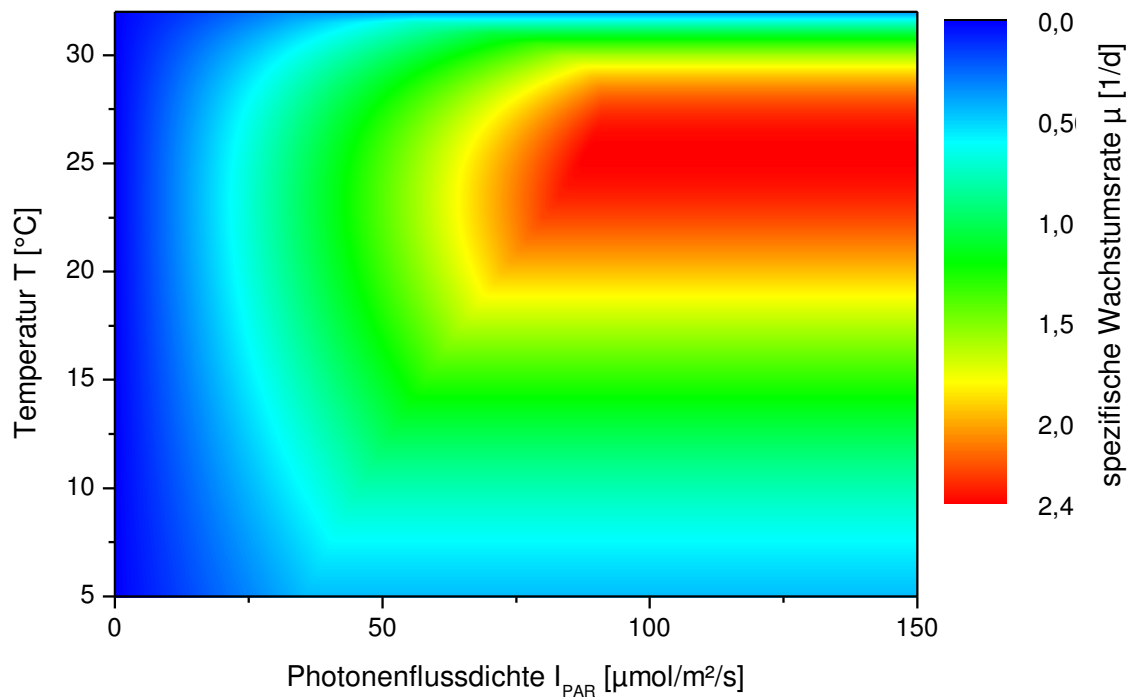


Abbildung 5.2 Darstellung der spezifischen Wachstumsrate in Abhängigkeit von der Temperatur und Photonenflussdichte für die Mikroalge *Chlorella vulgaris*. Details zur Prozessführung befinden sich in Kapitel 3.2.3.

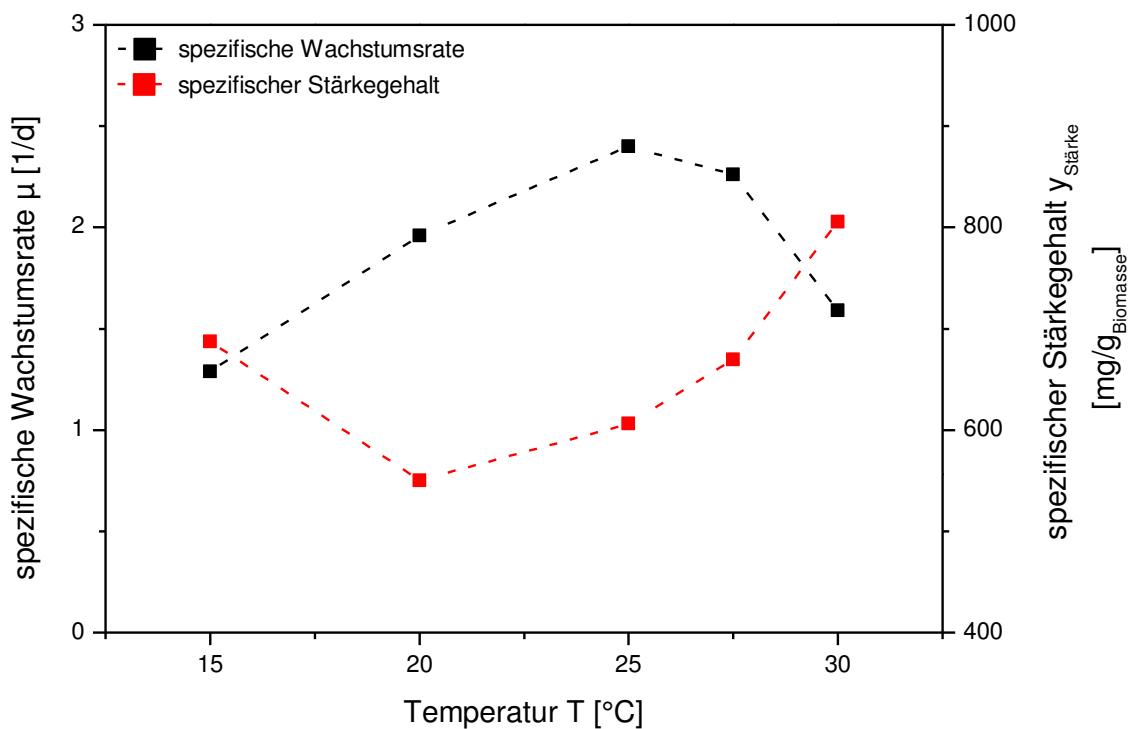


Abbildung 5.3 Darstellung der spezifischen Wachstumsrate und spezifischen Stärkegehaltes in Abhängigkeit zur Temperatur für die Mikroalge *Chlorella vulgaris*. Details zur Prozessführung befinden sich in Kapitel 3.2.3.

Die licht- und temperaturabhängige Umwandlung von Energie erlaubt somit die Anpassung der Prozessstrategie an das jeweilige Produkt (Biomasse, Speicherstoffe oder Pigmente). Neben Licht und Temperatur nehmen auch andere Parameter Einfluss auf die physiologischen Prozesse von Mikroalgen. So führt eine Stickstofflimitierung zur verstärkten Bildung von Lipiden [161, 170-172], während eine Kohlenstoffdioxidlimitierung eine Induktion von Kohlenstoffdioxid-Konzentrationsmechanismen hervorruft [61, 64, 65]. Eine Veränderung des Lichtspektrums führt zu einer Anpassung der photosynthetischen Pigmente [47]. Mit den Anpassungsprozessen reagieren Mikroalgen auf Veränderungen in ihrer Umgebung mit dem Ziel der optimalen Lichtausbeute und der damit verbundenen maximalen Bildung von Biomasse in jeglicher Form.

Licht und Temperatur beeinflussen somit das Wachstumsverhalten signifikant, wobei die Dominanz der Einflussfaktor variiert. Bei geringen Lichtintensitäten bestimmt das Licht maßgeblich das Wachstumsverhalten der Mikroalgen, während bei gesättigten Lichtintensitäten die Temperatur limitierend wirkt. Hierbei mindern temperaturabhängige enzymatische Stoffwechselschritte die Bildung von aktiver Biomasse und resultieren in einer Umstrukturierung der metabolischen Stoffflüsse und zur Bildung von Speicherstoffen (wie Stärke). In diesem Zusammenhang konnte keine signifikante Temperaturabhängigkeit der RuBisCO nachgewiesen werden. Die Fixierung von CO₂ durch die RuBisCO erfolgte hierbei stetig, wobei die darauffolgende Konvertierung in aktive Biomasse oder in Speicherstoffe von den vorliegenden Bedingungen bestimmt wurde. Ferner konnte gezeigt werden, dass auch die Wachstumseffizienz α einer temperaturabhängig unterliegt, die sich vor allem bei geringen und hohen Temperaturen signifikant auswirkt. Schließlich beeinflussen Licht und Temperatur auch die Zusammensetzung der Pigmente. Schlussfolgernd kann festgehalten werden, dass diese beiden Einflussfaktoren das Wachstums- und Produktbildungsverhalten maßgeblich bestimmen und die Kultivierung im Freiland signifikant beeinflussen.

5.2 Kultivierungen im Pilotmaßstab

Die Nutzung von Mikroalgen als biologisch-basierter Rohstoff für industrielle Anwendungen ist vielversprechend. Derzeitige kommerzielle Industrieanlagen beschränken sich jedoch auf Produkte mit hoher Wertschöpfung – s.g. high-value products [173-176]. Um den Markt der

low-value products zu erschließen, ist eine drastische Reduzierung der Produktionskosten und die Etablierung von größeren Produktionsanlagen erforderlich. Die Reduzierung der Produktionskosten beträgt hierbei das 10-fache [1, 173, 177], wobei der überwiegende Kostenanteil in der Temperierung der Reaktoren zu finden ist. Neben der Reduzierung der Betriebskosten führt eine Steigerung der Biomasseproduktivität ebenfalls zur Verbesserung [177].

Die meisten Untersuchungen in der Photobiotechnologie finden in Laborexperimenten unter Kultivierungsbedingungen statt, die den späteren Produktionsbedingungen nicht entsprechen. Dies betrifft vor allem die Art der Lichtquellen und die Beleuchtungsdauer, die eine Reproduktion des Sonnenlichts nur bedingt zulassen (Abbildung 3.13 und Abbildung 3.15). Experimente unter produktionsnahen Bedingungen sind deshalb essentiell, um die Erkenntnisse aus den Laborexperimenten zu validieren. Der Pilotmaßstab bietet dabei die besten Voraussetzungen, da aufgrund des Maßstabes eine vielseitige Messung unterschiedlicher Parameter noch möglich ist.

Ein Vergleich der unterschiedlich etablierten Reaktorsysteme ist derzeit schwierig, da diese delokalisiert sind und mit unterschiedlichen Algenstämmen kultiviert wurden. Hieraus ergibt sich ein breites Spektrum an Produktivitäten, die nicht direkt miteinander verglichen werden können (Tabelle 2.3). Eine Zentralisierung und die daraus resultierende Kultivierung unter identischen Bedingungen ermöglicht es diese Reaktortypen miteinander zu vergleichen. Das Solar Biofuels Research Centre (SRBC) stellte hierbei die ersten Maßstäbe – auch für spätere andere Anlagensysteme, wie den AlgaePARC in den Niederlanden [1]. Der Einfluss unterschiedlicher klimatischer Umgebungsbedingungen könnte ebenfalls dazu beitragen die Effizienz phototropher Kultivierungssysteme zu steigern. Dabei können derartige Versuchsanlagen, die sich in unterschiedlichen klimatischen Zonen befinden, verglichen werden. Hierzu sind sowohl Kooperationen wie auch standardisierte Experimente in Bezug auf Algenstamm, Reaktortyp und Prozessführung erforderlich, damit die Ergebnisse untereinander vergleichbar sind.

5.2.1 Bestimmung wichtiger Parameter in Freilandkultivierungen

Viele Faktoren nehmen Einfluss auf die Effizienz phototropher Kultivierungen im Freiland (Abbildung 2.9). Während die Temperatur und die Lichtintensität saisonale und

standortspezifische Faktoren sind, definiert sich der Lichteintrag und die Lichtverteilung in den Reaktor durch die Spezifikationen des jeweiligen Systems.

5.2.1.1 Bestimmung des Lichteinflusses auf das Wachstumsverhalten unter Freilandbedingungen

Durch die Normierung des Beleuchtungs/Standflächen-Verhältnisses wird die PCE durch die Effizienz des Lichteintrages und -verteilung bestimmt. Je größer dabei das Oberflächen/Volumen-Verhältnis ist, desto homogener ist die Lichtverteilung in die Kultursuspension, wobei diese von der Biomassekonzentration abhängig ist.

Eine Prämisse an phototrophe Kultivierungssysteme ist die Interaktion zwischen der Physiologie und dem Licht effizient zu gestalten [81]. Photobioreaktoren sollen dabei Voraussetzungen schaffen, um hohe Biomassekonzentrationen bei maximaler Photonenausnutzung zu erreichen. Unter idealen Kultivierungsbedingungen im Satzbetrieb befindet sich die maximale PCE im Wendepunkt des Biomasseverlaufs. Die entsprechende Biomassekonzentration ist von der Lichtintensität und Lichtverteilung abhängig.

Durch eine homogenere Lichtverteilung (Erhöhung des Beleuchtungsflächen/Volumen-Verhältnisses) ist eine Steigerung der Biomassekonzentration bei maximaler PCE möglich. Rohrreaktoren erzielen durch ihre Bauweise gegenüber den anderen Reaktorsystemen hohe Verhältnisse (Tabelle 4.4). Diese Eigenschaft führt außerdem zu einer höheren Wärmeaustauschfläche mit der Umgebung, sodass verstärkt Wärmekonduktion und -konvektion stattfinden können. Folglich kann thermische Energie zwischen der Umgebung und dem Reaktor gut ausgetauscht werden, wobei sich dies positiv wie auch negativ auf die Kultivierung auswirken kann. Im Falle eines Temperaturgradienten in Richtung Umgebung findet eine Kühlung des Reaktormediums statt, während ein gegenläufiger Temperaturgradient in einer Erwärmung des Reaktormediums resultiert. Insbesondere in tropischen Regionen mit Umgebungstemperaturen oberhalb der Kultivierungstemperatur kann sich dies negativ auf die Kultivierung auswirken. Abbildung 4.15 verdeutlicht diesen Sachverhalt. Ferner nimmt die Reaktorgeometrie Einfluss auf die eingetragene Wärmestrahlung. Im Falle der Rohrreaktoren führt die Anordnung der Röhren zu geringeren Abschattungseffekten und bewirkt des Weiteren eine Fokussierung der Sonnenstrahlung. Durch die Standardisierung des Beleuchtungsflächen/Standflächen-Verhältnisses wurden unterschiedliche reaktorspezifische

Standflächen erzeugt. So besaßen die Rohrreaktoren gegenüber den Flat-Plate-Reaktoren eine bis zu 11-fach höhere Standfläche. Den Rohrreaktoren stand somit eine höhere Lichtmenge zur Verfügung. Diese Effekte verursachen eine höhere Temperaturabhängigkeit und resultieren in höhere Reaktortemperaturen. Verluste in der PCE oder im energetischen Wirkungsgrad, aufgrund des erhöhten Kühlbedarfs, sind das Resultat. Folglich nimmt die Reaktor-geometrie, neben dem Lichteintrag und der Lichtverteilung, zusätzlich Einfluss auf die Kultivierungstemperatur und auf die zuzuführende Temperierungsenergie. Daher kann bei gegeben klimatischen Bedingungen ein entsprechendes Reaktorsystem den Wirkungsgrad des Prozesses steigern.

Betrachtet man weiterhin, dass bei den theoretischen maximalen PCE-Werten (Kapitel 2.1.5) nur 5,4 % des verfügbaren Sonnenlichtes in Biomasse konvertiert wird, so verbleiben 94,6 % ungenutzt im Kulturmedium. Da neben der IR-Strahlung auch die anderen Bereiche des Sonnenspektrums (Kapitel 3.3.8) mit dem Kulturmedium interagieren und es hierdurch auch zu Wärmeentwicklung kommt, ist eine effiziente Rückhaltung ungewollter Strahlung sowie ein optimaler Wärmeaustausch mit Umgebung meist für eine Effizienzsteigerung unerlässlich. In diesem Sinne konnte durch den Einsatz von infrarotabweisender Schutzfolie gezeigt werden, dass der Kühlbedarf um 36 % reduziert konnte.

5.2.1.2 Bestimmung des Temperatureinflusses auf das Wachstumsverhalten unter Freilandbedingungen

Die Ergebnisse aus der Freilandkultivierungen (Kapitel 4.1.2) stehen im Widerspruch zu Messdaten der Laborexperimente (Kapitel 4.1.2). Dort wurde festgestellt, dass Temperaturen oberhalb von 25 °C zu einer Verminderung des Wachstums führen sollten. Die Temperaturen in den Freilandexperimenten lagen hierbei oftmals oberhalb des Temperaturoptimums und sollten eigentlich in einer verminderten Biomasseproduktivität resultieren. Folglich müssen Regulations- wie auch Reparaturmechanismen innerhalb des Organismus vorliegen, die einen kurzweiligen Hitzestress kompensieren [60]. Aus den Ergebnissen von De Bashan und Kobayashi [178, 179] lässt sich schließen, dass durch den Hitzeschock und den Tag/Nacht-Zyklen eine Akklimation des Organismus an die Temperaturverhältnisse stattgefunden hat. Durch den kurzzeitigen Temperaturstress werden verstärkt Hitze-Schock-Proteine gebildet, die eine Stabilisierung des temperatursensitiven Photosystems II und der RuBisCO bewirken. Akklimationsprozesse, wie die Synthese von hitzestabilen Enzym-Isoformen, tragen weiterhin

zu einer erhöhten Temperaturtoleranz bei. Während der Nachtphase und den vorliegenden geringeren Temperaturen können entstandene Zellschädigungen repariert werden. Dies ist bei einem konstanten Temperaturstress, wie er in den Laborexperimenten vorlag (Kapitel 4.1.2), nicht möglich. Ferner konnte der energetische Mehraufwand für Reparatur- und Akklimationsprozesse in den vorliegenden Experimenten nicht nachgewiesen werden, wobei sich dieser sowohl negativ auf die Produktivität wie auch auf die PCE auswirkt. Ferner wird durch die suboptimalen Temperaturen während der Tagphase die Synthese aktiver Biomasse reduziert, jedoch die überschüssige Energie in Stärke konvertiert werden. Dieser vermehrte Energiespeicher kann während der Nachtphase – neben der Aufrechterhaltung des Erhaltungsstoffwechsels – dazu genutzt werden neue aktive Biomasse zu synthetisieren. Der Produktivitätsverlust in der Tagphase könnte somit kompensiert werden. Um detailliertere Aussagen über das physiologische Verhalten treffen zu können, sind jedoch stärker zeitaufgelöste Experimente erforderlich.

Das verminderte Wachstum bei einer konstanten Temperatur von 25 °C begründet sich im kombinierten Einfluss von der Lichtintensität, Temperatur und Tag/Nacht-Zyklus. In der Literatur wurde der Einfluss der Temperatur während Tag/Nacht-Zyklen untersucht [142, 143, 173, 180-182] und ermöglicht in Verbindung mit den Laborexperimenten die Freilandkultivierungen zu interpretieren. Absorbiertes Licht aus der Tagphase wird in der Elektronentransportkette in ATP und NADPH/H⁺ konvertiert und zur Bildung neuer Biomasse und für den Erhaltungsstoffwechsel verwendet. Sind diese Stoffwechselweg maximal ausgelastet, wird überschüssige Energie in Form von Speicherstoffen, wie Stärke, eingelagert. Ein Überschuss an Energie kann dabei durch die Lichtintensität wie auch durch die Temperatur induziert werden und resultiert in einer vermehrten Bildung von Stärke. (Abbildung 4.4). In der Nachtphase findet keine Photosynthese statt und der Erhaltungsstoffwechsel muss über andere Stoffwechselwege bedient werden. Die in der Tagphase gebildete Stärke wird dabei verwendet, um über den heterotrophen Stoffwechsel Energie und Primärmetabolite bereitzustellen. Die Energie findet dabei überwiegend im Erhaltungsstoffwechsel Verwendung. Bei ausreichendem Stärkevorrat bzw. Energievorrat ist auch ein weiteres Biomassewachstum möglich – sofern keine Nährstofflimitierung vorliegt. Die Temperatur bestimmt hierbei die Aktivität des Erhaltungsstoffwechsels wie auch die des Biomassewachstums. Der Verlauf der Tagphase in Bezug auf Licht- und Temperatur nimmt

somit auch direkten Einfluss auf das Wachstumsverhalten in der Nachtphase bei einer gegebenen Temperatur.

Dieses Verhalten lässt sich auch in den Ergebnissen der Freilandkultivierungen wiederfinden. Nach Tag zwei befinden sich alle Reaktoren in der linearen Phase. Im Vergleich mit den Laborergebnissen resultiert dies in eine verminderte Stärkeakkumulation, da überschüssige Energie nur begrenzt vorhanden ist. Stärkekonzentrationsbestimmungen bestätigen dies (Abbildung A.10). Aus dem verminderten Vorrat an Stärke ergeben sich für die Nachtphasen abhängig von der Temperatur geringe bis negative Wachstumsraten. Der temperierte Reaktor weist im Vergleich zu den anderen Reaktoren eine erhöhte respiratorische Aktivität bei annähernd gleich bleibendem Stärkegehalt auf. Daraus resultiert eine verminderte Biomasseproduktivität.

5.3 Übertragung der Laborergebnisse auf den Pilotmaßstab

Die durchgeführten Experimente im Labor- und Pilotmaßstab ermöglichen für die Mikroalge *Chlorella vulgaris* eine Validierung der experimentellen Daten. Durch die Erstellung eines Wachstumsmodells können die Erkenntnisse aus dem Labormaßstab auf den Pilotmaßstab übertragen werden.

5.3.1 Erstellung und Validierung eines Wachstumsmodells in Bezug auf Temperatur und Licht

Für die Übertragung der Laborergebnisse auf den Pilotmaßstab wurde ein Typ II Wachstumsmodell [183] erstellt, welches die eingestrahelte Lichtintensität auf die gesamte Reaktoroberfläche und die darauffolgende Lichtverteilung innerhalb des Reaktors berücksichtigt, um so die spezifische Wachstumsrate zu ermitteln. Die eingestrahelte Lichtintensität wird von der geographischen Position und geometrischen Anordnung der Reaktoren (Ausrichtung und Reaktorabstand) bestimmt. Des Weiteren nehmen der aktuelle Sonnenstand und die vorherrschende Wetterlage Einfluss. Die aktuelle Lichtintensität wurde über einen meteorologischen PAR-Sensor erfasst und kann mittels Kosinuskorrektur und unter Verwendung der im Anhang (Abbildung A 2 und A 5) befindlichen Simulation (siehe

auch Kapitel 4.2.2.4) auf die eingestrahelte Lichtintensität übertragen werden. Wie in Abbildung 5.4 dargestellt, differenziert sich der Reaktor in Bereiche mit unterschiedlich auftreffenden Lichtintensitäten. Daraus resultieren variierende Lichtverteilungen über die Reaktorhöhe.

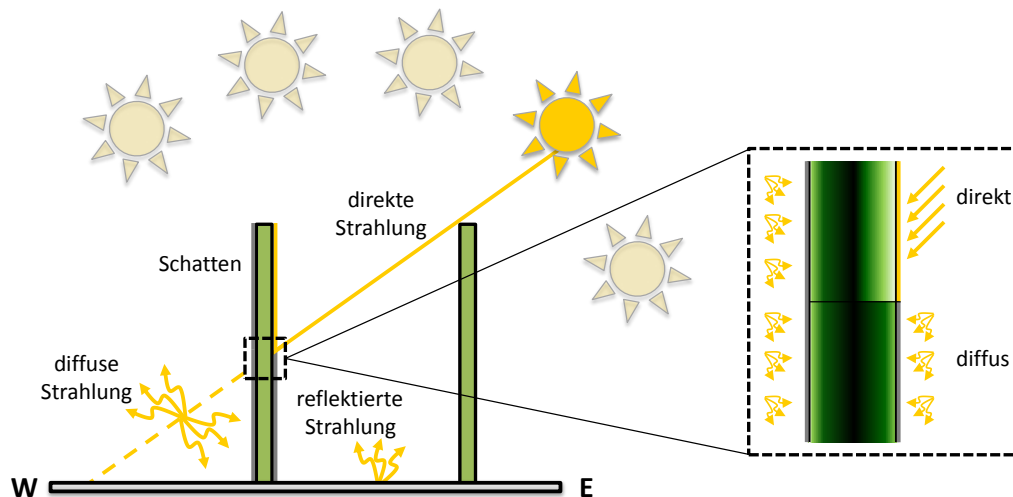


Abbildung 5.4 Schematische Darstellung der Lichtverteilung auf und in Flat-Plate-Reaktoren unter Freilandbedingungen

Zur mathematischen Beschreibung der auftreffenden Lichtintensität wurde die direkt bestrahlte Reaktorseite in zwei Bereiche unterteilt. Deren Anteile sind über die Schattenhöhe definiert. Für die auftreffende Lichtintensität auf die abgeschatteten Bereiche wurde die diffuse Lichtintensität verwendet, die mit dem PAR-Sensor bestimmt wurde. Zur Ermittlung der momentanen spezifischen Wachstumsrate wurde die Lichtverteilung über die Reaktortiefe bestimmt. Der exponentielle Abfall der Lichtintensität über der Reaktortiefe (durch Streu- und Absorptionseffekte) wurde hierbei durch eine Erweiterung des Lambert-Beer Gesetzes beschrieben. Es wurde berücksichtigt, dass der Reaktor doppelseitig bestrahlt wurde. Somit konnten der Lichtverteilung ortsspezifische Wachstumsraten zugeordnet werden. Die Integration der Wachstumsraten in Verbindung mit der Lichtverteilung bezüglich der Reaktorhöhe ergab die mittlere spezifische Wachstumsrate für den jeweiligen Zeitpunkt. Die Integration der spezifischen Wachstumsrate über die Reaktortiefe erfolgte mittels numerischer Integration nach der Trapezregel [184] (Gleichungen (5.1), (5.2), (5.3)).

$$I_{bel}(l) = I_{Reaktor,direkt} \cdot \tau_{PAR} \cdot e^{-c_X(t) \cdot \varepsilon \cdot l} + I_{diffus} \cdot e^{-c_X(t) \cdot \varepsilon \cdot (l_{Reaktor} - l)} \quad (5.1)$$

$$I_{abg}(l) = I_{diffus} \cdot \tau_{PAR} \cdot (e^{-c_X(t) \cdot \varepsilon \cdot l} + e^{-c_X(t) \cdot \varepsilon \cdot (l_{Reaktor} - l)}) \quad (5.2)$$

$$\mu_{I,T}(l, I, T) = \int_0^{l_{Reaktor}} \mu(I_{bel}) dl \cdot \frac{1}{l_{Reaktor}} \cdot \frac{h_{Schatten}}{h_{Reaktor}} + \quad (5.3)$$

$$\int_0^{l_{Reaktor}} \mu(I_{abg}) dl \cdot \frac{1}{l_{Reaktor}} \cdot \left(1 - \frac{h_{Schatten}}{h_{Reaktor}}\right)$$

$$\mu(I_{bel}) = \begin{cases} I_{bel}(l) \cdot \frac{\mu_{max,T}}{I_{S,T}}, & I_{bel}(l) < I_{S,T} \\ \mu_{max,T}, & I_{bel}(l) \geq I_{S,T} \end{cases}$$

$$\mu(I_{abg}) = \begin{cases} I_{abg}(l) \cdot \frac{\mu_{max,T}}{I_{S,T}}, & I_{abg}(l) < I_{S,T} \\ \mu_{max,T}, & I_{abg}(l) \geq I_{S,T} \end{cases}$$

$I_{bel}(l)$	Lichtintensität in Abhängigkeit zur Reaktortiefe l für direkte bestrahlte Reaktoroberfläche	$[\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}]$
$I_{abg}(l)$	Lichtintensität in Abhängigkeit zur Reaktortiefe l für abgeschattete Reaktoroberfläche	$[\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}]$
$I_{Reaktor,direkt}$	direkte Strahlungsintensität auf Reaktoroberfläche	$[\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}]$
I_{diffus}	Diffuse Strahlungsintensität auf Reaktoroberfläche	$[\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}]$
$I_{S,T}$	Lichtsättigungspunkt für die Temperatur T	$[\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}]$
$\mu_{I,T}$	spezifische Wachstumsrate in Abhängigkeit von der Lichtintensität I und Temperatur T	$[1/d]$
τ_{PAR}	Transmissionsfaktor für Reaktorfolie im PAR-Bereich (0,77)	$[-]$
$c_X(t)$	Biomassekonzentration zur Zeit t	$[\text{g}/\text{l}]$
ε	Extinktionskoeffizient (317)	$[\text{l}/\text{g}/\text{m}]$
l	Reaktortiefe	$[\text{m}]$
$l_{Reaktor}$	gesamte Reaktortiefe	$[\text{m}]$

$\mu_{max,T}(T)$	maximale spezifische Wachstumsrate zur Temperatur T	[1/d]
$\alpha_T(T)$	Wachstumseffizienz zur Temperatur T	[m ² ·s/μmol/d]
$h_{Reaktor}$	Reaktorhöhe	[m]
$h_{Schatten}$	Schattenhöhe auf der Reaktoroberfläche	[m]

Die auftreffende Lichtintensität $I_{Reaktor,direct}$ und $I_{diffuse}$ wird beim Durchgang durch die Reaktorfolie anteilig absorbiert und reflektiert. Aus dem Reflexions- und Transmissionspektrum für den PAR-Bereich ergibt sich der Transmissionsfaktor τ_{PAR} . Der Extinktionskoeffizient ε ist von der Zellzusammensetzung und der momentanen spezifischen Lichtintensität (PFD pro g_{Biomasse}) abhängig. Für das Model wurde ein gemittelter Wert von 317 l/g/m angenommen (Abbildung A.7). In der Nachtphase ist lediglich der heterotrophe Stoffwechsel aktiv und es findet vorwiegend keine Zunahme der Zellmasse statt. Für die Nachtphasen wurde ein negatives Wachstum angenommen, wobei sich die spezifische negative Wachstumsrate anteilig aus der theoretisch maximalen spezifischen Wachstumsrate $\mu_{max,T}$ in Abhängigkeit von der Temperatur T ergibt. Als respiratorischer Anteil $\tau_{respiration}$ wurde ein Wert von 0,1 angenommen. Das Zellwachstum ergibt sich somit nach Gleichung (5.4), wobei sich der Lichtkompensationspunkt I_K bei von 0 μmol/m²/s befindet.

$$\frac{dc_X}{dt} = \begin{cases} c_X \cdot \mu_{I,T}, & I > I_K \\ c_X \cdot (-\mu_{max,T} \cdot \tau_{respiration}), & I \leq I_K \end{cases} \quad (5.4)$$

c_X	Biomassekonzentration	[g/l]
t	Zeit	[d]
I	Lichtintensität	[μmol/m ² /s]
I_K	Lichtkompensationspunkt	[μmol/m ² /s]
$\tau_{respiration}$	Respiratorische Anteil	[-]

Das Wachstumsmodel wurde mit der numerischen Simulationssoftware Matlab erstellt (Anhang Abbildung A 5). Die Ergebnisse für die unterschiedlichen Temperierungsstrategien sind in Abbildung 5.5 und Abbildung 5.6 dargestellt.

Die Simulation wurde mit 42 h Versatz gestartet, um die Anpassungsphase der Kultur auszugleichen. Der simulierte Verlauf der jeweiligen Biotrockenmassen aus Abbildung 5.5

gibt die Charakteristika der Messdaten für die Temperierungsstrategien entsprechend wieder. Die Validierung des Modells mit den Messdaten ergibt eine Genauigkeit von 96 % (Abbildung 5.7) und bestätigt die grundsätzliche Anwendbarkeit des Modeltyps zur Beschreibung des mikrobiellen Wachstums [183, 185-187]. Im Vergleich zu den Messdaten, vermindert sich die simulierte Biomasse am Ende der Kultivierung. Die Abschwächung der Zunahme begründet in dem Ausfall des Kühlwasserversorgung und beeinflusste die simulierte Biomasseproduktivität signifikant. Ferner nimmt auch die Lichtverteilung auf und innerhalb des Reaktors Einfluss. Faktoren, wie Quervermischung, flashing light Effekt oder Standflächenreflexion, können Gründe für die konstante Zunahme der Biomasse in den Experimenten sein. Diese wurden im Wachstumsmodell nicht berücksichtigt. Eine genaue Charakterisierung des Reaktors in Bezug auf Lichteintrag und Verteilung wie auch die Berücksichtigung der Bodenreflexion können zur Optimierung beitragen [Bechet 2013, Merchuck 2011, Perne-Nochta 2007). Hierzu sind ferner Messungen der Lichtintensitäten an der Reaktoroberfläche notwendig, um eine exakte Lichtverteilung und einen Lichteintrag zu erfassen.

Ein weiterer Aspekt, der bei der Kultivierung in Tag/Nacht-Zyklen berücksichtigt werden muss, ist das Wachstumsverhalten während der Nachtphase. Dieses wird maßgeblich durch den vorangegangenen Tagzyklus und durch die akkumulierten Speicherstoffe bestimmt. Dabei stehen die pro Zelle absorbierten Photonen pro Tagphase und die Speicherstoffe im direkten Zusammenhang (Kapitel 4.1.3 und Kapitel 5.1.2). Bei ausreichender Menge an Speicherstoffen – vornehmlich Stärke – findet neben dem Erhaltungsstoffwechsel auch Zellwachstum während der Nachtphase statt. Da aufgrund der Biomassezunahme die Menge an absorbierten Photonen pro Zelle während der Tagphase stetig abnimmt verringert sich das Wachstum während der Nachtphase und führt bei hohen Zelldichten zu einer limitierten Versorgung des Erhaltungsstoffwechsels. Eine Abnahme der Biomasse im Reaktor wäre hierbei die Folge. Dieses Verhalten kann sowohl in Abbildung 4.2 und Abbildung A.11 beobachtet und durch Torzillo [141] bestätigt werden. Um das Wachstumsverhalten auch während der Nachtphase detailliert beschreiben zu können, sind deshalb weitere Experimente erforderlich.

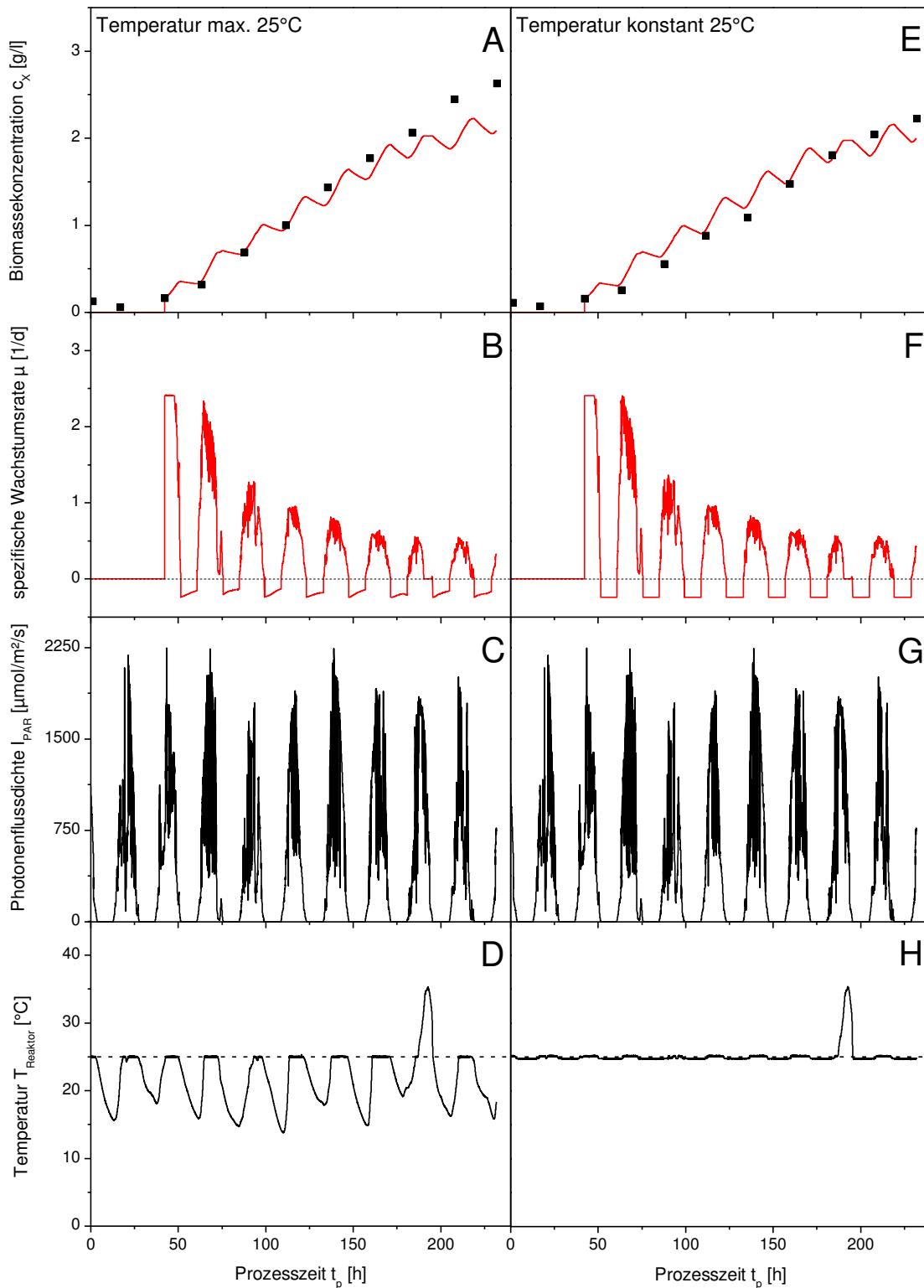


Abbildung 5.5 Modellvalidierung der Freilandkultivierung von *Chlorella vulgaris* (Kapitel 4.3.2). Details zur Prozessführung finden sich in Kapitel 3.2.6. Rot: Simulation der Satzkultivierungen; Schwarz: Messdaten

In Abbildung 5.6 A-D sind die Ergebnisse des Wachstumsmodells für den Temperierungsversuch mit unregelmäßiger Temperatur dargestellt. Hierbei unterschätzt das Wachstumsmodell die Messdaten – insbesondere nach 180 h. Im Vergleich mit den spezifischen Wachstumsraten von Abbildung 5.5 ist zu erkennen, dass die Wachstumsraten bei höheren Temperaturen geringer ausfallen und in ein vermindertes Biomassewachstum resultieren. Führt man jedoch eine Simulation mit einer maximalen Temperatur von 25 °C durch, so wird das Wachstumsverhalten repräsentativ wiedergegeben (Abbildung 5.6 E-H). Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass weitere Anpassungsmechanismen in der Zelle aktiv sein müssen, um eine zeitweise Erhöhung der Temperatur zu kompensieren. Dies erklärt auch die Verminderung der simulierten Biomasseproduktivität beim Ausfall der Kühlwasserversorgung. Des Weiteren muss auch der vorherrschende Tag/Nacht-Zyklus mit einbezogen werden, da in dieser Zeit Zellschädigungen effektiv repariert werden können. Hierbei sind vor allem die RuBisCO und das Photosystem II betroffen.

De Bashan [178] zeigte, dass Mikroalgen sich an höhere Temperaturen durch kurzzeitige vorangegangene Perioden von Temperaturstress an diese anpassen und somit höhere Temperaturen tolerieren können. Die Ergebnisse von Kobayashi [179] zeigten, dass durch den Hitzestress verstärkt Gene aktiviert werden, die die Bildung von Hitze-Shock-Proteinen (Kapitel 2.1.2.2) induzieren. Diese ATP-unabhängigen Proteine wirken stabilisierend auf andere Enzyme und machen sie somit resistenter gegen Hitzeeinwirkung. Vermutlich wird eine Kombination aus kurzzeitiger Hitzeeinwirkung und einer darauffolgenden Dunkelphase benötigt, um die Zellen dauerhaft an eine Hitzeeinwirkung anzupassen. Ein solches Verhalten konnte in den Laborexperimenten unter konstanter Hitzeeinwirkung nicht beobachtet werden (Kapitel 4.1.2 und 4.1.3). Dieses Phänomen ist jedoch wenig untersucht, sodass hier weitere Forschungsarbeit geleistet werden muss. Laborversuche mit periodischen variierenden Temperaturerhöhungen können hierbei Rückschlüsse erlauben, ab welcher Inkubationszeit und Temperatur eine irreversible Zellschädigung auftritt und wann eine Akklimation stattgefunden hat. Diese Erkenntnisse könnten dazu dienen, die Prozessführung phototropher Kultivierungen in Hinsicht auf eine effektive Temperierung weiter zu optimieren.

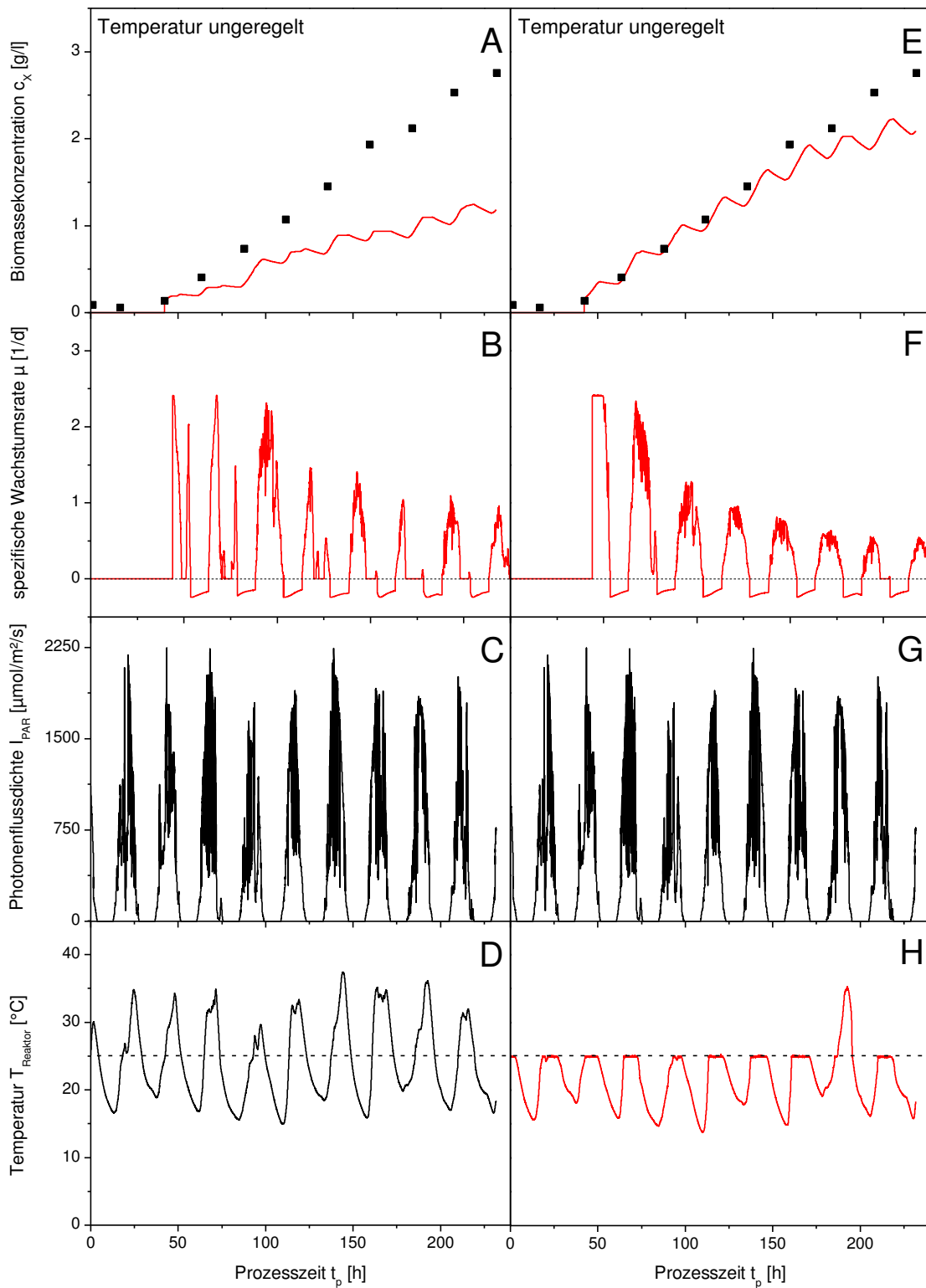


Abbildung 5.6 Modellvalidierung der Freilandkultivierung von *Chlorella vulgaris* (Kapitel 4.3.2). Details zur Prozessführung finden sich in Kapitel 3.2.6. Rot: Simulation der Satzkultivierungen; Schwarz: Messdaten; A-D: Modellvalidierung der Freilandkultivierung mit ungeregelter Temperatur; E-H: Modellszenario der Freilandkultivierung mit ungeregelter Temperatur für eine maximale Temperatur von 25 °C

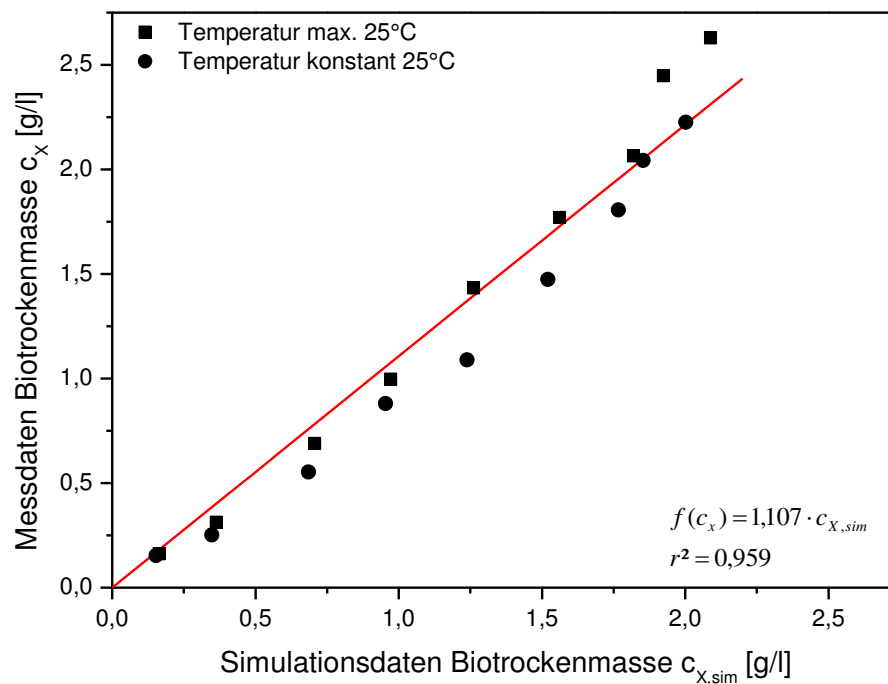


Abbildung 5.7 Vergleich und Validierung des Wachstumsmodells mit den Messdaten aus den Freilandkultivierungen (Abbildung 5.5). Details zur Prozessführung finden sich in 3.2.6.

Aus den Ergebnissen der Freilandkultivierungen (Kapitel 4.3.2) ging hervor, dass die temperatur-induzierten Akklimationsmechanismen wie auch Speicherstoffe einen signifikanten Einfluss auf das Wachstumsverhalten haben. Diese Faktoren werden jedoch bisher nicht vom Wachstumsmodell erfasst. Detaillierte Untersuchungen dieser Akklimationsprozesse und deren Einfluss auf das Wachstum können dazu beitragen das Modell zu komplettieren. Weiterhin muss über den tageszeitlichen Verlauf der Einfluss der Speicherstoffe (wie Stärke) auf das Wachstumsverhalten bestimmt werden. Insbesondere deren Synthese in der Tagphase und deren Verwendung in der Nachtphase, sowohl für den Grundstoffwechsel als auch für die Bildung aktiver Biomasse, werden bislang nicht erfasst. Durch diese Erkenntnisse könnte das Wachstumsverhalten im Tagesverlauf genauer simuliert werden. Schließlich können Messungen der Lichtverteilung auf der Reaktoroberfläche wie auch die Lichtverteilung im Reaktor dazu beitragen Reflexions- und Absorptionseffekte der Reaktorstandfläche und -oberfläche exakter zu beschreiben.

Zusammenfassend ist eine effiziente Prozessführung von Mikroalgen unter Freilandbedingungen – neben der Nährstoffversorgung – im Wesentlichen von der CO₂-Versorgung, vom Licht und von der Temperatur abhängig. Durch die Regelung des CO₂-Eintrages an den aktuellen photosynthetischen Bedarf können die Betriebskosten signifikant gesenkt. Weiterhin werden der Lichteintrag und die Lichtverteilung im Reaktor von dessen Geometrie und durch die direkte Umgebung bestimmt. Eine homogene und optimale Lichtversorgung der Mikroalgen steigert die Produktivität des Prozesses maßgeblich. Vielmehr ist die Kultivierungstemperatur ein Ergebnis der Interaktion des Reaktors mit seiner Umgebung, wobei die Reaktorgeometrie den Grad der Interaktion beeinflusst. Eine kontinuierliche Kultivierungstemperatur ist für eine optimale Prozessführung essentiell, wobei dies gewöhnlich nur durch eine aktive Temperierung des Prozesses realisiert werden kann. Bedingt durch Wärmestrahlung, Wärmeleitung und -konvektion resultiert dies oftmals in einer Kühlung der Reaktoren und macht somit den Prozess unwirtschaftlich. Durch physiologische Akklimationsprozesse ist es möglich die Kultivierungstemperatur ohne Produktivitätsverlust zu erhöhen und somit die zugeführte Temperierungsenergie zu senken. Ferner führt die Anwendung von neuartigen Materialien zu einer signifikanten Reduktion der Temperierungsenergie und somit zu einer Steigerung des energetischen Wirkungsgrades. Vielmehr bestimmt das Zusammenspiel von Licht und Temperatur das Wachstumsverhalten phototropher Prozesse. Durch eine gezielte Prozessführung ist es weiterhin möglich die Zellzusammensetzung zu steuern und energiereiche Biomasse zu produzieren. Das Potential für eine umweltfreundliche Energieerzeugung ist somit gegeben. Um das wirtschaftliche Potential zu steigern, sind detaillierte Erkenntnisse aus modernen Freiland-Versuchsanlagen unerlässlich. In Verbindung mit Laborergebnissen bilden sie die Basis zur Erstellung von physiologischen Modellen, die wiederum das Prozessverständnis erweitern. Schließlich wird ein detailliertes Verständnis der Auswirkungen der Umgebungsparameter auf die Physiologie zu einer Effizienzsteigerung und zu Wirtschaftlichkeit phototropher Prozesse führen.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Mikroalgen sind aufgrund ihres breiten Nutzungsspektrums vielversprechende und nachhaltige Rohstoffe. Fettsäuren, Proteine und Pigmente sind hierbei kommerziell verwendbare Substanzen. Großtechnische Freilandkultivierungen wurden bereits durchgeführt. Licht und Temperatur stellen hierbei die wesentlichen Einflussgrößen dar. In derzeitigen Reaktorsystemen wird die ökonomische und ökologische Effizienz besonders durch energetische Kosten für die Temperierung als auch durch hohe Betriebskosten gemindert. Viele Reaktorsysteme wurden deshalb entwickelt, um die Beleuchtung und Temperierung von Reaktoren zu verbessern. Als Standardreaktoren etablierten sich Raceway Ponds, Flat-Plate- und Rohrreaktoren.

Ein Vergleich der Reaktoren war aufgrund der unterschiedlichen geographischen und klimatischen Gegebenheiten bislang schwierig. Mit dem Solar Biofuels Research Centre (SBRC) in Brisbane wurde eine Freiland-Pilotanlage errichtet, die es erstmalig ermöglichte, Photobioreaktoren unter identischen Bedingungen direkt miteinander zu vergleichen. Durch die Standardisierung des Beleuchtungsflächen/Standflächen-Verhältnisses, konnte das Wachstumsverhalten auf den reaktorspezifischen Lichteintrag und auf die Lichtverteilung in der Zellsuspension zurückgeführt werden. Um zudem aussagekräftige Bewertungen durchführen zu können, wurde eine flexible Infrastruktur geschaffen, die sowohl die Regelung wie auch die Erfassung aller prozessrelevanten Größen für diverse Reaktorsysteme beinhaltet. Im Sinne einer kostenoptimierten Prozessführung wurde ein Regelungssystem etabliert, das die Versorgung mit Kohlenstoffdioxid an den aktuellen Bedarf der Kultur anpasst. Die Aufnahme von Kohlenstoffdioxid ist lichtabhängig und geht mit einer Verschiebung des pH-Wertes einher. Das gemessene pH-Signal wurde als Messgröße für einen PI-Regler genutzt. Um ein nicht limitiertes Wachstum zu gewährleisten, wurde ein Grundpartialdruck von Kohlenstoffdioxid im Zugas von 0,5 % eingestellt. So konnten – verglichen mit einer unregelmäßigen Kultivierung mit 5 % CO₂ im Zugas – bis zu 70 % des Kohlenstoffdioxidverbrauchs ohne Produktivitätsverlust eingespart werden. Durch Recyceln des kohlenstoffdioxidreichen Abgases war es möglich, den CO₂-Verbrauch weiter um bis zu 40 % zu senken. Die Entwicklung eines zentralen Kühlwasserversorgungssystems zur Temperierung der Reaktoren war außerdem erforderlich, um kontrollierbare Produktions-

bedingungen zu schaffen. Die Auslegung der peripheren Einrichtungen erfolgte über ein mathematisches Modell. Dieses ermöglichte die Prädiktion der Kühlleistung in Abhängigkeit vom Standort und dem tages- und jahreszeitlichen Verlauf. Gestützt wurde das Modell durch reale Daten des Kühlbedarfs der verschiedenen Reaktoren. Freilandversuchsanlagen unterliegen den örtlichen klimatischen Gegebenheiten. Zur Sicherung der Reaktoren und der peripheren Einrichtungen gegen auftretende Windkräfte wurden Windlastanalysen durchgeführt, die zu einer Verschiebung des Masseschwerpunktes führten. Hierdurch konnte sichergestellt werden, dass eine ausreichende Windstabilität der einzelnen Systeme vorhanden war. Des Weiteren wurden Standardvorgehensweisen (SOP) sowie HAZOP-Studien erstellt, um den sicheren und effizienten Betrieb der Anlage zu gewährleisten.

Neben dem wissenschaftlichen Anspruch der Reaktorvergleichbarkeit sollte die Versuchsanlage auch möglichst reale Produktionsbedingungen abbilden. Zu diesem Zweck wurden die gegenseitigen Abschattungseffekte bei der Aufstellung der Reaktoren berücksichtigt. So flankieren Reaktorattrappen die jeweiligen Reaktorsysteme. In Verbindung mit der Standardisierung des Beleuchtungsflächen/Standflächen-Verhältnisses konnte das Wachstumsverhalten auf den reaktorspezifischen Lichteintrag und auf die Lichtverteilung in der Zellsuspension zurückgeführt werden. Im direkten Vergleich von Raceway Pond, Flat-Plate- und Rohrreaktoren wurde der Einfluss der geometrischen Unterschiede zwischen den jeweiligen Reaktoren auf die Biomasseproduktivität von *Chlorella sorokiniana* untersucht. Bei vergleichbaren Prozessbedingungen wurde mit durchschnittlich 20 g/m²/d die höchste flächenbezogene Produktivität in den Flat-Plate-Reaktoren erzielt. Die Abhängigkeit der volumetrischen Produktivitäten vom Beleuchtungsflächen/Volumen-Verhältnis wurde weiterhin bestimmt. So verbesserte eine Steigerung dieses Verhältnisses die Lichtverteilung im Kultivierungssystem und führte zu höheren Produktivitäten. Eine größere Beleuchtungsfläche begünstigte jedoch auch den Wärmeaustausch mit der Umgebung und resultierte in einer stärkeren Temperaturabhängigkeit des Reaktors und senkte damit den energetischen Wirkungsgrad.

An Kultivierungen der Mikroalge *Chlorella vulgaris* wurde daraufhin der Einfluss der Kultivierungstemperatur auf die Biomasseproduktivität untersucht. Hierfür wurden Experimente in Flat-Plate-Reaktoren mit unterschiedlichen Temperierungsstrategien im Freiland durchgeführt. Bei simultanem Betrieb verschiedener Anlagen zeigte sich, dass eine temperaturgeregelte Kultur (nur gekühlt) im Vergleich zu einer parallel durchgeführten nicht

temperierten Kultur zu keiner signifikanten Änderung der Biomasseproduktivität führte. Spätere Validierungsexperimente brachten hervor, dass physiologische Mechanismen zur Temperaturadaptierung vorhanden sein mussten. Im Zuge dieses Experimentes wurde auch der Einsatz infrarotabweisender Materialien zur Minderung des Kühlbedarfs untersucht. Der aufzubringende Kühlbedarf konnte hierdurch um 36 % gegenüber einem gekühlten Referenzreaktor gemindert werden. Durch die Lichtreflexion am infrarotabweisenden Material wurde eine geringere Biomasseproduktivität gegenüber dem gekühlten Reaktor erreicht. Dennoch konnte der energetische Wirkungsgrad – bezogen auf die erzeugte Biomasseenergie im Vergleich zur eingesetzten Energie – um bis zu 25 % gegenüber dem gekühlten Reaktor gesteigert werden. Bei einer nicht geregelten temperierten Prozessführung konnte ebenfalls der energetische Wirkungsgrad erheblich gesteigert werden und führte zu einer positiven Energiebilanz von bis zu 171 %. Der energetische Wirkungsgrad wurde somit wesentlich durch die Temperierungsenergie beeinflusst. Eine weitere Fragestellung war, inwiefern sich die Beschaffenheit der Standfläche auf die Produktivität auswirkt. In diesem Sinne wurden in parallel geführten Freilandversuchen die Absorptions- und Reflexionseigenschaften der Reaktorstandfläche auf die Biomasseproduktivität untersucht. Der Einsatz einer lichtreflektierenden Standfläche steigerte dabei die Photokonversionseffizienz (PCE) durchschnittlich um 13 %, während eine lichtabsorbierende Standfläche zu einer durchschnittlichen Minderung um 22 % gegenüber einer weißen Referenzfläche führte.

Für ein detaillierteres Verständnis des Einflusses von Licht und Temperatur auf das Wachstumsverhalten von *Chlorella vulgaris* wurden diese Parameter in Laborexperimenten genauer und unter reproduzierbaren Bedingungen betrachtet. Die Zusammenführung von Temperatur- und Lichtkinetiken bei diversen Kultivierungstemperaturen dienten zur Validierung eines mathematischen Modells zur Prädiktion des Einflusses der Lichtintensität und der Temperatur auf das Wachstum von Mikroalgen. Die Simulation und experimentellen Daten bestätigten, dass sowohl die maximale Wachstumsrate im lichtgesättigten Bereich wie auch die Wachstumseffizienz im lichtlimitierten Bereich temperaturabhängig sind. Optimale Kultivierungsbedingungen für *Chlorella vulgaris* lagen bei 25 °C und einer Lichtintensität von 75 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ vor. Der spezifische Stärkegehalt – Stärke fungiert in der Zelle als energetischer Speicherstoff – korrelierte mit Wachstumsrate und erreichte ein Minimum beim Temperatur- und Lichtintensitätsoptimum des Wachstums. Die energetische Konvertierung

von Licht in Speicherstoffen wurde somit induziert, wenn die Bildung von Biomasse maximiert ist und weiterhin überschüssige Energie aus der Lichtreaktion zur Verfügung stand.

Um das Prozessverständnis der Freilandkultivierungen zu verbessern und die Erkenntnisse aus den Laborexperimenten auf Freilandexperimente zu übertragen, wurde das erstellte Wachstumsmodell durch eine Lichtsimulation erweitert. Dadurch war es möglich, den Lichteintrag auf die Reaktoroberfläche in Bezug auf die gemessene Lichtintensität und den berechneten Sonnenstand zu simulieren. Die Integration der licht- und temperaturabhängigen Wachstumsraten über die Reaktortiefe und -höhe lieferte die erforderlichen Variablen, um die Biomassebildung zu beschreiben. Die Validierung der Messdaten belegte, dass ein kurzzeitiger Hitzestress zu einer Adaption des Organismus an höhere Kultivierungstemperaturen führte. Diese Anpassungsvorgänge erklärten somit die nahezu identischen zeitlichen Verläufe der Biomassekonzentration bei den gekühlten und den ungekühlten Reaktoren. Bei ausreichendem Gehalt an Speicherstoffen war die Bildung neuer Biomasse auch in der Nachtphase möglich.

Zur Steigerung des energetischen Wirkungsgrades solcher Kultivierungen, müssen die o.g. physiologischen Vorgänge weiter untersucht und das Modell um diese Parameter erweitert werden. Bei der Betrachtung einer maximalen Produktausbeute von Speicherstoffen ist zudem ein Verständnis der Adaptionmechanismen wie auch der metabolischen Stoffflüsse erforderlich. Auch der Einfluss der Reaktorsysteme auf die Effizienz des Prozesses muss berücksichtigt werden. Insbesondere können standortspezifische Vergleichskultivierungen dazu beitragen, den optimalen Standort und das effizienteste Kultivierungssystem für ein spezifisches Produkt zu identifizieren. Die Berücksichtigung verschiedenster Parameter bei der Reaktorentwicklung und Auslegung von Anlagen wird zukünftig zu deutlichen Effizienzsteigerungen beitragen.

Abstract

Microalgae are a promising and sustainable feedstock for a diverse range of processes and contain several commercially exploitable substances, such as fatty acids, proteins and pigments. Large-scale outdoor cultivations have already been performed. Light intensity and temperature are the most important process parameters. In currently available reactor systems the economic and ecologic efficiency is particularly reduced by energetic costs for temperature control and high operating costs. Many reactor systems were developed to improve the challenges of illumination and tempering. Raceway ponds, flat-plate-reactors as well as tubular reactors are established standard cultivation systems.

Due to differing geographical and climatic environments it is difficult to compare different photobioreactors. The erection of the Solar Biofuels Research Centre (SBRC) in Brisbane facilitated the evaluation of different photobioreactors under identical conditions for the first time. By the standardization of the illumination/footprint ratio it was possible to identify the reactor specific characteristics of light input and light distribution on the microalgae growth behavior. In addition a flexible infrastructure was set up, which allows simultaneous controlling and monitoring of several important process parameters of different reactors. With respect to cost optimization a process control system was developed to adapt the carbon dioxide supply to the current demand of the microalgae culture. The carbon dioxide uptake is light-dependent and induces a pH shift. Therefore, the pH-signal was used as the measured variable for a PI-controller. To avoid any growth limitations the basic partial pressure of carbon dioxide in the gas supply was set to 0.5 %. In consequence, the carbon dioxide consumption was reduced to 70 % in comparison with a culture with 5 % partial pressure without any negative impact on biomass productivity. Moreover, by recycling the carbon dioxide rich off-gas it was possible to decrease the carbon dioxide demand by maximum 40 %. To achieve controllable conditions a central cooling water supply system was established. A mathematical model was set up to dimension the peripheral facilities taking into consideration that the required cooling power depends on location of the plant, day time and season. Data of the cooling demand supported the mathematical model. Outdoor plants are also subjected to the location-specific climate. In order to protect reactors and facilities against wind forces analysis were performed and resulted in a shifting of the center of mass. Thus, sufficient wind

stability could be guaranteed. Furthermore, standard operating procedures as well as HAZOP-studies were conducted to provide for a safely and efficiently operating

In addition the scientific comparability of the reactors the pilot plant should also provide conditions similar to future production facilities. The mutual shading of reactors was therefore taken into account and the reactors systems were surrounded by reactor dummies. In contact with a standardized illumination/footprint ratio growth behavior could only be attributed to the reactor specific light input and the resulting light distribution. In a direct comparison of Raceway ponds, flat-plate reactors and tubular reactors the influence of the geometric differences on biomass productivity became apparent. Cultivating under the provided process conditions *Chlorella sorokiniana* in Flat-Plate reactors achieved the highest average area productivities (20 g/m²/d). Furthermore, the correlation between volumetric productivity and surface to volume ratio was identified. An increase in this ratio enhanced the light distribution in the cultivation system and resulted in higher volumetric productivity. However, a high illumination area increased the heat exchange with the environment and entails high temperature dependence. As a consequence the efficiency of the process decreased.

The influence of temperature on biomass productivity in cultivations of the microalgae *Chlorella vulgaris* was in the scope of further investigations. Therefore, outdoor experiments were conducted in flat-plate-reactors whilst different temperature control strategies were applied. Biomass productivity showed no significant difference when temperature-controlled and non-cooled cultivations were compared. Subsequent validations have been shown, that for temperature adaptation physiological mechanisms had to be present in the organism. In order to reduce the requirement of auxiliary energy for cooling reactors were equipped with infrared reflecting foils the cooling demand was reduced about 36 % compared to an experiment without any measure to control temperature. Because of light reflection on the infrared foil there was lower biomass productivity compared to the cooled reactor. However the efficiency – ratio of produced biomass to input energy – of the cultivation could be improved and was increased up to 25 %. In processes without temperature control the energy balance could be also increased significantly and resulted in a positive energy balance up to 171 %. Thus, the energy efficiency is mainly influenced by the demand of energy for tempering. Further experiments were conducted in order to evaluate how the characteristics of the ground surface affect the biomass productivity. Therefore the absorption and reflection properties of the ground surface were studied in parallel experiments. The application of a reflecting ground

surface led to an increase in the photo conversion efficiency (PCE) of about 13 %, whereas a light-absorbing surface reduced the PCE about 22 % in comparison to a white reference surface.

For a better understanding of the influence of light and temperature on growth behavior of *Chlorella vulgaris* these parameters were also examined in reproducible lab-scale experiments. Temperature and light kinetics at different cultivation temperatures were integrated into a mathematical model to describe the dependence of the growth of *Chlorella vulgaris* with respect to illuminance and temperature. The maximum specific growth rates at light-saturated conditions as well as light harvesting efficiency at non-saturating conditions are temperature-dependent. The optimum cultivation conditions for *Chlorella vulgaris* were at 25 °C and at a light intensity of 75 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. The specific starch content – starch serves as a storing substance for energy inside the cell – correlated with the growth behavior and had a minimum in the temperature- and light-optimum of the growth. The energetic conversion of light to energy storage is therefore induced, when the synthesis of biomass is developed to its maximum and excess energy of the light reaction is still available.

To improve the understanding of Outdoor-cultivations and to transfer the insights of lab-scale experiments to pilot-scale a light simulation was integrated into the existing growth model. Therewith, it was possible to simulate the light input onto the reactor surface with regard to the measured light intensities and the calculated altitude of the sun. The integration of light- and temperature-dependent growth rates over the reactor depth and height provided the needed variables to enable simulation of the biomass syntheses. The obtained data showed that a short-term heat stress induced the adaption of the organism to higher cultivation temperatures. These adaption processes could explain the almost identical trends in biomass production in cooled and non-cooled reactors. Availability of sufficient energy storage compounds enables the syntheses of new biomass during nighttime as well.

To increase the energy efficiency of cultivations the physiological processes mentioned above require further examination and the growth model has to be extended to these parameters. With respect to a maximum yield of metabolic storage substances a profound understanding of the adaption mechanisms as well as the metabolic fluxes are required. The influence of the reactor systems on process efficiency also has to be taken into account. In particular site specific comparative cultivations can help to identify optimum locations and reactor systems

for a selected product. To take all the mentioned parameters into consideration will lead to an increase in efficiency of photobiotechnological processes.

7 Literaturverzeichnis

- [1] R. Bosma, J. de Vree, P. Slegers, M. Janssen, R. Wijffels, M. Barbosa. 2014. Design and construction of the microalgal pilot facility AlgaePARC. *Algal Research*, **6**, 160-169.
- [2] B. f. W. u. Energie. *Das Erneuerbare-Energien-Gesetz*. 2015
[http://www.erneuerbareenergien.de/EE/Navigation/DE/Gesetze/Das_EEG/das_eeg.html].
- [3] N. Bundesministerium für Umwelt, Bau und Reaktorsicherheit. *Internationale Klimaschutzinitiative (IKI)*. 2015
[<http://www.international-climate-initiative.com/de/ueber-die-iki/foerderinstrument-iki/>].
- [4] N. Bundesministerium für Umwelt, Bau und Reaktorsicherheit. *Internationale Klimapolitik*. 2015
[<http://www.bmub.bund.de/themen/klima-energie/klimaschutz/internationale-klimapolitik/>].
- [5] W. Schug. 2009. Die Entwicklung der Weltbevölkerung und die globale Nahrungsmittelversorgung. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, **4**(1), 44-51.
- [6] K. Von Koerber, J. Kretschmer, S. Prinz, E. Dasch. 2009. Globale Nahrungssicherung für eine wachsende Weltbevölkerung—Flächenbedarf und Klimarelevanz sich wandelnder Ernährungsgewohnheiten. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, **4**(2), 174-189.
- [7] N. S. Lewis, D. G. Nocera. 2006. Powering the planet: Chemical challenges in solar energy utilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**(43), 15729-15735.
- [8] R. E. Blankenship, D. M. Tiede, J. Barber, G. W. Brudvig, G. Fleming, M. Ghirardi, M. Gunner, W. Junge, D. M. Kramer, A. Melis. 2011. Comparing photosynthetic and photovoltaic efficiencies and recognizing the potential for improvement. *science*, **332**(6031), 805-809.
- [9] M. Hambourger, G. F. Moore, D. M. Kramer, D. Gust, A. L. Moore, T. A. Moore. 2009. Biology and technology for photochemical fuel production. *Chemical Society Reviews*, **38**(1), 25-35.
- [10] A. Singh, P. S. Nigam, J. D. Murphy. 2011. Renewable fuels from algae: an answer to debatable land based fuels. *Bioresource technology*, **102**(1), 10-16.
- [11] B. d. d. B. e.V. *Teller, Tank und Tatsachen - Biokraftstoff in der Diskussion*. 2015
[http://www.bdbe.de/files/7213/2100/3458/Teller_Tank_und_Tatsachen.pdf].

-
- [12] L. Schiffer, H. Gutte, B. Meyer. 2014. Ausgewählte Aspekte der Rohstoffgewinnung– Ein Vergleich zwischen Braunkohle und nachwachsenden Rohstoffen. *Chemie Ingenieur Technik*, **86**(10), 1690-1695.
- [13] A. Jacobi. 2013. Optimierung der Lichtverteilung in Photobioreaktoren - potenziale "Antennen-reduzierter" Mikroalgen-Mutanten als biologischer Ansatz und transparenter Schwammstrukturen als technisches Konzept. *Verlag Dr. Hut*.
- [14] M. Ragan. 1998. On the delineation and higher-level classification of algae. *European Journal of Phycology*, **33**(1), 1-15.
- [15] T. J. Entwistle, J. Huisman. 1998. Algal systematics in Australia. *Australian Systematic Botany*, **11**(2), 203-214.
- [16] J. M. Huisman, G. W. Saunders. 2007. Phylogeny and classification of the algae. *Algae of Australia: Introduction*. ABRS, Canberra, CSIRO Publishing, Melbourne, 66-103.
- [17] A. Richmond. 2008. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. *John Wiley & Sons*.
- [18] H. Cypionka. 2010. Grundlagen der Mikrobiologie. *Springer*.
- [19] L. E. Graham, J. M. Graham, L. W. Wilcox. 2009. Algae. *Benjamin Cummings*.
- [20] R. E. Lee. 2008. Phycology. *Cambridge University Press*.
- [21] H. G. Schlegel, T. Eitinger, G. Fuchs. 2007. Allgemeine Mikrobiologie. *Georg Thieme Verlag*.
- [22] J. A. Raven, J. F. Allen. 2003. Genomics and chloroplast evolution: what did cyanobacteria do for plants. *Genome Biol*, **4**(3), 209.
- [23] Y. Liang, N. Sarkany, Y. Cui. 2009. Biomass and lipid productivities of *Chlorella vulgaris* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions. *Biotechnology letters*, **31**(7), 1043-1049.
- [24] N. Nelson, A. Ben-Shem. 2004. The complex architecture of oxygenic photosynthesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **5**(12), 971-982.
- [25] P. Horton, A. Ruban. 2005. Molecular design of the photosystem II light-harvesting antenna: photosynthesis and photoprotection. *Journal of experimental botany*, **56**(411), 365-373.
- [26] F. C. Rubio, F. G. Camacho, J. Sevilla, Y. Chisti, E. M. Grima. 2003. A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, **81**(4), 459-473.
- [27] J. M. Berg, J. L. Tymoczko. 2012. Stryer Biochemie. *Spektrum*.

-
- [28] H. K. Lichtenthaler, C. Buschmann. 2001. Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*.
- [29] J.-D. Rochaix. 2011. Regulation of photosynthetic electron transport. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, **1807**(3), 375-383.
- [30] M. F. Hohmann-Marriott, R. E. Blankenship. 2011. Evolution of photosynthesis. *Annual review of plant biology*, **62**, 515-548.
- [31] M. Yoshida, E. Muneyuki, T. Hisabori. 2001. ATP synthase - a marvellous rotary engine of the cell. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **2**(9), 669-677.
- [32] M. Chen, R. E. Blankenship. 2011. Expanding the solar spectrum used by photosynthesis. *Trends in Plant Science*, **16**(8), 427-431.
- [33] C. A. Raines. 2003. The Calvin cycle revisited. *Photosynthesis research*, **75**(1), 1-10.
- [34] R. Dillschneider, Posten, C. 2013. Modeling the growth and lipid accumulation of microalgae as a promising feedstock for second generation biofuels. *9th European Conference of Chemical Engineering - 2nd European Congress of Applied Biotechnology, Den Haag, Netherlands*.
- [35] M. R. Tredici. 2010. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. *Biofuels*, **1**(1), 143-162.
- [36] J. A. Raven, R. J. Geider. 2003. Adaptation, acclimation and regulation in algal photosynthesis. In: *Photosynthesis in algae*, Springer, 385-412.
- [37] Z. Dubinsky, P. G. Falkowski, A. F. Post, U. M. van Hes. 1987. A system for measuring phytoplankton photosynthesis in a defined light field with an oxygen electrode. *Journal of plankton research*, **9**(4), 607-612.
- [38] B. Genty, J.-M. Briantais, N. R. Baker. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, **990**(1), 87-92.
- [39] R. Dillschneider. 2014. Die Effizienz der Kultivierung von Mikroalgen zur Biodiesलगewinnung-Prozessentwicklung auf der Grundlage von Energiebilanzierung, Simulation und Integration modellprädiktiver Regelungskonzepte, Karlsruhe, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Diss., 2014.
- [40] N. Choudhury, R. Behera. 2001. Photoinhibition of photosynthesis: role of carotenoids in photoprotection of chloroplast constituents. *Photosynthetica*, **39**(4), 481-488.
- [41] N. Bukhov. 2004. Dynamic light regulation of photosynthesis (A review). *Russian Journal of Plant Physiology*, **51**(6), 742-753.
- [42] R. Goss, T. Jakob. 2010. Regulation and function of xanthophyll cycle-dependent photoprotection in algae. *Photosynthesis research*, **106**(1-2), 103-122.

-
- [43] S. Eberhard, G. Finazzi, F.-A. Wollman. 2008. The dynamics of photosynthesis. *Annual review of genetics*, **42**, 463-515.
- [44] H. L. MacIntyre, T. M. Kana, T. Anning, R. J. Geider. 2002. Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria. *Journal of Phycology*, **38**(1), 17-38.
- [45] N. Huner, G. Öquist, F. Sarhan. 1998. Energy balance and acclimation to light and cold. *Trends in Plant Science*, **3**(6), 224-230.
- [46] J. M. Anderson, W. S. Chow, Y.-I. Park. 1995. The grand design of photosynthesis: acclimation of the photosynthetic apparatus to environmental cues. *Photosynthesis research*, **46**(1-2), 129-139.
- [47] R. Croce, H. van Amerongen. 2014. Natural strategies for photosynthetic light harvesting. *Nature chemical biology*, **10**(7), 492-501.
- [48] A. Gutu, D. M. Kehoe. 2012. Emerging perspectives on the mechanisms, regulation, and distribution of light color acclimation in cyanobacteria. *Molecular plant*, **5**(1), 1-13.
- [49] D. M. Kehoe, A. Gutu. 2006. Responding to color: the regulation of complementary chromatic adaptation. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **57**, 127-150.
- [50] K. K. Niyogi. 1999. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Annual review of plant biology*, **50**(1), 333-359.
- [51] K. K. Niyogi. 2000. Safety valves for photosynthesis. *Current opinion in plant biology*, **3**(6), 455-460.
- [52] H. Chmiel. 2011. Bioprozesstechnik. *Springer*.
- [53] R. M. Daniel, M. J. Danson. 2013. Temperature and the catalytic activity of enzymes: A fresh understanding. *FEBS letters*, **587**(17), 2738-2743.
- [54] M. Peterson, R. Daniel, M. Danson, R. Eisinger. 2007. The dependence of enzyme activity on temperature: determination and validation of parameters. *Biochem. J*, **402**, 331-337.
- [55] P. D. Laible, R. S. Knox, T. G. Owens. 1998. Detailed balance in Förster-Dexter excitation transfer and its application to photosynthesis. *The Journal of Physical Chemistry B*, **102**(9), 1641-1648.
- [56] N. Huner, D. Maxwell, G. Gray, L. Savitch, M. Krol, A. Ivanov, S. Falk. 1996. Sensing environmental temperature change through imbalances between energy supply and energy consumption: redox state of photosystem II. *Physiologia Plantarum*, **98**(2), 358-364.
- [57] M. Ras, J.-P. Steyer, O. Bernard. 2013. Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, **12**(2), 153-164.

-
- [58] R. F. Sage, D. S. Kubien. 2007. The temperature response of C₃ and C₄ photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*, **30**(9), 1086-1106.
- [59] R. M. Morgan-Kiss, J. C. Priscu, T. Pockock, L. Gudynaite-Savitch, N. P. Huner. 2006. Adaptation and acclimation of photosynthetic microorganisms to permanently cold environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **70**(1), 222-252.
- [60] S. I. Allakhverdiev, V. D. Kreslavski, V. V. Klimov, D. A. Los, R. Carpentier, P. Mohanty. 2008. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynthesis research*, **98**(1-3), 541-550.
- [61] M. Giordano, J. Beardall, J. A. Raven. 2005. CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **56**, 99-131.
- [62] J. Beardall, A. Quigg, J. A. Raven. 2003. Oxygen consumption: photorespiration and chlororespiration. In: *Photosynthesis in algae*, Springer, 157-181.
- [63] A. Wingler, P. J. Lea, W. P. Quick, R. C. Leegood. 2000. Photorespiration: metabolic pathways and their role in stress protection. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **355**(1402), 1517-1529.
- [64] M. R. Badger, G. D. Price. 2003. CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution. *Journal of experimental botany*, **54**(383), 609-622.
- [65] J. Beardall, A. Johnston, J. Raven. 1998. Environmental regulation of CO₂-concentrating mechanisms in microalgae. *Canadian journal of botany*, **76**(6), 1010-1017.
- [66] A. Kaplan, L. Reinhold. 1999. CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic microorganisms. *Annual review of plant biology*, **50**(1), 539-570.
- [67] J. V. Moroney, A. Somanchi. 1999. How do algae concentrate CO₂ to increase the efficiency of photosynthetic carbon fixation? *Plant Physiology*, **119**(1), 9-16.
- [68] A. Jacobi, C. Steinweg, R. R. Sastre, C. Posten. 2012. Advanced photobioreactor LED illumination system: Scale-down approach to study microalgal growth kinetics. *Engineering in Life Sciences*, **12**(6), 621-630.
- [69] J. U. Grobbelaar. 2010. Microalgal biomass production: challenges and realities. *Photosynthesis research*, **106**(1-2), 135-144.
- [70] K.-H. Park, C.-G. Lee. 2000. Optimization of algal photobioreactors using flashing lights. *Biotechnology and bioprocess engineering*, **5**(3), 186-190.
- [71] N. Yoshimoto, T. Sato, Y. Kondo. 2005. Dynamic discrete model of flashing light effect in photosynthesis of microalgae. *Journal of Applied Phycology*, **17**(3), 207-214.

-
- [72] A. Dickson, F. Millero. 1987. A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, **34**(10), 1733-1743.
- [73] R. E. Zeebe, D. Wolf-Gladrow. 2001. CO₂ in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes: Equilibrium, Kinetics, Isotopes. *Elsevier*.
- [74] F. C. Rubio, F. Fernandez, J. Perez, F. G. Camacho, E. M. Grima. 1999. Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. *Biotechnology and Bioengineering*, **62**(1), 71-86.
- [75] M. Berenguel, F. Rodriguez, F. Ación, J. Garcia. 2004. Model predictive control of pH in tubular photobioreactors. *Journal of Process Control*, **14**(4), 377-387.
- [76] F. Garcia Camacho, A. Contreras Gómez, F. Ación Fernández, J. Fernández Sevilla, E. Molina Grima. 1999. Use of concentric-tube airlift photobioreactors for microalgal outdoor mass cultures. *Enzyme and microbial technology*, **24**(3), 164-172.
- [77] T. Beier, P. Wurl. 2013. Regelungstechnik: Basiswissen, Grundlagen, Anwendungsbeispiele. *Hanser Fachbuchverlag*.
- [78] P. F. Orłowski. 2007. Praktische Regeltechnik: anwendungsorientierte Einführung für Maschinenbauer und Elektrotechniker; mit 16 Tabellen. *Springer*.
- [79] X.-G. Zhu, S. P. Long, D. R. Ort. 2008. What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass? *Current opinion in biotechnology*, **19**(2), 153-159.
- [80] C. Wilhelm, T. Jakob. 2011. From photons to biomass and biofuels: evaluation of different strategies for the improvement of algal biotechnology based on comparative energy balances. *Applied microbiology and biotechnology*, **92**(5), 909-919.
- [81] C. Posten. 2009. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Engineering in Life Sciences*, **9**(3), 165-177.
- [82] M. C. Flickinger, S. W. Drew. 1999. The encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis, and bioseparation. *John Wiley*.
- [83] P. Carlozzi. 2003. Dilution of solar radiation through “culture” lamination in photobioreactor rows facing south–north: a way to improve the efficiency of light utilization by cyanobacteria (*Arthrospira platensis*). *Biotechnology and Bioengineering*, **81**(3), 305-315.
- [84] P. Carlozzi. 2000. Hydrodynamic aspects and *Arthrospira* growth in two outdoor tubular undulating row photobioreactors. *Applied microbiology and biotechnology*, **54**(1), 14-22.
- [85] J. Degen, A. Uebele, A. Retze, U. Schmid-Staiger, W. Trösch. 2001. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. *Journal of Biotechnology*, **92**(2), 89-94.

-
- [86] M. Janssen, J. Tramper, L. R. Mur, R. H. Wijffels. 2003. Enclosed outdoor photobioreactors: light regime, photosynthetic efficiency, scale-up, and future prospects. *Biotechnology and Bioengineering*, **81**(2), 193-210.
- [87] E. M. Radmann, C. O. Reinehr, J. A. V. Costa. 2007. Optimization of the repeated batch cultivation of microalga *Spirulina platensis* in open raceway ponds. *Aquaculture*, **265**(1), 118-126.
- [88] C. O. Reinehr, J. A. V. Costa. 2006. Repeated batch cultivation of the microalga *Spirulina platensis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **22**(9), 937-943.
- [89] I. S. Suh, S. B. Lee. 2001. Cultivation of a cyanobacterium in an internally radiating air-lift photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*, **13**(4), 381-388.
- [90] M. Morweiser, O. Kruse, B. Hankamer, C. Posten. 2010. Developments and perspectives of photobioreactors for biofuel production. *Applied microbiology and biotechnology*, **87**(4), 1291-1301.
- [91] A. P. Carvalho, L. A. Meireles, F. X. Malcata. 2006. Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances. *Biotechnology progress*, **22**(6), 1490-1506.
- [92] N. T. Eriksen. 2008. The technology of microalgal culturing. *Biotechnology letters*, **30**(9), 1525-1536.
- [93] A. M. Kunjapur, R. B. Eldridge. 2010. Photobioreactor design for commercial biofuel production from microalgae. *Industrial & engineering chemistry research*, **49**(8), 3516-3526.
- [94] C. Posten, C. Walter. 2012. Microalgal biotechnology: potential and production. *Walter de Gruyter*.
- [95] O. Pulz. 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied microbiology and biotechnology*, **57**(3), 287-293.
- [96] O. Pulz, K. Scheibenbogen. 1998. Photobioreactors: design and performance with respect to light energy input. In: *Bioprocess and algae reactor technology, apoptosis*, Springer, 123-152.
- [97] B. Wang, C. Q. Lan, M. Horsman. 2012. Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. *Biotechnology advances*, **30**(4), 904-912.
- [98] Y. Chisti. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology advances*, **25**(3), 294-306.
- [99] C. Ugwu, H. Aoyagi, H. Uchiyama. 2008. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource technology*, **99**(10), 4021-4028.
- [100] R. Hase, H. Oikawa, C. Sasao, M. Morita, Y. Watanabe. 2000. Photosynthetic production of microalgal biomass in a raceway system under greenhouse conditions in Sendai city. *Journal of bioscience and bioengineering*, **89**(2), 157-163.

-
- [101] O. Jorquera, A. Kiperstok, E. A. Sales, M. Embiruçu, M. L. Ghirardi. 2010. Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors. *Bioresource technology*, **101**(4), 1406-1413.
- [102] Y.-K. Lee. 2001. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*, **13**(4), 307-315.
- [103] M. R. Tredici, G. C. Zittelli. 1998. Efficiency of sunlight utilization: tubular versus flat photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering*, **57**(2), 187-197.
- [104] G. Chini Zittelli, L. Rodolfi, N. Biondi, M. R. Tredici. 2006. Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of *Tetraselmis suecica* in annular columns. *Aquaculture*, **261**(3), 932-943.
- [105] P. Bergmann, P. Ripplinger, L. Beyer, W. Trösch. 2013. Disposable flat panel airlift photobioreactors. *Chemie Ingenieur Technik*, **85**(1-2), 202-205.
- [106] P. Schlagermann, G. Göttlicher, R. Dillschneider, R. Rosello-Sastre, C. Posten. 2012. Composition of algal oil and its potential as biofuel. *Journal of Combustion*, **2012**.
- [107] C. Posten, C. Walter. 2012. Microalgal biotechnology: Integration and economy. *Walter de Gruyter*.
- [108] J. Dunjón, V. Fthenakis, J. A. Vélchez, J. Arnaldos. 2010. Hazard and operability (HAZOP) analysis. A literature review. *Journal of hazardous materials*, **173**(1), 19-32.
- [109] C. Swann, M. Preston. 1995. Twenty-five years of HAZOPs. *Journal of loss prevention in the Process Industries*, **8**(6), 349-353.
- [110] J. Seyfabadi, Z. Ramezani, Z. A. Khoeyi. 2011. Protein, fatty acid, and pigment content of *Chlorella vulgaris* under different light regimes. *Journal of Applied Phycology*, **23**(4), 721-726.
- [111] V. A. Huss, C. Frank, E. C. Hartmann, M. Hirmer, A. Kloboucek, B. M. Seidel, P. Wenzeler, E. Kessler. 1999. Biochemical taxonomy and molecular phylogeny of the genus *Chlorella sensu lato* (Chlorophyta). *Journal of Phycology*, **35**(3), 587-598.
- [112] G. Jakob, J. Wolf, T. V. Bui, C. Posten, O. Kruse, E. Stephens, I. L. Ross, B. Hankamer. 2013. Surveying a Diverse Pool of Microalgae as a Bioresource for Future Biotechnological Applications. *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*, **4**(5).
- [113] D. S. Gorman, R. Levine. 1965. Cytochrome f and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **54**(6), 1665.
- [114] S. Hutner, L. Provasoli, A. Schatz, C. Haskins. 1950. Some approaches to the study of the role of metals in the metabolism of microorganisms. *Proceedings of the American Philosophical Society*, 152-170.

-
- [115] E. H. Harris, D. B. Stern, G. Witman. 2009. The chlamydomonas sourcebook.
- [116] R. Dillschneider, C. Steinweg, R. Rosello-Sastre, C. Posten. 2013. Biofuels from microalgae: Photoconversion efficiency during lipid accumulation. *Bioresource technology*, **142**, 647-654.
- [117] J. E. Hedge, B. T. Hofreiter. 1962. Carbohydrate Chemistry. In: *Carbohydrate Chemistry*, (Eds.) W. R. L. and M. J. N., Academic Press. New York, 1-19.
- [118] K. Zulkowsky. 1880. Verhalten der Stärke gegen Glycerin. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **13**(2), 1395-1398.
- [119] M. M. Bradford. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, **72**(1), 248-254.
- [120] H. Wagner, Z. Liu, U. Langner, K. Stehfest, C. Wilhelm. 2010. The use of FTIR spectroscopy to assess quantitative changes in the biochemical composition of microalgae. *Journal of biophotonics*, **3**(8-9), 557-566.
- [121] Y. Han, Q. Wen, Z. Chen, P. Li. 2011. Review of methods used for microalgal lipid-content analysis. *Energy Procedia*, **12**, 944-950.
- [122] A. P. Dean, D. C. Sigee, B. Estrada, J. K. Pittman. 2010. Using FTIR spectroscopy for rapid determination of lipid accumulation in response to nitrogen limitation in freshwater microalgae. *Bioresource technology*, **101**(12), 4499-4507.
- [123] H. Wagner, S. Dunker, Z. Liu, C. Wilhelm. 2013. Subcommunity FTIR-spectroscopy to determine physiological cell states. *Current opinion in biotechnology*, **24**(1), 88-94.
- [124] M. S. Chauton, O. I. Optun, T. F. Bathen, Z. Volent, I. S. Gribbestad, G. Johnsen. 2003. HR MAS ¹H NMR spectroscopy analysis of marine microalgal whole cells.
- [125] M. S. Chauton, T. R. Størseth, G. Johnsen. 2003. High-resolution magic angle spinning ¹H NMR analysis of whole cells of *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae): Broad range analysis of metabolic composition and nutritional value. *Journal of Applied Phycology*, **15**(6), 533-542.
- [126] G. Nuzzo, C. Gallo, G. d'Ippolito, A. Cutignano, A. Sardo, A. Fontana. 2013. Composition and Quantitation of Microalgal Lipids by ERETIC ¹H NMR Method. *Marine drugs*, **11**(10), 3742-3753.
- [127] J. L. Ward, C. Harris, J. Lewis, M. H. Beale. 2003. Assessment of ¹H NMR spectroscopy and multivariate analysis as a technique for metabolite fingerprinting of *Arabidopsis thaliana*. *Phytochemistry*, **62**(6), 949-957.
- [128] W. Zhang, N. G. Tan, S. F. Li. 2014. NMR-based metabolomics and LC-MS/MS quantification reveal metal-specific tolerance and redox homeostasis in *Chlorella vulgaris*. *Molecular BioSystems*, **10**(1), 149-160.
- [129] ASTM. *ASTM G173-03*. 2012.

-
- [130] W. Lewis, W. Whitman. 1924. Principles of gas absorption. *Industrial & Engineering Chemistry*, **16**(12), 1215-1220.
- [131] W. Storhas. 1994. Bioreaktoren und periphere Einrichtungen. *Vieweg, Braunschweig*.
- [132] J. J. Carroll, J. D. Slupsky, A. E. Mather. 1991. The solubility of carbon dioxide in water at low pressure. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, **20**(6), 1201-1209.
- [133] T. Edwards, G. Maurer, J. Newman, J. Prausnitz. 1978. Vapor-liquid equilibria in multicomponent aqueous solutions of volatile weak electrolytes. *AIChE Journal*, **24**(6), 966-976.
- [134] D. Fylstra, L. Lasdon, J. Watson, A. Waren. 1998. Design and use of the Microsoft Excel Solver. *Interfaces*, **28**(5), 29-55.
- [135] E. Sierra, F. Acien, J. Fernandez, J. Garcia, C. Gonzalez, E. Molina. 2008. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*, **138**(1), 136-147.
- [136] P. Talbot, M. Gortares, R. Lencki, J. De la Noüe. 1991. Absorption of CO₂ in algal mass culture systems: A different characterization approach. *Biotechnology and Bioengineering*, **37**(9), 834-842.
- [137] E. L. Cussler. 2009. Diffusion: mass transfer in fluid systems. *Cambridge university press*.
- [138] R.-K. Tan, W. Eberhard, J. Büchs. 2011. Measurement and characterization of mixing time in shake flasks. *Chemical Engineering Science*, **66**(3), 440-447.
- [139] R. Biener, A. Steinkämper, J. Hofmann. 2010. Calorimetric control for high cell density cultivation of a recombinant *Escherichia coli* strain. *Journal of Biotechnology*, **146**(1), 45-53.
- [140] L. Regestein, H. Giese, M. Zavrel, J. Büchs. 2013. Comparison of two methods for designing calorimeters using stirred tank reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, **110**(1), 180-190.
- [141] R. Dillschneider, C. Posten. 2013. A linear programming approach for modeling and simulation of growth and lipid accumulation of *phaeodactylum tricornutum*. *Energies*, **6**(10), 5333-5356.
- [142] J. C. Ogonna, H. Tanaka. 1996. Night biomass loss and changes in biochemical composition of cells during light/dark cyclic culture of *Chlorella pyrenoidosa*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, **82**(6), 558-564.
- [143] G. Torzillo, A. Sacchi, R. Materassi. 1991. Temperature as an important factor affecting productivity and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors. *Bioresource technology*, **38**(2), 95-100.

-
- [144] W. YAN, L. Hunt. 1999. An equation for modelling the temperature response of plants using only the cardinal temperatures. *Annals of Botany*, **84**(5), 607-614.
- [145] A. Dauta, J. Devaux, F. Piquemal, L. Boumnic. 1990. Growth rate of four freshwater algae in relation to light and temperature. *Hydrobiologia*, **207**(1), 221-226.
- [146] J. F. Coles, R. C. Jones. 2000. Effect of temperature on photosynthesis-light response and growth of four phytoplankton species isolated from a tidal freshwater river. *Journal of Phycology*, **36**(1), 7-16.
- [147] I. R. Davison. 1991. Environmental effects on algal photosynthesis: temperature. *Journal of Phycology*, **27**(1), 2-8.
- [148] R. J. Geider. 1987. Light and temperature dependence of the carbon to chlorophyll a ratio in microalgae and cyanobacteria: implications for physiology and growth of phytoplankton. *New Phytologist*, 1-34.
- [149] S. Jodłowska, A. Latała. 2013. Combined effects of light and temperature on growth, photosynthesis, and pigment content in the mat-forming cyanobacterium *Geitlerinema amphibium*. *Photosynthetica*, **51**(2), 202-214.
- [150] M. M. Tilzer, W. W. Gieskes, B. Beese. 1986. Light-temperature interactions in the control of photosynthesis in Antarctic phytoplankton. *Polar biology*, **5**(2), 105-111.
- [151] D. P. Maxwell, S. Falk, C. G. Trick, N. P. Huner. 1994. Growth at low temperature mimics high-light acclimation in *Chlorella vulgaris*. *Plant Physiology*, **105**(2), 535-543.
- [152] *Landkartenindex*. 2015
[<http://www.landkartenindex.de/kostenlos/?cat=188&paged=3>].
- [153] B. f. M. Australien. 2014.
[www.bom.gov.au].
- [154] D. I. f. Normung. 2005. DIN-Norm 1055-4.
- [155] D. Halliday, R. Resnick, J. Walker. 2009. Halliday Physik. 2., überarbeitete und ergänzte Auflage, Weinheim.
- [156] D. Wetterdienst. 2014.
[<http://www.deutscher-wetterdienst.de/lexikon/index.htm?ID=B&DAT=Beaufort-Skala>].
- [157] F. J. Marquez, K. Sasaki, N. Nishio, S. Nagai. 1995. Inhibitory effect of oxygen accumulation on the growth of *Spirulina platensis*. *Biotechnology letters*, **17**(2), 225-228.
- [158] C. Sousa, L. De Winter, M. Janssen, M. H. Vermuë, R. H. Wijffels. 2012. Growth of the microalgae *Neochloris oleoabundans* at high partial oxygen pressures and sub-saturating light intensity. *Bioresource technology*, **104**, 565-570.

-
- [159] M. R. Buehner, P. M. Young, B. Willson, D. Rausen, R. Schoonover, G. Babbitt, S. Bunch. 2009. Microalgae growth modeling and control for a vertical flat panel photobioreactor. *American Control Conference, 2009. ACC'09*. IEEE. 2301-2306.
- [160] J. García Sánchez, M. Berenguel, F. Rodriguez, J. Fernández Sevilla, C. Brindley Alias, F. Ación Fernández. 2003. Minimization of carbon losses in pilot-scale outdoor photobioreactors by model-based predictive control. *Biotechnology and Bioengineering*, **84**(5), 533-543.
- [161] Y. Chisti. 2008. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in biotechnology*, **26**(3), 126-131.
- [162] B. Guieysse, Q. Béchet, A. Shilton. 2013. Variability and uncertainty in water demand and water footprint assessments of fresh algae cultivation based on case studies from five climatic regions. *Bioresource technology*, **128**, 317-323.
- [163] C. F. Murphy, D. T. Allen. 2011. Energy-water nexus for mass cultivation of algae. *environmental science & technology*, **45**(13), 5861-5868.
- [164] A. Singh, S. I. Olsen. 2011. A critical review of biochemical conversion, sustainability and life cycle assessment of algal biofuels. *Applied Energy*, **88**(10), 3548-3555.
- [165] T. M. Mata, A. A. Martins, N. S. Caetano. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **14**(1), 217-232.
- [166] J. R. Benemann, D. M. Tillett, J. C. Weissman. 1987. Microalgae biotechnology. *Trends in biotechnology*, **5**(2), 47-53.
- [167] J. U. Grobbelaar. 2009. Factors governing algal growth in photobioreactors: the “open” versus “closed” debate. *Journal of Applied Phycology*, **21**(5), 489-492.
- [168] Q. Béchet, A. Shilton, O. B. Fringer, R. Muñoz, B. Guieysse. 2010. Mechanistic modeling of broth temperature in outdoor photobioreactors. *environmental science & technology*, **44**(6), 2197-2203.
- [169] Q. Béchet, A. Shilton, J. B. Park, R. J. Craggs, B. Guieysse. 2011. Universal temperature model for shallow algal ponds provides improved accuracy. *environmental science & technology*, **45**(8), 3702-3709.
- [170] Q. Hu, M. Sommerfeld, E. Jarvis, M. Ghirardi, M. Posewitz, M. Seibert, A. Darzins. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *The Plant Journal*, **54**(4), 621-639.
- [171] J. Pruvost, G. Van Vooren, B. Le Guoic, A. Couzinet-Mossion, J. Legrand. 2011. Systematic investigation of biomass and lipid productivity by microalgae in photobioreactors for biodiesel application. *Bioresource technology*, **102**(1), 150-158.

-
- [172] L. Rodolfi, G. Chini Zittelli, N. Bassi, G. Padovani, N. Biondi, G. Bonini, M. R. Tredici. 2009. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, **102**(1), 100-112.
- [173] F. Acién, J. Fernández, J. Magán, E. Molina. 2012. Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. *Biotechnology advances*, **30**(6), 1344-1353.
- [174] R. Bosma, M. H. Vermuë, J. Tramper, R. H. Wijffels. 2010. Towards increased microalgal productivity in photobioreactors. *International Sugar Journal*, **112**(1334), 74-85.
- [175] J. Del Campo, M. García-González, M. Guerrero. 2007. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. *Applied microbiology and biotechnology*, **74**(6), 1163-1174.
- [176] R. H. Wijffels, M. J. Barbosa, M. H. Eppink. 2010. Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, **4**(3), 287-295.
- [177] N.-H. Norsker, M. J. Barbosa, M. H. Vermuë, R. H. Wijffels. 2011. Microalgal production - A close look at the economics. *Biotechnology advances*, **29**(1), 24-27.
- [178] L. E. de-Bashan, A. Trejo, V. A. Huss, J.-P. Hernandez, Y. Bashan. 2008. *Chlorella sorokiniana* UTEX 2805, a heat and intense, sunlight-tolerant microalga with potential for removing ammonium from wastewater. *Bioresource technology*, **99**(11), 4980-4989.
- [179] Y. Kobayashi, N. Harada, Y. Nishimura, T. Saito, M. Nakamura, T. Fujiwara, T. Kuroiwa, O. Misumi. 2014. Algae sense exact temperatures: small heat shock proteins are expressed at the survival threshold temperature in *Cyanidioschyzon merolae* and *Chlamydomonas reinhardtii*. *Genome biology and evolution*, **6**(10), 2731-2740.
- [180] J. U. Grobbelaar, C. J. Soeder. 1985. Respiration losses in planktonic green algae cultivated in raceway ponds. *Journal of plankton research*, **7**(4), 497-506.
- [181] F. Han, W. Wang, Y. Li, G. Shen, M. Wan, J. Wang. 2013. Changes of biomass, lipid content and fatty acids composition under a light-dark cyclic culture of *Chlorella pyrenoidosa* in response to different temperature. *Bioresource technology*, **132**, 182-189.
- [182] M. H. Michels, J. Camacho-Rodríguez, M. H. Vermuë, R. H. Wijffels. 2014. Effect of cooling in the night on the productivity and biochemical composition of *Tetraselmis suecica*. *Algal Research*, **6**, 145-151.
- [183] Q. Béchet, A. Shilton, B. Guieysse. 2013. Modeling the effects of light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation. *Biotechnology advances*, **31**(8), 1648-1663.
- [184] K. Dürschnabel. 2012. Numerische Integration. In: *Mathematik für Ingenieure*, Springer, 351-359.

- [185] O. Bernard, B. Rémond. 2012. Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth. *Bioresource technology*, **123**, 520-527.
- [186] R. Bosma, E. van Zessen, J. H. Reith, J. Tramper, R. H. Wijffels. 2007. Prediction of volumetric productivity of an outdoor photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, **97**(5), 1108-1120.
- [187] Y. S. Yun, J. M. Park. 2003. Kinetic modeling of the light-dependent photosynthetic activity of the green microalga *Chlorella vulgaris*. *Biotechnology and Bioengineering*, **83**(3), 303-311.
- [188] M. Iqbal. 1983. An introduction to solar radiation. *Elsevier*.
- [189] P. Slegers, R. Wijffels, G. Van Straten, A. Van Boxtel. 2011. Design scenarios for flat panel photobioreactors. *Applied Energy*, **88**(10), 3342-3353.
- [190] H. Fisher, H. Gilgen. 2002. DACHRad-Berechnung der direkten Sonneneinstrahlung Deutschland, Österreich und der Schweiz. *Bulletin of the Geobotanical Institute ETH*, **9**, 68-83.
- [191] J. A. Duffie, W. A. Beckman. 2013. Solar engineering of thermal processes. *John Wiley & Sons*.

Studentische Abschlussarbeiten

Andreas Trautmann: „*Etablierung einer Online CO₂/NH₃-Regelungseinheit für Photobioreaktoren*“ (2012)

Alexander Kunz: „*Ökonomische Untersuchung der Kultivierungstemperatur auf die Produktivität der Mikroalge Chlorella vulgaris*“ (2012)

Carlos Pereira: „*Characterization of a common Outdoor Photobioreactor and Establishment of a CO₂/NH₃ control unit*“ (2012)

Eva Krolitzki: „*Towards high efficiency biomass production in photobioreactors: Investigation of microalgae physiology by IR-Spectroscopy*“ (2013)

Florian Oswald: „*Towards high efficiency biomass production in photobioreactors: The transfer of lab scale cultivation into pilot scale*“ (2013)

Florian Bär: „*Optimierung der Prozessführung von phototrophen Kultivierungen im Outdoor Betrieb*“ (2013)

Julie Wintgens: „*Examination of the effect of light intensity and temperature on the growth behavior of microalgae*“ (2013)

Christoph Krolovitsch: „*Towards high efficiency biomass production in photobioreactors: Comparison of different photobioreactors in outdoor cultivations*“ (2014)

Sophia Müller: „*Comparison of the Productivities in Outdoor Photobioreactors*“ (2014)

Felix Dietz: „*Untersuchung des Einflusses der Lichtintensität und Kultivierungstemperatur auf das Wachstumsverhalten von Mikroalgen*“ (2014)

Johannes Blaich: „*Untersuchung der Lichtintensität auf das Wachstumsverhalten von Mikroalgen bei einer Kultivierungstemperatur von 30 °C*“ (2014)

Lukas Käber: „*Vergleich der Produktivitäten von Outdoor-Photobioreaktoren unter verschiedenen Prozessbedingungen*“ (2014)

Anhang

A 1 Windlastenanalyse

Die Bestimmung der auftretenden Windkräfte erfolgte nach der DIN-Norm 1055-4 [154]. Die Flat-Plate-Reaktoren wie auch die Rohrreaktoren wurden als freistehende Wände betrachtet. Für die Rohrreaktoren wurde ein Völligkeitsgrad von 0,398 angenommen. Reaktorattrappen flankieren die Reaktorsysteme und lassen aufgrund ihrer Konstruktion nur 70 % der auftretenden der Windkräfte durch. Dadurch verringern sich die Kräfte für die Reaktoren um 30 %. Die Kalkulationen der Control-Units basieren ebenfalls auf freistehenden Wänden. Für die Drehmomentberechnung wurde der Massenschwerpunkt der einzelnen Systeme bestimmt [155] (A.1). Da es sich bei der Windlastanalyse um einen zweidimensionalen Fall handelt, reduzieren sich die Ortsvektoren auf Koordinaten.

$$\vec{r}_s = \frac{1}{\sum_i m_i} \cdot \sum_i m_i \cdot \vec{r}_i \quad (\text{A.1})$$

\vec{r}_s	Ortsvektor des Massenschwerpunktes	[m]
m_i	Massepunkt am Ortsvektor i	[kg]
\vec{r}_i	Ortsvektor	[m]

In Kombination mit dem Drehmoment der Gewichtskraft konnte eine Drehmoment-Bilanzierung (A.2) für die jeweiligen Systeme durchgeführt werden. Beim Übersteigen des Drehmoments der Windkraft gegenüber der Gewichtskraft neigt sich das System.

$$F_W \cdot h_{r_s} \geq F_G \cdot l \quad (\text{A.2})$$

F_W	auftretende Windkraft	[kg·m/s ²]
F_G	Gewichtskraft	[kg·m/s ²]
h_{r_s}	Höhe des Massenschwerpunktes	[m]

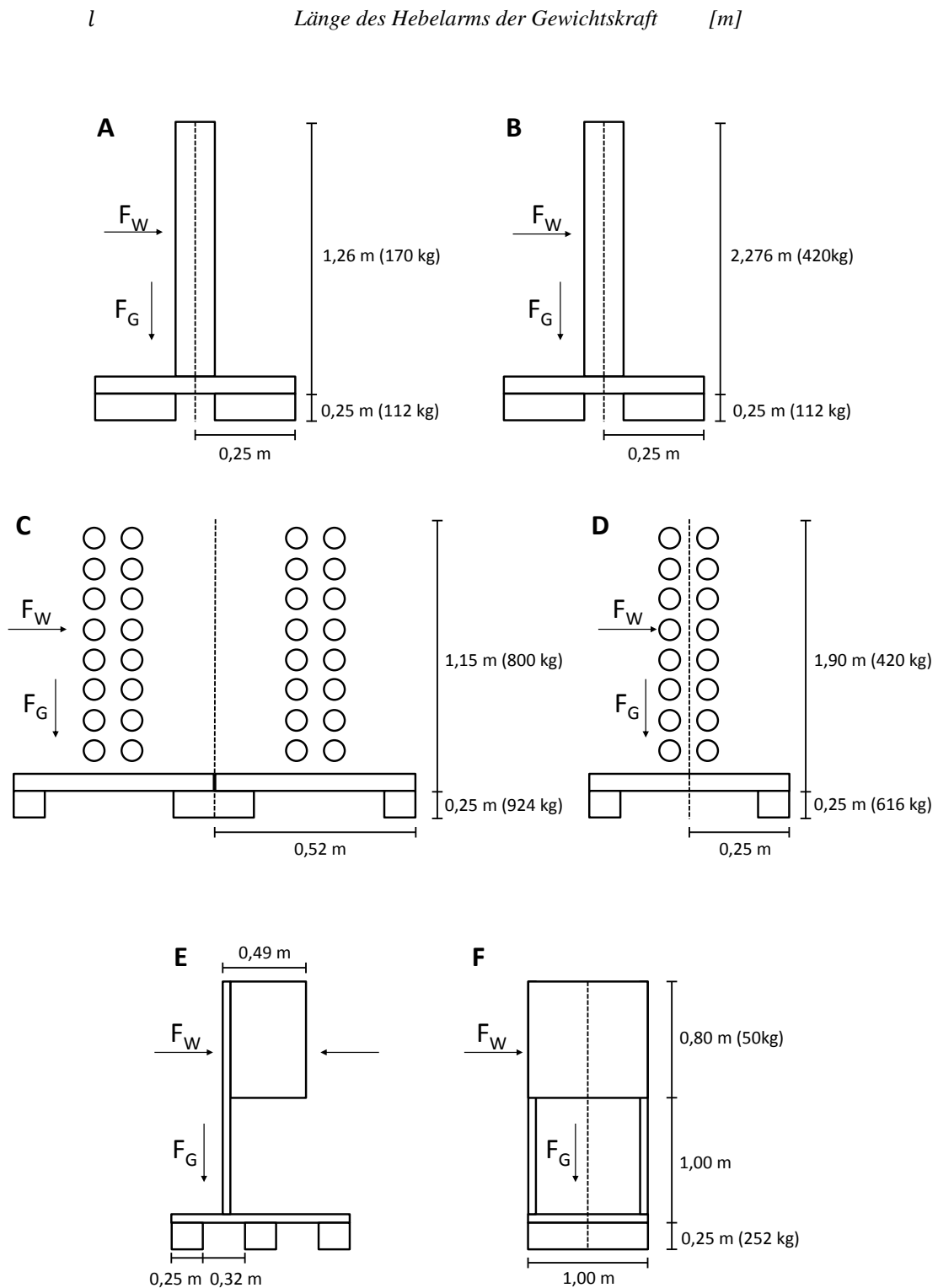


Abbildung A.1 Bemaßungen der Reaktorsysteme und der Control-Unit zur Berechnung der Windlasten. A: Flat-Plate Reaktor klein; B: Flat-Plate Reaktor groß; C: Rohrreaktor klein; D: Rohrreaktor groß; E: Control-Unit Seitenansicht; F: Control-Unit: Frontansicht

A 2 Lichtsimulation

Für die Simulation wurden folgende Annahmen getroffen:

- gesamte Sonnenstrahlung, die auf den Reaktor trifft, muss als Wärme abgeführt werden
- Reaktoren kühlen über die Nacht auf eine durchschnittliche Temperatur von 15 °C ab und erwärmen sich über den Tag bis auf 30 °C Kultivierungstemperatur
- Wärmetransport zwischen Reaktor und Umgebung wird vernachlässigt
- Strahlungsintensität bzw. Wärmestrom sind für jeden Zeitschritt konstant

Im Folgenden werden die einzelnen Gleichungen für die Bestimmung des Sonnenverlaufes, des Einstrahlwinkels auf die Reaktoroberfläche (Abbildung A.2) und der terrestrischen Strahlungsintensität dargestellt.

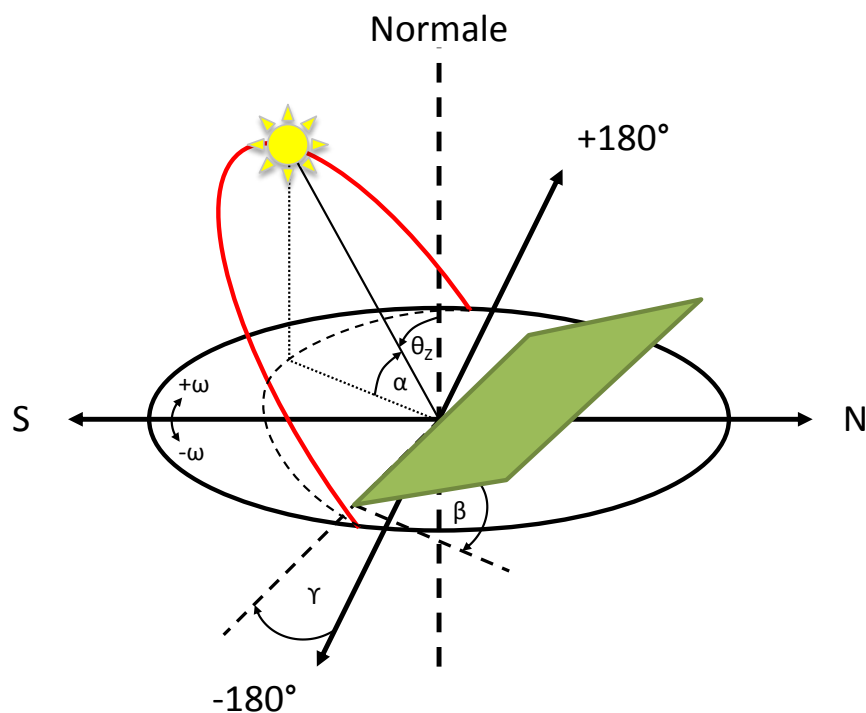


Abbildung A.2 Schematische Darstellung des Einstrahlungswinkels von Sonnenstrahlen auf eine geneigte Fläche. ω : Stundenwinkel; γ : Drehungswinkel der Fläche; β : Neigungswinkel der Fläche; α : Höhenwinkel der Sonne; θ_z : Zenitwinkel der Sonne

Bestimmung des Sonnenverlaufs

Im ersten Schritt wird der Deklinationswinkel δ der Sonne nach Iqbal bestimmt [188] (A.3).

$$\delta = 0,006918 - 0,399912 \cdot \cos(a) + 0,070257 \cdot \sin(a) - 0,00675 \cdot \cos(2a) - 0,002697 \cdot \cos(3a) + 0,00148 \cdot \sin(3a) \quad (\text{A.3})$$

$$a = \frac{(N - 1) \cdot 360^\circ}{365}$$

δ	<i>Deklinationswinkel</i>	$[^\circ]$
a	<i>Position der Erde im Orbit</i>	$[^\circ]$
N	<i>Tag im Jahr</i>	$[-]$

Ein weiterer Parameter ist der Stundenwinkel der Sonne ω , welcher auf der Sonnenzeit t_{solar} basiert und maßgeblich durch die Position auf der Erde bestimmt wird [189] (A.4).

$$\omega = \frac{15^\circ}{h} \cdot (t_{solar} - 12) \quad (\text{A.4})$$

$$t_{solar} = t + \frac{(4 \cdot (\lambda - \kappa) + e)}{60}$$

$$e = 229,2 \cdot (0,000075 + 0,001868 \cdot \cos(a) - 0,032077 \cdot \sin(a) - 0,014615 \cdot \cos(2a) - 0,04089 \cdot \sin(2a))$$

ω	<i>Stundenwinkel</i>	$[^\circ]$
λ	<i>Längengrad des Ortes</i>	$[^\circ]$
κ	<i>Meridian der Zeitzone</i>	$[^\circ]$
t	<i>Zeit</i>	$[h]$
t_{solar}	<i>Sonnenzeit</i>	$[min]$
a	<i>Position der Erde im Orbit</i>	$[^\circ]$

$$e \qquad \text{Zeitgleichung} \qquad [\text{min}]$$

Der Höhenwinkel der Sonne α ergibt sich aus den Gleichungen (A.3) und (A.4) wird mittels (A.5) berechnet [190].

$$\sin(\alpha) = \sin(\varphi) \cdot \sin(\delta) + \cos(\varphi) \cdot \cos(\delta) \cdot \cos(\omega) \quad (\text{A.5})$$

α	<i>Höhenwinkel der Sonne</i>	$[^\circ]$
φ	<i>Breitengrad des Ortes</i>	$[^\circ]$
δ	<i>Deklinationwinkel der Sonne</i>	$[^\circ]$
ω	<i>Stundenwinkel</i>	$[^\circ]$

Bestimmung des Einstrahlwinkels auf die Reaktoroberfläche

Der Einstrahlwinkel auf die jeweilige Reaktoroberfläche θ ist vom örtlichen Sonnenverlauf und von der Ausrichtung des Reaktors abhängig und kann nach Slegers [189] wie folgt bestimmt werden (A.6).

$$\begin{aligned} \cos(\theta_{front}) = & \sin(\delta) \cdot \sin(\varphi) \cdot \cos(\beta_{front}) - \sin(\delta) \cdot \cos(\beta_{front}) \cdot \\ & \cos(\gamma_{front}) + \cos(\delta) \cdot \cos(\varphi) \cdot \cos(\beta_{front}) \cdot \cos(\omega) + \cos(\delta) \cdot \\ & \sin(\varphi) \cdot \sin(\beta_{front}) \cdot \cos(\gamma_{front}) \cdot \cos(\omega) + \cos(\delta) \cdot \sin(\beta_{front}) \cdot \\ & \sin(\gamma_{front}) \cdot \sin(\omega) \end{aligned} \quad (\text{A.6})$$

$$\begin{aligned} \cos(\theta_{back}) = & \sin(\delta) \cdot \sin(\varphi) \cdot \cos(\beta_{back}) - \sin(\delta) \cdot \cos(\beta_{back}) \cdot \\ & \cos(\gamma_{back}) + \cos(\delta) \cdot \cos(\varphi) \cdot \cos(\beta_{back}) \cdot \cos(\omega) + \cos(\delta) \cdot \sin(\varphi) \cdot \\ & \sin(\beta_{back}) \cdot \cos(\gamma_{back}) \cdot \cos(\omega) + \cos(\delta) \cdot \sin(\beta_{back}) \cdot \sin(\gamma_{back}) \cdot \\ & \sin(\omega) \end{aligned}$$

$$\beta_{back} = 180 - \beta_{front}$$

$$\gamma_{back} = 180 + \gamma_{front}$$

$$\theta = \theta_{front} + \theta_{back}$$

θ_{front}	<i>Einstrahlwinkel auf der Frontseite</i>	[°]
θ_{back}	<i>Einstrahlwinkel auf der Rückseite</i>	[°]
δ	<i>Deklinationwinkel</i>	[°]
β_{front}	<i>Neigung des Reaktors auf der Frontseite</i>	[°]
β_{back}	<i>Neigung des Reaktors auf der Rückseite</i>	[°]
γ_{front}	<i>Ausrichtung des Frontseite nach Süden</i>	[°]
γ_{back}	<i>Ausrichtung des Rückseite nach Süden</i>	[°]
φ	<i>Breitengrad des Ortes</i>	[°]
ω	<i>Stundenwinkel</i>	[°]
θ	<i>Einstrahlwinkel auf die Reaktoroberfläche</i>	[°]

Bestimmung der terrestrischen Strahlungsintensität

Die Berechnung der terrestrischen Strahlungsintensität I_{terr} kann durch Abschwächung der extraterrestrischen Strahlung berechnet werden. Diese verändert ist dabei in Abhängigkeit von der Erdumlaufbahn [190, 191] (A.7).

$$I = I_0 \cdot (1,000110 + 0,034221 \cdot \cos(a) + 0,001280 \cdot \sin(a) + 0,000719 \cdot \cos(2a) + 0,000077 \cdot \sin(2a)) \quad (\text{A.7})$$

$$I_{terr} = I \cdot e^{-(1-\tau) \cdot \rho \cdot c}$$

$$\rho(t) = \frac{1}{\cos(90 - \alpha)}$$

$$c = e^{\frac{-0,033675 \cdot \varepsilon_{loc}}{288 - (0,00325 \cdot \varepsilon_{loc})}}$$

I	<i>Strahlungsintensität am Tag N</i>	[W/m ²]
I_0	<i>Solarkonstante (1.367)</i>	[W/m ²]
a	<i>Position der Erde im Orbit</i>	[°]
I_{terr}	<i>terrestrische Strahlungsintensität</i>	[W/m ²]

τ	Transmissionskoeffizient der Atmosphäre (0,75)	[-]
ρ	Optische Luftmasse zum Zeitpunkt t	[-]
ε_{loc}	geographische Höhe des Ortes	[m]

Die Strahlungsintensität auf die Reaktoroberfläche $I_{reactor,direct}$ ergibt sich nach Slegers [189] aufgrund von Abschattungseffekten wie folgt (A.8).

$$I_{reactor,direct} = I_{terr} \cdot \cos(\theta) \quad (A.8)$$

$$h_{shadow} = h_{reactor} - \frac{d_{reactor} \cdot \tan(\alpha)}{\sin(\psi)}$$

$$\psi = |\gamma_{front}| - |\omega|$$

$$I_{reactor} = (h_{reactor} - h_{shadow}) \cdot l_{reactor} \cdot I_{reactor,direct} + 2 \cdot D \cdot I_{reactor,direct} \cdot h_{reactor} \cdot l_{reactor}$$

$I_{reactor,direct}$	direkte Strahlungsintensität auf die Reaktoroberfläche	[W/m ²]
I_{terr}	terrestrische Strahlungsintensität	[W/m ²]
θ	Einstrahlwinkel auf die Reaktoroberfläche	[°]
h_{shadow}	Schattenhöhe auf der Reaktoroberfläche	[m]
$h_{reactor}$	Reaktorhöhe	[m]
$d_{reactor}$	Abstand zwischen den Reaktoren	[m]
α	Höhenwinkel der Sonne	[°]
ψ	Winkel zwischen Sonneneinstrahlung und Reaktoroberfläche	[°]
γ_{front}	Ausrichtung des Frontseite nach Süden	[°]
ω	Stundenwinkel	[°]
$I_{reactor}$	Strahlungsintensität auf die Reaktoroberfläche	[W]
$l_{reactor}$	Reaktorlänge	[m]
D	Anteil an diffuser Strahlung	[-]

Bestimmung der Kühlleistung

Für die Bestimmung der Kühlleistung wird angenommen, dass die gesamte auf den Reaktor auftreffende Sonnenstrahlung in Wärme umgewandelt wird und beim Überschreiten der Kultivierungstemperatur über das Kühlsystem abgeführt werden muss. Hierfür wird über eine Bilanzierung die zeitliche Reaktortemperatur kalkuliert und im darauffolgenden Schritt die abzuführende Wärmemenge berechnet (A.9).

$$\int_{T_0}^{T_1} dT = \frac{I_{reactor}}{V_{reactor} \cdot c_{water}} \cdot \int_{t_0}^{t_1} dt \rightarrow \quad (A.9)$$

$$T_1 = T_0 + \frac{I_{reactor}}{V_{reactor} \cdot c_{water}} \cdot (t_0 - t_1)$$

T_i	Reaktortemperatur zum Prozesszeit i	[K]
$I_{reactor}$	Strahlungsintensität auf die Reaktoroberfläche	[W]
$V_{reactor}$	Reaktorvolumen	[l]
c_{water}	spezifische Wärmekapazität von Wasser	[J//K]
t	Zeit	[s]

A 3 Nährmedien

Tabelle A.1 Nährmedium für *Chlorella vulgaris* nach Gorman und Levine und Hutner [113, 114]

Phosphat-Stocklösung		
Komponente	Summenformel	Konzentration [g/l]
Di-Kaliumhydrogenphosphat	K_2HPO_4	288,000
Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	144,000

Salz-Stocklösung		
Komponente	Summenformel	Konzentration [g/l]
Ammoniumchlorid	NH_4Cl	15,000
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	4,000
Calciumchlorid-Dihydrat	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	2,000

Spurenelement-Stocklösung		
Komponente	Summenformel	Konzentration [g/l]
Di-Natrium-EDTA	$Na_2C_{10}H_{14}N_2O_8$	2,500
Borsäure	H_3BO_3	0,570
Zinksulfat-Heptahydrat ¹	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	1,100
Mangan(II)chlorid-Tetrahydrat	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0,255
Eisen(II)sulfat-Heptahydrat	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0,250
Cobalt(II)chlorid-Hexahydrat	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0,080
Kupfersulfat-Pentahydrat	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0,080
Ammoniumheptamolybdat-Tetrahydrat	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	0,006

Zusammensetzung

Komponente	Konzentration [ml/l]
Phosphat-Stocklösung	0,375
Salz-Stocklösung	25,000
Spurenelement-Stocklösung	20,000

A 4 Abbildungen

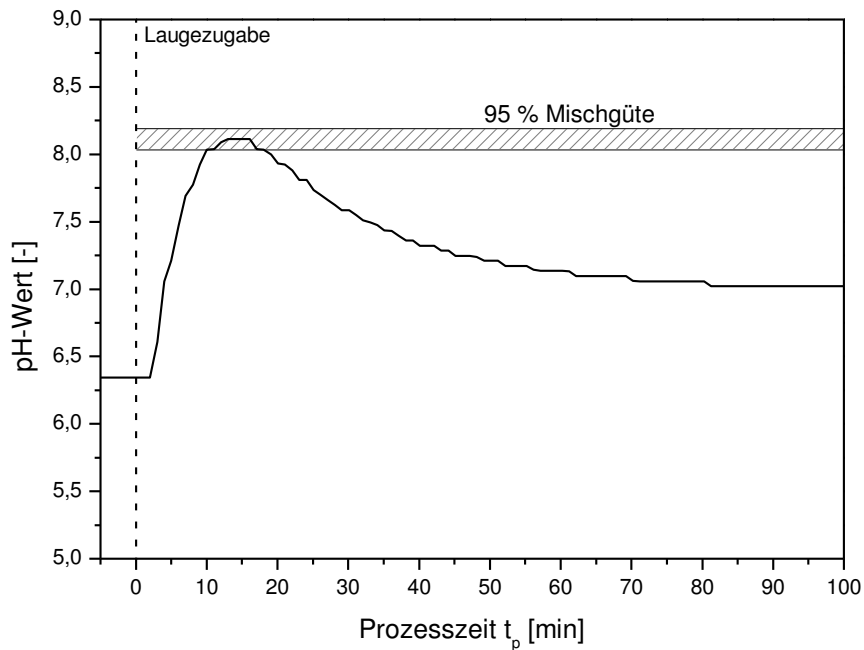


Abbildung A.3 Ausgewählter Mischzeitversuch für die Pilotreaktoren des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT). Gasvolumenstrom beträgt 10 l/min.

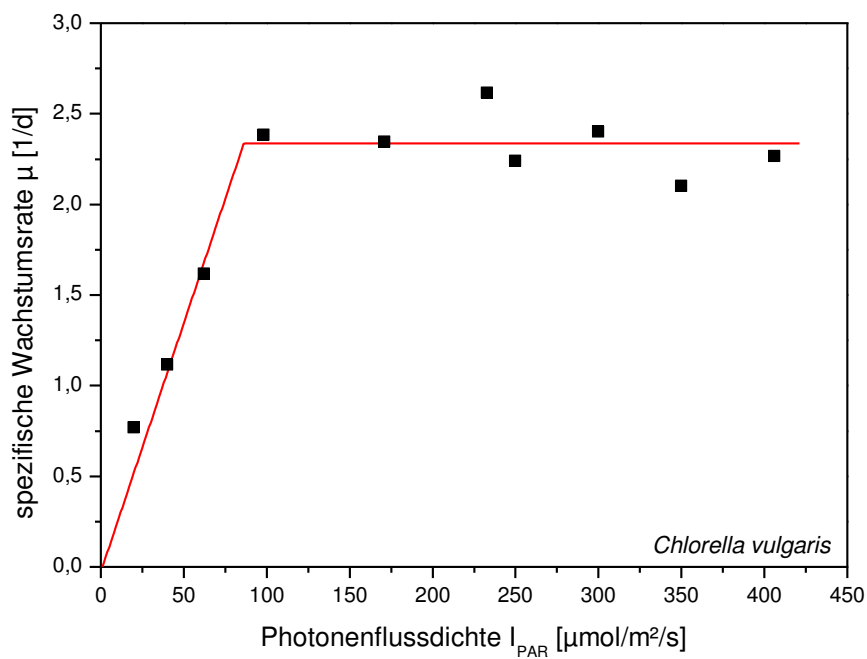


Abbildung A.4 Lichtkinetik von *Chlorella vulgaris* bei einer Kultivierungstemperatur von 25 °C. Die Wachstumsraten basieren auf den Versuchen von Dillschneider [39]

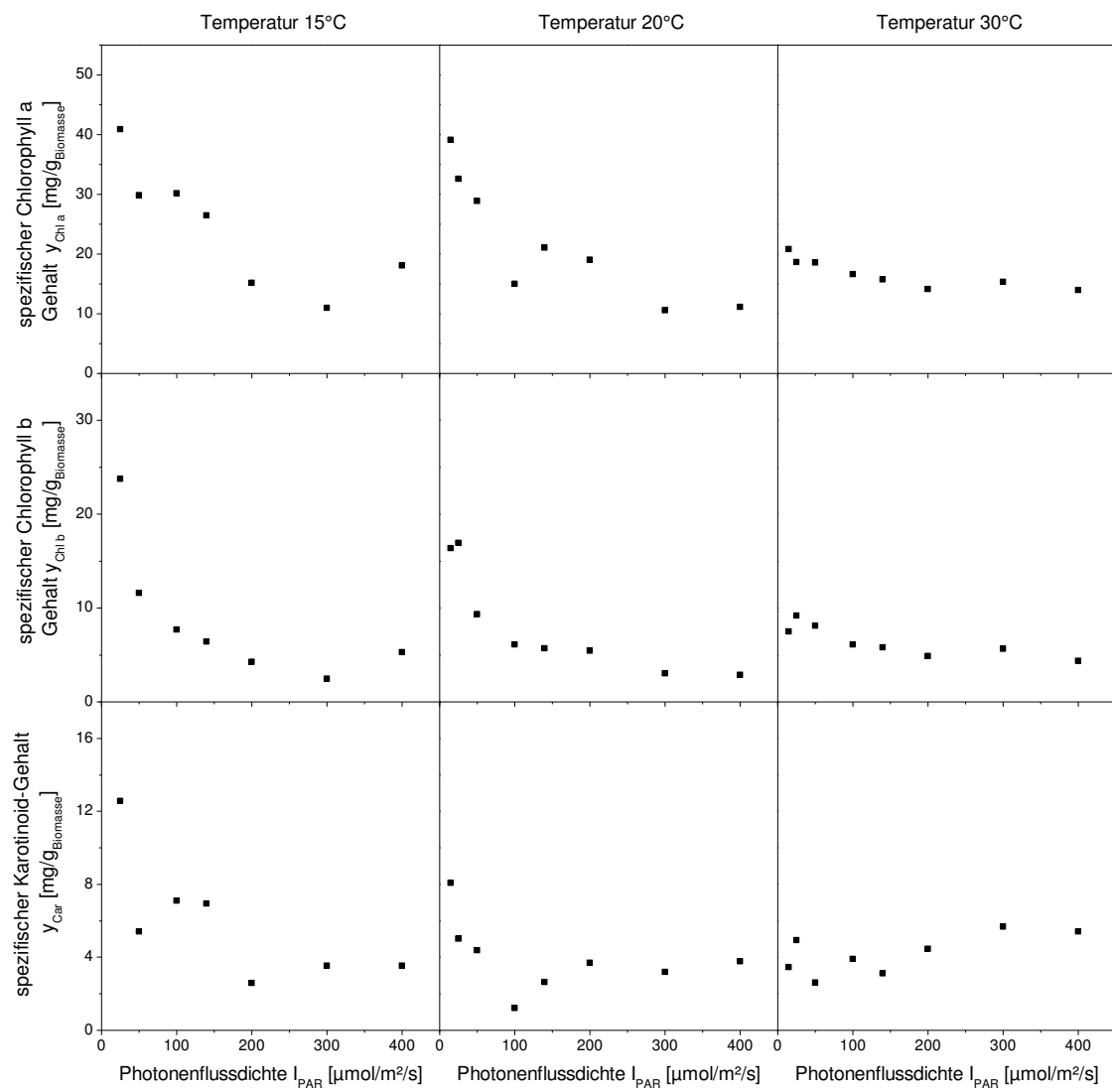


Abbildung A.5 spezifische Pigmentgehalte in Abhängigkeit von der Photonendichte und der Temperatur für die Mikroalge *Chlorella vulgaris*. Details zur Prozessführung finden sich im Kapitel 3.2.3

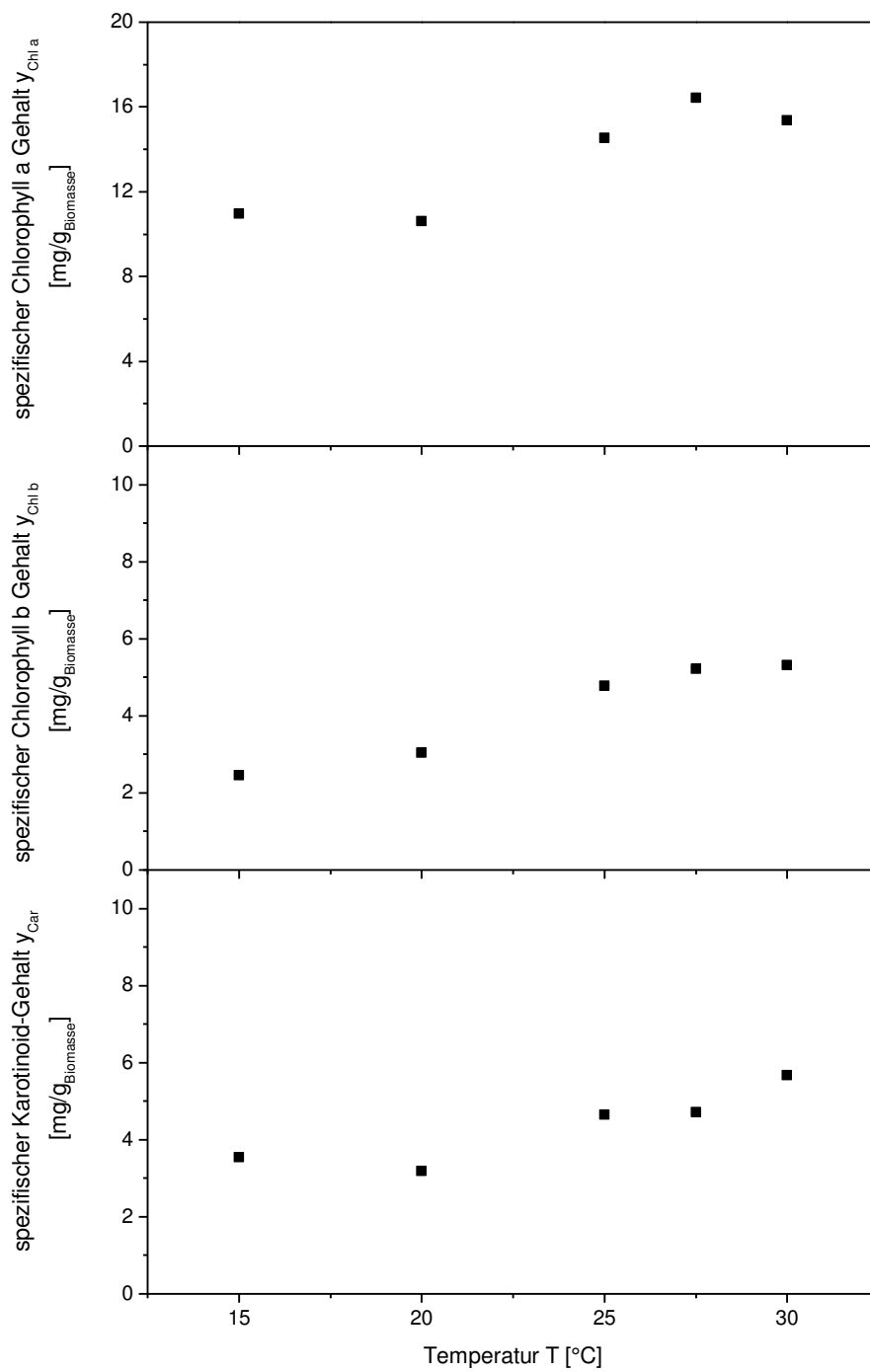


Abbildung A.6 spezifische Pigmentgehalte bei einer Photonenflussdichte von $300 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ in Abhängigkeit von der Temperatur für die Mikroalge *Chlorella vulgaris*. Details zur Prozessführung finden sich im Kapitel 3.2.3

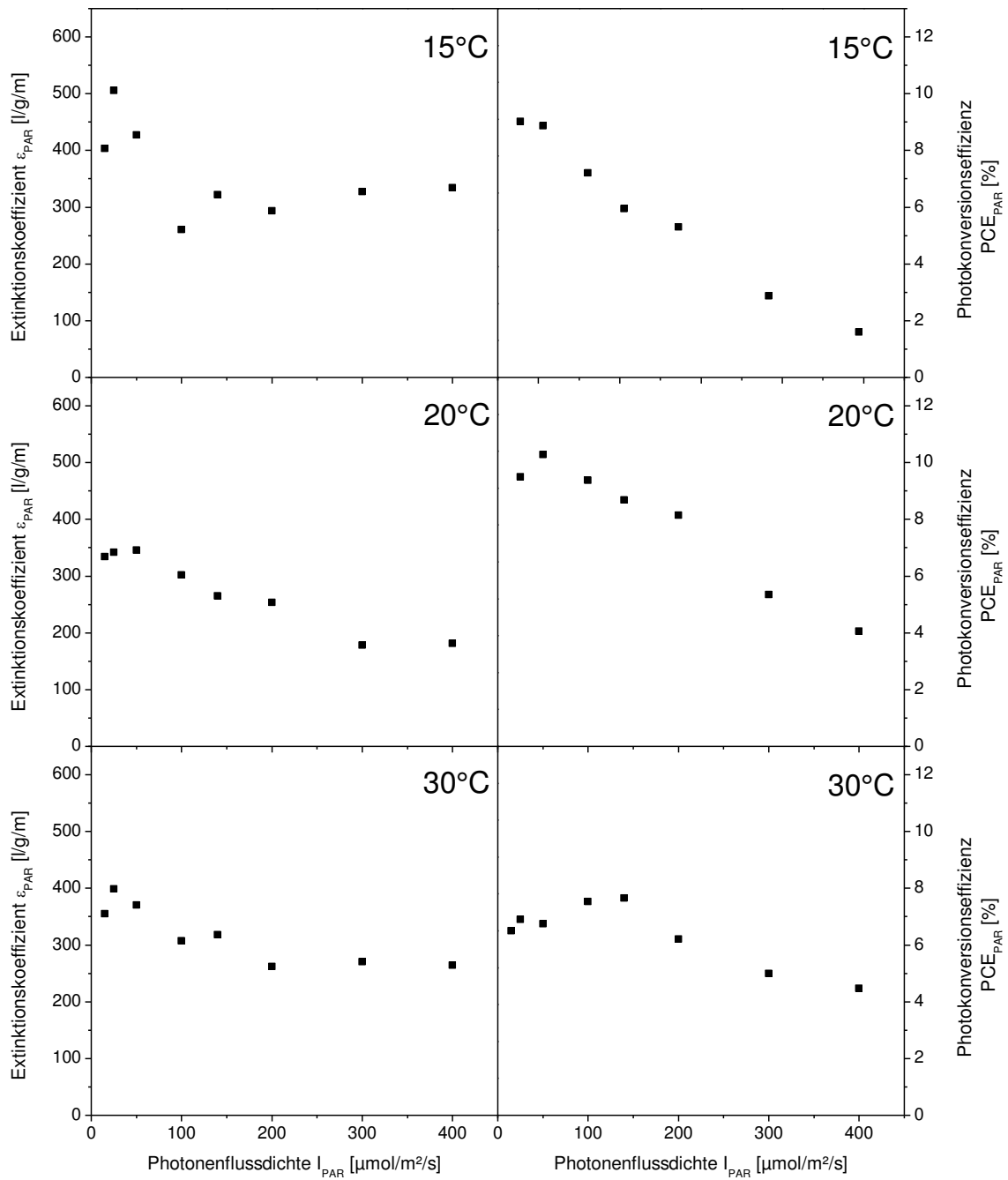


Abbildung A.7 Extinktionskoeffizient und Photokonversionseffizienz in Abhängigkeit von der Photonflussdichte und der Temperatur für die Mikroalge *Chlorella vulgaris*. Details zur Prozessführung finden sich im Kapitel 3.2.3

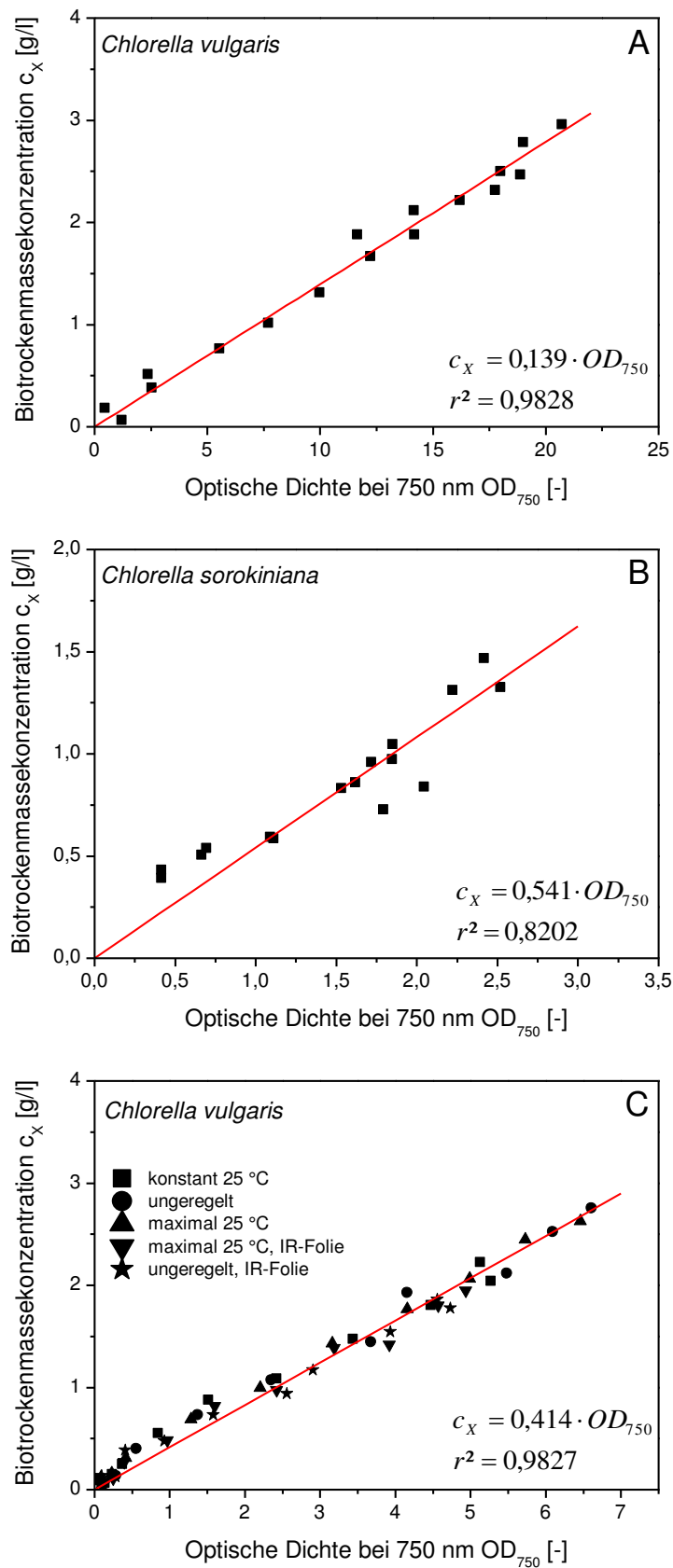


Abbildung A.8 Korrelationen der optischen Dichte zur Biotrockenmassekonzentrationen. A: Laborversuche; B: Freilandversuche am Solar Biofuels Research Centre (SRBC); C: Freilandversuche am Karlsruher Institut für Technologie (KIT)

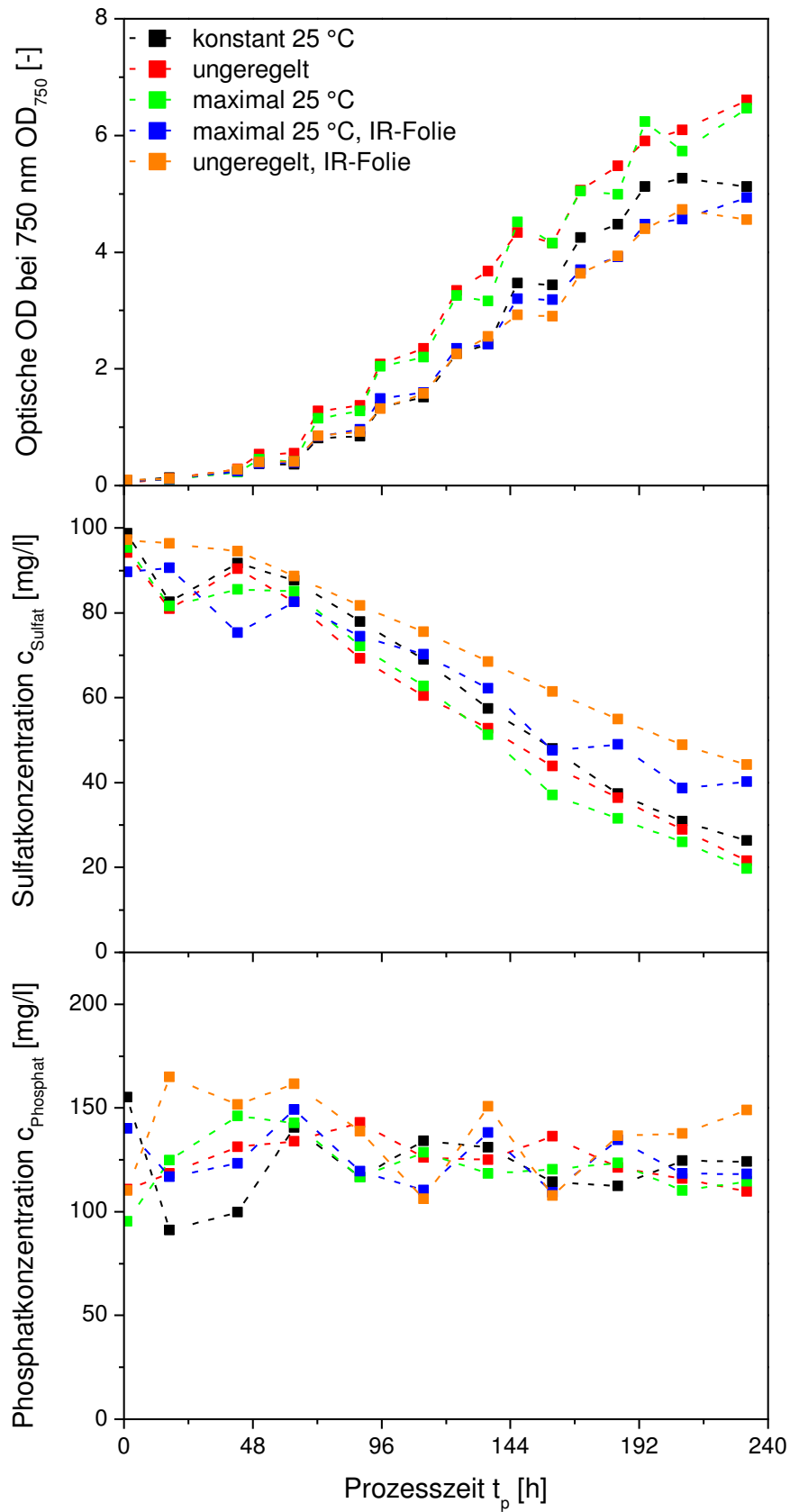


Abbildung A.9 Optische Dichte und Anionenkonzentrationen über die Prozesszeit für das Temperierungsexperiment am Karlsruher Institut für Technologie (KIT). Details zur Prozessführung befinden sich Kapitel 3.2.6.

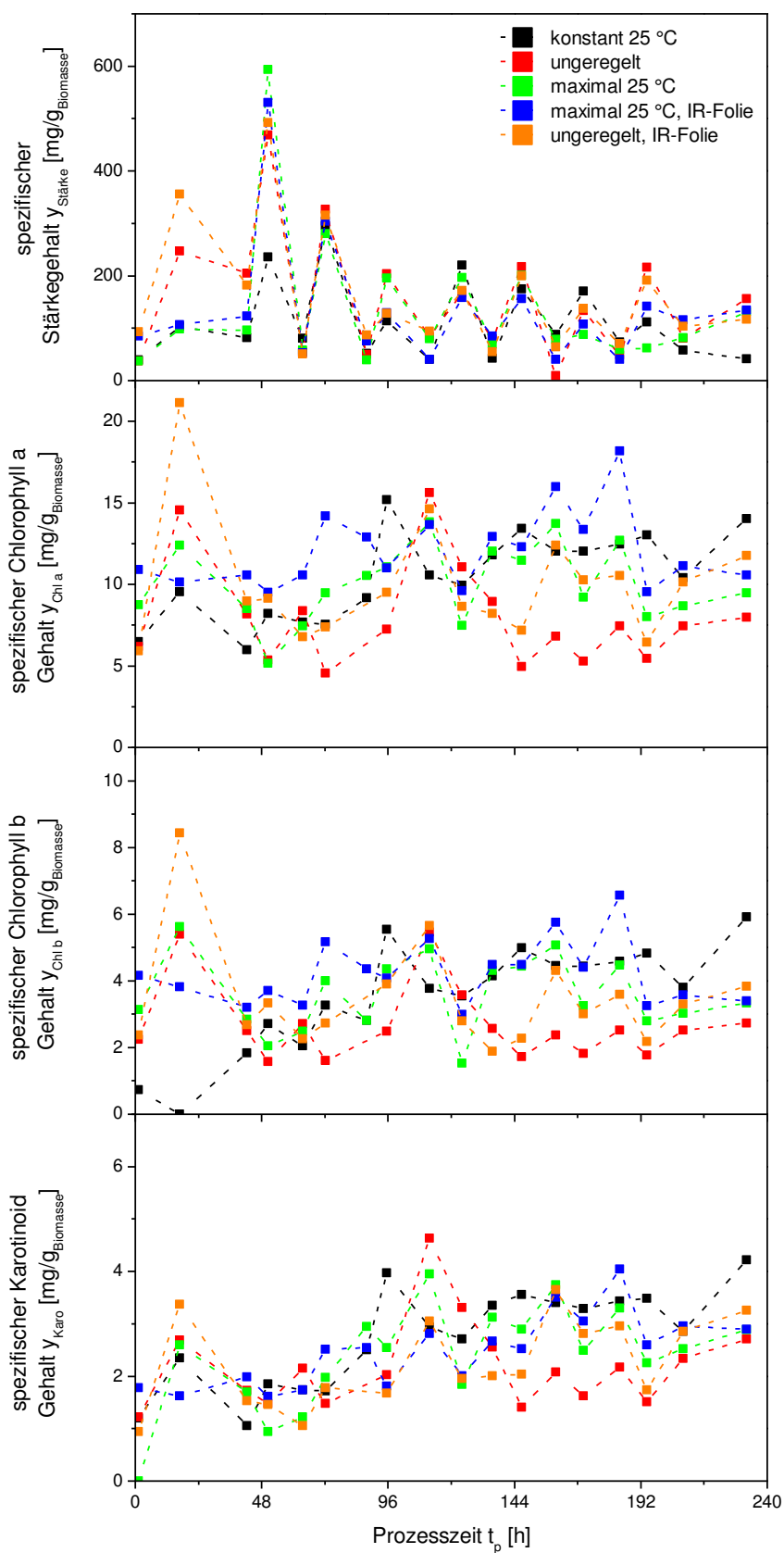


Abbildung A.10 spezifischer Stärkegehalt und spezifische Pigmentgehalte über die Prozesszeit für das Temperierungsexperiment am Karlsruher Institut für Technologie (KIT). Details zur Prozessführung befinden

sich Kapitel 3.2.6. Biotrockenmassekonzentrationen für die Abendmessungen wurden über die Korrelation aus Abbildung A.8 C bestimmt

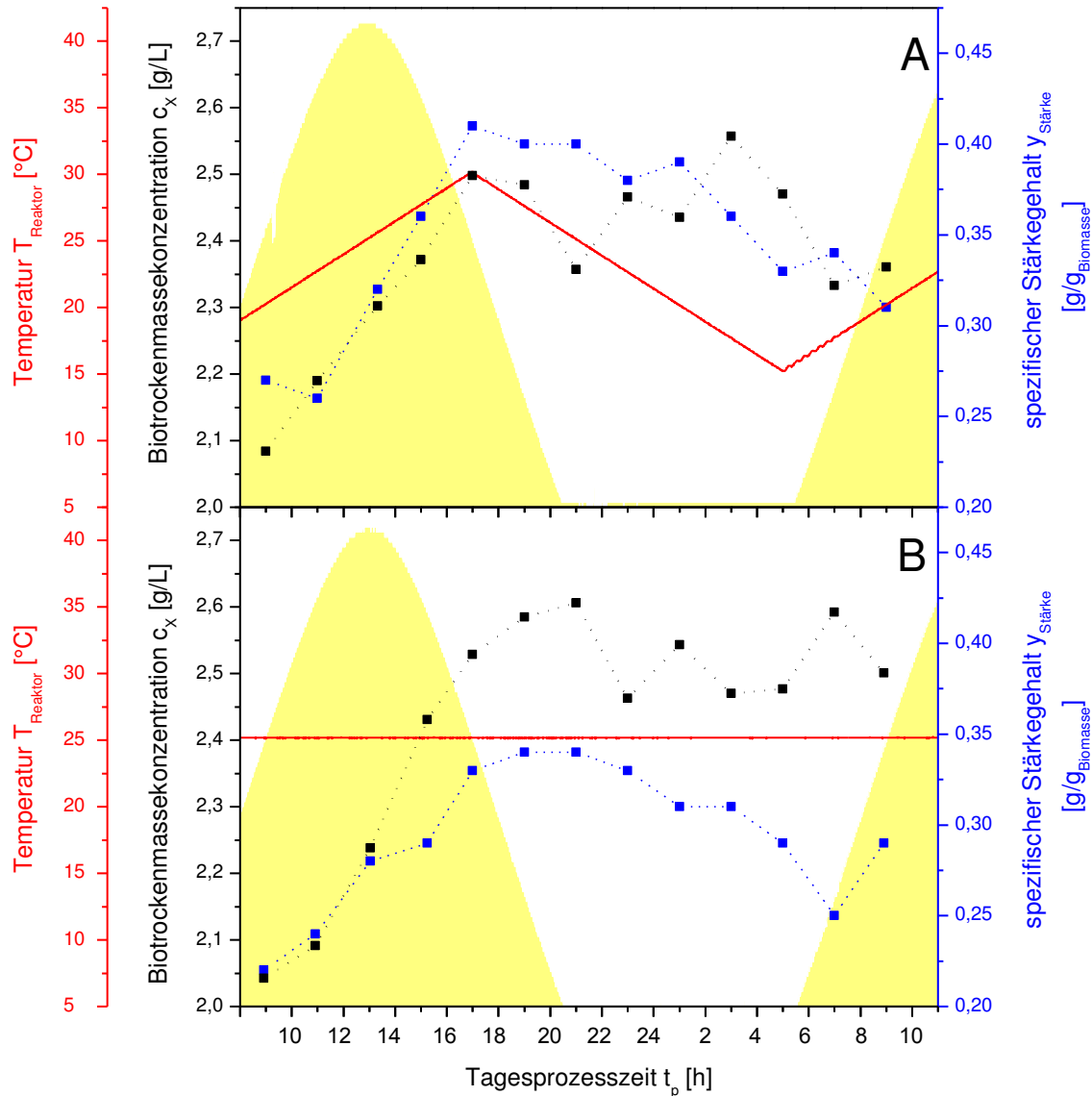


Abbildung A.11 24-Stunden Kultivierungsexperiment mit *Chlorella vulgaris* zur Untersuchung des Wachstum und der Metabolitenbildung. Reaktor: 2l-Modellreaktor (Kapitel 3.2.4); Rührerdrehzahl: 250 rpm; Begasungsrate: 85 ml/min mit geregelter CO_2 -Volumenanteil; Gelöst- CO_2 -Konzentration auf 0,5 % geregelt; Satzbetrieb mit 1l TP-Medium (Kapitel 3.2.1.1); pH-Wert wurde auf 7,5 mit 2,5 % Ammoniaklösung geregelt; Simulierter Tag/Nacht-Zyklus für Temperatur und Lichtintensität. Stärkebestimmung erfolgte nach der 3,5-Dinitrosilylsäure-Methode; A: variierende Temperatur; B: konstante Temperatur

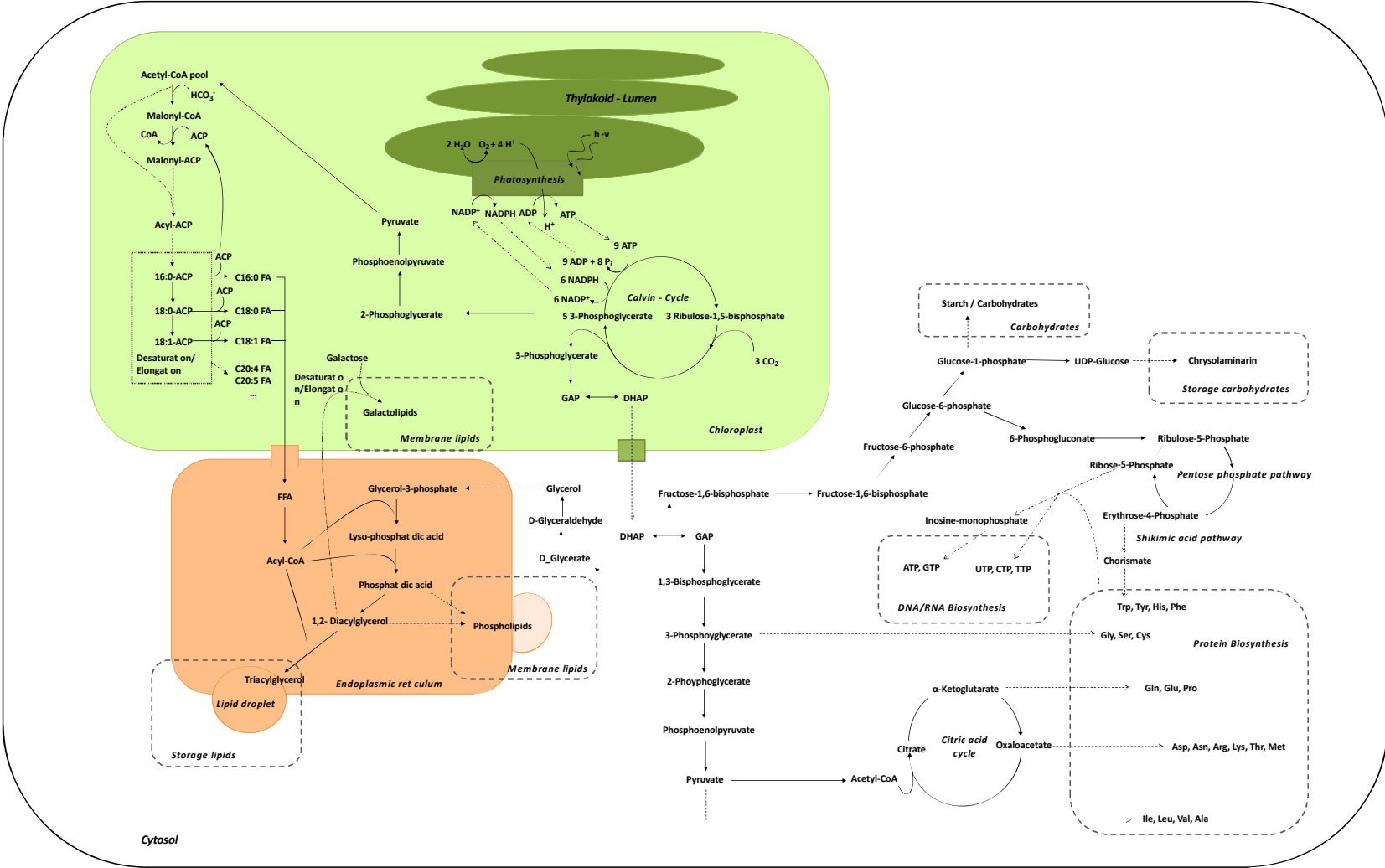


Abbildung A.12 Übersicht über der anabolischen Stoffwechselwege von Mikroalgen nach Dillschneider 2013 [34].

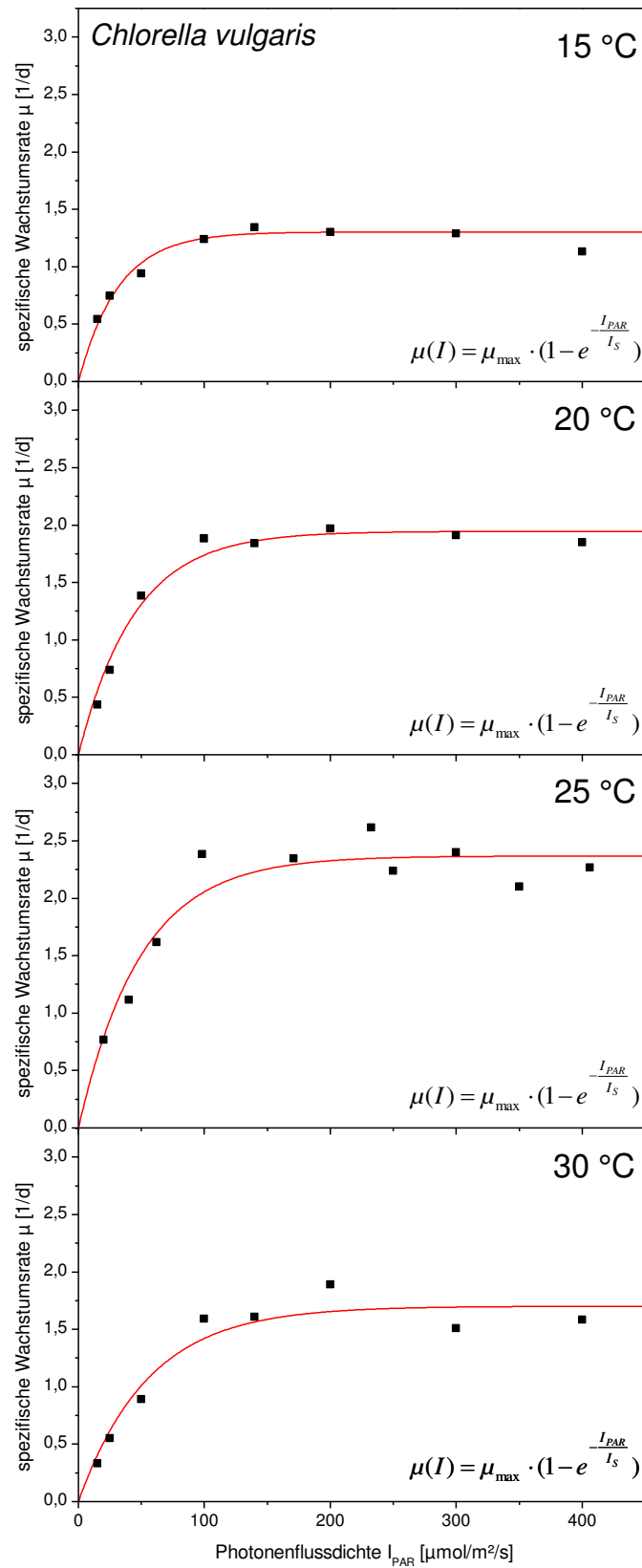


Abbildung A.13 alternative Anpassungsfunktion für die Lichtkinetik (Kapitel 4.1.3) von *Chlorella vulgaris* nach Geider [148]

A 5 Matlab Programmcode

Sonnenverlaufsfunction

```

function [I_surface D stw zw t_solar hw] = Sonnenverlaufsfunction(N,t, i)
%Ausgaben: müssen oben auch angegeben werden. Reihenfolgen beachten
%UNTITLED3 Summary of this function goes here
%Detailed explanation goes here

global Lat Long sl M

% - Konstanten -

I_solar= 1367;
%mittlere extraterrestrische Strahlung [W/m²] (World Radiation Center)
K_trans= 0.75;
%Transmissionskoeffizient der Atmosphäre

%-----

% ---- Berechnung ----

a= (N-1)*360/365*(pi/180);
%Position der Erde relativ zur Sonne [bogenmas]

D= 0.006918-0.399912*cos(a)+0.070257*sin(a)-
0.006758*cos(2*a)+0.000907*sin(2*a)-0.002697*cos(3*a)+0.00148*sin(3*a);
% Deklinationswinkel der Sonne [bogenmas] [Iqbal 1983]

e= 229.2*(0.000075+0.001868*cos(a)-0.032077*sin(a)-0.014615*cos(2*a)-
0.04089*sin(2*a));
%Zeitgleichung fuer den jeweiligen Tag [min]

I_earth=I_solar*(1.000110+0.034221*cos(a)+0.001280*sin(a)+0.000719*cos(2*a)
+0.000077*sin(2*a));
%Strahlungsintensitaet der Sonne auf die Erde ist abhaengig von der
%Position relativ zu Sonne [W/m²] (Duffie und Beckman)

t_solar= t+(4*(Long*(180/pi)-M)+e)/60;
%wahre Sonnenzeit [h] (Slegers 2011)

stw= 15*(pi/180)*(t_solar-12);
%Stundenwinkel [bogenmass] (Slegers2011)

hw=asin(sin(Lat)*sin(D)+cos(Lat)*cos(D)*cos(stw));
%Hoehenwinkel der Sonne [bogenmas] (Slegers 2011)
if hw<0;
    hw=0;
end
%erzeugt Nachtphase

```

```

zw=(90*(pi/180))-hw;
%Zenitwinkel der Sonne [bogenmas] (Slegers2011)

m=1/cos(zw);
%Air Mass/optische Luftmasse zum Zeitpunkt t (Duffie und Beckmann) wurde
vereinfacht. Bei höheren Zenitwinkeln (>70°) nimmt die Krümmung der Erde
signifikanten Einfluss

if m<=0;
    m=1;
end
%Optische Luftmasse kann nicht negativ sein !!!

c=exp(-0.033675*s1/(288-0.00325*s1));
I_surface=I_earth*exp(-(1-K_trans)*m*c);
%Strahlung an der Erdoberfläche [W/m²] (Volk 1998)

i=i+1;

end

```

Wärmeeinstrahlung für Flat-Plate-Reaktoren

```

clear all
close all
clc

global Lat Long s1 M Dif PAR_solar F_e K_d

%---- Geographische Angaben ----
%http://www.mapcoordinates.net/

Lat = -27*pi/180;
%Breitengrad [bogenmas]
Long = 153*pi/180;
%Laengengrad [bogenmas]
s1= 84;
%Hoehe bezogen auf Meereshoehe [m]
M= 150;
%Meridian der Zeitzone (Bezugsmeridian fuer Zonenzeit) [°]
Dif=10/100;
%diffusiver Anteil [-]
PAR_solar=0.455;
%Anteil an PAR in solar Radiation [-] (Tredici 2010)
F_e=1000000/217000;
%Umrechnungsfaktor von kJ/s in µE/m²/s (Tredici 2010, wobei 217 kJ/mol den
%Energiegehalt des PAR-Bereichs angibt 1mol=1µE
K_d=0.2;
%Anteil an diffussem Licht, welche die ground surface (Bechet 2010)

%---- Reaktorangaben ----

R_h = 0;
%Reaktorhoehe [m]

```

```

R_l=2.61;
%Reaktorlaenge [m]
R_s=0.05;
%Reaktordicke [m]
R_d=0.68;
%Reaktorabstand [m]
R_v=100;
%Reaktorvolumen [L]
R_n=90*(pi/180);
%Neigung des Reaktors (90°=vertikal) [bogenmas]
R_o=90*(pi/180);
%Orientierung der Reaktoroberfläche (90°=Flaeche nach ost-west) [bogenmas]
R_ref=1;
%Reflexion von PE-Folie
D_diff=0.1;
%Diffuser Anteil [-]
c_water=4189;
%spezifische Wärmekapazität von Wasser JK/l/K
T_night=288;
%Nachttemperatur des Reaktors [K]
T_reactor=303;
%Kultivierungstemperatur des Reaktors

i=1;
t_schritt=0.1;

for N=1:1:365
    T_vorher=T_night;
    for t=0:t_schritt:24

%--- Aus Sonnenverlaufsfunktion ---
        [I_surface D stw zw t_solar hw]=Sonnenverlauffunktion(N, t, i);

%--- Berechnung ---

I_ground=I_surface*cos(zw);

W_front=acos(sin(D)*sin(Lat)*cos(R_n)-
sin(D)*cos(Lat)*sin(R_n)*cos(R_o)+cos(D)*cos(Lat)*cos(R_n)*cos(stw)+cos(D)*
sin(Lat)*sin(R_n)*cos(R_o)*cos(stw)+cos(D)*sin(R_n)*sin(R_o)*sin(stw));
W_back=acos(sin(D)*sin(Lat)*cos(pi-R_n)-sin(D)*cos(Lat)*sin(pi-
R_n)*cos(pi+R_o)+cos(D)*cos(Lat)*cos(pi-
R_n)*cos(stw)+cos(D)*sin(Lat)*sin(pi-
R_n)*cos(pi+R_o)*cos(stw)+cos(D)*sin(pi-R_n)*sin(pi+R_o)*sin(stw));
%Berechnet Einstrahlwinkel direkter Strahlung fuer Vorder- und Rueckseite
%zum jeweiligen Tageszeitpunkt relativ zum Boden (pi in geographische
Angaben ergibt sich aus Umrechnung von Grad in Bogenmas und einsetzen in
Gleichung von Slegers für Vorder- und Rueckseite(Slegers 2011) [bogenmas]

if W_front>pi/2;
    W_front=0;
end

if W_back>pi/2;
    W_back=0;
end
%da bei Winkeln groesser 90 grad keine direkte Strahlung auf die

```

```

%Reaktorseite faellt --> Schattenseite

W_total=W_front+W_back;
%Gesamteinfallwinkel (relativ zum Boden)

I_R=cos(W_total)*I_surface;
%Strahlungsintensitaet auf direkt bestrahlte Reaktoroberflaeche [W/m²]

h_shadow=R_h-(R_d*tan(pi/2-zw))/(sin(abs(R_o+pi/2)-abs(stw)));
%Schattenhöhe vom Reaktor (Slegers 2011) [m]
%aus + pi/2 ist Winkel der Stirnseite zum Meridian (0 ist auf der anderen
Seite der Erde von hier aus)

if h_shadow<0;
    h_shadow=0;
end
%blendet Schattenhoeehen aus, welche in den Boden gehen würden

A_I=(R_h-h_shadow)*R_l;
%Beleuchtungsflaeche Reaktor [m²]

I_reactor=I_R*A_I+2*D_diff*I_surface*R_l*R_h;
%Gesamtstrahlungsintensitaet auf Reaktor [W]

T=T_vorher+I_reactor/(R_v*c_water)*(t_schritt*3600);

if t_solar<=0;
    T_now=T_night;
else
    T_now=T;
end

T_vorher=T_now;

if T>T_reactor
    Q_heat=I_reactor;
else
    Q_heat=0;
end

if T_now>T_reactor;
    T_now=T_reactor;
end

%---Werte-Speicher-Zone---
N_save(N,i)=N;
t_save(N,i)=t;

h_shadow_save(N,i)=h_shadow;
I_R_save(N,i)=I_R;
A_I_save(N,i)=A_I;
I_reactor_save(N,i)=I_reactor;

```

```

I_surface_save(N,i)=I_surface;
T_save(N,i)=h_shadow;
Q_heat_save(N,i)=Q_heat;
I_ground_save(N,i)=I_ground;

i=i+1;

end

varwaitbar = waitbar(i/365);

    i=1;

end

ok=1

figure
hold on
mesh(t_save, N_save, I_R_save)
xlabel('Tageszeit [h]')
zlabel('Strahlungsintensität [W]')
ylabel('Tag im Jahr [-]')
colorbar
grid
view([30,30])

figure
hold on
mesh(t_save, N_save, I_ground_save)
xlabel('Tageszeit [h]')
zlabel('Strahlungsintensität Boden [W]')
ylabel('Tag im Jahr [-]')
colorbar
grid
view([30,30])

```

Wachstumsmodell für Temperierungsexperimente

```

clear all
close all
clc

%----Laden der Messdaten----%

%Daten=xlsread('matlab ungerregelt.xlsx');
%keine T-Kontrollle

Daten=xlsread('matlab konstant.xlsx');
%T konstant 25°C

%Daten=xlsread('matlab max.xlsx');
%T max 25°C

Zeilenzahl = length(Daten(:,1));

```

```
%---- Geographische Angaben ----%
%http://www.mapcoordinates.net/
%http://www.gpskoordinaten.de/gps-koordinaten-konverter

Lat = 49*pi/180;
%Breitengrad [bogenmas]
Long = 8.4*pi/180;
%Laengengrad [bogenmas]
sl= 118;
%Hoehe bezogen auf Meereshoehe [m]
M= 8.4;
%Meridian der Zeitzone (Bezugsmeridian fuer Zonenzeit) [°]
R_h=1;
%Reaktorhoehe [m]
R_l=6;
%Reaktorlänge [m]
R_s=0.05;
%Reaktordicke [m]
R_d=1;
%Reaktorabstand [m]
R_v=200;
%Reaktorvolumen [L]
R_n=90*(pi/180);
%Neigung des Reaktors (90°=vertikal) [bogenmas]
R_o=90*(pi/180);
%Orientierung der Reaktoroberflaeche (90°=Flaeche nach ost-west) [bogenmas]
Rf=0.77;
%Verminderungsfaktor aufgrund von Reflexion an der Oberflaeche

%---- Wachstumsangaben ----%

E=317;
%Extinktionskoeffizient [l/g/m]
c_X0=0.05;
%Start-Biomasse [g/l]
mue_max_T=2.41;
%maximale Wachstumsrate für T-Kinetik [1/d]
%Steigung [m²*s/µmol/d]
T_max=305;
%maximale Temperatur für T-Kinetik [K]
T_opt=298;
%optimale Temperatur für T-Kinetik [K]
alpha_max_T=0.028;
%maximale Wachstumseffizienz für Wachstumseffizienz-Kinetik [1/d]
Talpha_max=307;
%maximale Temperatur für Wachstumseffizienz-Kinetik [K]
Talpha_opt=296;
%optimale Temperatur für Wachstumseffizienz-Kinetik [K]
Res=0.1;
%Respirationsanteil für die Nachtphase

%----Simulation---%

for i=2520:1:Zeilenzahl

N=Daten(i,1);
%Tag im Jahr [-]
t=Daten(i,2);
%Zeit [h]
```

```

T_reactor=Daten(i,3);
%Temperatur des Reaktors [K]
I_surface=Daten(i,4);
%PAR-Strahlung direkt [ $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ]
I_diffuse=Daten(i,5);
%PAR-Strahlung diffus [ $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ]
t_schritt=Daten(i,6);
%Zeitschritt [h]
processtime=Daten(i,7);
%Prozesszeit [h]

a= (N-1)*360/365*(pi/180);
%Position der Erde relativ zur Sonne [bogenmas]

D= 0.006918-0.399912*cos(a)+0.070257*sin(a)-
0.006758*cos(2*a)+0.000907*sin(2*a)-0.002697*cos(3*a)+0.00148*sin(3*a);
% Deklinationswinkel der Sonne [bogenmas] [Iqbal 1983]

e= 229.2*(0.000075+0.001868*cos(a)-0.032077*sin(a)-0.014615*cos(2*a)-
0.04089*sin(2*a));
%Zeitgleichung fuer den jeweiligen Tag [min]

t_solar= t+(4*(Long*(180/pi)-M)+e)/60;
%wahre Sonnenzeit [h] (Slegers 2011)

stw= 15*(pi/180)*(t_solar-12);
%Stundenwinkel [bogenmass] (Slegers2011)

hw=asin(sin(Lat)*sin(D)+cos(Lat)*cos(D)*cos(stw));
%Hoehenwinkel der Sonne [bogenmas] (Slegers 2011)
if hw<0;
    hw=0;
end
%erzeugt Nachtphase

zw=(90*(pi/180))-hw;
%Zenitwinkel der Sonne [bogenmas] (Slegers2011)

W_front=acos(sin(D)*sin(Lat)*cos(R_n)-
sin(D)*cos(Lat)*sin(R_n)*cos(R_o)+cos(D)*cos(Lat)*cos(R_n)*cos(stw)+cos(D)*
sin(Lat)*sin(R_n)*cos(R_o)*cos(stw)+cos(D)*sin(R_n)*sin(R_o)*sin(stw));
W_back=acos(sin(D)*sin(Lat)*cos(pi-R_n)-sin(D)*cos(Lat)*sin(pi-
R_n)*cos(pi+R_o)+cos(D)*cos(Lat)*cos(pi-
R_n)*cos(stw)+cos(D)*sin(Lat)*sin(pi-
R_n)*cos(pi+R_o)*cos(stw)+cos(D)*sin(pi-R_n)*sin(pi+R_o)*sin(stw));
%Berechnet Einstrahlwinkel direkter Strahlung fuer Vorder- und Rueckseite
%zum jeweiligen Tageszeitpunkt relativ zum Boden (pi in geographische
Angaben ergibt sich aus Umrechnung von Grad in Bogenmas und einsetzen in
Gleichung von Slegers fuer Vorder- und Rueckseite(Slegers 2011) [bogenmas]

if W_front>pi/2;
    W_front=0;
end

if W_back>pi/2;
    W_back=0;
end
%da bei Winkeln groesser 90 Grad keine direkte Strahlung auf die

```

```

%Reaktorseite faellt --> Schattenseite

h_shadow=R_h-(R_d*tan(pi/2-zw))/(sin(abs(R_o+pi/2)-abs(stw)));
%Schattenhoehe vom Reaktor (Slegers 2011) [m]
%aus + pi/2 ist Winkel der Stirnseite zum Meridian (0 ist auf der anderen
Seite der Erde von hier aus)

if h_shadow<0;
    h_shadow=0;
end
%blendet Shattenhoeehen aus, welche in den Boden gehen würden

%----Bestimmung mue_av----%

zeile=1;

t_schritt_mue=1/1000;
%Schrittweite für die numerische Integration

I0front=cos(W_front)*I_surface;
I0back=cos(W_back)*I_surface;
I=I0front+I0back;
%Einstrahlungsintensitaet auf die Reaktorvor- und -rueckseite

%---Berechnung Wachstumsrate---%
%T_reactor=298;
%für konstante Temperatur

mue_max=mue_max_T*((T_max-T_reactor)/(T_max-
T_opt))*(T_reactor/T_opt)^(T_opt/(T_max-T_opt));
%Berechnung der maximalen Wachstumsrate für die Reaktortemperatur

if mue_max<0;
    mue_max=0;
end

alpha=alpha_max_T*((Talpha_max-T_reactor)/(Talpha_max-
Talpha_opt))*(T_reactor/Talpha_opt)^(Talpha_opt/(Talpha_max-Talpha_opt));
%Berechnung der Wachstumseffizienz für die Reaktortemperatur
%alpha=0.038;

Is=mue_max/alpha;
%Berechnung des Lichtsättigungspunktes

for d=0:t_schritt_mue:R_s

I_direct=((I0front+I_diffuse)*Rf)*exp(-
E*c_X0*d)+((I0back+I_diffuse)*Rf)*exp(-E*c_X0*(R_s-d));

if I_direct>Is;
    mue_direct=mue_max;
else
    mue_direct=I_direct*alpha;
end
I_diff=(I_diffuse*Rf)*(exp(-E*c_X0*d)+exp(-E*c_X0*(R_s-d)));

```

```

if I_diff>Is;
    mue_diffuse=mue_max;
else
    mue_diffuse=I_diff*alpha;
end

%---Speicherzone---%

d_save(zeile,1)=d;
light_save(zeile,1)=light;
mue_direct_save(zeile,1)=mue_direct;
mue_diffuse_save(zeile,1)=mue_diffuse;

zeile=zeile+1;

end

integral_direct=trapz(d_save,mue_direct_save);
%numerische Integration nach dem Trapezverfahren

integral_diffuse=trapz(d_save,mue_diffuse_save);
%numerische Integration nach dem Trapezverfahren

mue_av=(integral_direct/R_s)*(1-
(h_shadow/R_h))+(integral_diffuse/R_s)*(h_shadow/R_h);
%durchschnittliche Wachstumsrate

if (I_surface+I_diffuse)<=0;
    mue_av=-mue_max*Res;
end

%---Berechnung Biomasse---%

c_X=c_X0*exp((mue_av/24)*t_schritt);
%Biomasse [g/L]

c_X0=c_X;
%Biomasse für naechsten Schritt [g/L]

%---Werte-Speicher-Zone--
N_save(i,1)=N;
t_save(i,1)=t;
processtime_save(i,1)=processtime;

matrix(i,1)=processtime;
matrix(i,2)=mue_av;
matrix(i,3)=c_X0;
matrix(i,4)=(I_surface+I_diffuse);
matrix(i,5)=T_reactor-273.15;

c_X_save(i,1)=c_X0;
I_save(i,1)=(I_surface+I_diffuse);
mue_av_save(i,1)=mue_av;
T_save(i,1)=T_reactor-273.15;

x=i/Zeilenzahl;

```

```
end

figure
hold on
subplot(4,1,1)
plot(processtime_save,c_X_save);
hold on
plot(Daten(:,8),Daten(:,9),'r*');
hold on
plot(Daten(:,10),Daten(:,11),'b*');
ylabel('c_X [g/L]')
xlabel('Prozesszeit [h]')
subplot(4,1,2)
plot(processtime_save,mue_av_save);
xlabel('Prozesszeit [h]')
ylabel('μ [1/d]')
subplot(4,1,3)
plot(processtime_save,I_save);
xlabel('Prozesszeit [h]')
ylabel('Lichtintensität [μmol/m²/s]')
subplot(4,1,4)
plot(processtime_save,T_save);
xlabel('Prozesszeit [h]')
ylabel('Temperatur [°C]')

ok=1
```

A 6 Maple Programmcode

Angaben für Hill-Kinetik

(Bestimmung in Origin: mit korrelierten BTM-Werten)

```
> restart:
>
> c_start      := Originparameter:      #[g/L]
> c_end        := Originparameter:      #[g/L]
> k            := Originparameter:      #[-]
> n            := Originparameter:      #[-]
```

Angaben für PCE (absorbiertes Licht)

(Bestimmung in Origin: Absorption=PFD0-Trans)

```
> ac_start     := Originparameter:      #[μE/m²/s]
> ac_end       := Originparameter:      #[μE/m²/s]
> ak           := Originparameter:      #[-]
> an           := Originparameter:      #[-]
> V            := 1:                    #[L]
> Fbiomasse    := 20000:                #[J/g]
> Fphotonen    := 0.2104:              #[J/μmol]
> Areactor     := 0.07:                 #[m²]
```

Wachstum

```
> Wachstum:=t->c_start+(c_end-c_start)*t^n/(k^n+t^n):
> plot(Wachstum(t), t=0..200):
```

Ableitung Wachstum zur Bildungsrate

```
> Bildungsrate:=D(Wachstum): #[g/L/h]
> plot(Bildungsrate(t)*24, t=0..200):
```

```
> f1:=D(Bildungsrate):
> plot(f1(t), t=0..200):
```

Umrechnung zur Wachstumsrate

```
> Wachstumsrate:=Bildungsrate/Wachstum: #[1/h]
> plot(Wachstumsrate(t)*24, t=0..200):
```

Ableitung der Wachstumsrate zur Nullstellenbestimmung

```
f2:=D(Wachstumsrate):
> plot(f2(t), t=0..200):
```

Berechnung der PCE

```
> Absorption:=t->(ac_start+(ac_end-ac_start)*t^n/(ak^n+t^n))*Fphotonen*Areactor*86400: #[J/d]
> plot(Absorption(t), t=0..200):
```

```
> PCE:=((Bildungsrate*V*Fbiomasse*24)/Absorption)*100: #[%]
> plot(PCE(t), t=0..200):
> f3:=D(PCE):
> plot(f3(t), t=0..200):
```

Ergebnisse

Berechnung für Wachstumsraten

```
> Nullstelle:=fsolve(f2(t)=0, t=0..200); #[h]
> muemax:=Wachstumsrate(Nullstelle)*24; #[1/d]
> Biomasse:=Wachstum(Nullstelle); #[h]
```

Berechnung für Bildungsraten und PCE

```
> Nullstelle1:=fsolve(f1(t)=0, t=0..400); #[h]
> Bildungsratemax:=Bildungsrate(Nullstelle1)*24; #[g/L/d]
> Nullstelle2:=fsolve(f3(t)=0, t=0..400); #[h]
> PCEmax:=PCE(Nullstelle2); #(für LED-Licht) [%]
> PCEmaxsolar:=PCEmax*0.4; #(Tredici 2013) [%]
```