

**Modellierung der lichtabhängigen Photosynthesekinetik und  
Akklimation von Mikroalgen – Von der molekularen  
Struktur zur prozessnahen Formulierung**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines

**DOKTORS DER INGENIEURWISSENSCHAFTEN**

von der KIT-Fakultät für Chemieingenieurwesen und Verfahrenstechnik des

Karlsruher Instituts für Technologie (KIT)

genehmigte

DISSERTATION

von

M.Sc. Artem Kalinin

aus Ischewsk

Tag der mündlichen Prüfung: 17.02.2023

Erstgutachter: Prof. Dr.-Ing. Clemens Posten

Zweitgutachter: Prof. Dr. rer. nat. Christoph Syldatk



Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung -  
Weitergabe unter gleichen Bedingungen 4.0 International Lizenz (CC BY-SA 4.0):  
<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/deed.de>

*“Remember that all models are wrong;  
the practical question is how wrong  
do they have to be to not be useful.”*

**George E. P. Box (1987)**



---

# Kurzfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden das lichtabhängige Akklimatisations- und Wachstumsverhalten der Modellmikroalge *Chlorella vulgaris* unter Nährstoffsättigung auf makroskopischer Ebene charakterisiert. Die hierdurch gewonnenen Daten und Erkenntnisse dienen zusammen mit experimentellen lichtabhängigen Photosynthesekinetiken als Basis für die Entwicklung eines quasi-mechanistischen, stationären Photosynthesemodells, das auf dem Konzept einer *photosynthetic unit* aufbaut. Das Hauptziel hierbei bestand darin, ein prozessnahes Modell zu entwickeln, das die Lücke zwischen den hochkomplexen physiologischen Photosynthesemodellen sowie den üblichen prozessnahen Photosynthesemodellen, die oftmals rein empirisch und nicht ausreichend physiologisch begründet sind, schließen kann.

Weiterhin besteht bei prozessnahen Photosynthesemodellen häufig das Problem, dass für die Modellentwicklung und -validierung experimentelle Daten genutzt werden, die unter für kinetische Untersuchungen ungeeigneten Bedingungen erhoben wurden. Bei solchen Untersuchungen ist es besonders relevant, eine möglichst gleichmäßige Lichtverteilung innerhalb des entsprechenden Kultivierungs- und Messsystems zu erreichen, da eine stark ausgeprägte Lichtabnahme zu einer Maskierung und einer damit einhergehenden Verfälschung der lichtbedingten physiologischen Photosynthesekinetik führen kann. Dies konnte auch innerhalb dieser Arbeit deutlich gezeigt werden. Zudem besteht oft die Problematik, dass experimentelle Daten im Rahmen von dynamischen Batch-Kultivierungen erhoben und für die Modellbildung verwendet werden, jedoch ohne die Dynamik eines Batch-Prozesses ausreichend zu berücksichtigen. Die beiden aufgeführten Problemstellungen wurden in dieser Arbeit durch eine geeignete Prozessführung weitestgehend gelöst. Hierfür wurden jegliche Kultivierungen in beidseitig beleuchteten Flachplatten-Photobioreaktoren im kontinuierlichen Turbidostat mit optisch dünnen Kulturen von *C. vulgaris* durchgeführt. Zusätzlich wurde ein Messaufbau zur Bestimmung der oxygenen Photosyntheserate entwickelt, in dem die entsprechenden Messungen unter reaktorähnlichen Bedingungen stattfinden konnten. Durch diese Vorkehrungen konnten die Mikroalgenzellen stets in einem quasi-stationären Akklimatisationszustand untersucht werden.

Im experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass das lichtabhängige Zellwachstum von *C. vulgaris* unter Nährstoffsättigung und im photoakklimatisierten Zustand bis etwa  $87 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  durch die reine Zunahme der aktiven bzw. funktionalen Biomasse (Biomasse ohne Speicherstoffe wie Stärke oder Triacylglycerole) begründet ist. Bei dieser aktinischen Photonenflussdichte und unter den genannten Bedingungen erreicht die spezifische  $\text{NH}_4^+$ -Aufnahmerate in *C. vulgaris* scheinbar ihren Maximalwert von  $0,0087 \pm 0,0002 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ . Ab diesem Punkt erfolgt eine wesentliche Akkumulation von Kohlenhydraten, die hauptverantwortlich für die fortführende Zunahme der spezifischen Wachstumsrate von *C. vulgaris* im lichtlimitierten Bereich der Wachstumskinetik zu sein scheint. Die Lichtsättigung des Zellwachstums konnte ab etwa  $233\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  festgestellt werden. Die dabei erreichte maximale spezifische Wachstumsrate betrug  $0,1061 \pm 0,0063 \text{ h}^{-1}$ . Eine effektiv sichtbare Photoinhibierung und die damit verbundene Abnahme des lichtakklimatisierten Wachstums von *C. vulgaris* konnten selbst bei einer Photonenflussdichte von  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nicht eindeutig identifiziert werden. Die maximale photonenspezifische Biomasseausbeute von  $1,043 \pm 0,062 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  konnte nur im

Bereich geringer Lichtintensitäten von  $39\text{-}57\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  erreicht werden. Die lichtbedingte Induktion der Kohlenhydratakkumulation ging mit einer parallelen Abnahme der photonenspezifischen Biomasseausbeute einher. Diese Abnahme wurde in ihrer Ausprägung ab dem Erreichen des lichtgesättigten Zellwachstums von *C. vulgaris* deutlich verstärkt. Die geringste photonenspezifische Biomasseausbeute von  $0,376 \pm 0,003\ \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  wurde bei  $1436\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  erfasst. Anhand der Messungen von schnellen lichtabhängigen Photosynthesekinetiken, die eine Bestimmung der gesamten Leistungskapazität des Photosyntheseapparates im jeweiligen Akklimatisationszustand ermöglichen, konnte zudem gezeigt werden, dass die Lichtsättigung des Zellwachstums von *C. vulgaris* wahrscheinlich nicht durch eine Auslastung des  $\text{CO}_2$ -Fixierungsapparates hervorgerufen wird. Dies gilt zumindest für die Gehalte von  $0,2\text{-}2\ \%$  (v/v)  $\text{CO}_2$  in der Zuluft. Demnach erscheint es wahrscheinlich, dass eine andere zelluläre Limitierung unter solch hohen  $\text{CO}_2$ -Gehalten die Lichtsättigung des photoakklimatisierten Zellwachstums von *C. vulgaris* bewirkt. Eine mögliche Limitierung ist hierbei die begrenzte Größe des Proteoms, da *C. vulgaris* scheinbar nicht in der Lage ist, die Proteinmenge mit zunehmenden Photonendichten zu steigern.

In Bezug auf die lichtbedingte Akklimatisation des Photosyntheseapparates von *C. vulgaris* konnte mithilfe experimentell ermittelter Chlorophyllgehalte und auf Literaturdaten basierenden Berechnungen gezeigt werden, dass die beiden Photosysteme sowohl in ihrer Größe (Anzahl der Lichtsammelkomplexe pro Reaktionszentrum) als auch in ihrer Anzahl in Abhängigkeit der Lichtverfügbarkeit variieren. Dabei hat sich ergeben, dass die Komplexgrößen der beiden Photosysteme zwischen  $39\text{-}193\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nahezu unverändert bleiben und erst danach deutlich abzunehmen scheinen. Im Vergleich dazu scheinen die Anzahlen der Photosysteme II und I stetig mit steigenden Photonendichten zu sinken. Trotz dieses lichtabhängigen Akklimatisationsverhaltens des photosynthetischen Apparates von *C. vulgaris* konnte mithilfe von Fluorimetriemessungen festgestellt werden, dass die Abnahme der Effizienz des Photosystems II und die daran gekoppelte Zunahme der Energiedissipation an jenen Komplexen mit steigenden Lichtintensitäten unvermeidbar zu sein scheinen. So sinken die experimentellen  $F_v/F_m$ - und  $F'_v/F'_m$ -Werte von jeweils  $0,7656 \pm 0,0034$  und  $0,7511 \pm 0,0030$  bei  $39\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  auf jeweils  $0,6849 \pm 0,0193$  und  $0,6071 \pm 0,0270$  bei  $1436\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ab, während die entsprechenden NPQ-Werte von  $0,0828 \pm 0,0077$  auf  $0,4106 \pm 0,0577$  ansteigen. Auch in diesem Fall wurde erst ab etwa  $233\text{-}267\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  eine deutliche Verschlechterung der Effizienz von Photosystem II verzeichnet, die bis ca.  $193\text{-}233\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nahezu gleichbleibend hoch war.

Für die Entwicklung des zuvor erwähnten Photosynthesemodells war es wichtig, den Reaktionsschritt zu identifizieren, der die maximale Photosyntheserate im jeweiligen photoakklimatisierten Zustand von *C. vulgaris* definiert. Für diesen Zweck wurden schnelle lichtabhängige Photosynthesekinetiken herangezogen, mithilfe derer gezeigt werden konnte, dass die Leistung des  $\text{CO}_2$ -Fixierungsapparates die maximale Leistungskapazität des gesamten Photosyntheseapparates auch bei hohen  $\text{CO}_2$ -Gehalten in der Zuluft von  $0,2\text{-}2\ \%$  (v/v) determiniert. Zusätzlich konnte aus diesen Messungen abgeleitet werden, dass eine Rückkopplung zwischen der Lichtabsorption an einem Photosystem II und dem nachgeschalteten  $\text{CO}_2$ -Fixierungsapparat besteht. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen, wurde der Photosyntheseapparat durch zwei miteinander gekoppelte Reaktionsschritte modelliert. Dabei bildete die Lichtabsorption am Photosystem II den ersten Reaktionsschritt, der hauptsächlich den lichtlimitierten Bereich der lichtabhängigen

Photosynthesekinetik definiert. Der nachgeschaltete zweite Reaktionsschritt wurde durch die von der Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase/-oxygenase katalysierte Carboxylierungsreaktion repräsentiert und als determinierend für die maximale Photosyntheserate festgelegt. Die Kopplung der beiden Reaktionsschritte erfolgte über den Plastochinon-Pool, der in diesem Fall als ein Elektronenspeicher fungiert.

Unter zusätzlicher Berücksichtigung der Photoakklimatisation von *C. vulgaris* durch die damit verknüpften Modellparameter konnte gezeigt werden, dass das in dieser Arbeit entwickelte Photosynthesemodell schnelle lichtabhängige Photosynthesekinetiken besser beschreiben kann als die herangezogenen und ebenfalls auf dem Konzept der *photosynthetic unit* basierende Referenzmodelle. Hierfür wurden schnelle lichtabhängige Photosynthesekinetiken der *C. vulgaris* Zellen, die jeweils an 42, 233 und 1423  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  akklimatisiert wurden, verwendet, um die kinetischen Modellparameter zu schätzen und die Anpassungsgüte des jeweiligen Modells zu bestimmen. Die dabei berechneten Akaike-Gewichte haben ergeben, dass das in dieser Arbeit erstellte Photosynthesemodell mit einer Wahrscheinlichkeit von ca. 99 % die Photosynthesekinetiken der jeweils an 42 und 233  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  akklimatisierten *C. vulgaris* Zellen besser als die Referenzmodelle beschreiben kann. Bei den an 1423  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  akklimatisierten Mikroalgenzellen fiel diese Wahrscheinlichkeit mit ca. 14 % deutlich geringer aus, wobei jedoch alle untersuchten Modelle keine zufriedenstellenden Ergebnisse hierbei liefern konnten. Außerdem wurde untersucht, inwieweit das eigene kalibrierte Photosynthesemodell die operativen Photosyntheseraten bei unterschiedlichen lichtbedingten Akklimatisationszuständen von *C. vulgaris* vorhersagen kann. Das Ergebnis dieser Untersuchung war, dass in diesem Fall die Vorhersagegenauigkeit des Modells insgesamt zufriedenstellend ausfällt ( $R^2$ : 0,9688; normierter *root mean square error*: 11,74 %; normierter *mean bias error*: -9,76 %).

Damit konnte gezeigt werden, dass das in dieser Arbeit entwickelte Photosynthesemodell eine gute Grundlage für weitere Modellierungsarbeiten in diesem Arbeitsfeld darstellt. Zudem könnte es als ein Ausgangspunkt für die Modellierung des Metabolismus der Mikroalgen dienen. Das erstellte Photosynthesemodell basiert auf tiefgreifenden physiologischen Erkenntnissen und ist gleichzeitig so weit vereinfacht, dass es prinzipiell auch im Kontext der Prozessoptimierung eingesetzt werden könnte. Hierfür müsste es jedoch um weitere Aspekte, wie bspw. die Dynamik der zellulären Akklimatisationsprozesse, erweitert und in ein Multiphysik-Modell eingebunden werden.



---

# Abstract

In this work, the light-dependent acclimation and growth behavior of the model microalgae *Chlorella vulgaris* under nutrient saturating conditions were investigated at the macroscopic scale. The data and insights obtained thereby, together with experimental light-dependent photosynthetic kinetics, served as the basis for the development of a quasi-mechanistic steady-state photosynthetic model, which is founded on the concept of a photosynthetic unit. The main objective hereby was to establish a process-oriented model that can bridge the gap between the highly complex physiological photosynthetic models and the common process-oriented photosynthetic models, which are often purely empirical and not sufficiently justified from a physiological point of view.

Furthermore, in the case of process-oriented photosynthetic models it is not uncommon to use experimental data collected under conditions unsuitable for kinetic studies and to use these data for model development as well as model validation. In kinetic studies, it is particularly important to achieve a light distribution within the corresponding cultivation and measurement systems that is as uniform as possible, since a strongly pronounced light gradient could mask and distort the light-induced physiological photosynthetic kinetics, which was clearly demonstrated in this work. In addition, there is often the issue that experimental data are obtained during dynamic batch cultivations and used for model development, without adequately accounting for the dynamics of a batch process. These two problems were mostly overcome in this thesis by implementing appropriate process conditions and controls. In this context, all cultivations were performed in flat panel photobioreactors illuminated from both sides with optically thin cultures of *C. vulgaris*. Moreover, a measurement setup for the determination of the oxygenic photosynthetic rate was constructed, in which the corresponding measurements could be performed under photobioreactor-like conditions. Due to these precautions, the microalgal cells could always be investigated in a quasi-stationary acclimation state.

In the experimental part of the present thesis, it could be shown that the light-dependent, photoacclimated cell growth of *C. vulgaris* under nutrient saturation is the result of the mere increase of active/functional biomass (biomass without any storage compounds such as starch or triacylglycerols), at least up to a photon flux density of approximately  $87 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . At this actinic photon flux density and under the mentioned conditions, the specific  $\text{NH}_4^+$  uptake rate of *C. vulgaris* seems to reach the maximum value of  $0.0087 \pm 0.0002 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ . From this point on, a substantial accumulation of carbohydrates occurs, which appears to be mainly responsible for the progressive rise of the specific growth rate of *C. vulgaris* in the light-limited region of the growth kinetics. The light saturation of the cell growth could be detected upwards of approximately  $233\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . The maximum specific growth rate observed in this case equaled  $0.1061 \pm 0.0063 \text{ h}^{-1}$ . An apparent photoinhibition and the associated decrease in the photoacclimated growth of *C. vulgaris* could not be unambiguously identified even at a photon flux density of  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . The maximum photon-specific biomass yield of  $1.043 \pm 0.062 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  could only be observed in the range of low light intensities of about  $39\text{-}57 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . The light-dependent induction of carbohydrate accumulation was accompanied by a decrease in the photon-specific biomass yield. This decline became even more severe from the point at which

*C. vulgaris* reached light-saturated cell growth. The lowest photon-specific biomass yield of  $0.376 \pm 0.003 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  was recorded at  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Using fast light-dependent photosynthetic kinetics, which enable the determination of the total performance of the photosynthetic apparatus in the respective acclimation state, it could be shown that the light-saturation of the cell growth of *C. vulgaris* is probably not caused by the exhaustion of the capacity of the  $\text{CO}_2$ -fixation apparatus. This seems to be true at least for a  $\text{CO}_2$ -content of 0.2-2 % (v/v) in the supply air. Consequently, it appears likely that another cellular constraint under such high  $\text{CO}_2$ -levels is responsible for the light-saturation of *C. vulgaris* photoacclimated cell growth. A potential limitation in this regard is the finite proteome size, as *C. vulgaris* does not seem to be able to increase the protein levels with increasing photon flux densities.

Regarding the light-induced acclimation of the photosynthetic apparatus of *C. vulgaris*, it could be shown with the help of experimentally determined chlorophyll contents and computations based on literature data that the two photosystems vary both in their respective size (number of light-harvesting complexes per reaction center) and in their respective abundance depending on light availability. This revealed that the complex sizes of the two photosystems remain almost constant between  $39\text{-}193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  and only appear to decrease substantially thereafter. In comparison, the quantities of both photosystems appear to decline continuously with rising photon flux densities. Despite this light-dependent acclimation of the photosynthetic apparatus of *C. vulgaris*, fluorimetry measurements showed that the decrease in the efficiency of photosystem II and the associated increase in energy dissipation at those complexes seem to be inevitable with rising light intensities. Thus, in range of  $39\text{-}1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , the respective experimental values of  $F_v/F_m$  and  $F'_v/F'_m$  decreased from  $0.7656 \pm 0.0034$  and  $0.7511 \pm 0.0030$  to  $0.6849 \pm 0.0193$  and  $0.6071 \pm 0.0270$ . Simultaneously, the corresponding NPQ values increased from  $0.0828 \pm 0.0077$  to  $0.4106 \pm 0.0577$ . Also in this case, a considerable deterioration in the efficiency of photosystem II was first detected from  $233\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  upwards. Up to approximately  $193\text{-}233 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  the photosystem II efficiency remained almost constant.

For the development of the aforementioned photosynthetic model, it was crucial to identify the reaction step that defines the maximum photosynthetic rate in the respective photoacclimated state of *C. vulgaris*. For this purpose, fast light-dependent photosynthetic kinetics were used to demonstrate that the performance of the  $\text{CO}_2$ -fixation apparatus governs the maximum performance of the entire photosynthetic apparatus even at high  $\text{CO}_2$ -contents in the supply air of 0.2-2 % (v/v). Moreover, it could be deduced from these measurements that there is feedback between the light absorption at the photosystem II and the  $\text{CO}_2$ -fixation apparatus located further downstream. Based on these findings, the photosynthetic apparatus was modeled by two coupled reaction steps. Thereby, the light absorption at the photosystem II represents the first reaction step, which mainly defines the light-limited region of the light-dependent photosynthetic kinetics. The second reaction step is represented by the carboxylation reaction catalyzed by Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase and is assumed to be determinant for the maximum photosynthetic rate. These two reaction steps are considered to be coupled via the plastoquinone pool, which in this instance serves as an electron storage.

By additionally incorporating the photoacclimation of *C. vulgaris* through the associated model parameters, it could be shown that the photosynthetic model developed in this work is superior to the reference models, which are also based on the photosynthetic unit concept, with respect to

the description of fast light-dependent photosynthetic kinetics. Herein, fast light-dependent photosynthetic kinetics of *C. vulgaris* acclimated to 42, 233 and 1423  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectively, were employed to estimate the kinetic model parameters and assess the goodness of fit of each model. The computation of the so-called Akaike weights revealed that the probability of the photosynthetic model developed in this thesis being the best suited of the considered models to describe the photosynthetic kinetics of *C. vulgaris* acclimated to 42 and 233  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , respectively, is about 99 %. In the case of microalgal cells acclimated to 1423  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , this probability declined to about 14 %, although all examined models failed to provide satisfactory results in this respect. Furthermore, the extent to which the here developed and calibrated model can predict the operational photosynthetic rates at various photoacclimated states of *C. vulgaris* was investigated. This investigation indicated an overall satisfactory predictive performance of the model developed in this work ( $R^2$ : 0.9688; normalized root mean square error: 11.74 %; normalized mean bias error: -9.76 %).

Thus, it could be shown that the photosynthetic model presented here provides a sound foundation for further modeling work in this research field. In addition, it could serve as a starting point for the modeling of the microalgal metabolism. The photosynthetic model created in this work is based on profound physiological knowledge and, at the same time, is simplified to such an extent that it could be applied in the context of cultivation process optimization. For this purpose, however, it would have to be extended to include further aspects, such as the dynamics of cellular acclimation processes, and integrated into a comprehensive Multiphysics model.



---

# Inhaltsverzeichnis

<b>Kurzfassung</b> .....	<b>I</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>V</b>
<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>IX</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>XIII</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>XVII</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>XIX</b>
<b>Symbolverzeichnis</b> .....	<b>XXI</b>
<b>Vorwort</b> .....	<b>XXVII</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1 Ausgangssituation .....	1
1.2 Zielsetzung der Arbeit.....	2
<b>2 Theoretische Grundlagen</b> .....	<b>5</b>
2.1 Die Grünalge <i>Chlorella vulgaris</i> .....	5
2.2 Oxygene Photosynthese in Mikroalgen.....	5
2.2.1 Lichtabsorption durch photosynthetische Lichtsammelkomplexe .....	6
2.2.2 Lichtreaktion der oxygenen Photosynthese .....	9
2.2.3 Dunkelreaktion der oxygenen Photosynthese .....	14
2.3 Metabolismus und makromolekulare Zellzusammensetzung von Mikroalgen .....	17
2.4 Respiration und Energieversorgung des Metabolismus von Mikroalgen unter Lichteinstrahlung .....	21
2.5 Photoautotrophe Kultivierung von Mikroalgen .....	22
2.5.1 Lichtkinetik des photoautotrophen Wachstums .....	22
2.5.2 Lichtverhältnisse in einem Flachplatten-Photobioreaktor und Prozessführungsstrategien zur Bestimmung der lichtabhängigen Photosynthesekinetik .....	24
2.5.3 Anpassungsstrategien der Mikroalgen an variierende Umweltbedingungen .....	27
2.6 Modellierungsansätze .....	32
2.6.1 Modellierung der optischen Eigenschaften von Mikroalgenzellen.....	32
2.6.2 Modellierung des Lichteintrages in Photobioreaktoren .....	34
2.6.3 Modellierung der stationären Photosynthesekinetik im bioverfahrenstechnischen Kontext .....	37
2.6.4 Optimale Allokation eines endlichen Proteoms als Basis der Zellakklimatisation .....	42
<b>3 Material und Methoden</b> .....	<b>45</b>
3.1 Mikroalgenkultivierung .....	45

3.1.1	Verwendete Kulturmedien .....	45
3.1.2	Stammhaltung und Vorkulturführung .....	46
3.1.3	Kultivierung in Flachplatten-Photobioreaktoren .....	46
3.1.4	Probenahme und Probenlagerung.....	49
3.2	Experimentelle Untersuchungen .....	50
3.2.1	Untersuchung des Lichteinflusses auf <i>Chlorella vulgaris</i> .....	50
3.2.2	Untersuchung des CO <sub>2</sub> -Einflusses auf <i>Chlorella vulgaris</i> .....	51
3.3	Analytische Methoden .....	52
3.3.1	Quantifizierung der Biotrockenmasse .....	52
3.3.2	Quantifizierung der Pigmente .....	53
3.3.3	Quantifizierung der Kohlenhydrate.....	54
3.3.4	Quantifizierung der Proteine .....	54
3.3.5	Messung der oxygenen Photosyntheserate .....	55
3.3.6	Pulsamplitudenmodulation-Fluorimetriemessungen .....	58
3.3.7	Experimentelle Bestimmung der massenspezifischen <i>in vivo</i> Absorptionsquerschnitte.....	60
3.4	Mathematische Modellierung und Berechnungen .....	62
3.4.1	Modellierung der optischen Zelleigenschaften sowie des Lichtprofils in Apparaten mit einer Flachplattengeometrie .....	62
3.4.2	Approximation der Lichtsammelkomplexgröße ausgehend vom makroskopischen Pigmentgehalt.....	66
3.4.3	Berechnung statistischer Kennzahlen zur Beurteilung der Modellgüte .....	68
<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion .....</b>	<b>71</b>
4.1	Charakterisierung der lichtabhängigen Akklimatisation von <i>Chlorella vulgaris</i> .....	71
4.1.1	Einfluss der Photonenflussdichte auf die spezifische Wachstumsrate und -effizienz .....	71
4.1.2	Einfluss der Photonenflussdichte auf den Photosyntheseapparat .....	75
4.1.3	Einfluss der Photonenflussdichte auf die Zellkomposition .....	100
4.2	Charakterisierung des Einflusses der CO <sub>2</sub> -Verfügbarkeit auf <i>Chlorella vulgaris</i> .....	110
4.2.1	Untersuchung der Limitierung der maximalen Photosyntheseleistung von <i>Chlorella vulgaris</i> .....	110
4.2.2	Untersuchung der Limitierung des lichtgesättigten Wachstums von <i>Chlorella vulgaris</i> im akklimatisierten Zustand .....	113
4.2.3	Akklimatisation von <i>Chlorella vulgaris</i> in Abhängigkeit der CO <sub>2</sub> - Verfügbarkeit .....	116
4.3	Mechanistische Modellierung der stationären Photosynthesekinetik .....	123
4.3.1	Bestimmung der Modellparameter .....	132
4.3.2	Untersuchung des Einflusses des Lichtprofils auf die lichtabhängige stationäre Photosynthesekinetik .....	146
4.3.3	Untersuchung des Einflusses der Modellparameter auf die lichtabhängige stationäre Photosynthesekinetik .....	150
4.3.4	Modellvalidierung mithilfe lichtabhängiger operativer Photosyntheseraten von <i>Chlorella vulgaris</i> im stationären photoakklimatisierten Zustand .....	158

---

4.4 Modellierung der Allokation eines endlichen photosynthetischen Proteoms in Abhängigkeit der Photonenflussdichte.....	162
4.4.1 Auswirkungen der Annahme eines endlichen Proteoms auf die Anteile der Komponenten des entwickelten photosynthetischen Modells .....	164
<b>5 Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>173</b>
<b>6 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>177</b>
<b>Anhang.....</b>	<b>201</b>
A.1 Studentische Abschlussarbeiten .....	201
A.2 Lichtspektren der verwendeten LED-Module .....	202
A.3 Kalibriergeraden der Fluorimeter-LEDs .....	203
A.4 Beispielkurven aus Pulsamplitudenmodulation-Fluorimetriemessungen .....	204
A.5 Bildbasierte Zellgrößenanalyse .....	206
A.6 Typische Zellkomposition von <i>Chlorella vulgaris</i> .....	210
A.7 Aminosäureprofil der Photosysteme II und I .....	214
A.8 Zentrale MATLAB®-Skripte.....	217



---

# Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1: Massenspezifische <i>in vivo</i> Absorptionsquerschnitte von Chla und Chlb sowie den photoprotektiven und photosynthetischen Car [44,45].	6
Abbildung 2.2: Mögliche Energiepfade nach der Absorption eines Lichtquants durch ein Chlorophyll in einem LHC-RC-Komplex [1].	7
Abbildung 2.3: Schematische Darstellung der photosynthetischen ETK nach [1].	10
Abbildung 2.4: Z-Schema des photosynthetischen Elektronentransportes nach [1,73].	11
Abbildung 2.5: Schematische Darstellung der CO <sub>2</sub> -Fixierung im Calvin-Zyklus nach [1].	15
Abbildung 2.6: Schematische, stark vereinfachte Übersicht des zentralen Kohlenstoffmetabolismus der Mikroalgen nach [113,130].	18
Abbildung 2.7: Beispiel einer typischen PI-Kurve nach [1].	23
Abbildung 2.8: Beispielhafter Verlauf des Lichtprofils in einem Flachplatten-Photobioreaktor, inklusive der daraus resultierenden, lokalen Wachstumsraten.	25
Abbildung 2.9: Beispielhafter Vergleich der Lichtverläufe in einem einseitig und einem beidseitig beleuchteten Flachplatten-Photobioreaktor.	26
Abbildung 2.10: Schematische Darstellung der Auswirkung des <i>self-shading</i> Effektes auf den Chlorophyll-spezifischen Absorptionsquerschnitt.	29
Abbildung 2.11: Schematischer Aufbau des PSU-Modells nach Han [27].	40
Abbildung 3.1: Schematischer Aufbau der verwendeten 1 L Flachplatten-Photobioreaktoren.	47
Abbildung 3.2: Schematische Darstellung des Messaufbaus zur Bestimmung der oxygenen Photosyntheserate.	55
Abbildung 3.3: Schematischer Aufbau des Modells zur Bestimmung der optischen Zelleigenschaften von <i>C. vulgaris</i> und des Lichtprofils in den verwendeten Flachplatten-Photobioreaktoren sowie der verwendeten Photosyntheserate-Messzelle.	65
Abbildung 4.1: Lichtabhängige stationäre Wachstumskinetik der Grünalge <i>C. vulgaris</i> .	72
Abbildung 4.2: Lichtabhängiger Verlauf der effektiven photonenspezifischen Biomasseausbeute ( $y_{BTM,hv}^*$ ).	73
Abbildung 4.3: Die lichtabhängigen Verläufe der BTM-spezifischen Gehalte von Chla, Chlb und Car.	75
Abbildung 4.4: Lichtabhängige Variation des $w_{Chla}/w_{Chlb}$ -Verhältnisses und der jeweiligen LHC-RC-Komplexgröße in <i>C. vulgaris</i> .	80
Abbildung 4.5: Anzahl der jeweiligen LHC-RC-Komplexe in Abhängigkeit der vorliegenden PPF. D.	83

Abbildung 4.6: Vergleich der gemessenen und mittels Lorenz-Mie-Theorie bestimmten Absorptionsquerschnitte.....	87
Abbildung 4.7: Mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie ermittelten <i>in vivo</i> Absorptionsquerschnitte in Abhängigkeit der lichtbedingten Akklimatisationszustände der Grünalge <i>C. vulgaris</i> .....	90
Abbildung 4.8: <i>In vivo</i> Absorptionsquerschnitte der beiden photosynthetischen Komplexe LHCII-RCII und LHCI-RCI in Abhängigkeit der PPFD und des daraus resultierenden Akklimatisationszustandes.....	92
Abbildung 4.9: Aus den Fluoreszenzmessungen abgeleitete Parameter zur Charakterisierung des RCII.....	94
Abbildung 4.10: Entsprechend dem JIP-Test (nach [293]) berechnete Parameter.....	98
Abbildung 4.11: Abhängigkeit der Zellzusammensetzung vom lichtbedingten Akklimatisationszustand von <i>C. vulgaris</i> .....	101
Abbildung 4.12: Berechnete BTM-spezifische $\text{NH}_4^+$ -Aufnahmeraten von <i>C. vulgaris</i> in Abhängigkeit der PPFD.....	104
Abbildung 4.13: Berechnete Protein- und Pigmentgehalte bezogen auf die aktive bzw. funktionale Biomasse von <i>C. vulgaris</i> .....	106
Abbildung 4.14: Auf die aktive Biomasse bezogener Gesamtproteingehalt sowie der Anteil der photosynthetischen Proteinkomplexe am Gesamtprotein in Abhängigkeit der PPFD.....	108
Abbildung 4.15: Einfluss einer plötzlichen Absenkung des $\text{CO}_2$ -Gehaltes im Zugas auf die Photosynthesekinetik von <i>C. vulgaris</i> .....	111
Abbildung 4.16: $\text{CO}_2$ -abhängige Wachstumskinetik von <i>C. vulgaris</i> (A) sowie die nicht-akklimatisierten bzw. schnellen PI-Kurven der jeweiligen $\text{CO}_2$ -abhängigen Zellzustände (B).....	115
Abbildung 4.17: Aufgenommene nicht-akklimatisierte bzw. schnelle PI-Kurven zur Untersuchung der $\text{CO}_2$ -abhängigen Zellakklimatisation von <i>C. vulgaris</i> .....	118
Abbildung 4.18: $\text{CO}_2$ -bedingte Variation der Zellkomposition von an den jeweiligen $\text{CO}_2$ -Gehalt akklimatisierten <i>C. vulgaris</i> Zellen.....	120
Abbildung 4.19: Aus den Fluoreszenzmessungen abgeleitete Parameter zur Charakterisierung des operativen $\text{CO}_2$ -abhängigen RCII-Zustandes.....	122
Abbildung 4.20: Schematischer Aufbau des PSU-Modells mit zwei nacheinander geschalteten, limitierenden Reaktionsschritten.....	125
Abbildung 4.21: Schematische Darstellung des Gesamtmodells zur Beschreibung der stationären, lichtabhängigen Photosynthesekinetik mit den zentralen Modellkomponenten.....	132
Abbildung 4.22: Darstellung des PPFD-abhängigen Verlaufes von $\varphi_{RCII}$ (entspricht $F'_v/F'_m$ ) sowie der angepassten logistischen Regressionsfunktion (durchgängige Linie).....	133
Abbildung 4.23: PPFD-abhängiger Verlauf der RCII-spezifischen Anzahl von RuBisCO ( $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ ).....	135

Abbildung 4.24:	Gemessene und simulierte nicht-akklimatisierte bzw. schnelle PI-Kurven der NL-, ML- bzw. HL-akklimatisierten <i>C. vulgaris</i> Zellen.....	139
Abbildung 4.25:	PPFD-bedingte Variation der PSU-Komponentenanteile $x_{RCII,gs}$ , $x_{RCII,es}$ , $x_{PQ,gs}$ und $x_{PQ,es}$ sowie der Rate $r_{PSU,diss,tot}$ bei unterschiedlichen, lichtbedingten Akklimationszuständen von <i>C. vulgaris</i> .....	145
Abbildung 4.26:	Einfluss des Lichtprofils innerhalb der Messzelle auf die effektiv sichtbare, lichtabhängige Photosynthesekinetik von <i>C. vulgaris</i> .....	148
Abbildung 4.27:	Einfluss des Produktes der Modellparameter $\phi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$ auf die Photosynthesekinetik sowie die Anteile der jeweiligen PSU-Komponenten.....	152
Abbildung 4.28:	Einfluss des Produktes der Modellparameter $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ auf die Photosynthesekinetik sowie die Anteile der jeweiligen PSU-Komponenten.....	154
Abbildung 4.29:	Einfluss von $n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ auf die relative lichtabhängige Photosynthesekinetik von <i>C. vulgaris</i> .....	155
Abbildung 4.30:	Einfluss des Produktes der Modellparameter $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ auf die Photosynthesekinetik sowie die Anteile der jeweiligen PSU-Komponenten. ....	157
Abbildung 4.31:	Ergebnis der Validierung des in dieser Arbeit erstellten PSU-Modells anhand operativer Photosyntheseraten bei unterschiedlichen, PPFD-bedingten Akklimationszuständen von <i>C. vulgaris</i> .....	159
Abbildung 4.32:	Aus der Simulation der lichtabhängigen Allokation eines endlichen photosynthetischen Proteoms resultierende Photosyntheseraten. ....	165
Abbildung 4.33:	Aus der Simulation der lichtabhängigen Allokation eines endlichen photosynthetischen Proteoms resultierenden Verläufe der PSU-Komponentenanteile. ....	167
Abbildung 4.34:	Die simulationsbasierten RCII-spezifischen LHCII- und RuBisCO-Anzahlen in Abhängigkeit von $I_{PAR}$ .....	168
Abbildung 4.35:	Modellbasierte Vorhersage der Überexpressionsfaktoren von RCII und RuBisCO in Abhängigkeit von $I_{PAR}$ .....	170



---

# Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.1:	Zusammensetzung der verwendeten Kulturmedien (TP- und P-Medium). .....	45
Tabelle 3.2:	Einstellungen des PAM-Fluorimeters zur Analyse der Chlorophyll-Fluoreszenzlöschung.....	58
Tabelle 3.3:	Aus der Analyse der Chlorophyll-Fluoreszenzlöschung abgeleitete Parameter nach [46,47]. .....	59
Tabelle 3.4:	Parameter des JIP-Tests und ihre Definitionen [287–292] mit der an [293] angelehnten Nomenklatur.....	60
Tabelle 3.5:	Einstellungen des PAM-Fluorimeters zur Ermittlung der Chlorophyll-Fluoreszenztransienten.....	60
Tabelle 4.1:	Ermittelte Anpassungsparameter der logistischen Funktion (Gleichung 4.3) zur Beschreibung der stationären Pigmentgehalte in Abhängigkeit der PPFD. ....	76
Tabelle 4.2:	Auflistung statistischer Parameter zur Quantifizierung der Abweichung zwischen experimentellen und berechneten Chla/Chlb-Verhältnissen. ....	81
Tabelle 4.3:	Untersuchte Akklimatisationszustände sowie zur Berechnung der Absorptionsquerschnitte genutzte Pigmentgehalte. ....	87
Tabelle 4.4:	Auflistung statistischer Parameter zur Evaluation der Eignung der Lorenz-Mie-Theorie zur Bestimmung BTM-spezifischer <i>in vivo</i> Absorptionsquerschnitte in <i>C. vulgaris</i> . ....	89
Tabelle 4.5:	Auflistung der Stickstoffgehalte der hauptsächlichen Zellkomponenten in <i>C. vulgaris</i> . ....	104
Tabelle 4.6:	Modellparameter der an den PPFD-abhängigen Verlauf von $\phi_{RCII}$ bzw. $F_v/F_m$ angepassten logistischen Funktion (Gleichung 4.3). ....	134
Tabelle 4.7:	Übersicht der berechneten bzw. definierten, akklimatisationsabhängigen Modellparameter. ....	137
Tabelle 4.8:	Anhand der nicht-akklimatisierten bzw. schnellen PI-Kurven geschätzte Modellparameter des im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Modells sowie des PSU-Modells nach Han [27] (mit und ohne Photoinhibierung). ....	140
Tabelle 4.9:	Statistische Parameter zur Quantifizierung der Anpassungsgüte der drei untersuchten Photosynthesemodelle. ....	141
Tabelle 4.10:	Auflistung statistischer Parameter zur quantitativen Evaluierung der Modellvorhersagen der operativen Chlorophyll-spezifischen Netto-Photosyntheseraten. ....	160



# Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Definition
<b>ID</b>	eindimensional
<b>a.u.</b>	willkürliche Einheit (englisch: <i>arbitrary unit</i> )
<b>AEF</b>	alternativer Elektronenfluss
<b>AIC</b>	Akaike-Informationskriterium
<b>AIC<sub>c</sub></b>	für kleine Probenmengen angepasstes Akaike-Informationskriterium
<b>BSA</b>	Bovines Serumalbumin
<b>BTM</b>	Biotrockenmasse
<b>BVT</b>	Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik – Bioverfahrenstechnik
<b>Car</b>	Carotinoid
<b>Chla</b>	Chlorophyll a
<b>Chlb</b>	Chlorophyll b
<b>CoA</b>	Coenzym A
<b>Cyt <i>b<sub>6f</sub></i></b>	Cytochrom <i>b<sub>6f</sub></i>
<b>Cyt <i>c<sub>6</sub></i></b>	Cytochrom <i>c<sub>6</sub></i>
<b>DET</b>	Dexter-Energietransfer
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxid
<b>DNS</b>	Desoxyribonukleinsäure
<b>DO</b>	Gelöstsauerstoff (englisch: <i>dissolved oxygen</i> )
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraacetat
<b>ETK</b>	Elektronentransportkette
<b>Fd</b>	Ferredoxin
<b>FNR</b>	Ferredoxin-NADP-Reduktase
<b>FRET</b>	Förster-Resonanzenergietransfer
<b>GAP</b>	Glycerinaldehyd-3-phosphat
<b>HL</b>	hohe Lichtintensität
<b>I</b>	Lichtintensität
<b>I<sub>k</sub></b>	Lichtkompensationspunkt
<b>IR</b>	Infrarot
<b>I<sub>s</sub></b>	Lichtsättigungspunkt
<b>KKM</b>	Kohlenstoff-konzentrierende Mechanismen
<b>LED</b>	Leuchtdiode (englisch: <i>light-emitting diode</i> )
<b>LEF</b>	linearer Elektronenfluss
<b>LHCI</b>	Lichtsammelkomplex des Photosystems I (englisch: <i>light-harvesting complex</i> )
<b>LHCII</b>	Lichtsammelkomplex des Photosystems II (englisch: <i>light-harvesting complex</i> )
<b>LS</b>	Methode der kleinsten Quadrate (englisch: <i>least squares</i> )
<b>MBE</b>	<i>mean bias error</i>
<b>MFC</b>	Massendurchflussmesser (englisch: <i>mass flow controller</i> )
<b>ML</b>	mittlere Lichtintensität
<b>NL</b>	niedrige Lichtintensität
<b>nMBE</b>	auf den arithmetischen Mittelwert normalisierter <i>mean bias error</i>
<b>NPQ</b>	<i>non-photochemical quenching</i>
<b>nRMSE</b>	auf den arithmetischen Mittelwert normalisierter <i>root mean square error</i>
<b>OD</b>	Optische Dichte
<b>OEC</b>	sauerstoffproduzierender Komplex (englisch: <i>oxygen-evolving complex</i> )
<b>P</b>	Photosyntheserate

<b>PAR</b>	photosynthetisch aktive Region
<b>PBS</b>	phosphatgepufferte Salzlösung (englisch: <i>phosphate-buffered saline</i> )
<b>PDMS</b>	Polydimethylsiloxan
<b>PCE</b>	Photonenkonversionseffizienz
<b>PES</b>	Polyethersulfon
<b>PFD</b>	Photonenflussdichte
<b>3-PGA</b>	3-Phosphoglycerat
<b>Phe</b>	Pheophytin
<b>P<sub>max</sub></b>	maximale Photosyntheserate
<b>P-Medium</b>	Phosphat-Medium
<b>PPFD</b>	photosynthetisch aktive Photonenflussdichte
<b>PQ</b>	Plastochinon
<b>pq</b>	photosynthetischer Quotient
<b>PQH<sub>2</sub></b>	Plastochinol
<b>PS</b>	Polystyrol
<b>PSI</b>	Photosystem I
<b>PSII</b>	Photosystem II
<b>PTFE</b>	Polytetrafluorethylen
<b>Q<sub>A</sub></b>	festgebundenes Plastochinon im Reaktionszentrum II
<b>Q<sub>B</sub></b>	locker gebundenes Plastochinon im Reaktionszentrum II
<b>R<sup>2</sup></b>	Bestimmtheitsmaß
<b>RCI</b>	Reaktionszentrum I
<b>RCII</b>	Reaktionszentrum II
<b>RCII<sub>gs</sub></b>	Reaktionszentrum II im Grundzustand
<b>RCII<sub>es</sub></b>	Reaktionszentrum II im angeregten Zustand
<b>RGB</b>	roter, grüner und blauer Farbkanal
<b>RMSE</b>	<i>root mean square error</i>
<b>RNS</b>	Ribonukleinsäure
<b>ROS</b>	reaktive Sauerstoffspezies
<b>RTE</b>	Strahlungstransfergleichung (englisch: <i>radiative transfer equation</i> )
<b>RuBisCO</b>	Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase/-oxygenase
<b>SDS</b>	Natriumdodecylsulfat (englisch: <i>sodium dodecyl sulfate</i> )
<b>SQR</b>	Residuenquadratsumme
<b>SQT</b>	totale Quadratsumme
<b>TAG</b>	Triacylglycerol
<b>TAP-Medium</b>	Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Acetat-Phosphat-Medium
<b>TP-Medium</b>	Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Phosphat-Medium
<b>TRIS</b>	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
<b>WWZ</b>	Wasser-Wasser-Zyklus
<b>Y<sub>Z</sub></b>	Tyrosin im Reaktionszentrum II
<b>ZEF</b>	zyklischer Elektronenfluss

---

# Symbolverzeichnis

Symbol	Definition	Einheit
$A_{OJIP}$	Fläche zwischen der OJIP-Kurve und dem P-Niveau	a.u.
$A_\lambda$	Absorptionswert bei der Lichtwellenlänge $\lambda$	-
$b_\lambda$	spektraler Anteil der Rückstreuung	-
$C$	Lichtgeschwindigkeit im Vakuum	$m \cdot s^{-1}$
$CH$	Cauchyscher Hauptwert	-
$c_i$	Konzentration der Komponente $i$	$g \cdot L^{-1}$ bzw. $kg \cdot m^{-3}$
$D$	Durchflussrate	$h^{-1}$
$d_{cw}$	Zellwanddurchmesser	$\mu m$
$E^0$	Standardredoxpotential	V
$Ea_{\lambda,i}$	spektraler massenspezifischer Absorptionsquerschnitt des Pigmentes $i$	$m^2 \cdot kg^{-1}$
$F'$	Fluoreszenzemission lichtakklimatierter Mikroalgen im stationären Zustand	a.u.
$F_0$	minimale Fluoreszenzemission dunkelakklimatierter Mikroalgen	a.u.
$F'_0$	minimale Fluoreszenzemission lichtakklimatierter Mikroalgen	a.u.
$F_{50\mu s}$ bzw. $F_O$	erstes erfasstes Fluoreszenzsignal (O-Niveau)	a.u.
$F_{300\mu s}$	Fluoreszenzsignal bei 300 $\mu s$	a.u.
$F_{30ms}$ bzw. $F_I$	Fluoreszenzsignal bei 30 ms (I-Niveau)	a.u.
$F_{2ms}$ bzw. $F_J$	Fluoreszenzsignal bei 2 ms (J-Niveau)	a.u.
$F_M$	maximales Fluoreszenzsignal (P-Niveau)	a.u.
$F_m$	maximale Fluoreszenzemission dunkelakklimatierter Mikroalgen	a.u.
$F'_m$	maximale Fluoreszenzemission lichtakklimatierter Mikroalgen	a.u.
$F'_q$	photosynthetische Fluoreszenzlöschung durch RCII im Grundzustand	a.u.
$F'_q/F'_m$	operative Effizienz von RCII unter gegebener PPFD	-
$F'_q/F'_v$	Verhältnis von operativer und maximaler Effizienz von RCII unter gegebener PPFD	-
$F_v$	variable Fluoreszenzemission dunkelakklimatierter Mikroalgen	a.u.
$F'_v$	variable Fluoreszenzemission lichtakklimatierter Mikroalgen	a.u.
$F_v/F_m$	absolut maximale photosynthetische Effizienz von RCII	-
$F'_v/F'_m$ bzw. $\phi_{RCII}$	maximale photosynthetische Effizienz von RCII unter gegebener PPFD	-
$F_{v,M}$	maximales variables Fluoreszenzsignal	a.u.
$F_{v,t}$	variables Fluoreszenzsignal zum Zeitpunkt $t$	a.u.
$F_{v,t}^n$	normiertes, variables Fluoreszenzsignal zum Zeitpunkt $t$	-
$f_c$	Korrekturfaktor für das Lambert-Beersche Gesetz	-
$g_{m,n}$	Matrix mit Gewichtungsfaktoren	-
$h\nu$	Energie eines Lichtquants bei der Frequenz $\nu$	eV

$I_{PAR}$	photosynthetisch aktive Photonenflussdichte	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
$I_{PAR,S}$	photosynthetisch aktive Photonenflussdichte, ab dem das Zellwachstum gesättigt ist	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
$I_{\lambda,PAR}$	spektrale photosynthetisch aktive Photonenflussdichte	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
$\bar{I}_{PAR}$	mittlere photosynthetisch aktive Photonenflussdichte	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
$\bar{I}_{PAR,c}$	Wendepunkt der logistischen Anpassungsfunktion	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
$J_i$	Gütefunktional bzw. Zielfunktion $i$	a.u.
$K$	Anzahl der Parameter bei der Berechnung von AIC	-
$K_{Han,inh}$	Konstante zur Beschreibung der Dynamik zwischen Photoinhibierung und der Reparaturmechanismen	s bzw. ms
$K_I$	empirischer Parameter im Modell nach Suh <i>et al.</i>	-
$K_L$	empirischer Parameter im Modell nach Suh <i>et al.</i>	m
$K_X$	empirischer Parameter im Modell nach Suh <i>et al.</i>	$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$
$k_d$	Geschwindigkeitskonstante der Photoinhibierung im PSU-Modell nach Han	-
$k_{m,CO_2}$	$\text{CO}_2$ -Halbsättigungskonstante von RuBisCO	$\mu\text{M}$
$k_{m,PFD}$	PFD-spezifische Halbsättigungskonstante	$\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
$k_{RCII,lim}$	effektive limitierende Geschwindigkeitskonstante am RCII	$\text{s}^{-1}$
$k_{RuBisCO}$	Geschwindigkeitskonstante der Elektronenprozessierung von RuBisCO im Rahmen der $\text{CO}_2$ -Fixierung	$\text{s}^{-1}$
$k_r$	Geschwindigkeitskonstante der Reparaturmechanismen im PSU-Modell nach Han	$\text{s}^{-1}$
$k_{\lambda,i}$	spektraler Größenparameter der Sphäre $i$	-
$L$	<i>Likelihood</i> -Funktion	-
$l_i$	Schichtdicke der Komponente $i$	m
$M_i$	Molekulargewicht der Komponente $i$	$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$
$m_M$	Masse des verbrauchten Mediums	g
$N_A$	Avogadro-Konstante ( $6,02214086\cdot 10^{23}$ )	$\text{mol}^{-1}$
$NPQ$	Maß für die NPQ-Aktivität unter gegebener PPFD	-
$n$	allgemeine Anzahl	-
$n^{RCII}_{Chl}$	Anzahl der Chlorophylle in einem durchschnittlichen LHCII-RCII-Komplex	-
$n^{RCI}_{Chl}$	Anzahl der Chlorophylle in einem durchschnittlichen LHCI-RCI-Komplex	-
$n^{iChla,max}$	Anzahl von Chlorophyll a im jeweils größten LHC-RC-Komplex	-
$n^{iChla,min}$	Anzahl der Chlorophyll a im jeweils kleinsten LHC-RC-Komplex	-
$n^{iChlb,max}$	Anzahl von Chlorophyll b im jeweils größten LHC-RC-Komplex	-
$n^{iChlb,min}$	Anzahl der Chlorophyll b im jeweils kleinsten LHC-RC-Komplex	-
$n_i$	Anzahl der Komponente $i$	-
$n_{PSU}$	spezifische Anzahl der PSUs	a.u.
$n_{\lambda,i}$	spektraler Brechungsindex der Komponente $i$	-
$n_{\lambda,i,Im}$	Imaginärteil des spektralen Brechungsindex der Komponente $i$	-
$n_{\lambda,i,Re}$	Realteil des spektralen Brechungsindex der Komponente $i$	-

$n_{vi,core,Im}$	Imaginärteil des Brechungsindex des Zellinneren bei der Lichtfrequenz $\nu$ bzw. $\nu_i$	-
$n_{\nu,core,Re}^*$	Realteil des Brechungsindex des Zellinneren bei der Referenzlichtfrequenz $\nu^*$	-
$p$	Exponent in der logistischen Anpassungsfunktion	-
$p_{\lambda}(\theta, \theta')$	spektrale Streuungsphasenfunktion	-
$q_L$	Anteil der RCII im Grundzustand unter gegebener PPFD und unter der Annahme des <i>lake</i> -Modells	-
$RCF$	relative Zentrifugalkraft	$m \cdot s^{-2}$
$R_P$	Reflexionsgrad des parallel polarisierten Lichtes	-
$R_S$	Reflexionsgrad des senkrecht polarisierten Lichtes	-
$r_{abs,BTM}$	BTM-spezifische Photonenabsorptionsrate	$mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$
$r_{abs,P}$	Rate der an den LHCII-RCII-Komplexen absorbier- ten und für die Photochemie genutzten Photonen	$s^{-1}$
$r_{abs,tot}$	Lichtabsorptionsrate an den LHCII-RCII-Komplexen	$s^{-1}$
$r_c$	Zellradius	$\mu m$
$r_{core}$	Radius des Zellinneren	$\mu m$
$r_{diss,tot}$	Energiedissipationsrate an den LHCII-RCII- Komplexen	$s^{-1}$
$r_{mnt,Chl}$	Chlorophyll-spezifische Respirationsrate des Erhal- tungsstoffwechsel	$mol \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$
$r_{NH4}$	BTM-spezifische $NH_4^+$ -Aufnahmerate	$g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$
$r_{O2}$	$O_2$ -Entwicklungsrate	$g \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$
$\tilde{r}_{O2}$	Median der $O_2$ -Entwicklungsrate	$g \cdot L^{-1} \cdot s^{-1}$
$r_{P,Brutto,Chl}$	Chlorophyll-spezifische Brutto-Photosyntheserate	$mol \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$
$r_{P,Netto,Chl}$	Chlorophyll-spezifische Netto-Photosyntheserate	$mol \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$
$r_{PSU,diss,tot}$	Energiedissipationsrate eines LHCII-RCII- Komplexes	$s^{-1}$
$r_{PSU,etrans}$	Elektronenprozessierungsrate einer PSU	$s^{-1}$
$r_{R,Chl}$	wachstumsassoziierte Chlorophyll-spezifische Respi- rationsrate	$mol \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$
$r_{R,tot,Chl}$	gesamte Chlorophyll-spezifische Respirationsrate	$mol \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$
$r_{RCII,etrans}$	Elektronenübertragungsrate von RCII auf $Q_B$	$s^{-1}$
$\bar{r}_{P,Netto,Chl}$	effektive Chlorophyll-spezifische oxygene Netto- Photosyntheserate (simuliert)	$mol \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$
$\bar{r}_{P,Netto,Chl}^{\#}$	effektive Chlorophyll-spezifische oxygene Netto- Photosyntheserate (experimentell bestimmt)	$mol \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$
$S_m$	normierte Fläche; entspricht der Anzahl der Redukti- onen und Oxidationen von $Q_A$ im Laufe der Auf- zeichnung einer OJIP-Transienten	-
$S_{\lambda,LED}$	Lichtspektrum einer LED-Einheit	-
$T_{\lambda,h,i}$	spektrale, normale-hemisphärische Transmission der Suspension/Lösung $i$	-
$T_{\lambda,n,i}$	spektrale, normale-normale Transmission der Sus- pension/Lösung $i$	-
$t_{FM}$	Zeit bis zum Erreichen von $F_M$	ms
$t_i$	Zeitpunkt $i$	s bzw. h
$\dot{V}_M$	Volumenstrom des Mediums	$L \cdot h^{-1}$
$V_R$	Arbeitsvolumen der Flachplatten-Photobioreaktoren	L
$\nu_{Chla/b}$	Chlorophyll a/Chlorophyll b-Verhältnis	-
$w_i$	BTM-spezifischer Massenanteil der Komponente $i$	$g \cdot g^{-1}$

$w_{i,max}$	maximaler, BTM-spezifischer Massenanteil der Komponente $i$	$g \cdot g^{-1}$
$w_{i,min}$	minimaler, BTM-spezifischer Massenanteil der Komponente $i$	$g \cdot g^{-1}$
$w_{i,AICc}$	Akaike-Gewicht des Modells $i$	-
$w_{N,i}$	massenspezifischer Stickstoffanteil in Komponente $i$	$g \cdot g^{-1}$
$x_i$	anzahlspezifischer Anteil der Komponente $i$	-
$x_i^{max}$	Anteil des jeweils größten LHC-RC-Komplexes	-
$x_i^{min}$	Anteil des jeweils kleinsten LHC-RC-Komplexes	-
$x_{w,BTM}$	Wasseranteil einer Mikroalgenzelle	-
$y_{BTM,i}$	$i$ -spezifische Biomasseausbeute	$g \cdot g^{-1}$ bzw. $g \cdot mol^{-1}$
$y_{BTM,i}^*$	effektive $i$ -spezifische Biomasseausbeute	$g \cdot g^{-1}$ bzw. $g \cdot mol^{-1}$
$y_i$	abhängige Variable der $i$ -ten Beobachtung	a.u.
$y_{O_2/e}$	elektronenspezifischer $O_2$ -Ausbeutekoeffizient	$mol \cdot mol^{-1}$
$\bar{y}$	arithmetisches Mittel der beobachteten abhängigen Variablen $y_i$	a.u.
$\hat{y}_i$	abhängige Variable der $i$ -ten Vorhersage	a.u.
$z_R$	Position im Reaktor entlang der Reaktortiefe	m
$\alpha_\lambda$	spektrales lineares Streuungsmodul der 1D-RTE	-
$\alpha_{\lambda,cm}$	spektraler effektiver Absorptionskoeffizient des Zellinneren	$m^{-1}$
$\Delta_{i,AICc}$	Differenz zwischen dem $AIC_c$ -Wert des Modells $i$ und dem minimalen $AIC_c$ -Wert des besten Modells	-
$\Delta I_{PAR}$	relativer maximaler Lichtgradient	-
$\Delta H^0$	Reaktionsenthalpie unter Standardbedingungen	$kJ \cdot mol^{-1}$
$\delta_{REI}$	Wahrscheinlichkeit, mit der ein Elektron von $Q_B$ auf einen RCI-Elektronenakzeptor übertragen wird	-
$\delta_\lambda$	spektraler Extinktionskoeffizient der 1D-RTE	$m^{-1}$
$\varepsilon_\lambda$	spektraler Extinktionskoeffizient	$m^{-1}$
$\varepsilon_\lambda^*$	spektraler scheinbarer Extinktionskoeffizient	$m^{-1}$
$\theta_i$	Lichteinfallswinkel bezogen auf die Flächennormale	$^\circ$
$\theta_t$	Winkel des gebrochenen Lichtstrahls bezogen auf die Flächennormale	$^\circ$
$\kappa_\lambda$	spektraler Streuungskoeffizient	$m^{-1}$
$\kappa_\lambda^*$	spektraler scheinbarer Streuungskoeffizient	$m^{-1}$
$\kappa_{\lambda,i}$	spektraler massenspezifischer Streuungsquerschnitt, bezogen auf die Komponente $i$	$m^2 \cdot g^{-1}$ bzw. $m^2 \cdot kg^{-1}$
$\lambda$	Lichtwellenlänge	nm
$\mu$	spezifische Wachstumsrate	$h^{-1}$
$\mu_{max}$	maximale spezifische Wachstumsrate	$h^{-1}$
$\nu$ bzw. $\nu_i$	Lichtfrequenz im Vakuum	$s^{-1}$
$\nu^*$	Referenzlichtfrequenz im Vakuum	$s^{-1}$
$\nu_{\lambda,R}$	Referenzlichtfrequenz	$s^{-1}$
$\rho_i$	Dichte der Komponente $i$	$g \cdot L^{-1}$ bzw. $kg \cdot m^{-3}$
$\sigma_{BTM}$	mittlerer BTM-spezifischer Absorptionsquerschnitt	$m^2 \cdot g^{-1}$
$\sigma_{chl}$	mittlerer spezifischer Absorptionsquerschnitt eines durchschnittlichen Chlorophylls	$m^2$
$\sigma_\lambda$	spektraler Absorptionskoeffizient	$m^{-1}$
$\sigma_\lambda^*$	spektraler scheinbarer Absorptionskoeffizient	$m^{-1}$
$\sigma_{\lambda,i}$	spektraler massenspezifischer Absorptionsquerschnitt, bezogen auf die Komponente $i$	$m^2 \cdot g^{-1}$ bzw. $m^2 \cdot kg^{-1}$

---

$\tau$	limitierende Umsatzzeit einer PSU	s bzw. ms
$\tau_i$	limitierende Umsatzzeit einer PSU im Modell $i$	s bzw. ms
$\tau_\lambda$	spektrale optische Dichte	-
$\varphi_{P,0}$	maximale Quantenausbeute der primären RCII-Photochemie	-
$\varphi_{R,chl}$	Anteil der Chlorophyll-spezifische Brutto-Photosyntheserate, der für die wachstumsassoziierte Respiration genutzt wird (Synthesekosten neuer Biomasse)	-
$\varphi_{UK}$	Anteil des von der Ulbricht-Kugel erfassten Lichtes	-
$\psi_{ET2}$	Wahrscheinlichkeit, mit der ein für die primäre Photochemie genutztes Elektron von $Q_A$ auf $Q_B$ übertragen wird	-
$\omega_\lambda$	spektrale Albedo für Einfachstreuung	-

---



---

# Vorwort

Die vorliegende Arbeit wurde während meiner Tätigkeiten am Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik – Bioverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) angefertigt. An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich auf dieser Reise begleitet haben.

In erster Linie gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. Clemens Posten für die Möglichkeit, meine Dissertation in seiner Arbeitsgruppe anfertigen zu dürfen. Die wissenschaftlichen Diskussionen gaben mir die notwendige Orientierung, während das entgegengebrachte Vertrauen auch das Verfolgen und Umsetzen eigener Ideen ermöglichte. All das hat wesentlich dazu beigetragen, dass ich mich persönlich und fachlich weiterentwickeln konnte.

Für die freundliche Übernahme des Korreferats möchte ich mich außerdem bei Herrn Prof. Dr. Christoph Syldatk bedanken.

Für die großartige Zusammenarbeit möchte ich bei allen meinen Kolleginnen und Kollegen bedanken, darunter Christian Steinweg, Dr. Ingrida Melková, Johanna Zander, Franziska Ortiz Tena, Simon Eppel, Katharina Saur, Kira Schediwy, Dr. Rosa Roselló Sastre, Dr. Meike Dössel, Dr. Mirco Katzenmeyer, Dr. Ioanna Jakob und Lisa Rest. Die gegenseitige Unterstützung, der wissenschaftliche Austausch sowie die positive Atmosphäre haben zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Weiterhin gilt mein Dank auch meinen Studenten Jan Maruna, Christoph Griehl, Marius Schlund, Mario Balogh, Yining Gong, Mathias Knebl und Edgar Arturo Hernández Olivera für die tatkräftige Unterstützung im Rahmen dieser Arbeit.

Zum Schluss möchte ich mich bei meinen Eltern und Anika bedanken, die mich in jeglichen Lebenslagen bedingungslos unterstützt und diesen Werdegang überhaupt erst ermöglicht haben. Ohne sie wäre all dies nicht möglich gewesen.

gewidmet L.W.K.



---

# 1 Einleitung

## 1.1 Ausgangssituation

Der Begriff *Mikroalgen* ist keine eindeutige Definition einer bestimmten Art von Organismen. Dieser Begriff ist eher als ein Sammelbegriff zu betrachten, der für eine biologische Gruppe von photosynthetisch aktiven Mikroorganismen steht, zu der sowohl Eukaryoten als auch Prokaryoten gehören [1,2]. Zur Steigerung der Klarheit wird der Begriff *Mikroalgen* in der vorliegenden Arbeit ausschließlich für eukaryotische, einzellige, photosynthetisch aktive Organismen verwendet. In aquatischen Systemen dienen sie als primäre Biomasseproduzenten und sind deshalb für das Leben auf der Erde essenziell [1]. Die Mikroalgen weisen eine enorme Biodiversität auf. Bis heute sind bereits über 40.000 Spezies entdeckt und beschrieben worden [3,4]. Diese Biodiversität ermöglicht unter anderem auch die Vielzahl von potentiellen Anwendungsmöglichkeiten und Produkten [4–6]. Die Mikroalgenbiomasse birgt das Potential als Nahrungsmittel, Futtermittel, aber auch als Substrat für die Pharma- und Kosmetikindustrie zu dienen [7–11]. Eine energetische Verwertung der Mikroalgenbiomasse, bspw. als Biodiesel, ist ebenfalls denkbar [12–17]. Weiterhin wird die Möglichkeit in Betracht gezogen, lebende Mikroalgen zur Aufarbeitung von industriellen Abgasen und Abwässern zu verwenden [5,18,19]. Die Kultivierung von Mikroalgen kann auch auf landwirtschaftlich nicht nutzbaren Flächen und unter Einsatz von Salzwasser erfolgen, weshalb auch die Konkurrenz mit konventionellen Landpflanzen um Land, Süßwasser sowie anderen limitierten Ressourcen vermieden werden kann [2]. Mit einer potenziellen jährlichen Produktivität von über 100 t Biomasse pro Hektar und einer theoretisch realisierbaren Photonenkonversionseffizienz (PCE), ausgehend vom solaren Lichtspektrum und Netto gebildeter Biomasse, von ca. 10 % können Mikroalgen deutlich produktiver und effizienter sein als C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Landpflanzen [2,5,20,21]. Die derzeit tatsächlich realisierbaren PCEs bei Mikroalgenkultivierungen liegen bei 3-5 % [5,22], teils werden aber auch niedrigere PCEs im Bereich von 0,5-2 % berichtet [20]. Je nach Literaturquelle liegen die bei Mikroalgenkultivierungen aktuell erreichbare PCEs entweder im Bereich der PCEs der C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Landpflanzen oder darüber. In [20] werden PCEs der C<sub>3</sub>-Pflanzen von unter 0,1 % angegeben, während die C<sub>4</sub>-Pflanzen immerhin PCE-Werte von 0,2-2 % aufweisen. In [21] werden hingegen deutlich höhere PCE-Werte angegeben. Im Falle von C<sub>3</sub>-Pflanzen wird eine erreichte PCE von 2,4 % angegeben und im Falle von C<sub>4</sub>-Pflanzen wird sogar von einer erreichten PCE von 3,7 % berichtet [21]. Nichtsdestotrotz liegen die theoretisch erreichbaren PCEs der C<sub>3</sub>- und C<sub>4</sub>-Landpflanzen mit Werten von jeweils 4,6 und 6 % deutlich unter dem Wert von etwa 10 %, der theoretisch mit Mikroalgen erreichbar sein sollte [5,20].

Damit die theoretische Produktivität und PCE erreicht werden können, müssen die Kultivierungsprozesse zusätzlich weiterentwickelt und optimiert werden. Dabei gewinnt die rationale Prozessentwicklung, die bei heterotrophen Kultivierungsprozessen bereits gut etabliert ist, immer mehr an Bedeutung bei photoautotrophen Mikroalgenkultivierungen [23]. Die rationale Prozessentwicklung erfordert jedoch sogenannte Multiphysik-Modelle, die mehrere hierarchische Prozessebenen beinhalten und miteinander vereinen [23–25]. Die Kinetik auf der Populati-

onsebene nimmt hierbei eine kritische Stellung ein, da sie das Bindeglied zwischen der Reaktorebene und dem intrazellulären metabolischen Netzwerk darstellt [23]. Simple kinetische Ausdrücke, die oftmals mehrere Phänomene in einer einfachen Gleichung zusammenfassen, reichen nicht aus, um zuverlässige Modelle des photoautotrophen Wachstums zu erhalten [23,25]. Quasi-mechanistische Wachstumsmodelle, wie bspw. das häufig genutzten Modell nach Han [26,27], liefern zwar scheinbar gute Ergebnisse [28,29] und können prinzipiell, aufgrund ihrer Einfachheit, in Multiphysik-Modellen eingesetzt werden [25], sind jedoch teils nicht eindeutig formuliert und vermischen mehrere Phänomene, sodass lediglich die scheinbare, systemabhängige und nicht die tatsächliche Wachstumskinetik beschrieben wird. Die Vermischung physiologischer und systembedingter Effekte vermindert die Anwendbarkeit solcher Modelle im Bereich der rationalen Prozessentwicklung deutlich, da hierbei Modelle gefordert werden, die einen mechanistischen Hintergrund aufweisen und die einzelnen Vorgänge eindeutig voneinander betrachten [23].

## 1.2 Zielsetzung der Arbeit

Die Photosynthese bildet den zentralen Ausgangspunkt im Metabolismus photoautotropher Mikroorganismen und determiniert letztlich die maximale Leistung eines solchen Organismus. Für die Modellierung des photoautotrophen Zellwachstums ist eine korrekte Modellierung der Photosynthesekinetik dementsprechend unabdingbar und bildet die Basis für die weitere Modellentwicklung. Das Ziel der Arbeit war daher die Modellierung der stationären Photosynthesekinetik am Beispiel der Mikroalge *Chlorella vulgaris*. Diese kann, als Teil der Akklimatisation, ihre Gestalt und Parameter in Abhängigkeit der Lichtstärke verändern. Die Berücksichtigung der lichtabhängigen Akklimatisation war daher ebenfalls ein zentraler Bestandteil dieser Arbeit.

Im ersten Schritt sollte das bestehende Flachplatten-Photobioreaktorsystem im Labormaßstab für die Erhebung der notwendigen experimentellen Daten zusätzlich optimiert werden. Das Ziel der Optimierung des Kultivierungssystems und -prozesses war vor allem die Schaffung möglichst eindeutig definierter Kultivierungsbedingungen und der Ausschluss unerwünschter Phänomene, die nicht explizit im Rahmen der Modellierung der stationären Photosynthesekinetik berücksichtigt wurden. Ein besonderer Schwerpunkt lag hierbei auf der Vermeidung eines ausgeprägten Lichtgradienten im Photobioreaktor, da dieser einen entscheidenden Einfluss auf die effektiv sichtbare, lichtabhängige Photosynthesekinetik haben und zu einer Überlagerung der physiologischen Zellantwort durch einen systembedingten Einfluss führen kann. Da zusätzlich die lichtbedingte Zellakklimatisation von *C. vulgaris* untersucht werden sollte, sollte ein kontinuierlicher Turbidostat-Prozess so gestaltet werden, dass eine Untersuchung des quasi-stationären, lichtabhängigen Akklimatisationszustandes ermöglicht wird.

Zur Steigerung des Verständnisses der lichtabhängigen Akklimatisationsantwort von *C. vulgaris* sollten sowohl der photosynthetische Apparat als auch die resultierende Zellzusammensetzung charakterisiert werden. In Kombination mit der lichtbedingten Photosynthese- bzw. Wachstumskinetik sollte so die Akklimatisation auf makroskopischer Ebene besser aufgeklärt und verstanden werden. Ergänzend dazu sollte untersucht werden, welche intrazellulären Limitierungen in *C. vulgaris* das Zellwachstum sowie die maximale Leistungskapazität des photosynthetischen Apparates *in vivo* determinieren und wie sie sich auf die lichtabhängige Variation der

makroskopischen Zellzusammensetzung auswirken. Die hierbei erhobenen experimentellen Daten sowie die daraus abgeleiteten Erkenntnisse sollen zudem für die Modellierung der stationären Photosynthesekinetik am Beispiel von *C. vulgaris* eingesetzt werden.

Für die verfahrenstechnische Modellierung der Photosynthesekinetik sollte ein Modellierungsansatz mit einem mechanistischen Hintergrund gewählt werden, um eine systemunabhängige Anwendbarkeit des Modells zu ermöglichen. Hierzu sollte der Photosyntheseapparat detailliert betrachtet und die limitierenden Schritte innerhalb der Photosynthese basierend auf experimentellen Ergebnissen identifiziert werden. Aufbauend darauf sollten diese Reaktionsschritte unter Einbezug physikalisch und biologisch sinnvoller Annahmen modelliert werden. Weiterhin war es entscheidend, eindeutig zwischen den physiologischen und systembedingten Einflüssen auf die effektiv beobachtbare Photosynthesekinetik zu unterscheiden und diese entsprechend zu berücksichtigen. Um die zeitlich bedingte Akklimatisationsdynamik von *C. vulgaris* vernachlässigen und sich zunächst vereinfacht auf den quasi-stationären Fall beschränken zu können, sollte die Prozessdynamik durch eine geeignete Gestaltung der Experimente eliminiert bzw. weitestgehend reduziert werden, was vor allem durch die Umsetzung des zuvor erwähnten Turbidostat-Prozesses erreicht werden sollte.

Im letzten Teil sollte modellbasiert untersucht werden, welche intrazelluläre Einschränkung möglicherweise für die beobachtete, lichtabhängige Akklimatisation des photosynthetischen Apparates hauptsächlich ausschlaggebend ist und welchen Einfluss diese Einschränkung auf die entsprechende Zellantwort aufweist.



---

## 2 Theoretische Grundlagen

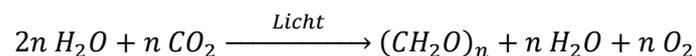
### 2.1 Die Grünalge *Chlorella vulgaris*

Die Entdeckung der Mikroalge *C. vulgaris* erfolgte 1890 durch den niederländischen Forscher Martinus Willem Beijerinck [30]. Diese eukaryotische Mikroalgenart gehört zum Stamm der Chlorophyta, die auch als Grünalgen bezeichnet werden, da sie neben Chlorophyll a (Chla) auch Chlorophyll b (Chlb) enthalten und dadurch grünlich erscheinen [1]. *C. vulgaris* ist ein robuster Mikroorganismus, der in nahezu allen Gewässern – außer im Salzwasser – und auch terrestrisch vorkommt [2]. Die asexuelle Fortpflanzung erfolgt über die Ausbildung von Auto-sporen, wobei zwischen 2 und 32 Tochterzellen gebildet werden [31]. Die *C. vulgaris* Zellen weisen eine annähernd sphärische Form mit einem Zelldurchmesser von 2-10 µm auf und besitzen nur einen einzigen, halbmondförmigen Chloroplasten [4,6].

Die *Chlorella spp.* stellt, mit einem jährlichen Produktionsvolumen von 4.000-7.000 t und einem Marktwert von 100-130 Millionen Euro, eine der industriell relevantesten Mikroalgen-artenspezies dar [5]. Aufgrund des hohen Proteingehaltes der Biomasse von *Chlorella spp.* wird diese derzeit hauptsächlich im Bereich der Nahrungsergänzungsmittel eingesetzt [5,32]. Die industrielle Kultivierung erfolgt dabei häufig photoautotroph in offenen Becken, aber auch heterotroph in geschlossenen Reaktorsystemen [5]. Wegen der industriellen und wissenschaftlichen Relevanz von *C. vulgaris* sowie dem bereits vorliegenden, umfangreichen Wissen wurde in der vorliegenden Arbeit diese Mikroalge als Modellorganismus gewählt.

### 2.2 Oxygene Photosynthese in Mikroalgen

Die oxygene Photosynthese kann allgemein als eine Konversion von Lichtenergie in chemische Bindungsenergie betrachtet werden, bei der energiearme, thermodynamisch stabile anorganische Kohlenstoffverbindungen, in Form von  $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$  und/oder  $\text{CO}_3^{2-}$ , in energiereichere, organische Kohlenstoffverbindungen umgewandelt werden [1]. Etwa 40-50 % der oxygenen Photosynthese finden in aquatischen Systemen statt, obwohl die aquatischen Organismen lediglich 1-2 % der photosynthetischen Biomasse der Erde repräsentieren [1,2,33,34]. Die allgemeine Reaktionsgleichung der oxygenen Photosynthese lautet [1,35]:



Bei der Fixierung von  $n = 6$   $\text{CO}_2$ -Molekülen entsteht ein Glucose-Molekül. Diese endotherme Reaktion weist eine Standardreaktionsenthalpie ( $\Delta H^0$ ) von  $+ 2870 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$  auf [35]. Die Absorption von Licht liefert die benötigte Energie, die über die photosynthetische Elektronentransportkette (ETK) transferiert wird, um schließlich  $\text{NADP}^+$  zu  $\text{NADPH}$  zu reduzieren und über den parallel aufgebauten Protonengradienten mithilfe einer ATPase ATP zu generieren. Dieser Vorgang wird auch als Lichtreaktion bezeichnet. Beides wird im nachgeschalteten Calvin-

Zyklus verwendet, um  $\text{CO}_2$  zu fixieren und dadurch Biomasse aufzubauen. Der Calvin-Zyklus wird in der Literatur auch als die Dunkelreaktion der Photosynthese bezeichnet. [1]

Im Nachfolgenden werden die hier zusammengefassten Schritte der oxygenen Photosynthese in Mikroalgen weiter ausgeführt und detailliert erläutert. Die Reihenfolge der nachfolgenden Abschnitte entspricht dem photosynthetischen Energietransport, beginnend mit der Lichtabsorption und Weiterleitung der absorbierten Lichtenergie zu den jeweiligen Reaktionszentren, gefolgt von dem Elektronentransfer innerhalb der photosynthetischen ETK und der Synthese der Reduktionsäquivalente sowie ATP, die im Calvin-Zyklus als Substrate genutzt werden.

### 2.2.1 Lichtabsorption durch photosynthetische Lichtsammelkomplexe

Die Lichtsammelkomplexe (LHCs) bilden zusammen mit den Reaktionszentren II (RCII) und I (RCI) die jeweiligen LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexe, die auch als Photosystem II (PSII) und I (PSI) bezeichnet werden [1]. In diesen Proteinkomplexen sind es die LHCs, die wesentlich zur Lichtabsorption beitragen, da sie den Großteil der Pigmente bzw. Chromophore enthalten [36,37]. Insgesamt besteht in der Natur eine große Vielfalt an Lichtsammelkomplexen, aber nur eine geringe Variabilität photosynthetischer Chromophore [38–43].

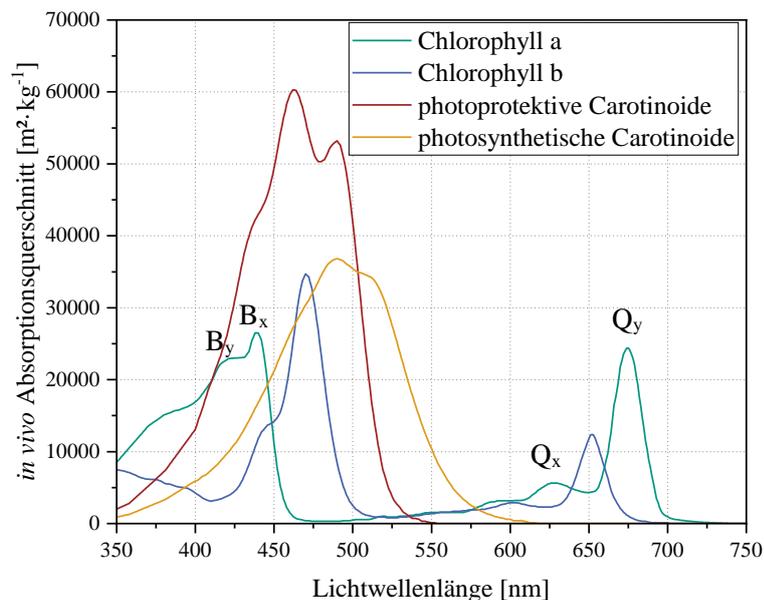


Abbildung 2.1: Massenspezifische *in vivo* Absorptionsquerschnitte von Chla und Chlb sowie den photoprotektiven und photosynthetischen Car [44,45]. Zusätzlich sind die Absorptionsmaxima  $B_y$ ,  $B_x$ ,  $Q_x$  und  $Q_y$  beispielhaft für Chla eingezeichnet. Chlb weist analoge Banden auf (nicht eingezeichnet). Die  $B_y$ - und  $B_x$ -Bande von Chlb sind relativ zu den analogen Banden von Chla rotverschoben, während die  $Q_x$ - und  $Q_y$ -Bande von Chlb im Vergleich zu den entsprechenden Chla-Banden blauverschoben sind. [1]

Es existieren insgesamt vier Typen der photosynthetischen Chromophore. Hierzu gehören die offenen und geschlossenen Tetrapyrrole, Porphyrine, Chlorine sowie Carotinoide (Car). Chlorophyll a (Chla) und Chlorophyll b (Chlb) basieren auf einem Chlorin mit einem  $\text{Mg}^{2+}$ -Ion im

Zentrum. Die genannten Chromophore weisen ein hochkonjugiertes  $\pi$ -Elektronensystem auf. Aufgrund der Tatsache, dass  $\pi$ -Elektronen weniger Energie benötigen als  $\sigma$ -Elektronen, um in einen angeregten Zustand überzugehen, haben diese Chromophore ihre Absorptionsmaxima im sichtbaren Bereich des Lichtspektrums. Dieses spezifische Lichtspektrum wird auch als die photosynthetisch aktive Region (PAR) bezeichnet und liegt im Lichtwellenlängenbereich von 400-700 nm, wobei dieses Intervall je nach Definition geringfügig variieren kann. In Abbildung 2.1 sind beispielhaft die Absorptionsquerschnitte von Chla, Chlb sowie von photoprotektiven und photosynthetischen Car dargestellt [44]. Der Absorptionsquerschnitt beschreibt dabei die Wahrscheinlichkeit, mit der einfallendes Licht einer bestimmten Wellenlänge mit einem Molekül (in diesem Fall mit einem Chla, Chlb oder Car) interagiert und somit absorbiert wird. [1]

Die Absorption eines Lichtquants ( $h\nu$ ) überführt das Chlorophyll in einen angeregten Zustand, der vom Energiegehalt des absorbierten Photons abhängig ist. Photonen mit einer Wellenlänge im Bereich der Banden  $B_y$  und  $B_x$  führen zu höheren Anregungszuständen als langwellige Photonen [1]. Nach der Absorption eines Photons am LHCII bestehen drei Möglichkeiten für die anschließende Energiepropagation im LHCII-RCII-Komplex (vgl. Abbildung 2.2) [1,46,47]. Die erste und präferierte Möglichkeit ist der Transport der Lichtenergie von einem LHCII zum RCII, wo anschließend die primäre Ladungstrennung stattfindet. Die zweite Möglichkeit ist die Abstrahlung der absorbierten Energie als Fluoreszenz. Die dritte Möglichkeit ist die Dissipation der Energie unter Wärmeentwicklung über das sogenannte *non-photochemical quenching* (NPQ) [48–51]. Diese drei Vorgänge stehen stets in Konkurrenz zueinander und variieren bedingungsabhängig in ihrem Anteil am Gesamtenergiefluss [1,46,47].

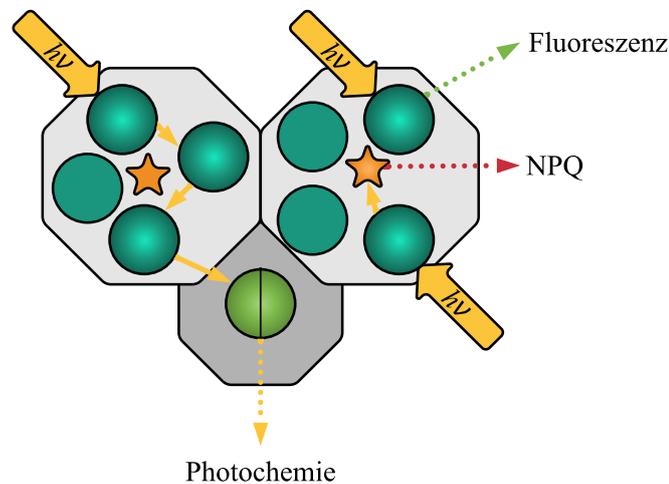


Abbildung 2.2: Mögliche Energiepfade nach der Absorption eines Lichtquants durch ein Chlorophyll in einem LHC-RC-Komplex [1]. Die durch ein Chlorophyll (grüne Kreise) absorbierte Lichtenergie kann für die primäre Ladungstrennung im RC (hellgrüner Kreis) und somit für die Photochemie genutzt werden (dargestellt durch gelbe Pfeile). Alternativ kann die absorbierte Energie als Fluoreszenz mit einer längeren Wellenlänge abgestrahlt werden (grüner Pfeil). Die dritte Möglichkeit ist die Dissipation der Lichtenergie als Wärme über NPQ (roter Pfeil). Ein möglicher Mechanismus ist hierbei die Übertragung der Energie auf ein Car (orangefarbener Stern), wodurch es angeregt wird. Beim Übergang des Car vom angeregten Zustand in den Grundzustand wird die zuvor übertragene Energie als Wärme dissipiert. Es sollte beachtet werden, dass die hier getrennt dargestellten Phänomene Fluoreszenz und NPQ in der Literatur häufig unter NPQ zusammengefasst werden, da beide Dissipationsvorgänge nicht zur Photochemie beitragen. [46,47]

Derzeit ist noch nicht vollständig geklärt, wie der Energietransfer zwischen den Pigmenten stattfindet und welche Rolle genau ihre Anordnung innerhalb des Proteinkomplexes einnimmt [38–41,52,53]. Aktuelle Erkenntnisse lassen vermuten, dass ein gerichteter Energietransfer vom LHCII zum RCII entlang eines Energiegradienten möglich ist. Es ist jedoch unklar, inwieweit dies auch unter natürlichen Bedingungen tatsächlich stattfindet oder ob eher ein zufallsgeleiteter Energietransfer zum RCII stattfindet [38–41,52]. Der strahlungslose Energietransfer zwischen den Pigmenten kann näherungsweise durch den Förster-Resonanzenergietransfer (FRET) beschrieben werden [1,38]. FRET basiert auf einer Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen dem Donor- und Akzeptor-Chromophor [54]. Hierbei wird der Donor zunächst in einen angeregten Singulett-Zustand durch die Absorption eines Photons überführt. Unter bestimmten Bedingungen kann der angeregte Donor die Energie strahlungslos auf einen benachbarten Akzeptor übertragen, der dadurch in einen angeregten Singulett-Zustand übergeht. Deshalb kann FRET im Regelfall als ein Singulett-Singulett-Transfer betrachtet werden [1,38]. Die Energietransfer-rate ist von mehreren Faktoren abhängig [1,38]. Zunächst muss eine Überlagerung des Emissionsspektrums des Donors mit dem Absorptionsspektrum des Akzeptors gegeben sein. Je größer diese spektrale Überlagerung ist, desto höher kann die Energietransferrate ausfallen. Daneben spielt auch die Fluoreszenzlebensdauer des Donor-Chromophors eine wichtige Rolle. Weiterhin ist der Abstand der beteiligten Chromophore entscheidend, da die Energietransferrate mit der sechsten Potenz zum intermolekularen Abstand abnimmt. Somit ist FRET nur über Entfernungen in der Größenordnung von 10-100 Å effektiv möglich [38,55–57]. Ein weiterer, wichtiger Faktor ist die Orientierung der elektrischen Dipolmomente der beteiligten Chromophore. Die Dauer eines solchen Energietransfers zwischen zwei Chlorophyllen beträgt etwa 0,05-20 ps [38]. Die Energieübertragung vom LHCII zum RCII dauert insgesamt etwa 100-500 ps und variiert je nach Größe des vorliegenden LHCII-RCII-Komplexes [37,58]. Wegen der teils sehr geringen Abstände von 5-20 Å zwischen jeweils benachbarten Chromophoren innerhalb eines LHCII und der daraus resultierenden, variierenden intermolekularen Kopplungen stellt die Beschreibung dieses Energietransfers mit FRET nur eine Vereinfachung dar [38]. Deshalb wird dieser Energietransfer oft mit erweiterten Ansätze beschrieben, z. B. mit der Redfield-Theorie, kombinierter Förster-Redfield-Theorie und/oder generalisierter Förster-Theorie [38,53,59,60].

Die bisherigen Erläuterungen beziehen sich auf den Energietransfer zwischen Chlorophyllen. Daneben existieren jedoch auch Energietransferprozesse zwischen den Carotinoiden und Chlorophyllen [1,38]. Eine wichtige Funktion der Carotinoide im Rahmen der Photosynthese ist der Schutz anderer Pigmente sowie Proteinkomplexe vor oxidativen Schäden, die insbesondere bei hohen Lichtintensitäten durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) verursacht werden können [1,49–51,61,62]. Der Grundzustand von einem O<sub>2</sub>-Molekül ist der Triplett-Zustand. In diesem Zustand ist O<sub>2</sub> in der Lage, die Energie von Chlorophyllen im Triplett-Zustand aufzunehmen, was zur Bildung von Singulett-O<sub>2</sub> führt, das als ROS fungiert. Ein Car ist befähigt, die Energie eines O<sub>2</sub>-Moleküls im Singulett-Zustand aufzunehmen. Dadurch wird das beteiligte Car in den angeregten Triplett-Zustand überführt, dessen Energieniveau jedoch zu gering ist, um einen erneuten Energietransfer zu einem O<sub>2</sub> zu ermöglichen. So wird die von Carotinoiden aufgenommene Energie in Form von Wärme abgestrahlt [38]. Zudem können die Carotinoide auch die Energie von Chlorophyllen im Triplett-Zustand aufnehmen, was ebenfalls zur Bildung von Car im Triplett-Zustand führt. Der Triplett-Triplett-Energietransfer lässt sich jedoch nicht durch FRET, sondern durch den sogenannten Dexter-Energietransfer (DET) beschreiben [38,63].

Anders als FRET erfordert DET eine Überlagerung der Elektronenorbitale der beteiligten Chromophore, weshalb dieser Vorgang nur bei intermolekularen Abständen von unter 10 Å effektiv ablaufen kann [1,38]. Der DET zwischen Chlorophyllen und Carotinoiden läuft auf einer Zeitskala von wenigen Nanosekunden ab [38] und ist dreimal schneller als die Rate, mit der die O<sub>2</sub>-Moleküle mit den Chlorophyllen im Durchschnitt kollidieren [38,64,65]. Die Beschreibung der möglichen Energietransfermechanismen beschränkte sich bisher auf die LHCI-RCII-Komplexe. Es sei jedoch gesagt, dass die physikalischen Mechanismen des Energietransfers innerhalb der LHCI-RCI-Komplexe den bisher vorgestellten Energietransfermechanismen entsprechen [36].

## 2.2.2 Lichtreaktion der oxygenen Photosynthese

Die gesamte photosynthetische Lichtreaktion (vgl. Abbildung 2.3) findet im Chloroplasten statt und wird durch die drei Hauptkomponenten der photosynthetischen ETK, zu denen die beiden Photosysteme (PSII und PSI) sowie das Cytochrom *b<sub>6</sub>f* (Cyt *b<sub>6</sub>f*) gehören, ermöglicht. Anders als in der schematischen Darstellung in Abbildung 2.3 dargelegt, sind die jeweiligen Proteinkomplexe der ETK überwiegend in verschiedenen Bereichen des Chloroplasten angesiedelt. Die PSII kommen hauptsächlich in den Grana vor, während die PSI überwiegend in den Stromathylakoiden vorzufinden sind [66]. Die Cyt *b<sub>6</sub>f* sind hingegen gleichmäßig zwischen den Grana und Stromathylakoiden verteilt [66]. Eine Verbindung zwischen den Hauptproteinkomplexen gewährleisten die Plastochinone (PQ) bzw. Plastochinole (PQH<sub>2</sub>) sowie, im Falle von Grünalgen, die Cytochrome *c<sub>6</sub>* [67], die als mobile Elektronentransporter in der Thylakoidmembran fungieren [1]. Für die Bereitstellung von ATP sorgt eine in der Thylakoidmembran gebundene ATPase [1].

Der lineare Elektronenfluss (LEF) beginnt mit der Absorption eines Photons durch ein Chromophor im LHCI. Die absorbierte Photonenenergie wird dann, wie im vorherigen Abschnitt 2.2.1 beschrieben, zum RCII geleitet. Dort befindet sich das spezielle Chlorophyllpaar P680, das als Akzeptor der absorbierten Lichtenergie dient. Dadurch wird das sich im Grundzustand befindende P680 angeregt und es kommt zur primären Ladungstrennung. Das angeregte P680 überträgt anschließend ein Elektron auf das benachbarte Pheophytin (Phe), welches dann das gebundene Plastochinon (Q<sub>A</sub>) reduziert. Das reduzierte Q<sub>A</sub> leitet das Elektron im nächsten Schritt an das locker gebundene Plastochinon (Q<sub>B</sub>) weiter, wodurch Q<sub>B</sub> reduziert und zusätzlich mit einem H<sup>+</sup> aus dem Stroma protoniert wird. Das oxidierte P680 ist ein sehr starkes Oxidationsmittel und entzieht dem benachbarten Tyrosin (Y<sub>Z</sub>) ein Elektron, wodurch es in den Grundzustand zurückkehrt. Das nun oxidierte Y<sub>Z</sub> wird durch den benachbarten sauerstoffproduzierenden Mn<sub>4</sub>CaO<sub>5</sub>-Komplex (englisch: *oxygen evolving complex*; OEC) reduziert [68]. Der sekundäre Akzeptor Q<sub>B</sub> kann insgesamt zwei Elektronen und zwei H<sup>+</sup> aufnehmen, bevor es als PQH<sub>2</sub> in die Thylakoidmembran hinaus diffundiert. Die entstehende Lücke in der RCII-Bindestelle wird mit einem PQ aus dem PQ-Pool gefüllt, der in *C. vulgaris* aus 5-20 Molekülen pro RCII besteht [1,69,70]. Der beschriebene Elektronentransport findet sequenziell statt, da Q<sub>A</sub> jeweils nur ein Elektron weiterleiten kann. Zur Bildung eines O<sub>2</sub>-Moleküls werden zwei H<sub>2</sub>O-Moleküle im OEC gespalten, was zur Bildung von zwei PQH<sub>2</sub> und zur Translokation von vier H<sup>+</sup> ins Lumen führt. Damit der RCII-interne Transport von vier Elektronen stattfinden kann, muss die Energie von insgesamt vier Photonen absorbiert und zum P680 im Grundzustand geleitet werden. [1,71–73]

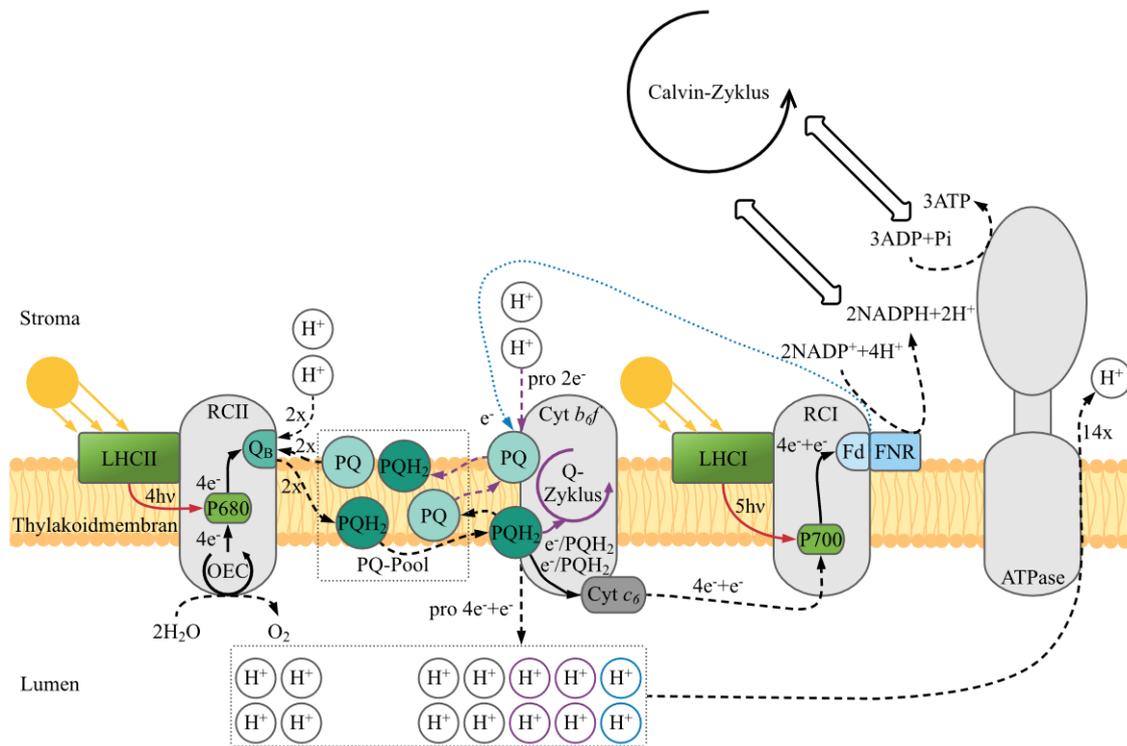


Abbildung 2.3: Schematische Darstellung der photosynthetischen ETK nach [1]. Die roten Pfeile symbolisieren den Energietransfer. Der lineare Elektronenfluss ist durch schwarze Pfeile dargestellt, wobei die soliden Pfeile für einen Elektronentransport und die gestrichelten Pfeile für einen diffusiven Transport stehen. Der Q-Zyklus ist durch lila Pfeile gekennzeichnet. Der zyklische Elektronenfluss wird durch den blauen gepunkteten Pfeil symbolisiert.

Die resultierenden  $\text{PQH}_2$  diffundieren über die Thylakoidmembran zum  $\text{Cyt } b_6/f$ . Der Diffusionskoeffizient von  $\text{PQH}_2$  bzw.  $\text{PQ}$  innerhalb der Thylakoidmembran liegt in einem Bereich von  $5 \cdot 10^{-11}$ - $3 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  [74–76]. Dabei müssen die  $\text{PQH}_2$  eine Strecke von bis zu 300 nm vom RCII zum  $\text{Cyt } b_6/f$  überwinden [66,77]. Die  $\text{PQH}_2$  binden an die  $\text{Q}_0$ -Bindestelle des jeweiligen  $\text{Cyt } b_6/f$  und werden dort, bei zusätzlicher Deprotonierung und Übertragung der entstehenden  $\text{H}^+$  ins Lumen, zu  $\text{PQ}$  oxidiert. Pro  $\text{PQH}_2$  wird ein Elektron über das Rieske-Protein [78], das einen 2-Eisen-2-Schwefel-Komplex enthält, auf ein  $\text{Cyt } c_6$  [67], das dem Lumen zugeneigt ist, übertragen. Das zweite Elektron wird im sogenannten Q-Zyklus recycelt, um die Stöchiometrie der ins Lumen translozierten  $\text{H}^+$  pro im LEF transportiertes Elektron in der Summe zu verdoppeln. Hierbei wird das jeweilige Elektron über die Cytochrome  $b_L$  und  $b_H$  zum  $\text{PQ}$  in der  $\text{Q}_i$ -Bindestelle des  $\text{Cyt } b_6/f$  übertragen, das ebenfalls pro aufgenommenes Elektron ein  $\text{H}^+$  aus dem Stroma aufnimmt. Nach der Oxidation von zwei  $\text{PQH}_2$  am  $\text{Cyt } b_6/f$  entsteht ein  $\text{PQH}_2$  an der  $\text{Q}_i$ -Bindestelle, was hinaus diffundiert und durch ein  $\text{PQ}$  ersetzt wird [1,67]. Aktuelle Erkenntnisse lassen vermuten, dass ein aus der  $\text{Q}_i$ -Bindestelle stammendes  $\text{PQH}_2$ -Molekül präferiert direkt in die  $\text{Q}_0$ -Bindestelle diffundiert, ohne vorher in den restlichen  $\text{PQ}$ -Pool überzugehen [79,80]. Somit kann der vom RCII reduzierte  $\text{PQ}$ -Pool prinzipiell getrennt von dem am zyklischen Elektronenfluss (ZEF) sowie am Q-Zyklus beteiligten  $\text{PQ}$ -Pool betrachtet werden [80].

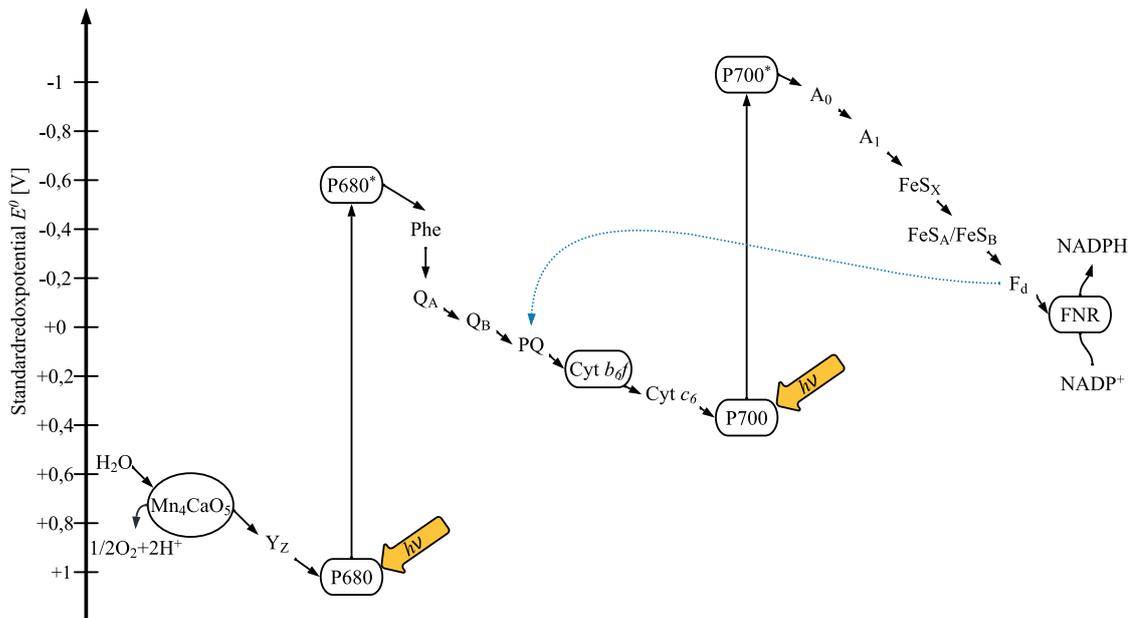


Abbildung 2.4: Z-Schema des photosynthetischen Elektronentransportes nach [1,73]. Der Elektronentransport beginnt mit der Spaltung von  $\text{H}_2\text{O}$  im OEC. Das P680, das bisher als das stärkste biologische Oxidationsmittel gilt, oxidiert das benachbarte  $\text{Y}_z$ , das wiederum den OEC ( $\text{Mn}_4\text{CaO}_5$ -Komplex) schrittweise oxidiert. Die Anregung des P680 durch absorbierte Lichtenergie ermöglicht die Reduktion des nachgeschalteten Phe, was im nächsten Schritt den primären Elektronenakzeptor  $\text{Q}_A$  reduziert.  $\text{Q}_A$  reduziert dann den sekundären Elektronenakzeptor  $\text{Q}_B$ , der sequenziell zwei Elektronen und zwei  $\text{H}^+$  aus dem Stroma aufnimmt, um dann als  $\text{PQH}_2$  in die Thylakoidmembran zu diffundieren. Die entstandene Lücke wird von einem PQ aus dem PQ-Pool gefüllt. Das  $\text{PQH}_2$  diffundiert zum  $\text{Cyt } b_6/f$ , wo es oxidiert und deprotoniert wird. Ein Elektron wird dem sogenannten Q-Zyklus (nicht dargestellt) zugeführt, während das zweite Elektron über das  $\text{Cyt } c_6$  an das P700 weitergeleitet wird, wo es schließlich erneut mittels Lichtenergie angeregt wird. Im Anschluss dazu wird das angeregte Elektron über die beteiligten Komplexkomponenten  $\text{A}_0$ ,  $\text{A}_1$ ,  $\text{FeS}_x$ ,  $\text{FeS}_A/\text{FeS}_B$  und  $\text{Fd}$  zum FNR transportiert. Zum Schluss reduziert FNR  $\text{NADP}^+$  zu  $\text{NADPH}$ , welches im Calvin-Zyklus als Reduktionsmittel verwendet wird. Zur Synthese eines  $\text{NADPH}$  werden zwei Elektronen benötigt. Die schwarzen Pfeile stehen für den LEF. Der blaue Pfeil symbolisiert den ZEF, bei dem ein Elektron erneut der photosynthetischen ETK zugeführt wird. Der gesamte Elektronentransport wird durch eine sequenzielle Reihenschaltung von Redoxreaktionen ermöglicht. Komponenten mit einem stark positiven Standardredoxpotential  $E^0$  sind gute Oxidationsmittel, während Komponenten mit einem stark negativen  $E^0$  gute Reduktionsmittel sind. [1]

Das reduzierte  $\text{Cyt } c_6$  diffundiert über die Thylakoidmembran zum RCI, bindet dort und überträgt das Elektron auf das spezielle Chlorophyllpaar P700, welches ein Absorptionsmaximum bei einer Lichtwellenlänge von 700 nm aufweist. Analog zum RCII führt die lichtbedingte Anregung des P700 zur primären Ladungstrennung innerhalb des RCI. Nach der primären Ladungstrennung im RCI wird das Elektron vom P700 auf den primären Elektronenakzeptor  $\text{A}_0$  übertragen, welches ebenfalls ein Chl a ist. Der Elektronentransport erfolgt dann über das Phyllochinon (Vitamin  $\text{K}_1$ )  $\text{A}_1$  und über insgesamt drei 4-Eisen-4-Schwefel-Komplexe  $\text{FeS}_x$ ,  $\text{FeS}_A$  sowie  $\text{FeS}_B$  [1,81]. Das lösliche Protein Ferredoxin ( $\text{Fd}$ ), welches einen 2-Eisen-2-Schwefel-Komplex enthält, kann an das RCI binden und dort vom  $\text{FeS}_B$  reduziert werden. Danach diffundiert es stromaseitig zur Ferredoxin-NADP-Reduktase (FNR), mit deren Hilfe  $\text{NADP}^+$  zu  $\text{NADPH}$  reduziert wird [81]. Dieser Elektronentransport, der einer Sequenz von Redoxreaktio-

nen entspricht und im sogenannten Z-Schema zusammengefasst wird (vgl. Abbildung 2.4), muss insgesamt viermal stattfinden, um zwei NADPH aus zwei NADP<sup>+</sup> zu synthetisieren.

Der Transport von vier Elektronen durch den LEF führt zu einer Translokation von 12 H<sup>+</sup> und einer Produktion von zwei NADPH (vgl. Abbildung 2.3) [1]. Der dabei aufgebaute transmembrane Protonengradient wird genutzt, um mithilfe der photosynthetischen ATPase ATP zu generieren. Die ATPase im Chloroplasten der Grünalgen sowie höherer Pflanzen besteht aus einem integralen Membrankomplex CF<sub>0</sub> und einem stromaseitigen peripheren Komplex CF<sub>1</sub> [1]. Die CF<sub>0</sub>CF<sub>1</sub>-ATPase benötigt 14 H<sup>+</sup> zur Synthese von drei ATP-Molekülen, weshalb die durch den LEF translozierten H<sup>+</sup> nicht genügen, um das für den Calvin-Zyklus notwendige NADPH/ATP-Verhältnis von 2:3 bereitzustellen [1,71,72,82–86]. Aus diesem Grund muss statistisch gesehen auf vier Elektronen, die durch den LEF transportiert werden, ein Elektron über den ZEF recycelt werden, um zwei zusätzliche H<sup>+</sup> ins Lumen zu translozieren [82]. Pro O<sub>2</sub>-Molekül, das am OEC erzeugt wird, muss der LHCI-RCI-Komplex folglich mindestens ein Elektron mehr anregen als der LHCII-RCII-Komplex. Aufgrund der Tatsache, dass die Thylakoidmembran für H<sup>+</sup> permeabel ist [87], kann die ATPase-katalysierte ATP-Synthese von der Stöchiometrie von 4,67 H<sup>+</sup> pro ATP (bzw. 14 H<sup>+</sup> pro 3 ATP) abweichen, wenn die gesamte photosynthetische ETK als Bilanzraum herangezogen wird.

Der Mechanismus des ZEF und dessen Regelung sind aktuell nicht endgültig aufgeklärt. Derzeitige Erkenntnisse deuten darauf hin, dass der Elektronentransport von der RCI-Akzeptorseite zum PQ in der Q<sub>i</sub>-Bindestelle des Cyt *b<sub>6</sub>f* unter Beteiligung von Fd erfolgt [79,80]. Die in der Q<sub>i</sub>-Bindestelle zu PQH<sub>2</sub> reduzierten PQ scheinen direkt nach ihrer vollständigen Reduktion, ohne einen temporären Übergang in den restlichen PQ-Pool, zur Q<sub>o</sub>-Bindestelle des Cyt *b<sub>6</sub>f* zu diffundieren und dort zu binden [80]. Deshalb kann der am Q-Zyklus und ZEF beteiligte PQ-Pool von dem am LEF beteiligten PQ-Pool getrennt betrachtet werden [80]. Es besteht zudem die Vermutung, dass mithilfe des ZEF nicht nur das Verhältnis der Reduktions- und Energieäquivalente für den Calvin-Zyklus reguliert wird, sondern, dass mithilfe des ZEF auch der zusätzliche ATP-Bedarf der Kohlenstoff-konzentrierenden Mechanismen (KKM) gedeckt werden könnte [88]. Außer dem ZEF bestehen weitere, alternative Elektronenflüsse (AEFs), denen überwiegend eine photoprotektive Funktion zugesprochen wird [89,90]. Einer der wichtigsten AEFs ist der Mehler-Zyklus [90]. Hierbei werden die Elektronen vom Fd auf O<sub>2</sub> übertragen, was zur Bildung von ROS führt, die anschließend mithilfe einer Superoxiddismutase und einer Ascorbat-Peroxidase letztlich zu H<sub>2</sub>O umgewandelt werden [91]. Da die Elektronen hierbei ursprünglich vom H<sub>2</sub>O stammen und erneut auf H<sub>2</sub>O übertragen werden, wird dieser Zyklus auch als der Wasser-Wasser-Zyklus (WWZ) bezeichnet. Der WWZ trägt, ohne eine parallele Bildung von Reduktionsäquivalenten, zur Bildung von ATP bei [89].

Neben dem Verständnis der Abläufe in der photosynthetischen ETK sind vor allem der Aufbau der beiden LHC-RC-Komplexe sowie die Zeit- bzw. Geschwindigkeitskonstanten der ETK-Hauptkomponenten für die Modellierung der Photosynthese kinetik (vgl. Abschnitte 2.6.3 und 4.3) relevant, weshalb diese im Nachfolgenden zusätzlich erläutert werden.

Der PSII-Komplex kommt nativ als ein in der Thylakoidmembran eingebettetes Dimer vor, bestehend aus zwei RCII, die ihrerseits von jeweils einem inneren und einem äußeren Antennenkomplex umgeben sind [1,72]. Ein RCII besteht aus den beiden Proteineinheiten D1 und D2

sowie etwa 21 weiteren Untereinheiten (vgl. Anhang A.7) [37,92]. Das RCII enthält im Zentrum das spezielle Chlorophyllpaar P680, das ein Absorptionsmaximum bei einer Lichtwellenlänge von 680 nm besitzt und bei der lichtinduzierten Ladungstrennung als primärer Elektronendonator fungiert [37]. Ein RCII enthält lediglich 6 Chla sowie 2 Phe [37,93] und ist für eine effiziente Lichtabsorption ungeeignet [1,94]. Deshalb ist das RCII mit LHCIIs verknüpft. Der innere Antennenkomplex besteht aus den beiden Monomeren CP43 und CP47, die jeweils 13 und 16 Chla aufweisen [93]. Der innere Antennenkomplex ist von den äußeren LHCIIs umgeben. Der äußere Antennenkomplex besteht aus den beiden Monomeren CP26 und CP29 sowie bis zu drei zusätzlichen LHCII-Trimeren [93,95]. Die Proteinuntereinheit CP26 enthält 9 Chla und 4 Chlb, während CP29 10 Chla und 3 Chlb enthält [93]. Die LHCII-Trimere unterscheiden sich in der Stärke der Bindung zum RCII-Komplex. Es wird zwischen stark, moderat und lose gebundenen LHCII-Trimeren unterschieden [93,95,96]. In [93] wird postuliert, dass ein LHCII-Trimer etwa 24 Chla und 18 Chlb enthält. Neben den Chlorophyllen enthalten die LHCII-Komplexe zusätzlich Carotinoide [37,93]. Im speziellen Fall von *Chlorella spp.* wird davon ausgegangen, dass diese Spezies ausschließlich photoprotektive Carotinoide besitzt [50,97–99]. Der bisher beschriebene LHCII-RCII-Komplexaufbau beschränkt sich auf Chlorophyta [93,95], weist jedoch auch Homologien zu höheren Pflanzen auf [1,37].

Der Elektronentransport innerhalb des RCII läuft überwiegend mit Zeitkonstanten im Bereich von Piko- bis Nanosekunden ab [58]. Die beiden Ausnahmen, mit deutlich längeren Zeitkonstanten, bilden die Reduktion von  $Q_B$  durch  $Q_A$  und die Wasserspaltung im OEC. Der OEC durchläuft insgesamt fünf Zustände, die als  $S_0$ ,  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$  und  $S_4$  definiert sind, wobei jeder Zustandsübergang (außer  $S_4$  zu  $S_0$ ) mit einer Oxidation des OEC und einer Reduktion des benachbarten  $Y_Z$  einhergeht [100,101]. Jedem Zustandsübergang geht eine Anregung und Oxidation des P680 voraus. Lediglich der Übergang von  $S_4$  zu  $S_0$ , bei dem erneut zwei  $H_2O$ -Moleküle durch den  $Mn_4CaO_5$ -Komplex gebunden werden, erfordert keine vorangehende Anregung und Oxidation des P680. Die Zustandsübergänge weisen unterschiedliche Zeitkonstanten auf [68]. Der Übergang von  $S_0$  zu  $S_1$  dauert 30-250  $\mu s$ , der von  $S_1$  zu  $S_2$  dauert 55-110  $\mu s$ , der von  $S_2$  zu  $S_3$  erfolgt in 180-460  $\mu s$  und der von  $S_3$  zu  $S_4$  nimmt ca. 200  $\mu s$  in Anspruch. Die Regeneration von  $S_4$  zu  $S_0$  dauert insgesamt 1-1,2 ms. Somit beanspruchen die vollständige Wasserspaltung und die anschließende Regeneration des OEC insgesamt 1,5-2,2 ms [68]. Je nach Literaturquelle wird auch eine geringere Zeitkonstante von etwa 1 ms für den gesamten Zyklus angegeben [1,58]. Die Reduktion von  $Q_B$  durch  $Q_A$  ist ebenfalls ein relativ langsamer Schritt mit Zeitkonstanten im Bereich von 200-800  $\mu s$ , wenn ein  $Q_B$  in der Bindetasche des RCII vorliegt [58,102]. Wenn zunächst noch eine Bindung eines  $Q_B$  aus dem PQ-Pool erfolgen muss, dauert die Reduktion von  $Q_B$  bzw. die Oxidation von  $Q_A$  etwa 2-3 ms [102]. Es wird vermutet, dass der Elektronentransport am RCII durch die Reduktion von  $Q_B$  limitiert wird [103].

Die Oxidation von  $PQH_2$  am Cyt  $b_6f$  ist ebenfalls ein langsamer Prozess mit einer Zeitkonstanten im Bereich von 3-5 ms pro  $PQH_2$  und ist damit sogar der absolut limitierende Schritt innerhalb der photosynthetischen ETK, zumindest ohne die Berücksichtigung der Zeitkonstanten des Calvin-Zyklus (vgl. Abschnitt 2.2.3) [1,58,104,105].

Im Gegensatz zum PSII besteht das PSI nur aus einem RCI, das aus den beiden Untereinheiten  $psaA$  und  $psaB$ , die das P700 enthaltende Zentrum bilden, sowie bis zu 12 bzw. 13 zusätzlichen Untereinheiten besteht (vgl. Anhang A.7) [81,92]. Ein weiterer Unterschied zum RCII besteht in

der Anzahl der Chlorophylle, die das RCI enthält. Je nach Literaturquelle enthält das RCI 96-100 Chla und 15-22  $\beta$ -Carotine [1,36,81]. Hinzu kommen bis zu 9 bzw. 10 LHCI-Monomere, die das RCI umgeben [106–110]. Die LHCI sind nicht einheitlich und weisen Variationen im Chla/Chlb-Verhältnis sowie in der Gesamtanzahl der Pigmente auf. Insgesamt kann ein LHCI-RCI-Komplex in Chlorophyta bis zu 215-235 Chlorophylle enthalten und dabei ein Chla/Chlb-Verhältnis von etwa 4,4 aufweisen [106,108,110]. Die LHCI-RCI-Komplexe sind höchst effizient, was unter anderem daran liegt, dass jegliche Transportvorgänge innerhalb eines RCI im Rahmen von Piko- bis Nanosekunden erfolgen [1,36,58]. Mit einer Dauer von ca. 2  $\mu$ s ist der Elektronentransfer auf Fd die langsamste Reaktion am RCI [1]. Dieser Reaktionsschritt ist jedoch trotzdem schneller als die langsamsten Elektronentransportvorgänge am RCII.

### 2.2.3 Dunkelreaktion der oxygenen Photosynthese

Neben der von der photosynthetischen ETK bereitgestellten Reduktions- und Energieäquivalente in Form von NADPH und ATP benötigt der Calvin-Zyklus (vgl. Abbildung 2.5), der auch als die Dunkelreaktion der Photosynthese bezeichnet wird,  $\text{CO}_2$  als Substrat. In aquatischen Systemen lassen sich drei Carbonat-Spezies in einem vom pH-Wert abhängigen Gleichgewichtszustand finden. Bei pH-Werten bis ca. 8 liegt teilweise  $\text{CO}_2$  vor. Im pH-Wertbereich zwischen 4-11 ist zusätzlich  $\text{HCO}_3^-$  vorhanden. Ab einem pH-Wert von etwa 7 nimmt zusätzlich der Anteil von  $\text{CO}_3^{2-}$  zu. Im Vergleich zu den anderen beiden Spezies kann das nicht geladene  $\text{CO}_2$  über die Zellmembran in die Mikroalgenzelle diffundieren, es kann jedoch auch aus der Zelle diffundieren. Die anderen beiden Carbonat-Spezies müssen aufgrund ihrer Ladung über Transporter in die Zelle transloziert werden. In einer üblichen aquatischen Umgebung liegt der pH-Wert meist zwischen 7-8, weshalb in diesen Systemen  $\text{HCO}_3^-$  die dominante Carbonat-Spezies ist [111]. Auch wenn  $\text{HCO}_3^-$  von vielen Mikroalgen aufgenommen werden kann, muss es für den Calvin-Zyklus in  $\text{CO}_2$  umgewandelt werden. Je nach zellinternem pH-Wert kann es deshalb notwendig sein,  $\text{HCO}_3^-$  mithilfe einer Carboanhydrase reversibel in  $\text{CO}_2$  umzuwandeln [112]. [1]

In Mikroalgen findet die  $\text{CO}_2$ -Fixierung in sogenannten Pyrenoiden statt, die sich im Stroma des Chloroplasten befinden und deren Anzahl speziesabhängig variieren kann. Ein Pyrenoid besteht aus konzentrierter, kristalliner Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase/-oxygenase (RuBisCO) und kann zusätzlich von Stärkegranula umgeben sein. [1,6]

Den ersten Reaktionsschritt des Calvin-Zyklus bildet die RuBisCO-katalysierte Carboxylierung eines Ribulose-1,5-bisphosphates ( $\text{C}_5$ -Körper) unter Fixierung eines  $\text{CO}_2$ -Moleküls. Dadurch entsteht ein instabiler  $\text{C}_6$ -Körper, der in zwei Moleküle 3-Phosphoglycerat (3-PGA;  $\text{C}_3$ -Körper) zerfällt. Die beiden 3-PGA werden im nächsten Schritt zu zwei 1,3-Bisphosphoglycerat ( $\text{C}_3$ -Körper) unter Verbrauch von zwei ATP phosphoryliert und darauffolgend zu zwei Molekülen Glycerinaldehyd-3-phosphat (GAP;  $\text{C}_3$ -Körper) unter Verbrauch von zwei NADPH reduziert. Dieser Punkt des Calvin-Zyklus stellt eine wichtige Verzweigung dar. Nach der Fixierung von drei  $\text{CO}_2$ -Molekülen liegen insgesamt sechs GAP vor. Von diesen sechs GAP kann ein GAP im restlichen Metabolismus als  $\text{C}_3$ -Körper für den Aufbau weiterer Substanzen (Anabolismus) oder für die Energiegewinnung (mitochondriale Respiration) genutzt werden (vgl. Abschnitte 2.3 und 2.4). Die restlichen fünf GAP-Moleküle können über den reduktiven Pentosephosphatweg zu drei Molekülen Ribulose-5-phosphat ( $\text{C}_5$ -Körper) umgewandelt werden [113]. Im letzten Schritt

wird die Ribulose-5-phosphat unter Verbrauch von einem ATP (pro Ribulose-5-phosphat) zu Ribulose-1,5-bisphosphat phosphoryliert, sodass der Calvin-Zyklus bzw. die CO<sub>2</sub>-Fixierung erneut beginnen kann (vgl. Abbildung 2.5). In der Summe werden beim Calvin-Zyklus drei ATP und zwei NADPH pro Zyklusdurchlauf verbraucht. [1]

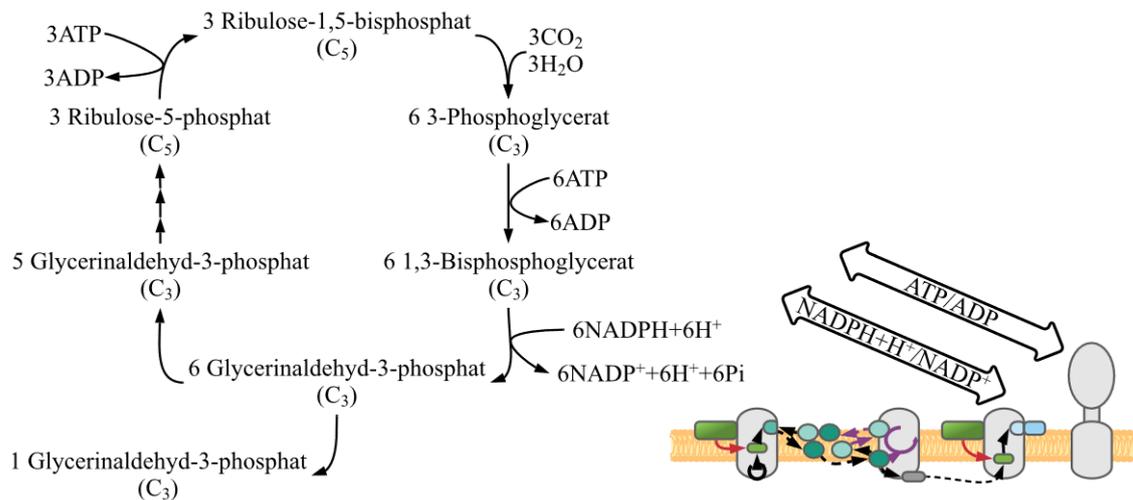


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung der CO<sub>2</sub>-Fixierung im Calvin-Zyklus nach [1]. Im ersten Schritt erfolgt die RuBisCO-katalysierte Carboxylierung von Ribulose-1,5-bisphosphat, was über eine instabile Zwischenstufe zu zwei Molekülen 3-PGA führt. Das 3-PGA wird zu 1,3-Bisphosphoglycerat phosphoryliert, das nachfolgend zu GAP reduziert wird. Das GAP wird dann verwendet, um über den reduktiven Pentosephosphatweg Ribulose-5-phosphat zu regenerieren [113]. Zum Schluss wird Ribulose-5-phosphat zu Ribulose-1,5-bisphosphat phosphoryliert und der Zyklus beginnt von vorne. Insgesamt müssen drei CO<sub>2</sub>-Moleküle fixiert werden, damit ein GAP für den nachgeschalteten Metabolismus bereitgestellt werden kann. Die restlichen fünf Moleküle GAP verbleiben im Calvin-Zyklus. Die für den Calvin-Zyklus erforderlichen Reduktions- und Energieäquivalente (NADPH und ATP) werden unter Lichteinfall von der vorgeschalteten photosynthetischen ETK geliefert. [1]

Unter atmosphärischen CO<sub>2</sub>-Bedingungen scheint laut den bisherigen Literaturergebnissen die RuBisCO-katalysierte Carboxylierung der geschwindigkeitsbestimmende Schritt innerhalb des Calvin-Zyklus zu sein [1,105,114–116]. Die Chlorophyta besitzen Typ I-B RuBisCO mit acht großen katalytischen und acht kleinen Untereinheiten [114]. Unter der Annahme, dass alle acht katalytischen Einheiten dieses RuBisCO-Typs simultan aktiv sein können, ergeben sich für die Carboxylierung von Ribulose-1,5-bisphosphat Zeitkonstanten von 9-104 ms [117,118]. Neben der relativ langsamen Reaktionsgeschwindigkeit von RuBisCO besteht zudem das Problem, dass RuBisCO auch eine Oxygenierungsreaktion katalysieren kann, die zur Bildung von einem 3-PGA und einem 2-Phosphoglycolat führt [1,119]. Zwei Moleküle 2-Phosphoglycolat können jedoch über mehrere enzymatische Schritte und unter Verbrauch von einem ATP in ein 3-PGA umgewandelt werden, wobei ein CO<sub>2</sub> sowie ein NH<sub>4</sub><sup>+</sup> frei werden, die unter Energieaufwand erneut fixiert werden müssen [120]. Dieser Vorgang wird als Photorespiration bezeichnet und tritt insbesondere unter hohen O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Verhältnissen auf [1,120,121]. Zusätzlich bestehen speziesabhängige Unterschiede in der CO<sub>2</sub>-Selektivität und Carboxylase- bzw. Oxygenaseaktivität von RuBisCO [122], die zu einer variierenden Ausprägung der Photorespiration in unterschiedlichen Organismen unter gleichen O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Verhältnissen führt [123,124]. Bei der Ver-

wendung eines üblichen Gasgemisches (mit 1-2 % (v/v) CO<sub>2</sub> angereicherte Luft) konnte in [120] am Beispiel von *Chlamydomonas reinhardtii* gezeigt werden, dass unter solchen O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Verhältnissen der Anteil der Photorespiration an der Brutto-Photosyntheserate während einer Photobioreaktor-Kultivierung im Bereich von 16-21 % liegen kann. Dieser Wertebereich ist jedoch lediglich als ein grober Rahmen zu betrachten, da die gelösten Anteile von CO<sub>2</sub> und O<sub>2</sub>, die für die Photosynthese- bzw. Photorespirationsrate relevant sind, in Abhängigkeit der Komposition des Mediums sowie den Kultivierungsbedingungen, trotz der gleichen Zusammensetzung der Zuluft, variieren können [2,22,125]. Bei geringen O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Verhältnissen im Medium (bspw. bei einem Verhältnis von etwa 1:3) kann die Photorespiration vernachlässigbar klein werden [120,121]. Ein solches Verhältnis ist jedoch unüblich bei gewöhnlichen photoautotrophen Kultivierungen in Photobioreaktoren und wurde in [120] durch eine spezielle Begasung der Kultur von *C. reinhardtii* mit einem N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Gasgemisch erreicht.

Die scheinbare Ineffizienz von RuBisCO (geringe Umsatzraten und Photorespiration) ist womöglich der Grund dafür, dass RuBisCO das am häufigsten vorkommende Protein in der Natur ist und damit eine enorme Stickstoffsänke darstellt [117,118]. Dabei scheinen Organismen, darunter auch C<sub>3</sub>-Pflanzen, die keine KKM besitzen, besonders hohe Mengen an RuBisCO mit vergleichsweise hohen CO<sub>2</sub>-Affinitäten zu produzieren [112,117,122]. In Landpflanzen kann der RuBisCO-Anteil am Gesamtprotein zwischen 5-50 % erreichen [1,117]. Einige photosynthetische Organismen in aquatischen Systemen, darunter auch die Chlorophyta, besitzen jedoch KKM, die einen aktiven CO<sub>2</sub>- bzw. HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Transport in die Zelle ermöglichen [112]. Dadurch können sie die intrazelluläre CO<sub>2</sub>-Konzentration um das bis zu 75-Fache im Vergleich zu einem rein diffusiven Transport steigern [1,88,112,115]. Dies ist möglicherweise die Erklärung dafür, dass Organismen mit KKM üblicherweise geringere Mengen an RuBisCO aufweisen als Organismen, die keine KKM besitzen [117]. Zudem weist RuBisCO in Organismen mit KKM tendenziell eine geringere CO<sub>2</sub>-Affinität auf als in Organismen ohne KKM [122]. Bei der O<sub>2</sub>-Affinität ist hingegen keine eindeutige Tendenz erkennbar [122]. Bei Mikroalgen liegt der RuBisCO-Anteil am Gesamtprotein im Bereich von 2-23 % [111,126], häufig jedoch im Bereich von 2-10 % [117].

Einen weiteren Hinweis auf die Aktivität der KKM in Grünalgen liefert die Beobachtung, dass die *in vitro* ermittelte CO<sub>2</sub>-Halbsättigungskonstante von RuBisCO ( $k_{M,CO_2}$ ) in *C. reinhardtii* im Bereich von 29 μM liegt, während die scheinbare CO<sub>2</sub>-abhängige Halbsättigungskonstante des Zellwachstums (entspricht dem effektiven *in vivo*  $k_{M,CO_2}$ -Wert) sich im Bereich von etwa 1 μM befindet [112,122]. Für *Chlorella spp.* können ähnliche Werte angenommen werden [112]. Ein solcher Unterschied zwischen den *in vitro* und effektiven *in vivo*  $k_{M,CO_2}$ -Werten kann prinzipiell durch eine deutliche Aufkonzentrierung des CO<sub>2</sub> im Zellinneren und/oder durch eine starke Überexpression von RuBisCO erreicht werden. Bei der Untersuchung des RuBisCO-Gehaltes in diversen Mikroalgenstämmen in [117] wurde ausgehend von den experimentellen Ergebnissen postuliert, dass Mikroalgen mit KKM ihren RuBisCO-Gehalt nahe dem Mindestgehalt einstellen, der für den Erhalt der beobachteten Wachstumsrate notwendig wäre. Basierend auf den Daten und Berechnungen von [117] erscheint die Überexpression von RuBisCO als Erklärung für die beobachteten Differenzen zwischen den jeweiligen  $k_{M,CO_2}$ -Werten [112,122] eher unwahrscheinlich. Konträr zu der Aussage, dass der RuBisCO-Gehalt stets nahe dem für die

jeweilige Wachstumsrate notwendigen Mindestgehalt liegt [117], können die Ergebnisse der Lichtsprungexperimente in [127] gewertet werden.

In [127] wurde beobachtet, dass eine plötzliche Erhöhung der Lichtintensität (Lichtsprung von  $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  auf  $500 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) zu einem deutlichen Anstieg des Kohlenhydratgehaltes in *C. vulgaris* führt. Dabei schien die Akkumulation der Kohlenhydrate bis etwa 12,5 h besonders stark ausgeprägt zu sein, während die lichtbedingte Zellakklimatisation ca. 50-75 h in Anspruch nahm [127]. Da der RuBisCO-Gehalt bei diesen Experimenten nicht explizit bestimmt wurde [127], kann nicht ausgeschlossen werden, dass die lichtabhängige Anpassung des RuBisCO-Gehaltes in *C. vulgaris* schneller abläuft als die Photoakklimatisation des restlichen Photosyntheseapparates. Dieses Verhalten wäre jedoch fraglich, da die  $\text{CO}_2$ -Fixierung und die photosynthetische ETK unmittelbar zusammenhängen (vgl. Abschnitte 2.2.2 und 2.2.3) und eine wesentlich schnellere Akklimatisation einer der beiden Komponenten deshalb als wenig sinnvoll erscheint. Es kann daher vermutet werden, dass es möglicherweise doch zu einer Überexpression von RuBisCO kommen kann. Unter der Voraussetzung, dass die Mikroalgenzelle nur so viel RuBisCO enthält, dass es gerade so reicht, um die beobachtete Wachstumsrate zu erhalten [117], erscheint eine starke und plötzliche Akkumulation von Kohlenhydraten nach einem Anstieg der Lichtverfügbarkeit [127] als kaum möglich. In einem solchen Zustand wäre eine vollständige bzw. nahezu vollständige Auslastung von RuBisCO zu erwarten, weshalb eine erhöhte Lichtverfügbarkeit keinen deutlichen Einfluss auf die  $\text{CO}_2$ -Fixierung und damit auf die Kohlenhydratakkumulation haben dürfte. Bei einer partiellen Auslastung des RuBisCO-Pools wäre hingegen eine plötzliche Kohlenhydratakkumulation durch die plötzliche Zunahme der Lichtverfügbarkeit möglich und zu erwarten.

## 2.3 Metabolismus und makromolekulare Zellzusammensetzung von Mikroalgen

Der zentrale Kohlenstoffmetabolismus von Grünalgen lässt sich auf drei Zellkompartimente aufteilen, nämlich Chloroplast, Cytosol und Mitochondrium [113,128]. Die Gluconeogenese, Stärkesynthese und ein Teil der Glykolyse (bis GAP bzw. 3-PGA) laufen bei Grünalgen im Chloroplasten ab. Ein Teil der Lipidsynthese und der Glykolyse (ausgehend von GAP bzw. 3-PGA bis Phosphoenolpyruvat) finden im Cytoplasma der Grünalgen statt. Die Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-CoA und der Citratzyklus werden im Mitochondrium durchgeführt, wo auch die oxidative Phosphorylierung (siehe Abschnitt 2.4) stattfindet. Der Pentosephosphatweg, über den auch Ribulose-1,5-bisphosphat für den Calvin-Zyklus regeneriert wird [1] (vgl. Abschnitt 2.2.3), läuft sowohl im Chloroplasten als auch im Cytoplasma ab. [113]

Beim photoautotrophen Wachstum bildet das im Calvin-Zyklus durch die  $\text{CO}_2$ -Fixierung entstehende GAP (vgl. Abschnitt 2.2.3) den zentralen Ausgangsstoff für die Synthese weiterer Zellkomponenten (vgl. Abbildung 2.6). Im Chloroplasten kann das GAP im Rahmen der Gluconeogenese zum Aufbau von Glucose-1-phosphat verwendet werden, das anschließend über weitere enzymatische Reaktionsschritte zu Stärke synthetisiert werden kann [129]. Die Stärkebiosynthese im Chloroplasten ermöglicht die unmittelbare Nutzung des ATP aus der Photosynthese [113]. Das GAP kann alternativ aus dem Chloroplasten in das Cytosol transportiert und in

die Glykolyse eingespeist oder direkt zur Synthese von weiteren Polysacchariden genutzt werden. In der Glykolyse wird GAP schließlich zu Acetyl-Coenzym A (CoA) abgebaut, das als Substrat für den nachgeschalteten Citratzyklus dient. Der im Mitochondrium ablaufende Citratzyklus liefert die für die oxidative Phosphorylierung (siehe Abschnitt 2.4) notwendigen Reduktionsäquivalente und zusätzlich Kohlenstoffgerüste für weitere Zellkomponenten, darunter Aminosäuren, Nucleotide, Pigmente sowie sekundäre Metabolite. Weiterhin dient Acetyl-CoA als Ausgangsstoff für die Fettsäurebiosynthese. Umgekehrt können die aufgebauten Zellbestandteile auch in ihre Vorstufen abgebaut und anschließend im Citratzyklus oder in anderen metabolischen Reaktionen eingesetzt werden. [1,113,129]

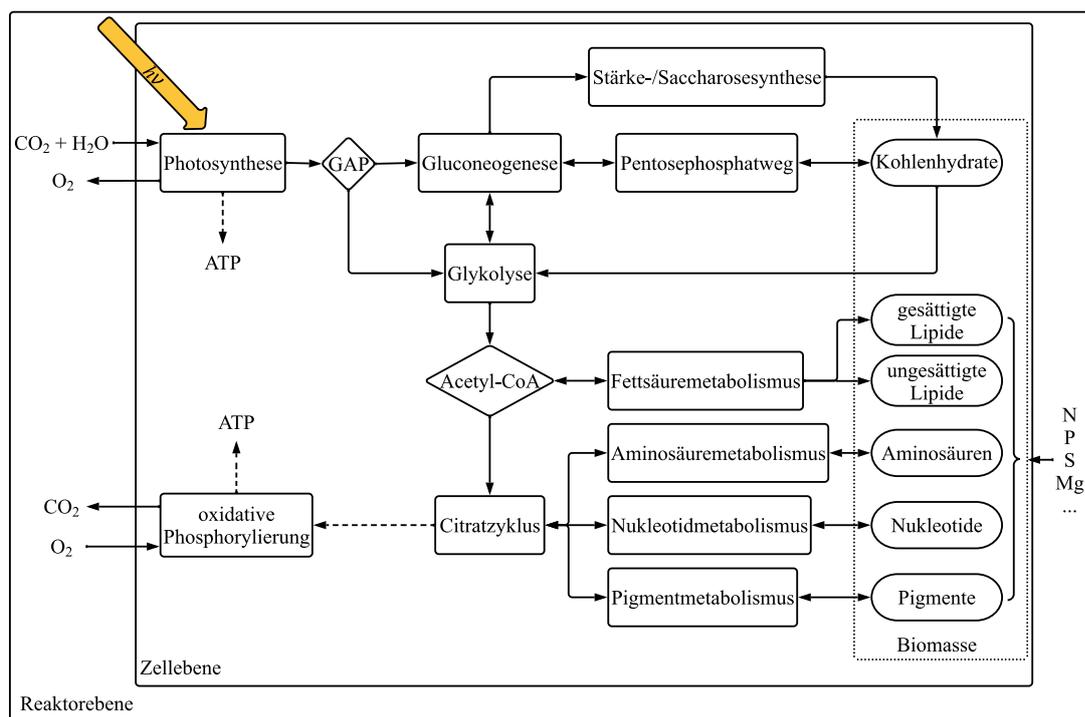


Abbildung 2.6: Schematische, stark vereinfachte Übersicht des zentralen Kohlenstoffmetabolismus der Mikroalgen nach [113,130]. Das GAP aus der Photosynthese dient dem restlichen Metabolismus als Ausgangsstoff. Dabei kann es über Gluconeogenese zu Glucose und anschließend zu den Polysacchariden Stärke und Saccharose aufgebaut werden. Die Glucose kann in andere Kohlenhydrate über den Pentosephosphatweg, dessen Zwischenprodukte auch als Ausgangsstoffe für die Gluconeogenese dienen können, umgewandelt werden. Sowohl GAP als auch Glucose können in der Glykolyse verwendet werden, um zu Acetyl-CoA abgebaut zu werden. Pyruvat, das ein Zwischenprodukt der Glykolyse ist, kann auch innerhalb der Gluconeogenese eingesetzt werden. Das Acetyl-CoA als Substrat wird sowohl für den Fettsäuremetabolismus als auch für den Citratzyklus verwendet. Der Citratzyklus liefert die für die oxidative Phosphorylierung notwendigen Reduktionsäquivalente (gestrichelter Pfeil) und die Vorstufen für Aminosäuren bzw. Proteine, Nucleotide und Pigmente (Sekundärmetabolite werden hier vernachlässigt). Zusammen mit den Kohlenhydraten und Lipiden bilden die zuvor aufgezählten Makromoleküle die Mikroalgenbiomasse. Die makromolekularen Komponenten der Biomasse lassen sich auch in ihre jeweiligen Vorstufen abbauen. Das für die Biosynthese von Zellkomponenten notwendige ATP wird von der oxidativen Phosphorylierung und zum Teil von der Photosynthese bereitgestellt. Für die Synthese der Makromoleküle werden neben den Kohlenstoffgerüsten und ATP zusätzliche Nährstoffe wie bspw. N, P, S und Mg sowie weitere Spurenelemente benötigt. [1,113,129]

Die makromolekulare Zellkomposition ist für den Wert der Mikroalgenbiomasse als Produkt wichtig, unterliegt jedoch speziesabhängigen Variationen [131] und ist zudem von den Umweltbedingungen wie bspw. Temperatur, pH-Wert und Salinität des Mediums, Nährstoff- sowie Lichtverfügbarkeit abhängig [4,6,15,35,127,130,132]. Darüber hinaus ist die Art der Kohlenstoffquelle entscheidend für die Zellzusammensetzung, so unterscheiden sich photoautotrophe Kultivierungen mit einer anorganischen Kohlenstoffquelle deutlich von mixo- oder heterotrophen Kultivierungen mit einer zusätzlichen bzw. ausschließlich organischen Kohlenstoffquelle [6,133]. Im Nachfolgenden werden die Zellhauptbestandteile der Mikroalgenbiomasse und ihre Funktion im Organismus vorgestellt.

In nicht-nährstofflimitierten Kultivierungen kann sich der BTM-spezifische Proteingehalt in *C. vulgaris* im Bereich von 24-64 % bewegen [6,130,134]. Die Proteine sind an einer Vielzahl von zellulären Vorgängen beteiligt, darunter Katalyse von biochemischen Reaktionen, Replikation, Transkription, Translation, Stofftransport, Reparatur von Zellschäden, Signalleitung und Signalmodulation sowie Neutralisation von Fremdkörpern als Teil der Immunantwort [6,135–138]. Sie erfüllen jedoch auch strukturelle Funktionen und sind je nach Mikroalgenart zudem für die aktive Fortbewegung der Zelle notwendig [4,6]. Das Molekulargewicht eines einzelnen Proteins in *C. vulgaris* liegt im Bereich von 12-120 kDa, wobei die meisten Proteine eine Masse von 39-75 kDa aufweisen [6,32,139]. Mit massenspezifischen Gesamtproteinanteilen von jeweils 2-10 % (vgl. Abschnitt 2.2.3) und 4-40 % können RuBisCO [117] und die LHC-RC-Komplexe (Aminosäurezusammensetzung ist im Anhang A.7 hinterlegt) [126] den Großteil der zellulären Proteine in Mikroalgen ausmachen. Diese photosynthetischen Proteine stellen den Hauptunterschied zu Proteinen der heterotrophen Mikroorganismen dar, die solche Proteine entsprechend nicht enthalten. Der Massenanteil der ribosomalen Proteine am Gesamtprotein kann in Mikroalgen etwa 9-21 % betragen [126,140].

Der Anteil der Nukleotide an der Mikroalgenbiomasse fällt im Vergleich zu den jeweiligen Anteilen der Proteine, Kohlenhydrate und Lipide gering aus. Dabei lassen sich in Mikroalgen BTM-spezifische Desoxyribonukleinsäure (DNS)- und Ribonukleinsäure (RNS)-Gehalte von jeweils 0,6-3,2 % und 2,5-13 % finden [140]. Die Nukleotide in Form von DNS bzw. RNS sind essenziell für die Replikation, Transkription und Translation in einer Mikroalgenzelle [1]. Der Hauptteil der RNS wird von der ribosomalen RNS gestellt [126]. Interessanterweise scheint der RNS-Gehalt in manchen Mikroalgen unter nährstoffgesättigten Bedingungen keine eindeutige, positive Korrelation mit der Wachstumsrate aufzuweisen [140–143]. In heterotrophen Mikroorganismen fällt die positive Korrelation zwischen dem Anstieg der Wachstumsrate und der Zunahme des RNS-Gehaltes deutlicher aus [126].

Der BTM-spezifische Pigmentgehalt in *C. vulgaris* ist im Vergleich zu den restlichen Makromolekülen ebenfalls gering. Trotzdem sind die Pigmente essenziell für die Lichtabsorption [1] (vgl. Abschnitt 2.2.1) und damit für das Verständnis der Stoffflüsse innerhalb einer Mikroalgenzelle sowie deren Akklimatisation enorm wichtig. Das dominante Pigment in *C. vulgaris* ist das Chla, ähnlich wie auch in anderen Chlorophyta [1,6]. Daneben enthält *C. vulgaris* Chlb sowie diverse Carotinoide [1,6,98]. Oft beträgt der BTM-spezifische Chlorophyllgehalt in nährstoffgesättigten *C. vulgaris* Zellen 1-2 % [6]. Unter Lichtlimitierung kann der BTM-spezifische Chla-Gehalt jedoch auch auf etwa 4 % ansteigen [140]. Zu den häufigsten Carotinoiden in *Chlorella spp.* gehören  $\alpha$ - sowie  $\beta$ -Carotine, Lutein, Neoxanthin, Zeaxanthin, Antheraxanthin und Vi-

olaxanthin, wobei die letzten drei am photoprotektiven Xanthophyllzyklus beteiligt sind [1,97–99]. In der Mikroalgenzelle liegen die Chlorophylle stets in photosynthetischen LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexen vor (vgl. Abschnitt 2.2.2) [140].

Die Kohlenhydrate in Mikroalgen lassen sich grob in zwei Gruppen aufteilen. Die erste Gruppe beinhaltet die funktionalen Kohlenhydrate, die bspw. an der Zellstruktur [144] oder unmittelbar am Zellmetabolismus [129] beteiligt sind. Die zweite Gruppe beinhaltet die Kohlenhydrate, die primär als längerfristige Energiespeicher dienen und erst bei Bedarf verstoffwechselt werden. Das am häufigsten vorkommende Speicherkohlenhydrat in *C. vulgaris* ist das wasserunlösliche, osmotisch inaktive Polysaccharid Stärke, das aus Amylose sowie Amylopektin besteht [145] und in Form von Stärkegranula im Chloroplasten gespeichert wird [4,6,13]. Weiterhin enthalten die Mikroalgenzellen auch Saccharose, üblicherweise jedoch in geringen Mengen [146]. Das häufigste funktionale Polysaccharid bei Grünalgen ist Cellulose und für die Struktur der Zellwand unabdingbar [6]. Zusätzlich enthält die Zellwand von *C. vulgaris* weitere Oligo- und Polysaccharide, die aus den Monosacchariden Rhamnose, Arabinose, Xylose, Mannose, Galactose und Glucose bestehen [6,71,144]. Unter Nährstofflimitierung oder unter anderen Stressbedingungen kann *C. vulgaris* große Mengen Stärke akkumulieren, sodass der Gesamtkohlenhydratgehalt bis zu 55 % der gesamten BTM betragen kann [4,6]. Ansonsten liegt der BTM-spezifische Kohlenhydratgehalt im Bereich von 12–14,4 % [4,6,131].

Analog zu den Kohlenhydraten lassen sich die Lipide ebenfalls in zwei Hauptgruppen aufteilen, die jeweils aus den funktionalen bzw. strukturellen Lipiden und den Speicherlipiden in Form von Triacylglycerolen (TAGs) bestehen [15,140]. Die Gruppe der funktionalen Lipide besteht überwiegend aus Glyco- und Phospholipiden, aber auch aus freien Fettsäuren, von denen in *C. vulgaris* etwa 74 % ungesättigt sind [147–149]. Die funktionalen bzw. strukturellen Lipide werden in Mikroalgen für den Aufbau der Zellwand sowie der jeweiligen Membranen (z. B.: Zell-, Chloroplasten- und Mitochondrienmembran) eingesetzt [6]. Die TAGs bilden die Speicherlipide, die vermehrt unter Stressbedingungen, wie bspw. Nährstofflimitierung, akkumuliert werden und der Zelle als ein langfristiger Energiespeicher dienen [113]. Bisher konnte nicht eindeutig geklärt werden, woraus die spezies- und bedingungsabhängige Präferenz von TAGs oder Stärke als Kohlenstoffspeicher resultiert [113,150]. Unter Stressbedingungen (z. B. durch Stickstofflimitierung und/oder hohe Lichtintensitäten) konnte beobachtet werden, dass Stärke und TAGs simultan produziert werden, jedoch mit einem zeitlich zunehmenden TAG/Stärke-Verhältnis [150]. Unter idealen Bedingungen, in Bezug auf die ATP-Ausbeute bei der mitochondrialen Respiration (vgl. Abschnitt 2.4), ist die Energiebilanz eines TAG mit einer relativen ATP-Ausbeute von 60,7 % (ATP-Gewinn/ATP-Einsatz bei der Biosynthese) schätzungsweise ähnlich hoch wie die Energiebilanz von Stärke mit einer relativen ATP-Ausbeute von 65,3 % [113]. Dementsprechend kann die Kohlenstoffspeicherpräferenz nicht unmittelbar aus der Energiebilanz beider Speicherstoffe abgeleitet werden. Vielmehr wird vermutet, dass die Kontrolle über den Kohlenstofffluss in den Stärke- bzw. TAG-Pool komplexerer Natur ist und auf enzymatischer sowie genetischer Ebene stattfindet [113]. Unter optimalen Bedingungen liegt der auf die BTM bezogene Lipidgehalt bei 5–14 % [6,9,147]. Durch die Akkumulation von TAGs unter Stressbedingungen kann dieser Gehalt in *C. vulgaris* auf bis zu 58 % ansteigen [6].

Zusätzlich zu den bisher aufgezählten Hauptbestandteilen einer Mikroalgenzelle, enthält *C. vulgaris* Mineralien, Vitamine und Sekundärmetabolite. Die Massenanteile dieser Bestandteile

sind jedoch äußerst gering [151] und werden deshalb im Rahmen dieser Arbeit für die Bilanzierung und Modellierung vernachlässigt.

## 2.4 Respiration und Energieversorgung des Metabolismus von Mikroalgen unter Lichteinstrahlung

Wie bereits in Abbildung 2.6 angedeutet, nehmen die oxidative Phosphorylierung und die oxygene Photosynthese eine zentrale Rolle bei der Bereitstellung des ATP für den Mikroalgenmetabolismus (vgl. Abschnitt 2.3) ein [113,152]. In Mikroalgen kann das benötigte ATP von der im Mitochondrium ablaufenden oxidativen Phosphorylierung sowie von der photosynthetischen ATPase im Chloroplasten (vgl. Abschnitt 2.2.2) bereitgestellt werden [113]. Es wird vermutet, dass unter Lichteinfluss und einer ausreichenden CO<sub>2</sub>-Versorgung das im Chloroplasten erzeugte ATP auch überwiegend dort verbraucht wird, während die oxidative Phosphorylierung mehrheitlich für die ATP-Versorgung der metabolischen Vorgänge außerhalb des Chloroplasten zuständig ist [152]. Das ATP kann jedoch auch über diverse Transporter direkt oder indirekt zwischen den Zellkompartimenten Chloroplast, Cytosol und Mitochondrium ausgetauscht bzw. transportiert werden [72,113,152]. Eine Zuordnung der jeweiligen ATP-Beiträge der beiden genannten Prozesse ist in photosynthetisch aktiven Mikroalgen kaum möglich, da durch den möglichen ATP-Transport zwischen den Zellkompartimenten, die Redundanz der Stoffwechselwege (vgl. Abschnitt 2.3) sowie die weiteren Faktoren, die die kohlenstoffspezifische ATP-Ausbeute der oxidativen Phosphorylierung beeinflussen, zu viele Unsicherheiten bei einer solchen Zuordnung bestehen würden [113,152].

Die oxidative Phosphorylierung findet im Mitochondrium einer Mikroalgenzelle statt. Anders als bei Prokaryoten laufen die Schritte der Zellatmung in eukaryotischen Mikroalgenzellen in mehreren Zellkompartimenten ab. Der erste Teil der Glykolyse, ausgehend von Glucose bis zur Bildung von GAP, wird im Chloroplasten durchgeführt. Das GAP wird dann ins Cytoplasma transportiert, wo es zu Pyruvat umgewandelt wird. Die Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-CoA findet schließlich im Mitochondrium statt. Dort befinden sich auch der Citratzyklus sowie die Atmungskette. Der Abbau eines Glucose-Moleküls zu zwei Acetyl-CoA und die anschließende Verwertung dieser Acetyl-CoA im Citratzyklus führen in der Summe zu 4 ATP-, 10 NADH- und 2 FADH<sub>2</sub>-Molekülen. [113]

Die Reduktionsäquivalente werden in der Atmungskette für den Aufbau eines transmembranen H<sup>+</sup>-Gradienten eingesetzt, mit dessen Hilfe eine ATPase ATP aus ADP und anorganischem Phosphat erzeugen kann [1]. Pro NADH- und FADH<sub>2</sub>-Molekül werden im Idealfall jeweils 2,5 und 1,5 ATP-Moleküle generiert [113]. Somit können unter optimalen Bedingungen maximal 32 ATP-Moleküle pro gespaltener Glucose generiert werden, wobei zusätzlich 6 CO<sub>2</sub>-Moleküle frei und 6 O<sub>2</sub>-Moleküle verbraucht werden, weshalb dieser Prozess auch als die mitochondriale Respiration bezeichnet wird [1,2,113]. Unter nährstoffgesättigten Bedingungen und Lichteinfluss kann die mitochondriale Respiration in photoautotroph wachsenden Mikroalgen etwa 30-40 % der Brutto-Photosyntheserate ausmachen [153,154].

Im Gegensatz zu heterotrophen Mikroorganismen, die ihren gesamten ATP-Bedarf über die mitochondriale Respiration abdecken müssen [125], können photosynthetisch aktive Organismen ergänzend auf ATP aus der Photosynthese zurückgreifen, um die metabolischen Reaktionen mit ATP zu versorgen [113]. Durch die relative Steigerung des ZEF und der AEF (vgl. Abschnitt 2.2.2) kann das photosynthetische NADPH/ATP-Verhältnis zu Gunsten des ATP verschoben werden [85,88–90,113]. Da der Calvin-Zyklus ein striktes NADPH/ATP-Verhältnis von 2:3 benötigt (siehe Abbildung 2.5) [1], können die mithilfe des ZEF und der AEF erzeugten, „überschüssigen“ ATP-Moleküle prinzipiell außerhalb der CO<sub>2</sub>-Fixierung eingesetzt werden [113]. Möglicherweise ist der photosynthetische ATP-Beitrag der Grund dafür, dass die photoautotroph wachsenden Mikroalgen nur 30-40 % der photosynthetisch gebildeten Glucose im Rahmen der oxidativen Phosphorylierung veratmen [153,154], während bei heterotrophen Mikroorganismen üblicherweise um die 50 % der aufgenommenen Glucose für die Zellatmung eingesetzt werden [2].

## 2.5 Photoautotrophe Kultivierung von Mikroalgen

### 2.5.1 Lichtkinetik des photoautotrophen Wachstums

Die Photosyntheserate und die daraus resultierende Wachstumsrate [155] werden stets durch die vorliegenden Umweltbedingungen determiniert (vgl. Abschnitte 2.2, 2.3 und 2.4). Unter nährstoffgesättigten Bedingungen definiert hauptsächlich die verfügbare, photosynthetisch aktive Photonenflussdichte (PPFD) die Zellantwort. Die Beziehung zwischen der Photosyntheserate (P) und der Lichtintensität (I) wird typischerweise durch sogenannte PI-Kurven (siehe Abbildung 2.7) beschrieben [1,156]. Dabei sollte beachtet werden, dass bei der Bestimmung der Photosyntheserate im Normalfall die Netto-Photosyntheserate, also die Differenz zwischen der Brutto-Photosyntheserate und aller Respirationsvorgänge (vgl. Abschnitte 2.2.3 und 2.4), erfasst wird [153]. Die gemessene Netto-Photosyntheserate wird häufig auf den Chlorophyllgehalt, die Zellzahl oder die gesamte BTM bezogen und dementsprechend als eine spezifische Netto-Photosyntheserate angegeben [157].

Die Messung der Netto-Photosyntheserate kann auf mehrere Arten erfolgen. Für die Interpretation der Resultate ist es unabdingbar zu wissen, wie die Photosyntheserate ermittelt wurde. Eine Möglichkeit zur Bestimmung der Photosyntheserate stellt die Messung des CO<sub>2</sub>-Verbrauchs dar. Die so ermittelte Netto-Photosyntheserate entspricht direkt der effektiven Kohlenstofffixierung [157]. Eine ebenfalls verbreitete Methode zur Bestimmung der Netto-Photosyntheserate ist die Messung der O<sub>2</sub>-Entwicklung [158,159]. Hierbei besteht jedoch das Problem, dass die erfasste oxygene Netto-Photosyntheserate nicht direkt der effektiven Kohlenstofffixierung entspricht. Dies resultiert aus der Tatsache, dass der photosynthetische Quotient (pq; O<sub>2</sub> produziert/CO<sub>2</sub> fixiert) der gesamten Mikroalgenzelle als Bilanzraum nicht zwangsläufig einem Wert von 1 entsprechen muss [121,160]. Typischerweise sind die pq-Werte bei Mikroalgen größer als 1 [155,160], können jedoch auch, bspw. durch eine verstärkte Synthese organischer Säuren, kleiner als 1 sein [121]. Dementsprechend kann die oxygene Netto-Photosyntheserate wesentlich höher oder auch niedriger als die effektive Kohlenstofffixierungsrate bzw. spezifische

Wachstumsrate ausfallen und muss in Abhängigkeit der Zellzusammensetzung (vgl. Abschnitt 2.3) korrigiert werden [155].

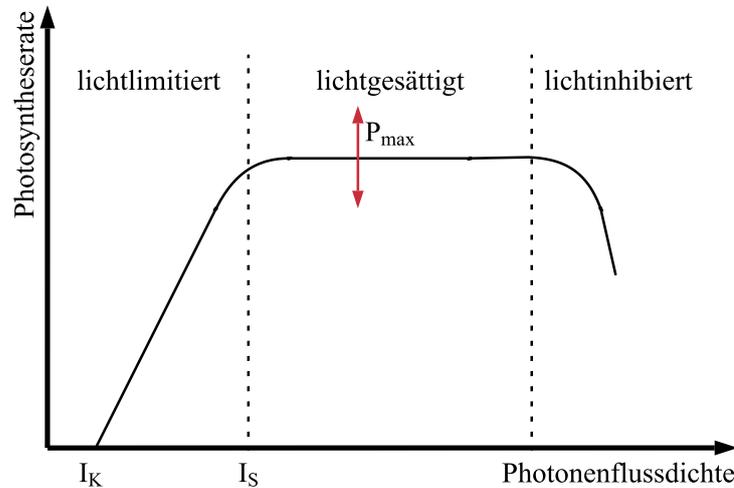


Abbildung 2.7: Beispiel einer typischen PI-Kurve nach [1]. Im lichtlimitierten Bereich steigt, ausgehend vom Lichtkompensationspunkt ( $I_K$ ), die Photosyntheserate in etwa proportional zur Lichtintensität an. Ungefähr ab dem Lichtsättigungspunkt ( $I_S$ ) wird die maximale Photosyntheserate ( $P_{max}$ ) erreicht. Die Photosyntheserate ist dann nicht mehr durch die Lichtverfügbarkeit, sondern durch die langsamste Reaktion der Photosynthese limitiert. Ab einer gewissen Lichtintensität kann eine effektiv sichtbare Photoinhibition erfolgen, die sich in der Abnahme der Photosyntheserate äußert [1]. Außerdem ist  $P_{max}$  stark von den Umweltbedingungen abhängig, sodass bspw. eine  $CO_2$ -Limitierung oder eine andere Nährstofflimitierung zu einer Abnahme von  $P_{max}$  führen kann [23].

Neben der Wahl der Bezugsgröße der spezifischen Netto-Photosyntheserate und der Messmethode – also ob  $CO_2$ -Verbrauch oder die  $O_2$ -Produktion gemessen wird – ist das Messprotokoll für den Informationsgehalt einer PI-Kurve bzw. lichtabhängigen Photosynthesekinetik entscheidend. Zur Erfassung der operativen Netto-Photosyntheserate im jeweiligen Akklimatisationszustand der Mikroalgenzellen wird die entsprechende, punktuelle Messung bei einer PPFD durchgeführt, die der Akklimatisations-PPFD während der Kultivierung entspricht. Die Erfassung mehrerer solcher operativer Netto-Photosyntheseraten im zu untersuchenden PPFD-Intervall liefert letztlich eine PI-Kurve, die in dieser Arbeit als akklimatisierte bzw. operative PI-Kurve bezeichnet wird (akklimatisiert, weil die Messungen ausschließlich bei der Akklimatisations-PPFD erfolgen). Wenn eine solche PI-Kurve auf die BTM bezogen und in Abhängigkeit der Zellzusammensetzung sowie der Messmethode korrigiert wird, entspricht deren Verlauf der photoakklimatisierten Wachstumskinetik [155], die für *C. vulgaris* bspw. in [127,130] zu sehen ist. Diese Messung liefert Informationen über die lichtbedingte Zellakklimatisation und den davon abhängigen Betriebspunkt der Mikroalgenzelle unter der jeweiligen PPFD. Eine solche PI-Kurve liefert jedoch keine Auskunft darüber, ob der Photosyntheseapparat im Betriebspunkt vollständig ausgelastet wird. Pauschal kann auch unter konstanten Bedingungen nicht davon ausgegangen werden, dass der photosynthetische Apparat im akklimatisierten Zustand stets vollständig ausgelastet wird. Gleichzeitig erscheint eine geringe operative Auslastung ebenfalls unwahrscheinlich. Um Informationen über die gesamte Leistungskapazität des Photosyntheseapparates und die relative Lage des operativen Punktes im jeweiligen Akklimatisationszustand

der Mikroalgenzellen zu erhalten, können nicht-akklimatisierte bzw. schnelle PI-Kurven aufgenommen werden. Hierbei werden die Mikroalgen zunächst an eine PPFd akklimatisiert und dann im Rahmen der Messung einer Abfolge unterschiedlicher PPFds ausgesetzt, bei denen jeweils die Photosyntheserate erfasst wird. Durch die schnelle Abfolge der PPFds bei der Messung haben die Mikroalgenzellen keine Zeit, um sich an die jeweilige PPFd zu akklimatisieren (vgl. Abschnitt 2.5.3). Deshalb werden im Rahmen dieser Arbeit solche PI-Kurven als schnelle bzw. nicht-akklimatisierte PI-Kurven bezeichnet. Aufgrund der jeweils kurzen Beleuchtungsdauer der Mikroalgenzellen mit unterschiedlichen PPFds kann vereinfachend ein gleichbleibender Akklimatisationszustand während einer solchen Messung angenommen werden [29,158,161]. Einige Beispiele solcher PI-Kurven sind in [29] zu finden.

Eine typische PI-Kurve (vgl. Abbildung 2.7) lässt sich in drei charakteristische Bereiche aufteilen [1,157]. Bei einer geringen Lichtverfügbarkeit sind die Photosynthese und dementsprechend auch das Wachstum durch die Lichtabsorption limitiert. Im Bereich der Lichtlimitierung steigt die Photosyntheserate idealerweise linear mit der PPFd an. Dabei wird die Steigung der PI-Kurve in diesem Bereich vor allem durch den Absorptionsquerschnitt der Mikroalgenzellen und durch die maximale Quantenausbeute der Photosynthese bestimmt [1,27]. Der Lichtkompensationspunkt ( $I_K$ ) kennzeichnet die Stelle, an der der Energiebedarf des Stoffwechsels gerade so von der Brutto-Photosyntheserate gedeckt werden kann, dass effektiv genauso viel  $\text{CO}_2$  freigesetzt wie fixiert wird bzw. genauso viel  $\text{O}_2$  produziert wie verbraucht wird [153,162]. Bei einer ausreichend hohen PPFd erreicht die Photosyntheserate den Lichtsättigungspunkt ( $I_S$ ), ab dem eine weitere Steigerung der PPFd entweder eine geringe oder gar keine Zunahme der Photosyntheserate – jedoch eine erhebliche Erhöhung der Energiedissipation – zur Folge hat. Der Bereich um  $I_S$  ist oftmals durch ein Abflachen der PI-Kurve gekennzeichnet, was auf eintretende Energieverluste hindeutet [69] (vgl. Abschnitt 2.6.3). Ein verlustfreier Übergang in die Sättigung der Photosynthese würde sich in einem plötzlichen Übergang vom lichtlimitierten Bereich in den konstanten Lichtsättigungsbereich äußern [69,163,164]. Dieses Verhalten entspräche der sogenannten Blackman-Kinetik [163–165] (siehe Abschnitt 2.6.3). Nach einer weiteren Zunahme der PPFd im lichtgesättigten Bereich kann es prinzipiell zu einer effektiven Photoinhibition kommen, die sich in einer Abnahme der effektiven Photosyntheserate widerspiegelt [1,157].

## **2.5.2 Lichtverhältnisse in einem Flachplatten-Photobioreaktor und Prozessführungsstrategien zur Bestimmung der lichtabhängigen Photosynthesekinetik**

Analog zu Bioreaktoren zur Kultivierung heterotropher Mikroorganismen, wie bspw. Bakterien oder Hefen, sind Photobioreaktoren in erster Linie dazu da, optimale Wachstums- bzw. Produktionsbedingungen für Mikroalgen zu schaffen [2]. Ein Photobioreaktor ist ein Mehrphasensystem, bestehend aus einer Flüssigphase (Kulturmedium), einer festen Phase (Mikroalgenzellen) und einer Gasphase (Reaktorkopfraum und Gasblasen im Medium) [22]. Oftmals wird das Licht als eine vierte Phase in Photobioreaktoren angesehen [22]. Bei den Kultivierungen in Photobioreaktoren zur Untersuchung substratabhängiger Kinetiken besteht die Herausforderung darin, genau definierte und reproduzierbare Kultivierungsbedingungen zu schaffen, die es möglich machen, den Einfluss nur eines Kultivierungsparameters auf die entsprechende Kinetik zu untersuchen [1,23]. Aufgrund des kleinen Maßstabes im Labor (im Bereich von wenigen Milli-

litern bis einigen Litern) stellen die ausreichende Durchmischung und Nährstoffversorgung der Mikroalgen, selbst bei Hochzelldichtekulturen, normalerweise keine große Herausforderung dar [166]. Sowohl die Versorgung mit Nährstoffen, die bei photoautotrophen Kultivierungen meist in Form von gut wasserlöslichen, anorganischen Salzen vorliegen, als auch die CO<sub>2</sub>-Versorgung können bei Laboruntersuchungen, wo die Prozesskosten zunächst eine untergeordnete Rolle einnehmen, im Überschuss erfolgen [22,166,167]. Im Gegensatz dazu ist gleichmäßige Lichtverteilung im Photobioreaktor auch im Labormaßstab eine Herausforderung, insbesondere bei höheren Zellkonzentrationen [22,168]. Typischerweise können sich in einem einseitig beleuchteten Flachplatten-Photobioreaktor drei Bereiche ausbilden (siehe Abbildung 2.8) [22,169]. Auf der beleuchteten Photobioreaktorseite ist die Lichtintensität am höchsten und kann zur Lichtsättigung oder sogar zur Photoinhibierung führen [22,167,169]. Durch die zellbedingte Lichtabsorption und -streuung kommt es zu einer Abnahme der Lichtintensität entlang der Reaktortiefe [170]. Dadurch können die lokalen  $\mu$ -Werte im mittleren Bereich des Photobioreaktors im Rahmen der jeweiligen  $\mu$ -Werte an den Punkten I<sub>S</sub> und I<sub>K</sub> (vgl. Abbildung 2.7) liegen [2]. Die PPFDs, die in der Nähe der PPFD am I<sub>S</sub> liegen, ermöglichen ein optimales Mikroalgenwachstum [169]. Unter der PPFD bei I<sub>S</sub> bis zur PPFD bei I<sub>K</sub> findet das lokale Zellwachstum lichtlimitiert statt [169]. Bei ausreichend hohen Zellkonzentrationen und/oder geringen Lichtintensitäten kann es zusätzlich zur Ausbildung eines dritten Lichtbereiches kommen, in dem die PPFD am Punkt I<sub>K</sub> unterschritten wird, was zu einer lokalen Netto-Respiration bzw. lokal negativen Wachstumsraten führt [22].

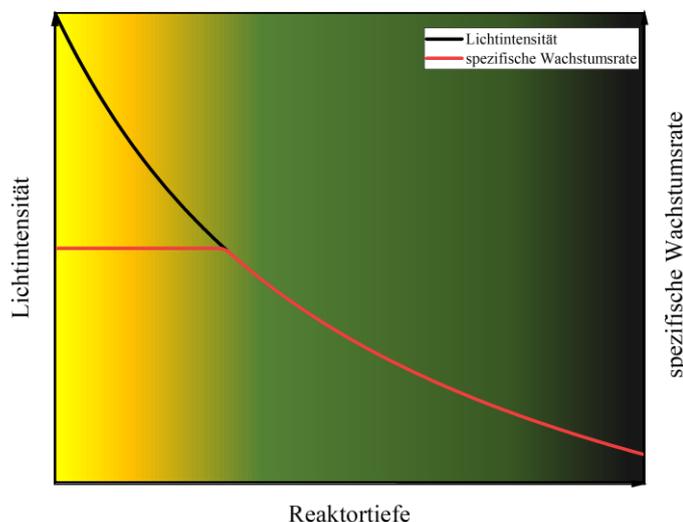


Abbildung 2.8: Beispielhafter Verlauf des Lichtprofils in einem Flachplatten-Photobioreaktor, inklusive der daraus resultierenden, lokalen Wachstumsraten. Darstellung in Anlehnung an [2,25].

Bei einer kontinuierlichen Beleuchtung hängt die Rate, mit der die Mikroalgenzellen zwischen den drei möglichen Lichtregimen wechseln (vgl. Abbildung 2.8), von der Durchmischung ab [167,171]. Der Effekt, der durch den Wechsel zwischen dem Licht- und Dunkelbereich entsteht, wird als *flashing-light* Effekt bezeichnet [58,169]. In der Literatur besteht der Konsens, dass zu lange Dunkelphasen bzw. zu langsame Wechsel zwischen den Hell- und Dunkelzyklen sich negativ auf die Produktivität der Mikroalgen auswirken [22,58,167,169]. Es sollte jedoch beachtet werden, dass die Frequenz der Hell-/Dunkelzyklen, die sich negativ auf das Zellwachstum

auswirken kann, scheinbar eine speziesabhängige Variabilität aufweist [169]. Bei ausreichend hohen Frequenzen der Hell-/Dunkelzyklen wird hingegen scheinbar ein positiver *flashing-light* Effekt beobachtet, der zu einer Steigerung der Zellproduktivität führt [22,58,169]. In aktuelleren Untersuchungen konnte dieses Phänomen jedoch nicht bestätigt werden, weshalb es fraglich ist, ob tatsächlich ein positiver *flashing-light* Effekt existiert [172], der zu einer höheren Zellproduktivität als eine vergleichbare konstante Beleuchtung führt. Aufgrund von dieser Unsicherheit ist es sinnvoll, den durchmischungsbedingten *flashing-light* Effekt bei kinetischen Experimenten, die nicht explizit zur Aufklärung des *flashing-light* Effektes beitragen sollen, nach Möglichkeit zu eliminieren.

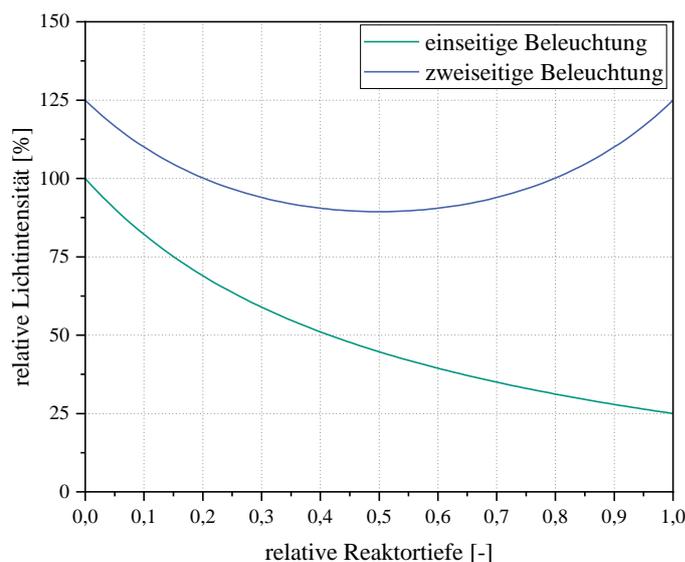


Abbildung 2.9: Beispielhafter Vergleich der Lichtverläufe in einem einseitig und einem beidseitig beleuchteten Flachplatten-Photobioreaktor. Die Modellierung des jeweiligen Lichtprofils erfolgte analog zu den Ausführungen in den Abschnitten 2.6.2 und 3.4.1 (vgl. Gleichungen 2.10 und 3.18). Die Lichtintensitäten wurden auf die Ausgangslichtintensität des einseitig beleuchteten Photobioreaktors (entspricht 100 %) normiert. Zu Simulationszwecken wurde in beiden Fällen jeweils der gleiche Pigmentgehalt und die gleiche BTM-Konzentration angenommen.

Eine Möglichkeit, sowohl einen starken Lichtgradienten als auch den *flashing-light* Effekt zu vermeiden, stellt die beidseitige Beleuchtung der Flachplatten-Photobioreaktoren dar. In dem Beispiel in Abbildung 2.9 beträgt die minimale Lichtintensität (bei einer relativen Reaktortiefe von 1) im einseitig beleuchteten Flachplatten-Photobioreaktor etwa 25 % der Ausgangslichtintensität. Im Vergleich dazu beträgt die minimale Lichtintensität (bei einer relativen Reaktortiefe von 0,5) im beidseitig beleuchteten Flachplatten-Photobioreaktor etwa 71,5 % der Ausgangslichtintensität (vgl. Abbildung 2.9). Die jeweiligen Lichtverläufe wurden in beiden Fällen unter denselben Bedingungen ermittelt (vgl. Gleichungen 2.10 und 3.18 sowie die Abschnitte 2.6.2 und 3.4.1), weshalb die in Abbildung 2.9 sichtbaren Unterschiede ausschließlich auf die Beleuchtungsart zurückzuführen sind. Durch die beidseitige Beleuchtung ist es somit möglich, eine deutlich homogenere Lichtverteilung in einem Flachplatten-Photobioreaktor zu erreichen, was prinzipiell zu besser definierten Kultivierungsbedingungen und einer daraus resultierenden, besseren Reproduzierbarkeit der Ergebnisse führen sollte. Deshalb wurden in der vorliegenden

Arbeit, anders als bspw. in [127,130], beidseitig beleuchtete Flachplatten-Photobioreaktoren (vgl. Abschnitt 3.1.3) für die kinetischen Untersuchungen (vgl. Abschnitt 3.2) eingesetzt.

Wie im nachfolgenden Abschnitt 2.5.3 ersichtlich wird, hängt der Pigmentgehalt der Mikroalgenzellen von der Lichtverfügbarkeit ab, die wiederum von den optischen Zelleigenschaften abhängig ist, die ihrerseits durch den Pigmentgehalt und die Morphologie der Mikroalgenzellen beeinflusst werden (vgl. Abschnitt 3.4.1). Zudem üben die Zellkonzentration (vgl. Abschnitte 2.6.2 und 3.4.1), die Geometrie und die Beleuchtungsart des Photobioreaktors [170,173] einen Einfluss auf die Lichtverfügbarkeit aus. Während einer Batch-Kultivierung [2] kommt es während der Wachstumsphase zu einer zeitabhängigen Biomassezunahme, die einen Einfluss auf die Lichtverfügbarkeit ausübt, die den Pigmentgehalt der Mikroalgenzellen beeinflusst [1]. Dieser beeinflusst wiederum die Lichtverfügbarkeit und zum Teil die weitere mögliche Wachstumsrate. Durch diese Rückkopplung erreicht das System keinen stationären Zustand während der Wachstumsphase. Die Ermittlung kinetischer Parameter ist in einem solchen dynamischen Zustand zwar möglich, aber mit zeitlich variablen Unsicherheiten verbunden [174]. Um diese Prozessdynamik und die damit verbundenen Unsicherheiten zu vermeiden, bietet sich der kontinuierliche Photobioreaktorbetrieb an [2,130]. Im kontinuierlichen Betrieb stellen sich, nach einer Akklimatisationsphase, quasi-stationäre Bedingungen ein, die sich in einem makroskopisch konstanten Zellzustand widerspiegeln [127,130,175]. Der kontinuierliche Reaktorbetrieb ohne Zellrückhaltung, bei dem das Reaktorvolumen stets konstant bleibt, lässt sich in verschiedene Betriebsweisen unterteilen. Die häufigsten Betriebsweisen bei photoautotrophen Mikroalgenkultivierungen sind der Chemostat [176], der Luminostat [177] und der Turbidostat [178].

Im Chemostat-Betrieb wird eine konstante Durchflussrate vorgegeben, in dessen Abhängigkeit sich eine bestimmte Konzentration des limitierenden Substrates (gilt jedoch nicht für Licht als limitierendes Substrat) einstellt [175]. Durch die Variation der Durchflussrate und der damit verbundenen Verfügbarkeit des limitierenden Nährstoffes lassen sich verschiedene Betriebspunkte mit unterschiedlichen Wachstumsraten einstellen [175]. Im Luminostat-Betrieb wird die Lichttransmission, die an einem Punkt im oder am Photobioreaktor gemessen wird, durch die Regelung der Durchflussrate konstant gehalten [177]. Dies führt zur Einstellung verschiedener Zellkonzentrationen in Abhängigkeit der Ausgangslichtintensität. Im Gegensatz dazu wird beim Turbidostat die Zellkonzentration durch die Regelung der Durchflussrate konstant gehalten, die Lichttransmission ist dabei variabel [1,178]. Die Messung der Zellkonzentration erfolgt normalerweise indirekt über die Messung der Optischen Dichte (OD) mithilfe eines optischen Sensors [178]. Zur Untersuchung der Zellakklimatisation und diverser Kinetiken hat sich in der Vergangenheit der Turbidostat-Betrieb mit optisch dünnen Mikroalgenkulturen, also mit niedrigen Zellkonzentrationen, bewährt [1,130]. Diese Betriebsweise ermöglicht definierte, gleichbleibende Kultivierungsbedingungen und eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.

### **2.5.3 Anpassungsstrategien der Mikroalgen an variierende Umweltbedingungen**

Im Rahmen einer Kultivierung in einem Photobioreaktor unterliegen die Mikroalgen variierenden Bedingungen. Während im Labormaßstab eine ausreichende Versorgung der Mikroalgen mit Nährstoffen, insbesondere mit CO<sub>2</sub>, relativ einfach gewährleistet werden kann, ist die Ein-

stellung solcher homogenen bzw. optimalen Bedingungen in Produktionsanlagen im Außenbereich nicht trivial [22]. Die Lichtverfügbarkeit ist ebenfalls ein kritischer Faktor, der unmittelbar die Produktivität einer Mikroalgenkultivierung beeinflusst und im Außenbereich extrem variabel ist, was zum einen durch die Reaktordurchmischung bedingt wird und zum anderen aus der natürlichen Variation der Verfügbarkeit des Sonnenlichtes resultiert [22,167,179–182]. Hierzu kommt die Temperierung der Photobioreaktoren im Außenbereich, die einen der größten Kostentreiber bei einer Mikroalgenkultivierung darstellt und meist aus Kostengründen in einem gewissen Betriebsfenster variabel gelassen wird [181]. Diese Variationen der Umgebungsbedingungen zwingen die Mikroalgen sich ständig auf zellulärer Ebene anzupassen, um stets ein optimales Wachstum unter den jeweiligen Bedingungen gewährleisten zu können [92,183,184]. Im Nachfolgenden werden die zentralen Anpassungsstrategien der Mikroalgen an die beiden Prozessparameter Licht- und CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit vorgestellt, deren jeweiliger Einfluss zudem im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersucht wurde (vgl. Abschnitte 4.1 und 4.2). Die Einflüsse weiterer Nährstoffe sowie der Temperatur auf Mikroalgen und ihr daraus resultierendes Akklimatisationsverhalten wurden in folgender Literatur umfassend behandelt: [150,151,185–190]. In dieser Arbeit wurden die negativen Einflüsse der zuletzt genannten Prozessparameter durch geeignete Kultivierungsbedingungen eliminiert (vgl. Abschnitt 3.1.3) und waren deshalb nicht Teil der hier durchgeführten Untersuchungen.

Es existieren mehrere Strategien, mit denen Mikroalgen ihren Photosyntheseapparat an unterschiedliche Lichtbedingungen anpassen. Diese Anpassungsmechanismen können, basierend auf ihren Zeitskalen, in drei Hauptgruppen unterteilt werden [29,157,191]. Die schnelle, kurzfristige Anpassung im Bereich von Sekunden bis Minuten wird als Photoregulation bezeichnet [191]. Die Photoregulation beinhaltet unter anderem die Aktivitätsregulation der NPQ-Mechanismen [48–50], der AEF [90,192] (vgl. Abschnitt 2.2.2) sowie der sogenannten *state-transitions* [92,193]. Auf Zeitskalen von Stunden bis Tagen findet die Photoakklimatisation statt, die eine lichtabhängige Restrukturierung des Photosyntheseapparates und der Zellzusammensetzung zur Folge hat [157,187,191,194]. Für industrielle Kultivierungsprozesse weniger relevant ist die Photoadaptation, die in der Natur auf Zeitskalen von mehreren Millionen Jahren stattfindet und mit einer nachhaltigen Veränderung des Genoms einhergeht [191]. Durch langanhaltend gleichbleibende Kultivierungsbedingungen und gezielt induzierte, langanhaltende Stressbedingungen, wie es bei den Mikroalgenkultivierungen im Labor oder im industriellen Maßstab üblich ist, kann die Photoadaptation jedoch auch auf Zeitskalen von wenigen Monaten bzw. Jahren ablaufen [195]. Dies wird insbesondere durch die, im Vergleich zu natürlichen Gewässern, hohen Zelldichten begünstigt, da damit auch die Wahrscheinlichkeit einer zufällig vorteilhaften Genmutation steigt. Nichtsdestotrotz werden in dieser Arbeit die Mechanismen der Photoadaptation, aufgrund der langen Zeitskalen, nicht weiter ausführlich betrachtet.

Einen sehr gut charakterisierten Vorgang der Photoakklimatisation in Mikroalgen bildet die PPFd-abhängige Anpassung des Pigmentgehaltes [1,157,187,191,194]. Tendenziell senken die Mikroalgen ihren Chlorophyllgehalt mit steigender PPFd, um die Absorption überschüssiger Lichtenergie zu vermeiden und die Gesamtkosten der Synthese photosynthetischer Proteine sowie Pigmente zu reduzieren [1,180,196]. Umgekehrt wird der Chlorophyllgehalt bei niedrigen PPFds tendenziell erhöht, um die verfügbare Lichtenergie möglichst vollständig absorbieren zu können [1,180,196].

Die Variation des Pigmentgehaltes hat eine direkte Auswirkung auf den effektiven *in vivo* Absorptionsquerschnitt der Mikroalgenzellen [156,197]. Jedoch verhält sich der Zusammenhang zwischen dem Pigmentgehalt und dem effektiven *in vivo* Absorptionsquerschnitt aufgrund des sogenannten *self-shading* Effektes (vgl. Abbildung 2.10) nicht linear [1,156,197,198]. Dieser Effekt ist insbesondere bei hohen Pigmentgehalten, also bei niedrigen PPFDs, stark ausgeprägt und führt dazu, dass der Nutzen eines Chlorophylls, in Hinblick auf die Lichtabsorption (vgl. Abschnitt 2.2.1), mit dem Anstieg des Pigmentgehaltes progressiv abnimmt [173,197]. Neben dem Pigmentgehalt ist auch die Zellgröße für die Ausprägung des *self-shading* Effektes relevant, wobei größere Mikroalgenzellen tendenziell einen ausgeprägteren *self-shading* Effekt als kleinere Mikroalgenzellen aufweisen sollen [197].

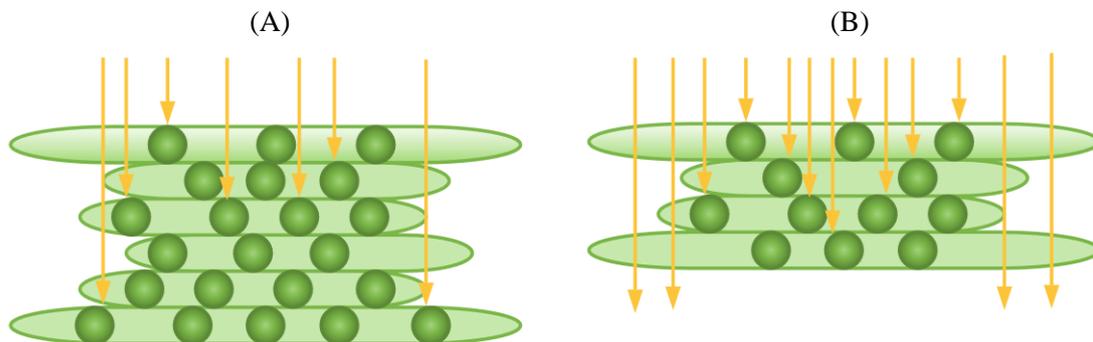


Abbildung 2.10: Schematische Darstellung der Auswirkung des *self-shading* Effektes auf den Chlorophyll-spezifischen Absorptionsquerschnitt. Abbildung in Anlehnung an [1] erstellt. (A) Ein Granum mit einem hohen Chlorophyllgehalt (akklimatisiert an Schwachlicht). (B) Ein Granum mit einem geringeren Chlorophyllgehalt (akklimatisiert an eine hohe PPFd). Bedingt durch die hohe Anzahl der Chlorophylle (grüne Kreise) in (A) und die daraus entstehende gegenseitige Beschattung erreicht das Licht (gelbe Pfeile) nicht jedes Chlorophyll, was mit einem reduzierten effektiven Chlorophyll-spezifischen Absorptionsquerschnitt einhergeht. In (B) ist der *self-shading* Effekt weniger ausgeprägt und der effektive Chlorophyll-spezifische Absorptionsquerschnitt dementsprechend höher. Die geringere Chlorophyllkonzentration führt jedoch dazu, dass hierbei nur ein Teil des einfallenden Lichtes absorbiert wird, während in (A) eine vollständige Absorption des einfallenden Lichtes erfolgt.

Zusätzlich zur Änderung des Gesamtpigmentgehaltes kann auch das Chla/Chlb-Verhältnis in Mikroalgen als Funktion der PPFd variieren [156,196,199]. In Chlorophyta konnte tatsächlich beobachtet werden, dass das Chla/Chlb-Verhältnis mit steigender PPFd ebenfalls zunimmt [196,200–202]. Wie bereits in Abschnitt 2.2.2 erläutert, enthalten jeweils die LHCs den Großteil des Chlb [93,106,203,204]. Dementsprechend kann eine Zunahme des makroskopischen Chla/Chlb-Verhältnisses eine Abnahme der jeweiligen durchschnittlichen bzw. effektiven LHC-RC-Komplexgröße bedeuten [201,202]. Ein weiterer Grund für die Änderung des Chla/Chlb-Verhältnisses kann die Variation des RCII/RCI-Verhältnisses, um den Energiefluss zwischen den RCs auszubalancieren [205], sein, da die LHCI-RCI-Komplexe typischerweise höhere Chla/Chlb-Verhältnisse als die LHCII-RCII-Komplexe aufweisen [36,37,93,106,203,204] (vgl. Abschnitt 2.2.2). Eine stark ausgeprägte Variation des RCII/RCI-Verhältnisses konnte bei Cyanobakterien festgestellt werden [1]. In *C. vulgaris* scheint das RCII/RCI-Verhältnis, wie auch in einigen anderen Chlorophyta [105,199,205], jedoch relativ unabhängig von der PPFd in einem Bereich von etwa 0,8-0,9 zu liegen [202,206]. Somit ist eine PPFd-bedingte Steigerung

des Chla/Chlb-Verhältnisses in *C. vulgaris* wahrscheinlich eher auf eine Reduktion der Größe der jeweiligen LHC-RC-Komplexe als auf eine Änderung des RCII/RCI-Verhältnisses zurückzuführen.

In Bezug auf die Photoakklimatisation der LHC-RC-Komplexe ergeben sich daraus insgesamt drei mögliche Strategien [29,179,180]. Die erste Strategie wäre die reine Anpassung der Anzahl der LHC-RC-Komplexe in Abhängigkeit der Lichtbedingungen. Die zweite Strategie besteht darin, lichtabhängig die jeweilige LHC-RC-Komplexgröße anzupassen. Die dritte und letzte mögliche Strategie ist eine Mischstrategie aus den beiden genannten Akklimatisierungsstrategien. Bei dieser Mischstrategie werden also sowohl die Anzahl der LHC-RC-Komplexe als auch die jeweiligen Komplexgrößen in Abhängigkeit der vorliegenden PPFD variiert.

Unter bestimmten Umständen, bspw. wenn Schwachlicht-akklimatisierte Mikroalgen plötzlich hohen PPFDs ausgesetzt werden, kann es vorkommen, dass ein Teil der absorbierten Lichtenergie nicht für die primäre Photochemie (vgl. Abschnitte 2.2.1 und 2.2.2) genutzt werden kann und somit an den LHC-RC-Komplexen dissipiert werden muss [61]. Dies kann z. B. bei Mikroalgenkultivierungen mit hohen Zelldichten auftreten, da die Mikroalgenzellen sich tendenziell an die von ihnen im Mittel erfahrene PPFD akklimatisieren [169] und bei hohen Zelldichten die mittlere PPFD in einem Photobioreaktor gering ausfällt [22,207]. Trotzdem bleibt ein kleiner Bereich im Photobioreaktor bestehen, der hohe PPFDs aufweist [207] (vgl. Abbildung 2.8), denen die an Schwachlicht-akklimatisierten Mikroalgen durchmischungsbedingt kurzzeitig ausgesetzt werden können [167,169]. In einem solchen Fall besteht die Möglichkeit, dass die angeregten Chlorophylle die absorbierte Lichtenergie auf O<sub>2</sub> übertragen, was zur Ausbildung von ROS führt [208]. Diese können unter anderem die zentralen RCII-Proteine D1 und D2 oxidativ schädigen [61,62,208,209]. Dieser Vorgang wird Photoinhibition genannt und findet im Bereich von einigen Minuten bis Stunden statt [208,209]. Experimentelle Daten deuten jedoch darauf hin, dass bei einer ausreichenden Nährstoffversorgung der Mikroalgen die progressive und effektiv sichtbare Photoinhibition erst bei PPFDs auftritt, die mindestens um das 10-Fache höher sind als die PPFD, an die die Mikroalgenzellen im Vorfeld akklimatisiert wurden [157]. Der hierzu komplementäre Vorgang, bei dem die geschädigten D1- und D2-Proteine aus der Thylakoidmembran entfernt, abgebaut, *de novo* synthetisiert und erneut in die Thylakoidmembran eingebaut werden, wird als Photoreparatur bezeichnet [208,210]. Die Photoreparatur läuft auf ähnlichen Zeitskalen wie die Photoinhibition ab [208,209]. Neben den LHCII-RCII-Komplexen können auch die LHCI-RCI-Komplexe, trotz ihrer im Vergleich zu den RCIIIs hohen Effizienz [36], von lichtbedingter Photoinhibition betroffen sein [192,211].

Um auf plötzliche, kurzfristige Änderungen der Lichtintensität reagieren und Photoinhibition vermeiden zu können, haben die Mikroalgen photoregulatorische Mechanismen entwickelt, die auf deutlich kürzeren Zeitskalen als die relativ langsame Photoakklimatisation ablaufen [1]. Zur Vermeidung der Ausbildung von ROS durch die Absorption überschüssiger Lichtenergie besitzen die Mikroalgen unter anderem photoregulatorische NPQ-Mechanismen [61,62]. Unter den NPQ-Mechanismen werden alle Mechanismen zusammengefasst, die zu einer thermischen Dissipation der absorbierten Lichtenergie und somit nicht zur Fluoreszenz oder Photochemie führen [49,62]. Hierbei sollte jedoch beachtet werden, dass in manchen Literaturquellen keine Unterscheidung zwischen NPQ und Fluoreszenz erfolgt, sodass beide Vorgänge unter NPQ zusammengefasst werden. Den Hauptbeitrag zur thermischen Energiedissipation bei einem

vorliegenden Energieüberschuss leistet der sogenannte Xanthophyllzyklus [61]. Unter lichtsättigenden Bedingungen weist der PQ-Pool ein hohen Reduktionsgrad auf, was mit einer starken Protonierung und einer daraus resultierenden Ansäuerung des Thylakoidlumens einhergeht [1,61,72]. Das führt wiederum zur Aktivierung der Violaxanthin-Deepoxidase, die nur unter Lichteinfluss und bei niedrigen pH-Werten aktiv ist [1,61,72]. Diese reduziert das Diepoxid Violaxanthin über das Monoepoxid Antheraxanthin zu Zeaxanthin, das die an den Chlorophyllen absorbierte Lichtenergie aufnehmen und als Wärme dissipieren kann [1,61,72]. Die Rückreaktion des Xanthophyllzyklus läuft über das Enzym Zeaxanthin-Epoxidase ab, die ein breites pH-Optimum besitzt und sowohl unter Lichteinfluss als auch im Dunkeln aktiv ist [1,61,72]. Durch die im Vergleich zur Violaxanthin-Deepoxidase geringe Umsatzrate der Zeaxanthin-Epoxidase ist es trotzdem möglich, eine Akkumulation von Zeaxanthin und eine damit einhergehende, hohe NPQ-Aktivität zu erreichen, obwohl beide Enzyme gleichzeitig aktiv sind [72]. Dies gilt insbesondere im Falle sättigender PPFs. Eine hohe NPQ-Aktivität hat jedoch, ähnlich wie auch die Photoinhibierung durch ROS [62], einen negativen Einfluss auf die Effizienz der primären Photochemie, da die absorbierte Lichtenergie dadurch vermehrt in Form von Wärme dissipiert wird, statt für die Photochemie genutzt zu werden [46,61]. Demnach können die NPQ-Mechanismen auch ein Stück weit der Photoinhibierung zugeordnet werden [61].

Die AEF, inklusive dem ZEF, können ebenfalls eine photoprotektive Rolle einnehmen und zur Photoregulation beitragen [90]. Indem die Aktivität der AEF und des ZEF gesteigert wird, kann der Protonengradient zwischen dem Thylakoidstroma und -lumen schneller aufgebaut werden, was zu einer schnelleren Ansäuerung des Lumens und einer Aktivierung des Xanthophyllzyklus führt [80,90]. Außerdem können bereits gebildete ROS unter anderem über den Mehler-Zyklus (vgl. Abschnitt 2.2.2) neutralisiert werden [91]. Weiterhin können die AEF als zusätzliche Elektronensenken bei einem NADP<sup>+</sup>-Mangel, der den LEF wesentlich einschränken würde, fungieren und zur verstärkten Synthese von ATP beitragen [88,90].

Bei den sogenannten *state-transitions* handelt es sich um eine temporäre, reversible Reorganisation der LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexe, wobei der Chlorophyllgehalt sowie die jeweiligen Proteinfractionen unverändert bleiben [84]. Dabei bewirkt eine von der stt7/STN7 Kinase katalysierte Phosphorylierung der LHCII [193], dass diese vom RCII dissoziieren und über die Thylakoidmembran zu einem LHCI-RCI-Komplex migrieren können, wo sie anschließend einen LHCII-LHCI-RCI-Superkomplex bilden [80,84]. Ein hoher Reduktionsgrad des PQ-Pools scheint die Aktivität der *state-transitions* zu begünstigen [84,193]. In der aktuellen Literatur besteht die Hypothese, dass die *state-transitions* lediglich zu einer relativen Steigerung des ZEF/LEF-Verhältnisses beitragen, indem sie den LHCII-RCII-Absorptionsquerschnitt relativ zum LHCI-RCI-Absorptionsquerschnitt verringern [80]. Eine absolute Steigerung des maximalen ZEF durch die *state-transitions* wird derzeit für unwahrscheinlich gehalten, da der ZEF scheinbar eher durch die PQH<sub>2</sub>-Oxidation am Cyt *b<sub>6</sub>f* und weniger durch den Elektronentransport vom Fd zum in der Q<sub>i</sub>-Bindestelle des Cyt *b<sub>6</sub>f* gebundenen PQ (vgl. Abbildung 2.3) limitiert wird [80,84]. Nichtsdestotrotz könnte dieser photoregulatorische Mechanismus durch die Verschiebung des ZEF/LEF-Verhältnisses zu Gunsten des ZEF zu einer Abnahme des Reduktionsgrades des PQ-Pools beitragen und somit die lichtsättigungsbedingten Energieverluste an den LHCII-RCII-Komplexen etwas verringern [1,80,84].

Die Photoregulation hat keinen Einfluss auf den makroskopisch sichtbaren Phänotyp der Mikroalgen, dieser wird durch die längerfristige Photoakklimatisation beeinflusst [157]. Auch wenn die Photoregulation und -akklimatisation auf stark unterschiedlichen Zeitskalen ablaufen, lassen sich diese Prozesse nicht vollständig voneinander entkoppelt betrachten, da eine Restrukturierung des photosynthetischen Apparates einen unmittelbaren Einfluss auf die Photoinhibierung sowie die Aktivität der Photoregulation hat, und umgekehrt [1,157].

Die bisher vorgestellten lichtbedingten Akklimatisationsmechanismen beschränken sich auf die photosynthetische ETK und somit auf die Lichtreaktion der Photosynthese (vgl. Abschnitt 2.2.2). In Hinblick auf die lichtabhängige Anpassung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates konnte in einigen Chlorophyta beobachtet werden, dass der zellspezifische RuBisCO-Gehalt unabhängig von der PPFD relativ konstant bleibt [105,212,213]. Eine parallele Reduktion des Chlorophyllgehaltes bei steigenden PPFDs führt dementsprechend dazu, dass mehr RuBisCO pro Chlorophyll bzw. LHC-RC-Komplexe zur Verfügung steht [105,212,212]. Dies führt scheinbar zu einem Anstieg der maximalen ETK-spezifischen Photosyntheserate [105,180,212]. In Bezug auf die CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimatisation des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates haben aktuelle Experimente gezeigt, dass der Anteil von RuBisCO am Gesamtprotein scheinbar nicht signifikant mit der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit variiert [117]. Es kann daher vermutet werden, dass die Mikroalgen möglicherweise eher die Aktivität der Carboanhydrase [214] und der KKM [88,112] als den protein-spezifischen RuBisCO-Gehalt [117] an die variierenden CO<sub>2</sub>-Konzentrationen anpassen.

## 2.6 Modellierungsansätze

### 2.6.1 Modellierung der optischen Eigenschaften von Mikroalgenzellen

Beim Durchgang der Lichtstrahlen durch einen Photobioreaktor oder ein anderes Kultivierungssystem interagieren diese mit den Mikroalgenzellen, den Gasblasen und dem Medium (vgl. Abschnitt 2.5.2). Die lokalen Lichtintensitäten in einem Photobioreaktor werden hauptsächlich durch die Zellkonzentration, Zellmorphologie [45,215] und die damit verbundenen optischen Zelleigenschaften (Absorptionsquerschnitt, Streuungsquerschnitt sowie Streuungsphasenfunktion) bestimmt [170,216,217]. Darüber hinaus ist das Produkt aus lokaler Lichtintensität und dem Absorptionsquerschnitt der Mikroalgenzelle für die Berechnung der operativen Photonenabsorptionsrate notwendig, die wiederum als Grundlage für die modellbasierte Bestimmung der Photosyntheserate dient [1,27,94] (vgl. Abschnitte 2.6.3 und 4.3).

In der Vergangenheit wurde bereits eine Vielzahl von Modellen eingesetzt, darunter die Lorenz-Mie-Theorie [173,218], die Aden-Kerker-Theorie [218], die T-Matrix [215], die Schiffsche Approximation [45] sowie die van de Hulst Approximation [219], um die effektiven optischen Zelleigenschaften von Mikroalgen prädiktiv zu ermitteln [220]. Die van de Hulst Approximation [221] kann unter bestimmten Bedingungen als eine Vereinfachung der Lorenz-Mie-Theorie eingesetzt werden [219]. Die gewöhnliche Lorenz-Mie-Theorie [222] ist nur auf homogene Sphären anwendbar, was bei Mikroalgen mit einer dicken Zellwand zu erheblichen Abweichungen zwischen den gemessenen und vorhergesagten optischen Zelleigenschaften führen kann

[218]. Durch die Erweiterung der Lorenz-Mie-Theorie durch Aden und Kerker ist es möglich, eine Mikroalgenzelle durch zwei konzentrische Sphären (Zellinneres umgeben von der Zellwand) statt durch eine homogene Sphäre anzunähern [223,224], was bspw. im Falle von *C. vulgaris* zu besseren Modellvorhersagen geführt hat [218]. Im Rahmen der Bestimmung der optischen Eigenschaften von Mikroalgen mithilfe der Schiffschen Approximation [225] besteht die Möglichkeit, eine Mikroalgenzelle durch ein Rotationsellipsoid anzunähern, was insbesondere im Falle länglicher Mikroalgenzellen vorteilhaft sein kann [45]. Die T-Matrix [226] ist hingegen auch auf nicht-sphärische Partikel anwendbar und ist damit die flexibelste Methode, zumindest in Hinblick auf die möglichen Approximationen der Zellgeometrie [215]. Die damit verbundene Modellkomplexität und der daraus resultierende Rechenbedarf [215] verhindern jedoch aktuell den sinnvollen Einsatz der T-Matrix-Methode im Rahmen von Multiphysik-Modellen zur Simulation von Mikroalgenkultivierungen.

In der Literatur konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, die optischen Eigenschaften von Partikelverbänden aus zwei Sphären, vier Sphären oder sogar einem Ring aus mehreren Sphären mithilfe der erweiterten Lorenz-Mie-Theorie [222–224] und der Approximation der jeweiligen Partikelverbände durch entsprechende volumen- und projektionsflächenäquivalente Kugeln mit einer ausreichenden Genauigkeit zu bestimmen [215]. Dieses Ergebnis verdeutlicht die Flexibilität der erweiterten Lorenz-Mie-Theorie [222–224]. Weiterhin haben experimentelle Untersuchungen gezeigt, dass die erweiterte Lorenz-Mie-Theorie [222–224] die optischen Zelleigenschaften im speziellen Fall von *C. vulgaris*, zumindest unter den Versuchsbedingungen in [218], gut beschreiben kann. Diese Eigenschaften machen die erweiterte Lorenz-Mie-Theorie [222–224], die nachfolgend lediglich als Lorenz-Mie-Theorie bezeichnet wird, zu einem optimalen Modellkandidaten zur Bestimmung der optischen Zelleigenschaften von *C. vulgaris*.

Für die Berechnung der effektiven optischen Zelleigenschaften mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie sind Kenntnisse über die Brechungsindizes sowie die Größenparameter ( $k_{\lambda,i} = 2 \cdot \pi \cdot r_i \cdot \lambda^{-1}$ ; mit  $r_i$  als Radius und  $\lambda$  als Lichtwellenlänge) der zwei konzentrisch angeordneten Sphären, die jeweils das Zellinnere bzw. die Zellwand repräsentieren, erforderlich [227,228]. Ebenso muss der Brechungsindex des Umgebungsmediums bekannt sein [228]. Im Gegensatz zur trivialen Berechnung der Größenparameter  $k_{\lambda,i}$  (mit  $i$ : Zellinneres oder Zellwand) ist die Bestimmung der zellspezifischen Brechungsindizes mit einigen Herausforderungen und Unsicherheiten verbunden [45]. Eine Mikroalgenzelle besteht aus mehreren Zellkompartimenten [1], die in ihren Eigenschaften stark variieren. Bisher ist es nicht gelungen, diese intrazelluläre Heterogenität in ihrer Vollständigkeit bei der Bestimmung der optischen Zelleigenschaften zu berücksichtigen [229].

Eine erste Annäherung stellt die Betrachtung des Zellinneren als ein homogenes Medium mit Eigenschaften, die aus dem Durchschnitt der Eigenschaften einzelner Kompartimente resultieren, dar [45,229]. Die Betrachtung der Zellwand kann in einer ähnlich vereinfachten Weise erfolgen [218,229]. In [218] wurde die Zelle von *C. vulgaris* durch eine homogene, Licht absorbierende und streuende Sphäre (Zellinneres), die von einer streuenden Hülle (Zellwand) umgeben ist, angenähert. Im Anschluss dazu wurden die optischen Zelleigenschaften mit der Lorenz-Mie-Theorie [222–224,228] berechnet [218]. Der Vergleich der simulierten optischen Zelleigenschaften mit den entsprechenden experimentellen Daten hat insgesamt ergeben, dass die zuvor beschriebene Approximation der Zellmorphologie von *C. vulgaris* in Kombination mit

der Lorenz-Mie-Theorie zu zufriedenstellenden Resultaten führt und die vergleichsweise aufwändige Messung der optischen Zelleigenschaften ersetzen kann [218].

## 2.6.2 Modellierung des Lichteintrages in Photobioreaktoren

Wie bereits in Abschnitt 2.5.2 diskutiert, ist die Lichtverfügbarkeit im Kontext photoautotropher Kultivierungen von großer Bedeutung. Jegliche Simulationen und Modelle photoautotropher Kultivierungen erfordern als Ausgangspunkt die Modellierung des Lichteintrages, da dieser unmittelbar die maximal erreichbare Photosyntheseleistung und damit auch das Mikroalgenwachstum unter Nährstoffsättigung determiniert [25]. Ein sehr weit verbreiteter und vergleichsweise simpler Ansatz ist die Beschreibung des Lichtprofils mithilfe des Lambert-Beerschen Gesetzes (vgl. Gleichung 2.1). Dieses Gesetz bildet die Grundlage für die Photometrie [230]. Die Anwendbarkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes ist jedoch auf molekular disperse Systeme beschränkt. Während die Annahme einer isotropen Mikroalgenkultur in optimal durchmischten Reaktoren als Vereinfachung akzeptabel ist, kann bspw. die Mehrfachlichtstreuung durch die Mikroalgenzellen, insbesondere in Hochzelldichtekulturen, nicht vernachlässigt werden. Deshalb kann das Lambert-Beersche Gesetz üblicherweise nicht auf Mikroalgenkultivierungen in Photobioreaktoren angewandt werden [25,230].

$$I_{\lambda}(l_R) = I_{\lambda}^0 \cdot e^{-\varepsilon_{\lambda} \cdot c_{BTM} \cdot l_R} \quad (2.1)$$

Hierbei ist  $I_{\lambda}(l_R)$  die Lichtintensität bzw. Photonflussdichte (PFD) bei der Lichtwellenlänge  $\lambda$  und der Schichtdicke des Reaktors  $l_R$ ,  $I_{\lambda}^0$  ist die Ausgangslichtintensität bei der Lichtwellenlänge  $\lambda$ ,  $\varepsilon_{\lambda}$  ist der Extinktionskoeffizient bei der Lichtwellenlänge  $\lambda$  und  $c_{BTM}$  ist die vorliegende BTM-Konzentration.

Tendenziell führt die Anwendung des Lambert-Beerschen Gesetzes auf Mikroalgenkulturen zu einer Unterschätzung der Lichtverfügbarkeit. Um zumindest die empirische Anwendung dieses Gesetzes zu ermöglichen, wird in der Literatur die Einführung eines Korrekturfaktors ( $f_c < 1$ ) vorgeschlagen, der mit dem Extinktionskoeffizienten verrechnet wird [231]:

$$I_{\lambda}(l_R) = I_{\lambda}^0 \cdot e^{-f_c \cdot \varepsilon_{\lambda} \cdot c_{BTM} \cdot l_R} \quad (2.2)$$

Weiterhin existieren empirische Ansätze, die den Extinktionskoeffizienten durch einen hyperbolischen Term [232] oder einen Term, der explizit die Pigmentkonzentration beinhaltet [230], ersetzen. Ein solches, häufig verwendetes Modell ist in der nachfolgenden Gleichung zu sehen [25,130,232]. Die drei Konstanten  $K_I$ ,  $K_X$  und  $K_L$  sind lediglich empirischer Natur.

$$I_{\lambda}(l_R) = I_{\lambda}^0 \cdot e^{-\frac{K_I}{(K_X + c_{BTM}) \cdot (K_L + l_R)} \cdot c_{BTM} \cdot l_R} \quad (2.3)$$

Ein enormer Nachteil solcher Ansätze ist die Tatsache, dass die Modellparameter theoretisch für jeden Mikroalgenstamm, jeden Zellzustand und jede Zellkonzentration neu ermittelt oder zumindest verifiziert werden müssen [25]. Eine physikalisch fundierte Alternative zu den empirischen Modellen bietet die Anwendung der Strahlungstransfergleichung (RTE) [233] zur Beschreibung des Lichtprofils in einem Photobioreaktor. Leider besitzt die RTE keine analytische Lösung im dreidimensionalen Raum, was eine numerische Lösung erfordert, die jedoch sehr

rechenintensiv ist und sich kaum mit komplexen metabolischen Modellen verknüpfen lässt [25,216,217]. Die Modellierung des Lichtprofils mit anderen numerischen Verfahren, wie z. B. Monte-Carlo-Simulationen [168], birgt die gleichen Nachteile [25]. Ein aktueller Lösungsansatz dieser Herausforderung basiert auf der Verwendung der Lattice-Boltzmann-Methode [234]. Hierbei wurde jedoch ebenfalls zunächst eine simple, Monod-ähnliche Wachstumskinetik [235] im Gesamtmodell implementiert [234].

Wie zuvor erwähnt, kann eine gut durchmischte Mikroalgensuspension annähernd als isotrop betrachtet werden [45]. Durch die Verwendung von quasi-parallelem Licht, das senkrecht auf die Reaktoroberfläche fällt, nimmt die lokale Lichtintensität  $I_i(z_R)$  am Punkt  $z_R$  hauptsächlich entlang der Reaktortiefe ab. Dadurch lässt sich die RTE auf den eindimensionalen (1D) Fall reduzieren und die lokale Lichtintensität  $I_i(z_R)$  in einem nicht-emittierenden Medium kann dann wie folgt berechnet werden [173]:

$$-\cos \theta \cdot \frac{dI_\lambda(z_R)}{dz_R} = (\sigma_\lambda + \kappa_\lambda) \cdot I_\lambda(z_R) - \frac{\kappa_\lambda}{2} \cdot \int_0^\pi I_\lambda(z_R) \cdot p_\lambda(\theta, \theta') \cdot \sin \theta' d\theta' \quad (2.4)$$

Hierbei ist  $\sigma_\lambda$  der spektrale Absorptionskoeffizient,  $\kappa_\lambda$  ist der spektrale Streukoeffizient,  $p_\lambda(\theta, \theta')$  ist die spektrale Streuungsphasenfunktion und die beiden Parameter  $\theta$  und  $\theta'$  sind jeweils der Einfallswinkel- und Streuwinkel [173].

Aufgrund der Tatsache, dass die Mikroalgen relativ zu Lichtwellenlängen im sichtbaren Bereich groß sind, streuen sie ca. 90 % des einfallenden Lichtes vorwärts (Öffnungswinkel:  $20^\circ$ ) und nur einen geringen Teil in andere Raumrichtungen [45]. Dadurch kann Gleichung 2.4, die sonst ausschließlich numerisch gelöst werden kann, zusätzlich vereinfacht werden, indem sie durch zwei entgegengesetzte Energieflüsse (jeweils in Vorwärts- und Rückwärtsrichtung) angenähert wird [173]. Diese Methode wird auch als die Schuster-Schwarzschild-Approximation [236,237] oder *two-flux* Approximation [170] bezeichnet. Im hier betrachteten Fall ergibt sich folgendes Gleichungssystem für die beiden Energieflüsse, durch die die Gleichung 2.4 approximiert wird [173]:

$$\cos \theta \cdot \frac{dI_\lambda(z_R)^+}{d\tau_\lambda} = (\omega_\lambda - 1) \cdot I_\lambda(z_R)^+ - \omega_\lambda \cdot b_\lambda \cdot (I_\lambda(z_R)^+ - I_\lambda(z_R)^-) \quad (2.5)$$

$$\cos \theta \cdot \frac{dI_\lambda(z_R)^-}{d\tau_\lambda} = (1 - \omega_\lambda) \cdot I_\lambda(z_R)^- - \omega_\lambda \cdot b_\lambda \cdot (I_\lambda(z_R)^+ - I_\lambda(z_R)^-) \quad (2.6)$$

Mit:

$$\tau_\lambda = (\sigma_\lambda + \kappa_\lambda) \cdot l_R \quad (2.7)$$

$$\omega_\lambda = \frac{\kappa_\lambda}{\sigma_\lambda + \kappa_\lambda} \quad (2.8)$$

$$b_\lambda = \frac{1}{2} \cdot \int_{\pi/2}^\pi p_\lambda(\theta, \theta') \cdot \sin \theta d\theta \quad (2.9)$$

Dabei ist  $\tau_\lambda$  die spektrale optische Dichte,  $\omega_\lambda$  ist die spektrale Albedo für Einfachstreuung und  $b_\lambda$  ist der spektrale Anteil der Rückwärtsstreuung [173]. Durch die Lösung des Gleichungssystems, bestehend aus Gleichung 2.5 und 2.6, mit den Grenzen von  $z_R = 0$  bis  $z_R = l_R$  für einen einseitig beleuchteten Flachplatten-Photobioreaktor ( $I_\lambda(z_R)^+ = I_\lambda^0$  und  $I_\lambda(z_R)^- = 0$ ) ergibt sich schließlich die analytische Lösung der *two-flux* 1D-RTE [173,218,238]:

$$I_\lambda(z_R) = I_\lambda^0 \cdot 2 \cdot \sec \theta \cdot \frac{(1 + \alpha_\lambda) \cdot e^{\delta_\lambda \cdot (l_R - z_R)} - (1 - \alpha_\lambda) \cdot e^{-\delta_\lambda \cdot (l_R - z_R)}}{(1 + \alpha_\lambda)^2 \cdot e^{\delta_\lambda \cdot l_R} - (1 - \alpha_\lambda)^2 \cdot e^{-\delta_\lambda \cdot l_R}} \quad (2.10)$$

Mit:

$$\delta_\lambda = c_{BTM} \cdot \sqrt{\sigma_{\lambda,BTM} \cdot (\sigma_{\lambda,BTM} + 2 \cdot b_\lambda \cdot \kappa_{\lambda,BTM})} \quad (2.11)$$

$$\alpha_\lambda = \sqrt{\frac{\sigma_{\lambda,BTM}}{\sigma_{\lambda,BTM} + 2 \cdot b_\lambda \cdot \kappa_{\lambda,BTM}}} \quad (2.12)$$

Der Parameter  $\delta_\lambda$  ist der spektrale *two-flux* Extinktionskoeffizient [173]. Der Parameter  $\alpha_\lambda$  ist das spektrale lineare Streuungsmodul, das Werte zwischen 0 (perfekt streuendes Medium) und 1 (perfekt absorbierendes Medium) annehmen kann [173]. Die Parameter  $\sigma_{\lambda,BTM}$  und  $\kappa_{\lambda,BTM}$  sind jeweils der spektrale BTM-spezifische Absorptions- und Streuungsquerschnitt. Zusammen mit  $p_i(\theta, \theta')$  lassen sich diese beiden optischen Zelleigenschaften ( $\sigma_{\lambda,BTM}$  und  $\kappa_{\lambda,BTM}$ ) experimentell oder modellbasiert bestimmen, bspw. mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie [45,173,218].

Da ein typisches Medium im Bereich der Mikroalgenkultivierungen (reines Salzmedium) ähnliche optische Eigenschaften wie  $H_2O$  aufweist [239] und die Reaktortiefe meist im Bereich von wenigen Zentimetern liegt [22], kann die Interaktion zwischen dem einfallenden Licht und dem Medium (zumindest im sichtbaren Lichtwellenlängenbereich), ohne entscheidende Einbußen bei der Modellgenauigkeit, vernachlässigt werden [239]. Ebenso kann die Wechselwirkung zwischen den Gasblasen und dem in einen Photobioreaktor einfallenden Licht unter gewöhnlichen Kultivierungsbedingungen (vgl. Abschnitt 3.1.3) vernachlässigt werden, wie bspw. auch in [170,173,218] geschehen.

Die Genauigkeit und Anwendbarkeit der *two-flux* 1D-RTE auf Mikroalgenkultivierungen wurden in der Literatur bereits mehrfach unter Beweis gestellt [170,173,218,240]. Zudem ermöglicht dieser Modellansatz eine prädiktive Modellierung des Lichtprofils in einem Photobioreaktor [173] und die Berücksichtigung der selektiven, wellenlängenabhängigen Lichtabsorption der Mikroalgenzellen [230].

Bei der Auswahl eines passenden Modells zur Beschreibung der Lichtverfügbarkeit in einem Photobioreaktor müssen auch die Reaktorgeometrie und die Leuchtkörperanordnung explizit berücksichtigt werden [168,170,173,230,232]. Die hier vorgestellten Modelle gelten ausschließlich für einfache Flachplatten-Photobioreaktoren mit parallel zur Reaktoroberfläche angeordneten, homogenen Beleuchtungsmodulen (senkrechter Einfall parallelisierter Lichtstrahlen auf die Reaktoroberfläche). Für abweichende Reaktor- und Leuchtmittelgeometrien müssen entsprechende Modellanpassungen vorgenommen werden.

### 2.6.3 Modellierung der stationären Photosynthesekinetik im bioverfahrenstechnischen Kontext

Die Modellierung der Photosynthesekinetik auf der makroskopischen Populationsebene stellt einen wichtigen Verknüpfungspunkt zwischen der Reaktorebene und der intrazellulären metabolischen Ebene dar [24,241,242]. Die Kombination dieser drei Ebenen bildet die Grundlage für Modelle, die im Rahmen der rationalen Prozessentwicklung eingesetzt werden können [23,242]. Deshalb besteht die Notwendigkeit, die jeweilige Prozesskinetik möglichst rational und eindeutig zu formulieren, sodass den kinetischen Parametern stets eine klare physiologische Bedeutung zugewiesen werden kann [23].

Wie zuvor in Abschnitt 2.2 dargelegt, ist die oxygene Photosynthese ein komplexer Prozess. Hinzu kommt die Zellakklimatisation (vgl. Abschnitt 2.5.3), die Mechanismen mit diversen Zeitkonstanten (im Bereich von Sekunden bis Stunden oder teils Tagen) beinhaltet und dadurch eine zusätzliche Komplexität in die Lichtkinetik der photosynthetischen ETK (vgl. Abschnitt 2.2.2) und der CO<sub>2</sub>-Fixierung (vgl. Abschnitt 2.2.3) einbringt. Trotz der Komplexität der Photosynthese wird deren lichtabhängige Kinetik häufig durch empirische Funktionen beschrieben, wobei insbesondere hyperbolische Funktionen und Exponentialfunktionen sehr verbreitet sind [1,25,69,243]. Zwei solcher Modelle sind im Nachfolgenden als repräsentative Beispiele dargestellt:

$$r_P(I_{PAR}) = r_{P,max} \cdot \tanh\left(\frac{\alpha \cdot I_{PAR}}{r_{P,max}}\right) \quad (2.13)$$

$$r_P(I_{PAR}) = r_{P,max} \cdot \left(1 - e^{-\frac{\alpha \cdot I_{PAR}}{r_{P,max}}}\right) \quad (2.14)$$

Das hyperbolische Modell wurde ursprünglich von [244] vorgestellt, während das exponentielle Modell häufig [245] zugeordnet wird [69,243]. In beiden Modellen ist  $r_P(I_{PAR})$  die lichtabhängige spezifische Photosyntheserate. Die Rate  $r_{P,max}$  ist die entsprechende maximale Photosyntheserate. Der Parameter  $\alpha$  definiert hierbei die anfängliche Steigung im lichtlimitierten Bereich einer PI-Kurve (vgl. Abbildung 2.7).

Ein entscheidender Nachteil solcher Modellansätze ist die Tatsache, dass die ermittelten Modellparameter üblicherweise nur für das betrachtete System gelten und nicht unmittelbar auf andere Zustände, die durch die Zellakklimatisation (vgl. Abschnitt 2.5.3) bedingt werden, und Systeme übertragbar sind, was letztlich dem hohen Abstraktionsgrad der Parameter und der fehlenden mechanistischen Basis zuzuschreiben ist [23]. Zudem definiert allein der Funktionstyp und nicht eine mechanistische Modellbasis die Form der resultierenden PI-Kurve, was für das Prozessverständnis keinen Mehrwert bietet und die Anwendbarkeit bzw. Übertragbarkeit mancher Modelle auf unterschiedliche Mikroalgenpezies einschränken könnte [1,69,243].

Weitere gängige Modellansätze stammen aus dem Bereich der Enzymkinetik. Hierzu gehören unter anderem Modelle, die in ihrer Form der Michaelis-Menten- bzw. Monod- oder Haldane-Andrews-Kinetik entsprechen [2,23,25,235]. Im Kontext des lichtabhängigen, photoautotrophen

Wachstums kann die Monod-Kinetik, mit  $I_{PAR}$  als Substrat und  $k_{M,PF}$  als modellspezifische Halbsättigungskonstante, wie folgt definiert werden [25]:

$$r_P(I_{PAR}) = r_{P,max} \cdot \frac{I_{PAR}}{k_{M,PF} + I_{PAR}} \quad (2.15)$$

Im Falle des Monod-Modells [235] wird festgelegt, dass eine enzymatische Reaktion so langsam abläuft, dass sie durchweg die Photosyntheserate in Abhängigkeit der Verfügbarkeit des limitierenden Substrates ( $I_{PAR}$ ) definiert [164]. Eine mechanistische Begründung bzw. Basis für die Annahme des Monod-Modells liefert das photosynthetische Modell nach Han [23,25–27], das im weiteren Verlauf dieses Abschnittes näher vorgestellt wird.

Einen alternativen Fall beschreibt die Blackman-Kinetik [163], die von zwei langsamen Reaktionen ausgeht, die jeweils Teil einer Reaktionskaskade und durch eine beliebige Anzahl schnellerer Reaktionen voneinander getrennt sind [164]. Im Vergleich zum zuvor aufgeführten Monod-Modell [235] ermöglicht das Blackman-Modell [163] die Unterscheidung zwischen den dominanten Prozessen im Verlauf der PI-Kurve (vgl. Abbildung 2.7) [23]. Den ersten Schritt der Photosynthese bildet die Absorption der auftreffenden Photonen durch den Photosynthesapparat (vgl. Abschnitte 2.2.1 und 2.2.2). Da es sich bei der reinen Lichtabsorption (vgl. Abschnitt 2.2.1) um einen physikalischen Prozess und nicht um einen enzymatischen Prozess mit einem typischen Sättigungsverhalten handelt, kann der Rate  $r_P$  zunächst vereinfacht eine lineare Abhängigkeit vom Substrat ( $I_{PAR}$ ) unterstellt werden [23]. Das bedeutet, dass  $r_P$  zunächst linear mit  $I_{PAR}$  ansteigt und dementsprechend allein durch die Lichtverfügbarkeit bestimmt wird (lichtlimitierter Bereich), bis ein nachgeschalteter enzymatischer Reaktionsschritt ab einer sättigenden Lichtintensität ( $I_{PAR,S}$ ) limitierend wirkt (lichtgesättigter Bereich) und damit  $r_{P,max}$  determiniert [23,164]. Mathematisch lässt sich die Blackman-Kinetik [163] im photoautotrophen Fall wie folgt ausdrücken:

$$r_P(I_{PAR}) = \begin{cases} \alpha \cdot I_{PAR}, & I_{PAR} < I_{PAR,S} \\ r_{P,max}, & I_{PAR} \geq I_{PAR,S} \end{cases} \quad (2.16)$$

Das Blackman-Modell impliziert eine gleichbleibende Effizienz der Photosynthese bis zum Erreichen der Lichtsättigung, was sich entsprechend der definierten Gleichung 2.16 im linearen Anstieg der PI-Kurve im lichtlimitierten Bereich und einem plötzlichen Übergang in die Lichtsättigung äußert [163–165]. Das impliziert wiederum, dass keine Rückkopplung zwischen den beiden langsamen Reaktionsschritten besteht und keine Lichtsättigung des ersten limitierenden Reaktionsschrittes stattfindet. In der Realität wird jedoch normalerweise ein Abflachen der PI-Kurve vor dem Erreichen der Lichtsättigung und somit die Ausbildung eines Übergangsbereiches zwischen der Lichtlimitierung und -sättigung beobachtet [29,157]. Das Abflachen einer PI-Kurve in diesem Übergangsbereich bedeutet, dass die lichtabhängige Photosynthese auch vor der Lichtsättigung nicht durchweg mit einer konstanten Effizienz und ohne Energieverluste betrieben werden kann. Diese Energieverluste entstehen primär dadurch, dass mit dem steigenden Auslastungsgrad eines limitierenden Reaktionsschrittes die uneingeschränkte Einspeisung der an den LHCII-Komplexen absorbierten Lichtenergie in die photosynthetische ETK zunehmend beeinträchtigt wird [26,27,105,161]. Das führt wiederum zu einer Akkumulation von angeregten LHCII-RCII-Komplexen, die die überschüssig absorbierte Lichtenergie vermehrt

über die NPQ-Mechanismen und Fluoreszenz dissipieren müssen, statt sie für die Photochemie zu nutzen [26,27,161].

Die Modelle, die solche Rückstaueffekte und Energieverluste berücksichtigen, bauen häufig auf dem Konzept der sogenannten *photosynthetic unit* (PSU) auf. Das PSU-Konzept basiert ursprünglich auf den Arbeiten von Emerson und Arnold [246,247], die entdeckt haben, dass an der Bildung eines O<sub>2</sub>-Moleküls nach einem kurzen sättigenden Lichtblitz jeweils etwa 2400 Chlorophylle miteinander kooperieren müssten, obwohl unter optimalen Bedingungen lediglich 8-11 Photonen [248] zur Ausbildung eines O<sub>2</sub>-Moleküls notwendig sind [249]. Eine Interpretation dieser Ergebnisse durch Gaffron und Wohl [250] führte schließlich zur Betrachtung dieses Chlorophyllensembles als eine Einheit und damit zur Einführung des PSU-Konzeptes [249]. Die Größe einer PSU wird klassischerweise als die Anzahl der Chlorophylle definiert, die bei einer Anregung durch einen kurzen sättigenden Lichtblitz statistisch gesehen zur Ausbildung eines O<sub>2</sub>-Moleküls führt (alternativ: Mol O<sub>2</sub> gebildet pro Mol Chlorophyll pro Lichtblitz) [205].

Im Rahmen sogenannter PSU-Modelle weicht die Definition einer PSU in manchen Fällen von der klassischen PSU-Definition nach Emerson und Arnold [246,247] bzw. Gaffron und Wohl [250] ab. Teilweise wird die PSU als die gesamte photosynthetische ETK (vgl. Abbildung 2.3), inklusive der Bestandteile des Calvin-Zyklus (vgl. Abbildung 2.5), definiert [27,105]. In diesem Fall wird festgelegt, dass jede PSU jeweils einen LHCII-RCII-Komplex aufweist, während die restlichen Komponenten des Photosyntheseapparates (vgl. Abschnitte 2.2.2 und 2.2.3) in einer zum LHCII-RCII-Komplex relativen, variablen Anzahl innerhalb der gleichen PSU vorliegen können [27,105].

Es existieren bereits einige PSU-Modelle [26,27,29,161,251–256], die in ihrem Abstraktionsgrad und in ihrer Komplexität variieren. Die Gemeinsamkeit dieser Modelle besteht darin, dass eine „offene“ PSU im Grundzustand durch die Photonenabsorption angeregt und dadurch „geschlossen“ wird. Im Anschluss kann eine geschlossene PSU durch die Weiterleitung der absorbierten Energie in den ursprünglichen, offenen Zustand zurückkehren. Eine geschlossene PSU kann zwar weiterhin Photonen absorbieren, deren Energie aber nicht für die Photochemie nutzen und muss sie deshalb in Form von Wärme und Fluoreszenz (vgl. Abbildung 2.2) dissipieren [161]. Ein sehr häufig verwendetes PSU-Modell ist das sogenannte Han-Modell [26,27], das unter der Annahme eines stationären Zustandes der photosynthetischen ETK wie folgt definiert ist (die detaillierte Herleitung dieses Modells kann [26,27] entnommen werden):

$$r_P(I_{PAR}) = \frac{n_{PSU}}{\tau_{Han}} \cdot \frac{I_{PAR}}{\frac{1}{\tau_{Han} \cdot \sigma_{PSII}} + I_{PAR}} = r_{P,max} \cdot \frac{I_{PAR}}{k_{M,PF D} + I_{PAR}} \quad (2.17)$$

Die Umsatzzeit  $\tau_{Han}$  ist hierbei die minimale Zeit, die benötigt wird, um eine angeregte PSU zurück in den offenen Zustand zu überführen [27]. Der Parameter  $n_{PSU}$  ist die spezifische Anzahl der PSUs und definiert zusammen mit  $\tau_{Han}$  (im Ausdruck  $n_{PSU}/\tau_{Han}$ ) die Rate  $r_{P,max}$  [27]. Der Modellparameter  $\sigma_{PSII}$  ist als der effektive Absorptionsquerschnitt des LHCII-RCII-Komplexes definiert und kann als Produkt aus dem LHCII-RCII-Absorptionsquerschnitt und der Wahrscheinlichkeit, dass die Energie eines absorbierten Photons tatsächlich zur primären Photochemie beiträgt, betrachtet werden [27]. Wie in Gleichung 2.17 deutlich zu erkennen ist, lässt sich der Ausdruck  $1/(\tau_{Han} \cdot \sigma_{PSII})$ , zumindest unter der Annahme eines konstanten Photoakklimatisa-

tionszustandes, zu  $k_{M,PF D}$  zusammenfassen, weshalb Gleichung 2.17 formal der Monod-Kinetik in Gleichung 2.15 entspricht und, wie bereits zuvor erwähnt, dessen mechanistische Grundlage im photoautotrophen Kontext bildet [25].

In der erweiterten Form berücksichtigt das PSU-Modell nach Han zusätzlich die Photoinhibierung [27], ebenso wie auch andere PSU-Modelle [161,251,256]. In der Modellvorstellung wird angenommen, dass bereits angeregte bzw. geschlossene PSUs weitere Photonen absorbieren und deren Energie mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auf  $O_2$  übertragen können, was zur Ausbildung von ROS führt (vgl. Abschnitt 2.5.3) [27]. Die gebildeten ROS können die PSUs oxidativ schädigen und in den „inaktiven“ bzw. inhibierten Zustand überführen, sodass diese inaktivierten PSUs repariert werden müssen [208,209], bevor sie erneut zur Photochemie beitragen können [26,27]. Durch die Berücksichtigung des zusätzlichen, dritten PSU-Zustandes wird das zuvor vorgestellte Han-Modell ohne Photoinhibierung (siehe Gleichung 2.17) erweitert zu (die umfassende Herleitung des Modells ist in [27] zu finden):

$$r_P(I_{PAR}) = \frac{n_{PSU}}{\tau_{Han,inh}} \cdot \frac{I_{PAR}}{\frac{1}{\tau_{Han,inh} \cdot \sigma_{PSII}} + I_{PAR} + K_{Han,inh} \cdot \sigma_{PSII} \cdot I_{PAR}^2} \quad (2.18)$$

Die Umsatzzeit  $\tau_{Han,inh}$  weist die gleiche Definition wie  $\tau_{Han}$  auf [27] und wird in diesem Fall lediglich zur Verbesserung der Übersichtlichkeit (siehe Abschnitt 4.3.1.2) abweichend genannt. Der Parameter  $K_{Han,inh}$  beschreibt die Dynamik zwischen der Photoinhibierung der PSUs durch ROS und den Reparaturmechanismen [27]. Für den Fall, dass keine Photoinhibierung stattfindet oder berücksichtigt wird, beträgt der Parameter  $K_{Han,inh} = 0$ , wodurch sich Gleichung 2.18 zu Gleichung 2.17 bzw. 2.15 reduzieren lässt. Ein schematischer Aufbau des gesamten PSU-Modells nach Han [27] ist in der Abbildung 2.11 zu sehen.

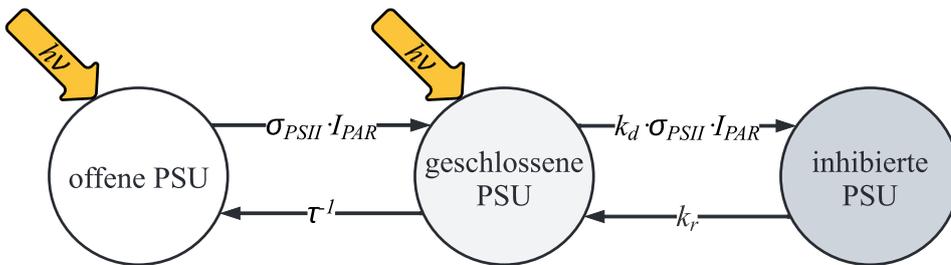


Abbildung 2.11: Schematischer Aufbau des PSU-Modells nach Han [27]. Durch die Absorption eines Lichtquants ( $h\nu$ ) wird die offene PSU in den geschlossenen bzw. angeregten Zustand überführt. Die Lichtabsorptionsrate ist dabei proportional zum Produkt  $\sigma_{PSII} \cdot I_{PAR}$ . Die angeregte PSU nutzt die absorbierte Lichtenergie, um die Photosynthese anzutreiben. Die Prozessierung dieser Energie für die  $CO_2$ -Fixierung erfolgt proportional zu  $\tau^{-1}$ , was auch der Umsatzrate entspricht, mit der die angeregten PSUs in den Grundzustand zurückkehren. Die überschüssige Lichtabsorption im geschlossenen Zustand kann die PSU in den inhibierten Zustand überführen. Die Wahrscheinlichkeit, dass eine geschlossene PSU ein Photon absorbiert, dessen Energie zur Ausbildung von ROS und einer damit verbundenen oxidativen Schädigung der PSU führt, wird durch den Ausdruck  $k_d \cdot \sigma_{PSII} \cdot I_{PAR}$  beschrieben. In diesem Ausdruck kann  $k_d$  als die Geschwindigkeitskonstante der Photoinhibierung betrachtet werden. Die inhibierten PSUs werden proportional zur effektiven Geschwindigkeitskonstanten der Reparaturmechanismen ( $k_r$ ) in den funktionalen Zustand überführt. Der Modellparameter  $K_{Han,inh} = k_d/k_r$  beschreibt die Dynamik zwischen der Photoinhibierung und der PSU-Reparatur. [27]

Trotz der weiten Verbreitung des Han-Modells [28,29,252–254,257,258] bestehen einige Unklarheiten hinsichtlich einiger Modelldefinitionen [23]. Im Modell von Han wird die Rückreaktion von geschlossenen zu offenen PSUs mit der Umsatzzeit  $\tau_{Han}$  als insgesamt limitierend angesehen [27]. Die Umsatzzeit  $\tau_{Han}$  beschreibt laut Han die minimale Zeit, die benötigt wird, um ein angeregtes Elektron vom RCII auf dessen terminalen Elektronenakzeptor, also PQ bzw.  $Q_B$ , zu übertragen [27]. Im lichtgesättigten Fall wird von Han unterstellt, dass der Calvin-Zyklus bzw. die RuBisCO-katalysierte Carboxylierungsreaktion (vgl. Abschnitt 2.2.3) absolut limitierend wirkt und über die Ausbildung eines Elektronenstaus (Rückkopplung) die Geschwindigkeit des Elektronentransfers zwischen RCII und  $Q_B$  bzw. PQ letztlich determiniert [27]. Es entsteht jedoch die Frage, inwieweit die  $CO_2$ -Fixierung im stark lichtlimitierten Bereich, also bei geringen PPFDs, die Elektronentransferrate zwischen RCII und dessen terminalen Elektronenakzeptor beeinflusst, insbesondere unter der Betrachtung, dass der zwischengeschaltete PQ-Pool (vgl. Abbildung 2.3) als Puffer zwischen den beiden Reaktionsschritten fungieren könnte [69]. Bei geringen PPFDs und einem damit einhergehenden, geringen Reduktionsgrad des PQ-Pools wäre zu erwarten, dass  $\tau_{Han}$  eher im Bereich der Zeitkonstanten des Elektronentransportes zwischen RCII und  $Q_B$  bzw. PQ liegen und somit etwa 0,2-0,8 ms betragen sollte [58,102] (wenn die entsprechende RCII-Bindestelle bereits ein  $Q_B$  enthält; vgl. Abschnitt 2.2.2). Erst bei einer vollständigen Reduktion des PQ-Pools, bedingt durch die Auslastung der  $CO_2$ -Fixierung in der Lichtsättigung, wäre theoretisch davon auszugehen, dass die  $CO_2$ -Fixierung durch die erwähnte Rückkopplung  $\tau_{Han}$  definiert. In diesem Fall lägen die Werte von  $\tau_{Han}$  im Bereich von etwa 1-10 ms [26,29].

Beim Vergleich der beiden genannten, möglichen Wertebereiche für  $\tau_{Han}$  fällt auf, dass die Annahme eines  $\tau_{Han}$ -Wertes im Bereich der Zeitkonstanten des Elektronentransfers zwischen RCII und dessen terminalen Elektronenakzeptor zu unrealistisch hohen  $r_{P,max}$ -Werten führen würde, da diese Zeitkonstanten mit ca. 0,2-0,8 ms [58,102] deutlich niedriger ausfallen als die sonst verwendeten  $\tau_{Han}$ -Werte im Rahmen von 1-10 ms, die scheinbar zu plausiblen Modellvorhersagen der lichtbedingten Photosynthesekinetik führen [26,29]. Zudem deuten weitere experimentelle Daten [105,180,199,212] darauf hin, dass die Umsatzzeit einer PSU im Lichtsättigungsbereich (vgl. Abbildung 2.7) eher im Bereich von 1-10 ms als im Bereich von 0,2-0,8 ms liegen sollte. Die Annahme von  $\tau_{Han}$ -Werten zwischen 1-10 ms [26,29], trotz des unklaren Ausmaßes der Rückkopplung zwischen der  $CO_2$ -Fixierung und der Lichtabsorption an den LHCII-RCII-Komplexen im lichtlimitierten Bereich (vgl. Abbildung 2.7), könnte theoretisch dazu führen, dass die Akkumulation der angeregten PSUs im Lichtlimitierungsbereich überschätzt wird, was im Umkehrschluss zum Unterschätzen der Steigung der PI-Kurve in diesem Bereich führen könnte. Wie zuvor erwähnt, bleibt unklar, ob davon ausgegangen werden kann, dass vor der vollständigen Sättigung des PQ-Pools mit Elektronen die Umsatzzeit der  $CO_2$ -Fixierung unmittelbar die Umsatzzeit des Elektronentransfers am RCII definiert, was jedoch im Rahmen des PSU-Modells nach Han [26,27] angenommen wurde.

Es deutet sich demnach an, dass je nach Bereich der PI-Kurve (vgl. Abbildung 2.7) ein anderer Reaktionsschritt hauptsächlich limitierend wirkt, ähnlich wie beim Blackman-Modell [163]. Basierend auf dieser Betrachtungsweise wurde das Han-Modell [26,27] in [23] erweitert und in zwei Bereiche mit zwei verschiedenen Umsatzzeiten unterteilt. Bei dem in [23] vorgestellten Modellansatz wird die Lichtabsorptionskinetik im lichtlimitierten Bereich ( $I_{PAR} < I_{PAR,S}$ ) entspre-

chend dem PSU-Modell nach Han (jedoch ohne Photoinhibierung; vgl. Gleichung 2.17) [27] modelliert, während  $r_{P,max}$  im Bereich der Lichtsättigung ( $I_{PAR} \geq I_{PAR,S}$ ), entsprechend dem Modell nach Blackman [163], durch eine nachgeschaltete Reaktion definiert wird. In der Lichtsättigung gilt dementsprechend  $r_P = r_{P,max}$  [23]. Der Modellaufbau in [23] impliziert, analog zum Blackman-Modell [163], dass keine Rückkopplung zwischen der Lichtabsorptionskinetik an den LHCII-RCII-Komplexen und der CO<sub>2</sub>-Fixierung bzw. der nachgeschalteten, limitierenden Reaktion besteht. Es bleibt jedoch unklar, inwieweit eine mögliche Rückkopplung zwischen den beiden limitierenden Reaktionsschritten vernachlässigt werden kann, da dieser Aspekt in [23] nicht explizit diskutiert wird.

Bei den bisher vorgestellten Gleichungen der PSU-Modelle [23,26,27] sollte beachtet werden, dass diese die Zellrespiration (vgl. Abschnitt 2.4) nicht berücksichtigen. Um die entsprechenden Netto-Photosyntheseraten (Brutto-Photosyntheserate abzüglich der Zellrespiration) zu erhalten, werden die PSU-Modelle häufig mit dem Respirationmodell nach Pirt [259,260] oder darauf aufbauenden Modellansätzen ergänzt, wie bspw. auch in [23,161] geschehen. Da die Mikroalgenzellen ihre Zellzusammensetzung und den photosynthetischen Apparat in Abhängigkeit der Umweltbedingungen stark variieren können [105,117,157,191] (vgl. Abschnitt 2.5.3), muss zudem deren Akklimatisationsverhalten modelliert bzw. berücksichtigt werden, um die variable Photosyntheseleistung unter verschiedenen Akklimatisationszuständen betrachten zu können [29,161]. Eine solche Erweiterung des Han-Modells [26,27], das in der ursprünglichen Form keine Photoakklimatisation von  $\sigma_{PSII}$  und  $\tau_{Han}$  beinhaltet, ist bspw. in [29] erfolgt. Die Berücksichtigung der lichtbedingten Zellakklimatisation und deren Auswirkung auf die Photosynthesekinetik erfolgte in [29] jedoch nur auf einer rein empirischen Basis, ähnlich wie auch in [161].

#### **2.6.4 Optimale Allokation eines endlichen Proteoms als Basis der Zellakklimatisation**

Der Metabolismus von Mikroalgen ist ein hochkomplexes Zusammenspiel aus einer Vielzahl von Reaktionen [137,261]. Die Frage, wie genau eine Mikroalgenzelle die metabolischen Reaktionen in Abhängigkeit der Umweltbedingungen regelt, kann derzeit kaum im vollen Umfang beantwortet werden [113,262,263]. Es besteht jedoch der Konsens, dass das Hauptziel einer Zelle die Optimierung des Wachstums unter den bestehenden Bedingungen ist und der Metabolismus demnach reguliert wird [162,257,258,264]. Bei einer Substratlimitierung gibt die Konzentration der limitierenden Komponente die Obergrenze für das Zellwachstum vor (vgl. Abbildung 2.7 mit PPFD als Substrat), sodass mit dem Anstieg der Konzentration der limitierenden Komponente auch das Zellwachstum idealerweise proportional dazu zunimmt [163]. Wenn jedoch alle notwendigen Substrate im Überschuss vorliegen, werden in Mikroorganismen teilweise energetisch ineffiziente, metabolische Reaktionen beobachtet, was auch als Überflusmetabolismus bezeichnet wird [265]. Ein Beispiel für eine solche Reaktion ist die Produktion von Ethanol unter aeroben Bedingungen und hohen Glucosekonzentrationen in Hefen (Crabtree-Effekt) [2]. Hieraus ergibt sich die Fragestellung, warum Zellen ihre metabolischen Kapazitäten nicht weiter erhöhen, um das im Überfluss vorhandene Substrat mit gleichbleibender Effizienz zu verstoffwechseln bzw. um die maximale Wachstumsrate noch zusätzlich zu steigern. Ein Grund hierfür muss eine intrazelluläre Einschränkung sein, die scheinbar ein Zellwachstum bzw. die Verwertung des Substrates mit einer gleichbleibenden Effizienz verhindert, sodass ein

zusätzliches Zellwachstum ab einem bestimmten Punkt nur auf Kosten der energetischen Effizienz realisiert werden kann, bis auch der energetisch ineffizientere Stoffwechselweg vollständig ausgelastet ist und das Zellwachstum nicht mehr weiter zunehmen kann [265].

In [265] wird ausgeführt, dass die maximale intrazelluläre Packungsdichte der Proteine und weiterer Zellbestandteile eine solche Limitierung darstellen könnte, die die Obergrenze für das Zellwachstum determiniert. Für diese Hypothese sprechen einige experimentelle Ergebnisse. Es wurde unter anderem beobachtet, dass Thylakoidmembranen eine enorm hohe Dichte photosynthetischer Proteine (vgl. Abbildung 2.3) aufweisen [75], sodass eine weitere Zunahme der Menge der photosynthetischen Proteine, um bspw. das Wachstum unter Schwachlicht zusätzlich zu steigern, wahrscheinlich kaum möglich ist. Im Cytoplasma könnte hingegen die Lösungsmittelkapazität von verfügbarem H<sub>2</sub>O die Obergrenze für die Anzahl der Proteine, Metabolite und weiterer Zellkomponenten bilden [266]. Zudem scheint eine hohe Packungsdichte im Cytoplasma die Diffusionsvorgänge von Makromolekülen (bspw. Proteinen) und somit auch die Reaktionsgeschwindigkeiten der Stoffwechselreaktionen in einer Zelle zu beeinträchtigen [267]. Unter anderem scheinen diese Effekte, die maximale Proteinpoolgröße in einer Zelle einzuschränken und sie zu zwingen, die einzelnen Fraktionen des endlichen Proteoms entsprechend den vorliegenden Bedingungen zu allozieren [265].

Prinzipiell gelten diese Einschränkungen jedoch nur für Mikroorganismen mit einer endlichen Zellgröße. Dementsprechend stellt sich die weitere Frage, warum Mikroorganismen ihre Zellgröße nicht beliebig variieren. Hierfür gibt es mehrere Gründe. Bei sehr großen Zellen wären die intrazellulären Diffusionswege relativ lang und die intrazelluläre Packungsdichte von Makromolekülen würde die Diffusion zusätzlich erschweren, beides würde sich negativ auf jegliche Reaktionsgeschwindigkeiten und somit auch auf das Zellwachstum auswirken [265]. Zudem ist der Gasaustausch zwischen einer Zelle und dem Umgebungsmedium proportional zur Zelloberfläche, die bei kugelförmigen Zellen nur quadratisch proportional zum Zellradius ist, während das Zellvolumen eine kubische Proportionalität aufweist [2]. Eine große Zelle hätte demnach ein unvorteilhaftes Volumen/Oberflächen-Verhältnis, was den Gasaustausch mit der Umgebung und die intrazelluläre Gasdiffusion erschweren würde. Eine mögliche Sekretion von Giftstoffen oder inhibierenden Substanzen wäre aus dem gleichen Grund eingeschränkt [265]. Mit einer steigenden Zellgröße steigen zudem auch die energetischen Bedürfnisse einer Zelle (bspw. steigende Kosten der Zellwandsynthese sowie der Volumenregulation), die in [268] umfassend erörtert werden. Im speziellen Fall von photoautotrophen Mikroorganismen sollte zudem der intrazelluläre Lichteintrag berücksichtigt werden. Ähnlich wie in einem Photobioreaktor (siehe Abschnitt 2.5.2) kommt es auch innerhalb einer Mikroalgenzelle und vor allem innerhalb des Chloroplasten zu einem Lichtabfall [243]. Ab einer bestimmten Größe des Chloroplasten könnte es also bereits innerhalb des Chloroplasten zu einer Lichtlimitierung kommen. Bereits anhand der hier aufgeführten Punkte, die in diesem Fall lediglich eine grobe Übersicht der zellgrößenlimitierenden Aspekte darstellen, wird ersichtlich, dass nur eine bedingte Zunahme der Zellgröße sinnvoll und überhaupt möglich sein sollte.

Das Konzept der endlichen zellulären Ressourcen und der daraus resultierenden Notwendigkeit der optimalen Proteomallokation hat sich bisher bei der Modellierung des Metabolismus heterotropher Mikroorganismen bewährt [265,269]. Bedingt durch den Erfolg dieses Konzeptes im Bereich des heterotrophen Zellwachstums wurde in der Literatur dessen Anwendbarkeit auf

photoautotrophe Mikroorganismen untersucht. Die bisherigen Ergebnisse bei der Modellierung des Metabolismus von Cyanobakterien [257,258,265,270] und Mikroalgen [151,188] lassen vermuten, dass dieses Konzept auch auf photoautotrophe Mikroorganismen übertragbar ist. Im Rahmen der genannten Studien wurden insbesondere die metabolischen Proteinfractionen aufgelöst, während die photosynthetischen Proteine teilweise als eine einheitliche Fraktion betrachtet wurden. Für eine umfassendere Untersuchung der Photoakklimatisation des Photosyntheseapparates von *C. vulgaris* wäre jedoch eine detailliertere Auflösung der photosynthetischen Proteinfraction notwendig (vgl. Abschnitt 4.4).

---

## 3 Material und Methoden

Alle verwendeten Chemikalien wurden entweder von Carl Roth GmbH & Co. KG (Karlsruhe, Deutschland), Merck KGaA (Darmstadt, Deutschland), Promega Corp. (Madison, USA), Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, USA) oder VWR International LLC (Radnor, USA) bezogen und waren von analytischer Qualität, falls nicht explizit anders ausgewiesen. Für die Herstellung der Reagenzlösungen und Kulturmedien wurde Reinstwasser (Widerstand:  $\geq 16 \text{ M}\Omega$  bei Raumtemperatur; Maxima, ELGA LabWater, High Wycombe, UK) verwendet.

### 3.1 Mikroalgenkultivierung

Der in dieser Arbeit verwendete *C. vulgaris* Wildtypstamm SAG211-12 wurde von der Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen (SAG, Universität Göttingen, Deutschland) bezogen. Alle Kultivierungen von *C. vulgaris* wurden axenisch durchgeführt.

#### 3.1.1 Verwendete Kulturmedien

Für die Mikroalgenkultivierung wurde ein auf dem Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS)-Acetat-Phosphat (TAP)-Medium [271–273] basierendes Kulturmedium verwendet. Beim hier verwendeten Medium erfolgte keine Zugabe von Acetat. Im Nachfolgenden wird dieses Medium deshalb als TRIS-Phosphat (TP)-Medium bezeichnet. Für die Hauptkultivierung im Flachplattenreaktor (siehe Abschnitt 3.1.3) wurde dem Kulturmedium zusätzlich kein TRIS zugefügt, weshalb dieses Medium nachfolgend als Phosphat (P)-Medium gekennzeichnet wird. [127]

Tabelle 3.1: Zusammensetzung der verwendeten Kulturmedien (TP- und P-Medium).

Komponente	Ausgangskonzentration [ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ]	
	TP-Medium	P-Medium
$\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,05	0,05
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,108	0,108
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,054	0,054
$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1	0,1
$\text{NH}_4\text{Cl}$	0,34	0,34
Spurenelementlösung nach Hutner [272]		
Dinatrium-Ethylendiamintetraacetat ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$ )	0,05	0,05
$\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,0016	0,0016
$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,0016	0,0016
$\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,005	0,005
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,0114	0,0114
$\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,0052	0,0052
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,0012	0,0012
$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,022	0,022
TRIS	2,42	-

Das genutzte TP- bzw. P-Medium ermöglicht, entsprechend der typischen Elementarzusammensetzung von *C. vulgaris* [166], eine Biotrockenmasse (BTM)-Konzentration von etwa  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , ohne auftretende Nährstofflimitierungen. Die jeweiligen Medienkomponenten und ihre Ausgangskonzentrationen sind in der Tabelle 3.1 aufgelistet. Die Medien wurden stets unmittelbar vor dem Gebrauch hergestellt.

### 3.1.2 Stammhaltung und Vorkulturführung

Die Stammhaltung und Vorkulturführung erfolgten in 500 mL nicht-schikanierten Schüttelkolben mit jeweils 200 mL TP-Medium (siehe Abschnitt 3.1.1). Da der pH-Wert in Schüttelkolben nicht geregelt werden konnte, wurde den Medien TRIS als Puffersubstanz zugesetzt. Nach der Einstellung des pH-Wertes auf 7,5 (S20-SevenEasy pH, Mettler Toledo Inc., Columbus, USA) wurden die Medien im Laborautoklav (Laboklav ECO, SHP Steriltechnik AG, Detzel Schloß, Deutschland) 20 min lang bei  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  sterilisiert. Anschließend wurden die autoklavierten Medien unter den aseptischen Bedingungen einer Sterilwerkbank (Safe 2020, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) mit jeweils 2 mL einer vorangegangenen *C. vulgaris* Kultur inokuliert. Die Kultivierung erfolgte auf einem mit Leuchtdioden (LEDs; NFSW757GT-V2 und NFSW757GT (3:2 Verhältnis), Nichia Corp., Anan, Japan) ausgestatteten und an einem Laborschüttler (KS 501 digital, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland) befestigten Modul (Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik – Bioverfahrenstechnik (BVT), Karlsruhe, Deutschland) bei  $100 \text{ min}^{-1}$  und  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  in einem temperierten Laborinkubator (MKK 1200, Flohr Instruments, Nieuwegein, Niederlande). Die nicht aktiv begasten Schüttelkolben wurden jeweils von unten mit einer PPFD von  $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (LED-Spektrum siehe Anhang A.2) beleuchtet. Die Stammhaltung wurde alle vier Wochen erneuert. Die Vorkulturen wurden jeweils für fünf bis sieben Tage kultiviert und anschließend als Inokulum für die Hauptkulturen (vgl. Abschnitt 3.1.3) verwendet.

### 3.1.3 Kultivierung in Flachplatten-Photobioreaktoren

Die eigens entwickelten Flachplatten-Photobioreaktoren (BVT, Karlsruhe, Deutschland), mit 1 L Arbeitsvolumen und den Innenmaßen von  $20 \times 35 \times 2 \text{ cm}$  (B x H x T), basierten auf dem in [127] vorgestellten Aufbau. Jeder der Reaktoren bestand aus zwei doppelwandigen Edelstahlseitentteilen, zwischen denen zwei Borosilikatglasscheiben eingeklebt waren. Die aus Edelstahl bestehende Bodenplatte enthielt eine Fassung für eine poröse Polytetrafluorethylen (PTFE)-Sinterplatte ( $1 \mu\text{m}$  mittlerer Porendurchmesser; Reichelt Chemietechnik GmbH + Co., Heidelberg, Deutschland) und einen Anschluss für die Begasung. Die Edelstahl-Deckenplatte besaß mehrere Gewindeanschlüsse für die Peripherie und zwei Messsonden. Beide Platten konnten mit dem Reaktorkorpus verschraubt werden und bildeten so den Flachplatten-Photobioreaktor (vgl. Abbildung 3.1). Die Abdichtung des Reaktors wurde durch eine in der Aussparung der jeweiligen Platte befindlichen Polydimethylsiloxan (PDMS)-Flachdichtung gewährleistet. Die aseptische Probenahme (siehe Abschnitt 3.1.4) wurde durch ein an der Deckenplatte angebrachtes Safeflow-Membranventil (B.Braun SE, Melsungen, Deutschland) realisiert.

Die Flachplattenreaktoren wurden jeweils beidseitig beleuchtet. Hierzu wurden zum Reaktor parallel ausgerichtete, mit Kollimatoren ( $6^\circ$  Abstrahlwinkel; IMM Photonics GmbH, Unter-

schleißheim, Deutschland) ausgestattete LED-Panele (LEDs: NS6L083BT, Nichia Corp. Anan, Japan; BVT, Karlsruhe, Deutschland) im Abstand von 15 cm angebracht. Die gewünschten PPFs (LED-Spektren siehe Anhang A.2) wurden am Netzteil (EA-PS 3032-05 B und EA-PS 2342-10 B, EA Elektro-Automatik GmbH & Co. KG, Viersen, Deutschland) über die Stromstärke eingestellt, die über die Spannungsregelung konstant gehalten wurde.

Die Reaktorbeegasung erfolgte mit einem Gasgemisch aus Luft und CO<sub>2</sub>. Der Gasvolumenstrom und die Gasvolumenanteile wurden über die Massendurchflussmesser (MFC; 179C Mass-Flo, MKS Instruments Inc., Andover, USA) eingestellt und geregelt. Beide MFCs wurden vor jedem Experiment mithilfe eines Seifenblasen-Durchflussmessers (Gilian Gilibrator-2, Sensidyne LP., Clearwater, USA) kalibriert bzw. kontrolliert. Zwischen den MFCs und dem Reaktor wurde ein Druckminderer zwischengeschaltet, um Überdrücke oberhalb von 0,1 bar zu vermeiden. Zusätzlich enthielt die Zuluftstrecke einen PTFE-Sterilfilter (0,2 µm Porendurchmesser; Midisart 2000, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland). Die in der Bodenplatte eingefasste Sinterplatte diente der Optimierung des Gasblasenbildes. Die Abluft wurde über eine mit einem PTFE-Sterilfilter versehene Abgasstrecke abgeleitet.

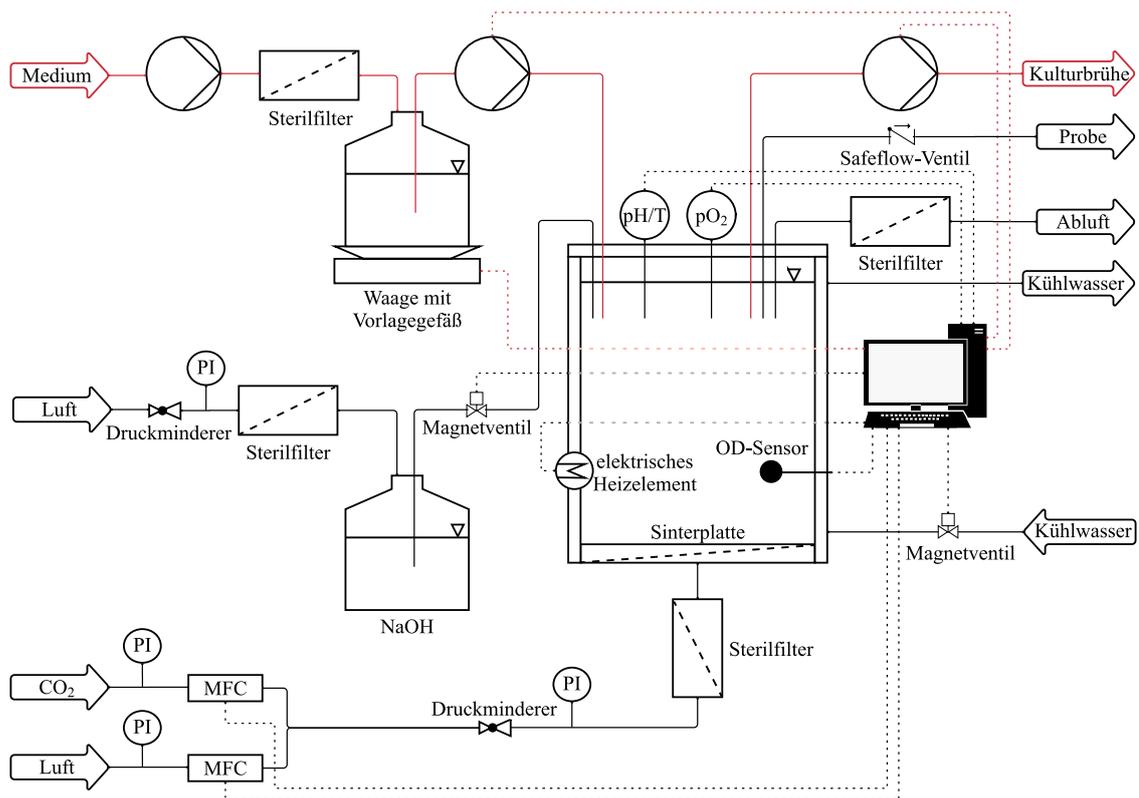


Abbildung 3.1: Schematischer Aufbau der verwendeten 1 L Flachplatten-Photobioreaktoren. Zu sehen ist ein Reaktor inklusive der dazugehörigen Peripherie. Hierzu gehören die pH-Regelung (bedarfsgerechte Zugabe von NaOH über die abgebildete Leitung), Zu- und Abluftleitung (inklusive der MFCs), die Temperiereinheit (bestehend aus einem Heizelement und einer Kühlwasserleitung), der OD-Sensor, die Messsonden (pH/T und pO<sub>2</sub>) sowie das Prozessleitsystem BioProCon. Im Turbidostat wurden zusätzlich der Mediumzufluss und -abfluss geregelt (rot markiert). Die Stoff- und Signalströme sind jeweils durch durchgängige und gestrichelte Linien gekennzeichnet. Die beidseitige Beleuchtung ist nicht dargestellt.

Die Erfassung der Temperatur und des pH-Wertes erfolgte über eine pH-Sonde (Polilyte Plus H Arc 225, Hamilton Comp., Reno, USA). Der pH-Wert wurde durch eine über ein Magnetventil und Überdruck geregelte Titration steriler 0,5 M NaOH konstant bei 7,5 gehalten. Eine ergänzende Zugabe von Säure war, bedingt durch die Begasung mit CO<sub>2</sub>-angereicherter Luft, nicht notwendig. Die Gelöstsauerstoff (DO)-Konzentration wurde mit einer optischen pO<sub>2</sub>-Sonde (VisiFerm DO Arc 160 H0, Hamilton Comp., Reno, USA) erfasst.

Die Temperierung des Reaktors auf konstante 25 °C wurde über das in der Seitenwand eingebrachte, elektrische Heizelement sowie über den gegenüberliegenden Kühlwasseranschluss umgesetzt. Die Durchströmung der hohlen Reaktorwand mit Kühlwasser wurde über ein Magnetventil geregelt. Das Heizen mithilfe des Heizelementes wurde ebenfalls geregelt.

Das eingesetzte Reaktorsystem ermöglichte eine Kulturführung im Turbidostat. Als Regelgröße wurde die Transmission bei einer Lichtwellenlänge von 950 nm herangezogen. Hierfür wurden auf der Reaktoroberfläche ein Infrarot (IR)-Emitter und gegenüberliegend ein IR-Sensor angebracht (in Abbildung 3.1 als OD-Sensor deklariert). Der geregelte Zu- und Abfluss des Mediums wurde durch den Einsatz einer Vierkanal-Peristaltikpumpe (Ismatec REGLO ICC, Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland) realisiert. Der Medienverbrauch wurde über das Waagensignal (QA65EDE-S, Sartorius AG, Göttingen, Deutschland und FCB 30K1, Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland) erfasst. Das P-Medium (vgl. Abschnitt 3.1.1) im Vorlagegefäß wurde in regelmäßigen Abständen manuell über ein Filtersystem, bestehend aus einem Polyethersulfon (PES)-Flaschenaufsatzfilter (0,2 µm Porendurchmesser; Nalgene Rapid-Flow 500 mL, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) auf einer Laborflasche und einer Peristaltikpumpe (505U, Watson-Marlow Fluid Technology Group, Falmouth, UK) zur Förderung des Mediums, steril nachgefüllt.

Es wurden ausschließlich PI-Regler zur Systemregelung eingesetzt. Die nach den Einstellregeln von Chien, Hrones und Reswick bestimmten Regelparameter wurden von [127,130] übernommen. Die zentrale Prozesssteuerung und -regelung erfolgte über das auf LabVIEW-basierende (National Instruments Corp., Austin, USA) Prozessleitsystem BioProCon (BVT, Karlsruhe, Deutschland). Die Kommunikation zwischen dem Prozessleitsystem und den jeweiligen Geräten wurde über die speicherprogrammierbare Steuerung SIMATIC S7-300 (Siemens AG, München, Deutschland) umgesetzt.

Vor jedem Kultivierungsbeginn wurden die mit 1 L P-Medium (vgl. Abschnitt 3.1.1) befüllten Photobioreaktoren, inklusive der Zu- und Ableitungen sowie der Sonden, Sterilfilter und des Stellmittels, im Autoklav (Laboklav ECO, SHP Steriltechnik AG, Detzel Schloß, Deutschland) für 20 min bei 121 °C sterilisiert. Die separat autoklavierten Mediumvorlage- und Kulturbrühegefäße wurden unter Verwendung von 70%igem (v/v) Ethanol (mit 30 % (v/v) Reinstwasser) unter aseptischen Bedingungen an die Reaktoren angeschlossen. Nach der Sterilisation der Reaktoren und der dazugehörigen Peripherie erfolgte die Inokulation mit jeweils 50 mL der *C. vulgaris* Vorkultur (vgl. Abschnitt 3.1.2), gefolgt von einer Kultivierung im Batch-Betrieb. Der pH-Wert und die Temperatur wurden, wie zuvor erwähnt, konstant auf jeweils 7,5 und 25 °C gehalten [35,127,130,132]. Die Begasung erfolgte mit 392 mL/min Luft und mit 8 mL/min CO<sub>2</sub>, wenn nicht anders ausgewiesen (vgl. Abschnitt 3.2.2). In der Batch-Phase betrug die mit einem planaren Lichtsensor (LI-190SA mit LI-250 Lichtmeter, LI-COR Biosciences Corp., Lincoln,

USA) gemessene PPFD auf jeder der beiden Reaktorseiten  $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Zusätzlich wurden die Reaktoren mit schwarzen Planen vor äußerer Lichteinstrahlung abgeschirmt, sodass die gemessene PPFD ausschließlich auf die LED-Panale zurückgeführt werden konnte. Nach Erreichen einer BTM-Konzentration von ca.  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  wurde die Turbidostat-Regelung eingeschaltet. Die Mikroalgenzellen wurden dann für mindestens 72 h unter diesen konstanten Bedingungen kultiviert. Im Anschluss erfolgte die Durchführung der Experimente (siehe Abschnitt 3.2).

Im quasi-stationären Turbidostat-Betrieb entspricht die spezifische Wachstumsrate ( $\mu$ ) der sich einstellenden Durchflussrate ( $D$ ) [2]. Demnach kann  $\mu$  aus dem aufgezeichneten Waagsignal wie folgt berechnet werden:

$$\mu = D = \frac{\dot{V}_M}{V_R} = \frac{m_M(\Delta t_i)}{\Delta t_i \cdot \rho_{H_2O} \cdot V_R} = \frac{(m_M(t_{i+1}) - m_M(t_i))}{(t_{i+1} - t_i) \cdot \rho_{H_2O} \cdot V_R} \quad (3.1)$$

Zur Bestimmung von  $\mu$  wurden ein Zeitintervall ( $\Delta t_i$ ) von 3 h, unmittelbar vor der Probenahme (siehe Abschnitt 3.1.4), und die Masse des in diesem Zeitraum verbrauchten Mediums ( $m_M(\Delta t_i)$ ) herangezogen. Zur Umrechnung der Masse des Mediums in das entsprechende Volumen wurde angenommen, dass die Dichte des Mediums der Dichte von Wasser ( $\rho_{H_2O}$ ) bei Raumtemperatur entspricht. Hieraus ergibt sich der über 3 h gemittelte Volumenstrom des Mediums ( $\dot{V}_M$ ). Durch das Dividieren des mittleren Volumenstroms durch das Arbeitsvolumen des Reaktors ( $V_R$ ) ergeben sich letztlich  $D$  und  $\mu$ .

### 3.1.4 Probenahme und Probenlagerung

Die aseptische Beprobung der Reaktoren erfolgte über die am jeweiligen Reaktor angebrachten Safeflow-Membranventile (B.Braun SE, Melsungen, Deutschland). Hierbei wurde das benötigte Suspensionsvolumen mithilfe einer am Safeflow-Ventil angeschlossenen, sterilen Spritze entnommen und im Anschluss weiterverarbeitet. Jede Probenahme beinhaltete eine zusätzliche, optische Kontaminationsprüfung, bei der die entnommene Mikroalgensuspension unter einem Lichtmikroskop (40-fache Vergrößerung; Axio Scope.A1, Carl Zeiss AG, Jena, Deutschland) auf Fremdorganismen untersucht wurde.

Alle Proben wurden unmittelbar nach der Entnahme aus dem Reaktor verarbeitet. Eine Ausnahme bildeten die Proben für die analytischen Methoden zur Bestimmung der Zellzusammensetzung (siehe Abschnitte 3.3.1, 3.3.2, 3.3.3 und 3.3.4), die zunächst zwischengelagert wurden. Hierfür wurden die Proben zunächst in 1 mL Aliquots aufgeteilt und dann bei 11.790 relativer Zentrifugalkraft ( $RCF$ ) und  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  für 10 min zentrifugiert (MIKRO 22 R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Nach der Zentrifugation wurden jeweils  $950 \mu\text{L}$  des zellfreien Überstandes verworfen. Die restlichen  $50 \mu\text{L}$  der Probe mit dem Zellpellet wurden bei  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  bis zur Verwendung gelagert. Bei den Proben für den Proteinassay (vgl. Abschnitt 3.3.4) wurde jeweils mit dem doppelten Probenvolumen gearbeitet.

## 3.2 Experimentelle Untersuchungen

### 3.2.1 Untersuchung des Lichteinflusses auf *Chlorella vulgaris*

Zur Untersuchung der stationären lichtbedingten Zellakklimatisation von *C. vulgaris* sowie zur Generierung der Daten für das in Abschnitt 4.3 vorgestellte bzw. entwickelte Modell wurden Turbidostat-Kultivierungen in Flachplatten-Photobioreaktoren mit optisch dünnen Mikroalgenkulturen durchgeführt [1] (vgl. Abschnitt 3.1.3). Es wurden insgesamt 13 PPFD-abhängige Zustände untersucht. Da die verwendeten Flachplatten-Photobioreaktoren beidseitig ausgeleuchtet wurden (vgl. Abschnitt 3.1.3), wurden jeweils pro Reaktorseite folgende durchschnittliche Oberflächen-PPFDs – gemessen mit einem planaren Lichtsensor (LI-190SA mit LI-250 Lichtmeter, LI-COR Biosciences Corp., Lincoln, USA) – eingestellt: 37, 52, 77, 103, 146, 176, 198, 299, 345, 431, 500, 647 und 927  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Um mögliche Trends zu erkennen bzw. zu vermeiden, wurden die PPFD-bedingten Zustände in einer quasi-randomisierten Reihenfolge angefahren. Jeder der 13 lichtabhängigen Akklimatisationszustände von *C. vulgaris* wurde zweimal (biologische Duplikate) eingestellt.

Nach der Einstellung des jeweiligen PPFD-Zustandes wurden die *C. vulgaris* Zellen zunächst mindestens 72 h unter den eingestellten Bedingungen in den Flachplatten-Photobioreaktoren kultiviert. Die Prozessparameter, abgesehen von den variierenden PPFD-Einstellungen, können Abschnitt 3.1.3 entnommen werden. Nach einer solchen Akklimatisationsphase erfolgte jeweils die Beprobung der Photobioreaktoren entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 3.1.4. Außerdem wurde für jeden Akklimatisationszustand die spezifische Wachstumsrate anhand der in Abschnitt 3.1.3 beschriebenen Methode erfasst. Die PPFD-bedingte Zellzusammensetzung von *C. vulgaris* im akklimatisierten Zustand wurde mithilfe der in den Abschnitten 3.3.1-3.3.4 beschriebenen analytischen Methoden charakterisiert. Zudem wurde, basierend auf den BTM-Konzentrationen (vgl. Abschnitt 3.3.1) und den Pigmentgehalten (vgl. Abschnitt 3.3.2), mithilfe der in Abschnitt 3.4.1 erläuterten Methode für jeden Akklimatisationszustand das jeweilige Lichtprofil im Photobioreaktor *a posteriori* ermittelt. Daraus wurde dann die jeweilige durchschnittliche Akklimatisations-PPFD bestimmt.

Zusätzlich wurden die operativen Eigenschaften von RCII mittels Fluoreszenzmessungen (vgl. Abschnitt 3.3.6) untersucht. Hierbei wurde jedoch der Zustand bei einer Oberflächen-PPFD von 77  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nicht untersucht, da dieser Zustand im Nachtrag und hauptsächlich zur Untersuchung einer möglichen Limitierung der Stickstoffaufnahme von *C. vulgaris* (vgl. Abschnitt 4.1.3) aufgenommen wurde. Diese Untersuchung diente ebenfalls zum einen der Charakterisierung der lichtbedingten Akklimatisation von *C. vulgaris* und zum anderen der Generierung von Daten, die für das Modell aus Abschnitt 4.3 benötigt wurden.

Zur Überprüfung, ob die Möglichkeit besteht, mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie (vgl. Abschnitt 3.4.1) die *in vivo* Absorptionsquerschnitte von *C. vulgaris* unabhängig vom lichtabhängigen Akklimatisationszustand ausreichend genau zu bestimmen, wurden die *in vivo* Absorptionsquerschnitte experimentell erfasst (vgl. Abschnitt 3.3.7) und mit den modellierten Ergebnissen verglichen (vgl. Abschnitt 4.1.2.3). Diese Absorptionsquerschnitte waren relevant für die Bestimmung des Lichtprofils in den Photobioreaktoren (vgl. Abschnitt 3.4.1) und als Input für das

in Abschnitt 4.3 vorgestellte Modell. Die experimentelle Erfassung der *in vivo* Absorptionsquerschnitte erfolgte für drei lichtbedingte Zustände von *C. vulgaris*. Die Mikroalgenzellen wurden dabei jeweils an eine niedrige (NL), eine mittlere (ML) und eine hohe (HL) Lichtintensität akklimatisiert (Oberflächen-PPFDs: 38, 176 und 914  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) und dann entsprechend Abschnitt 3.3.7 vermessen. Zur Kalibrierung des Modells in Abschnitt 4.3 (Schätzung der Modellparameter) wurden zudem nicht-akklimatisierte bzw. schnelle PI-Kurven (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) mit *C. vulgaris* Zellen jeweils im NL-, ML- und HL-Akklimatisationszustand ermittelt. Zur Validierung des in Abschnitt 4.3 hergeleiteten Modells wurde eine akklimatisierte PI-Kurve (vgl. Abschnitt 3.3.5.1) mit 11 lichtabhängigen Akklimatisationszuständen von *C. vulgaris* (Oberflächen-PPFDs: 37, 52, 103, 146, 198, 299, 345, 431, 500, 647 und 927  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) aufgezeichnet. Die lichtbedingten Zustände NL, ML und HL wurden ebenfalls doppelt eingestellt, sodass die in diesem Absatz erläuterten Untersuchungen dementsprechend mit biologischen Duplikaten durchgeführt wurden.

### 3.2.2 Untersuchung des CO<sub>2</sub>-Einflusses auf *Chlorella vulgaris*

Den in diesem Abschnitt durchgeführten Untersuchungen, die nachfolgend erläutert werden, ging jeweils eine Kultivierung in einem Flachplatten-Photobioreaktor mit einer Dauer von mindestens 72 h voraus. Diese Kultivierungen von *C. vulgaris* erfolgten stets wie in Abschnitt 3.1.3 dargelegt. Die PPFD an der Oberfläche des jeweiligen Flachplatten-Photobioreaktors (vgl. Abschnitt 3.1.3) betrug stets ca. 195  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  pro Reaktorseite (ermittelt mit einem planaren Lichtsensor (LI-190SA mit LI-250 Lichtmeter, LI-COR Biosciences Corp., Lincoln, USA)). Während die Oberflächen-PPFD stets gleich gehalten wurde, wurden unterschiedliche, CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimatisationszustände von *C. vulgaris* durch die Variation des CO<sub>2</sub>-Gehaltes im Zugas erzeugt. Die eingestellten volumetrischen CO<sub>2</sub>-Gehalte im Zugas waren: 2 % (v/v) (392 mL·min<sup>-1</sup> Luft mit 8 mL·min<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>), 1 % (v/v) (396 mL·min<sup>-1</sup> Luft mit 4 mL·min<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>) und 0,2 % (v/v) (499 mL·min<sup>-1</sup> Luft und 1 mL·min<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>). Niedrigere CO<sub>2</sub>-Gehalte im Zugas als 0,2 % (v/v) waren nicht realisierbar, da die Kalibrationsuntergrenze des eingesetzten Seifenblasen-Durchflussmessers (Gilian Gilibrator-2, Sensidyne LP., Clearwater, USA) zur Kalibrierung der MFCs bei 1 mL·min<sup>-1</sup> lag. Eine weitere Steigerung des Luftvolumenstroms, um den CO<sub>2</sub>-Gehalt im Zugas zusätzlich zu reduzieren, war ebenfalls nicht mehr möglich, da die resultierenden Messschwankungen größer ausfielen als der CO<sub>2</sub>-Volumenstrom von 1 mL·min<sup>-1</sup> und damit eine präzise Einstellung des CO<sub>2</sub>-Gehaltes im Zugas verhinderten. Alle hier vorgestellten Versuchsansätze erfolgten in biologischen Duplikaten.

Zur Bestimmung, ob die CO<sub>2</sub>-Fixierung in *C. vulgaris* auch bei vergleichsweise hohen CO<sub>2</sub>-Gehalten im Zugas von 0,2-2 % (v/v) [116] die maximale Photosyntheseleistung limitiert (vgl. Abschnitt 4.2.1), wurden die *C. vulgaris* Zellen an einen CO<sub>2</sub>-Gehalt von 2 % (v/v) in den Flachplatten-Photobioreaktoren für mindestens 72 h akklimatisiert (vgl. Abschnitt 3.1.3) und anschließend bei unterschiedlichen CO<sub>2</sub>-Gehalten in der Messzelle zur Bestimmung der Photosyntheserate (vgl. Abschnitt 3.3.5) untersucht. Hierbei wurden nicht-akklimatisierte bzw. schnelle PI-Kurven bei den CO<sub>2</sub>-Gehalten im Zugas von 0,2, 1 und 2 % (v/v) aufgezeichnet. Die Bestimmung dieser PI-Kurven erfolgte wie in Abschnitt 3.3.5.2 beschrieben, jedoch mit einigen Änderungen, die nachfolgend erläutert werden. Um die *C. vulgaris* Zellen, die zuvor an 2 % (v/v) CO<sub>2</sub>-Gehalt im Zugas akklimatisiert wurden, plötzlich einer kurzfristig verminderten

CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit auszusetzen, wurden die Mikroalgen in der jeweiligen Begasungsphase (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) mit Gasgemischen mit jeweils 0,2 % (v/v) (499 mL·min<sup>-1</sup> N<sub>2</sub> mit 1 mL·min<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>) und 1 % (v/v) (396 mL·min<sup>-1</sup> N<sub>2</sub> mit 4 mL·min<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>) statt den üblichen 2 % (v/v) (392 mL·min<sup>-1</sup> N<sub>2</sub> mit 8 mL·min<sup>-1</sup> CO<sub>2</sub>) CO<sub>2</sub> im Zugas begast. Eine weitere Besonderheit bei der Durchführung dieses Experimentes war die Begasung der Messzelle mit eingeschalteter Beleuchtung, die üblicherweise während der Begasungsphase ausgeschaltet wurde (vgl. Abschnitt 3.3.5.2), um eine ausreichende Zeit (etwa 5-10 min) für die Einstellung der jeweils neuen Gleichgewichtskonzentration des gelösten CO<sub>2</sub> zu ermöglichen. Eine zusätzliche Messung der Konzentration des gelösten CO<sub>2</sub> mithilfe einer entsprechenden Messsonde war aufgrund der eingeschränkten Platzverhältnisse innerhalb der entwickelten Messzelle (siehe Abschnitt 3.3.5) nicht möglich.

Das CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimatisationsverhalten des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates von *C. vulgaris* (vgl. Abschnitt 4.2.2) wurde ebenfalls mithilfe schneller PI-Kurven (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) charakterisiert. Anders als bei dem im vorherigen Absatz erläuterten Messprotokoll wurden die Mikroalgenzellen bei diesem Messansatz den gleichen CO<sub>2</sub>-Gehalten im Zugas während der Begasungsphase ausgesetzt, an die sie jeweils zuvor im Photobioreaktor akklimatisiert wurden. Ansonsten waren die beiden Messprotokolle zur Bestimmung der jeweiligen schnellen PI-Kurven gleich. Unter dem zusätzlichen Einbezug der CO<sub>2</sub>-abhängigen spezifischen Wachstumsraten, die nach der in Abschnitt 3.1.3 vorgestellten Methode ermittelt wurden, wurde untersucht, ob die Auslastung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates unter den untersuchten CO<sub>2</sub>-Gehalten von 0,2-2 % (v/v) die Lichtsättigung des Zellwachstums in *C. vulgaris* bewirkt (vgl. Abschnitt 4.2.2).

Zur Charakterisierung des Einflusses der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit auf die Zellzusammensetzung von *C. vulgaris* (vgl. Abschnitt 4.2.3) wurden die an die jeweiligen CO<sub>2</sub>-Gehalte im Zugas (0,2, 1 und 2 % (v/v)) akklimatisierten Mikroalgenzellen mithilfe der analytischen Methoden aus den Abschnitten 3.3.1-3.3.4 untersucht. Ebenso wurde der Einfluss der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit auf die operativen Eigenschaften von RCII (vgl. Abschnitt 4.2.3) mittels Fluoreszenzmessungen (siehe Abschnitt 3.3.6.1) charakterisiert.

## 3.3 Analytische Methoden

### 3.3.1 Quantifizierung der Biotrockenmasse

Die Bestimmung der BTM-Konzentration erfolgte in allen Fällen in Duplikaten. Dafür wurden jeweils 40 mL Probe aus dem Reaktor entnommen (vgl. Abschnitt 3.1.4) und zu je 20 mL in 50 mL Zentrifugenröhrchen aliquotiert. Die Aliquots wurden dann bei 15.856 RCF und 4 °C für 10 min zentrifugiert (ROTINA 420R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Danach wurden jeweils 19,5 mL des zellfreien Überstandes verworfen und die verbliebenen Zellpellets in jeweils 39,5 mL erneut zugegebenem Reinstwasser vollständig resuspendiert. Hiernach folgte eine erneute Zentrifugation unter den gleichen Bedingungen. Im Anschluss daran wurden jeweils 39,5 mL des Überstandes dekantiert und der vorangegangene Waschschritt noch einmal wiederholt. Nach dem zweifachen Waschen wurde die jeweilige Probe mit dem Zellpellet mit Reinstwasser auf das ursprüngliche Probenvolumen von 20 mL aufgefüllt

und das Zellpellet vollständig resuspendiert. Von der jeweiligen Mikroalgensuspension wurden 15 mL in eine zuvor auf einer Analysenwaage (ABJ 320-4NM, Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland) gewogene Wägeschale aus Aluminium überführt und bei 80 °C für mindestens 48 h in einem Trockenschrank (UM 200 – 800, Memmert GmbH + Co. KG, Schwabach, Deutschland) getrocknet. Die jeweilige BTM-Konzentration konnte anschließend aus der resultierenden Gewichts Differenz der Wägeschale mit und ohne Probe sowie dem bekannten Probenvolumen berechnet werden.

Alternativ zu der zuvor beschriebenen gravimetrischen Bestimmung der BTM-Konzentration ( $c_{BTM}$ ), wurde diese über eine Optische Dichte (OD)-BTM-Korrelation für *C. vulgaris* nach [35] bestimmt:

$$c_{BTM} = 0,203 \cdot OD_{750} \quad (3.2)$$

Für die Bestimmung der OD bei einer Lichtwellenlänge von 750 nm ( $OD_{750}$ ) wurde die jeweilige Zellsuspension um Faktor 11 mit Reinstwasser verdünnt, wovon 1 mL in eine Polystyrol (PS)-Küvette überführt und mittels eines Spektrophotometers (LAMBDA 35 UV/Vis Spektrophotometer, PerkinElmer Inc., Waltham, USA) vermessen wurde. Als Blindwert diente eine Reinstwasserprobe.

### 3.3.2 Quantifizierung der Pigmente

Die photometrische Quantifizierung der Pigmente erfolgte nach dem Protokoll von Wellburn [274] in Triplikaten. Die aufgetauten Zellpellets (vgl. Abschnitt 3.1.4) wurden mit jeweils 950 µL Dimethylsulfoxid (DMSO) versetzt und darin resuspendiert. Für die Pigmentextraktion wurde diese Suspension bei 45 °C und 600 min<sup>-1</sup> für 20 min in einem Thermoschüttler (HLC MHL 23, DITABIS AG, Pforzheim, Deutschland) unter Lichtausschluss inkubiert. Ein zusätzlicher Zellaufschluss war aufgrund der Verwendung von DMSO nicht notwendig [275–277]. Nach der Inkubation wurden die Proben bei 11.790 RCF und 20 °C für 10 min zentrifugiert (MIKRO 22 R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Nach der Überführung der zellfreien Überstände in PS-Küvetten wurden die Absorptionswerte ( $A_\lambda$ ) der Proben jeweils bei den Lichtwellenlängen ( $\lambda$ ) 665, 649 und 480 nm gemessen (LAMBDA 35 UV/Vis Spektrophotometer, PerkinElmer Inc., Waltham, USA). Als Blindwert diente reines DMSO. Die Pigmentkonzentrationen in g·L<sup>-1</sup> ( $c_{Chla}$ ,  $c_{Chlb}$  und  $c_{Car}$ ) wurden wie folgt berechnet [274]:

$$c_{Chla} = (12,19 \cdot A_{665} - 3,45 \cdot A_{649}) \cdot 10^{-3} \quad (3.3)$$

$$c_{Chlb} = (21,99 \cdot A_{649} - 5,32 \cdot A_{665}) \cdot 10^{-3} \quad (3.4)$$

$$c_{Car} = \frac{A_{480} - 2,14 \cdot c_{Chla} - 70,16 \cdot c_{Chlb}}{220} \quad (3.5)$$

### 3.3.3 Quantifizierung der Kohlenhydrate

Die Bestimmung der Kohlenhydratkonzentration wurde jeweils in Triplikaten nach der modifizierten kolorimetrischen Methode von Yemm und Willis [278] durchgeführt [127,130]. Das hierzu benötigte Anthron-Reagenz bestand aus  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Anthron in über 98%iger  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Für die Kalibrierung wurden aus wasserlöslicher Stärke (nach Zulkowsky [279]) Standards in einem Bereich von  $0,02\text{-}0,1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  erstellt und parallel zu jedem Messansatz vermessen. Alle Lösungen wurden stets unmittelbar vor der Durchführung des Messprotokolls hergestellt. Die Proben (vgl. Abschnitt 3.1.4) wurden nach dem Auftauen so mit Reinstwasser verdünnt, dass die resultierenden Stärkekonzentrationen im Bereich der Kalibrierreihe lagen. Zu den  $400 \mu\text{L}$  der verdünnten Proben wurden jeweils  $800 \mu\text{L}$  des Anthron-Reagenzes zugegeben. Das Gemisch wurde invertiert und für 5 min in einem Eisbad gekühlt. Im nächsten Schritt wurden die Proben bei  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  und  $300 \text{ min}^{-1}$  in einem Thermoschüttler (HLC MHL 23, DITABIS AG, Pforzheim, Deutschland) 16 min lang inkubiert. Im Anschluss wurden die Proben erneut für 5 min in einem Eisbad gekühlt, danach in PS-Küvetten überführt und letztlich bei einer Lichtwellenlänge von 625 nm photometrisch vermessen (LAMBDA 35 UV/Vis Spektrophotometer, PerkinElmer Inc., Waltham, USA). Als Blindwert diente ein Gemisch aus  $400 \mu\text{L}$  Reinstwasser und  $800 \mu\text{L}$  Anthron-Reagenz. Die Berechnung der Kohlenhydratkonzentrationen erfolgte jeweils mithilfe der parallel erstellten und vermessenen Kalibrierreihe.

### 3.3.4 Quantifizierung der Proteine

Vor der Bestimmung der Proteinkonzentration mussten die Mikroalgenzellen mechanisch aufgeschlossen werden. Hierzu wurden die aufgetauten Zellpellets (vgl. Abschnitt 3.1.4) mit  $450 \mu\text{L}$  Reinstwasser aufgefüllt und resuspendiert. Zu jedem Ansatz wurden so viele Mahlkugeln aus Glas (Durchmesser:  $0,25\text{-}0,5 \text{ mm}$ ) zugegeben, dass das jeweilige  $2 \text{ mL}$  Reaktionsgefäß bis zur  $1,5 \text{ mL}$ -Markierung gefüllt war. Die Zellen wurden 10 min lang bei einer Schwingfrequenz von  $30 \text{ Hz}$  mittels einer Schwingmühle (MM 301, Retsch GmbH, Haan, Deutschland) aufgeschlossen. Nach dem mechanischen Zellaufschluss wurde jeder Ansatz mit  $500 \mu\text{L}$  einer Lysepufferlösung ( $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  Natriumdodecylsulfat (SDS) und  $14,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  TRIS in Reinstwasser) versetzt und für 16 min bei  $90 \text{ }^\circ\text{C}$  und  $0 \text{ min}^{-1}$  in einem Thermoschüttler (HLC MHL 23, DITABIS AG, Pforzheim, Deutschland) inkubiert. Zum Schluss wurden die Ansätze bei  $11.790 \text{ RCF}$  und  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  für 10 min zentrifugiert (MIKRO 22 R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Der jeweilige zellfreie Überstand wurde für die nachfolgende Proteinquantifizierung nach dem von Peterson modifizierten Lowry-Protokoll verwendet [280,281].

Die Proteinbestimmung erfolgte stets in Triplikaten. Sowohl die Lowry-Reagenzlösung (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, USA) als auch die Folin und Ciocalteus Phenolreagenz (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, USA) wurden nach den Herstellerangaben unmittelbar vor jeder Messung angesetzt [282]. Die benötigte Kalibrierreihe wurde mit Bovinem Serumalbumin (BSA) als Standard in einem Konzentrationsbereich von  $0,05\text{-}0,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  parallel zu jeder Messreihe erstellt. Nach dem Zellaufschluss wurden die zellfreien Überstände so weit mit Reinstwasser verdünnt, dass die resultierenden Proteinkonzentrationen der Proben stets innerhalb des Kalibrierintervalls lagen. Von den verdünnten Proben wurde jeweils  $1 \text{ mL}$  entnommen und mit  $1 \text{ mL}$  des Lowry-Reagenzes versetzt. Die Ansätze wurden mehrfach invertiert und für 20 min unter

Lichtausschluss bei Raumtemperatur inkubiert. Nach diesem Inkubationsschritt wurden jeder Probe 500  $\mu\text{L}$  des Folin und Ciocalteus Phenolreagenzes zugegeben. Die Proben wurden dann invertiert und erneut unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur für weitere 30 min inkubiert. Hiernach wurden die Absorptionswerte bei einer Lichtwellenlänge von 750 nm gemessen (LAMBDA 35 UV/Vis Spektrophotometer, PerkinElmer Inc., Waltham, USA). Als Blindwert wurde eine Reinstwasserprobe genutzt, die analog zu den Probenansätzen behandelt wurde. Die Berechnung der Proteinkonzentrationen in den Proben erfolgte anhand der parallel erstellten Kalibrierreihen. Aufgrund von Interferenzen zwischen den Bestandteilen der Lysepufferlösung und den Assayreagenzien [283] wurde zu jeder Messreihe ein Korrekturfaktor ermittelt.

### 3.3.5 Messung der oxygenen Photosyntheserate

Die Messung der oxygenen Photosyntheserate wurde in einem Messaufbau (BVT, Karlsruhe, Deutschland) durchgeführt, der in Anlehnung an den in [158,159] vorgestellten Messaufbau entwickelt wurde. Das Schema des verwendeten Messaufbaus ist in Abbildung 3.2 dargestellt.

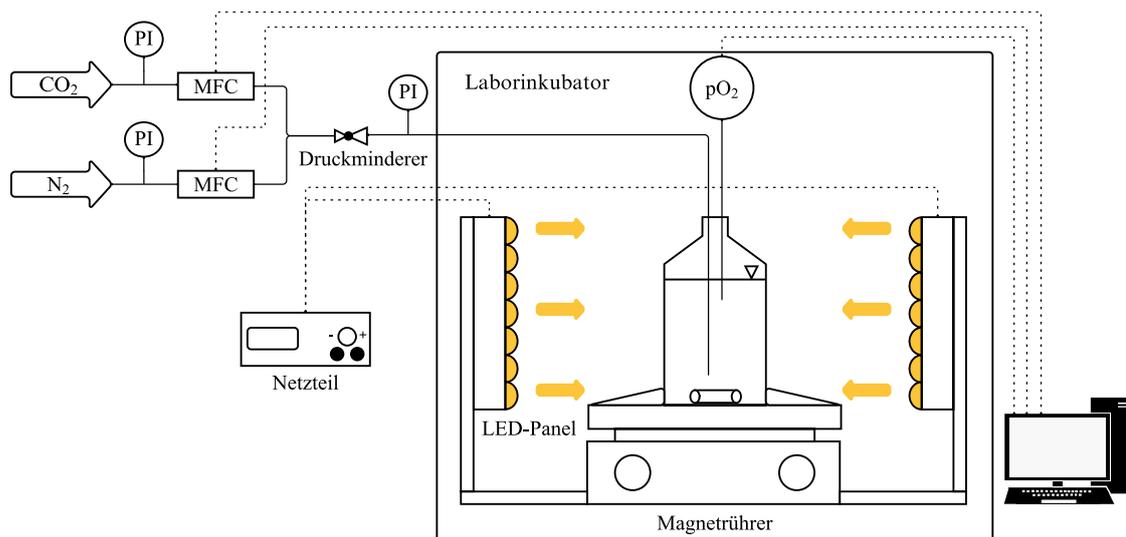


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung des Messaufbaus zur Bestimmung der oxygenen Photosyntheserate. Der zentrale Messaufbau bestand aus einer beidseitig beleuchteten Messzelle mit einer pO<sub>2</sub>-Sonde zur Messung der O<sub>2</sub>-Entwicklung. Der Magnetrührer diente der stetigen Durchmischung der Kultursuspension. Mithilfe des Laborinkubators konnte die Temperatur an die Reaktortemperatur angeglichen und die Messzelle von äußeren Lichteinflüssen abgeschirmt werden. Über die Zugasleitung wurde die Zellsuspension mit einem Gasgemisch aus N<sub>2</sub> und CO<sub>2</sub> begast, um O<sub>2</sub> auszugasen und CO<sub>2</sub> zuzuführen. Die Datenerfassung sowie die Prozesssteuerung erfolgten mit dem Prozessleitsystem BioProCon.

Die Aufzeichnung der Daten (Aufzeichnungsintervall: 3 s) sowie die gesamte Prozesssteuerung erfolgte über das Prozessleitsystem BioProCon (BVT, Karlsruhe, Deutschland). Der Messaufbau bestand aus einem Labormagnetrührer mit einer 3D-gedruckten Halterung für eine 50 mL Zellkulturflasche. Die Halterung gewährleistete eine gleichbleibende, parallele Ausrichtung der Probe zu den beiden LED-Panelen (LEDs: NS6L083AT, Nichia Corp. Anan, Japan; BVT, Karlsruhe, Deutschland). Die LED-Panele (Spektrum siehe Anhang A.2) waren jeweils im

Abstand von 15 cm zur Oberfläche der Zellkulturflasche positioniert, analog zur Ausrichtung der LED-Panele bei den Flachplatten-Photobioreaktoren (vgl. Abschnitt 3.1.3). Die Einstellung der PPFD erfolgte über ein Netzteil (EA-PS 8032-10 T, EA Elektro-Automatik GmbH & Co. KG, Viersen, Deutschland), wobei über die Spannung nach der Stromstärke geregelt wurde. Als Messzellen dienten präparierte Zellkulturflaschen mit unbehandelten Oberflächen (VWR International LLC, Radnor, USA), einem Arbeitsvolumen von 50 mL sowie einem Lichtweg von 2 cm (analog zu den Flachplatten-Photobioreaktoren; vgl. Abschnitt 3.1.3). Die Flaschendeckel wurden jeweils mit einer Öffnung für die  $pO_2$ -Sonde (VisiFerm DO Arc 160 H0, Hamilton Comp., Reno, USA) und einer weiteren Öffnung für den Begasungsanschluss präpariert. Die eingesetzte  $pO_2$ -Sonde wurde vor jeder Messreihe gemäß den Herstellerangaben kalibriert. Die Begasung der Messzelle erfolgte mit einem Gasgemisch aus  $N_2$  und  $CO_2$ , deren Volumenanteile sowie der Gesamtvolumenstrom über die zwischengeschalteten MFCs (179C Mass-Flo, MKS Instruments Inc., Andover, USA) geregelt wurden. Die MFCs wurden ebenfalls vor jeder Messreihe mit einem Seifenblasen-Durchflussmesser (Gilian Gilibrator-2, Sensidyne LP., Clearwater, USA) kalibriert. Zur Durchmischung der Zellsuspension während der Messung wurde ein Magnetrührstäbchen mit Kreuzkopf und einem Durchmesser von 10 mm eingesetzt. Die Drehzahl des Rührers betrug konstante  $500 \text{ min}^{-1}$ . Der gesamte Messaufbau, abgesehen von dem Netzteil, den MFCs und dem Prozessleitcomputer, befand sich in einem auf  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  temperierten Laborinkubator (RUMED Typ 3203, Rubarth Apparate GmbH, Hannover, Deutschland), wodurch die Messzelle zusätzlich von äußeren Lichteinflüssen abgeschirmt wurde. Weiterhin wurde die Temperatur mit einem Digitalthermometer (GMH 3710/DKD1, GHM Messtechnik GmbH, Remscheid, Deutschland) in unmittelbarer Nähe zur Messzelle überwacht.

Die Prozessparameter PPF,  $CO_2$ -Volumenanteil im Gasgemisch und Gesamtgasvolumenstrom wurden je nach Experiment variiert (siehe Abschnitte 3.2.1 und 3.2.2). Weiterhin kamen zwei unterschiedliche Messprotokolle zum Einsatz, die in den nachfolgenden Abschnitten 3.3.5.1 und 3.3.5.2 erläutert werden.

### 3.3.5.1 Messung der akklimatisierten oxygenen Photosyntheserate

Bei den akklimatisierten Messungen wurden die Mikroalgenzellen unter den gleichen Bedingungen untersucht, an die sie zuvor in den Flachplatten-Photobioreaktoren akklimatisiert wurden. Im Rahmen dieser Messung wurden also operative Photosyntheseraten erfasst. Jeder Akklimatisationszustand wurde als Triplikat vermessen. Hierzu wurden pro Messung genau 50 mL Zellsuspension aus dem Reaktor entnommen (vgl. Abschnitt 3.1.4) und in die Messzelle vollständig überführt. Die Messzelle wurde dann in die dafür vorgesehene Halterung gestellt und mit der  $pO_2$ -Sonde sowie der Zugasleitung bestückt. Anschließend wurde die Zellsuspension mit einem Gasgemisch aus  $N_2$  und  $CO_2$  ( $196 \text{ mL/min } N_2$  und  $4 \text{ mL/min } CO_2$ ) unter Lichtausschluss begast, bis die  $O_2$ -Konzentration einen Wert von ca.  $2,5 \text{ mg/L}$  erreichte. Damit sollten eine mögliche  $O_2$ -Transportlimitierung und eine  $CO_2$ -Limitierung der Mikroalgenzellen vermieden werden [158]. Nach Erreichen dieser  $O_2$ -Konzentration wurde die Begasung abgestellt und die LED-Einheiten mit der zuvor eingestellten PPF (siehe Abschnitt 3.2.1) eingeschaltet. Dann wurde die  $O_2$ -Konzentration über einen Zeitraum von 10 min aufgezeichnet. Die  $O_2$ -Entwicklungsrate ( $r_{O_2}$ ) kann schließlich über die Ableitung der  $O_2$ -Konzentration ( $c_{O_2}$ ) nach  $t_i$  im linearen Bereich der Messkurve (meist zwischen 3,5 und 8 min) berechnet werden:

$$r_{O_2} = \frac{dc_{O_2}(t_i)}{dt_i} = \frac{c_{O_2}(t_{i+1}) - c_{O_2}(t_i)}{t_{i+1} - t_i} \quad (3.6)$$

Die gleichzeitig stattfindende O<sub>2</sub>-Desorption wird in Gleichung 3.6 aufgrund ihres geringen Einflusses vernachlässigt [158]. Aufgrund der Messschwankungen wurde für die weiteren Berechnungen jeweils der Median der  $r_{O_2}$ -Werte ( $\tilde{r}_{O_2}$ ) im berücksichtigten Zeitintervall bestimmt. Damit kann die Chlorophyll-spezifische oxygene Netto-Photosyntheserate ( $\tilde{r}_{P,Netto,Chl}^*$ ), die effektiv in der Messzelle erfasst wird, wie folgt bestimmt werden ( $M_{O_2}$ ,  $M_{Chla}$  und  $M_{Chlb}$  sind jeweils die Molekulargewichte von O<sub>2</sub>, Chla und Chlb):

$$\tilde{r}_{P,Netto,Chl}^* = \frac{\frac{\tilde{r}_{O_2}}{M_{O_2}}}{\frac{c_{Chla}}{M_{Chla}} + \frac{c_{Chlb}}{M_{Chlb}}} \quad (3.7)$$

### 3.3.5.2 Messung der nicht-akklimatisierten oxygenen Photosyntheserate

Zur Bestimmung der nicht-akklimatisierten bzw. schnellen oxygenen Photosyntheserate wurden pro Messansatz ebenfalls genau 50 mL der Zellsuspension aus dem Reaktor entnommen (vgl. Abschnitt 3.1.4), in die Messzelle überführt und unter Lichtausschluss im Inkubationsschrank mit 196 mL/min N<sub>2</sub> sowie 4 mL/min CO<sub>2</sub> (vgl. Abschnitt 3.2.1) bis zum Erreichen einer O<sub>2</sub>-Konzentration von 2,5 mg/L begast. Eine Ausnahme bildeten hierbei die Messungen zur Charakterisierung des CO<sub>2</sub>-Einflusses auf *C. vulgaris*, bei denen die Kultursuspension mit variierenden Gasgemischen und -volumenströmen begast wurden (siehe Abschnitt 3.2.2). Die Temperatur im Laborinkubator entsprach stets der Temperatur in den Photobioreaktoren (vgl. Abschnitt 3.1.3), an die die Mikroalgenzellen im Vorfeld akklimatisiert wurden. Im Anschluss an den Begasungsschritt wurden die Proben jeweils drei nacheinander folgenden PPFD-Einstellungen ausgesetzt. Zwischen den jeweiligen PPFD-Einstellungen wurden die Proben unter Lichtausschluss (Ausnahme: Experimente in Abschnitt 3.2.2) mit dem zuvor eingesetzten Gasgemisch und -volumenstrom bis zu einer O<sub>2</sub>-Konzentration von 2,5 mg/L begast. Die Mikroalgenzellen wurden stets möglichst kurz den jeweiligen PPFDs ausgesetzt, sodass keine Zellakklimatisation an diese PPFDs stattfinden konnte (vgl. Abschnitt 2.5.3) und die resultierenden PI-Kurven deshalb als „nicht-akklimatisierte“ bzw. „schnelle“ PI-Kurven bezeichnet werden (vgl. Abschnitt 2.5.1). Die Lichtbestrahlung erfolgt jedoch so lange, dass ein linearer Anstieg von  $c_{O_2}$  für mindestens 2 min bei der jeweiligen PPFD-Einstellung erfasst werden konnte. In den meisten Fällen entsprach dies einer Gesamtmessdauer von etwa 4-7 min pro PPFD. Nach drei Messungen bei drei verschiedenen PPFDs wurde die Probe durch eine frische Probe ausgetauscht und das Messprotokoll mit anderen PPFDs wiederholt. Insgesamt wurde das Messprotokoll so lange durchgeführt, bis alle sieben PPFD-Einstellungen jeweils dreifach aufgezeichnet wurden. Die eingestellten PPFDs an der Oberfläche der Messzelle waren (gemessen mit einem planaren Lichtsensor (LI-190SA mit LI-250 Lichtmeter, LI-COR Biosciences Corp., Lincoln, USA)): 36, 86, 123, 203, 353, 504 und 928  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Die Messreihenfolge war semi-randomisiert, um möglichen Messtrends [29] entgegenzuwirken bzw. um diese auszugleichen. Die Berechnung von  $\tilde{r}_{P,Netto,Chl}^*$  erfolgte analog zu Abschnitt 3.3.5.1.

### 3.3.6 Pulsamplitudenmodulation-Fluorimetriemessungen

Alle Pulsamplitudenmodulation (PAM)-Fluorimetriemessungen erfolgten mit dem Fluorimeter FL 6000-F (Photon Systems Instruments spol. s r.o., Drásov, Tschechische Republik). Zur Anregung der Probe wurde die standardmäßige LED mit einer Lichtwellenlänge von 623 nm eingesetzt. Die Messzelle war zusätzlich mit Rotlicht-LEDs mit einer Emissionswellenlänge von 735 nm ausgestattet. Die Detektion der Chlorophyll-Fluoreszenz erfolgte im Lichtwellenbereich zwischen 690-730 nm. Die Detektorparameter *gain* und *offset* wurden, unabhängig vom Messprotokoll, auf jeweils 10 und 15 % eingestellt. Die Proben (vgl. Abschnitt 3.1.4) wurden als 4 mL-Ansätze in PS-Makroküvetten mit vier klaren Seitenwänden (Kartell S.p.A., Noviglio, Italien) bei Raumtemperatur vermessen. Vor der Messung, ebenfalls unabhängig vom Messprotokoll, wurden die Proben für 15 min unter Lichtausschluss inkubiert und anschließend für 10 s [284] mit Rotlicht bestrahlt, um die RCIIIs vollständig in den Grundzustand zu überführen [46,47,285]. Als Blindwert wurden 4 mL des P-Mediums (siehe Abschnitt 3.1.1) verwendet. Die Steuerung des Fluorimeters und die Datenaufzeichnung erfolgten mit der Software Fluor-Win (Version 3.7; Photon Systems Instruments spol. s r.o., Drásov, Tschechische Republik).

#### 3.3.6.1 Protokoll zur Analyse der Chlorophyll-Fluoreszenzlöschung

Nach der Dunkelinkubation und der Bestrahlung der Probe mit Rotlicht wurde das Protokoll zur Analyse der Fluoreszenzlöschung gestartet. Ergänzend zu den Fluorimetereinstellungen aus Abschnitt 3.3.6, wurden die in Tabelle 3.2 aufgeführten Einstellungen vorgenommen.

Tabelle 3.2: Einstellungen des PAM-Fluorimeters zur Analyse der Chlorophyll-Fluoreszenzlöschung. Die vom Gerätehersteller (Photon Systems Instruments spol. s r.o., Drásov, Tschechische Republik) ermittelten Kalibrierreihen zur Umrechnung der %-Werte in die PPFDs sind im Anhang A.3 hinterlegt.

Fluorimetereinstellung	Wert	Einheit
aktinische Lichtintensität	variabel	%
Sättigungspulsintensität	80	%
Beleuchtungsdauer mit aktinischem Licht	180	s
Dauer der Dunkelphase nach der Beleuchtung	120	s
Messlichtintensität <sup>1</sup>	10	%

Die am PAM-Fluorimeter eingestellte aktinische Lichtintensität entsprach stets der mittleren Lichtintensität, an die *C. vulgaris* im Flachplatten-Photobioreaktor akklimatisiert wurde (vgl. Abschnitte 3.2.1 und 3.2.2). Hierfür wurde die PPFd mithilfe eines planaren Lichtsensors (LI-190SA mit LI-250 Lichtmeter, LI-COR Biosciences Corp., Lincoln, USA) an der Vorder- sowie Hinterseite des Reaktors gemessen. Daran anschließend wurden die Pigmentkonzentrationen (mit  $c_{BTM} = 0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) in der Simulation des Lichtprofils (vgl. Abschnitt 3.4.1) so variiert, dass die simulierten Endpunkte den am Reaktor gemessenen Endpunkten entsprachen. So konnte die mittlere PPFd im Photobioreaktor approximiert werden. Eine genaue Bestimmung der Lichtverhältnisse im Photobioreaktor zum Zeitpunkt der Fluorimetermessung war nicht möglich, da

<sup>1</sup> Die Messlichtintensität wurde, nach der Durchführung des vom Hersteller empfohlenen Tests, auf 10 % eingestellt [284].

die exakten Pigmentkonzentrationen des jeweiligen lichtbedingten Akklimatisationszustandes von *C. vulgaris* nicht bekannt waren. Alle Zustände wurden in Triplikaten vermessen.

Die Auswertung der experimentell erfassten Kurven erfolgte in Anlehnung an [46,47]. Die bestimmten Parameter sind in Tabelle 3.3 aufgelistet. Eine beispielhafte Messkurve mit den charakteristischen Parametern [46] ist in Anhang A.4 dargestellt.

Tabelle 3.3: Aus der Analyse der Chlorophyll-Fluoreszenzlöschung abgeleitete Parameter nach [46,47].

Parameter	Definition
$F'$	Fluoreszenzemission lichtakklimatisierter Zellen
$F_0, F'_0$	minimale Fluoreszenzemission dunkel- und lichtakklimatisierter Zellen
$F_m, F'_m$	maximale Fluoreszenzemission dunkel- und lichtakklimatisierter Zellen
$F_v, F'_v$	variable Fluoreszenzemission dunkel- und lichtakklimatisierter Zellen
$F'_q$	photosynthetische Fluoreszenzlöschung durch RCII im Grundzustand
$F_v/F_m$	maximale photosynthetische Effizienz von RCII
$F'_v/F'_m$	maximale photosynthetische Effizienz von RCII unter gegebener PPFD
$F'_q/F'_m$	operative Effizienz von RCII unter gegebener PPFD
$F'_q/F'_v$	Verhältnis von operativer und maximaler Effizienz von RCII unter gegebener PPFD
$q_L$	Anteil der RCII im Grundzustand unter gegebener PPFD und unter der Annahme des <i>lake</i> -Modells
$NPQ$	Maß für die NPQ-Aktivität unter gegebener PPFD

Der Parameter  $F'_0$  wurde nach der folgenden Gesetzmäßigkeit bestimmt [286]:

$$F'_0 = \frac{F_0}{\frac{F_v}{F_m} + \frac{F_0}{F'_m}} \quad (3.8)$$

Der Anteil der RCII im Grundzustand ( $q_L$ ), unter der Annahme eines *lake*-Modells [249] (siehe Definition in Abschnitt 4.3), wurde wie folgt berechnet [46]:

$$q_L = \frac{F'_q}{F'_v} \cdot \frac{F_0}{F'} \quad (3.9)$$

Zur Berechnung des Parameters  $NPQ$  wurde folgende Gleichung herangezogen [46]:

$$NPQ = \frac{F_m}{F'_m} - 1 \quad (3.10)$$

### 3.3.6.2 Protokoll zur Ermittlung der Chlorophyll-Fluoreszenztransienten

Die Ermittlung der Chlorophyll-Fluoreszenztransienten erfolgte ebenfalls nach einer vorangegangenen Dunkelinkubation und einer Bestrahlung der Probe mit Rotlicht. Pro Akklimatisationszustand (siehe Abschnitt 3.2.1) wurde eine Messung durchgeführt. Die Parameter wurden entsprechend dem sogenannten JIP-Test [287–293] aus den aufgezeichneten Chlorophyll-

Fluoreszenztransienten abgeleitet (siehe Tabelle 3.4). Ein Beispiel für eine solche Chlorophyll-Fluoreszenztransiente, auch als OJIP-Transiente bezeichnet [293], ist in Anhang A.4 dargestellt.

Tabelle 3.4: Parameter des JIP-Tests und ihre Definitionen [287–292] mit der an [293] angelehnten Nomenklatur.

Parameter	Gleichung	Definition
$F_O$ ( $\equiv F_{50\mu s}$ )	-	erstes erfasstes Fluoreszenzsignal (O-Niveau)
$F_{300\mu s}$	-	Fluoreszenzsignal bei 300 $\mu s$
$F_J$ ( $\equiv F_{2ms}$ )	-	Fluoreszenzsignal bei 2 ms (J-Niveau)
$F_I$ ( $\equiv F_{30ms}$ )	-	Fluoreszenzsignal bei 30 ms (I-Niveau)
$F_M$	-	maximales Fluoreszenzsignal (P-Niveau)
$t_{FM}$	-	Zeit bis zum Erreichen von $F_M$
$A_{OJIP}$	-	Fläche zwischen der OJIP-Kurve und dem P-Niveau
$F_{v,t}$	$F_t - F_0$	variables Fluoreszenzsignal zum Zeitpunkt $t$
$F_{v,M}$	$F_M - F_0$	maximales variables Fluoreszenzsignal
$F_{v,t}^n$	$F_{v,t}/F_{v,M}$	normiertes variables Fluoreszenzsignal zum Zeitpunkt $t$
$S_m$	$A_{OJIP}/F_{v,M}$	normierte Fläche; entspricht der Anzahl der Reduktionen und Oxidationen eines $Q_A$ -Moleküls während der Messung
$\varphi_{P,0}$	$1 - F_0/F_M$	maximale Quantenausbeute der primären RCII-Photochemie
$\psi_{ET2}$	$1 - F_{v,J}^n$	Wahrscheinlichkeit, mit der ein für die primäre Photochemie genutztes Elektron von $Q_A$ auf $Q_B$ übertragen wird
$\delta_{RE1}$	$(1 - F_{v,I}^n)/(1 - F_{v,J}^n)$	Wahrscheinlichkeit, mit der ein Elektron von $Q_B$ auf die RCI-Elektronenakzeptoren übertragen wird

Zusätzlich zu den Einstellungen aus Abschnitt 3.3.6 wurden folgende Geräteeinstellungen vorgenommen:

Tabelle 3.5: Einstellungen des PAM-Fluorimeters zur Ermittlung der Chlorophyll-Fluoreszenztransienten. Die vom Gerätehersteller (Photon Systems Instruments spol. s r.o., Drásov, Tschechische Republik) ermittelten Kalibrierreihen zur Umrechnung der %-Werte in die PPFs sind im Anhang A.3 hinterlegt.

Fluorimetereinstellung	Wert	Einheit
Sättigungspulsintensität	95	%
Dauer des Sättigungspulses	1	s
Anzahl der Messungen	1	-

### 3.3.7 Experimentelle Bestimmung der massenspezifischen *in vivo* Absorptionsquerschnitte

Die massenspezifischen spektralen Absorptionsquerschnitte ( $\sigma_{\lambda,i}$ ) von *C. vulgaris* wurden analog zur in [238,294] beschriebenen Methode jeweils in Triplikaten bestimmt. Hierfür wurden pro Messansatz 5 mL Probe aus dem Reaktor entnommen (vgl. Abschnitt 3.1.4) und bei 4 °C sowie 15.856 RCF für 10 min zentrifugiert (ROTINA 420R, Andreas Hettich GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Deutschland). Der zellfreie Überstand wurde verworfen, das Zellpellet auf das ursprüngliche Probenvolumen von 5 mL mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS; 8 g·L<sup>-1</sup>

NaCl, 0,2 g·L<sup>-1</sup> KCl, 1,78 g·L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 0,27 g·L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> in Reinstwasser [295] aufgefüllt und anschließend resuspendiert. Danach wurde dieser Waschschrift noch einmal wiederholt. Nach dem zweiten Waschschrift wurde das verbliebene Zellpellet erneut mit PBS auf das ursprünglichen Probenvolumen von 5 mL aufgefüllt und resuspendiert. Diese Zellsuspension wurde dann um Faktor 10 mit PBS verdünnt. Der Verdünnungsfaktor wurde basierend auf Vorversuchen gewählt, um Mehrfachstreuung innerhalb der Messküvette zu vermeiden und eine zufriedenstellende Signalqualität zu erhalten [218,238]. Von den verdünnten Proben wurden jeweils 4 mL in eine Makroküvette aus optischem Quarzglas (0,01 m Schichtdicke ( $l_K$ ); 6030-OG, Hellma GmbH & Co. KG, Müllheim, Deutschland) überführt und im Lichtwellenbereich von 400-750 nm spektrophotometrisch vermessen (LAMBDA 35 UV/Vis Spektrophotometer, PerkinElmer Inc., Waltham, USA). Als Blindwert dienten 4 mL PBS.

Mit dem Standard-Spektrophotometeraufbau wurde die normale-normale Transmission ( $T_{\lambda,n,i}$ ; Einfall des Messstrahls parallel zur Flächennormalen der Küvette, Detektion ebenfalls parallel zur Flächennormalen der Küvette) ermittelt. Zur Bestimmung der normalen-hemisphärischen Transmission ( $T_{\lambda,n,h}$ ; Einfall des Messlichtstrahls parallel zur Flächennormalen der Küvette, Detektion des hinter der Küvette hemisphärisch ausgehenden Lichtes) wurde zusätzlich eine Ulbricht-Kugel (RSA-PE-20, Labsphere Inc., North Sutton, USA) eingesetzt [238,294]. Der scheinbare spektrale Extinktionskoeffizient ( $\varepsilon_{\lambda}^*$ ) und der scheinbare spektrale Absorptionskoeffizient ( $\sigma_{\lambda}^*$ ) können basierend auf den experimentell ermittelten Transmissionswerten wie folgt berechnet werden [218,238,294,296,297]:

$$\varepsilon_{\lambda}^* = -\frac{1}{l_K} \cdot \ln \left( \frac{T_{\lambda,n,BTM}}{T_{\lambda,n,B}} \right) \quad (3.11)$$

$$\sigma_{\lambda}^* = -\frac{1}{l_K} \cdot \ln \left( \frac{T_{\lambda,h,BTM}}{T_{\lambda,h,B}} \right) \quad (3.12)$$

Die Indizes BTM und B stehen hierbei jeweils für die Transmission der Zellsuspension und des Blindwertes. Bedingt durch die Lichtstreuungseigenschaften der Mikroalgenzellen sowie der experimentellen Gegebenheiten kann allgemein nicht das gesamte gestreute Licht mithilfe der Ulbricht-Kugel erfasst werden. Das führt dazu, dass mit  $\sigma_{\lambda}^*$  der tatsächliche spektrale Absorptionskoeffizient ( $\sigma_{\lambda}$ ) überschätzt wird. Die Beziehung zwischen  $\sigma_{\lambda}^*$  und  $\sigma_{\lambda}$  kann dabei wie folgt beschrieben werden [296–298]:

$$\sigma_{\lambda}^* = \sigma_{\lambda} + (1 - \varphi_{UK}) \cdot \kappa_{\lambda} \quad (3.13)$$

Hierbei ist  $\varphi_{UK}$  der Anteil des gestreuten Lichtes, das von der Ulbricht-Kugel erfasst wird, während  $\kappa_{\lambda}$  der tatsächliche spektrale Streukoeffizient der Mikroalgenzellen ist. Unter idealen Bedingungen würde die Ulbricht-Kugel das gesamte gestreute Licht erfassen, somit würde  $\varphi_{UK}$  einem Wert von 1 entsprechen. Unter realen Bedingungen entspricht  $\varphi_{UK}$  einem Wert von etwa 0,9 [297]. Um  $\sigma_{\lambda}$  aus  $\sigma_{\lambda}^*$  (vgl. Gleichung 3.13) berechnen zu können, muss der Term  $(1 - \varphi_{UK}) \cdot \kappa_{\lambda}$  bekannt sein [297]. Dieser Term kann ermittelt werden, wenn der scheinbare Absorptionskoeffizient bei einer Lichtwellenlänge gemessen wird, bei der die Mikroalgenzellen idealerweise kein Licht absorbieren [297], was bei *C. vulgaris* bei 750 nm annähernd der Fall ist [218,238,299]. Somit gilt für den scheinbaren Absorptionskoeffizienten bei  $\lambda = 750$  nm ( $\sigma_{750}^*$ ):

$$\sigma_{750}^* = (1 - \varphi_{UK}) \cdot \kappa_{750} \quad (3.14)$$

Durch Kombination der Gleichungen 3.13-3.14 (mit  $\varphi_{UK} = 1 - \sigma_{750}^*/\kappa_{750}$  und der Vereinfachung [294,297]:  $\kappa_\lambda/\kappa_{750} \approx (\varepsilon_\lambda^* - \sigma_\lambda^*)/(\varepsilon_{750}^* - \sigma_{750}^*)$ ) ergibt sich für  $\sigma_\lambda$  [218,238,294,296,297]:

$$\sigma_\lambda = \sigma_\lambda^* - \sigma_{750}^* \cdot \frac{\kappa_\lambda}{\kappa_{750}} \approx \sigma_\lambda^* - \sigma_{750}^* \cdot \frac{\varepsilon_\lambda^* - \sigma_\lambda^*}{\varepsilon_{750}^* - \sigma_{750}^*} \quad (3.15)$$

Für den spektralen BTM-spezifischen *in vivo* Absorptionsquerschnitt ( $\sigma_{\lambda,BTM}$ ) sowie den spektralen Chlorophyll-spezifischen *in vivo* Absorptionsquerschnitt ( $\sigma_{\lambda,chl}$ ) folgt dann [218,238]:

$$\sigma_{\lambda,BTM} = \frac{\sigma_\lambda}{c_{BTM}} \quad (3.16)$$

$$\sigma_{\lambda,chl} = \frac{\sigma_\lambda}{c_{Chla} + c_{Chlb}} \quad (3.17)$$

## 3.4 Mathematische Modellierung und Berechnungen

### 3.4.1 Modellierung der optischen Zelleigenschaften sowie des Lichtprofils in Apparaten mit einer Flachplattengeometrie

Im Falle einer beidseitigen Beleuchtung des Flachplatten-Photobioreaktors und der Berücksichtigung der Reflexion ( $R$ ) an den Glaswänden lässt sich die analytische Lösung der *two-flux* 1D-RTE aus Abschnitt 2.6.2 (siehe Gleichung 2.10) wie folgt erweitern [170]:

$$\begin{aligned} I_{\lambda,PAR}(z_R) &= (1 - R) \cdot I_{\lambda,PAR}^0 \cdot 2 \cdot \sec \theta \\ &\cdot \frac{(1 + \alpha_\lambda) \cdot (e^{\delta_\lambda \cdot (l_R - z_R)} + e^{\delta_\lambda \cdot z_R}) - (1 - \alpha_\lambda) \cdot (e^{-\delta_\lambda \cdot (l_R - z_R)} + e^{-\delta_\lambda \cdot z_R})}{(1 + \alpha_\lambda)^2 \cdot e^{\delta_\lambda \cdot l_R} - (1 - \alpha_\lambda)^2 \cdot e^{-\delta_\lambda \cdot l_R}} \end{aligned} \quad (3.18)$$

Hierbei ist  $I_{\lambda,PAR}^0$  die von einem LED-Modul ausgehende, spektrale PPFD auf der Oberfläche des jeweiligen Apparates (vgl. Abschnitte 3.1.3 und 3.3.5). Der auf die Flächennormale bezogene Lichteinfallswinkel ( $\theta$ ) betrug stets  $0^\circ$  (somit war:  $\sec \theta = 1$ ).

Der Reflexionsgrad der Reaktoroberfläche kann mithilfe des Snelliussches Brechungsgesetzes (vgl. Gleichung 3.19) und der Fresnelschen Formeln (vgl. Gleichungen 3.20-3.22) bestimmt werden [300,301]. Die Reflexion zwischen dem Glas und dem Medium wird vereinfacht vernachlässigt, da sie in diesem Fall gering ausfällt.

$$n_{\lambda,1} \cdot \theta_i = n_{\lambda,2} \cdot \theta_t \quad (3.19)$$

$$R_S = \left| \frac{n_{\lambda,1} \cdot \cos(\theta_i) - n_{\lambda,2} \cdot \cos(\theta_t)}{n_{\lambda,1} \cdot \cos(\theta_i) + n_{\lambda,2} \cdot \cos(\theta_t)} \right|^2 \quad (3.20)$$

$$R_P = \left| \frac{n_{\lambda,1} \cdot \cos(\theta_t) - n_{\lambda,2} \cdot \cos(\theta_i)}{n_{\lambda,1} \cdot \cos(\theta_t) + n_{\lambda,2} \cdot \cos(\theta_i)} \right|^2 \quad (3.21)$$

Mit  $n_{\lambda,1}$  als Brechungsindex des ersten Mediums (Luft mit  $n_{\lambda,1} = 1 + i \cdot 0$ ),  $n_{\lambda,2}$  als Brechungsindex des zweiten Mediums (Borosilikatglas mit  $n_{\lambda,2} = 1,473 + i \cdot 0$ ),  $\theta_i$  als Lichteinfallswinkel und  $\theta_t$  als Winkel des gebrochenen Lichtstrahls. Beide Winkel ( $\theta_i$  und  $\theta_t$ ) werden relativ zur Flächennormalen gemessen. Die Parameter  $R_S$  und  $R_P$  stehen jeweils für die Reflexionsgrade des senkrecht und parallel polarisierten Lichtes. Im hier betrachteten Fall (vgl. Abschnitt 3.1.3) lässt sich der Reflexionsgrad ( $R$ ) wie folgt vereinfachen [300]:

$$R = R_S = R_P = \left| \frac{n_{\lambda,1} - n_{\lambda,2}}{n_{\lambda,1} + n_{\lambda,2}} \right|^2 \quad (3.22)$$

Die optischen Zelleigenschaften  $\sigma_{\lambda,BTM}$ ,  $\kappa_{\lambda,BTM}$  sowie  $p_{\lambda}(\theta, \theta')$  für die Gleichungen 2.9, 2.11 und 2.12 lassen sich mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie (vgl. Abschnitt 2.6.1) prädiktiv für Mikroalgenzellen bestimmen [45,173,218,240]. Hierfür muss jedoch die komplexe Morphologie der Mikroalgenzellen durch ein- oder zweischichtige (Kern und Schale) Sphären angenähert werden, da die Lorenz-Mie-Theorie nur auf diese einfachen Geometrien angewendet werden kann [218]. Auf Basis der Erkenntnisse von [218] wurden die *C. vulgaris* Zellen in dieser Arbeit durch zweischichtige Sphären approximiert, die aus einem absorbierenden und streuenden Kern (Zellinneres) sowie einer streuenden und nicht-absorbierenden Schale (Zellwand) bestehen. Sowohl das Zellinnere als auch die Zellwand werden zudem stark vereinfacht als isotrop betrachtet [45,218,302]. Zur Bestimmung der optischen Zelleigenschaften müssen demnach die jeweiligen Brechungsindizes (Medium, Zellwand und Zellinneres), der Radius der gesamten Mikroalgenzelle ( $r_c$ ) und der Durchmesser der Zellwand ( $d_{cw}$ ) bekannt sein.

Als  $r_c$  wurde ein Modellzellradius von 2,720  $\mu\text{m}$  verwendet (vgl. Anhang A.5). Mit einem  $d_{cw}$ -Wert von 0,078  $\mu\text{m}$  [303] ergibt sich für den Zellinnenradius ( $r_{core} = r_c - d_{cw}$ ) ein Wert von 2,642  $\mu\text{m}$ . Für den Brechungsindex des Mediums wurde vereinfacht ein konstanter Brechungsindex, der dem des Wassers entspricht, angenommen ( $n_{\lambda,M} = 1,3325 + i \cdot 0$ ). Für die Zellwand wurde ebenfalls vereinfacht ein konstanter Brechungsindex  $n_{\lambda,cw}$  von  $1,506 + i \cdot 0$  [302] angenommen [218]. Der Brechungsindex des Zellinneren ( $n_{\lambda,core}$ ) wurde abhängig vom Pigmentgehalt berechnet. Laut [173,218,227] kann der Imaginärteil des Brechungsindex des Zellinneren ( $n_{\lambda,core,Im}$ ) folgendermaßen berechnet werden:

$$\begin{aligned} n_{\lambda,core,Im} &= \frac{\lambda \cdot 10^{-9}}{4 \cdot \pi} \cdot a_{\lambda,cm} = \frac{\lambda \cdot 10^{-9}}{4 \cdot \pi} \cdot \sum_i E a_{\lambda,i} \cdot c_i \\ &= \frac{\lambda \cdot 10^{-9}}{4 \cdot \pi} \cdot \rho_{BTM} \cdot (1 - x_{w,BTM}) \cdot \sum_i E a_{\lambda,i} \cdot w_i \end{aligned} \quad (3.23)$$

Hierbei ist  $a_{\lambda,cm}$  der effektive Absorptionskoeffizient des Zellinneren, der sich aus der Summe der Produkte aus den jeweiligen Pigmentkonzentrationen ( $c_i$ ; mit  $i$ : Chla, Chlb und Car) und den *in vivo* Absorptionsquerschnitten der Pigmente ( $Ea_{\lambda,i}$ ; mit  $i$ : Chla, Chlb und Car) ergibt. Die zellinneren Pigmentkonzentrationen lassen sich jeweils aus den Massenanteilen von Chla, Chlb und Car ( $w_{Chla}$ ,  $w_{Chlb}$  und  $w_{Car}$ ), dem Wasseranteil der Zelle ( $x_{w,BTM} = 0,78$ ) und der Dichte der BTM ( $\rho_{BTM} = 1400 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ) berechnen [45,218]. Als  $Ea_{\lambda,i}$  wurden die Daten von [44,45] verwendet, die auch in [173,218,240] genutzt wurden. Die experimentellen  $Ea_{\lambda,i}$ -Daten wurden von [45] in einer digitalisierten Form bereitgestellt. Der Realteil des Brechungsindex des Zellinneren ( $n_{\lambda,core,Re}$ ) wurde, analog zu [45,218], mithilfe der subtraktiven Kramers-Kronig-Beziehung [304] ermittelt:

$$n_{v,core,Re} = n_{v,core,Re}^* + 2 \cdot \frac{(v^2 - v^{*2})}{\pi} \cdot CH \cdot \int_{v_{min}}^{v_{max}} \frac{v_i \cdot n_{vi,core,Im}}{(v_i^2 - v^2) \cdot (v_i^2 - v^{*2})} dv_i \quad (3.24)$$

Mit  $CH$  als Cauchyscher Hauptwert und  $v$  bzw.  $v_i$  als Lichtfrequenz ( $v = C \cdot \lambda^{-1} \cdot 10^9$ , wobei  $C$  die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum ist). Der Parameter  $v^*$  ist die Referenzfrequenz, bei der der Realteil des Brechungsindex ( $n_{v,core,Re}^*$ ) bekannt ist. Als  $n_{v,core,Re}^*$  wurde ein Wert von 1,4391 bei  $v^* \approx 6,78 \cdot 10^{14} \text{ s}^{-1}$  (entspricht:  $\lambda = 442 \text{ nm}$ ) herangezogen [302]. Der Parameter  $n_{vi,core,Im}$  entspricht dem zuvor berechneten Parameter  $n_{\lambda,core,Im}$  (vgl. zuvor aufgeführte Umrechnung zwischen  $v$  bzw.  $v_i$  und  $\lambda$ ). Zur Lösung der Gleichung 3.24 wurde das von [304] erstellte MATLAB®-Skript genutzt. Das hierbei betrachtete  $v_i$ -Intervall lag zwischen  $7,49 \cdot 10^{14}$ - $4,28 \cdot 10^{14} \text{ s}^{-1}$ , was einem  $\lambda$ -Intervall von 400-700 nm und somit PAR entspricht.

Der so bestimmte, spektrale Brechungsindex des Zellinneren ( $n_{\lambda,core} = n_{\lambda,core,Re} + i \cdot n_{\lambda,core,Im}$ ) wurde zusammen mit  $r_c$ ,  $d_{cw}$ ,  $r_{core}$ ,  $n_{\lambda,M}$  und  $n_{\lambda,cw}$  verwendet, um die Parameter  $\sigma_{\lambda,BTM}$ ,  $\kappa_{\lambda,BTM}$  sowie  $p_i(\theta, \theta')$  mittels der Lorenz-Mie-Theorie zu bestimmen. Das hierbei eingesetzte MATLAB®-Skript zur Berechnung der optischen Zelleigenschaften mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie wurde ursprünglich von [228] erstellt. Da das Skript von [228] nur spektrale zellspezifische Absorptions- und Streuungsquerschnitte ( $\sigma_{\lambda,c}$  und  $\kappa_{\lambda,c}$ ) liefert, wurden diese zellspezifischen Wirkungsquerschnitte folgendermaßen in die spektralen BTM-spezifischen Wirkungsquerschnitte ( $\sigma_{\lambda,BTM}$  und  $\kappa_{\lambda,BTM}$ ) umgerechnet [173,218]:

$$\sigma_{\lambda,BTM} = \frac{\sigma_{\lambda,c}}{\frac{4}{3} \cdot \pi \cdot (r_c \cdot 10^{-6})^3 \cdot \rho_{BTM} \cdot (1 - x_{w,BTM})} \quad (3.25)$$

$$\kappa_{\lambda,BTM} = \frac{\kappa_{\lambda,c}}{\frac{4}{3} \cdot \pi \cdot (r_c \cdot 10^{-6})^3 \cdot \rho_{BTM} \cdot (1 - x_{w,BTM})} \quad (3.26)$$

Die nach der Lorenz-Mie-Theorie ermittelten Parameter  $\sigma_{\lambda,BTM}$  und  $\kappa_{\lambda,BTM}$  wurden anschließend in die Gleichungen 2.11 und 2.12 eingesetzt, um die Koeffizienten  $\alpha_\lambda$  und  $\delta_\lambda$  zu berechnen [218]. Der Anteil der Rückstreuung ( $b_\lambda$ ) wurde vereinfacht nur für  $\lambda = 634 \text{ nm}$  berechnet (vgl. Gleichung 2.9), da  $b_\lambda$  unabhängig von  $\lambda$  nur einen sehr geringen Anteil am insgesamt gestreuten Licht ausmacht, weshalb dessen lichtwellenlängenabhängige Variabilität vernachlässigt wurde [218,238,240].

Durch das Einsetzen der beiden Parameter  $\alpha_\lambda$  und  $\delta_\lambda$  in Gleichung 3.18, unter Einbezug von  $c_{BTM}$ ,  $I_{\lambda,PAR}^0$ ,  $I_R$  sowie dem jeweiligen Spektrum der eingesetzten LED-Einheiten ( $S_{\lambda,LED}$ ; vgl. Anhang A.2), erhält man letztlich  $I_{\lambda,PAR}(z_R)$ , die anschließend über PAR integriert werden kann, um die PPFD ( $I_{PAR}(z_R)$ ) in Abhängigkeit der Position entlang der Reaktortiefe ( $z_R$ ) zu erhalten:

$$I_{PAR}(z_R) = \int_{\lambda_{min}=400}^{\lambda_{max}=700} I_{\lambda,PAR}(z_R) d\lambda \quad (3.27)$$

Der hier beschriebene Ablauf zur Berechnung der optischen Zelleigenschaften von *C. vulgaris* und der PPFDs entlang der Reaktortiefe eines Flachplatten-Photobioreaktors (vgl. Abschnitt 3.1.3) ist in der nachfolgenden Abbildung 3.3 schematisch dargestellt. Das Vorgehen zur Berechnung der PPFDs entlang der Tiefe der Messzelle zur Bestimmung der oxygenen Netto-Photosyntheserate (vgl. Abschnitt 3.3.5) entspricht dem Vorgehen im Falle der Flachplatten-Photobioreaktoren, da sowohl die verwendeten Photobioreaktoren als auch die verwendeten Messzellen im Bereich des Arbeitsvolumens die gleichen Abmessungen und somit die gleiche Geometrie aufwiesen. Die entsprechenden Modellskripte wurden mit der MATLAB®-Version 2021b (The MathWorks Inc., Natick, USA) angefertigt und sind im Anhang A.8 hinterlegt. Das MATLAB®-Skript von [228] wurde entsprechend den Anforderungen der vorliegenden Arbeit angepasst (vgl. Anhang A.8).

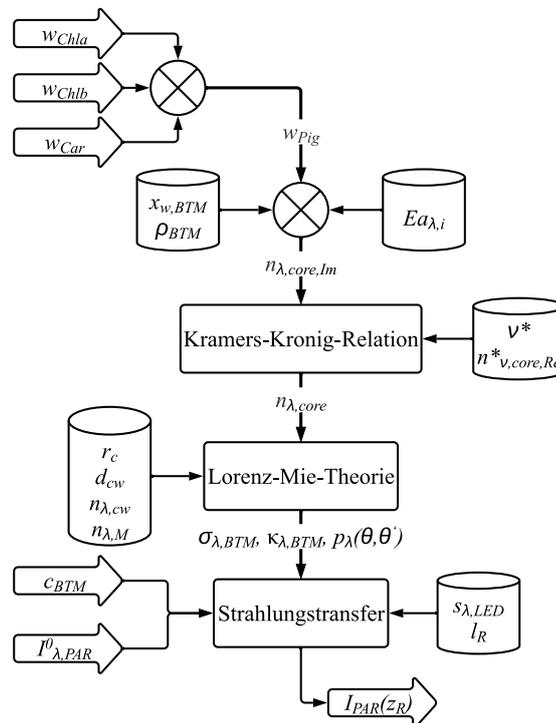


Abbildung 3.3: Schematischer Aufbau des Modells zur Bestimmung der optischen Zelleigenschaften von *C. vulgaris* und des Lichtprofils in den verwendeten Flachplatten-Photobioreaktoren sowie der verwendeten Photosyntheserate-Messzelle. Die mit Pfeilen dargestellte Eingabeparameter können als Variablen aus vor- bzw. nachgeschalteten Modellen/Skripten in die Lichtsimulation eingespeist werden. Die benötigten Daten, die als Konstanten betrachtet werden, sind zylindrisch dargestellt.

### 3.4.2 Approximation der Lichtsammelkomplexgröße ausgehend vom makroskopischen Pigmentgehalt

Zur Schätzung der LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexgröße in Abhängigkeit der lichtabhängigen Akklimatisationszustände von *C. vulgaris* wurde das jeweilige experimentelle Chla/Chlb-Massenverhältnis (vgl. Abschnitt 3.3.2) herangezogen. Die Variation des makroskopischen Chla/Chlb-Verhältnisses kann auf zwei Phänomene zurückgeführt werden (vgl. Abschnitt 2.5.3). Wie zuvor in Abschnitt 2.2.2 dargelegt, besitzen die LHCI-RCI-Komplexe normalerweise ein höheres Chla/Chlb-Verhältnis als die LHCII-RCII-Komplexe. Ein Anstieg des Chla/Chlb-Verhältnisses kann demnach eine relative Zunahme der LHCI-RCI-Komplexe bedeuten. Die Chlorophyta, zu denen auch *C. vulgaris* gehört, scheinen ihr RCI/RCII-Verhältnis jedoch kaum an die Lichtverfügbarkeit anzupassen [1,199,206,305]. Bei *C. vulgaris* liegt dieses Verhältnis üblicherweise in einem Bereich von 1,1-1,25 RCI pro RCII [202]. Es ist deshalb davon auszugehen, dass der Hauptteil der lichtabhängigen Variation des Chla/Chlb-Verhältnisses wahrscheinlich nicht auf die Änderung des RCI/RCII-Verhältnisses zurückgeführt werden kann. Aus diesem Grund wurde vereinfacht angenommen, dass das RCI/RCII-Verhältnis in *C. vulgaris*, basierend auf den Daten von [202], konstant 1,1 beträgt.

Das zweite Phänomen, das zu einer Variation des Chla/Chlb-Verhältnisses führen kann, ist die lichtbedingte Änderung der LHC-RC-Komplexgröße (vgl. Abschnitt 2.5.3). Wie in Abschnitt 2.2.2 beschrieben, enthalten das RCII sowie die weiteren Komplexkomponenten CP26, CP29, CP43 und CP47 überwiegend Chla, nämlich insgesamt 54 Chla und 7 Chlb [93]. Der Großteil des Chlb im LHCII-RCII-Komplex befindet sich in den LHCII-Komplexen, die pro LHCII-Trimer 24 Chla und 18 Chlb enthalten [93]. Eine Reduktion der LHCII-RCII-Größe würde dementsprechend mit einer Steigerung des Chla/Chlb-Verhältnisses einhergehen. Ein RCI, inklusive aller weiteren Komponenten außer den LHCI-Komplexen (vgl. Abschnitt 2.2.2), enthält etwa 100 Chla [1,36,81]. Demnach enthalten ausschließlich die LHCI-Komplexe Chlb. Aufbauend auf den Daten von [81,106–109] wird angenommen, dass ein LHCI-Monomer im Mittel etwa 9,6 Chla und 4,4 Chlb enthält. Eine Abnahme der LHCI-RCI-Komplexgröße würde, ebenso wie die Reduktion der LHCII-RCII-Komplexgröße, eine Steigerung des Chla/Chlb-Verhältnisses bewirken.

Ausgehend von den bisher erläuterten Punkten wird angenommen, dass in *C. vulgaris* wahrscheinlich die lichtabhängige Änderung der LHC-RC-Komplexgrößen den Hauptbeitrag zur lichtabhängigen Variation des makroskopischen Chla/Chlb-Verhältnisses [202,248] leistet. Zur Vereinfachung der Approximationsmethode zur Bestimmung der Größen der jeweiligen LHC-RC-Komplexe wird definiert, dass allein die Änderung der Größen der LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexe die lichtbedingte Variation des Chla/Chlb-Verhältnisses bewirkt. Unter Einbezug der Ergebnisse von [93,95,203] wird die Annahme getroffen, dass der größtmögliche LHCII-RCII-Komplex aus insgesamt drei LHCII-Trimeren besteht, während der kleinste Komplex lediglich ein LHCII-Trimer enthält. Beim LHCI-RCI-Komplex wird davon ausgegangen, dass der größtmögliche LHCI-RCI-Komplex insgesamt neun LHCI-Monomere beinhalten kann [106,107]. Basierend auf den Untersuchungen der hierarchischen Organisation der LHCI-RCI-Komplexe in *C. reinhardtii* in [106] wird vereinfacht angenommen, dass der kleinstmögliche LHCI-RCI-Komplex in *C. vulgaris* vier LHCI-Monomere enthalten sollte. Die aktuellen Litera-

turdaten für Rotalgen deuten ebenfalls darauf hin, dass die kleinsten LHCI-RCI-Komplexe etwa vier bis fünf LHCI-Monomere enthalten sollten [204,306].

Die definierten maximalen und minimalen LHC-RC-Komplexgrößen geben jeweils die Ober- und Untergrenzen vor, innerhalb derer sich die durchschnittlichen bzw. effektiven LHC-RC-Komplexgrößen bewegen können. Die effektiven Größen der jeweiligen LHC-RC-Komplexe, die entsprechend der Modellvorstellung und unter Einbezug des RCI/RCII-Verhältnisses das effektiv beobachtbare Chla/Chlb-Verhältnis definieren, sollten dabei jeweils als ein Gemisch mit variablen Anteilen aus den größten und kleinsten Komplexkonfigurationen darstellbar sein. Da messtechnisch das Massenverhältnis von Chla und Chlb ( $v_{Chla/b}$ ) erfasst wird (vgl. Abschnitt 3.3.2) muss das aus den LHC-RC-Komplexgrößen und dem RCI/RCII-Verhältnis bestimmte Chla/Chlb-Verhältnis entsprechend umgerechnet werden (siehe Gleichung 3.28). Die zur Bestimmung der effektiven Größen der LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexe notwendigen Anteile der jeweiligen maximalen und minimalen Komplexgrößen ( $x_i$ ) wurden für jeden lichtabhängigen Akklimatisationszustand (vgl. Abschnitt 3.3.5.1) numerisch ermittelt, indem die quadratischen Abweichungen zwischen den experimentellen Chla/Chlb-Massenverhältnissen ( $w_{Chla}/w_{Chlb}$  bzw.  $c_{Chla}/c_{Chlb}$ ) und den nach Gleichung 3.28 bestimmten  $v_{Chla/b}$  minimiert wurde.

Hierzu wurde die MATLAB®-Routine *fmincon* mit einem *interior-point* Solver verwendet. Als Nebenbedingung wurde definiert, dass die gesamte effektive Antennengröße der LHCI-RCI-Komplexe (Produkt aus dem RCI/RCII-Verhältnis und der effektiven mittleren LHCI-RCI-Komplexgröße) innerhalb einer PSU [27] stets mindestens 25 % größer sein muss als die effektive Antennengröße der LHCII-RCII-Komplexe. Die effektiven durchschnittlichen LHC-RC-Komplexgrößen wurden jeweils als das Produkt aus der maximalen Quantenausbeute und der Komplexgröße definiert. Für den LHCI-RCI-Komplex wurde eine konstante maximale Quantenausbeute von 0,98 angenommen [36]. Für den LHCII-RCII-Komplex wurde der Parameter  $F'_v/F'_m$  (vgl. Abschnitt 3.3.6.1) als maximale Quantenausbeute herangezogen. Diese Bedingungen wurde definiert, da die LHCI-RCI-Komplexe ein Elektron mehr anregen müssen als die LHCII-RCII-Komplexe, damit auf vier durch den LEF transportierten Elektronen ein zusätzliches Elektron durch den ZEF transportiert werden kann [82] (vgl. Abschnitt 2.2.2).

$$v_{Chla/b} = \frac{M_{Chla} \cdot N_A}{M_{Chlb} \cdot N_A} \cdot \frac{x_{max}^{RCII} \cdot n_{Chla,max}^{RCII} + x_{min}^{RCII} \cdot n_{Chla,min}^{RCII} + 1,1 \cdot (x_{max}^{RCI} \cdot n_{Chla,max}^{RCI} + x_{min}^{RCI} \cdot n_{Chla,min}^{RCI})}{x_{max}^{RCII} \cdot n_{Chlb,max}^{RCII} + x_{min}^{RCII} \cdot n_{Chlb,min}^{RCII} + 1,1 \cdot (x_{max}^{RCI} \cdot n_{Chlb,max}^{RCI} + x_{min}^{RCI} \cdot n_{Chlb,min}^{RCI})} \quad (3.28)$$

Wobei zusätzlich gilt:

$$x_{max}^{RCII} + x_{min}^{RCII} = 1 \quad (3.29)$$

$$x_{max}^{RCI} + x_{min}^{RCI} = 1 \quad (3.30)$$

Hierbei sind  $n_{Chla,max}^{RCII}$  und  $n_{Chla,min}^{RCII}$  die Anzahlen von Chla im jeweils größten und kleinsten LHC-RC-Komplex, während  $n_{Chlb,max}^{RCII}$  sowie  $n_{Chlb,min}^{RCII}$  die Anzahlen von Chlb im jeweils größten

und kleinsten Komplex sind. Der Index  $i$  steht in diesem Fall entweder für RCII oder RCI. Die beiden Parameter  $M_{Chla}$  und  $M_{Chlb}$  sind jeweils das Molekulargewicht von Chla (893,51 g·mol<sup>-1</sup>) und Chlb (907,47 g·mol<sup>-1</sup>). Der Parameter  $N_A$  ist die Avogadro-Konstante, die einen Wert von  $6,02214086 \cdot 10^{23}$  mol<sup>-1</sup> beträgt.

Durch die numerische Bestimmung der Komplexanteile ( $x_i^j$ ) für jeden lichtbedingten Akklimationszustand (vgl. Abschnitt 3.2.1) konnte im Anschluss die durchschnittliche Anzahl der Chlorophylle in den effektiven LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexen ( $n^{RCII}_{Chl}$  und  $n^{RCI}_{Chl}$ ) approximiert werden (vgl. Gleichungen 3.31 und 3.32). Das hierzu gehörige MATLAB®-Skript (Version 2021b, The MathWorks Inc., Natick, USA) ist im Anhang A.8 zu finden.

$$n_{Chl}^{RCII} = (x_{max}^{RCII} \cdot n_{Chla,max}^{RCII} + (1 - x_{max}^{RCII}) \cdot n_{Chla,min}^{RCII}) \\ + (x_{max}^{RCII} \cdot n_{Chlb,max}^{RCII} + (1 - x_{max}^{RCII}) \cdot n_{Chlb,min}^{RCII}) \quad (3.31)$$

$$n_{Chl}^{RCI} = (x_{max}^{RCI} \cdot n_{Chla,max}^{RCI} + (1 - x_{max}^{RCI}) \cdot n_{Chla,min}^{RCI}) \\ + (x_{max}^{RCI} \cdot n_{Chlb,max}^{RCI} + (1 - x_{max}^{RCI}) \cdot n_{Chlb,min}^{RCI}) \quad (3.32)$$

### 3.4.3 Berechnung statistischer Kennzahlen zur Beurteilung der Modellgüte

Für die Bewertung der Güte des Modells zur Beschreibung der stationären Photosynthesekinetik (vgl. Abschnitt 4.3) sowie weiterer Modelle bzw. Funktionen (vgl. Abschnitt 4.1) wurden mehrere statistische Kennzahlen herangezogen. Diese werden im Nachfolgenden vorgestellt.

Zur Beurteilung der Anpassungsgüte wurde situationsbedingt das Bestimmtheitsmaß ( $R^2$ ) herangezogen, das folgendermaßen berechnet werden kann [307]:

$$R^2 = 1 - \frac{SQR}{SQT} = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \quad (3.33)$$

Hierbei ist SQR die Residuenquadratsumme, SQT ist die totale Quadratsumme,  $n$  ist die Gesamtanzahl der Beobachtungen,  $y_i$  ist die abhängige Variable der  $i$ -ten Beobachtung, mit  $\bar{y}$  als dessen arithmetisches Mittel, und  $\hat{y}_i$  ist die abhängige Variable der  $i$ -ten Vorhersage.

Um die Abweichung der vorhergesagten Werte von den Beobachtungen abschätzen zu können, wurden zusätzlich der *root mean square error* (RMSE) und der auf den arithmetischen Mittelwert normierte RMSE (nRMSE) berechnet [307].

$$RMSE = \sqrt{\frac{SQR}{n}} \quad (3.34)$$

$$nRMSE = \frac{RMSE}{\bar{y}} \cdot 100 \quad (3.35)$$

Weiterhin wurden der *mean bias error* (MBE) und dessen auf den arithmetischen Mittelwert normierte Form (nMBE) berechnet, um beurteilen zu können, ob die Vorhersagen die Beobachtungen tendenziell über- oder unterschätzen und wie groß die Abweichungen zwischen den Beobachtungen und Vorhersagen ausfallen [307].

$$MBE = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)}{n} \quad (3.36)$$

$$nMBE = \frac{MBE}{\bar{y}} \cdot 100 \quad (3.37)$$

Die bisher vorgestellten statistischen Kennzahlen bewerten lediglich die Anpassungsgüte des jeweiligen Modells. Sie berücksichtigen jedoch nicht die Anzahl der Modellparameter. So führen bspw. mehr Modellparameter tendenziell zu besseren  $R^2$ -Werten. Eine hohe Anzahl der Modellparameter birgt jedoch gleichzeitig die Gefahr einer Überanpassung, die zu einer Minderung der Vorhersagekraft des jeweiligen Modells führt [308]. Deshalb sollten zusätzlich statistische Kennzahlen verwendet werden, die nicht nur die Anpassungsgüte bewerten, sondern auch die Parameteranzahl durch einen Strafterm berücksichtigen. Eine solche, häufig verwendete Kennzahl ist das Akaike-Informationskriterium (AIC) [309,310], das in der allgemeinen Form wie folgt definiert ist:

$$AIC = -2 \cdot \log(L) + 2 \cdot K \quad (3.38)$$

Mit  $L$  als *Likelihood*-Funktion und  $K$  als Anzahl der Modellparameter. Im Falle der Parameterschätzung mithilfe der Methode der kleinsten Quadrate (LS) und unter der Annahme einer Normalverteilung der Fehler wird AIC zu [311]:

$$AIC = n \cdot \ln\left(\frac{SQR}{n}\right) + 2 \cdot (K + 1) \quad (3.39)$$

Da die Varianz der Fehler ( $SQR/n$ ) ebenfalls als Parameter berücksichtigt werden muss, gilt für die Gesamtanzahl der Modellparameter der Ausdruck  $(K + 1)$  [308]. Der erste Term der Gleichung 3.39 berücksichtigt die Anpassungsgüte des Modells. Dessen Wert sinkt mit einer besseren Übereinstimmung zwischen dem Modell und den Daten und steigt, wenn diese Übereinstimmung schlechter wird. Der zweite Term berücksichtigt die Parameteranzahl und gilt als ein Strafterm für die Einführung zusätzlicher Parameter [312]. Je weniger Modellparameter vorhanden sind und je besser die Daten durch das Modell wiedergegeben werden, desto kleiner wird das AIC [308]. Das Modell mit dem geringsten AIC ist demnach zu bevorzugen [313]. Es ist jedoch zu beachten, dass die relativen AIC-Werte nur unter Modellen vergleichbar sind, die an den gleichen Datensatz angepasst wurden [311–313]. Weiterhin sollte Gleichung 3.39 für den Fall einer geringen Anzahl an Datenpunkten ( $n \cdot K^{-1} < 40$ ) um einen weiteren Term erweitert werden, um das für kleine Probengrößen angepasste AIC ( $AIC_c$ ) zu erhalten [314–316]:

$$AIC_c = n \cdot \ln\left(\frac{SQR}{n}\right) + 2 \cdot (K + 1) + \frac{2 \cdot (K + 1) \cdot (K + 2)}{n - K - 2} \quad (3.40)$$

Der direkte Vergleich der  $AIC_c$ -Werte liefert nur beschränkt Informationen bezüglich des besten Modells. Zwar kann das Modell mit dem geringsten  $AIC_c$  tendenziell als das Beste der unter-

suchten Modelle betrachtet werden, es bleibt jedoch unbekannt, mit welcher Wahrscheinlichkeit dieses Modell tatsächlich das Beste ist. Dies kann insbesondere bei geringen  $AIC_c$ -Differenzen zu einer falschen Sicherheit bei der Auswahl des besten Modells führen [317]. Hierbei schafft die Berechnung der Akaike-Gewichte der betrachteten Modelle ( $w_{i,AICc}$ ) Abhilfe [311,312,317]:

$$\Delta_{i,AICc} = AIC_{c,i} - \min[AIC_c] \quad (3.41)$$

$$w_{i,AICc} = \frac{e^{-\frac{1}{2}\Delta_{i,AICc}}}{\sum_{i=1}^n e^{-\frac{1}{2}\Delta_{i,AICc}}} \quad (3.42)$$

Mit:

$$\sum_{i=1}^n w_{i,AICc} = 1 \quad (3.43)$$

Der Parameter  $\Delta_{i,AICc}$  beschreibt die Differenz zwischen dem  $AIC_c$ -Wert des Modells  $i$  und dem (minimalen)  $AIC_c$ -Wert des Besten der untersuchten Modelle. Die berechneten  $w_{i,AICc}$  können jeweils als Wahrscheinlichkeit dafür, dass das Modell  $i$  das Beste der betrachteten Modelle ist, interpretiert werden [317].

---

## 4 Ergebnisse und Diskussion

### 4.1 Charakterisierung der lichtabhängigen Akklimation von *Chlorella vulgaris*

Die lichtabhängige Zellakklimation von Mikroalgen ist ein komplexer und dynamischer Prozess, an dem alle Zellkompartimente und -komponenten beteiligt sind [126,180,191,194]. Gleichzeitig ist es für ein besseres Verständnis der Mikroalgenkultivierungen essenziell, die Akklimationsantwort zu verstehen, da nur so eine fundierte und rationale Optimierung von Kultivierungsprozessen und -systemen durchgeführt werden kann [23].

Aus diesem Grund wird in diesem Abschnitt die lichtabhängige Akklimation am Beispiel des Modellorganismus *C. vulgaris* näher untersucht. Hierzu wird zunächst die Auswirkung der Lichtverfügbarkeit auf die makroskopische Wachstumsrate und die Wachstumseffizienz betrachtet. Nachfolgend wird der Mikroalgenmetabolismus in zwei Kompartimente – nämlich Photosynthese und Anabolismus – aufgeteilt, um die Einflüsse auf das jeweilige Kompartiment und deren Wechselwirkungen untersuchen zu können. Die hierbei generierten Daten dienen zudem als Input für das in Abschnitt 4.3 entwickelte Modell. Um die lichtabhängige Akklimationsstrategie der Mikroalge *C. vulgaris* besser verstehen zu können, werden zunächst nur die stationären Akklimationszustände betrachtet, die durch entsprechende Kultivierungsbedingungen (vgl. Abschnitt 3.1.3) erzeugt werden konnten. Daher wird die Dynamik der Zellakklimation im Rahmen dieser Arbeit vernachlässigt.

#### 4.1.1 Einfluss der Photonenflussdichte auf die spezifische Wachstumsrate und -effizienz

Im Nachfolgenden wird die lichtabhängige stationäre Wachstumskinetik von *C. vulgaris* untersucht. Die Erhebung der experimentellen Daten erfolgte entsprechend der in Abschnitten 3.1.3 und 3.2.1 beschriebenen Durchführung. In Abbildung 4.1 wurde  $\mu$  jeweils gegen die mittleren Akklimations-PPFDs, die nach der Methode aus Abschnitt 3.4.1 berechnet wurden, und die BTM-spezifische Photonenabsorptionsrate ( $r_{abs,BTM}$ ) aufgetragen. Die Rate  $r_{abs,BTM}$  wurde ausgehend von dem jeweiligen Pigmentgehalt (siehe Abbildung 4.3), dem daraus resultierenden PAR-gemittelten, BTM-spezifischen Absorptionsquerschnitt ( $\sigma_{BTM}$ ; vgl. Abbildung 4.7.B) sowie der jeweiligen mittleren Akklimations-PPFD ( $\bar{I}_{PAR}$ ) folgendermaßen berechnet:

$$r_{abs,BTM} = \sigma_{BTM} \cdot \bar{I}_{PAR} \cdot \frac{3600}{10^6} \quad (4.1)$$

In Abbildung 4.1.A ist anfänglich, bis etwa  $57 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , ein scheinbar linearer Anstieg von  $\mu$  in Abhängigkeit der PPFD zu beobachten. Aus den Daten ergibt sich, dass der Lichtkompensationspunkt ( $I_K$ ; vgl. Abbildung 2.7) bei ca.  $8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und damit im Bereich der Literaturwerte für *C. vulgaris* liegt, die sich zwischen  $10\text{-}15 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  [127] und  $5\text{-}10 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

[167] (bei 22 °C statt 25 °C ermittelt) bewegen. Bereits ab etwa  $87 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  scheint  $\mu$  jedoch nicht mehr linear mit der PPFD anzusteigen. Zwischen  $233\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist der Lichtsättigungspunkt ( $I_S$ ; vgl. Abbildung 2.7) zu erkennen. Die nachfolgenden drei Messpunkte bei ca.  $432$ ,  $507$  und  $619 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bilden eine Art Peak aus, der in anderer Literatur mit dem gleichen *C. vulgaris* Stamm (SAG 211-12) nicht beobachtet werden konnte [127,130,132,167]. Da insbesondere der Messwert bei  $432 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  eine große Ungenauigkeit aufweist, ist davon auszugehen, dass dieses Verhalten wahrscheinlich ein auf der Messunsicherheit beruhendes Artefakt ist. Hierfür spricht ebenfalls, dass die restlichen vier Punkte im Sättigungsbereich alle in einem engen Bereich um die eingezeichnete Gerade liegen. Die maximale spezifische Wachstumsrate ( $\mu_{max}$ ) beträgt hierbei  $0,1061 \pm 0,0063 \text{ h}^{-1}$  und liegt damit ebenfalls im Bereich der Literaturwerte von  $0,0992\text{-}0,1096 \text{ h}^{-1}$  [127,130]. Zudem ist auffällig, dass selbst bei einer sehr hohen mittleren PPFD von ca.  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  keine deutliche Abnahme von  $\mu$  zu sehen ist. Dies ist ein Hinweis dafür, dass *C. vulgaris* in der Lage ist, sich auch an hohe PPFDs anzupassen, ohne eine effektive Inhibierung zu erfahren (vgl. Abbildung 2.7). In der Natur oder in industriellen Kultivierungssystemen werden so hohe mittlere PPFDs über einen längeren Zeitraum nicht erreicht [132,181,207]. Die maximale solare PPFD in Westeuropa, die auf eine horizontale Ebene fällt, beträgt bspw.  $1850\text{-}2000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und wird nur kurzfristig (um die Mittagszeit herum) unter idealen Bedingungen (klarer wolkenloser Himmel) erreicht [127,318]. Im Falle von senkrecht stehenden Flachplatten-Photobioreaktoren sowie im Falle anderer, nicht-horizontal aufgestellter Reaktortypen werden derartig hohe PPFD-Werte selbst auf der Reaktoroberfläche nicht erreicht. Im Inneren der Photobioreaktoren sind solche PPFDs ebenfalls irrelevant, da unter typischen Kultivierungsbedingungen bereits nach wenigen Millimetern im Photobioreaktor eine starke Abnahme der PPFD zu verzeichnen ist [22,207].

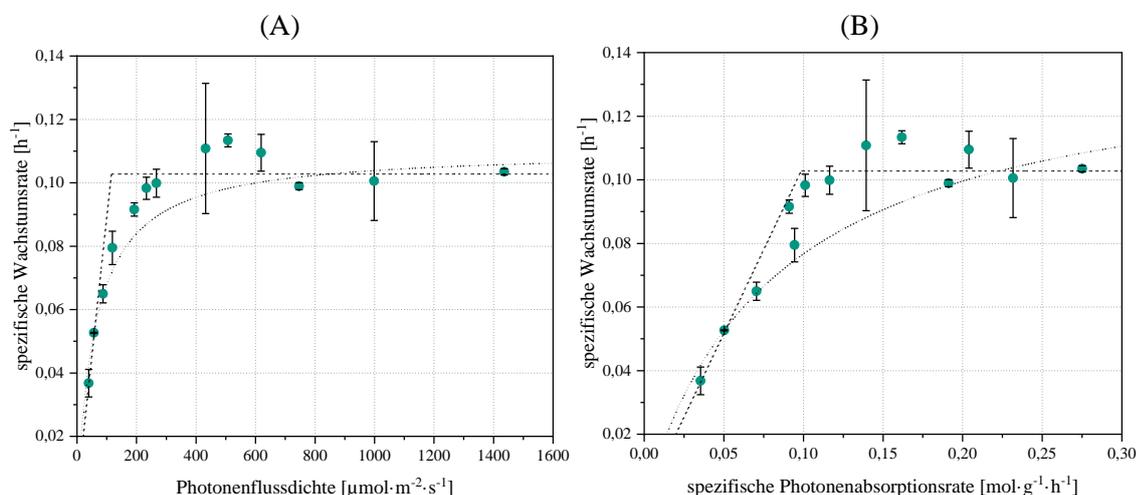


Abbildung 4.1: Lichtabhängige stationäre Wachstumskinetik der Grünalge *C. vulgaris*. (A) Auftragung von  $\mu$  gegen  $\bar{I}_{PAR}$ . (B) Auftragung von  $\mu$  gegen  $r_{abs,BTM}$ . In beiden Grafiken wurde jeweils das Blackman-Modell [163] (gestrichelte Linien) und das Monod-Modell [235] (gepunktete Linie), ohne Berücksichtigung der Zellrespiration, beispielhaft an die experimentellen Daten angepasst. Unter Vernachlässigung der lichtbedingten Akklimatisation von  $\tau_{Han}$  entspricht das PSU-Modell nach Han (ohne Photoinhibierung) [27] dem abgebildeten Wachstumsmodell nach Monod [235] (vgl. Abschnitt 2.6.3) [23,25]. Der qualitative Vergleich der experimentellen Daten mit den beiden Wachstumsmodellen zeigt, dass keines der beiden Modelle die Daten qualitativ beschreiben kann, da diese in einem Bereich zwischen den beiden gezeigten Extremfällen (Blackman- und Monod-Kinetik) [164] liegen.

Wie aus Gleichung 4.1 hervorgeht, ist  $r_{abs,BTM}$  nicht linear abhängig von  $\bar{I}_{PAR}$ , wenn die Mikroalgen ihren Pigmentgehalt (vgl. Abbildung 4.3) und damit auch  $\sigma_{BTM}$  je nach Akklimationszustand variieren. Das kann zu einer Verzerrung der stationären Wachstumskinetik führen und die direkte Interpretation der Ergebnisse in Hinblick auf das lichtabhängige Akklimationsverhalten von *C. vulgaris* erheblich erschweren, da letztlich nur absorbierte und nicht alle auftreffenden Photonen zum Wachstum führen können. Deshalb wurde  $\mu$  in Abbildung 4.1.B zusätzlich gegen  $r_{abs,BTM}$  aufgetragen. Durch die Auftragung von  $\mu$  gegen  $r_{abs,BTM}$  wird der Datenverlauf im lichtlimitierten Bereich scheinbar linearisiert. Ausgehend vom Blackman-Modell [163] (vgl. Abschnitt 2.6.3) würde diese lineare Abhängigkeit bedeuten, dass die Mikroalgenzellen ihren Pigmentgehalt an die gegebene PPFD so anpassen, dass sie im lichtlimitierten Bereich mit einer konstant hohen photonenspezifischen Biomasseausbeute ( $y_{BTM,hv}^*$ ) wachsen können, bis eine nachgeschaltete Limitierung eintritt.

Um diese mögliche Akklimationsstrategie zu überprüfen, wurde  $y_{BTM,hv}^*$  für jeden Akklimationszustand nach der Gleichung 4.2 [162] berechnet (siehe Abbildung 4.2).

$$y_{BTM,hv}^* = \frac{\mu}{r_{abs,BTM}} \quad (4.2)$$

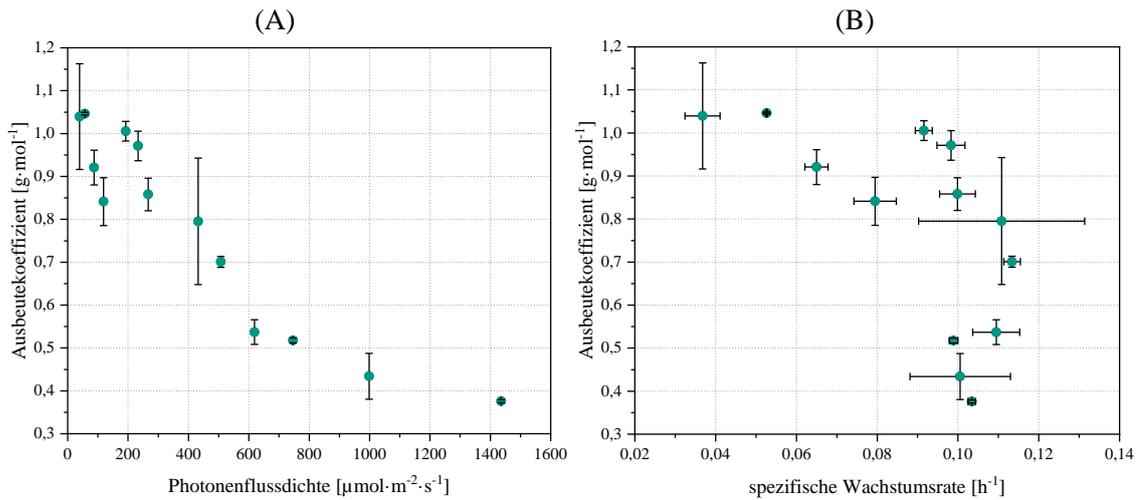


Abbildung 4.2: Lichtabhängiger Verlauf der effektiven photonenspezifischen Biomasseausbeute ( $y_{BTM,hv}^*$ ). (A) Auftragung von  $y_{BTM,hv}^*$  gegen  $\bar{I}_{PAR}$ . (B) Auftragung von  $y_{BTM,hv}^*$  gegen  $\mu$ .

Hierbei definiert  $y_{BTM,hv}^*$  wie viel Mol Photonen absorbiert werden müssen, um effektiv ein Gramm BTM herzustellen. Wie in Abbildung 4.2.A zu erkennen, bleibt  $y_{BTM,hv}^*$  im Bereich der beiden niedrigsten PPFDs von ca. 39 und 57  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nahezu konstant und beträgt jeweils  $1,039 \pm 0,123 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  und  $1,046 \pm 0,003 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Die nächsten beiden Punkte fallen sehr gering aus und sind eher als Ausreißer zu bewerten, ähnlich wie in Abbildung 4.1.B. Nichtsdestotrotz ist zu erkennen, dass  $y_{BTM,hv}^*$  bereits im lichtlimitierten Bereich leicht abnimmt. Bei der PPFD von 193  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  beträgt  $y_{BTM,hv}^*$   $1,005 \pm 0,023 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  und ist damit eindeutig geringer als bei 57  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Eine noch deutlichere Abnahme ist im Bereich von 233-267  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zu erkennen, dort beträgt  $y_{BTM,hv}^*$  jeweils  $0,971 \pm 0,034 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  und  $0,858 \pm 0,038 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Nach dem Erreichen des lichtgesättigten Bereiches fällt  $y_{BTM,hv}^*$  noch deutlicher ab und erreicht einen

Wert von  $0,376 \pm 0,003 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  bei einer Akklimations-PPFD von ca.  $1436 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . In Abbildung 4.2.B sind die anlogenen  $y_{BTM,hv}^*$ -Werte gegen die aus den entsprechenden Akklimations-PPFDs resultierenden  $\mu$ -Werte aufgetragen.

Die hier ermittelten  $y_{BTM,hv}^*$ -Werte stimmen gut mit den von [319] ermittelten Werten für *C. reinhardtii* überein. Analog zu den bisherigen Ergebnissen konnte [319] ebenfalls eine lichtabhängige Abnahme von  $y_{BTM,hv}^*$  feststellen. Dabei wurde bei  $110 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  ein  $y_{BTM,hv}^*$ -Wert von  $1,11 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  ermittelt, der bei  $500$  und  $1000 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  auf jeweils  $0,73$  und  $0,51 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$  gesunken ist [319] (die ursprünglichen Werte aus [319] wurden von [162] umgerechnet und sind daraus entnommen).

Die Ergebnisse deuten insgesamt darauf hin, dass bereits im lichtlimitierten Bereich die Aktivität der NPQ-Mechanismen (siehe Abschnitt 2.5.3) durch einen auftretenden Rückstau von angeregten Elektronen an den LHC-RC-Komplexen (vgl. Abschnitt 2.6.3) scheinbar steigt, was sich in einer Abnahme der  $y_{BTM,hv}^*$ -Werte bemerkbar macht und damit auch eine höhere Energie-dissipation an den Photosystemen bedeutet. Ein lineares Wachstum ohne Energieverluste, was sich in konstanten  $y_{BTM,hv}^*$ -Werten äußern würde, ist im lichtlimitierten Bereich nicht gegeben, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass das Blackman-Modell [163] (vgl. Abschnitt 2.6.3), das ein Wachstum ohne Energieverluste im lichtlimitierten Bereich impliziert, nicht auf die lichtabhängige Wachstumskinetik von *C. vulgaris* angewandt werden kann. Nichtsdestotrotz kann festgehalten werden, dass die experimentelle Wachstumskinetik von *C. vulgaris* besser durch das Blackman-Modell [163] als durch das Monod-Modell [235] repräsentiert wird (vgl. Abbildung 4.1). Insbesondere bei der Auftragung von  $\mu$  gegen  $r_{abs,BTM}$  (vgl. Abbildung 4.1.B) scheint das Blackman-Modell [163] die Daten qualitativ besser zu beschreiben als das Monod-Modell [235]. Trotzdem ist in Abbildung 4.1.B keine lineare Abhängigkeit des Zellwachstums von  $r_{abs,BTM}$  im lichtlimitierten Bereich gegeben, da bereits in diesem Bereich eine Abnahme von  $y_{BTM,hv}^*$  zu verzeichnen ist (vgl. Abbildung 4.2). Interessanterweise bleibt  $y_{BTM,hv}^*$  jedoch zwischen  $39\text{-}57 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  bei einem scheinbar konstanten Wert von etwa  $1,043 \pm 0,062 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , auch wenn die relativ große Messungenauigkeit bei  $39 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  eine endgültige Aussage erschwert. Die Ursache für dieses scheinbare Verhalten kann aufbauend auf den bisherigen Ergebnissen noch nicht vollständig erklärt werden.

Aus den hier dargestellten Ergebnissen (vgl. Abbildung 4.1 sowie Abbildung 4.2) lässt sich ableiten, dass das akklimatisierte, lichtabhängige Wachstum (vgl. Abschnitt 3.2.1) von *C. vulgaris* weder durch das Blackman-Modell [163] noch durch das Monod-Modell [235] adäquat beschrieben werden kann. Da das Wachstumsmodell nach Monod [235] die experimentellen Daten (siehe Abbildung 4.1) nicht beschreiben kann, ist davon auszugehen, dass nicht einfach ein limitierender Schritt durchgängig das Zellwachstum im betrachteten PPFD-Intervall bestimmt [164]. Es deutet sich eher an, dass unterschiedliche, limitierende Schritte die jeweiligen Wachstumsbereiche (lichtlimitierter und lichtgesättigter Bereich) definieren und sich in den entsprechenden Bereichen gegenseitig überlagern [164], da die beobachtete Wachstumskinetik (siehe Abbildung 4.1) qualitativ eher durch das Blackman-Modell [163] wiedergegeben werden kann. Eine mechanistische Begründung für das Blackman-Modell [163] besteht jedoch nicht, da bereits im lichtlimitierten Bereich eine sichtbare Abnahme der Wachstumseffizienz (Abnahme von  $y_{BTM,hv}^*$ ) stattfindet (siehe Abbildung 4.2). In [23] wurde unterstellt, dass der lichtlimitierte Bereich der Wachstumskurve durch die Lichtabsorptionskinetik der PSUs (entsprechend dem

Han-Modell [26,27]; vgl. Abschnitt 2.6.3) definiert wird, während ein anderer Reaktionsschritt im Metabolismus die Lichtabsorptionskinetik ab einer ausreichend hohen PPFD überlagert und so den Lichtsättigungsbereich bestimmt. Durch diese Modellannahmen konnte eine gute Übereinstimmung zwischen dem Modell und den experimentellen Daten erreicht werden, auch wenn die lichtabhängige Zellakklimation in diesem Modellansatz nicht explizit berücksichtigt wurde [23]. Hieraus resultiert jedoch die Frage, welcher Reaktionsschritt bzw. welche zelluläre Einschränkung das lichtgesättigte Zellwachstum von *C. vulgaris* im akklimatisierten Zustand letztendlich determiniert. In den nachfolgenden Abschnitten (inklusive Abschnitte 4.2, 4.3 und 4.4) wird unter anderem der Versuch unternommen, diese Frage zu klären.

## 4.1.2 Einfluss der Photonenflussdichte auf den Photosyntheseapparat

### 4.1.2.1 Lichtabhängige Variation des makroskopischen Pigmentgehaltes

Im vorherigen Abschnitt wurde der Einfluss der PPFD auf die makroskopische Wachstumsrate von *C. vulgaris* untersucht und diskutiert. Das photoautotrophe Wachstum ist unmittelbar von der Leistung des Photosyntheseapparates abhängig [155]. Daher ist es für das Verständnis des photoautotrophen Wachstums und der lichtabhängigen Zellakklimation essenziell, die zentralen Bestandteile der photosynthetischen ETK (vgl. Abschnitt 2.2) zu charakterisieren.

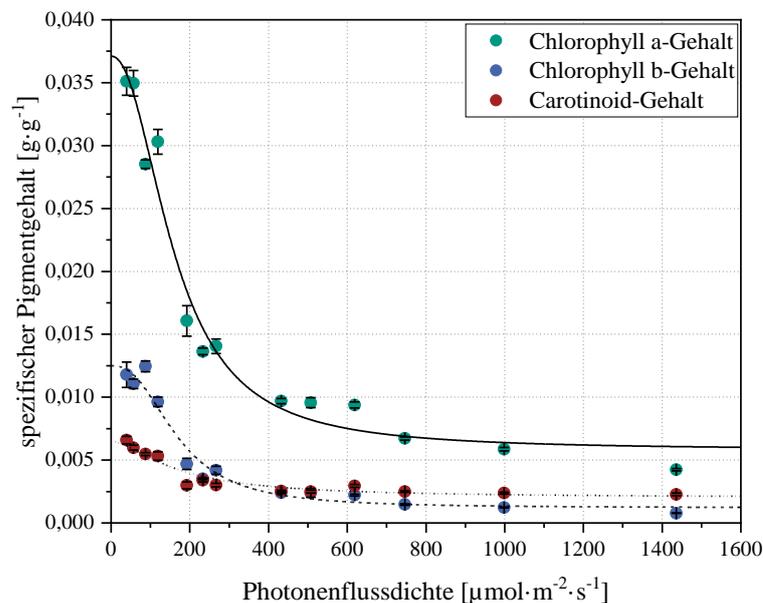


Abbildung 4.3: Die lichtabhängigen Verläufe der BTM-spezifischen Gehalte von Chla, Chlb und Car. Die durchgängige Linie entspricht der an den Chla-Gehalt angepassten logistischen Funktion (vgl. Gleichung 4.3). Dieselbe Gleichung wurde zusätzlich an den Chlb- (gestrichelte Linie) und Car-Gehalt (gepunktete Linie) angepasst. Die angepassten logistischen Funktionen dienen als Modellinput in Abschnitt 4.3.

Die Lichtabsorption am LHCII-RCII-Komplex bildet den ersten Schritt der Photosynthese (vgl. Abschnitt 2.2.2) [1]. Die Absorption der Photonen am LHCII-RCII-Komplex kann daher auch in Analogie zur heterotrophen Substrataufnahme gesehen werden, die letztlich das maximale

Wachstumspotential bestimmt [23]. Wie bereits in Abschnitt 4.1.1 dargelegt, hängt  $r_{abs,BTM}$  unmittelbar von der Lichtverfügbarkeit (entspricht im Mittel  $\bar{I}_{PAR}$ ) und  $\sigma_{BTM}$  ab (siehe Gleichung 4.1). Der Haupteinfluss auf  $\sigma_{BTM}$  resultiert aus der intrazellulären Pigmentkonzentration bzw. dem spezifischen Pigmentgehalt (vgl. Abschnitt 3.4.1). Die Zellmorphologie und -größe haben zwar ebenfalls einen Einfluss auf  $\sigma_{BTM}$  [229,294,298], deren Einfluss wird jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht umfassend untersucht. Zur Bestimmung von  $\sigma_{BTM}$  (siehe Abschnitt 4.1.2.4) wurden zunächst die makroskopischen Pigmentgehalte in Abhängigkeit der jeweiligen Akklimatisations-PPFD, nach der in Abschnitt 3.3.2 vorgestellten Methode, ermittelt. Die entsprechenden Messergebnisse können Abbildung 4.3 entnommen werden.

Zur Berücksichtigung der lichtabhängigen Variation des Pigmentgehaltes, als Teil der Zellakklimatisierung von *C. vulgaris*, im Modell zur Beschreibung der stationären Photosynthesekinetik (siehe Abschnitt 4.3) wurde, in Anlehnung an [29,161], eine logistische Funktion (vgl. Gleichung 4.3) gewählt und an die experimentellen Daten (vgl. Abbildung 4.3) angepasst. Es sei jedoch angemerkt, dass der gewählten Funktion in diesem Kontext keine mechanistische Basis unterstellt wird und diese Funktion lediglich der Glättung der experimentellen Daten sowie der Bereitstellung kontinuierlicher Werte als Modellinput (vgl. Abschnitt 4.3) dient.

$$w_i(\bar{I}_{PAR}) = w_{i,min} + \frac{w_{i,max} - w_{i,min}}{1 + \left(\frac{\bar{I}_{PAR}}{\bar{I}_{PAR,c}}\right)^p} \quad (4.3)$$

Hierbei ist  $w_i(\bar{I}_{PAR})$  der lichtabhängige, BTM-spezifische Pigmentgehalt ( $i$ : Chla, Chlb oder Car). Die Anpassungsparameter  $w_{i,min}$  und  $w_{i,max}$  stehen jeweils für den Mindestgehalt und den Maximalgehalt des jeweiligen Pigments. Der Anpassungsparameter  $\bar{I}_{PAR,c}$  beschreibt die Position des Wendepunktes der logistischen Funktion. Der letzte Anpassungsparameter  $p$  definiert, wie steil der Übergang zwischen  $w_{i,min}$  und  $w_{i,max}$  um den Wendepunkt bei  $\bar{I}_{PAR,c}$  ausfällt. Demnach kann  $p$  als eine Art Sensitivitätsparameter betrachtet werden, der mit steigender lichtbedingter Sensitivität der Zellen größer ausfällt (geringe Änderungen in  $\bar{I}_{PAR}$  bewirken große Änderungen in  $w_i(\bar{I}_{PAR})$  um  $\bar{I}_{PAR,c}$  herum). Die Werte der jeweiligen Parameter sowie die entsprechenden  $R^2$  sind in der nachfolgenden Tabelle 4.1 aufgelistet. Die nicht-lineare Regression erfolgte in MATLAB® (Version 2021b, The MathWorks Inc., Natick, USA) mit der Routine *lsqcurvefit* und dem *trust-region-reflective* Algorithmus.

Tabelle 4.1: Ermittelte Anpassungsparameter der logistischen Funktion (Gleichung 4.3) zur Beschreibung der stationären Pigmentgehalte in Abhängigkeit der PPFD.

Pigment	$R^2$	Modellparameter			
		$w_{i,min} [\text{g} \cdot \text{g}^{-1}]$	$w_{i,max} [\text{g} \cdot \text{g}^{-1}]$	$\bar{I}_{PAR,c} [\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}]$	$p [-]$
Chla	0,9746	0,0058	0,0371	160,7541	2,1638
Chlb	0,9647	0,0012	0,0125	168,7840	2,4594
Car	0,9243	0,0020	0,0065	169,4341	1,5902

In Abbildung 4.3 ist zu sehen, dass bei niedrigen PPFDs die höchsten Pigmentgehalte erreicht werden. Bei etwa  $39 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  betragen  $w_{Chla}$ ,  $w_{Chlb}$  und  $w_{Car}$  jeweils 0,0351, 0,0118 und

0,0066 g·g<sup>-1</sup>. Bei der PPFD von 57 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> bleiben diese Gehalte nahezu unverändert mit  $w_{Chla} = 0,0350$  g·g<sup>-1</sup>,  $w_{Chlb} = 0,0111$  g·g<sup>-1</sup> und  $w_{Car} = 0,0060$  g·g<sup>-1</sup>. Nach 57 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> ist eine deutliche Abnahme der Pigmentgehalte bis etwa 432 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> zu verzeichnen. Ab dieser PPFD nehmen die Pigmentgehalte, absolut gesehen, nur noch geringfügig ab. Diese stetige Abnahme des BTM-spezifischen Gehaltes ist jedoch weiterhin bei allen betrachteten Pigmenten zu erkennen. Über das gesamte PPFD-Intervall (39-1436 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>) nimmt  $w_{Chla}$  um 87,95 % (auf 0,0042 g·g<sup>-1</sup>) ab, während  $w_{Chlb}$  und  $w_{Car}$  um jeweils 93,39 und 65,50 % (auf jeweils 0,0008 und 0,0023 g·g<sup>-1</sup>) abnehmen. Die relative Abnahme von  $w_{Car}$  (65,50 %) fällt demnach geringer aus als die Abnahme von  $w_{Chla}$  und  $w_{Chlb}$  (87,95 und 93,39 %), was dementsprechend mit einer positiven Korrelation zwischen dem Car/Chl-Verhältnis und dem Anstieg der PPFD einhergeht.

Die gewählte logistische Funktion (Gleichung 4.3) scheint in der Lage zu sein, die jeweiligen Pigmentgehalte im betrachteten PPFD-Intervall zu beschreiben. Die ermittelten R<sup>2</sup> bei Chla und Chlb betragen stets über 0,95, was zunächst auf eine zufriedenstellende Beschreibung der Daten durch das gewählte Modell hindeutet (vgl. Tabelle 4.1). Im Falle von Car beträgt das R<sup>2</sup> hingegen lediglich 0,9243, was auf eine mäßige Beschreibung der experimentellen Daten durch die logistische Funktion hindeutet. Trotz dieses Ergebnisses wird dieses Modell auch zur Beschreibung der Car-Gehalte beibehalten. Bei der Betrachtung der Abbildung 4.3 fällt außerdem auf, dass ab einer PPFD von ca. 746 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> die gewählte Anpassungsfunktion sowohl  $w_{Chla}$  als auch  $w_{Chlb}$  durchgehend überschätzt, was insbesondere bei der PPFD von 1436 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> zu einer hohen relativen Abweichung von 42,18 % im Falle von  $w_{Chla}$  und von 54,04 % im Falle von  $w_{Chlb}$  führt. Daher ist davon auszugehen, dass die gewählte Anpassungsfunktion die experimentellen Daten bei sehr hohen PPFDs nur eingeschränkt repräsentieren kann und eher für Photoakklimatisationszustände bis etwa 746 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> geeignet ist.

Die in dieser Arbeit ermittelten BTM-spezifischen Chl-Gehalte liegen in der Summe zwischen 0,5-4,7 %. In [4,6] werden für *C. vulgaris* BTM-spezifische Chl-Gehalte im Bereich von 1-2 % angegeben. Damit sind die hier ermittelten Gehalte zwar deutlich über den Literaturdaten, jedoch bleibt es unklar, in welchen PPFD-Bereichen die Literaturangaben in [4,6] gelten. Im Gegensatz dazu wird in [140] angegeben, dass die BTM-spezifischen Chla-Gehalte bei an Schwachlicht-akklimatisierten Mikroalgen durchaus 4 % betragen können. Der maximale Chla-Gehalt in dieser Arbeit wurde bei 39 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> ermittelt und beträgt 3,51 % der totalen BTM. Damit liegt dieser Messwert innerhalb der Literaturangabe von [140]. Zudem konnten in [162] für *C. reinhardtii* BTM-spezifische Chl-Gehalte von bis zu 7 % erreicht werden. Es wird deshalb davon ausgegangen, dass die in dieser Arbeit erfassten Pigmentgehalte realistisch sind, da sie sich weitestgehend mit den Literaturdaten decken [140,162].

Wie bereits in Abschnitt 2.5.3 erläutert, gehört die Anpassung des Chl-Gehaltes zur Akklimatisationsantwort der Mikroalgen auf variierende PPFDs [180]. Als Teil der Zellakklimatisation kann diese Anpassung als der Versuch der Zelle verstanden werden, das Zellwachstum unter den gegebenen Bedingungen durch Optimierung des Kosten-Nutzen-Verhältnisses zu maximieren [156,180]. Im lichtlimitierten Bereich (vgl. Abbildung 4.1) wird das Wachstumspotential der Mikroalgenzelle logischerweise durch ihre Lichtabsorptionskapazität begrenzt [23]. Daher erscheinen die Steigerung des Pigmentgehaltes (vgl. Abbildung 4.3) und die dadurch bedingte Steigerung von  $\sigma_{BTM}$  naheliegend, um die PPFD-Abnahme so weit wie möglich auszugleichen und ein möglichst maximales  $r_{abs,BTM}$  (vgl. Gleichung 4.1) erreichen zu können. Hierbei ergibt

sich jedoch die Fragestellung, warum *C. vulgaris* scheinbar nicht in der Lage ist, den maximalen Pigmentgehalt im gesamten Bereich der Lichtlimitierung beizubehalten und warum der scheinbar maximale Pigmentgehalt ( $0,035 \pm 0,001 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  im Falle von Chla und  $0,011 \pm 0,001 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  im Falle von Chlb) bereits bei ca.  $57 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  erreicht und nicht noch zusätzlich bei geringeren PPFs gesteigert wird (vgl. Abbildung 4.3).

Es ist bekannt, dass die Chlorophyllsynthese unmittelbar mit der Proteinsynthese verknüpft ist, da die Chlorophylle in der Zelle nicht „lose“, sondern in Komplexen mit Proteinen (LHC-RC-Komplexe) vorkommen [126]. Die Synthese der LHC-RC-Komplexe ist mit einem erheblichen Energiebedarf in Form von ATP verbunden. Pro Mol synthetisiertes Protein bzw. Chlorophyll werden ca. 4,306 bzw. 2 Mol ATP benötigt [162]. Während diese ATP-Kosten unabhängig von der PPF hoch bleiben, sinkt der relative Nutzen eines neu synthetisierten LHC-RC-Komplexes mit steigender Anzahl dieser Komplexe aufgrund der daraus resultierenden Verstärkung des *self-shading* Effektes (vgl. Abbildung 2.10) [197,198]. Dementsprechend sollte sich das Kosten-Nutzen-Verhältnis eines LHC-RC-Komplexes mit steigender Komplexanzahl innerhalb des Chloroplasten zunehmend verschlechtern. Es ist daher denkbar, dass die Ausprägung des *self-shading* Effektes die Obergrenze für den physiologisch sinnvollen Pigmentgehalt mitbestimmt. Zudem könnte auch die „Platzverfügbarkeit“ in der Thylakoidmembran des Chloroplasten die Obergrenze für die maximale LHC-RC-Anzahl und damit den maximalen Pigmentgehalt determinieren [75,265]. In der Literatur wurde beobachtet, dass die Thylakoidmembran zu 70-80 % mit Proteinkomplexen bedeladen sein kann, was im Vergleich zu anderen natürlichen Membranen eine enorm hohe Proteinbeladung darstellt [75]. Unter der Berücksichtigung, dass trotz einer solch hohen Proteinbeladung die Diffusion der photosynthetischen ETK-Komponenten (vgl. Abbildung 2.3) gewährleistet werden muss, ist es unwahrscheinlich, dass wesentlich höhere Beladungsgrade der Thylakoidmembran physiologisch sinnvoll bzw. möglich wären [75,77]. Daher ist es denkbar, dass tatsächlich die Platzverfügbarkeit in der Thylakoidmembran die Obergrenze für die Anzahl der LHC-RC-Komplexe bzw. für den maximalen Pigmentgehalt der Mikroalgenzelle diktiert.

Jedoch gilt die Annahme der endlichen Platzverfügbarkeit innerhalb der Zelle bzw. des Chloroplasten theoretisch nur dann, wenn die Zellgröße nicht beliebig variiert werden kann (vgl. Abschnitt 2.6.4) [258,270]. Es bestehen mehrere Gründe dafür, dass eine Zelle nicht beliebig anwachsen kann. Wie in [265] erläutert, hängt der Stoffaustausch mit der Umgebung unter anderem von der Zelloberfläche ab, während die intrazellulären Diffusionswege vom Zellvolumen abhängig sind. Da das Zellvolumen kubisch mit dem Zellradius zunimmt, während die Zunahme die Zelloberfläche mit dem Quadrat des Zellradius erfolgt, ergibt sich bei großen Zellen ein unvorteilhaftes Volumen/Oberflächenverhältnis, das zu einem schlechten Stoffaustausch mit der Umgebung und langsamen Reaktionen innerhalb der Zelle aufgrund der langen Diffusionswege führt [265]. Hinzu kommt auch, dass die größeren Zellen imstande sein müssen, den mechanischen Belastungen (bspw. durch Umwälzung des Umgebungsmediums) und dem osmotischen Druck zu widerstehen [268]. Daher geben die mechanischen Eigenschaften der Zellwand ebenfalls eine biologische Obergrenze für die Zellgröße vor. Zudem birgt eine Zunahme der Zellgröße eine simultane Zunahme des *self-shading* Effektes [197]. Es ist daher plausibel anzunehmen, dass die Zellgröße nur in einem engen Rahmen variieren kann und letztlich einen Kompromiss zwischen der Platzverfügbarkeit für die internen Zellkomponenten,

der Vermeidung eines ausgeprägten *self-shading* Effektes, dem Stofftransport sowie der mechanischen Belastbarkeit darstellt. Jedoch muss auch erwähnt werden, dass die hier vorgestellten Punkte lediglich einen Bruchteil der möglichen Einflüsse auf die Zellgröße und -form darstellen, die sehr stark in Abhängigkeit der Spezies und ihrem natürlichen Habitat variieren können [1,265,268].

Die Annahme einer begrenzten Zellgröße und eines endlichen Proteoms [265] liefert weiterhin eine mögliche Erklärung für die Abnahme des Pigmentgehaltes mit steigender PPFD (vgl. Abbildung 4.3). Wie zuvor in Abschnitt 2.6.4 erläutert, wird dabei die Hypothese aufgestellt, dass die Zelle die Platzverfügbarkeit für die Proteine stets vollständig ausschöpft und somit einen konstanten Proteinpool aufweist, dessen Fraktionen bedingungsabhängig variieren können [258,265,270,270]. Inwieweit dies auch im Falle des hier untersuchten *C. vulgaris* Stammes gilt und welche Auswirkungen diese Annahme auf den Photosyntheseapparat hat, wird jeweils ergänzend in den Abschnitten 4.1.3 und 4.4 untersucht. Das Postulieren eines endlichen Proteoms impliziert, dass eine Proteinfraction zwangsläufig abnehmen muss, wenn eine andere zunimmt [265]. Wenn man davon ausgeht, dass im akklimatisierten Zustand die Menge der metabolischen Proteine so eingestellt wird, dass sie gerade so ausreicht, um die Elektronen aus der Photosynthese im Metabolismus prozessieren zu können (Photostasis) [320], müsste bereits im lichtlimitierten Bereich der Anteil der photosynthetischen Proteine abnehmen und der Anteil der metabolischen Proteine zunehmen, um höhere  $\mu$  (vgl. Abbildung 4.1) zu ermöglichen [151,258,265]. Die Abnahme der Menge der LHC-RC-Komplexe in der Zelle würde dementsprechend auch mit der Abnahme der Pigmentgehaltes einhergehen [140], wie in Abbildung 4.3 zu sehen.

Die bisher diskutierten Aspekte beschränken sich hauptsächlich auf den lichtlimitierten Bereich. Im lichtgesättigten Bereich ist keine weitere Zunahme von  $\mu$  zu sehen (vgl. Abbildung 4.1), trotzdem kann in diesem Bereich eine fortlaufende Abnahme des Pigmentgehaltes beobachtet werden (vgl. Abbildung 4.3). Bei der Modellierung des photoautotrophen Wachstums von *Synechocystis spp.* unter der Annahme der optimalen Allokation eines endlichen Proteoms (vgl. Abschnitt 2.6.4) in [258] konnte dieses Verhalten durch den zusätzlichen Einbezug der Photoinhibition erklärt werden. Es wird postuliert, dass durch eine verstärkte Photoinhibition bei hohen, sättigenden PPFDs [61,62] mehr zelluläre Ressourcen für die Reparatur des D1-Proteins im LHCII-RCII-Komplex [208,210] (vgl. Abschnitt 2.2.2) gebunden werden, sodass trotz einer Abnahme der Menge photosynthetischer Proteine und einer gleichzeitigen Zunahme der Menge metabolischer Proteine kein zusätzliches Netto-Wachstum realisiert werden kann [258].

Insgesamt sollte jedoch zur Kenntnis genommen werden, dass die hier diskutierten Ursachen für das in Abbildung 4.3 beobachtete Akklimationsverhalten von *C. vulgaris* lediglich als mögliche Anhaltspunkte für weitere Forschungsarbeiten festgehalten werden sollten.

#### **4.1.2.2 Untersuchung der lichtabhängigen Akklimationsstrategie in Bezug auf die Änderung der Größe und Anzahl der jeweiligen LHC-RC-Komplexe**

Neben der absoluten Abnahme der Pigmentgehaltes wird in Chlorophyta auch eine lichtabhängige Variation des Chla/Chlb-Verhältnisses beobachtet [180,199,205,248]. Wie bereits in Abschnitt 2.5.3 erläutert, deutet eine Variation des Chla/Chlb-Verhältnisses auf eine Umstrukturierung des Photosyntheseapparates hin. In Abschnitt 3.4.2 wurde dargestellt, dass Chlorophyta

allgemein ihr RCI/RCII-Verhältnis scheinbar unabhängig von der Lichtintensität nahe Eins konstant halten bzw. nur in einem sehr geringen Maße variieren [1,199,206,305]. Mit einem RCI/RCII-Verhältnis zwischen 1,1-1,25 scheint *C. vulgaris* in dieser Hinsicht keine Ausnahme zu bilden [202]. Daraus wird abgeleitet, dass die beobachtete Variation im Chla/Chlb-Verhältnis von *C. vulgaris* (vgl. Abbildung 4.4.A), vereinfacht betrachtet, nicht durch die Änderung des RCI/RCII-Verhältnisses verursacht wird. Außerdem wird, basierend auf den experimentellen Ergebnissen von [202], vereinfacht ein konstantes RCI/RCII-Verhältnis von 1,1 angenommen (vgl. Abschnitt 3.4.2).

Der zweite Effekt, der zu einer Variation des Chla/Chlb-Gehaltes führen kann, ist eine Umstrukturierung der LHC-RC-Komplexe. In beiden Photosystemen der Chlorophyta kommt das Chlb hauptsächlich in den LHCs vor. Das RCII, inklusive der inneren Antennenkomplexe CP26, CP29, CP43 und CP47, enthält insgesamt 61 Chlorophylle, von denen 54 Chla und nur 7 Chlb sind [93]. Das RCI enthält hingegen ausschließlich (etwa) 100 Chla-Moleküle [1,36,81]. Im Vergleich dazu enthält ein LHCI-Trimer insgesamt 42 Chlorophylle, von denen 24 Chla und 18 Chlb sind [93]. Die LHCI-Monomere enthalten im Durchschnitt 9,6 Chla und 4,4 Chlb (Werte aus den Daten von [81,106–109] abgeleitet). Eine Zunahme des Chla/Chlb-Verhältnisses (vgl. Abbildung 4.4.A) würde eine Abnahme der Größe des jeweiligen LHC-RC-Komplexes bedeuten. Im Umkehrschluss würde eine Abnahme des Chla/Chlb-Verhältnisses eine Zunahme der Größe des jeweiligen Antennenkomplexes bedeuten.

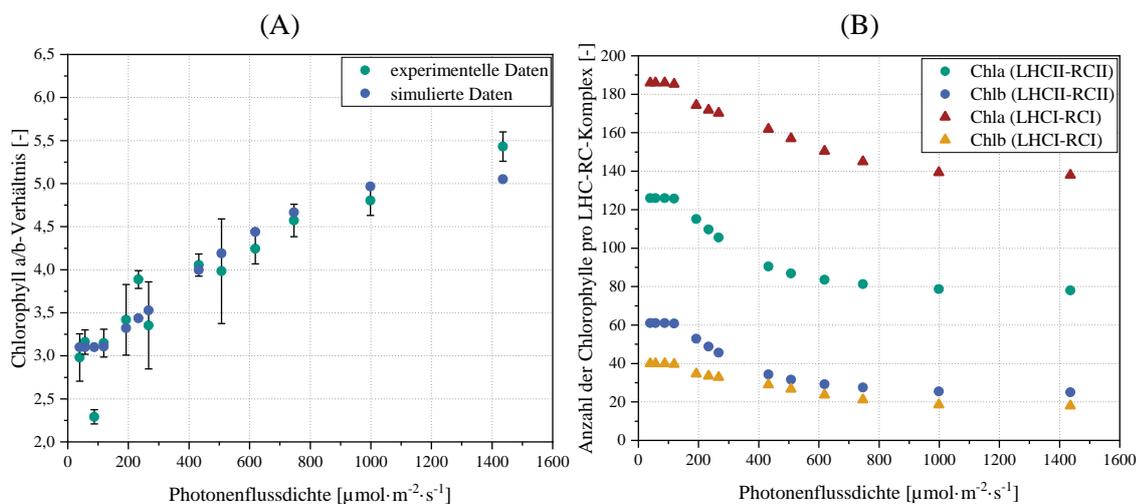


Abbildung 4.4: Lichtabhängige Variation des  $w_{\text{Chla}}/w_{\text{Chlb}}$ -Verhältnisses und der jeweiligen LHC-RC-Komplexgröße in *C. vulgaris*. (A) Experimentell bestimmte Chla/Chlb-Massenverhältnisse zusammen mit den basierend auf den Ergebnissen in (B) berechneten Chla/Chlb-Verhältnissen (vgl. Gleichung 3.28 in Abschnitt 3.4.2). (B) Entsprechend der Methode in Abschnitt 3.4.2 berechnete LHCI-RCII- und LHCI-RCI-Komplexgrößen in Abhängigkeit der Akklimations-PPFD. Basierend auf der Literatur ist davon auszugehen, dass die LHC-RC-Komplexe nicht homogen und damit auch nicht alle gleich groß sind [95,203]. Somit zeigt die Abbildung (B) jeweils die durchschnittliche Größe der LHC-RC-Komplexe. Dementsprechend kann auch das in (A) berechnete Chla/Chlb-Verhältnis als das durchschnittliche, makroskopisch sichtbare Verhältnis angesehen werden.

In Abbildung 4.4.A sind die aus den experimentellen Daten in Abbildung 4.3 ermittelten Chla/Chlb-Massenverhältnisse ( $w_{\text{Chla}}/w_{\text{Chlb}}$ ) abgebildet. In Abbildung 4.4.B sind die nach der

Methode in Abschnitt 3.4.2 bestimmten (MATLAB®-Skript ist in Anhang A.8 hinterlegt) LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexgrößen dargestellt. Die daraus resultierenden Chla/Chlb-Massenverhältnisse sind zum Vergleich mit den experimentell bestimmten Verhältnissen in Abbildung 4.4.A aufgetragen. Für alle modellbasierten Berechnungen wurden die mittels Gleichung 4.3 (Parameter siehe Tabelle 4.1) bestimmten  $w_{Chla}$ - und  $w_{Chlb}$ -Werte herangezogen.

In Abbildung 4.4.A ist zu erkennen, dass bei den PPFs zwischen 39-119  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  das experimentelle Chla/Chlb-Verhältnis ein Plateau bei etwa  $3,1 \pm 0,1$  aufweist und danach stetig ansteigt (das ausreißende Chla/Chlb-Verhältnis bei 87  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wurde bei der Berechnung dieses Mittelwertes ausgelassen). Unter der Annahme der größtmöglichen LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexe (vgl. Abschnitt 3.4.2) und eines RCI/RCII-Verhältnisses von 1,1 ergibt sich, entsprechend Gleichung 3.28, ebenfalls ein Chla/Chlb-Massenverhältnis von etwa 3,1. Demnach ist davon auszugehen, dass bei diesen geringen PPFs beide Photosysteme die größtmöglichen Antennenkomplexe aufweisen, was in Abbildung 4.4.B deutlich zu erkennen ist. Ab einer PPF von 119  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist eine durchgehende Abnahme der Größe von LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexen zu beobachten, wobei die größte Abnahme bis etwa 619  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  stattfindet. Danach nähern sich die jeweiligen Komplexgrößen langsam dem kleinstmöglichen Größenzustand an. Weiterhin ist in Abbildung 4.4 zu erkennen, dass die berechneten Chla/Chlb-Verhältnisse durchweg gut mit den experimentell bestimmten Verhältnissen übereinstimmen. Eine größere Abweichung zwischen den Ergebnissen ist lediglich bei der höchsten PPF von 1436  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zu verzeichnen. Die experimentellen Datenpunkte bei den beiden PPFs von 87 und 233  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  werden als Ausreißer gewertet, da sie auch vom restlichen Verlauf der experimentellen Daten abweichen. Zur Quantifizierung der Abweichung zwischen den experimentellen und modellbasierten Chla/Chlb-Massenverhältnissen wurden die in Tabelle 4.2 aufgeführten statistischen Parameter berechnet.

Tabelle 4.2: Auflistung statistischer Parameter zur Quantifizierung der Abweichung zwischen experimentellen und berechneten Chla/Chlb-Verhältnissen.

Statistischer Parameter	Wert
$R^2$ [-]	0,8640
RMSE [-]	0,3015
nRMSE [%]	7,95
MBE [-]	0,0523
nMBE [%]	1,38

Mit einem Wert von 0,8640 fällt das  $R^2$  niedrig aus, was zunächst eine unzureichende Beschreibung der experimentellen Daten durch die modellbasierten Daten impliziert. Dies könnte vor allem durch die beiden experimentellen Ausreißer sowie die Überschätzung der experimentellen Werte im Bereich zwischen 267-999  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  resultieren. Bei der Betrachtung der restlichen statistischen Kennzahlen fällt auf, dass diese gering ausfallen, was für eine gute Übereinstimmung zwischen der kalkulierten Werten und den experimentellen Werten spricht. Der nRMSE ist mit 7,95 %, trotz der Ausreißer und der größeren Abweichung bei 1436  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , vergleichsweise gering. Der nMBE von 1,38 % zeigt, dass die berechneten Chla/Chlb-Verhältnisse im Durchschnitt um diesen Betrag von den experimentellen Daten abweichen, was auf eine sehr

gute Übereinstimmung zwischen den experimentellen und berechneten Werten hindeutet. Lediglich das Chla/Chlb-Verhältnis bei  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  scheint durch die getroffenen Annahmen (siehe Abschnitt 3.4.2) nicht gut beschrieben zu werden. Wie in Abbildung 4.4.B zu erkennen, wird bei  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bereits die minimale Größe der LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexe erreicht, sodass das Chla/Chlb-Verhältnis definitionsbedingt (vgl. Abschnitt 3.4.2) nicht mehr ansteigen kann. Beim experimentell ermittelten Verlauf in Abbildung 4.4.A ist jedoch ein weiterer Anstieg zu verzeichnen. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass entweder beide Photosysteme oder zumindest eines der beiden Photosysteme einen noch kleineren Antennenkomplex aufweisen kann. Außerdem wurde vereinfacht angenommen (vgl. Abschnitt 3.4.2), dass das RCI/RCII-Verhältnis stets konstant 1,1 beträgt. In der Realität werden jedoch geringfügige Variationen dieses Verhältnisses beobachtet, die zu einer zusätzlichen Variation des Chla/Chlb-Verhältnisses beitragen können [1,199,202,206,305]. Eine Verschiebung des RCI/RCII-Verhältnisses zu Gunsten von RCI würde einen gleichzeitigen Anstieg im Chla/Chlb-Verhältnis bedeuten (vgl. Abschnitte 2.2.2 und 3.4.2).

Um die Zuverlässigkeit der in Abbildung 4.4.B präsentierten Ergebnisse zu überprüfen, wurden die berechneten Werte mit Literaturdaten verglichen. Da die Mikroalgen allgemein unterschiedliche Akklimatisationsstrategien verfolgen [212], wurde darauf geachtet, dass nach Möglichkeit Literaturdaten für *C. vulgaris* oder zumindest für möglichst nahverwandte Grünalgen herangezogen werden. Dies hat jedoch die Menge der Literaturdaten, auf die zurückgegriffen werden konnte, deutlich eingeschränkt und damit die Verifizierung der in Abschnitt 3.4.2 vorgestellten Methode erschwert.

In [248] konnten die Autoren bei den beiden PPFDs<sup>1</sup> von  $36,8$  und  $1150 \pm 230 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  jeweils  $232,5 \pm 27,7$  und  $140 \pm 10$  Chlorophylle pro LHCII-RCII-Komplex in *C. vulgaris* messen. Im Vergleich dazu wurde in dieser Arbeit berechnet, dass ein durchschnittlicher LHCII-RCII-Komplex bei einer PPFd von  $39 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$   $187$  Chlorophylle enthält, was in der Modellvorstellung (vgl. Abschnitt 3.4.2) und basierend auf den experimentellen Daten von [93,95] dem größtmöglichen LHCII-RCII-Komplex (drei LHCII-Trimere pro RCII) entspricht. Bei hohen PPFds zwischen  $999$ - $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wurden Anzahlen von  $104$ - $103$  Chlorophyllen pro LHCII-RCII-Komplex berechnet. Damit weichen die berechneten Ergebnisse jeweils um etwa  $24,33 \pm 12,11$  % (bei der niedrigen PPFd) und  $35,27 \pm 7,89$  % (bei der hohen PPFd) von den experimentellen Daten in [248] ab. Interessanterweise wurde in [202], trotz der gleichen Messmethode wie in [248], eine LHCII-RCII-Komplexgröße von ca.  $330$  Chlorophyllen bei einer PPFd von  $133 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  erfasst. Dieser Wert liegt dabei deutlich über dem Wert von ca.  $232,5$  Chlorophyllen pro LHCII-RCII-Komplex, der in [248] für eine Akklimatisations-PPFD von  $36,8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bestimmt wurde. Damit stehen diese experimentellen Ergebnisse [202,248] im Widerspruch zueinander. Diese Diskrepanz wird in [202] zum Teil durch die Optimierung des Messaufbaus begründet. Eine weitere Ausführung bzw. Diskussion dieser Abweichung findet jedoch nicht statt. Es ist daher kaum möglich, diese Abweichung retropektiv zu erklären. Auffällig ist zudem, dass auch die LHCI-RCI-Komplexgröße mit ca.  $340$  Chlorophyllen (PPFD:  $133 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) in [202] deutlich größer ausfällt als die in [205,321]

---

<sup>1</sup> Die von den Autoren angegebenen PPFd-Werte in  $\text{erg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wurden in  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  umgerechnet (Umrechnungsfaktor:  $1 \text{ erg}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1} = 4,6 \cdot 10^{-3} \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ).

erfasste LHCI-RCI-Komplexgröße von 265 Chlorophyllen (PPFD:  $36,8 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Auch hier wurde von den Autoren die gleiche Messmethode angewandt und der gleiche Organismus, nämlich *C. vulgaris*, untersucht [202,205,321]. In dieser Arbeit beinhaltet der LHCI-RCI-Komplex bei der Akklimations-PPFD von  $39 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  226 Chlorophyllen, damit weicht dieser Wert um 17,26 % vom experimentellen Wert aus [205,321] ab.

An dieser Stelle sei außerdem erwähnt, dass in [248] bei  $0,67 \pm 0,25 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  eine LHCII-RCII-Komplexgröße von  $390 \pm 10$  Chlorophyllen für *C. vulgaris* erfasst werden konnte. Unter der Berücksichtigung, dass der Lichtkompensationspunkt von *C. vulgaris* üblicherweise im Bereich von ca.  $5\text{-}10 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (vgl. Abschnitt 4.1.1) liegt, bleibt unklar, wie *C. vulgaris* in [248] bei etwa  $0,67 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  dauerhaft kultiviert werden konnte. Dementsprechend bleibt ebenfalls unklar, ob die resultierende LHCII-RCII-Komplexgröße möglicherweise nur einen Messartefakt darstellt. Gleiches gilt für die LHCII-RCII-Komplexgröße von 570 Chlorophyllen sowie die LHCI-RCI-Komplexgröße von 540 Chlorophyllen, die für an etwa  $2,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  akklimatisierte *C. vulgaris* Zellen in [202] erfasst wurden.

Ausgehend von den Ergebnissen in Abbildung 4.4.B sowie den  $w_{Chla}$ - und  $w_{Chlb}$ -Werten aus Gleichung 4.3 (Parameter siehe Tabelle 4.1) war es außerdem möglich, die BTM-spezifische Anzahl der LHCII-RCII- sowie LHCI-RCI-Komplexe zu bestimmen. Unter der Annahme einer konstanten Zellgröße von  $2,72 \mu\text{m}$  (vgl. Anhang A.5) und einer konstanten Biomassedichte von  $1088 \text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$  (vgl. Abschnitt 3.4.1) war es zudem möglich die zellspezifische Anzahl der beiden photosynthetischen Komplexe zu berechnen. Die Mikroalgenzellen wurden dabei vereinfacht als Kugeln mit einem Volumen von  $8,43\cdot 10^{-17} \text{m}^3$  betrachtet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.5 dargestellt.

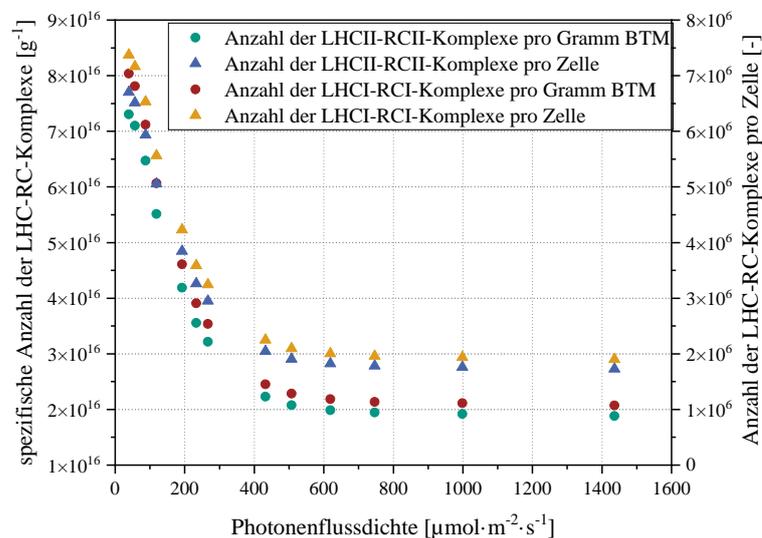


Abbildung 4.5: Anzahl der jeweiligen LHC-RC-Komplexe in Abhängigkeit der vorliegenden PPFD. Zur Berechnung der gezeigten Daten wurden die mittels Gleichung 4.3 berechneten  $w_{Chla}$  und  $w_{Chlb}$  verwendet. Dargestellt ist die spezifische Anzahl der jeweiligen LHC-RC-Komplexe pro Gramm BTM und die Anzahl der jeweiligen LHC-RC-Komplexe pro Zelle. Die Anzahl der LHC-RC-Komplexe pro Zelle wurde basierend auf der spezifischen Anzahl und einem approximierten Zellgewicht berechnet. Zur Berechnung des Zellgewichtes wurde die Zelle als eine Kugel mit einem Volumen von  $8,43\cdot 10^{-17} \text{m}^3$  (vgl. Anhang A.5) und einer Biomassedichte von  $1088 \text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$  (vgl. Abschnitt 3.4.1) angenommen.

Wie in Abbildung 4.5 zu sehen ist, nimmt die Anzahl der photosynthetischen Komplexe mit steigender PPFd stetig ab. Die größte Abnahme ist dabei bis etwa  $507 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zu verzeichnen. Danach weist die absolute Abnahme der Anzahl der LHC-RC-Komplexe eine geringere Ausprägung auf. Die BTM-spezifischen Anzahlen der LHCII-RCII-Komplexe bewegen sich in einem Rahmen zwischen  $7,31\cdot 10^{16}$ - $1,88\cdot 10^{16} \text{ g}^{-1}$ . Die BTM-spezifischen Anzahlen der LHCI-RCI-Komplexe sind definitionsbedingt stets um Faktor 1,1 höher (vgl. Abschnitt 3.4.2) und liegen in einem Bereich zwischen  $8,04\cdot 10^{16}$ - $2,07\cdot 10^{16} \text{ g}^{-1}$ . Da vereinfacht eine konstante Zellgröße und eine konstante Biomassedichte angenommen wurden, verhalten sich die zellspezifischen Anzahlen der photosynthetischen Komplexe qualitativ analog zu den BTM-spezifischen Anzahlen. Demnach enthält *C. vulgaris* je nach lichtabhängigem Akklimatisationszustand zwischen  $6,70\cdot 10^6$ - $1,73\cdot 10^6$  LHCII-RCII-Komplexe und  $7,37\cdot 10^6$ - $1,90\cdot 10^6$  LHCI-RCI-Komplexe pro Mikroalgenzelle.

Zum Abgleich der Ergebnisse in Abbildung 4.5 wurden ebenfalls Literaturwerte von mehreren Chlorophyta herangezogen. In [199] wurden die zellspezifischen Anzahlen beider RCs für die Grünalge *Dunaliella tertiolecta* bei 45 und  $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bestimmt. Bei  $45 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  betrug die zellspezifische Anzahl der LHCII-RCII-Komplexe  $3,25\cdot 10^6$ , die analoge Anzahl der LHCI-RCI-Komplexe betrug dabei  $3,67\cdot 10^6$  [199]. Bei  $600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wurden geringere zellspezifische Anzahlen von  $1,14\cdot 10^6$  im Falle der LHCII-RCII-Komplexe und  $1,32\cdot 10^6$  im Falle der LHCI-RCI-Komplexe erfasst [199]. In [105] wurden die zellspezifischen Anzahlen der photosynthetischen Komplexe in einem PPFd-Bereich zwischen  $80$ - $1900 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ebenfalls für *D. tertiolecta* bestimmt. Dabei wurde für die zellspezifische Anzahl der LHCII-RCII-Komplexe ein Wertebereich zwischen  $4,16\cdot 10^5$ - $1,75\cdot 10^6$  ermittelt, während sich die zellspezifischen Anzahlen der LHCI-RCI-Komplexe in einem Intervall zwischen  $5,54\cdot 10^5$ - $2,41\cdot 10^6$  bewegten [105]. Für einen Wildtyp von *C. reinhardtii* im TAP-Medium (vgl. Abschnitt 3.1.1) und einer PPFd von  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  konnte eine zellspezifische RCI-Anzahl von  $4,52\cdot 10^6$  ermittelt werden [322]. Im Gegensatz dazu wurden in [202] bei einer PPFd von  $133 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  lediglich  $3,54\cdot 10^5$  RCIIs und  $7,48\cdot 10^5$  RCIs pro Zelle von *C. vulgaris* erfasst.

Hierbei sei jedoch angemerkt, dass in [202] sowohl die jeweiligen LHC-RC-Komplexgrößen als auch die PSU-Größen deutlich höher ausfallen als in der restlichen untersuchten Literatur [105,199,212,248,322]. Aufgrund der Tatsache, dass die Anzahl der photosynthetischen Komplexe normalerweise aus der spezifischen Anzahl der Chlorophyllmoleküle und der Größe der LHC-RC-Komplexe bzw. der PSU berechnet wird, fallen die Anzahlwerte im Falle hoher Größenwerte automatisch geringer aus. Aufgrund der großen Schwankungen zwischen den experimentellen Literaturwerten ist eine eindeutige Aussage bezüglich der Plausibilität der in Abbildung 4.5 dargestellten Ergebnisse kaum möglich. Die zellspezifischen RCII- und RCI-Anzahlen über  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  liegen innerhalb der hier vorgestellten Literaturwerte. Bei PPFds unter  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  liegen die in Abbildung 4.5 dargestellten Werte hingegen deutlich über den Literaturdaten.

Weiterhin sollte beachtet werden, dass die hier berechneten LHC-RC-Komplexgrößen prinzipiell den physiologischen Komplexgrößen [93,95,106,107] entsprechen sollten. Die mithilfe der Messung der PSU-Größe [105,199] (nach der Definition von Emerson und Arnold [246,247]; vgl. Abschnitt 2.6.3) ermittelten LHC-RC-Komplexgrößen stellen hingegen die effektiven bzw. funktionalen Komplexgrößen dar. Es wird daher vermutet, dass diese Messungen durch Fakto-

ren wie bspw. Lichtgradient innerhalb des Messraumes, optische Zelleigenschaften (inklusive dem *self-shading* Effekt) sowie NPQ-Aktivität beeinflusst werden. Die Bestimmung der Komplexgrößen über die Messung der Fluoreszenzinduktionskinetik liefert ebenfalls nur die funktionale bzw. effektive LHC-RC-Komplexgröße [322]. Theoretisch sollte sich die Steigerung des Einflusses solcher Faktoren, die zu einer Abnahme in der Chlorophyll-spezifischen Effizienz der Photochemie führen (bspw. erhöhte NPQ-Aktivität oder erhöhter *self-shading* Effekt), in einer Zunahme der PSU-Größe äußern, da dadurch weniger Chlorophylle effektiv zur Freisetzung eines O<sub>2</sub>-Moleküls beitragen würden. Entsprechend der klassischen Definition einer PSU (vgl. Abschnitt 2.6.3) würde in einem solchen Fall die effektive PSU-Größe steigen, auch wenn die tatsächliche, physiologische PSU- bzw. LHC-RC-Größe konstant bleibt. Entsprechend den Ausführungen würde bspw. eine Erhöhung des *self-shading* Effektes zwangsläufig zu einer Erhöhung der PSU-Größe beitragen. Die Ausprägung des *self-shading* Effektes kann unter anderem durch die Steigerung des Pigmentgehaltes [197,219] erhöht werden. Der Pigmentgehalt einer Zelle kann prinzipiell auch allein durch die Zunahme der Anzahl der photosynthetischen Komplexe (ohne eine simultane Änderung der Komplexgrößen) gesteigert werden. Die dadurch gesteigerte Ausprägung des *self-shading* Effektes könnte demnach zur Steigerung der effektiven PSU-Größe und einer Überschätzung der tatsächlichen, physiologischen PSU-Größe führen. Es sollte beachtet werden, dass dies lediglich eine theoretische Überlegung ist und es weiterhin unklar bleibt, wie hoch der Einfluss solcher Phänomene auf die experimentell ermittelten, effektiven PSU-Größen ausfällt und um welchen Betrag die physiologische PSU-Größe dadurch überschätzt werden kann. Nichtsdestotrotz ist davon auszugehen, dass die effektive LHC-RC-Komplexgröße tendenziell größer ausfällt als die tatsächliche, physiologische LHC-RC-Komplexgröße. Die Berechnung der LHC-RC-Anzahl ausgehend von der spezifischen Anzahl der Chlorophyllmoleküle und der effektiven LHC-RC-Komplexgröße würde im Umkehrschluss tendenziell zu einer Unterschätzung der tatsächlichen Anzahl der LHC-RC-Komplexe führen.

Die Betrachtung der in diesem Abschnitt vorgestellten Ergebnisse führt zu der Annahme, dass der untersuchte *C. vulgaris* Stamm scheinbar eine Mischstrategie [29] (vgl. Abschnitt 2.5.3) in Bezug auf die Anzahl und Größe der LHC-RC-Komplexe verfolgt. Insgesamt scheint die Akklimatisationsstrategie komplexer zu sein als eine stetige, durch den Anstieg der PPFD verursachte Reduktion der Anzahl und Größe der photosynthetischen Komplexe. Wie in Abbildung 4.4.B zu sehen ist, bleibt die durchschnittliche Größe beider LHC-RC-Komplexe zwischen 39-119  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nahezu konstant, die Anzahl der photosynthetischen Komplexe nimmt hingegen stetig ab (siehe Abbildung 4.5). Insgesamt erscheint es plausibel, dass die Mikroalgenzellen die LHC-RC-Komplexgröße so lange maximal halten, bis deutliche Energieverluste zu verzeichnen sind. In Abbildung 4.2.A ist zu erkennen, dass zwischen 39-119  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  die Werte von  $y_{BTM,hv}^*$  tendenziell eher geringfügig abnehmen und ungefähr zwischen 1,043-1,005  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  liegen, zumindest wenn die Punkte bei 87 und 119  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  als experimentelle Ausreißer betrachtet werden. Ein Vorteil der größtmöglichen LHCII-RCII-Komplexe (drei LHCII-Trimere pro RCII [93,95]) liegt unter anderem in der deutlich höheren Beladung der Proteine mit Chlorophyllen als im kleinstmöglichen Zustand (ein LHCII-Trimer pro RCII [203]). Der Proteinkomplex aus einem RCII und drei LHCII-Trimeren enthält 0,26 Chlorophylle pro kDa Protein. Im Vergleich dazu enthält der Komplex aus einem RCII und einem LHCII-Trimer lediglich 0,18 Chlorophylle pro kDa. Im größtmöglichen Zustand des LHCII-RCII-

Komplexes kann also tendenziell mehr Licht pro Proteinmasse absorbiert werden. Ähnlich verhält es sich auch im Falle der LHCI-RCI-Komplexe. Der größte LHCI-RCI-Komplex, der aus einem RCI und neun LHCI-Monomeren besteht [106,107], enthält 0,39 Chlorophylle pro kDa Protein, während der kleinstmögliche LHCI-RCI-Komplex, der schätzungsweise aus einem RCI und nur vier LHCI-Monomeren besteht [204] (vgl. Abschnitt 3.4.2), hingegen nur 0,35 Chlorophylle pro kDa Protein aufweist. Die jeweiligen Massen der Proteinkomplexe wurden anhand der Daten in Anhang A.7 berechnet. Daraus ist zu erkennen, dass die Chlorophyll-spezifischen Proteinsynthesekosten bei den größeren Komplexen geringer ausfallen dürften. Zudem ist es denkbar, dass größere LHC-RC-Komplexe höhere Chlorophyll-dichten im Chloroplasten ermöglichen, was bei limitierten Platzverhältnissen in der Thylakoidmembran [75] und geringen PPFDs vorteilhaft sein dürfte, da so eine möglichst vollständige Absorption der auftretenden Photonen realisiert werden könnte. Bei steigenden PPFDs könnte jedoch dieser Vorteil zu einem Nachteil werden, da unter gleichen Bedingungen größere LHC-RC-Komplexe eine höhere Photonenabsorptionswahrscheinlichkeit als kleinere LHC-RC-Komplexe aufweisen. Mit dem Anstieg der PPFd steigt auch die Wahrscheinlichkeit, dass ein bereits angeregter LHC-RC-Komplex ein weiteres, überschüssiges Photon absorbiert, dessen Energie entweder dissipiert werden muss oder sogar zur Ausbildung von ROS und dadurch zur Photoinhibierung führen kann [61,62]. Deshalb kann es für die Mikroalgenzelle sinnvoll sein, die LHC-RC-Komplexgröße ab einer bestimmten PPFd zu reduzieren, was in Abbildung 4.4.B scheinbar ab ca.  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  eintritt. Gleichzeitig ist Abbildung 4.2.A nach  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (möglicherweise jedoch bereits ab  $87\text{-}119 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) eine Abnahme der  $y_{BTM,lv}^*$ -Werte zu erkennen, was unter Einbezug der Ergebnisse in Abbildung 4.4.B dafür spricht, dass die Mikroalgenzelle versucht, die auftretenden Energieverluste durch die Reduktion der LHC-RC-Komplexe möglichst zu reduzieren. Die Reduktion der Größe der LHC-RC-Komplexe sollte tendenziell zu einer geringeren Auslastung der einzelnen LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexe führen.

Die beobachtete Abnahme der Anzahl der photosynthetischen Komplexe mit steigender PPFd ist wahrscheinlich das Resultat des begrenzten Proteoms [151,258,265] in *C. vulgaris* (siehe Diskussion in Abschnitt 4.1.2.1) und der sogenannten Photostasis, die die Ausbalancierung zwischen der photosynthetischen Einspeisung von Elektronen und der enzymatischen Prozessierung dieser Elektronen im nachgeschalteten Metabolismus darstellt [320].

#### 4.1.2.3 Verifizierung der Bestimmungsmethode des *in vivo* Absorptionsquerschnittes mittels Lorenz-Mie-Theorie im Falle von *Chlorella vulgaris*

Die Kenntnis über den *in vivo* Absorptionsquerschnitt ist essenziell für die Evaluierung und Modellierung der Photosynthese, da der Absorptionsquerschnitt die Wechselwirkung zwischen dem Photosyntheseapparat und der auftretenden PPFd definiert und nur absorbierte Photonen zu photosynthetischen Reaktionen führen [1]. In [218] konnte bereits gezeigt werden, dass es möglich ist, die optischen Zelleigenschaften von *C. vulgaris* mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie ausreichend genau zu bestimmen. Dabei haben insbesondere der modellierte  $\sigma_{\lambda,BTM}$  und die modellierte  $p_{\lambda}(\theta,\theta')$  eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Daten gezeigt, während der modellierte  $\kappa_{\lambda,BTM}$  eine größere Abweichung von den experimentellen Daten aufwies [218]. Jedoch wurde in [218] nur ein Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* untersucht, der dem Akklimatisationszustand bei Schwachlicht entsprechen würde (vgl. Abschnitte 4.1.2 und

4.1.3). Es kann daher nicht pauschal angenommen werden, dass die Lorenz-Mie-Theorie auch für andere Akklimationszustände zufriedenstellende Ergebnisse liefert. Zudem ist unklar, ob die vereinfachte Annahme einer konstanten Zellgröße (vgl. Anhang A.5) möglicherweise zu zusätzlichen Ungenauigkeiten bei der Bestimmung des Absorptionsquerschnittes beiträgt. Aus diesem Grund wurden die *in vivo* Absorptionsquerschnitte von *C. vulgaris* Zellen, die jeweils an eine niedrige (NL), eine mittlere (ML) und eine hohe Lichtintensität (HL) akklimatisiert wurden, experimentell bestimmt (vgl. Abschnitt 3.3.7) und mit den mittels Lorenz-Mie-Theorie bestimmten Absorptionsquerschnitten (vgl. Abschnitt 3.4.1) quantitativ und qualitativ verglichen. Basierend auf den Erkenntnissen von [218] wurden in dieser Arbeit die *C. vulgaris* Zellen ebenfalls durch zweischichtige Sphären, bestehend aus einem Kern und einer Hülle, approximiert. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4.6 dargestellt. Die Berechnung der  $\sigma_{\lambda,BTM}$  erfolgte mit den in Abschnitt 3.4.1 aufgelisteten Parametern (vgl. Abbildung 3.3) und den jeweiligen Pigmentgehalten ( $w_{Chla}$ ,  $w_{Chlb}$  und  $w_{Car}$ ) aus Tabelle 4.3.

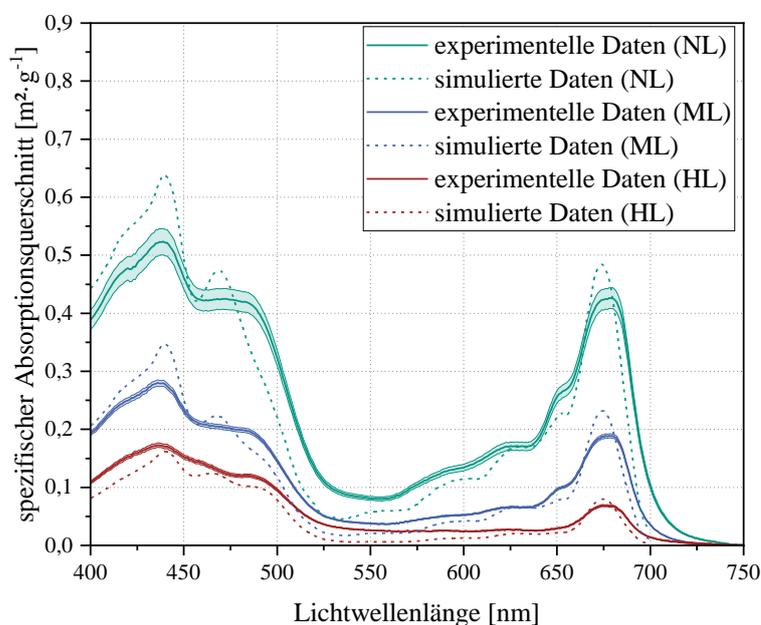


Abbildung 4.6: Vergleich der gemessenen und mittels Lorenz-Mie-Theorie bestimmten Absorptionsquerschnitte. Die *C. vulgaris* Zellen wurden im Vorfeld jeweils an niedrige (NL;  $42 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), mittlere (ML;  $233 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) und hohe (HL;  $1423 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) Lichtintensitäten akklimatisiert. Dargestellt sind BTM-spezifische *in vivo* Absorptionsquerschnitte ( $\sigma_{\lambda,BTM}$ ).

Tabelle 4.3: Untersuchte Akklimationszustände sowie zur Berechnung der Absorptionsquerschnitte genutzte Pigmentgehalte. Die dargestellten Pigmentgehalte wurden für den jeweiligen Akklimationszustand experimentell bestimmt (vgl. Abschnitt 3.3.2).

Zustand	mittlere Akklimations-PPFD [ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ]	Pigmentgehalt [ $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ]		
		Chla	Chlb	Car
NL	42	0,0351	0,0118	0,0066
ML	233	0,0136	0,0035	0,0034
HL	1423	0,0042	0,0008	0,0023

In Abbildung 4.6 ist zu erkennen, dass die modellierten  $\sigma_{\lambda,BTM}$  im Bereich der Peaks bei ca. 440, 470 und 675 nm die experimentellen Daten übertreffen. Eine Ausnahme bildet hierbei der HL-Zustand, bei dem die modellierten Werte fast durchgehend niedriger ausfallen als die experimentellen Werte. Der Peak bei etwa 440 nm entspricht der B<sub>x</sub>-Bande von Chla (vgl. Abbildung 2.1) [1]. Bei ca. 470 nm befindet sich die rotverschobene B<sub>x</sub>-Bande des Chlb [1], die ebenfalls sehr gut durch einen ausgeprägten Peak zu sehen ist. Der dritte stark ausgeprägte Peak bei ca. 675 nm entspricht der Q<sub>y</sub>-Bande des Chla [1]. Im Intervall zwischen 600-650 nm überlagern sich die jeweiligen Absorptionsmaxima der Chlorophylle und sind dementsprechend weniger prägnant als einzelne Peaks zu sehen. In diesem Intervall befinden sich jeweils die Q<sub>x</sub>-Banden von Chla (bei ca. 625 nm) und von Chlb (bei ca. 600 nm) sowie die Q<sub>y</sub>-Bande des Chlb (bei etwa 650 nm).

Sehr prägnant in Abbildung 4.6 zu sehen, ist hingegen die Verbreiterung des Peaks bei etwa 470 nm mit dem Anstieg der Akklimatisations-PPFD. Dies ist vor allem auf die im Vergleich zum Chla- und Car-Gehalt überproportionale Abnahme des Chlb und eine, bezogen auf den Chla- und Chlb-Gehalt, relative Zunahme des Car-Gehaltes zurückzuführen (vgl. Tabelle 4.3). Wie aus Abbildung 2.1 entnommen werden kann, besitzen die photoprotektiven Car zwei Absorptionsmaxima bei Lichtwellenlängen von 463 und 489 nm, was bei einer relativen Zunahme des Car-Gehaltes zu einer relativen Zunahme des  $\sigma_{\lambda,BTM}$  und Überlagerung der B<sub>x</sub>-Bande des Chlb in diesem Bereich führt. Dadurch wird der Peak bei etwa 470 nm mit zunehmender Akklimatisations-PPFD verbreitert.

Weiterhin ist in Abbildung 4.6 auffällig, dass im Bereich zwischen 475-575 nm die berechneten  $\sigma_{\lambda,BTM}$  stets niedriger sind als die experimentell bestimmten  $\sigma_{\lambda,BTM}$ . Dies ist der ungefähre Bereich, in dem photosynthetische Car besonders stark absorbieren (vgl. Abbildung 2.1). Diese wurden jedoch nicht in die Berechnung von  $\sigma_{\lambda,BTM}$  einbezogen, da in der Literatur keine Hinweise auf photosynthetische Car in *C. vulgaris* gefunden werden konnten [97–99]. Die in Abbildung 2.1 vorgestellten *in vivo* Absorptionsquerschnitte der Pigmente wurden aus [44,45] entnommen und basieren auf experimentellen Untersuchungen. Das für die photoprotektiven Car ermittelte *in vivo* Absorptionsspektrum entspricht dabei hauptsächlich der Summe der Absorptionsspektren von  $\beta$ -Carotin und den Car des Xanthophyllzyklus (vgl. Abschnitt 2.3), während das *in vivo* Absorptionsspektrum der photosynthetischen Car hauptsächlich auf Fucoxanthin und dessen Derivate zurückgeführt wird [44]. Aufgrund der zuvor angesprochenen, scheinbar systematischen Abweichung zwischen den modellierten und den gemessenen Absorptionsspektren bei Lichtwellenlängen zwischen 475-575 nm (siehe Abbildung 4.6) besteht die Möglichkeit, dass der untersuchte *C. vulgaris* Stamm doch Car enthält, die in [44,45] den photosynthetischen Car zugeordnet werden, obwohl in der Literatur [97–99] keine Hinweise auf größere Mengen Fucoxanthin oder dessen Derivate in *C. vulgaris* gefunden werden konnten.

In [218] wurde, ohne eine umfangreiche Begründung, angenommen, dass die gesamten Car stets zu 1/6 aus photosynthetischen Car bestehen. Möglicherweise ist das der Grund, warum in [218] eine bessere Übereinstimmung der modellierten  $\sigma_{\lambda,BTM}$  mit den gemessenen  $\sigma_{\lambda,BTM}$  im Bereich von 475-575 nm als in dieser Arbeit festgestellt werden konnte. Da jedoch auch photoprotektive Car unter anderem im Bereich zwischen 475-520 nm verstärkt absorbieren (vgl. Abbildung 2.1) könnte die systematische Unterschätzung der experimentellen  $\sigma_{\lambda,BTM}$  im genannten Lichtwellenlängenbereich ein Hinweis darauf sein, dass die gewählte Methode zur Quantifizierung der

Pigmente (siehe Abschnitt 3.3.2) den Car-Gehalt möglicherweise unterschätzt. Daher kann die aufgeführte, scheinbar systematische Abweichung keiner der diskutierten Fehlerquellen eindeutig zugeordnet werden. Es kann jedoch festgehalten werden, dass in diesem Bereich ein weiteres Verbesserungspotenzial besteht.

Bisher wurden die qualitativen Unterschiede zwischen den modellierten  $\sigma_{\lambda,BTM}$  und den experimentell ermittelten  $\sigma_{\lambda,BTM}$  diskutiert. Im Nachfolgenden werden die beobachteten Differenzen zusätzlich quantifiziert. In Tabelle 4.4 sind statistische Parameter zur quantitativen Bewertung der verwendeten, theoretischen Methode zur Bestimmung von  $\sigma_{\lambda,BTM}$  (vgl. Abschnitt 3.4.1) aufgelistet. Der Vergleich der modellierten und experimentellen Daten erfolgte im Bereich zwischen 400-700 nm (PAR).

Tabelle 4.4: Auflistung statistischer Parameter zur Evaluation der Eignung der Lorenz-Mie-Theorie zur Bestimmung BTM-spezifischer *in vivo* Absorptionsquerschnitte in *C. vulgaris*. Aufgelistet sind die Werte für die drei untersuchten Akklimatisationszustände NL, ML und HL.

statistischer Parameter	NL	ML	HL
R <sup>2</sup> [-]	0,8545	0,9006	0,8761
RMSE [m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> ]	0,0569	0,0251	0,0182
nRMSE [%]	20,95	19,95	26,05
MBE [m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> ]	-0,0146	-0,0053	-0,0157
nMBE [%]	-5,39	-4,22	-22,51

Wie in Tabelle 4.4 zu sehen ist, sind die R<sup>2</sup>-Werte unabhängig vom Akklimatisationszustand der Mikroalgenzellen niedrig (< 0,95). Die RMSE-Werte bewegen sich in einem Bereich von 0,018-0,057 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup>, wobei die absoluten RMSE-Werte mit steigender Akklimatisations-PPFD abnehmen. Der nRMSE ist hingegen beim HL-Zustand mit 26,05 % am höchsten und liegt bei den anderen beiden Zuständen ebenfalls bei ca. 20 %. Hierbei muss jedoch berücksichtigt werden, dass beim RMSE bzw. nRMSE große Fehler überproportional in den letztendlichen Parameterwert einfließen (vgl. Gleichungen 3.34 und 3.35), sodass bereits wenige große Abweichungen zu einem hohen RMSE- bzw. nRMSE-Wert führen können, obwohl das Modell den Großteil der Daten gut wiedergeben kann. Die MBE-Werte zeigen, dass die mittleren Abweichungen zwischen den modellierten und den experimentellen Daten in einem Bereich zwischen -0,005 und -0,016 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup> liegen. Der geringste MBE-Wert von -0,005 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup> ist dabei beim ML-Zustand vorzufinden. Die nMBE-Werte für den NL- und ML-Zustand liegen jeweils bei -5,39 und -4,22 %. Der nMBE-Wert für den HL-Zustand ist mit -22,51 % erheblich höher. Die MBE- und nMBE-Werte zeigen insgesamt, dass die mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie vorhergesagten  $\sigma_{\lambda,BTM}$  (vgl. Abschnitt 3.4.1) die experimentellen  $\sigma_{\lambda,BTM}$  tendenziell unterschätzen. Nichtsdestotrotz sind die absoluten, mittleren Abweichungen der Zustände NL und ML deutlich geringer als die in [218] beobachteten Abweichungen von 10 bzw. 17 %. Insgesamt lässt sich aus den vorgestellten Ergebnissen ableiten, dass die *in vivo* Absorptionsquerschnitte unabhängig vom lichtabhängigen Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* mit einer zufriedenstellenden Genauigkeit mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie (vgl. Abschnitt 3.4.1) ermittelt werden können. Die vereinfachte Annahme einer konstanten Zellmorphologie (vgl. Abschnitt 3.4.1 und Anhang A.5) scheint als erste Näherung akzeptabel zu sein. Basierend auf den Ergebnissen in Tabelle 4.4 ist jedoch davon auszugehen, dass bei höheren PPFDs die Vorhersagegenauigkeit abnimmt.

#### 4.1.2.4 Untersuchung der *in vivo* Absorptionsquerschnitte in Abhängigkeit der Photonenflussdichte

Wie bereits in Abschnitt 4.1.2.3 gezeigt, ist es im Falle von *C. vulgaris* möglich, die *in vivo* Absorptionsquerschnitte mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie relativ genau vorherzusagen. Ergänzend zur bestehenden Literatur [218] konnte gezeigt werden, dass  $\sigma_{\lambda,BTM}$  mit den getroffenen Modellannahmen (vgl. Abschnitt 3.4.1) nicht nur für den NL-Zustand, sondern auch für den ML- und HL-Zustand, zufriedenstellend genau bestimmt werden kann (vgl. Abschnitt 4.1.2.3).

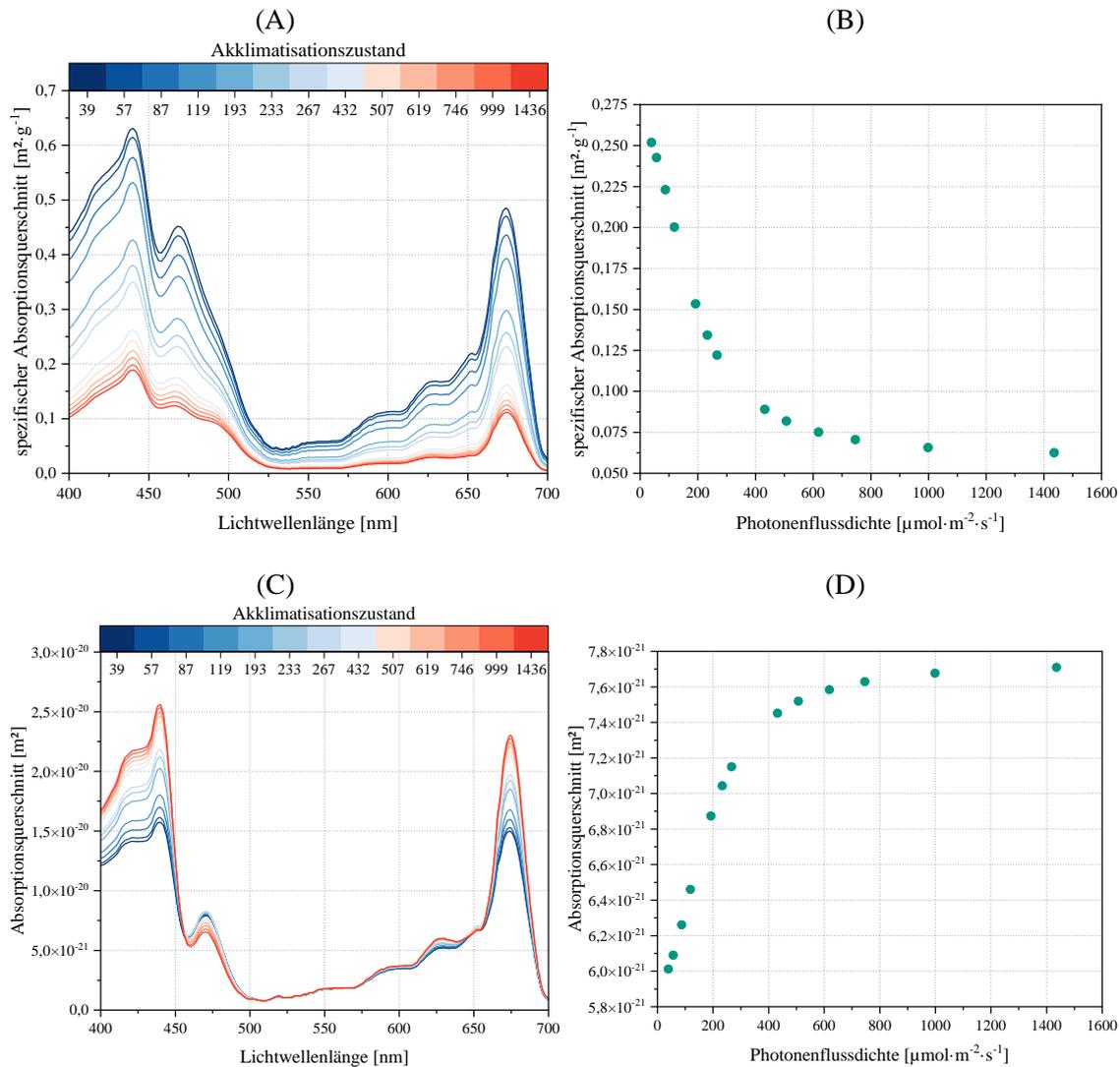


Abbildung 4.7: Mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie ermittelten *in vivo* Absorptionsquerschnitte in Abhängigkeit der lichtbedingten Akklimatisationszustände der Grünalge *C. vulgaris*. (A) Spektrale, BTM-spezifische *in vivo* Absorptionsquerschnitte ( $\sigma_{\lambda,BTM}$ ); (B) über PAR gemittelte BTM-spezifische *in vivo* Absorptionsquerschnitte ( $\sigma_{BTM}$ ); (C) spektrale, *in vivo* Absorptionsquerschnitte eines Chl-Moleküls ( $\sigma_{\lambda,Chl}$ ); (D) über PAR gemittelte *in vivo* Absorptionsquerschnitte eines Chl-Moleküls ( $\sigma_{Chl}$ ). Die dargestellten Spektren in (C) resultieren aus der Anzahl-gewichteten Summe der jeweiligen Chla- und Chlb-Spektren und repräsentieren somit ein „effektives“ bzw. „durchschnittliches“ Chl-Molekül. Die Farbskalen zeigen die 13 PPFD-abhängigen Akklimatisationszustände von *C. vulgaris*. Die für die Lorenz-Mie-Theorie notwendigen Pigmentgehalte wurden mit der Gleichung 4.3 berechnet.

In Abbildung 4.7.A sind die mithilfe der Lorenz-Mie-Theorie berechneten  $\sigma_{\lambda,BTM}$  (vgl. Abschnitt 3.4.1) dargestellt. Die benötigten  $w_{Chla^-}$ ,  $w_{Chlb^-}$  und  $w_{Car^-}$ -Werte wurden für jeden Akklimatisationszustand (vgl. Abschnitt 3.2.1) mittels Gleichung 4.3 (Parameter sind in Tabelle 4.1 hinterlegt) berechnet. In Abbildung 4.7.B wurden die spektralen  $\sigma_{\lambda,BTM}$  über PAR gemittelt (entspricht  $\sigma_{BTM}$ ) und gegen  $\bar{I}_{PAR}$  aufgetragen. Zuvor wurde erwähnt (siehe Abschnitt 4.1.2.1), dass der Pigmentgehalt und  $\sigma_{\lambda,BTM}$  bzw.  $\sigma_{BTM}$  unmittelbar zusammenhängen [197,219], weshalb, ausgehend von den Ergebnissen in Abbildung 4.3, eine Abnahme der Absorptionsquerschnitte bereits zu erwarten war. Interessanterweise nimmt der Pigmentgehalt im betrachteten PPFD-Bereich ( $39\text{-}1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) insgesamt um 86,36 % ab (siehe Abbildung 4.3), während  $\sigma_{BTM}$  im selben Bereich lediglich um 72,66 % abnimmt. Diese Diskrepanz kann durch den *self-shading* Effekt (vgl. Abbildung 2.10) erklärt werden, dessen Ausprägung mit steigenden Pigmentgehalten zunimmt [197,219]. Demnach sinkt der spezifische Beitrag eines Pigmentes zu  $\sigma_{\lambda,BTM}$  bzw.  $\sigma_{BTM}$  mit steigender Ausprägung des *self-shading* Effektes, was bei der Betrachtung der Ergebnisse in Abbildung 4.3 und in Abbildung 4.7 deutlich wird. Im Umkehrschluss muss der relative Betrag der Abnahme des Pigmentgehaltes nicht dem relativen Betrag entsprechen, um den  $\sigma_{\lambda,BTM}$  bzw.  $\sigma_{BTM}$  mit dem sinkenden Pigmentgehalt abnimmt. Die Reduktion der Ausprägung des *self-shading* Effektes bei sinkenden Pigmentgehalten kann der damit verbundenen Abnahme von  $\sigma_{\lambda,BTM}$  bzw.  $\sigma_{BTM}$  „entgegenwirken“, sodass  $\sigma_{\lambda,BTM}$  bzw.  $\sigma_{BTM}$  relativ gesehen geringfügiger abnehmen können als der Pigmentgehalt. Dies wird insbesondere in Abbildung 4.7.C deutlich, wo die effektiven *in vivo* Absorptionsquerschnitte eines „durchschnittlichen“ Chlorophyll-Moleküls ( $\sigma_{\lambda,Chl}$ ) dargestellt sind. In Abbildung 4.7.D wurden die entsprechenden  $\sigma_{\lambda,Chl}$  über PAR gemittelt ( $\sigma_{Chl}$ ) und gegen  $\bar{I}_{PAR}$  aufgetragen. Dort ist zu erkennen, dass bei der Akklimatisations-PPFD von  $39 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$   $\sigma_{Chl}$  lediglich  $6,01\cdot 10^{-21} \text{ m}^2$  beträgt, während  $\sigma_{Chl}$  bei der Akklimatisations-PPFD von  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  einen deutlich höheren Wert von  $7,66\cdot 10^{-21} \text{ m}^2$  aufweist. Daraus kann abgeleitet werden, dass ein Chlorophyll in einer *C. vulgaris* Zelle, die an  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  akklimatisiert wurde, um etwa 21,54 % mehr zu  $\sigma_{BTM}$  beiträgt als ein Chlorophyll in einer *C. vulgaris* Zelle, die an  $39 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  akklimatisiert wurde. Dieser komplexe Zusammenhang zwischen dem Pigmentgehalt und  $\sigma_{BTM}$  bzw.  $\sigma_{Chl}$  verdeutlicht die Notwendigkeit der mechanistischen Modellierung der *in vivo* Absorptionsquerschnitte, da einfache Modelle, wie bspw. das lineare Modell in [127], diese Wechselwirkungen nicht adäquat repräsentieren können.

Laut der Literatur liegen die Maxima der Absorptionsquerschnitte photosynthetischer Pigmente typischerweise in einem Bereich von  $1\cdot 10^{-21}\text{-}2\cdot 10^{-20} \text{ m}^2$  [94]. In Abbildung 4.7.C ist zu erkennen, dass die Peaks der berechneten  $\sigma_{\lambda,Chl}$  im Rahmen dieser Literaturwerte liegen. Aufbauend darauf wird davon ausgegangen, dass die berechneten  $\sigma_{\lambda,Chl^-}$  und  $\sigma_{Chl^-}$ -Werte insgesamt plausibel sein und in einem realistischen Rahmen liegen sollten.

Weiterhin ist es durch den zusätzlichen Einbezug der Ergebnisse aus Abschnitt 4.1.2.2 möglich, die LHCII-RCII- und LHCI-RCI-spezifischen *in vivo* Absorptionsquerschnitte ( $\sigma_{RCII}$  und  $\sigma_{RCI}$ ) zu berechnen. Hierfür wurden die LHC-RC-Komplexgrößen aus Abbildung 4.4.B mit den jeweiligen  $\sigma_{Chl}$  in Abbildung 4.7.D multipliziert. Die daraus resultierenden  $\sigma_{RCII}$  und  $\sigma_{RCI}$  sind in der nachfolgenden Abbildung 4.8 dargestellt.

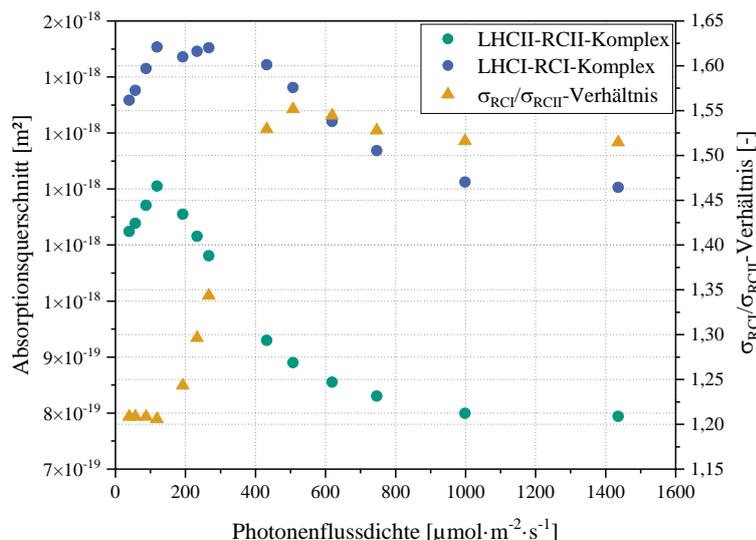


Abbildung 4.8: *In vivo* Absorptionsquerschnitte der beiden photosynthetischen Komplexe LHCII-RCII und LHCI-RCI in Abhängigkeit der PPFd und des daraus resultierenden Akklimatisationszustandes. Die dargestellten Resultate wurden aus  $\sigma_{chl}$  (vgl. Abbildung 4.7.D) und den jeweiligen Komplexgrößen aus Abbildung 4.4.B berechnet. Zusätzlich ist das Verhältnis der Absorptionsquerschnitte der beiden photosynthetischen Komplexe ( $\sigma_{RCI}/\sigma_{RCII}$ ) abgebildet.

Da die LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexgrößen (vgl. Abbildung 4.4.B) im Bereich zwischen  $39\text{-}119 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nahezu unverändert bleiben, gleichzeitig jedoch der Pigmentgehalt (vgl. Abbildung 4.3) bzw. die Gesamtanzahl der photosynthetischen Komplexe (vgl. Abbildung 4.5) und damit auch der *self-shading* Effekt (vgl. Abbildung 4.7.C) abnimmt, steigen in Abbildung 4.8 die Absorptionsquerschnitte beider Photosysteme ( $\sigma_{RCII}$  und  $\sigma_{RCI}$ ). Ab einer PPFd von ca.  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nimmt jedoch  $\sigma_{RCII}$  deutlich ab. Interessanterweise ist dies auch der Punkt, ab dem eine deutliche Abnahme von  $y_{BTM,hv}^*$  in Abbildung 4.2 zu beobachten ist. Im Gegensatz zu  $\sigma_{RCII}$  bleibt  $\sigma_{RCI}$  im Bereich von  $119\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  relativ konstant und nimmt erst ab einer PPFd von  $432 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  deutlich ab.

Bei der Betrachtung des  $\sigma_{RCI}/\sigma_{RCII}$ -Verhältnisses in Abbildung 4.8 fällt auf, dass es bis  $119 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ziemlich konstant  $1,208 \pm 0,001$  beträgt. Wie bereits in Abschnitt 2.2.2 erläutert, reichen die 12 durch den LEF ins Thylakoidlumen translozierten  $\text{H}^+$  im Falle der Mikroalgen nicht aus, um das vom Calvin-Zyklus benötigte NADPH/ATP-Verhältnis von 2:3 zu erreichen, sodass zusätzlich 1 Elektron (pro 4 durch den LEF transportierten Elektronen) dem ZEF zugeführt werden muss [82,84]. Um das zu erreichen, müsste  $\sigma_{RCI}$ , zumindest bei gleicher Effizienz beider Komplexe, statistisch gesehen mindestens 25 % größer sein als  $\sigma_{RCII}$ , da der LHCI-RCI-Komplex pro fixiertes  $\text{CO}_2$ -Molekül ein Elektron (5 statt nur 4) mehr als der LHCII-RCII-Komplex anregen muss [82]. Unter der zusätzlichen Berücksichtigung des definierten RCI/RCII-Verhältnisses von 1,1 (vgl. Abschnitt 3.4.2) ergibt sich für den in Abbildung 4.8 dargestellten Fall, dass  $\sigma_{RCI}$  stets mindestens 31,6 % größer ausfällt als  $\sigma_{RCII}$ . Damit sollte es, zumindest statistisch gesehen, durchgehend möglich sein, die 14 (mindestens) geforderten  $\text{H}^+$  ins Thylakoidlumen zu translozieren, um das für den Calvin-Zyklus (vgl. Abbildung 2.5) notwendige NADPH/ATP-Verhältnis von 2:3 zu erfüllen [82].

Ab einer PPFD von ca.  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist in Abbildung 4.8 ein starker Anstieg des  $\sigma_{RCI}/\sigma_{RCII}$ -Verhältnisses zu verzeichnen, der bis ca.  $432\text{-}507 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  anhält. Dann pendelt sich das  $\sigma_{RCI}/\sigma_{RCII}$ -Verhältnis schließlich bei einem mittleren Wert von  $1,531 \pm 0,014$  ein. Aus der Literatur [88,90,113,152] ist bekannt, dass die zum LEF relative Steigerung des ZEF und der AEF (vgl. Abschnitt 2.2.2) das photosynthetische NADPH/ATP-Verhältnis zu Gunsten des ATP verschieben kann. Die ausgeprägte Steigerung des  $\sigma_{RCI}/\sigma_{RCII}$ -Verhältnisses ab einer PPFD von ca.  $119\text{-}193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  könnte ein Hinweis für eine gesteigerte ZEF- bzw. AEF-Aktivität sein, die zur Deckung des erhöhten ATP-Bedarfes bei höheren  $\mu$  (vgl. Abbildung 4.1.A) beitragen kann [88,90,162]. Das dadurch entstehende ATP kann theoretisch sowohl für den Anabolismus [90,113] als auch für die KKM [88,90] genutzt werden. Interessanterweise steigt das  $\sigma_{RCI}/\sigma_{RCII}$ -Verhältnis jedoch über den Punkt der Lichtsättigung, der bei etwa  $233\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  liegt (vgl. Abbildung 4.1.A), hinaus an. In der Literatur wurde beobachtet, dass die zum LEF relative Aktivität von ZEF bzw. AEF über den Lichtsättigungspunkt ansteigen kann [90,323]. Der vom ZEF erzeugte  $\text{H}^+$ -Gradient zwischen dem Thylakoidlumen und -stroma (vgl. Abbildung 2.3) sorgt nicht nur für eine verstärkte Generierung von ATP durch die photosynthetischen ATPase [192], sondern auch für die Induktion bzw. Verstärkung der NPQ-Aktivität durch zusätzliche Ansäuerung des Thylakoidlumens [90]. Tatsächlich weisen die Verläufe des  $\sigma_{RCI}/\sigma_{RCII}$ -Verhältnisses in Abbildung 4.8 und der NPQ-Aktivität in Abbildung 4.9.C qualitative Ähnlichkeiten auf. Es ist auffällig, dass beide Verläufe in den genannten Abbildungen zunächst im Bereich von  $39\text{-}119 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  stagnieren und dann ab etwa  $119\text{-}193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  deutlich steigen. Der Anstieg der NPQ-Aktivität in Abbildung 4.9.C verläuft bis  $507\text{-}619 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Danach scheint die NPQ-Aktivität zu stagnieren bzw. nur geringfügig anzusteigen. Eine endgültige Aussage über den Verlauf ist aufgrund der Messschwankungen schwierig. Im Vergleich dazu steigt das  $\sigma_{RCI}/\sigma_{RCII}$ -Verhältnis ebenfalls bis  $432\text{-}619 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  deutlich an und stagniert dann bzw. ist dann sogar leicht rückläufig, was jedoch auch ein modellierungsbedingtes Artefakt sein könnte. Unter Einbezug der bisherigen Erkenntnisse aus der Literatur [90,323] erscheint es denkbar, dass der Verlauf des  $\sigma_{RCI}/\sigma_{RCII}$ -Verhältnisses in Abbildung 4.8 unter anderem aus dem Bedarf der Zelle, die NPQ-Aktivität bei höheren bzw. wachstumssättigenden PPFDs zu steigern (vgl. Abbildung 4.9.C) [49,61,62], resultiert. Nichtsdestotrotz kann anhand der vorliegenden Daten keine Korrelation zwischen den beiden Phänomenen unterstellt werden.

Insgesamt kann festgehalten werden, dass die aufgeführte Literatur und die Messergebnisse mit den modellbasierten Daten sowie Erkenntnissen, ohne unmittelbar erkennbare Widersprüche, im Einklang stehen. Es bedarf jedoch weiterer Forschungsarbeiten, um die gezeigten Ergebnisse endgültig zu validieren. Zudem muss berücksichtigt werden, dass die Kenntnisse über  $\sigma_{RCII}$  und  $\sigma_{RCI}$  allein nicht ausreichend sind, um die jeweiligen Elektronenflüsse (LEF, ZEF und AEF) zu quantifizieren und dass die Beziehung zwischen den Elektronenflüssen und den jeweiligen Absorptionsquerschnitten nicht zwangsläufig linear sein muss [192]. Trotzdem liefern die hier gezeigten Ergebnisse wichtige Anhaltspunkte für weitere Forschungsarbeiten.

#### 4.1.2.5 Untersuchung der operativen Eigenschaften des photosynthetischen Apparates in Abhängigkeit der Lichtverfügbarkeit mittels Fluoreszenzmessungen

Bisher wurden die strukturellen Veränderungen des photosynthetischen Apparates als Teil der lichtabhängigen Zellakklimatisation von *C. vulgaris* vorgestellt und diskutiert. Die Änderungen

des Phänotyps allein ermöglichen jedoch keine Aussagen über die operative Leistung der photosynthetischen ETK und ihrer Komponenten. Eine nicht-invasive Möglichkeit, die photosynthetische Leistung *in vivo* zu untersuchen, bilden die Fluoreszenzmessungen [46,293]. Die hierbei angewandten Messprotokolle wurden in Abschnitt 3.3.6 vorgestellt und erläutert.

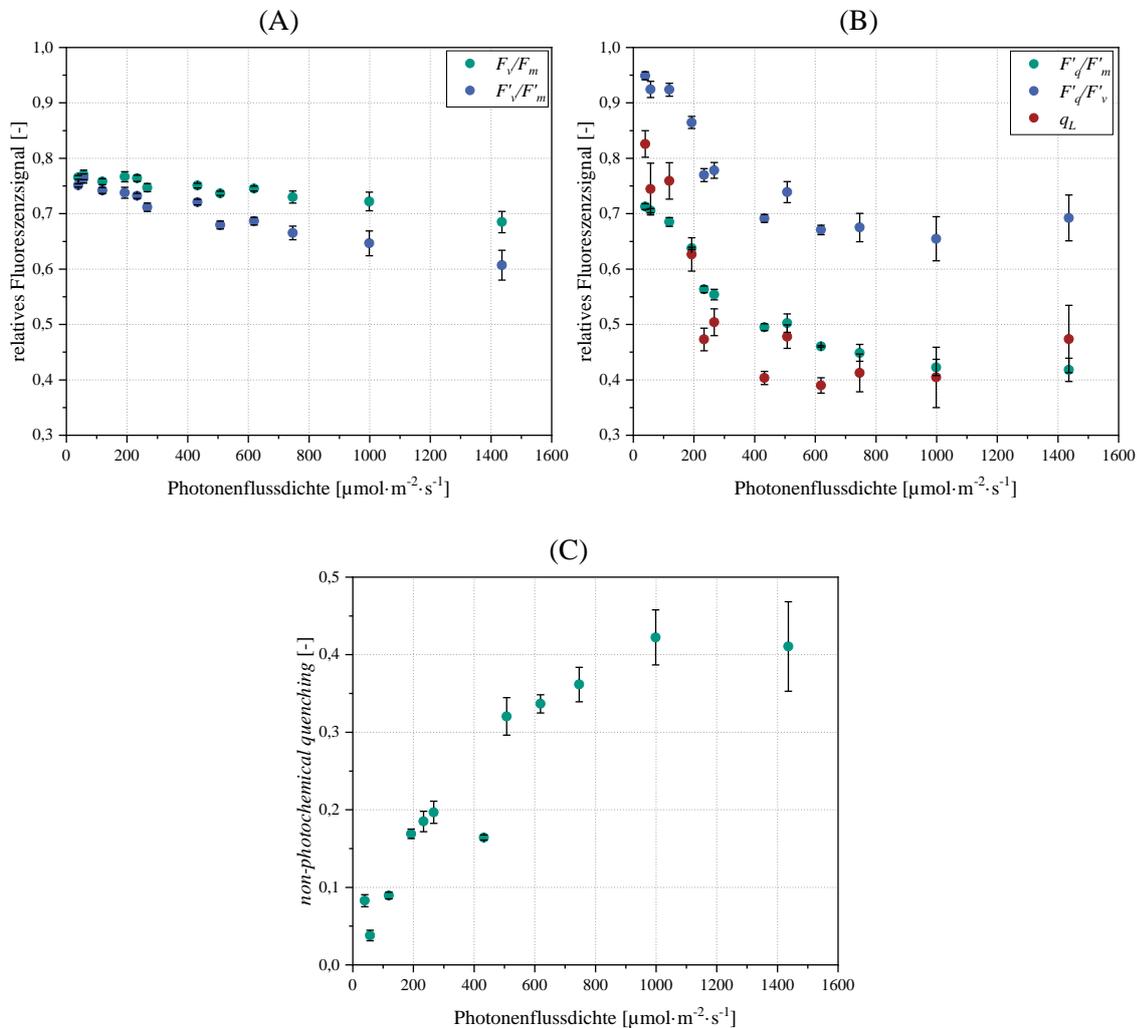


Abbildung 4.9: Aus den Fluoreszenzmessungen abgeleitete Parameter zur Charakterisierung des RCII. (A) maximale RCII-Effizienzen (dunkeladaptiert ( $F_v/F_m$ ) und unter gegebener Akklimations-PPFD ( $F'_v/F'_m$ )); (B) abgebildet sind die operative RCII-Effizienz ( $F'_q/F'_m$ ), der operative RCII-Effizienzfaktor ( $F'_q/F'_v$ ) und der Anteil der RCII im Grundzustand ( $q_L$ ); (C) NPQ-Aktivität in Abhängigkeit des Akklimationszustandes. Die Ermittlung der Parameter erfolgte analog zu Abschnitt 3.3.6.1. Die genauen Definitionen der abgeleiteten Parameter sind in Tabelle 3.3 aufgelistet.

Bei der Photosynthese induziert das RCII die Elektronen aus dem OEC in die photosynthetische ETK und bildet damit den Ausgangspunkt der Photosynthese (vgl. Abschnitt 2.2.2) [1]. Die Photochemie des PSII determiniert daher die maximale Leistung der restlichen Komponenten der photosynthetischen ETK und damit auch die gesamte Photosyntheseleistung [46]. Als eine Analogie hierzu kann die Substrataufnahmerate bei heterotrophen Wachstumsprozessen verstanden werden [23]. Die Untersuchung der RCII-Fluoreszenz kann demnach wichtige Informa-

tionen bezüglich der photosynthetischen Leistung und des operativen RCII-Zustandes liefern [46]. Die Tatsache, dass das RCI bei Raumtemperatur eine extrem hohe Effizienz bei der strahlungsfreien Energiedissipation (Photochemie und NPQ) aufweist [1], ermöglicht unter solchen Bedingungen die isolierte Betrachtung der RCII-Fluoreszenz [46]. Zur Charakterisierung des operativen *in vivo* RCII-Zustandes wurde die in Abschnitt 3.3.6.1 vorgestellte Methode der Fluoreszenzmessung angewandt. Die Theorie zu dieser Messmethode kann folgender Literatur entnommen werden: [46,47,285]. Eine Beispielmessung mit dem resultierenden Fluoreszenzsignal ist in Anhang A.4 (vgl. Abbildung A.4.1) hinterlegt. Die aus solchen Messkurven abgeleiteten Parameter nach [46,47] sind in Abbildung 4.9 dargestellt.

In Abbildung 4.9.A sind die lichtabhängigen Verläufe der Parameter  $F_v/F_m$  und  $F'_v/F'_m$  dargestellt. Wie aus Tabelle 3.3 ersichtlich ist, beschreibt  $F_v/F_m$  die maximale RCII-Effizienz bzw. die maximale Quantenausbeute, mit der die am LHCII-RCII-Komplex absorbierten Photonen für die primäre Photochemie genutzt werden [46]. In gesunden  $C_3$ -Pflanzen beträgt dieser Parameter 0,83-0,85 [46,47,285], mit etwa 0,7 fällt dieser Wert in Mikroalgen etwas geringer aus [285]. Eine Abnahme des  $F_v/F_m$ -Wertes kann ein Hinweis darauf sein, dass die Mikroalgen anhaltendem Stress ausgesetzt sind, der zur Photoinhibierung (vgl. Abschnitt 2.5.3) und damit zur Inaktivierung der RCIIs (bspw. durch ROS) führen kann [46,47]. In Abbildung 4.9.A ist bis etwa  $233 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  keine deutliche Abnahme von  $F_v/F_m$  zu beobachten. Der durchschnittliche  $F_v/F_m$ -Wert in diesem Intervall beträgt  $0,7648 \pm 0,0123$  und liegt damit etwas über dem Literaturwert von 0,7 [285]. Ab  $233\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist eine stetige Abnahme des  $F_v/F_m$ -Wertes zu verzeichnen, die bis zu einem Wert von  $0,6849 \pm 0,0193$  bei  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  führt. Dabei ist besonders auffällig, dass die verstärkte Photoinhibierung scheinbar ab dem Punkt der Lichtsättigung in Abbildung 4.1.A einsetzt. Nichtsdestotrotz bleibt der Anteil der funktionalen bzw. nicht beeinträchtigten LHCII-RCII-Komplexe unabhängig vom Akklimatisationszustand hoch. Bezogen auf den durchschnittlichen  $F_v/F_m$ -Maximalwert von 0,7648 scheinen selbst bei der höchsten PPFd von  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  immer noch etwa 90 % der RCIIs nicht durch Photoinhibierung beeinträchtigt zu sein. Demnach kann davon ausgegangen werden, dass die Mikroalgen durch Zellakklimatisation in der Lage sind, die Photoinhibierung weitestgehend, aber nicht vollständig, zu vermeiden.

Der bisher vorgestellte Parameter  $F_v/F_m$  wird mit dunkeladaptierten Zellen ermittelt (vgl. Abschnitt 3.3.6.1). Unter Lichteinfluss werden jedoch weitere NPQ-Mechanismen aktiviert (bspw. Xanthophyllzyklus [61]), die die maximale Quantenausbeute zusätzlich verringern [285]. Der Einfluss dieser zusätzlichen, lichtinduzierten NPQ-Mechanismen wird in dem Parameter  $F'_v/F'_m$  berücksichtigt, der die maximale RCII-Quantenausbeute unter einer gegebenen PPFd beschreibt [46,47]. Wie in Abbildung 4.9.A zu sehen ist, bleibt der  $F'_v/F'_m$ -Wert bis  $119\text{-}193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nahezu unverändert und beträgt durchschnittlich  $0,7485 \pm 0,0035$ . Im gleichen Intervall ist in Abbildung 4.9.C zu sehen, dass die NPQ-Aktivität tendenziell konstant nahe 0,1 bleibt, weshalb sich die  $F_v/F_m$ -Werte und  $F'_v/F'_m$ -Werte in diesem Bereich nur sehr geringfügig unterscheiden. Ab einer PPFd von  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist jedoch eine deutliche Zunahme der NPQ-Aktivität zu verzeichnen (vgl. Abbildung 4.9.C), die gleichzeitig mit einer Abnahme der  $F'_v/F'_m$ -Werte einhergeht (vgl. Abbildung 4.9.A). Die Sättigung der NPQ-Aktivität ist aufgrund der Messunsicherheiten kaum eindeutig zu lokalisieren, sie scheint jedoch tendenziell im Bereich von  $507\text{-}999 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  einzutreten. Im Gegensatz dazu sinkt  $F'_v/F'_m$  und erreicht bei  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

den Minimalwert von  $0,6071 \pm 0,0270$  im untersuchten PPF-D-Bereich. Die Abnahme von  $F_v'/F_m'$  resultiert sowohl aus der Zunahme der NPQ-Aktivität als auch aus der simultanen Abnahme von  $F_v/F_m$ , die durch die zunehmende Photoinhibierung bei steigenden PPF-Ds [61,62] hervorgerufen wird. Nichtsdestotrotz bleibt der  $F_v'/F_m'$ -Wert, ähnlich wie der  $F_v/F_m$ -Wert, unabhängig von der Akklimations-PPFD relativ hoch, sodass  $F_v'/F_m'$  bei  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  immer noch ca. 81,1 % des durchschnittlichen Ausgangswertes von 0,7485 beträgt.

Außerdem zeigen die experimentellen Daten in Abbildung 4.9.A, dass dem Einfluss der lichtinduzierten NPQ-Mechanismen im akklimatisierten Zustand keine erhebliche Rolle zugesprochen werden kann. Die maximale Abweichung (bei  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) zwischen  $F_v/F_m$  und  $F_v'/F_m'$  beträgt ca. 11,36 %. Bis  $746 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  liegt diese Abweichung sogar stets unter 10 %. Dies kann auch als eine Bestätigung der Hypothese aus Abschnitt 2.5.3 gewertet werden, dass die lichtinduzierten NPQ-Mechanismen, als Teil der Photoregulation, eher eine kurzfristige Zellreaktion darstellen und den langfristigen Änderungen der Umgebungsbedingungen hauptsächlich durch die Photoakklimatisation entgegengewirkt wird. Bei der Betrachtung des metabolischen Kosten-Nutzen-Verhältnisses erscheint dieser Zusammenhang ebenfalls sinnvoll, da eine übermäßige NPQ-Aktivität den Nutzen der LHC-RC-Komplexe reduziert, während die Synthesekosten (pro LHC-RC-Komplex) sich dadurch nicht ändern sollten. Demnach hätte eine durchweg hohe Aktivität der photoprotektiven NPQ-Mechanismen einen ähnlich negativen Effekt auf die Photosynthese bzw. das Zellwachstum wie eine vermehrte Photoinhibierung durch ROS [61] und würde insgesamt zu niedrigeren  $y_{BTM,hv}^*$ -Werten führen.

Die beiden bisher vorgestellten Parameter  $F_v/F_m$  und  $F_v'/F_m'$  geben lediglich eine Auskunft über die maximale Leistung des RCII im jeweiligen Akklimationszustand. Die tatsächliche bzw. operative Leistung des RCII unter Lichteinfluss fällt jedoch üblicherweise geringer aus, da die angeregten RCII die absorbierte Lichtenergie zunächst verarbeiten müssen, sodass die Absorption weiterer Photonen durch bereits angeregte RCII nicht zur Photochemie, sondern zur Energiedissipation beiträgt (vgl. Abschnitt 2.6.3) [46]. Der Anteil der durch die LHCII-RCII-Komplexe absorbierten Photonen, der unter den gegebenen Lichtbedingungen tatsächlich für die Photochemie genutzt wird, wird durch den Parameter  $F_q'/F_m'$  (vgl. Abbildung 4.9.B) definiert [46,47]. Der Parameter  $F_q'/F_m'$  wird auch als die operative Effizienz bzw. Quantumausbeute von RCII bezeichnet [46,47]. Wenn sich alle RCII unter den gegebenen Lichtbedingungen im Grundzustand befinden würden, würde  $F_q'/F_m'$  dem Parameter  $F_v'/F_m'$  (vgl. Abbildung 4.9.A) entsprechen [46]. Der Parameter  $F_v'/F_m'$  kann also ebenfalls als die operative RCII-Effizienz bzw. Quantumausbeute unter der Voraussetzung, dass sich alle RCII im Grundzustand befinden, verstanden werden [46]. Die Messergebnisse in Abbildung 4.9.B bestätigen die in Abschnitt 4.1.1 aufgestellte Vermutung, dass bereits ab einer PPF-D von etwa  $119\text{-}193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  Energieverluste (vgl. Abbildung 4.2.A) bei der Photosynthese aufgrund von Rückstauwirkungen an den LHCII-RCII-Komplexen auftreten, obwohl noch keine Lichtsättigung des Zellwachstums erreicht ist (vgl. Abbildung 4.1.A). Bei den niedrigsten PPF-Ds von  $39$  und  $57 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  beträgt  $F_q'/F_m'$  jeweils  $0,7128 \pm 0,0051$  und  $0,7056 \pm 0,0037$ . Demnach ist in diesem PPF-D-Intervall keine eindeutige Abnahme der Effizienz aufgrund einer Akkumulation von angeregten LHCII-RCII-Komplexen zu beobachten, was sich mit dem Ergebnis aus Abbildung 4.2.A deckt. Danach nehmen die  $F_q'/F_m'$ -Werte stetig ab, bis zu einem Wert von  $0,4181 \pm 0,0211$  bei einer PPF-D von  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Damit ist die operative RCII-Effizienz ( $F_q'/F_m'$ ) bei  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

etwa 31,13 % niedriger als die maximal mögliche Effizienz unter diesen PPFD-Bedingungen ( $F'_v/F'_m$ ). Dies zeigt also deutlich, dass die steigende Akklimatisations-PPFD zu einer Akkumulation angeregter LHCII-RCII-Komplexe und zu steigenden Energieverlusten an den photosynthetischen Komplexen führt. Es ist zudem interessant zu sehen, dass *C. vulgaris* scheinbar nicht in der Lage ist, diese energetischen Verluste sowie die Akkumulation angeregter LHCII-RCII-Komplexe durch Zellakklimatisation (vgl. Abschnitt 2.5.3) vollständig zu vermeiden.

Die Akkumulation der angeregten LHCII-RCII-Komplexe wird in Abbildung 4.9.B durch die beiden Parameter  $F'_q/F'_v$  und  $q_L$  quantifiziert. Der Parameter  $F'_q/F'_v$  beschreibt das Verhältnis zwischen der operativen und maximalen RCII-Effizienz unter der gegebenen PPFD und ist zudem nicht-linear mit dem Anteil der RCIIs im Grundzustand verknüpft [46,47]. Der Parameter  $q_L$  approximiert den Anteil der RCIIs im Grundzustand, unter der Annahme, dass alle LHCII-RCII-Komplexe eine energetische Verknüpfung miteinander aufweisen (entsprechend dem *lake*-Modell [293]; vgl. Abschnitt 4.3) [46,47]. Beide Parameter ( $F'_q/F'_v$  und  $q_L$ ) verhalten sich qualitativ analog zu  $F'_q/F'_m$  und zeigen deutlich (vgl. Abbildung 4.6.B), dass durch ansteigende PPFDs, trotz der lichtabhängigen Akklimatisation von *C. vulgaris*, eine Akkumulation von angeregten LHCII-RCII-Komplexen hervorgerufen wird, die zu Energieverlusten an jenen Komplexen führt und auf Rückstaueffekte innerhalb der photosynthetischen ETK hindeutet. Überraschenderweise deuten beide Parameter einen scheinbaren Anstieg des Anteils der RCIIs im Grundzustand bei  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  an. Aufgrund der großen Messungenauigkeiten und der allgemein hohen Schwankung der Werte in Abbildung 4.9.B, insbesondere im Falle von  $q_L$ , ist eine eindeutige Aussage darüber, ob es sich hierbei um eine Messschwankung oder einen tatsächlichen physiologischen Effekt handelt, kaum möglich.

Weiterhin liefern die Parameter  $F'_q/F'_v$  und  $q_L$  einen Hinweis darauf, dass die LHCII-RCII-Komplexe in *C. vulgaris* scheinbar stets überexprimiert werden, wobei die Überexpression dieser Komplexe insbesondere bei niedrigen PPFDs stark ausgeprägt zu sein scheint. Wie in Abbildung 4.9.B eindeutig zu erkennen ist, ist, unabhängig von der Akklimatisations-PPFD, ein großer Anteil der LHCII-RCII-Komplexe im quasi-stationären Zustand nicht angeregt. Bei der niedrigsten PPFD von  $39 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  sind laut dem Parameter  $q_L$  ca. 82,58 % der LHCII-RCII-Komplexe im Grundzustand. Bei der höchsten PPFD von  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  sind es immer noch ca. 47,37 % der vorhandenen LHCII-RCII-Komplexe. Ein möglicher Grund für diese Überexpression könnte der Versuch der Mikroalgenzelle sein, mehrfache Lichtabsorption durch bereits angeregte LHCII-RCII-Komplexe und die daraus resultierenden Energieverluste zu vermeiden. Insbesondere im lichtlimitierten Bereich sollte es für die Mikroalgenzelle wichtig sein, das absorbierte Licht möglichst vollständig und ohne Energieverluste zu verwerten. Aus den genannten Gründen erscheint die besonders starke Überexpression der LHCII-RCII-Komplexe bei geringen PPFDs sinnvoll und vorteilhaft.

Ergänzend zu den vorgestellten Fluoreszenzmessungen wurden sogenannte OJIP-Transienten [285,293], entsprechend der Durchführung in Abschnitt 3.3.6.2, aufgenommen. Die experimentell ermittelten OJIP-Transienten (eine beispielhafte OJIP-Transiente ist in Abbildung A.4.2 zu sehen) wurden anhand des sogenannten JIP-Tests [287–293] ausgewertet. Die Auswertung beschränkte sich jedoch nur auf die Parameter (vgl. Tabelle 3.4), die für das in Abschnitt 4.3 vorgestellte Modell relevant sind. Die aus den OJIP-Transienten abgeleiteten Parameter sind in der nachfolgenden Abbildung 4.10 dargestellt.

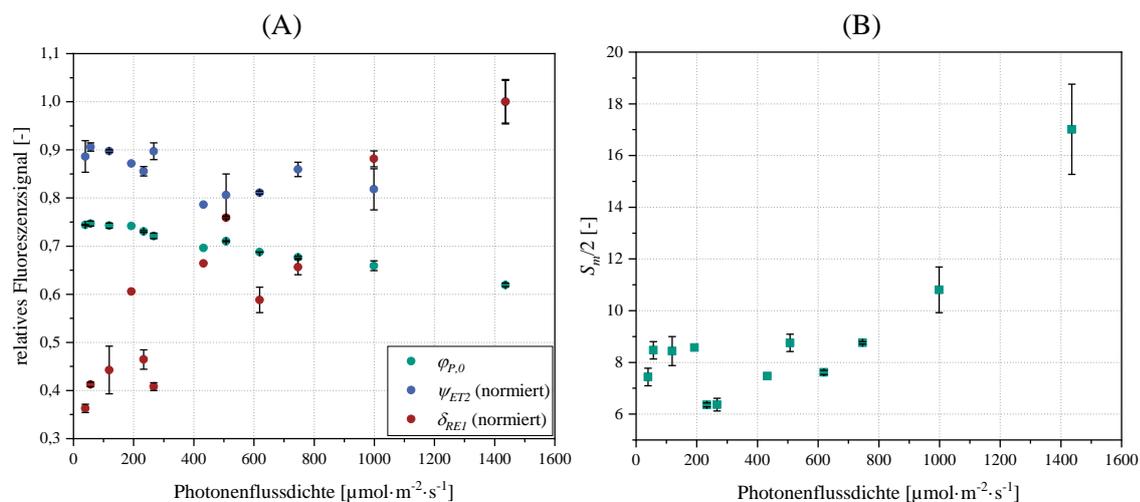


Abbildung 4.10: Entsprechend dem JIP-Test (nach [293]) berechnete Parameter. (A) Dargestellt sind die maximale RCII-Effizienz ( $\phi_{P,0}$ ) und die normierten Wahrscheinlichkeiten, dass ein Elektron vom  $Q_A$  zum  $Q_B$  ( $\psi_{ET2}$ ) bzw. vom  $Q_B$  zum RCI-Akzeptor ( $\delta_{REI}$ ) transportiert wird. (B) Die normierte Fläche  $S_m$  entspricht der Anzahl der Reduktionen und Oxidation von  $Q_A$  während der Aufzeichnung der OJIP-Transienten (der halbe Flächenwert ( $S_m/2$ ) ist proportional zur Anzahl der PQ-Moleküle) [293]. Die abgebildeten Parameter wurden entsprechend dem Protokoll in Abschnitt 3.3.6.2 aus den OJIP-Transienten abgeleitet (Beispielmesskurve in Anhang A.4 hinterlegt (siehe Abbildung A.4.2)). Die Definitionen der Parameter sind Tabelle 3.4 zu entnehmen.

Die maximale Effizienz bzw. Quantenausbeute von RCII entspricht in Abbildung 4.10.A dem Parameter  $\phi_{P,0}$  [293], der sowohl qualitativ als auch quantitativ sehr gut mit dem Parameter  $F'_w/F'_m$  in Abbildung 4.9.A übereinstimmt (nMBE beträgt hierbei 1,57 %). Die Erfassung dieses Parameters diente hauptsächlich der Bestätigung des Ergebnisses in Abbildung 4.9.A. Aufgrund der guten Übereinstimmung und der damit einhergehenden Bestätigung des Ergebnisses in Abbildung 4.9.A, wird der Parameter  $\phi_{P,0}$  im Nachfolgenden nicht weiter erläutert.

Entsprechend der in [293] aufgeführten Definition steht der Parameter  $\psi_{ET2}$  stellvertretend für die Effizienz bzw. Wahrscheinlichkeit, dass ein zuvor im P680 angeregtes Elektron von  $Q_A$  auf  $Q_B$  (vgl. Abbildung 2.3) übertragen wird. Die in Abbildung 4.10.A dargestellten  $\psi_{ET2}$ -Werte wurden jeweils auf den Maximalwert von  $\psi_{ET2}$  normiert. Ebenso wurden die  $\delta_{REI}$ -Werte auf den entsprechenden Maximalwert von  $\delta_{REI}$  normiert (vgl. Abbildung 4.10.A). Wie aus dem Verlauf von  $\psi_{ET2}$  entnommen werden kann, scheint die Wahrscheinlichkeit der Elektronenübertragung von  $Q_A$  auf  $Q_B$  mit steigender Akklimatisations-PPFD tendenziell zu sinken, wobei der maximale Wert von  $\psi_{ET2}$  entgegen der Tendenz bei  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  erfasst werden konnte. Aufgrund der Wertschwankungen ist eine eindeutige Tendenz schwer festzulegen. Trotz einer möglichen, geringfügigen Abnahme von  $\psi_{ET2}$  in Abhängigkeit der Akklimatisations-PPFD kann vermutet werden, dass der Elektronentransport zwischen  $Q_A$  und  $Q_B$  nur geringfügig bis gar nicht durch den lichtabhängigen Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* beeinflusst wird.

Beim Parameter  $\delta_{REI}$  ist in Abbildung 4.10.A hingegen eine deutliche Änderung mit steigender Akklimatisations-PPFD zu verzeichnen. Laut [293] beschreibt  $\delta_{REI}$  die Wahrscheinlichkeit bzw. Effizienz, mit der die Elektronen von  $Q_B$  auf die Elektronenakzeptorseite von RCI übertragen werden. Ausgehend vom geringsten  $\delta_{REI}$ -Wert bei  $39 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  steigt  $\delta_{REI}$  bis zur höchsten

Akklimatisations-PPFD von  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  um das 2,76-Fache an. Es wird davon ausgegangen, dass eine Steigerung der Umsatzrate des limitierenden Schrittes innerhalb der photosynthetischen ETK oder die Zunahme der Poolgröße von einer ETK-Komponente das Verhalten von  $\delta_{REI}$  in Abbildung 4.10.A erklären könnte. Innerhalb der photosynthetischen ETK (vgl. Abbildung 2.3) gilt die Oxidation von PQH<sub>2</sub>-Molekülen am Cyt *b<sub>6</sub>f* als der langsamste Reaktionsschritt (vgl. Abschnitt 2.2.2) [1,58].

In Chlorophyta wurde bisher keine eindeutige, lichtabhängige Variation der Stöchiometrie der Hauptbestandteile des Photosyntheseapparates (RCII, PQ-Moleküle, Cyt *b<sub>6</sub>f* und RCI) beobachtet [1,105]. Deshalb erscheint es eher unwahrscheinlich, dass die lichtabhängige Steigerung von  $\delta_{REI}$  in Abbildung 4.10.A durch eine Änderung der photosynthetischen ETK-Komponenten zwischen RCII und RCI hervorgerufen wird. Vielmehr wird vermutet, dass eine lichtbedingte Änderung auf der Elektronenakzeptorseite des RCI das beobachtete Verhalten von  $\delta_{REI}$  bedingt.

Inwieweit der NADP<sup>+</sup>-Pool, der in einer FNR-katalysierten Reaktion als Elektronenakzeptor von reduzierten Fd-Molekülen fungiert (vgl. Abbildung 2.4) [1,293], eine wichtige Rolle bei der lichtabhängigen Variation von  $\delta_{REI}$  einnimmt, ist nicht ganz klar. Die Inaktivierungsdauer von FNR im Dunkeln ist stark speziesabhängig und kann einige Minuten bis eine Stunde betragen [293]. Die Dunkeladaptation der *C. vulgaris* Zellen vor der Bestimmung der OJIP-Transienten betrug stets 15 Minuten (vgl. Abschnitt 3.3.6.2). Es kann also nicht vollkommen ausgeschlossen werden, dass ein Teil des FNR-Pools während der Messung nicht inaktiviert war, wodurch theoretisch ein Einfluss des NADP<sup>+</sup>-Pools auf die OJIP-Transiente und damit auch auf  $\delta_{REI}$  möglich wäre. Die Aktivierungsdauer vom inaktivierten FNR in Mikroalgen beträgt üblicherweise wenige 100 ms [293]. Bei den in dieser Arbeit aufgezeichneten OJIP-Transienten wurde das Fluoreszenzmaximum stets im Bereich von 103-201 ms erfasst, wobei keine PPFD-abhängigen Tendenzen zu erkennen waren. Nach dem Fluoreszenzmaximum war immer eine deutliche Abnahme im Fluoreszenzsignal zu verzeichnen (vgl. Abbildung A.4.2), was auf eine Aktivierung der FNR-katalysierten Elektronenübertragung von reduzierten Fd-Molekülen auf NADP<sup>+</sup>-Moleküle in diesem Zeitrahmen hindeutet [324]. Die vergleichsweise geringe Aktivierungszeit von FNR [293], die in dieser Arbeit beobachtet wurde, könnte ein Hinweis sein, dass der FNR-Pool während der Dunkeladaptation der Mikroalgenzellen (vgl. Abschnitt 3.3.6.2) nicht vollständig inaktiviert wurde.

Ebenso wie FNR unterliegt auch die RuBisCO-Aktivität einer lichtabhängigen Regulation [1]. Unter Lichteinfall wird RuBisCO durch die Carbamylierung eines L-Lysins und die anschließende Bindung eines Mg<sup>2+</sup> durch das entstehende Carbamat aktiviert [1,325]. Durch eine anhaltende Dunkelheit wird RuBisCO erneut inaktiviert, wobei die Dauer der Inaktivierung scheinbar speziesabhängig ist [325]. In der Grünalge *D. tertiolecta* wurde beobachtet, dass nach einer etwa 15-minütigen Dunkelphase immer noch etwa 60 % des gesamten RuBisCO im aktivierten Zustand vorlagen, nach etwa 60 Minuten waren es immer noch über 40 % [325]. Ausgehend davon ist anzunehmen, dass bei der Bestimmung der OJIP-Transienten in dieser Arbeit (vgl. Abschnitt 3.3.6.2) ein erheblicher Teil von RuBisCO in aktivierter Form vorlag.

Es ist zudem bekannt, dass der RCII-spezifische RuBisCO-Gehalt in Mikroalgen mit steigender Akklimatisations-PPFD zunimmt, was auch in einer höheren RCII-spezifischen Umsatzrate der photosynthetischen ETK resultiert [105,212]. Wie zuvor erläutert, ist, bedingt durch die experi-

mentellen Bedingungen (vgl. Abschnitt 3.3.6.2), eher davon auszugehen, dass weder FNR noch RuBisCO während der Dunkelphase vollständig inaktiviert wurden. Es kann daher vermutet werden, dass die FNR- und RuBisCO-Aktivität einen Einfluss auf den IP-Bereich der OJIP-Transienten (siehe Beispiel in Abbildung A.4.2) und damit auch auf den OJIP-Parameter  $\delta_{REI}$  hatten. Da die RCII-spezifische Umsatzrate von RuBisCO mit der zunehmenden Akklimatisations-PPFD scheinbar steigt (wodurch auch der RCII-spezifische NADPH-Verbrauch steigen sollte) [105,212], ist es denkbar, dass dadurch auch die Verfügbarkeit von NADP<sup>+</sup>-Molekülen als endgültige Elektronenakzeptoren von RCI (vgl. Abbildung 2.4) zunimmt. Dies könnte wiederum die Erklärung für den lichtabhängigen Anstieg von  $\delta_{REI}$  in Abbildung 4.10.A sein. Aufgrund der unbekanntenen und möglicherweise unterschiedlichen Aktivierungsgrade von FNR [293] und RuBisCO [325] nach der Dunkelinkubation (vgl. Abschnitt 3.3.6.2) erscheint es unwahrscheinlich, dass der lichtabhängige Anstieg von  $\delta_{REI}$  quantitativ mit dem lichtabhängigen Anstieg der RCII-spezifischen Umsatzrate von RuBisCO übereinstimmt. Deshalb wird in diesem Fall der Anstieg von  $\delta_{REI}$  lediglich als ein qualitativer Hinweis darauf gedeutet, dass die lichtbedingte RCII-spezifische RuBisCO-Umsatzrate auch in *C. vulgaris* möglicherweise zusammen mit der Akklimatisations-PPFD steigt.

Neben den bisher vorgestellten Parametern wurde auch jeweils die normalisierte Fläche zwischen dem maximalen Fluoreszenzniveau der OJIP-Transienten und der OJIP-Transienten selbst (siehe Abbildung A.4.2) bestimmt. Diese Fläche ist in [293] als Parameter  $S_m$  definiert. Es wird angenommen, dass  $S_m$  proportional zur Anzahl der Reduktionen und Oxidationen eines Q<sub>A</sub>-Moleküls während der Aufzeichnung der OJIP-Transienten und damit proportional zur Anzahl der PQ-Moleküle pro RCII sein sollte [293]. Da ein PQ-Molekül (bzw. ein Q<sub>B</sub>) zwei Elektronen aufnehmen kann [1], wurde die Fläche  $S_m$  halbiert, um die Anzahl der PQ-Moleküle pro RCII zu erhalten. Das Ergebnis ist in Abbildung 4.10.B zu sehen. Im PPFD-Intervall zwischen 39-746  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist keine eindeutige Tendenz von  $S_m/2$  zu erkennen. Die durchschnittliche RCII-spezifische PQ-Poolgröße beträgt in diesem Bereich (aufgerundet) 8 und liegt damit innerhalb der Literaturwerte für *C. vulgaris* (5-20 PQ-Moleküle pro RCII) [1,69,70]. Ab einer Akklimatisations-PPFD von etwa 999  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist jedoch eine Steigerung der PQ-Poolgröße zu verzeichnen, bei der der PQ-Pool auf  $10,8 \pm 0,9$  Moleküle pro RCII anwächst. Bei 1436  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist ein weiterer, noch deutlicherer Anstieg auf ca.  $17 \pm 1,7$  PQ-Moleküle pro RCII zu sehen. Ausgehend von den vorliegenden Daten bleibt unklar, was eine mögliche Ursache für dieses Verhalten darstellen könnte. Ein ähnliches Verhalten konnte bspw. in der Grünalge *D. tertiolecta* nicht beobachtet werden [105]. Es ist daher nicht auszuschließen, dass die Zunahme der PQ-Poolgröße bei den beiden höchsten Akklimatisations-PPFDs (999 und 1436  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) möglicherweise lediglich ein Messartefakt ist und nicht auf einen physiologischen Effekt zurückzuführen ist.

### 4.1.3 Einfluss der Photonenflussdichte auf die Zellkomposition

Wie bereits zuvor in den Abschnitten 2.3 und 2.4 dargelegt, hat die Photosynthese einen direkten Einfluss auf das photoautotrophe Wachstum und damit auch auf die Zellzusammensetzung von Mikroalgen [137]. Im Nachfolgenden wird untersucht, wie die Zellzusammensetzung von *C. vulgaris* im stationären Zustand in Abhängigkeit der Akklimatisations-PPFD variiert. Hierzu wurden die spezifischen Gehalte der makroskopischen Hauptbestandteile der Mikroalgenzelle

bestimmt. Die dafür verwendete Analytik kann den Abschnitten 3.3.1, 3.3.2, 3.3.3 und 3.3.4 entnommen werden. Es sei angemerkt, dass der BTM-spezifische Lipid- und Nukleotidgehalt experimentell nicht erfasst und deshalb rein rechnerisch bestimmt wurden. Für den Nukleotidgehalt (RNS und DNS zusammengefasst) wurde, basierend auf der Literatur [140,151,162], ein Protein-spezifischer Gehalt von  $0,112 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  angenommen. Der jeweilige BTM-spezifische Lipidgehalt wurde als der verbleibende Rest, nach Abzug der anderen BTM-spezifischen Gehalte, definiert. Die BTM-spezifischen Gehalte der Hauptzellkomponenten in Abhängigkeit der Akklimations-PPFD sind in der nachfolgenden Abbildung 4.11 zu sehen.

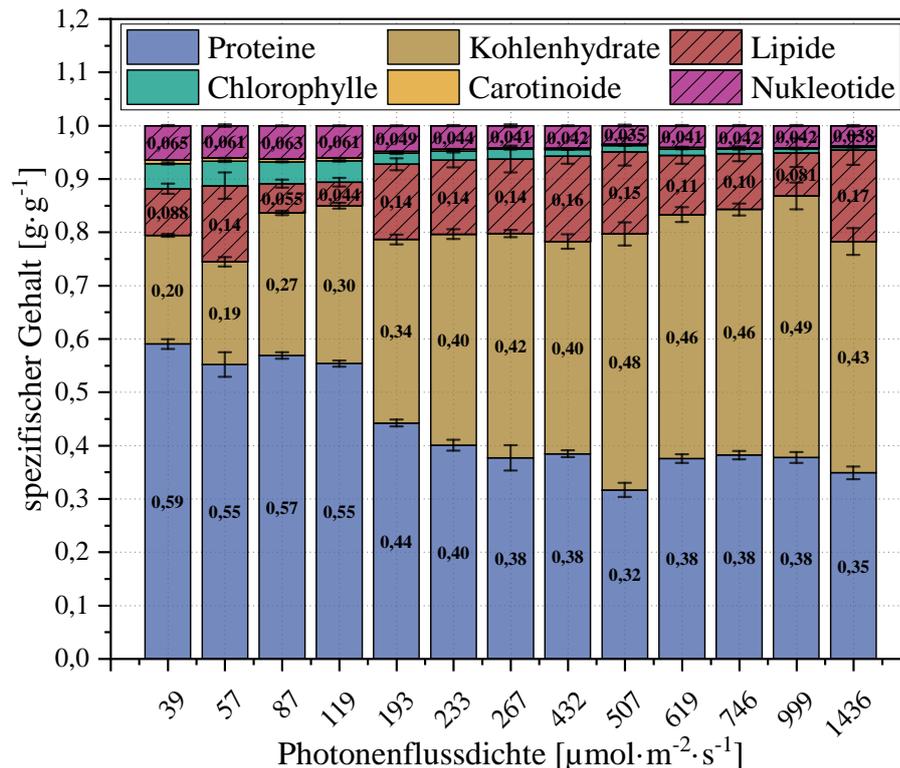


Abbildung 4.11: Abhängigkeit der Zellzusammensetzung vom lichtbedingten Akklimationszustand von *C. vulgaris*. Dargestellt sind jeweils die BTM-spezifischen Gehalte der makroskopischen Zellbestandteile. Zellkomponenten wie Mineralien, Vitamine und Sekundärmetabolite werden aufgrund ihres geringen Vorkommens zunächst vernachlässigt [151]. Die BTM-spezifischen Gehalte der Lipide und Nukleotide (gestrichelte Balken) wurden jeweils rechnerisch bestimmt.

Der experimentell ermittelte BTM-spezifische Proteingehalt liegt in einem Bereich zwischen  $0,32$ - $0,59 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  und ist damit im Bereich der Literaturwerte für *C. vulgaris* [6,130,134]. Der BTM-spezifische Kohlenhydratgehalt liegt zwischen  $0,19$ - $0,49 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  und damit ebenfalls im Rahmen der Literaturdaten [6,131]. Mit Werten zwischen  $0,044$ - $0,17 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  entspricht der berechnete BTM-spezifische Lipidgehalt den Literaturwerten für Mikroalgen, die unter optimalen Bedingungen ohne Nährstofflimitierungen wachsen [6,9,147]. Da die berechneten BTM-spezifischen Lipidgehalte über den gesamten betrachteten PPF-D-Bereich keine eindeutige Tendenz aufweisen und eher im Bereich der experimentellen BTM-spezifischen Mindestlipidgehalte aus der Literatur ( $0,05$ - $0,14 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  [6,9,147]) liegen, wird davon ausgegangen, dass diese Fraktion hauptsächlich aus funktionalen bzw. strukturellen Lipiden (vgl. Anhang A.6)

besteht. Die BTM-spezifischen Pigmentgehalte wurden bereits in Abschnitt 4.1.2.1 umfassend diskutiert, es sei jedoch erwähnt, dass diese ebenfalls innerhalb der üblichen Literaturwerte liegen [6,140,162]. Der BTM-spezifische Nukleotidgehalt wurde, wie zuvor erwähnt, ausgehend vom jeweiligen BTM-spezifischen Proteingehalt, bestimmt. Die ermittelten Werte für den BTM-spezifischen Nukleotidgehalt liegen im Rahmen von  $0,035\text{-}0,065\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  und entsprechen damit den gängigen Literaturdaten, die sich üblicherweise im Bereich unter  $0,07\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  bewegen [151,162]. Insgesamt kann festgehalten werden, dass alle bestimmten BTM-spezifischen Gehalte der Hauptbestandteile von *C. vulgaris* (vgl. Abbildung 4.11) gut mit den aufgeführten Literaturdaten (siehe auch Abschnitt 2.3) übereinstimmen und keine eindeutigen Ausreißer festzustellen sind.

Bei der Betrachtung von Abbildung 4.11 fällt auf, dass der BTM-spezifische Kohlenhydratgehalt im PPFD-Bereich zwischen  $39\text{-}57\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nahezu konstant bleibt und im Mittel etwa  $0,1984 \pm 0,0056\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  beträgt. Ebenso bleiben die Gehalte der restlichen Zellbestandteile in diesem Bereich nahezu unverändert. Da sowohl der Kohlenhydratgehalt als auch der Lipidgehalt in diesem PPFD-Intervall nahe den Mindestgehalten von jeweils  $0,12\text{-}0,14\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  (für Kohlenhydrate) [6,131] und  $0,05\text{-}0,14\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  (für Lipide) [6,9,147] liegen, wird vermutet, dass die gesamte Biomasse im betrachteten Bereich keine bzw. kaum Speicherstoffe (Stärke und TAGs; vgl. Anhang A.6) enthält und demnach hauptsächlich funktionale bzw. aktive Biomasse darstellen sollte (vgl. Abschnitt 2.3). Unter Einbezug von  $y_{BTM,hv}^*$  aus Abbildung 4.2.A fällt auf, dass der  $y_{BTM,hv}^*$ -Wert im PPFD-Intervall von  $39\text{-}57\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nahezu konstant bleibt und in diesem Bereich durchschnittlich  $1,043 \pm 0,062\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  beträgt. Ein ähnliches Verhalten ist auch im Falle der Parameter  $F'_v/F'_m$ ,  $F'_q/F'_m$  und  $F'_q/F'_v$  in Abbildung 4.9 zu erkennen. Es zeigt sich also, dass *C. vulgaris* unter den gegebenen Kultivierungsbedingungen (vgl. Abschnitt 3.2.1) im Bereich zwischen  $39\text{-}57\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  mit nahezu konstanter, maximaler Effizienz wächst. In diesem PPFD-Bereich liegen die jeweiligen  $\mu$ -Werte zwischen  $0,037\text{-}0,053\text{ h}^{-1}$  (vgl. Abbildung 4.1.A).

Ab einer PPFD von etwa  $87\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist eine Zunahme des BTM-spezifischen Kohlenhydratgehaltes in Abbildung 4.11 zu verzeichnen. Die Zunahme des BTM-spezifischen Kohlenhydratgehaltes erfolgt bis zu einer PPFD von etwa  $233\text{-}267\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und pendelt sich dann bei einem durchschnittlichen Maximalwert von  $0,449 \pm 0,017\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  ein. Insgesamt verhalten sich die Verläufe des BTM-spezifischen Kohlenhydratgehaltes (vgl. Abbildung 4.11) und  $\mu$  (vgl. Abbildung 4.1.A) ab  $87\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  qualitativ gleich. Daraus lässt sich ableiten, dass die Zunahme von  $\mu$  oberhalb von  $0,065\text{ h}^{-1}$  bzw. ab  $87\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  scheinbar nicht mehr ausschließlich aus dem schnelleren Wachstum der aktiven Biomasse, sondern auch aus der verstärkten Akkumulation von Speicherkohlenhydraten resultiert.

Interessanterweise scheint die Akkumulation der Kohlenhydrate mit einer Abnahme der Wachstumseffizienz einherzugehen. Während die Parameter  $F'_v/F'_m$ ,  $F'_q/F'_m$  und  $F'_q/F'_v$  (vgl. Abbildung 4.9), wie bereits zuvor erwähnt, im Bereich von  $39\text{-}57\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nahezu unverändert hoch bleiben, scheint zwischen  $57$  und  $119\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (der Zustand bei  $87\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wurde im Rahmen dieser Messung nicht erfasst) eine Abnahme bei allen drei Parametern stattzufinden. Eine noch deutlichere Abnahme der Werte von  $F'_v/F'_m$ ,  $F'_q/F'_m$  und  $F'_q/F'_v$  ist ab einer PPFD von  $193\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  feststellbar, die nahe der Lichtsättigung von  $\mu$  bei  $233\text{-}267\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (vgl. Abbildung 4.1.A) liegt.

Ein ähnliches Bild ergibt sich im Falle der  $y_{BTM,hv}^*$ -Werte, die ebenfalls im Bereich von 39-57  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (vgl. Abbildung 4.2.A) relativ konstant hoch bleiben und danach bis etwa 233  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  tendenziell geringfügig abnehmen. Aufgrund der Messwertschwankungen von  $y_{BTM,hv}^*$  zwischen 87-193  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (vgl. Abbildung 4.2.A) ist eine Quantifizierung der beobachteten Abnahme von  $y_{BTM,hv}^*$  kaum möglich. Ab dem Erreichen der Lichtsättigung bei 233-267  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist auch im Falle von  $y_{BTM,hv}^*$  eine deutliche Reduktion in Abbildung 4.2.A zu verzeichnen, ähnlich wie bei den Parametern  $F_v'/F_m'$ ,  $F_q'/F_m'$  und  $F_q'/F_v'$  in Abbildung 4.9.

Trotz der geringfügigen Abweichungen der aufgeführten Messergebnisse ergänzen sich diese und deuten darauf hin, dass die Lichtausnutzung beim Wachstum der rein funktionalen bzw. aktiven Biomasse scheinbar nahezu unverändert maximal bleibt. Sobald die vermehrte Akkumulation von Kohlenhydraten eintritt, ist eine deutlichere Abnahme bei der Wachstumseffizienz bzw. Lichtausnutzungseffizienz feststellbar. Beim Erreichen der Lichtsättigung sinkt die Effizienz, mit der *C. vulgaris* das Licht für das Zellwachstum nutzt, deutlich und nimmt mit steigender Akklimatisations-PPFD weiterhin stetig ab. Da die Akkumulation von Speicherkohlenhydraten einen Effekt auf die lichtspezifische Wachstumseffizienz von *C. vulgaris* zu haben scheint, wird nachfolgend untersucht, was genau die Ursache für dieses Phänomen sein könnte.

Die verstärkte Akkumulation von Speicherstoffen wie Stärke und TAGs wird in Mikroalgen oftmals nach der Induktion einer Stickstofflimitierung beobachtet [6,15,35,130,150], wobei jedoch auch hohe PPFDs die Speicherstoffakkumulation begünstigen sollen [130,150]. Anders als bspw. in [150], wurde in dieser Arbeit keine Stickstofflimitierung durch fehlenden Stickstoff im Medium induziert. Mit der Menge des Stickstoffs im eingesetzten P-Medium (vgl. Abschnitt 3.1.1) sollten, entsprechend der Elementaranalyse von *C. vulgaris* [166],  $c_{BTM}$  im Bereich von 1,15-1,44  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  ohne eine Stickstofflimitierung erreichbar sein. Die Turbidostat-Kultivierungen (vgl. Abschnitt 3.1.3) erfolgten mit deutlich geringeren  $c_{BTM}$  im Rahmen von  $0,55 \pm 0,07 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ , sodass stets ein Stickstoffüberschuss vorhanden war. Es kann daher vermutet werden, dass eventuell eine zelluläre Einschränkung im Mikroalgenmetabolismus zur vermehrten Akkumulation von Speicherkohlenhydraten führt, was im Nachfolgenden überprüft wird.

Aufgrund der Flachplattengeometrie der verwendeten Photobioreaktoren (vgl. Abbildung 3.1) konnte kein Rührer zur Durchmischung der Kultursuspension verwendet werden, sodass die Durchmischung durch die Begasung realisiert werden musste. Deshalb musste eine hohe Begasungsrate von  $0,4 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  (vgl. Abschnitt 3.1.3) eingestellt werden, die jedoch zum partiellen Austrag des eingesetzten  $\text{NH}_4^+$  geführt hat. Jedoch konnte eine ausreichend hohe  $\text{NH}_4^+$ -Konzentration gemessen werden, sodass eine Stickstofflimitierung ausgeschlossen werden konnte. Nichtsdestotrotz war es nicht möglich, die BTM-spezifische  $\text{NH}_4^+$ -Aufnahmerate ( $r_{NH_4}$ ) messtechnisch korrekt zu erfassen. Aus diesem Grund wurde  $r_{NH_4}$  rechnerisch bestimmt. Hierzu wurden die typischen Stickstoffgehalte der jeweiligen Zellkomponenten ( $w_{N,i}$ ; vgl. Anhang A.6), der BTM-spezifische Gehalt der jeweiligen Zellkomponenten ( $w_i$ ; vgl. Abbildung 4.11) sowie die entsprechenden  $\mu$ -Werte (vgl. Abbildung 4.1) herangezogen. Die Rate  $r_{NH_4}$  kann dann wie folgt berechnet werden:

$$r_{NH_4} = \frac{\mu}{w_{N,NH_4}} \cdot \sum_i w_{N,i} \cdot w_i \quad (4.4)$$

Die nach Gleichung 4.4 berechneten  $r_{NH_4}$  sind in Abbildung 4.12 gegen  $\bar{I}_{PAR}$  aufgetragen. Zur Berechnung der  $w_{N,i}$ -Werte in Tabelle 4.5 wurden die in Tabelle A.6.9 (siehe Anhang A.6) aufgeführten Daten herangezogen. Es sei erwähnt, dass aufgrund der Berechnungsart von  $r_{NH_4}$ , diese Rate auch als die effektive  $NH_4^+$ -Verwertungsrate von *C. vulgaris* interpretiert werden kann, die beschreibt, wie viel Gramm  $NH_4^+$  stündlich für den Aufbau von einem Gramm BTM verwertet werden.

Tabelle 4.5: Auflistung der Stickstoffgehalte der hauptsächlichsten Zellkomponenten in *C. vulgaris*.

Zellkomponente	$w_{N,i}$ [ $g \cdot g^{-1}$ ]
Proteine	0,1512
Kohlenhydrate (funktional)	0
Kohlenhydrate (Speicher)	0
Lipide (funktional)	0,0055
Lipide (Speicher)	0
Chlorophyll a	0,0628
Chlorophyll b	0,0618
Carotinoide (photoprotektiv)	0
Nukleotide	0,1629

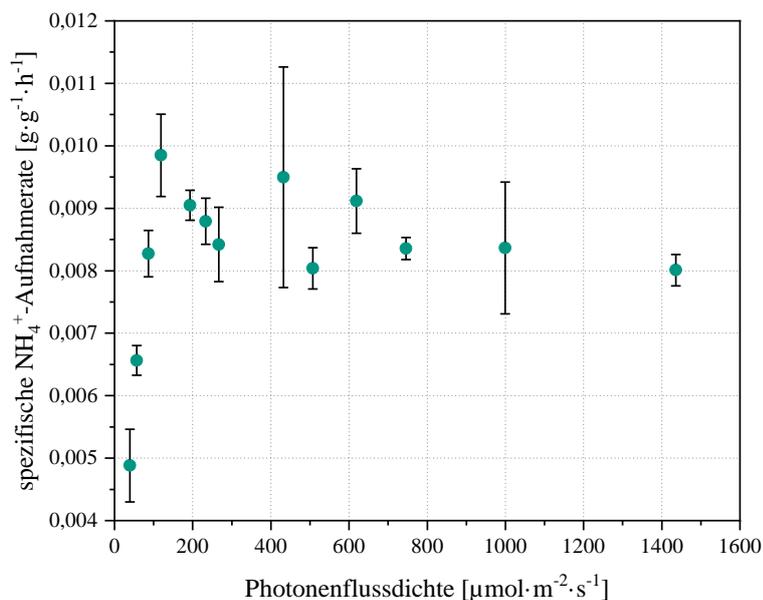


Abbildung 4.12: Berechnete BTM-spezifische  $NH_4^+$ -Aufnahmeraten von *C. vulgaris* in Abhängigkeit der PPF. D.

Die Werte wurden unter der Annahme berechnet, dass die vorhandenen Lipide zur Gruppe der funktionalen Lipide gehören. Die Stickstoffgehalte der jeweiligen Zellkomponenten ( $w_{N,i}$ ) wurden mithilfe der in Anhang A.6 aufgeführten Tabelle A.6.9 berechnet. Die Werte für  $\mu$  und die jeweiligen BTM-spezifischen Gehalte der Zellkomponenten ( $w_i$ ) sind Abbildung 4.1.A und Abbildung 4.3 zu entnehmen.

Wie in Abbildung 4.12 deutlich zu erkennen, ist  $r_{NH_4}$  bereits ab einer PPF. D. von  $87 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  gesättigt. Der berechnete Maximalwert von  $r_{NH_4}$  beträgt ca.  $0,0087 \pm 0,0002 g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ . Dieses Ergebnis impliziert, dass das Wachstum der aktiven Biomasse von *C. vulgaris* im akklimatisier-

ten Zustand, zumindest unter den gegebenen Kultivierungsbedingungen mit einer hohen  $\text{CO}_2$ -Konzentration im Zugas von 2 % (v/v) (vgl. Abschnitt 3.2.1), nicht durch die  $\text{CO}_2$ -Fixierung, sondern scheinbar durch  $r_{\text{NH}_4}$  limitiert wird. Trotz der vollständigen Auslastung von  $r_{\text{NH}_4}$  ab etwa  $87 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (vgl. Abbildung 4.12) nimmt das Zellwachstum von *C. vulgaris* weiterhin bis etwa  $233\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zu, wie aus Abbildung 4.1.A ersichtlich wird. Wie bereits zuvor erläutert, resultiert die zusätzliche Zunahme des Zellwachstums zwischen  $87\text{-}233$  bzw.  $267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wahrscheinlich aus der verstärkten Akkumulation von Speicherkohlenhydraten. Da eine Akkumulation allgemein durch die Differenz eines Zufluss- ( $\text{CO}_2$ -Fixierung im Calvin-Zyklus; vgl. Abschnitt 2.2.3) und Abflussterms (Nutzung des fixierten Kohlenstoffs im Anabolismus sowie für die mitochondriale Respiration; vgl. Abschnitte 2.3 und 2.4) beschrieben wird, ist bei der beobachteten Netto-Akkumulation von Kohlenhydraten davon auszugehen, dass der Zuflussterm ab etwa  $87 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  überproportional zum Abflussterm ansteigt. Dieses Ergebnis scheint also die zuvor aufgestellte Vermutung, dass eine intrazelluläre metabolische Limitierung die Kohlenhydratakkumulation bewirkt, zu bestätigen.

Da das Wachstum der aktiven Biomasse von *C. vulgaris* scheinbar nicht beeinträchtigt, sondern lediglich ausgelastet wird, entsteht die Frage, warum das zusätzliche Wachstum im lichtlimitierten Bereich durch die vermehrte Akkumulation von Kohlenhydraten mit einer verringerten lichtspezifischen Wachstumseffizienz einhergeht. Bei der alleinigen Betrachtung der zentralen Stoffwechselwege bleibt unklar, warum die Stärkesynthese im Chloroplasten aus energetischer Sicht weniger effizient sein sollte als die Synthese anderer Zellbestandteile [113,129]. Eine Erklärung für die scheinbar durch Stärkeakkumulation abnehmende Wachstumseffizienz könnte sein, dass die nahezu konstant hohe Wachstumseffizienz zwischen  $39\text{-}57 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (vgl. Abbildung 4.2.A) möglicherweise nur ein Messartefakt ist und die Effizienz im lichtlimitierten Bereich eigentlich durchgehend sinkt. Gleiches gilt für die Fluoreszenzparameter in Abbildung 4.9.B, wo ebenfalls nicht eindeutig klar wird, ob die operativen Parameter im Bereich von  $39\text{-}57 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  konstant bleiben oder doch eher tendenziell abnehmen. Es kann jedoch auch nicht ausgeschlossen werden, dass die Stärkeakkumulation im Chloroplasten tatsächlich einen Einfluss auf die lichtabhängige Wachstums- bzw. Photosyntheseeffizienz hat. Es konnte bereits mehrfach in *C. vulgaris* beobachtet werden, dass die vermehrte Akkumulation von Kohlenhydraten im Chloroplasten eine deutliche Änderung in der Zell- bzw. Chloroplastenmorphologie bewirkt [133,146], die sich im Umkehrschluss auf die Wachstums- bzw. Photosyntheseeffizienz auswirken könnte. Nichtsdestotrotz bleibt im hier untersuchten Fall unklar, wie genau sich eine solche Änderung in der Zell- bzw. Chloroplastenmorphologie auf die lichtbedingte Wachstums- bzw. Photosyntheseeffizienz auswirken würde. Hierbei besteht also weiterer Forschungsbedarf.

Trotz der Tatsache, dass die Limitierung des Wachstums der aktiven Biomasse von *C. vulgaris* durch die Stärkeakkumulation überlagert wird, was insgesamt höhere  $\mu$  ermöglicht, scheint das Zellwachstum der gesamten Biomasse ab etwa  $233\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  lichtgesättigt zu sein und  $\mu_{\text{max}}$  zu erreichen (vgl. Abbildung 4.1.A). Ab dem Lichtsättigungspunkt ist auch keine eindeutige Zunahme des BTM-spezifischen Kohlenhydratgehaltes mehr zu verzeichnen (vgl. Abbildung 4.11). Im Gegensatz dazu ist dies der Punkt, ab dem eine eindeutige Reduktion sowohl von  $y_{\text{BTM},\text{hv}}^*$  (vgl. Abbildung 4.2.A) als auch der Fluoreszenzparameter  $F_v'/F_m'$ ,  $F_q'/F_m'$  und  $F_q'/F_v'$  (vgl. Abbildung 4.9.B) zu sehen ist, was auf erhebliche Energieverluste ab der Lichtsättigung des Wachstums von *C. vulgaris* hindeutet. In [265] wird unterstellt, dass die endliche Proteomgröße

letztendlich die Obergrenze für das photoautotrophe Wachstum setzt (vgl. Abschnitt 2.6.4). Dieser Aspekt wurde bereits in Abschnitt 4.1.2.1 in Bezug auf den lichtabhängigen Verlauf der BTM-spezifischen Pigmentgehalte aufgegriffen und diskutiert. Nachfolgend soll dieses Konzept für den Fall von *C. vulgaris* weiterführend untersucht werden.

Ein deutlicher Hinweis dafür, dass *C. vulgaris* tatsächlich nicht in der Lage ist, die Größe des Proteoms zu erhöhen, wäre ein konstanter BTM-spezifischer Proteingehalt. Wie in Abbildung 4.11 jedoch eindeutig zu sehen ist, sinkt der Proteingehalt ab einer PPFD von  $87 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Möglicherweise kann die dort beobachtete Reduktion des BTM-spezifischen Proteingehaltes auf die Akkumulation von Stärke und nicht zwangsläufig auf eine tatsächliche Reduktion der absoluten Proteinmenge zurückgeführt werden. Um dies zu überprüfen, wurden die über den BTM-spezifischen Mindestgehalt von  $0,1984 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  (vgl. Abbildung 4.11) akkumulierten Speicherkohlenhydrate herausgerechnet und der Proteingehalt nur auf die aktive bzw. funktionale Biomasse bezogen. Gleiches Vorgehen erfolgte im Falle der Pigmente, um sehen zu können, ob deren BTM-spezifischer Gehalt ebenfalls nur scheinbar durch die Akkumulation von Speicherkohlenhydraten sinkt. Die auf die aktive Biomasse bezogenen Gehalte der Proteine sowie Pigmente sind in der nachfolgenden Abbildung 4.13 dargestellt.

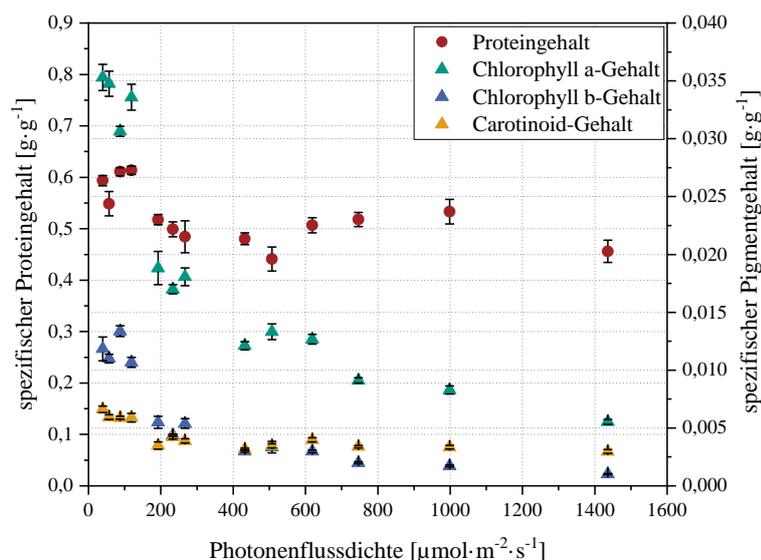


Abbildung 4.13: Berechnete Protein- und Pigmentgehalte bezogen auf die aktive bzw. funktionale Biomasse von *C. vulgaris*. Bei der Berechnung der Gehalte wurde angenommen, dass jegliche über den Gehalt von  $0,1984 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  akkumulierten Kohlenhydrate den Speicherkohlenhydraten zuzurechnen sind und die restliche Biomasse die funktionale Biomasse darstellt.

In Abbildung 4.13 ist zu erkennen, dass eine Steigerung der absoluten Proteinmenge in *C. vulgaris* unabhängig vom lichtbedingten Akklimatisationszustand nicht stattfindet. Zwischen  $119$  und  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist sogar eine deutliche Abnahme der Proteinmenge zu sehen, die sich schließlich bei einem auf die aktive Biomasse bezogenen Gehalt von  $0,4929 \pm 0,0452 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  einpendelt. Dementsprechend kann angenommen werden, dass *C. vulgaris* tatsächlich nicht in der Lage ist, die Proteomgröße in Abhängigkeit des Akklimatisationszustandes zu steigern. Durch die limitierte Proteomgröße ist die Mikroalgenzelle gezwungen, die Steigerung einer

Proteinfraction durch die zeitgleiche Reduktion der anderen Proteinfractionen zu kompensieren [265] (vgl. Abschnitt 2.6.4). Entsprechend den Literaturangaben [151,258,265] determiniert letztendlich die spezies- und bedingungsabhängige Allokation des endlichen Proteoms  $\mu_{max}$ , was auch im Falle von *C. vulgaris* zutreffen dürfte (vgl. Abbildung 4.13). Woraus die mögliche Abnahme des Proteingehaltes in Abbildung 4.13 resultiert, bleibt aus den gegebenen Daten unklar. Da eine deutliche Abnahme des Chlorophyllgehaltes stattfindet (vgl. Abbildung 4.13), ist auch mit einer Abnahme der LHC-RC-Komplexe zu rechnen (vgl. Abbildung 4.14). Da die Thylakoidmembranen im Vergleich zu anderen Membranen eine enorm hohe Dichte an Proteinkomplexen aufweisen [75,77], ist es vorstellbar, dass bei einer Reduktion der LHC-RC-Komplexe innerhalb der Thylakoidmembran die Proteinfractionen nicht um den gleichen Betrag gesteigert werden, da nicht die gleichen Proteindichten außerhalb der Thylakoidmembran erreicht werden können. Ob das jedoch tatsächlich so ist und was die genaue Ursache dafür wäre, kann an dieser Stelle nicht endgültig geklärt werden. Es besteht auch die Möglichkeit, dass die beobachtete Abnahme des auf die aktive Biomasse bezogenen Proteingehaltes in Abbildung 4.13 lediglich das Resultat der Messwertschwankungen der jeweiligen ursprünglichen Gehalte (vgl. Abbildung 4.11) ist und somit nicht durch ein physiologisches Phänomen begründet ist.

Bei der ergänzenden Betrachtung des auf die aktive Biomasse bezogenen Pigmentgehaltes in Abbildung 4.13 fällt zunächst auf, dass dieser im Bereich zwischen  $39-199 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  nur geringfügig abnimmt, was sich ab  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (etwa ab dem Erreichen der Lichtsättigung von  $\mu$ ; vgl. Abbildung 4.1) deutlich ändert. Ab  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist, ähnlich wie beim entsprechenden Proteingehalt in Abbildung 4.13, eine sprunghafte Reduktion des Gehaltes aller dargestellten Pigmente zu verzeichnen. Interessanterweise nehmen ab  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  die Gehalte von Chla und Chlb stetig mit steigender Akklimatisations-PPFD ab, während der Car-Gehalt scheinbar stagniert (vgl. Abbildung 4.13). Dementsprechend kann die beobachtete Reduktion des BTM-spezifischen Chlorophyllgehaltes in Abbildung 4.3 (und auch in Abbildung 4.11) nicht nur auf die Akkumulation von Speicherkohlenhydraten, sondern auch auf eine aktive Anpassung des Chlorophyllgehaltes seitens *C. vulgaris* zurückgeführt werden. Im Falle des Car-Gehaltes ist es weniger eindeutig, ob dieser tatsächlich aktiv mit steigender Akklimatisations-PPFD reduziert wird, da sich der Gehalt ab  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  kaum verändert (vgl. Abbildung 4.13). Tendenziell ist jedoch eine geringfügige Abnahme des Car-Gehaltes ab  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  feststellbar (um etwa 14,9 % zwischen  $193$  und  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Insgesamt kann festgehalten werden, dass die Pigmentgehalte im PPFD-Bereich zwischen  $39-1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wahrscheinlich nicht nur passiv durch die vermehrte Kohlenhydratakkumulation (vgl. Abbildung 4.11) abnehmen, sondern aktiv von *C. vulgaris* herunterreguliert werden, wobei die jeweilige Abnahme von Chla (ca. 84,3 %) und Chlb (ca. 91,4 %) deutlicher ausfällt als die Abnahme von Car (ca. 55,1 %). Zusätzlich lässt sich daraus ableiten, dass auch der Anteil der photosynthetischen Proteine am Gesamtprotein mit steigender PPFD abnehmen muss, da die Chlorophylle stets in Komplexen mit Proteinen (LHC-RC-Komplexe) vorliegen [140]. Zur Quantifizierung der LHC-RC-Anteile am Gesamtprotein wurden die jeweiligen BTM-spezifischen LHC-RC-Anzahlen (siehe Abbildung 4.5), LHC-RC-Komplexgrößen (siehe Abbildung 4.4.B), die Molekulargewichte der jeweiligen photosynthetischen Proteinkomplexe (vgl. Anhang A.7) sowie der BTM-spezifische Gesamtproteingehalt (siehe Abbildung 4.11) herangezogen. Die so ermittelten Massenanteile der beiden LHC-RC-Komplexe am Gesamtprotein von *C. vulgaris* sind in Abbildung 4.14 gegen die Akklimatisations-PPFD sowie  $\mu$  aufgetragen.

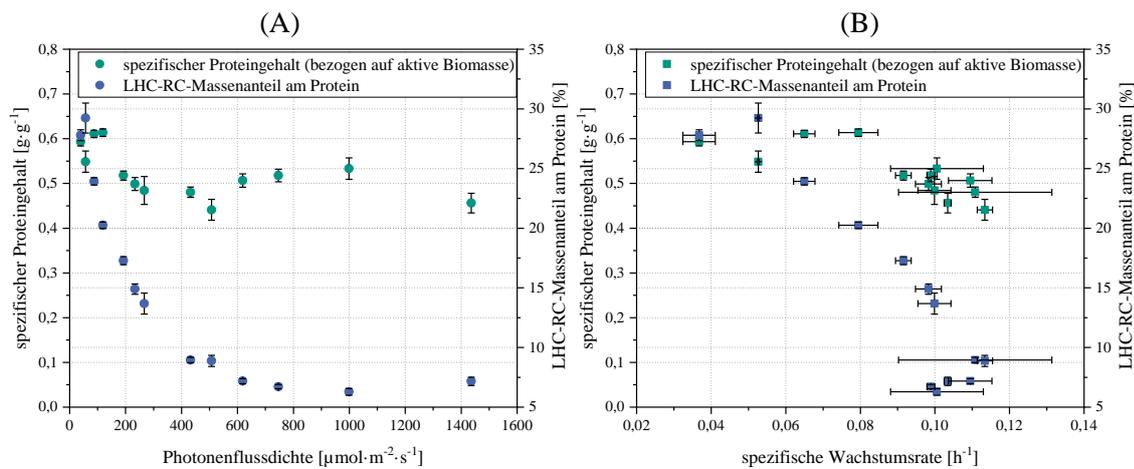


Abbildung 4.14: Auf die aktive Biomasse bezogener Gesamtproteingehalt sowie der Anteil der photosynthetischen Proteinkomplexe am Gesamtprotein in Abhängigkeit der PPFd. (A) Auftragung der Daten gegen die Akklimations-PPFD. (B) Auftragung der Daten gegen  $\mu$ .

Wie aus Abbildung 4.14.A ersichtlich wird, bewegt sich der kumulative Massenanteil beider LHC-RC-Komplexe am Gesamtprotein einer *C. vulgaris* Zelle im untersuchten PPFd-Bereich ( $39\text{-}1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) zwischen 6,28-29,23 %. Damit ist eine gute Übereinstimmung mit den vorliegenden Literaturwerten gegeben, die im Bereich von 4-40 % für den Anteil der photosynthetischen Komplexe am Gesamtprotein einer Mikroalgenzelle liegen [126,140,151]. Ebenso stimmt der qualitative Verlauf des LHC-RC-Anteils am Gesamtprotein in Abbildung 4.14.A mit den bisherigen Ergebnissen aus der Literatur überein, die besagen, dass der LHC-RC-Anteil am Gesamtprotein mit abnehmenden Akklimations-PPFDs zunimmt und sich umgekehrt im Falle zunehmender Akklimations-PPFDs verhält [126,151,270]. Dies kann als eine weitere Bestätigung (siehe auch Abschnitt 4.1.2.2) für die Plausibilität der in Abschnitt 3.4.2 vorgestellten Methode zur Berechnung der lichtabhängigen LHC-RC-Komplexgrößen sowie der darauf basierenden Berechnungen betrachtet werden.

Weiterhin war es von Interesse zu ermitteln, welcher Zusammenhang zwischen dem Massenanteil der LHC-RC-Komplexe und  $\mu$  besteht (vgl. Abbildung 4.14.B). In [265] wurde, ausgehend von dem Konzept der bedingungsabhängigen Optimierung der Allokation eines endlichen Proteoms (vgl. Abschnitt 2.6.4), ein Modell vorgestellt, das die Proteomallokation im Fall des photoautotrophen Wachstums beschreibt. Das vorgestellte Modell [265] basiert ursprünglich auf einem Modell, das die bedingungsabhängige Proteomallokation in heterotrophen Mikroorganismen beschreiben soll [269]. Ohne die Bestätigung durch experimentelle Daten wurde dabei eine nahezu lineare Abhängigkeit der einzelnen Proteinfaktionen von  $\mu$  festgestellt [265]. Die Fraktion der LHC-Proteine sank hierbei mit steigender  $\mu$ , während die Fraktion der Komponenten der photosynthetischen ETK (exklusive der LHC-Komplexe) sowie die Fraktion der ribosomalen Proteine, die für die Translation zuständig sind und damit zum Zellwachstum beitragen, mit zunehmender  $\mu$  ebenfalls zunahm [265]. In [151] haben die Autoren, ebenso aufbauend auf dem Konzept der optimalen Allokation eines begrenzten Proteoms (vgl. Abschnitt 2.6.4), den LHC-Anteil am Gesamtprotein als eine lineare Funktion von  $\mu$  modelliert. In diesem Modellen sinkt der LHC-Anteil am Gesamtprotein mit steigender  $\mu$  (bzw. Akklimation-

tions-PPFD), während der Proteinanteil der Ribosomen linear mit  $\mu$  ansteigt [151]. Eine solche lineare Abhängigkeit des Anteils der photosynthetischen Komplexe am Gesamtprotein von  $\mu$  kann in Abbildung 4.14.B nicht festgestellt werden. Ein qualitativ ähnlicher Verlauf der photosynthetischen Proteinfraction wie in Abbildung 4.14.B konnte in [270] für *Synechocystis spp.* beobachtet werden. In Bezug auf die Modellierungsergebnisse und die experimentellen Ergebnisse von [151] sei erwähnt, dass aus den experimentellen Daten für *Synechocystis spp.* im Bereich von  $\mu \approx 0,035-0,052 \text{ h}^{-1}$  (umgerechnet aus den Daten der Autoren [151]) nicht zwangsläufig eine lineare Abnahme des LHC-Anteils am Gesamtprotein in Abhängigkeit von  $\mu$  erkennbar ist. Aufgrund der Schwankungen der experimentellen Daten in [151] ist eine endgültige Aussage über den dort beobachteten  $\mu$ -abhängigen Verlauf des LHC-Anteils am Gesamtprotein insgesamt schwierig zu treffen. Im Gegensatz dazu besteht in [151] eine lineare Abhängigkeit zwischen dem Anteil der Ribosomen am Gesamtprotein und  $\mu$ . In der Vergangenheit konnte, anders als bei heterotrophen Mikroorganismen [126], kein eindeutig linearer Zusammenhang zwischen dem RNS-Gehalt der phototrophen Mikroorganismen und  $\mu$  festgestellt werden [140–143]. Da die RNS etwa 65 % der Masse eines Ribosoms ausmacht [140], ist davon auszugehen, dass beim photoautotrophen Wachstum zwischen dem Anteil der Ribosomen am Gesamtprotein und  $\mu$  keine lineare Abhängigkeit bestehen sollte, wofür ebenfalls die experimentellen Daten von [270] sprechen. Es zeigt sich also, dass erhebliche Widersprüche zwischen den einzelnen Literaturquellen [151,258,265,270] bestehen und es einen weiteren Bedarf an experimentellen Daten gibt, um endgültige Aussagen über den Zusammenhang zwischen den einzelnen Proteinfractionen und  $\mu$  treffen zu können. Je nach Literaturquelle erscheint der in Abbildung 4.14.B dargestellte  $\mu$ -abhängige Verlauf der LHC-RC-Proteinfraction entweder als plausibel [258,270] oder weniger plausibel [151,265]. Dementsprechend kann die Plausibilität der Methode zur Approximation der LHC-RC-Komplexgrößen aus den Chlorophylldaten (vgl. Abschnitt 3.4.2) anhand der in diesem Absatz dargelegten Literaturergebnisse nicht durchweg bestätigt werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Zellwachstum von *C. vulgaris* bei niedrigen PPFDs bis etwa  $57 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  der Zunahme der funktionalen bzw. aktiven Biomasse zugesprochen werden kann. Bei höheren PPFDs erfolgt, aufgrund der Auslastung von  $r_{NH_4}$ , eine zusätzliche Akkumulation von Speicherkohlenhydraten, was zwar insgesamt ein höheres  $\mu_{max}$  ermöglicht, aber simultan mit Einbußen bei der lichtspezifischen Wachstumseffizienz einhergeht. Ebenso wie auch andere Mikroorganismen, ist *C. vulgaris* scheinbar nicht in der Lage, das Proteom in seiner Gesamtheit zusätzlich zu steigern. Tendenziell nimmt die Proteomgröße sogar mit steigender Akklimatisations-PPFD ab. Dies erfordert eine Optimierung der Allokation einzelner Proteinfractionen in Abhängigkeit der Umweltbedingungen, was wahrscheinlich die Obergrenze für das maximal mögliche Zellwachstum von *C. vulgaris* determiniert. Es hat sich auch gezeigt, dass *C. vulgaris* die Pigmentgehalte in Abhängigkeit des lichtbedingten Akklimatisationszustandes tatsächlich variiert und die beobachtete Abnahme der Pigmentgehalte mit zunehmender PPFD nicht ausschließlich auf eine Verdünnung durch ansteigenden Kohlenhydratgehalt zurückzuführen ist. Eine lineare Abhängigkeit des LHC-RC-Anteils am Gesamtprotein von  $\mu$  konnte im Falle von *C. vulgaris* nicht festgestellt werden. Basierend darauf ist tendenziell davon auszugehen, dass auch der Anteil der Ribosomen am Gesamtprotein in *C. vulgaris* sich nicht linear zu  $\mu$  verhält. Die genauen Gründe für dieses Verhalten können aus den vorliegenden Daten nicht abgeleitet werden. In Abschnitt 4.4 wird, zunächst qualitativ und modellbasiert, untersucht, welche Konsequenzen die alleinige Implikation eines endlichen Proteoms in Bezug

auf die einzelnen Fraktionen innerhalb des Photosyntheseapparates bzw. innerhalb einer PSU (vgl. Abschnitt 4.3) mit sich bringt.

## 4.2 Charakterisierung des Einflusses der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit auf *Chlorella vulgaris*

In den folgenden Abschnitten wird überprüft, ob die CO<sub>2</sub>-Fixierung in *C. vulgaris* auch unter, im Vergleich zum atmosphärischen CO<sub>2</sub>-Gehalt (0,04 % (v/v) [116]), hohen CO<sub>2</sub>-Gehalten im Zugas (0,2-2 % (v/v)) die maximale Photosyntheseleistung unter nährstoffgesättigten Bedingungen determiniert. Zudem soll geklärt werden, ob die Lichtsättigung von  $\mu$  in *C. vulgaris* (vgl. Abbildung 4.1) durch die Auslastung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates hervorgerufen wird. Ebenso wird, ergänzend zu den Untersuchungen der lichtabhängigen Akklimation in Abschnitt 4.1, das CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimationsverhalten von *C. vulgaris* untersucht.

### 4.2.1 Untersuchung der Limitierung der maximalen Photosyntheseleistung von *Chlorella vulgaris*

In diesem Abschnitt wird untersucht, ob im Bereich der industriell relevanten Gehalte von 1-2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas [120] die CO<sub>2</sub>-Fixierung im Calvin-Zyklus (vgl. Abschnitt 2.2.3), ebenso wie unter den atmosphärischen Bedingungen mit einem CO<sub>2</sub>-Gehalt von etwa 0,04 % (v/v) [116], die maximale Leistungskapazität des Photosyntheseapparates von *C. vulgaris* im lichtgesättigten Bereich bestimmt und damit die maximal erreichbare Photosyntheserate definiert (vgl. Abschnitt 2.2.3).

Bei der Betrachtung der Zeitkonstanten der photosynthetischen Reaktionsschritte, inklusive der CO<sub>2</sub>-Fixierung im Calvin-Zyklus, (vgl. Abschnitt 2.2) fallen zwei Reaktionen aufgrund ihrer besonders hohen Zeitkonstanten auf. Innerhalb der photosynthetischen ETK bildet die Oxidation von PQH<sub>2</sub>-Molekülen am Cyt *b<sub>6</sub>f* mit Zeitkonstanten im Bereich von 3-5 ms die langsamste Reaktion (vgl. Abschnitt 2.2.2) [58]. Ausgehend von der Literatur [1,114,118,119] wird zunächst angenommen, dass die Reaktion von RuBisCO die Geschwindigkeit der CO<sub>2</sub>-Fixierung im Calvin-Zyklus limitiert. Die Zeitkonstanten der CO<sub>2</sub>-Fixierung durch RuBisCO liegen zwischen 9-104 ms pro fixiertes CO<sub>2</sub>-Molekül bzw. 2-26 ms pro prozessiertes Elektron aus dem LEF<sup>2</sup> (vgl. Abschnitt 2.2.3) [117,118]. Besonders häufig liegt diese Zeitkonstante im Bereich von 10 ms pro prozessiertes Elektron [117]. Unter der Berücksichtigung, dass in Grünalgen etwa 1,3-1,8 Cyt *b<sub>6</sub>f* pro RCII [105] vorhanden sind, müssten etwa 2,6-5,9 RuBisCO pro RCII vorliegen (unter der Annahme einer RuBisCO-Zeitkonstanten von 10 ms), um nicht limitierend zu wirken. Ein solch hohes RuBisCO/RCII-Verhältnis wird eher in Zellen beobachtet, die an sehr hohe PPFDs akklimatisiert sind [105]. Demnach ist es wahrscheinlich, dass innerhalb des gesamten Photosyntheseapparates (inklusive der Komponenten des Calvin-Zyklus) die RuBis-

---

<sup>2</sup> Da pro fixiertes CO<sub>2</sub>-Molekül vier Elektronen durch den LEF transferiert werden müssen (vgl. Abschnitt 2.2.2), ist die angegebene Zeitkonstante für vom RuBisCO prozessierten Elektronen viermal kleiner als die Zeitkonstante für die Fixierung eines CO<sub>2</sub>-Moleküls durch RuBisCO.

CO-katalysierte Carboxylierung tatsächlich den limitierenden Reaktionsschritt unter lichtsättigenden Zuständen darstellt.

In der Literatur besteht bisher der Konsens, dass die Kinetik von RuBisCO unter atmosphärischen CO<sub>2</sub>-Bedingungen die maximale Photosyntheserate im lichtgesättigten Bereich der PI-Kurve (vgl. Abbildung 2.7) definiert [1,105,114–116] (vgl. Abschnitt 2.2.3). Die bei Mikroalgenkultivierungen in Photobioreaktoren typischerweise eingestellten CO<sub>2</sub>-Gehalte liegen jedoch deutlich über dem atmosphärischen CO<sub>2</sub>-Gehalt [116,120] (vgl. Abschnitt 2.5). Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten CO<sub>2</sub>-Gehalte von 0,2, 1 bzw. 2 % (v/v) sind jeweils um das 5-, 25- bzw. 50-Fache höher als der aktuelle CO<sub>2</sub>-Gehalt in der Atmosphäre [116]. Aufgrund dieser unnatürlich hohen CO<sub>2</sub>-Gehalte im Zugas kann nicht pauschal ausgeschlossen werden, dass ein der CO<sub>2</sub>-Fixierung nachgeschalteter Reaktionsschritt im Metabolismus die maximale photosynthetische Leistungskapazität über eine Rückkopplung bestimmt.

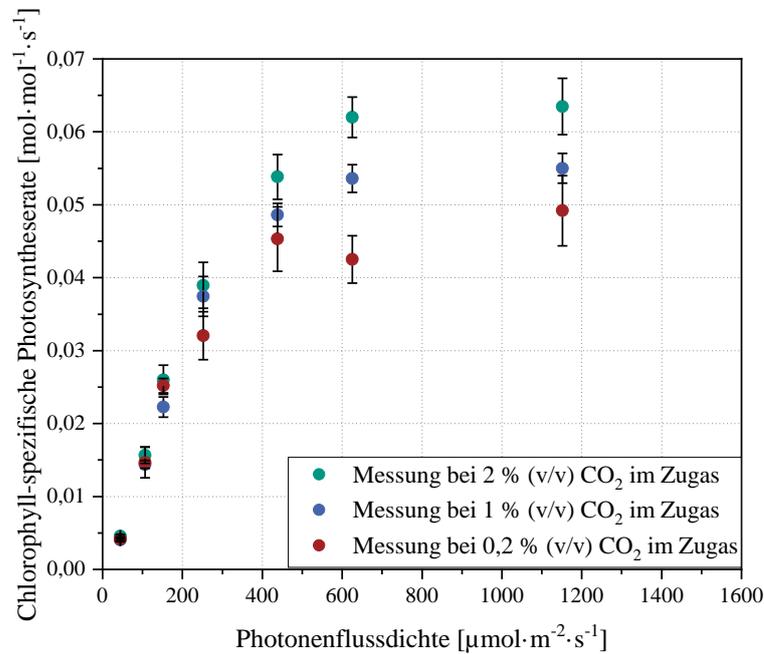


Abbildung 4.15: Einfluss einer plötzlichen Absenkung des CO<sub>2</sub>-Gehaltes im Zugas auf die Photosynthesekinetik von *C. vulgaris*. Die *C. vulgaris* Zellen wurden jeweils an  $235,45 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas akklimatisiert (vgl. Abschnitt 3.1.3) und anschließend bei den in der Legende angegebenen CO<sub>2</sub>-Gehalten im Zugas entsprechend dem Protokoll in Abschnitt 3.3.5.2 vermessen.

Zur Überprüfung, ob die Kinetik von RuBisCO die maximale Photosyntheseleistung, auch im Bereich der CO<sub>2</sub>-Gehalte von 0,2-2 % (v/v), in *C. vulgaris* bestimmt, wurden die *C. vulgaris* Zellen zunächst bei 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas und einer konstanten Akklimatisations-PPFD von ca.  $235 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  in Flachplatten-Photobioreaktoren (vgl. Abschnitt 3.1.3) für mindestens 72 h kultiviert und dementsprechend an die genannten Bedingungen akklimatisiert. Die Leistungskapazität des gesamten Photosyntheseapparates in einem bestimmten Akklimatisationszustand lässt sich mithilfe der sogenannten nicht-akklimatisierten bzw. schnellen PI-Kurven ermitteln [157] (vgl. Abschnitt 2.5.1). In Anlehnung an das Minimumgesetz [2,23], wurde angenommen, dass eine plötzliche Minderung der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit zu einer Abnahme der

maximalen Photosyntheserate führen sollte, falls die RuBisCO-Kinetik unter den betrachteten CO<sub>2</sub>-Bedingungen im lichtgesättigten Bereich limitierend wirkt. Bei einer nachgeschalteten Limitierung im Metabolismus wäre zu erwarten, dass eine plötzliche Abnahme des CO<sub>2</sub>-Gehaltes von 2 % (v/v) auf 1 oder 0,2 % (v/v) keine Änderung der maximalen Photosyntheserate bewirkt. Bedingt durch die plötzliche Änderung des CO<sub>2</sub>-Gehaltes (vgl. Abschnitt 3.2.2) und die vergleichsweise kurzen Messzeiträume bei der Erfassung der schnellen PI-Kurven (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) kann vereinfacht angenommen werden, dass die untersuchten *C. vulgaris* Zellen stets den gleichen Akklimatisationszustand aufwiesen. Dies wird vor allem dadurch begründet, dass die Zellakklimatisation typischerweise auf deutlich längeren Zeitskalen abläuft als die durchgeführten Messungen im geringen Minutenbereich (vgl. Abschnitte 2.5.3 und 3.3.5.2). Das CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimatisationsverhalten von *C. vulgaris* wird im nachfolgenden Abschnitt 4.2.3 näher untersucht. Die aus diesem Versuchsansatz resultierenden PI-Kurven sind in Abbildung 4.15 dargestellt.

Wie in Abbildung 4.15 zu erkennen ist, bewirkt eine plötzliche Absenkung des CO<sub>2</sub>-Gehaltes im Zugas eine deutliche Reduktion der maximalen Photosyntheserate im lichtgesättigten Bereich zwischen 400-1200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Trotz der Tatsache, dass der CO<sub>2</sub>-Gehalt von 1 % (v/v) immer noch das 25-Fache des atmosphärischen CO<sub>2</sub>-Gehaltes beträgt [116], bewirkt die Reduktion des CO<sub>2</sub>-Gehaltes von 2 auf 1 % (v/v) eine deutliche Minderung der maximalen photosynthetischen Leistungskapazität (vgl. Abbildung 4.15). Dieser Effekt wird durch die Absenkung des CO<sub>2</sub>-Gehaltes im Zugas von 2 auf 0,2 % (v/v) noch ausgeprägter, wie in Abbildung 4.15 zu sehen ist. Da der CO<sub>2</sub>-Gehalt einen unmittelbaren Einfluss auf die RuBisCO-Kinetik aufweist [114,115,118,119] und die Reduktion des CO<sub>2</sub>-Gehaltes eine unmittelbare Abnahme der maximalen Photosyntheserate zur Folge hat (vgl. Abbildung 4.15), erscheint es wahrscheinlich, dass die Kinetik der RuBisCO-katalysierten Carboxylierungsreaktion (vgl. Abbildung 2.5) auch bei relativ hohen CO<sub>2</sub>-Gehalten im Zugas von 0,2-2 % (v/v) immer noch die maximale Photosyntheseleistung limitiert. Diese Aussage basiert auf der an das Minimumgesetz [2,23] angelehnten Annahme, dass im Falle einer Begrenzung der maximalen Photosyntheserate durch die Kinetik der RuBisCO-katalysierten Carboxylierungsreaktion, die CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit den Minimumfaktor darstellen würde. Die Verknappung des Minimumfaktors würde demnach unmittelbar mit einer Reduktion der maximalen Photosyntheserate einhergehen. Wenn die CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit jedoch nicht der Minimumfaktor wäre, weil bei den hohen eingestellten CO<sub>2</sub>-Gehalten in der Zuluft doch eine andere metabolische Reaktion limitierend wirkt, hätte eine Minderung des CO<sub>2</sub>-Gehaltes keine Auswirkung auf die maximale Photosyntheserate.

Insgesamt kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass bei noch höheren CO<sub>2</sub>-Gehalten tatsächlich ein nachgeschalteter Reaktionsschritt limitierend wirkt und durch Rückkopplung die maximale Photosyntheserate determiniert. Aufgrund der geringen Datenauflösung (lediglich drei unterschiedliche CO<sub>2</sub>-bedingte Zustände) kann zudem die Möglichkeit nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass dieser Fall bereits zwischen 1 und 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas eintritt. Bei der Betrachtung der Daten in Abbildung 4.15 erscheint diese Möglichkeit zunächst als nicht sehr wahrscheinlich. Nichtsdestotrotz sollten zukünftig zusätzliche Zustände mit weiteren CO<sub>2</sub>-Gehalten untersucht werden, um eine eindeutige Aussage darüber treffen zu können, ab welchem CO<sub>2</sub>-Gehalt die RuBisCO-katalysierte Carboxylierungsreaktion gesättigt ist und ab wann möglicherweise ein anderer Reaktionsschritt limitierend wirkt, falls dieser Fall existiert.

Weiterhin ist in Abbildung 4.15 auffällig, dass der CO<sub>2</sub>-Gehalt scheinbar keinen Einfluss auf die Steigung der Photosyntheserate mit der PPF<sub>D</sub> im lichtlimitierten Bereich hat, was auch ausgehend von den bisherigen Erkenntnissen zu erwarten war [1] (vgl. Abschnitte 2.2.1, 2.2.2 und 2.5.1). Interessanterweise scheint sich jedoch der Übergangsbereich zwischen dem lichtlimitierten und lichtgesättigten Bereich mit sinkendem CO<sub>2</sub>-Gehalt in Richtung geringerer PPF<sub>D</sub>s zu verschieben. Bei den beiden CO<sub>2</sub>-Gehalten von 1 und 2 % (v/v) scheint der Photosyntheseapparat bis etwa 252 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> lichtlimitiert und ab etwa 438 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> weitestgehend lichtgesättigt zu sein. Im Gegensatz dazu beginnt der Übergang in die Lichtsättigung bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas bereits bei ca. 252 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. Bis etwa 153 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> unterscheidet sich die Photosynthesekinetik des Zustandes mit 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> nicht deutlich von den Kinetiken der anderen CO<sub>2</sub>-bedingten Zuständen und weist eine scheinbare lineare Abhängigkeit von der PPF<sub>D</sub> auf. Das frühere Abflachen der PI-Kurve bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> deutet darauf hin, dass bei diesem Zustand bereits bei geringeren PPF<sub>D</sub>s als bei den beiden Zuständen mit höheren CO<sub>2</sub>-Gehalten Energieverluste an den photosynthetischen Komplexen durch Rückstaueffekte auftreten. Demnach ist dies ein Hinweis darauf, dass eine Rückkopplung zwischen der Lichtabsorption an den LHCII-RCII-Komplexen und der nachgeschalteten CO<sub>2</sub>-Fixierung im Calvin-Zyklus besteht und eine steigende Auslastung der CO<sub>2</sub>-Fixierung die Energiedissipation bzw. -verluste an den photosynthetischen Komplexen verstärkt. Das Fehlen einer solchen Rückkopplung und der damit verbundenen Energieverluste würde sich in den vorliegenden Daten (siehe Abbildung 4.15) darin äußern, dass die Photosyntheserate bei ca. 252 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> bei allen drei CO<sub>2</sub>-abhängigen Zuständen gleich wäre und der Photosyntheseapparat bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas erst bei etwa 400 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> plötzlich in die Lichtsättigung übergeht.

Insgesamt kann anhand der hier vorgestellten Ergebnisse festgehalten werden, dass wahrscheinlich die CO<sub>2</sub>-Fixierung die maximale Photosyntheserate auch bei vergleichsweise hohen CO<sub>2</sub>-Gehalten von 0,2-2 % (v/v) limitiert. Weiterhin zeigt sich, dass eine Rückkopplung zwischen der Lichtabsorption an den LHCII-RCII-Komplexen und der CO<sub>2</sub>-Fixierung im Calvin-Zyklus zu bestehen scheint. Dementsprechend kann die Photosynthesekinetik nicht durch das Blackman-Modell [163] oder darauf basierende Modelle [23] korrekt beschrieben werden, da diese Modelle eine Rückkopplung zwischen den limitierenden Schritten und die daraus resultierenden Energieverluste vernachlässigen bzw. nicht berücksichtigen [23,163,164].

#### **4.2.2 Untersuchung der Limitierung des lichtgesättigten Wachstums von *Chlorella vulgaris* im akklimatisierten Zustand**

In [23] haben die Autoren gezeigt, dass die lichtabhängige Wachstumskinetik (vgl. Abbildung 4.1.A) von nährstoffgesättigten und akklimatisierten Mikroalgen nicht durch eine einfache Sättigungskinetik, wie z. B. Monod- [235] oder Han-Kinetik ohne Photoinhibierung (entspricht formal der Monod-Kinetik; vgl. Abschnitt 2.6.3) [27], beschrieben werden kann. Stattdessen wurde angenommen, dass der lichtlimitierte Bereich der lichtabhängigen Wachstumskinetik durch die Lichtabsorptionskinetik der LHCII-RCII-Komplexe definiert wird und dass ein anderer Reaktionsschritt die Lichtabsorptionskinetik ab dem Erreichen der Lichtsättigung maskiert und damit den lichtgesättigten Bereich bestimmt [23]. Dieses Modell [23] ist eine Kombination aus dem Han-Modell ohne Photoinhibierung [27] (definiert den lichtlimitierten Bereich der

lichtabhängigen Wachstumskinetik) und dem Blackman-Modell [163] (definiert den lichtgesättigten Bereich der lichtabhängigen Wachstumskinetik). Hieraus ergibt sich die Frage, was genau das lichtabhängige Wachstum von Mikroalgen limitiert und damit die Lichtsättigung hervorruft.

Im vorherigen Abschnitt 4.2.1 konnte gezeigt werden, dass wahrscheinlich die RuBisCO-katalysierte Carboxylierung die maximale Leistungskapazität des photosynthetischen Apparates definiert. Es erscheint daher naheliegend, dass eine mögliche Ursache für die beobachtete Lichtsättigung von  $\mu$  (siehe bspw. Abbildung 4.1.A) durch die vollständige Auslastung von RuBisCO bzw. des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates hervorgerufen wird. In der Literatur konnte beobachtet werden, dass der RCII-spezifische RuBisCO-Gehalt positiv mit der Akklimatisations-PPFD korreliert [105,212,213]. Anhand dieses Akklimatisationsverhaltens kann deshalb nicht ausgeschlossen werden, dass der RuBisCO-Gehalt möglicherweise so eingestellt wird, dass RuBisCO das Zellwachstum nicht limitiert, zumindest unter den relativ hohen CO<sub>2</sub>-Gehalten von 0,2-2 % (v/v), die in dieser Arbeit untersucht wurden.

Wie bereits in Abschnitt 2.5.1 erläutert und in Abschnitt 4.2.1 gezeigt, ist es anhand schneller PI-Kurven möglich, die gesamte Leistungskapazität des Photosyntheseapparates im jeweiligen Akklimatisationszustand zu erfassen [157]. Die lichtabhängige Wachstumskinetik der akklimatisierten Mikroalgenzellen, die bspw. in Abbildung 4.1.A zu sehen ist, liefert hingegen nur Informationen über die operative Leistung (bzw. den operativen Punkt) der Mikroalgenzellen im jeweiligen Akklimatisationszustand. Wenn der operative Punkt von lichtgesättigten *C. vulgaris* Zellen im Lichtsättigungsbereich der entsprechenden PI-Kurve liegt, kann angenommen werden, dass wahrscheinlich die Auslastung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates das Zellwachstum in diesem Punkt limitiert. Andernfalls liegt die Limitierung, die zur Lichtsättigung des Zellwachstums führt, wahrscheinlich woanders. Da jedoch die maximale Leistungskapazität des Photosyntheseapparates vom CO<sub>2</sub>-Gehalt abhängig ist, wie in Abschnitt 4.2.1 gezeigt werden konnte, ist es vorstellbar, dass unter manchen CO<sub>2</sub>-Bedingungen die Kinetik von RuBisCO das Zellwachstum im lichtgesättigten Bereich limitiert und bei hohen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen eventuell eine andere Limitierung die Lichtsättigung des Wachstums von *C. vulgaris* hervorruft.

Um die Limitierung des Zellwachstums von *C. vulgaris* lokalisieren zu können, wurden insgesamt drei CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimatisationszustände von *C. vulgaris* untersucht. Hierbei wurden die CO<sub>2</sub>-Gehalte im Zugas von 1 und 2 % (v/v) gewählt, unter denen CO<sub>2</sub>-gesättigtes Wachstum von *C. vulgaris* stattfindet, wie die Daten von [130] zeigen. Zudem wurde, ebenfalls basierend auf den Daten von [130], der CO<sub>2</sub>-Gehalt im Zugas von 0,2 % (v/v) gewählt, unter dem *C. vulgaris* CO<sub>2</sub>-limitiert wächst. Niedrigere CO<sub>2</sub>-Gehalte konnten, bedingt durch die technischen Gegebenheiten, nicht realisiert werden (vgl. Abschnitt 3.2.2). Als Teil der experimentellen Untersuchung wurden die akklimatisierten, CO<sub>2</sub>-abhängigen  $\mu$  (vgl. Abschnitt 3.1.3) sowie nicht-akklimatisierte PI-Kurven (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) aufgezeichnet. Die gewählte Akklimatisations-PPFD lag im lichtgesättigten Bereich des Zellwachstums von *C. vulgaris* (vgl. Abbildung 4.1) und betrug stets etwa 235  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Die Erfassung der schnellen PI-Kurven erfolgte unter den gleichen CO<sub>2</sub>-Bedingungen wie während der Akklimatisationsphase in den Photobioreaktoren (vgl. Abschnitte 3.1.3 und 3.2.2). Zudem erfolgten alle Kultivierungsansätze unter nährstoffgesättigten Bedingungen (vgl. Abschnitt 3.1.1). Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Abbildung 4.16 zu sehen.

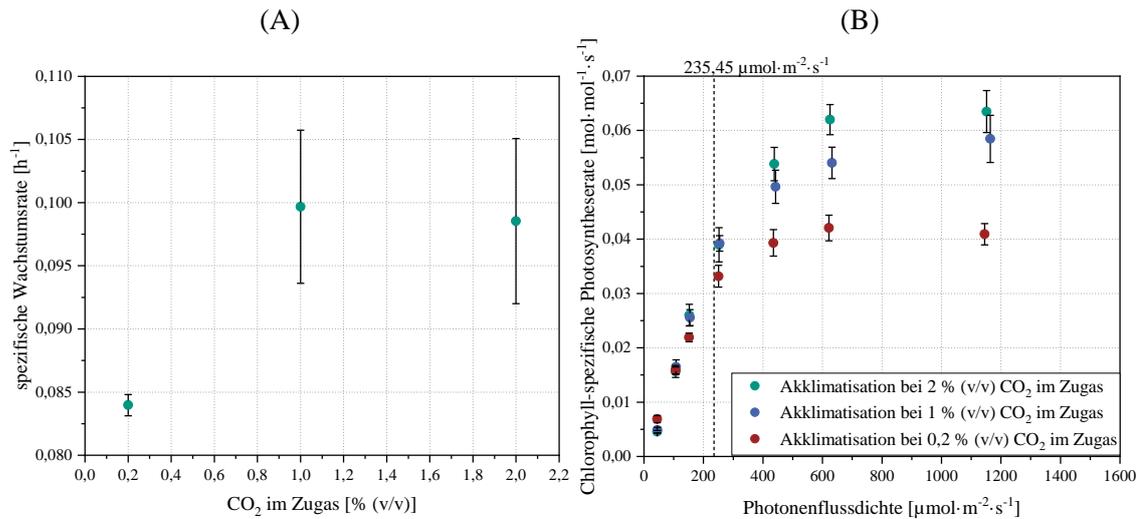


Abbildung 4.16: CO<sub>2</sub>-abhängige Wachstumskinetik von *C. vulgaris* (A) sowie die nicht-akklimatisierten bzw. schnellen PI-Kurven der jeweiligen CO<sub>2</sub>-abhängigen Zellzustände (B). In (B) ist zusätzlich die Akklimations-PPFD ( $\bar{I}_{PAR} \approx 235 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) eingezeichnet, die die während der Kultivierung vorliegenden Photosyntheseraten (operativen Punkte) kennzeichnet.

In Abbildung 4.16.A ist zu erkennen, dass die  $\mu$ -Werte bei den CO<sub>2</sub>-Gehalten von jeweils 1 und 2 % (v/v) nahezu identisch sind, während der Wert bei 0,2 % (v/v) geringer ausfällt. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass das Zellwachstum von *C. vulgaris* bei den beiden höheren CO<sub>2</sub>-Gehalten CO<sub>2</sub>-gesättigt stattfindet. Dies deckt sich mit den experimentellen Daten von [130], ebenso wie die Abnahme von  $\mu$  bei einem CO<sub>2</sub>-Gehalt im Zugas von 0,2 % (v/v). Bei den beiden höheren CO<sub>2</sub>-Gehalten betragen die  $\mu$ -Werte jeweils  $0,0997 \pm 0,0061 \text{ h}^{-1}$  (1 % (v/v)) und  $0,0985 \pm 0,0065 \text{ h}^{-1}$  (2 % (v/v)) und liegen damit sehr nah am vergleichbaren  $\mu$ -Wert von  $0,0983 \pm 0,0035 \text{ h}^{-1}$  in Abbildung 4.1.A ( $\bar{I}_{PAR} = 233 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  und 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas). Dies spricht für eine hohe Zuverlässigkeit und Reproduzierbarkeit der ermittelten  $\mu$ -Werte. Beim CO<sub>2</sub>-Gehalt von 0,2 % (v/v) beträgt der  $\mu$ -Wert  $0,0840 \pm 0,0008 \text{ h}^{-1}$  und ist damit deutlich niedriger als bei den höheren CO<sub>2</sub>-Gehalten. Es kann also davon ausgegangen werden, dass bei diesem CO<sub>2</sub>-Gehalt das Zellwachstum von *C. vulgaris* CO<sub>2</sub>-limitiert stattfindet, was ebenfalls den experimentellen Daten von [130] entspricht.

In Abbildung 4.16.B sind die schnellen PI-Kurven der drei unterschiedlichen CO<sub>2</sub>-abhängigen Akklimationszustände von *C. vulgaris* dargestellt. Bei der Betrachtung der jeweiligen Verläufe in Abbildung 4.16.B fällt zunächst auf, dass sich die PI-Kurven mit 1 und 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas kaum von den PI-Kurven der nicht-akklimatisierten *C. vulgaris* Zellen in Abbildung 4.15 unterscheiden. Dieser Aspekt wird im nachfolgenden Abschnitt 4.2.3 diskutiert. Die Messungen bei 2 % (v/v) sind in beiden Abbildungen identisch, da es sich hierbei um denselben Messansatz handelt. Die gestrichelte Linie in Abbildung 4.16.B kennzeichnet den operativen Punkt der Zellen, also die (Akklimations-)PPFD, unter der die *C. vulgaris* Zellen im Photobioreaktor kultiviert wurden. Demnach sind die Photosyntheseraten im operativen Punkt jeweils proportional zu den entsprechenden  $\mu$  in Abbildung 4.16.A [155].

Aus Abbildung 4.16.B wird deutlich, dass eine vollständige Auslastung der Kapazität des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates als Ursache für die Lichtsättigung des Zellwachstums von *C. vulgaris* bei den hier untersuchten CO<sub>2</sub>-Gehalten von 0,2-2 % (v/v) unwahrscheinlich ist. Dies zeigt also, dass die *C. vulgaris* Zellen ihren RuBisCO-Gehalt wahrscheinlich so regulieren, dass der CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparat im akklimatisierten Zustand nicht ausgelastet wird. Interessanterweise ergeben sich für die beiden Zustände mit jeweils 1 und 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas nahezu identische  $\mu$ -Werte (vgl. Abbildung 4.16.A), obwohl deutliche Unterschiede bei den maximalen Photosyntheseraten der beiden Zustände erkennbar sind (vgl. Abbildung 4.16.B). Dies liegt daran, dass in beiden Fällen der operative Punkt jeweils im lichtlimitierten Bereich der PI-Kurve liegt, wo die Photosyntheseraten der beiden Zustände identisch sind. Bei dem niedrigeren CO<sub>2</sub>-Gehalt von 0,2 % (v/v) liegt der operative Punkt eher im Übergangsbereich der PI-Kurve (zwischen Lichtlimitierung und -sättigung), was zu einer geringeren operativen Photosynthese- und Wachstumsrate unter diesen CO<sub>2</sub>-Bedingungen führt (vgl. Abbildung 4.16). Basierend auf dieser Tendenz ist anzunehmen, dass mit einem sinkenden CO<sub>2</sub>-Gehalt der operative Punkt in Richtung des lichtgesättigten Bereichs der nicht-akklimatisierten PI-Kurve verschoben wird, da eine verminderte CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit unmittelbar die maximal erreichbare Photosyntheserate reduziert (vgl. Abbildung 4.15 sowie Abbildung 4.16.B). Es erscheint daher wahrscheinlich, dass unter atmosphärischen CO<sub>2</sub>-Bedingungen [116] der CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparat beim lichtgesättigten Wachstum vollständig ausgelastet wird. Dies würde jedoch nur unter der Voraussetzung gelten, dass in *C. vulgaris* keine CO<sub>2</sub>-bedingte Akklimatisation (siehe Abschnitt 4.2.3) des Photosynthese- und CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates stattfindet.

Aufbauend auf den Arbeiten von [151,257,258,265,270] und unter Einbezug der hier gezeigten Ergebnisse wird vermutet, dass bei den untersuchten CO<sub>2</sub>-Gehalten nicht direkt die Auslastung des Calvin-Zyklus die Lichtsättigung der Wachstumsrate definiert. Entsprechend der vorherigen Ausführung zeichnet sich jedoch die Tendenz ab, dass bei einer geringen CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit (bspw. unter atmosphärischen Bedingungen mit 0,04 % (v/v) CO<sub>2</sub> [116]) doch eine Auslastung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates im lichtgesättigten Bereich des Zellwachstums stattfindet. In beiden Fällen wäre jedoch die begrenzte Proteomgröße von *C. vulgaris* (vgl. Abbildung 4.13) letztendlich die Ursache für die Lichtsättigung des Zellwachstums [265] (vgl. Abschnitt 2.6.4).

### **4.2.3 Akklimatisation von *Chlorella vulgaris* in Abhängigkeit der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit**

Ergänzend zur Charakterisierung der lichtabhängigen Akklimatisation von *C. vulgaris* wird im nachfolgenden Abschnitt das CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimatisationsverhalten von *C. vulgaris* untersucht. Wie im vorherigen Abschnitt 4.2.1 gezeigt werden konnte, hat die Leistungskapazität des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates einen deutlichen Einfluss auf den lichtgesättigten Bereich (vgl. Abbildung 2.7) der stationären Photosynthesekinetik im Bereich der untersuchten CO<sub>2</sub>-Gehalte im Zugas von 0,2-2 % (v/v) (vgl. Abbildung 4.16.B). Ausgehend davon, dass die Akklimatisationsreaktion der Mikroalgenzelle eine Optimierung der Photosynthese- bzw. Wachstumsleistung unter den vorliegenden Umgebungsbedingungen darstellt [157,187,200], wäre tendenziell zu erwarten, dass jeweils akklimatisierte und nicht-akklimatisierte Mikroalgenzellen nicht die gleiche photosynthetische Leistungskapazität unter den gleichen Bedingungen aufweisen sollten, sofern eine entsprechende Akklimatisationsreaktion existiert. Da eine Akklimatisationsreaktion

tion, entsprechend der Definition in Abschnitt 2.5.3, im Bereich von Stunden bis Tagen zu erwarten wäre [157,187,191,194], können Mikroalgenzellen, die einer plötzlichen und kurzfristigen (im Minutenbereich) Zustandsänderung ausgesetzt werden, als nicht-akklimatisiert in Bezug auf diese Zustandsänderung betrachtet werden. Falls also eine CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimation des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates von *C. vulgaris* stattfindet, sollte sich diese darin äußern, dass *C. vulgaris* Zellen, die an eine CO<sub>2</sub>-Konzentration (bspw. 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas) akklimatisiert sind und plötzlich einer niedrigeren CO<sub>2</sub>-Konzentration (bspw. 1 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas) ausgesetzt und bei dieser untersucht (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) werden, eine geringere maximale Photosyntheserate aufweisen sollten als die an die niedrigere CO<sub>2</sub>-Konzentration (in dem aufgeführten Beispielfall: 1 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas) akklimatisierte Zellen. Demnach würde sich das Fehlen der CO<sub>2</sub>-bedingten Akklimation des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates darin äußern, dass die *C. vulgaris* Zellen sowohl im akklimatisierten als auch im nicht-akklimatisierten Zustand die gleiche Photosynthesekinetik bzw. die gleiche photosynthetische Leistungskapazität aufweisen würden.

Der alleinige Vergleich der maximalen Photosyntheseraten im akklimatisierten Zustand (vgl. Abbildung 4.16.B) reicht in diesem Fall nicht aus, um Aussagen über eine mögliche CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimation von *C. vulgaris* zu treffen. Die Ergebnisse in Abbildung 4.16.B zeigen lediglich, dass eine möglicherweise stattfindende Akklimation nicht ausreicht, um die negativen Effekte auf die maximale Photosyntheserate, die durch einen sinkenden CO<sub>2</sub>-Gehalt und ein steigendes O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Verhältnis hervorgerufen werden (z. B. ansteigende Photorespiration [120]), auszugleichen. Die in Abbildung 4.16.B beobachteten CO<sub>2</sub>-abhängigen Unterschiede bei den maximalen Photosyntheseraten können jedoch ebenso als ein Hinweis auf fehlende Akklimationsreaktionen gedeutet werden. Zur Klärung der Frage, ob eine CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimation des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates in *C. vulgaris* stattfindet, bedarf es der in diesem Abschnitt aufgeführten, erweiterten Versuchsdurchführung.

Um dieses Akklimationsverhalten von *C. vulgaris* untersuchen zu können, wurden schnelle PI-Kurven (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) unter variierenden CO<sub>2</sub>-Bedingungen und Akklimationszuständen aufgezeichnet. Die Akklimation-PPFD war mit 235,45  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bei allen Kultivierungsansätzen gleich. Als Referenz wurden die *C. vulgaris* Zellen an jeweils 0,2 und 1 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas im Flachplatten-Photobioreaktor (vgl. Abschnitt 3.1.3) akklimatisiert und jeweils bei den gleichen CO<sub>2</sub>-Gehalten in der Messzelle zur Bestimmung der stationären Photosyntheserate vermessen (vgl. Abschnitt 3.3.5.2). Bei diesen beiden Ansätzen wurde angenommen, dass eine mögliche CO<sub>2</sub>-bedingte Zellakklimatisation stattgefunden hat (vgl. Abbildung 4.16.B). Ergänzend dazu wurden zwei experimentelle Ansätze untersucht, im Rahmen derer die *C. vulgaris* Zellen im Vorfeld an einen CO<sub>2</sub>-Gehalt von 2 % (v/v) im Flachplatten-Photobioreaktor akklimatisiert (vgl. Abschnitt 3.1.3) und anschließend bei jeweils 0,2 bzw. 1 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas in der Photosyntheserate-Messzelle untersucht (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) wurden. Hierbei wurde angenommen, dass keine Akklimation der Mikroalgenzellen (vgl. Abschnitt 2.5.3) [191] an den plötzlichen Abfall des CO<sub>2</sub>-Gehaltes im Rahmen der Messung (vgl. Abbildung 4.15) stattgefunden hat. Im Gegensatz dazu können die photoregulatorischen Mechanismen (vgl. Abschnitt 2.5.3) [191] im vorliegenden Messzeitraum von wenigen Minuten ablaufen und können demnach nicht ausgeschlossen werden. Die Resultate dieser Untersuchungen können Abbildung 4.17 entnommen werden.

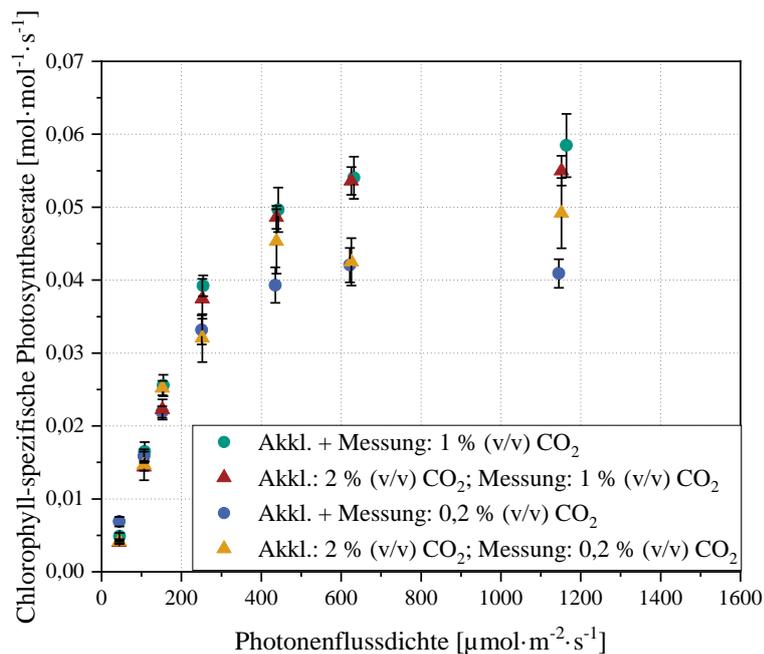


Abbildung 4.17: Aufgenommene nicht-akklimatisierte bzw. schnelle PI-Kurven zur Untersuchung der  $\text{CO}_2$ -abhängigen Zellakklimatisation von *C. vulgaris*. Zu sehen sind zwei verschiedene Messansätze. Beim ersten Messansatz wurden die *C. vulgaris* Zellen jeweils an 0,2 oder 1 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas akklimatisiert und bei den gleichen  $\text{CO}_2$ -Gehalten vermessen (entsprechen den PI-Kurven in Abbildung 4.16.B). Beim zweiten Ansatz erfolgte die Akklimation an 2 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas und die entsprechenden Messungen bei jeweils 0,2 bzw. 1 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas. Diese PI-Kurven entsprechen den Kurven in Abbildung 4.15.

Aus den Messungen in Abbildung 4.17 geht insgesamt hervor, dass bei den untersuchten  $\text{CO}_2$ -Gehalten scheinbar keine  $\text{CO}_2$ -bedingte Akklimation im Sinne der entsprechenden Definition in Abschnitt 2.5.3 in *C. vulgaris* stattfindet. Die Verläufe der beiden bei 1 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas ermittelten schnellen PI-Kurven (jeweils an 1 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas akklimatisiert und nicht-akklimatisiert) unterscheiden sich sowohl im lichtlimitierten als auch lichtgesättigten Bereich nicht deutlich. Da bei diesem  $\text{CO}_2$ -Gehalt im Zugas keine Änderung bzw. Verbesserung der photosynthetischen Leistungskapazität von *C. vulgaris* durch eine Akklimationsphase von mindestens 72 h hervorgerufen wird (siehe Abbildung 4.17), kann davon ausgegangen werden, dass keine  $\text{CO}_2$ -abhängige Akklimation des  $\text{CO}_2$ -Fixierungsapparates bei 1 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas stattfindet.

Bei den beiden Ansätzen, die jeweils bei 0,2 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas vermessen wurden, ist im lichtlimitierten Bereich der entsprechenden PI-Kurven ebenfalls kein deutlicher Unterschied zu erkennen (vgl. Abbildung 4.17). Im lichtgesättigten Bereich der beiden bei 0,2 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas ermittelten PI-Kurven sind hingegen bei 438 und 1151  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  Abweichungen zu sehen. Hierbei ist besonders auffällig, dass die Photosyntheseraten der nicht an 0,2 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas akklimatisierten *C. vulgaris* Zellen bei den beiden genannten PPFs höher ausfallen als die analogen Werte der an diesen  $\text{CO}_2$ -Gehalt im Zugas akklimatisierten *C. vulgaris* Zellen (vgl. Abbildung 4.17). Es erscheint nicht sinnvoll, dass nicht-akklimatisierte Mikroalgenzellen eine höhere photosynthetische Leistungskapazität aufweisen als akklimatisierte Mikroalgenzel-

len. Zudem fällt auf, dass auch die Messfehler bei dem entsprechenden nicht-akklimatisierten Ansatz bei den PPFDs von 438 und 1151  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  vergleichsweise hoch sind. Ein systematischer Fehler bei den beiden angesprochenen Messpunkten kann deshalb nicht ausgeschlossen werden. Dafür spricht ebenfalls die Tatsache, dass bei der PPFD von 625  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  eine hohe Übereinstimmung zwischen den beiden Messansätzen mit 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas vorliegt. Trotz der beobachteten Abweichungen deuten auch diese Messergebnisse darauf hin, dass eine CO<sub>2</sub>-bedingte Akklimation des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates von *C. vulgaris* bei einem CO<sub>2</sub>-Gehalt im Zugas von 0,2 % (v/v) nicht existiert.

Außerdem ist aufgrund der scheinbar nicht vorhandenen Akklimationsreaktion des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates von *C. vulgaris* davon auszugehen, dass die durch den CO<sub>2</sub>-Gehalt im Zugas bedingten Unterschiede bei den maximal erreichbaren Photosyntheseraten in Abbildung 4.16.B und auch in Abbildung 4.17 wahrscheinlich auf die unterschiedliche Ausprägung der Photorespiration (vgl. Abschnitt 2.2.3) [120,153] zurückzuführen sind. Mit der Reduktion des CO<sub>2</sub>-Gehaltes im Zugas wird ein unvorteilhafteres bzw. niedrigeres CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>-Verhältnis erzeugt, was die Photorespiration begünstigen [120,153] und die maximal erreichbare Photosyntheserate in dem hier betrachteten Fall herabsetzen sollte [115]. Es ist zudem ein Hinweis darauf, dass die KKM möglicherweise nicht in der Lage sind, die Reduktion der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit auszugleichen und stets ein optimales CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>-Verhältnis im Pyrenoid aufrecht zu erhalten, was letztlich zur verstärkten Photorespiration und Reduktion der lichtgesättigten, maximalen Photosyntheserate führt. Inwieweit der erhöhte ATP-Bedarf der KKM bei sinkender CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit [88,112,214] einen Einfluss auf die maximale Photosyntheserate hat, ist nicht direkt ersichtlich. Es ist bekannt, dass die KKM-Aktivität im Bereich von Minuten reguliert werden kann [88], weshalb anzunehmen ist, dass eine Regulation der KKM-Aktivität innerhalb des Messzeitraumes stattgefunden hat und in die Messdaten eingeflossen ist (vgl. Abschnitt 3.3.5.2). Unter der Annahme, dass der zusätzliche ATP-Bedarf der KKM bei niedrigen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen durch zusätzliche mitochondriale Respiration gedeckt wird, erscheint eine Abnahme der maximalen Photosyntheserate durch ansteigende KKM-Aktivität plausibel. Wenn jedoch der erhöhte ATP-Bedarf der KKM vollständig durch ZEF und AEF (vgl. Abschnitt 2.2.2) gedeckt werden kann [88], bleibt unklar, wie sich die gesteigerte KKM-Aktivität bei einer geringen CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit auf die maximale Photosyntheserate auswirken würde.

Ausgehend davon, dass die RuBisCO-katalysierte Reaktion den geschwindigkeitsbestimmenden Reaktionsschritt bei der CO<sub>2</sub>-Fixierung darstellt [114,118,119], wäre bei einer CO<sub>2</sub>-bedingten Akklimation des Calvin-Zyklus prinzipiell eine Steigerung des Proteinanteils von RuBisCO mit sinkender CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit bzw. eine Reduktion des Proteinanteils von RuBisCO mit steigender CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit denkbar [117]. In [117] konnte im Falle von *Thalassiosira weissflogii* jedoch keine statistisch signifikante Variation der proteinspezifischen RuBisCO-Anteile ( $4,4 \pm 1,1$ ,  $3,3 \pm 0,6$  und  $2,9 \pm 0,1$  %) bei den Gehalten des im Medium gelösten CO<sub>2</sub> von jeweils 0,0182, 0,0396 und 0,075 % (v/v) festgestellt werden. Ebenso konnte in [117] unter den gleichen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen keine signifikante Variation im RuBisCO-Gehalt bei den durchgeführten Feldexperimenten mit nährstoffgesättigten Mikroalgen beobachtet werden. Diese Literaturdaten stützen qualitativ die in Abbildung 4.17 dargestellten Ergebnisse sowie die Hypothese, dass bei den hier untersuchten CO<sub>2</sub>-Konzentrationen scheinbar keine CO<sub>2</sub>-bedingte Akklimation des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates von *C. vulgaris* stattfindet. Es muss jedoch er-

wähnt werden, dass nicht alle experimentellen Literaturdaten die CO<sub>2</sub>-bedingte Variation des RuBisCO-Gehaltes ausschließen und dass die Literaturdaten in Bezug auf die CO<sub>2</sub>-bedingte Zellakklimatisation teils widersprüchlich sind [117].

Die zuvor aufgestellte Hypothese, dass in *C. vulgaris* keine CO<sub>2</sub>-bedingte Akklimatisation, zumindest in dem hier untersuchten CO<sub>2</sub>-Konzentrationsbereich, stattfindet, wird zusätzlich durch die Daten in Abbildung 4.18 gestützt.

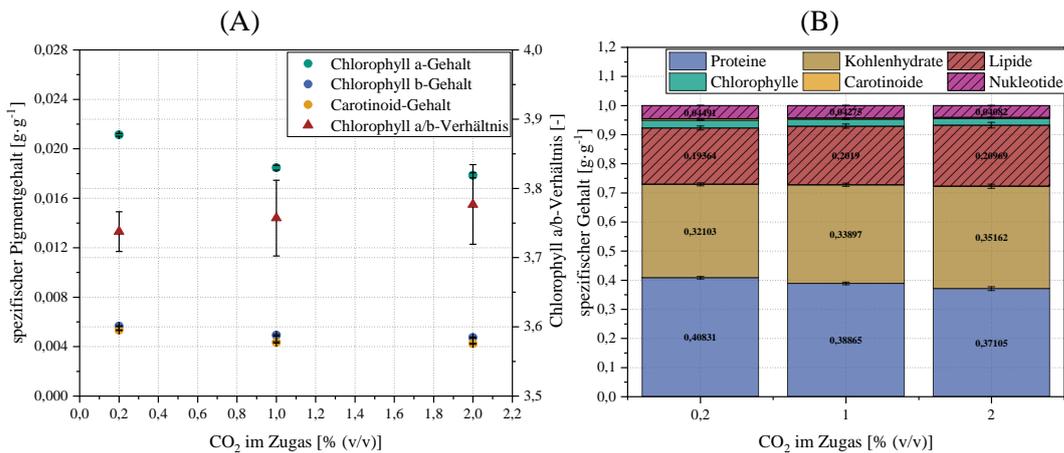


Abbildung 4.18: CO<sub>2</sub>-bedingte Variation der Zellkomposition von an den jeweiligen CO<sub>2</sub>-Gehalt akklimatisierten *C. vulgaris* Zellen. (A) Variation der Pigmentgehalte in Abhängigkeit der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit. (B) Aus der Variation der CO<sub>2</sub>-Gehalte im Zugas resultierende Zellzusammensetzungen von *C. vulgaris*.

In Abbildung 4.18.A ist eindeutig zu erkennen, dass bei den Zuständen mit 1 und 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas die Pigmentzusammensetzung unverändert bleibt. Das durchschnittliche Chla/Chlb-Verhältnis bei diesen beiden Zuständen beträgt  $3,77 \pm 0,04$ . Es kann deshalb mit hoher Sicherheit angenommen werden, dass in diesem Bereich weder die Anzahl der photosynthetischen Komplexe noch ihre Struktur variiert. Bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas beträgt das Chla/Chlb-Verhältnis  $3,74 \pm 0,03$  und ist damit nicht wesentlich anders als das Chla/Chlb-Verhältnis bei den anderen beiden Zuständen. Eine abweichende Struktur bzw. Größe der LHC-RC-Komplexe bei dem Zustand mit 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> erscheint damit unwahrscheinlich. Es ist jedoch eine geringfügige Erhöhung der jeweiligen Pigmentgehalte bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Vergleich zu den anderen beiden CO<sub>2</sub>-Gehalten zu verzeichnen. Ein Teil dieser Abweichung kann durch den niedrigeren Kohlenhydratgehalt (vgl. Abbildung 4.18.B) bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> als bei 1 bzw. 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> erklärt werden. Nichtsdestotrotz weicht der durchschnittliche, auf die aktive Biomasse bezogene Chlorophyllgehalt (vgl. Abschnitt 4.1.3) der beiden Zustände mit 1 und 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas um ca.  $11,71 \pm 1,03$  % vom Chlorophyllgehalt des Zustandes mit 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas ab. Es erscheint unklar, warum *C. vulgaris* ausgerechnet bei 0,2 % (v/v) die Anzahl der photosynthetischen Komplexe im Vergleich zu den anderen beiden CO<sub>2</sub>-bedingten Zuständen erhöhen sollte, da  $\mu$  bei diesem CO<sub>2</sub>-Gehalt nicht durch die Lichtabsorptionskinetik, sondern wahrscheinlich durch die vom Calvin-Zyklus verursachten Rückstau-effekte geringer ausfällt als bei den anderen untersuchten Zuständen (vgl. Abschnitt 4.2.1 und Abbildung 4.16.B). Es kann daher vermutet werden, dass die zuvor genannte Differenz von 11,71 %, die nicht auf den verminderten Kohlenhydratgehalt bei 0,2 % (v/v) zurückgeführt

werden kann, möglicherweise aus einem systematischen Fehler resultiert und dementsprechend keine physiologische Bedeutung hat. Weiterhin fällt auf, dass die Pigmentgehalte bei 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas ( $\bar{I}_{PAR}$  beträgt in diesem Fall 235,45  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) in Abbildung 4.18.A insgesamt deutlich höher ausfallen als die vergleichbaren Pigmentgehalte in Abbildung 4.3 bei  $\bar{I}_{PAR} = 233 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Auch bei der Akklimatisations-PPFD von 193  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  sind die Pigmentgehalte in Abbildung 4.3 niedriger als die angesprochenen Pigmentgehalte in Abbildung 4.18.A, was widersprüchlich erscheint und auf einen möglich systematischen Fehler hindeutet. Nichtsdestotrotz sollte die mögliche systematische Abweichung die Vergleichbarkeit der Pigmentgehalte innerhalb dieses Experimentes nicht einschränken, da alle in Abbildung 4.18.A dargestellten Werte innerhalb einer Messreihe ermittelt wurden und somit dem gleichen systematischen Fehler unterliegen sollten, falls dieser tatsächlich vorliegt.

In Abbildung 4.18.B ist zu sehen, dass sich die Kohlenhydratgehalte von  $0,339 \pm 0,006 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  und  $0,352 \pm 0,007 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  der beiden Zustände bei 1 und 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas überschneiden. Im Gegensatz dazu fällt der Kohlenhydratgehalt bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas mit einem Wert von  $0,321 \pm 0,005 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  geringer aus als bei den zuvor genannten Zuständen. Da im Bereich der Akklimatisations-PPFD von ca. 235  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  das Wachstum von *C. vulgaris* hauptsächlich aus der vermehrten Kohlenhydratakkumulation resultiert (vgl. Abschnitt 4.1.3) und  $\mu$  bei dem CO<sub>2</sub>-Gehalt von 0,2 % (v/v) geringer ausfällt als bei 1 bzw. 2 % (v/v) (vgl. Abbildung 4.16.A), war auch ein geringerer Kohlenhydratgehalt, bedingt durch eine reduzierte Netto-Akkumulation von Kohlenhydraten, bei dem Zustand mit 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas zu erwarten. Die Unterschiede bei den BTM-spezifischen Proteingehalten der drei Zustände sind hauptsächlich auf die Variationen im Kohlenhydratgehalt zurückzuführen. Durch den Bezug der Proteingehalte auf die aktive Biomasse (vgl. Abschnitt 4.1.3) ergibt sich, dass die Proteingehalte der Zustände mit 0,2 und 1 % (v/v) CO<sub>2</sub> lediglich um 3-6 % vom Proteingehalt bei 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas abweichen. Demnach kann mit hoher Wahrscheinlichkeit angenommen werden, dass die geringe Abweichung von 3-6 % lediglich eine experimentelle Ungenauigkeit darstellt. Beim Vergleich des Kohlenhydrat- sowie des Proteingehaltes bei 2 % (v/v) CO<sub>2</sub>-Gehalt im Zugas in Abbildung 4.18.B mit den Daten bei  $\bar{I}_{PAR} = 233 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  in Abbildung 4.11 fällt auf, dass zwischen den jeweiligen Kohlenhydratgehalten eine Abweichung von  $11,13 \pm 3,49 \%$  vorliegt, während die jeweiligen Proteingehalte um etwa  $7,37 \pm 3,34 \%$  voneinander abweichen. Ähnlich wie beim Pigmentgehalt, kann auch hier die Ursache für diese Abweichungen nicht eindeutig identifiziert werden und ist möglicherweise auf experimentelle Ungenauigkeiten (sowohl bei der Analytik als auch bei der Reproduktion der Zustände im Photobioreaktor) zurückzuführen.

Insgesamt deuten die in Abbildung 4.18 dargestellten Daten, ähnlich wie die Daten in Abbildung 4.17, darauf hin, dass keine CO<sub>2</sub>-abhängige Akklimatisation in *C. vulgaris* bei den untersuchten CO<sub>2</sub>-Gehalten im Zugas stattfindet. Die Daten zeigen ergänzend, dass die Struktur und Anzahl der LHC-RC-Komplexe, ähnlich wie der CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparat, wahrscheinlich nicht in Abhängigkeit der CO<sub>2</sub>-Konzentration variieren, zumindest bei CO<sub>2</sub>-Gehalten im Zugas von 0,2-2 % (v/v). Lediglich bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas ist im Vergleich zu den anderen beiden CO<sub>2</sub>-bedingten Zuständen eine deutliche Abnahme des Kohlenhydratgehaltes zu erkennen, die wahrscheinlich auf die verminderte operative Photosyntheseleistung der *C. vulgaris* Zellen unter diesen CO<sub>2</sub>-Bedingungen (vgl. Abbildung 4.16.B) zurückzuführen ist.

In Abschnitt 4.2.1 wurde basierend auf den Verläufen der PI-Kurven in Abbildung 4.15 die Hypothese aufgestellt, dass zwischen der Lichtabsorption an den LHCII-RCII-Komplexen und der nachgeschalteten CO<sub>2</sub>-Fixierung im Calvin-Zyklus eine Rückkopplung besteht. Eine steigende Auslastung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates würde demnach einen Elektronenstau innerhalb der photosynthetischen ETK (vgl. Abschnitt 2.6.3) hervorrufen, der sich negativ auf die operative photonenspezifische RCII-Effizienz auswirken würde. Um dies zu überprüfen bzw. zu untersuchen, wurden die operativen Eigenschaften des RCII mittels Fluoreszenzmessung (vgl. Abschnitt 3.3.6.1) bestimmt. Die Untersuchungsergebnisse sind in Abbildung 4.19 dargestellt.

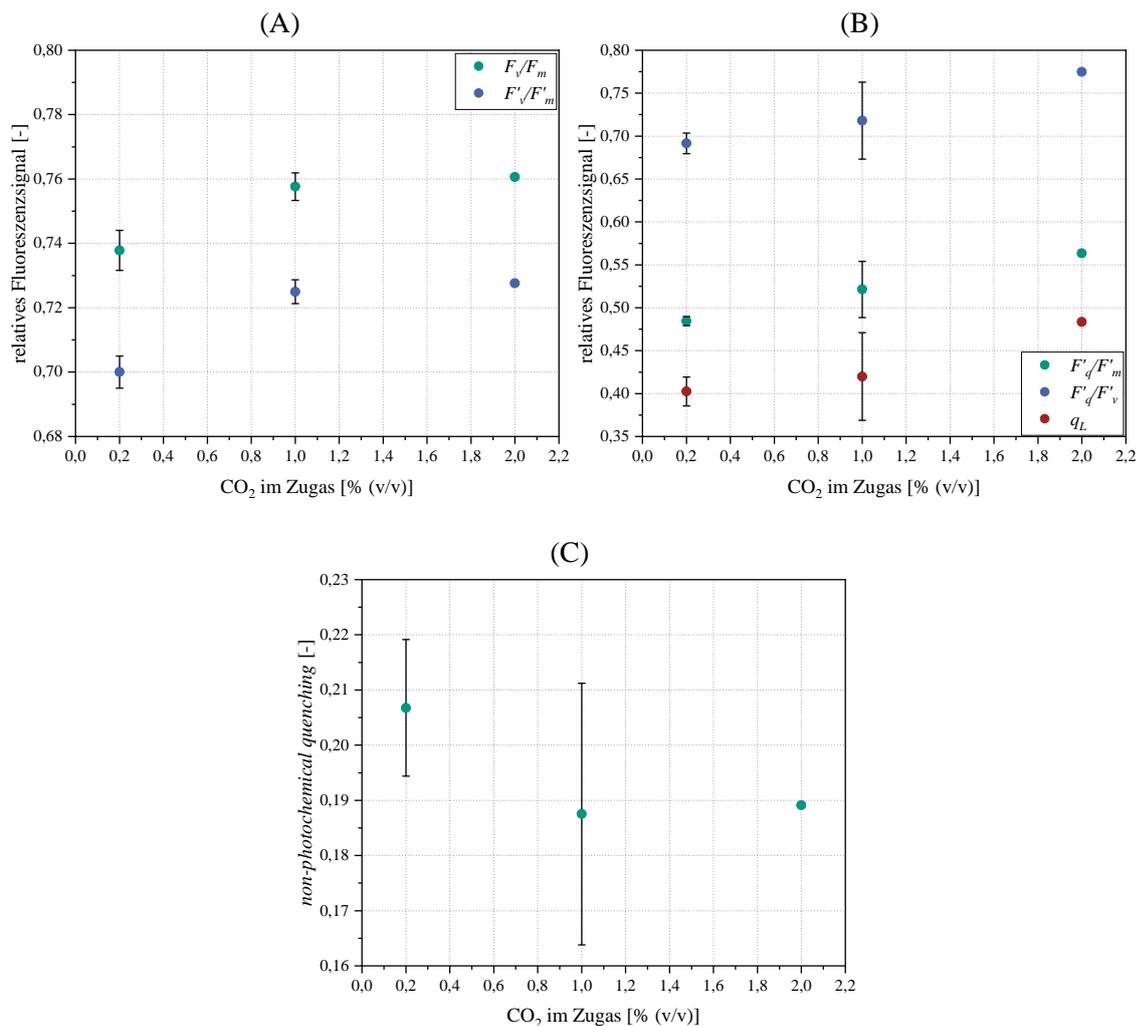


Abbildung 4.19: Aus den Fluoreszenzmessungen abgeleitete Parameter zur Charakterisierung des operativen CO<sub>2</sub>-abhängigen RCII-Zustandes. (A) maximale RCII-Effizienzen ( $F_v/F_m$  und  $F_v'/F_m'$ ); (B) operative RCII-Effizienzen ( $F_d'/F_m'$ ), operativer RCII-Effizienzfaktor ( $F_d'/F_v'$ ) und Anteil der RCII im Grundzustand ( $q_L$ ); (C) akklimationsabhängige NPQ-Aktivität. Die Ermittlung der Parameter erfolgte entsprechend dem Protokoll in Abschnitt 3.3.6.1. Die Definitionen der dargestellten Parameter sind in Tabelle 3.3 aufgelistet. Der Zustand bei 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas wurde nur einfach vermessen, da bereits vergleichbare Daten vorlagen (vgl. Abbildung 4.9). Für die Untersuchungen wurden an die jeweiligen CO<sub>2</sub>-Gehalte im Zugas akklimatisierte *C. vulgaris* Zellen herangezogen.

Zunächst kann festgehalten werden, dass die Daten bei 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas in Abbildung 4.19 gut mit dem vergleichbaren Zustand bei der PPFD von 233 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> in Abbildung 4.9 übereinstimmen, was auf eine gute Reproduzierbarkeit und eine hohe Zuverlässigkeit der hier vorgestellten Daten hindeutet. In Abbildung 4.19.A ist eindeutig zu erkennen, dass der Parameter  $F_v/F_m$  (Parameterdefinition siehe Tabelle 3.3) bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Vergleich zu den anderen beiden Zuständen, die auch eine höhere operative Photosyntheserate in Abbildung 4.16.B aufweisen, deutlich geringer ausfällt. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die LHCII-RCII-Komplexe durch einen ausgeprägteren Elektronenstau, der durch die nachgeschaltete CO<sub>2</sub>-Fixierung bedingt wird (vgl. Abbildung 4.16.B), scheinbar stärker durch ROS inhibiert werden [46,47]. Weiterhin ist in Abbildung 4.19.A zu sehen, dass der Parameter  $F'_v/F'_m$  (Parameterdefinition siehe Tabelle 3.3) bei 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> um etwa 5,1 % geringer ausfällt als  $F_v/F_m$ , während bei den Zuständen mit 1 und 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas diese Abweichung etwa 4,3 % beträgt. Dies kann als ein Hinweis auf eine gesteigerte NPQ-Aktivität interpretiert werden [46]. Diese Steigerung der NPQ-Aktivität bei sinkendem CO<sub>2</sub>-Gehalt im Zugas ist eindeutig in Abbildung 4.19.C zu erkennen. Des Weiteren ist in Abbildung 4.19.B erkennbar, dass die operative RCII-Effizienz ( $F'_q/F'_m$ ; Parameterdefinition siehe Tabelle 3.3) mit sinkendem CO<sub>2</sub>-Gehalt im Zugas tendenziell kontinuierlich sinkt. Dieses Ergebnis steht teilweise im Widerspruch zum Ergebnis in Abbildung 4.16.B, wo bei den Zuständen mit 1 und 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas jeweils identische operative Photosyntheseraten beobachtet wurden, die vermuten lassen, dass auch die operativen RCII-Effizienzen dieser CO<sub>2</sub>-bedingten Zustände ebenfalls gleich sein sollten. Gleiches gilt für die beiden Parameter  $F'_q/F'_v$  und  $q_L$  (Parameterdefinition siehe Tabelle 3.3), die in Abbildung 4.19.B auch kontinuierlich mit dem CO<sub>2</sub>-Gehalt abnehmen. Aufgrund der relativ großen Messunsicherheiten beim Zustand mit 1 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas lässt sich jedoch nicht endgültig festlegen, ob die Parameterwerte von  $F'_q/F'_m$ ,  $F'_q/F'_v$  und  $q_L$  tatsächlich von den analogen Werten bei 2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas deutlich abweichen (vgl. Abbildung 4.19.B).

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine steigende Auslastung des nachgeschalteten CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates (vgl. Abschnitt 4.2.1) mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Rückwirkung auf die Lichtabsorption am LHCII-RCII-Komplex aufweist und zu einer höheren Energie-dissipation an jenen Komplexen führt. Damit konnte gezeigt werden, dass die Lichtabsorption am LHCII-RCII-Komplex und die nachgeschaltete CO<sub>2</sub>-Fixierung nicht unabhängig voneinander betrachtet werden können und sich gegenseitig beeinflussen, was in einem Modellierungsansatz zur Beschreibung der stationären Photosynthesekinetik (vgl. Abschnitt 4.3) entsprechend berücksichtigt werden sollte.

### 4.3 Mechanistische Modellierung der stationären Photosynthesekinetik

Die Modellierung der stationären, lichtabhängigen Photosynthesekinetik erfolgte aufbauend auf dem in [23] vorgestellten Modellansatz. Analog zu [23] wurde die Lichtabsorptionskinetik am LHCII-RCII-Komplex in Anlehnung an das PSU-Modell (vgl. Abschnitt 2.6.3) von Han [26,27] modelliert. Hierbei wurde das Modell zusätzlich um den PQ-Pool erweitert, der Elektronen von angeregten LHCII-RCII-Komplexen aufnehmen kann und somit als ein Elektronenspeicher fungiert (vgl. Abbildung 2.3). Die Elektronenaufnahme durch den PQ-Pool kann dabei so lange

erfolgen, bis dieser vollständig reduziert vorliegt und somit ausschließlich PQH<sub>2</sub>-Moleküle [1] vorhanden sind. In der Modellvorstellung wird der „Elektronenzulauf“ durch die Lichtabsorptionskinetik des LHCII-RCII-Komplexes und das Vorhandensein der PQ-Moleküle definiert, während der „Elektronenablauf“ durch die Prozessierung der Elektronen in einem nachgeschalteten Reaktionsschritt erfolgt, der auch den maximalen Elektronenfluss im LEF determiniert. In [23] wurde in Anlehnung an das Blackman-Modell [163] postuliert, dass keine Wechselwirkung bzw. Rückkopplung zwischen der Lichtabsorption am LHCII-RCII-Komplex und dem nachgeschalteten Reaktionsschritt gegeben ist. Diese Annahme bedeutet, dass im lichtlimitierten Bereich allein die Lichtabsorptionskinetik an den LHCII-RCII-Komplexen die Photosynthese definiert, bis, entsprechend dem Minimumgesetz [2,23] bzw. der Blackman-Kinetik [163], die Reaktionskinetik eines nachgeschalteten Schrittes limitierend wirkt und so die maximale Photosyntheserate festlegt. In Abschnitt 4.2 konnte aus den Ergebnissen in Abbildung 4.15 (bzw. Abbildung 4.16.B) abgeleitet werden, dass auch bei hohen CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeiten die Kinetik des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates die maximale Photosyntheserate definiert, zumindest im Bereich von 0,2-2 % (v/v) CO<sub>2</sub> in der Zuluft. Außerdem hat sich ergeben, dass eine Reduktion der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit nicht nur eine frühere Überlagerung der Lichtabsorptionskinetik durch die CO<sub>2</sub>-Fixierungskinetik bewirkt, sondern auch eine Verschiebung des Übergangsbereichs in Richtung geringerer PPFDs hervorruft, was auf eine Rückkopplung zwischen der Lichtabsorption an den LHCII-RCII-Komplexen und der CO<sub>2</sub>-Fixierung hindeutet (vgl. Abschnitt 4.2.1). Bei einer fehlenden Rückkopplung wäre in Anlehnung an das Blackman-Modell [163] zu erwarten, dass eine Reduktion der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit lediglich die maximale Photosyntheserate entlang des Verlaufs der Lichtabsorptionskinetik, wie bspw. in [23] dargestellt, herabsetzt und der Verlauf der Photosynthesekinetik im lichtlimitierten Bereich dementsprechend unbeeinflusst bleibt. Bei dem Zustand mit 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas ist jedoch besonders gut zu erkennen, dass die Photosynthesekinetik (vgl. Abbildung 4.15 sowie Abbildung 4.16.B) bereits im lichtlimitierten Bereich bei etwa 252 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> deutlich von den Photosynthesekinetiken der anderen beiden Zustände, die sich bei dieser PPFD noch überlagern und erst später divergieren, abweicht, obwohl die maximale Photosyntheserate auch beim Zustand mit 0,2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas erst bei höheren PPFDs erreicht wird. Aufbauend auf diesen Ergebnissen (vgl. Abschnitt 4.2) und im Gegensatz zur Modellvorstellung in [23] wird angenommen, dass die Lichtabsorption an einem LHCII-RCII-Komplexen nicht unabhängig von der nachgeschalteten CO<sub>2</sub>-Fixierung betrachtet werden kann. Deshalb werden beide Reaktionsschritte im Rahmen des hier vorgestellten Modells über den PQ-Pool miteinander verknüpft. Der Reduktionsgrad des PQ-Pools bzw. der Füllstand des Elektronenspeichers ergibt sich aus der Bilanzierung des Elektronenzulaufs (Lichtabsorption am LHCII-RCII-Komplex) und des Elektronenablaufs (Nutzung der gespeicherten Elektronen für die CO<sub>2</sub>-Fixierung). Dadurch wird eine Rückkopplung zwischen der CO<sub>2</sub>-Fixierung und der Lichtabsorption an einem LHCII-RCII-Komplex erreicht. Zudem wird der PQ-Pool als ein Puffer zwischen den beiden Photosystemen angesehen [69]. In der Modellvorstellung wird die Notwendigkeit dieses Puffers dadurch begründet, dass die angeregten Elektronen an einem LHCII-RCII-Komplex nicht über die Dauer der langsamsten Zeitkonstanten des RCII (vgl. Abschnitt 2.2.2) hinaus gespeichert werden können und ihre Energie somit dissipiert werden müsste, falls der nachgeschaltete LHCI-RCI-Komplex nicht zufälligerweise das am LHCII-RCII-Komplex angeregte Elektron verarbeiten kann. Ohne den PQ-Pool als Puffer wäre also eine nahezu perfekte Synchronisation zwischen den beiden Photosystemen erforderlich, die jedoch aufgrund der Natur des photosynthetischen Prozesses (vgl. Abschnitte

2.2.1 und 2.2.2) kaum realisierbar sein dürfte. Der schematische Aufbau des in dieser Arbeit entwickelten Modells kann Abbildung 4.20 entnommen werden.

Entsprechend der PSU-Definition nach Han [27] (vgl. Abschnitt 2.6.3), wird auch im hier vorgestellten Modell die gesamte photosynthetische ETK inklusive aller dazugehörigen Komponenten des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates als eine PSU betrachtet. Im Gegensatz zum PSU-Modell nach Han [26,27] wird die PSU jedoch nicht als eine Einheit betrachtet, die nur in ihrer Gesamtheit verschiedene Zustände (vgl. Abbildung 2.11) annehmen kann. Stattdessen wird definiert, dass die explizit modellierten PSU-Komponenten (vgl. Abbildung 4.20) jeweils unterschiedliche Zustände annehmen können, sodass die gesamte PSU nur in Grenzfällen in einem einheitlichen Zustand vorliegen kann. Im Dunkeln (erster Grenzfall) wäre die gesamte PSU im Grundzustand, während ausreichend hohe PPFDs (zweiter Grenzfall) eine vollständige Anregung der PSU bewirken würden.

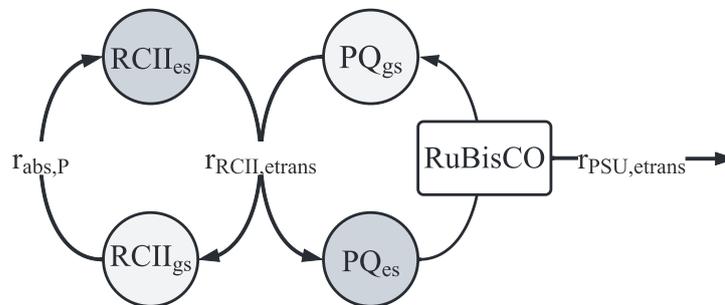


Abbildung 4.20: Schematischer Aufbau des PSU-Modells mit zwei nacheinander geschalteten, limitierenden Reaktionsschritten. Die Absorption von Lichtenergie und deren Transport zum RCII im Grundzustand (RCII<sub>gs</sub>) überführt das RCII in den angeregten Zustand (RCII<sub>es</sub>). Die lichtbedingte Überführung von RCII<sub>gs</sub> zu RCII<sub>es</sub> erfolgt dabei mit der Reaktionsrate  $r_{abs,P}$ . Im nächsten Schritt überträgt das RCII<sub>es</sub> ein angeregtes Elektron auf ein PQ-Molekül im Grundzustand (PQ<sub>gs</sub>) und überführt es in den reduzierten Zustand (PQ<sub>es</sub>), wodurch das RCII<sub>es</sub> zeitgleich in den Grundzustand zurückkehrt. Diese Elektronenübertragungsrate wird im Modell als  $r_{RCII,etrans}$  definiert. Die nachgeschaltete CO<sub>2</sub>-Fixierung durch RuBisCO bestimmt als absolut limitierender Schritt die Reaktionsgeschwindigkeit  $r_{PSU,etrans}$ , mit der PQ<sub>es</sub> zu PQ<sub>gs</sub> oxidiert und das entsprechende Elektron für die CO<sub>2</sub>-Fixierung genutzt wird. Bei hohen bzw. sättigenden PPFDs führt die Limitierung durch RuBisCO zu einem Elektronenstau, der eine Akkumulation von PQ<sub>es</sub> und RCII<sub>es</sub> bewirkt, die wiederum in einer Steigerung der Dissipation der absorbierten Lichtenergie in Form von Wärme und Fluoreszenz resultiert.

Entsprechend dem Modellaufbau in Abbildung 4.20 kann ein LHCII-RCII-Komplex im Grundzustand (RCII<sub>gs</sub>) durch die Absorption eines Photons sowie den Transport dessen Energie zum RCII in den angeregten Zustand (RCII<sub>es</sub>) überführt werden. Ein RCII<sub>es</sub> kann im nächsten Schritt das angeregte Elektron auf ein PQ-Molekül im Grundzustand (PQ<sub>gs</sub>) übertragen, wodurch das RCII<sub>es</sub> in den Grundzustand zurückkehrt und das PQ<sub>gs</sub> in den reduzierten Zustand (PQ<sub>es</sub>) überführt wird. Ausgehend von der Literatur [1,105,117] wird angenommen, dass RuBisCO die geschwindigkeitsbestimmende Reaktion innerhalb des Calvin-Zyklus (vgl. Abschnitt 2.2.3) katalysiert. Es wird daher im Rahmen des hier vorgestellten Modells unterstellt, dass die Reaktionsgeschwindigkeit von RuBisCO die maximale Rate vorgibt, mit der die Elektronen aus dem PQ<sub>es</sub>-Pool im stationären Zustand für die CO<sub>2</sub>-Fixierung genutzt werden können. Bedingt durch die Modellstruktur definiert diese Reaktionsrate ebenfalls die maximale Rate, mit der PQ<sub>es</sub>-

Moleküle in den Grundzustand überführt bzw. zu  $PQ_{gs}$  oxidiert werden. Entsprechend dem Aufbau der photosynthetischen ETK (vgl. Abbildung 2.3) wird RuBisCO nicht als ein direkter Reaktionspartner der  $PQ_{es}$ -Moleküle betrachtet. Da RuBisCO in der Modellbetrachtung nur die Rate des maximal möglichen LEF im stationären Zustand vorgibt und keinen Reaktionspartner darstellt, unterliegt es im Vergleich zu RCII und PQ keinen Zustandswechslern (vgl. Abbildung 4.20). Im Nachfolgenden wird das bisher zusammenfassend erläuterte Modell detailliert hergeleitet und mathematisch beschrieben.

Im ersten Schritt der Photosynthese erfolgt die Absorption von Licht am LHCII-RCII-Komplex. Die Wahrscheinlichkeit, dass die Absorption eines Photons durch ein Chlorophyll erfolgt, wird durch  $\sigma_{\lambda,Chl}$  definiert [94]. Wie bereits in Abschnitt 2.2.1 erläutert, können auch Carotinoide Photonen absorbieren, die absorbierte Energie von Chlorophyllen aufnehmen und diese, zumindest aus physikalischer Sicht, auf weitere Chlorophylle übertragen [1,38]. Es ist jedoch unklar, welche Rolle die Carotinoide in *Chlorella spp.* bei der primären Photochemie *in vivo* einnehmen [50]. In *Chlorella spp.* wird den Carotinoiden hauptsächlich eine photoprotektive Funktion zugesprochen [50,97,99]. Aus diesem Grund wird vereinfacht davon ausgegangen, dass nur die Chlorophylle zum „photosynthetischen“ Absorptionsquerschnitt beitragen. Zur Vereinfachung werden zudem zunächst über PAR gemittelte  $\sigma_{Chl}$  im hier vorgestellten Modell verwendet. Das Produkt aus  $\sigma_{Chl}$  (vgl. Abschnitt 3.4.1) und  $n^{RCII}_{Chl}$  (vgl. Abschnitt 3.4.2) bildet den LHCII-RCII-spezifischen Absorptionsquerschnitt ( $\sigma_{RCII}$ ). Die gesamte Photonenabsorptionsrate ( $r_{abs,tot}$ ) an einem LHCII-RCII-Komplex kann dann wie folgt beschrieben werden:

$$r_{abs,tot} = \sigma_{Chl} \cdot n^{RCII}_{Chl} \cdot I_{PAR} \cdot 10^{-6} \cdot N_A = \sigma_{RCII} \cdot I_{PAR} \cdot 10^{-6} \cdot N_A \quad (4.5)$$

Der Parameter  $I_{PAR}$  steht hierbei für die jeweils vorliegende PPF (mittels des Terms  $10^{-6} \cdot N_A$  wird  $I_{PAR}$  [ $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ] in  $\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  umgerechnet). Für die absorbierte Lichtenergie bestehen drei Propagationmöglichkeiten innerhalb eines LHCII-RCII-Komplexes (vgl. Abbildung 2.2). Die ersten beiden Möglichkeiten sind dissipativer Natur, wobei die absorbierte Energie in Form von Wärme (bspw. durch NPQ-Mechanismen [61]) oder Fluoreszenz abgegeben wird [46]. Die dritte Möglichkeit ist die Propagation der absorbierten Lichtenergie zum P680-Chlorophyllpaar im RCII und deren Nutzung für die primäre Ladungstrennung [1,46]. Diese drei Möglichkeiten stehen stets in Konkurrenz zueinander [46,293]. Im Modellkontext wird definiert, dass ausschließlich RCII<sub>gs</sub> im Grundzustand die absorbierte Lichtenergie für die primäre Photochemie nutzen können [23,26,27,29,161,251,256]. In diesem Zustand befinden sich alle Komponenten des RCII (vgl. Abbildung 2.4) im Ausgangszustand. Zudem enthält das RCII in dieser Modellvorstellung einen locker gebundenen, terminalen Elektronenakzeptor  $Q_B$ . Entsprechend dieser Definitionen wird nur der Anteil der absorbierten Lichtenergie für die Photochemie verwendet, der von einem RCII<sub>gs</sub> absorbiert und nicht in Form von Wärme oder Fluoreszenz, bereits vor dem Erreichen des P680, dissipiert wird. Die Photonenabsorptionsrate ( $r_{abs,P}$ ), mit der die absorbierten Photonen zur primären Ladungstrennung führen, ist dann folgendermaßen definiert:

$$r_{abs,P} = \varphi_{RCII} \cdot r_{abs,tot} \cdot n_{RCII,gs} \quad (4.6)$$

Hierbei ist der Modellparameter  $\varphi_{RCII}$  die maximale Quantenausbeute im PPF-abhängigen Akklimatisationszustand (entspricht  $F'_v/F'_m$  in Abschnitt 3.3.6.1). Dieser Parameter beschreibt die

Wahrscheinlichkeit bzw. Effizienz, mit der ein am  $\text{RCII}_{\text{gs}}$  absorbiertes Photon zur primären Ladungstrennung führt [46,47]. Die Anzahl der  $\text{RCII}_{\text{gs}}$  wird durch  $n_{\text{RCII,gs}}$  gekennzeichnet.

Entsprechend der Rate  $r_{\text{abs,P}}$  werden  $\text{RCII}_{\text{gs}}$  in  $\text{RCII}_{\text{es}}$  überführt (vgl. Abbildung 4.20). Durch die energetische Anregung des P680-Chlorophyllpaares im RCII wird dieses zu einem Reduktionsmittel und induziert den Elektronentransport am RCII entsprechend dem Z-Schema in Abbildung 2.4 bis zum terminalen Elektronenakzeptor  $\text{Q}_\text{B}$  [1].

Im angeregten Zustand kann der LHCII-RCII-Komplex zwar weitere Photonen absorbieren, diese jedoch nicht für die Photochemie verwenden, da die RCII-Komponenten gemäß der Modelldefinition zunächst in den Grundzustand zurückkehren müssten. Unter der Voraussetzung, dass eine energetische Verknüpfung zwischen mehreren LHCII-RCII-Komplexen existiert, wäre es prinzipiell denkbar, dass die an einem  $\text{RCII}_{\text{es}}$  absorbierte Lichtenergie an ein energetisch verknüpftes  $\text{RCII}_{\text{gs}}$  transferiert und so für die primäre Photochemie genutzt wird [249]. Die Modelle aus der Literatur, die den energetischen Verknüpfungsgrad der LHCII-RCII-Komplexe berücksichtigen bzw. beschreiben, können jeweils den sogenannten *lake*-, *islet*- oder *puddle*-Modellen zugeordnet werden [38,249]. In der *lake*-Modellvorstellung bilden die LHCII-RCII-Komplexe eine statistische Entität, innerhalb derer die an einem  $\text{RCII}_{\text{es}}$  absorbierte Lichtenergie in Abhängigkeit des vorliegenden Verknüpfungsgrades, der Werte zwischen 0 und 1 annehmen kann, zu einem beliebigen  $\text{RCII}_{\text{gs}}$  transferiert wird, wobei sie jedoch auch vor dem Erreichen eines  $\text{RCII}_{\text{gs}}$  in Form von Wärme oder Fluoreszenz dissipiert werden kann [38,249,326]. Beim *islet*-Modell werden die LHCII-RCII-Komplexe in diskrete Cluster aufgeteilt, innerhalb derer der Energietransport zwischen den LHCII-RCII-Komplexen möglich ist [38,249]. Beim *puddle*-Modell (*lake*-Modell mit einem Verknüpfungsgrad von 0) wird der Energietransfer zwischen verschiedenen LHCII-RCII-Komplexen als unmöglich angesehen, sodass die an einem  $\text{RCII}_{\text{es}}$  absorbierte Lichtenergie zwangsläufig als Fluoreszenz oder Wärme dissipiert werden muss [38,249]. Derzeit existieren keine experimentellen Ergebnisse, die eindeutig zeigen, welcher Modellansatz tatsächlich der Realität entspricht [249]. Basierend auf den Experimenten von [327,328] und im Gegensatz zu [326] wird in dieser Arbeit die *puddle*-Modellvorstellung in Bezug auf die Interkonnektivität der LHCII-RCII-Komplexe übernommen. Ausgehend von der Annahme eines *puddle*-Modells lässt sich die totale Energiedissipationsrate ( $r_{\text{diss,tot}}$ ), mit  $n_{\text{RCII,es}}$  als Anzahl der  $\text{RCII}_{\text{es}}$ , wie folgt definieren:

$$r_{\text{diss,tot}} = r_{\text{abs,tot}} \cdot \left( (1 - \varphi_{\text{RCII}}) \cdot n_{\text{RCII,gs}} + n_{\text{RCII,es}} \right) \quad (4.7)$$

In Analogie zum PSU-Modell nach Han [26,27] wird definiert, dass im stationären Zustand der limitierende Reaktionsschritt zwischen der Elektronendonorseite des RCII und der terminalen Elektronenakzeptorseite des RCII die Reaktionsgeschwindigkeit determiniert, mit der der Zustandswechsel von  $\text{RCII}_{\text{es}}$  zu  $\text{RCII}_{\text{gs}}$  erfolgt. Die effektive Geschwindigkeitskonstante dieses Schrittes wird im Modell als  $k_{\text{RCII,lim}}$  definiert. In der Literatur wird vermutet, dass die Elektronenübertragung von  $\text{Q}_\text{A}$  auf  $\text{Q}_\text{B}$  wahrscheinlich limitierend ist [58,102]. Wenn ein  $\text{Q}_\text{B}$  in der entsprechenden Bindestelle des RCII vorhanden ist, dauert die Oxidation eines reduzierten  $\text{Q}_\text{A}$  und die damit verbundene Elektronenübertragung auf  $\text{Q}_\text{B}$  etwa 0,2-0,4 ms [102]. Wenn das gebundene  $\text{Q}_\text{B}$  bereits einfach reduziert wurde, dauert der gleiche Elektronentransfer 0,6-0,8 ms und verlängert sich sogar auf 2-3 ms, wenn erst ein  $\text{Q}_\text{B}$  durch ein RCII gebunden werden muss [102]. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass auch der OEC, der im Mittel ca. 0,38-

0,55 ms pro Elektronenübertragung benötigt (vgl. Abschnitt 2.2.2), teilweise limitierend wirken kann [68]. Trotz der uneindeutigen Lokalisierung des limitierenden Schrittes beim Elektronentransport innerhalb eines RCII kann festgehalten werden, dass die effektive, durchschnittliche Zeitkonstante dieses limitierenden Schrittes im Bereich von etwa 0,4-2,1 ms pro Elektrontransfer liegen sollte. Anders als im Han-Modell [26,27] benötigt ein RCII<sub>es</sub> in dem hier vorgestellten Modell den Reaktionspartner PQ<sub>gs</sub> (vgl. Abbildung 4.20), um in den Grundzustand zurückkehren zu können. Die Rate der Elektronenübertragung vom RCII<sub>es</sub> zum PQ<sub>gs</sub> ( $r_{RCII,etrans}$ ) ist demnach wie folgt definiert:

$$r_{RCII,etrans} = k_{RCII,lim} \cdot n_{RCII,es} \cdot \frac{n_{PQ,gs}}{n_{RCII,tot}} \quad (4.8)$$

Hierbei sind  $n_{PQ,gs}$  und  $n_{RCII,tot}$  jeweils die Gesamtanzahl aller PQ-Moleküle und aller RCII. Diese Gleichung entspricht formal einer Reaktion zweiter Ordnung und stellt lediglich eine Vereinfachung des tatsächlichen Elektronentransfers von RCII<sub>es</sub> auf PQ<sub>gs</sub> dar. Hierbei fungieren RCII<sub>es</sub> und PQ<sub>gs</sub> als Substrate, während RCII<sub>gs</sub> und PQ<sub>es</sub> die resultierenden Produkte darstellen. Mit dem Term  $n_{PQ,gs}/n_{RCII,tot}$  wird festgelegt, dass einem RCII<sub>es</sub> nicht der gesamte PQ<sub>gs</sub>-Pool, sondern jeweils nur der lokale PQ<sub>gs</sub>-Pool in seiner unmittelbaren Umgebung bzw. innerhalb der entsprechenden PSU zur Verfügung steht.

Die Rate  $r_{RCII,etrans}$  beschreibt die Reaktionsgeschwindigkeit, mit der der PQ<sub>gs</sub>-Pool reduziert bzw. in den PQ<sub>es</sub>-Pool umgewandelt wird. Die in PQ<sub>es</sub> gespeicherten Elektronen dienen in der Modellvorstellung als Substrat für den zweiten limitierenden Reaktionsschritt in der PSU. Im stationären Zustand determiniert der insgesamt langsamste Reaktionsschritt die Geschwindigkeit, mit der die Elektronen aus dem PQ<sub>es</sub>-Pool im Rahmen der CO<sub>2</sub>-Fixierung prozessiert und die PQ<sub>es</sub> zu PQ<sub>gs</sub> oxidiert werden. Wie zuvor erwähnt, wird basierend auf den Ergebnissen aus Abschnitt 4.2 angenommen, dass letztendlich RuBisCO den limitierenden Reaktionsschritt, der die Lichtsättigung der Photosynthese (vgl. Abbildung 4.15) hervorruft, katalysiert [1,105,117]. Hierbei sollte jedoch beachtet werden, dass diese Annahme nicht als allgemein gültig betrachtet werden kann und je nach Akklimatisationszustand (z. B. bei extremen Akklimatisations-PPFDs [105]) ein anderer Reaktionsschritt limitierend sein könnte (vgl. Abschnitt 4.2), darunter die PQH<sub>2</sub>-Oxidation am Cyt *b<sub>6</sub>f* oder eine nachgeschaltete, metabolische Reaktion. Nichtsdestotrotz wird davon ausgegangen, dass die getroffene Annahme über einen weiten Bereich der Umgebungsbedingungen und für einige Mikroalgenstämme ihre Gültigkeit beibehalten sollte, da in der Literatur unter diversen Bedingungen und mit verschiedenen Mikroalgenstämmen eine deutliche Korrelation zwischen der maximalen Umsatzgeschwindigkeit einer PSU und der RCII-spezifischen RuBisCO-Anzahl beobachtet werden konnte [105,156,180,212].

Als eine weitere Vereinfachung wird der Einfluss der CO<sub>2</sub>-Konzentration auf die maximale Photosyntheserate zunächst nicht explizit modelliert, da die für das hierbei vorgestellte Modell herangezogenen Photosynthesekinetiken (vgl. Abschnitt 3.2.1) stets unter dem gleichen und im Vergleich zu den atmosphärischen Bedingungen sehr hohen [116] CO<sub>2</sub>-Gehalt in der Zuluft von 2 % (v/v) generiert wurden. Der Temperatureinfluss auf die RuBisCO-Kinetik [320] wurde ebenfalls vernachlässigt, da die Ansätze durchweg unter konstanten, optimalen Temperaturbedingungen [127,132] analysiert wurden (vgl. Abschnitt 3.3.5). Ausgehend von den zuvor aufge-

stellten Modellannahmen und Vereinfachungen wird die Reaktionsrate ( $r_{PSU,etrans}$ ), mit der die Elektronen aus dem LEF für die CO<sub>2</sub>-Fixierung genutzt werden, folgendermaßen definiert:

$$r_{PSU,etrans} = \left( k_{RuBisCO} \cdot \frac{n_{RuBisCO,tot}}{n_{PQ,tot}} \right) \cdot n_{PQ,es} \quad (4.9)$$

Hierbei ist  $k_{RuBisCO}$  die effektive Geschwindigkeitskonstante, mit der RuBisCO die Elektronen aus dem LEF für die CO<sub>2</sub>-Fixierung prozessiert. Der Parameter  $n_{RuBisCO,tot}$  ist die Anzahl aller RuBisCOs. Der Modellparameter  $n_{PQ,es}$  ist die Gesamtanzahl der PQ<sub>es</sub>-Moleküle. In Anlehnung an Gleichung 4.8 wird durch den Term  $n_{RuBisCO,tot}/n_{PQ,tot}$  berücksichtigt, dass der relative bzw. lokale RuBisCO-Pool für die PQ-spezifische Reaktionsgeschwindigkeit ( $r_{PSU,etrans}$ ) relevant ist.

Analog zu [26,27,161,256] wird angenommen, dass die Anzahl der PSU-Komponenten während des jeweiligen Messzeitraumes unverändert bleibt. Da die oxygenen Photosyntheseraten stets innerhalb von wenigen Minuten erfasst wurden (vgl. Abschnitt 3.3.5), wird die Einstellung eines stationären Zustandes im Rahmen dieser Messungen unterstellt, der durch die im Gegensatz zum Messzeitraum kurzen Umsatzzeiten bzw. Zeitkonstanten der Reaktionsschritte innerhalb des Photosyntheseapparates und die damit verbundene, relativ schnelle Fließgleichgewichtseinstellung begründet wird [1,27,58,285,293]. Deshalb kann Folgendes definiert werden:

$$n_{RCII,gs} + n_{RCII,es} = n_{RCII,tot} = const. \quad (4.10)$$

$$n_{PQ,gs} + n_{PQ,es} = n_{PQ,tot} = const. \quad (4.11)$$

$$\frac{n_{RCII,gs}}{n_{RCII,tot}} + \frac{n_{RCII,es}}{n_{RCII,tot}} = x_{RCII,gs} + x_{RCII,es} = 1 \quad (4.12)$$

$$\frac{n_{PQ,gs}}{n_{PQ,tot}} + \frac{n_{PQ,es}}{n_{PQ,tot}} = x_{PQ,gs} + x_{PQ,es} = 1 \quad (4.13)$$

Mit  $x_i$  als anzahlsspezifischer Anteil der jeweiligen Komponente  $i$ . Ausgehend von der vorherigen Definition einer PSU (vgl. Abschnitt 2.6.3) und der Annahme eines stationären Zustandes ergeben sich folgende PSU-spezifische Bilanzgleichungen für die anzahlsspezifischen Anteile von RCII<sub>gs</sub>, RCII<sub>es</sub>, PQ<sub>gs</sub> und PQ<sub>es</sub>:

$$\frac{dx_{RCII,gs}}{dt} = -\frac{r_{abs,P}}{n_{RCII,tot}} + \frac{r_{RCII,etrans}}{n_{RCII,tot}} = 0 \quad (4.14)$$

$$\frac{dx_{RCII,es}}{dt} = \frac{r_{abs,P}}{n_{RCII,tot}} - \frac{r_{RCII,etrans}}{n_{RCII,tot}} = 0 \quad (4.15)$$

$$\frac{dx_{PQ,gs}}{dt} = -\frac{r_{RCII,etrans}}{n_{RCII,tot}} + \frac{r_{PSU,etrans}}{n_{RCII,tot}} = 0 \quad (4.16)$$

$$\frac{dx_{PQ,es}}{dt} = \frac{r_{RCII,etrans}}{n_{RCII,tot}} - \frac{r_{PSU,etrans}}{n_{RCII,tot}} = 0 \quad (4.17)$$

Durch die zusätzliche Berücksichtigung der Gleichungen 4.12 und 4.13 ergibt sich schließlich folgendes Gleichungssystem:

$$-\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII} \cdot I_{PAR} \cdot 10^{-6} \cdot N_A \cdot x_{RCII,gs} + k_{RCII,lim} \cdot x_{RCII,es} \cdot x_{PQ,gs} \cdot \frac{n_{PQ,tot}}{n_{RCII,tot}} = 0 \quad (4.18)$$

$$1 - x_{RCII,gs} - x_{RCII,es} = 0 \quad (4.19)$$

$$-k_{RCII,lim} \cdot x_{RCII,es} \cdot x_{PQ,gs} \cdot \frac{n_{PQ,tot}}{n_{RCII,tot}} + \left( k_{RuBisCO} \cdot \frac{n_{RuBisCO,tot}}{n_{RCII,tot}} \right) \cdot x_{PQ,es} = 0 \quad (4.20)$$

$$1 - x_{PQ,gs} - x_{PQ,es} = 0 \quad (4.21)$$

Die PSU-spezifische Energiedissipationsrate ( $r_{PSU,diss,tot}$ ) ist, ausgehend von Gleichung 4.7, wie folgt definiert:

$$r_{PSU,diss,tot} = \sigma_{RCII} \cdot I_{PAR} \cdot 10^{-6} \cdot N_A \cdot (1 - \varphi_{RCII} \cdot x_{RCII,gs}) \quad (4.22)$$

In Gleichung 4.20 beschreibt der Term  $(k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}) \cdot x_{PQ,es}$  die Rate im stationären Zustand, mit der die Elektronen im LEF – ausgehend vom OEC bis zur CO<sub>2</sub>-Fixierung – prozessiert werden. Diese Rate ist somit proportional zur oxygenen Brutto-Photosyntheserate. Durch das Verrechnen des Terms  $(k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}) \cdot x_{PQ,es}$  mit dem elektronenspezifischen O<sub>2</sub>-Ausbeutekoeffizienten ( $y_{O_2/e^-}$ ) sowie der Anzahl der Chlorophylle pro PSU ( $n^{RCII}_{Chl} + n_{RCI,tot}/n_{RCII,tot} \cdot n^{RCI}_{Chl}$ ) erhält man schließlich die Chlorophyll-spezifische oxygene Brutto-Photosyntheserate ( $r_{P,Brutto,Chl}$ ):

$$r_{P,Brutto,Chl} = y_{O_2/e^-} \cdot \frac{\left( k_{RuBisCO} \cdot \frac{n_{RuBisCO,tot}}{n_{RCII,tot}} \right) \cdot x_{PQ,es} \cdot N_A}{\left( n^{RCII}_{Chl} + \frac{n_{RCI,tot}}{n_{RCII,tot}} \cdot n^{RCI}_{Chl} \right) \cdot N_A} \quad (4.23)$$

Der Parameter  $y_{O_2/e^-}$  definiert wie viel Mol O<sub>2</sub> durch den OEC freigesetzt werden, wenn ein Mol Elektronen durch den LEF fließt. Ausgehend vom Z-Schema (vgl. Abbildung 2.4) beträgt  $y_{O_2/e^-}$  1/4 [1]. Die Anzahl der Chlorophylle pro PSU wird durch die Anzahl der Chlorophylle im jeweiligen LHC-RC-Komplex ( $n^{i}_{Chl}$ ) und das Verhältnis beider Komplexe innerhalb einer PSU ( $n_{RCI,tot}/n_{RCII,tot}$ ) bestimmt. Die LHC-RC-spezifische Anzahl der Chlorophylle kann entsprechend dem Ansatz in Abschnitt 3.4.2 berechnet werden. Das  $n_{RCI,tot}/n_{RCII,tot}$ -Verhältnis von 1,1 [202] wurde analog zu Abschnitt 3.4.2 als konstant angenommen. Bei einer Lichtsättigung des limitierenden Schrittes beträgt  $x_{PQ,es} = 1$ , wodurch sich der Term  $(k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}) \cdot x_{PQ,es}$  zu  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  reduzieren lässt. Der Term  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  ist proportional zur maximalen Brutto-Photosyntheserate.

Aufgrund der Tatsache, dass auch unter Lichteinfluss ein Teil des photosynthetisch fixierten CO<sub>2</sub> im Rahmen der mitochondrialen Zellrespiration (vgl. Abschnitt 2.4) unter O<sub>2</sub>-Verbrauch erneut freigesetzt wird [123,124,260], kann mit dem in Abschnitt 3.3.5 beschriebenen experimentellen Aufbau ausschließlich die oxygenen Netto-Photosyntheserate erfasst werden, weshalb die Zellrespiration im Rahmen des Modells explizit berücksichtigt werden muss. In Anlehnung

an [187] wird definiert, dass die gesamte Chlorophyll-spezifische Respirationsrate ( $r_{R,tot,Chl}$ ) aus einem ratenunabhängigen Teil ( $r_{mnt,Chl}$ ), der in der Literatur auch als Erhaltungsstoffwechsel bezeichnet wird [161,162,187,259,260], und einem Teil ( $r_{R,Chl}$ ), der in Abhängigkeit der Brutto-Photosyntheserate skaliert, besteht. Die Rate  $r_{R,tot,Chl}$  kann dann wie folgt beschrieben werden:

$$r_{R,tot,Chl} = r_{R,Chl} + r_{mnt,Chl} = \varphi_{R,Chl} \cdot r_{P,Brutto,Chl} + r_{mnt,Chl} \quad (4.24)$$

Der Parameter  $\varphi_{R,Chl}$  beschreibt hierbei den Anteil des bei der Photosynthese freigesetzten  $O_2$ , der bei der mitochondrialen Respiration erneut verbraucht wird, weshalb dieser Parameter formal den Synthesekosten neuer Biomasse entspricht [187,194,260]. Die in Gleichung 4.24 aufgeführte Respirationsrate entspricht formal dem Respirationsmodell nach Pirt [259]. Für die Chlorophyll-spezifische oxygene Netto-Photosyntheserate ( $r_{P,Netto,Chl}$ ) ergibt sich dann:

$$r_{P,Netto,Chl} = r_{P,Brutto,Chl} - r_{R,tot,Chl} = (1 - \varphi_{R,Chl}) \cdot r_{P,Brutto,Chl} - r_{mnt,Chl} \quad (4.25)$$

Da die Lichtabnahme in einem Photobioreaktor (vgl. Abschnitt 2.5.2) einen deutlichen Einfluss auf die Form der lichtbedingten Photosynthesekinetik ausüben kann [23,243], wurde das Lichtprofil im Flachplatten-Photobioreaktor (vgl. Abschnitt 3.1.3) bzw. in der Messzelle zur Bestimmung der oxygenen Photosyntheserate (vgl. Abschnitt 3.3.5) modellbasiert berücksichtigt (vgl. Abschnitt 3.4.1). Trotz der modellbasierten Berücksichtigung des Lichtprofils wurden zusätzlich experimentelle Maßnahmen getroffen, die den Einfluss der Lichtabnahme innerhalb der entsprechenden Vorrichtung (Bioreaktor bzw. Messzelle) auf die Form der PI-Kurve minimieren sollten (vgl. Abschnitte 2.5.2, 3.1.3 und 3.3.5). Im Rahmen des hier vorgestellten Modells wird jeweils die lokale Chlorophyll-spezifische Netto-Photosyntheserate ( $r_{P,Netto,Chl}(z_R)$ ) bestimmt, die anschließend über die Reaktor- bzw. Messzellentiefe (von  $z_R = 0$  bis  $z_R = l_R$ ) integriert wird, um die effektive Chlorophyll-spezifische Netto-Photosyntheserate ( $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$ ; siehe Gleichung 4.26) zu erhalten. Die berechneten Raten  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$  entsprechen den experimentell bestimmten Chlorophyll-spezifischen oxygenen Netto-Photosyntheseraten (vgl. Abschnitt 3.3.5). Das bisher beschriebene Gesamtmodell ist in Abbildung 4.21 schematisch dargestellt.

$$\bar{r}_{P,Netto,Chl} = \frac{1}{l_R} \cdot \int_0^{l_R} r_{P,Netto,Chl}(I_{PAR}(z_R)) dz_R \quad (4.26)$$

Im Gegensatz zum PSU-Modell nach Han [26,27], das hierbei als Grundlage diente, wird in dem hier vorgestellten PSU-Modell die progressive photooxidative Photoinhibierung des D1-Proteins [51,208] vereinfacht nicht berücksichtigt. Die Erfassung von PI-Kurven erfolgt meistens im Bereich von wenigen Minuten [29,158] (vgl. Abschnitt 3.3.5). Die progressive Photoinhibierung ist hingegen ein vergleichsweise langsamer Prozess mit effektiven Zeitkonstanten im Bereich von 30 min bis mehreren Stunden [208,209]. Es kann daher nicht angenommen werden, dass sich die progressive Photoinhibierung in einem Messzeitraum von wenigen Minuten bereits im stationären Zustand befindet oder besonders stark ausgeprägt sein sollte [157]. Schnelle bzw. nicht-akklimatisierte PI-Kurven aus der Literatur [29,157,158,164], die unter optimalen Nährstoffbedingungen und innerhalb weniger Minuten erfasst wurden, zeigen selbst bei sehr hohen PPFDs häufig keine Abnahme der Photosyntheserate und somit auch keine effektiv sichtbare, progressive Photoinhibierung. Deshalb wird argumentiert, dass es sinnvoller ist, die Kinetik der

Photoinhibierung separat von der Kinetik einer PSU, ohne die zeitgleiche Annahme eines stationären Zustandes sowohl für die PSU als auch für die Photoinhibierung, zu modellieren oder die progressive Photoinhibierung vereinfachend zu vernachlässigen, wenn es die experimentellen Umstände ermöglichen (vgl. Abschnitt 3.3.5.2). Im Falle akklimatisierter bzw. stationärer PI-Kurven (vgl. Abschnitt 3.3.5.1) sollte beachtet werden, dass ein (quasi-)stationärer Anteil photoinhibierter RCIIs besteht, wie aus Abbildung 4.9.A hervorgeht. Dieses Ergebnis zeigt jedoch auch, dass dieser Anteil vernachlässigbar gering ausfällt, sodass selbst bei einer sehr hohen Akklimatisations-PPFD von  $1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  immer noch etwa 90 % der RCIIs in *C. vulgaris* funktional sind (vgl. Abschnitt 4.1.2.5). Bei  $\text{PPFDs} \leq 999 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  sind sogar über 94 % der vorhandenen RCIIs nicht-photoinhibiert (vgl. Abschnitt 4.1.2.5). Basierend auf diesem Ergebnis wird auch im Falle der stationären bzw. akklimatisierten PI-Kurven die Photoinhibierung zunächst nicht explizit berücksichtigt.

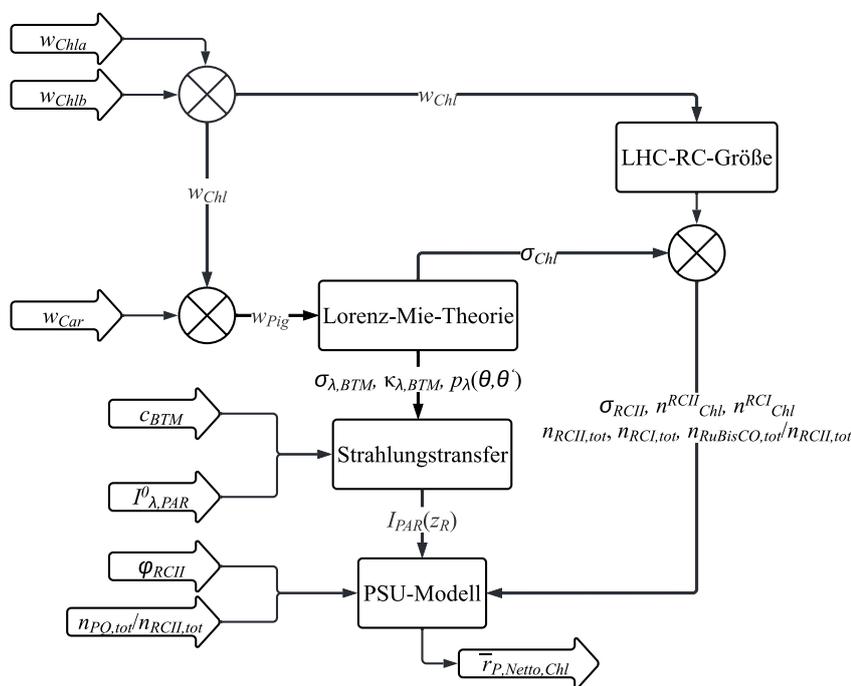


Abbildung 4.21: Schematische Darstellung des Gesamtmodells zur Beschreibung der stationären, lichtabhängigen Photosynthese kinetik mit den zentralen Modellkomponenten. Der detaillierte Aufbau des Modells zur Ermittlung des Lichtprofils innerhalb eines Flachplatten-Photobioreaktors bzw. der Messzelle zur Bestimmung der oxygenen Photosyntheserate ist in Abbildung 3.3 dargestellt. Die jeweilige LHC-RC-Komplexgröße wurde entsprechend dem Vorgehen in Abschnitt 3.4.2 für jeden PPFD-abhängigen Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* berechnet. Die effektive Chlorophyll-spezifische oxygene Netto-Photosyntheserate ( $\bar{F}_{P,Netto,Chl}$ ) resultiert aus der Lösung der Gleichungen 4.18-4.21 und 4.23-4.26.

## 4.3.1 Bestimmung der Modellparameter

### 4.3.1.1 Bestimmung der akklimatisations-spezifischen Modellparameter

Für die Parameterschätzung wurden insgesamt drei verschiedene Datensätze herangezogen. Es wurden drei nicht-akklimatisierte bzw. schnelle PI-Kurven (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) verwendet,

an die das in Abschnitt 4.3 vorgestellte Modell sowie das PSU-Modell nach Han [27], jeweils mit und ohne die Berücksichtigung der progressiven Photoinhibierung (vgl. Abschnitt 2.6.3), angepasst wurden, um die kinetischen Parameter  $k_{RCII,lim}$  und  $k_{RuBisCO}$  sowie  $\tau_{Han}$  bzw.  $\tau_{Han,inh}$  und  $K_{Han,inh}$  zu ermitteln. Bei jedem Datensatz wurde der jeweilige PPFd-abhängige Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* berücksichtigt. Die drei herangezogenen Akklimatisationszustände entsprachen den in Tabelle 4.3 aufgeführten NL-, ML- und HL-Zuständen. Die durchschnittlichen PPFds der drei aufgeführten Zustände waren: 42, 233 und 1423  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Ausgehend von den Akklimatisations-PPFDs konnten mithilfe der Gleichung 4.3 und der in Tabelle 4.1 aufgeführten Parameter die Pigmentgehalte für die Zustände NL, ML und HL berechnet werden, die als Modellinput benötigt wurden (vgl. Abbildung 4.21). Die resultierenden Chlorophyllgehalte wurden zur Berechnung von  $\sigma_{Chl}$  mittels Lorenz-Mie-Theorie [222–224,228] (vgl. Abschnitt 3.4.1) sowie zur Berechnung von  $n^{RCII_{Chl}}$  und  $n^{RCI_{Chl}}$  sowie von  $n_{RCII,tot}$  und  $n_{RCI,tot}$  (vgl. Abschnitte 3.4.2 und 4.1.2.2) benötigt. Hierdurch konnte zudem der Parameter  $\sigma_{RCII}$ , der aus dem Produkt aus  $n^{RCII_{Chl}}$  und  $\sigma_{Chl}$  resultiert, für die jeweiligen lichtbedingten Zustände berechnet werden (vgl. Abbildung 4.21).

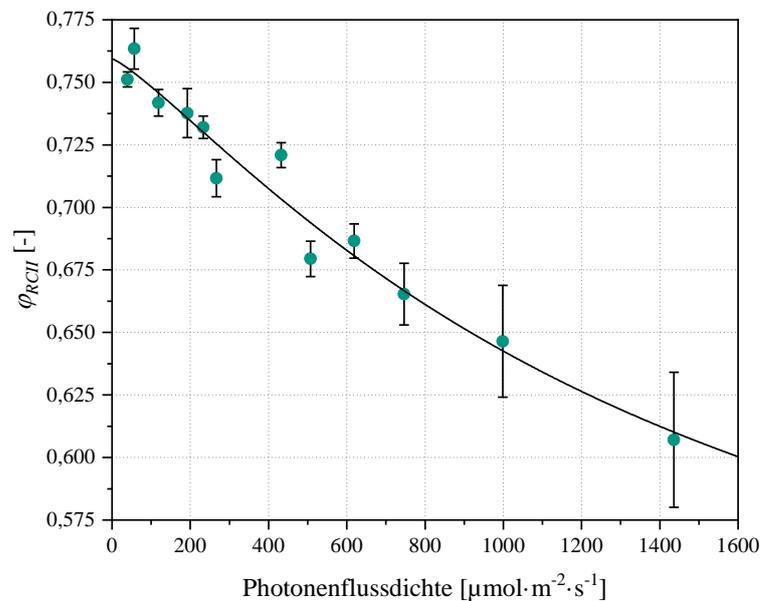


Abbildung 4.22: Darstellung des PPFd-abhängigen Verlaufes von  $\phi_{RCII}$  (entspricht  $F'_v/F'_m$ ) sowie der angepassten logistischen Regressionsfunktion (durchgezogene Linie). Die abgebildeten  $\phi_{RCII}$ - bzw.  $F'_v/F'_m$ -Daten (grüne Punkte) entsprechen den experimentellen Daten in Abbildung 4.9.A.

Wie ebenfalls aus Abbildung 4.21 hervorgeht, musste der Parameter  $\phi_{RCII}$ , der die maximale RCII-Effizienz definiert und somit implizit auch die NPQ-Aktivität sowie die stationäre Photoinhibierung berücksichtigt (vgl. Abschnitt 4.1.2.5), für die jeweiligen lichtabhängigen Akklimatisationszustände ermittelt werden. Definitionsbedingt wird angenommen, dass der Modellparameter  $\phi_{RCII}$  dem Parameter  $F'_v/F'_m$  [46,47] aus den Fluoreszenzmessungen (vgl. Abbildung 4.9.A) entspricht. Ähnlich wie im Falle der Pigmentgehalte in Abbildung 4.3 wurde Gleichung 4.3 auch zur Anpassung des PPFd-abhängigen Verlaufes von  $F'_v/F'_m$  genutzt (siehe Abbildung 4.22). Die Regressionsparameter sowie das entsprechende  $R^2$  mit einem Wert von 0,9630, der auf eine gute Beschreibung der Daten durch die entsprechende Funktion hindeutet, sind in

Tabelle 4.6 aufgelistet. In beiden hier genannten Fällen wurde die logistische Funktion (siehe Gleichung 4.3) lediglich zur Glättung der experimentellen Daten eingesetzt und weist somit keine mechanistische Bedeutung auf. Die Anpassung der Gleichung 4.3 an die jeweiligen experimentellen Daten ermöglicht zudem die Untersuchung weiterer lichtbedingter Akklimatisationszustände von *C. vulgaris*, die im Rahmen der Experimente nicht erfasst wurden.

Tabelle 4.6: Modellparameter der an den PPFD-abhängigen Verlauf von  $\varphi_{RCII}$  bzw.  $F_v/F_m$  angepassten logistischen Funktion (Gleichung 4.3).

$R^2$	Modellparameter			
	$\varphi_{RCII,min}$ [-]	$\varphi_{RCII,max}$ [-]	$\bar{I}_{PAR,c}$ [ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ]	$p$ [-]
0,9630	0,4615	0,7594	1431,2	1,2209

Das Produkt aus den beiden Parametern  $\varphi_{RCII}$  und  $\sigma_{RCII}$  definiert die maximale Photonenabsorptionskapazität und Nutzungseffizienz der absorbierten Lichtenergie für die primäre Photochemie eines durchschnittlichen bzw. effektiven LHCII-RCII-Komplexes im Grundzustand (vgl. Gleichungen 4.5 und 4.6). Die an den LHCII-RCII-Komplexen angeregten Elektronen werden im nachfolgenden Schritt, entsprechend der Modellvorstellung (vgl. Abschnitt 4.3), auf den PQ-Pool übertragen und dort zwischengespeichert (vgl. Gleichung 4.8). Aus diesem Grund muss im Rahmen des hier vorgestellten Modells auch die PQ-Poolgröße bekannt sein. Ausgehend von dem Ergebnis in Abbildung 4.10.B wird vereinfacht angenommen, dass der RCII-spezifische PQ-Pool ( $n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ ) konstant bleibt und aus 8 Molekülen besteht (vgl. Abschnitt 4.1.2.5).

Weiterhin muss der spezifische RuBisCO-Gehalt der Zelle bekannt sein (vgl. Gleichung 4.9). Bei der Betrachtung der Gleichung 4.23 wird ersichtlich, dass eine lineare Abhängigkeit zwischen der Geschwindigkeitskonstanten  $k_{RuBisCO}$  und der RCII-spezifischen Anzahl von RuBisCO ( $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ ) besteht. Deshalb lässt sich durch eine Regression nur das Produkt der beiden Parameter ermitteln. In der Literatur [105,212,213] wurde mehrfach beobachtet, dass der zell-spezifische RuBisCO-Gehalt in manchen Mikroalgen unabhängig vom PPFD-bedingten Akklimatisationszustand konstant bleibt. Zudem liegt  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  bei niedrigen PPFDs scheinbar häufig bei 1 [105,213]. Basierend auf den genannten Literaturdaten wurde angenommen, dass  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  bei der niedrigsten untersuchten PPFD von  $39 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (vgl. Abschnitt 4.1) 1 beträgt. Darauf aufbauend und unter dem zusätzlichen Einbezug des Ergebnisses hinsichtlich der BTM-spezifischen LHCII-RCII-Anzahl in Abbildung 4.5 wurde die maximale BTM-spezifische RuBisCO-Anzahl in *C. vulgaris* von  $7,38\cdot 10^{16} \text{ g}^{-1}$  berechnet, die unabhängig von der PPFD als konstant angenommen wurde. Bedingt durch die lichtabhängige Abnahme der BTM-spezifischen Anzahl der LHCII-RCII-Komplexe (vgl. Abbildung 4.5), während die BTM-spezifische RuBisCO-Anzahl konstant bleibt, resultiert eine positive Korrelation zwischen der Akklimatisations-PPFD und  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  (vgl. Abbildung 4.23), die auch in der Literatur festgestellt werden konnte [105,212,213]. Mithilfe der in Abschnitt 3.4.2 vorgestellten Methode, der  $w_{Chla}$ - und  $w_{Chlb}$ -Werte aus Gleichung 4.3 (mit Funktionsparametern aus Tabelle 4.1) sowie der in diesem Absatz erläuterten Annahmen ist es möglich, die BTM-spezifische LHCII-RCII-Anzahl und damit auch die BTM-spezifische RuBisCO-Anzahl für jede beliebige PPFD zu berechnen. Das entsprechende Ergebnis im PPFD-Bereich von 0-1600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist in Ab-

bildung 4.23 zu sehen. In [105] wurden experimentell die  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte für die Grünalge *D. tertiolecta* im Bereich von 80-1900  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bestimmt. Dabei stiegen die experimentellen  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte von 1,2 (bei 80  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) auf 4,6 (bei 1900  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) [105]. In der hier vorliegenden Arbeit wurden  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte von 1,13 und 1,99 bei jeweils 80 und 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  berechnet (vgl. Abbildung 4.23). Im Vergleich dazu wurden in [105] bei den beiden PPFDs 80 und 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$   $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte von jeweils 1,2 und 1,8 experimentell ermittelt. Bei den PPFDs von 700-1200  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bestehen jedoch deutliche Unterschiede zwischen den Literaturwerten von jeweils 2,6 und 2,8 [105] und den in dieser Arbeit rechnerisch bestimmten  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werten von jeweils 3,76 und 4,15. Bei den höchsten untersuchten PPFDs von 1900  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (in [105]) und 1600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (diese Arbeit) betragen die  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte jeweils 4,6 und 4,26. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die hier berechneten  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte gut mit den experimentellen Werten für die Grünalge *D. tertiolecta* von [105] übereinstimmen und somit plausibel erscheinen.

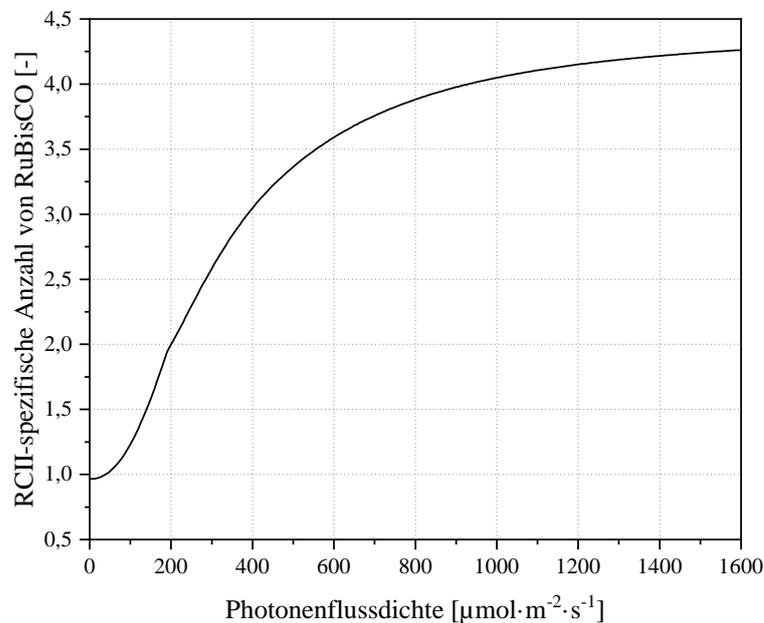


Abbildung 4.23: PPFD-abhängiger Verlauf der RCII-spezifischen Anzahl von RuBisCO ( $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ ). Die  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte wurden ausgehend von der Annahme berechnet, dass die BTM-spezifische Anzahl von RuBisCO konstant  $7,38 \cdot 10^{16} \text{ g}^{-1}$  beträgt. Die BTM-spezifischen Anzahlen der LHCII-RCII-Komplexe in Abhängigkeit der PPFD wurden aus den BTM-spezifischen Chlorophyll-Gehalten (nach Gleichung 4.3) und der PPFD-abhängigen LHCII-RCII-Komplexgrößen (vgl. Abschnitt 3.4.2) bestimmt. Daraus kann schließlich die RCII-spezifische Anzahl von RuBisCO berechnet werden.

Die bisherigen Modellparameter sind ausreichend, um  $r_{P,Brutto,Chl}$  nach Gleichung 4.23 berechnen zu können. Da die experimentellen Photosyntheseraten jedoch Netto-Photosyntheseraten sind (vgl. Abschnitt 3.3.5), müssen zusätzlich Parameter der Zellrespiration ermittelt werden (vgl. Gleichungen 4.24 und 4.25). Bei der Betrachtung der Gleichung 4.25 fällt auf, dass eine lineare Abhängigkeit zwischen  $k_{RuBisCO}$  und  $\varphi_{R,Chl}$  besteht, zusätzlich zu der zuvor aufgeführten Abhängigkeit zwischen  $k_{RuBisCO}$  und  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ . Um eine isolierte Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten  $k_{RuBisCO}$  zu ermöglichen, wurde dem Parameter  $\varphi_{R,Chl}$  (vgl. Abschnitt 4.3) basierend auf den in [260] aufgeführten Daten ein Wert von 0,32 zugeordnet. In der vereinfach-

ten Modellbetrachtung bedeutet dies, dass 32 % des photosynthetisch fixierten  $\text{CO}_2$  im Rahmen der mitochondrialen Zellrespiration zur Gewinnung von ATP für die Synthese neuer Biomasse veratmet und somit erneut freigesetzt wird [260]. Im Vergleich dazu veratmen heterotrophe Mikroorganismen üblicherweise etwa 50 % der aufgenommenen Glucose [2]. Hierbei sollte jedoch berücksichtigt werden, dass der Parameter  $\varphi_{R,Chl}$  nicht direkt messbar und dessen Bestimmung mit großen Unsicherheiten verbunden ist [194]. Der Energiebedarf der metabolischen Reaktionen in photosynthetisch aktiven Organismen kann sowohl durch photosynthetisches ATP als auch durch mitochondriales ATP gedeckt werden (vgl. Abschnitt 2.4), wobei es kaum möglich ist, die einzelnen Beiträge der beiden ATP-Quellen zu quantifizieren [152]. Dies liegt zum einen daran, dass ein ATP-Austausch zwischen den einzelnen Zellkompartimenten stattfinden kann [72], und zum anderen daran, dass manche Stoffwechselwege redundant sind und sowohl im Chloroplasten als auch in anderen Zellkompartimenten ablaufen können [113]. Neben der unsicherheitsbehafteten Bestimmung bzw. Schätzung der Energiekosten bei der Synthese neuer Biomasse besteht also eine zusätzliche Herausforderung darin, den Beitrag der jeweiligen ATP-Quelle (Photosynthese oder mitochondriale Respiration) korrekt zuzuordnen.

Ebenso schwer zu erfassen, ist die Rate des Erhaltungsstoffwechsels unter Lichteinfluss. Es ist unklar, ob die Mikroalgenzellen im Dunkeln eine andere Erhaltungsstoffwechselrate als unter Lichteinfluss aufweisen und wie diese möglicherweise unter verschiedenen Umgebungsbedingungen variiert [161,260]. Die Bestimmung der Erhaltungsstoffwechselrate unter Lichteinfall ist unter anderem deshalb so schwierig, weil diverse metabolische Reaktionen, die  $\text{O}_2$  und  $\text{CO}_2$  umsetzen, simultan ablaufen, sodass eine Zuordnung der einzelnen  $\text{O}_2$ - und  $\text{CO}_2$ -Flüsse kaum möglich ist [161,187,260]. Zur Vereinfachung des hier vorgestellten Modells (vgl. Abschnitt 4.3) wird zunächst angenommen, dass die Erhaltungsstoffwechselrate unabhängig von den hier untersuchten Lichtbedingungen konstant bleibt. Die BTM-spezifische Erhaltungsstoffwechselrate von  $1,4722 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (Mol verbrauchtes  $\text{O}_2$  pro Gramm BTM pro Sekunde) wurde von [162] für die Grünalge *C. reinhardtii* bestimmt und in dieser Arbeit auch für die Grünalge *C. vulgaris* angenommen. Trotz dieser vereinfachten Annahme sollte beachtet werden, dass deutliche, spezieabhängige Unterschiede bei der Erhaltungsstoffwechselrate vorliegen können [161,162,260]. Ebenso dürfte auch die Zellzusammensetzung (vgl. Abschnitt 2.3) eine entscheidende Rolle hierbei einnehmen, da bei der Synthese der diversen Zellkomponenten unterschiedlich viel ATP benötigt wird [129]. Da in Gleichung 4.25 die Chlorophyll-spezifische Erhaltungsstoffwechselrate ( $r_{mmt,Chl}$ ) einfließt, wurde die BTM-spezifische Stoffwechselrate von  $1,4722 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [162] mit dem molaren Chlorophyll-Gehalt im jeweiligen lichtabhängigen Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* verrechnet, um  $r_{mmt,Chl}$  (in Mol verbrauchtes  $\text{O}_2$  pro Mol Chlorophyll pro Sekunde) zu erhalten.

Wie aus Abbildung 4.21 hervorgeht, berücksichtigt das hier vorgestellte Modell (vgl. Abschnitt 4.3) zusätzlich das jeweils vorliegende Lichtprofil in einem Flachplatten-Photobioreaktor (vgl. Abschnitt 3.1.3) oder in der Messzelle zur Bestimmung der oxygenen Netto-Photosyntheserate (vgl. Abschnitt 3.3.5). Zur Bestimmung des jeweiligen Lichtprofils in der Photosyntheserate-Messzelle wurden, entsprechend dem in Abschnitt 3.4.1 beschriebenen Vorgehen, die experimentell bestimmten Pigmentgehalte (vgl. Tabelle 4.3),  $c_{BTM}$  (NL:  $0,44 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , ML:  $0,60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , HL:  $0,67 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) sowie die jeweiligen  $I_{PAR}^0$  (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) als Modellinputs verwendet (vgl. Abbildung 3.3). Die restlichen Annahmen und Modellparameter können aus den Ausführ-

rungen in Abschnitt 3.4.1 entnommen werden. Durch die Modellierung des Lichtprofils als Bestandteil des Gesamtmodells (vgl. Abbildung 4.21) konnte der mögliche Einfluss des Lichtgradienten auf die Form bzw. den Verlauf der lichtabhängigen Photosynthesekinetik [23,243] für jeden untersuchten Messzustand (vgl. Abschnitt 3.2.1) berücksichtigt werden.

Alle bisher erläuterten Modellparameter wurden für die drei lichtbedingten Akklimatisationszustände von *C. vulgaris* (NL, ML und HL) berechnet und sind in der Tabelle 4.7 aufgelistet. Die in dieser Übersicht aufgeführten, akklimatisationsabhängigen Modellparameter wurden im Vorfeld berechnet bzw. definiert und waren somit nicht Teil der im nachfolgenden Abschnitt 4.3.1.2 beschriebenen Modellanpassungsroutine.

Tabelle 4.7: Übersicht der berechneten bzw. definierten, akklimatisationsabhängigen Modellparameter.

Modellparameter	Parameterwert			Einheit
	NL-Zustand	ML-Zustand	HL-Zustand	
$\bar{I}_{PAR}$	42	233	1422	$\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
$w_{Chla}$	0,0355	0,0154	0,0060	$\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
$w_{Chlb}$	0,0121	0,0047	0,0012	$\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
$w_{Car}$	0,0060	0,0037	0,0021	$\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
$\phi_{RCII}$	0,7554	0,7300	0,6110	-
$n^{RCII}_{Chl}$	187	171	105	-
$n^{RCI}_{Chl}$	226	210	159	-
$n_{RCI,tot}/n_{RCII,tot}^1$	1,1	1,1	1,1	-
$\sigma_{Chl}$	$6,03 \cdot 10^{-21}$	$7,03 \cdot 10^{-21}$	$7,70 \cdot 10^{-21}$	$\text{m}^2$
$\sigma_{RCII}$	$1,13 \cdot 10^{-18}$	$1,20 \cdot 10^{-18}$	$8,07 \cdot 10^{-19}$	$\text{m}^2$
$n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$	8	8	8	-
$n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$	1,006	2,194	4,223	-
$\phi_{R,Chl}^2$	0,32	0,32	0,32	-
$r_{mnt,Chl}^3$	0,0028	0,0066	0,0181	$\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

<sup>1</sup>: Aus den Daten von [202] abgeleitet (vgl. Abschnitt 3.4.2).

<sup>2</sup>: Entsprechend den Daten aus [260] wurde angenommen, dass 32 % des photosynthetisch fixierten Kohlenstoffs für die Bereitstellung von ATP zur Synthese neuer Biomasse veratmet und als  $\text{CO}_2$  freigesetzt wird.

<sup>3</sup>: Umgerechnet aus der BTM-spezifischen Erhaltungsstoffwechselrate für *C. reinhardtii* von  $1,4722 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  [162] (unter Einbezug der entsprechenden molaren BTM-spezifischen Chlorophyll-Gehalte).

#### 4.3.1.2 Schätzung der kinetischen Modellparameter mithilfe nicht-akklimatisierter Photosynthesekinetiken

Im Anschluss an die Bestimmung der jeweiligen Lichtprofile und den akklimatisationspezifischen Parameter (vgl. Tabelle 4.7) konnten die beiden kinetischen Modellparameter  $k_{RCII,lim}$  und  $k_{RuBisCO}$  (vgl. Abschnitt 4.3) mithilfe der LS-Schätzmethode ermittelt werden. Hierfür wurde eine eigene Regressionsroutine in MATLAB® (Version 2021b, The MathWorks Inc., Natick, USA) erstellt. Das zu minimierende Gütefunktional ( $J_P$ ) mit der Summe der Fehlerquadrate und den jeweiligen Gewichtungsfaktoren ( $g_{m,n}$ ) wurde hierbei wie folgt definiert:

$$\min_{k_i} J_P = \sum_m \sum_n g_{m,n} \cdot (\bar{r}_{P,Netto,Chl,m,n}^* - \bar{r}_{P,Netto,Chl,m,n})^2 \quad (4.27)$$

Basierend auf Voruntersuchungen wurde in dem hier untersuchten Fall vereinfachend  $g_{m,n} = 1$  definiert. Bei sehr großen Unterschieden zwischen den einzelnen Werten der Photosyntheseraten ist es jedoch sinnvoll, entsprechende Gewichtungsfaktoren zu definieren, da es bei der Modellanpassung andernfalls zu einer Übergewichtung der hohen Photosyntheseraten kommt. Das Ergebnis einer solchen Übergewichtung wäre, dass die geringen Photosyntheseraten scheinbar schlechter durch das Modell wiedergegeben werden als hohe Photosyntheseraten.

Die kinetischen Modellparameter  $k_i$  (mit  $i = RCII,lim$  bzw.  $RuBisCO$ ) wurden so variiert, dass die Gesamtsumme der quadratischen Differenzen zwischen den gemessenen  $\bar{F}_{P,Netto,Chl,m,n}^*$  und den simulierten  $\bar{F}_{P,Netto,Chl,m,n}$  im jeweiligen lichtabhängigen Akklimatisationszustand  $m$  (mit  $m = NL, ML$  bzw.  $HL$ ) und der jeweiligen  $I_{PAR}^0$ - bzw.  $I_{PAR}$ -Einstellung  $n$  (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) minimiert wurde (vgl. Gleichung 4.27). Da nicht pauschal ausgeschlossen werden konnte, dass die definierte Zielfunktion mehrere lokale Minima aufweist, wurde ein globaler Solver zur Lösung des aufgestellten Optimierungsproblems eingesetzt. Zur Bestimmung des globalen Minimums wurde die MATLAB®-interne Routine *GlobalSearch* verwendet [329], die als *scatter search* Methode mehrere Startpunkte für den lokalen Solver festlegt. Hierbei wurde *fmincon* in Verbindungen mit dem *interior-point* Algorithmus als lokaler Solver eingesetzt. Die gewählte *fmincon*-Routine ermöglicht die Bestimmung des Minimums einer nicht-linearen Zielfunktion innerhalb festgelegter Parametergrenzen. Basierend auf den in den Abschnitten 2.2.2 und 2.2.3 vorgestellten Daten wurden folgende Parametergrenzen definiert:  $450 \text{ s}^{-1} \leq k_{RCII,lim} \leq 2650 \text{ s}^{-1}$  und  $35 \text{ s}^{-1} \leq k_{RuBisCO} \leq 505 \text{ s}^{-1}$ . Als Startwerte wurden  $k_{RCII,lim} = 1250 \text{ s}^{-1}$  sowie  $k_{RuBisCO} = 100 \text{ s}^{-1}$  definiert. Zur Lösung des PSU-Gleichungssystems (vgl. Gleichungen 4.18-4.21) wurde *fsolve* eingesetzt. Bei allen weiteren, nicht explizit genannten Einstellungen der genannten MATLAB®-Routinen wurden die voreingestellten Standardwerte genutzt. Das MATLAB®-Skript zur Schätzung der Modellparameter ist im Anhang A.8 hinterlegt.

Als Referenz wurde das PSU-Modell nach Han [27] (vgl. Abschnitt 2.6.3) sowohl mit Photoinhibierung als auch ohne Photoinhibierung herangezogen. Da im Originaltext [27] der limitierenden Umsatzzeit ( $\tau_{Han}$  bzw.  $\tau_{Han,inh}$ ) kein eindeutiges Photoakklimatisationsverhalten unterstellt wurde, wurden beide Modelle jeweils einzeln an jede der drei schnellen PI-Kurven (vgl. Abschnitt 3.2.1) angepasst. Dementsprechend weist jeder lichtbedingte Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* (NL, ML und HL) andere Werte von  $\tau_{Han}$  und  $\tau_{Han,inh}$  auf. Die Photoakklimatisation des Produktes  $\phi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$ , das im Han-Modell dem Parameter  $\sigma_{PSII}$  entspricht [27], die Photoakklimatisation der PSU-Größe ( $n^{RCII}_{Chl} + 1,1 \cdot n^{RCI}_{Chl}$ ) und die Photoakklimatisation der Zellrespiration (vgl. Gleichung 4.24) wurden analog zum hier vorgestellten Modell (vgl. Abschnitt 4.3) implementiert (vgl. Tabelle 4.7). Weiterhin wurde auch im Falle der beiden PSU-Modellansätze nach Han [27] das jeweilige Lichtprofil berücksichtigt (analog zum in Abbildung 4.21 dargestellten Vorgehen), sodass auch hierbei stets die Rate  $\bar{F}_{P,Netto,Chl}$  bestimmt werden konnte. Zur Schätzung der Parameter der beiden Han-Modelle [27] wurde, wie auch im Falle des in dieser Arbeit entwickelten Modells (vgl. Abschnitt 4.3), auf die zuvor vorgestellten MATLAB®-Routinen zurückgegriffen. Die Ergebnisse aller hier genannten Anpassungsroutinen sind in der Abbildung 4.24 dargestellt. Die anhand der in MATLAB® erstellten Regressionsroutinen ermittelten Modellparameter sind in Tabelle 4.8 aufgelistet. Zudem sind in Tabelle 4.9 die statistischen Kennzahlen zur Beurteilung bzw. Quantifizierung der jeweiligen Anpassungsgüte der drei untersuchten Modelle hinterlegt.

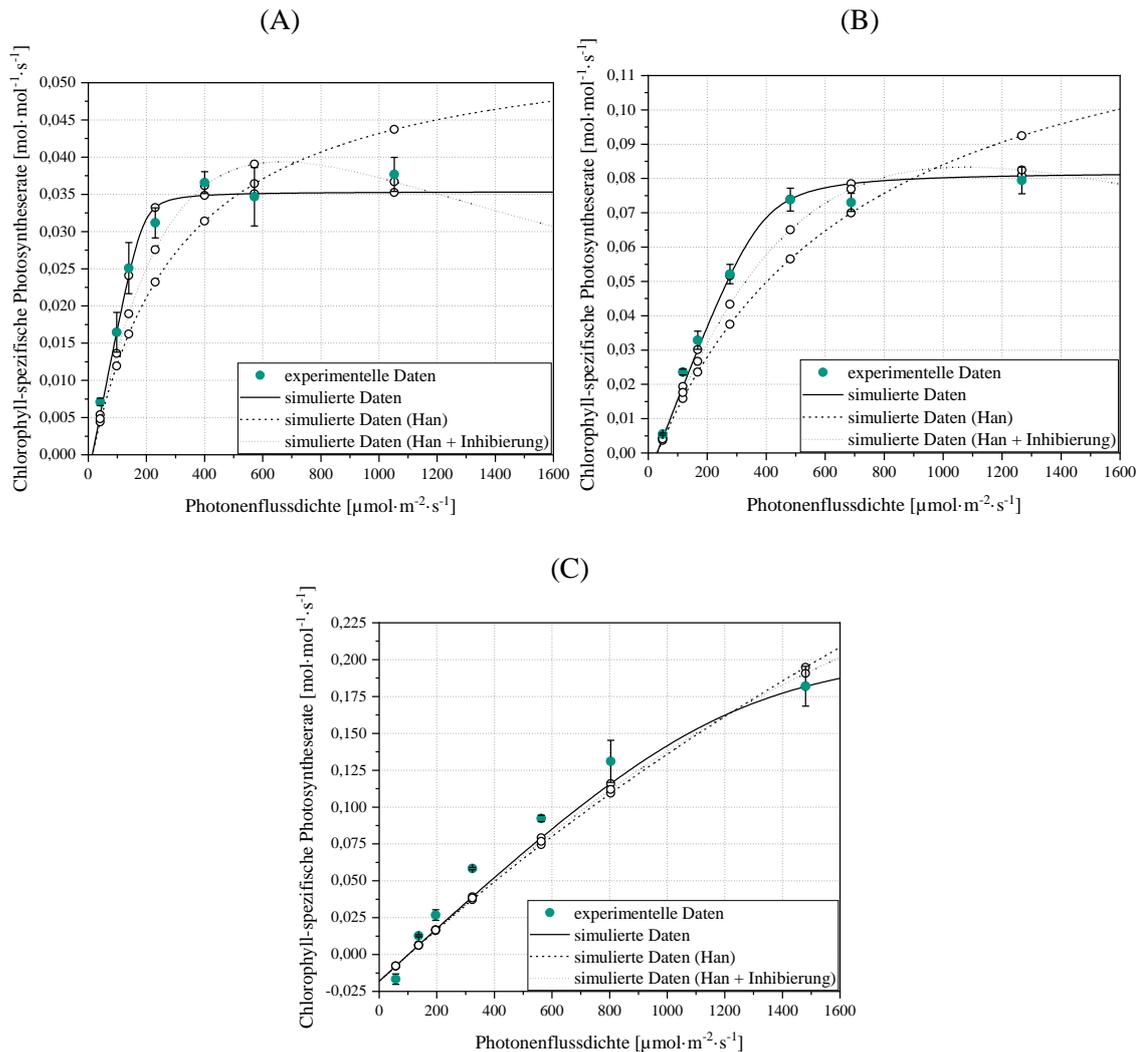


Abbildung 4.24: Gemessene und simulierte nicht-aklimatisierte bzw. schnelle PI-Kurven der NL-, ML- bzw. HL-aklimatisierten *C. vulgaris* Zellen. (A) PI-Kurven der NL-aklimatisierten Zellen. (B) PI-Kurven der ML-aklimatisierten Zellen. (C) PI-Kurven der HL-aklimatisierten Zellen. Die Kreise auf den simulierten PI-Kurven markieren die experimentellen  $\bar{I}_{PAR}$ . Um einen kontinuierlichen Verlauf der simulierten Photosyntheseraten zu erhalten und einen  $\bar{I}_{PAR}$ -Bereich von 0-1600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  abzudecken, wurden zusätzlich zu den experimentellen  $\bar{I}_{PAR}$ - bzw.  $\bar{I}_{PAR}$ -Messpunkten weitere Punkte simuliert.

Die anhand der drei nicht-aklimatisierten bzw. schnellen PI-Kurven (vgl. Abbildung 4.24) geschätzten, kinetischen Modellparameterwerte  $k_{RCII,lim}$  und  $k_{RuBisCO}$  (vgl. Tabelle 4.8) gelten für alle untersuchten PPFD-abhängigen Akklimationszustände von *C. vulgaris* (NL, ML und HL). Die effektive limitierende Geschwindigkeitskonstante am RCII ( $k_{RCII,lim}$ ) beträgt  $774,19\text{ s}^{-1}$ , was einer Zeitkonstanten von etwa 1,29 ms pro Elektrontransfer entspricht. Damit liegt diese Zeitkonstante eher im Bereich der Zeitkonstanten der Elektronenübertragung von  $Q_A$  auf  $Q_B$  [102] und nicht im Bereich der Zeitkonstanten des OEC [68], beide Vorgänge wurden bereits im Abschnitt 2.2.2 erläutert. Hierbei sollte beachtet werden, dass sowohl der Elektronentransfer von  $Q_A$  auf  $Q_B$  als auch der OEC jeweils mehrstufige Prozesse sind, wobei jede Reaktionsstufe bzw. jeder Prozessschritt eine eigene Geschwindigkeitskonstante aufweist [58,68,102]. Deshalb

repräsentiert der Modellparameter  $k_{RCII,lim}$  lediglich die effektive bzw. durchschnittliche Geschwindigkeitskonstante der Elektronenübertragung von  $Q_A$  auf  $Q_B$ , in die nicht nur die reine Elektronenübertragungszeit von  $Q_A$  auf  $Q_B$  einfließt, sondern auch die Zeit, die benötigt wird, um ein  $Q_B$  in der entsprechenden RCII-Bindetasche zu binden [102]. Insgesamt lässt sich aus diesem Ergebnis ableiten, dass beim Elektronentransport am RCII wahrscheinlich die Elektronenübertragung auf den terminalen Elektronenakzeptor  $Q_B$  den limitierenden Reaktionsschritt darstellt, was in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von [102,103] steht. Bei einer OEC-seitigen Limitierung wären  $k_{RCII,lim}$ -Werte im Bereich von 1820-3333  $s^{-1}$  [68] zu erwarten, die jedoch deutlich über dem ermittelten Wert von 774,19  $s^{-1}$  liegen.

Tabelle 4.8: Anhand der nicht-akklimatisierten bzw. schnellen PI-Kurven geschätzte Modellparameter des im Rahmen dieser Arbeit vorgestellten Modells sowie des PSU-Modells nach Han [27] (mit und ohne Photoinhibierung). Die geschätzten kinetischen Parameter des in dieser Arbeit entwickelten Modells gelten für alle drei Akklimatisationszustände (NL, ML und HL). Gleiches gilt für den Parameter  $K_{Han,inh}$ .

Modell	Modellparameter	Parameterwerte		
		NL-Zustand	ML-Zustand	HL-Zustand
diese Arbeit <sup>1</sup>	$k_{RCII,lim}$		774,19 $s^{-1}$	
	$k_{RuBisCO}$		98,76 $s^{-1}$	
Han-Modell ohne Inhibierung <sup>2</sup>	$\tau_{Han}$	6,5 ms	2,8 ms	0,6 ms
Han-Modell mit Inhibierung <sup>2</sup>	$\tau_{Han,inh}$	3,4 ms	1,2 ms	0,3 ms
	$K_{Han,inh}$		2,6 ms	

<sup>1</sup>: Die detaillierte Modellstruktur ist in Abschnitt 4.3 zu finden.

<sup>2</sup>: Die Modellstruktur kann der Originalquelle [27] entnommen werden. Die verwendeten Modellgleichungen sind zudem in Abschnitt 2.6.3 zu finden.

Für die zweite Geschwindigkeitskonstante des Modells  $k_{RuBisCO}$  (vgl. Abschnitt 4.3), die stellvertretend für die Geschwindigkeitskonstante der Elektronenprozessierung in der von RuBisCO katalysierten Carboxylierungsreaktion steht, wurde ein Wert von 98,76  $s^{-1}$  ermittelt (vgl. Tabelle 4.8). Dies entspricht einer Zeitkonstanten von etwa 10,13 ms pro prozessiertes Elektron. Damit stimmt diese Zeitkonstante gut mit der in der Literatur häufig beobachteten bzw. verwendeten Zeitkonstanten von 10,4 ms (bzw. 41,7 ms pro fixiertes  $CO_2$ ) überein, wobei diese Zeitkonstante nur unter der Annahme gilt, dass alle katalytischen RuBisCO-Untereinheiten simultan aktiv sein können [117]. Die hieraus resultierenden, maximalen RCII- bzw. PSU-spezifischen Umsatzzeiten  $(k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot})^{-1}$ , die vergleichbar mit  $\tau$  in [28,29,105,180,199,212] sind, bewegen sich zwischen 10,1 ms im NL-Zustand und 2,4 ms im HL-Zustand (vgl. Tabelle 4.7 sowie Tabelle 4.8). Damit stimmen sie gut mit den für diverse Mikroalgenstämme experimentell erfassten Literaturwerten von  $\tau$  überein, die im Bereich von 2-19 ms liegen [105,180,199,212]. Insgesamt scheinen die getroffenen Modellannahmen (vgl. Abschnitte 3.4.1, 3.4.2, 4.3 und 4.3.1.1) zu sinnvollen und mit der Literatur übereinstimmenden Ergebnissen zu führen.

Beim Han-Modell ohne Photoinhibierung [27] konnten für  $\tau_{Han}$  Werte von jeweils 6,5 (NL), 2,8 (ML) und 0,58 ms (HL) durch die Modellanpassung an die jeweiligen experimentellen Daten (vgl. Abbildung 4.24) ermittelt werden (vgl. Tabelle 4.8). Damit liegen diese Werte überwiegend im Rahmen der Literaturwerte [105,180,199,212] für die maximale RCII-spezifische

Umsatzrate von RuBisCO, wobei jedoch  $\tau_{Han}$  im HL-Zustand vergleichsweise gering ausfällt. Hierbei wird das in Abschnitt 2.6.3 angesprochene Definitionsproblem des Han-Modells [27] deutlich. In der originalen Literaturquelle [27] wird  $\tau_{Han}$  als die Umsatzzeit des limitierenden Schrittes innerhalb der photosynthetischen ETK zwischen OEC und dem terminalen Elektronenakzeptor des RCII definiert. Demnach müsste  $\tau_{Han}^{-1}$  der Geschwindigkeitskonstanten  $k_{RCII,lim}$  des hier vorgestellten Modells (vgl. Abschnitt 4.3) entsprechen. Gleichzeitig wird in [27] definiert, dass  $\tau_{Han}$  im lichtgesättigten Zustand durch die Kapazität des Calvin-Zyklus limitiert wird. In der vorangehenden Literaturquelle [26] wurde  $\tau_{Han}$  ein Wert von 3 ms zugeordnet, was eher der RCII-spezifischen Umsatzzeit von RuBisCO entspricht [105,180,199,212]. Bedingt durch die Definition von  $\tau_{Han}$  in der Originalquelle [26,27] ist eine eindeutige Zuordnung von  $\tau_{Han}$  zu  $k_{RCII,lim}^{-1}$  oder  $(k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot})^{-1}$  kaum möglich. Insgesamt führen die Definition von  $\tau_{Han}$  und die Modellstruktur zum in Abschnitt 2.6.3 vermuteten Verhalten, dass das Han-Modell ohne Photoinhibierung [27] den lichtlimitierten Bereich der PI-Kurve tendenziell unterschätzt, weil die tatsächliche dominante Umsatzzeit in diesem Bereich geringer ausfällt als  $\tau_{Han}$ , während im lichtgesättigten Bereich der PI-Kurve das Gegenteil der Fall ist (vgl. Abbildung 4.24). Durch die zusätzliche Berücksichtigung der Photoinhibierung im Han-Modell [27] fallen die  $\tau_{Han,inh}$ -Werte etwas geringer als die analogen  $\tau_{Han}$ -Werte aus (vgl. Tabelle 4.8). Im NL-Zustand beträgt  $\tau_{Han,inh}$  3,4 ms, während die  $\tau_{Han,inh}$ -Werte im ML- und HL-Zustand auf jeweils 1,2 und 0,3 ms absinken. Die letzten beiden Werte fallen insgesamt sehr niedrig aus und erscheinen beim Vergleich mit experimentellen Literaturdaten [105,180,199,212] wenig plausibel. Der hier ermittelte  $K_{Han,inh}$ -Wert von 2,6 ms (vgl. Tabelle 4.8) fällt ebenfalls wesentlich geringer als bspw. der in [28,29] für *Nannochloropsis gaditana* bestimmte  $K_{Han,inh}$ -Wert von etwa 19,5 ms aus. Interessanterweise ist bei den modellierten schnellen PI-Kurven in [29] keine progressive Photoinhibierung zu erkennen, obwohl laut der Modelldefinition in [27] ein größeres  $K_{Han,inh}$  prinzipiell eine stärkere Ausprägung der Photoinhibierung bedeuten sollte (vgl. Gleichung 2.18). Da das PSU-Modell nach Han [27] in [28,29] erweitert wurde und damit nur teilweise mit dem ursprünglichen Modell übereinstimmt, kann die hier festgestellte Diskrepanz zwischen den  $K_{Han,inh}$ -Werten und ihrer Auswirkung auf die Form der schnellen PI-Kurven nicht eindeutig aufgeklärt werden.

Tabelle 4.9: Statistische Parameter zur Quantifizierung der Anpassungsgüte der drei untersuchten Photosynthesemodelle. Die vorteilhaftesten statistischen Parameterwerte sind jeweils fett markiert.

Modell	Zustand	statistischer Parameter				
		R <sup>2</sup>	nRMSE	nMBE	AIC <sub>c</sub>	w <sub>i,AICc</sub>
diese Arbeit <sup>1</sup>	NL	<b>0,9783</b>	<b>5,82 %</b>	<b>-2,35 %</b>	<b>-76,41</b>	<b>0,9927</b>
	ML	<b>0,9881</b>	<b>5,95 %</b>	<b>-0,51 %</b>	<b>-67,83</b>	<b>0,9913</b>
	HL	<b>0,9668</b>	<b>17,04 %</b>	-11,27 %	-48,10	0,1439
Han-Modell ohne Inhibierung <sup>2</sup>	NL	0,7028	21,52 %	-11,34 %	-65,10	0,0035
	ML	0,8290	22,57 %	-12,00 %	-56,17	0,0029
	HL	0,9448	21,98 %	-11,57 %	<b>-51,54</b>	<b>0,8031</b>
Han-Modell mit Inhibierung <sup>2</sup>	NL	0,8934	12,89 %	-6,31 %	-65,27	0,0038
	ML	0,9483	12,41 %	-7,13 %	-57,55	0,0058
	HL	0,9558	19,65 %	<b>-11,04 %</b>	-46,11	0,0530

<sup>1</sup>: Die detaillierte Modellstruktur ist in Abschnitt 4.3 zu finden.

<sup>2</sup>: Die Modellstruktur kann der Originalquelle [27] entnommen werden. Die verwendeten Modellgleichungen sind zudem in Abschnitt 2.6.3 hinterlegt.

Bereits in Abbildung 4.24 ist deutlich zu erkennen, dass das im Rahmen dieser Arbeit erstellte Modell (vgl. Abschnitt 4.3) die experimentellen Daten, nahezu unabhängig vom lichtbedingten Akklimatisationszustand von *C. vulgaris*, am besten beschreiben kann. Dies wird durch die statistischen Kennzahlen in Tabelle 4.9 bestätigt. Die  $R^2$  des hier entwickelten Modells weisen unabhängig vom Akklimatisationszustand Werte von über 0,95 auf, was auf eine gute Anpassungsgüte des Modells hindeutet. Zudem sind die  $R^2$ -Werte des in Abschnitt 4.3 vorgestellten Modells durchweg besser als die entsprechenden Werte der beiden PSU-Modelle nach Han [27]. Die nRMSE-Werte liegen zwischen 5,82 und 17,04 %, wobei die nRMSE-Werte der Zustände NL und ML mit jeweils 5,82 und 5,95 % zufriedenstellend gering ausfallen. Im Gegensatz dazu ist der nRMSE-Wert beim HL-Zustand mit 17,04 % ziemlich hoch und damit nicht zufriedenstellend. Nichtsdestotrotz sind diese nRMSE-Werte durchweg besser als die entsprechenden Werte der Han-Modelle [27]. Die nMBE-Werte zeigen, dass die simulierten Photosyntheseraten die experimentellen Photosyntheseraten tendenziell unterschätzen, wobei dies jedoch bei allen herangezogenen Modellen zu beobachten ist. Bei den Zuständen NL und ML fallen die nMBE-Werte des eigenen Modells mit jeweils -2,35 und -0,51 % deutlich niedriger als die nMBE-Werte der beiden Han-Modelle [27] aus. Beim HL-Zustand weist jedoch das Han-Modell mit Photoinhibierung knapp den besten bzw. niedrigsten nMBE-Wert von -11,04 % auf, auch wenn bei diesem Akklimatisationszustand alle nMBE-Werte unvorteilhaft ausfallen. Sowohl die nRMSE- als auch die nMBE-Werte deuten insgesamt darauf hin, dass keines der hier vorgestellten Modelle den HL-Zustand von *C. vulgaris* in einem zufriedenstellenden Maße beschreiben kann. Eine unmittelbare Ursache für diesen Sachverhalt kann an dieser Stelle nicht ermittelt werden. Es könnte jedoch ein Hinweis darauf sein, dass im HL-Zustand von *C. vulgaris* möglicherweise Prozesse stattfinden, die im Rahmen des Modells (vgl. Abschnitt 4.3) nicht berücksichtigt werden und in den Zuständen NL und ML nicht auftreten. Ausgehend von den Erläuterungen bezüglich der Photoakklimatisation in Abschnitt 2.5.3 bleibt jedoch unklar, um welche Vorgänge es sich in diesem Fall handeln könnte. Gewisse experimentelle Ungenauigkeiten bei der Ermittlung der Pigmentgehalte (vgl. Abschnitte 3.3.2) und der Photosyntheseraten (vgl. Abschnitt 3.3.5.2) können als Ursache ebenfalls nicht ausgeschlossen werden. Es besteht zudem die Möglichkeit, dass die beiden genannten Punkte gleichzeitig zu den in Abbildung 4.24.C beobachteten Abweichungen zwischen den experimentellen und simulierten Werten beitragen.

Der bisherige Eindruck wird zusätzlich durch die  $AIC_c$ - und  $w_{i,AIC_c}$ -Werte in Tabelle 4.9 bestätigt. Anhand der  $w_{i,AIC_c}$ -Werte (vgl. Abschnitt 3.4.3) kann ausgesagt werden, dass das in dieser Arbeit erstellte Modell (vgl. Abschnitt 4.3) mit einer Wahrscheinlichkeit von etwa 99 % das Beste der untersuchten Modelle ist, um die PPF-abhängige Photosynthesekinetik der NL- bzw. ML-akklimatisierten *C. vulgaris* Zellen zu beschreiben. Beim HL-Zustand scheint das Han-Modell ohne Photoinhibierung [27] mit einer ca. 80%igen Wahrscheinlichkeit das beste Modell zu sein. Beim Vergleich der restlichen statistischen Parameter der drei Photosynthesemodelle (vgl. Tabelle 4.9) fällt auf, dass das Han-Modell ohne Photoinhibierung [27] durchweg schlechtere  $R^2$ -, nRMSE- und nMBE-Werte als die anderen Modelle aufweist. Der bessere  $AIC_c$ -Wert und der daraus resultierende, bessere  $w_{i,AIC_c}$ -Wert im HL-Zustand, ergibt sich wahrscheinlich aus der Tatsache, dass das Han-Modell ohne Photoinhibierung [27] lediglich einen Anpassungsparameter aufweist ( $\tau_{Han}$ ), während das hier erstellte Modell zwei Anpassungsparameter ( $k_{RCII,lim}$  und  $k_{RuBisCO}$ ) enthält, ebenso wie das Han-Modell mit Photoinhibierung [27] ( $\tau_{Han,inh}$  und  $K_{Han,inh}$ ). Da beim  $AIC_c$  zusätzlich zur Anpassungsgüte auch die Parameteranzahl durch einen

Strafterm berücksichtigt wird [314–316], während die restlichen Kennzahlen ausschließlich die Anpassungsgüte bewerten (vgl. Abschnitt 3.4.3), erscheint das Ergebnis in Tabelle 4.9 für den HL-Zustand nachvollziehbar, insbesondere unter der Berücksichtigung, dass alle drei Modelle eine ähnlich schlechte Anpassungsgüte bei diesem Akklimatisationszustand aufweisen.

Die bisher dargestellten und diskutierten Ergebnisse zeigen deutlich, dass die stationäre Photosynthesekinetik nicht durch eine einfache Sättigungskinetik, wie sie im Falle des Han-Modells ohne Photoinhibierung [27] vorliegt, beschrieben werden kann. Bei der Betrachtung der Abbildung 4.24 und der kinetischen Modellparameter in Tabelle 4.8 wird ersichtlich, dass die ermittelten  $\tau_{Han}$ -Werte zwischen den realistischen Zeitkonstanten des Elektronentransportes am RCII [58,68,102] ( $k_{RCII,lim}^{-1}$ ) sowie den realistischen Umsatzzeiten von RuBisCO [105,180,199,212] ( $(k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot})^{-1}$ ) liegen, was dazu führt, dass der lichtlimitierte Bereich der jeweiligen PI-Kurve unterschätzt und die maximale Photosyntheserate im lichtgesättigten Bereich deutlich überschätzt wird. Dies ist insbesondere bei den beiden Zuständen NL und ML erkennbar (siehe Abbildung 4.24). Es zeigt sich also, dass die stationäre Photosynthesekinetik von *C. vulgaris* durch die Aufteilung der PSU in zwei Teilreaktionen (vgl. Abbildung 4.20), deren Dominanz jeweils je nach Ausprägung der Lichtlimitierung bzw. -sättigung variiert, besser beschrieben werden kann (vgl. Abbildung 4.24). Die Lichtabsorptionskinetik am LHCII-RCII-Komplex definiert dabei hauptsächlich den lichtlimitierten Bereich, während die Reaktionskinetik von RuBisCO die maximale Photosyntheserate und damit den lichtgesättigten Bereich bestimmt. Die Ergebnisse aus Abschnitt 4.2 haben jedoch gezeigt, dass, anders als in [23] angenommen, die beiden Teilbereiche der PSU nicht entkoppelt voneinander betrachtet werden können. Weiterhin hat sich gezeigt, dass die progressive Photoinhibierung im Rahmen der Modellierung der schnellen bzw. nicht-akklimatisierten PI-Kurven tatsächlich vereinfacht vernachlässigt (vgl. Abschnitt 4.3) werden kann und deren Berücksichtigung, wie im Falle des Han-Modells mit Photoinhibierung [27], nicht zu besseren Ergebnissen führt (vgl. Abbildung 4.24). Die starke Ausprägung der Photoinhibierung im Verlauf des entsprechenden Han-Modells [27] in Abbildung 4.24 ist womöglich darauf zurückzuführen, dass jeweils nur drei experimentelle Datenpunkte im lichtgesättigten Bereich vorliegen und der lichtlimitierte Bereich der Kurven eher linear verläuft, anders als bspw. in [29]. Um den annähernd linearen Bereich gut beschreiben zu können, werden vom Solver sehr niedrige  $\tau_{Han,inh}$ -Werte gewählt (vgl. Tabelle 4.8), die jedoch zu hohen maximalen Photosyntheseraten führen. Um den lichtgesättigten Bereich trotzdem gut beschreiben zu können, wird durch die Wahl eines relativ hohen  $K_{Han,inh}$ -Wertes eine entsprechend starke Ausprägung der Photoinhibierung vom Solver erzwungen. Dies führt zwar dazu, dass die drei Datenpunkte im jeweiligen Lichtsättigungsbereich der Zustände NL und ML punktuell gut „getroffen“ werden, ohne jedoch die tatsächliche Tendenz der experimentellen Daten korrekt widerzugeben (vgl. Abbildung 4.24).

Nichtsdestotrotz existieren auch Literaturdaten (bspw. in [29]), die deutlich besser durch das Han-Modell [27] beschrieben werden als die in Abbildung 4.24 aufgeführten PI-Kurven. Die schnellen PI-Kurven in [29] entsprechen eher dem typischen Sättigungsverlauf, der bspw. auch bei einer Wachstumskinetik nach Monod [235] beobachtet wird. Ausgehend von [23,243] wird jedoch argumentiert, dass ein solches Sättigungsverhalten nicht zwangsläufig eine physiologische Ursache aufweisen muss und teilweise durch die Lichtbedingungen im jeweiligen Apparat hervorgerufen werden kann, insbesondere wenn ein großer Lichtgradient vorliegt. Durch die

entsprechenden Anpassungen des experimentellen Aufbaus (vgl. Abschnitte 3.1.3 und 3.3.5) konnte ein starker Lichtgradient im Rahmen der in dieser Arbeit durchgeführten Experimente vermieden werden. Es wird daher vermutet, dass dies eine der Ursachen für die unterschiedlichen Verläufe der lichtabhängigen Photosynthesekinetiken in Abbildung 4.24 und in [29] sein könnte. Aus diesem Grund wird der Einfluss des Lichtprofils auf den Verlauf der lichtabhängigen Photosynthesekinetik in Abschnitt 4.3.2 umfassend untersucht. Zusätzlich wird in Abschnitt 4.3.3 der Einfluss der einzelnen Modellparameter (vgl. Abschnitt 4.3) auf die Form der stationären, PPF-D-bedingten Photosynthesekinetik analysiert.

#### 4.3.1.3 Untersuchung des licht- und akklimatisationsbedingten Einflusses auf die Anteile der PSU-Komponenten

Im vorherigen Abschnitt 4.3.1.2 wurden lichtabhängige stationäre Photosynthesekinetiken bei unterschiedlichen Akklimatisationszuständen von *C. vulgaris* vorgestellt. Wie aus den Modellgleichungen in Abschnitt 4.3 ersichtlich wird, muss für die Bestimmung der jeweiligen Rate  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$  unter anderem das PSU-Gleichungssystem gelöst werden (Gleichungen 4.18-4.21). Die Lösung dieses Gleichungssystems liefert gleichzeitig die PPF-D-abhängigen Verläufe der jeweiligen PSU-Komponentenanteile ( $x_{RCII,gs}$ ,  $x_{RCII,es}$ ,  $x_{PQ,gs}$  und  $x_{PQ,es}$ ), die im Nachfolgenden ebenfalls dargestellt und diskutiert werden. Zusätzlich wird das Verhalten der PPF-D- und akklimatisationsabhängigen Rate  $r_{PSU,diss,tot}$  (siehe Gleichung 4.22) untersucht. Entsprechend dem Modellaufbau in Abbildung 4.21 und analog zu den Raten  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$  in Abbildung 4.24 werden stets die über die Messzellentiefe (vgl. Abschnitt 3.3.5) gemittelten Werte der jeweiligen PSU-Komponenten sowie der Rate  $r_{PSU,diss,tot}$  in der nachfolgenden Abbildung 4.25 dargestellt.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse in Abbildung 4.25 kann zunächst festgehalten werden, dass sich das gesamte PSU-Modell den Erwartungen entsprechend verhält. Mit steigender PPF-D sinken die Anteile der PSU-Komponenten im Grundzustand ( $x_{RCII,gs}$  und  $x_{PQ,gs}$ ), während es zu einem Anstieg der PSU-Komponenten im angeregten Zustand ( $x_{RCII,es}$  und  $x_{PQ,es}$ ) kommt. Es kann beobachtet werden, dass  $x_{RCII,gs}$  nur geringfügig mit steigender PPF-D abnimmt, solange keine deutliche Akkumulation von  $x_{PQ,es}$  vorliegt. Dies wird insbesondere bei den Zuständen NL und ML deutlich. Im NL-Akklimatisationszustand (vgl. Abbildung 4.25.A) bewegt sich  $x_{RCII,gs}$  bis etwa  $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  stets über einem Wert von 0,95. In diesem PPF-D-Bereich ist ein nahezu linearer Anstieg von  $x_{PQ,es}$  und eine damit einhergehende Abnahme von  $x_{PQ,gs}$  zu sehen. Die Abnahme von  $x_{PQ,gs}$  und die Zunahme von  $x_{PQ,es}$  treten, gemäß der Modelldefinition in Abschnitt 4.3, dann ein, wenn mehr Elektronen vom LHCII-RCII-Komplex in die photosynthetische ETK eingespeist als in der nachgeschalteten  $\text{CO}_2$ -Fixierung verarbeitet werden. Durch die vermehrte Akkumulation von  $x_{PQ,es}$  können die angeregten LHCII-RCII-Komplexe nur noch eingeschränkt ihre Elektronen auf die PQ-Moleküle übertragen (vgl. Abschnitt 2.2.2) und es kommt zu einer Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  sowie einer simultanen Abnahme von  $x_{RCII,gs}$ . Ab einer PPF-D von ca.  $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  sind keine wesentlichen Veränderungen in den Verläufen von  $x_{PQ,es}$  und  $x_{PQ,gs}$  zu verzeichnen (vgl. Abbildung 4.25.A). Im Vergleich dazu sinkt  $x_{RCII,gs}$  mit steigender PPF-D weiterhin deutlich, während zeitgleich eine Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  stattfindet. Ein ähnliches Bild ergibt sich für den ML-Zustand in Abbildung 4.25.B, bei dem jedoch die Sättigungspunkte im Vergleich zum NL-Zustand in Richtung höherer PPF-Ds verschoben sind. Beim HL-Zustand in Abbildung 4.25.C werden hingegen keine eindeutigen Sättigungserscheinungen bei den jeweiligen PSU-Komponenten beobachtet.

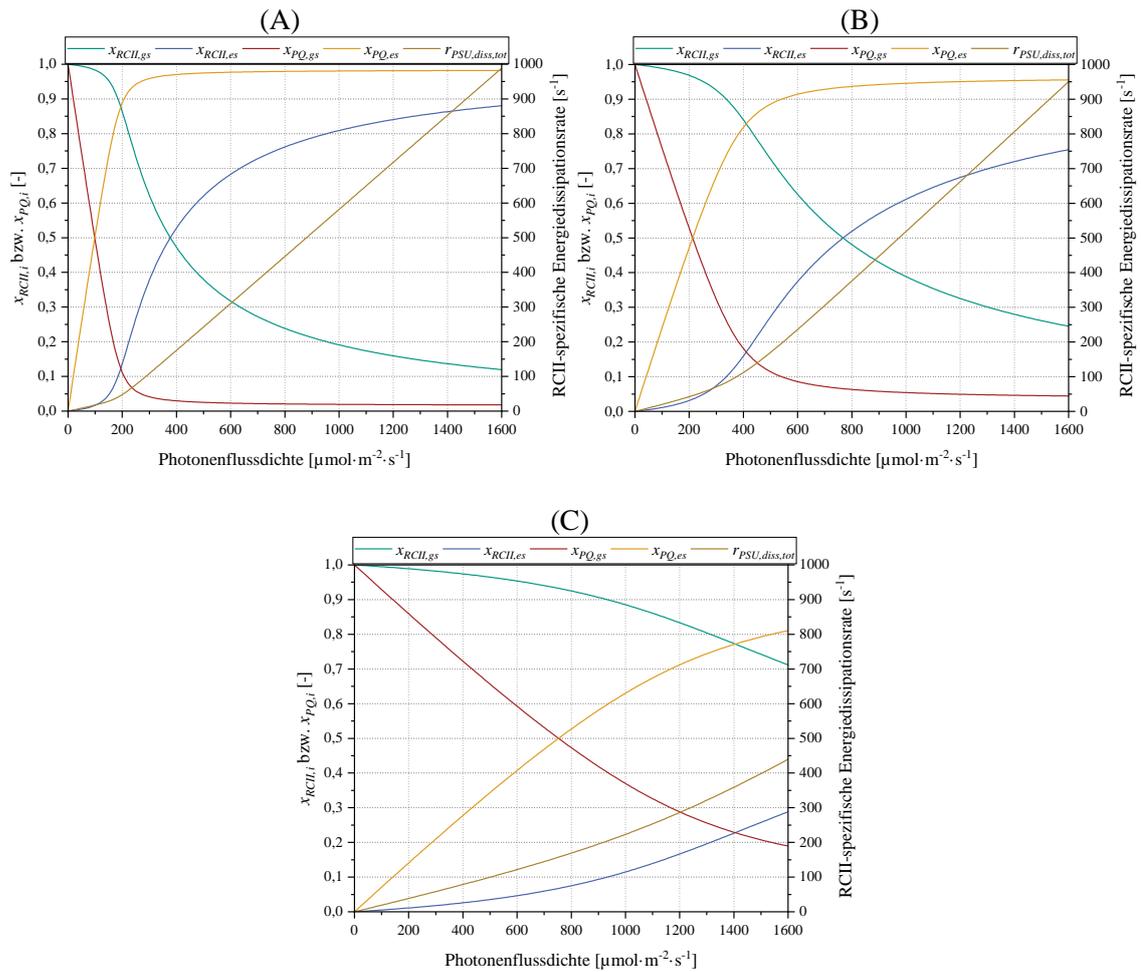


Abbildung 4.25: PPFD-bedingte Variation der PSU-Komponentenanteile  $x_{RCII,gs}$ ,  $x_{RCII,es}$ ,  $x_{PQ,gs}$  und  $x_{PQ,es}$  sowie der Rate  $r_{PSU,diss,tot}$  bei unterschiedlichen, lichtbedingten Akklimationszuständen von *C. vulgaris*. (A) NL-Akklimationszustand. (B) ML-Akklimationszustand. (C) HL-Akklimationszustand. Bei der Bestimmung der abgebildeten Verläufe wurde stets das jeweilige Lichtprofil berücksichtigt (vgl. Abbildung 4.21). Gleiches gilt für die RCII- bzw. PSU-spezifische Energiedissipationsrate  $r_{PSU,diss,tot}$ . Die bei den Berechnungen verwendeten Modellparameter können jeweils Tabelle 4.7 und Tabelle 4.8 entnommen werden.

Wie bereits in Abschnitt 4.1.2.5 diskutiert, geht eine Akkumulation von angeregten LHCII-RCII-Komplexen mit höheren Energieverlusten und geringeren Effizienzen einher. Dies ist auch hier der Fall. Wie in Abbildung 4.25 gut zu erkennen ist, steigt in allen Fällen die Rate  $r_{PSU,diss,tot}$  mit der Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  an. Anhand der Akklimationszustände NL und ML können dabei drei charakteristische Bereiche im Verlauf von  $r_{PSU,diss,tot}$  beobachtet werden. Vor der Auslastung der  $\text{CO}_2$ -Fixierung, also im lichtlimitierten Bereich der jeweiligen PI-Kurve (vgl. Abbildung 4.24), kommt es zwar zu Energieverlusten am LHCII-RCII-Komplex, diese fallen jedoch vergleichsweise gering aus (vgl. Abbildung 4.25). Im Übergangsbereich zwischen der Lichtlimitierung und -sättigung nimmt  $r_{PSU,diss,tot}$  scheinbar exponentiell zu und geht dann in eine nahezu lineare Zunahme über. Im Falle der Zustände NL und ML liegt der erste Bereich jeweils zwischen  $0-150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  bzw.  $0-250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , während die Übergangsbereiche zwischen  $150-250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und  $250-450 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  liegen (vgl. Abbildung 4.25). Danach

erfolgt in beiden Fällen ein starker, nahezu linearer Anstieg von  $r_{PSU,diss,tot}$ . Interessanterweise werden bei sättigenden PPFDs im ML-Zustand ähnlich hohe  $r_{PSU,diss,tot}$ -Werte erreicht wie im NL-Zustand, obwohl im ML-Zustand unabhängig von der PPFd deutlich mehr  $x_{RCII,gs}$  vorliegen (vgl. Abbildung 4.25). Eine Erklärung hierfür liefern die Werte aus Tabelle 4.7. Im ML-Zustand ist  $\sigma_{RCII}$  ca. 5,8 % größer als im NL-Zustand. Damit ist auch die Wahrscheinlichkeit, dass ein angeregtes RCII im ML-Zustand ein zweites Photon absorbiert, dessen Energie dissipiert werden muss (vgl. Abschnitt 4.3), um diesen Betrag höher als im NL-Zustand. Zusätzlich ist  $\phi_{RCII}$  im ML-Zustand ca. 3,5 % geringer als im NL-Zustand, was wiederum bedeutet, dass die Effizienz eines  $RCII_{gs}$  im ML-Zustand geringer ist. Der Beitrag eines  $RCII_{gs}$ , das ein Photon absorbiert, zu  $r_{PSU,diss,tot}$  fällt im ML-Zustand hingegen statistisch gesehen höher aus als im NL-Zustand. Beide Phänomene tragen schlussendlich dazu bei, dass trotz höherer  $x_{RCII,gs}$ -Werte im ML-Zustand ähnlich hohe  $r_{PSU,diss,tot}$ -Werte wie im NL-Zustand erreicht werden (vgl. Abbildung 4.25). Ein anderes Bild ergibt sich für den HL-Zustand (vgl. Abbildung 4.25.C). Dort wird keine deutliche Lichtsättigung erreicht, was auch entsprechend in Abbildung 4.24.C zu sehen ist. Dadurch fallen auch die Energieverluste in diesem Zustand, unabhängig von der PPFd, wesentlich geringer aus als bei den beiden anderen Akklimatisationszuständen (vgl. Abbildung 4.25), unabhängig von der Tatsache, dass der HL-Zustand den geringsten  $\phi_{RCII}$ -Wert (siehe Tabelle 4.7) und damit die höchste NPQ-Aktivität (vgl. Abschnitt 4.1.2.5) der hierbei untersuchten Akklimatisationszustände aufweist.

Es kann zusammenfassend gesagt werden, dass das Modellverhalten den Formulierungen in Abschnitt 4.3 entspricht und insgesamt plausibel erscheint. Im lichtlimitierten Bereich kann  $x_{RCII,es}$  die Elektronen relativ frei auf den Reaktionspartner  $x_{PQ,gs}$  übertragen, sodass es kaum zu einer Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  kommt (vgl. Abbildung 4.25). Die Rate  $r_{PSU,diss,tot}$ , die die Energieverluste an einem LHCII-RCII-Komplex beschreibt (vgl. Abschnitt 4.3), fällt in diesem Bereich entsprechend gering aus. Durch die steigende Auslastung der nachgeschalteten CO<sub>2</sub>-Fixierung mit zunehmender PPFd kommt es zu einer Akkumulation von  $x_{PQ,es}$ . Diese bewirkt wiederum, dass die Elektronenübertragung zwischen  $x_{RCII,es}$  und  $x_{PQ,gs}$  nicht mehr uneingeschränkt ablaufen kann, wodurch es schließlich zu einer Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  kommt (vgl. Abbildung 4.25). Die verstärkte Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  trägt wesentlich zu  $r_{PSU,diss,tot}$  bei und verringert damit die lichtbezogene Effizienz der Photosynthese.

### 4.3.2 Untersuchung des Einflusses des Lichtprofils auf die lichtabhängige stationäre Photosynthesekinetik

In Abschnitt 4.3.1.2 wurde bereits angesprochen, dass das Lichtprofil in der Messzelle zur Bestimmung der oxygenen Photosyntheserate (vgl. Abschnitt 3.3.5) einen starken Einfluss auf die Form einer PI-Kurve haben kann [23,243]. Im Nachfolgenden wird untersucht, wie der Verlauf einer PI-Kurve durch das Lichtprofil beeinflusst wird und welche Konsequenzen daraus für die Interpretation der Ergebnisse resultieren. Im Rahmen dieser Arbeit wurde explizit darauf geachtet, dass sowohl die Kultivierungen im Photobioreaktor (vgl. Abschnitt 3.1.3) als auch die Messungen der oxygenen Photosyntheserate (vgl. Abschnitt 3.3.5) stets mit optisch dünnen Kulturen im stationären Zustand [1,130] und einem möglichst geringen Lichtgradienten durchgeführt wurden, um dessen möglichen Einfluss [23,243] auf die Ergebnisse zu minimieren. Außerdem wurden unerwünschte und nicht explizit modellierte Effekte, wie bspw. der *flashing*-

*light* Effekt [58,169,172] (vgl. Abschnitt 2.5.2), durch eine adäquate Gestaltung der Experimente vermieden. Es kann daher angenommen werden, dass die in Abbildung 4.24 dargelegten, schnellen PI-Kurven weitestgehend frei von den Einflüssen eines starken Lichtgradienten und eines möglichen *flashing-light* Effektes sein sollten. Dabei fällt auf, dass die schnellen bzw. nicht-akklimatisierten PI-Kurven in Abbildung 4.24 deutlicher von einem typischen Sättigungsverlauf, der z. B. durch das Han-Modell ohne Photoinhibierung [27] beschrieben wird, abweichen als es in manchen Literaturquellen (bspw. in [29]) der Fall ist. Es wird vermutet, dass die Diskrepanz zwischen den jeweiligen Messdaten zum Teil durch die systembedingten, unterschiedlich starken Lichtgradienten, die die physiologisch bedingte Photosynthesekinetik je nach Ausprägung mehr oder weniger überlagern [23,243], hervorgerufen wird. An dieser Stelle sei jedoch erwähnt, dass es auch einige Literaturdaten [69,157,243] gibt, die qualitativ eher den Daten in Abbildung 4.24 entsprechen und somit ebenfalls eher durch das in Abschnitt 4.3 vorgestellte PSU-Modell als durch eine typische Sättigungskinetik beschrieben werden können [27,235].

Zur Untersuchung des systembedingten Lichteinflusses auf die stationäre Photosynthesekinetik wurde ein konstanter Photoakklimatisationszustand von *C. vulgaris* angenommen, der dem ML-Zustand aus Abschnitt 4.3.1 entspricht. Zur Variation des Lichtprofils und damit des relativen maximalen Lichtgradienten ( $\Delta I_{PAR} = (\max I_{PAR} - \min I_{PAR}) / \max I_{PAR} \cdot 100$ ) wurden sechs verschiedene  $c_{BTM}$  simuliert. Die sechs eingestellten  $c_{BTM}$  waren: 0,1, 0,25, 0,5, 1, 2,5 und 5 g·L<sup>-1</sup>. Weiterhin wurden zwei unterschiedliche Auslegungen der Beleuchtung simuliert, nämlich beidseitige und einseitige Beleuchtung der Messzelle. Die Simulation der Lichtprofile sowie der damit verknüpften Photosyntheseraten erfolgte entsprechend dem Vorgehen in Abbildung 3.3 sowie Abbildung 4.21. Die Simulationsergebnisse sind in Abbildung 4.26 dargestellt.

Der beidseitig beleuchtete Fall ist in Abbildung 4.26.A (Auftragung: relative  $\bar{v}_{P,Netto,Chl}$  gegen  $\bar{I}_{PAR}$ ) und Abbildung 4.26.B (Auftragung: relative  $\bar{v}_{P,Netto,Chl}$  gegen  $I_{PAR}^0$ ) zu sehen. Analoge Ergebnisse für den einseitig beleuchteten Fall sind jeweils in Abbildung 4.26.C und Abbildung 4.26.D dargestellt. Aus Abbildung 4.26 wird insgesamt ersichtlich, dass eine beidseitige Beleuchtung, wie bereits in Abbildung 2.9 beispielhaft dargelegt, bei den gleichen  $c_{BTM}$  und dem gleichen Photoakklimatisationszustand von *C. vulgaris* erwartungsgemäß zu deutlich geringeren  $\Delta I_{PAR}$  als eine einseitige Beleuchtung führt.

Bei der Betrachtung der Abbildung 4.26.A fällt auf, dass die  $c_{BTM}$  von 0,1, 0,25, 0,5 und 1 g·L<sup>-1</sup> (die entsprechenden  $\Delta I_{PAR}$  sind: 1, 4, 10 und 24 %) und die daraus resultierenden Lichtprofile keinen wesentlichen Einfluss auf die Form der dargestellten PI-Kurven haben. Einen deutlichen Unterschied sieht man erst ab einer  $c_{BTM}$  von 2,5 g·L<sup>-1</sup> ( $\Delta I_{PAR}$ : 55 %). In diesem Fall führt der ausgeprägte Lichtgradient zu einem Abflachen der PI-Kurve im Übergangsbereich zwischen dem lichtlimitierten und -gesättigten Bereich. Eine noch stärkere Ausprägung dieses Effektes ist bei der  $c_{BTM}$  von 5 g·L<sup>-1</sup> ( $\Delta I_{PAR}$ : 82 %) zu verzeichnen.

Ein ähnliches Bild lässt sich im Falle der einseitigen Beleuchtung in Abbildung 4.26.C beobachten. Dort kommt es jedoch aufgrund der einseitigen Beleuchtung schon ab einer  $c_{BTM}$  von 1 g·L<sup>-1</sup> ( $\Delta I_{PAR}$ : 72 %) zu einer deutlichen Abweichung der PI-Kurve von den PI-Kurven mit geringeren  $c_{BTM}$ . Es sind jedoch auch bereits bei niedrigeren  $c_{BTM}$  von jeweils 0,25 und 0,5 g·L<sup>-1</sup> ( $\Delta I_{PAR}$ : 35 und 53 %) Unterschiede zwischen den Kurvenverläufen zu erkennen. Die Unterschiede zwi-

schen den drei PI-Kurven bei den drei geringsten  $c_{BTM}$  (0,1, 0,25 und 0,5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) fallen jedoch gering aus. Es ist daher anzuzweifeln, ob diese Unterschiede experimentell aufgelöst werden könnten (vgl. Messschwankungen in Abbildung 4.24).

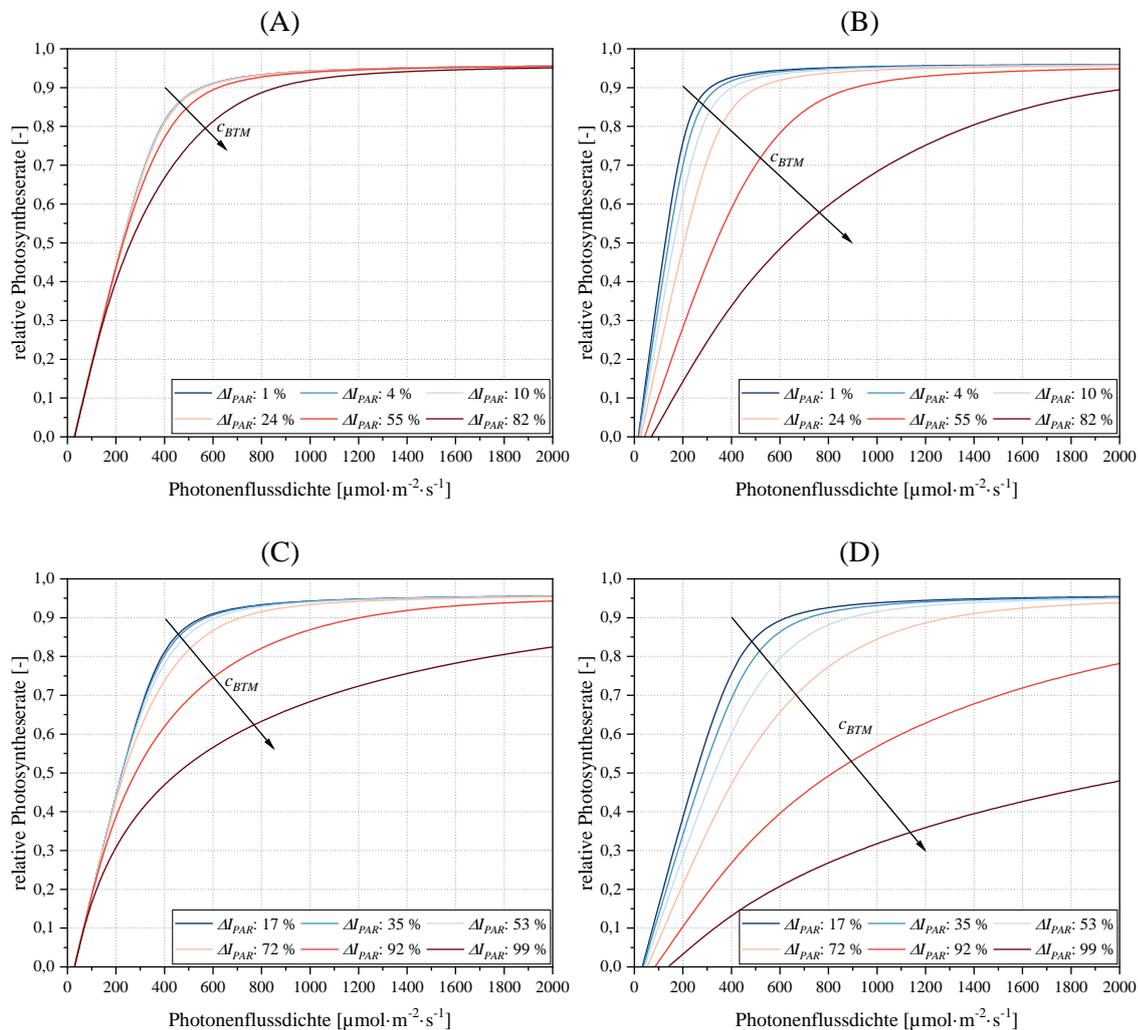


Abbildung 4.26: Einfluss des Lichtprofils innerlich der Messzelle auf die effektiv sichtbare, lichtabhängige Photosynthesekinetik von *C. vulgaris*. (A) Beidseitige Beleuchtung der Messzelle und Auftragung der Photosyntheserate gegen  $\bar{I}_{PAR}$ . (B) Analoge Beleuchtung zu (A), Auftragung der Photosyntheserate gegen  $\bar{I}_{PAR}^0$  (vgl. Definition in Abschnitt 3.4.1). (C) Auftragung wie in (A), jedoch für den Fall einer einseitigen Beleuchtung. (D) Ebenfalls einseitige Beleuchtung der Messzelle und Auftragung der Daten gegen  $\bar{I}_{PAR}^0$ . Im Falle der abgebildeten PI-Kurven wurde der ML-Zustand (vgl. Abschnitt 4.3.1) von *C. vulgaris* angenommen. Zur Erzeugung unterschiedlicher relativer Lichtgradienten ( $\Delta I_{PAR}$ ) wurden jeweils verschiedene  $c_{BTM}$  (0,1, 0,25, 0,5, 1, 2,5 und 5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $c_{BTM}$  steigt in Pfeilrichtung an) eingestellt. Die Simulation des Lichtprofils erfolgte entsprechend dem Protokoll in Abschnitt 3.4.1, während die Simulation der effektiven Photosyntheseraten entsprechend dem Schema in Abbildung 4.21 durchgeführt wurde.

Um die Photosyntheseraten gegen  $\bar{I}_{PAR}$  auftragen zu können (vgl. Abbildung 4.26.A bzw. Abbildung 4.26.C), müssen die jeweiligen lokalen  $I_{PAR}(z_R)$  bekannt sein, da diese zur Berechnung der entsprechenden  $\bar{I}_{PAR}$ -Werte notwendig sind. Wenn die  $I_{PAR}(z_R)$  nicht simuliert werden, müssen

sie messtechnisch erfasst werden, was aber mit einem erheblichen experimentellen Aufwand verbunden und in den meisten Fällen kaum möglich ist, ohne die Messung der Photosyntheserate erheblich zu beeinträchtigen. In der Literatur erfolgt die Auftragung der Photosyntheseraten deshalb häufig gegen die einfach zu messenden  $I_{PAR}^0$ , so wie bspw. auch in [29] geschehen. Deshalb wurden die relativen  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$  aus Abbildung 4.26.A in Abbildung 4.26.B gegen die jeweiligen  $I_{PAR}^0$  aufgetragen. Gleiches gilt für die relativen  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$  in Abbildung 4.26.C, die in Abbildung 4.26.D ebenfalls zusätzlich gegen die jeweiligen  $I_{PAR}^0$  aufgetragen wurden. Unabhängig von der Art der Beleuchtung ist eindeutig zu sehen, dass eine solche Auftragung die Form der PI-Kurven deutlich verändert. Dies wird dadurch begründet, dass die von den Mikroalgen tatsächlich erfahrenen PPFDs mit steigenden  $\Delta I_{PAR}$  bei der Auftragung der Photosyntheseraten gegen  $I_{PAR}^0$  zunehmend überschätzt werden. Je größer  $\Delta I_{PAR}$  ist, desto flacher fällt die PI-Kurve aus, da zu niedrige  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$ -Werte zu hohen PPFDs zugeordnet werden. Dieser Effekt ist sowohl in Abbildung 4.26.B (beidseitige Beleuchtung) als auch in Abbildung 4.26.D (einseitige Beleuchtung) deutlich zu erkennen. So entspricht bspw. die PI-Kurve bei der  $c_{BTM}$  von  $0,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  ( $\Delta I_{PAR}$ : 53 %) in Abbildung 4.26.D eher einer typischen Sättigungskinetik als die entsprechende PI-Kurve in Abbildung 4.26.C.

Der Vergleich der beiden Beleuchtungsarten zeigt deutlich (vgl. Abbildung 4.26), dass für kinetische Untersuchungen die beidseitige Beleuchtung eines Flachplatten-Photobioreaktors bzw. einer Messzelle mit der gleichen Geometrie (vgl. Abschnitte 3.1.3 und 3.3.5) vorteilhaft ist, da hierdurch geringere Lichtgradienten als im einseitig beleuchteten Fall erreicht werden können, trotz gleich hoher oder sogar höherer  $c_{BTM}$ . Bei geringen  $c_{BTM}$  fällt die  $\text{O}_2$ -Produktion bzw. der  $\text{CO}_2$ -Verbrauch entsprechend gering aus, was den Einsatz sehr sensibler Messsonden notwendig macht. Zudem können in einem solchen Fall bereits kleine absolute Messungenauigkeiten bzw. -schwankungen zu großen relativen Messfehlern führen. Mithilfe der beidseitigen Beleuchtung kann diesem Effekt entgegengewirkt werden, da hierdurch höhere  $c_{BTM}$  eingestellt werden können, ohne stark ausgeprägte  $\Delta I_{PAR}$  zu erhalten. Nichtsdestotrotz können zu hoch gewählte  $c_{BTM}$  auch bei beidseitiger Beleuchtung zu einem starken  $\Delta I_{PAR}$  führen, wodurch die physiologisch bedingte Photosynthesekinetik maskiert wird [23,243] (vgl. Abbildung 4.26). Deshalb ist es sinnvoll, das vorliegende Lichtprofil im Rahmen der Modellierung der lichtabhängigen Photosynthesekinetik explizit zu berücksichtigen [23], wie es in dieser Arbeit trotz der experimentellen Vorkehrungen (vgl. Abschnitte 3.1.3 und 3.3.5) geschehen ist (vgl. Abbildung 4.21). Weiterhin können starke  $\Delta I_{PAR}$  zum *flashing-light* Effekt führen (vgl. Abschnitt 2.5.2), der einen zusätzlichen Einfluss auf die Form einer PI-Kurve ausüben könnte [58,169,172]. Demnach sollten ausgeprägte  $\Delta I_{PAR}$  und der damit verbundene *flashing-light* Effekt durch entsprechende, experimentelle Vorkehrungen vermieden werden, wenn keine Modellierung dieses Effektes erfolgt.

In Abbildung 4.26 hat sich zudem deutlich gezeigt, dass die Form der lichtabhängigen, physiologisch bedingten Photosynthesekinetik bereits bei der Auftragung der generierten Daten stark verfälscht werden kann, wenn die gemessenen  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}^*$  gegen  $I_{PAR}^0$  aufgetragen werden. Ein deutlich besseres Vorgehen stellt die Auftragung der  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}^*$ -Daten gegen  $\bar{I}_{PAR}$  dar, da hierbei zumindest die durchschnittliche Lichtverfügbarkeit, die die Mikroalgenzellen erfahren, berücksichtigt wird. Es sollte jedoch erwähnt werden, dass die Ergebnisse in Abbildung 4.26 zwar qualitativ auch auf andere Akklimatisationszustände übertragbar sind, da ein starker Lichtgradi-

ent in jedem Fall zum Abflachen einer PI-Kurve führt [23], eine quantitative Übertragung dieser Ergebnisse auf andere Zustände ist jedoch nicht möglich. Der systembedingte Einfluss auf die Photosynthesekinetik muss für jeden individuellen Fall (bspw. in Abhängigkeit des Akklimatisationszustandes, der Beleuchtungsart, der Reaktorgeometrie, etc.) bestimmt werden, um quantitative Aussagen treffen zu können.

Ein weiterer Punkt, der ebenfalls einen Einfluss auf die effektive Photosynthesekinetik haben könnte, ist der Lichtgradient im Inneren der Zelle bzw. des Chloroplasten (*inner filter* Effekt) [243]. Dieser mögliche Effekt wurde im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt, da hierbei einige Unsicherheiten bestehen. Eine der Unsicherheiten besteht in der Komplexität der optischen Eigenschaften des Zellinneren einer Mikroalgenzelle [45,229], die nicht ohne entsprechende Vereinfachungen (vgl. Abschnitte 2.6.1 und 3.4.1) modelliert werden können. Eine Vereinfachung besteht bspw. darin, dass das Zellinnere als homogen betrachtet wird und somit lediglich effektive optische Eigenschaften aufweist, die aus der Summe der einzelnen Zellbestandteile resultieren [45,173,198,229]. Diese Vereinfachung wurde auch im Rahmen dieser Arbeit übernommen, wie aus Abschnitt 3.4.1 ersichtlich wird. Eine weitere Unsicherheit resultiert aus der Tatsache, dass der Chloroplast nicht homogen aufgebaut ist [1,66] und die in der Thylakoidmembran eingebetteten LHC-RC-Komplexe scheinbar ebenfalls keine einheitliche Komplexgröße aufweisen [203,322]. Es konnte bisher keine Information darüber gefunden werden, ob möglicherweise eine lichtabhängige Anordnung der LHC-RC-Komplexe innerhalb des Chloroplasten stattfinden kann, sodass bspw. kleinere LHC-RC-Komplexe im äußeren, lichtzugeneigten Bereich des Chloroplasten angeordnet werden, während größere LHC-RC-Komplexe eher im Inneren des Chloroplasten akkumuliert werden. Es ist denkbar, dass eine solche Anordnung dazu führen könnte, dass die vorderen, kleineren LHC-RC-Komplexe weniger stark ausgelastet werden und mehr Photonen passieren lassen, sodass die hinteren LHC-RC-Komplexe durch einen größeren Antennenkomplex ähnlich stark ausgelastet werden können. Auch wenn ein solches Phänomen prinzipiell vorstellbar ist (die hierzugehörigen Ausführungen sind jedoch rein spekulativer Natur), wäre es sehr schwierig, ein solches Verhalten *in vivo* zu identifizieren und anschließend dessen Einfluss auf die Photosyntheseleistung zu quantifizieren. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass ein möglicher Einfluss des *inner filter* Effektes zwar ebenfalls einen sichtbaren Einfluss auf die Photosynthesekinetik haben könnte [243], es jedoch schwierig ist, diesen eindeutig zu quantifizieren.

### **4.3.3 Untersuchung des Einflusses der Modellparameter auf die lichtabhängige stationäre Photosynthesekinetik**

Aus Abbildung 4.24 wird ersichtlich, dass der Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* einen starken Einfluss auf die lichtabhängige stationäre Photosynthesekinetik hat. Aus Abbildung 4.24 und Abbildung 4.25 wird jedoch nicht unmittelbar ersichtlich, wie die einzelnen Modellparameter den lichtabhängigen Verlauf der Photosynthesekinetik und der Anteile der modellierten PSU-Komponenten beeinflussen, da bei den drei untersuchten Akklimatisationszuständen stets mehrere Modellparameter parallel variiert wurden (vgl. Tabelle 4.7). Daher wird in diesem Abschnitt der isolierte Einfluss der einzelnen Modellparameter (vgl. Abschnitt 4.3) auf die Photosynthesekinetik und den Verlauf der PSU-Komponentenanteile charakterisiert.

Bei der Betrachtung des Gleichungssystems des PSU-Modells (vgl. Gleichungen 4.18-4.21) in Abschnitt 4.3 fällt auf, dass alle Modellparameter jeweils in Produkten vorliegen, sodass der effektiv beobachtbare Einfluss stets auf das jeweilige Produkt, jedoch nicht auf den einzelnen Modellparameter zurückgeführt werden kann. Die Modellparameter lassen sich dabei, entsprechend dem Modellschema in Abbildung 4.20, in drei Gruppen bzw. Produkte aufteilen. Die RCII-spezifische Rate  $r_{abs,p}/n_{RCII,tot}$  wird durch das Produkt  $\phi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$  beeinflusst. Die restlichen beiden RCII-spezifischen Raten  $r_{RCII,etrans}/n_{RCII,tot}$  und  $r_{PSU,etrans}/n_{RCII,tot}$  werden jeweils durch die Produkte  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  und  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  beeinflusst. Hierbei wird deutlich, dass eine relative Variation eines Modellparameters innerhalb des jeweiligen Produktes zur gleichen relativen Variation des gesamten Produktes führt. Die Anteile der PSU-Komponenten  $x_{RCII,gs}$ ,  $x_{RCII,es}$ ,  $x_{PQ,gs}$  sowie  $x_{PQ,es}$  sind hingegen die Zustandsvariablen im Gleichungssystem des PSU-Modells (vgl. Gleichungen 4.18-4.21).

Es besteht prinzipiell die Möglichkeit, die aufgeführten Produkte jeweils zu effektiven Parametern zusammenzufassen. Dies ist jedoch nur dann sinnvoll, wenn auch das Akklimatisationsverhalten des jeweiligen effektiven Parameters direkt erfasst werden kann. Es sollte jedoch auch beachtet werden, dass dadurch ein Informationsverlust entstehen kann. Als ein Beispiel kann hierbei das Produkt  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  herangezogen werden, das in Analogie zur Literatur [28,29,105,180,199,212] als effektiver Parameter  $\tau^1$  dargestellt werden kann (vgl. Abschnitte 4.3.1.1 und 4.3.1.2). Bei der Betrachtung der einzelnen Parameter des Produktes kann dessen lichtabhängiges Akklimatisationsverhalten durch das physiologische Phänomen eines vom Licht unabhängigen, gleichbleibenden  $n_{RuBisCO,tot}$  und einer gleichzeitigen, lichtabhängigen Variation von  $n_{RCII,tot}$  beschrieben werden [105,212,213] (vgl. Abschnitte 4.1.2.2 und 4.3.1.1). Im Gegensatz dazu wird bspw. in [29] das Photoakklimatisationsverhalten von  $\tau$  durch eine rein empirische Funktion beschrieben. In diesem Beispiel [29] wird zwar die lichtabhängige Variation von  $\tau$  ebenfalls auf die Variation von  $n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  zurückgeführt, es fehlt jedoch die Information über die genaue Abhängigkeit dieses Verhältnisses von der Akklimatisations-PPFD. Diese ist im Rahmen des hier vorgestellten Modells (vgl. Abschnitt 4.3) hingegen bekannt (vgl. Abbildung 4.23). Um solche Informationsverluste bezüglich des Akklimatisationsverhaltens von *C. vulgaris* zu vermeiden, wurde in dieser Arbeit darauf verzichtet, die jeweiligen Produkte der Modellparameter in Form von effektiven Parametern zusammenzufassen.

Zur Charakterisierung des Einflusses der Parameterprodukte  $\phi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$ ,  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  und  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  auf die lichtabhängige Photosynthesekinetik und den Verlauf der PSU-Komponentenanteile wurden diese ausgehend vom ML-Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* (vgl. Tabelle 4.7 sowie Tabelle 4.8) zusätzlich um jeweils  $\pm 50\%$  variiert. Da die Zellrespiration, bedingt durch die Modelldefinition (vgl. Gleichung 4.24), keinen Einfluss auf die Form der Photosynthesekinetik aufweist und diese lediglich verschiebt, wurde die Zellrespiration innerhalb der Untersuchungen in diesem Abschnitt vereinfachend nicht berücksichtigt. Zudem wurde stets ein konstantes Lichtprofil in der Messzelle simuliert ( $I_{PAR}$  ist überall gleich), um die Einflüsse der Modellparameter bzw. Parameterprodukte auf die jeweiligen Verläufe isoliert betrachten zu können. Demnach wurden die resultierenden relativen  $r_{P,Brutto,Chl}$  jeweils gegen  $I_{PAR}$  aufgetragen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden im Nachfolgenden dargestellt und diskutiert.

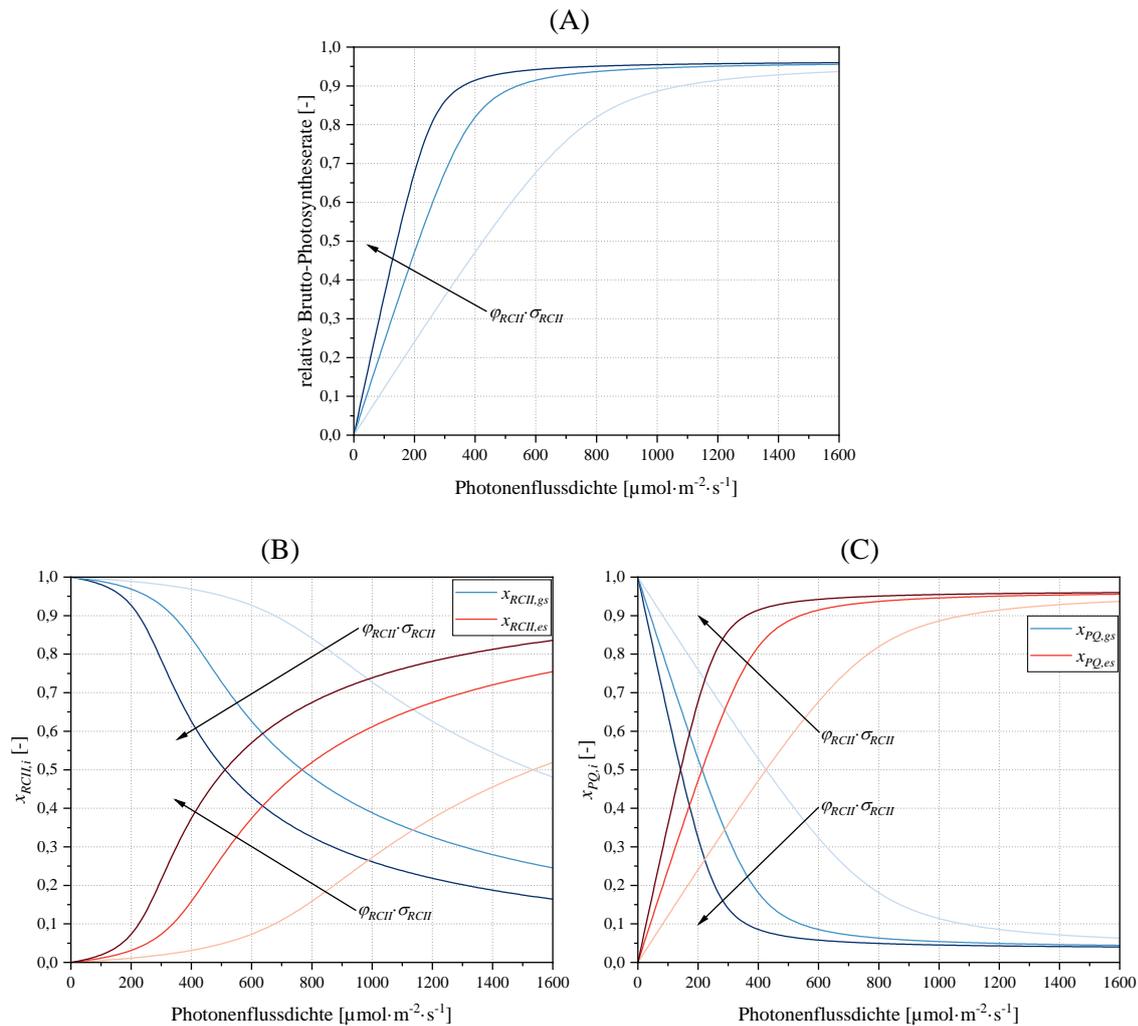


Abbildung 4.27: Einfluss des Produktes der Modellparameter  $\varphi_{RCH} \cdot \sigma_{RCH}$  auf die Photosynthesekinetik sowie die Anteile der jeweiligen PSU-Komponenten. In (A) sind die durch die Variation von  $\varphi_{RCH} \cdot \sigma_{RCH}$  resultierenden relativen  $r_{P,Brutto,Chl}$  dargestellt. In (B) sind die Verläufe von  $x_{RCH,gs}$  und  $x_{RCH,es}$  abgebildet. In (C) sind die analogen Verläufe von  $x_{PQ,gs}$  und  $x_{PQ,es}$  zu sehen. Die blauen Linien repräsentieren  $x_{RCH,gs}$  in (B) und  $x_{PQ,gs}$  in (C). Die roten Linien repräsentieren  $x_{RCH,es}$  in (B) und  $x_{PQ,es}$  in (C). Das Produkt  $\varphi_{RCH} \cdot \sigma_{RCH}$  wurde ausgehend vom ML-Zustand von *C. vulgaris* (vgl. Tabelle 4.7 und Tabelle 4.8) zusätzlich um  $\pm 50\%$  variiert. Die Parameterwerte steigen jeweils in Pfeilrichtung an. Alle abgebildeten Daten sind gegen  $I_{PAR}$  aufgetragen (kein Lichtgradient).

In Abbildung 4.27 wurde der Einfluss des Produktes  $\varphi_{RCH} \cdot \sigma_{RCH}$  auf den Verlauf der PI-Kurve sowie die Verläufe von  $x_{RCH,gs}$ ,  $x_{RCH,es}$ ,  $x_{PQ,gs}$  und  $x_{PQ,es}$  untersucht. Hierzu wurde der Wert von  $\varphi_{RCH} \cdot \sigma_{RCH}$  entsprechend der vorangegangenen Beschreibung variiert, während die restlichen Modellparameter (vgl. Abschnitt 4.3) konstant gehalten wurden. Wie in Abbildung 4.27.A zu erkennen ist, führt die Reduktion von  $\varphi_{RCH} \cdot \sigma_{RCH}$  zur Abnahme der Steigung im lichtlimitierten Bereich der lichtabhängigen Photosynthesekinetik. Die maximal erreichbare Photosyntheserate bleibt davon jedoch unverändert und wird unabhängig vom Wert des Produktes  $\varphi_{RCH} \cdot \sigma_{RCH}$  erreicht. Je geringer der Wert von  $\varphi_{RCH} \cdot \sigma_{RCH}$  ausfällt, desto höher ist die notwendige PPFd, um die Lichtsättigung zu erreichen (vgl. Abbildung 4.27.A). Zudem scheint der Übergangsbereich

zwischen der Lichtlimitierung und -sättigung durch abnehmende Werte von  $\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$  gestreckt bzw. abgeflacht zu werden. Das Abflachen der PI-Kurve im lichtlimitierten Bereich wird hierbei nicht durch eine mehrfache Lichtabsorption an angeregten LHCII-RCII-Komplexen und die daraus resultierenden Energieverluste hervorgerufen. Stattdessen resultiert die Abnahme der anfänglichen Steigung der PI-Kurve aus der Verringerung der effektiven Lichtabsorptionskapazität, die die Wahrscheinlichkeit der Absorption eines auftreffenden Photons durch einen LHCII-RCII-Komplex im Grundzustand und die anschließende Nutzung dieser Energie für die primäre Ladungstrennung im RCII beschreibt. Diese Aussage wird durch die entsprechenden Verläufe von  $x_{RCII,es}$  in Abbildung 4.27.B gestützt. Dort ist zu erkennen, dass mit abnehmenden  $\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$ -Werten auch weniger  $x_{RCII,es}$  akkumulieren. Durch die geringere Elektronenzufuhr bei geringeren  $\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$ -Werten wird die nachgeschaltete CO<sub>2</sub>-Fixierung (vgl. Abbildung 4.20) eher graduell und nicht so plötzlich wie bei höheren Werten von  $\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$  ausgelastet, was sich auch in den jeweiligen Verläufen von  $x_{PQ,gs}$  und  $x_{PQ,es}$  in Abbildung 4.27.C äußert. Nichtsdestotrotz haben die  $\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$ -Werte keinen Einfluss auf die maximale Photosyntheserate, sodass alle Zustände gegen die gleiche maximale Rate streben (vgl. Abbildung 4.27.A).

Nach der Untersuchung des Einflusses von  $\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$  auf die lichtabhängige Photosynthesekinetik wurde entsprechend dem Modellschema in Abbildung 4.20 untersucht, wie der Elektronentransfer zwischen den LHCII-RCII-Komplexen und den PQ-Molekülen die Photosynthesekinetik beeinflusst. Hierzu wurden die Werte von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  analog zur vorherigen Ausführung variiert und die Ergebnisse in Abbildung 4.28 dargestellt. Wie in Abbildung 4.28.A zu erkennen ist, hat das Produkt  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  kaum einen Einfluss auf die Lichtabsorption an den LHCII-RCII-Komplexen, was sich in der nahezu gleichen Steigung der drei dargestellten PI-Kurven äußert. Der Einfluss von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  auf die lichtabhängige Photosynthesekinetik wird erst im Übergangsbereich zwischen der Lichtlimitierung und -sättigung deutlich sichtbar. Mit sinkenden Werten von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  kommt es bereits bei niedrigeren PPFDs zu Energieverlusten an den LHCII-RCII-Komplexen und dadurch zu einem Abflachen der PI-Kurve im Übergangsbereich (vgl. Abbildung 4.28.A). In Abbildung 4.28.B ist zu sehen, dass eine Abnahme von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  zu einer stärkeren Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  im lichtlimitierten Bereich und im Übergangsbereich führt. Es zeigt sich also, dass eine Abnahme der Effizienz des Elektronentransfers zwischen RCII und PQ, die durch niedrigere Werte von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  bedingt wird, zu einer Zunahme der Energiedissipation an den LHCII-RCII-Komplexen führt, die in diesem Fall durch eine Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  hervorgerufen wird (siehe Gleichung 4.22). Weiterhin führen abnehmende  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte und die damit verbundene Abnahme der Elektronenübertragungseffizienz am RCII zu einer verminderten lichtbedingten Akkumulation von  $x_{PQ,es}$  (vgl. Abbildung 4.28.C). Außerdem fällt bei der Betrachtung der Abbildung 4.28.B auf, dass die Variation der  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte scheinbar einen größeren Effekt auf die Verläufe von  $x_{RCII,gs}$  und  $x_{RCII,es}$  im Lichtlimitierungs- und Übergangsbereich hat als im lichtgesättigten Bereich, der je nach dargestelltem Zustand ab ca. 600-800  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  beginnt. Ab der Lichtsättigung scheinen die Verläufe von  $x_{RCII,gs}$  und  $x_{RCII,es}$  jeweils zusammenzulaufen, was bei hohen PPFDs ab 1200  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  besonders gut sichtbar wird. Es sieht so aus, als würde in der Modellbetrachtung (vgl. Abbildung 4.20) die Effizienz des Elektronentransfers zwischen RCII und PQ die Energieverluste hauptsächlich im Lichtlimitierungs- und Übergangsbereich definieren. In der Abbildung 4.28.C ist erkennbar, dass das Verhältnis aus  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  und  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  die

maximalen  $x_{PQ,es}$ -Werte im Lichtsättigungsbereich bestimmt (eine umfassendere Erläuterung hierzu ist in der nachfolgenden Diskussion der in Abbildung 4.30 dargestellten Ergebnisse zu finden).

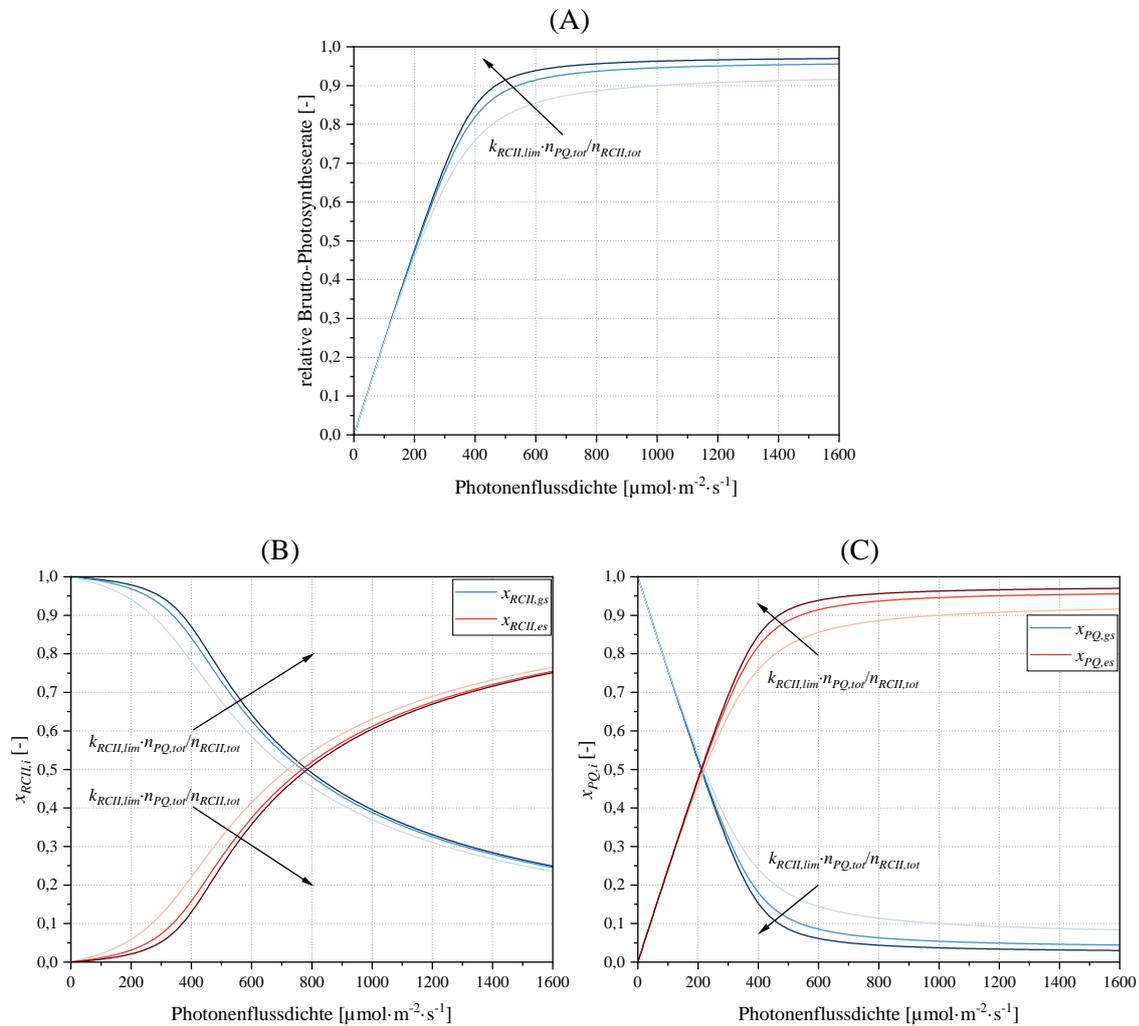


Abbildung 4.28: Einfluss des Produktes der Modellparameter  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  auf die Photosynthesekinetik sowie die Anteile der jeweiligen PSU-Komponenten. In (A) sind die durch die Variation von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  resultierenden relativen  $r_{P,Brutto,Chl}$  dargestellt. In (B) sind die Verläufe von  $x_{RCII,gs}$  und  $x_{RCII,es}$  abgebildet. In (C) sind die anlogen Verläufe von  $x_{PQ,gs}$  und  $x_{PQ,es}$  zu sehen. Die blauen Linien repräsentieren  $x_{RCII,gs}$  in (B) und  $x_{PQ,gs}$  in (C). Die roten Linien repräsentieren  $x_{RCII,es}$  in (B) und  $x_{PQ,es}$  in (C). Das Produkt  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  wurde ausgehend vom ML-Zustand von *C. vulgaris* (vgl. Tabelle 4.7 und Tabelle 4.8) zusätzlich um  $\pm 50\%$  variiert. Die Parameterwerte steigen in Pfeilrichtung an. Alle abgebildeten Daten sind gegen  $I_{PAR}$  aufgetragen (kein Lichtgradient).

Mit abnehmenden Werten von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  und gleichzeitig konstanten Werten von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  ergeben sich geringere  $x_{PQ,es}$ -Werte (vgl. Abbildung 4.28.C) und damit auch geringere maximale Photosyntheseraten (vgl. Abbildung 4.28.A) in der Lichtsättigung. Trotz unterschiedlicher  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte bewirkt bei allen drei Zuständen die Auslastung der nachgeschalteten  $\text{CO}_2$ -Fixierung die vermehrte Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  im Lichtsättigungsbereich. Da die Lichtsättigung unabhängig vom  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ -Wert den

gleichen Effekt aufweist, führt dies zu einer Annäherung der jeweiligen Verläufe von  $x_{RCII,gs}$  und  $x_{RCII,es}$  in Abbildung 4.28.B. Der Einfluss des Elektronentransfers zwischen RCII und PQ auf die Energieverluste an den LHCII-RCII-Komplexen nimmt also mit steigenden PPFDs graduell ab, während der Einfluss der limitierenden  $CO_2$ -Fixierung mit steigenden PPFDs graduell zunimmt.

In Abbildung 4.10.B konnte beobachtet werden, dass der RCII-spezifische PQ-Pool über einen weiten PPF-D-Bereich (etwa  $39-746 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) scheinbar eine relativ gleichbleibende Größe von 8 PQ-Molekülen aufweist. Zur Vereinfachung des in dieser Arbeit erstellten PSU-Modells (vgl. Abschnitt 4.3) wurde basierend auf den experimentellen Ergebnissen ein konstanter  $n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ -Wert von 8 festgelegt. Nichtsdestotrotz war es von Interesse, die Auswirkungen der Variation der PQ-Poolgröße auf die lichtabhängige Photosynthesekinetik zu untersuchen. Um den Einfluss der PQ-Poolgröße auf die Photosynthesekinetik isoliert betrachten zu können, wurden nur die  $n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte variiert, während die restlichen Modellparameter (vgl. Abschnitt 4.3) entsprechend dem ML-Zustand von *C. vulgaris* (vgl. Tabelle 4.7 und Tabelle 4.8) konstant gehalten wurden. Die jeweiligen Ergebnisse sind in Abbildung 4.29 dargestellt.

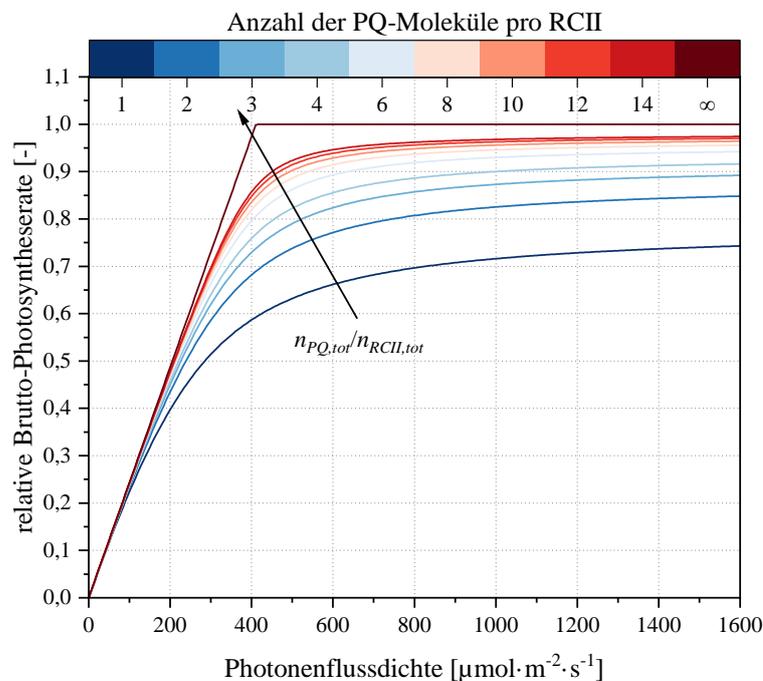


Abbildung 4.29: Einfluss von  $n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  auf die relative lichtabhängige Photosynthesekinetik von *C. vulgaris*. Die simulierte RCII-spezifische Anzahl der PQ-Moleküle kann der abgebildeten Farbskala entnommen werden. Der Akklimatisationszustand der Mikroalgenzellen in dieser Darstellung entspricht dem ML-Zustand von *C. vulgaris* in Tabelle 4.7. Die dazugehörigen kinetischen Parameter sind in der Tabelle 4.8 aufgelistet. Die abgebildeten, relativen  $r_{P,Brutto,Chl}$  wurden gegen  $I_{PAR}$  aufgetragen (kein Lichtgradient). Die  $n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werte steigen in Pfeilrichtung an.

Hierbei ist zu erkennen, dass eine Steigerung von  $n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  insbesondere dann einen größeren Einfluss auf die Photosynthesekinetik hat, wenn die RCII-spezifische Anzahl der PQ-Moleküle weniger als 6 beträgt. Mit steigender Anzahl der PQ-Moleküle pro RCII nimmt der Einfluss auf die Photosynthesekinetik ab. So bewirkt z. B. eine Verdopplung der PQ-Poolgröße

von 6 auf 12 Moleküle kaum eine Veränderung im Verlauf der lichtabhängigen Photosynthesekinetik. Im Gegensatz dazu bewirkt die Verdopplung der PQ-Poolgröße von 1 auf 2 Moleküle eine deutliche Steigerung der lichtbedingten Photosyntheserate, die ab  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  deutlich erkennbar ist. Insgesamt scheint die optimale RCII-spezifische PQ-Poolgröße in dem Bereich von 6-10 Molekülen zu liegen. Oberhalb dieses scheinbar optimalen Bereiches bewirkt die Zunahme der PQ-Poolgröße nur noch eine geringfügige Steigerung der Photosyntheseraten, während unterhalb dieses Bereiches die Photosyntheseraten wesentlich niedriger ausfallen als die maximal erreichbare Photosyntheserate bei einem unendlichen PQ-Pool. Im Falle eines unendlichen PQ-Pools ( $n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot} \rightarrow \infty$ ) zeigt sich, dass das hier vorgestellte Modell (vgl. Abschnitt 4.3) in die Form der Blackman-Kinetik [163] übergeht (vgl. Abbildung 4.29). In diesem Fall wird die Steigung der PI-Kurve im lichtlimitierten Bereich allein durch das Produkt  $\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$  definiert, ähnlich wie bei der Blackman-Kinetik [163] in Gleichung 2.16 (vgl. Abschnitt 2.6.3). Die maximale Photosyntheserate sowie der Punkt der plötzlich eintretenden Lichtsättigung werden hingegen durch die nachgeschaltete  $\text{CO}_2$ -Fixierung und deren maximale Elektronenprozessierungsrate  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  determiniert, ebenfalls analog zur Blackman-Kinetik [163] in Abschnitt 2.6.3. Weiterhin kann festgehalten werden, dass das Modellverhalten in Abbildung 4.29 qualitativ dem Verhalten des Modells in [69] entspricht, wo die PSU erfolgreich als eine Markow-Kette modelliert werden konnte.

Die letzte Gruppe von Modellparametern, deren Einfluss untersucht wurde, definiert entsprechend dem Modellschema in Abbildung 4.20 die maximale Elektronenprozessierungsrate des gesamten Photosyntheseapparates (photosynthetische ETK und Calvin-Zyklus; vgl. Abschnitte 2.2.2 und 2.2.3) im lichtgesättigten Bereich und wird durch  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  beschrieben. Analog zu den vorherigen Untersuchungen in diesem Abschnitt, wurden auch hierbei die Werte von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  ausgehend vom PPF-D bedingten ML-Zustand von *C. vulgaris* (vgl. Tabelle 4.7 und Tabelle 4.8) um  $\pm 50\%$  variiert, während alle anderen Modellparameter (vgl. Abschnitt 4.3) konstant gehalten wurden. Die Ergebnisse können Abbildung 4.30 entnommen werden. Wie zu erwarten, hat das Produkt  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  einen unmittelbaren Einfluss auf die maximale Photosyntheserate im lichtgesättigten Bereich, was in Abbildung 4.30.A deutlich zu erkennen ist. Im Bereich der Lichtlimitierung ist hingegen kein Einfluss der Variation von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  feststellbar. Beim Vergleich der Ergebnisse in Abbildung 4.30.A mit den Ergebnissen in Abbildung 4.28.A fällt zunächst auf, dass das hier erstellte PSU-Modell (vgl. Abschnitt 4.3) im Bereich der Lichtsättigung wesentlich sensitiver auf eine Änderung von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  als auf die prozentual gleiche Änderung von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  reagiert. Außerdem ist auffällig, dass eine Reduktion des Wertes von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  eine zur Reduktion des  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$ -Wertes gegensätzliche Auswirkung auf den Übergangsbereich der lichtabhängigen Photosynthesekinetik aufweist. Eine Abnahme des Wertes von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  führt zu einem plötzlicheren Übergang vom lichtlimitierten Zustand in den lichtgesättigten Zustand, während eine Steigerung des Wertes von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  gegenteilig zum Abflachen des Übergangsbereichs führt (vgl. Abbildung 4.30.A). Im Vergleich dazu ist in Abbildung 4.28.A zu sehen, dass eine Abnahme von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  den Übergangsbereich abflacht, während sich eine Zunahme von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  gegensätzlich auswirkt. Daraus lässt sich ableiten, dass nicht direkt die Werte von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  und  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  die Form des Übergangsbereichs determinieren, sondern ihr Verhältnis zueinander dafür ausschlaggebend ist. Es zeigt sich so-

wohl in Abbildung 4.28.A als auch in Abbildung 4.30.A, dass im Falle größerer Differenzen zwischen  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  und  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ , die durch einen höheren Wert von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  und/oder einen niedrigeren Wert von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  bedingt wird, die PI-Kurve tendenziell einen plötzlicheren Übergang zwischen dem lichtlimitierten und dem lichtgesättigten Bereich aufweist. Im umgekehrten Fall bei geringeren Differenzen zwischen  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  und  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ , die durch einen niedrigeren Wert von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  und/oder einen höheren Wert von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  hervorgerufen werden, fällt der Übergangsbereich der PI-Kurve vergleichsweise flach aus.

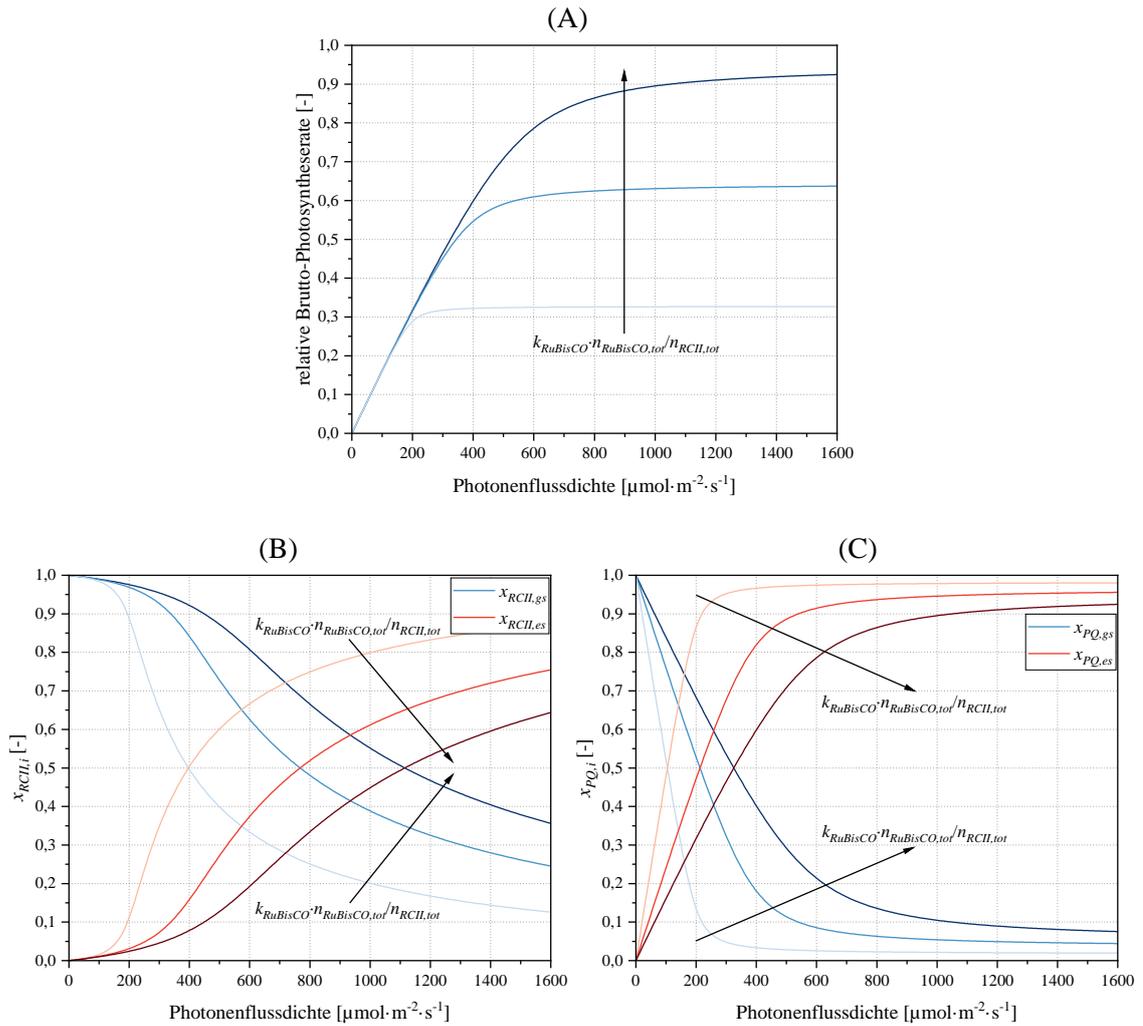


Abbildung 4.30: Einfluss des Produktes der Modellparameter  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  auf die Photosynthesekinetik sowie die Anteile der jeweiligen PSU-Komponenten. In (A) sind die durch die Variation von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  resultierenden relativen  $r_{P,Brutto,Chl}$  dargestellt. In (B) sind die Verläufe von  $x_{RCII,gs}$  und  $x_{RCII,es}$  abgebildet. In (C) sind die analogen Verläufe von  $x_{PQ,gs}$  und  $x_{PQ,es}$  zu sehen. Die blauen Linien repräsentieren  $x_{RCII,gs}$  in (B) und  $x_{PQ,gs}$  in (C). Die roten Linien repräsentieren  $x_{RCII,es}$  in (B) und  $x_{PQ,es}$  in (C). Das Produkt  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  wurde ausgehend vom ML-Zustand von *C. vulgaris* (vgl. Tabelle 4.7 und Tabelle 4.8) zusätzlich um  $\pm 50\%$  variiert. Die Parameterwerte steigen in Pfeilrichtung an. Alle abgebildeten Daten sind gegen  $I_{PAR}$  aufgetragen (kein Lichtgradient).

In Abbildung 4.30.B ist zu sehen, dass eine Abnahme von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  zu früher eintretenden Sättigungseffekten und damit zu einer früheren, verstärkten Energiedissipation an den LHCII-RCII-Komplexen führt. Dies wird insbesondere durch die stark ansteigende Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  bei abnehmenden  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$ -Werten deutlich (vgl. Abbildung 4.30.B). Ergänzend dazu ist in Abbildung 4.30.C zu erkennen, dass eine Reduktion von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  zu einer Sättigung des PQ-Pools mit Elektronen und damit zu einer Akkumulation von  $x_{PQ,es}$  bei deutlich geringeren PPFDs führt. Die Akkumulation von  $x_{PQ,es}$  bewirkt einen Elektronenstau, der wiederum durch eine Rückkopplung die vermehrte Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  induziert (vgl. Abbildung 4.30.B).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass hauptsächlich das Produkt  $\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$  die Steigung einer lichtabhängigen PI-Kurve in der Lichtlimitierung definiert (vgl. Abbildung 4.27.A). Das Produkt  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  bestimmt hingegen die Effizienz des Elektronentransportes zwischen RCII und PQ. Eine Reduktion des Wertes dieses Produktes hat eine Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  zur Folge, die gleichzeitig zu einer Zunahme der Energieverluste an den LHCII-RCII-Komplexen führt, während der Reduktionsgrad des PQ-Pools vergleichsweise niedrig bleibt (geringe  $x_{PQ,es}$ -Werte). Dieser Zusammenhang kann Abbildung 4.28 entnommen werden. Im Vergleich dazu führt eine Reduktion von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  zu einer früheren, verstärkten Akkumulation von  $x_{PQ,es}$ , die rückkoppelnd eine Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  bewirkt (vgl. Abbildung 4.30). Dies führt ebenfalls zu erhöhten Energieverlusten an den LHCII-RCII-Komplexen, ist jedoch auf eine andere Ursache als im Falle der abnehmenden Werte von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  zurückzuführen. Der Übergangsbereich zwischen der Lichtlimitierung und -sättigung einer lichtabhängigen Photosynthesekinetik wird durch das Verhältnis der beiden Produkte  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  und  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  determiniert. Zudem haben beide Produkte einen Einfluss auf die maximal erreichbare Photosyntheserate in der Lichtsättigung. Das Produkt  $\varphi_{RCII} \cdot \sigma_{RCII}$  hat hingegen keinen Einfluss auf die maximale Photosyntheserate (vgl. Abbildung 4.27). Es hat sich jedoch gezeigt, dass der Einfluss von  $k_{RuBisCO} \cdot n_{RuBisCO,tot}/n_{RCII,tot}$  wesentlicher ausfällt als der Einfluss von  $k_{RCII,lim} \cdot n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  (vgl. Abbildung 4.28 und Abbildung 4.30).

#### 4.3.4 Modellvalidierung mithilfe lichtabhängiger operativer Photosyntheseraten von *Chlorella vulgaris* im stationären photoakklimatisierten Zustand

In Abschnitt 4.3.1.2 konnte bereits erfolgreich gezeigt werden, dass das in dieser Arbeit entwickelte PSU-Modell (vgl. Abschnitt 4.3) in der Lage ist, nicht-akklimatisierte bzw. schnelle PI-Kurven (vgl. Abbildung 4.24) qualitativ und quantitativ besser zu beschreiben als die herangezogenen Referenzmodelle nach Han [26,27] (vgl. Tabelle 4.9). In dem aktuellen Abschnitt wird überprüft, ob das in Abschnitt 4.3 hergeleitete PSU-Modell zusätzlich befähigt ist, Daten zu beschreiben, die nicht Teil der zur Parameterschätzung in Abschnitt 4.3.1.2 genutzten Daten waren. Hierfür wurden zunächst operative bzw. akklimatisierte  $\bar{F}_{P,Netto,Chl}^*$  (vgl. Abschnitt 3.3.5.1) bei folgenden  $\bar{I}_{PAR}$  experimentell bestimmt: 39, 57, 119, 193, 267, 432, 507, 619, 746, 999 und 1436  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . In diesem Fall entspricht jede aufgelistete  $\bar{I}_{PAR}$  sowohl der jeweiligen Akklimatisations-PPFD in den Flachplatten-Photobioreaktoren (vgl. Abschnitt 3.1.3) als auch der mittleren PPFD, die jeweils bei der Bestimmung der operativen bzw. akklimatisierten Photosyn-

theserate eingestellt wurde (vgl. Abschnitt 3.3.5.1). Bei der modellbasierten Berechnung der entsprechenden operativen  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$  wurden stets die genannten experimentellen Lichtbedingungen und die lichtabhängigen Akklimationszustände von *C. vulgaris* berücksichtigt. Die kinetischen Modellparameter  $k_{RCII,lim}$  und  $k_{RuBisCO}$  können Tabelle 4.8 in Abschnitt 4.3.1.2 entnommen werden. Die Berücksichtigung der akklimationsabhängigen Modellparameter (vgl. Abschnitte 4.3 und 4.3.1.1) erfolgte entsprechend den Ausführungen in den Abschnitten 4.1.2.1, 4.1.2.4, 4.1.2.5 sowie 4.3.1.1. Die experimentell bestimmten operativen Raten  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}^*$  und die modellbasiert ermittelten Raten  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$ , inklusive der operativen  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$  im jeweiligen PPFd-abhängigen Akklimationszustand von *C. vulgaris*, sind in der nachfolgenden Abbildung 4.31 dargestellt.

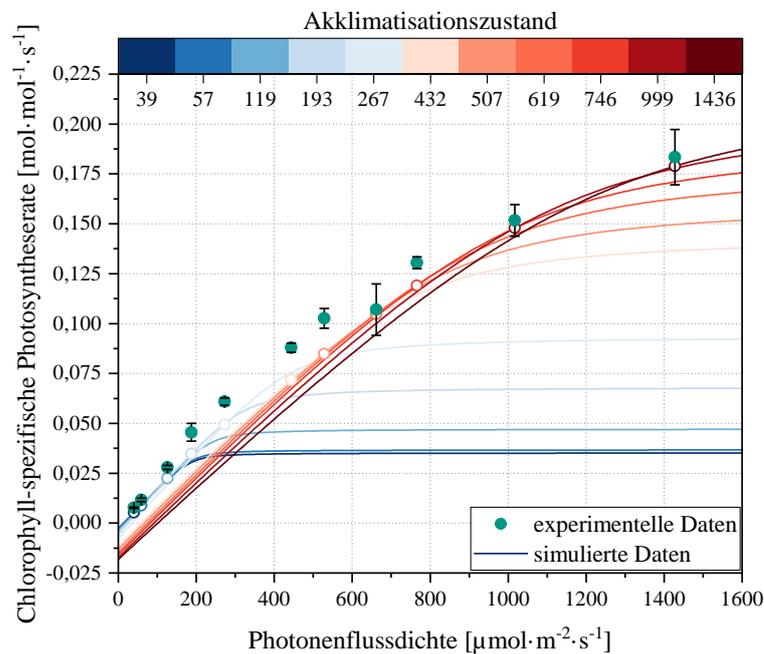


Abbildung 4.31: Ergebnis der Validierung des in dieser Arbeit erstellten PSU-Modells anhand operativer Photosyntheseraten bei unterschiedlichen, PPFd-bedingten Akklimationszuständen von *C. vulgaris*. Die experimentelle Bestimmung der operativen  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}^*$  erfolgte entsprechend dem Protokoll in Abschnitt 3.3.5.1. Die dargestellten, simulierten PI-Kurven (durchgezogene Linien) entsprechen den schnellen bzw. nicht-akklimatisierten Kurven im jeweiligen Photoakklimationszustand (die jeweiligen Akklimations-PPFDs können der abgebildeten Farbskala entnommen werden). Die Kreise auf den simulierten PI-Kurven repräsentieren die operativen bzw. stationären  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$  in den jeweiligen, lichtabhängigen Akklimationszuständen von *C. vulgaris*.

In Abbildung 4.31 wurde für jeden der hier untersuchten, lichtabhängigen Akklimationszustände von *C. vulgaris* die jeweils entsprechende schnelle bzw. nicht-akklimierte PI-Kurve (solide Linien) in einem  $\bar{I}_{PAR}$ -Intervall von 0-1600  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  simuliert, um die gesamte Leistungskapazität des Photosyntheseapparates im jeweiligen Zustand zu erfassen (vgl. Abschnitt 2.5.1). Die simulierten operativen  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$ , bei denen sich die Akklimations-PPFDs und die PPFDs bei den (simulierten) Messungen jeweils entsprechen, sind jeweils als Kreismarkierungen auf den soliden PI-Verläufen abgebildet. Dies sind auch die simulierten Datenpunkte, die mit den experimentell erfassten  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}^*$  zur Modellvalidierung verglichen wurden. Die statisti-

schen Kennzahlen zur quantitativen Evaluierung der Modellvorhersagen (vgl. Abschnitt 3.4.3) sind in Tabelle 4.10 aufgelistet.

Tabelle 4.10: Auflistung statistischer Parameter zur quantitativen Evaluierung der Modellvorhersagen der operativen Chlorophyll-spezifischen Netto-Photosyntheseraten.

statistischer Parameter	Wert
$R^2$ [-]	0,9688
RMSE [ $\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ]	0,0098
nRMSE [%]	11,74
MBE [ $\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ ]	-0,0081
nMBE [%]	-9,76

Bei der Betrachtung der Ergebnisse in Abbildung 4.31 und der statistischen Kennzahlen in Tabelle 4.10 wird deutlich, dass das in Abschnitt 4.3 entwickelte PSU-Modell in der Lage ist, die operativen lichtabhängigen Photosyntheseraten unter unterschiedlichen Photoakklimatisationszuständen von *C. vulgaris* mit einer zufriedenstellenden Genauigkeit vorherzusagen. Das  $R^2$  liegt mit einem Wert von 0,9688 in einem akzeptablen Bereich von  $\geq 0,95$ . Der RMSE beträgt  $0,0098 \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ , was einem nRMSE von 11,74 % entspricht (vgl. Gleichung 3.35). Für den MBE ergibt sich ein Wert von  $-0,0081 \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ , der entsprechende nMBE beträgt -9,76 % (vgl. Gleichung 3.37). Dieser nMBE-Wert deutet darauf hin, dass die simulierten operativen  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}$  die analogen experimentellen  $\bar{r}_{P,Netto,Chl}^*$  im Durchschnitt um 9,76 % unterschätzen. In Abbildung 4.31 fällt auf, dass das PSU-Modell (vgl. Abschnitt 4.3) die operativen Photosyntheseraten besonders gut in den PPF-D-Intervallen zwischen  $39\text{-}119 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und  $619\text{-}1436 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  beschreiben kann. Eine Ausnahme innerhalb der genannten PPF-D-Intervalle bildet lediglich der Punkt bei  $746 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , bei dem die Diskrepanz zwischen dem simulierten Wert und dem experimentellen Wert relativ groß ausfällt. Im PPF-D-Bereich zwischen  $193\text{-}507 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  unterschätzen die Modellvorhersagen die experimentellen Photosyntheseraten deutlicher als in den beiden zuvor genannten PPF-D-Bereichen. Interessanterweise scheint eine gute Übereinstimmung zwischen der vorhergesagten und der gemessenen Photosyntheserate bei  $619 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zu bestehen, obwohl dieser Datenpunkt eine vergleichsweise hohe Messunsicherheit aufweist und tendenziell vom Verlauf der benachbarten experimentellen Datenpunkte abweicht. Trotz der vorliegenden Diskrepanzen zwischen den Modellvorhersagen und den tatsächlich erfassten operativen Photosyntheseraten kann festgehalten werden, dass die Modellvorhersagegenauigkeit in einem akzeptablen Bereich liegt. Auch das Ergebnis in Abbildung 4.24 (siehe zusätzlich Tabelle 4.9) stützt die Aussage, dass das in Abschnitt 4.3 erstellte PSU-Modell die stationäre lichtabhängige Photosynthesekinetik von *C. vulgaris* mit einer zufriedenstellenden Genauigkeit beschreiben kann und damit eine gute Grundlage für weitere Modellierungsarbeiten in diesem Forschungs- bzw. Arbeitsfeld darstellt.

Außerdem liefert das Ergebnis in Abbildung 4.31 eine wichtige Erkenntnis bezüglich des lichtabhängigen Akklimatisationsverhaltens von *C. vulgaris*. Bereits in Abbildung 4.16.B war zu erkennen, dass bei einem  $\text{CO}_2$ -Gehalt von 2 % (v/v) und einer Akklimatisations-PPFD von etwa  $235 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  der operative Punkt nicht im Auslastungsbereich des entsprechend akklimatisierten Photosyntheseapparates lag. Es hat sich also bereits dort angedeutet, dass der RCII-

spezifische RuBisCO-Gehalt in *C. vulgaris* so eingestellt wird, dass dieser im photoakklimatisierten Zustand nicht limitierend wirkt und wahrscheinlich nicht für die ab 233-267  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  eintretende Lichtsättigung des Zellwachstums (vgl. Abbildung 4.1.A) verantwortlich ist. Allein aus dem Ergebnis in Abbildung 4.16.B kann jedoch logischerweise nicht abgeleitet werden, ob dies auch für andere Photoakklimatisationszustände von *C. vulgaris* gilt. Die simulierten PI-Kurven in Abbildung 4.31 ergänzen das Ergebnis in Abbildung 4.16.B und zeigen eindeutig, dass die operativen Punkte in den jeweiligen lichtabhängigen Akklimatisationszuständen von *C. vulgaris* nicht im Auslastungsbereich der  $\text{CO}_2$ -Fixierung liegen und diese somit nicht als Grund für das lichtgesättigte Zellwachstum ab ca. 233-267  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (vgl. Abbildung 4.1.A) herangezogen werden kann. Dies gilt zumindest für das PPF-Intervall von 39-1436  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  und einen relativ hohen  $\text{CO}_2$ -Gehalt im Zugas von 2 % (v/v). Stattdessen wird in Anlehnung an [151,258,265,270] vermutet, dass unter den genannten Umständen das begrenzte Proteom von *C. vulgaris* und die daraus resultierende Konstellation des gesamten Photosyntheseapparates das maximal mögliche Zellwachstum letztendlich determinieren.

Weiterhin ist in Abbildung 4.31 zu erkennen, dass sich die Lage des operativen Punktes auf der PI-Kurve mit steigenden PPFs jeweils vom lichtlimitierten Bereich in Richtung des Übergangsbereiches bzw. des lichtgesättigten Bereiches verschiebt. Es besteht deshalb die Vermutung, dass bei noch höheren PPFs als 1436  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  die  $\text{CO}_2$ -Fixierung tatsächlich limitierend wirken könnte<sup>3</sup>. Außerdem besteht auch die Möglichkeit, dass bei hohen Akklimatisations-PPFs sowie einem ausreichend hohen RCII-spezifischen RuBisCO-Gehalt (vgl. Abbildung 4.23) ein anderer Reaktionsschritt, wie z. B. die Oxidation der  $\text{PQH}_2$ -Moleküle am Cyt *b<sub>6</sub>f*, limitierend wirken könnte [105]. Dementsprechend kann nicht ausgeschlossen werden, dass bei sehr hohen PPFs der operative Punkt nicht im Auslastungsbereich der  $\text{CO}_2$ -Fixierung, sondern im Auslastungsbereich eines anderen photosynthetischen Reaktionsschrittes liegt. Es sollte jedoch auch beachtet werden, dass die in Abbildung 4.31 vorgestellten Ergebnisse ausschließlich für den hohen Gehalt von 2 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas, der etwa das 50-Fache des aktuellen atmosphärischen  $\text{CO}_2$ -Gehaltes darstellt [116], gelten. Die Ergebnisse in den Abschnitten 4.2.1 und 4.2.2 haben angedeutet, dass die operativen Punkte im lichtgesättigten Bereich des Zellwachstums von *C. vulgaris* bei geringen  $\text{CO}_2$ -Verfügbarkeiten, bspw. unter atmosphärischen Bedingungen [116], tatsächlich im Auslastungsbereich der  $\text{CO}_2$ -Fixierung liegen könnten (vgl. Abbildung 4.16.B). Inwieweit sich zusätzlich eine mögliche  $\text{CO}_2$ -abhängige Akklimatisation des  $\text{CO}_2$ -Fixierungsapparates [117] auf diesen Zusammenhang auswirken könnte, ist anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht abschätzbar. Darüber hinaus bleibt unklar, ob eine solche  $\text{CO}_2$ -bedingte Akklimatisation in *C. vulgaris* überhaupt stattfindet, da zumindest bei den Gehalten von 0,2-2 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas kein  $\text{CO}_2$ -abhängiges Akklimatisationsverhalten beobachtet werden konnte (vgl. Abschnitte 4.2.2 und 4.2.3). Aufgrund dieser Unsicherheiten können die vorliegenden Ergebnisse nicht auf weitere  $\text{CO}_2$ -Gehalte, die außerhalb des untersuchten Bereiches (vgl. Abschnitt 3.2) liegen, extrapoliert werden. Nichtsdestotrotz kann festgehalten werden, dass die Anwendbarkeit bzw. Gültigkeit des in Abschnitt 4.3 vorgestellten PSU-Modells für die in Photobioreaktoren üblichen  $\text{CO}_2$ -Gehalte gegeben sein sollte.

<sup>3</sup> Basierend auf den Ergebnissen in Abschnitt 4.2.1 wird unterstellt, dass die  $\text{CO}_2$ -Fixierung die maximale Photosyntheserate und damit den Lichtsättigungsbereich einer PI-Kurve unter den hier untersuchten PPF- sowie  $\text{CO}_2$ -Bedingungen definiert.

In Anbetracht der modellbasierten Ergebnisse hinsichtlich der Rate  $r_{PSU,diss,tot}$  in Abbildung 4.25 erscheint es logisch, dass *C. vulgaris* den photoakklimatisierten Photosyntheseapparat im operativen Zustand nach Möglichkeit nicht vollständig auslastet. Wie eindeutig in Abbildung 4.25 zu sehen ist, steigt die Energiedissipationsrate stark an, sobald die vollständige Lichtsättigung des Photosyntheseapparates eintritt. Eine vermehrte Energiedissipation kann potenziell zu einer Ausbildung von ROS und damit zu einer Zunahme der Photoinhibierung führen, die das Zellwachstum negativ beeinflusst [61,62,208,209]. Um dies zu vermeiden und eine möglichst hohe Energieeffizienz zu gewährleisten, erscheint es plausibel, dass der PPFD-bedingte operative Punkt von *C. vulgaris* möglichst so eingestellt wird, dass keine vollständige Auslastung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates im jeweiligen Photoakklimatisationszustand stattfindet. Dies ergänzt das Ergebnis in Abbildung 4.9.B, aus dem deutlich hervorgeht, dass *C. vulgaris* auch die RCII-Komplexe scheinbar überexprimiert, sodass nicht alle im jeweiligen photoakklimatisierten Zustand vorhandenen RCIIs gleichzeitig ausgelastet werden. Wie bereits zuvor erwähnt, deuten die bisher vorgestellten Ergebnisse dieser Arbeit darauf hin, dass das lichtabhängige Akklimatisationsverhalten von *C. vulgaris* vermutlich aus der eingeschränkten Proteomgröße und der daraus resultierenden Notwendigkeit, die einzelnen Proteinfractionsgrößen bedingungsabhängig anzupassen [265] (vgl. Abschnitt 2.6.4), hervorgeht. Aus diesem Grund wird im nachfolgenden Abschnitt 4.4 modellbasiert untersucht, wie sich diese Implikation auf die Photoakklimatisation der PSU-Komponenten des in Abschnitt 4.3 vorgestellten Modells auswirkt.

#### 4.4 Modellierung der Allokation eines endlichen photosynthetischen Proteoms in Abhängigkeit der Photonenflussdichte

Zur Untersuchung der lichtspezifischen Akklimatisation des Photosyntheseapparates von *C. vulgaris* wurde das in Abschnitt 2.6.4 vorgestellte Konzept der optimalen Allokation eines endlichen Proteoms im Rahmen eines stationären Minimalmodells umgesetzt. Jegliche Substratlimitierungen, außer der Lichtlimitierung, wurden hierbei zunächst vernachlässigt. Es wird vereinfacht angenommen, dass die Zellgröße und die Größe des Chloroplasten konstant bleiben [257,258], was die Größe des gesamten Proteinpools limitiert [265]. Aus diesem Grund ist eine Mikroalgenzelle gezwungen, die Proteinfractionen innerhalb dieses endlichen Proteinpools bedingungsabhängig so zu variieren, dass ein optimales Wachstum ermöglicht wird [265]. Dadurch kann eine Mikroalgenzelle bspw. die Antennenkomplexe bei Schwachlicht nicht beliebig erhöhen, da dies zwangsläufig zu einer Abnahme der anderen ETK-Komponenten führen würde, was wiederum zu Rückstauwirkungen und Energieverlusten führen würde [265] (vgl. Abschnitt 2.2). Der Gesamtproteinpool wird in zwei Hauptfraktionen aufgeteilt, einerseits die Proteine einer PSU und andererseits alle weiteren Proteine. Zur letzten Fraktion werden alle Proteine gezählt, die nicht explizit im PSU-Modell (vgl. Abschnitt 4.3) berücksichtigt werden. In dieser Modellvorstellung setzt sich die konstante Gesamtproteinanzahl ( $n_{prot,tot}$ ) aus der Summe der Anzahlen der PSU-Proteine ( $n_{prot,PSU}$ ) und der restlichen Proteine ( $n_{prot,res}$ ) zusammen.

$$n_{prot,PSU} + n_{prot,res} = n_{prot,tot} = const. \quad (4.28)$$

In der Modellvorstellung wird eine PSU durch drei Proteinfractionen repräsentiert (vgl. Abschnitt 4.3), die die Photosyntheseleistung unter gegebenen Lichtverhältnissen definieren. Die erste PSU-Proteinfraction bilden die LHCII-Komplexe, die für die Absorption und Weiterleitung der absorbierten Lichtenergie zu den jeweiligen RCII's zuständig sind (vgl. Abschnitte 2.2.1 und 2.2.2). Die RCII's, die hierbei als die zweite PSU-Proteinfraction definiert werden, verarbeiten die absorbierte Lichtenergie, indem sie diese Energie in Form von angeregten Elektronen in den jeweiligen PQ-Pool der photosynthetische ETK einspeisen. Sowohl die LHCII-Komplexe als auch die RCII-Komplexe enthalten Chlorophylle [93,95]. Im hier vorgestellten Modell wird jedoch vereinfacht angenommen, dass ausschließlich die Chlorophylle in den LHCII-Komplexen für die Lichtabsorption zugänglich sind und die Chlorophylle in den RCII-Komplexen lediglich zum Energietransfer dienen. Darauf aufbauend wird im Rahmen des Modells definiert, dass die Chlorophylle innerhalb eines RCII nicht effektiv zum  $\sigma_{RCII}$  beitragen. Weiterhin wird die Annahme getroffen, dass eine beliebige Anzahl von LHCII-Monomeren, die jeweils 14 Chlorophylle enthalten [93], mit einem RCII verknüpft sein kann. Der dritten PSU-Proteinfraction wird die RuBisCO-Fraktion zugeordnet, die die von den RCII's eingespeisten Elektronen vollständig prozessieren muss. Je nach Photoakklimatisationszustand kann der Anteil von  $n_{prot,PSU}$  an  $n_{prot,tot}$  variieren. Die Summe der anzahl-spezifischen Anteile der drei PSU-Proteinfractionen innerhalb von  $n_{prot,PSU}$  wird als konstant definiert, sodass gilt:

$$n_{LHCII,tot} + n_{RCII,tot} + n_{RuBisCO,tot} = n_{prot,PSU} \quad (4.29)$$

$$\frac{n_{LHCII,tot}}{n_{prot,PSU}} + \frac{n_{RCII,tot}}{n_{prot,PSU}} + \frac{n_{RuBisCO,tot}}{n_{prot,PSU}} = x_{LHCII,tot} + x_{RCII,tot} + x_{RuBisCO,tot} = 1 \quad (4.30)$$

Weiterhin soll jeweils gelten:

$$0 \leq x_{i,tot} \leq 1 \quad (4.31)$$

Hierbei ist  $n_{i,tot}$  die jeweilige Gesamtanzahl von LHCII, RCII oder RuBisCO, während  $x_{i,tot}$  für die jeweiligen anzahl-spezifischen Anteile steht. Da die lichtabhängigen Regelungsmechanismen innerhalb der PSU (vgl. Abbildung 4.20) nicht bekannt sind, wurde die  $n_{prot,PSU}$ -spezifische Rate  $r_{PSU,etrans}$  (vgl. Gleichung 4.9) als die zu maximierende Zielfunktion ( $J_{opt}$ ) gewählt:

$$\frac{r_{PSU,etrans}}{n_{prot,PSU}} = k_{RuBisCO} \cdot x_{RuBisCO,tot} \cdot x_{PQ,es} \quad (4.32)$$

$$\max_{x_{i,tot}} J_{opt} = \frac{r_{PSU,etrans}}{n_{prot,PSU}} \quad (4.33)$$

Die Rate  $r_{PSU,etrans}$  wurde jeweils mithilfe des in Abschnitt 4.3 vorgestellten PSU-Modells berechnet. Zur Bestimmung der optimalen  $x_{i,tot}$ -Werte in Abhängigkeit der PPFD wurde die MATLAB®-interne Routine *GlobalSearch* (Version 2021b, The MathWorks Inc., Natick, USA) eingesetzt, die in der Lage ist, je nach Definition der Zielfunktion entweder das globale Minimum (bei einer Minimierungsaufgabe) oder das globale Maximum (bei einer Maximierungsaufgabe; vgl. Gleichung 4.33) zu ermitteln. Die Routine *GlobalSearch* erzeugt nach der sogenannten *scatter search* Methode mehrere Startpunkte für den eingesetzten lokalen Solver [329]. Als lokaler Solver wurde hierbei die MATLAB®-Routine *fmincon* mit dem *interior-point* Solver

verwendet. Das PSU-Gleichungssystem (siehe Gleichungen 4.18-4.21) wurde mit der MATLAB®-Routine *fsolve* gelöst. Die benötigten Modellparameter  $\sigma_{chl}$  ( $7,03 \cdot 10^{-21} \text{ m}^2$ ),  $\varphi_{RCII}$  (0,73),  $n_{PQ,tot}/n_{RCII,tot}$  (8) wurden zur Vereinfachung als konstant und dem ML-Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* entsprechend (vgl. Tabelle 4.7) festgelegt. Den Geschwindigkeitskonstanten des PSU-Modells  $k_{RCII,lim}$  und  $k_{RuBisCO}$  (vgl. Abschnitt 4.3) wurden die entsprechenden Werte aus Tabelle 4.8 zugewiesen. Das MATLAB®-Skript, welches zur Bestimmung der optimalen  $x_{i,tot}$  verwendet wurde, ist im Anhang A.8 hinterlegt.

#### 4.4.1 Auswirkungen der Annahme eines endlichen Proteoms auf die Anteile der Komponenten des entwickelten photosynthetischen Modells

In der vorgestellten Literatur [151,257,258,265], die die lichtabhängige Zellakklimatisation von photoautotrophen Mikroorganismen auf Basis der optimalen Allokation eines endlichen Zellproteoms beschreibt, wird die photosynthetische ETK stets als eine Einheit betrachtet, deren Anteil am Gesamtprotein in Abhängigkeit der vorliegenden PPFD bzw.  $\mu$  variiert. Im Gegensatz zu der genannten Literatur wird im Rahmen dieser Arbeit die photosynthetische ETK in die Komponenten einer PSU, nämlich die LHCII-RCII-Komplexe sowie RuBisCO (vgl. Abbildung 4.20), aufgeteilt und nicht als eine solide Einheit betrachtet. Anhand des in Abschnitt 4.4 vorgestellten Minimalmodells wird untersucht, inwieweit die lichtbedingte Akklimatisation einer PSU allein durch die Annahme eines begrenzten Proteoms erklärt werden kann. Aus diesem Grund werden zunächst solche Vorgänge wie aktiver und passiver  $\text{CO}_2$ -Transport in die Mikroalgenzelle sowie Photoinhibierung, anders als bspw. in [257,258], vernachlässigt. Die im Rahmen des Modells getroffenen Vereinfachungen (vgl. Abschnitt 4.4) sollen vor allem dazu dienen, die Einflüsse einzelner Phänomene auf die lichtabhängige Akklimatisationsantwort von *C. vulgaris* korrekt identifizieren und interpretieren zu können, was durch einen hohen Komplexitätsgrad des Modells deutlich erschwert wird. Demnach ist das in Abschnitt 4.4 vorgestellte Minimalmodell eher als ein Ausgangspunkt für weitere Modellierungsansätze zu betrachten und zunächst nur qualitativ zu interpretieren.

Die in Abschnitt 4.4 aufgestellte Zielfunktion der Optimierung (siehe Gleichung 4.33) impliziert, dass das Ziel einer *C. vulgaris* Zelle stets die Maximierung der PSU-spezifischen Photosyntheserate durch eine optimale, lichtabhängige Allokation der PSU-Komponenten ( $x_{LHCII,tot}$ ,  $x_{RCII,tot}$  und  $x_{RuBisCO,tot}$ ) ist, was auch einer Maximierung der spezifischen Wachstumsrate gleichkommt. Hierdurch maximiert *C. vulgaris* den Nutzen der eingesetzten Ressourcen, die in diesem Fall die jeweiligen PSU-Komponenten sind. In Anlehnung an [265] wurde angenommen, dass die „Platzverfügbarkeit“ innerhalb einer Mikroalgenzelle limitierend wirkt (vgl. Abschnitt 2.6.4), wodurch die Kosten in diesem Fall durch den „Platzbedarf“ eines Proteins definiert werden. In dem Modellansatz in Abschnitt 4.4 wurde vereinfachend festgelegt, dass die limitierte Platzverfügbarkeit durch die maximal mögliche Proteinanzahl definiert wird, die hierbei als konstant gilt (vgl. Gleichungen 4.28 und 4.29). In Hinblick auf die LHCII- und RCII-Komplexe wird die Fläche der Thylakoidmembran als limitierend angesehen [75,77]. Im Falle von RuBisCO wird die Platzverfügbarkeit im Stroma des Chloroplasten als der limitierende Faktor angenommen. Da eine Steigerung der Proteinmenge unter nährstoffgesättigten Bedingungen prinzipiell stets mit einer Erhöhung der jeweiligen Umsatzrate einhergehen sollte, wurde davon

ausgegangen, dass eine Mikroalgenzelle die maximale Platzverfügbarkeit bzw. Proteinanzahl durchweg ausschöpft. Aufgrund der festgelegten Begrenzung der maximalen Platzverfügbarkeit (vgl. Abschnitt 4.4) bedeutet die Zunahme einer Proteinfraction die gleichzeitige Abnahme einer anderen Proteinfraction [265]. Bedingt durch die zuvor erläuterte Modelldefinition der Kosten verursacht jedes Protein stets die gleichen Kosten, unabhängig davon, ob es sich hierbei um ein LHCII-Monomer, einen RCII-Komplex oder ein RuBisCO handelt. Weiterhin bleiben definitionsbedingt die Gesamtkosten der Zellproteine konstant, da die maximal mögliche Proteinanzahl ( $n_{prot,tot}$ ) konstant bleibt (siehe Gleichung 4.28). Der Kostenanteil der PSU-Proteinfraction an den Gesamtkosten ist hingegen variabel, da auch die Anzahl der PSU-Proteine ( $n_{prot,PSU}$ ) variabel ist (vgl. Gleichung 4.28). Dementsprechend wird in Gleichung 4.33 das relative Kosten-Nutzen-Verhältnis optimiert, indem die Rate  $r_{PSU,etrans}$  (Nutzen) pro eingesetztes PSU-Protein ( $n_{prot,PSU}$ ; Kosten) maximiert wird. Die aus dieser Optimierung resultierenden PSU-spezifischen Elektronenprozessierungsrate ( $r_{PSU,etrans}/n_{RCII,tot}$ ; vgl. Gleichung 4.9) und PSU-spezifischen oxygenen Brutto-Photosyntheserate ( $y_{O2/e} \cdot r_{PSU,etrans}/n_{RCII,tot}$ ) sind in Abbildung 4.32 dargestellt.

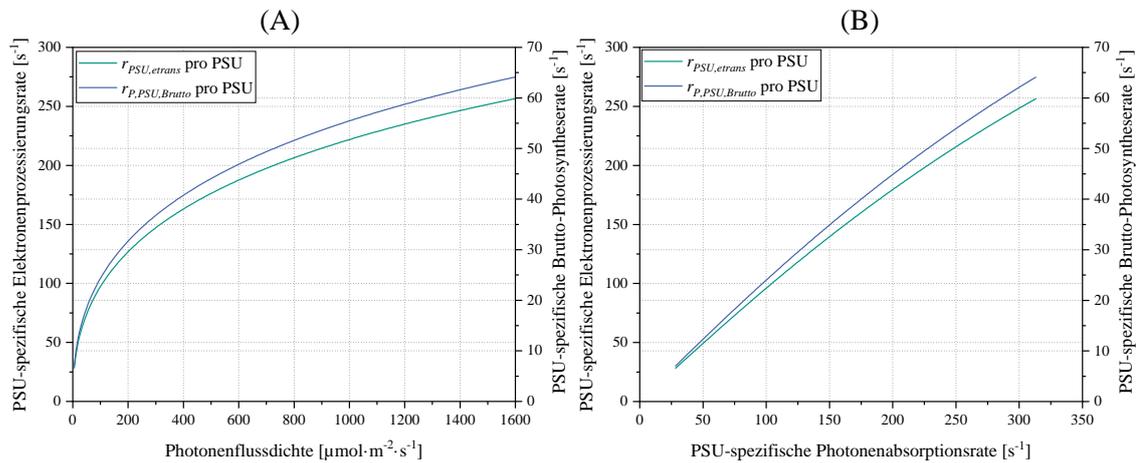


Abbildung 4.32: Aus der Simulation der lichtabhängigen Allokation eines endlichen photosynthetischen Proteoms resultierende Photosyntheserate. (A) Auftragung der PSU-spezifischen Elektronenprozessierungsrate und der entsprechenden oxygenen Brutto-Photosyntheserate gegen  $I_{PAR}$ . (B) Auftragung der in (A) abgebildeten Raten gegen die PSU-spezifische Photonenaufnahmerate.

Wie aus den aufgeführten Definitionen der PSU- bzw. RCII-spezifischen Elektronenprozessierungsrate und der PSU- bzw. RCII-spezifischen oxygenen Brutto-Photosyntheserate ersichtlich wird, sind beide Raten über den Ausbeutekoeffizienten  $y_{O2/e}$  direkt proportional zueinander. Dementsprechend unterscheiden sich die qualitativen Verläufe beider Raten nicht voneinander und werden im Nachfolgenden deshalb nicht einzeln diskutiert. In Abbildung 4.32.A wurden die aus der Simulation (vgl. Abschnitt 4.4) resultierenden Raten gegen  $I_{PAR}$  aufgetragen. Hierbei zeigt sich, dass *C. vulgaris* die PSU-Komponenten scheinbar so regelt, dass eine deutliche Sättigung der PSU selbst bei hohen PPFDs ( $\geq 1000 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) nicht auftritt. Das Abflachen der Kurvenverläufe ab etwa  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , wobei auch zuvor kein linearer Anstieg der beiden Raten zu beobachten ist (vgl. Abbildung 4.32.A), zeigt, dass die Mikroalgenzelle scheinbar nicht in der Lage ist, die PSU mit einer gleichbleibenden Effizienz zu „betreiben“. Dies wird insbesondere durch das Ergebnis in Abbildung 4.32.B verdeutlicht. Bei einer konstanten Effizienz

enz der PSU sollte die resultierende Elektronenprozessierungs- bzw. Photosyntheserate direkt proportional zur Photonenabsorptionsrate sein, sodass sich ein linearer Zusammenhang zwischen den beiden Größen ergibt. Die Steigung einer solchen Geraden entspräche der konstanten Effizienz bzw. Quantenausbeute einer PSU. In Abbildung 4.32.B ist jedoch deutlich zu erkennen, dass die dort abgebildeten Raten jeweils keine lineare Abhängigkeit von der PSU- bzw. RCII-spezifischen Photonenabsorptionsrate aufweisen und insbesondere im Bereich höherer PPFDs verstärkt abflachen. Es zeigt sich also, dass bereits die Einführung einer begrenzten Proteomgröße (vgl. Abschnitt 4.4) es der Mikroalgenzelle unmöglich macht, die Photosynthese mit einer gleichbleibenden Effizienz zu betreiben, sodass es auch im Bereich geringer PPFDs bereits zu Energieverlusten und der damit verbundenen Effizienzeinbußen kommt.

Die in Abbildung 4.32 dargestellten Raten resultieren letztlich aus der optimalen Allokation der einzelnen PSU-Fraktionen, die jeweils in Abbildung 4.33.A gegen  $I_{PAR}$  und in Abbildung 4.33.B gegen die PSU-spezifische oxygene Brutto-Photosyntheserate aufgetragen wurden. In beiden Abbildungen ist zunächst zu sehen, dass mit steigender PPFd bzw. Photosyntheserate der Anteil der LHCII am PSU-Gesamtprotein ( $x_{LHCII,tot}$ ) stetig abnimmt. Dies resultiert aus der Tatsache, dass mit steigender Photonenverfügbarkeit auch mehr Photonen absorbiert werden, die in den nächsten Schritten durch RCII und RuBisCO prozessiert werden müssen. Da die Mikroalgenzelle, entsprechend den Modellannahmen in Abschnitt 4.4, die maximale Anzahl der Proteine nicht steigern kann, muss sie zwangsläufig die LHCII-Anzahl reduzieren, um die RCII- und RuBisCO-Anzahl erhöhen zu können. Im Bereich geringer PPFds scheint die Mikroalgenzelle vor allem die Lichtabsorption zu maximieren (hohe  $x_{LHCII,tot}$ -Werte), während im Bereich hoher PPFds insbesondere die Prozessierung der absorbierten Lichtenergie relevanter wird (niedrigere  $x_{LHCII,tot}$ -Werte und höhere  $x_{RCII,tot}$ - sowie  $x_{RuBisCO,tot}$ -Werte; vgl. Abbildung 4.33.A). Hierbei ist zu erkennen, dass eine stärkere Zunahme bei der RuBisCO-Fraktion ( $x_{RuBisCO,tot}$ ), die den langsamsten Reaktionsschritt innerhalb einer PSU katalysiert (vgl. Tabelle 4.8), als bei der RCII-Fraktion ( $x_{RCII,tot}$ ) stattfindet. Außerdem kann keine lineare Abhängigkeit zwischen den jeweiligen Proteinfractionen  $x_{LHCII,tot}$ ,  $x_{RCII,tot}$  sowie  $x_{RuBisCO,tot}$  und der PSU-spezifischen oxygenen Brutto-Photosyntheserate in Abbildung 4.33.B festgestellt werden.

Das nicht-lineare Verhalten der Proteinfractionen  $x_{LHCII,tot}$ ,  $x_{RCII,tot}$  sowie  $x_{RuBisCO,tot}$  in Abbildung 4.33.B ist ein Hinweis darauf, dass der Auslastungsgrad einer PSU mit der PSU-spezifischen Brutto-Photosyntheserate variiert, was auch der Grund für das Abflachen der Raten mit steigenden PPFds in Abbildung 4.32.B ist. In Abbildung 4.33.C sowie in Abbildung 4.33.D ist deutlich zu erkennen, dass der Anstieg der Akklimatisations-PPFD bzw. der sich ergebenden PSU-spezifischen Brutto-Photosyntheserate mit einer vermehrten Akkumulation von  $x_{RCII,es}$  und  $x_{PQ,es}$  sowie einer simultanen Abnahme von  $x_{RCII,gs}$  und  $x_{PQ,gs}$  verbunden ist. Zumindest in Hinblick auf das PPFd-abhängige Verhalten der jeweiligen RCII-Fractionen ( $x_{RCII,gs}$  und  $x_{RCII,es}$ ) wird das Modellverhalten qualitativ durch die experimentellen Ergebnisse in Abbildung 4.9.B gestützt, die ebenfalls zeigen, dass mit zunehmender Akklimatisations-PPFD der Anteil der RCII im Grundzustand ( $x_{RCII,gs}$ ) abnimmt und der damit verknüpfte Anteil der angeregten RCII ( $x_{RCII,es}$ ) zwangsläufig zunimmt. Hierbei sollte jedoch erwähnt werden, dass die modellbasierten Ergebnisse nur bedingt quantitativ mit den experimentellen Ergebnissen verglichen werden können. Zur quantitativen Beschreibung der experimentellen Daten müssten weitere Phänomene bzw. Effekte berücksichtigt und modelliert werden, unter anderem die Photoinhibierung durch ROS,

die NPQ-Aktivität und die  $\sigma_{Chl}$ -Abhängigkeit von der zellinternen Pigmentkonzentration (vgl. Abschnitt 2.5.3). Weiterhin wurden in dem hier vorgestellten Minimalmodell (vgl. Abschnitt 4.4) zunächst keine Einschränkungen bezüglich möglicher Verhältnisse der modellierten Proteinfractionen ( $x_{LHCII,tot}$ ,  $x_{RCII,tot}$  und  $x_{RuBisCO,tot}$ ) formuliert, solange deren Summe Eins beträgt. Dies kann ebenfalls zu Abweichungen zwischen den simulierten und den experimentellen Daten führen. So ist bspw. ein modellbasiertes  $x_{LHCII,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnis von 100 (also 100 LHCII-Monomere pro RCII) prinzipiell möglich, aus der physiologischen Perspektive jedoch sehr unwahrscheinlich, da der bisher größte beobachtete LHCII-RCII-Komplex in *C. reinhardtii* lediglich 9 LHCII-Monomere enthielt [93,95]. Diese Einschränkung wurde jedoch bewusst im Rahmen des Minimalmodells (vgl. Abschnitt 4.4) nicht eingeführt, um den Effekt eines endlichen Proteoms (vgl. Abschnitt 2.6.4) auf die PSU-Komponenten und die resultierenden Raten isoliert untersuchen zu können.

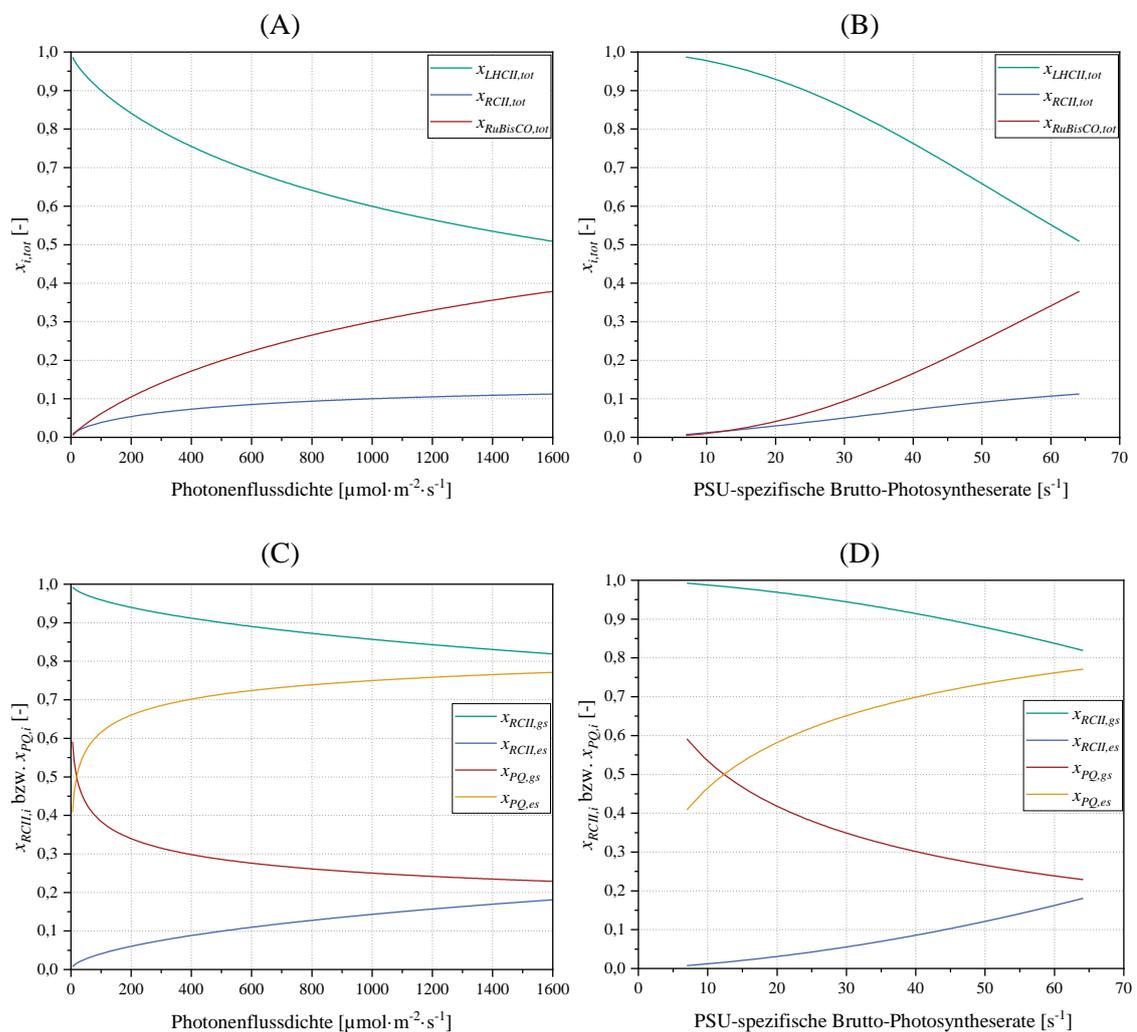


Abbildung 4.33: Aus der Simulation der lichtabhängigen Allokation eines endlichen photosynthetischen Proteoms resultierenden Verläufe der PSU-Komponentenanteile. (A)  $I_{PAR}$ -abhängige Verläufe von  $x_{LHCII,tot}$ ,  $x_{RCII,tot}$  sowie  $x_{RuBisCO,tot}$ . (B) Auftragung der in (A) abgebildeten Verläufe von  $x_{LHCII,tot}$ ,  $x_{RCII,tot}$  und  $x_{RuBisCO,tot}$  gegen die PSU-spezifischen oxygenen Brutto-Photosyntheseraten. (C) Verläufe von  $x_{RCII,gs}$ ,  $x_{RCII,es}$ ,  $x_{PQ,gs}$  und  $x_{PQ,es}$  in Abhängigkeit von  $I_{PAR}$ . (D) Auftragung der in (C) abgebildeten Verläufe von  $x_{RCII,gs}$ ,  $x_{RCII,es}$ ,  $x_{PQ,gs}$  und  $x_{PQ,es}$  gegen die PSU-spezifischen oxygenen Brutto-Photosyntheseraten.

Zusätzlich zu den modellbasierten Verläufen von  $x_{LHCII,tot}$ ,  $x_{RCII,tot}$  und  $x_{RuBisCO,tot}$  in Abbildung 4.33 sind in der nachfolgenden Abbildung 4.34 die RCII-spezifischen LHCII- und RuBisCO-Anzahlen dargestellt.

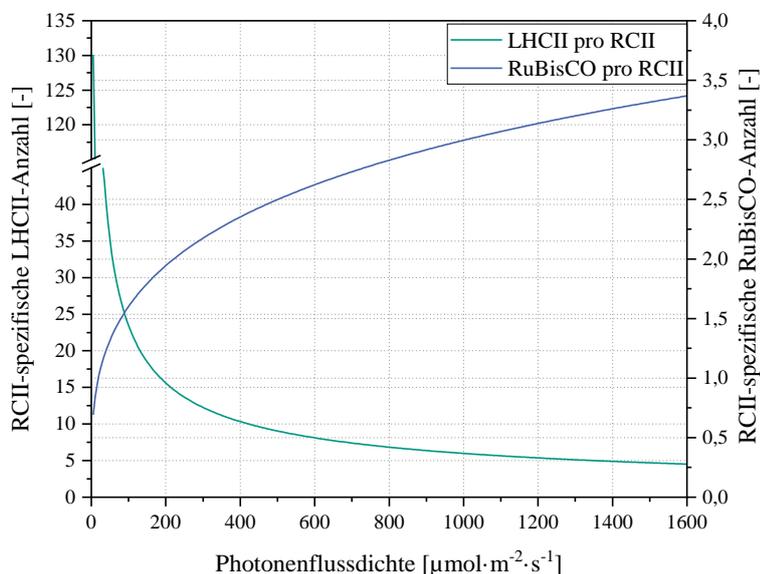


Abbildung 4.34: Die simulationsbasierten RCII-spezifischen LHCII- und RuBisCO-Anzahlen in Abhängigkeit von  $I_{PAR}$ .

Wie bereits zuvor angedeutet, können sich aufgrund fehlender Modelleinschränkungen in Bezug auf die jeweiligen Verhältnisse zwischen den Proteinfractionen  $x_{LHCII,tot}$ ,  $x_{RCII,tot}$  und  $x_{RuBisCO,tot}$  beliebige Verhältnisse einstellen, solange die Summe aus  $x_{LHCII,tot}$ ,  $x_{RCII,tot}$  und  $x_{RuBisCO,tot}$  Eins beträgt. In Abbildung 4.34 ist zu sehen, dass sich dadurch unrealistisch hohe  $x_{LHCII,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnisse bei niedrigen PPFDs einstellen. Erst ab einer PPFd von etwa  $270 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  stellen sich  $x_{LHCII,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnisse ( $\geq 13$ ) ein, die durch die experimentellen Beobachtungen aus [93,95] zu erklären wären. Entsprechend der Modelldefinition in Abschnitt 4.4 werden der LHCII-Fraktion alle Proteine in einem LHCII-RCII-Komplex zugeordnet, die zur Lichtabsorption beitragen. Aus dieser Definition geht hervor, dass die LHCII-Monomere eindeutig dieser Fraktion zugeordnet werden können. Da in Chlorophyta bisher maximal drei LHCII-Trimere, die ihrerseits aus drei LHCII-Monomeren bestehen, pro RCII beobachtet werden konnten [93,95], wäre ein maximales  $x_{LHCII,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnis von 9 zu erwarten. Daneben existieren noch die Proteine CP43, CP47, CP26 und CP29 (vgl. Abschnitt 2.2.2), die jeweils 13, 16, 13, 13 Chlorophylle bzw. durchschnittlich 13,75 Chlorophylle enthalten [93]. In der Modellvorstellung (vgl. Abschnitt 4.4) könnten diese Proteine ebenfalls der LHCII-Fraktion zugeordnet werden, sodass dadurch ein maximales  $x_{LHCII,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnis von 13 möglich wäre.

Das modellbasierte Ergebnis in Abbildung 4.34 kann jedoch nicht als ein Hinweis darauf gewertet, dass die Antennenkomplexe in Chlorophyta zu klein für geringe PPFDs ausfallen und eine zusätzliche Steigerung der Antennenkomplexgröße die photosynthetische Leistung der Chlorophyta bei geringen Lichtverfügbarkeiten erhöhen bzw. optimieren könnte. In dem hier vorgestellten Modell (vgl. Abschnitte 4.3 und 4.4) wurde der Energietransport von einem LHCII zum jeweiligen RCII vereinfacht als instantan angenommen, wodurch ein längerer Energietrans-

ferweg zwischen einem LHCII und einem RCII (vgl. Abschnitt 2.2.1) und die damit verbundenen, möglichen Ineffizienzen unberücksichtigt gelassen wurden. Mit einer steigenden Anzahl der LHCII und dem damit einhergehenden Anstieg der Anzahl der Chromophore vergrößert sich statistisch gesehen die Anzahl der Energietransfers, die notwendig ist, um die absorbierte Photonenenergie von einem Chromophor in einem LHCII zu dem dazugehörigen RCII zu transportieren [38]. Dadurch steigt die Gefahr, dass die Energie auf einen unerwünschten Energiequencher wie bspw. O<sub>2</sub> übertragen oder in Form von Fluoreszenz oder Wärme freigesetzt wird, was mit einer Abnahme der Effizienz des Energietransfers zwischen den LHCII und den jeweiligen RCII [38] sowie einer möglichen Zunahme der Photoinhibition einhergehen würde [94]. Ausgehend davon erscheint es plausibel, dass die realen Antennenkomplexe nicht beliebig groß werden können. Ohne solche Ineffizienzen wäre es jedoch für den Organismus vorteilhaft, das  $x_{LHCII,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnis bei geringen PPFDs über einen Wert von 13 hinaus zu steigern, wie es die Modellergebnisse in Abbildung 4.34 zeigen. Gleichzeitig sollte vermerkt werden, dass die unrealistisch hohen  $x_{LHCII,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnisse (vgl. Abbildung 4.34) wahrscheinlich zu einem deutlich steileren Anstieg der PI-Kurve in Abbildung 4.32 im Bereich der PPFDs unter 270  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  führen als es in der Realität möglich wäre.

Neben dem  $x_{LHCII,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnis ist in Abbildung 4.34 außerdem das  $x_{RuBisCO,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnis abgebildet. Im Vergleich zum berechneten  $x_{RuBisCO,tot}/x_{RCII,tot}$ -Verhältnis in Abbildung 4.23 ist in Abbildung 4.34 kein logistischer Verlauf dieses Verhältnisses in Abhängigkeit der PPFd zu sehen. Es ist zu erkennen, dass sowohl das Ergebnis in Abbildung 4.23 als auch das analoge Ergebnis in Abbildung 4.34 in einem ähnlichen Wertebereich zwischen 0,6-4,3 liegen. Nichtsdestotrotz ist der Vergleich dieser Ergebnisse nur bedingt sinnvoll bzw. möglich, da beide Ergebnisse lediglich aus Berechnungen mit entsprechenden vereinfachenden Annahmen (vgl. Abschnitte 4.3.1.1 und 4.4) resultieren. Eine Beurteilung darüber, welches der Ergebnisse „korrekter“ ist, ist in diesem Fall kaum möglich. Hierfür wären experimentelle Ergebnisse mit einer hinreichenden Auflösung (ausreichende Anzahl untersuchter lichtabhängiger Akklimatisationszustände von *C. vulgaris*) notwendig. Die qualitative Aussage des Ergebnisses in Abbildung 4.23, dass mit einer steigenden Akklimatisations-PPFD auch die RCII-spezifische Anzahl von RuBisCO ansteigt, wird auch in Abbildung 4.34 bestätigt und entspricht den bisherigen Erkenntnissen aus der Literatur [105,212,213].

Die experimentellen Ergebnisse in Abbildung 4.9.B sowie die modellbasierten Ergebnisse in Abbildung 4.33.C haben bereits angedeutet, dass *C. vulgaris* die RCII stets überexprimiert. Das äußert sich darin, dass unabhängig vom lichtbedingten Akklimatisationszustand und der vorliegenden Akklimatisations-PPFD nur ein Teil der RCII-Komplexe im angeregten Zustand vorliegt. Wie zuvor in den Abschnitten 2.2.1 und 2.2.2 erläutert, muss ein RCII zunächst durch Lichtenergie angeregt werden, um diese in Form von angeregten Elektronen in die photosynthetische ETK einspeisen zu können. Aufbauend hierauf können die RCII im Grundzustand als inaktiv bzw. passiv angesehen werden. Die aktiven bzw. angeregten RCII treiben zwar letztendlich die Photosynthese an [1], tragen jedoch auch unweigerlich zur Energiedissipation bei, wenn sie im angeregten Zustand weitere Photonen absorbieren (vgl. Abschnitte 2.2.1, 2.2.2 und 4.3). Aus der Modellgleichung 4.22 wird ersichtlich, dass ein hoher Anteil angeregter RCII bzw. ein geringer Anteil der RCII im Grundzustand zu einer erhöhten Energiedissipation und einer verminderten photosynthetischen Effizienz führt (vgl. Abbildung 4.9.B). Dementspre-

chend erscheint es naheliegend, dass die Mikroalgenzelle die Größe des RCII-Pools in Abhängigkeit der PPFD so reguliert, dass nur ein Teil der RCIIs gleichzeitig im angeregten Zustand vorliegt und eine vermehrte Energiedissipation durch eine mehrfache Lichtabsorption an angeregten LHCII-RCII-Komplexen vermieden wird (vgl. Abbildung 4.9.B und Abbildung 4.33.C). Der Überexpressionsfaktor von RCII in Abbildung 4.35 zeigt das Verhältnis zwischen der maximal möglichen Umsatzrate der RCIIs (entspricht  $k_{RCII,lim} \cdot x_{RCII,tot}$ ) sowie der tatsächlich vorliegenden Elektronenprozessierungsrate der PSUs (entspricht  $k_{RuBisCO} \cdot x_{PQ,es} \cdot x_{RuBisCO,tot}$ ) im jeweiligen lichtabhängigen Akklimatisationszustand von *C. vulgaris*. Der Überexpressionsfaktor von RuBisCO in Abbildung 4.35 ist in Analogie dazu definiert und wird durch das Verhältnis  $(k_{RuBisCO} \cdot x_{RuBisCO,tot}) / (k_{RuBisCO} \cdot x_{PQ,es} \cdot x_{RuBisCO,tot})$  beschrieben. Die jeweiligen Verläufe der Überexpressionsfaktoren von RCII und RuBisCO in Abbildung 4.35 ähneln sich qualitativ. In beiden Fällen scheint bei niedrigen PPFDs eine wesentliche Überexpression der beiden PSU-Komponenten stattzufinden, die dann annähernd exponentiell mit dem Anstieg der Akklimatisations-PPFD abnimmt.

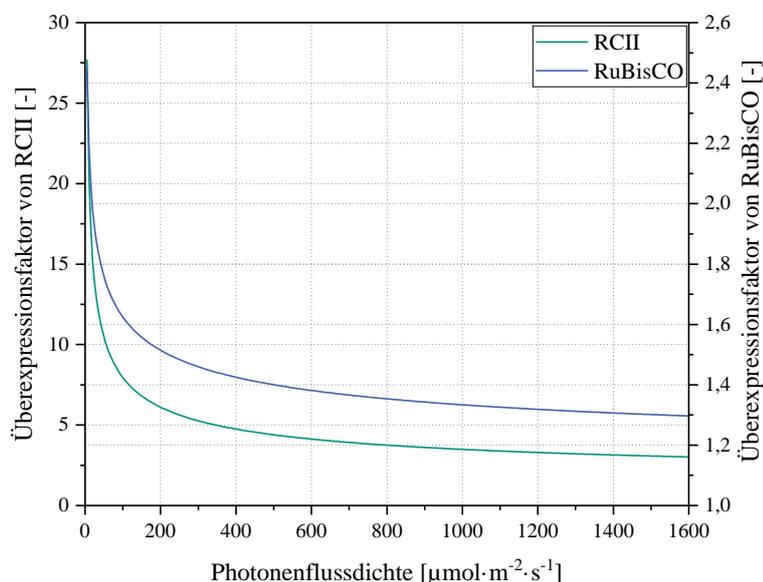


Abbildung 4.35: Modellbasierte Vorhersage der Überexpressionsfaktoren von RCII und RuBisCO in Abhängigkeit von  $I_{PAR}$ .

Es zeigt sich demnach, dass die Überexpression von RCII insbesondere bei geringen PPFDs stark ausfällt. Dieses Phänomen lässt sich dadurch erklären, dass bei besonders niedrigen PPFDs die Mikroalgenzelle scheinbar versucht, potenzielle Energieverluste durch eine mehrfache Photonenabsorption an bereits angeregten LHCII-RCII-Komplexen weitestgehend zu minimieren. Die deutliche Überexpression von RCII führt dementsprechend dazu, dass im stationären Zustand nur ein geringer Anteil der RCIIs in einer angeregten Form vorliegt. Dadurch kann die Wahrscheinlichkeit, dass ein bereits angeregter LHCII-RCII-Komplex ein weiteres Photon absorbiert und dessen Energie dissipiert (vgl. Abschnitte 2.2.1 und 2.2.2), erheblich gesenkt werden. Es wird argumentiert, dass solche Energieverluste besonders dann kritisch sind, wenn die Lichtverfügbarkeit gering ist. In einem solchen Fall kann sich eine Überexpression von RCII für die Mikroalgenzelle lohnen, um die erläuterten Verluste des limitierenden Substra-

tes (Licht bzw. Photonen) und eine damit einhergehende, noch stärkere Substratlimitierung möglichst zu vermeiden. Weiterhin ist auffällig, wie enorm die Überexpression von RCII in Abbildung 4.35 ausfällt. Bei  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  beträgt der Überexpressionsfaktor ca. 28 und sinkt dann auf einen Wert von etwa 3 bei  $1600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Möglicherweise resultiert die sehr hohe Überexpression von RCII im Bereich geringer PPFs durch die enorm hohen  $x_{\text{LHCII,tot}}/x_{\text{RCII,tot}}$ -Verhältnisse, die unterhalb der PPF von  $270 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  vorliegen (vgl. Abbildung 4.34). Mit einer steigenden LHCII-RCII-Komplexgröße steigt tendenziell auch  $\sigma_{\text{RCII}}$ , wodurch die Wahrscheinlichkeit der Photonenabsorption durch den entsprechenden photosynthetischen Komplex ebenfalls zunimmt. Um die durch die enorme LHCII-RCII-Komplexgröße (vgl. Abbildung 4.34) bei niedrigen PPFs verursachte hohe Wahrscheinlichkeit von mehrfachen Photonenabsorptionsvorgängen an bereits angeregten LHCII-RCII-Komplexen zu minimieren, wird eine hohe Anzahl von LHCII-RCII-Komplexen benötigt. Dies führt schlussendlich zu einem sehr hohen Überexpressionsfaktor von RCII bei geringen PPFs (vgl. Abbildung 4.35).

Wie zuvor in Abbildung 4.30 gezeigt werden konnte, verursacht eine steigende Auslastung der  $\text{CO}_2$ -Fixierung durch RuBisCO (vgl. Abschnitt 2.2.3) ebenfalls eine Akkumulation von angeregten LHCII-RCII-Komplexen und verstärkt somit die Energiedissipation an jenen Komplexen. Aufbauend auf den vorherigen Ausführungen erscheint auch in diesem Fall eine verstärkte Überexpression insbesondere bei niedrigen PPFs nachvollziehbar (vgl. Abbildung 4.35). Im Vergleich zum Überexpressionsfaktor von RCII fällt der Überexpressionsfaktor von RuBisCO niedrig aus und bewegt sich lediglich in einem Bereich zwischen 2,4 (bei  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) und 1,3 (bei  $1600 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Diese Überexpression von RuBisCO ist ein Hinweis darauf, dass *C. vulgaris* den RuBisCO-Gehalt so einstellt, dass dieser im operativen Punkt, zumindest unter den gegebenen  $\text{CO}_2$ -Bedingungen (2 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas; vgl. Abschnitt 4.3), nicht limitierend wirkt. Die experimentellen Ergebnisse in Abschnitt 4.2 haben gezeigt, dass die RuBisCO-katalysierte Carboxylierungsreaktion [118] (vgl. Abschnitt 2.2.3) die maximale Leistungskapazität des Photosyntheseapparates im jeweiligen lichtbedingten Akklimatisationszustand von *C. vulgaris* determiniert. Es hat sich jedoch ebenfalls ergeben, dass im akklimatisierten Zustand und bei  $\text{CO}_2$ -Gehalten im Zugas von 0,2-2 % (v/v) nicht die gesamte Leistung von RuBisCO ausgeschöpft wird. Gemäß der Definition des Überexpressionsfaktors wird RuBisCO scheinbar auch in der Realität überexprimiert, zumindest unter den betrachteten  $\text{CO}_2$ -Bedingungen (vgl. Abschnitt 3.2.2). Ebenso hat sich in Abbildung 4.31 gezeigt, dass sich der operative Punkt stets im lichtlimitierten Bereich bzw. Übergangsbereich der jeweiligen schnellen PI-Kurve, die eine Auskunft über die gesamte Leistungskapazität des akklimatisierten Photosyntheseapparates liefert (vgl. Abschnitt 2.5.1), befindet. Zudem ist in Abbildung 4.31 zu erkennen, dass sich der operative Punkt mit steigender Akklimatisations-PPFD scheinbar entlang der jeweiligen PI-Kurve in Richtung des Lichtsättigungsbereiches verschiebt. In Bezug auf den Überexpressionsfaktor von RuBisCO in Abbildung 4.35 würde dies bedeuten, dass der Überexpressionsfaktor mit steigender Akklimatisations-PPFD abnehmen müsste, da ein höherer Anteil des vorhandenen RuBisCO ausgelastet wird. Dieses Verhalten ist in Abbildung 4.35 deutlich zu erkennen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bereits die Annahme eines endlichen Proteoms (vgl. Abschnitt 4.4) und der Einbezug eines PSU-Modells (vgl. Abschnitt 4.3), welches die Wechselwirkungen der einzelnen PSU-Komponenten berücksichtigt, die Beschreibung des lichtabhängigen Akklimatisationsverhaltens des photosynthetischen Apparates von *C. vulgaris* zumin-

dest qualitativ ermöglichen und insgesamt zu plausiblen Ergebnissen führen. Zur quantitativen Beschreibung der experimentellen Ergebnisse müssten weitere Mechanismen in der Modellstruktur berücksichtigt werden. Hierzu gehören unter anderem die Photoinhibierung, die lichtabhängige Aktivität der NPQ-Mechanismen und die Variation von  $\sigma_{chl}$  in Abhängigkeit der zellinternen Pigmentkonzentration. Da neben den LHCII-RCII-Komplexen auch die LHCI-RCI-Komplexe Chlorophylle und Carotinoide enthalten, müsste deren PPFD-abhängige Akklimatisationsverhalten ebenfalls berücksichtigt werden, um  $\sigma_{chl}$  quantifizieren zu können. Weiterhin sollte das Minimalmodell (vgl. Abschnitt 4.4) um die metabolischen Reaktionen erweitert werden, in denen die photosynthetischen Produkte in weitere Zellbestandteile umgewandelt und auch zur Generierung von ATP genutzt werden, um zusätzlich die spezifische Wachstumsrate von *C. vulgaris*, die wesentlich von der Biomassezusammensetzung abhängig ist, und nicht nur die Brutto-Photosyntheserate bestimmen zu können [151,155,257,258]. Dadurch wäre es zusätzlich möglich, den Einfluss weiterer Substrate (bspw. CO<sub>2</sub>, Stickstoff, Phosphor, etc.) auf die Zellakklimatisation von *C. vulgaris* berücksichtigen zu können. Das in Abschnitt 4.4 vorgestellte Minimalmodell benötigt zur Modellkalibrierung und -validierung bereits umfassende experimentelle Daten, die unter anderem qualitative und quantitative Informationen über die einzelnen Proteinfractionen beinhalten sollten. Zur Generierung solcher Datensätze bietet sich der Einsatz der modernen *Omic*s-Technologien an, wie in folgender Literatur erfolgreich gezeigt werden konnte: [151,270].

---

## 5 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurden das lichtbedingte Akklimatisations- und Wachstumsverhalten der Modellmikroalge *C. vulgaris* charakterisiert (vgl. Abschnitt 4.1), um das Verständnis der beiden Vorgänge zu erweitern und die experimentell gewonnenen Erkenntnisse (vgl. Abschnitte 4.1 und 4.2) als Grundlage für die nachfolgend durchgeführten Modellierungsarbeiten zu nutzen (vgl. Abschnitte 4.3 und 4.4).

In Hinblick auf die lichtabhängige Akklimatisation des Photosyntheseapparates konnte anhand eigener experimenteller Daten (vgl. Abschnitt 4.1.2.1) und auf Literaturdaten basierender Berechnungen gezeigt werden, dass *C. vulgaris* sowohl die Größe der LHCII-RCII- bzw. LHCI-RCI-Komplexe als auch die Anzahl dieser Komplexe in Abhängigkeit der Lichtverfügbarkeit variiert (siehe Abschnitt 4.1.2.2). Hierbei war besonders auffällig, dass die Reduktion der LHCII-RCII- bzw. LHCI-RCI-Komplexgröße erst ab etwa  $193 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  stattgefunden hat, also kurz vor dem Erreichen des lichtgesättigten Zellwachstums in einem Bereich von ca.  $233\text{--}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Im lichtlimitierten Bereich des Zellwachstums blieb die Größe beider photosynthetischer Komplexe nahezu unverändert. Im Gegensatz dazu nahm die Anzahl der LHCII-RCII- und LHCI-RCI-Komplexe stetig mit steigenden PPFDs ab. Es konnte weiterhin festgestellt werden, dass *C. vulgaris* nicht in der Lage ist, die Energieverluste an den LHCII-RCII-Komplexen durch Photoakklimatisation vollständig zu vermeiden, sodass eine Akkumulation angeregter LHCII-RCII-Komplexe und eine Zunahme der NPQ-Aktivität mit ansteigenden PPFDs beobachtet werden konnten (siehe Abschnitt 4.1.2.5).

Die an den LHCII-RCII-Komplexen entstehenden lichtabhängigen Energieverluste machen sich auch in der Wachstumseffizienz von *C. vulgaris* deutlich bemerkbar, wie in Abschnitt 4.1.1 gezeigt werden konnte. Die maximale photonenspezifische Biomasseausbeute ( $y_{BTM,hv}^*$ ) von etwa  $1,043 \pm 0,062 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$  konnte von *C. vulgaris* lediglich bei geringen PPFDs im Bereich von  $39\text{--}57 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  aufrechterhalten werden. Bei höheren PPFDs war eine stetige Abnahme von  $y_{BTM,hv}^*$  zu verzeichnen, die insbesondere ab dem Erreichen des lichtgesättigten Wachstums (ab ca.  $233\text{--}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) deutlich zu erkennen war. Dieses Ergebnis zeigt eindeutig, dass das Zellwachstum von *C. vulgaris* bereits im lichtlimitierten Bereich nicht mit einer konstanten Effizienz stattfindet. Außerdem konnte festgestellt werden, dass das lichtlimitierte Wachstum von *C. vulgaris* unter Nährstoffsättigung nicht ausschließlich aus der Zunahme der aktiven bzw. funktionalen Biomasse resultiert, sondern auch durch die vermehrte Akkumulation von Kohlenhydraten ergänzt wird. Basierend hierauf erscheint es wahrscheinlich, dass das Wachstum der aktiven Biomasse von *C. vulgaris*, zumindest unter nährstoffgesättigten Bedingungen und einer hohen  $\text{CO}_2$ -Verfügbarkeit (2 % (v/v)  $\text{CO}_2$  im Zugas), durch die BTM-spezifische  $\text{NH}_4^+$ -Aufnahmerate ( $r_{\text{NH}_4}$ ) limitiert wird. Die Rate  $r_{\text{NH}_4}$  erreicht bereits ab etwa  $87 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  den berechneten Maximalwert von  $0,0087 \pm 0,0002 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  (vgl. Abschnitt 4.1.3). Im Vergleich dazu tritt die Lichtsättigung des Zellwachstums von *C. vulgaris* erst bei PPFDs ab  $233\text{--}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  auf. Nach der vollständigen Auslastung von  $r_{\text{NH}_4}$  scheint das weitere Wachstum von *C. vulgaris* hauptsächlich durch die zunehmende Akkumulation von Kohlenhydraten begründet zu sein. Interessanterweise scheint die Induktion der verstärkten Kohlenhydratakkumulation mit einer zusätzlichen Abnahme der Wachstumseffizienz einherzugehen, deren Aus-

prägung ab dem Erreichen des lichtgesättigten Zellwachstums wesentlich zunimmt (vgl. Abschnitte 4.1 und 4.1.3). Eine eindeutige Ursache für die abnehmende Wachstumseffizienz durch eine steigende Anreicherung von Kohlenhydraten konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht identifiziert werden. Es erscheint insgesamt so, dass *C. vulgaris* durch die verstärkte Akkumulation von Kohlenhydraten  $\mu_{max}$  auf Kosten der Wachstumseffizienz maximiert. Ohne die zusätzliche Kohlenhydratakkumulation würde  $\mu_{max}$  von *C. vulgaris* in einem Wertebereich von etwa  $0,0650 \pm 0,0029 \text{ h}^{-1}$  liegen ( $\mu_{max}$ -Wert der aktiven bzw. funktionalen Biomasse). Durch die vermehrte Akkumulation von Kohlenhydraten kann jedoch ein deutlich höherer  $\mu_{max}$ -Wert von ca.  $0,1061 \pm 0,0063 \text{ h}^{-1}$  erreicht werden.

Weiterhin wurde untersucht, ob die Leistungskapazität des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates die maximale Leistungskapazität des gesamten Photosyntheseapparates von *C. vulgaris* limitiert (vgl. Abschnitt 4.2.1). In Anlehnung an das Minimumgesetz [2,23] wurde angenommen, dass eine Reduktion der CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit mit einer Abnahme der maximalen Photosyntheserate einhergehen sollte, falls tatsächlich die CO<sub>2</sub>-Fixierung die maximale Leistungskapazität des Photosyntheseapparates von *C. vulgaris* determiniert. Dieses Experiment hat ergeben, dass trotz der hohen untersuchten Gehalte von 0,2-2 % (v/v) CO<sub>2</sub> im Zugas, die CO<sub>2</sub>-Fixierung die maximale Photosyntheseleistung von *C. vulgaris* zu limitieren scheint. Zudem ging aus dieser Untersuchung hervor, dass scheinbar eine Rückkopplung zwischen der Lichtabsorption an den LHCII-RCII-Komplexen und der nachgeschalteten CO<sub>2</sub>-Fixierung besteht. Basierend auf den Ergebnissen von [23] wird argumentiert, dass eine fehlende Rückkopplung lediglich eine Verschiebung der maximalen Photosyntheserate entlang des Verlaufes der lichtabhängigen Lichtabsorptionskinetik der LHCII-RCII-Komplexe bewirken würde. Da eine Reduktion der maximalen Photosyntheserate durch eine verminderte CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit jedoch eine zusätzliche Verschiebung des Übergangsbereichs zwischen der Lichtlimitierung und -sättigung der jeweiligen schnellen PI-Kurve in Richtung niedrigerer PPFDs bewirkt (vgl. Abbildung 4.15), wird davon ausgegangen, dass eine solche Rückkopplung existiert. Die experimentellen Ergebnisse aus Abschnitt 4.2.1 lieferten relevante Informationen für die nachfolgende Modellierung der stationären lichtabhängigen Photosynthesekinetik in Abschnitt 4.3. Diese Informationen wurden zusätzlich durch die Informationen über das lichtabhängige Akklimatisationsverhalten von *C. vulgaris* aus Abschnitt 4.1 ergänzt. Die Daten und Erkenntnisse der beiden Abschnitte 4.1 und 4.2 bildeten somit die Grundlage für den Modellierungsansatz in Abschnitt 4.3.

Außerdem wurde untersucht, ob möglicherweise die Auslastung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates den beobachteten  $\mu_{max}$ -Wert von etwa  $0,1061 \pm 0,0063 \text{ h}^{-1}$  determiniert (vgl. Abschnitt 4.2.2). Mithilfe der schnellen PI-Kurven mit *C. vulgaris* Zellen, die an unterschiedliche CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeiten akklimatisiert wurden, und der parallelen Erfassung der stationären  $\mu$ -Werte unter den jeweiligen CO<sub>2</sub>-Bedingungen konnte gezeigt werden, dass eine Auslastung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates wahrscheinlich nicht ursächlich für die Lichtsättigung des Zellwachstums ab  $233\text{-}267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ist. Diese Aussage wurde dadurch begründet, dass sich die operativen Punkte von *C. vulgaris* im entsprechenden CO<sub>2</sub>-bedingten Akklimatisationszustand nicht im Lichtsättigungsbereich der jeweiligen schnellen PI-Kurven, die die gesamte photosynthetische Leistungskapazität im entsprechenden Akklimatisationszustand charakterisieren, befanden. Dies gilt zumindest für die untersuchten CO<sub>2</sub>-Bedingungen mit Gehalten von 0,2-2 % (v/v) CO<sub>2</sub> in der Zuluft. Bei einer geringeren CO<sub>2</sub>-Verfügbarkeit (bspw. unter atmosphärischen Bedingungen

mit 0,04 % (v/v) CO<sub>2</sub> [116]) kann hingegen nicht ausgeschlossen werden, dass  $\mu_{max}$  tatsächlich durch die Auslastung des CO<sub>2</sub>-Fixierungsapparates bestimmt wird. Ausgehend von den Ergebnissen in [151,257,258,270] erscheint es wahrscheinlicher, dass bei einer ausreichenden CO<sub>2</sub>-Versorgung die begrenzte Proteomgröße von *C. vulgaris* das maximale Zellwachstum letztendlich determiniert. Bei der Betrachtung der Abbildung 4.13 wird deutlich, dass *C. vulgaris* scheinbar tatsächlich nicht befähigt ist, die Proteomgröße bei steigenden PPFDs zusätzlich zu erhöhen, weshalb die zuvor dargelegte Hypothese in Bezug auf die Limitierung von  $\mu_{max}$  auch im Falle von *C. vulgaris* plausibel erscheint. Weiterhin konnte in Abschnitt 4.2.3 hinsichtlich der CO<sub>2</sub>-bedingten Akklimation von *C. vulgaris* gezeigt werden, dass zumindest bei den drei untersuchten CO<sub>2</sub>-Bedingungen scheinbar keine makroskopisch sichtbare Zellakklimatisation stattfindet.

In Abschnitt 4.3 wurde das Konzept einer PSU angewandt, um die lichtabhängige Leistung des Photosyntheseapparates zu beschreiben. Hierfür wurde definiert, dass die Leistung der PSU effektiv durch zwei limitierende Reaktionsschritte determiniert wird, die je nach Zustand unterschiedlich dominant sind. Zudem wurde angenommen, dass die beiden Reaktionsschritte durch einen Puffer bzw. Elektronenspeicher miteinander gekoppelt sind. Die Lichtabsorption und die anschließende Nutzung der absorbierten Lichtenergie für die Photochemie an den LHCII-RCII-Komplexen bildeten hierbei den ersten effektiven Reaktionsschritt. Beim zweiten Reaktionsschritt wurde angenommen, dass dieser effektiv durch die Kinetik der RuBisCO-katalysierten Carboxylierungsreaktion definiert wird. Der PQ-Pool diene in diesem Zusammenhang als Elektronenspeicher und Bindeglied zwischen den beiden Reaktionsschritten. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Modellansatz die stationäre lichtabhängige Photosynthesekinetik von *C. vulgaris* deutlich besser als das Referenzmodell von Han [26,27] beschreiben kann (vgl. Abschnitt 4.3.1.2). Die anschließende Validierung des in dieser Arbeit entwickelten PSU-Modells (vgl. Abschnitt 4.3) in Abschnitt 4.3.4 hat ergeben, dass dieses Modell in der Lage ist, die operativen stationären Photosyntheseraten von *C. vulgaris* bei verschiedenen lichtabhängigen Akklimationzuständen mit einer zufriedenstellenden Genauigkeit ( $R^2$ : 0,9688; nRMSE: 11,74 %; nMBE: -9,76 %) vorherzusagen. Damit bildet dieses prozessnahe PSU-Modell eine gute Grundlage für weitere Arbeiten im Bereich der Modellierung der photoautotrophen Wachstums- bzw. Photosynthesekinetik. Ergänzend dazu konnte in Abschnitt 4.3.2 der Einfluss des systembedingten Lichtprofils auf die physiologisch bedingte Photosynthesekinetik gezeigt werden. Anhand der Ergebnisse wurde verdeutlicht, dass ein starker Lichtgradient die Photosynthesekinetik maskieren und damit verfälschen kann. Dabei konnte festgestellt werden, dass je stärker der Lichtgradient ausgeprägt ist, desto flacher und dem Verlauf einer typischen Sättigungskinetik eher entsprechend fällt der lichtabhängige Verlauf der Photosynthesekinetik aus. Deshalb sollte insbesondere bei kinetischen Untersuchungen eine möglichst gleichmäßige Lichtverteilung angestrebt werden, die durch eine entsprechende Gestaltung der Experimente und Apparaturen erreicht werden kann (vgl. Abschnitte 3.1.3 und 3.3.5).

Basierend auf dem in Abschnitt 4.3 vorgestellten PSU-Modell und den Modellierungsansätzen von [151,258,265] wurde in Abschnitt 4.4 ein Minimalmodell erstellt. Mithilfe dieses Minimalmodells wurde untersucht, inwieweit bereits die Annahme eines begrenzten Proteoms ausreicht, um das lichtabhängige Akklimationsverhalten des Photosyntheseapparates von *C. vulgaris* zu erklären. Im Rahmen dieser Untersuchung hat sich unter anderem gezeigt, dass die

Einschränkung durch ein begrenztes Proteom eine gleichbleibende Photosyntheseeffizienz trotz der Photoakklimatisation verhindert. Demnach steigen die Energieverluste an den LHCII-RCII-Komplexen unweigerlich mit zunehmenden Akklimatisations-PPFDs an, auch im Bereich sehr niedriger PPFDs. Weiterhin hat sich ergeben, dass eine Überexpression von LHCII-RCII-Komplexen sowie RuBisCO für die Mikroalgenzelle scheinbar vorteilhaft ist und eine Optimierung der RCII-spezifischen Photosyntheserate ermöglicht, indem durch die Überexpression der beiden PSU-Komponenten ein vermehrter Elektronenstau und die damit verknüpften Energieverluste minimiert werden. Einen Hinweis auf eine mögliche Überexpression der LHCII-RCII-Komplexe lieferten ebenfalls die experimentellen Daten in Abbildung 4.9.B. Es sollte jedoch beachtet werden, dass der Anspruch dieses Modellierungsansatzes in der isolierten Untersuchung der Auswirkung eines begrenzten Proteoms auf die lichtbedingte Akklimatisation der PSU bestand. Dementsprechend sind quantitative Aussagen mit diesem Minimalmodell nicht möglich. Außerdem müssten weitere Aspekte wie bspw. die lichtabhängige Variation der Modellparameter  $\sigma_{RCII}$ ,  $\phi_{RCII}$  sowie die tatsächlichen (experimentell validierten) maximalen und minimalen Anzahlen und Größen der photosynthetischen Komplexe in diesem Minimalmodell berücksichtigt werden, um ebenso die qualitative Übereinstimmung zwischen den Modellvorhersagen und den experimentellen Daten (vgl. Abschnitte 4.1 und 4.3) zu verbessern. Aus diesen Gründen sollte das in Abschnitt 4.4 vorgestellte Minimalmodell eher als ein grundlegender Modellierungsansatz verstanden werden.

Aus den Abschnitten 4.1 und 4.2 geht unmittelbar die Komplexität des Akklimatisationsverhaltens von *C. vulgaris* hervor. Die Ergebnisse haben verdeutlicht, dass diverse Zellkomponenten im Rahmen dieses Prozesses miteinander interagieren. Möglicherweise ist die Komplexität dieses Prozesses der Grund dafür, dass simple Wachstumsmodelle, wie z. B. das Blackman-[163] oder Monod-Modell [235], noch nicht einmal in der Lage sind, die effektive lichtabhängige Wachstumskinetik von *C. vulgaris* im akklimatisierten Zustand adäquat zu beschreiben (vgl. Abschnitt 4.1.1). Hierfür werden umfassendere, mechanistische Modelle benötigt (siehe Beispiele in [151,258,265]). Solche Modelle erfordern wiederum umfassende Datensätze, die den Metabolismus nach Möglichkeit in seiner Gesamtheit erfassen sollten und dementsprechend eine umfangreiche Analytik erfordern. Die modernen *Omic*s-Technologien in Kombination mit bioanalytischen Methoden können diese komplexe Anforderung erfüllen und sollten deshalb verstärkt im Rahmen der mechanistischen Modellierung des Zellwachstums von Mikroalgen eingesetzt werden [151,270]. Die vorliegende Arbeit stellt ein Beispiel dar, wie solche tiefgreifenden Daten und daraus resultierenden Erkenntnisse genutzt werden könnten, um einzelne Reaktionsschritte in der Mikroalgenzelle mechanistisch und zeitgleich für eine prozessnahe Anwendung ausreichend vereinfacht zu modellieren. Das in dieser Arbeit entwickelte PSU-Modell zur Beschreibung der stationären lichtabhängigen Photosynthesekinetik (vgl. Abschnitt 4.3) bietet eine solide und prozessnahe Grundlage für weitere Modellierungsarbeiten, die im nächsten Schritt die Erweiterung des Grundmodells um die dynamischen Prozesse, wie bspw. den *flashing-light* Effekt [58,169] und die Dynamik der Photoakklimatisation von Mikroalgen [29,127,161], zum Ziel haben sollten. Dies würde die Anwendbarkeit des hier vorgestellten PSU-Modells im Rahmen eines gesamtheitlichen Multiphysik-Modells auf dynamische Mikroalgenkultivierungen im industriellen Maßstab ermöglichen [22–25,330].

---

## 6 Literaturverzeichnis

- [1] P.G. Falkowski, J.A. Raven, Aquatic photosynthesis, Second edition, Princeton University Press, Princeton, 2007.
- [2] C. Posten, Integrated Bioprocess Engineering, De Gruyter, Berlin, Boston, 2018.
- [3] Q. Hu, M. Sommerfeld, E. Jarvis, M. Ghirardi, M. Posewitz, M. Seibert, A. Darzins, Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances, *Plant J.* 54 (2008) 621–639. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x>.
- [4] I.T.K. Ru, Y.Y. Sung, M. Jusoh, M.E.A. Wahid, T. Nagappan, *Chlorella vulgaris* a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts, *Applied Phycology* 1 (2020) 2–11. <https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1715256>.
- [5] G.A.F. Fernández, A. Reis, R.H. Wijffels, M. Barbosa, V. Verdelho, B. Llamas, The role of microalgae in the bioeconomy, *N. Biotechnol.* 61 (2021) 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.11.011>.
- [6] C. Safi, B. Zebib, O. Merah, P.-Y. Pontalier, C. Vaca-Garcia, Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 35 (2014) 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>.
- [7] E.W. Becker, Micro-algae as a source of protein, *Biotechnol. Adv.* 25 (2007) 207–210. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>.
- [8] R. Sathasivam, J.-S. Ki, A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries, *Mar. Drugs* 16 (2018). <https://doi.org/10.3390/md16010026>.
- [9] P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran, A. Isambert, Commercial applications of microalgae, *J. Biosci. Bioeng.* 101 (2006) 87–96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>.
- [10] R.T. Lorenz, G.R. Cysewski, Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin, *Trends Biotechnol.* 18 (2000) 160–167. [https://doi.org/10.1016/S0167-7799\(00\)01433-5](https://doi.org/10.1016/S0167-7799(00)01433-5).
- [11] Gatamaneni Loganathan Bhalamurugan, V. Orsat, M. Lefsrud, Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review, *Environmental Engineering Research* 23 (2018) 229–241. <https://doi.org/10.4491/eer.2017.220>.
- [12] T. Wang, H. Yabar, Y. Higano, Perspective assessment of algae-based biofuel production using recycled nutrient sources: the case of Japan, *Bioresour. Technol.* 128 (2013) 688–696. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.102>.
- [13] O.-U.-M. Tanadul, J.S. VanderGheynst, D.M. Beckles, A.L.T. Powell, J.M. Labavitch, The impact of elevated CO<sub>2</sub> concentration on the quality of algal starch as a potential biofuel feedstock, *Biotechnol. Bioeng.* 111 (2014) 1323–1331. <https://doi.org/10.1002/bit.25203>.
- [14] Y. Chisti, Biodiesel from microalgae beats bioethanol, *Trends Biotechnol.* 26 (2008) 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.12.002>.
- [15] A. Converti, A.A. Casazza, E.Y. Ortiz, P. Perego, M. Del Borghi, Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48 (2009) 1146–1151. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.03.006>.

- [16] Dillschneider, R. Steinweg, C. Rosello-Sastre, R. Posten, C., Biofuels from microalgae: photoconversion efficiency during lipid accumulation, *Bioresour. Technol.* 142 (2013) 647–654. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.088>.
- [17] T.M. Mata, A.A. Martins, N.S. Caetano, Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 (2010) 217–232. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020>.
- [18] F.G. Acién, C. Gómez-Serrano, M.M. Morales-Amaral, J.M. Fernández-Sevilla, E. Molina-Grima, Wastewater treatment using microalgae: how realistic a contribution might it be to significant urban wastewater treatment?, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100 (2016) 9013–9022. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7835-7>.
- [19] F.G. Acién Fernández, C.V. González-López, J.M. Fernández Sevilla, E. Molina Grima, Conversion of CO<sub>2</sub> into biomass by microalgae: how realistic a contribution may it be to significant CO<sub>2</sub> removal?, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 96 (2012) 577–586. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4362-z>.
- [20] A. Melis, Solar energy conversion efficiencies in photosynthesis: Minimizing the chlorophyll antennae to maximize efficiency, *Plant Science* 177 (2009) 272–280. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.06.005>.
- [21] X.-G. Zhu, S.P. Long, D.R. Ort, What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass?, *Current Opinion in Biotechnology* 19 (2008) 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.02.004>.
- [22] C. Posten, Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae, *Eng. Life Sci.* 9 (2009) 165–177. <https://doi.org/10.1002/elsc.200900003>.
- [23] K. Schediwy, A. Trautmann, C. Steinweg, C. Posten, Microalgal kinetics - a guideline for photobioreactor design and process development, *Eng. Life Sci.* 19 (2019) 830–843. <https://doi.org/10.1002/elsc.201900107>.
- [24] S. Park, Y. Li, Integration of biological kinetics and computational fluid dynamics to model the growth of *Nannochloropsis salina* in an open channel raceway, *Biotechnol. Bioeng.* 112 (2015) 923–933. <https://doi.org/10.1002/bit.25509>.
- [25] Q. Béchet, A. Shilton, B. Guieysse, Modeling the effects of light and temperature on algae growth: state of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation, *Biotechnol. Adv.* 31 (2013) 1648–1663. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.08.014>.
- [26] B.-P. Han, M. Virtanen, J. Koponen, M. Straskraba, Effect of photoinhibition on algal photosynthesis: a dynamic model, *J Plankton Res* 22 (2000) 865–885. <https://doi.org/10.1093/plankt/22.5.865>.
- [27] B.-P. Han, A mechanistic model of algal photoinhibition induced by photodamage to photosystem-II, *J. Theor. Biol.* 214 (2002) 519–527. <https://doi.org/10.1006/jtbi.2001.2468>.
- [28] A. Bernardi, A. Nikolaou, A. Meneghesso, T. Morosinotto, B. Chachuat, F. Bezzo, High-fidelity modelling methodology of light-limited photosynthetic production in microalgae, *PLoS ONE* 11 (2016) e0156922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156922>.
- [29] A. Bernardi, A. Nikolaou, A. Meneghesso, B. Chachuat, T. Morosinotto, F. Bezzo, Semi-empirical modeling of microalgae photosynthesis in different acclimation states - Application to *N. gaditana*, *J. Biotechnol.* 259 (2017) 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.08.002>.

- [30] M.W. Beijerinck, Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen, Algen. Bot. Ztg. 48 (1890) 725-772,781-788.
- [31] M. Yamamoto, M. Fujishita, A. Hirata, S. Kawano, Regeneration and maturation of daughter cell walls in the autospore-forming green alga *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae), J. Plant Res. 117 (2004) 257–264. <https://doi.org/10.1007/s10265-004-0154-6>.
- [32] H.J. Morris, A. Almarales, O. Carrillo, R.C. Bermúdez, Utilisation of *Chlorella vulgaris* cell biomass for the production of enzymatic protein hydrolysates, Bioresour. Technol. 99 (2008) 7723–7729. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.01.080>.
- [33] P.G. Falkowski, The role of phytoplankton photosynthesis in global biogeochemical cycles, Photosynthesis Research 39 (1994) 235–258. <https://doi.org/10.1007/BF00014586>.
- [34] Field, B., Randerson, F., Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components, Science 281 (1998) 237–240. <https://doi.org/10.1126/science.281.5374.237>.
- [35] R. Dillschneider, Die Effizienz der Kultivierung von Mikroalgen zur Biodieselgewinnung - Prozessentwicklung auf der Grundlage von Energiebilanzierung, Simulation und Integration modellprädiktiver Regelungskonzepte, Karlsruhe, 2014.
- [36] R. Croce, H. van Amerongen, Light-harvesting in photosystem I, Photosynthesis Research 116 (2013) 153–166. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9838-x>.
- [37] H. van Amerongen, R. Croce, Light harvesting in photosystem II, Photosynthesis Research 116 (2013) 251–263. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9824-3>.
- [38] T. Mirkovic, E.E. Ostroumov, J.M. Anna, R. van Grondelle, Govindjee, G.D. Scholes, Light absorption and energy transfer in the antenna complexes of photosynthetic organisms, Chem. Rev. 117 (2017) 249–293. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00002>.
- [39] J.M. Anna, G.D. Scholes, R. van Grondelle, A little coherence in photosynthetic light harvesting, BioScience 64 (2014) 14–25. <https://doi.org/10.1093/biosci/bit002>.
- [40] Y.-C. Cheng, G.R. Fleming, Dynamics of light harvesting in photosynthesis, Annu. Rev. Phys. Chem. 60 (2009) 241–262. <https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.040808.090259>.
- [41] A. Ishizaki, G.R. Fleming, Quantum coherence in photosynthetic light harvesting, Annu. Rev. Condens. Matter Phys. 3 (2012) 333–361. <https://doi.org/10.1146/annurev-conmatphys-020911-125126>.
- [42] G.D. Scholes, G.R. Fleming, A. Olaya-Castro, R. van Grondelle, Lessons from nature about solar light harvesting, Nat. Chem. 3 (2011) 763–774. <https://doi.org/10.1038/nchem.1145>.
- [43] G.D. Scholes, T. Mirkovic, D.B. Turner, F. Fassiooli, A. Buchleitner, Solar light harvesting by energy transfer: from ecology to coherence, Energy Environ. Sci. 5 (2012) 9374. <https://doi.org/10.1039/c2ee23013e>.
- [44] R.R. Bidigare, M.E. Ondrusek, J.H. Morrow, D.A. Kiefer, In-vivo absorption properties of algal pigments, in: Ocean Optics X, Orlando, FL, United States, SPIE, 1990, p. 290.
- [45] J. Dauchet, S. Blanco, J.-F. Cornet, R. Fournier, Calculation of the radiative properties of photosynthetic microorganisms, Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 161 (2015) 60–84. <https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2015.03.025>.
- [46] N.R. Baker, Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo, Annu. Rev. Plant Biol. 59 (2008) 89–113. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092759>.

- [47] E.H. Murchie, T. Lawson, Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications, *J. Exp. Bot.* 64 (2013) 3983–3998. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert208>.
- [48] K.K. Niyogi, T.B. Truong, Evolution of flexible non-photochemical quenching mechanisms that regulate light harvesting in oxygenic photosynthesis, *Curr. Opin. Plant Biol.* 16 (2013) 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.03.011>.
- [49] A.V. Ruban, Nonphotochemical Chlorophyll Fluorescence Quenching: Mechanism and Effectiveness in Protecting Plants from Photodamage, *Plant Physiol.* 170 (2016) 1903–1916. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01935>.
- [50] D. Siefermann-Harms, The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes, *Physiol Plant* 69 (1987) 561–568. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1987.tb09240.x>.
- [51] V. Correa-Galvis, P. Redekop, K. Guan, A. Griess, T.B. Truong, S. Wakao, K.K. Niyogi, P. Jahns, Photosystem II subunit PsbS is involved in the induction of LHCSR protein-dependent energy dissipation in *Chlamydomonas reinhardtii*, *J. Biol. Chem.* 291 (2016) 17478–17487. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.737312>.
- [52] K.J. Karki, J. Chen, A. Sakurai, Q. Shi, A.T. Gardiner, O. Kühn, R.J. Cogdell, T. Pullerits, Before Förster. Initial excitation in photosynthetic light harvesting, *Chem. Sci.* 10 (2019) 7923–7928. <https://doi.org/10.1039/c9sc01888c>.
- [53] V.I. Novoderezhkin, R. van Grondelle, Physical origins and models of energy transfer in photosynthetic light-harvesting, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 12 (2010) 7352–7365. <https://doi.org/10.1039/c003025b>.
- [54] T. Förster, Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz, *Ann. Phys.* 437 (1948) 55–75. <https://doi.org/10.1002/andp.19484370105>.
- [55] L. Stryer, Fluorescence energy transfer as a spectroscopic ruler, *Annu. Rev. Biochem.* 47 (1978) 819–846. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.47.070178.004131>.
- [56] H. Wallrabe, A. Periasamy, Imaging protein molecules using FRET and FLIM microscopy, *Current Opinion in Biotechnology* 16 (2005) 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2004.12.002>.
- [57] D.W. Piston, G.-J. Kremers, Fluorescent protein FRET: the good, the bad and the ugly, *Trends in Biochemical Sciences* 32 (2007) 407–414. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2007.08.003>.
- [58] P.S.C. Schulze, R. Guerra, H. Pereira, L.M. Schüler, J.C.S. Varela, Flashing LEDs for microalgal production, *Trends Biotechnol.* 35 (2017) 1088–1101. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.07.011>.
- [59] A.G. Redfield, The Theory of Relaxation Processes, in: *Advances in Magnetic Resonance*, Elsevier, 1965, pp. 1–32.
- [60] G.R. Fleming, G.D. Scholes, Physical chemistry: quantum mechanics for plants, *Nature* 431 (2004) 256–257. <https://doi.org/10.1038/431256a>.
- [61] B. Demmig-Adams, W.W. Adams, Photoprotection and other responses of plants to high light stress, *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 43 (1992) 599–626. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.43.060192.003123>.
- [62] J.A. Raven, The cost of photoinhibition, *Physiol. Plant.* 142 (2011) 87–104. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2011.01465.x>.

- [63] D.L. Dexter, A theory of sensitized luminescence in solids, *The Journal of Chemical Physics* 21 (1953) 836–850. <https://doi.org/10.1063/1.1699044>.
- [64] B. Kê, Role of Carotenoids in Photosynthesis, in: B. Kê (Ed.), *Photosynthesis: Photobiology and photobiophysics*, Kluwer Academic, Dordrecht, 2001, pp. 229–250.
- [65] R. Bittl, E. Schlodder, I. Geisenheimer, W. Lubitz, R.J. Cogdell, Transient EPR and absorption studies of carotenoid triplet formation in purple bacterial antenna complexes, *J. Phys. Chem. B* 105 (2001) 5525–5535. <https://doi.org/10.1021/jp0033014>.
- [66] J.P. Dekker, E.J. Boekema, Supramolecular organization of thylakoid membrane proteins in green plants, *Biochim. Biophys. Acta* 1706 (2005) 12–39. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2004.09.009>.
- [67] W.A. Cramer, T. Kallas (Eds.), *Cytochrome Complexes: Evolution, Structures, Energy Transduction, and Signaling*, Springer Netherlands, Dordrecht, s.l., 2016.
- [68] D.J. Vinyard, G.M. Ananyev, G.C. Dismukes, Photosystem II: the reaction center of oxygenic photosynthesis, *Annu. Rev. Biochem.* 82 (2013) 577–606. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-070511-100425>.
- [69] M. Honti, Stochastic parallel processing can shape photosynthesis–irradiance curves in phytoplankton—the Q model, *Hydrobiologia* 592 (2007) 315–328. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-0764-9>.
- [70] B. Diner, D. Mauzerall, The turnover times of photosynthesis and redox properties of the pool of electron carriers between the photosystems, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 305 (1973) 353–363. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(73\)90181-3](https://doi.org/10.1016/0005-2728(73)90181-3).
- [71] M.A. Borowitzka, J. Beardall, J.A. Raven, *The Physiology of Microalgae*, Springer International Publishing, Cham, 2016.
- [72] A.W.D. Larkum, A.R. Grossmann, J.A. Raven, *Photosynthesis in Algae: Biochemical and Physiological Mechanisms*, Springer International Publishing, Cham, 2020.
- [73] Govindjee, D. Shevela, L.O. Björn, Evolution of the Z-scheme of photosynthesis: a perspective, *Photosynthesis Research* 133 (2017) 5–15. <https://doi.org/10.1007/s11120-016-0333-z>.
- [74] R. Mitchell, A. Spillmann, W. Haehnel, Plastoquinol diffusion in linear photosynthetic electron transport, *Biophysical Journal* 58 (1990) 1011–1024. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(90\)82445-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(90)82445-0).
- [75] H. Kirchhoff, S. Haferkamp, J.F. Allen, D.B.A. Epstein, C.W. Mullineaux, Protein diffusion and macromolecular crowding in thylakoid membranes, *Plant Physiol.* 146 (2008) 1571–1578. <https://doi.org/10.1104/pp.107.115170>.
- [76] M. Blackwell, C. Gibas, S. Gyax, D. Roman, B. Wagner, The plastoquinone diffusion coefficient in chloroplasts and its mechanistic implications, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1183 (1994) 533–543. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(94\)90081-7](https://doi.org/10.1016/0005-2728(94)90081-7).
- [77] I.G. Tremmel, H. Kirchhoff, E. Weis, G.D. Farquhar, Dependence of plastoquinol diffusion on the shape, size, and density of integral thylakoid proteins, *Biochim. Biophys. Acta* 1607 (2003) 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2003.09.004>.
- [78] J.S. Rieske, D.H. MacLennan, R. Coleman, Isolation and properties of an iron-protein from the (reduced coenzyme Q)-cytochrome C reductase complex of the respiratory chain, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 15 (1964) 338–344. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(64\)90171-8](https://doi.org/10.1016/0006-291X(64)90171-8).

- [79] W.J. Nawrocki, B. Bailleul, P. Cardol, F. Rappaport, F.-A. Wollman, P. Joliot, Maximal cyclic electron flow rate is independent of PGRL1 in *Chlamydomonas*, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1860 (2019) 425–432. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.01.004>.
- [80] W.J. Nawrocki, B. Bailleul, D. Picot, P. Cardol, F. Rappaport, F.-A. Wollman, P. Joliot, The mechanism of cyclic electron flow, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1860 (2019) 433–438. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2018.12.005>.
- [81] A. Busch, M. Hippler, The structure and function of eukaryotic photosystem I, *Biochim. Biophys. Acta* 1807 (2011) 864–877. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.09.009>.
- [82] J.F. Allen, Cyclic, pseudocyclic and noncyclic photophosphorylation: new links in the chain, *Trends in Plant Science* 8 (2003) 15–19. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)00006-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)00006-7).
- [83] H. Seelert, A. Poetsch, N.A. Dencher, A. Engel, H. Stahlberg, D.J. Müller, Structural biology. Proton-powered turbine of a plant motor, *Nature* 405 (2000) 418–419. <https://doi.org/10.1038/35013148>.
- [84] J. Alric, Cyclic electron flow around photosystem I in unicellular green algae, *Photosynthesis Research* 106 (2010) 47–56. <https://doi.org/10.1007/s11120-010-9566-4>.
- [85] J. Alric, J. Lavergne, F. Rappaport, Redox and ATP control of photosynthetic cyclic electron flow in *Chlamydomonas reinhardtii* (I) aerobic conditions, *Biochim. Biophys. Acta* 1797 (2010) 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2009.07.009>.
- [86] J. Alric, Redox and ATP control of photosynthetic cyclic electron flow in *Chlamydomonas reinhardtii*: (II) involvement of the PGR5-PGRL1 pathway under anaerobic conditions, *Biochim. Biophys. Acta* 1837 (2014) 825–834. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2014.01.024>.
- [87] B. Fuks, F. Homblé, Mechanism of proton permeation through chloroplast lipid membranes, *Plant Physiol.* 112 (1996) 759–766. <https://doi.org/10.1104/pp.112.2.759>.
- [88] B. Lucker, D.M. Kramer, Regulation of cyclic electron flow in *Chlamydomonas reinhardtii* under fluctuating carbon availability, *Photosynthesis Research* 117 (2013) 449–459. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9932-0>.
- [89] D.M. Kramer, J.R. Evans, The importance of energy balance in improving photosynthetic productivity, *Plant Physiol.* 155 (2011) 70–78. <https://doi.org/10.1104/pp.110.166652>.
- [90] C. Miyake, Alternative electron flows (water-water cycle and cyclic electron flow around PSI) in photosynthesis: molecular mechanisms and physiological functions, *Plant and Cell Physiology* 51 (2010) 1951–1963. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcq173>.
- [91] K. Asada, The water-water cycle as alternative photon and electron sinks, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 355 (2000) 1419–1431. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0703>.
- [92] K.E. Wilson, A.G. Ivanov, G. Öquist, B. Grodzinski, F. Sarhan, N.P.A. Huner, Energy balance, organellar redox status, and acclimation to environmental stress, *Can. J. Bot.* 84 (2006) 1355–1370. <https://doi.org/10.1139/B06-098>.
- [93] L. Shen, Z. Huang, S. Chang, W. Wang, J. Wang, T. Kuang, G. Han, J.-R. Shen, X. Zhang, Structure of a C2S2M2N2-type PSII-LHCII supercomplex from the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116 (2019) 21246–21255. <https://doi.org/10.1073/pnas.1912462116>.
- [94] D. Noy, C.C. Moser, P.L. Dutton, Design and engineering of photosynthetic light-harvesting and electron transfer using length, time, and energy scales, *Biochim. Biophys. Acta* 1757 (2006) 90–105. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2005.11.010>.

- [95] R.N. Burton-Smith, A. Watanabe, R. Tokutsu, C. Song, K. Murata, J. Minagawa, Structural determination of the large photosystem II-light-harvesting complex II supercomplex of *Chlamydomonas reinhardtii* using nonionic amphipol, *J. Biol. Chem.* 294 (2019) 15003–15013. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.009341>.
- [96] B. Drop, M. Webber-Birungi, S.K.N. Yadav, A. Filipowicz-Szymanska, F. Fusetti, E.J. Boekema, R. Croce, Light-harvesting complex II (LHCII) and its supramolecular organization in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Biochim. Biophys. Acta* 1837 (2014) 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2013.07.012>.
- [97] K.H. Grumbach, H.K. Lichtenthaler, K.H. Erismann, Incorporation of  $^{14}\text{CO}_2$  in photosynthetic pigments of *Chlorella pyrenoidosa*, *Planta* 140 (1978) 37–43. <https://doi.org/10.1007/BF00389377>.
- [98] L. Gouveia, V. Veloso, A. Reis, H. Fernandes, J. Novais, J. Empis, Evolution of pigment composition in *Chlorella vulgaris*, *Bioresour. Technol.* 57 (1996) 157–163. [https://doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00058-2](https://doi.org/10.1016/0960-8524(96)00058-2).
- [99] M.B. Allen, T.W. Goodwin, S. Phagpolngarm, Carotenoid distribution in certain naturally occurring algae and in some artificially induced mutants, *J. Gen. Microbiol.* 23 (1960) 93–103. <https://doi.org/10.1099/00221287-23-1-93>.
- [100] B. Kok, B. Forbush, M. McGloin, Cooperation of charges in photosynthetic  $\text{O}_2$  evolution-I. A linear four step mechanism, *Photochem Photobiol* 11 (1970) 457–475. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1970.tb06017.x>.
- [101] P. Joliot, Earlier researches on the mechanism of oxygen evolution: A personal account, *Photosynth Res* 38 (1993) 214–223. <https://doi.org/10.1007/BF00046747>.
- [102] R. de Wijn, H.J. van Gorkom, Kinetics of electron transfer from Q(a) to Q(b) in photosystem II, *Biochemistry* 40 (2001) 11912–11922. <https://doi.org/10.1021/bi010852r>.
- [103] G.H. Schatz, H. Brock, A.R. Holzwarth, Kinetic and energetic model for the primary processes in Photosystem II, *Biophysical Journal* 54 (1988) 397–405. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(88\)82973-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(88)82973-4).
- [104] A. Laik, H. Eichelmann, V. Oja, R.B. Peterson, Control of cytochrome b6f at low and high light intensity and cyclic electron transport in leaves, *Biochim. Biophys. Acta* 1708 (2005) 79–90. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2005.01.007>.
- [105] A. Sukenik, J. Bennett, P. Falkowski, Light-saturated photosynthesis — Limitation by electron transport or carbon fixation?, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 891 (1987) 205–215. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(87\)90216-7](https://doi.org/10.1016/0005-2728(87)90216-7).
- [106] B. Drop, M. Webber-Birungi, F. Fusetti, R. Kouřil, K.E. Redding, E.J. Boekema, R. Croce, Photosystem I of *Chlamydomonas reinhardtii* contains nine light-harvesting complexes (Lhca) located on one side of the core, *J. Biol. Chem.* 286 (2011) 44878–44887. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.301101>.
- [107] E.J. Stauber, A. Busch, B. Naumann, A. Svatos, M. Hippler, Proteotypic profiling of LHCI from *Chlamydomonas reinhardtii* provides new insights into structure and function of the complex, *Proteomics* 9 (2009) 398–408. <https://doi.org/10.1002/pmic.200700620>.
- [108] C. Le Quiniou, L. Tian, B. Drop, E. Wientjes, I.H.M. van Stokkum, B. van Oort, R. Croce, PSI-LHCI of *Chlamydomonas reinhardtii*: Increasing the absorption cross section without losing efficiency, *Biochim. Biophys. Acta* 1847 (2015) 458–467. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2015.02.001>.

- [109] H. Kubota-Kawai, R.N. Burton-Smith, R. Tokutsu, C. Song, S. Akimoto, M. Yokono, Y. Ueno, E. Kim, A. Watanabe, K. Murata, J. Minagawa, Ten antenna proteins are associated with the core in the supramolecular organization of the photosystem I supercomplex in *Chlamydomonas reinhardtii*, *J. Biol. Chem.* 294 (2019) 4304–4314. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006536>.
- [110] J. Kargul, J. Nield, J. Barber, Three-dimensional reconstruction of a light-harvesting complex I-photosystem I (LHCI-PSI) supercomplex from the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. Insights into light harvesting for PSI, *J. Biol. Chem.* 278 (2003) 16135–16141. <https://doi.org/10.1074/jbc.M300262200>.
- [111] J.A. Raven, Physiology of inorganic C acquisition and implications for resource use efficiency by marine phytoplankton: relation to increased CO<sub>2</sub> and temperature, *Plant Cell Environ* 14 (1991) 779–794. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01442.x>.
- [112] M.R. Badger, T.J. Andrews, S.M. Whitney, M. Ludwig, D.C. Yellowlees, W. Leggat, G.D. Price, The diversity and coevolution of Rubisco, plastids, pyrenoids, and chloroplast-based CO<sub>2</sub>-concentrating mechanisms in algae, *Can. J. Bot.* 76 (1998) 1052–1071. <https://doi.org/10.1139/b98-074>.
- [113] X. Johnson, J. Alric, Central carbon metabolism and electron transport in *Chlamydomonas reinhardtii*: metabolic constraints for carbon partitioning between oil and starch, *Eukaryot. Cell* 12 (2013) 776–793. <https://doi.org/10.1128/EC.00318-12>.
- [114] F.R. Tabita, T.E. Hanson, H. Li, S. Satagopan, J. Singh, S. Chan, Function, structure, and evolution of the RubisCO-like proteins and their RubisCO homologs, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 71 (2007) 576–599. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00015-07>.
- [115] Y. Savir, E. Noor, R. Milo, T. Tlusty, Cross-species analysis traces adaptation of Rubisco toward optimality in a low-dimensional landscape, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107 (2010) 3475–3480. <https://doi.org/10.1073/pnas.0911663107>.
- [116] NOAA, Atmospheric CO<sub>2</sub> at Mauna Loa Observatory, 2022. <https://gml.noaa.gov/ccgg/trends/> (accessed 8 May 2022).
- [117] J.L. Losh, J.N. Young, F.M.M. Morel, Rubisco is a small fraction of total protein in marine phytoplankton, *New Phytol.* 198 (2013) 52–58. <https://doi.org/10.1111/nph.12143>.
- [118] G.G.B. Tcherkez, G.D. Farquhar, T.J. Andrews, Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all ribulose biphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103 (2006) 7246–7251. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600605103>.
- [119] R.J. Spreitzer, M.E. Salvucci, Rubisco: structure, regulatory interactions, and possibilities for a better enzyme, *Annu. Rev. Plant Biol.* 53 (2002) 449–475. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.53.100301.135233>.
- [120] A.M.J. Kliphuis, D.E. Martens, M. Janssen, R.H. Wijffels, Effect of O<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> ratio on the primary metabolism of *Chlamydomonas reinhardtii*, *Biotechnol. Bioeng.* 108 (2011) 2390–2402. <https://doi.org/10.1002/bit.23194>.
- [121] J.E. Burris, Effects of oxygen and inorganic carbon concentrations on the photosynthetic quotients of marine algae, *Mar. Biol.* 65 (1981) 215–219. <https://doi.org/10.1007/BF00397114>.
- [122] D.B. Jordan, W.L. Ogren, Species variation in the specificity of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase, *Nature* 291 (1981) 513. <https://doi.org/10.1038/291513a0>.

- [123] J. Beardall, A. Quigg, J.A. Raven, Oxygen Consumption: Photorespiration and Chlororespiration, in: Govindjee, A.W.D. Larkum, S.E. Douglas, J.A. Raven (Eds.), *Photosynthesis in Algae*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2003, pp. 157–181.
- [124] N.D. Lloyd, D.T. Canvin, D.A. Culver, Photosynthesis and photorespiration in algae, *Plant Physiol.* 59 (1977) 936–940. <https://doi.org/10.1104/pp.59.5.936>.
- [125] H. Chmiel, R. Takors, D. Weuster-Botz (Eds.), *Bioprozesstechnik*, 4th ed., Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, 2018.
- [126] J.A. Raven, J. Beardall, A.W.D. Larkum, P. Sánchez-Baracaldo, Interactions of photosynthesis with genome size and function, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 368 (2013) 20120264. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0264>.
- [127] M. Katzenmeyer, *Effizienzerhöhung in der Kultivierung von Mikroalgen – Prozessoptimierung und Bioreaktorentwicklung*, Karlsruhe, 2020.
- [128] C. Baroukh, R. Muñoz-Tamayo, J.-P. Steyer, O. Bernard, DRUM: a new framework for metabolic modeling under non-balanced growth. Application to the carbon metabolism of unicellular microalgae, *PLoS ONE* 9 (2014) e104499. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104499>.
- [129] J. McMurry, T.P. Begley, *Organische Chemie der biologischen Stoffwechselwege*, first. Aufl., Elsevier Spektrum Akad. Verl., Heidelberg, 2006.
- [130] A. Trautmann, *Prozessstrategien zur Beeinflussung der makromolekularen Zellzusammensetzung photoautotropher Mikroorganismen bei Kultivierungen im Labor- und Pilotmaßstab*. Dissertation, Karlsruhe, 2018.
- [131] Z.V. Finkel, M.J. Follows, J.D. Liefer, C.M. Brown, I. Benner, A.J. Irwin, Phylogenetic diversity in the macromolecular composition of microalgae, *PLoS ONE* 11 (2016) e0155977. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155977>.
- [132] S.R. Steinbusch, *Einfluss von Licht und Temperatur auf die Kultivierung von Mikroalgen - Auslegung und Betrieb von Freiland-Pilotanlagen zur Bestimmung prozessrelevanter Kinetiken*, Karlsruhe, 2015.
- [133] F. Martínez, C. Ascaso, M.I. Orús, Morphometric and stereologic analysis of *Chlorella vulgaris* under heterotrophic growth conditions, *Annals of Botany* 67 (1991) 239–245. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088128>.
- [134] A. Guccione, N. Biondi, G. Sampietro, L. Rodolfi, N. Bassi, M.R. Tredici, *Chlorella* for protein and biofuels: from strain selection to outdoor cultivation in a Green Wall Panel photobioreactor, *Biotechnol. Biofuels* 7 (2014) 84. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-7-84>.
- [135] M.T. Guarnieri, A. Nag, S.L. Smolinski, A. Darzins, M. Seibert, P.T. Pienkos, Examination of triacylglycerol biosynthetic pathways via de novo transcriptomic and proteomic analyses in an unsequenced microalga, *PLoS ONE* 6 (2011) e25851. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025851>.
- [136] M.T. Guarnieri, A. Nag, S. Yang, P.T. Pienkos, Proteomic analysis of *Chlorella vulgaris*: potential targets for enhanced lipid accumulation, *J. Proteomics* 93 (2013) 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.05.025>.
- [137] C. Zuñiga, C.-T. Li, T. Huelsman, J. Levering, D.C. Zielinski, B.O. McConnell, C.P. Long, E.P. Knoshaug, M.T. Guarnieri, M.R. Antoniewicz, M.J. Betenbaugh, K. Zengler, Genome-scale metabolic model for the green alga *Chlorella vulgaris* UTEX 395 accurately

- predicts phenotypes under autotrophic, heterotrophic, and mixotrophic growth conditions, *Plant Physiol.* 172 (2016) 589–602. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00593>.
- [138] C. Zuñiga, J. Levering, M.R. Antoniewicz, M.T. Guarnieri, M.J. Betenbaugh, K. Zengler, Predicting dynamic metabolic demands in the photosynthetic eukaryote *Chlorella vulgaris*, *Plant Physiol.* 176 (2018) 450–462. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00605>.
- [139] H.M. Khairy, E.M. Ali, S.M. Dowidar, Comparative effects of autotrophic and heterotrophic growth on some vitamins, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity, amino acids and protein profile of *Chlorella vulgaris* Beijerinck, *Afr. J. Biotechnol.* 10 (2011). <https://doi.org/10.5897/AJB11.1931>.
- [140] R. Geider, J. La Roche, Redfield revisited: variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis, *European Journal of Phycology* 37 (2002) 1–17. <https://doi.org/10.1017/S0967026201003456>.
- [141] N. Mann, N.G. Carr, Control of macromolecular composition and cell division in the blue-green algae *Anacystis nidulans*, *J. Gen. Microbiol.* 83 (1974) 399–405. <https://doi.org/10.1099/00221287-83-2-399>.
- [142] E.A. Laws, D.G. Redalje, D.M. Karl, M.S. Chalup, A theoretical and experimental examination of the predictions of two recent models of phytoplankton growth, *J. Theor. Biol.* 105 (1983) 469–491. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(83\)90188-1](https://doi.org/10.1016/0022-5193(83)90188-1).
- [143] P.H. Thomas, N.G. Carr, The invariance of macromolecular composition with altered light limited growth rate of *Amphidinium carteri* (dinophyceae), *Arch. Microbiol.* 142 (1985) 81–86. <https://doi.org/10.1007/BF00409242>.
- [144] H. Takeda, Sugar composition of the cell wall and the taxonomy of *Chlorella* (Chlorophyceae), *J Phycol* 27 (1991) 224–232. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1991.00224.x>.
- [145] Y. Nakamura, Starch, Springer Japan, Tokyo, 2015.
- [146] L.V. Savitch, D.P. Maxwell, N.P.A. Huner, Photosystem II excitation pressure and photosynthetic carbon metabolism in *Chlorella vulgaris*, *Plant Physiol.* 111 (1996) 127–136. <https://doi.org/10.1104/pp.111.1.127>.
- [147] A.L. Stephenson, J.S. Dennis, C.J. Howe, S.A. Scott, A.G. Smith, Influence of nitrogen-limitation regime on the production by *Chlorella vulgaris* of lipids for biodiesel feedstocks, *Biofuels* 1 (2010) 47–58. <https://doi.org/10.4155/bfs.09.1>.
- [148] M. Tsuzuki, E. Ohnuma, N. Sato, T. Takaku, A. Kawaguchi, Effects of CO<sub>2</sub> Concentration during Growth on Fatty Acid Composition in Microalgae, *Plant Physiol.* 93 (1990) 851–856. <https://doi.org/10.1104/pp.93.3.851>.
- [149] G. Petkov, G. Garcia, Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*?, *Biochemical Systematics and Ecology* 35 (2007) 281–285. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2006.10.017>.
- [150] G. Breuer, D.E. Martens, R.B. Draaisma, R.H. Wijffels, P.P. Lamers, Photosynthetic efficiency and carbon partitioning in nitrogen-starved *Scenedesmus obliquus*, *Algal Research* 9 (2015) 254–262. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.03.012>.
- [151] K. Inomura, A.W. Omta, D. Talmy, J. Bragg, C. Deutsch, M.J. Follows, A Mechanistic Model of Macromolecular Allocation, Elemental Stoichiometry, and Growth Rate in Phytoplankton, *Front. Microbiol.* 11 (2020) 86. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00086>.
- [152] P. Gardeström, A.U. Igamberdiev, The origin of cytosolic ATP in photosynthetic cells, *Physiol Plant* 157 (2016) 367–379. <https://doi.org/10.1111/ppl.12455>.

- [153] A.M.J. Kliphuis, M. Janssen, E.J. van den End, D.E. Martens, R.H. Wijffels, Light respiration in *Chlorella sorokiniana*, *J Appl Phycol* 23 (2011) 935–947. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9614-7>.
- [154] H.G. Weger, R. Herzig, P.G. Falkowski, D.H. Turpin, Respiratory losses in the light in a marine diatom: Measurements by short-term mass spectrometry, *Limnol. Oceanogr.* 34 (1989) 1153–1161. <https://doi.org/10.4319/lo.1989.34.7.1153>.
- [155] Q. Béchet, P. Chambonnière, A. Shilton, G. Guizard, B. Guieysse, Algal productivity modeling: a step toward accurate assessments of full-scale algal cultivation, *Biotechnol. Bioeng.* 112 (2015) 987–996. <https://doi.org/10.1002/bit.25517>.
- [156] P.G. Falkowski, Z. Dubinsky, K. Wyman, Growth-irradiance relationships in phytoplankton, *Limnol. Oceanogr.* 30 (1985) 311–321. <https://doi.org/10.4319/lo.1985.30.2.0311>.
- [157] H.L. MacIntyre, T.M. Kana, T. Anning, R.J. Geider, Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria, *J. Phycol. (Journal of Phycology)* 38 (2002) 17–38. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.00094.x>.
- [158] C. Brindley, F.G. Acién, J.M. Fernández-Sevilla, The oxygen evolution methodology affects photosynthetic rate measurements of microalgae in well-defined light regimes, *Biotechnol. Bioeng.* 106 (2010) 228–237. <https://doi.org/10.1002/bit.22676>.
- [159] D. Walker, The use of the oxygen electrode and fluorescence probes in simple measurements of photosynthesis, 1987.
- [160] E.A. Laws, Photosynthetic quotients, new production and net community production in the open ocean, *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 38 (1991) 143–167. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(91\)90059-O](https://doi.org/10.1016/0198-0149(91)90059-O).
- [161] F. García-Camacho, A. Sánchez-Mirón, E. Molina-Grima, F. Camacho-Rubio, J.C. Merchuck, A mechanistic model of photosynthesis in microalgae including photoacclimation dynamics, *J. Theor. Biol.* 304 (2012) 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2012.03.021>.
- [162] A.M.J. Kliphuis, A.J. Klok, D.E. Martens, P.P. Lamers, M. Janssen, R.H. Wijffels, Metabolic modeling of *Chlamydomonas reinhardtii*: energy requirements for photoautotrophic growth and maintenance, *J Appl Phycol* 24 (2012) 253–266. <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9674-3>.
- [163] F.F. Blackman, Optima and limiting factors, *Annals of Botany* 19 (1905) 281–296. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a089000>.
- [164] J.N. Dabes, R.K. Finn, C.R. Welke, Equations of substrate-limited growth: the case for blackman kinetics, *Biotechnol. Bioeng.* 15 (1973) 1159–1177. <https://doi.org/10.1002/bit.260150613>.
- [165] J.N. Dabes, C.R. Wilke, K.H. Sauer, Behavior of *Chlorella pyrenoidosa* in steady state continuous culture, 1970.
- [166] R.K. Mandalam, B. Palsson, Elemental balancing of biomass and medium composition enhances growth capacity in high-density *Chlorella vulgaris* cultures, *Biotechnol. Bioeng.* 59 (1998) 605–611. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19980905\)59:5<605:AID-BIT11>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19980905)59:5<605:AID-BIT11>3.0.CO;2-8).
- [167] J. Degen, A. Uebele, A. Retze, U. Schmid-Staiger, W. Trösch, A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect, *J. Biotechnol.* 92 (2001) 89–94. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(01\)00350-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(01)00350-9).

- [168] Z. Csögör, M. Herrenbauer, K. Schmidt, C. Posten, Light distribution in a novel photobioreactor - modelling for optimization, *Journal of Applied Phycology* 13 (2001) 325–333. <https://doi.org/10.1023/A:1017974232510>.
- [169] S. Abu-Ghosh, D. Fixler, Z. Dubinsky, D. Iluz, Flashing light in microalgae biotechnology, *Bioresour. Technol.* 203 (2016) 357–363. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.057>.
- [170] J.-F. Cornet, C.G. Dussap, J.-B. Gros, C. Binois, C. Lasseur, A simplified monodimensional approach for modeling coupling between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors, *Chemical Engineering Science* 50 (1995) 1489–1500. [https://doi.org/10.1016/0009-2509\(95\)00022-W](https://doi.org/10.1016/0009-2509(95)00022-W).
- [171] I. Perner-Nochta, C. Posten, Simulations of light intensity variation in photobioreactors, *J. Biotechnol.* 131 (2007) 276–285. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2007.05.024>.
- [172] P.S.C. Schulze, C. Brindley, J.M. Fernández, R. Rautenberger, H. Pereira, R.H. Wijffels, V. Kiron, Flashing light does not improve photosynthetic performance and growth of green microalgae, *Bioresource Technology Reports* 9 (2020) 100367. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2019.100367>.
- [173] L. Pottier, J. Pruvost, J. Deremetz, J.-F. Cornet, J. Legrand, C.G. Dussap, A fully predictive model for one-dimensional light attenuation by *Chlamydomonas reinhardtii* in a torus photobioreactor, *Biotechnol. Bioeng.* 91 (2005) 569–582. <https://doi.org/10.1002/bit.20475>.
- [174] C. Posten, A. Munack, On-line application of parameter estimation accuracy to biotechnical processes, in: 1990 American Control Conference, San Diego, CA, USA, IEEE, 5/23/1990 - 5/25/1990, pp. 2181–2186.
- [175] R. Takors, D. Weuster-Botz, Prozessmodelle, in: H. Chmiel, R. Takors, D. Weuster-Botz (Eds.), *Bioprozesstechnik*, fourth. Auflage, Springer Spektrum, Berlin, Heidelberg, 2018, pp. 71–105.
- [176] E.M. Grima, F.G. Camacho, J.A.S. Pérez, J.M.F. Sevilla, F.G.A. Fernández, A.C. Gómez, A mathematical model of microalgal growth in light-limited chemostat culture, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 61 (1994) 167–173. <https://doi.org/10.1002/jctb.280610212>.
- [177] M. Cuaresma, M. Janssen, E.J. van den End, C. Vílchez, R.H. Wijffels, Luminostat operation: a tool to maximize microalgae photosynthetic efficiency in photobioreactors during the daily light cycle?, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 7871–7878. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.05.076>.
- [178] B.T. Nguyen, B.E. Rittmann, Low-cost optical sensor to automatically monitor and control biomass concentration in microalgal cultivation, *Algal Research* 32 (2018) 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.03.013>.
- [179] A. Quigg, K. Kevekordes, J.A. Raven, J. Beardall, Limitations on microalgal growth at very low photon fluence rates: the role of energy slippage, *Photosynthesis Research* 88 (2006) 299–310. <https://doi.org/10.1007/s11120-006-9052-1>.
- [180] Z. Dubinsky, N. Stambler, Photoacclimation processes in phytoplankton: mechanisms, consequences, and applications, *Aquat. Microb. Ecol.* 56 (2009) 163–176. <https://doi.org/10.3354/ame01345>.
- [181] R. De-Luca, F. Bezzo, Q. Béchet, O. Bernard, Meteorological Data-Based Optimal Control Strategy for Microalgae Cultivation in Open Pond Systems, *Complexity* 2019 (2019) 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/4363895>.

- [182] I. Reda, A. Andreas, Solar position algorithm for solar radiation applications, *Solar Energy* 76 (2004) 577–589. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2003.12.003>.
- [183] A. Albarello, D. Simionato, T. Morosinotto, F. Bezzo, Model-based optimization of microalgae growth in a batch plant, *Ind. Eng. Chem. Res.* 58 (2019) 5121–5130. <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.9b00270>.
- [184] M. Pahlow, A. Oschlies, Optimal allocation backs Droop's cell-quota model, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 473 (2013) 1–5. <https://doi.org/10.3354/meps10181>.
- [185] O. Bernard, Hurdles and challenges for modelling and control of microalgae for CO<sub>2</sub> mitigation and biofuel production, *Journal of Process Control* 21 (2011) 1378–1389. <https://doi.org/10.1016/j.jprocont.2011.07.012>.
- [186] F. Mairet, O. Bernard, T. Lacour, A. Sciandra, Modelling microalgae growth in nitrogen limited photobioreactor for estimating biomass, carbohydrate and neutral lipid productivities, *IFAC Proceedings Volumes* 44 (2011) 10591–10596. <https://doi.org/10.3182/20110828-6-IT-1002.03165>.
- [187] R.J. Geider, H.L. MacIntyre, T.M. Kana, A dynamic regulatory model of phytoplankton acclimation to light, nutrients, and temperature, *Limnol. Oceanogr.* 43 (1998) 679–694. <https://doi.org/10.4319/lo.1998.43.4.0679>.
- [188] G. Armin, K. Inomura, Modeled temperature dependencies of macromolecular allocation and elemental stoichiometry in phytoplankton, *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 19 (2021) 5421–5427. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.09.028>.
- [189] A. Packer, Y. Li, T. Andersen, Q. Hu, Y. Kuang, M. Sommerfeld, Growth and neutral lipid synthesis in green microalgae: a mathematical model, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.029>.
- [190] Q. Béchet, M. Laviale, N. Arsapin, H. Bonnefond, O. Bernard, Modeling the impact of high temperatures on microalgal viability and photosynthetic activity, *Biotechnol. Biofuels* 10 (2017) 136. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0823-z>.
- [191] J.A. Raven, R.J. Geider, Adaptation, Acclimation and Regulation in algal photosynthesis, in: Govindjee, A.W.D. Larkum, S.E. Douglas, J.A. Raven (Eds.), *Photosynthesis in Algae*, Springer Netherlands, Dordrecht, 2003, pp. 385–412.
- [192] X. Johnson, J. Steinbeck, R.M. Dent, H. Takahashi, P. Richaud, S.-I. Ozawa, L. Houille-Vernes, D. Petroustos, F. Rappaport, A.R. Grossman, K.K. Niyogi, M. Hippler, J. Alric, Proton gradient regulation 5-mediated cyclic electron flow under ATP- or redox-limited conditions: a study of  $\Delta$ ATPase *pgr5* and  $\Delta$ rbcL *pgr5* mutants in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*, *Plant Physiol.* 165 (2014) 438–452. <https://doi.org/10.1104/pp.113.233593>.
- [193] J. Minagawa, State transitions—the molecular remodeling of photosynthetic supercomplexes that controls energy flow in the chloroplast, *Biochim. Biophys. Acta* 1807 (2011) 897–905. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.11.005>.
- [194] R.J. Geider, H.L. MacIntyre, T.M. Kana, A dynamic model of photoadaptation in phytoplankton, *Limnol. Oceanogr.* 41 (1996) 1–15. <https://doi.org/10.4319/lo.1996.41.1.0001>.
- [195] X.-M. Sun, L.-J. Ren, Q.-Y. Zhao, X.-J. Ji, H. Huang, Microalgae for the production of lipid and carotenoids: a review with focus on stress regulation and adaptation, *Biotechnol. Biofuels* 11 (2018) 272. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1275-9>.
- [196] A. Sukenik, J. Bennett, P. Falkowski, Changes in the abundance of individual apoproteins of light-harvesting chlorophyll *ab*-protein complexes of Photosystem I and II with

- growth irradiance in the marine chlorophyte *Dunaliella tertiolecta*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 932 (1988) 206–215. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(88\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0005-2728(88)90157-0).
- [197] A. Morel, A. Bricaud, Theoretical results concerning light absorption in a discrete medium, and application to specific absorption of phytoplankton, *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 28 (1981) 1375–1393. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(81\)90039-X](https://doi.org/10.1016/0198-0149(81)90039-X).
- [198] F. Garcia-Pichel, A model for internal self-shading in planktonic organisms and its implications for the usefulness of ultraviolet sunscreens, *Limnol. Oceanogr.* 39 (1994) 1704–1717. <https://doi.org/10.4319/lo.1994.39.7.1704>.
- [199] P.G. Falkowski, T.G. Owens, A.C. Ley, D.C. Mauzerall, Effects of growth irradiance levels on the ratio of reaction centers in two species of marine phytoplankton, *Plant Physiol.* 68 (1981) 969–973. <https://doi.org/10.1104/pp.68.4.969>.
- [200] P.G. Falkowski, T.G. Owens, Light-shade adaptation: Two strategies in marine phytoplankton, *Plant Physiol.* 66 (1980) 592–595.
- [201] A. Tanaka, A. Melis, Irradiance-dependent changes in the size and composition of the chlorophyll a-b light-harvesting complex in the green alga *Dunaliella salina*, *Plant and Cell Physiology* 38 (1997) 17–24. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029080>.
- [202] N.L. Greenbaum, D. Mauzerall, Effect of irradiance level on distribution of chlorophylls between PS II and PS I as determined from optical cross-sections, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1057 (1991) 195–207. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(05\)80102-1](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(05)80102-1).
- [203] P. Albanese, M. Manfredi, A. Meneghesso, E. Marengo, G. Saracco, J. Barber, T. Morosinotto, C. Pagliano, Dynamic reorganization of photosystem II supercomplexes in response to variations in light intensities, *Biochim. Biophys. Acta* 1857 (2016) 1651–1660. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2016.06.011>.
- [204] P. Haniewicz, M. Abram, L. Nosek, J. Kirkpatrick, E. El-Mohsawy, J.D.J. Olmos, R. Kouril, J.M. Kargul, Molecular Mechanisms of Photoadaptation of Photosystem I Supercomplex from an Evolutionary Cyanobacterial/Algal Intermediate, *Plant Physiol.* 176 (2018) 1433–1451. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01022>.
- [205] D. Mauzerall, N.L. Greenbaum, The absolute size of a photosynthetic unit, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 974 (1989) 119–140. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(89\)80365-2](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(89)80365-2).
- [206] K.E. Wilson, N.P. Huner, The role of growth rate, redox-state of the plastoquinone pool and the trans-thylakoid  $\Delta pH$  in photoacclimation of *Chlorella vulgaris* to growth irradiance and temperature, *Planta* 212 (2000) 93–102. <https://doi.org/10.1007/s004250000368>.
- [207] C.H. Endres, A. Roth, T.B. Brück, Modeling Microalgae Productivity in Industrial-Scale Vertical Flat Panel Photobioreactors, *Environ. Sci. Technol.* 52 (2018) 5490–5498. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05545>.
- [208] A. Melis, Photosystem-II damage and repair cycle in chloroplasts: what modulates the rate of photodamage in vivo?, *Trends in Plant Science* 4 (1999) 130–135. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(99\)01387-4](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(99)01387-4).
- [209] D.A. Campbell, E. Tyystjärvi, Parameterization of photosystem II photoinactivation and repair, *Biochim. Biophys. Acta* 1817 (2012) 258–265. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.010>.

- [210] J. Neidhardt, J.R. Benemann, L. Zhang, A. Melis, Photosystem-II repair and chloroplast recovery from irradiance stress: relationship between chronic photoinhibition, light-harvesting chlorophyll antenna size and photosynthetic productivity in *Dunaliella salina* (green algae), *Photosynthesis Research* 56 (1998) 175–184. <https://doi.org/10.1023/A:1006024827225>.
- [211] L. Straka, Light-dependent growth kinetics and mathematical modeling of *Synechocystis* sp. PCC 6803, 2017.
- [212] T. Fisher, R. Shurtz-Swirski, S. Gepstein, Z. Dubinsky, Changes in the levels of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) in tetraedron minimum (Chlorophyta) during light and shade a daptation, *Plant and Cell Physiology* 30 (1989) 221–228. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077733>.
- [213] G. Bonente, S. Pippa, S. Castellano, R. Bassi, M. Ballottari, Acclimation of *Chlamydomonas reinhardtii* to different growth irradiances, *J. Biol. Chem.* 287 (2012) 5833–5847. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.304279>.
- [214] Z. Ramazanov, Y. Shiraiwa, M.J. del Río, J. Rubio, Effect of external CO<sub>2</sub> concentrations on protein synthesis in the green algae *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz and *Chlorella vulgaris* (Kosikov), *Planta* 197 (1995) 272–277. <https://doi.org/10.1007/BF00202647>.
- [215] R.-L. Heng, K.C. Sy, L. Pilon, Absorption and scattering by bispheres, quadspheres, and circular rings of spheres and their equivalent coated spheres, *J. Opt. Soc. Am. A Opt. Image Sci. Vis.* 32 (2015) 46–60. <https://doi.org/10.1364/JOSAA.32.000046>.
- [216] J.F. Cornet, C.G. Dussap, G. Dubertret, A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: I. Coupling between light transfer and growth kinetics, *Biotechnol. Bioeng.* 40 (1992) 817–825. <https://doi.org/10.1002/bit.260400709>.
- [217] J.F. Cornet, C.G. Dussap, J.B. Gros, Conversion of radiant light energy in photobioreactors, *AIChE J.* 40 (1994) 1055–1066. <https://doi.org/10.1002/aic.690400616>.
- [218] R. Kandilian, J. Pruvost, A. Artu, C. Lemasson, J. Legrand, L. Pilon, Comparison of experimentally and theoretically determined radiation characteristics of photosynthetic microorganisms, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 175 (2016) 30–45. <https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2016.01.031>.
- [219] A. Bricaud, A. Morel, Light attenuation and scattering by phytoplanktonic cells: a theoretical modeling, *Appl. Opt.* 25 (1986) 571. <https://doi.org/10.1364/ao.25.000571>.
- [220] S. Bernard, T.A. Probyn, A. Quirantes, Simulating the optical properties of phytoplankton cells using a two-layered spherical geometry, 2009.
- [221] H.C. de van Hulst, Light scattering by small particles, Unabridged and corrected republication of the work originally published in nineteenthfifthseventh by John Wiley & Sons, Inc., N.Y, Dover Publications Inc; LSC Communications, New York, 2018.
- [222] G. Mie, Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen, *Ann. Phys.* 330 (1908) 377–445. <https://doi.org/10.1002/andp.19083300302>.
- [223] M. Kerker, Lorenz–Mie scattering by spheres: some newly recognized phenomena, *Aerosol Science and Technology* 1 (1982) 275–291. <https://doi.org/10.1080/02786828208958594>.
- [224] R.L. Hightower, C.B. Richardson, Resonant Mie scattering from a layered sphere, *Appl. Opt.* 27 (1988) 4850–4855. <https://doi.org/10.1364/AO.27.004850>.

- [225] L.I. Schiff, Approximation method for high-energy potential scattering, *Phys. Rev.* 103 (1956) 443–453. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.103.443>.
- [226] M.I. Mishchenko, L.D. Travis, D.W. Mackowski, T-matrix computations of light scattering by nonspherical particles: A review, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 55 (1996) 535–575. [https://doi.org/10.1016/0022-4073\(96\)00002-7](https://doi.org/10.1016/0022-4073(96)00002-7).
- [227] C.F. Bohren, D.R. Huffman, Absorption and scattering of light by small particles, first. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim, 2008.
- [228] C. Mätzler, MATLAB functions for Mie scattering and absorption: Version 2, Research Report No. twentieth0second-eleventh, Bern, Schweiz, 2002.
- [229] A. Bhowmik, L. Pilon, Can spherical eukaryotic microalgae cells be treated as optically homogeneous?, *J. Opt. Soc. Am. A Opt. Image Sci. Vis.* 33 (2016) 1495–1503. <https://doi.org/10.1364/JOSAA.33.001495>.
- [230] F.G.A. Fernández, F.G. Camacho, J.A.S. Pérez, J.M.F. Sevilla, E.M. Grima, A model for light distribution and average solar irradiance inside outdoor tubular photobioreactors for the microalgal mass culture, *Biotechnol. Bioeng.* 55 (1997) 701–714. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19970905\)55:5<701:AID-BIT1>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19970905)55:5<701:AID-BIT1>3.0.CO;2-F).
- [231] J. Pruvost, J. Legrand, P. Legentilhomme, A. Muller-Feuga, Simulation of microalgae growth in limiting light conditions: Flow effect, *AIChE J.* 48 (2002) 1109–1120. <https://doi.org/10.1002/aic.690480520>.
- [232] I.S. Suh, S.B. Lee, A light distribution model for an internally radiating photobioreactor, *Biotechnol. Bioeng.* 82 (2003) 180–189. <https://doi.org/10.1002/bit.10558>.
- [233] S. Chandrasekhar, Radiative transfer, Dover Publications, New York, 2016.
- [234] A. Mink, K. Schediwy, C. Posten, H. Nirschl, S. Simonis, M.J. Krause, Comprehensive computational model for coupled fluid flow, mass transfer and light supply in tubular photobioreactors equipped with glass sponges, 2021.
- [235] J. Monod, The growth of bacterial cultures, *Annu. Rev. Microbiol.* 3 (1949) 371–394. <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.03.100149.002103>.
- [236] A. Schuster, Radiation through a foggy atmosphere, *ApJ* 21 (1905) 1. <https://doi.org/10.1086/141186>.
- [237] K. Schwarzschild, Ueber das Gleichgewicht der Sonnenatmosphäre, *Nachrichten von der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen, Mathematisch-Physikalische Klasse* 1906 (1906) 41–53.
- [238] R. Kandilian, A. Soulies, J. Pruvost, B. Rousseau, J. Legrand, L. Pilon, Simple method for measuring the spectral absorption cross-section of microalgae, *Chemical Engineering Science* 146 (2016) 357–368. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2016.02.039>.
- [239] H. Berberoğlu, J. Yin, L. Pilon, Light transfer in bubble sparged photobioreactors for H<sub>2</sub> production and CO<sub>2</sub> mitigation, *International Journal of Hydrogen Energy* 32 (2007) 2273–2285. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2007.02.018>.
- [240] R. Kandilian, B. Jesus, J. Legrand, L. Pilon, J. Pruvost, Light transfer in agar immobilized microalgae cell cultures, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 198 (2017) 81–92. <https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2017.04.027>.
- [241] X. Gao, B. Kong, R.D. Vigil, Simulation of algal photobioreactors: recent developments and challenges, *Biotechnol. Lett.* 40 (2018) 1311–1327. <https://doi.org/10.1007/s10529-018-2595-3>.

- [242] M. Schirmer, C. Posten, Modeling of microalgae bioprocesses, in: Photobioreaction Engineering, Elsevier, 2016, pp. 151–184.
- [243] C.T. Jones, S.E. Craig, A.B. Barnett, H.L. MacIntyre, J.J. Cullen, Curvature in models of the photosynthesis-irradiance response, *J Phycol* 50 (2014) 341–355. <https://doi.org/10.1111/jpy.12164>.
- [244] A.D. Jassby, T. Platt, Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton, *Limnol. Oceanogr.* 21 (1976) 540–547. <https://doi.org/10.4319/lo.1976.21.4.0540>.
- [245] W.L. Webb, M. Newton, D. Starr, Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra* A mathematical model, *Oecologia* 17 (1974) 281–291. <https://doi.org/10.1007/BF00345747>.
- [246] R. Emerson, W. Arnold, A separation of the reactions in photosynthesis by means of intermittent light, *J. Gen. Physiol.* 15 (1932) 391–420. <https://doi.org/10.1085/jgp.15.4.391>.
- [247] R. Emerson, W. Arnold, The photochemical reaction in photosynthesis, *J. Gen. Physiol.* 16 (1932) 191–205. <https://doi.org/10.1085/jgp.16.2.191>.
- [248] A.C. Ley, D.C. Mauzerall, Absolute absorption cross-sections for Photosystem II and the minimum quantum requirement for photosynthesis in *Chlorella vulgaris*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 680 (1982) 95–106. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(82\)90320-6](https://doi.org/10.1016/0005-2728(82)90320-6).
- [249] A. Stirbet, Excitonic connectivity between photosystem II units: what is it, and how to measure it?, *Photosynthesis Research* 116 (2013) 189–214. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9863-9>.
- [250] H. Gaffron, K. Wohl, Zur Theorie der Assimilation, *Naturwissenschaften* 24 (1936) 81–90. <https://doi.org/10.1007/BF01473561>.
- [251] A. Bernardi, G. Perin, E. Sforza, F. Galvanin, T. Morosinotto, F. Bezzo, An identifiable state model to describe light intensity influence on microalgae growth, *Ind. Eng. Chem. Res.* 53 (2014) 6738–6749. <https://doi.org/10.1021/ie500523z>.
- [252] R. De-Luca, A. Bernardi, A. Meneghesso, T. Morosinotto, F. Bezzo, Modelling the photosynthetic electron transport chain in *Nannochloropsis gaditana* via exploitation of absorbance data, *Algal Research* 33 (2018) 430–439. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.06.016>.
- [253] A. Nikolaou, P. Hartmann, A. Sciandra, B. Chachuat, O. Bernard, Dynamic coupling of photoacclimation and photoinhibition in a model of microalgae growth, *J. Theor. Biol.* 390 (2016) 61–72. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.11.004>.
- [254] A. Nikolaou, A. Bernardi, A. Meneghesso, F. Bezzo, T. Morosinotto, B. Chachuat, A model of chlorophyll fluorescence in microalgae integrating photoproduction, photoinhibition and photoregulation, *J. Biotechnol.* 194 (2015) 91–99. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.12.001>.
- [255] I.A. Papadakis, K. Kotzabasis, K. Lika, Modeling the dynamic modulation of light energy in photosynthetic algae, *J. Theor. Biol.* 300 (2012) 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2012.01.040>.
- [256] F.C. Rubio, F.G. Camacho, J.M.F. Sevilla, Y. Chisti, E.M. Grima, A mechanistic model of photosynthesis in microalgae, *Biotechnol. Bioeng.* 81 (2003) 459–473. <https://doi.org/10.1002/bit.10492>.

- [257] M. Faizi, R. Steuer, Optimal proteome allocation strategies for phototrophic growth in a light-limited chemostat, *Microb Cell Fact* 18 (2019) 165. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1209-7>.
- [258] M. Faizi, T. Zavřel, C. Loureiro, J. Červený, R. Steuer, A model of optimal protein allocation during phototrophic growth, *Biosystems* 166 (2018) 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.biosystems.2018.02.004>.
- [259] S.J. Pirt, The maintenance energy of bacteria in growing cultures, *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 163 (1965) 224–231. <https://doi.org/10.1098/rspb.1965.0069>.
- [260] R.J. Geider, B.A. Osborne, Respiration and microalgal growth: a review of the quantitative relationship between dark respiration and growth, *New Phytol* 112 (1989) 327–341. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1989.tb00321.x>.
- [261] J.D. Tibocha-Bonilla, C. Zuñiga, R.D. Godoy-Silva, K. Zengler, Advances in metabolic modeling of oleaginous microalgae, *Biotechnol. Biofuels* 11 (2018) 241. <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1244-3>.
- [262] V. Rai, A. Karthikaichamy, D. Das, S. Noronha, P.P. Wangikar, S. Srivastava, Multi-omics frontiers in algal research: techniques and progress to explore biofuels in the post-genomics world, *OMICS* 20 (2016) 387–399. <https://doi.org/10.1089/omi.2016.0065>.
- [263] I.M. Remmers, S. D'Adamo, D.E. Martens, Vos, R. C. H. de, R. Mumm, A.H.P. America, J.H.G. Cordewener, L.V. Bakker, S.A. Peters, R.H. Wijffels, P.P. Lamers, Orchestration of transcriptome, proteome and metabolome in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* during nitrogen limitation, *Algal Research* 35 (2018) 33–49. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.08.012>.
- [264] R.J. Flassig, M. Fachel, K. Höffner, P.I. Barton, K. Sundmacher, Dynamic flux balance modeling to increase the production of high-value compounds in green microalgae, *Biotechnol. Biofuels* 9 (2016) 165. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0556-4>.
- [265] R.L. Burnap, Systems and photosystems: cellular limits of autotrophic productivity in cyanobacteria, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 3 (2015) 1. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2015.00001>.
- [266] A. Vazquez, M.A. de Menezes, A.-L. Barabási, Z.N. Oltvai, Impact of limited solvent capacity on metabolic rate, enzyme activities, and metabolite concentrations of *S. cerevisiae* glycolysis, *PLoS Comput. Biol.* 4 (2008) e1000195. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000195>.
- [267] J.T. Mika, G. van den Bogaart, L. Veenhoff, V. Krasnikov, B. Poolman, Molecular sieving properties of the cytoplasm of *Escherichia coli* and consequences of osmotic stress, *Mol. Microbiol.* 77 (2010) 200–207. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07201.x>.
- [268] J.A. Raven, The energetics of freshwater algae: energy requirements for biosynthesis and volume regulation, *New Phytol* 92 (1982) 1–20. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1982.tb03358.x>.
- [269] D. Molenaar, R. van Berlo, D. de Ridder, B. Teusink, Shifts in growth strategies reflect tradeoffs in cellular economics, *Mol. Syst. Biol.* 5 (2009) 323. <https://doi.org/10.1038/msb.2009.82>.
- [270] T. Zavřel, M. Faizi, C. Loureiro, G. Poschmann, K. Stühler, M. Sinetova, A. Zorina, R. Steuer, J. Červený, 2019. Quantitative insights into the cyanobacterial cell economy. *eLife* 8, e42508. <https://doi.org/10.7554/eLife.42508>.

- [271] D.S. Gorman, R.P. Levine, Cytochrome f and plastocyanin: their sequence in the photosynthetic electron transport chain of *Chlamydomonas reinhardi*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 54 (1965) 1665–1669. <https://doi.org/10.1073/pnas.54.6.1665>.
- [272] S.H. Hutner, L. Provasoli, A. Schatz, C.P. Haskins, Some approaches to the study of the role of metals in the metabolism of microorganisms, *Proceedings of the American Philosophical Society* 94 (1950) 152–170.
- [273] N. Sueoka, Mitotic replication of deoxyribonucleic acid in *Chlamydomonas reinhardi*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 46 (1960) 83–91. <https://doi.org/10.1073/pnas.46.1.83>.
- [274] A.R. Wellburn, The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution, *Journal of Plant Physiology* 144 (1994) 307–313. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2).
- [275] W.-S. Shin, B. Lee, B. Jeong, Y.K. Chang, J.-H. Kwon, Truncated light-harvesting chlorophyll antenna size in *Chlorella vulgaris* improves biomass productivity, *Journal of Applied Phycology* 28 (2016) 3193–3202. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0874-8>.
- [276] W. Chen, C. Zhang, L. Song, M. Sommerfeld, Q. Hu, A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae, *J. Microbiol. Methods* 77 (2009) 41–47. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.01.001>.
- [277] J.D. Hiscox, G.F. Israelstam, A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration, *Can. J. Bot.* 57 (1979) 1332–1334. <https://doi.org/10.1139/b79-163>.
- [278] E.W. Yemm, A.J. Willis, The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone, *Biochem. J.* 57 (1954) 508–514. <https://doi.org/10.1042/bj0570508>.
- [279] K. Zulkowsky, Verhalten der Stärke gegen Glycerin, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* 13 (1880) 1395–1398. <https://doi.org/10.1002/cber.18800130235>.
- [280] O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall, Protein measurement with the folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry* 193 (1951) 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6).
- [281] G.L. Peterson, A simplification of the protein assay method of Lowry et al. which is more generally applicable, *Analytical Biochemistry* 83 (1977) 346–356. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(77\)90043-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(77)90043-4).
- [282] Sigma-Aldrich, TECHNICAL BULLETIN: Total Protein Kit, Micro Lowry, Peterson's Modification. <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Bulletin/13540bul.pdf> (accessed 28 November 2021).
- [283] R. Rej, A.H. Richards, Interference by Tris buffer in the estimation of protein by the Lowry procedure, *Analytical Biochemistry* 62 (1974) 240–247. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(74\)90383-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(74)90383-2).
- [284] Photon Systems Instruments, Dual-modulation kinetic fluorometer FL 6000: Manual and user guide, 2019.
- [285] H.M. Kalaji, G. Schansker, R.J. Ladle, V. Goltsev, K. Bosa, S.I. Allakhverdiev, M. Brestic, F. Bussotti, A. Calatayud, P. Dąbrowski, N.I. Elsheery, L. Ferroni, L. Guidi, S.W. Hogewoning, A. Jajoo, A.N. Misra, S.G. Nebauer, S. Pancaldi, C. Penella, D.B. Poli, M. Pollastrini, Z.B. Romanowska-Duda, B. Rutkowska, J. Serôdio, K. Suresh, W. Szulc, E. Tambussi, M. Yannicari, M. Zivcak, Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: practical issues, *Photosynthesis Research* 122 (2014) 121–158. <https://doi.org/10.1007/s11120-014-0024-6>.

- [286] K. Oxborough, N.R. Baker, Resolving chlorophyll a fluorescence images of photosynthetic efficiency into photochemical and non-photochemical components – calculation of qP and Fv/Fm-; without measuring Fo-, *Photosynth Res* 54 (1997) 135–142. <https://doi.org/10.1023/A:1005936823310>.
- [287] R.J. Strasser, M. Tsimilli-Michael, A. Srivastava, Analysis of the Chlorophyll a fluorescence transient, in: G.C. Papageorgiou, Govindjee (Eds.), *Chlorophyll a fluorescence: A signature of photosynthesis*, Springer, Dordrecht, 2004, pp. 321–362.
- [288] B.J. Strasser, R.J. Strasser, Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-Test, in: P. Mathis (Ed.), *Photosynthesis: from Light to Biosphere*, Springer Netherlands, Dordrecht, 1995, pp. 4869–4872.
- [289] R.J. Strasser, M. Tsimilli-Michael, S. Qiang, V. Goltsev, Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*, *Biochim. Biophys. Acta* 1797 (2010) 1313–1326. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.03.008>.
- [290] A. Srivastava, R.J. Strasser, G. Govindjee, Greening of peas: parallel measurements of 77 K emission spectra, OJIP Chlorophyll a fluorescence transient, period four oscillation of the initial fluorescence level, delayed light emission, and P700, *Photosynth* 37 (1999). <https://doi.org/10.1023/A:1007199408689>.
- [291] M. Tsimilli-Michael, R.J. Strasser, In vivo assessment of stress impact on plant's vitality: applications in detecting and evaluating the beneficial role of mycorrhization on host plants, in: A. Varma (Ed.), *Mycorrhiza: State of the art, genetics and molecular biology, eco-function, biotechnology, eco-physiology, structure and systematics*, third. ed., Springer, Berlin, Heidelberg, 2008, pp. 679–703.
- [292] M.A. Yusuf, D. Kumar, R. Rajwanshi, R.J. Strasser, M. Tsimilli-Michael, Govindjee, N.B. Sarin, Overexpression of gamma-tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: physiological and chlorophyll a fluorescence measurements, *Biochim. Biophys. Acta* 1797 (2010) 1428–1438. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2010.02.002>.
- [293] A. Stirbet, Govindjee, On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient, *J. Photochem. Photobiol. B., Biol.* 104 (2011) 236–257. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2010.12.010>.
- [294] L. Pilon, H. Berberoğlu, R. Kandilian, Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 112 (2011) 2639–2660. <https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2011.07.004>.
- [295] J. Sambrook, D.W. Russell, *Molecular cloning: A laboratory manual*, thirdrd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001.
- [296] R.J. Davies-Colley, Optical properties and reflectance spectra of 3 shallow lakes obtained from a spectrophotometric study, *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 17 (1983) 445–459. <https://doi.org/10.1080/00288330.1983.9516019>.
- [297] R.J. Davies-Colley, R.D. Pridmore, J.E. Hewitt, Optical properties of some freshwater phytoplanktonic algae, *Hydrobiologia* 133 (1986) 165–178. <https://doi.org/10.1007/BF00031865>.

- [298] A. Bricaud, A. Morel, L. Prieur, Absorption by dissolved organic matter of the sea (yellow substance) in the UV and visible domains, *Limnol. Oceanogr.* 26 (1981) 43–53. <https://doi.org/10.4319/lo.1981.26.1.0043>.
- [299] H. Berberoglu, P.S. Gomez, L. Pilon, Radiation characteristics of *Botryococcus braunii*, *Chlorococcum littorale*, and *Chlorella* sp. used for fixation and biofuel production, *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 110 (2009) 1879–1893. <https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2009.04.005>.
- [300] M. Basseches, V.N. Mahajan (Eds.), *Geometrical and physical optics, polarized light, components and instruments*, McGraw-Hill, New York, 2010.
- [301] L.G. Coppel, Theory, modeling, and simulation of printing, in: J. Izdebska, S. Thomas (Eds.), *Printing on polymers: Fundamentals and applications*, Elsevier, Amsterdam, Heidelberg, 2016, pp. 307–327.
- [302] E. Aas, Refractive index of phytoplankton derived from its metabolite composition, *J. Plankton Res.* 18 (1996) 2223–2249. <https://doi.org/10.1093/plankt/18.12.2223>.
- [303] H.G. Gerken, B. Donohoe, E.P. Knoshaug, Enzymatic cell wall degradation of *Chlorella vulgaris* and other microalgae for biofuels production, *Planta* 237 (2013) 239–253. <https://doi.org/10.1007/s00425-012-1765-0>.
- [304] V. Lucarini, K.-E. Peiponen, J.J. Saarinen, E.M. Vartiainen, *Kramers-Kronig relations in optical materials research*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2005.
- [305] Z. Dubinsky, P.G. Falkowski, K. Wyman, Light Harvesting and Utilization by Phytoplankton, *Plant and Cell Physiology* 27 (1986) 1335–1349. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a077232>.
- [306] M. Abram, R. Białek, S. Szewczyk, J. Karolczak, K. Gibasiewicz, J. Kargul, Remodeling of excitation energy transfer in extremophilic red algal PSI-LHCI complex during light adaptation, *Biochim. Biophys. Acta Bioenerg.* 1861 (2020) 148093. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2019.148093>.
- [307] N.A. Engerer, Minute resolution estimates of the diffuse fraction of global irradiance for southeastern Australia, *Solar Energy* 116 (2015) 215–237. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2015.04.012>.
- [308] L. Fahrmeir, T. Kneib, S. Lang, B. Marx, *Regression: Models, Methods and Applications*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2013.
- [309] H. Akaike, A new look at the statistical model identification, *IEEE Transactions on Automatic Control* 19 (1974) 716–723. <https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>.
- [310] H. Akaike, Information Theory and an extension of the maximum Likelihood principle, in: K. Tanabe, G. Kitagawa, E. Parzen (Eds.), *Selected Papers of Hirotugu Akaike*, Springer, New York, NY, 1998, pp. 199–213.
- [311] K.P. Burnham, D.R. Anderson, Multimodel Inference: Understanding AIC and BIC in model selection, *Sociological Methods & Research* 33 (2004) 261–304. <https://doi.org/10.1177/0049124104268644>.
- [312] D. Posada, T.R. Buckley, Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of akaike information criterion and bayesian approaches over likelihood ratio tests, *Syst. Biol.* 53 (2004) 793–808. <https://doi.org/10.1080/10635150490522304>.
- [313] C.M. Saffron, J.-H. Park, B.E. Dale, T.C. Voice, Kinetics of contaminant desorption from soil: comparison of model formulations using the Akaike information criterion, *Environ. Sci. Technol.* 40 (2006) 7662–7667. <https://doi.org/10.1021/es0603610>.

- [314] N. Sugiura, Further analysts of the data by akaike' s information criterion and the finite corrections, *Communications in Statistics - Theory and Methods* 7 (1978) 13–26. <https://doi.org/10.1080/03610927808827599>.
- [315] C.M. Hurvich, C.-L. Tsai, Regression and time series model selection in small samples, *Biometrika* 76 (1989) 297–307. <https://doi.org/10.1093/biomet/76.2.297>.
- [316] C.M. Hurvich, C.-L. Tsai, Model selection for extended quasi-Likelihood models in small samples, *Biometrics* 51 (1995) 1077. <https://doi.org/10.2307/2533006>.
- [317] E.-J. Wagenmakers, S. Farrell, AIC model selection using Akaike weights, *Psychon. Bull. Rev.* 11 (2004) 192–196. <https://doi.org/10.3758/bf03206482>.
- [318] C.C. van Heerwaarden, W.B. Mol, M.A. Veerman, I. Benedict, B.G. Heusinkveld, W.H. Knap, S. Kazadzis, N. Kouremeti, S. Fiedler, Record high solar irradiance in Western Europe during first COVID-19 lockdown largely due to unusual weather, *Commun Earth Environ* 2 (2021). <https://doi.org/10.1038/s43247-021-00110-0>.
- [319] H. Takache, G. Christophe, J.-F. Cornet, J. Pruvost, Experimental and theoretical assessment of maximum productivities for the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in two different geometries of photobioreactors, *Biotechnol. Prog.* 26 (2010) 431–440. <https://doi.org/10.1002/btpr.356>.
- [320] N.P.A. Hüner, R. Bode, K. Dahal, L. Hollis, D. Rosso, M. Krol, A.G. Ivanov, Chloroplast redox imbalance governs phenotypic plasticity: the "grand design of photosynthesis" revisited, *Front. Plant Sci.* 3 (2012) 255. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00255>.
- [321] N.L. Greenbaum, A.C. Ley, D.C. Mauzerall, Use of a light-induced respiratory transient to measure the optical cross section of photosystem I in *Chlorella*, *Plant Physiol.* 84 (1987) 879–882. <https://doi.org/10.1104/pp.84.3.879>.
- [322] J.E. Polle, J.R. Benemann, A. Tanaka, A. Melis, Photosynthetic apparatus organization and function in the wild type and a chlorophyll b-less mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*. Dependence on carbon source, *Planta* 211 (2000) 335–344. <https://doi.org/10.1007/s004250000279>.
- [323] G.N. Johnson, Cyclic electron transport in C3 plants: fact or artefact?, *J. Exp. Bot.* 56 (2005) 407–416. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri106>.
- [324] G. Schansker, S.Z. Tóth, R.J. Strasser, Dark recovery of the Chl a fluorescence transient (OJIP) after light adaptation: the qT-component of non-photochemical quenching is related to an activated photosystem I acceptor side, *Biochim. Biophys. Acta* 1757 (2006) 787–797. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.04.019>.
- [325] H.L. MacIntyre, T.D. Sharkey, R.J. Geider, Activation and deactivation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) in three marine microalgae, *Photosynth Res* 51 (1997) 93–106. <https://doi.org/10.1023/A:1005755621305>.
- [326] J. Lavorel, P. Joliot, A connected model of the photosynthetic unit, *Biophysical Journal* 12 (1972) 815–831. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(72\)86125-3](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(72)86125-3).
- [327] V. Oja, A. Laisk, Photosystem II antennae are not energetically connected: evidence based on flash-induced O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence in sunflower leaves, *Photosynthesis Research* 114 (2012) 15–28. <https://doi.org/10.1007/s11120-012-9775-0>.
- [328] A.C. Ley, D.C. Mauzerall, The extent of energy transfer among Photosystem II reaction centers in *Chlorella*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 850 (1986) 234–248. [https://doi.org/10.1016/0005-2728\(86\)90178-7](https://doi.org/10.1016/0005-2728(86)90178-7).

- [329] Z. Ugray, L. Lasdon, J. Plummer, F. Glover, J. Kelly, R. Martí, Scatter search and local NLP solvers: A multistart framework for global optimization, *INFORMS Journal on Computing* 19 (2007) 328–340. <https://doi.org/10.1287/ijoc.1060.0175>.
- [330] M. Morweiser, O. Kruse, B. Hankamer, C. Posten, Developments and perspectives of photobioreactors for biofuel production, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87 (2010) 1291–1301. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2697-x>.
- [331] J. Schindelin, C.T. Rueden, M.C. Hiner, K.W. Eliceiri, The ImageJ ecosystem: An open platform for biomedical image analysis, *Mol. Reprod. Dev.* 82 (2015) 518–529. <https://doi.org/10.1002/mrd.22489>.
- [332] C.T. Rueden, J. Schindelin, M.C. Hiner, B.E. DeZonia, A.E. Walter, E.T. Arena, K.W. Eliceiri, ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data, *BMC Bioinformatics* 18 (2017) 529. <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>.
- [333] J. Schindelin, I. Arganda-Carreras, E. Frise, V. Kaynig, M. Longair, T. Pietzsch, S. Preibisch, C. Rueden, S. Saalfeld, B. Schmid, J.-Y. Tinevez, D.J. White, V. Hartenstein, K. Eliceiri, P. Tomancak, A. Cardona, Fiji: an open-source platform for biological-image analysis, *Nat. Methods* 9 (2012) 676–682. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>.
- [334] M. Stieß, *Mechanische Verfahrenstechnik - Partikeltechnologie 1*, third ed., Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2009.
- [335] C.Y. Ma, J.M. Zhao, L.H. Liu, L. Zhang, Growth-dependent radiative properties of *Chlorella vulgaris* and its influence on prediction of light fluence rate in photobioreactor, *J Appl Phycol* 31 (2018) 235–247. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1499-x>.
- [336] A.M. Illman, A.H. Scragg, S.W. Shales, Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium, *Enzyme and Microbial Technology* 27 (2000) 631–635. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(00\)00266-0](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(00)00266-0).
- [337] M.T. Guarnieri, J. Levering, C.A. Henard, J.L. Boore, M.J. Betenbaugh, K. Zengler, E.P. Knoshaug, Genome Sequence of the Oleaginous Green Alga, *Chlorella vulgaris* UTEX 395, *Front. Bioeng. Biotechnol.* 6 (2018) 37. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00037>.



---

# Anhang

## A.1 Studentische Abschlussarbeiten

Jan Maruna: „Simulink-basierte Modellierung des Lichteintrages in einem Flat Panel-Photobioreaktor“, Karlsruher Institut für Technologie, Bachelorarbeit (2019)

Christoph Griehl: „Ermittlung von Partikelbahnen in einem begasten Flat Panel-Photobioreaktor mithilfe von CFD“, Universität Magdeburg, Praktikum (2020)

Marius Schlund: „Untersuchung der Adaptation von Chlorella vulgaris an unterschiedliche Lichtintensitäten“, Hochschule Biberach, Bachelorarbeit (2020)

Mario Balogh: „Entwicklung eines dynamischen Modells zur Charakterisierung der photosynthetischen Elektronentransportkette“, Karlsruher Institut für Technologie, Bachelorarbeit (2020)

Yining Gong: „Validation and optimization of a model for quantitative prediction of the solar photon flux density in outdoor photobioreactors“, Karlsruher Institut für Technologie, Masterarbeit (2021)

Mathias Knebl: „Untersuchung der zellulären Antwort von Chlorella vulgaris auf Temperatur- und Lichtvariationen in Flachplattenphotobioreaktoren“, Hochschule Esslingen, Bachelorarbeit (2021)

Edgar Arturo Hernández Olivera: „Dynamische Modellierung der Photosynthese und des Mikroalgenmetabolismus in Abhängigkeit der Lichtintensität sowie der Nährstoffverfügbarkeit“, Karlsruher Institut für Technologie, Bachelorarbeit (2021)

## A.2 Lichtspektren der verwendeten LED-Module

Die in der nachfolgenden Abbildung A.2.1 dargestellten LED-Spektren wurden mithilfe eines in einem Abstand von 15 cm, parallel zur jeweiligen Lichtquelle aufgestellten Spektrometers (AvaSpec-3648, Avantes BV, Apeldoorn, Niederlande) über einen Zeitraum von 2 min gemessen. Die Datenaufzeichnung und -verarbeitung erfolgten mit der Software AvaSoft (Version 7.4; Avantes BV, Apeldoorn, Niederlande).

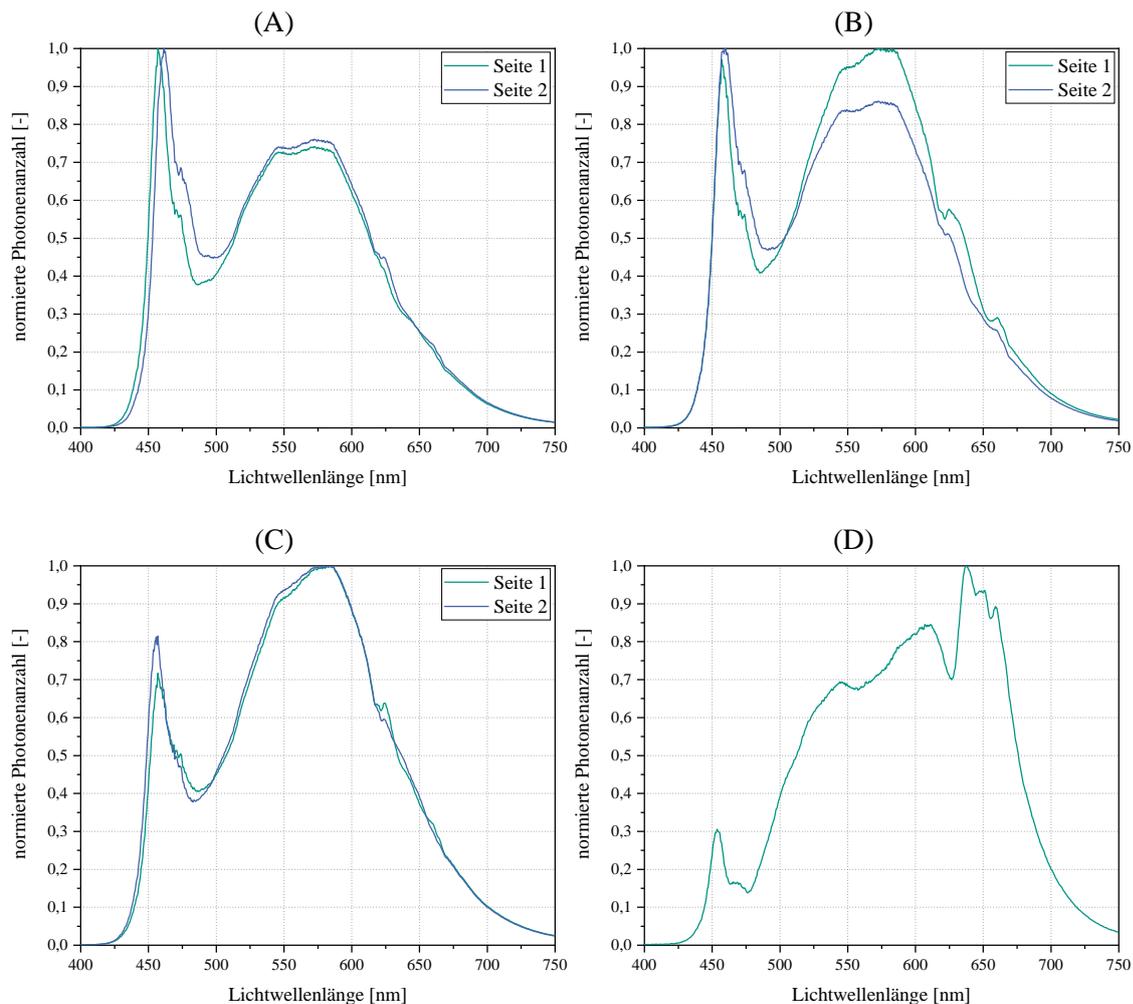


Abbildung A.2.1: Dargestellt sind die ermittelten Lichtspektren der verwendeten LED-Module. (A) LED-Module des Flachplatten-Photobioreaktors I; (B) LED-Module des Flachplatten-Photobioreaktors II; (C) LED-Module des Messaufbaus zur Bestimmung der oxygenen Netto-Photosyntheserate; (D) bei den Schüttelkolbenkultivierungen (Stammhaltung und Vorkulturführung) eingesetztes LED-Modul.

### A.3 Kalibriergeraden der Fluorimeter-LEDs

Die in der Abbildung A.3.1 dargestellten, gerätespezifischen Kalibrierreihen der jeweiligen LED-Arrays in der Messzelle des Fluorimeters FL 6000-F (Photon Systems Instruments spol. s r.o., Drásov, Tschechische Republik) wurden vom Gerätehersteller bereitgestellt. Diese Kalibrierreihen wurden verwendet, um aus den am Gerät einstellbaren Prozentwerten die korrespondierenden PFD-Werte in  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  zu erhalten. Die Kenntnis über die entsprechenden PFD-Werte war essenziell, um möglichst ähnliche Lichtbedingungen in der Messzelle des Fluorimeters wie im jeweiligen Flachplatten-Photobioreaktor einstellen zu können.

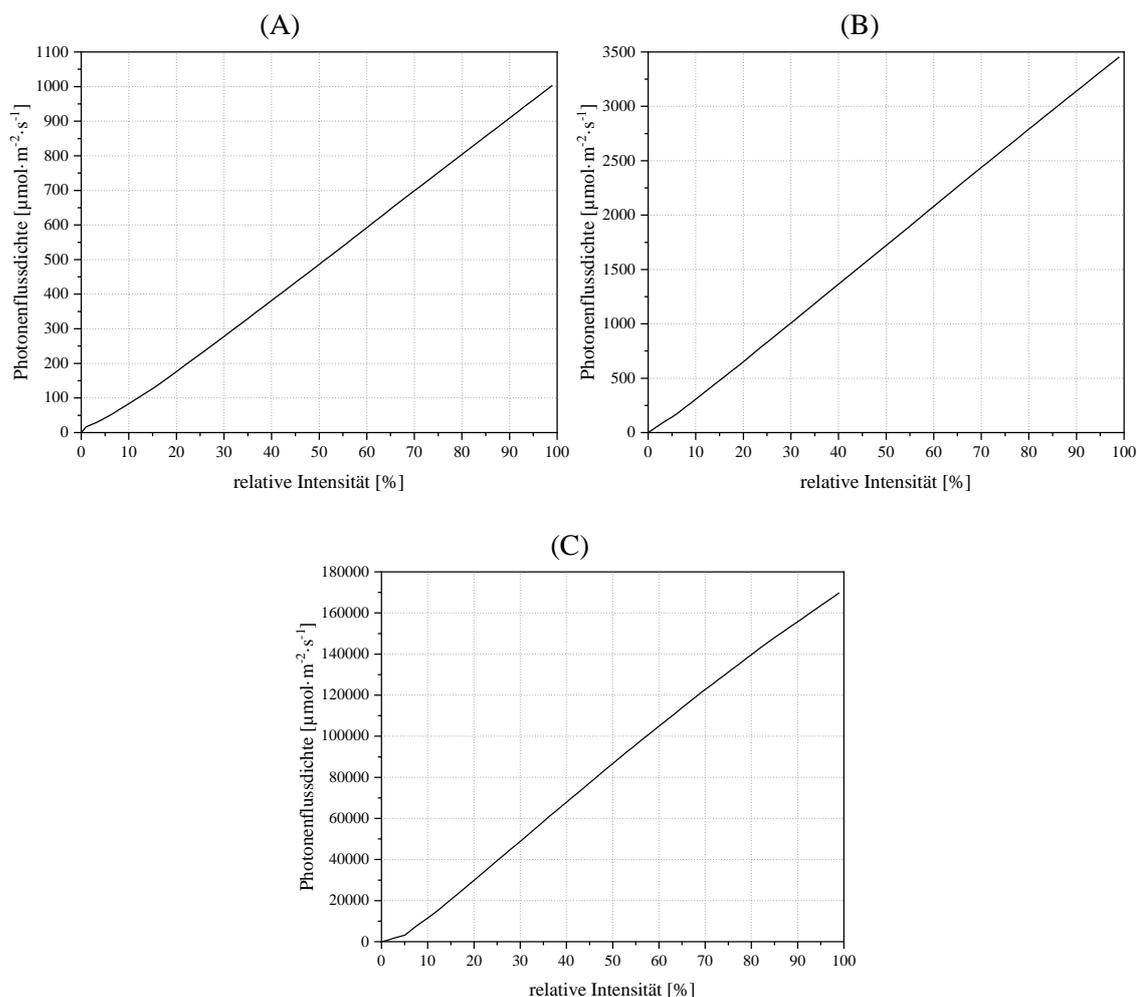


Abbildung A.3.1: Vom Gerätehersteller zur Verfügung gestellten Kalibrierreihen der im Fluorimeter FL 6000-F (Photon Systems Instruments spol. s r.o., Drásov, Tschechische Republik) eingesetzten LEDs. (A) Kalibrierreihe der Messlicht-LEDs; (B) Kalibrierreihe der aktinischen LEDs; (C) Kalibrierreihe der LEDs zur Erzeugung eines sättigenden Lichtimpulses.

## A.4 Beispielkurven aus Pulsamplitudenmodulation-Fluorimetriemessungen

Das Beispiel einer Messung zur Analyse der Chlorophyll-Fluoreszenzlöschung ist in Abbildung A.4.1 zu sehen. Die dargestellte Messung wurde entsprechend dem Protokoll in Abschnitt 3.3.6.1 durchgeführt. Während der Dunkelphasen ist lediglich das schwache Messlicht eingeschaltet. Während der Lichtphase wird das aktinische Licht mit der jeweiligen Intensität (vgl. Abschnitt 3.2) zugeschaltet. Die Intensität des Sättigungspulses war in allen Phasen gleich hoch. Die Parameter  $F_0$ ,  $F_m$ ,  $F_v$ ,  $F'$ ,  $F'_v$  und  $F'_q$  können unmittelbar aus der Messkurve abgeleitet werden. Alle weiteren Parameter wurden aus diesen Basisparametern berechnet [46,47] (vgl. Abschnitt 3.3.6.1).

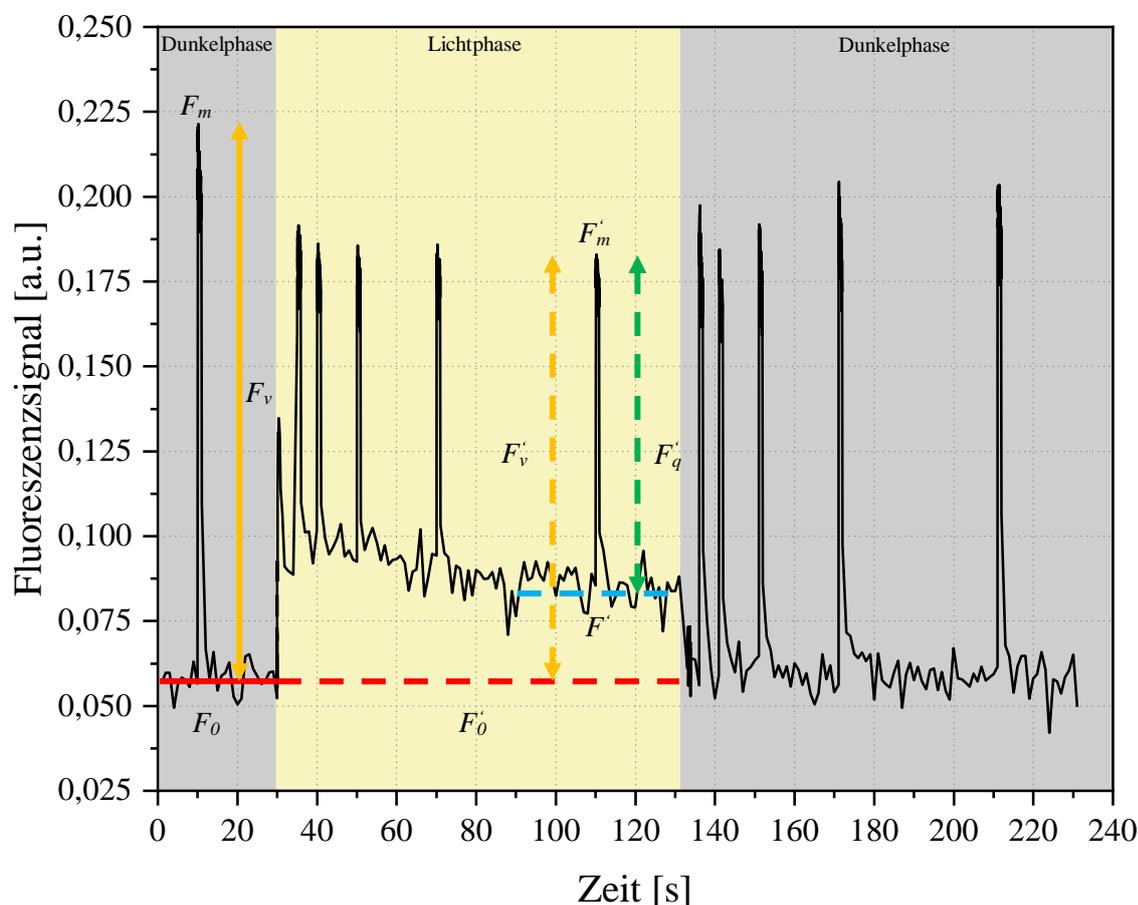


Abbildung A.4.1: Beispielhafte Messkurve zur Analyse der Chlorophyll-Fluoreszenzlöschung in *C. vulgaris* Zellen, die an  $267 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  unter nährstoffgesättigten Bedingungen akklimatisiert wurden. Eingezeichnet sind die charakteristischen Punkte nach [46].  $F_0$  und  $F'_0$  müssen, anders als dargestellt, nicht zwangsläufig identisch sein.  $F_0$  ist durch die durchgängige rote Linie gekennzeichnet;  $F'_0$  wird durch die gestrichelte rote Linie dargestellt;  $F_v$  wird aus der Differenz zwischen  $F_m$  und  $F_0$  berechnet und ist durch einen orangefarbenen Doppelpfeil gekennzeichnet;  $F'_v$  (orangefarbener, gestrichelter Doppelpfeil) wird aus der Differenz zwischen  $F'_m$  und  $F'_0$  ermittelt;  $F'_q$  (grüner, gestrichelter Doppelpfeil) lässt sich aus der Differenz zwischen  $F'_m$  und  $F'$  (blaue, gestrichelte Linie) bestimmen. [46,47]

Im Nachfolgenden ist ein Beispiel für eine OJIP-Transiente (vgl. Abschnitt 3.3.6.2) dargestellt. Die charakteristischen Punkte einer OJIP-Transienten (siehe Abbildung A.4.2) sind: der Ursprung des Messkurve O, die beiden intermediären Zustände J und I sowie der Punkt der maximalen Fluoreszenz P. Aus der Fläche ( $A_{OJIP}$ ) zwischen der Messkurve und dem P-Niveau kann durch deren Normalisierung die Anzahl der Reduktionen und Oxidationen eines  $Q_A$ -Moleküls während der Messung abgeschätzt werden (siehe Tabelle 3.4), was Rückschlüsse über die RCII-spezifische Anzahl der PQ-Moleküle (PQ-Pool) ermöglicht [293].

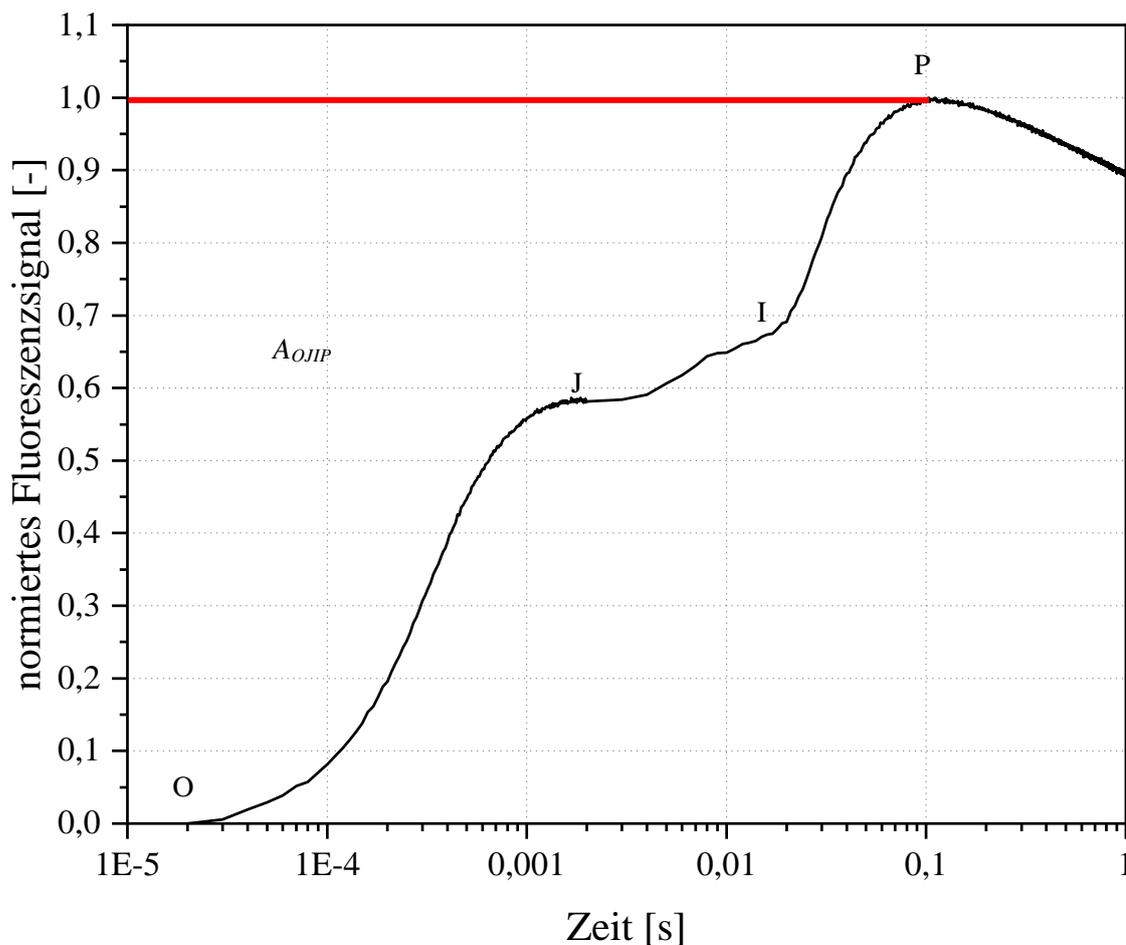


Abbildung A.4.2: Beispiel einer OJIP-Transienten der an  $267 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  akklimatisierten, nährstoffgesättigten *C. vulgaris* Zellen. Abgebildet sind die charakteristischen Niveaus O, J, I und P sowie die Fläche zwischen dem P-Niveau (rote Linie) und der OJIP-Transienten, die als  $A_{OJIP}$  bezeichnet wird.

Der schnelle Anstieg vom O- zum J-Niveau ist hauptsächlich durch die Reduktionskinetik von  $Q_A$  und  $Q_B$ , die die Akzeptorseite von RCII darstellen, charakterisiert. Im nächsten Schritt wird der PQ-Pool bis zur Sättigung reduziert, was sich in der geringfügigen Zunahme der Fluoreszenz zwischen den intermediären Zuständen J und I widerspiegelt [285,293]. Der Anstieg zwischen I und P wird durch die Reduktionskinetik der RCI-Akzeptorseite definiert [285]. Der Fluoreszenzanstieg kommt zustande, weil die RCI-Akzeptorseite erst nach einiger Zeit aktiviert wird. Das führt zu einer vollständigen Reduktion der photosynthetischen ETK (P-Niveau), bis die RCI-Akzeptorseite die Elektronen weiterleitet und die Fluoreszenz deshalb abnimmt [293].

## A.5 Bildbasierte Zellgrößenanalyse

Im Rahmen dieses Experimentes wurde die Abhängigkeit der Zellgröße von der spezifischen Wachstumsrate ( $\mu$ ) untersucht. Hierfür wurden im Turbidostat (siehe Abschnitt 3.1.3) die photosynthetisch aktiven Photonenflussdichten (PPFDs) variiert und die *C. vulgaris* Zellen nach einer Akklimatisationsphase (mindestens 72 h bei konstanten Bedingungen) unter einem Lichtmikroskop (Axio Scope.A1, Carl Zeiss AG, Jena, Deutschland) untersucht. Folgende PPFD-Bedingungen wurden jeweils einfach untersucht: 30, 60, 100, 150, 200, 250, 450  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Die Einstellung der aufgelisteten Oberflächen-PPFDs und die Erfassung von  $\mu$  erfolgten entsprechend der Durchführung in Abschnitt 3.1.3. Anders als in Abschnitt 3.1.3, wurden bei diesem Experiment einseitig beleuchtete Photobioreaktoren verwendet (vgl. [127]). Aus diesem Grund wurde die Biotrockenmasse (BTM)-Konzentration im Turbidostat konstant bei 0,3  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  statt 0,5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  gehalten (vgl. Abschnitt 3.1.3). Die Probenahmen erfolgten wie in Abschnitt 3.1.4 beschrieben. Die aus dem Reaktor entnommenen Zellen wurden unmittelbar mikroskopiert (40-fache Vergrößerung, Differentialinterferenzkontrast). Mithilfe der auf dem Lichtmikroskop montierten Kamera (ODC 851, Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland) wurden Aufnahmen gemacht, die in der Summe mindestens 150 Mikroalgenzellen enthielten. Jeder 24-bit Aufnahme mit einem roten, grünen und blauen (RGB) Farbkanal wurde mithilfe der Bildverarbeitungssoftware MicroscopeVIS (Version 1.0.669.1531, Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland) ein digitaler Maßstab beigelegt.

Aufgrund der Datenmenge musste eine automatisierte Methode zur Bestimmung der Zellgröße aus den Mikroskopaufnahmen entwickelt werden. Hierfür wurde das Bildverarbeitungsprogramm ImageJ2 [331,332] mit dem Fiji-Paket [333] (Version 1.53k, National Institutes of Health, Bethesda, USA) eingesetzt. Das Protokoll zur automatisierten Auswertung der Mikroskopaufnahmen wird im Nachfolgenden vorgestellt.

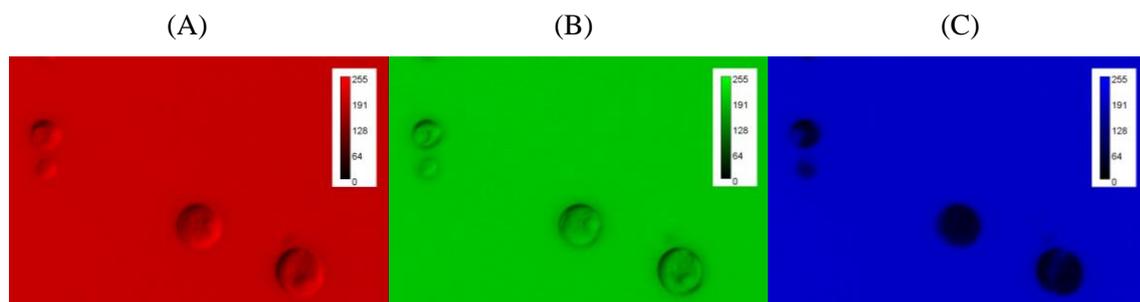


Abbildung A.5.1: Beispielhafte Aufspaltung der drei (RGB-)Farbkanäle einer Mikroskopaufnahme von *C. vulgaris*. Die Bildaufnahme erfolgte unter einer 40-fachen Vergrößerung und Differentialinterferenzkontrast. (A) Rot-Kanal, (B) Grün-Kanal; (C) Blau-Kanal.

Die pro Versuchsansatz aufgenommene Bildersequenz wurde in ImageJ2 importiert. Um später die Zellgröße bestimmen zu können, wurde anhand des digitalen Maßstabsbalkens eine globale Skalierung für die Bildersequenz definiert. Im nächsten Schritt wurden der Kontrast und die Helligkeit optimiert. Anschließend wurden die Mikroalgenzellen über die Einstellung der Farbschwellenwerte im RGB-Farbraum identifiziert. Eine vorangegangene Untersuchung der Mikro-

skopbilder hat gezeigt, dass die Mikroalgenzellen einen sehr geringen Blauanteil enthalten (vgl. Abbildung A.5.1). Demnach ist es möglich, den Hintergrund über die Variation des Schwellenwertes des blauen Farbkanals vollständig herauszufiltern. Die Schwellenwertintervalle der Rot- und Grünfarbwerte wurden jeweils auf 0-255 eingestellt. Das Schwellenwertintervall für den Blaufarbwert wurde von 0 bis zu einem Wert eingestellt, bei dem die Mikroalgenzellen gerade noch vollständig erfasst werden konnten. Nachdem die Mikroalgenzellen nach der vorgestellten Methode identifiziert wurden, wurde die Bildersequenz in 8-bit Schwarz-Weiß-Aufnahmen umgewandelt. Dies ermöglichte die Anwendung der ImageJ2-Werkzeuge *Close* und *Watershed*, um jeweils mögliche Lücken innerhalb der erfassten Zellprojektionen zu schließen und vorhandene Zellagglomerate in Einzelzellen aufzutrennen. Zum Schluss konnten die identifizierten, aufgearbeiteten Zellen analysiert werden, um ihre Größe zu bestimmen. Zur Bestimmung der Zellradien wurden jeweils die ermittelte Zellfläche und der maximale Feret-Durchmesser [334] herangezogen. Die Abfolge der hier beschriebenen Schritte ist zudem am Beispiel einer Mikroskopaufnahme von *C. vulgaris* in Abbildung A.5.2 dargestellt.

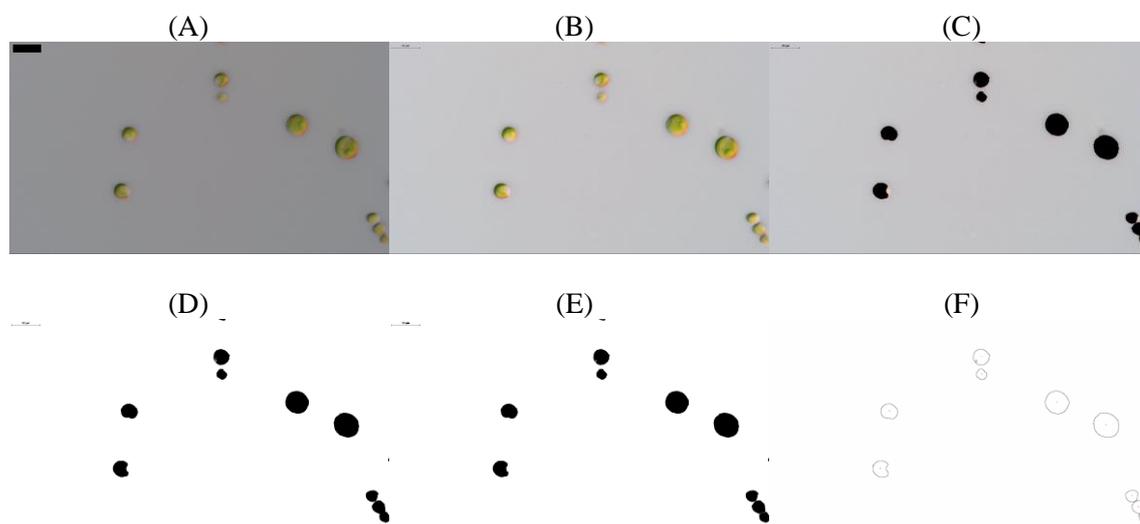


Abbildung A.5.2: Ablauf der automatisierten Bestimmung der Zellgröße von *C. vulgaris* mittels des Bildverarbeitungsprogramms ImageJ2. Der eingezeichnete Maßstab in (A) entspricht 10  $\mu\text{m}$ . (A) Originalaufnahme (40-fache Vergrößerung, Differentialinterferenzkontrast); (B) Optimierung des Kontrastes und der Helligkeit; (C) Identifizierung der Mikroalgenzellen über die Einstellung der Farbschwellenwerte im RGB-Farbraum; (D) Umwandlung des 24-bit RGB-Bildes in ein 8-bit Schwarz-Weiß-Bild; (E) Anwendung der ImageJ2-Werkzeuge *Close* und *Watershed*; (F) Darstellung der Umrisse erkannter, analysierter Mikroalgenzellen.

Tabelle A.5.1: Statistische Parameter zur Validierung der automatisierten Bilderauswertungsmethode.

Parameter	Bestimmungsart der Zellradien	
	aus der Zellfläche	aus dem Feret-Durchmesser
nRMSE [%]	7,89	8,92
nMBE [%]	-5,71	6,24

Zur Validierung und Evaluierung des automatisierten Bilderauswertungsprotokolls wurden Mikroskopaufnahmen mit insgesamt 100 Mikroalgenzellen manuell mithilfe der in dem Pro-

gramm MicroscopeVIS integrierten Werkzeuge analysiert und mit den Ergebnissen der automatisierten Auswertung verglichen. In Tabelle A.5.1 sind die Abweichungen zwischen den mit ImageJ2 ermittelten Zellradien (jeweils aus der Zellfläche und dem Feret-Durchmesser) und den manuell ermittelten Zellradien aufgelistet. Zur Bewertung der Abweichungen wurden die normierten statistischen Kennzahlen (vgl. Abschnitt 3.4.3) *root mean square error* (nRMSE) und *mean bias error* (nMBE) herangezogen. Aus Tabelle A.5.1 wird ersichtlich, dass die Abweichung der automatisiert ermittelten Zellradien von den manuell bestimmten Zellradien zufriedenstellend gering ausfällt. Dabei scheint es keinen relevanten Unterschied zu geben, ob die Radien aus der Zellfläche oder dem maximalen Feret-Durchmesser berechnet werden. Die Berechnung der Zellradien aus der Zellfläche führt im Mittel zu einer geringfügigen Unterschätzung der tatsächlichen Zellradien. Die alternative Berechnung der Zellradien aus dem Feret-Durchmesser führt zu einem gegenteiligen Ergebnis. Insgesamt zeigen die Ergebnisse in Tabelle A.5.1, dass das hier entwickelte Protokoll zur automatisierten Auswertung der Mikroskopaufnahmen für die gestellte Aufgabe – nämlich die bildbasierte Bestimmung der Zellgröße von *C. vulgaris* – geeignet zu sein scheint. Bedingt durch die Tatsache, dass für die Validierung besonders geeignete Mikroalgenzellen gewählt wurden, die nahezu perfekt sphärisch und somit gut geeignet für die manuelle Auswertung waren, gab es bei der automatisierten Auswertung kaum Probleme mit großen Lücken innerhalb der Zellen oder mit nur teilweise erkannten Zellen. Bei weniger geeigneten Zellen könnte es dementsprechend zu einer zusätzlichen Unterschätzung der Zellradien kommen. Da diese Probleme bei der Bestimmung der Zellradien aus dem maximalen Feret-Durchmesser deutlich weniger ausgeprägt sind, wurde diese Methode aufgrund ihrer höheren Robustheit bevorzugt, auch wenn die statistischen Parameter in Tabelle A.5.1 hierbei geringfügig unvorteilhafter ausgefallen sind als bei der alternativen Methode. An die resultierenden Verteilungsdichtefunktionen der Zellradien wurde jeweils die logarithmische Normalverteilung (Beispiel siehe Abbildung A.5.3) angepasst [218,238], um den jeweiligen durchschnittlichen Zellradius und dessen Standardabweichung zu ermitteln.

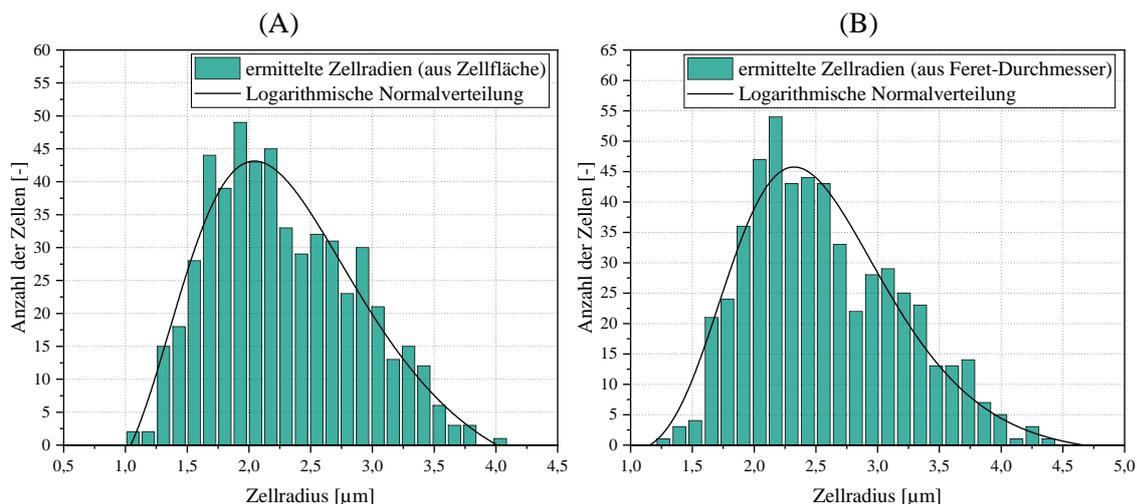


Abbildung A.5.3: Ermittelte Verteilungsdichtefunktionen der aus den Mikroskopaufnahmen bestimmten Zellradien von *C. vulgaris* inklusive der an die Daten angepassten logarithmischen Normalverteilung. Beispielhaft abgebildet ist der Versuchsansatz mit einer spezifischen Wachstumsrate von  $0,036 \text{ h}^{-1}$ . (A) Aus der Zellfläche berechnete Zellradien; (B) Aus dem maximalen Feret-Durchmesser ermittelte Zellradien.

Die so bestimmten durchschnittlichen Zellradien und die dazugehörigen Standardabweichungen sind nachfolgend gegen die komplementären spezifischen Wachstumsraten aufgetragen.

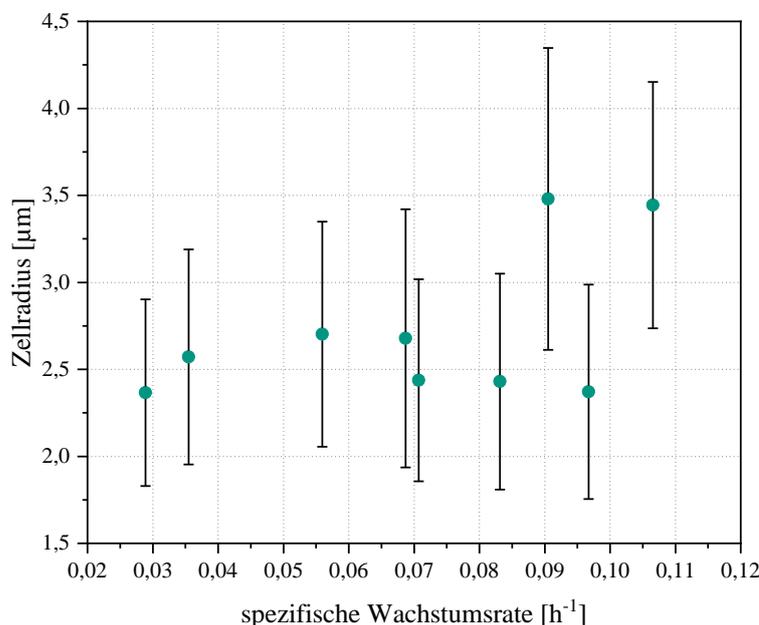


Abbildung A.5.4: Abhängigkeit der Zellgröße von *C. vulgaris* von der spezifischen Wachstumsrate.

Wie in Abbildung A.5.4 zu sehen ist, konnte keine eindeutige Abhängigkeit der Zellgröße von der spezifischen Wachstumsrate im Falle von *C. vulgaris* festgestellt werden. Dies impliziert, dass das Zellvolumen von *C. vulgaris* unabhängig von der vorliegenden spezifischen Wachstumsrate nahezu unverändert bleibt. Es sollte jedoch beachtet werden, dass die hier eingesetzte Methode mehrere Nachteile aufweist. In Abbildung A.5.2 ist zu erkennen, dass die Ränder der Mikroalgenzellen nicht perfekt scharf abgebildet werden. Die Einstellung der Farbschwellenwertes unterliegt deshalb immer einer gewissen Subjektivität und damit auch einer Unsicherheit. Zudem ist eine Änderung des Zellradius nur quadratisch proportional zur Querschnittsänderung der Zelle. Beides kann dazu beitragen, dass mit der entwickelten Methode geringe Zellradiusvariationen nicht ausreichend bzw. gar nicht erfasst werden. Da das Zellvolumen kubisch proportional zum Zellradius ist, könnte der Einsatz von Methoden, die das Zellvolumen statt der Zellprojektionsfläche erfassen, die Genauigkeit der Messungen und damit auch die Erfassbarkeit geringfügiger Variationen der Zellradien verbessern. Hierfür könnte bspw. der Coulter-Zähler verwendet werden [334].

Aufbauend auf diesen Erkenntnissen und aus Vereinfachungsgründen wurde für die weiteren Untersuchungen eine Modellzelle mit einem konstanten Zellradius ( $r_c$ ) von  $2,72 \pm 0,22 \mu\text{m}$ , der dem Mittelwert der Zellradien aus Abbildung A.5.4 entspricht, angenommen. Dieser Wert liegt auch im Rahmen der für *C. vulgaris* bekannten Literaturwerte [4,6,31,133,335,336].

## A.6 Typische Zellkomposition von *Chlorella vulgaris*

Die Hauptbestandteile einer Mikroalgenzelle sind Proteine, Kohlenhydrate, Lipide, Pigmente und Nukleinsäuren [6,23]. Weitere Metabolite wie bspw. die Sekundärmetabolite liegen normalerweise in vernachlässigbar geringen Mengen vor [151]. Im Nachfolgenden werden typische Zusammensetzungen der Hauptbestandteile, ausgehend von den Literaturdaten, aufgelistet.

Das typische Aminosäureprofil von *C. vulgaris* nach [6] ist in Tabelle A.6.1 dargestellt. Hierbei handelt es sich um Mittelwerte, die aus den Werten in [6] gebildet wurden. Die Summenformeln der Aminosäuren wurden aus [129] entnommen. Im Kontext dieser Arbeit wird vereinfacht angenommen, dass dieses durchschnittliche Aminosäureprofil stets konstant bleibt.

Tabelle A.6.1: Typisches Aminosäureprofil von *C. vulgaris* nach [6]. Der jeweilige Anteil bezieht sich auf den Aminosäurepool.

Aminosäure	Anteil [%]	Anzahl [-]					
		C	H	O	N	P	S
<b>Alanin</b>	9,47	3	7	2	1	0	0
<b>Arginin</b>	6,78	6	14	2	4	0	0
<b>Asparaginsäure*</b>	9,94	4	7	4	1	0	0
<b>Cystein</b>	0,73	3	7	2	1	0	1
<b>Glutaminsäure*</b>	11,73	5	9	4	1	0	0
<b>Glycin</b>	6,94	2	5	2	1	0	0
<b>Histidin</b>	1,73	6	9	2	3	0	0
<b>Isoleucin</b>	2,56	6	13	2	1	0	0
<b>Leucin</b>	8,73	6	13	2	1	0	0
<b>Lysin</b>	6,59	6	14	2	2	0	0
<b>Methionin</b>	1,06	5	11	2	1	0	1
<b>Phenylalanin</b>	5,57	9	11	2	1	0	0
<b>Prolin</b>	4,26	5	9	2	1	0	0
<b>Serin</b>	5,92	3	7	3	1	0	0
<b>Threonin</b>	5,47	4	9	3	1	0	0
<b>Tryptophan</b>	2,24	11	12	2	2	0	0
<b>Tyrosin</b>	4,76	9	11	3	1	0	0
<b>Valin</b>	5,53	5	11	2	1	0	0

\*: Asparagin und Glutamin in Asparagin- und Glutaminsäure eingerechnet.

Analog zu Abschnitt 2.3 wird der Kohlenhydratpool in funktionale Kohlenhydrate und Speicherkohlenhydrate unterteilt. Es wird vereinfacht angenommen, dass der funktionale Pool hauptsächlich durch strukturgebende Kohlenhydrate gebildet wird. Eine hohe Konzentration von einfachen Zuckern, wie bspw. Glucose, wäre für eine Mikroalgenzelle aufgrund der osmotischen Aktivität solcher Substanzen unvorteilhaft. Deshalb sollten solche Zucker nur in geringen Konzentrationen in der Zelle vorkommen. Hierfür sprechen auch experimentelle Beobachtungen [146]. Stattdessen wird das Polysaccharid Stärke akkumuliert, das die Speicherkohlenhydrate repräsentiert [113]. In Tabelle A.6.2 ist die typische Zusammensetzung funktionaler Kohlenhydrate nach [6,144,146] dargestellt.

Tabelle A.6.2: Typische Komposition funktionaler Kohlenhydrate nach [6,144,146]. Dargestellt sind jeweils gemittelte Literaturwerte. Die Anteile beziehen sich auf den funktionalen Kohlenhydratpool.

Kohlenhydrat	Anteil [%]	Anzahl [-]					
		C	H	O	N	P	S
Arabinose	6	5	10	5	0	0	0
Fructose	3	6	12	6	0	0	0
Galactose	20	6	12	6	0	0	0
Glucose	3	6	12	6	0	0	0
Mannose	5	6	12	6	0	0	0
Rhamnose	50	6	12	5	0	0	0
Xylose	13	5	10	5	0	0	0

Im Falle der Speicherkohlenhydrate wird angenommen, dass diese nur aus Stärke bestehen:

Tabelle A.6.3: Typische Zusammensetzung der Speicherkohlenhydrate. Angegeben ist die Wiederholeinheit der Stärke. Der Anteil bezieht sich auf die Speicherkohlenhydrate

Kohlenhydrat	Anteil [%]	Anzahl [-]					
		C	H	O	N	P	S
Stärke	100	6	10	5	0	0	0

Die typische Fettsäurezusammensetzung in *C. vulgaris* wird anhand der Daten von [149] definiert.

Tabelle A.6.4: Typische Fettsäurezusammensetzung von *C. vulgaris*, Daten entnommen aus [149]. Die angegebenen Anteile beziehen sich auf den Pool der Fettsäuren.

Fettsäure	Anteil [%]	Anzahl [-]					
		C	H	O	N	P	S
Myristinsäure (14:0)	0,496	14	28	2	0	0	0
Palmitinsäure (16:0)	25,795	16	32	2	0	0	0
Palmitoleinsäure (16:1)	1,984	16	30	2	0	0	0
Hexadecadiensäure (16:2)	9,921	16	28	2	0	0	0
Hexadecatriensäure (16:3)	1,984	16	26	2	0	0	0
Stearinsäure (18:0)	0,298	18	36	2	0	0	0
Ölsäure (18:1)	15,874	18	34	2	0	0	0
Linolsäure (18:2)	23,810	18	32	2	0	0	0
$\alpha$ -Linolensäure (18:3)	19,842	18	30	2	0	0	0

Wie bereits in Abschnitt 2.3 beschrieben, kann der Lipidpool ebenfalls in zwei Hauptgruppen aufgeteilt werden. Der funktionale Lipidpool besteht überwiegend aus Glyco- und Phospholipiden, aber auch aus freien Fettsäuren [147,148]. Die Triacylglycerole (TAGs) bilden hauptsächlich die Speicherlipide [113,147,148]. Ausgehend von einer durchschnittlichen Fettsäure mit der Anteil-gewichteten Summenformel  $C_{17,2}H_{31,4}O_2$  (vgl. Tabelle A.6.4) und den Daten von [148] ergibt sich folgendes Bild für die mittlere Zusammensetzung funktionaler Lipide:

Tabelle A.6.5: Typische Zusammensetzung funktionaler Lipide in *C. vulgaris* nach [148]. Die angegebenen Summenformeln ergeben sich aus der vereinfachten Annahme einer durchschnittlichen Fettsäure, ausgehend von den Daten in Tabelle A.6.4. Die angegebenen Anteile beziehen sich auf den Gesamtpool der funktionalen Lipide.

Lipid	Anteil [%]	Anzahl [-]					
		C	H	O	N	P	S
<b>Digalactosyldiacylglycerol</b>	28,5	49,4	86,8	15	0	0	0
<b>Monogalactosyldiacylglycerol</b>	34,7	43,4	76,8	10	0	0	0
<b>Phosphatidylcholin</b>	20,1	42,4	78,8	8	1	1	0
<b>Phosphatidylethanolamin</b>	11,8	39,4	72,8	8	1	1	0
<b>Phosphatidylglycerol*</b>	1,7	40,4	72,8	10	0	1	0
<b>Phosphatidylinositol*</b>	1,6	43,4	74,8	19	0	3	0
<b>Sulfoquinovosyldiacylglycerol*</b>	1,6	43,4	75,8	12	0	0	1

\*: Die in [148] angegebenen 4,9 % für die restlichen Lipide wurden gleichmäßig auf die markierten Lipide verteilt.

Die typische Zusammensetzung der Speicherlipide in *C. vulgaris* sieht dementsprechend wie folgt aus [147]:

Tabelle A.6.6: Typische Zusammensetzung eines TAG [147], ausgehend von einer durchschnittlichen Fettsäure mit der oben genannten Summenformel. Der angegebene Anteil bezieht sich auf den Pool der Speicherlipide.

Lipid	Anteil [%]	Anzahl [-]					
		C	H	O	N	P	S
<b>TAG</b>	100	54,6	96,2	6	0	0	0

Die Pigmente in *C. vulgaris* setzen sich hauptsächlich aus Chlorophyll a (Chla), Chlorophyll b (Chlb) und photoprotektiven Carotinoiden (Car) zusammen [50,97]. Für die Zusammensetzung der Car wird vereinfacht die von [99] ermittelte Komposition angenommen, wobei der Anteil der unidentifizierten Car herausgerechnet wurde. Die entsprechenden Ergebnisse sind in Tabelle A.6.7 aufgelistet. Da Chla und Chlb im Rahmen der vorliegenden Arbeit explizit gemessen wurden (siehe Abschnitt 3.3.2), wurde stets die experimentell erfasste Zusammensetzung der Chlorophylle verwendet. Demnach musste für die Chlorophylle keine mittlere Summenformel angenommen werden. Die Summenformel für Chla lautet  $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$  [1]. Chlb besitzt die Summenformel  $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$  [1].

Tabelle A.6.7: Typische Zusammensetzung der photoprotektiven Car in *Chlorella spp.* nach [99]. Die Anteile beziehen sich auf den gesamten photoprotektiven Carotinoidpool.

Pigment	Anteil [%]	Anzahl [-]					
		C	H	O	N	P	S
<b><math>\alpha</math>-Carotin</b>	4	40	56	0	0	0	0
<b><math>\beta</math>-Carotin</b>	15	40	56	0	0	0	0
<b>Lutein</b>	61	40	56	2	0	0	0
<b>Neoxanthin</b>	10	40	56	4	0	0	0
<b>Violaxanthin</b>	10	40	56	4	0	0	0

Für das Genom von *C. vulgaris* wurde ein GC-Gehalt von 61,5 % angenommen [337]. Basierend auf den Daten von [140] wird zudem angenommen, dass im Mittel 20,5 % der gesamten Nukleotide in der Desoxyribonukleinsäure (DNS) vorliegen, während die restlichen 79,5 % die Ribonukleinsäuren (RNS) bilden. Für die mittlere Komposition der Nukleotide ergibt sich demnach folgendes Bild:

Tabelle A.6.8: Typische Zusammensetzung der Nukleotide in *C. vulgaris*. Die angegebenen Werte basieren auf den Daten von [140,337]. Die dargestellten Anteile beziehen sich auf den Pool der Nukleotide.

Nukleinsäure	Anteil [%]	Anzahl [-]					
		C	H	O	N	P	S
<b>Desoxyadenosinmonophosphat</b>	3,95	10	14	6	5	1	0
<b>Desoxycytidinmonophosphat</b>	6,30	9	14	7	3	1	0
<b>Desoxyguanosinmonophosphat</b>	6,30	10	14	7	5	1	0
<b>Desoxythymidinmonophosphat</b>	3,95	10	15	8	2	1	0
<b>Adenosinmonophosphat</b>	15,30	10	14	7	5	1	0
<b>Cytidinmonophosphat</b>	24,45	9	14	8	3	1	0
<b>Guanosinmonophosphat</b>	24,45	10	14	8	5	1	0
<b>Uridinmonophosphat</b>	15,30	9	13	9	2	1	0

Schließlich ergeben sich folgende durchschnittliche, Anteil-gewichtete Summenformeln für die Zellkomponenten von *C. vulgaris*:

Tabelle A.6.9: Repräsentative Summenformeln der Hauptzellbestandteile von *C. vulgaris*.

Zellkomponente	Anzahl [-]						
	C	H	O	N	P	S	Mg
<b>Proteine</b>	10,26	17,46	4,20	2,66	0	0,04	0
<b>Kohlenhydrate (funktional)</b>	5,81	11,62	5,31	0	0	0	0
<b>Speicherkohlenhydrate</b>	6	10	5	0	0	0	0
<b>Lipide (funktional)</b>	44,39	79,46	10,96	0,32	0,38	0,02	0
<b>Speicherlipide</b>	54,60	96,20	6	0	0	0	0
<b>Chlorophyll a</b>	55	72	5	4	0	0	1
<b>Chlorophyll b</b>	55	70	6	4	0	0	1
<b>Carotinoide (photoprotektiv)</b>	40	56	2,02	0	0	0	0
<b>DNS und RNS</b>	19,08	23,78	14,60	7,62	2	0	0

## A.7 Aminosäureprofil der Photosysteme II und I

Alle hier aufgeführten Werte stammen aus der UniProt-Datenbank und wurden ursprünglich für die Grünalge *C. reinhardtii* ermittelt. Unter dem Reaktionszentrum II (RCII) wurden folgende Proteine zusammengefasst: D1, D2, CP43, CP47, CP26, CP29, psbE, psbF, psbI, psbH, psbJ, psbK, psbL, psbM, psbN, psbO, psbP, psbQ, psbR, psbS1, psbT, psbW, psbX, psbY1 und psbZ. Für die Masse eines RCII ergibt sich somit ein Wert von 475,037 kDa. Das durchschnittliche Aminosäureprofil eines Lichtsammelkomplex II (LHCII)-Trimers aus *C. reinhardtii* wurde ausgehend von den Proteinen LHCBM1, LHCBM2, LHCBM3, LHCBM4, LHCBM5, LHCBM6, LHCBM7, LHCBM8 und LHCBM9 ermittelt. Hieraus resultiert für die Masse eines durchschnittlichen LHCII-Trimers ein Wert von 82,016 kDa.

Tabelle A.7.1: Aminosäureprofil eines RCII und eines durchschnittlichen LHCII-Trimers. Die aufgelisteten Daten wurden den in der UniProt-Datenbank hinterlegten Einträgen für die Grünalge *C. reinhardtii* entnommen.

Aminosäure	Anzahl in RCII [-]	relative Häufigkeit in RCII [%]	Anzahl in LHCII [-]	relative Häufigkeit in LHCII [%]
Alanin	500	11,40	98	12,76
Arginin	193	4,40	25	3,30
Asparagin	153	3,49	28	3,69
Asparaginsäure	178	4,06	33	4,25
Cystein	26	0,59	4	0,56
Glutamin	115	2,62	20	2,65
Glutaminsäure	204	4,65	42	5,51
Glycin	430	9,80	89	11,55
Histidin	54	1,23	10	1,26
Isoleucin*	<b>216</b>	<b>4,92</b>	<b>27</b>	<b>3,52</b>
Leucin*	<b>446</b>	<b>10,17</b>	<b>77</b>	<b>10,07</b>
Lysin*	<b>193</b>	<b>4,40</b>	<b>43</b>	<b>5,56</b>
Methionin*	<b>97</b>	<b>2,21</b>	<b>16</b>	<b>2,04</b>
Phenylalanin*	<b>283</b>	<b>6,45</b>	<b>48</b>	<b>6,21</b>
Prolin	205	4,67	53	6,90
Serin	290	6,61	37	4,82
Threonin*	<b>254</b>	<b>5,79</b>	<b>43</b>	<b>5,56</b>
Tryptophan*	<b>97</b>	<b>2,21</b>	<b>13</b>	<b>1,69</b>
Tyrosin	116	2,64	24	3,08
Valin*	<b>337</b>	<b>7,68</b>	<b>39</b>	<b>5,03</b>

\*: essenzielle Aminosäure

Unter dem Reaktionszentrum I (RCI) wurden folgende Proteine zusammengefasst: PsaA, PsaB, PsaC, PsaD, PsaE, PsaF, PsaG, PsaH, PsaI, PsaJ, PsaK, PsaL, PsaN und PsaO. Daraus ergibt sich eine RCI-Masse von 332,981 kDa. Das durchschnittliche Aminosäureprofil eines Lichtsammelkomplex I (LHCI)-Monomers aus *C. reinhardtii* wurde ausgehend von den Proteinen Lhca1, Lhca2, Lhca3, Lhca4, Lhca5, Lhca6, Lhca7, Lhca8 und Lhca9 ermittelt. Für die Masse eines durchschnittlichen LHCI-Monomers resultiert demnach ein Wert von 27,535 kDa. Sowohl

Ferredoxin (Fd; petF) als auch die Ferredoxin-NADP-Reduktase (FNR; petH) wurden nicht zu RCI hinzugerechnet.

Tabelle A.7.2: Aminosäureprofil eines RCI und eines durchschnittlichen LHCI-Monomers. Die aufgelisteten Daten wurden den in der UniProt-Datenbank hinterlegten Einträgen für die Grünalge *C. reinhardtii* entnommen.

Aminosäure	Anzahl in RCI [-]	relative Häufigkeit in RCI [%]	Anzahl in LHCI [-]	relative Häufigkeit in LHCI [%]
Alanin	378	12,34	32	12,57
Arginin	140	4,57	11	4,49
Asparagin	101	3,30	9	3,58
Asparaginsäure	104	3,39	10	3,80
Cystein	28	0,91	2	0,79
Glutamin	111	3,62	8	3,14
Glutaminsäure	96	3,13	11	4,49
Glycin	263	8,58	27	10,43
Histidin	92	3,00	3	1,31
Isoleucin*	<b>160</b>	<b>5,22</b>	<b>9</b>	<b>3,40</b>
Leucin*	<b>296</b>	<b>9,66</b>	<b>26</b>	<b>10,08</b>
Lysin*	<b>127</b>	<b>4,14</b>	<b>14</b>	<b>5,50</b>
Methionin*	<b>73</b>	<b>2,38</b>	<b>7</b>	<b>2,84</b>
Phenylalanin*	<b>165</b>	<b>5,39</b>	<b>13</b>	<b>5,10</b>
Prolin	149	4,86	18	7,07
Serin	219	7,15	14	5,67
Threonin*	<b>185</b>	<b>6,04</b>	<b>10</b>	<b>3,84</b>
Tryptophan*	<b>74</b>	<b>2,42</b>	<b>7</b>	<b>2,88</b>
Tyrosin	87	2,84	7	2,71
Valin*	<b>216</b>	<b>7,05</b>	<b>16</b>	<b>6,33</b>

\*: essenzielle Aminosäure

Alle hier aufgeführten Proteine sind auf [www.uniprot.org](http://www.uniprot.org) unter folgenden IDs zu finden:

Tabelle A.7.3: Verwendete UniProt-Einträge und ihre IDs.

Komplex	Protein	UniProt-ID
RCII	D1	P07753
	D2	P06007
	CP43	P10898
	CP47	P37255
	CP26	Q9FEK6
	CP29	Q93WD2
	psbE	P48268
	psbF	Q08363
	psbI	P59763
	psbH	P22666
	psbJ	O19930

	psbK	P18263
	psbL	P32974
	psbM	P92277
	psbN	Q06480
	psbO	P12853
	psbP	P11471
	psbQ	P12852
	psbR	A0A2K3DMP5
	psbS1	A8HPM2
	psbT	P37256
	psbW	Q9SPI9
	psbX	A8I846
	psbY1	A8I003
	psbZ	A0A218N8D7
<b>LHCII</b>	LHCBM1	A8JCU4
	LHCBM2	Q93WE0
	LHCBM3	Q93WL4
	LHCBM4	A8J264
	LHCBM5	Q9ZSJ4
	LHCBM6	A8J287
	LHCBM7	Q9AXF6
	LHCBM8	A8J270
	LHCBM9	Q8S3T9
<b>RCI</b>	PsaA	P12154
	PsaB	P09144
	PsaC	Q00914
	PsaD	Q39615
	PsaE	P12352
	PsaF	P12356
	PsaG	P14224
	PsaH	P13352
	PsaI	A8IFG7
	PsaJ	P59777
	PsaK	P14225
	PsaL	A8IL32
	PsaN	A8I835
	PsaO	A8JCL6
<b>LHCI</b>	Lhca1	Q05093
	Lhca2	A8IKC8
	Lhca3	A8JF10
	Lhca4	A8I000
	Lhca5	Q75VY8
	Lhca6	Q75VY6
	Lhca7	A8ISG0
	Lhca8	Q75VY7
	Lhca9	A8ITV3
<b>Fd</b>	petF	P07839
<b>FNR</b>	petH	P53991

## A.8 Zentrale MATLAB®-Skripte

### Skript zur Bestimmung optischer Zelleigenschaften mittels Lorenz-Mie-Theorie

```
function [avrg_sigma_chl,spctrm_sigma_chl,spctrm_sigma_bdm,spctrm_kappa_bdm,b634] =
calculate_opt_props(m_ccell,w_ch1a,w_ch1b,w_car,Ea_ch1a,Ea_ch1b,Ea_car,M_ch1a,M_ch1b)

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This script calculates the optical properties of microalgal cells
% according to the Lorenz-Mie theory.
%
% Inputs:
% m_ccell: refractive index (RI) of the cell "core" [-]
% w_ch1a, w_ch1b, w_car: weight fractions of chl a, chl b & car [kg/kg]
% Ea_ch1a: in vivo absorption spectra of chl a [m²/kg]
% Ea_ch1b: in vivo absorption spectra of chl b [m²/kg]
% Ea_car: in vivo absorption spectra of photoprotective car [m²/kg]
% M_ch1a, M_ch1b: molecular weights of chl a & chl b [g/mol]
%
% Ea_i data is available here (requires interpolation between 400-700 nm
% with 1 nm steps):
%
% Bidigare, R. R.; Ondrusek, M. E.; Morrow, J. H.; Kiefer, D. A. (1990):
% In-vivo absorption properties of algal pigments.
% In: Richard W. Spinrad (Hg.): Ocean Optics X. Orlando '90, 16-20 April.
% Orlando, FL, United States: SPIE (SPIE Proceedings), S. 290.
%
% or in (only 400-700 nm range is required):
%
% Dauchet, J.; Blanco, S.; Cornet, J.-F.; Fournier, R. (2015):
% Calculation of the radiative properties of photosynthetic microorganisms.
% In: Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 161,
% S. 60-84. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2015.03.025.
% -> http://edstar.lmd.jussieu.fr/databases
%
% m_ccel was calculated as described in:
%
% Kandilian, R.; Pruvost, J.; Artu, A.; Lemasson, C.; Legrand, J.;
% Pilon, L. (2016): Comparison of experimentally and theoretically
% determined radiation characteristics of photosynthetic microorganisms.
% In: Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 175,
% S. 30-45. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2016.01.031.
%
% The imaginary part of the RI of the cell "core" (k_ccell) was determined
% according to Kandilian et al. (2016). k_ccell was then used to calculate
% the corresponding real part of the RI (n_ccell) using the
% singly-subtractive Kronig-Kramers (ssKK) relation.
% The ssKK script utilized can be found in:
%
% Lucarini, V.; Peiponen, K.-E.; Saarinen, J. J.; Vartiainen, E. M. (2005):
% Kramers-Kronig relations in optical materials research. Berlin,
% Heidelberg: Springer-verlag Berlin Heidelberg
% (Springer series in Optical Sciences, 110).
```

```

%
% with: m_ccell = n_ccell + i*k_ccell
%
% Outputs:
% avrg_sigma_chl: PAR-averaged absorption cross-section of chl [m²]
% spctrm_sigma_chl: spectral absorption cross-section of chl [m²]
% spctrm_sigma_bdm: biomass-specific, spectral absorption cross-section
% [m²/kg]
% spctrm_kappa_bdm: biomass-specific, spectral scattering cross-section
% [m²/kg]
% b634: backscattering fraction at a light wavelength of 634 nm
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
r_wcell          = 2.72;          % cell radius [µm]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% value derived from:
%
% Gerken, H. G.; Donohoe, B.; Knoshaug, E. P. (2013): Enzymatic cell wall
% degradation of Chlorella vulgaris and other microalgae for biofuels
% production. In: Planta 237 (1),
% S. 239–253. DOI: 10.1007/s00425-012-1765-0.

d_wall           = 0.078;        % diameter of the cell wall [µm]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

r_ccell          = r_wcell-d_wall; % cell "core" radius [µm]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% values taken from:
%
% 1: Dauchet, J.; Blanco, S.; Cornet, J.-F.; Fournier, R. (2015):
% Calculation of the radiative properties of photosynthetic microorganisms.
% In: Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 161,
% S. 60–84. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2015.03.025.
%
% 2: Kandilian, R.; Pruvost, J.; Artu, A.; Lemasson, C.; Legrand, J.;
% Pilon, L. (2016): Comparison of experimentally and theoretically
% determined radiation characteristics of photosynthetic microorganisms.
% In: Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 175,
% S. 30–45. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2016.01.031.
%
% and
%
% 3: Aas, E. (1996): Refractive index of phytoplankton derived from its
% metabolite composition. In: J Plankton Res 18 (12),
% S. 2223–2249. DOI: 10.1093/plankt/18.12.2223.

rho_bdm          = 1400;         % density of dry biomass [kg/m³] 1,2
x_water          = 0.78;         % fraction of water in biomass [-] 1,2
m_wcell          = 1.13*1.3325; % refractive index of the cell wall [-] 3
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

spctrm           = (400:700)';

```

```

theta      = (0:deg2rad(0.5):pi)';
ct         = cos(theta);
bsc        = theta >= pi/2;

% size parameters of the cell "core" (x_ccell) and the whole cell (y_wcell)
x_ccell    = 2*pi.*(r_ccell*1e-6)./(spctrm.*1e-9);
y_wcell    = 2*pi.*(r_wcell*1e-6)./(spctrm.*1e-9);

% preallocation
Qext_tot   = zeros(length(spctrm),1);
Qsca_tot   = zeros(length(spctrm),1);
Qabs_tot   = zeros(length(spctrm),1);
SPF        = zeros(length(theta),1);

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Determination of the optical cell properties according to the Lorenz-Mie
% theory. The script for coated spheres was adapted from:
%
% Mätzler, C. (2002): MATLAB functions for Mie scattering and absorption.
% Version 2. Research Report No. 2002-11.
% Universität Bern, Institut für Angewandte Physik, Mikrowellenabteilung.
% Bern, Schweiz.
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

for idx = 1:length(spctrm)
    nmax     = round(2+y_wcell(idx)+4*y_wcell(idx)^(1/3));
    n1       = nmax-1;
    n        = 1:nmax;
    cn       = 2*n+1;
    y2       = y_wcell(idx)^2;
    m        = (m_wcell/1.3325)/(m_ccell(idx)/1.3325);
    u        = m_ccell(idx)/1.3325*x_ccell(idx);
    v        = m_wcell/1.3325*x_ccell(idx);
    w        = m_wcell/1.3325*y_wcell(idx);
    mx       = max(abs(m_ccell(idx)/1.3325*y_wcell(idx)),...
        abs(m_wcell/1.3325*y_wcell(idx)));
    nmx      = round(max(nmax,mx)+16);
    dnx(nmx) = 0+0*1i;

    for idx1 = nmx:-1:2
        dnx(idx1-1) = idx1./u-1/(dnx(idx1)+idx1./u);
    end

    dnu = dnx(n);

    for idx2 = nmx:-1:2
        dnx(idx2-1) = idx2./v-1/(dnx(idx2)+idx2./v);
    end

    dnv = dnx(n);

    for idx3 = nmx:-1:2
        dnx(idx3-1) = idx3./w-1/(dnx(idx3)+idx3./w);
    end
end

```

```

dnw = dnx(n);

nu    = (n+0.5);
sv    = sqrt(0.5*pi*v);
pv    = sv.*besselj(nu,v);
sw    = sqrt(0.5*pi*w);
pw    = sw.*besselj(nu,w);
sy    = sqrt(0.5*pi*y_wcell(idx));
py    = sy.*besselj(nu,y_wcell(idx));
p1y   = [sin(y_wcell(idx)),py(1:n1)];
chv   = -sv.*bessely(nu,v);
chw   = -sw.*bessely(nu,w);
chy   = -sy.*bessely(nu,y_wcell(idx));
ch1y  = [cos(y_wcell(idx)),chy(1:n1)];
gsy   = py-1i*chy;
gs1y  = p1y-1i*ch1y;

uu    = m.*dnu-dnv;
vv    = dnu./m-dnv;
fv    = pv./chv;
ku1   = uu.*fv./pw;
kv1   = vv.*fv./pw;
ku2   = uu.*(pw-chw.*fv)+(pw./pv)./chv;
kv2   = vv.*(pw-chw.*fv)+(pw./pv)./chv;
dns1  = ku1./ku2;
gns1  = kv1./kv2;

dns   = dns1+dnw;
gns   = gns1+dnw;
a1    = dns./(m_wcell/1.3325)+n/y_wcell(idx);
b1    = (m_wcell/1.3325).*gns+n/y_wcell(idx);

an    = (py.*a1-p1y)./(gsy.*a1-gs1y);
bn    = (py.*b1-p1y)./(gsy.*b1-gs1y);

if spctrm(idx) == 634
    an634 = an;
    bn634 = bn;
end

anp   = real(an);
anpp  = imag(an);
bnp   = real(bn);
bnpp  = imag(bn);

clear g1
g1(1:4,nmax) = [0; 0; 0; 0];
g1(1,1:n1)  = anp(2:nmax);
g1(2,1:n1)  = anpp(2:nmax);
g1(3,1:n1)  = bnp(2:nmax);
g1(4,1:n1)  = bnpp(2:nmax);

dn     = cn.*(anp+bnp);

```

```

Qext_tot(idx) = 2*sum(dn)/y2;
en           = cn.*(anp.^2+anpp.^2+bnp.^2+bnpp.^2);
Qsca_tot(idx) = 2*sum(en)/y2;
Qabs_tot(idx) = Qext_tot(idx)-Qsca_tot(idx);
end

nmax634 = round(2+y_wcell(spctrm==634)+4*y_wcell(spctrm==634)^(1/3));
n634    = 1:nmax634;
n634_2  = (2*n634+1)./(n634.*(n634+1));

for idx = 1:length(theta)
    p(1) = 1;
    p(2) = 3*ct(idx);
    t(1) = ct(idx);
    t(2) = 3*cos(2*acos(ct(idx)));

    for idx1 = 3:nmax634
        p(idx1) = (2*idx1-1)./(idx1-1).*p(idx1-1).*ct(idx)-idx1...
            ./(idx1-1).*p(idx1-2);
        t(idx1) = idx1*ct(idx).*p(idx1)-(idx1+1).*p(idx1-1);
    end

    p = n634_2.*p;
    t = n634_2.*t;
    S1 = (an634*p'+bn634*t');
    S2 = (an634*t'+bn634*p');

    SPF(idx) = 0.634^2*(abs(S2)^2+abs(S1)^2)...
        /(2*pi^2*r_wcell^2*Qsca_tot(spctrm==634));
end

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

wf_ch1a = w_ch1a/(w_ch1a+w_ch1b+w_car);
wf_ch1b = w_ch1b/(w_ch1a+w_ch1b+w_car);
wf_car  = w_car/(w_ch1a+w_ch1b+w_car);
Qabs_ch1 = Qabs_tot.*(Ea_ch1a.*wf_ch1a+Ea_ch1b.*wf_ch1b)...
    ./(Ea_ch1a.*wf_ch1a+Ea_ch1b.*wf_ch1b+Ea_car.*wf_car);

% spectral absorption cross-section of Chlorophyll [m^2/chl]
spctrm_sigma_ch1 = (3.*Qabs_ch1./(4*r_wcell*1e-6*rho_bdm*(1-x_water))...
    ./(w_ch1a+w_ch1b).*((M_ch1a*1e-3)*w_ch1a...
    /(w_ch1a+w_ch1b)+(M_ch1b*1e-3)*w_ch1b...
    /(w_ch1a+w_ch1b))./6.02214076e23)';

% absorption cross-section of Chlorophyll averaged over PAR [m^2/chl]
avrg_sigma_ch1 = trapz(spctrm,spctrm_sigma_ch1)./length(spctrm);

% spectral absorption cross-section of dry biomass [m^2/kg]
spctrm_sigma_bdm = 3.*Qabs_tot./(4*r_wcell*1e-6*rho_bdm*(1-x_water));

% spectral scattering cross-section of dry biomass [m^2/kg]
spctrm_kappa_bdm = 3.*Qsca_tot./(4*r_wcell*1e-6*rho_bdm*(1-x_water));

% backscattering fraction at 634 nm light wavelength [-]

```

```
b634          = 0.5*trapz(theta(bsc),SPF(bsc).*sin(theta(bsc)));  
end
```

*Published with MATLAB® R2021b*

---

---

**Skript zur Bestimmung der Lichtverhältnisse mittels 1D-RTE**


---

```

function [PAR_PFD_dzR, spctrm_PFD_dzR] =
calculate_light_grad(PFD0, LED_spctrm, c_bdm, spctrm_sigma_bdm, spctrm_kappa_bdm, b634)

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This script computes the light gradient inside the flat panel
% photobioreactor (PBR) or the photosynthesis measurement cell (PMC) with
% a double-sided illumination.
%
% The 1D-RTE from:
%
% Cornet, J.-F.; Dussap, C. G.; Gros, J.-B.; Binois, C.; Lasseur, C.
% (1995): A simplified monodimensional approach for modeling coupling
% between radiant light transfer and growth kinetics in photobioreactors.
% In: Chemical Engineering Science 50 (9),
% S. 1489-1500. DOI: 10.1016/0009-2509(95)00022-w.
%
% and
%
% Kandilian, R.; Pruvost, J.; Artu, A.; Lemasson, C.; Legrand, J.;
% Pilon, L. (2016): Comparison of experimentally and theoretically
% determined radiation characteristics of photosynthetic microorganisms.
% In: Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 175,
% S. 30-45. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2016.01.031.
%
% was modified for the case of a double-sided illumination of a PBR/PMC.
%
% Inputs:
% PFD0: actinic PFD at the PBR/PMC surface [ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ]
% LED_spctrm: light spectrum of the utilized LED-arrays [ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ]
% c_bdm: dry biomass concentration [ $\text{kg}/\text{m}^3$ ]
% spctrm_sigma_bdm: biomass-specific, spectral absorption cross-section
% [ $\text{m}^2/\text{kg}$ ]
% spctrm_kappa_bdm: biomass-specific, spectral scattering cross-section
% [ $\text{m}^2/\text{kg}$ ]
% b634: backscattering fraction at a light wavelength of 634 nm [-]
%
% Output:
% PAR_PFD_dzR: actinic PFD along the PBR/PMC depth [ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ]
% spctrm_PFD_dzR: spectral actinic PFD along the PBR/PMC depth [ $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

spctrm = 400:700;
dzR = linspace(0,0.02,20); % should be changed if PBR depth does not equal 20 mm!
n2 = 1.473; % refractive index of borosilicate glas [-]
n1 = 1.000292; % refractive index of air [-]

dspctrm = PFD0./trapz(LED_spctrm);
spctrm_PFD0 = LED_spctrm'.*dspctrm;

% fraction of the reflected light on the PBR/PMC surface (Fresnel's equation;
% simplified formulation for the case of perpendicular incidence of light
% on the surface)

```

```
ref      = abs((n1-n2)/(n1+n2))^2;

alpha = sqrt(spctrm_sigma_bdm./(spctrm_sigma_bdm+2.*b634.*spctrm_kappa_bdm));
delta = c_bdm.*sqrt(spctrm_sigma_bdm...
    .* (spctrm_sigma_bdm+2.*b634.*spctrm_kappa_bdm));

% preallocation
spctrm_PFD_dzR = zeros(length(dzR),length(spctrm));
PAR_PFD_dzR    = zeros(1,length(dzR));

for idx = 1:length(dzR)
    for idx1 = 1:length(spctrm)
        % 1D-RTE for a flat-panel PBR/PMC illuminated from both sides
        spctrm_PFD_dzR(idx,idx1) = (1-ref)...
            *spctrm_PFD0(idx1)*2*((1+alpha(idx1))...
            *(exp(delta(idx1)*(max(dzR)-dzR(idx)))...
            +exp(delta(idx1)*dzR(idx)))-(1-alpha(idx1))...
            *(exp(-delta(idx1)*(max(dzR)-dzR(idx)))...
            +exp(-delta(idx1)*dzR(idx))))...
            /((1+alpha(idx1))^2*exp(delta(idx1)*max(dzR))...
            -(1-alpha(idx1))^2*exp(-delta(idx1)*max(dzR)));
    end

    PAR_PFD_dzR(idx) = trapz(spctrm_PFD_dzR(idx,:),2);
end
```

---

*Published with MATLAB® R2021b*

---

**Skript zur Approximation der LHC-RC-Komplexgrößen**


---

```

function [apprx_n_RCII_chl,apprx_n_RCI_chl] =
calculate_LHCRC_size(chlab_ratio,RCI_RCII_ratio,phi_RCII,M_chla,M_chlb)

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This script derives the approximated size of the LHCII-RCII and LHCI-RCI
% complexes from the macroscopic chla/chlb ratios.
%
% Inputs:
% chlab_ratio: macroscopic chla/chlb ratio (wchla/wchlb) [-]
% RCI_RCII_ratio: RCI/RCII ratio [-]
% phi_RCII: maximum quantum yield of RCII (corresponds to Fv'/Fm') [-]
% M_chla, M_chlb: molecular weight of chla & chlb [g/mol]
%
% Outputs:
% apprx_n_RCII_chl: number of chl (chla+chlb) per LHCII-RCII [-]
% apprx_n_RCI_chl: number of chl (chla+chlb) per LHCI-RCI [-]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% shown values & assumptions are based on the data from:
%
% Albanese, P.; Manfredi, M.; Meneghesso, A.; Marengo, E.; Saracco, G.;
% Barber, J. et al. (2016): Dynamic reorganization of photosystem II
% supercomplexes in response to variations in light intensities.
% In: Biochimica et biophysica acta 1857 (10),
% S. 1651–1660. DOI: 10.1016/j.bbabi.2016.06.011.
%
% and
%
% Shen, L.; Huang, Z.; Chang, S.; Wang, W.; Wang, J.; Kuang, T.;
% et al. (2019): Structure of a C2S2M2N2-type PSII-LHCII supercomplex
% from the green alga Chlamydomonas reinhardtii.
% In: Proceedings of the National Academy of Sciences of
% the United States of America 116 (42),
% S. 21246–21255. DOI: 10.1073/pnas.1912462116.

n_RCII_chl = [126,78; % upper/lower bound of the chla-number per LHCII-RCII
              61,25]; % upper/lower bound of the chlb-number per LHCII-RCII
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% shown values & assumptions are based on the data from:
%
% Haniewicz, P.; Abram, M.; Nosek, L.; Kirkpatrick, J.; El-Mohsnawy, E.;
% Olmos, J. D. J. et al. (2018): Molecular Mechanisms of Photoadaptation of
% Photosystem I Supercomplex from an Evolutionary
% Cyanobacterial/Algal Intermediate. In: Plant physiology 176 (2),
% S. 1433–1451. DOI: 10.1104/pp.17.01022.
%
% Le Quiniou, C.; Tian, L.; Drop, B.; Wientjes, E.; van Stokkum, I. H. M.;
% van Oort, B.; Croce, R. (2015): PSI-LHCI of Chlamydomonas reinhardtii:
% Increasing the absorption cross section without losing efficiency.

```

```

% In: Biochimica et biophysica acta 1847 (4-5),
% S. 458-467. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2015.02.001.
%
% and
%
% Stauber, E. J.; Busch, A.; Naumann, B.; Svatos, A.; Hippler, M. (2009):
% Proteotypic profiling of LHCI from Chlamydomonas reinhardtii provides
% new insights into structure and function of the complex.
% In: Proteomics 9 (2), S. 398-408. DOI: 10.1002/pmic.200700620.

n_RCI_ch1 = [186,138; % upper/lower bound of the chl_a-number per LHCI-RCI
            40,18]; % upper/lower bound of the chl_b-number per LHCI-RCI
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

n_RCII_ch1_max = n_RCII_ch1(1,1)+n_RCII_ch1(2,1);
n_RCII_ch1_min = n_RCII_ch1(1,2)+n_RCII_ch1(2,2);
n_RCI_ch1_max = n_RCI_ch1(1,1)+n_RCI_ch1(2,1);
n_RCI_ch1_min = n_RCI_ch1(1,2)+n_RCI_ch1(2,2);

x = zeros(length(chlab_ratio),2);

for idx = 1:length(chlab_ratio)
    sim_ch1_ratio = @(x) (x(:,1)*n_RCII_ch1(1,1)+(1-x(:,1))...
        *n_RCII_ch1(1,2)+RCI_RCII_ratio*(x(:,2)*n_RCI_ch1(1,1)...
        +(1-x(:,2))*n_RCI_ch1(1,2))./(x(:,1)*n_RCII_ch1(2,1)...
        +(1-x(:,1))*n_RCII_ch1(2,2)+RCI_RCII_ratio*(x(:,2)...
        *n_RCI_ch1(2,1)+(1-x(:,2))*n_RCI_ch1(2,2)));

    obj_func = @(x) (chlab_ratio(idx)-(M_ch1a/M_ch1b)*sim_ch1_ratio(x))^2;

    x0 = [0.8,0.2];

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% condition that the effective size of an LHCI-RCI complex must always be
% at least 25% larger than the size of the LHCI-RCII complex
%
% for reference see:
%
% Allen, J. F. (2003): Cyclic, pseudocyclic and noncyclic
% photophosphorylation: new links in the chain.
% In: Trends in Plant Science 8 (1),
% S. 15-19. DOI: 10.1016/S1360-1385(02)00006-7.

A_x = [5*phi_RCII(idx)*(n_RCII_ch1_max-n_RCII_ch1_min)...
        /(4*RCI_RCII_ratio*0.98*(n_RCI_ch1_max-n_RCI_ch1_min)), -1];

b_x = n_RCI_ch1_min/(n_RCI_ch1_max-n_RCI_ch1_min)-5*phi_RCII(idx)...
        *n_RCII_ch1_min/(4*RCI_RCII_ratio*0.98...
        *(n_RCI_ch1_max-n_RCI_ch1_min));
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

lb_x = zeros(1,length(x0));
ub_x = ones(1,length(x0));

```

---

```
x(idx,:) = fmincon(obj_func,x0,A_x,b_x,[],[],lb_x,ub_x);  
end  
  
apprx_n_RCII_ch1a = x(:,1).*n_RCII_ch1(1,1)+(1-x(:,1)).*n_RCII_ch1(1,2);  
apprx_n_RCII_ch1b = x(:,1).*n_RCII_ch1(2,1)+(1-x(:,1)).*n_RCII_ch1(2,2);  
apprx_n_RCII_ch1 = apprx_n_RCII_ch1a+apprx_n_RCII_ch1b;  
  
apprx_n_RCI_ch1a = x(:,2).*n_RCI_ch1(1,1)+(1-x(:,2)).*n_RCI_ch1(1,2);  
apprx_n_RCI_ch1b = x(:,2).*n_RCI_ch1(2,1)+(1-x(:,2)).*n_RCI_ch1(2,2);  
apprx_n_RCI_ch1 = apprx_n_RCI_ch1a+apprx_n_RCI_ch1b;
```

*Published with MATLAB® R2021b*

---

---

**Skript zur Bestimmung der Modellparameter  $k_{RCII,lim}$  und  $k_{RuBisCO}$  (im Skript allgemein als  $k_{PSU,lim}$  bezeichnet) mithilfe der stationären lichtabhängigen Photosynthesekinetiken**


---

```

function k_PSU_model = estimate_model_param()

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This function estimates the values of the model parameters k_RCII,lim &
% k_PSU,lim from experimental PI-curves.
%
% Inputs:
% none required to call this function
%
% Outputs:
% k_PSU_model: values of k_RCII,lim (1) & k_PSU,lim (2) as a column vector
% [1/s]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

k0 = [1250;100]; % initial parameter values

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% the parameter bounds were defined according to the data from:
%
% Schulze, P. S. C.; Guerra, R.; Pereira, H.; Schüler, L. M.;
% Varela, J. C. S. (2017): Flashing LEDs for microalgal production.
% In: Trends in biotechnology 35 (11),
% S. 1088-1101. DOI: 10.1016/j.tibtech.2017.07.011.
%
% Wijn, R. de; van Gorkom, H. J. (2001): Kinetics of electron transfer
% from Q(a) to Q(b) in photosystem II. In: Biochemistry 40 (39),
% S. 11912-11922. DOI: 10.1021/bi010852r.
%
% Vinyard, D. J.; Ananyev, G. M.; Dismukes, G. C. (2013):
% Photosystem II: the reaction center of oxygenic photosynthesis.
% In: Annual review of biochemistry 82,
% S. 577-606. DOI: 10.1146/annurev-biochem-070511-100425.
%
% and
%
% Tcherkez, G. G. B.; Farquhar, G. D.; Andrews, T. J. (2006):
% Despite slow catalysis and confused substrate specificity, all
% ribulose biphosphate carboxylases may be nearly perfectly optimized.
% In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the
% United States of America 103 (19),
% S. 7246-7251. DOI: 10.1073/pnas.0600605103.

lb_k = [450;35]; % lower parameter bounds
ub_k = [2650;505]; % upper parameter bounds
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

opts = optimoptions(@fmincon,'Algorithm','interior-point');
fit_problem =
createOptimProblem('fmincon','objective',@call_obj_func,'x0',k0,'lb',lb_k,'ub',ub_k,'options',opts);
gs = GlobalSearch;

```

---

```
k_PSU_model = run(gs,fit_problem);
```

*Published with MATLAB® R2021b*

```
function obj_func_val = call_obj_func(k_PSU_model)

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This script calculates the value of the objective function based on the
% parameter values of k (k_RCII,lim & k_PSU,lim).
% Note that this parameter estimation routine is not optimized for
% computational efficiency.
%
% Inputs:
% k_PSU_model: values of k_RCII,lim (1) & k_PSU,lim (2) as a column vector
% [1/s]
%
% Outputs:
% obj_func_val: value of the objective function (subject to minimization)
% [-]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% load data necessary for parameter estimation
% (own experimental data and literature values)
% All data is stored in column vectors (if possible) or scalars.

data = load('acc1_fast_data.mat');

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% own experimental and calculated/estimated data

ss_PFD          = data.ss_fast_PFD;

% dim. of P_Netto_LLMLHL: [acc1. states x set PFD0s] -> in this case: [3x7]
P_Netto_LLMLHL  = data.LLMLHL_fast_P_Netto;

% dim. of PMC_PFD_dzR & PMC_PFD_quanta_dzR:
% [acc1. states X set PFD0s x num. of steps along the PBR depth]
% -> in this case: [3x7x20]
PMC_PFD_dzR     = data.LLMLHL_fast_PMC_PFD_dzR;
PMC_PFD_quanta_dzR = PMC_PFD_dzR.*6.02214076e23./1e6;

p_car           = data.ss_acc1_p_w_car;
p_ch1a          = data.ss_acc1_p_w_ch1a;
p_ch1b          = data.ss_acc1_p_w_ch1b;
p_phi_RCII      = data.ss_acc1_p_phi_RCII;

n_Rubisco_max_bdm = data.ss_acc1_n_Rubisco_max_bdm;

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% m_cce1 was calculated as described in:
%
% Kandilian, R.; Pruvost, J.; Artu, A.; Lemasson, C.; Legrand, J.;
% Pilon, L. (2016): Comparison of experimentally and theoretically
```

```
% determined radiation characteristics of photosynthetic microorganisms.
% In: Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 175,
% S. 30-45. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2016.01.031.
%
% The imaginary part of the RI of the cell core (k_ccell) was determined
% according to Kandilian et al. (2016). k_ccell was then used to calculate
% the corresponding real part of the RI (n_ccell) using the
% singly-subtractive Kronig-Kramers (ssKK) relation.
% The ssKK script utilized can be found in:
%
% Lucarini, V.; Peiponen, K.-E.; Saarinen, J. J.; Vartiainen, E. M. (2005):
% Kramers-Kronig relations in optical materials research. Berlin,
% Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg
% (Springer Series in Optical Sciences, 110).
%
% with: m_ccell = n_ccell + i*k_ccell

m_ccell          = data.ss_fast_fit_m_ccell;
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% y_P_Brutto value of 0.32 is taken from:
%
% Geider, R. J.; Osborne, B. A. (1989): Respiration and microalgal growth:
% a review of the quantitative relationship between dark respiration
% and growth. In: New Phytol 112 (3),
% S. 327-341. DOI: 10.1111/j.1469-8137.1989.tb00321.x.
%
% r_mnt_bdm in mol/g/s was converted from the r_mnt_bdm value of
% 0.53 mmol/g/h from:
%
% Kliphuis, A. M. J.; Klok, A. J.; Martens, D. E.; Lamers, P. P.; Janssen,
% M.; Wijffels, R. H. (2012): Metabolic modeling of Chlamydomonas
% reinhardtii: energy requirements for photoautotrophic growth and
% maintenance. In: J Appl Phycol 24 (2),
% S. 253-266. DOI: 10.1007/s10811-011-9674-3.

y_P_Brutto       = data.ss_acc1_y_resp_P_Brutto;
r_mnt_bdm        = data.ss_acc1_r_mnt_bdm;
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Ea_i data is available here (requires interpolation between 400-700 nm
% with 1 nm steps):
%
% Bidigare, R. R.; Ondrusek, M. E.; Morrow, J. H.; Kiefer, D. A. (1990):
% In-vivo absorption properties of algal pigments.
% In: Richard W. Spinrad (Hg.): Ocean Optics X. Orlando '90, 16-20 April.
% Orlando, FL, United States: SPIE (SPIE Proceedings), S. 290.
%
% or in (only 400-700 nm range is required):
%
% Dauchet, J.; Blanco, S.; Cornet, J.-F.; Fournier, R. (2015):
```

```

% Calculation of the radiative properties of photosynthetic microorganisms.
% In: Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer 161,
% S. 60-84. DOI: 10.1016/j.jqsrt.2015.03.025.
% -> http://edstar.lmd.jussieu.fr/databases

Ea_ch1a    = data.Ea_ch1a;
Ea_ch1b    = data.Ea_ch1b;
Ea_car     = data.Ea_car; % only photoprotective carotenoids are considered
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

M_ch1a = data.M_ch1a; % molecular weight of ch1a [g/mol]
M_ch1b = data.M_ch1b; % molecular weight of ch1b [g/mol]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% fits are used to reduce the noise of the experimental data

logistic_fit_func = @(p,x) p(2)+(p(1)-p(2))./(1+(x./p(3)).^p(4));

fit_w_ch1a    = logistic_fit_func(p_ch1a,ss_PFD);
fit_w_ch1b    = logistic_fit_func(p_ch1b,ss_PFD);
fit_w_car     = logistic_fit_func(p_car,ss_PFD);

fit_ch1ab_ratio = fit_w_ch1a./fit_w_ch1b;

fit_phi_RCII   = logistic_fit_func(p_phi_RCII,ss_PFD);

% conversion of r_mnt unit from mol O2/g bdm/s to mol O2/mol chl/s
fit_r_mnt      = r_mnt_bdm./(fit_w_ch1a./M_ch1a+fit_w_ch1b./M_ch1b);
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% assumed to be constant, value based on data from:
%
% Greenbaum, N. L.; Mauzerall, D. (1991): Effect of irradiance level on
% distribution of chlorophylls between PS II and PS I as determined from
% optical cross-sections.
% In: Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics 1057 (2),
% S. 195-207. DOI: 10.1016/S0005-2728(05)80102-1.

RCI_RCII_ratio = 1.1;
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

n_PQ = 8; % assumed to be constant (based on own experimental data)

[apprx_n_RCII_ch1,apprx_n_RCI_ch1] =
calculate_LHCRC_size(fit_ch1ab_ratio,RCI_RCII_ratio,fit_phi_RCII,M_ch1a,M_ch1b);

% approx. number of chl per photosynthetic unit (PSU)
apprx_n_PSU_ch1 = apprx_n_RCII_ch1+RCI_RCII_ratio.*apprx_n_RCI_ch1;

n_Rubisco =
calculate_n_Rubisco_per_RCII(fit_w_ch1a,fit_w_ch1b,M_ch1a,M_ch1b,apprx_n_PSU_ch1,n_Rubisco_max_bdm);

```

```

% preallocation
fit_avrg_sigma_ch1 = zeros(size(PMC_PFD_dzR,1),1);

parfor idx = 1:size(PMC_PFD_dzR,1)
    fit_avrg_sigma_ch1(idx) =
    calculate_opt_props(m_ccell(idx,:), fit_w_ch1a(idx), fit_w_ch1b(idx), fit_w_car(idx), Ea_ch1
    a, Ea_ch1b, Ea_car, M_ch1a, M_ch1b);
end

fit_avrg_sigma_RCII = fit_avrg_sigma_ch1.*apprx_n_RCII_ch1;

% preallocation
x = zeros(size(PMC_PFD_dzR,1), size(PMC_PFD_dzR,2), size(PMC_PFD_dzR,3), 4);

parfor idx = 1:size(PMC_PFD_dzR,1)
    x(idx,:,:,:) =
    solve_model_eqsys(k_PSU_model, PMC_PFD_quanta_dzR(idx, :, :), fit_avrg_sigma_RCII(idx), fit_p
    hi_RCII(idx), n_PQ, n_Rubisco(idx));
end

% preallocation
sim_P_Netto_LLMLHL_dzR =
zeros(size(PMC_PFD_dzR,1), size(PMC_PFD_dzR,2), size(PMC_PFD_dzR,3));
sim_P_Netto_LLMLHL = zeros(size(PMC_PFD_dzR,1), size(PMC_PFD_dzR,2));

for idx1 = 1:size(PMC_PFD_dzR,1)
    for idx2 = 1:size(PMC_PFD_dzR,2)
        for idx3 = 1:size(PMC_PFD_dzR,3)
            sim_P_Netto_LLMLHL_dzR(idx1,idx2,idx3) = 0.25...
                .*(k_PSU_model(2).*n_Rubisco(idx1).*x(idx1,idx2,idx3,end))...
                ./apprx_n_PSU_ch1(idx1).*(1-y_P_Brutto)-fit_r_mnt(idx1);
        end
    end

    sim_P_Netto_LLMLHL(idx1,idx2) = mean(sim_P_Netto_LLMLHL_dzR(idx1,idx2,:),3);
end

g = ones(size(P_Netto_LLMLHL)); % weighting matrix

obj_func_val = sum(g.*(P_Netto_LLMLHL-sim_P_Netto_LLMLHL).^2,'all');

```

*Published with MATLAB® R2021b*

```

function n_Rubisco =
calculate_n_Rubisco_per_RCII(w_ch1a,w_ch1b,M_ch1a,M_ch1b,n_PSU_ch1,n_Rubisco_max_bdm)

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This script calculates the amount of RuBisCO per RCII under the
% (simplified) assumption that the RuBisCO amount per g bdm remains
% constant.
%
% Inputs:
% w_ch1a, w_ch1b: weight fractions of ch1a & ch1b [g/g]

```

```

% M_ch1a, M_ch1b: molecular weights of chl a & chl b [g/mol]
% n_PSU_ch1: number of chl per photosynthetic unit (PSU) [-]
% n_Rubisco_max: max. amount of RuBisCO per g bdm [1/g]
%
% Outputs:
% n_Rubisco: amount of RuBisCO per RCII [-]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

n_ch1a_bdm = w_ch1a./(M_ch1a/6.02214086e23);
n_ch1b_bdm = w_ch1b./(M_ch1b/6.02214086e23);

n_PSU_bdm = (n_ch1a_bdm+n_ch1b_bdm)./n_PSU_ch1;
n_Rubisco = n_Rubisco_max_bdm./n_PSU_bdm;

```

*Published with MATLAB® R2021b*

```

function x = solve_model_eqsys(k,PMC_PFD_quanta_dzR,sigma_RCII,phi_RCII,n_PQ,n_Rubisco)

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This script solves the system of equations of the photosynthesis model.
%
% Inputs:
% k: model parameters k_RCII,lim & k_PSU,lim [1/s]
% PMC_PFD_quanta_dzR: PFD values inside the measuring cell [1/m²/s];
% dim.: [acc1. states X set PFD0s X num. of steps along the PBR depth]
% -> in this case: [3x7x20]
% sigma_RCII: PAR-averaged absorption cross-section of the LHCII-RCII
% complex [m²]
% phi_RCII: maximum quantum yield of RCII (corresponds to Fv'/Fm') [-]
% n_PQ: number of PQ-molecules per RCII [-]
% n_Rubisco: amount of RuBisCO per RCII [-]
%
% Outputs:
% x: molar fractions of x_RCII,gs, x_RCII,es, x_PQ,gs & x_PQ,es [-];
% dim.: [acc1. states X set PFD0s X num. of steps along the PBR depth X x]
% -> in this case: [3x7x20x4]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

x0 = [0.5;0.5;0.5;0.5];

% preallocation
x = zeros(1,size(PMC_PFD_quanta_dzR,2),size(PMC_PFD_quanta_dzR,3),length(x0));

for idx1 = 1:size(PMC_PFD_quanta_dzR,2)
    for idx2 = 1:size(PMC_PFD_quanta_dzR,3)
        x(1,idx1,idx2,:) = fsolve(@model_eqsys,x0);
    end
end

function eq = model_eqsys(x)
    r_abs_tot      = sigma_RCII.*PMC_PFD_quanta_dzR(1,idx1,idx2);
    r_abs_P        = r_abs_tot.*phi_RCII.*x(1);
    r_RCII_etrans  = k(1).*x(2).*x(3).*n_PQ;
    r_PSU_etrans   = (k(2).*n_Rubisco).*x(4);

```

```
eq(1) = 1-x(1)-x(2);  
eq(2) = r_RCII_etrans-r_abs_P;  
eq(3) = 1-x(3)-x(4);  
eq(4) = r_PSU_etrans-r_RCII_etrans;  
end  
end
```

*Published with MATLAB® R2021b*

---

## Skript zur Untersuchung des lichtabhängigen Akklimationsverhaltens auf Grundlage einer begrenzten Proteomgröße

```

function [x_sol,x_tot_sol] = call_optim_palloc(k)

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This caller function invokes the script that determines the optimal
% allocation of the photosynthetic unit (PSU) components assuming a limited
% proteome size. It can also be used to plot the results (optional).
%
% Inputs:
% k: values of the model parameters (k_RCII,lim & k_PSU,lim) [1/s]
%
% Outputs:
% x_sol: molar fractions of the PSU-components (x_RCII,gs, x_RCII,es,
% x_PQ,gs & x_PQ,es) [-]
% x_tot_sol: molar fractions of PSU-proteins (x_LHCII,tot, x_RCII,tot &
% x_Rubisco,tot) [-]
%
% optional: graphical output (see below)
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

PFD          = (5:5:1600)';
PFD_quanta   = PFD'.*1e-6.*6.02214086e23;
sigma_chl    = 7.03e-21; % assumption based on own data
phi_RCII     = 0.73; % assumption based on own experimental data
n_PQ         = 8; % assumption based on own experimental data

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% reference for number of chl per LHCII-trimer:
%
% Shen, L.; Huang, Z.; Chang, S.; Wang, W.; Wang, J.; Kuang, T. et al.
% (2019): Structure of a C2S2M2N2-type PSII-LHCII supercomplex from the
% green alga Chlamydomonas reinhardtii. In: Proceedings of the National
% Academy of Sciences of the United States of America 116 (42),
% S. 21246–21255. DOI: 10.1073/pnas.1912462116.

n_LHCII_chl = 14; % assumption that 1 LHCII-monomer includes 14 chl
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

% preallocation
x_sol      = zeros(length(PFD_quanta),4);
x_tot_sol  = zeros(length(PFD_quanta),3);

parfor idx = 1:length(PFD_quanta)
    [x_sol(idx,:),x_tot_sol(idx,:)] =
    optim_palloc(k,PFD_quanta(idx),sigma_chl,phi_RCII,n_PQ,n_LHCII_chl);
end

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% optional graphical output

% subplot(2,3,1);
% plot(PFD',x_tot_sol(:,1),'k-',PFD',x_tot_sol(:,2),'r-',PFD',x_tot_sol(:,3),'b-');

```

```

% grid on;
% legend('n_{LHCII}', 'n_{RCII}', 'n_{RuBisCO}');
% subplot(2,3,2);
% plot(PFD', x_tot_sol(:,1)./x_tot_sol(:,2), 'k-');
% grid on;
% legend('n_{LHCII} per RCII');
% subplot(2,3,3);
% plot(PFD', x_tot_sol(:,3)./x_tot_sol(:,2), 'k-');
% grid on;
% legend('n_{RuBisCO} per RCII');
% subplot(2,3,4);
% plot(PFD', x_tot_sol(:,1)./x_tot_sol(:,2).*n_LHCII_ch1, 'k-');
% grid on;
% legend('n_{Ch1} per LHCII-RCII');
% subplot(2,3,5);
% plot(PFD', k(1).*x_tot_sol(:,2)./(k(2).*x_sol(:,4).*x_tot_sol(:,3)), 'k-');
% grid on;
% legend('RCII overexpression factor');
% subplot(2,3,6);
% plot(PFD', k(2).*x_sol(:,4).*x_tot_sol(:,3)./x_tot_sol(:,2), 'k-');
% grid on;
% legend('gross PSU-specific electron transfer rate [1/s]');
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

```

*Published with MATLAB® R2021b*

```

function [x_sol, x_tot_sol] =
optim_palloc(k, PFD_quanta, sigma_ch1, phi_RCII, n_PQ, n_LHCII_ch1)

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This script determines the optimal allocation of the photosynthetic unit
% (PSU) components assuming a limited proteome size.
%
% Inputs:
% PFD_quanta: PAR-averaged PFD [1/m²/s]
% sigma_ch1: chl-specific absorption cross-section [m²]
% phi_RCII: maximum quantum yield of RCII (Fv'/Fm') [-]
% n_ch1_LHCII: number of chl per LHCII-monomer [-]
% n_PQ: number of PQ-molecules per RCII [-]
% k: values of the model parameters (k_RCII, lim & k_PSU, lim) [1/s]
%
% Outputs:
% x_sol: molar fractions of the PSU-components (x_RCII,gs, x_RCII,es,
% x_PQ,gs & x_PQ,es) [-]
% x_tot_sol: molar fractions of PSU-proteins (x_LHCII,tot, x_RCII,tot &
% x_Rubisco,tot) [-]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

x_tot0 = [0.5, 0.25, 0.25]; % initial values of x_tot
x_tot_lb = zeros(1, length(x_tot0)); % lower bounds of x_tot
x_tot_ub = ones(1, length(x_tot0)); % upper bounds of x_tot

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% equality constraint that assures the limitation of the proteome size:

```

```

% x_LHCII,tot + x_RCII,tot + x_Rubisco,tot = 1

x_tot_Aeq = [1,1,1];
x_tot_beq = 1;
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

optim_prob =
createOptimProblem('fmincon','objective',@opt_obj,'x0',x_tot0,'lb',x_tot_lb,'ub',x_tot_u
b,'Aeq',x_tot_Aeq,'beq',x_tot_beq);
gs = GlobalSearch;
x_tot_sol = run(gs,optim_prob);

function obj_eq = opt_obj(x_tot)

    x_sol_obj =
solve_model_eqsys_palloc(k,PFD_quanta,sigma_chl,phi_RCII,n_PQ,n_LHCII_chl,x_tot);

    r_PSU_etrans_obj = k(2)*x_sol_obj(4)*x_tot(3);

    % objective function (subject to maximization)
    obj_eq = -r_PSU_etrans_obj;
end

x_sol =
solve_model_eqsys_palloc(k,PFD_quanta,sigma_chl,phi_RCII,n_PQ,n_LHCII_chl,x_tot_sol);
end

```

*Published with MATLAB® R2021b*

```

function x =
solve_model_eqsys_palloc(k,PFD_quanta,sigma_chl,phi_RCII,n_PQ,n_LHCII_chl,x_tot)

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% This script solves the system of equations of the photosynthetic model.
%
% Inputs:
% PFD_quanta: PAR-averaged PFD [1/m2/s]
% sigma_chl: absorption cross-section per chl [m2]
% phi_RCII: maximum quantum yield of RCII (corresponds to Fv'/Fm') [-]
% n_LHCII_chl: number of chl per LHCII-monomer [-]
% n_PQ: number of PQ-molecules per RCII [-]
% k: values of the model parameters (k_RCII,lim & k_PSU,lim) [1/s]
% x_tot: molar fractions of photosynthetic unit (PSU) proteins
% (x_LHCII,tot, x_RCII,tot & n_Rubisco,tot) [-]
%
% Outputs:
% x: molar fractions of the PSU-components (x_RCII,gs, x_RCII,es,
% x_PQ,gs, x_PQ,es) [-]
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%

eff_sigma_RCII = phi_RCII*sigma_chl*n_LHCII_chl*(x_tot(1)/x_tot(2));

x0 = [0.5,0.5,0.5,0.5];

```

```
x = fsolve(@model_eqsys,x0);  
  
function eq = model_eqsys(x)  
  
    r_abs_P      = eff_sigma_RCII*PFD_quanta*x(1);  
    r_RCII_lim   = k(1)*x(2)*x(3)*n_PQ;  
    r_PSU_lim    = k(2)*(x_tot(3)/x_tot(2))*x(4);  
  
    eq(1) = 1-x(1)-x(2);  
    eq(2) = -r_abs_P+r_RCII_lim;  
    eq(3) = 1-x(3)-x(4);  
    eq(4) = -r_RCII_lim+r_PSU_lim;  
end  
end
```

---

*Published with MATLAB® R2021b*