

**Entwicklung eines definiert beleuchteten Photobioreaktorsystems  
zur Untersuchung des Einflusses des Lichts auf das Wachstum  
phototropher Organismen am Beispiel des Cyanobakteriums  
*Arthrospira platensis***

---

Von der Fakultät Maschinenwesen

der

Technischen Universität Dresden

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktoringenieur (Dr.-Ing.)

angenommene Dissertation

---

Master of Science Maria Lisa Socher  
geboren am 28.01.1985 in Dresden

Tag der Einreichung: 03.11.2015

Tag der Verteidigung: 29.02.2016

Gutachter:

Prof. Thomas Bley (Technische Universität Dresden)

Prof. Jörg-Uwe Ackermann (Hochschule für Technik und Wirtschaft Dresden)

Vorsitzender der Promotionskommission:

Prof. Harald Rohm (Technische Universität Dresden)



There are known knowns:

There are things we know that we know.

There are known unknowns: that is to say

There are things that we now know we don't know.

But there are also unknown unknowns:

There are things we do not know we don't know.

And each year we discover

A few more of these unknown unknowns.

Donald Rumsfeld

Aus dem "Lexikon des Unwissens"



Für meine Eltern.



## Danksagung

Herzlichen Dank allen, die zum Entstehen meiner Dissertation beigetragen haben!

Meinen Doktorvätern Prof. Bley und Prof. Ackermann danke ich als erstes für die Möglichkeit im kooperativen Verfahren meine Promotion zu absolvieren. Das Thema hat mich sehr fasziniert und es war immer ein angenehmes Arbeiten am ILB mit den Kooperationen zur HTW.

Meinen Betreuern Frau Dr. Steingroewer und Herrn PD Dr. Löser danke ich außerordentlich für die Hilfe beim Erstellen der Dissertation! Juliane, danke für deine Unterstützung und Aufnahme in die Pflanzen-AG. Vielen Dank Christian, für deine kritischen Diskussionen, welche mich extrem forderten, aber doch sehr voranbrachten!

Ebenso gilt mein Dank allen anderen Mitarbeitern und Kollegen des ILB! Besonderer Dank geht an Fr. Pfennig und Fr. Kneschke, die mir immer eine Hilfe waren in Administration und Labor.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei Christiane Grasse und Sylvia Franke-Jordan bedanken! Ich bin sehr froh beide im Cyano-Projekt kennengelernt zu haben, ihre Zusammenarbeit und Bekanntschaft bereichern mich fachlich als auch persönlich immer wieder außerordentlich!

Ein riesiges Dankeschön geht auch an meine „mitleidenden“ Doktoranden-Kollegen Katja Winkler, Christiane Haas, Susanne Steudler und Sibylle Kümmitz! Ihr habt mir immer sehr viel Hilfe und Kraft gegeben, ich danke euch für die fruchtbaren Gespräche rund ums RAMOS, Kultivieren und Promovieren im Allgemeinen und Besonderen. Besonders lieber Dank geht dabei an Katja, meinem Doktoranden-Zwilling, ohne dich hätte ich es nicht geschafft! Meinen Zimmergenossinnen Susanne Steudler und Ulrike Böhmer danke ich auch außerordentlich für die kontinuierliche Motivation in Form von Kaffee, Kuchen und anderen sachdienlichen Hinweisen rund um die Dissertation!

Ebenso danke ich Herrn Dr. Trutnau der Hi Tec Zang GmbH für die Zusammenarbeit und Unterstützung rund ums RAMOS-CultiLux! Auch Elke Boschke und Jost Weber und deren Arbeitsgruppen möchte ich an dieser Stelle für gutes Teamwork danken.

Nicht zuletzt gilt mein großer Dank auch meinen Studenten u.a. Renate Görner, Jing Liao und insbesondere Carolin Schott! Sie brachte sich mit großem Engagement ein und ohne sie hätte es das CultiLux und den Flat-Panel „Oskar“ nie in dieser Form gegeben!

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich auch herzlichst für die Aufmunterungen, ihre Geduld (“Na was macht der Doktor? – Ach, frag nicht!”) und das Korrekturlesen (Danke besonders an Anne-Cathrin Socher und Kerstin Nitschke).

Lieben Dank auch an Richard, der mich selbst mit der miesesten Laune meinerseits noch in den Arm genommen und aufgemuntert hat!

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	VI	
Symbolverzeichnis	VII	
1	Einleitung	1
1.1	Motivation	1
1.2	Problemstellung	2
2	Grundlagen	3
2.1	Modellsystem Cyanobakterium <i>Arthrospira platensis</i>	3
2.1.1	Morphologie	3
2.1.2	Wachstumsbedingungen	5
2.2	Licht als Energiequelle für phototrophe Organismen	6
2.2.1	Definition, Quantifizierung und Nutzbarkeit für die Photosynthese	6
2.2.2	Sauerstoffbildung und Wachstum während der oxygenen Photosynthese	9
2.2.3	Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Lichtintensität	10
2.3	Lichtverhältnisse in phototrophen Kulturen	18
2.3.1	Absorptionsmodelle	18
2.3.2	Einfluss der Durchmischung	22
2.3.3	Intermittierende Beleuchtung	25
2.4	Photobioreaktoren als beleuchtete Kultivierungssysteme	28
2.5	Numerische Strömungssimulation	31
3	Zielsetzungen	33
4	Material und Methoden	34
4.1	Mikroorganismus und Schüttelkolbenkultivierung	34
4.1.1	<i>Arthrospira platensis</i> PCC 9108	34
4.1.2	Zarrouk-Medium	34
4.1.3	Vorkultur und Kultivierung im kommerziellen Schüttelinkubator	34
4.2	Extern beleuchtete Blasensäule	35
4.2.1	Aufbau und Funktionsweise	35
4.2.2	Lichtquelle	36
4.2.3	Kultivierung	36
4.2.4	Probenahme	36
4.3	RAMOS mit CultiLux	37
4.3.1	Aufbau und Funktionsweise	37
4.3.2	Lichtquelle	37
4.3.3	Kultivierung	38
4.3.4	Untersuchung der Temperierung	38
4.4	Flat-Panel-Photobioreaktor	38
4.4.1	Aufbau	38
4.4.2	Lichtquelle	39
4.4.3	Untersuchung der Temperierung	39
4.5	Analytik	40
4.5.1	Charakterisierung der Beleuchtungseinheiten	40
4.5.2	Charakterisierung der Proben aus den Kultivierungen	40

4.6	Berechnungen _____	41
4.6.1	Spezifische Wachstumsraten _____	41
4.6.2	Sauerstoff-, Kohlendioxidtransferraten und Sauerstofftransfer _____	41
4.7	Modellierung _____	42
4.7.1	Modellierung der Kultivierungsverläufe _____	42
4.7.2	Numerische Strömungssimulation _____	42
5	Ergebnisse und Diskussion _____	43
5.1	Modellierung des phototrophen Wachstums _____	43
5.1.1	Prozessmodell _____	43
5.1.2	Reaktionskinetik: Abhängigkeit Wachstumsrate von Lichtintensität $\mu = f(I)$ _____	44
5.1.3	Bioreaktormodell: Lichtintensität und Wachstum im Reaktionsraum _____	50
5.1.4	Fazit _____	58
5.2	Vergleich Photobioreaktoren _____	59
5.2.1	Kommerzielle Systeme _____	59
5.2.2	Nichtkommerzielle Systeme _____	64
5.2.3	Bewertung der Lichtquellen _____	69
5.2.4	Fazit _____	72
5.3	Kultivierung in klassischen Systemen _____	73
5.3.1	Kommerzieller Schüttelinkubator mit Beleuchtungseinheit _____	73
5.3.2	Extern beleuchtete Blasensäule _____	78
5.3.3	Fazit _____	84
5.4	Entwicklung des CultiLux _____	85
5.4.1	Konzeption _____	85
5.4.2	Charakterisierung Beleuchtungseinheit _____	86
5.4.3	Untersuchung der Temperaturerhöhung durch Beleuchtung _____	90
5.4.4	Fazit _____	94
5.5	Kultivierung im RAMOS-CultiLux _____	95
5.5.1	Kultivierung von <i>A. platensis</i> mit kontinuierlichem Licht _____	95
5.5.2	Kultivierung von <i>A. platensis</i> mit Hell-Dunkel-Zyklen _____	103
5.5.3	Kultivierung von <i>A. platensis</i> unter photomixotrophen Bedingungen _____	104
5.5.4	Fazit _____	106
5.6	Entwicklung des Flat-Panel-Photobioreaktors _____	107
5.6.1	Konzeption _____	107
5.6.2	Konstruktion _____	109
5.6.3	Numerische Strömungssimulation _____	110
5.6.4	Charakterisierungen der Beleuchtungseinheiten _____	114
5.6.5	Untersuchung der Temperaturerhöhung durch Beleuchtung _____	117
5.6.6	Fazit _____	118
6	Zusammenfassung _____	119
	Literatur _____	121
	Bildquellen _____	133
	Veröffentlichungen _____	135
	Eidesstattliche Erklärung _____	137
	Thesen _____	139

## Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Definition</b>	<b>Einheit</b>
APC	Allophycocyanin	-
CAD	Rechnergestützte Konstruktion (computer aided design)	-
CFD	Numerische Strömungssimulation (computational fluid dynamics)	-
Chl a	Chlorophyll a	-
CT	Kohlendioxidtransfer (carbon dioxide transfer)	mol L <sup>-1</sup>
CTR	Kohlendioxidtransferrate (carbon dioxide transfer rate)	mol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
FPR	Flat-Panel-Photobioreaktor	-
GRAS	Unbedenklichkeitsstatus (generally recognized as safe)	-
H/D	Hell-Dunkel-Zyklus	-
HZDR	Helmholtz-Zentrum Dresden Rossendorf	-
LED	Leuchtdiode (light emitting diode)	-
NL	Normliter, Volumen bei Normbedingungen (273,15 K; 101,3 kPa )	NL
OD <sub>750 nm</sub>	Optische Dichte bei einer Wellenlänge von 750 nm	-
OLED	organische Leuchtdiode (organic light emitting diode)	-
OT	Sauerstofftransfer (oxygen transfer)	mol L <sup>-1</sup>
OTR	Sauerstofftransferrate (oxygen transfer rate)	mol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
OPR	Sauerstoffproduktionsrate (oxygen production rate)	mol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
PAR	Photosynthetisch aktive Strahlung (photosynthetic active radiation)	nm
PBR	Photobioreaktor	-
PC	Phycocyanin	-
PFD	Photonenflussdichte	μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup>
pH	pH-Wert	-

## Symbolverzeichnis

Symbol	Definition	Einheit
c	Lichtgeschwindigkeit im Vakuum	$2,998 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$
$c_x, c_C$	Biomassekonzentration, Kohlenstoffkonzentration	$\text{g L}^{-1}$
d	Schichtdicke bzw. Eindringtiefe	cm
D	Verdünnungsrate	$\text{h}^{-1}$
$\Delta p$	Gesamtdruckdifferenz	bar
$\Delta p_{\text{O}_2}$	Sauerstoffpartialdruckdifferenz	bar
E	Energie	J
f	Frequenz	Hz
h	Planck'sches Wirkungsquantum	$6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J s}$
I, $\bar{I}$	Lichtintensität, mittlere Lichtintensität	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}, \text{W m}^{-2}$
$I_0$	Eingestrahlte Lichtintensität bei Eindringtiefe $d = 0$	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$I_d$	Lichtintensität in Eindringtiefe d	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$k_w, k_u$	Faktoren für Absorption bzw. Streuung des Mediums	$\text{cm}^{-1}, \text{g L}^{-1}$
$K_{\text{KI}}$	Kompensationslichtintensität	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$K_{\text{SI}}$	Halbsättigungskonstante mit $\mu(I = K_{\text{SI}}) = 0,5 \mu_{\text{max}}$	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$K_{\text{SI}}^*$	Affinitätskonstante mit $\mu(I = K_{\text{SI}}^*) \neq 0,5 \mu_{\text{max}}$	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
$K_I$	Inhibierungskonstante	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
m	Erhaltungsstoffwechselkoeffizient	$\text{d}^{-1}$
n	Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute)	rpm
P	Photosyntheserate	$\text{mol O}_2 \text{ mg}_{\text{Chl}}^{-1} \text{ h}^{-1}$
R	Universelle Gaskonstante	$8,3145 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$
t	Zeit	s oder h
T	Temperatur	K oder °C
$V_F, V_G$	Flüssigkeitsvolumen, Gasraumvolumen im Kolben	L
vvm	Normierter Begasungsstrom (volume per volume per minute)	$L_{\text{Gas}} L_{\text{Liquid}}^{-1} \text{ min}^{-1}$
$\alpha$	Anfangsanstieg der Kurve bei Kompensation ( $I = K_{\text{KI}}$ )	$\text{m}^2 \text{ s } \mu\text{mol}^{-1} \text{ d}^{-1}$
$\gamma$	Gamma-Funktion nach Zwietering et al. 1993	-
$\varepsilon$	Extinktionskoeffizient	$\text{L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$
$\lambda$	Wellenlänge	nm
$\mu, \mu_{\text{max}}$	Spezifische bzw. maximale spezifische Wachstumsrate	$\text{d}^{-1}, \text{h}^{-1}$



# 1 Einleitung

## 1.1 Motivation

Die Endlichkeit fossiler Rohstoffe und das Ziel einer nachhaltigen Entwicklung der menschlichen Gesellschaft und der Umwelt erfordern eine Veränderung der aktuellen Rohstoffquellen hin zu biobasierten Ausgangsstoffen. Es muss eine vom Erdöl unabhängige Wertschöpfungskette aufgebaut werden, um die enorme Bandbreite der in der Weltwirtschaft verwendeten Ausgangsstoffe bereitzustellen. Eine einzige Technologie wird dies nicht bewerkstelligen können, die zukünftige Rohstoffbeschaffung muss auf mehreren Lösungswegen beruhen.

Einer dieser zukunftsorientierten Wege ist die Photobiotechnologie, welche sich mit der Kultivierung phototropher, d.h. Photosynthese betreibender, Organismen in der technischen Umgebung, dem Photobioreaktor, befasst. Cyanobakterien, Algen, pflanzliche Zellkulturen und höhere Pflanzen verwenden die weitreichend zur Verfügung stehenden Ressourcen Licht als Energiequelle und Kohlendioxid als Kohlenstoffsubstrat um Biomasse aufzubauen. Sie können somit einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung einer biobasierten und nachhaltigen Ökonomie liefern. Durch die enorme Artenvielfalt phototropher Organismen, die verschiedenste Metabolite synthetisieren, ergeben sich vielfältige Möglichkeiten zum Einsatz in industriellen Prozessen. Die erzeugte Biomasse enthält u.a. nutzbare Proteine, Polysaccharide, Lipide und weitere sekundäre Inhaltsstoffe wie Vitamine oder Farbstoffe. Klassische Beispiele sind das Geliemittel Agar-Agar aus Braunalgen und die als Farbstoff verwendeten Carotinoide aus Rotalgen.

In allen Produktionsprozessen wird stets eine hohe Produktivität, charakterisiert durch die Raum-Zeit-Ausbeute, angestrebt, um in einem gegebenen Reaktionsvolumen in möglichst kurzer Zeit eine hohe Produkt- bzw. Biomassemenge zu erzeugen. Dieses Zellwachstum wird sowohl von der spezifischen Wachstumsrate als auch der Biomassekonzentration bestimmt. Je größer beide Parameter sind, umso höher wird die Produktivität des Prozesses. Die spezifische Wachstumsrate wird maßgeblich von der Verfügbarkeit der Energiequelle und des Kohlenstoffsubstrats, weiteren Nährstoffen, Temperatur und dem pH-Wert bestimmt. Der Wachstumsrate sind allerdings biologische Grenzen gesetzt ( $\mu_{\max}$ ), selbst wenn alle beeinflussenden Parameter optimal sind. In bioverfahrenstechnischen Prozessen wird häufig submers in Suspension kultiviert, was auch für die Kultivierung von Cyanobakterien, Mikroalgen und pflanzlichen Zellkulturen zutrifft. Die folgenden Betrachtungen beschränken sich daher auf die submerse Kultivierung des phototrophen Modellorganismus *Arthrospira platensis*.

## 1.2 Problemstellung

In der Photobiotechnologie bedeutet eine photoautotrophe Kultivierung, dass die Energiequelle Licht und das Kohlenstoffsubstrat Kohlendioxid die spezifische Wachstumsrate bestimmen. In vielen Prozessen muss das erforderliche gasförmige Kohlendioxid während der Kultivierung permanent zugeführt werden, was ein prozesstechnisches Problem sein kann, jedoch nicht Gegenstand dieser Arbeit ist, da das Kohlenstoffsubstrat gelöst in Form von Carbonat vorliegt.

Licht kann, wie andere Energiequellen auch, bei geringer Intensität limitierend und bei hoher Intensität inhibierend auf das Wachstum phototropher Organismen wirken. Deshalb ist die Untersuchung der spezifischen Wachstumsrate in Abhängigkeit von der Lichtintensität für die reaktionskinetische Charakterisierung photosynthetischer Organismen von praktischer Bedeutung.

Licht ist eine besondere Energiequelle, welche nicht, wie z.B. Glucose, dem Kulturmedium gelöst zugefügt werden kann, sondern die von außen in den Reaktionsraum eingestrahlt werden muss. Folglich ist die Lichtintensität im Reaktionsraum heterogen verteilt. Ein weiteres Problem ist, dass das Licht mit steigender Biomassekonzentration verstärkt durch die Photosynthesepigmente absorbiert wird und die Lichtintensität mit der Eindringtiefe abnimmt. Dieser Effekt, die s.g. Selbstbeschattung, spielt bei praxisrelevanten Biomassekonzentrationen immer eine Rolle. Die heterogene Beleuchtung bewirkt schließlich eine räumlich variable Photosynthese.

Die heterogene Beleuchtung findet man sowohl in natürlichen Gewässern, als auch in Photobioreaktoren. In letzteren kommt noch ein weiteres, mit der Durchmischung der Zellsuspension zusammenhängendes Problem hinzu. Die ständige Ortsänderung in Kombination mit der Selbstbeschattung führt, bezogen auf einzelne Zellen, zu einer zeitlich variierenden Lichtintensität. Diese Fluktuation des Lichts muss sich auf die Reaktionskinetik auswirken.

Die experimentelle Untersuchung der lichtabhängigen Photosynthese- und Wachstumsrate von phototrophen Organismen gestaltet sich auf Grund der genannten Fakten als außerordentlich schwierig. Folglich sind die dazu bisher publizierten Ergebnisse schwer vergleichbar und oft widersprüchlich. Viele Probleme können auf eine unzulängliche Versuchstechnik zurückgeführt werden; das betrifft eine unzureichende Charakterisierung des Kultivierungssystems und eine heterogene Lichtintensität durch ungünstige und unzureichend charakterisierte Beleuchtungssysteme und Selbstbeschattung (hohe Biomassekonzentration und / oder Schichtdicke).

Hauptziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Kultivierungssystems, in dem die Wachstumskinetik phototropher Organismen unter definierten und gleichzeitig variabel einstellbaren Lichtbedingungen untersucht werden kann. Reaktionskinetische Erkenntnisse bilden eine wertvolle Grundlage für die konstruktive Auslegung von Photobioreaktoren. Das betrifft z.B. die Schichtdicke planar aufgebauter Photobioreaktoren und die günstige Durchmischung der Zellsuspension bei möglichst homogener Beleuchtung des Reaktionsraumes.

## 2 Grundlagen

### 2.1 Modellsystem Cyanobakterium *Arthrospira platensis*

Das Cyanobakterium *Arthrospira platensis* (Abbildung 1A) diente in dieser Arbeit als Modellorganismus. Dieses Bakterium wird schon lange vom Menschen genutzt, erste Belege dafür finden sich in Aufzeichnungen der Azteken, die *Arthrospira*-Biomasse als Nahrung verwendeten (Sili et al. 2012). Bis heute stellt *A. platensis* für einige afrikanische und südostasiatische Völker ein proteinreiches Nahrungsmittel dar (Sili et al. 2012; Ciferri 1983). *A. platensis* bildet eine Vielzahl industriell nutzbarer Inhaltsstoffe und besitzt zudem den Unbedenklichkeitsstatus (GRAS). Damit geht weder von dem Organismus selbst, noch von den aus *A. platensis* hergestellten Produkten eine Gefahr aus (Gershwin und Belay 2008).

Ein wichtiger Inhaltsstoff ist Phycocyanin, das als blauer Farbstoff in der Lebensmittel- und Kosmetikindustrie Verwendung findet (Eriksen 2008a). Ebenso wird die Aminosäurezusammensetzung des Cyanobakteriums als sehr wertvoll, ähnlich derer von Soja und Hühnerei beschrieben (Becker 2007). Die Verwendung als Nahrungsergänzung ist dadurch sowie durch den Gehalt an ungesättigten Fettsäuren verständlich (Hoseini 2013; Belay 2008). Weitere Informationen zum Gehalt und der Verwendung der Inhaltstoffe von *A. platensis* sind im Anhang 1.1 zu finden. *A. platensis* ist im Labor relativ leicht kultivierbar und war schon häufig Gegenstand mikrobiologischer und wachstumskinetischer Untersuchungen.

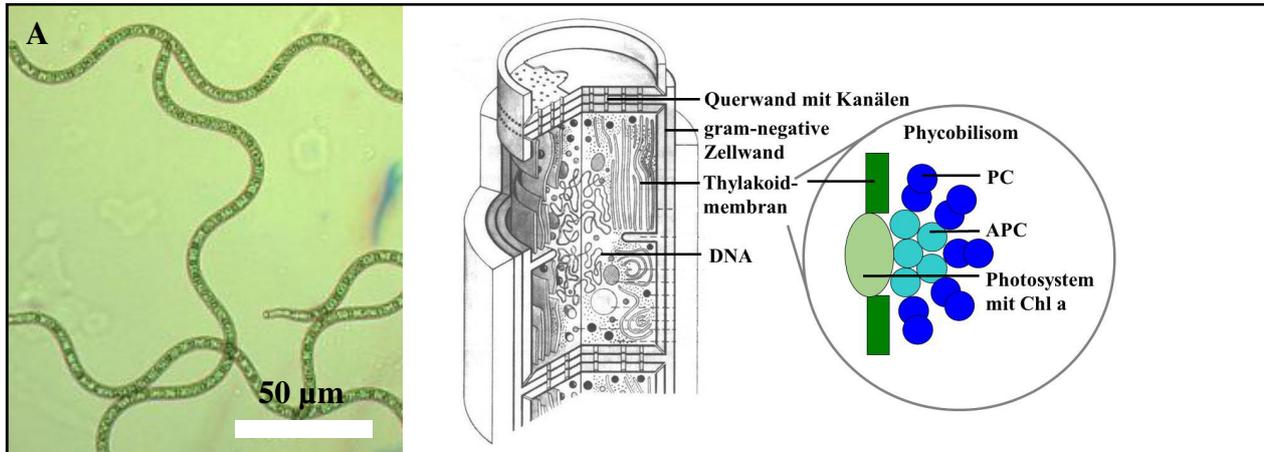
Cyanobakterien werden heute noch oft als Blaualgen bezeichnet, neue Untersuchungen belegen jedoch, dass es sich bei Cyanobakterien um Prokaryoten und nicht, wie bei Algen, um Eukaryoten handelt (Esser 2000). Cyanobakterien als auch Algen betreiben Photosynthese, aber sie gehören zwei vollkommen verschiedenen taxonomischen Gruppen an (Esser 2000).

*A. platensis* und daraus hergestellte Nahrungsergänzungsmittel werden auch als „Spirulina“ bezeichnet. Dies rührt von einer früheren taxonomischen Einordnung in die Gattung *Spirulina* und der Name *Spirulina platensis* ist auch heute noch in Gebrauch (Sili et al. 2012; Vonshak 1997). Dies muss bei der Literaturrecherche zu *A. platensis* beachtet werden. In dieser Arbeit wird stets der Name *A. platensis* verwendet, auch wenn die zitierte Literatur *S. platensis* referenzierte.

#### 2.1.1 Morphologie

*A. platensis* bildet mit bloßem Auge sichtbare Zellverbände, die aus bis zu 500 Einzelzellen bestehenden Trichome (Vonshak 1997). Bei mikroskopischer Betrachtung zeigen die Trichome eine Spiralförmigkeit (Abbildung 1A). Die einzelnen Zellen sind durch Querwände voneinander getrennt, stehen aber über Kanäle miteinander in Verbindung (Abbildung 1B). Chemisch-physikalische Änderungen der Umgebungsbedingungen modifizieren die Morphologie der Trichome von *A. platensis*; dies betrifft insbesondere die Stärke der Spiralförmigkeit und ihre

Orientierung, d.h. der Wechsel von links- zu rechtsgängig und umgekehrt (Vonshak 1997; Van Eykelenburg 1980).



**Abbildung 1: Morphologie und Zellaufbau von *A. platensis***

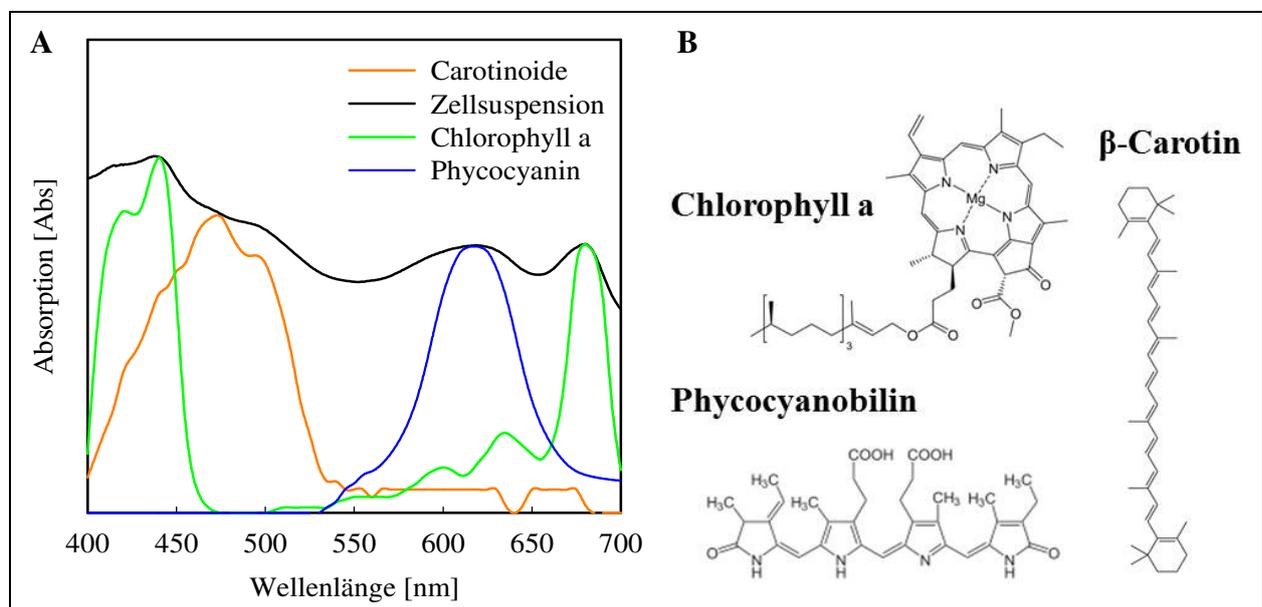
Lichtmikroskopische Aufnahme des verwendeten Stamms *A. platensis* PCC 9108 (Mikroskop Zeiss Axiostar, Durchlicht, ohne Phasenkontrast) (A); schematischer Aufbau von Cyanobakterien nach Esser (2000) mit vergrößertem Ausschnitt der Thylakoidmembran mit Phycobilisom von *A. platensis* mit Chlorophyll a (Chl a), Allophycocyanin (APC) und Phycocyanin (PC) nach (Glazer 1999; Cohen 1999) (B)

Die Vermehrung findet asexuell innerhalb des Trichoms durch vegetative Zellteilung der Einzelzellen statt, wodurch sich das Trichom verlängert. Ab einer kritischen Länge bricht dieses dann durch Ausbildung einer nekrotischen Zelle auseinander, so dass zwei Trichome entstehen (Sili et al. 2012; Vonshak 1997). Der zelluläre Aufbau von *A. platensis* entspricht dem der Prokaryoten (Abbildung 1B, (Esser 2000)) mit einer gram-negativen Zellwand und der ohne Kernhülle frei im Zytoplasma vorliegenden DNA (Van Eykelenburg 1977). Weitere Zellbestandteile wie z.B. DNA und Organellen außer dem Photosyntheseapparat werden hier nicht weiter betrachtet.

Der Photosyntheseapparat von *A. platensis* (Abbildung 1B) ist in den Thylakoidmembranen lokalisiert (Falkowski und Raven 1997; Glazer 1987). Die Zellen enthalten als Pigmente Chlorophyll a (Chl a) und die Phycobiliproteine Allophycocyanin (APC) und Phycocyanin (PC) (Boussiba und Richmond 1979). Die Phycobiliproteine wirken zusätzlich zum Chlorophyll als Lichtsammel-moleküle (Eriksen 2008a) und Carotinoide agieren als Schutzsubstanzen gegenüber photooxidativem Stress. Die in *A. platensis* vorkommenden Phycobiliproteine PC und APC bestehen aus einem Proteingrundkörper sowie einer unterschiedlichen Anzahl an chromophoren Molekülen, den Phycocyanobilinen (Glazer 1999). APC und PC absorbieren Licht im Bereich von 560 - 660 nm und leiten die Energie zu den Photosystemen. Chlorophyll a (Absorption von 400 - 460 nm und 660 - 700 nm) absorbiert in diesem Bereich nur wenig Licht und *A. platensis* nutzt somit die vom Chlorophyll a nicht absorbierten Wellenlängenanteile (Eriksen 2008a; Glazer 1987). Phycobiliproteine bilden stapelartige Komplexe (Phycobilisomen, Ausschnitt Abbildung 1B), die mittels Linkerproteinen am Photosystem fixiert sind (Glazer 1987).

Das Absorptionsspektrum einer Zellsuspension von *A. platensis* (Abbildung 2A) ergibt sich aus der Überlagerung der Absorptionsspektren der einzelnen Pigmente. Die Absorptionsspektren der einzelnen Pigmente stammen aus Literaturdaten (Chl a, Carotinoide nach Wagner (2009a)) und eigener Messung (PC) und sind farblich dargestellt. Die Summe der Absorption der Pigmente ergibt nicht komplett die Absorption der Zellsuspension, da die Zellen noch weitere Chromophore enthalten und Lichtstreuung und Fluoreszenz ebenfalls das Absorptionsspektrum beeinflussen.

Die zu Grunde liegende chemische Struktur der Pigmente  $\beta$ -Carotin, Chlorophyll a und des Phycocyanobilins sind in Abbildung 2B dargestellt. Alle Pigmente von *A. platensis* sollten in einem Photobioreaktor mit Photonen versorgt werden, um ausreichend Energie für die Photosynthese und das Wachstum bereit zu stellen.



**Abbildung 2: Absorptionsspektrum und Struktur der Pigmente von *A. platensis***

Absorptionsspektrum einer Zellsuspension von *A. platensis* PCC 9108 (Messung mit UV/VIS-Spektrometer Beckman DU 640, Beckman-Coulter, Brea, USA) in Kombination mit Absorptionsspektren einzelner Pigmente (Wagner 2009a) (A); chemische Struktur verschiedener Chromophore in *A. platensis* (B)

### 2.1.2 Wachstumsbedingungen

Die Ansprüche von *A. platensis* zu kennen ist von großem Nutzen, wenn der Organismus im Photobioreaktor kultiviert werden soll. Einer der wichtigsten, das Wachstum beeinflussenden Faktoren ist das von phototrophen Organismen für die Photosynthese benötigte Licht. Aufgrund der großen Bedeutung des Lichts wird dieser Parameter im gesonderten Kapitel 2.2 behandelt und im Folgenden die Wachstumsbedingungen für *A. platensis* hinsichtlich Medium, Nährstoffe, pH-Wert und Temperatur erläutert.

*A. platensis* ist in tropischen Gewässern wie z.B. dem Tschad- und Kossorom-See (Afrika), dem Texcoco-See (Mexiko) und Vulkanseen in Myanmar (Südostasien) als dominante Spezies zu finden (Sili et al. 2012; Ciferri 1983). Diese Gewässer sind stark basisch (pH 9 - 11,5) und weisen eine hohe Salinität auf (8,5 - 270 g L<sup>-1</sup>). *A. platensis* wird deswegen auch als alkalo- und halophil bezeichnet (Seckbach 2007). Ein für *A. platensis* geeignetes Kulturmedium muss also einen basischen pH-Wert und eine hohe Salinität aufweisen.

Für das autotrophe Wachstum muss eine anorganische Kohlenstoffquelle zur Verfügung stehen. Weiter werden mineralische Nährstoffe benötigt, die eine Versorgung mit den Elementen Stickstoff, Phosphor, Schwefel sowie eine Reihe von Spurenelementen gewährleisten. Die ersten detaillierten Untersuchungen zu den Wachstumsbedingungen von *Arthrospira* führte Zarrouk (1966) durch. Das von ihm für *Arthrospira* entwickelte Kulturmedium hat sich zu einem Standardmedium zur Kultivierung von *A. platensis* herausgebildet (Sili et al. 2012; Eriksen 2008a; Vonshak 1997). Dieses Medium enthält Natriumcarbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) und Natriumhydrogencarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) in einem solchen Verhältnis, dass der pH-Wert 9,6 beträgt. Die Verwendung dieses Puffersystems ist sinnvoll, weil Carbonat in den meisten natürlichen Gewässern als Puffer dominiert (Sigg und Stumm 2011). Außerdem bewirkt die hohe Konzentration an Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> und NaHCO<sub>3</sub> eine hohe Salinität und das Carbonat der beiden Salze dient als Kohlenstoffquelle, so dass während der Kultivierung kein Kohlendioxid zugeführt werden muss. Der hohe pH-Wert sorgt ebenfalls dafür, dass eine Belüftung des Mediums nicht zum Verlust von anorganischem Kohlenstoff führt (Falkowski und Raven 1997). Zarrouks Medium enthält weiterhin NaNO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, NaCl, CaCl<sub>2</sub> und Spurensalze als Quelle für die erforderlichen mineralischen Nährstoffe.

Als optimaler Temperaturbereich wird für *A. platensis* 30 - 36 °C angegeben (Sili et al. 2012; Vonshak 1997). Temperaturen über 45 °C führen zu Trichombrüchen und Zellyse (Babu et al. 1992; Ciferri 1983). Auch wurden Änderungen in der Zellzusammensetzung von *Arthrospira*-Spezies bei Variation der Temperatur wie der Abbau von Proteinen und Pigmenten und die Akkumulation von Kohlenhydraten und Fettsäuren beschrieben (Sili et al. 2012; Torzillo et al. 1986; Torzillo et al. 1984).

## **2.2 Licht als Energiequelle für phototrophe Organismen**

### **2.2.1 Definition, Quantifizierung und Nutzbarkeit für die Photosynthese**

Licht wird im Rahmen des Welle-Teilchen-Dualismus definiert. Es stellt einerseits den vom menschlichen Auge erfassbaren Wellenlängenbereich von ca. 390 - 770 nm dar und ist somit ein Teilbereich des elektromagnetischen Spektrums (Kuchling 1991). Andererseits kann Licht quantenphysikalisch als Strom von Photonen angesehen werden, wobei jedem Photon ein dis-

kreter Energiebetrag zugeordnet ist. Die Energie eines Photons ist das Produkt aus dem Planck'schen Wirkungsquantum und seiner Schwingungsfrequenz (Glg. 1) und die Frequenz steht wiederum über die Lichtgeschwindigkeit mit der Wellenlänge in Verbindung (Glg. 2).

$$E = h \cdot f \quad \text{Glg. 1}$$

$$f = \frac{c}{\lambda} \quad \text{Glg. 2}$$

Formeln mit: Energie E in J, Planck'sches Wirkungsquantum  $h = 6,626 \cdot 10^{-34}$  J s, Frequenz f in Hz, Lichtgeschwindigkeit im Vakuum  $c = 2,998 \cdot 10^8$  m s<sup>-1</sup>, Wellenlänge  $\lambda$  in nm.

Photonen besitzen demzufolge entsprechend ihrer Wellenlänge einen unterschiedlichen Energiebetrag. Je geringer die Wellenlänge, umso höher der Energiegehalt. Phototrophe Organismen sind durch ihre Photosysteme in der Lage, Photonen aufzunehmen und die Strahlungsenergie in chemische Energie umzuwandeln. Der von *A. platensis* genutzte Wellenlängenbereich des Lichts (400 - 700 nm, photosynthetic active radiation, PAR) entspricht interessanterweise dem, der vom menschlichen Auge wahrgenommen werden. Licht mit geringer Wellenlänge ist zu energiereich und schädigt die Photosysteme, während Licht mit großen Wellenlängen zu energiearm ist, um die an der Photosynthese beteiligten Moleküle anzuregen (Beer et al. 2014; Björn und Vogelmann 1994).

### Quantifizierung von Licht

Es ist notwendig, die Intensität und das Spektrum des verwendeten Lichts zu erfassen, um die Abhängigkeit der Wachstumsrate phototropher Organismen vom Licht zu untersuchen. Zur Ermittlung der Lichtintensität kommen Messgeräte mit Lichtsensoren zum Einsatz, welche das zu detektierende Licht in ein elektrisches Signal umwandeln. Solche Lichtsensoren sind z.B. Photodioden und Photowiderstände, denen Photomultiplier nachgeschaltet sein können. Es wird bei der Messung der photoelektrische Effekt genutzt, wobei Photonen Elektronen aus dem Atomgitter eines lichtempfindlichen Materials im Sensor herauslösen. Die Zahl dieser Elektronen ist dabei zur Photonenmenge des Lichts proportional und kann somit zur Quantifizierung genutzt werden (Biggs et al. 1971).

Üblicherweise besteht das zur Kultivierung verwendete Licht aus Photonen verschiedener Wellenlängen. Das Spektrum des Lichts wird mit UV-VIS-Spektrometern quantifiziert, wobei das Licht nach der Wellenlänge mittels Prisma bzw. Beugungsgittern aufgetrennt und dann für differentielle Wellenlängenbereiche mit der oben beschriebenen Sensorik detektiert wird.

Die Charakterisierung des in Photosyntheseexperimenten verwendeten Lichts ist äußerst wichtig für die Interpretation der Messergebnisse. Dies wird jedoch in vielen Publikationen nur unzureichend beachtet; sehr oft werden die verwendeten Lichtquellen nicht klar definiert, das Licht-

spektrum nicht angegeben, die Lichtintensität nur an einem, teilweise nicht näher erklärten, Messort bestimmt (z.B. in Godoy Danesi et al. 2011; Hemlata und Fatma 2009; Chen und Zhang 1997). Eine präzise Quantifizierung des in Photobioreaktoren angewandten Lichts bedeutet eine Erfassung des Spektrums der Lichtquelle und eine räumlich aufgelöste Messung der Lichtintensität. Aufgrund der vektoriellen Ausbreitung des Lichts geben Lichtquellen ihre Photonen oft räumlich heterogen ab (Björn und Vogelmann 1994). Weiter nimmt die Lichtintensität exponentiell mit dem Abstand zur Lichtquelle signifikant ab; typischerweise bewirkt eine Verdopplung der Entfernung eine Verminderung der Intensität um den Faktor vier (Gockel 2012). All dies muss bei den Messungen zur Quantifizierung des Lichts beachtet werden.

### Größen und Einheiten des Lichts

Die Lichtintensität kann in verschiedenen physikalischen als auch physiologischen Größen angegeben werden (Kuchling 1991). In der neueren Literatur wird in Experimenten mit Licht als Energiequelle für phototrophe Organismen die Lichtintensität meist als Bestrahlungsstärke in  $W m^{-2}$  oder als Photonenflussdichte (PFD) in  $\mu mol m^{-2} s^{-1}$  angegeben. Die Bestrahlungsstärke und die Photonenflussdichte repräsentieren die über das sichtbare Lichtspektrum von 400 - 700 nm gemittelte Lichtintensität. Allerdings werden bei der Photosynthese in Abhängigkeit der vorhandenen Pigmente nur bestimmte Anteile des gesamten Spektrums genutzt (Kapitel 2.1).

In der vorliegenden Arbeit wird die Lichtintensität bevorzugt als PFD für den Wellenlängenbereich von 400 - 700 nm angegeben. Zur Orientierung: es herrscht auf der Erdoberfläche eine durchschnittliche Lichtintensität von ca.  $1560 \mu mol m^{-2} s^{-1}$  und an einem wolkenlosen Tag am Äquator ca.  $4700 \mu mol m^{-2} s^{-1}$  (Burgess 2009). Der Sonnenstand und die Witterung (insbesondere die Wolkenbildung) beeinflussen zusätzlich die Lichtintensität. Ebenso kommt es innerhalb von Gewässern noch durch Absorption des Lichts zu einer Verringerung des auf phototrophe Organismen einwirkenden Lichts.

Eine Umrechnung zwischen der Bestrahlungsstärke und der PFD ist nicht ohne weiteres möglich, weil Photonen verschiedener Wellenlängen eine unterschiedliche Energie aufweisen (Glg. 1). Während die PFD allein die Anzahl der Photonen pro Fläche und Zeit im Bereich von 400 - 700 nm angibt, spielt bei der Bestrahlungsstärke die Energie der Photonen eine große Rolle. Zur präzisen Umrechnung kommen Wichtungsfunktionen zur Anwendung, in denen sich der Umrechnungsfaktor mit der Wellenlänge ändert (Björn und Vogelmann 1994). Näherungsweise Umrechnungen mit fixen Faktoren basieren meist auf dem Maximum der Empfindlichkeit des menschlichen Auges bei einer Wellenlänge von 555 nm (Gockel 2012). Für die empirische Umrechnung der PFD in  $\mu mol m^{-2} s^{-1}$  in die Bestrahlungsstärke in  $W m^{-2}$  wird in dieser Arbeit ein Faktor von 4,6 angenommen (Xue et al. 2011; Lalli und Parsons 1993).

### 2.2.2 Sauerstoffbildung und Wachstum während der oxygenen Photosynthese

*A. platensis* betreibt, ähnlich den phototrophen Eukaryoten, eine oxygene Photosynthese (Gantt 2011). Dabei wird Lichtenergie in chemische Energie umgewandelt, indem über die Licht- und Dunkelreaktion Wasser gespalten und mit Hilfe der freigesetzten Elektronen Energie zur Kohlenstofffixierung für höhermolekulare Kohlenstoffverbindungen bereitgestellt wird. Als vereinfachte Summenformel gilt:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \Rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{O}_2$  (Falkowski und Raven 1997). Zum phototrophen Wachstum werden auch mineralische Nährstoffe wie Stickstoff, Phosphor, Schwefel und Spurenelemente benötigt. Der detaillierte Ablauf ist in der Literatur beschrieben (Harris 2014; Stryer 2012; Falkowski und Raven 1997; Karlson et al. 1994; Lawlor 1990).

Der bei der Photosynthese freigesetzte Sauerstoff kann leicht mittels Sauerstoffsensoren gemessen werden. Die Geschwindigkeit der Photosynthesereaktion wird berechnet, indem die Sauerstoffmenge auf die Zeitspanne der Messung sowie auf die Menge des Chlorophylls, der Biomasse oder Zellzahl bezogen wird (Einheit:  $\text{mol O}_2 \text{ mg}_{\text{Chl}}^{-1} \text{ h}^{-1}$  oder  $\text{mol O}_2 \text{ mg}_{\text{Biomasse}}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). Diese Geschwindigkeit wird Photosyntheserate  $P$  genannt und typischerweise in Kurzzeitmessungen ermittelt (Vejrazka et al. 2011; Brindley et al. 2010; Park et al. 2000; Nedbal et al. 1996; Vonshak et al. 1988).

Die bei der Photosynthese gebildete Glucose wird von den phototrophen Organismen zum Aufbau von Biomasse genutzt. Damit bestimmt die Photosyntheserate indirekt die Geschwindigkeit des Wachstums. Da die Wachstumsraten phototropher Organismen gering sind, muss das Wachstum durch wiederholte Messung der Biomasse über einen langen Zeitraum von Stunden bis Tagen verfolgt werden (Xue et al. 2011; Lee et al. 1987).

Das photoautotrophe Wachstum ist mit der spezifischen Wachstumsrate  $\mu$  direkt an die Photosynthese mit der Photosyntheserate  $P$  gekoppelt ( $\mu$  proportional  $P$ ). Wirkt ein mineralischer Nährstoff limitierend auf das Wachstum oder werden Speicherstoffe verstoffwechselt, kann die Photosynthese vom Wachstum partiell entkoppelt sein und die Photosyntheserate ist dann nicht mehr proportional zur Wachstumsrate (Mishra 2004). In diesem Fall wird Sauerstoff auch ohne Wachstum gebildet. Bei *A. platensis* kann dies z.B. durch den Abbau von PC geschehen (Boussiba und Richmond 1980). Ebenso geschieht dies, wenn neben Licht noch eine zusätzliche Energiequelle, z.B. ein leicht verwertbares Saccharid, vorhanden ist und es zum photomixotrophen Wachstum kommt. Dabei wird die Photosynthese und die damit verbundene Sauerstoffbildung verringert, obgleich sich das Wachstum beschleunigt ( $P$  wird kleiner und  $\mu$  größer). Für *A. platensis* ist dies auch in der Literatur beschrieben (Chojnacka und Zielinska 2012; Vonshak 1997; Marquez et al. 1995).

Zur reaktionskinetischen Charakterisierung des phototrophen Wachstums ist die Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsrate  $\mu$  von der Lichtintensität  $I$  von außerordentlichem Interesse

( $\mu = f(I)$ ). Die Bestimmung der spezifischen Wachstumsrate gestaltet sich jedoch im Vergleich zur Kurzzeitmessung der Photosyntheserate schwieriger, da über viele Stunden hinweg Biomassekonzentrationen bestimmt werden müssen (Mishra 2004). Deshalb wird die Messung der Photosyntheserate zur Untersuchung phototropher Organismen oft bevorzugt. Da sich jedoch Photosynthese und Wachstum unter bestimmten o.g. Bedingungen partiell entkoppeln können, kann die gemessene Photosyntheserate nicht automatisch mit der spezifischen Wachstumsrate gleichgesetzt werden. Am sichersten, aber aufwändigsten ist es, das Wachstum direkt zu verfolgen. Dabei muss jedoch sichergestellt sein, dass kein anderer Faktor außer Licht das Wachstum limitiert oder inhibiert.

### **2.2.3 Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Lichtintensität**

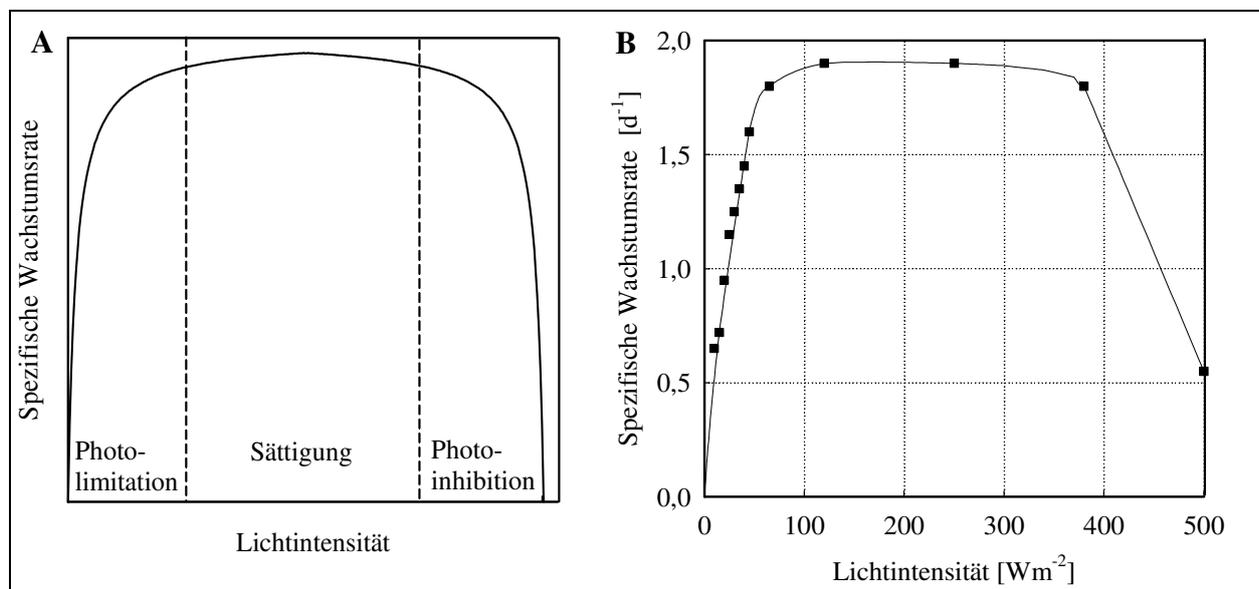
#### Typischer Verlauf der $\mu(I)$ -Kurve

Phototrophe Organismen weisen eine typische Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Lichtintensität auf, die in die Bereiche Respiration, Lichtlimitation, Lichtsättigung und Photoinhibition (Abbildung 3A) untergliedert wird (Mishra 2004; Nielsen 1975). Ohne Licht oder bei nur sehr geringer Lichtintensität wird Respiration auf Basis intrazellulärer Speicherstoffe betrieben. Die Lichtintensität ist zu gering, um die im Erhaltungsstoffwechsel benötigte Energie durch Photosynthese zur Verfügung zu stellen. Die Biomassezehrung kann dann als negative Wachstumsrate interpretiert werden (Zelitch 1971). Am Kompensationspunkt ist die Lichtintensität gerade so groß, dass die Photosynthese die zur Erhaltung erforderliche Energie bereitstellen kann ( $\mu = 0$ ) (Vonshak 1997). Meist ist die Kompensationslichtintensität so gering, dass sie unbeachtet bleibt. Ist die Lichtintensität größer als die Kompensationslichtintensität, wachsen die phototrophen Organismen ( $\mu > 0$ ). Mit steigender Lichtintensität nimmt die Wachstumsrate zunächst annähernd linear und dann degressiv zu (Bereich der Limitation), bis die Steigerung der Lichtintensität zu keiner weiteren Erhöhung der Wachstumsrate führt; die Sättigung ist erreicht (Mishra 2004). Nun wird so viel Lichtenergie eingestrahlt, dass der Photosyntheseapparat ausgelastet und die maximale Wachstumsrate erreicht ist ( $\mu = \mu_{\max}$ ). Steigert sich die Lichtintensität weiter, können die phototrophen Organismen durch die hohe Energie der Photonen geschädigt und die Wachstumsrate verringert werden (Photoinhibition,  $0 < \mu < \mu_{\max}$ ) (Nielsen 1975). Bei Photonenüberschuss bewirken insbesondere die kurzwelligen Photonen die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, die zu Schäden an der Zellmembran und DNA, zu Zellyse und zu Trichombruch führen (Ma und Gao 2010; Gao et al. 2008).

Verlauf der  $\mu(I)$ -Kurve von *A. platensis*

Das Wachstum von *A. platensis* in Abhängigkeit der Lichtintensität wurde bereits untersucht (Sili et al. 2012; Xue et al. 2011; Cogne et al. 2003; Vonshak 1997; Kebede und Ahlgren 1996; Olaizola und Duerr 1990; Lee et al. 1987). Ein typischer  $\mu(I)$ -Verlauf für *A. platensis* ist in Abbildung 3B dargestellt (Xue et al. 2011). Die publizierten Daten sind jedoch oft nur schwer miteinander vergleichbar, weil die Versuchsbedingungen stark variierten (Tabelle 1). Teils sind die Versuchsparameter, insbesondere die Beleuchtung, nicht präzise angegeben.

Häufig weichen die ermittelten kinetischen Parameter so beträchtlich voneinander ab, dass dies nicht allein durch unterschiedliche *A. platensis*-Stämme erklärbar wäre. Es ist eher zu vermuten, dass Unterschiede in der Untersuchungsmethodik verantwortlich sind. Insbesondere betrifft das die Lichtintensität am Kompensationspunkt und die Übergänge der Bereiche der Sättigung und Photoinhibition (Tabelle 1).



**Abbildung 3: Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Lichtintensität**

Schematische Darstellung mit den Bereichen Photolimitation, Sättigung und Photoinhibition (A) und Verhalten von *A. platensis* in Zarrouk-Medium bei 30 °C und LED-Beleuchtung nach Xue et al. (2011) (B)

Zarrouk (1966) gibt für das Wachstum von *A. maxima* in dem von ihm eingeführte Mineralmedium eine maximale Wachstumsrate von  $1,2 \text{ d}^{-1}$  bei  $360 - 540 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  an. Vonshak (1997) fasst seine Untersuchungen in einem kontinuierlichem System zusammen und gibt für die maximale Wachstumsrate von *A. platensis* bei 35 °C und  $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  einen Bereich von  $1,15 - 2,08 \text{ d}^{-1}$  an. Xue et al. (2011) erreichten dagegen erst bei ca.  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  maximales Wachstum (ca.  $1,9 \text{ d}^{-1}$  bei 30 °C). Eine besonders hohe Wachstumsrate von  $2,64 \text{ d}^{-1}$  bei 33 °C und ca.  $160 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  fanden Lee et al. (1987) in einem Flat-Panel-Reaktor; dieser Wert

scheint aufgrund der günstigen Versuchsbedingungen glaubwürdig. Es wird vermutet, dass niedrigere Wachstumsraten durch das Problem der Selbstbeschattung entstanden (Kapitel 2.3).

**Tabelle 1: Lichtintensitäten für Kompensation, Sättigung und Inhibition von *A. platensis***

Literaturdaten zur Lichtintensität für die Kompensation und Bereiche der Sättigung und Photoinhibition von *A. platensis* unter den angegebenen Kultivierungsbedingungen (Beleuchtung, Temperatur, Medium)

Bedingungen (Beleuchtung, Temperatur, Medium)	Lichtintensität $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Referenz
<b>Kompensation</b>		
nicht angegeben, 36 °C, Zarrouk-Medium	5 - 23	Cogne et al. 2003
Leuchtstoffröhren, 30 °C, Zarrouk-Medium	17 - 53	Kebede und Ahlgren 1996
LED-Beleuchtung, 30 °C, Zarrouk-Medium	0 - 153	Xue et al. 2011
<b>Sättigung</b>		
Leuchtstoffröhren, 33 °C, Zarrouk-Medium	> 160	Lee et al. 1987
nicht angegeben	150 - 200	Vonshak 1997
nicht angegeben	340 - 400	Sili et al. 2012
Leuchtstoffröhren, 30 °C, Zarrouk-Medium	> 330	Kebede und Ahlgren 1996
LED-Beleuchtung, 30 °C, Zarrouk-Medium	> 435	Xue et al. 2011
Leuchtstoffröhren, 36 °C, ½ Zarrouk-Medium	> 450	Olaizola und Duerr 1990
<b>Inhibition</b>		
Leuchtstoffröhren, 33 °C, Zarrouk-Medium	> 230	Lee et al. 1987
Leuchtstoffröhren, 30 °C, Zarrouk-Medium	> 350	Kebede und Ahlgren 1996
nicht angegeben	> 430	Sili et al. 2012
LED-Beleuchtung, 30 °C, Zarrouk-Medium	> 1300	Xue et al. 2011

### Modelle für die $\mu(I)$ -Kurve

Es wurden zur mathematischen Beschreibung der Kurve  $\mu = f(I)$  verschiedene Modelle publiziert; eine Übersicht geben z.B. Jassby und Platt (1976), Grima et al. (1994), Mishra (2004) und Béchet et al. (2013). Einige grundlegende Modelle sind in Tabelle 3 aufgelistet, wobei die Modelle sowohl in originaler als auch in transformierter Form angegeben sind, um den Vergleich zu erleichtern. Dabei ist zu beachten, dass nicht alle aufgelisteten Modelle zur Beschreibung des photosynthetischen Wachstums  $\mu$  sondern zum Teil zur Modellierung der Photosyntheserate  $P$  in Abhängigkeit der Lichtintensität aufgestellt wurden. In diesem Fall wurde das  $P(I)$ -Modell in ein  $\mu(I)$ -Modell überführt. Dies ist sinnvoll, da  $P(I)$  für gewöhnlich mit  $\mu(I)$  korreliert, wie oben bereits erwähnt wurde. Die in Tabelle 3 als Original bezeichneten Modelle sind bereits formal vereinheitlicht ( $\mu$  anstatt  $P$ ; Lichtintensität als  $I$ ).

Die transformierten Modelle in Tabelle 3 besitzen eine verständlichere Struktur und enthalten, soweit möglich, einheitliche Modellparameter:  $\mu_{\max}$  entspricht der maximal erreichbaren spezifischen Wachstumsrate,  $K_{SI}$  ist die Halbsättigungskonstante mit  $\mu = 0,5 \mu_{\max}$  bei  $I = K_{SI}$ , und  $K_{SI}^*$  ist eine beliebige Affinitätskonstante, die diese Bedingung nicht erfüllt.

Ausgewählte  $\mu(I)$ -Modelle wurden zur Veranschaulichung in Abbildung 4 dargestellt. Die für die Berechnung der  $\mu(I)$ -Kurven verwendeten Modellparameter sind in Tabelle 2 aufgelistet und die für *A. platensis* geltenden Parameter wurden der Literatur entnommen.

Anfang des 20. Jahrhunderts begannen Forscher, sich mit der mathematischen Beschreibung der in Abhängigkeit der Lichtintensität gemessenen Wachstums- bzw. Photosyntheseraten zu beschäftigen. Eine erste Approximation lieferte Blackman (1905), dessen Modell einen linearen Anstieg der Rate mit steigender Lichtintensität bis zu einem Maximalwert beschreibt, der dann bei weiterer Steigerung der Lichtintensität konstant bleibt. Diese lineare Approximation wurde später wiederholt aufgegriffen z.B. von Van Oorschot (1955), liefert aber nur eine grobe Annäherung an das reale Verhalten. 1935 stellte Baly ein hyperbolisches Modell für die Photosyntheserate auf (Baly 1935), das formal betrachtet dem Monod-Modell entspricht, welches Monod später für die Beschreibung substratlimitierten Wachstums von Mikroorganismen entwickelte (Monod 1949). Das Baly-Modell gibt das tatsächliche Verhalten realistischer als die lineare Regression wieder. Tamiya (1953), Jeon et al. (2005) und Garcia-Malea et al. (2005) publizierten und nutzten u.a. weitere  $\mu(I)$ -Modelle, welche jedoch formal dem Baly-Modell entsprechen.

Smith (1936) und Bannister (1979) erweiterten das Baly-Modell, indem sie einen zusätzlichen Exponenten einführten, der die Krümmung der  $\mu(I)$ -Kurve beeinflusst. Grima et al. (1994) erweiterten wiederum das Modell von Bannister um einen Koeffizienten  $m$  zur Berücksichtigung des Erhaltungsstoffwechsels. Dieser bewirkt eine Verschiebung der  $\mu(I)$ -Kurve um den Betrag von  $m$ . Im dargestellten Fall (Abbildung 4) hat dies zur Folge, dass unterhalb einer Lichtintensität von ca.  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  negative  $\mu$ -Werte auftreten, aber die maximale spezifische Wachstumsrate nicht mehr erreicht wird. Diese Verschiebung kann als Lichtintensität am Kompensationspunkt gedeutet werden. Die logarithmische Skalierung der x-Achse in Abbildung 4B zeigt sehr deutlich diesen Unterschied der Modelle von Bannister (1979) und Grima et al. (1994).

Neben diesen hyperbolischen Modellen wurden auch  $\mu(I)$ -Modelle entwickelt, die eine exponentielle bzw. quadratische Struktur aufweisen (Cullen 1990; Jassby und Platt 1976).

Mit den bisher diskutierten Modellen kann die Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Lichtintensität beschrieben werden, jedoch wird der Zusammenhang nur für kleine bis mittlere Lichtintensitäten hinreichend genau wiedergegeben. Die Inhibierung bei sehr hohen Lichtintensitäten wird nur von wenigen Autoren berücksichtigt (Bernard und Remond 2012; Megard et al. 1984; Peeters und Eilers 1978; Steele 1962). Steele (1962) berücksichtigt die Photoinhibierung durch die Einführung einer Exponentialfunktion, während Peeters und Eilers (1978), Megard (1984) und Bernard und Remond (2012) dies durch einen zusätzlichen Term im Nenner des Baly-

Modells erreichen (einen sogenannten Haldane-Term in Anlehnung an die Enzyminhibierung (Haldane 1930)). Diese Inhibierungskinetiken besitzen jedoch den Nachteil, dass sie eine degressive Hemmung implizieren (mit steigender Lichtintensität vermindert sich die Wachstumsrate weniger stark); tatsächlich ist Hemmung in der Regel ein progressiver Prozess (Urit et al. 2013), so dass eine steigende Lichtintensität die Wachstumsrate zunehmend verringert (Abbildung 3). Zudem wird im Modell von Peeters und Eilers (1978) durch den starken Einfluss des Inhibierungsterms die maximale spezifische Wachstumsrate nicht erreicht.

Ein weiteres Problem bei der Nutzung dieser Modelle besteht darin, dass die Lichtintensität in Kultivierungssystemen nicht in jeder Eindringtiefe gleich ist, sondern sich durch die Absorption mit der Eindringtiefe des Lichts verringert (Béchet et al. 2013). Mit einer einheitlichen Lichtintensität des einfallenden Lichts darf folglich eigentlich nur gearbeitet werden, wenn die Eindringtiefe oder die Biomassekonzentration gering ist. Häufig wird daher bei größeren Biomassekonzentrationen (relevante Absorption) mit einem gewichteten Mittelwert der Lichtintensität gerechnet. Diese Methode ist jedoch auch nicht präzise; tatsächlich muss eine über die Eindringtiefe des Lichts gemittelte spezifische Wachstumsrate bestimmt werden (Kapitel 2.3).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass eine ganze Reihe an Modellen für  $\mu = f(I)$  mit Vor- und Nachteilen existieren und die jeweils ans Untersuchungssystem angepasst werden müssen.

**Tabelle 2: Parameter für die grafische Darstellung der  $\mu(I)$ -Modelle in Abbildung 4**

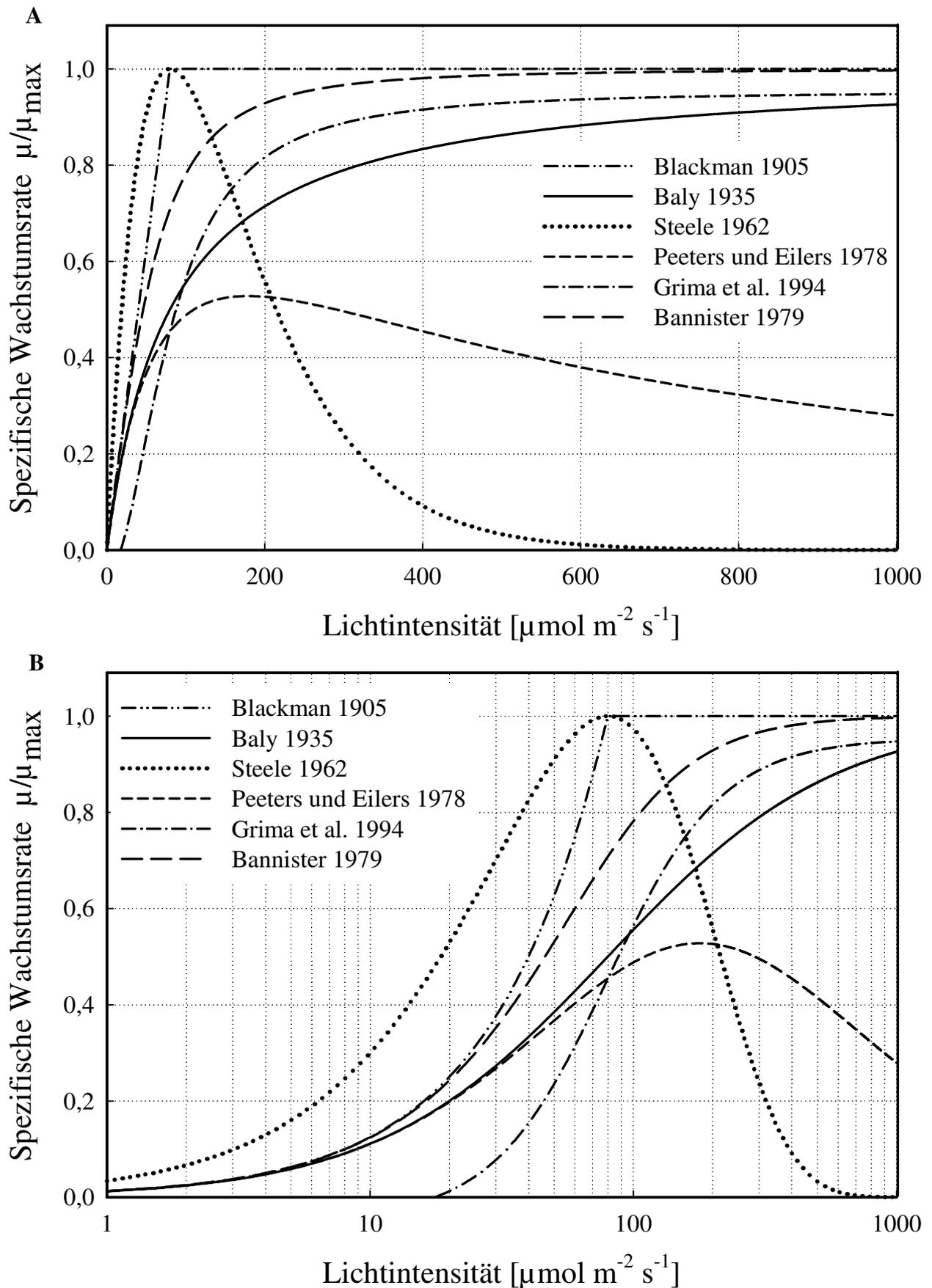
Parameter	Symbol	Wert	Einheit	Referenz
Maximale spezifische Wachstumsrate	$\mu_{\max}$	2	$d^{-1}$	Vonshak 1997
Halbsättigungskonstante	$K_{SI}$	80	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Xue et al. 2011
Affinitätskonstante	$K_{SI}^*$	80	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Xue et al. 2011
Inhibierungskonstante	$K_I$	400	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Sili et al. 2012, Vonshak 1997
Empirischer Faktor	$n$	2	-	Bannister 1979
Koeffizient für Erhaltungsstoffwechsel	$m$	0,09	$d^{-1}$	Grima et al. 1994

**Tabelle 3: Modelle zur Beschreibung der Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsrate  $\mu$  von der Lichtintensität  $I$ ,  $\mu = f(I)$**

Modelle in chronologischer Reihenfolge ihrer Publikation mit der maximalen spezifischen Wachstumsrate  $\mu_{max}$ , der Halbsättigungskonstante bzgl. der Lichtintensität  $K_{SI}$  (mit  $\mu(I = K_{SI}) = 0,5 \mu_{max}$ ), der Affinitätskonstanten  $K_{SI}^*$  ( $\mu(I = K_{SI}^*) \neq 0,5 \mu_{max}$ ), der Inhibitionskonstante  $K_i$ , dem Erhaltungskoeffizienten  $m$  und der optimalen Lichtintensität  $I_{opt}$  in den transformierten Modellen; die Koeffizienten in den originalen Modellen wurden formal übernommen

Modell in der Originalquelle	transformiertes Modell	Substitution	Bemerkungen	Referenz
$\mu = \alpha \cdot I \quad \text{für } I \leq \frac{\mu_{max}}{\alpha}$ $\mu = \mu_{max} \quad \text{für } I > \frac{\mu_{max}}{\alpha}$	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{K_{SI}^*} \quad \text{für } I \leq K_{SI}^*$ $\mu = \mu_{max} \quad \text{für } I > K_{SI}^*$	$\alpha = \frac{\mu_{max}}{K_{SI}^*}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ linear</li> <li>▪ für Assimilation entwickelt</li> <li>▪ Annäherung an Baly-Modell für <math>I \ll K_{SI}^*</math> und <math>I \gg K_{SI}^*</math></li> </ul>	Blackman 1905
$\frac{I}{\mu} = K_1 + K_2 \cdot I$	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{I + K_{SI}}$	$K_1 = \frac{K_{SI}}{\mu_{max}}$ $K_2 = \frac{1}{\mu_{max}}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ hyperbolisch</li> <li>▪ für Photosynthese von <i>Chlorella</i> entwickelt</li> <li>▪ formal äquivalent zum Monod-Modell (Monod 1949)</li> </ul>	Baly 1935
$K \cdot I = \frac{\mu}{(\mu_{max}^2 - \mu^2)^{\frac{1}{2}}}$	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{(I^2 + K_{SI}^*)^{\frac{1}{2}}}$	$K = \frac{1}{K_{SI}^*}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ hyperbolisch</li> <li>▪ für Photosynthese von <i>Coccomba</i> entwickelt</li> </ul>	Smith 1936
$\mu = \frac{\alpha \cdot \mu_{max} \cdot I}{\mu_{max} + \alpha \cdot I}$	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{I + K_{SI}}$	$\alpha = \frac{\mu_{max}}{K_{SI}}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ hyperbolisch</li> <li>▪ für Wachstum von <i>Chlorella ellipsoidea</i> entwickelt</li> <li>▪ formal äquivalent zum Baly-Modell</li> </ul>	Tamiya et al. 1953
$\mu = a \cdot \mu_{max} \cdot I \cdot e^{(1-a)I}$	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{K_{SI}^*} \cdot e^{\left(1 - \frac{I}{K_{SI}^*}\right)}$	$a = \frac{\alpha}{\mu_{max}}$ $\alpha = \frac{\mu_{max}}{K_{SI}^*}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ exponentiell</li> <li>▪ theoretische Betrachtung für Photosynthese</li> </ul>	Steele 1962
$\mu = \alpha \cdot I - \frac{(\alpha \cdot I)^2}{4 \cdot \mu_{max}} \quad \text{für } I \leq 2 \frac{\mu_{max}}{\alpha}$ $\mu = \mu_{max} \quad \text{für } I > 2 \frac{\mu_{max}}{\alpha}$	$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I}{K_{SI}^*} \left(1 - \frac{I}{4 \cdot K_{SI}^*}\right) \quad \text{für } I \leq 2 K_{SI}^*$ $\mu = \mu_{max} \quad \text{für } I > 2 K_{SI}^*$	$\alpha = \frac{\mu_{max}}{K_{SI}^*}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ quadratisch</li> <li>▪ für Photosynthese von Phytoplankton entwickelt</li> </ul>	Jassby und Platt 1976
$\mu = \mu_{max} \cdot \tanh\left(\frac{\alpha I}{\mu_{max}}\right)$	$\mu = \mu_{max} \cdot \left(1 - \frac{2}{e^{\left(\frac{I}{K_{SI}^*}\right)} + 1}\right)$	$\alpha = \frac{\mu_{max}}{K_{SI}^*}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ exponentiell</li> <li>▪ für Photosynthese von Phytoplankton entwickelt</li> </ul>	Jassby und Platt 1976

Modell in der Originalquelle	transformiertes Modell	Substitution	Bemerkungen	Referenz
$\mu = \frac{I}{a \cdot I^2 + b \cdot I + c}$	$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{I}{I + K_{SI}^* + \frac{I^2}{K_I}}$	$a = \frac{1}{K_I \cdot \mu_{\max}}$ $b = \frac{1}{\mu_{\max}}$ $c = \frac{K_{SI}^*}{\mu_{\max}}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ hyperbolisch</li> <li>▪ theoretische Betrachtung für Photosynthese</li> <li>▪ Berücksichtigung der Photoinhibition durch Einführung eines Haldane-Terms (1930)</li> </ul>	Peeters und Eilers 1978
$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot I}{(I^n + I_{opt}^n)^{\frac{1}{n}}}$	$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{I}{(I^n + K_{SI}^* \cdot \frac{1}{I})^{\frac{1}{n}}}$	$I_{opt} = K_{SI}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ hyperbolisch</li> <li>▪ für Wachstum von <i>Chlorella pyrenoidosa</i> entwickelt</li> <li>▪ Einführung des empirischen Koeffizienten n für Variation des Anstiegs der <math>\mu(I)</math>-Kurve</li> <li>▪ für n = 1 formal äquivalent zum Baly-Modell; für n = 2 formal äquivalent zum Smith-Modell</li> </ul>	Bannister 1979
$\mu = \mu_{\max} \cdot \left( 1 - e^{\left( -\frac{\alpha \cdot I}{\mu_{\max}} \right)} \right)$	$\mu = \mu_{\max} \cdot \left( 1 - e^{\left( -\frac{I}{K_{SI}^*} \right)} \right)$	$\alpha = \frac{\mu_{\max}}{K_{SI}^*}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ exponentiell</li> <li>▪ von Mitscherlich (1909) für Bodenertrag entwickelt</li> <li>▪ von Cullen auf die Photosyntheserate von Phytoplankton angewandt</li> </ul>	Cullen 1990
$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{I^n}{I^n + K_{SI}^n} - m$	$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{I}{(I^n + K_{SI}^n)^{\frac{1}{n}}} - m$	-	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ hyperbolisch</li> <li>▪ für Wachstum von <i>Isochrysis galbana</i> entwickelt</li> <li>▪ Erweiterung des Bannister-Modells durch Einführung des Koeffizienten m zur Berücksichtigung des Erhaltungsstoffwechsels</li> </ul>	Grima et al. 1994
$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{I}{I + \frac{\mu_{\max}}{\alpha} \left( \frac{I}{I_{opt}} - 1 \right)^2}$	$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{I}{I + K_{SI}^* \left( \frac{I}{I_{opt}} - 1 \right)^2}$	$\alpha = \frac{\mu_{\max}}{K_{SI}^*}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ hyperbolisch</li> <li>▪ für Wachstum von <i>Chlorella pyrenoidosa</i> entwickelt</li> <li>▪ Modifizierung des Modells von Peeters und Eilers mit der Absicht, dass bei Beleuchtung mit <math>I_{opt}</math> die Wachstumsrate <math>\mu_{\max}</math> beträgt</li> </ul>	Bernard und Remond 2012



**Abbildung 4: Relative spezifische Wachstumsrate in Abhängigkeit der Lichtintensität**

Darstellung ausgewählter  $\mu(I)$ -Modelle mit linearer (A) bzw. logarithmischer (B) Skalierung der x-Achse; Berechnung mit Modellgleichungen in Tabelle 3 und Modellparametern in Tabelle 2

## 2.3 Lichtverhältnisse in phototrophen Kulturen

Es wurde im vorhergehenden Kapitel gezeigt, dass die Lichtintensität einen großen Einfluss auf das Wachstum phototropher Organismen hat. Biotechnologisch interessante phototrophe Organismen werden in der Regel submers kultiviert. Diese Suspensionen haben die Eigenschaft, Licht durch ihre Photosynthesepigmente zu absorbieren. Das von außen eingestrahlte Licht wird durch die Absorption mit der Eindringtiefe zunehmend verringert. Dadurch sind einzelne Individuen einer unterschiedlichen Lichtintensität ausgesetzt und besitzen damit eine räumlich unterschiedliche photosynthetische Aktivität und spezifische Wachstumsrate. Bei praktisch relevanten Biomassekonzentrationen führt die Absorption zu einer starken Verringerung der Wachstumsrate der Population und somit zu einem ineffizienten biotechnologischen Prozess.

### 2.3.1 Absorptionsmodelle

Die Abschwächung des Lichts geschieht durch die Absorption der Photonen durch die suspendierte Biomasse, wobei den Photosynthesepigmenten der phototrophen Organismen eine besondere Bedeutung zukommt. Je höher die Biomassekonzentration und je stärker die Zellen das von außen eingestrahlte Licht absorbieren (große Extinktionskoeffizienten) desto geringer ist die in einer bestimmten Eindringtiefe vorherrschende Lichtintensität. Dieser Sachverhalt wird Selbstbeschattung genannt.

Absorptionsmodelle mit praktischer Bedeutung für das betrachtete Thema sind in Tabelle 4 aufgelistet. Diese Modelle gelten für eindimensionale Betrachtungen, wobei sich das Licht parallel ausbreitet und senkrecht auf das absorbierende Medium trifft. Es wird eine homogene Suspension angenommen, d.h. dass die Biomassekonzentration ortsunabhängig ist.

Das älteste und einfachste Absorptionsmodell geht auf Bouguer, Lambert und Beer zurück (Beer 1852; Lambert 1760; Bouguer 1729). Dieses Modell wird in der Fachliteratur auch als Lambert-Beersches Gesetz bezeichnet (Lottspeich und Engels 2012). Die Lichtintensität verringert sich exponentiell mit der Eindringtiefe (hier als Schichtdicke  $d$  bezeichnet), wobei der Grad der Verringerung vom Extinktionskoeffizienten  $\epsilon$  des Mediums und von der Biomassekonzentration  $c_x$  bestimmt wird. Dieses Modell gilt streng genommen nur für klare gefärbte Lösungen, kann aber auch auf Suspensionen angewandt werden, solange das Produkt aus Extinktionskoeffizient, Biomassekonzentration und Schichtdicke im Exponent der Exponentialfunktion nicht zu groß ist.

Luo und Al-Dahhan (2004) erweiterten das Lambert-Beersche Modell um einen Term, der die Absorption der, die Biomasse umgebenden, Lösung berücksichtigt. Die Gesamtabsorption wird dabei als eine Überlagerung der Absorption der suspendierten Biomasse und der Absorption der Lösung betrachtet. Der Parameter  $k_w$  entspricht dabei dem Produkt aus der Konzentration des gelösten absorbierenden Stoffes und seinem Extinktionskoeffizienten. Béchet et al. (2013) erwei-

terten das Lambert-Beersche Gesetz auch um einen Term, der den Einfluss der Lichtstreuung in Suspensionen berücksichtigt. Je höher die Biomassekonzentration ist, umso größer ist der Effekt der Streuung. Für kleine Biomassekonzentrationen geht dieses Modell in das Lambert-Beersche Modell über.

Ein hyperbolisches Absorptionsmodell wurde von Reynolds und Pacala (1993) zur Beschreibung der Selbstbeschattung bei Pflanzen entwickelt. Dieses Modell zeigt, verglichen mit dem Lambert-Beerschen Modell, eine geringere Intensitätsabnahme mit der Eindringtiefe. Die Autoren postulieren eine bessere Handhabbarkeit dieses Modells im Vergleich zum Lambert-Beerschen Modell, was jedoch nicht nachvollziehbar ist.

Abbildung 5 dient dem Vergleich der erörterten Absorptionsmodelle. Die zur Berechnung der Modellkurven verwendeten Parameter sind in Tabelle 5 aufgelistet. Es wurde bei der Kalkulation mit einheitlichen Modellparametern gearbeitet und für *A. platensis* ein üblicher Extinktionskoeffizient genutzt, um realistische Ergebnisse zu erhalten. Die von der Schichtdicke abhängige relative Lichtintensität ( $I_d/I_0$ ) wurde für zwei verschiedene Biomassekonzentrationen (0,2 und 2 g L<sup>-1</sup>) berechnet, um den Einfluss dieses Prozessparameters auf die Absorption zu demonstrieren. Eine Biomassekonzentration von nur 2 g L<sup>-1</sup> (Abbildung 5B) führt bereits zu einer starken Absorption des Lichts, so dass schon nach 2 cm Eindringtiefe nur noch eine geringe Lichtintensität vorhanden ist.

Das Modell von Luo und Al-Dahhan (2004), das die zusätzliche Absorption des Lichts in gefärbten Medien beachtet, liefert eine Modellkurve, die unterhalb des Lambert-Beer-Modells liegt. Das Modell von Béchet et al. (2013), das die Lichtstreuung in der Suspension berücksichtigt, beschreibt dagegen eine Modellkurve, die über der Kurve nach Lambert-Beer liegt. Das Maß der Abweichung hängt stark von der Biomassekonzentration ab. Das Modell von Reynolds und Pacala (1993) zeigt einen anderen Verlauf als das Modell nach Lambert-Beer, wobei ersteres bei Verwendung gleicher Modellparameter eine geringere Absorption liefert.

Es hängt vom Untersuchungssystem ab, welches dieser Modelle nutzbar ist. Konkret muss die Absorption einer realen Suspension mit dem Photometer gemessen werden. Allerdings ergibt sich hierbei das Problem, dass Photometer heute üblicherweise eine feste Schichtdicke von  $d = 1$  cm aufweisen. Bei höheren Biomassekonzentrationen muss dieser Parameter bei der photometrischen Messung ebenfalls variiert werden, um den Effekt gefärbter Medien und der Lichtstreuung zu berücksichtigen. Die bisher besprochenen Modelle behandeln nur die Absorption des Lichts, welches sich eindimensional ausbreitet. In vielen Photobioreaktoren breitet es sich dagegen in verschiedene Richtungen aus. Für beleuchtete Rührreaktoren wurden daher spezielle Absorptionsmodelle entwickelt (z.B. Evers 1991; Cornet et al. 1992a; Cornet et al. 1992b, Franco-Lara et al. 2006), auf die hier nicht weiter eingegangen wird.

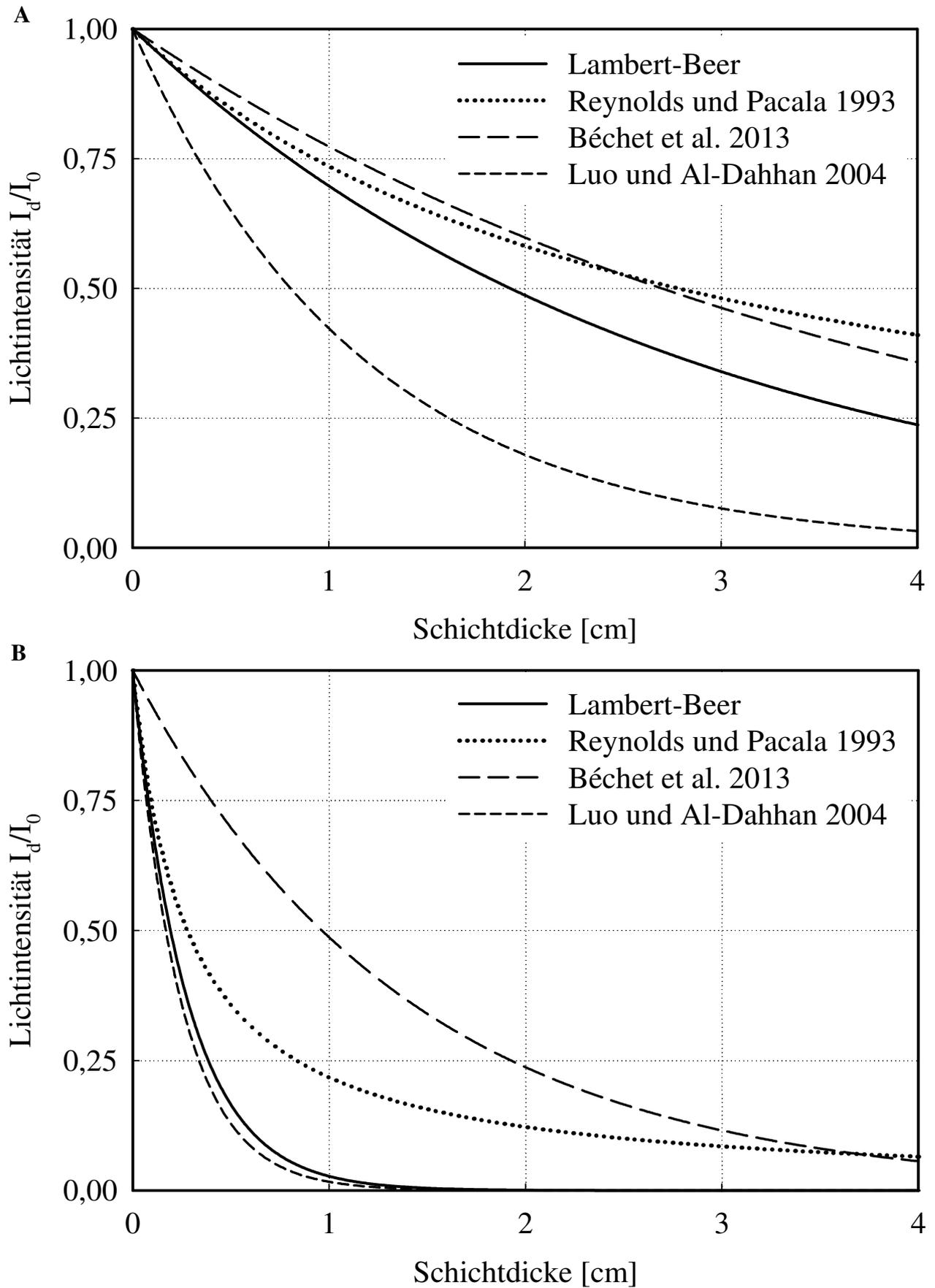
**Tabelle 4: Modelle zur Beschreibung der Absorption von Licht in Zellsuspensionen,  $I = f(d)$**

Modelle in chronologischer Reihenfolge ihrer Publikation mit der Lichtintensität in jeweiliger Schichtdicke  $I_d$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , der eintretenden Lichtintensität  $I_0$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , dem Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  in  $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ , der Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g L}^{-1}$ , der Schichtdicke  $d$  in  $\text{cm}$  in den transformierten Modellen; die Koeffizienten in den originalen Modellen wurden formal übernommen und werden deshalb nicht erläutert, ihre Substitution ist in Spalte Bemerkungen erläutert

Modell in der Originalquelle	Modell Einheitsform	Bemerkungen	Referenz
$I_d = I_0 \cdot e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot d)}$	$I_d = I_0 \cdot e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot d)}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>Standardmodell für geringes Produkt aus Konzentrationen und Schichtdicke</li> <li>Streuung bleibt unberücksichtigt</li> </ul>	Bouguer 1729; Lambert 1760; Beer 1852
$I_d = \frac{I_0}{1 + \varepsilon \cdot c_x \cdot d}$	$I_d = I_0 \cdot \frac{1}{1 + \varepsilon \cdot c_x \cdot d}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>Modell entwickelt für Pflanzenkonkurrenz um Licht und Bodennährstoffe</li> <li>Intention der hyperbolischen Form: bessere Handhabung des Modells</li> </ul>	Reynolds und Pacala 1993
$I_d = I_0 \cdot e^{-(k_w + k_x \cdot c_x) \cdot d}$	$I_d = I_0 \cdot e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot d - k_w \cdot d)}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>Erweiterung des Lambert-Beer Modells für gefärbte Medien</li> <li>Streuung bleibt unberücksichtigt</li> <li>mit <math>\varepsilon = k_x</math></li> </ul>	Luo und Al-Dahhan 2004
$I_d = I_0 \cdot e^{\left(-\frac{k_1 \cdot c_x \cdot d}{k_2 + c_x}\right)}$	$I_d = I_0 \cdot e^{\left(-\varepsilon \cdot c_x \cdot d \cdot \frac{k_u}{k_u + c_x}\right)}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>Berücksichtigung der bei höherer Partikelkonzentration auftretenden Streuung</li> <li>für kleine Konzentrationen formal äquivalent mit Bouguer-Lambert-Beer-Modell</li> <li>mit <math>\varepsilon = \frac{k_1}{k_2}</math> und <math>k_u = k_2</math></li> </ul>	Béchet et al. 2013

**Tabelle 5: Parameter für den grafischen Vergleich der Absorptionsmodelle in Abbildung 5**

Parameter	Symbol	Wert	Einheit	Referenz
Eingestrahle Intensität handelsüblicher Leuchtstoffröhren	$I_0$	150	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Eigene Messungen, Vonshak 1997
Extinktionskoeffizient für phycoyaninhaltige Biomasse	$\varepsilon$	1,8	$\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$	Boussiba und Richmond 1979, Lee et al. 1987
Typische Biomassekonzentration in Blasensäulen bei o. g. Lichtintensität	$c_x$	0,2 und 2	$\text{g L}^{-1}$	Eigene Messungen, Richmond 2004
Faktor zur Beschreibung der Absorption eines Mediums	$k_w$	0,5	$\text{cm}^{-1}$	Luo und Al-Dahhan 2004
Faktoren zur Beschreibung der Streuung eines Mediums	$k_u$	0,9	$\text{g L}^{-1}$	Béchet et al 2013



**Abbildung 5: Relative Lichtintensität in Abhängigkeit der Schichtdicke**

Darstellung ausgewählter  $I(d)$ -Modelle für eine Biomassekonzentration von  $0,2 \text{ g L}^{-1}$  (A) bzw.  $2 \text{ g L}^{-1}$  (B); Berechnung mit Modellgleichungen in Tabelle 4 und Modellparametern in Tabelle 5

### 2.3.2 Einfluss der Durchmischung

Zellsuspensionen können unterschiedlich stark durchmischt sein. Nicht durchmischte Populationen phototropher Organismen findet man z.B. in stehenden Gewässern und in offenen Kulturteichen (Open ponds). Diese Systeme erfahren aber streng genommen, über einen längeren Zeitraum betrachtet, ebenfalls eine geringfügige Durchmischung. Diese wird z.B. durch thermische Effekte, Wind und bei Kulturteichen zusätzlich durch mechanische Umwälzung bewirkt.

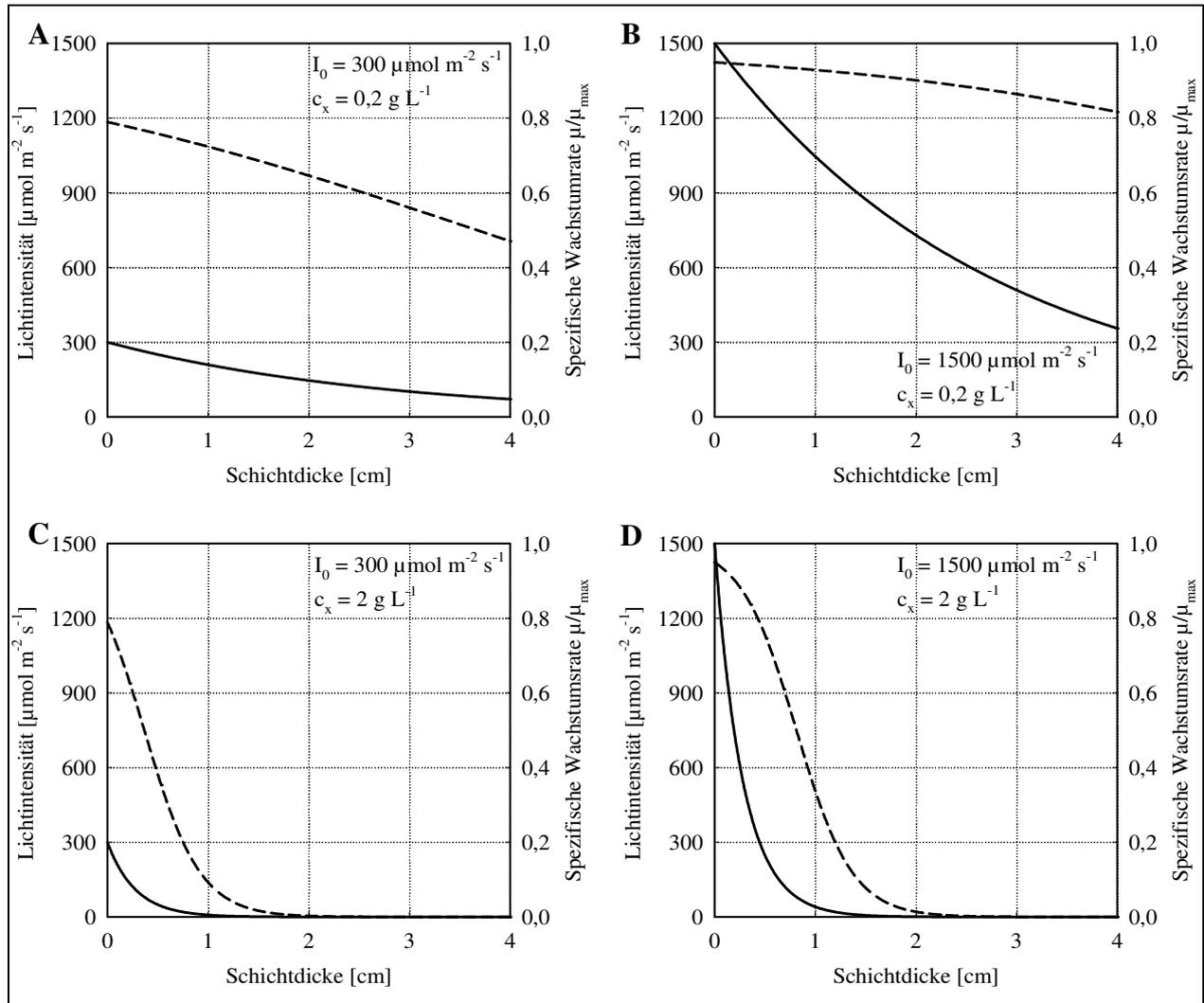
In Photobioreaktoren wird dagegen durch Energieeintrag wie Rühren oder Begasen aktiv durchmischt. Damit werden verschiedene Ziele verfolgt: erstens Homogenisieren gelöster Nährstoffe, zweitens Suspendieren um Sedimentation zu vermeiden, und drittens Phasentransfer von gebildetem Sauerstoff und benötigtem Kohlendioxid. Außerdem wird vermutet, dass die Durchmischung eine günstigere Versorgung mit Licht bewirkt (Posten 2009).

#### Nicht durchmischte Zellsuspension

Durch die Absorption des Lichts in der Suspension bildet sich ein räumlicher Gradient der Lichtintensität aus, welcher schließlich zu einer räumlich unterschiedlichen Wachstumsrate der phototrophen Organismen führt (Kapitel 2.2). In nicht durchmischten Suspensionen ändern die einzelnen Individuen ihren Aufenthaltsort nicht und sind somit stets der gleichen Lichtintensität ausgesetzt und zeigen eine dieser Intensität entsprechenden Wachstumsrate.

Mit zunehmender Eindringtiefe des Lichts nimmt die Lichtintensität ab, wodurch sich auch die Wachstumsrate verringert. Ist die Lichtintensität bis zum Kompensationspunkt reduziert, reicht das Licht gerade aus, um den Erhaltungsstoffwechsel zu gewährleisten. Daran schließt sich die Dunkelzone an, in der die phototrophen Organismen nicht mehr wachsen, sondern nur noch Erhaltungsstoffwechsel durch Respiration auf Basis von Speicherstoffen betreiben. Bei langfristigem Aufenthalt in dieser Dunkelzone kann es auch zur Lyse kommen, wobei negative Wachstumsraten beobachtet werden (Lee und Pirt 1981).

Die Ausdehnung der beschriebenen Bereiche wird stark von den konkreten Gegebenheiten des Systems bestimmt. Sowohl die Lichtabsorption als auch die Kinetik des lichtabhängigen Wachstums haben einen Einfluss. Von besonderer Bedeutung sind dabei die eingestrahlte Lichtintensität und die Biomassekonzentration. Je nach Intensität des eingestrahlten Lichts und der vorliegenden Biomassekonzentration bilden sich unterschiedliche  $I(d)$ - und  $\mu(d)$ -Profile aus (Abbildung 6). Es werden vier Szenarien dargestellt, wobei die Verhältnisse jeweils für zwei verschiedene Biomassekonzentrationen ( $0,2$  und  $2 \text{ g L}^{-1}$ ) sowie für eine niedrige und eine hohe eingestrahlte Lichtintensität ( $300$  bzw.  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) berechnet wurden. Bei stark bedecktem Himmel bzw. an einem sommerlichen Tag in Mitteleuropa treten diese Lichtintensitäten von  $300$  bzw.  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  auf (Burgess 2009).



**Abbildung 6: Lichtintensität und Wachstumsrate in Abhängigkeit der Schichtdicke**

Profile der Lichtintensität (schwarze Linie) und der relativen spezifischen Wachstumsrate  $\mu/\mu_{\max}$  (Strichlinie) in Abhängigkeit der Schichtdicke in nicht durchmischten Systemen bei verschiedenen Biomassekonzentrationen ( $c_x = 0,2$  bzw.  $2 \text{ g L}^{-1}$ ) und der eingestrahlt Lichtintensität ( $I_0 = 300$  bzw.  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); Berechnungen der Absorption nach dem Modell von Lambert-Beer mit einem Extinktionskoeffizienten  $\epsilon = 1,8 \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  und Wachstumskinetik nach Baly (1935) mit  $K_{SI} = 80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Die Lichtintensität vermindert sich bei hohen Biomassekonzentrationen, wie sie in Produktionsprozessen angestrebt werden, mit zunehmender Schichtdicke sehr stark und die Wachstumsrate fällt deshalb ebenfalls rasch ab (Abbildung 6C, D). Eine fünffach höhere Lichtintensität führt nicht zu einer entsprechenden Steigerung der Wachstumsrate. Diese Beispielrechnung macht die bei der Maßstabsvergrößerung von Photobioreaktoren auftretenden Probleme deutlich.

Die Lichtintensität und die Wachstumsrate fallen bei geringeren Biomassekonzentration mit zunehmender Eindringtiefe des Lichts nicht so stark ab (Abbildung 6A, B). Gänzlich vermeiden lässt sich ein Intensitätsverlust über die Schichtdicke jedoch nie, sobald Licht auf suspendierte Partikel trifft.

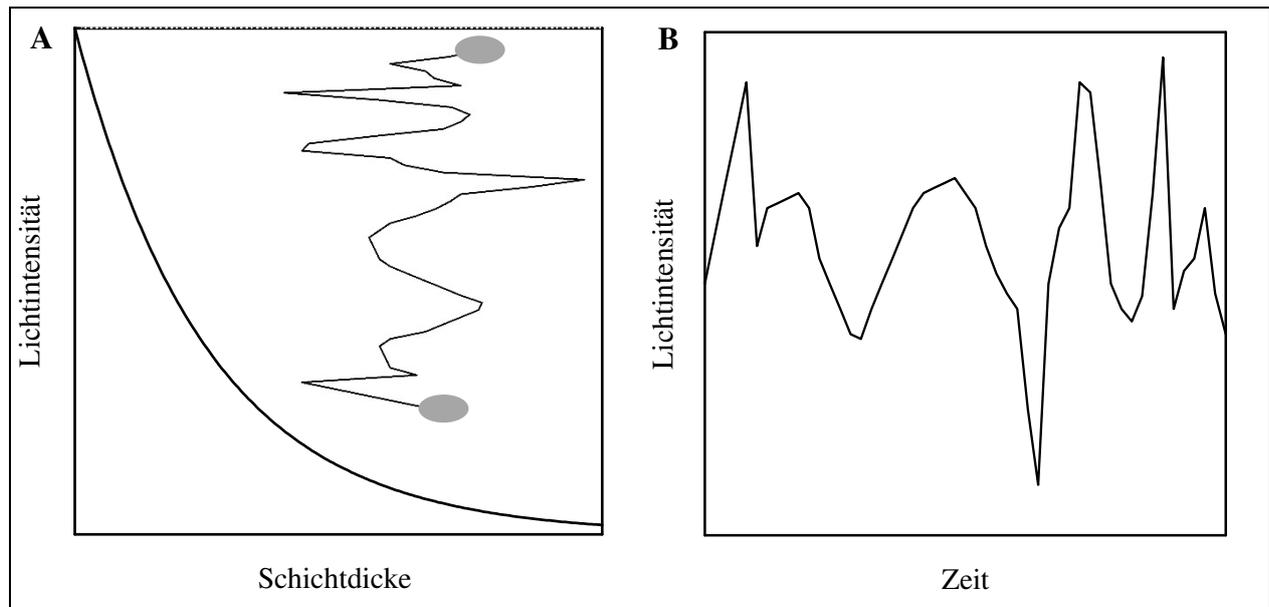
Für wachstumskinetische Untersuchungen sollte ein möglichst homogenes Lichtprofil angestrebt werden. Geringe Biomassekonzentrationen und geringe Schichtdicken im System minimieren damit den Unterschied zwischen eingestrahelter und wirksamer Lichtintensität.

Ein weiterer, in Abbildung 6 vernachlässigter Sachverhalt besteht darin, dass hohe Lichtintensitäten zu einer Photoinhibition des Wachstums führen (Kapitel 2.2). Dies gilt es bei der Wahl der eingestrahelten Lichtintensität zu beachten. Es ist also nicht ohne weiteres möglich, eine intensive Lichtschwächung durch Absorption mittels extrem höherer eingestrahelter Lichtintensität zu kompensieren. Die Wachstumsrate würde sich bei  $I_0$ -Werten, welche im Bereich der Photoinhibition liegen, mit zunehmender Schichtdicke zuerst erhöhen und nach Erreichen eines Maximalwerts wieder verringern. Dadurch wird ebenfalls keine Erhöhung der mittleren Wachstumsrate erreicht.

### Durchmischte Zellsuspension

Das vorherige Kapitel beschreibt die Verteilung der Energiequelle Licht in phototrophen Kulturen jedoch nur sehr stark vereinfacht. In realen Systemen gestalten sich die Verhältnisse komplizierter. Selbst in stehenden Gewässern existiert, wie oben bereits angesprochen, eine gewisse Durchmischung, die auf den Energieeintrag durch Wind und auf thermische Effekte zurückzuführen sind. Diese Durchmischung führt zu einem Transport von Organismen und somit zu einer wechselnder Beleuchtung bezogen auf das Individuum. In technischen Systemen zur Kultivierung phototropher Organismen wird ebenfalls aktiv Energie eingetragen, um eine Durchmischung zu erreichen. Üblicherweise herrschen turbulente Strömungsbedingungen, wodurch die phototrophen Organismen zufällig ihre Position im Lichtgradienten ändern (Abbildung 7A). Die phototrophen Organismen sind einem zufälligem Muster der Lichtintensität über der Zeit, einer s.g. intermittierenden Beleuchtung, ausgesetzt (Abbildung 7B). Die Geschwindigkeit der Änderung der Lichtintensität hängt von der Turbulenz im System ab und liegt im Bereich von Sekunden und Millisekunden (Luo und Al-Dahhan 2004). Untersucht und simuliert werden diese zeitlichen Wechsel der Lichtintensität z.B. mittels „Computer Automated Radioactive Particle Tracking“ (Bitog et al. 2011) bzw. „Computational Fluid Dynamics“ (CFD, Kapitel 2.5).

Die phototrophen Organismen sind aufgrund der Durchmischung ständig unterschiedlichen Lichtintensitäten ausgesetzt. Dadurch schwankt auch die Photosyntheserate zeitlich, was sich schließlich auch auf die spezifische Wachstumsrate auswirkt (Kapitel 2.2). Die beschriebene Durchmischung muss bei der Kultivierung in Photobioreaktoren als gegeben akzeptiert werden, es kann jedoch durch die Intensität der Durchmischung Einfluss auf die Frequenz der Änderungen genommen werden.



**Abbildung 7: Phototropher Organismus und Lichtintensität im durchmischten System**

Bewegung eines phototrophen Organismus im Lichtgradienten bei eindimensionaler Betrachtung (A); Verlauf der Lichtintensität, dem dieser Organismus über der Zeit ausgesetzt ist (B) nach Luo und Al-Dahhan (2004)

Es wird allgemein angenommen, dass eine Mindestdauer der Beleuchtung notwendig ist, damit der Photosyntheseapparat funktionieren kann. Diese Mindestdauer wird im Bereich weniger Millisekunden vermutet (Falkowski und Raven 1997). Bei zu kurzen Hellphasen und bei einer Lichtintensität unterhalb des Kompensationspunktes kommt es nicht zum Anregungszustand und somit auch nicht zur Photosynthese (Luo und Al-Dahhan 2004).

Die Kenntnis über das Verhalten von phototrophen Organismen bei schwankender Lichtintensität ist somit von großer praktischer Bedeutung für die Konstruktion und den Betrieb von Photobioreaktoren. Deshalb war das Verhalten phototropher Organismen bei intermittierender Beleuchtung wiederholt Gegenstand experimenteller Untersuchungen in der Literatur.

### 2.3.3 Intermittierende Beleuchtung

In natürlichen Ökosystemen wechselt die Lichtintensität durch den Tag-Nacht-Rhythmus. Aber auch in Photobioreaktoren kommt es, wie oben bereits beschrieben, aufgrund der Durchmischung der Zellsuspension zu einer stetig schwankenden Lichtintensität, bezogenen auf das einzelne Individuum. Die Konsequenzen dieser Intensitätsschwankungen für die Photosynthese und das photoautotrophe Wachstum sind noch nicht erschöpfend geklärt. Die in Photobioreaktoren mit durchmischter Suspension herrschenden Lichtverhältnisse lassen sich durch Kultivierung unter intermittierender Beleuchtung simulieren (Rubio et al. 2003).

Experimente mit intermittierender Beleuchtung sind in der Literatur zahlreich beschrieben (Tabelle 6), obwohl die Intention dieser Versuche oft der Nachweis der Existenz des sogenannten „flashing light effect“ war. Unter dem „flashing light effect“ versteht man eine

Steigerung der Photosynthese- und Wachstumsrate durch gepulste Beleuchtung im Vergleich zur Photosynthese und Wachstum bei kontinuierlicher Beleuchtung (Rubio et al. 2003; Nedbal et al. 1996; Phillips und Myers 1954). Die gepulste Beleuchtung erfolgt entweder diskret in Form eines Rechtecksignals (Park et al. 2000; Merchuk et al. 1998) oder kontinuierlich ändernd z.B. in Form von sigmoidalen Schwingungen (Brindley et al. 2011; Phillips und Myers 1954). Für einen realistischen Vergleich ist es wichtig, dass die mittlere Lichtintensität des intermittierenden Lichts mit der kontinuierlichen Lichtintensität übereinstimmt (Park et al. 2000).

Damit phototrophe Organismen effektiv Photosynthese betreiben können, ist eine permanente Beleuchtung offensichtlich nicht erforderlich. Das ist damit zu erklären, dass das photosynthetische Wachstum eine Kaskade einzelner Reaktionen ist, die mit der Lichtreaktion beginnt und mit der Synthese von Makromolekülen endet. Während der erste Schritt sehr schnell und effizient ist, erfolgt die Synthese der Makromoleküle langsam und ist damit der geschwindigkeitsbestimmende Schritt des phototrophen Wachstums (Wilhelm 2014). Chmiel (2006) und Béchet et al. (2013) nennen für die Frequenz des intermittierenden Lichts eine Obergrenze von 10 Hz, damit der „flashing light effect“ wirksam werden kann, weil die Photosynthesereaktion sonst nicht folgen kann. Der Photosyntheseapparat benötigt ca. 100 ms, um die Lichtquanten in chemische Energie umzuwandeln (Luo und Al-Dahhan 2004; Grobbelaar et al. 1992).

In Kulturen mit höherer Biomassekonzentration wird angenommen, dass der „flashing light effect“ folgendermaßen für ein höheres Wachstum der Gesamtpopulation von Nutzen sein kann. Die Zellsuspension wird hochfrequenten Hell-Dunkel-Zyklen mit gesteigerter Lichtintensität während des Hellzyklus ausgesetzt, dabei dringen die Photonen tiefer in die Zellsuspension ein und ein größeres Volumen wird dadurch beleuchtet (Posten 2009). Durch die nachgeschalteten Dunkelphasen wird eine Schädigung der Zellen durch Inhibition vermieden, da über den Hell-Dunkel-Zyklus gemittelt eine mittlere Lichtintensität im Bereich der Sättigung herrscht. Die Wachstumszone wird dadurch vergrößert und die Selbstbeschattung scheinbar verringert, woraus höhere Wachstumsraten resultieren sollen (Park et al. 2000; Terry 1986). Es wurde sogar ein spezieller Photobioreaktor zur Nutzung des „flashing light effect“ entwickelt (Degen et al. 2001).

**Tabelle 6: Untersuchungen zur intermittierenden Beleuchtung in Photobioreaktoren**

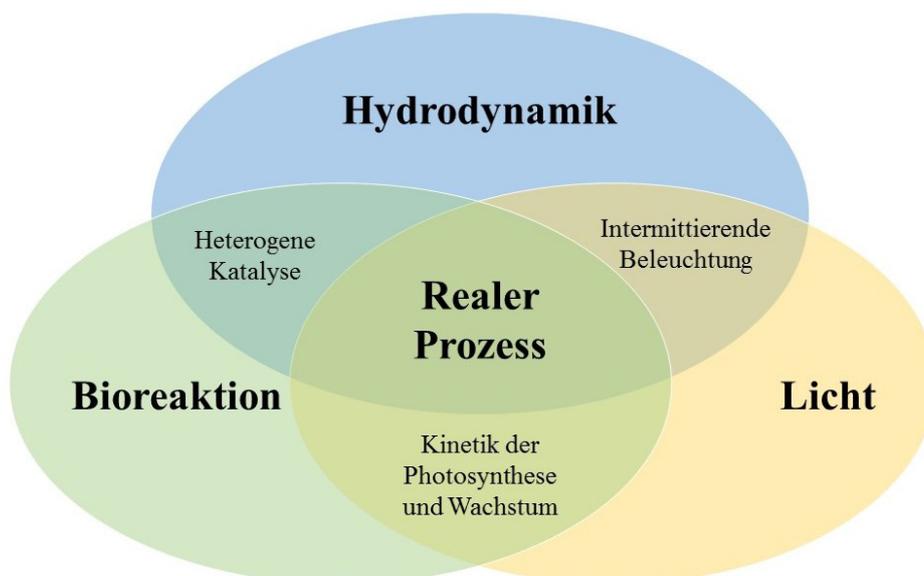
Modelle in chronologischer Reihenfolge ihrer Publikation mit Frequenz der Hell-Dunkel-Zyklen (H/D) in Hz, unterschiedlich eingesetzten Kultivierungssystemen, Lichtquellen, Lichtintensitäten  $I_0$  und Organismen und Beobachtungen hinsichtlich Wachstumrate  $\mu$  bzw. Photosyntheserate P

Frequenz Hz	Kultivierungssystem Volumen, Maße	Lichtquelle Lichtintensität $I_0$ in $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	Untersucher Organismus, Beobachtung hinsichtlich Wachstumsrate $\mu$ bzw. Photosyntheserate P	Referenz
1,5 - 144	Nicht angegeben	Leuchtstoff Nicht angegeben	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Chlorella pyrenoidosa</i></li> <li>▪ positive Auswirkung auf <math>\mu</math>, Ausbildung s.g. Dunkel- und Lichtzellen</li> </ul>	Phillips und Myers 1954
0,025	Rohrreaktor 280 mL, $\phi = 7$ mm, L = 250 mm	Leuchtstoff 50	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Chlorella vulgaris</i></li> <li>▪ positive Auswirkung auf <math>\mu</math>, <math>\mu</math> sank stark für Reynolds-Zahlen &lt; 1000</li> </ul>	Lee und Pirt 1981
0,25 - 7,7	Chemostat, Hell/Dunkel- Experimente in 1 mL	Leuchtstoff 250	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Phaeodactylum tricornutum</i></li> <li>▪ positive Auswirkung auf P bei H/D &lt; 1 Hz, Sättigung bei 0,76 Hz</li> </ul>	Terry 1986
0,004 - 0,3	Nicht angegeben	Nicht angegeben	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Chlorella pyrenoidosa</i></li> <li>▪ keine Auswirkung auf <math>\mu</math></li> </ul>	Grobelaar et al. 1992
0,1 - 10.000	Blasensäule 30 mL, $\phi = 18$ mm, L = 120 mm	LED (rot) 500 - 4000	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Chlorella vulgaris</i>, <i>Scenedesmus quadricauda</i>, <i>Synechococcus elongatus</i></li> <li>▪ negative bis keine Auswirkung auf P</li> </ul>	Nedbal et al. 1996
0,00027	Röhrchen 6 mL	Gühh Lampe 10 - 180	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Aureococcus anophagefferens</i></li> <li>▪ keine Auswirkung auf <math>\mu</math>, erhöhte Kohlendioxid-Fixierung</li> </ul>	Milligan und Cospet 1997
0,009 - 0,037	Rohrreaktor 430 mL, $\phi = 7$ mm	Leuchtstoff 150 - 300	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Porphyridium</i> sp.</li> <li>▪ keine Auswirkung auf <math>\mu</math></li> </ul>	Merchuk et al. 1998
0,0044 - 0,60	Nicht angegeben	Nicht angegeben	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Spirulina platensis</i></li> <li>▪ positive Auswirkung auf Sauerstoffproduktionsrate mit steigender Frequenz</li> </ul>	Ohira et al. 2000
20.000 - 50.000	Nicht angegeben.	LED (rot) Nicht angegeben	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Chlorella kessleri</i></li> <li>▪ positive Auswirkung auf Sauerstoffproduktionsrate um 5 - 25 %</li> </ul>	Park et al. 2000
25 - 200	Flat-Panel-Reaktor 55 mL, $65 \times 50 \times 26$ mm <sup>3</sup>	LED (blau) 2 - 12	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Haematococcus pluvialis</i></li> <li>▪ Astaxanthin-Bildung höher</li> </ul>	Katsuda et al. 2006
0,1 - 50	Flat-Panel-Reaktor 200 mL, $100 \times 100 \times 20$ mm <sup>3</sup>	LED 678 - 2021	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Scenedesmus almeriensis</i></li> <li>▪ positive Auswirkung auf P bei 1 - 50 Hz</li> </ul>	Brindley et al. 2011
5 - 100	Flat-Panel-Reaktor 60 mL, $80 \times 80 \times 10$ mm <sup>3</sup>	LED 1000	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Chlamydomonas reinhardtii</i></li> <li>▪ positive Auswirkung auf Biomasseausbeute, volle Lichtintegration bei 100 Hz</li> </ul>	Vejrazka et al. 2011
0,01 - 20	Flat-Panel-Reaktor 360 mL, $10 \times 195 \times 25$ mm <sup>3</sup>	LED 300	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Spirulina platensis</i></li> <li>▪ positive Auswirkung auf <math>\mu</math> und Lichtverwertungseffizienz</li> </ul>	Xue et al. 2011
0,1	Schüttelkolben 120 mL	LED (blau, weiß, rot) 5 - 530	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ <i>Physcomitrella patens</i></li> <li>▪ positive Auswirkung auf <math>\mu</math> mit blauen LED-H/D-Zyklen bei kontinuierlicher Rotlichtbestrahlung</li> </ul>	Cerff und Posten 2012

Die experimentellen Befunde sind jedoch widersprüchlich. Einige Autoren publizierten eine positive Wirkung des intermittierenden Lichts auf das Wachstum (Cerff und Posten 2012; Xue et al. 2011; Brindley et al. 2011; Vejrazka et al. 2011; Roselló Sastre 2009; Ohira et al. 2000; Park et al. 2000; Terry 1986; Lee und Pirt 1981; Phillips und Myers 1954), während andere keine oder negative Auswirkungen beschrieben (Katsuda et al. 2006; Merchuk et al. 1998; Milligan und Coper 1997; Nedbal et al. 1996; Grobbelaar et al. 1992). Die unterschiedliche Wirkung der intermittierenden Beleuchtung ist sicherlich auch auf die Verwendung sehr verschiedenartiger Organismen und Kultivierungssysteme, verschiedener Lichtquellen und auf unterschiedliche Biomassekonzentrationen zurückzuführen (Tabelle 6). Zum Teil liegt es wahrscheinlich auch an ungünstig gewählter Lichtintensität und insbesondere unpassender Frequenz der Hell-Dunkel-Zyklen.

## 2.4 Photobioreaktoren als beleuchtete Kultivierungssysteme

Die Kultivierung von phototrophen Organismen in Photobioreaktoren (PBR) stellt ein äußerst komplexes System aus der Energiequelle Licht, dem Stoffwechsel der Organismen sowie der Hydrodynamik des Reaktors dar (Luo und Al-Dahhan 2004; Nedbal et al. 1996) (Abbildung 8). Die Verfügbarkeit des Lichts für einzelne Individuen der Zellpopulation (Kapitel 2.3) ist von der Hydrodynamik des Reaktors abhängig, wobei diese von der Geometrie und Prozessführung des PBR abhängt (Posten 2009). Die Photosyntheseaktivität und das Wachstum sind wiederum von der Verfügbarkeit des Lichts bestimmt (Kapitel 2.2).



**Abbildung 8: Überlagerung von Teilprozessen im Photobioreaktor nach Posten (2009)**

Die wichtigste Funktion eines PBR ist die Bereitstellung der Energiequelle Licht für die Photosynthese neben den oben bereits genannten üblichen Anforderungen Homogenisieren (Nähr-

stoffe, Temperatur), Suspendieren (Biomasse) und Dispergieren (Zu- bzw. Abfuhr von Kohlendioxid und Sauerstoff) (Eriksen 2008b). Generell ist es schwierig, die verschiedenen an die PBR gestellten Anforderungen gleichzeitig zu erfüllen. Der ideale PBR existiert folglich nicht, was vielleicht die Entwicklung der Vielzahl an verschiedenen Kultivierungssystemen erklärt.

### Kommerzielle Photobioreaktorsysteme

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung eines PBR, der sich für reaktionskinetische Untersuchungen eignet. Es wurde zunächst recherchiert, welche PBR kommerziell verfügbar sind. Die Palette an erhältlichen PBR-Laborsystemen reicht von herkömmlichen Schüttelkolben und Rührkesseln mit interner oder externer Beleuchtung über Rohrreaktoren, Blasensäulen und Airlift-Reaktoren, Flat-Panel-Reaktoren, bis hin zu Einweg-Wave-Bag-Systemen. Die PBR bestehen oft aus Glas oder Kunststoff und es werden verschiedenste Lichtquellen wie LED oder Leuchtstoffröhren eingesetzt, einige Beispiele sind in Abbildung 9 dargestellt.

Schüttelkolben	Rührreaktor	Rohrreaktor
 <p data-bbox="186 1406 293 1429">Bildquelle 1</p>	 <p data-bbox="555 1406 662 1429">Bildquelle 2</p>	 <p data-bbox="1010 1406 1117 1429">Bildquelle 3</p>
Blasensäule	Flat-Panel-Reaktor	Wave-Bag
 <p data-bbox="186 1906 293 1928">Bildquelle 4</p>	 <p data-bbox="555 1906 662 1928">Bildquelle 5</p>	 <p data-bbox="1010 1906 1117 1928">Bildquelle 6</p>

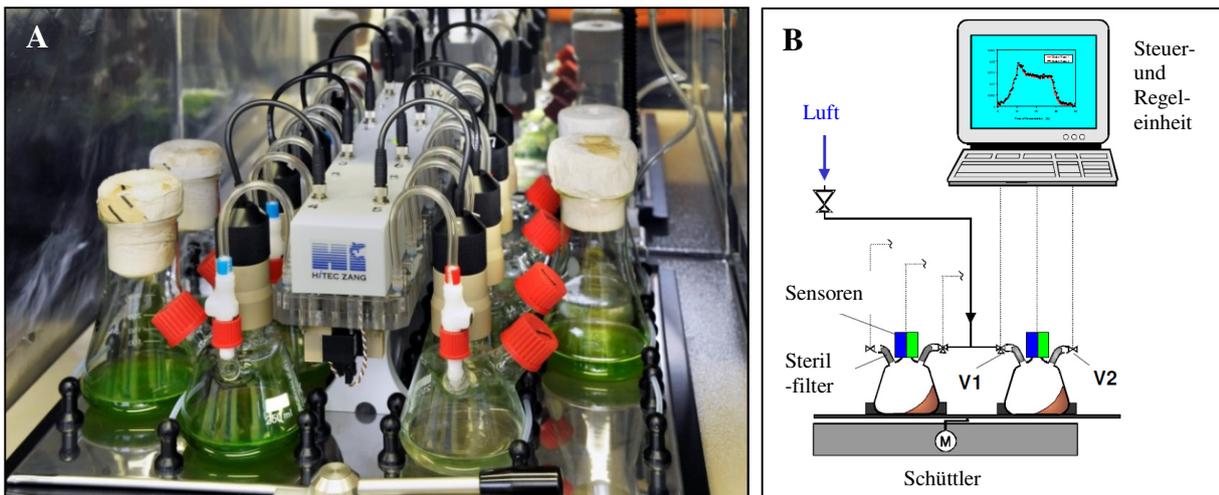
**Abbildung 9: Grundformen von Photobioreaktoren für Laborexperimente**

Photobioreaktorsysteme im Labormaßstab und Beispiele für Hersteller sind u.a.:

- Schüttelinkubatorsysteme: Infors HT, Bottmingen, Schweiz (Leuchtstoffröhren); Adolf Kühner AG, Birsfelden, Schweiz (LED); Sartorius AG, Göttingen, Deutschland (LED); Eppendorf, Hamburg, Deutschland (Leuchtstoffröhren)
- Rührreaktoren: Labfors 5 Lux, Infors HT, Bottmingen, Schweiz (LED)
- Rohrreaktoren: xCUBIO, bbi biotech, Berlin, Deutschland (LED)
- Blasensäulen: MS Photo 15, Molsurf, Dresden, Deutschland (Leuchtstoffröhren)
- Flat-Panel-Reaktoren: Labfors 5 Lux LED, Infors HT, Bottmingen, Schweiz (LED)
- Wave-Bag-Reaktoren: Applikon PhotoBioSU, Applikon, Delft, Niederlande (LED)

Alle Systeme weisen, wie oben bereits angedeutet, verschiedene Vor- und Nachteile auf, welche im Ergebnisteil (Kapitel 5.2) ausführlich dargestellt und diskutiert werden.

Beleuchtete Schüttelinkubatoren erlauben eine relativ einfache Kultivierung von phototrophen Organismen, verfügen jedoch über keinerlei weitere Sensorik und unvorteilhafte Beleuchtungsmöglichkeiten (Winkler et al. 2014). Das Schüttelinkubatorsystem Respiration Activity Monitoring System<sup>®</sup> (RAMOS, Hi Tec Zang GmbH, Herzogenrath, Deutschland, Abbildung 10A) ermöglicht dagegen eine online-Messung, indem die Gaszusammensetzung im Kopfraum von acht Kolben parallel analysiert wird (Anderlei und Büchs 2001) (Abbildung 10B). Es ist deshalb für reaktionskinetische Laboruntersuchungen von Interesse; allerdings ist dieses System noch nicht kommerziell mit Beleuchtung verfügbar.



**Abbildung 10: Respiration Activity Monitoring System (RAMOS)**

Innenansicht des Schüttelinkubators (Foto: TU Dresden) (A); schematischer Aufbau des RAMOS mit Messkolben mit angeschlossenen Sensoren für Gesamtdruck und Sauerstoffpartialdruck (grün bzw. blau), Zu- (V1) und Abluftstutzen (V2) (Hi Tec Zang GmbH 2014) (B)

### Konzepte in der Literatur

Neben den kommerziell erhältlichen Photobioreaktoren finden sich in der Literatur viele Eigenentwicklungen für die Kultivierung phototropher Organismen. Es kann in extern beleuchteten (von oben, unten und innen) Schüttelkolben (Cerff und Posten 2012; Cerff et al. 2009; Wang et al. 2007; Rechmann et al. 2007), Blasensäulen (Nedbal et al. 1996), Rührkesselreaktoren (Krujatz et al. 2015; Chen und Zhang 1997), Flat-Panel-Reaktoren (Xue et al. 2011; Tamiya et al. 1953) oder Rohrreaktoren (Merchuk et al. 1998) unterschieden werden. Auch neuartige Konzepte mit interner Beleuchtung durch z.B. drahtlose LED-Kugeln wurden entwickelt (Heining und Buchholz 2015).

Die Grundkonstruktion, die verwendete Lichtquelle, die Prozessführung und verwendete Sensorik orientierte sich dabei stark an den konkreten Versuchszielen der einzelnen Forscher. Oft wurden Schüttelkolben und kommerziell erhältliche Laborreaktoren einfach mit externen Beleuchtungseinheiten aus LED oder Leuchtstoffröhren ausgestattet (Cerff und Posten 2012; Cerff et al. 2009; Zhang et al. 1998; Chen und Zhang 1997). Teils wurden die Reaktionsgefäße selbst entwickelt, um das Licht optimal in den Reaktionsraum einzubringen (Xue et al. 2011; Qiang et al. 1998; Qiang und Richmond 1996; Tamiya et al. 1953). Für Experimente mit intermittierender Beleuchtung wurden z.B. Flat-Panel-Reaktoren mit rotierenden Lochscheiben (Xue et al. 2011) oder Rohrreaktoren mit Abdeckung von Teilsegmenten (Merchuk et al. 1998) aufgebaut.

Inwieweit sich die kommerziellen Laborphotobioreaktoren und die Eigenentwicklungen aus der Literatur für kinetische Untersuchungen des Wachstums phototropher Organismen eignen, wird in Kapitel 5.2 diskutiert.

## **2.5 Numerische Strömungssimulation**

Die numerische Strömungssimulation (Computational Fluid Dynamics, CFD) ist ein Hilfsmittel zur Analyse von Strömungen von Fluiden innerhalb technischer Systeme wie Bioreaktoren und soll deshalb auch in dieser Arbeit zum Einsatz kommen. Strömungen werden durch die Erhaltungssätze für Masse, Energie und Impuls beschrieben, welche mathematisch als partielle, nichtlineare Differentialgleichungen dargestellt werden. Diese werden dann mit Hilfe numerischer Methoden gelöst (Schwarze 2013). Übliche Programme zur CFD-Simulation sind ANSYS oder COMSOL Multiphysics (Werner et al. 2014).

Grundlegend wird für eine CFD-Simulation eines Reaktionsraumes wie folgt vorgegangen:

- 1) Geometrieanalyse und Erstellung eines räumlichen Modells des zu untersuchenden Reaktionsraumes, oft direkt aus Konstruktionsdateien (CAD)

- 2) Erstellung des Rechengitters zur Angabe der bzgl. der Strömung zu untersuchenden Punkte innerhalb dieser Geometrie (bestimmt von Stabilitätsforderungen des genutzten numerischen Lösungsverfahrens, von den rechentechnischen Möglichkeiten und der gewünschten Präzision)
- 3) Aufstellung des mathematischen Modells für die Beschreibung der Strömung (strömungsphysikalische Grundgleichungen gekoppelt an die rheologischen Eigenschaften des vorliegenden Fluids, Modellerweiterungen z.B. für Turbulenz und Mehrphasensysteme (Oertel et al. 2011))
- 4) Eingabe der Stoffparameter für das Fluid (z.B. Dichte, Viskosität)
- 5) Festlegung der Rand- und Simulationsbedingungen (z.B. Volumenströme in durchströmten Systemen)
- 6) Lösung der Gleichungen für die mit dem Rechengitter festgelegten Punkte durch numerische Diskretisierung (Differenziale werden zu Differenzen)
- 7) Verifikation des Modells (Suche nach Implementierungsfehlern und Abschätzung numerischer Präzision)
- 8) Validierung des Modells durch Vergleich der Simulationsergebnisse mit experimentellen Resultaten

Bei Abweichungen zwischen der Modellsimulation und den gemessenen Resultaten müssen ausgewählte Schritte in veränderter Weise wiederholt werden.

Die CFD für unbeleuchtete Reaktorsysteme (meist Betrachtung von Zweiphasensystemen aus Luft und Wasser, wenige Betrachtungen zu Dreiphasensystemen mit Partikeln in Form von Biomasse) ist besonders für Blasensäulen bereits sehr gut etabliert (Ziegenhein et al. 2013; Wu 2013; Bitog et al. 2011). Der Gasgehalt und die Geschwindigkeit von Gas und Flüssigkeit im Reaktionsraum können bereits räumlich und zeitlich aufgelöst gut bestimmt werden und die Simulation deckt sich mit der Realität.

Bei Photobioreaktoren muss neben der Strömung auch die räumliche Verteilung des Lichts simuliert werden. Die CFD wurde bereits genutzt, um das Design von Photobioreaktoren und die Prozessführung zu optimieren (Pruvost et al. 2008; Perner-Nochta und Posten 2007; Luo und Al-Dahhan 2004). Eine übersichtliche Darstellung zur CFD in Photobioreaktoren mit den noch nicht gelösten Problemen, die hier jedoch nicht näher erörtert werden sollen, geben z.B. Bitog et al. (2011) sowie Wu (2013).

Insgesamt betrachtet ist die CFD ein hilfreiches Tool für das Design und die Optimierung von Bioreaktoren.

### 3 Zielsetzungen

Im Mittelpunkt dieser Arbeit steht die Entwicklung eines definiert beleuchteten Kultivierungssystems zur reaktionskinetischen Untersuchung des Wachstums in Abhängigkeit der Lichtintensität.

Da eine große Vielfalt an kommerziell verfügbaren Photobioreaktoren existiert, sollen zunächst die verschiedenen Grundformen dieser Systeme miteinander verglichen und hinsichtlich der Eignung für reaktionskinetische Untersuchungen bewertet werden. Licht ist eine sehr spezielle Energiequelle, die den phototrophen Organismen zur Verfügung gestellt werden muss. Für kinetische Untersuchungen ist es wichtig, dass das Licht im Reaktionsraum homogen verteilt ist und dass die Lichtintensität variiert werden kann.

Zwei zur Verfügung stehende klassische und kommerzielle Photobioreaktoren (Schüttelkolben und Blasensäule) sollen dann mit dem Modellorganismus *A. platensis* auf ihre Eignung für wachstumskinetische Untersuchungen getestet werden.

Da bereits hier abzusehen ist, dass sich die kommerziell erhältlichen Photobioreaktoren aus verschiedenen Gründen für reaktionskinetische Untersuchungen wenig eignen, soll ein eigenes beleuchtetes Kultivierungssystem entwickelt werden, das folgende Kriterien erfüllt:

- Homogenität im Reaktionsraum hinsichtlich Biomasse und mineralischer Nährstoffe durch entsprechende Durchmischung
- Möglichkeit der kontinuierlichen Kultivierung zur Schaffung stationärer Verhältnisse, zur Verhinderung der Akkumulation von Biomasse im System und zur Gewinnung von Proben
- Austrag des gebildeten Sauerstoffs zur Verhinderung von Inhibierungseffekten
- Installation von Sensorik zur messtechnischen Verfolgung des Prozesses
- Homogenität der Lichtintensität im Reaktionsraum durch eine günstige Reaktorgeometrie und durch die Verwendung einer geeigneten Lichtquelle
- Minimierung des Effekts der Selbstbeschattung durch eine geringe Schichtdicke und Biomassekonzentration
- Möglichkeit zur Variation des eingestrahlt Lichts zur Untersuchung des Wachstums in Abhängigkeit der Lichtintensität von der Kompensation bis zur Photoinhibition
- Möglichkeit für intermittierende Beleuchtung

In Veröffentlichungen zu Experimenten in Photobioreaktoren wird häufig nur die Intensität des eingestrahlt Lichts angegeben. Die Kinetik wird aber vom Licht innerhalb des Reaktionsvolumens bestimmt. Es ist daher nötig, die Lichtintensität innerhalb des Reaktionsraumes räumlich aufgelöst zu quantifizieren. Dies bedeutet konkret, die Lichtintensität in allen verwendeten Systemen im Detail zu charakterisieren.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Mikroorganismus und Schüttelkolbenkultivierung

#### 4.1.1 Arthrospira platensis PCC 9108

Das Cyanobakterium *A. platensis* PCC 9108 (identisch mit *A. platensis* CCMP 1295) wurde von der Pasteur Culture Collection (PCC, Paris, Frankreich) erhalten. In Vorversuchen wurde dieser Stamm ausgewählt, da er sich aufgrund seines homogenen Wachstums und geringer Neigung zu Wandbewuchs als geeignet erwies.

#### 4.1.2 Zarrouk-Medium

In allen Versuchen wurde das für *Arthrospira*-Stämme empfohlene Zarrouk-Medium verwendet. Die detaillierte Zusammensetzung und Herstellung ist im Anhang 2.1 zu finden. Zur Verhinderung von Präzipitationen wurde das Medium zur Sterilisation nicht autoklaviert, sondern filtriert (Celluloseacetat-Filtermembranen mit 0,45 µm Porengröße, Sartorius, Göttingen, Deutschland). Das Medium wies einen pH-Wert von 9,6 auf und enthielt eine hohe Konzentration an Carbonat und Hydrogencarbonat, weshalb bei der Kultivierung kein Kohlendioxid zugeführt wurde.

Im Kultivierungsversuch im RAMOS mit CultiLux-Einheit unter photomixotrophen Bedingungen in Kapitel 5.5.3 wurde das hergestellte Zarrouk-Medium mit einer sterilfiltrierten Glucose-Stammlösung versetzt, so dass die finale Konzentration an Glucose 1,5 g L<sup>-1</sup> im Medium betrug.

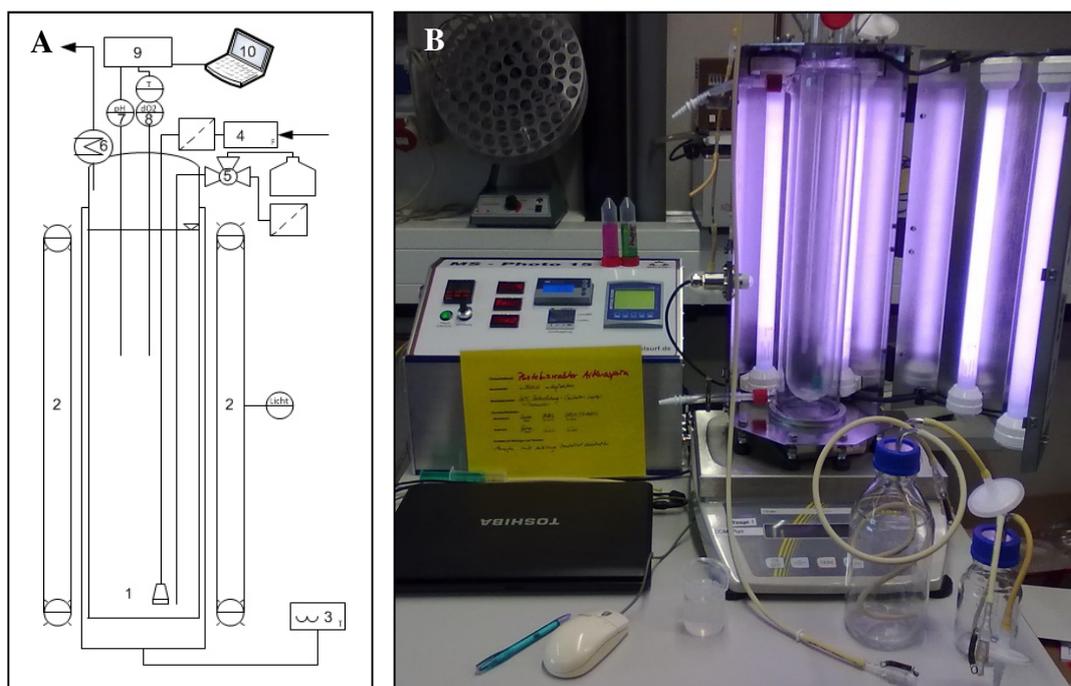
#### 4.1.3 Vorkultur und Kultivierung im kommerziellen Schüttelinkubator

Zur Bereitstellung notwendiger Biomasse zur Inokulation für die RAMOS- und Blasensäulen-Kultivierung und für die Versuche in Kapitel 5.3.1 wurde *A. platensis* PCC 9108 submers in Zarrouk-Medium im Weithalsschüttelkolben (300 mL Nominalvolumen) mit Zellstoffstopfen kultiviert. In einen autoklavierten Kolben wurden 50 mL steriles Medium und 5 mL Zellsuspension eingefüllt. Der Kolben wurde in einem beleuchteten Schüttelinkubator (Minitron mit Photosyntheseinheit und 25 mm Schütteldurchmesser, Infors HT, Bottmingen, Schweiz; Beleuchtung durch sechs Leuchtstoffröhren GroLux 15 W, Osram Sylvania, Danvers, USA) bei 110 rpm, einem Hell-Dunkel-Zyklus von 16 h/8 h und 30 °C kultiviert. Die Beleuchtungseinheit wurde durch den Hersteller im Kopfteil des Inkubatorraumes in ca. 40 cm Entfernung vom Schütteltablett angebracht. Die auf die Zellsuspension einwirkende Lichtintensität betrug durchschnittlich 21 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (detaillierte Angaben in Kapitel 5.3.1).

## 4.2 Extern beleuchtete Blasensäule

### 4.2.1 Aufbau und Funktionsweise

Es wurde eine kommerzielle Blasensäule aus Borosilikatglas mit 1,5 L Gesamtvolumen mit Controller (MS Photo 15, Umex GmbH, Dresden, Deutschland) genutzt. Die Blasensäule ist in Abbildung 11 dargestellt und deren Einzelkomponenten in Anhang 2.2 detailliert aufgelistet. Die Höhe der Blasensäule betrug 620 mm und der Innendurchmesser 65 mm. Die Temperatur wurde über einen Doppelmantel mit angeschlossenem Thermostat geregelt (Kreislaufkühler KK 4 TBE, MedingLab, Freital, Deutschland). Die Blasensäule wurde über einen Massenflussregler mit Druckluft begast. Die sterilfiltrierte Luft (Midisart PTFE Begasungsfilter, Porengröße 0,45 µm, Sartorius, Göttingen, Deutschland) strömte über eine Fritte im unteren Bereich der Blasensäule ein. Das Abgas wurde durch einen Intensivkühler aus Glas auf 10 °C mittels eines Kryostaten (DC 10 mit Kühlaggregat K10, Thermo Scientific, Waltham, USA) gekühlt, um die Verdunstung zu minimieren.



**Abbildung 11: Klassisches System Blasensäule**

Schema (A) und Foto (B) des verwendeten Blasensäulenreaktors (MS Photo 15, Umex GmbH, Dresden, Deutschland) mit 1 - Glasgefäß, 2 - Leuchtstoffröhren mit Lichtsensor, 3 - Thermostat, 4 - Massenflussregler für Begasung mit Druckluft, 5 - Dreiwegeventil für sterile Probenahme mit angeschlossenem Probegefäß und Sterilfilter, 6 - Abgaskühler, 7 - pH-Sensor, 8 - pO<sub>2</sub>-Sensor mit integriertem Temperatursensor, 9 - Controller zur Datenerfassung und -übertragung zum Computer, 10 - Computer mit Datenaufzeichnung

Verschlussen wurde die Blasensäule mit einem Deckel aus Edelstahl, welcher mit Durchführungen und entsprechenden Ports für Zu- und Abluft, Probenahme, Medienzugabe und Inokulum sowie pH- (pH-Gelelektrode AppliSens, Applikon, Foster City, USA) und pO<sub>2</sub>-Elektrode (inpro

6900 (i) Sensor, Mettler Toledo, Gießen, Deutschland) ausgestattet war. Die Temperatur während der Kultivierung wurde mittels des in der pO<sub>2</sub>-Elektrode integrierten Temperatursensors gemessen. Alle Sensorsignale wurden mit dem Controller erfasst und mittels Computer aufgezeichnet. Um Sedimentation der Biomasse zu verhindern, wurde die Blasensäule mit einem Magnetrührgerät (2mag AG, München, Deutschland) im Bodenbereich durchmischt.

#### **4.2.2 Lichtquelle**

Die Beleuchtung wurde durch vier symmetrisch um die Blasensäule angeordnete Leuchtstoffröhren realisiert (Lumoflor mit je 15 W, Osram Sylvania, Danvers, USA). Diese Lichtquelle lieferte insgesamt eine Lichtintensität von bis zu 150 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (Details in Kapitel 5.3.2) und war durch ein Potentiometer stufenlos dimmbar. Die Leuchtstoffröhren waren in einem aufklappbaren Gehäuse aus Edelstahl montiert, das gleichzeitig als Reflektor diente. Ein in diesem Lichtmantel in ca. 5 cm Entfernung von der Blasensäule befestigter Lichtsensor (S-PAR-Sensor, Mesa Systemtechnik, Konstanz, Deutschland) erfasste permanent die Lichtintensität.

#### **4.2.3 Kultivierung**

Die Blasensäule wurde mit einem Magnetrührstab und den o.g. Einbauten versehen und alle Schlauchenden der Zu- und Abluft sowie der Probenahme mit Sterilfiltern verschlossen. Die pH-Elektrode wurde vor dem Einbau kalibriert. Danach wurde die Blasensäule zur Sterilisation autoklaviert (121 °C, 20 min). Nach Abkühlung der Apparatur wurde diese mit 1,2 L sterilfiltriertem Zarrouk-Medium über o.g. Port mit Sterilkupplung befüllt. Danach wurden alle Sonden, die Be-gasung mit Druckluft (45 NL h<sup>-1</sup>, 293,1 K und 103 kPa), der Magnetrührer und die Abgaskühlung in Betrieb genommen sowie der Reaktor auf 30 °C temperiert. Das System wurde über mehrere Stunden äquilibriert, dann die pO<sub>2</sub>-Sonde kalibriert. Anschließend wurde die Datenaufzeichnung am Computer gestartet und inokuliert.

#### **4.2.4 Probenahme**

Die Probenahme erfolgte über ein Steigrohr, welches bis knapp über den Boden der Blasensäule reichte. Am oberen Ende war ein Dreiwegeport angebracht, der die sterile Probenahme ermöglichte. Die sich nach der Probenahme im Steigrohr befindliche Flüssigkeit wurde durch die über den Sterilfilter zugeführte Luft aus dem Rohr in den Reaktionsraum zurückgeführt. Bei jeder Probenahme wurden zuerst 5 mL Zellsuspension entnommen und verworfen, bevor die eigentliche Probe von 2 mL entnommen wurde. Die Proben wurden zur pH-Messung und Biomassebestimmung genutzt (Kapitel 4.5.2).

## 4.3 RAMOS mit CultiLux

### 4.3.1 Aufbau und Funktionsweise

Das Respiration Activity MONitoring System (RAMOS, Hi Tec Zang GmbH, Herzogenrath, Deutschland) dient dem Monitoring der Respiration von Organismen während ihrer Kultivierung im Schüttelkolben. Das RAMOS ermöglicht die gleichzeitige Messung der Respiration in acht Schüttelkolben, die jeweils durch einen speziellen Sensorkopf verschlossen sind (Abbildung 10). Um das RAMOS zur Messung der Sauerstoffbildung bei phototrophen Kultivierung von *A. platensis* nutzen zu können, wurde eine Beleuchtungseinheit mit dem Namen CultiLux entwickelt. Die Entwicklung der CultiLux-Einheit ist in Kapitel 5.4 detailliert beschrieben.

Bei der Kultivierung im RAMOS wechseln sich Spül- und Messphasen kontinuierlich ab. In den Spülphasen wird der Kopfraum der Kolben von Luft durchströmt, und in den Messphasen werden die Zu- und Abluftzugänge verschlossen und dann der Gesamtdruck und der Sauerstoffpartialdruck mittels der Sensorköpfe zeitabhängig gemessen. Die erfassten Messdaten dienen der Berechnung der Sauerstoff- und Kohlendioxid-Transferraten (Berechnungsgrundlagen in Kapitel 4.6.2). Bei der phototrophen Kultivierung von *A. platensis* diente die Spülphase dem Abtransport des durch die Photosynthese gebildeten Sauerstoffs und dem Rücksetzen des Gesamtdruckes auf Umgebungsbedingungen. Die zum Spülen verwendete Luft wurde bei Reaktionstemperatur mit Wasser gesättigt, um Wasserverluste und Konzentrierungseffekte durch Verdunstung in den Schüttelkolben zu vermeiden. Diese Luft wurde nicht mit Kohlendioxid angereichert, da das Kulturmedium ausreichend Carbonat enthielt. Der hohe pH-Wert des Mediums verhindert ebenfalls den Austritt von Kohlendioxid aus dem Medium.

### 4.3.2 Lichtquelle

Zur Beleuchtung des RAMOS mit der Beleuchtungseinheit CultiLux wurden je Kolben sechs warmweiße Hochleistungs-LED (CRI 90+PowerBar LED, Nichia, Tokushima, Japan) verwendet, welche in Reihe geschaltet und auf eine kreisförmige Edelstahlplatte mit Wärmeleitkleber fixiert wurden. Diese Baueinheit wird als LED-Panel bezeichnet. Die LED-Panel wurden unter die Kolben auf das Schütteltablett montiert. Jeder der 14 Schüttelkolben-Stellplätze im RAMOS wurde mit einem LED-Panel ausgestattet, wobei immer zwei LED-Panel durch eine Spannungsquelle versorgt wurden (LED-Konverter Plus V1 2 × 350 mA, Voltcraft, Wollerau, Schweiz). Durch Variation der Spannung kann Einfluss auf die Lichtintensität in den Kolben genommen werden (Schaltplan Abbildung 26B). Um die Lichtintensität weiter zu vermindern, können Scheiben aus Dimmmaterial zwischen LED-Panel und Kolben eingebracht werden. Das LED-Panel und seine Eigenschaften (Spektrum, Lichtintensität) sind im Kapitel 5.4 detailliert beschrieben.

### **4.3.3 Kultivierung**

Die Kultivierung von *A. platensis* im RAMOS mit CultiLux ist detailliert in Socher et al. (2014) beschrieben. Es wurden stets acht Messkolben gleichzeitig betrieben. Zuerst wurden die LED-Panel auf die gewünschte Lichtintensität eingestellt. Dann wurden die Messkolben mit jeweils ca. 300 mL Fassungsvermögen entsprechend der Vorschriften des Geräteherstellers vorbereitet (Autoklavieren für 20 min bei 121 °C, Trocknung bei 100 °C, Einbau der Kolben ins RAMOS, Äquilibration für 2 h unter Kulturbedingungen, Drucktest, Sensorkalibration). Anschließend wurden die Kolben mit jeweils 30 mL inokuliertem Medium befüllt, wieder im RAMOS eingesetzt und die Kultivierung gestartet. Die im Ergebnisteil gezeigten RAMOS-Experimente wurden unter immer gleichen Bedingungen durchgeführt (Schüttelfrequenz 110 rpm, Schütteldurchmesser 25 mm, 30 °C, Dauer der Spülphase 20 min, Spülung mit wassergesättigter Luft, in Hochspülphase mit 60 mL min<sup>-1</sup>, ansonsten 10 mL min<sup>-1</sup>, Dauer der Messung 10 min). Nur die Medienzusammensetzung und die Beleuchtung wurden in den Versuchen variiert und in Doppelbestimmung angesetzt. Die Probenahme aus den Kolben zur Bestimmung der Biomassekonzentration erfolgte über eine Pipette unter einer Sterilwerkbank.

### **4.3.4 Untersuchung der Temperierung**

Die Resultate der im RAMOS mit CultiLux durchgeführten Experimente wiesen darauf hin, dass die von den LED freigesetzte Wärme die Temperatur in den Kulturkolben erhöht. Dies war Anlass für die Untersuchung der Temperatur in den Messkolben in Abhängigkeit der Lichtintensität, Inkubator Temperatur und Beleuchtungsdauer. Dabei wurde die Temperatur im RAMOS-Inkubator auf einen definierten Wert geregelt und die Temperatur in einem Schüttelkolben über drei Hell-Dunkel-Zyklen gemessen (Sensor in 30 mL entionisiertes Wasser eingetaucht; USB-Thermometer Elektasia, China) und mit einem PC aufgezeichnet. Alle anderen Parameter (Schüttelfrequenz, Mess- und Spülzeit, Gasströme usw.) wurden wie während der Kultivierung belassen. Bei diesen Messungen wurde kein Dimmmaterial eingesetzt. Die Auswertung der Daten und die Modellregression erfolgten mit dem frei im Internet verfügbaren Excel-Makro „Essential Regression and Essential Experimental Design“.

## **4.4 Flat-Panel-Photobioreaktor**

### **4.4.1 Aufbau**

Die Kultivierungen in den klassischen Photobioreaktoren sowie im RAMOS mit CultiLux demonstrierten die Unzulänglichkeit dieser Systeme für reaktionskinetische Untersuchungen. Deshalb wurde ein Photobioreaktorsystem entwickelt, das aus einem Flat-Panel-Reaktor (FPR) und zwei separaten LED-Beleuchtungseinheiten besteht. Zuerst wurde der Aufbau des FPR mit-

tels CAD (Solid Works, Dassault Systems Deutschland GmbH, Stuttgart, Deutschland) konstruiert (Aufbau des Systems in Kapitel 5.6, Konstruktionszeichnungen in Anhang 3.4). Anschließend wurde mit diesem CAD-Design die numerische Strömungssimulation durchgeführt (Kapitel 5.6.3) und Optimierungen an der Konstruktion vorgenommen. Schließlich wurde der FPR aus Edelstahl (Materialkennung 1.4404, Toleranzfeld IT11, unbehandelte Oberfläche, Otto & Schneider Werkzeuginstandsetzung, Dresden) gefertigt.

#### **4.4.2 Lichtquelle**

Zur Variation der Lichtintensität über einen großen Bereich kamen zwei verschiedene warmweiße Dioden-Lichtquellen zum Einsatz. Für den Bereich niedriger Lichtintensitäten wurde eine flächige, rechteckige organische Leuchtdiode in den Abmessungen  $70 \times 100 \text{ mm}^2$  verwendet (OLED, TABOLA<sup>®</sup> OF157W3 PCV, Fraunhofer COMEDD, Dresden, Deutschland). Die OLED wurde durch eine Konstantstromquelle versorgt (TABOLA<sup>®</sup> Treiber V4 S/N; 2012-0034, 250 mA, 9,2 V DC, Fraunhofer COMEDD, Dresden, Deutschland). Höhere Lichtintensitäten wurden mittels eines LED-Panels in den Abmessungen  $30 \times 160 \text{ mm}^2$  realisiert. Dieses LED-Panel bestand aus insgesamt 27 LED (LED-Streifen flexibel, vergossen und selbstklebend, Conrad Electronics, Hirschau, Deutschland), die in drei Reihen zu je 9 LED angeordnet wurden. Das LED-Panel wurde durch eine Spannungsquelle versorgt (LED-12V60W-IP67, 12 V DC, Dehner Elektronik, Oestrich-Winkel, Deutschland). Durch Variation der Spannung mittels Potentiometer kann bei beiden Lichtquellen Einfluss auf die Lichtintensität genommen werden. Beide Beleuchtungseinheiten sind in Kapitel 5.6.4 detailliert charakterisiert.

#### **4.4.3 Untersuchung der Temperierung**

Da bereits im RAMOS mit CultiLux eine Erhöhung der Temperatur in der Kultivierungsflüssigkeit durch die Strahlung der Beleuchtungseinheit detektiert wurde, wurde auch am FPR untersucht, ob die LED-Lichtquelle bei Bestrahlung mit hohen Lichtintensitäten eine Temperaturerhöhung in der Kultivierungsflüssigkeit bewirkt. Dazu wurde die Kultivierungskammer mit 45 mL Wasser gefüllt (entspricht 90 % Befüllung), mit  $12 \text{ NL h}^{-1}$  (273,1 K und 103 kPa) Druckluft begast (Massendurchflussregler GFC 17, Aalborg, Orangeburg, USA) und auf  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  temperiert (Kreislaufkühler KK 4 TBE, MedingLab, Freital, Deutschland). Dann wurde der Reaktor mit der höchsten Lichtintensität des LED-Panels von  $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  bestrahlt und die Temperatur in der für die Temperaturmessung vorgesehenen Bohrung mittels USB-Thermometer gemessen (Elektasia, China).

## 4.5 Analytik

### 4.5.1 Charakterisierung der Beleuchtungseinheiten

#### Spektrum

Das Spektrum der Lichtquellen wurde mit einem USB-Spektrometer (Red Tide USB 650, Ocean Optics, Dunedin, USA) untersucht. Dabei wurde das Lichtleitkabel des Spektrometers direkt auf die Oberfläche der jeweiligen Lichtquelle arretiert und die Intensitätsdaten bei Wellenlängen von 350 - 850 nm auf einem PC aufgezeichnet. Die Lichtintensität der jeweiligen Lichtquelle wurde dabei jeweils so eingestellt, dass der Detektor des Spektrometers ausreichend mit Photonen versorgt wurde, jedoch nicht übersättigt war.

#### Lichtintensität

Die Lichtintensität wurde mit einem PAR-Lichtsensord (deka Sensor und Technologie GmbH, Teltow, Deutschland) quantifiziert. Der Sensorkopf erfasst photosynthetisch aktive Strahlung im Bereich von 400 - 700 nm über ein planares, rundes Sichtfenster (Durchmesser 10 mm). Die Intensität der auftreffenden Photonen ist der entstehenden elektrischen Spannung proportional, welche an einem digitalen Multimeter (Voltcraft 91, Conrad Electronics, Hirschau, Deutschland) abgelesen und über die vom Hersteller gegebenen Kalibrierwerte in die Photonenflussdichte (PFD) in der Einheit  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  umgerechnet wird. Für räumlich höher aufgelöste Messungen wurde der Sensorkopf mittels einer Blende partiell abgedeckt. Die Blendenöffnung hatte eine quadratische Form mit 5 mm Seitenlänge. Die realisierten Positionen bei räumlich aufgelösten Messungen sind im Ergebnisteil der Arbeit dargestellt. Die Lichtintensität wurde stets am Ort des Lichteintritts in die Zellsuspension in den nicht befüllten Kultivierungssystemen gemessen.

### 4.5.2 Charakterisierung der Proben aus den Kultivierungen

#### Bestimmung der Biomassekonzentration

Zur Bestimmung der Biomassekonzentration wurde die optische Dichte der Zellsuspension bei 750 nm und 1 cm Schichtdicke in einem UV/VIS-Spektrometer (Beckman DU 640, Beckman-Coulter, Brea, USA) als  $OD_{750 \text{ nm}}$  ermittelt. Bei Extinktionswerten  $> 0,5$  wurde die Suspension mit entionisiertem Wasser verdünnt. Die gemessenen Extinktionen wurden folgendermaßen in die Biomassekonzentrationen umgerechnet (Anhang 2.3):  $c_x = 0,82 \text{ g L}^{-1} \cdot OD_{750 \text{ nm}}$

#### Messung des pH-Wertes

Der pH-Wert der Zellsuspension wurde mit einem pH-Meter (inoLab pH level 2, WTW, Weilheim, Deutschland) bestimmt.

## 4.6 Berechnungen

### 4.6.1 Spezifische Wachstumsraten

Die spezifische Wachstumsrate  $\mu$  wurde während der exponentiellen Wachstumsphasen aus den Biomassekonzentrationen und bei den Schüttelkolbenversuchen im RAMOS zusätzlich aus den durch das RAMOS ermittelten Sauerstofftransferaten mittels folgender Formeln berechnet:

$$\mu_x = \frac{\ln \frac{c_x(t + \Delta t)}{c_x(t)}}{\Delta t} \quad \text{Glg. 3}$$

$$\mu_{\text{OTR}} = \frac{1}{\Delta t} \cdot \ln \left( \frac{c_x(t = 0) \cdot \frac{Y_{\text{O}_2}}{c_x} + \text{OT}(t + \Delta t)}{c_x(t = 0) \cdot \frac{Y_{\text{O}_2}}{c_x} + \text{OT}(t)} \right) \quad \text{Herleitung im Anhang 2.4} \quad \text{Glg. 4}$$

Bei linearem Wachstum wurde die spezifische Wachstumsrate mit folgender Formel berechnet:

$$\mu = \frac{c_x(t + \Delta t) - c_x(t)}{\Delta t} \cdot \frac{1}{c_x(t \dots t + \Delta t)} \quad \text{mit } c_x(t \dots t + \Delta t) = \frac{c_x(t + \Delta t) + c_x(t)}{2} \quad \text{Glg. 5}$$

Formeln mit: spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{h}^{-1}$ , Biomassekonzentration zum Zeitpunkt  $t$   $c_x(t)$  in  $\text{g}_x \text{L}^{-1}$ , Zeit  $t$  in h, Sauerstofftransferate OTR in  $\text{mmol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ , Sauerstofftransfer OT in  $\text{mmol L}^{-1}$ .

### 4.6.2 Sauerstoff-, Kohlendioxidtransferaten und Sauerstofftransfer

Die Transferaten von Sauerstoff (OTR) und Kohlendioxid (CTR) sowie der akkumulative Sauerstofftransfer (OT) wurden von der RAMOS-Software (Softwareversion 5.0.0.4, Hi Tec Zang GmbH, Herzogenrath, Deutschland) aus den zeitlichen Änderungen des Sauerstoffpartialdrucks  $\Delta p_{\text{O}_2}$  und des Gesamtdrucks  $\Delta p$  wie folgt berechnet (Hi Tec Zang GmbH 2014):

$$\text{OTR} = \frac{-\Delta p_{\text{O}_2}}{\Delta t} \cdot \frac{V_G}{V_L} \cdot \frac{T_0}{T \cdot p_0 \cdot V_{m,0}} \quad \text{Glg. 6}$$

$$\text{CTR} = \frac{\Delta p - \Delta p_{\text{O}_2}}{\Delta t} \cdot \frac{V_G}{V_L} \cdot \frac{T_0}{T \cdot p_0 \cdot V_{m,0}} \quad \text{Glg. 7}$$

$$\text{OT} = \int_0^t \text{OTR} dt = \sum_{i=0}^n \frac{(\text{OTR}_n + \text{OTR}_{n+1})}{2} \cdot \Delta t \quad \text{Glg. 8}$$

Formeln mit: Sauerstofftransferate OTR in  $\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ , Kohlendioxidtransferate CTR in  $\text{mol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ , Sauerstofftransfer OT in  $\text{mol L}^{-1}$ , Sauerstoffpartialdruckdifferenz  $\Delta p_{\text{O}_2}$  in bar, Gesamtdruckdifferenz  $\Delta p$  in bar, Messzeitintervall  $\Delta t$  in h, Gasraumvolumen des Kolbens  $V_G$  in L (Gesamtvolumen - Flüssigkeitsvolumen), Flüssigkeitsvolumen im Kolben  $V_L$  in L, Temperatur unter Standardbedingungen  $T_0$  in K (273,15 K), Kultivierungstemperatur  $T$  in K, Druck unter Standardbedingungen  $p_0$  in bar (1,01325 bar), Normvolumen  $V_{m,0}$  in  $\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$  ( $0,022414 \text{ m}^3 \text{mol}^{-1}$ ).

## 4.7 Modellierung

### 4.7.1 Modellierung der Kultivierungsverläufe

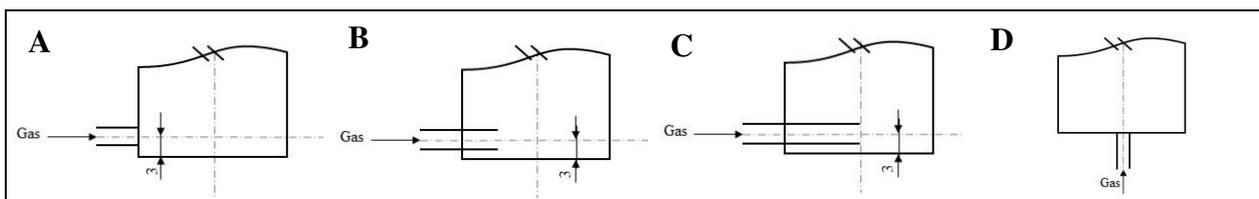
Zur Modellierung der Verläufe von Biomassekonzentration, spezifischer Wachstumsrate und Lichtintensität wurde das Programm Berkeley Madonna (R. Macey und G. Oster, University of California, Berkeley, USA) genutzt. Die verwendeten Modellgleichungen werden in Kapitel 5.1 erläutert. Die detaillierten Quelltexte der einzelnen Programme einschließlich der Modellparameter finden sich im Anhang zu den jeweiligen Kapiteln der Ergebnisse.

### 4.7.2 Numerische Strömungssimulation

Der Reaktionsraum des entworfenen Flat-Panel-Photobioreaktors wurde mittels CFD-Simulation hinsichtlich seiner hydrodynamischen Eigenschaften untersucht. Die zugrundeliegenden Modellgleichungen (Erhaltungsgleichungen, Turbulenzmodell, Modell für Blasenkräfte) sind in Liao (2013) detailliert ausgeführt. Die einzelnen Arbeitsschritte sind hier nur kurz aufgelistet.

- 1) Geometrieanalyse des Flat-Panel-Reaktors als zweiphasiges System (Wasser und Luft)
- 2) Festlegung der Simulationsbedingungen (Variation der Begasungsposition entsprechend Abbildung 12 und des Gasvolumenstromes in den Reaktor von 0,1 bis 0,5 vvm)
- 3) Implementation der Geometrie in ein am Helmholtz-Zentrum Dresden Rossendorf entwickeltes Baseline-Modell für disperse Blasenströmungen in der Software CFX (ANSYS, Canonsberg, USA) welches das zugrunde liegende Strömungsmodell der Reaktorgeometrie mittels der Finite-Elemente-Methode löst
- 4) Verifikation des verwendeten Modells für Begasungsposition A des Reaktionsraumes
- 5) Simulation der verschiedenen Begasungspositionen und Volumenströme
- 6) Euler-Euler- und Euler-Lagrange-Simulation für ein dreiphasiges System (Wasser, Luft, kugelförmige Partikel) zur Überprüfung des Verhaltens von Zellsuspensionen
- 7) Veränderung des Designs auf Basis der erhaltenen Simulationsergebnisse (Anpassung der FPR-Konstruktion im verwendeten CAD Programm)

Es handelte sich dabei um eine s.g. Pretest-Simulationsstudie, da lediglich am Computer experimentiert und keine Validierung des Modells direkt am Reaktor durchgeführt wurde.



**Abbildung 12: Begasungspositionen Flat-Panel-Photobioreaktor für die CFD-Simulation**

Simulierte Positionen im Reaktionsraum (Abmaß  $150 \times 25 \times 10 \text{ mm}^3$ ): in einer Ebene mit Reaktorwand seitlich (A), seitlich in Reaktionsraum hineinragend (5 mm (B) und 12,5 mm (C)), und in einer Ebene mit Reaktorwand von unten (D); Durchmesser Gaszuführung M3

## 5 Ergebnisse und Diskussion

### 5.1 Modellierung des phototrophen Wachstums

Die Entwicklung eines definierten Photobioreaktorsystems zur wachstumskinetischen Untersuchung stand im Mittelpunkt dieser Arbeit. Daneben sollte ein Modell aufgestellt werden, um die bei der Kultivierung phototropher Organismen beobachteten Prozesse, insbesondere das Wachstum in Abhängigkeit der Lichtintensität, zu simulieren. Eine solche Prozesssimulation erlaubt Aussagen zum phototrophen Wachstum in Photobioreaktoren und unterstützt die Planung und Auswertung von Kultivierungen. Das hier dargestellte Modell beruht auf bereits bekanntem publiziertem Wissen zum lichtabhängigen Wachstum phototropher Organismen (Kapitel 2.2).

#### 5.1.1 Prozessmodell

Das Prozessmodell setzt sich aus dem reaktionskinetischen Modell und dem Bioreaktormodell zusammen. Ersteres beschreibt die Kinetik der Bioreaktion in Abhängigkeit Einfluss nehmender Parameter (hier das von der Lichtintensität beeinflusste Wachstum phototropher Cyanobakterien), während letzteres den Reaktionsraum charakterisiert und dabei den Einfluss des Stofftransports und räumlicher Heterogenität berücksichtigt. Folgende Bedingungen sollen konkret gelten:

- im Reaktionsraum existieren keine räumlichen Konzentrationsgradienten
- der Prozess wird kontinuierlich als Chemostat betrieben, wobei die Verdünnungsrate  $D$  dem Verhältnis aus zeitlich konstantem Durchfluss und dem Liquidvolumen im Reaktor entspricht (für batch-Prozesse wie z.B. zugrunde liegende Modellierung für Abbildung 17 und Kultivierungen in Blasensäule und Schüttelkolben in Kapitel 5.3 gilt  $D = 0 \text{ h}^{-1}$ )
- der Reaktionsraum hat die Form eines Quaders, und das Licht wird nur über eine Fläche des Quaders senkrecht in den Reaktionsraum eingestrahlt, wodurch eine einheitliche Schichtdicke angenommen werden kann
- die Zellsuspension absorbiert das eingestrahlte Licht, wobei die Absorption vom Extinktionskoeffizienten, der Biomassekonzentration und der Eindringtiefe des Lichts bestimmt wird
- von den verschiedenen in der Literatur beschriebenen Absorptionsmodellen (Kapitel 2.3) wird hier das Lambert-Beer-Modell verwendet, da ein transparentes Kulturmedium verwendet und die Streuung vernachlässigt wird
- rein photoautotrophes Wachstum mit Licht als einzige Energiequelle
- Kohlendioxid ist Kohlenstoffsubstrat und stets ausreichend vorhanden (das verwendete basische Zarrouk-Medium enthält eine hohe Konzentration an Carbonaten)
- mineralische Nährstoffe (Stickstoff, Phosphor usw.) sind im Überschuss vorhanden

- gebildeter Sauerstoff wird durch Begasung mit Luft ausgetragen, damit dieser nicht zu toxisch wirkenden Konzentrationen akkumuliert (zur Hemmung durch Sauerstoff siehe Stryer 2012; Kohl und Nicklisch 1988)
- pH-Einflüsse bleiben unberücksichtigt (das basische Zarrouk-Medium ist durch seinen hohen Gehalt an Carbonat und Hydrogencarbonat stark gepuffert).

Damit ist die Biomassekonzentration die einzige im Prozessmodell zu betrachtende abhängige Variable, für die folgende Beziehung gilt:

$$\frac{dc_x}{dt} = \mu(I) \cdot c_x - D \cdot c_x \quad \text{Glg. 9}$$

Formel mit: Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g L}^{-1}$ , spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{h}^{-1}$ , Verdünnungsrate  $D$  in  $\text{h}^{-1}$ .

Die zeitliche Änderung der Biomassekonzentration wird vom autokatalytischen Wachstum und vom Biomasseaustrag aus dem Reaktor bestimmt. Die spezifische Wachstumsrate wird allein von der Lichtintensität bestimmt. Die Lichtintensität im Reaktionsraum kann mit der eingestrahnten Intensität gleichgesetzt werden, solange die Biomassekonzentration sehr gering ist und die Lichtabsorption praktisch keine Rolle spielt. Bei praxisrelevanten Biomassekonzentrationen spielt die Absorption jedoch eine Rolle; das eingestrahlte Licht wird auf seinem Weg durch die Zellsuspension zunehmend geschwächt. Dadurch herrschen im Bioreaktor heterogene Lichtverhältnisse, womit die Wachstumsrate ortsabhängig wird. Wie oben dargelegt, wird die Lichtabsorption hier mit dem Modell nach Lambert-Beer formuliert:

$$I_d = I_0 \cdot e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot d)} \quad \text{Glg. 10}$$

Formel mit: Lichtintensität in Schichtdicke  $d$   $I_d$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , eingestrahlte Lichtintensität  $I_0$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  in  $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ , Schichtdicke  $d$  in  $\text{cm}$ , Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g L}^{-1}$ .

In den folgenden Kapiteln werden die Entwicklung des reaktionskinetischen sowie des Bioreaktormodells detailliert vorgestellt.

### 5.1.2 Reaktionskinetik: Abhängigkeit Wachstumsrate von Lichtintensität $\mu = f(I)$

In den publizierten Modellen (Tabelle 3) wurden einerseits oft nicht beide Faktoren Limitation und Inhibierung des Lichts auf das Wachstum gemeinsam berücksichtigt. Andererseits wurde versucht, beide Einflüsse mit einem mathematischen Term auszudrücken, was ebenfalls nachteilig ist. Hier sollen die Lichtlimitation und die Photoinhibierung als zwei voneinander unabhängig wirkende Faktoren in Form des Gamma-Konzepts betrachtet werden.

### Das Gamma-Konzept

Das Gamma-Konzept wurde von Zwietering et al. (1993) entwickelt, um den Einfluss physikalischer Größen wie Temperatur und pH-Wert auf die spezifische Wachstumsrate mathematisch zu beschreiben. Dabei wird angenommen, dass alle einflussnehmenden Parameter unabhängig voneinander auf das Wachstum einwirken. Dazu werden s.g. Gamma-Funktionen eingeführt, die jeweils den Einfluss eines individuellen Parameters berücksichtigen. Die Gamma-Funktionen nehmen jeweils einen Wert zwischen 0 und 1 an und sind multiplikativ mit der maximalen spezifischen Wachstumsrate  $\mu_{\max}$  verknüpft:

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \gamma(\text{pH}) \cdot \gamma(T) \cdot \gamma(\dots) \quad \text{Glg. 11}$$

Formel mit: spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{h}^{-1}$ , maximale spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{h}^{-1}$ , Gammafunktion  $\gamma$  von Temperatur T und pH-Wert.

Diese Methode ermöglicht es, verschiedene Einflüsse auf die Wachstumsrate unabhängig voneinander zu berücksichtigen und auch zu untersuchen. Das Gamma-Prinzip wurde in dieser Arbeit genutzt, um den limitierenden als auch inhibierenden Einfluss des Lichts auf die spezifische Wachstumsrate zur Modellierung der  $\mu(I)$ -Kurve zu berücksichtigen. Dies ist sinnvoll, weil die Lichtlimitation und die Photoinhibierung über verschiedene Mechanismen wirken (Limitation durch einen Mangel an Photonen im Photosynthesystem, und Inhibierung aufgrund von Zellschäden durch die Wirkung reaktiven Sauerstoffs (Wu et al. 2011; Gao et al. 2008; Mishra 2004)). Konkret wird für die Reaktionskinetik hier festgelegt:

$$\mu(I) = \mu_{\max} \cdot \gamma(\text{Lichtlimitation}) \cdot \gamma(\text{Lichtinhibierung}) \quad \text{Glg. 12}$$

Formel mit: spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{h}^{-1}$ , maximale spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{h}^{-1}$ , Gammafunktion  $\gamma$  von Lichtlimitation und Lichtinhibierung.

Im Folgenden werden die zwei Gamma-Funktionen zur Berücksichtigung des limitierenden als auch des inhibierenden Einflusses von Licht betrachtet.

### Lichtlimitation

Die Literaturrecherche ergab, dass alle bisher publizierten  $\mu(I)$ -Modelle die Lichtlimitation ohne Berücksichtigung der Kompensationslichtintensität beschreiben (Kapitel 2.2). Am Kompensationspunkt ist die Lichtintensität gerade so groß, dass die zur Erhaltung notwendige Energie bereitgestellt wird. Kohl und Nicklisch (1988) gaben in einer Zusammenstellung von  $\mu(I)$ -Modellen (Tabelle 2-9, S. 84) ein Modell mit Berücksichtigung dieses Phänomens an und

schrieben es Baly (1935) zu. Baly (1935) publizierte tatsächlich eine zum Monod-Modell äquivalente Gleichung zur Beschreibung der Lichtlimitation, ohne auf die Kompensation einzugehen. Die von Kohl und Nicklisch (1988) angegebene Beziehung überzeugt und soll hier zur Formulierung der  $\gamma$ (Lichtlimitation)-Funktion verwendet werden (Glg. 13).

$$\gamma(\text{Lichtlimitation}) = 0 \quad \text{für } I < K_{KI}$$

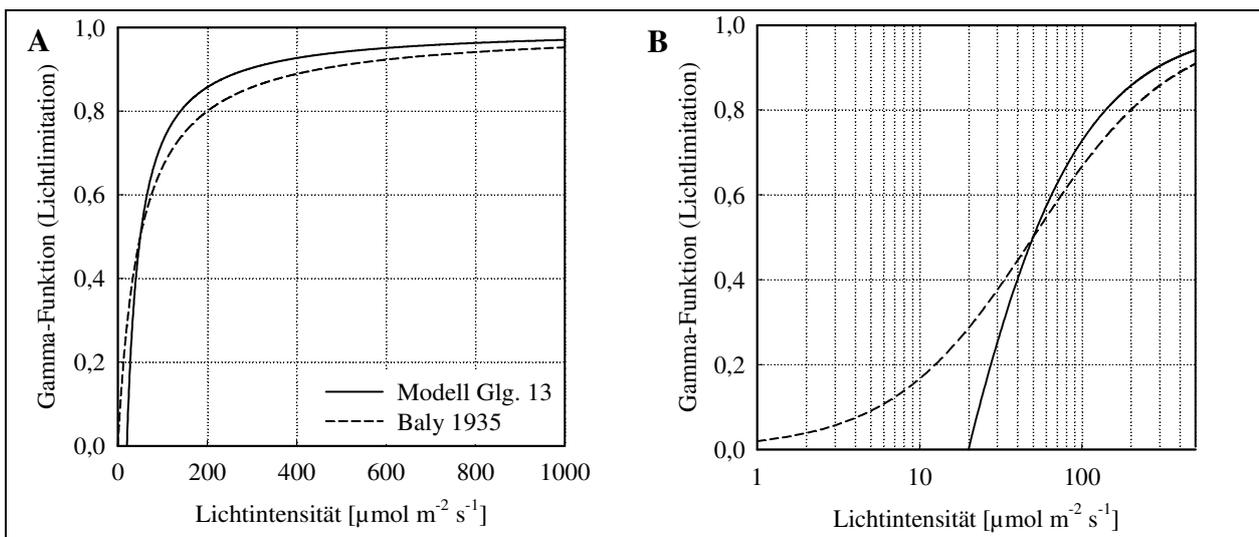
**Glg. 13**

$$\gamma(\text{Lichtlimitation}) = \frac{I - K_{KI}}{I - K_{KI} + K_{SI} - K_{KI}} \quad \text{für } I \geq K_{KI}$$

Formeln mit: Gammafunktion  $\gamma$  von Lichtlimitation und Lichtinhibierung, Lichtintensität  $I$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Kompensationslichtintensität  $K_{KI}$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Halbsättigungslichtintensität  $K_{SI}$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Ein ähnliches Modell zur Beschreibung des limitierenden Effekts mineralischer Substrate wie Nitrat auf das Wachstum von phototrophen Organismen wurde von Caperon und Meyer (1972) entwickelt; wobei die Autoren bereits mutmaßten, dass für phototrophe Organismen dieselben limitierenden Bedingungen gelten wie für heterotrophe (Caperon 1967).

In Abbildung 13 sind die  $\gamma$ (Lichtlimitation)-Funktionen für das einfache und das um die Kompensation erweiterte Baly-Modell dargestellt. Es wird deutlich, dass die Berücksichtigung der Kompensationslichtintensität zu einer Verschiebung der Kurve führt. Im ursprünglichen Baly-Modell beginnt die Wachstumsrate bereits ab Lichtintensitäten von  $1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zu steigen. Im Modell mit Berücksichtigung der Kompensation (im Bsp.  $K_{KI} = 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) steigt die Kurve erst ab der zur Kompensation notwendigen Lichtintensität an. Besonders sichtbar wird dies in der logarithmischen Darstellung der Lichtintensität (Abbildung 13B).



**Abbildung 13:  $\gamma$ (Lichtlimitation)-Funktion mit und ohne Kompensation**

Berechnung der Gamma-Funktion  $\gamma$  (Lichtlimitation) in Abhängigkeit der Lichtintensität nach dem Baly-Modell und nach dem erweiterten Baly-Modell (Glg. 13) mit Halbsättigungskonstante  $K_{SI} = 80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Kompensationslichtintensität  $K_{KI} = 20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  mit linearer (A) und logarithmischer (B) Skalierung

### Lichtinhibierung

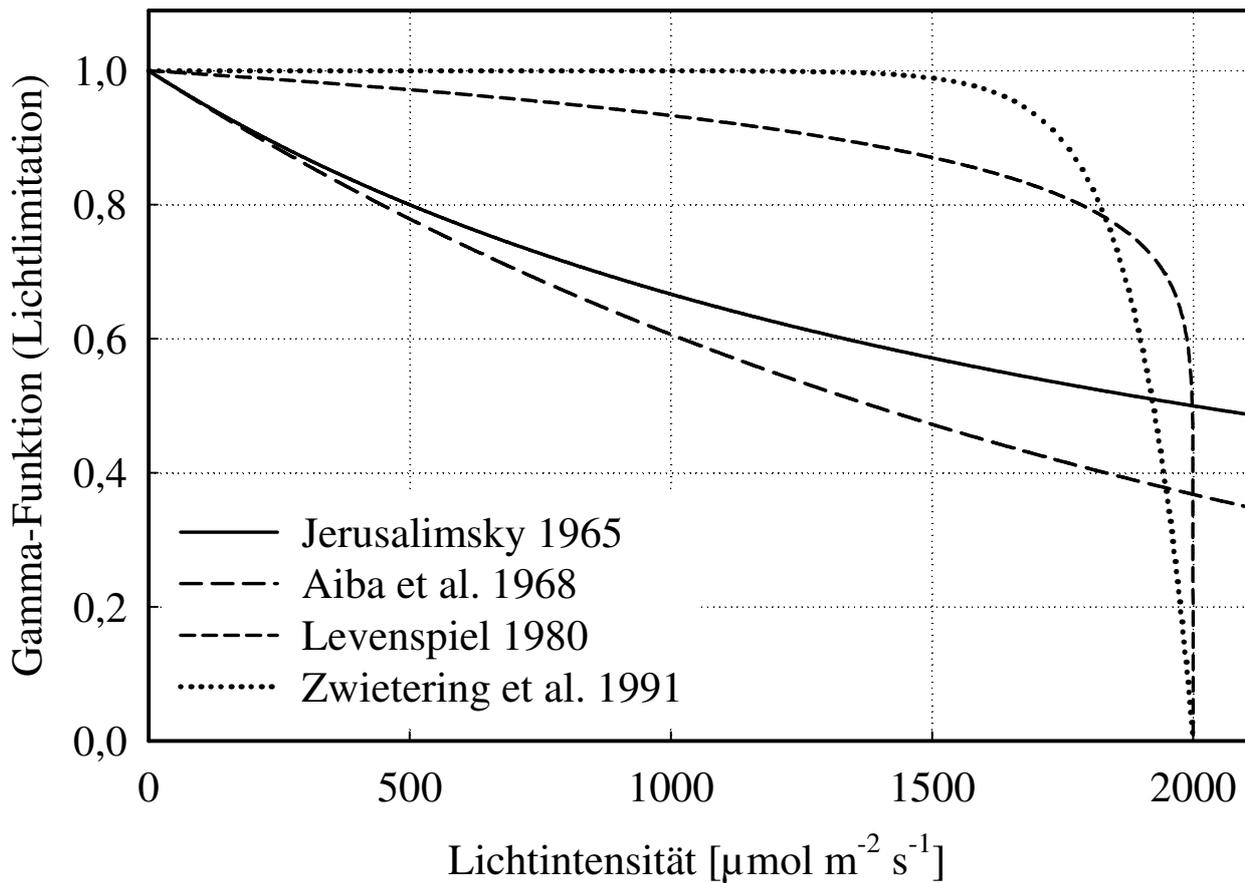
Steele (1962) als auch Peeters und Eilers (1978) formulierten  $\mu(I)$ -Modelle, die die Inhibierung des Wachstums bei hohen Lichtintensitäten berücksichtigen (Kapitel 2.2). Diese zwei Modelle können jedoch nicht auf *A. platensis* angewendet werden, weil sie im Bereich mittlerer Lichtintensitäten die maximale Wachstumsrate nur in einem äußerst schmalen Bereich (Steele 1962) bzw. gar nicht (Peeters und Eilers 1978) erreichen. Die  $\mu(I)$ -Kurve von *A. platensis* weist jedoch bei mittleren Lichtintensitäten ein ausgeprägtes Plateau auf, und bei hohen Lichtintensitäten fällt die Wachstumsrate steil ab (Abbildung 3B). Es wurde deshalb nach weiteren Inhibierungsfunktionen recherchiert (Tabelle 7) und diese auf ihre Brauchbarkeit zur Formulierung der  $\gamma(\text{Lichtinhibierung})$ -Funktion überprüft. In Abbildung 14 sind diese ausgewählten Inhibierungsmodelle graphisch dargestellt (Modellparameter entsprechend Abbildungsbeschriftung).

#### **Tabelle 7: Vorgeschlagene $\gamma(\text{Lichtinhibierung})$ -Modelle**

Modelle in chronologischer Reihenfolge ihrer Publikation mit der Lichtintensität  $I$  und der Inhibitionskonstante  $K_I$ , die Koeffizienten in den originalen Modellen wurden formal übernommen

$\gamma(\text{Lichtinhibierung})$	Bemerkung	Referenz
$\frac{K_I}{K_I + I}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ hyperbolisch</li> <li>▪ für die Inhibierung des Wachstums von Hefen durch Ethanol</li> </ul>	Jerusalimsky und Nerenova 1965
$e^{-\frac{I}{K_I}}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ exponentiell</li> <li>▪ für die Inhibierung des Wachstums von Hefen durch Ethanol</li> </ul>	Aiba et al. 1968
$\left(1 - \frac{I}{K_I}\right)^n$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ parabolisch</li> <li>▪ für die Inhibierung des Wachstums von Hefen durch Ethanol</li> </ul>	Levenspiel 1980
$1 - e^{(n \cdot (I - K_I))}$	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ exponentiell</li> <li>▪ für die Inhibierung des Wachstums von Mikroorganismen durch hohe Temperaturen</li> </ul>	Zwietering et al. 1993

Die Modelle von Jerusalimsky und Nerenova (1965) und Aiba et al. (1968) zeigen einen degressiven Verlauf, was impliziert, dass höhere Lichtintensitäten einen abnehmenden inhibierenden Einfluss auf die Wachstumsrate haben ( $d\gamma/dI$  wird mit steigenden  $I$  kleiner). Die Modelle von Levenspiel (1980) und Zwietering et al. (1993) weisen dagegen ein progressives Verhalten auf; steigende Lichtintensitäten führen zu einer immer intensiveren Inhibierung ( $d\gamma/dI$  wird mit steigenden  $I$  größer), welcher bei Inhibierungen generell wahrscheinlicher ist. Die wenigen Daten, die für die Inhibierung durch Licht vorliegen, scheinen dies zu bestätigen (Sili et al. 2012; Xue et al. 2011; Vonshak 1997).



**Abbildung 14: Vergleich  $\gamma$ (Lichtinhibierung)-Funktionen**

Berechnung der  $\gamma$ (Lichtinhibierung)-Funktionen in Abhängigkeit der Lichtintensität nach den vorgeschlagenen Modellen in Tabelle 7 mit einer Inhibierungskonstante  $K_I = 2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ;  $n = 0,1$  für das Modell von Levenspiel (1980) bzw.  $n = 0,01 \mu\text{mol}^{-1} \text{m}^2 \text{s}$  für das Modell von Zwietering et al. (1993)

#### Kombination der Teilmodelle für Lichtlimitation und Lichtinhibierung

Die Betrachtungen zum lichtabhängigen Wachstum phototropher Organismen in Kultivierungssystemen sollten mit Modellrechnungen vorgenommen werden, wofür eine mathematische Beziehung zur Formulierung der spezifischen Wachstumsrate in Abhängigkeit der Lichtintensität erforderlich war. Zu diesem Zweck wurde hier ein solches kinetisches Modell aufgestellt, das sowohl die Limitierung als auch die Inhibierung des Wachstums durch Licht berücksichtigt. Die in diesem Modell enthaltenen kinetischen Parameter sollten durch Anpassung an publizierte Daten ermittelt werden. Das kinetische Modell sollte dann genutzt werden, um die Lichtverhältnisse und das Wachstum im Photobioreaktor darzustellen und um eigene Messdaten zu bewerten und zu interpretieren.

Zur Beschreibung des limitierenden und inhibierenden Effekts des Lichts auf das Wachstum von *A. platensis* wurden ein Limitations- und ein Inhibierungsmodell entsprechend des Gamma-Konzepts miteinander verknüpft. Die Lichtlimitation soll mit dem erweiterten Baly-Modell formuliert werden, da dies auch die Lichtkompensation berücksichtigt. Für das Inhibierungsmodell wurde aus o.g. Gründen eine Modellgleichung mit progressiver Charakteristik genutzt.

Die von Xue et al. (2011) für *A. platensis* gemessenen  $\mu(I)$ -Daten (Abbildung 3B) ließen sich mit dem Inhibierungsmodell von Zwietering et al. (1993) besser als mit dem Modell von Levenspiel (1980) beschreiben, weil mit ersterem das Plateau bei mittleren Lichtintensitäten besser nachgebildet werden kann (Abbildung 14). Das verwendete  $\mu(I)$ -Modell lautet:

$$\mu(I) = 0 \quad \text{für } I < K_{KI} \text{ und } I > K_I$$

$$\mu(I) = \mu_{\max} \cdot \frac{I - K_{KI}}{I - K_{KI} + K_{SI} - K_{KI}} \cdot (1 - e^{(n \cdot (I - K_I))}) \quad \text{für } I \geq K_{KI} \text{ und } I \leq K_I$$

**Glg. 14**

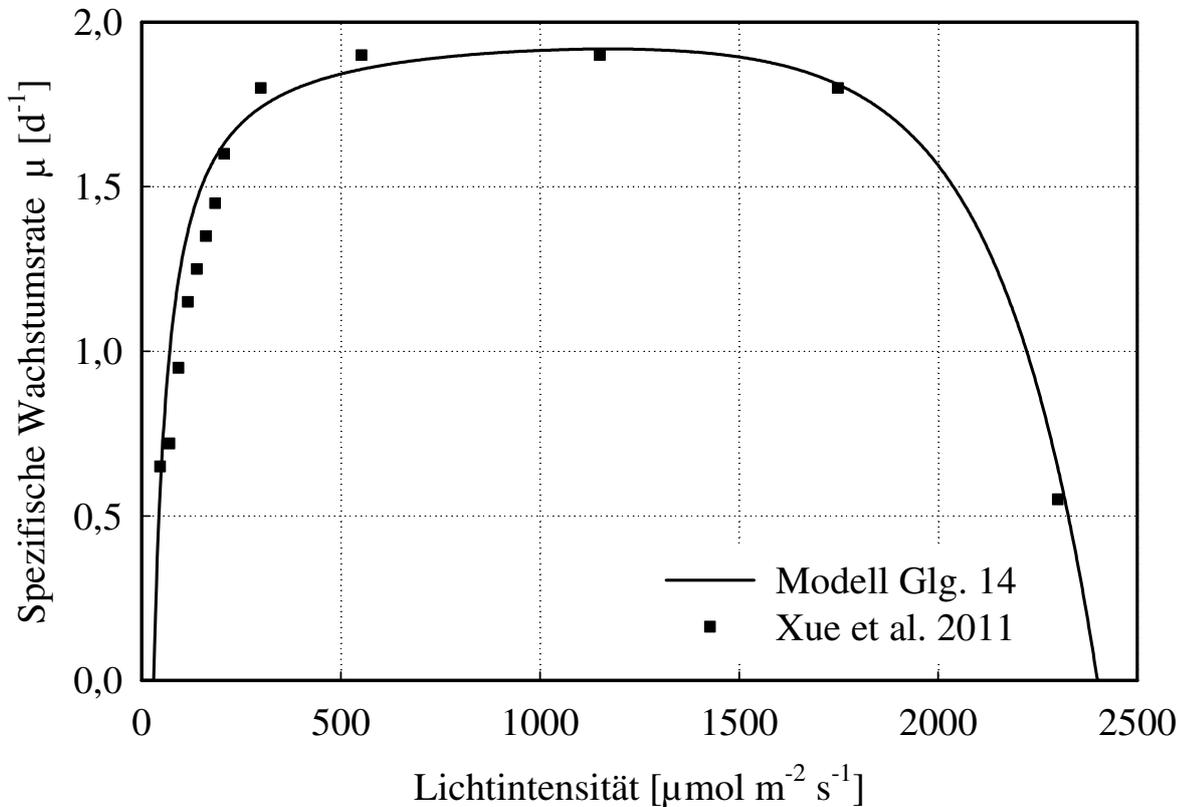
Formeln mit: spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{h}^{-1}$ , Lichtintensität  $I$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Kompensationslichtintensität  $K_{KI}$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Halbsättigungslichtintensität  $K_{SI}$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Inhibierungskonstante  $K_I$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Diese Modellgleichung wurde an die  $\mu(I)$ -Daten von Xue et al. (2011) angepasst, indem ein optimaler Parametersatz mit der Methode der Minimierung der Summe der relativen quadratischen Abweichungen ermittelt wurde (Abbildung 15). Diese Anpassung lieferte folgende Werte:

- maximale spezifische Wachstumsrate  $\mu_{\max} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,
- Kompensationslichtintensität  $K_{KI} = 30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,
- Halbsättigungslichtintensität  $K_{SI} = 70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,
- Inhibierungslichtintensität  $K_I = 2400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,
- Koeffizient  $n = 0,004 \mu\text{mol}^{-1} \text{m}^2 \text{s}$ .

Die bei der Modellanpassung erhaltene maximale spezifische Wachstumsrate von  $2 \text{ d}^{-1}$  liegt im Bereich der für  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  angegebenen Werte von  $1,9 \text{ d}^{-1}$  (Zarrouk 1966) bzw.  $2,08 \text{ d}^{-1}$  (Xue et al. 2011; Zarrouk 1966). Die ermittelte Kompensationslichtintensität befindet sich mit  $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  im Bereich der in der Literatur angegebenen Werte von 5 bis  $153 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Xue et al. 2011; Cogne et al. 2003; Kebede und Ahlgren 1996), wobei zu beachten ist, dass dieser Wertebereich äußerst weit gefasst ist. Die Lichtsättigung ( $\mu$  nahe  $\mu_{\max}$ ) wird für *A. platensis* mit 150 bis  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  angegeben (Sili et al. 2012; Vonshak 1997; Lee et al. 1987), wobei der von Sili et al. (2012) angegebene Wert von  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  mit den Daten von Xue et al. (2011) und der Modellanpassung gut übereinstimmt. Die ermittelte Inhibierungslichtintensität  $I_K$  von  $2370 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  deckt sich nur zum Teil mit Daten aus der Literatur. Einige Autoren gaben  $K_I$  bereits bei geringeren Lichtintensitäten im Bereich von ca.  $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  an (Sili et al. 2012; Lee et al. 1987); wobei andere Publikationen bei diesen Werten der Lichtintensität noch kein Erliegen des Wachstums beobachten konnten (Kebede und Ahlgren 1996). Auch zeigte sich bei Xue et al. (2011) deutlich, dass bei Kultivierungstemperaturen von  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  und LED-Beleuchtung die Inhibierung erst bei sehr hohen Lichtintensitäten von über  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  einsetzt und schließlich wurde das entwickelte Modell auch an diese Werte angepasst. Qiang et al. (1998)

beobachteten ebenfalls bis zu sehr hohen Lichtintensitäten von  $2500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in einem Flat-Panel-Photobioreaktor mit geringer Schichtdicke keine Inhibition der Sauerstoffproduktion, was dafür spricht, dass *A. platensis* erst bei sehr hohen Lichtintensitäten inhibiert wird.



**Abbildung 15: Reaktionskinetisches  $\mu(I)$ -Modell für *A. platensis***

Angepasstes Modell nach Glg. 14 an die Daten von Xue (2011); Modellparameter nach Methode der Minimierung der Summe der relativen quadratischen Abweichungen bestimmt

Insgesamt betrachtet finden sich in der Literatur nur wenige zuverlässige Daten zum phototropen Wachstum von *A. platensis*. Dafür gibt es im Wesentlichen drei Gründe. Lichtlimitiertes Wachstum erfolgt langsam, insbesondere nahe des Kompensationspunktes; und die Experimente zur Quantifizierung der Wachstumsrate sind langwierig; die erhaltenen Messergebnisse stark fehlerbehaftet. Für die Untersuchung der Photoinhibition werden hohe Lichtintensitäten benötigt, die viele verwendete Beleuchtungssysteme, insbesondere die häufig verwendeten Leuchtstoffröhren (Sili et al. 2012; Kebede und Ahlgren 1996; Lee et al. 1987) kaum erreichen können. Ebenso ist die präzise Quantifizierung der Lichtintensität nicht trivial und in Publikationen häufig unzureichend dokumentiert.

### 5.1.3 Bioreaktormodell: Lichtintensität und Wachstum im Reaktionsraum

Phototrophe Organismen absorbieren Licht und bewirken damit eine räumlich heterogene Lichtintensität im Reaktionsraum, was die Wachstumsrate beeinflusst. In diesem Kapitel sollen

nun verschiedene Bioreaktormodelle zur Beschreibung des zeitabhängigen Wachstums phototropher Organismen im Photobioreaktor aufgestellt und diskutiert werden, die den Effekt der Selbstbeschattung auf unterschiedliche Weise einbeziehen.

Erstens kann im Bioreaktormodell bei der Berechnung einfach die von der Lichtquelle auf den Reaktionsraum eingestrahlte Lichtintensität  $I_0$  eingesetzt werden, ohne dass die Selbstbeschattung berücksichtigt wird (Referenz ohne Selbstbeschattung). Weiter kann in der Modellierung die Selbstbeschattung auf zwei verschiedene Arten berücksichtigt werden. Einerseits kann die Lichtintensität abhängig von der jeweils vorherrschenden Biomassekonzentration gemittelt über den Reaktionsraum einfließen (Fall 1). Andererseits besteht die Möglichkeit, die Wachstumsrate in Abhängigkeit der Lichtintensität in der jeweiligen Schichtdicke zu berechnen und anschließend über den Reaktionsraum einen Mittelwert zu berechnen (Fall 2). In der Literatur finden sich ähnliche Ansätze zur Berechnung einer mittleren Photosyntheserate, indem die von der Lichtintensität abhängige Photosyntheserate über das Reaktionsvolumen integriert wird (Béchet et al. 2013). Der Autorin sind allerdings keine Quellen bekannt, in denen die mittlere Wachstumsrate, wie für Fall 2 beschrieben, berechnet wurde.

#### Ohne Berücksichtigung der Selbstbeschattung

Im einfachsten Fall kann die von der Lichtquelle eingestrahlte Lichtintensität  $I_0$  ins Bioreaktormodell eingesetzt werden. Wie in Kapitel 2.2 diskutiert wurde, darf diese einheitliche Lichtintensität jedoch nur verwendet werden, wenn die Schichtdicke oder die Biomassekonzentration und die daraus resultierende Absorption sehr gering ist. Ebenso muss beachtet werden, dass jene Lichtintensität in der Modellierung genutzt wird, welche auch im Reaktionsraum eindringt. Die verwendete Lichtintensität sollte deshalb möglichst direkt im Reaktionsraum (Berücksichtigung der Absorption der Reaktorwand) und unter den Kultivierungsbedingungen (Berücksichtigung der Absorption des Mediums) gemessen werden (Kapitel 4.5 und 5.2). Der Vorteil dieser Variante besteht darin, dass schnell und einfach modelliert werden kann, weshalb sie auch von Autoren genutzt wird (Jeon et al. 2005; Carvalho und Malcata 2003). In Kultivierungen mit höheren Biomassekonzentrationen, bei denen die Absorption durch die Biomasse in einen relevanten Bereich rückt, weicht die real vorherrschende Lichtintensität jedoch zunehmend stärker von der eingestrahlten Lichtintensität ab. Damit einhergehend kommt es ebenfalls zu einer zunehmenden Abweichung der berechneten Wachstumsrate und es werden bei hohen Biomassekonzentrationen hohe Wachstumsraten erreicht, was unrealistisch ist. Damit würde es zu einem unlimitierten exponentiellem Verlauf der Biomasse kommen. Deshalb sollte zur Modellierung realer Prozesse im Photobioreaktor immer die Selbstbeschattung, wie im Folgenden beschrieben, berücksichtigt werden.

Berücksichtigung der Selbstbeschattung

Die Selbstbeschattung der Biomasse kann mit zunehmender Kultivierungszeit in Abhängigkeit der im Reaktionsraum vorherrschenden Biomassekonzentration berücksichtigt werden. Die räumlich unterschiedliche Lichtintensität im Reaktionsraum wird dann über ein Absorptionsmodell (z.B. Lambert-Beer-Modell) beschrieben. Durch Integration über die Eindringtiefe wird der Mittelwert der Lichtintensität in Abhängigkeit der Biomassekonzentration über den Reaktionsraum berechnet. Diese Methode wird in der Literatur sehr oft beschrieben (Béchet et al. 2013) und ist für das Lambert-Beer-Modell im Folgenden dargestellt und kann angewendet werden, wenn das Produkt aus Extinktionskoeffizient, Biomassekonzentration und Schichtdicke im Exponent der Exponentialfunktion nicht groß ist (Kapitel 2.3).

$$I = I_0 \cdot e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot \Delta x)}$$

$$\bar{I} = I_0 \frac{\int_{x=0}^{\Delta x} e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot \Delta x)} dx}{\int_{x=0}^{\Delta x} dx} = \frac{I_0}{\Delta x} \cdot \frac{e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot \Delta x)}}{-\varepsilon \cdot c_x} \Bigg|_{x=0}^{\Delta x}$$

$$\bar{I} = \frac{I_0}{\Delta x \cdot \varepsilon \cdot c_x} \cdot (1 - e^{-\varepsilon \cdot c_x \cdot \Delta x})$$

**Glg. 15**

Formeln mit: eingestrahle Lichtintensität  $I_0$  und Lichtintensität in Zellsuspension  $I$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  in  $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ , Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g}_x \text{L}^{-1}$ , Eindringtiefe  $\Delta x$  in cm.

**Fall 1: Mittlere spezifische Wachstumsrate aus mittlerer Lichtintensität  $\mu(\bar{I}(c_x(t)))$** 

Wird nun die in Glg. 15 berechnete mittlere Lichtintensität im Reaktionsraum in die Reaktionskinetik nach Glg. 14 eingesetzt, kann die Wachstumsrate nach Glg. 16 berechnet werden. Der Term für die Inhibierung wurde dabei ausgeschlossen, da bei den in dieser Arbeit eingesetzten Lichtintensitäten  $I_0$  von weniger als  $1250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  der Einfluss des Inhibierungsterms unter 1 % beträgt und damit vernachlässigt werden kann.

$$\mu(I) = 0 \quad \text{für } \bar{I} \leq K_{\text{KI}}$$

$$\mu(I) = \mu_{\text{max}} \cdot \left[ \frac{\frac{I_0}{\Delta x \cdot \varepsilon \cdot c_x} \cdot (1 - e^{-\varepsilon \cdot c_x \cdot x}) - K_{\text{KI}}}{\frac{I_0}{\Delta x \cdot \varepsilon \cdot c_x} \cdot (1 - e^{-\varepsilon \cdot c_x \cdot x}) + K_{\text{SI}} - 2K_{\text{KI}}} \right] \quad \text{für } \bar{I} \geq K_{\text{KI}}$$

**Glg. 16**

Formeln mit: spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$ , maximale spezifische Wachstumsrate  $\mu_{\text{max}}$  in  $\text{d}^{-1}$ , eingestrahle Lichtintensität  $I_0$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Halbsättigungslichtintensität  $K_{\text{SI}}$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Kompensationslichtintensität  $K_{\text{KI}}$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  in  $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ , Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g}_x \text{L}^{-1}$ , Eindringtiefe  $\Delta x$  in cm.

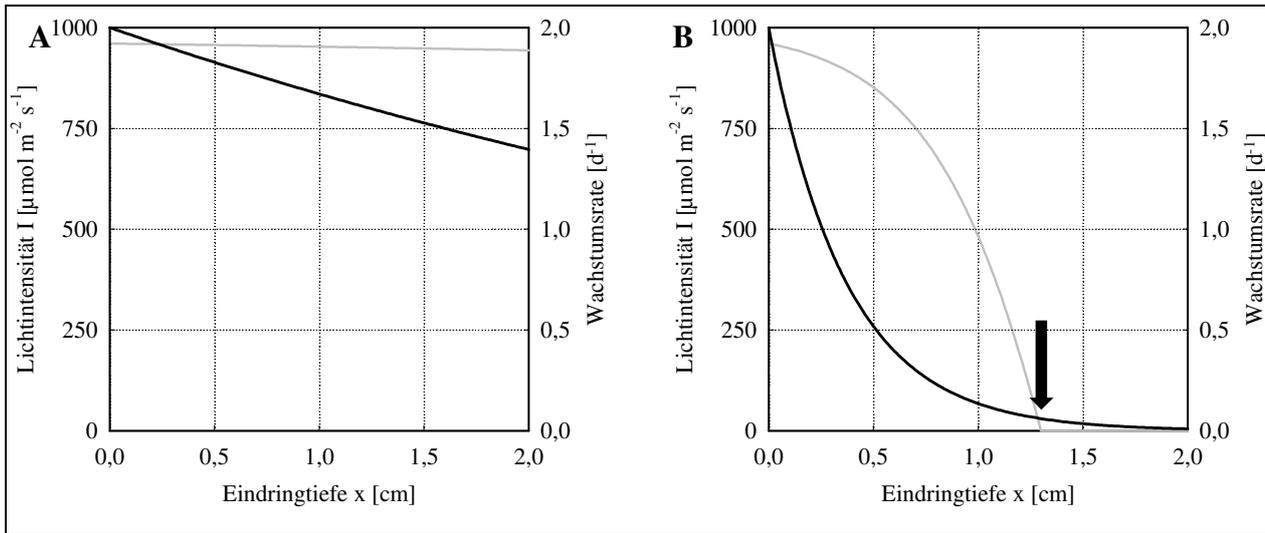
Mit zunehmender Kultivierungszeit und somit steigender Biomassekonzentration wird demzufolge die Wachstumsrate immer weiter abnehmen, da die mittlere Lichtintensität im Reaktionsraum durch die zunehmende Selbstbeschattung durch die Biomasse abnimmt. Fällt die mittlere Lichtintensität unter die Kompensationslichtintensität, so steht nicht mehr ausreichend Energie für das phototrophe Wachstum zur Verfügung und das Wachstum kommt zum Erliegen ( $\mu=0$ ).

Der Vorteil dieser Berechnungsweise besteht darin, dass die zunehmende Absorption der Biomasse über die Kultivierungszeit berücksichtigt wird. Die für die phototrophen Organismen verfügbare Lichtintensität im Reaktionsraum nimmt folglich mit zunehmender Biomasse ab. Es werden dadurch im Vergleich zur Berechnung der Wachstumsrate ohne Berücksichtigung der Selbstbeschattung realistische und mit zunehmender Biomassekonzentration abnehmende Werte für die Wachstumsrate erhalten. Dies resultiert in einem limitierten Verlauf der Biomassekonzentrationen und ein unlimitierter exponentieller Verlauf wird vermieden. Prozesse in Photobioreaktoren mit industriell relevanten Biomassekonzentrationen können somit besser beschrieben werden. Diese Methode ist einfach zu berechnen und wird in der Literatur auch sehr oft zur Beschreibung phototropher Kultivierungen angewandt (Ogbonna et al. 1995; Grima et al. 1994; Lee et al. 1987). Es handelt sich dabei jedoch nur um eine vereinfachte Betrachtungsweise und es kommt zu Abweichungen von realen Prozessverläufen, da selbst bei hohen Biomassekonzentrationen im vorderen Bereich der Schichtdicke noch Lichtintensitäten auftreten, welche ein Wachstum ermöglichen, wodurch die Wachstumsrate über den gesamten betrachteten Reaktionsraum nicht null wird.

### **Fall 2: Mittlere spezifische Wachstumsrate aus lokaler Lichtintensität $\bar{\mu}(I(x, c_x(t)))$**

Eine wesentlich präzisere Betrachtung stellt die über die gesamte Schichtdicke gemittelte spezifische Wachstumsrate in Abhängigkeit der von der Biomassekonzentration abhängenden Lichtintensität dar. Ausgehend vom Absorptionsmodell (hier Lambert-Beer-Modell) wird dafür über die Eindringtiefe hinweg je nach vorherrschender Lichtintensität die örtlich vorherrschende Wachstumsrate berechnet und diese anschließend über den Reaktionsraum gemittelt.

Die Berechnung erfolgt durch Integration der von der Lichtintensität abhängigen Reaktionskinetik für die Wachstumsrate über die Eindringtiefe geteilt durch die Eindringtiefe, wobei bei der Integration die Unstetigkeitsstelle, bei der die im Reaktionsraum vorherrschende Lichtintensität am Punkt  $\Delta x_{\max}$  der Schichtdicke die Kompensationslichtintensität unterschreitet, zu beachten ist (Abbildung 16).



**Abbildung 16: Lichtintensität und Wachstumsrate mit zunehmender Eindringtiefe**

Modellierung der Lichtintensität  $I$  (schwarze Linie) und der spezifischen Wachstumsrate  $\mu$  (graue Linie) in Abhängigkeit der Eindringtiefe  $\Delta x$  nach Fall 2 bei phototropher Kultivierung im Flat-Panel-Photobioreaktor für  $I_0 = 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ( $\mu_{\text{max}} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,  $K_{\text{SI}} = 70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $K_{\text{KI}} = 30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $\varepsilon = 1,8 \text{ L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) für eine Biomassekonzentration von  $0,1 \text{ g L}^{-1}$  (A) und  $1,5 \text{ g L}^{-1}$  (B); der schwarze Pfeil markiert den Punkt an dem die Lichtintensität die Kompensationslichtintensität unterschreitet

Die analytische Lösung des Integrals ergibt zwei Lösungen siehe Glg. 17 und 18:

- Berechnung der mittleren Wachstumsrate  $\bar{\mu}$ :

$$\bar{\mu} = \frac{\int_{x=0}^{\Delta x_{\text{max}}} \mu(x) dx}{\int_{x=0}^{\Delta x} x dx} = \frac{\int_{x=0}^{\Delta x_{\text{max}}} \mu(I(c_x)) dx}{\Delta x}$$

- Verknüpfung des Lambert-Beer-Modells mit Reaktionskinetik nach Glg. 14 ohne Berücksichtigung der Gamma-Funktion der Inhibition (Erklärung siehe Text unten):

$$\bar{\mu} = \frac{\mu_{\text{max}}}{\Delta x} \cdot \int_{x=0}^{\Delta x_{\text{max}}} \frac{I_0 \cdot e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot \Delta x)} - K_{\text{KI}}}{I_0 \cdot e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot \Delta x)} - K_{\text{KI}} + K_{\text{SI}} - K_{\text{KI}}} dx$$

- Analytische Lösung nach Integration unter Beachtung der Unstetigkeitsstelle:

$$\bar{\mu} = \mu_{\text{max}} \cdot \left[ \frac{(K_{\text{SI}} - K_{\text{KI}}) \cdot \ln \frac{I_0 + K_{\text{SI}} - 2K_{\text{KI}}}{I_0 \cdot e^{(-\varepsilon \cdot c_x \cdot \Delta x)} + K_{\text{SI}} - 2K_{\text{KI}}} - \frac{K_{\text{KI}}}{K_{\text{SI}} - 2K_{\text{KI}}}}{\varepsilon \cdot c_x \cdot \Delta x \cdot (K_{\text{SI}} - 2K_{\text{KI}})} \right] \text{ für } \frac{\ln \frac{I_0}{K_{\text{KI}}}}{\varepsilon \cdot c_x} \geq \Delta x \quad \text{Glg. 17}$$

$$\bar{\mu} = \mu_{\text{max}} \cdot \left[ \frac{(K_{\text{SI}} - K_{\text{KI}}) \cdot \ln \frac{I_0 + K_{\text{SI}} - 2K_{\text{KI}}}{K_{\text{SI}} - K_{\text{KI}}} - \frac{K_{\text{KI}} \cdot \ln \frac{I_0}{K_{\text{KI}}}}{\varepsilon \cdot c_x \cdot \Delta x \cdot (K_{\text{SI}} - 2K_{\text{KI}})} \right] \text{ für } \frac{\ln \frac{I_0}{K_{\text{KI}}}}{\varepsilon \cdot c_x} < \Delta x \quad \text{Glg. 18}$$

Formeln mit: mittlere spezifische Wachstumsrate  $\bar{\mu}$  in  $\text{d}^{-1}$ , maximale spezifische Wachstumsrate  $\mu_{\text{max}}$  in  $\text{d}^{-1}$ , einstrahlte Lichtintensität  $I_0$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Halbsättigungslichtintensität  $K_{\text{SI}}$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Kompensationslichtintensität  $K_{\text{KI}}$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , Extinktionskoeffizient  $\varepsilon$  in  $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ , Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g L}^{-1}$ , Eindringtiefe  $\Delta x$  in cm.

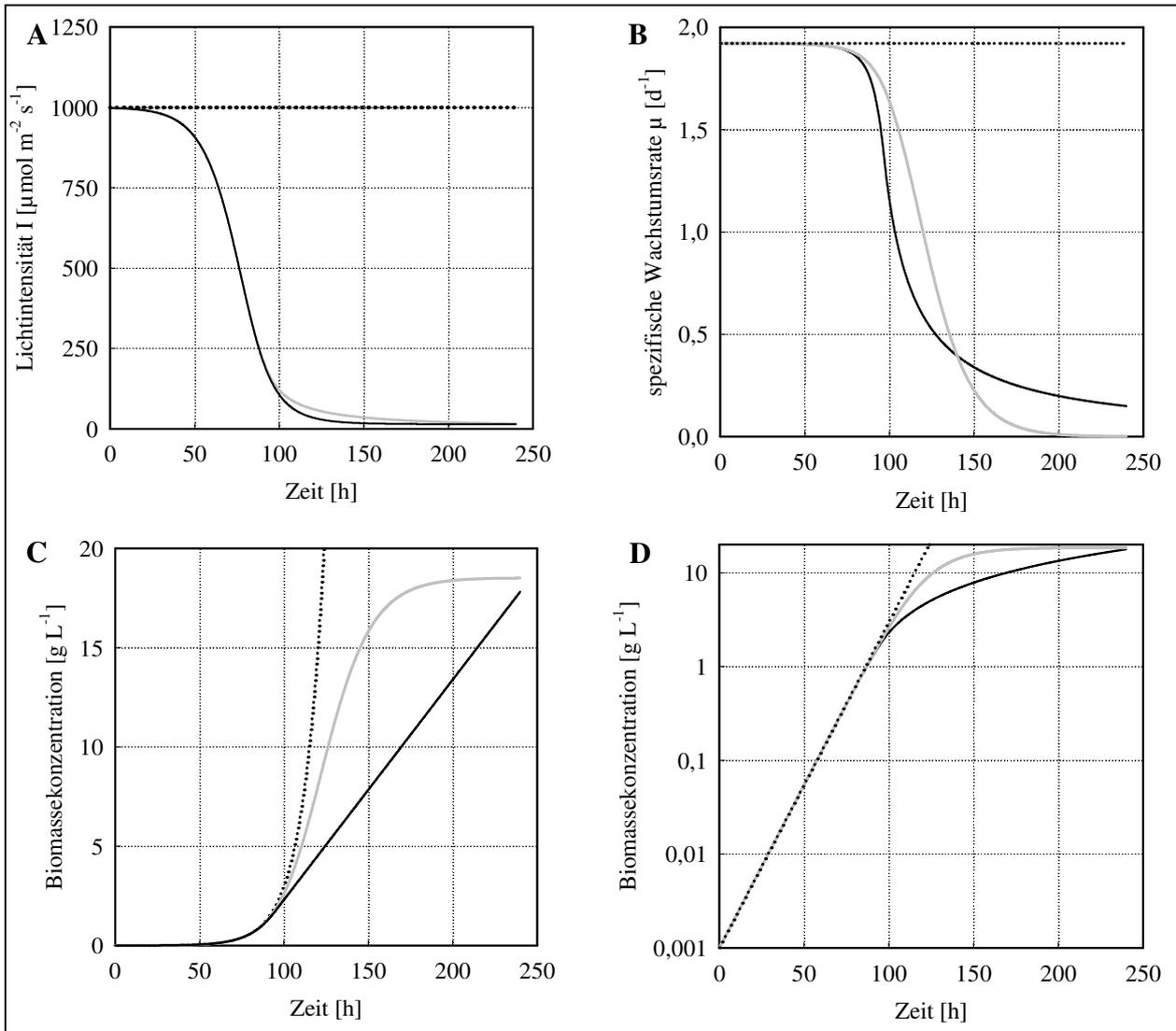
Im Modell wird die Unstetigkeitsstelle anhand der Biomassekonzentration verankert, da diese sich über die Zeit ändert und die Lichtintensität im Reaktionsraum beeinflusst. Wird die Biomassekonzentration erreicht, bei welcher die Lichtintensität die Kompensationslichtintensität unterschreitet, wird Glg. 18 angewandt, in allen anderen Fällen gilt Glg. 17. Zur Vereinfachung des Modells und der Integration wird der Term für die Inhibierung vernachlässigt. Dies ist zulässig, solange die eingestrahle Lichtintensität  $I_0$  geringer als  $1250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ist, da die Abweichung des Modells ohne die Inhibierung in diesem Bereich unter 1% verglichen mit Berücksichtigung der Inhibierung liegt.

Die analytische Lösung des Integrals wurde mit dem numerisch gelösten Ergebnis verglichen und bestätigt. Dadurch kann die Auswirkung der sich ändernden Lichtintensität auf die Wachstumsrate durch die Selbstbeschattung der Biomasse mit zunehmender Kultivierungszeit in Abhängigkeit der Biomassekonzentration berücksichtigt werden. Es ergibt sich im Prozessverlauf mit zunehmender Biomassekonzentration der real in Photobioreaktorkultivierungen beobachtete lichtlimitierte lineare Wachstumsverlauf. Denn selbst bei sehr hoher Selbstbeschattung herrscht im vorderen Bereich der Eindringtiefe eine noch ausreichende Lichtintensität, so dass die phototrophen Zellen in diesem Bereich wachsen können und somit die über den gesamten Reaktionsraum gemittelte Wachstumsrate nicht auf null absinkt. Der Autorin sind keine Quellen bekannt, welche diese Berechnung publizieren.

### Vergleich der Prozessmodelle

Die Prozessmodelle wurden für eine Kultivierung mit einer Lichtintensität im Sättigungsbereich berechnet. Die Verläufe der Lichtintensität, der Wachstumsrate und der Biomasse sind mit und ohne Berücksichtigung der Selbstbeschattung über der Kultivierungszeit in Abbildung 17 für Lichtintensitäten von  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Mittelwert für sonnigen Tag in Mitteleuropa) und in Abbildung 18 für  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (übliche Lichtintensität von Leuchtstoffröhren) dargestellt.

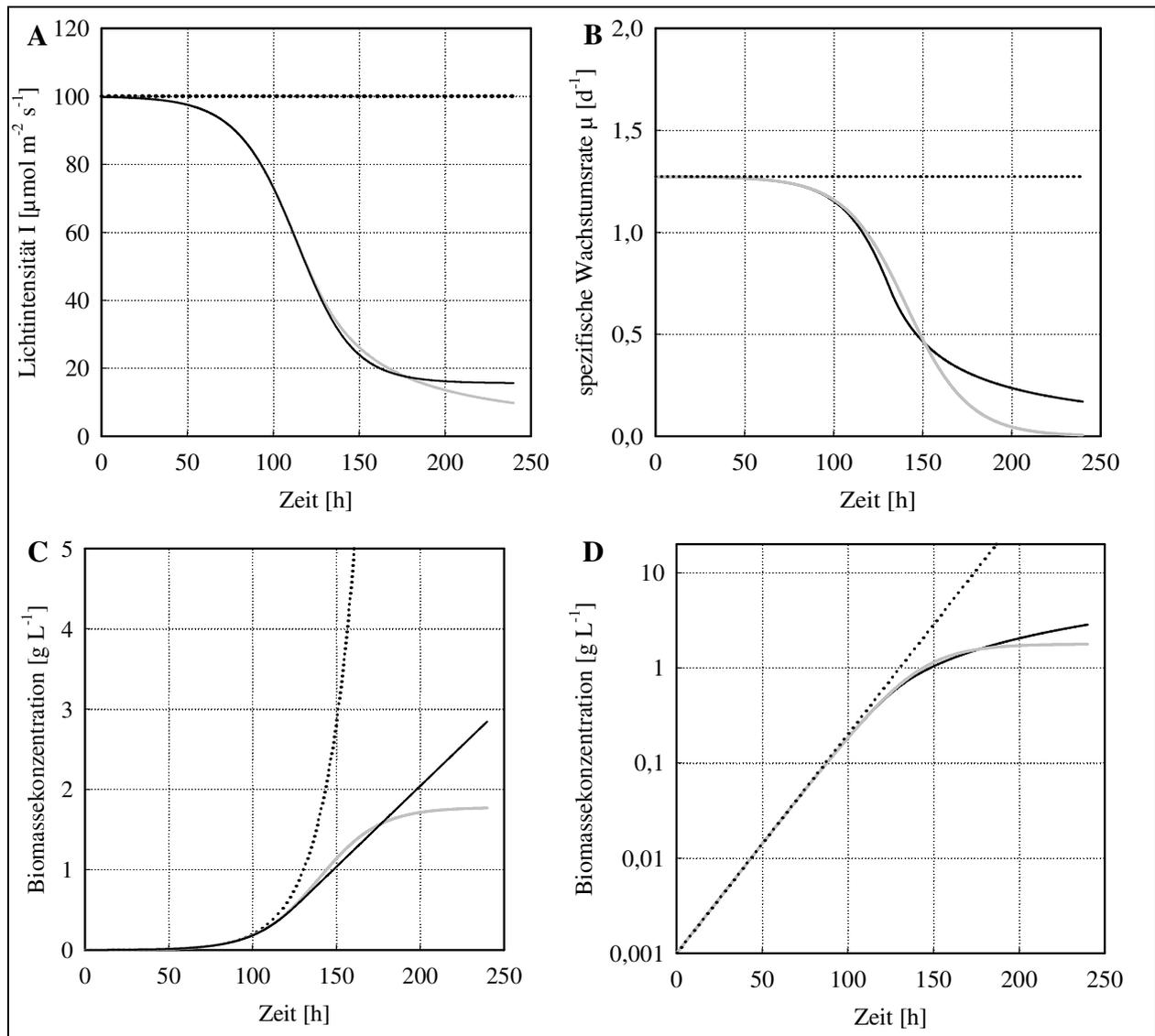
In Abbildung 17A und 18A sind die berechneten Lichtintensitäten im Reaktionsraum über der Kultivierungszeit zu sehen. Wird die Selbstbeschattung nicht einbezogen, so ist die Lichtintensität über den gesamten Kultivierungszeitraum hinweg gleichbleibend der eingestrahelten Lichtintensität, was nur in wenigen speziellen Fällen realistisch ist. Bei den Berechnungen mit Berücksichtigung der Selbstbeschattung ist die Lichtintensität bereits zu Beginn der Kultivierung geringer als im Referenzfall, da die Absorption der inokulierten Biomasse berücksichtigt wird. Mit zunehmender Kultivierungszeit nimmt bei diesen Fällen auch die Lichtintensität stark über die Kultivierungszeit ab, da die entstehende Biomasse zunehmend Photonen absorbiert. Dies veranschaulicht den in den meisten Photobioreaktoren vorherrschenden Prozess.



**Abbildung 17: Vergleich der Bioreaktormodelle für  $I_0 = 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$**

Modellierung der Lichtintensität  $I$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (A), der spezifischen Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$  (B), und der Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g L}^{-1}$  (C, D) in Abhängigkeit der Zeit bei phototropher Kultivierung im Flat-Panel-Photobioreaktor für  $I_0 = 1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ( $\mu_{\text{max}} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,  $K_{SI} = 70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $K_{KI} = 30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $\Delta x = 1 \text{ cm}$ ,  $\varepsilon = 1,8 \text{ L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ); Berechnung ohne Berücksichtigung der Selbstbeschattung (Punktlinien), mit Berücksichtigung der Selbstbeschattung über  $\mu(\bar{I}(c_x(t)))$  (Fall 1, graue Linie) bzw. über  $\bar{\mu}(I(x, c_x(t)))$  (Fall 2, schwarze Linie)

Es zeigen sich durch die unterschiedlichen Lichtintensitäten während der Kultivierung eine deutliche Abweichung im Verlauf der spezifischen Wachstumsrate (Abbildung 17B, 18B) sowie der Biomassekonzentration (Abbildung 17C, D, 18C, D). Ohne Berücksichtigung der Selbstbeschattung wachsen die Zellen über den gesamten Kultivierungszeitraum mit maximaler Wachstumsrate, woraus ein exponentieller Verlauf mit extrem hoher finaler Biomassekonzentration resultiert. Unter Berücksichtigung der Selbstbeschattung sinkt die Wachstumsrate mit zunehmender Kultivierungszeit durch die abnehmende Lichtintensität im Zuge der zunehmenden Absorption der Biomasse ab.



**Abbildung 18: Vergleich der Bioreaktormodelle für  $I_0 = 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$**

Modellierung der Lichtintensität  $I$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (A), der spezifischen Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$  (B), und der Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g L}^{-1}$  (C, D) in Abhängigkeit der Zeit bei phototropher Kultivierung im Flat-Panel-Photobioreaktor für  $I_0 = 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ( $\mu_{\max} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,  $K_{SI} = 70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $K_{KI} = 30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $\Delta x = 1 \text{ cm}$ ,  $\varepsilon = 1,8 \text{ L/g/cm}$ ); Berechnung ohne Berücksichtigung der Selbstbeschattung (Punktlinien), mit Berücksichtigung der Selbstbeschattung über  $\mu(\bar{I}(c_x(t)))$  (Fall 1, graue Linie) bzw. über  $\bar{\mu}(I(x, c_x(t)))$  (Fall 2, schwarze Linie)

Nach Berechnung nach Fall 2 zeigt sich eine stärkere Abnahme der Lichtintensität und somit folglich der Wachstumsrate als nach Fall 1 im Bereich der mittleren Kultivierungszeit; im späteren Verlauf ab ca. 200 h verläuft die Wachstumsrate nach Fall 2 jedoch noch deutlich über derer nach Fall 1. Dies entspricht auch dem real anzunehmenden Verlauf, da die zunehmende Selbstbeschattung der Biomasse eine immer geringer werdende verfügbare Lichtintensität im Reaktionsraum bewirkt. Es werden geringe finale Biomassekonzentrationen erreicht, wobei sich allerdings Fall 1 und 2 ebenfalls deutlich unterscheiden. Fall 2 zeigt nach ca. 100 h Kultivierung einen linearen, lichtlimitierten Verlauf im Gegensatz zu Fall 1, bei welchem eine degressive Zunahme zu erkennen ist. Auffällig ist beim Vergleich der Abbildungen 17 und 18, dass durch die

reduzierte Lichtintensität in Abbildung 18 wesentlich geringere Wachstumsraten und Biomassekonzentrationen erreicht werden. Die Modellierung der Beleuchtung mit einer Lichtintensität von  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zeigt jedoch im Wesentlichen einen ähnlichen Verlauf der Werte wie bei Beleuchtung mit  $1000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Zu beachten ist, dass die Wachstumsrate im späteren Kultivierungsverlauf in realen Prozessen wahrscheinlich durch Limitation anderer Nährstoffe oder Einflüsse (z.B. pH-Wert) abnimmt. Dabei würde es dann zu einem Abknicken des linearen Biomassewachstums in Fall 2 kommen.

Während der Betrachtung all dieser Diagramme ist zu beachten, dass die Modelle nur statische Bedingungen in der phototrophen Zellsuspension berücksichtigen. Wird Durchmischung des Photobioreaktors angenommen, kommt es unweigerlich dazu, dass die einzelnen Zellen durch den räumlichen Lichtgradienten bewegt werden. Dies führt dazu, dass sie jeweils sehr individuellen Lichtintensitäten bis hin zu Hell-Dunkel-Zyklen unbestimmten Ausmaßes ausgesetzt sind. Dadurch kann die Kinetik beeinflusst werden, jedoch ist der Wissensstand in diesem Bereich sehr gering und heterogen (Kapitel 2.3), so dass keinen verlässlichen Daten und Modelle verfügbar sind und die vereinfachten statischen Modelle angenommen werden müssen.

#### **5.1.4 Fazit**

Es wurde ein Modell entwickelt, welches die Beschreibung der Verhältnisse in phototrophen Kulturen erlaubt. Die Reaktionskinetik wird mit einem erweiterten Baly-Modell beschrieben, das die Absenkung der Wachstumsrate auf null unterhalb der Kompensationslichtintensität sowie die Hemmung des Wachstums durch hohe Lichtintensitäten berücksichtigt. Der limitierende und inhibierende Einfluss des Lichts wurde nach dem Gamma-Prinzip miteinander verknüpft. Solange die Lichtintensität nicht zu hoch ist ( $< 1250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), ist der inhibierende Effekt vernachlässigbar. In Bioreaktormodellen zur Beschreibung praxisrelevanter Situationen muss die Selbstbeschattung unbedingt berücksichtigt werden, da bereits relativ geringe Biomassekonzentrationen zu einem ausgeprägten räumlichen Lichtgradient mit lokal unterschiedlichen Wachstumsraten führt. Die Wirkung der Selbstbeschattung auf die Wachstumsrate und damit auf die Biomassebildung kann auf zweierlei Weise berücksichtigt werden:  $\mu(\bar{I}(c_x(t)))$  bzw.  $\bar{\mu}(I(x, c_x(t)))$ . Entweder wird  $\mu$  aus der räumlich gemittelten Lichtintensität berechnet, oder  $\mu$  ergibt sich als gemittelter Wert aus der räumlich unterschiedlichen Lichtintensität. Die Simulationsergebnisse zeigen deutliche Unterschiede für diese zwei Modellansätze, wobei die Rechnung mit  $\bar{\mu}(I(x, c_x(t)))$  die Realität besser abbildet. Das Modell wird genutzt, um die experimentell erhaltenen Kultivierungsverläufe im Schüttelkolben und der Blasensäule zu simulieren. Die Simulationsergebnisse zeigen auch, dass bei geringen Biomassekonzentrationen im Flat-Panel-Photobioreaktor die Selbstbeschattung vernachlässigbar ist.

## 5.2 Vergleich Photobioreaktoren

Die wachstumskinetischen Untersuchungen phototropher Organismen müssen unter definierten Bedingungen durchgeführt werden. Photobioreaktoren sollten deshalb eine maximale Anzahl an Anforderungen, die in der Zielstellung bereits erläutert wurden, erfüllen. Es wurden dazu in dieser Arbeit kommerzielle Photobioreaktorsysteme im Labormaßstab und Entwicklungen in der Literatur recherchiert und hinsichtlich ihrer Eignung für reaktionskinetische Untersuchungen bewertet.

### 5.2.1 Kommerzielle Systeme

Es existiert eine Reihe von verschiedenartigen Photobioreaktorsystemen auf dem Markt, aus denen ausgewählt werden kann. Es wurde nach kommerziellen Photobioreaktorsystemen recherchiert und eine Übersicht über die Möglichkeiten (Schüttelkolben in Inkubator, Rührreaktor, Rohrreaktor, Blasensäule, Flat-Panel-Reaktor und Wave-Bag) erstellt. Dann wurden die jeweiligen Systeme hinsichtlich ihrer Eignung für reaktionskinetische Untersuchungen mit den Zielstellungen in dieser Arbeit bewertet (Tabelle 8). Diese Bewertung wurde farblich nach folgenden Kriterien kategorisiert: grün - Vorteile, gelb - tolerierbare Nachteile, rot - nicht tolerierbare Nachteile. Alle betrachteten Systeme wiesen verschiedene Vor- und Nachteile auf; es konnte kein optimales Reaktorsystem ermittelt werden.

Schüttelkolben sind das Standardwerkzeug der Biotechnologie und ermöglichen sehr schnell und einfach Biomasse zu generieren ([Winkler et al. 2014](#)). Meist werden die ersten Kultivierungsversuche in Schüttelkolben durchgeführt, weswegen sie auch für Untersuchungen phototropher Organismen als Reaktionsraum in Frage kommen. Ebenso ermöglichen Schüttelkolben besonders gut den für die Photosynthese notwendigen Gasaustausch (Eintrag von Kohlendioxid und Austrag von Sauerstoff) ([Socher et al. 2014](#)). Allerdings sind Sensoren zur Erfassung reaktionskinetischer Parameter am Schüttelkolben nur eingeschränkt verfügbar ([Winkler et al. 2014](#)). Ebenso gestaltet sich die Beleuchtung eines Schüttelkolbens schwierig. Erstens befindet sich ein Stopfen auf dem Kolben, welcher Beschattung bei Beleuchtung von oben bewirken kann ([Socher et al. 2014](#)). Zweitens bildet das Flüssigkeitsvolumen im Kolben während der orbitalen Bewegung zur Durchmischung die Form eines permanent überströmten Paraboloides aus ([Büchs et al. 2007](#)), weswegen keine definierte Schichtdicke besteht. Es müssen demzufolge günstige Beleuchtungskonzepte gewählt werden.

Kommerziell verfügbare Schüttelinkubatorsysteme ermöglichen momentan nur die Beleuchtung der Schütteltable von oben in herkömmlichen Inkubatoren. Meist ist erstens nur eine einzige und geringe Lichtintensität einstellbar, und zweitens die Beleuchtung der Schüttelkolben an sich und über das gesamte Schütteltable betrachtet undefiniert und heterogen. Drittens ist die Sen-

sorik in solchen Systemen zur Untersuchung des Wachstums auf manuelle Probenahme aus den Kolben beschränkt und viertens eignen sie sich nur äußerst bedingt für kontinuierliche Kultivierungen. Das Respiration Activity MONitoring System, kurz RAMOS (Hi-Tec Zang GmbH, Herzogenrath, Deutschland) ermöglicht allerdings permanente Messungen an Schüttelkolben, indem der Sauerstoffpartialdruck und Gesamtdruck im Gasraum des Kolbens gemessen werden (Anderlei und Büchs 2001). Die Sauerstoffproduktion kann somit beobachtet werden, weshalb das System zur Untersuchung phototropher Organismen von Interesse ist. Allerdings existiert noch keine kommerziell verfügbare Beleuchtung für dieses System, weshalb eine Entwicklung einer Beleuchtungseinheit notwendig ist.

Rührreaktoren sind ebenfalls Standardreaktoren in Laboren, in denen die Durchmischung, der Gasaustausch sowie Sensorik gegeben sind, ebenso eignen sie sich sehr gut für kontinuierliche Kultivierungen (Chmiel 2006). Allerdings führt der gekrümmte Reaktionsraum mit großem Durchmesser zu einer sehr heterogenen Lichtverteilung, weswegen sie sich weniger für reaktionskinetische Untersuchungen eignen.

Rohrreaktoren bieten geringere Schichtdicken allerdings bildet sich durch den gekrümmten Rohrdurchmesser trotzdem ein im Innern zunehmender Lichtgradient aus und die, meist per Umwälzung mittels Pumpe realisierte Durchmischung geht mit Konzentrationsgradienten und hohen Scherkräften einher. Letzteres könnte sich besonders auf das Wachstum von Cyanobakterien, die aus Trichomen bestehen, negativ auswirken. Ebenso ist eine Sauerstoffanreicherung über die Rohrlänge denkbar, so dass toxische Effekte des akkumulierten Sauerstoffs die Untersuchung negativ beeinflussen könnten (Carlozzi et al. 2005; Carlozzi 2000). Des Weiteren sind eine kontinuierliche Kultivierung und der Einbau von Sensoren nur eingeschränkt möglich. Aufgrund dieser Nachteile eignen sich Rohrreaktoren nicht für die in dieser Arbeit geplanten kinetischen Untersuchungen.

Blasensäulen stellen ein oftmals für phototrophe Organismen genutztes Kultivierungssystem dar (Posten 2009; Eriksen 2008b; Pulz 2001). Sie bieten aufgrund ihrer pneumatischen Durchmischung durch Begasung einen sehr guten Gasaustausch und geringen Scherstress und können kontinuierlich und mit ausreichend Sensorik betrieben werden. Wurde ein zu großer Durchmesser bei einer Blasensäule gewählt, können auch Nachteile während der Kultivierung entstehen, da der Reaktionsraum eine heterogene Lichtverteilung aufweist. Zudem ist der Reaktionsraum wie bei den Rührreaktoren gekrümmt, was die Beschreibung der Lichtverteilung im Inneren erschwert. Blasensäulen eignen sich demzufolge bedingt für reaktionskinetische Untersuchungen.

Flat-Panel-Reaktoren zeichnen sich dadurch aus, dass sie die größtmögliche Anzahl an Zielstellungen dieser Arbeit erfüllen. Eine Durchmischung durch Begasung und konstruktive Maßnah-

men ermöglichen Homogenität der Biomasse und Nährstoffe. Sensorik ist ebenfalls in diese Systeme leicht integrierbar und sie können für kontinuierliche Kultivierung genutzt werden. Sie gestatten aufgrund ihrer definierten Geometrie mit geringen und einheitlichen Durchmessern eine homogene Beleuchtung des Reaktionsraumes und sind somit für reaktionskinetische Untersuchungen sehr gut geeignet.

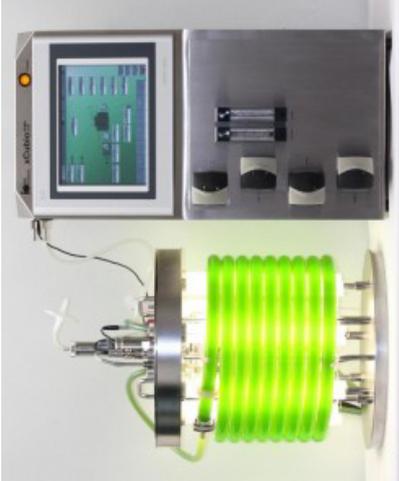
Wave-Bag-Reaktoren bieten in erster Linie kurze Rüstzeiten, da die Bags steril angeboten werden. Allerdings weisen sie für reaktionskinetische Untersuchungen eine Reihe an Nachteilen auf. Einerseits ist die Strömungsbeschreibung bisher nur wenig untersucht, da die Bags eine ungewöhnliche und nicht orthogonale Geometrie besitzen und noch zusätzlich reziprok oder orbital durchmischt werden (Werner et al. 2014; Öncül et al. 2010). Deshalb kann der Reaktionsraum nicht homogen beleuchtet werden. Ebenso könnte bei phototropher Kultivierung Photoleaching, d.h. die Migration von Stoffen aus dem Bag-Material in das Kulturmedium, durch die Bestrahlung vermehrt stattfinden, was die Organismen negativ beeinträchtigen könnte. Dies wurde noch nicht explizit untersucht, jedoch zeigen eine Reihe an Publikationen, dass Migration von bioaktiven Molekülen aus Laborplastiken vorkommt (Olivieri et al. 2012; McDonald et al. 2008).

Im Rahmen dieser Arbeit sollten nach Betrachtung und Abwägung der jeweiligen Vor- und Nachteile folgende Photobioreaktorsysteme für kinetische Untersuchungen getestet werden. Erstens sollen Schüttelkolben aufgrund ihrer universellen Einsetzbarkeit getestet werden, wobei ein kommerzieller und intern mit Leuchtstoffröhren beleuchteter Schüttelinkubator und das RAMOS zum Einsatz kommen sollen. Da für das RAMOS mit seiner vielversprechenden Sensorik noch keine Beleuchtung zur Kultivierung phototropher Organismen zur Verfügung steht, muss eine entsprechende Einheit ausgelegt werden. Dann soll das klassische System einer extern mit Leuchtstoffröhren beleuchteten Blasensäule eingesetzt werden.

Aufgrund seiner zahlreichen Vorteile scheint ein Flat-Panel-Reaktor für reaktionskinetische Untersuchungen geeignet und soll ggf. eingesetzt werden, wenn die genannten Systeme keine befriedigenden Ergebnisse liefern. Die Nachteile der Rühr-, Rohr- und Wave-Bag-Reaktoren sind für die in dieser Arbeit geplanten Untersuchungen nicht tolerierbar, weshalb diese Systeme ausscheiden.

**Tabelle 8: Kommerzielle Kultivierungssysteme für phototrophe Organismen und Bewertung**

Bewertung hinsichtlichlich Eignung für reaktionskinetische Untersuchungen (grün - Vorteile, gelb - tolerierbare Nachteile, rot - nicht tolerierbare Nachteile)

System	Schüttelkolben	Rührreaktor	Rohrreaktor
<b>Hersteller/ Beispiel</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Inkubationsschüttler wie z.B.:</li> <li>▪ Minitron / Multitron mit Photosyntheseeinheit (Infors HT, Bottmingen, Schweiz)</li> <li>▪ RAMOS (Hi-Tec Zang GmbH, Herzogenrath, Deutschland)</li> </ul> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ extern beleuchtet: Labfors 5 Lux LED (Infors HT, Bottmingen, Schweiz)</li> <li>▪ intern beleuchtet: DASGIP PBR (Eppendorf GmbH, Hamburg, Deutschland)</li> </ul> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ xCUBIO (bbi biotech, Berlin, Deutschland)</li> </ul> 
<b>Homogenität/ Durchmischung</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sehr gut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sehr gut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ mittel</li> </ul>
<b>Kontinuierliche Kultivierung</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Eingeschränkt möglich</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ möglich</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ eingeschränkt möglich</li> </ul>
<b>O<sub>2</sub>-Austrag</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sehr gut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sehr gut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ schlecht</li> </ul>
<b>Sensorik</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ teilweise</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ vorhanden</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ teilweise</li> </ul>
<b>Homogenität Beleuchtung</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Nein, da unzureichende oder nicht vorhandene Beleuchtungseinheiten</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ nein</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ja</li> </ul>
<b>Geringe/definierte Schichtdicke</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ nein</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ nein</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ ja</li> </ul>
<b>Variation Licht</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ teilweise</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ teilweise</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ teilweise</li> </ul>

Bildquelle 7

Bildquelle 2

Bildquelle 3

System	Blasensäule	Flat-Panel-Reaktor	Wave-Bag-Reaktor
<b>Hersteller/ Beispiel</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Extern beleuchtet z.B.:</li> <li>MS Photo 15 von Molsurf (Dresden, Deutschland)</li> </ul> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Labfors 5 Lux LED (Infors HT, Bottmingen, Schweiz)</li> </ul> 	<ul style="list-style-type: none"> <li>Applikon PhotoBioSU (Applikon, Delft, Niederlande)</li> </ul> 
	Bildquelle 4	Bildquelle 5	Bildquelle 6
<b>Homogenität/ Durchmischung</b>	Sehr gut	Sehr gut	mittel
<b>Kontinuierliche Kultivierung</b>	möglich	möglich	eingeschränkt möglich
<b>O<sub>2</sub>-Austrag</b>	Sehr gut	Sehr gut	mittel
<b>Sensorik</b>	vorhanden	vorhanden	teilweise vorhanden
<b>Homogenität Beleuchtung</b>	nein	ja	nein
<b>Geringe/definierte Schichtdicke</b>	nein	ja	nein
<b>Variation Licht</b>	teilweise	teilweise	teilweise

### 5.2.2 Nichtkommerzielle Systeme

Neben kommerziellen Photobioreaktoren existieren noch viele weitere Eigenentwicklungen, welche ebenfalls in der Literatur recherchiert wurde. In den Publikationen wurde eine Vielzahl von sehr unterschiedlich gebauten Systemen (Geometrie und Beleuchtungsquelle) für die Untersuchung des phototrophen Wachstums ermittelt. Oft wurden speziell angefertigte und beleuchtete Schüttelkolben, Flat-Panel-, Zylinder-, Blasensäulen-, Rohr- und Wave-Bag-Bioreaktoren publiziert. Diese Photobioreaktorsysteme wurden in chronologischer Reihenfolge ihrer Veröffentlichung aufgestellt und anschließend wieder hinsichtlich ihrer Vor- und Nachteile für die Ziele reaktionskinetischer Untersuchungen mittels des eingeführten Farbschemas bewertet (Tabelle 9).

Anfangs wurden in der Literatur Kultivierungssysteme zur Untersuchung des Lichteinflusses bestehend aus flachen Schichten entwickelt, wie z.B. speziell angefertigte Flachkolben aus Glas (Tamiya et al. 1953). Später wurden Untersuchungen in flachen Glasflaschen (Roux-bottles wie z.B. bei Aiba und Ogawa (1977)) oder kommerziell verfügbare Plaste-Einweg-Zellkulturflaschen (Yoshimoto et al. 2005) beschrieben. Der Vorteil dieser Eigenentwicklungen besteht im einheitlichen und geringen Durchmesser und im somit relativ gut beleuchtbaren Reaktionsraum; zudem sind Zellkulturflaschen leicht und steril beschaffbar. Allerdings erscheint bei letzterer die Durchmischung des orthogonalen Reaktionsraumes über reziproke oder rotierende Bewegung ungünstig. In eigenen Voruntersuchungen in ähnlichen Zellkulturflaschen wurde auch nachgewiesen, dass die Biomasse nicht ausreichend durchmischt wurde; starke Agglomeration war die Folge (Schott 2013). Des Weiteren ist die Applikation von Sensorik und kontinuierliche Kultivierungsführung in Glas- oder Zellkulturflaschen fast ausgeschlossen. Deshalb scheiden diese Systeme für reaktionskinetische Untersuchungen aus.

Miniaturisierter Flat-Panel-Reaktoren mit LED-Beleuchtung wurden danach zunehmend beschrieben (Xue et al. 2011; Brindley et al. 2011; Vejrazka et al. 2011; Brindley et al. 2010; Katsuda et al. 2006), da diese aufgrund ihrer einheitlichen Schichtdicke über den beleuchteten Kultivierungsraum äußerst geeignet für die phototrophe Kultivierung erscheinen. Die Flat-Panel-Reaktoren bieten neben homogener Durchmischung und Gasaustausch eine definierte und geringe Schichtdicke, was wiederum eine homogene Beleuchtung erlaubt. Ebenso können sie mit Sensorik und Anschlüssen für kontinuierliche Prozessführung ausgestattet werden, weswegen sie äußerst günstig für kinetische Untersuchungen an phototrophen Organismen scheinen.

Des Weiteren wurden herkömmliche und miniaturisierte Blasensäulen (Milligan und Coper 1997; Nedbal et al. 1996), und komplizierter gebaute Rohrreaktor- (Merchuk et al. 1998; Lee und Pirt 1981) und Doppelzylindersysteme (Miller et al. 1964) entworfen und zur Untersuchung von Lichteinflüssen auf unterschiedlichste phototrophe Organismen verwendet. Rotierende

Doppelzylinder bewirken angeblich eine sehr turbulente Durchmischung des Reaktionsraumes (Miller et al. 1964). Dabei ist zu bemerken, dass es sich bei Rohr- und Doppelzylinderreaktoren um sehr fragile und schwer zugängliche Systeme handelt. Rohrreaktoren bergen, wie oben bereits diskutiert, ebenfalls wieder ungünstige Bedingungen hinsichtlich Gasaustausch und Durchmischung.

Einweg-Wave-Bag-Reaktorsysteme mit selbst entwickelter Beleuchtung wurden neben den kommerziell verfügbaren Systemen ebenfalls erfolgreich für phototrophe Kultivierungen eingesetzt und publiziert (Ojo et al. 2014; Lehmann et al. 2013). Es bestehen dabei allerdings wieder die oben bereits diskutierten Nachteile der Bags hinsichtlich heterogener Durchmischung und Beleuchtung, weswegen sie erneut für reaktionskinetische Untersuchungen ausscheiden.

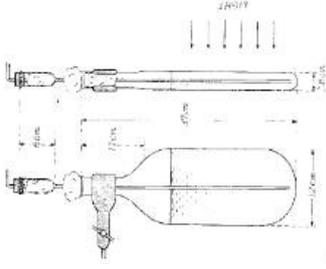
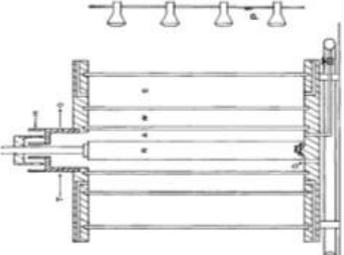
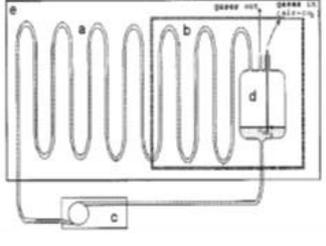
Es wurden daneben Schüttelkolben auf verschiedenen Arten beleuchtet. Einerseits wurden einfache Schüttelkolben in kommerziell verfügbaren Inkubatorsystemen entweder extern von unten und der Seite (Cerff und Posten 2012; Cerff et al. 2009) oder intern (Wang et al. 2007) mit LED beleuchtet. Phototrophe Organismen konnten so leicht in Schüttelkolben durchmischt und kultiviert werden, wobei ein guter Gasaustausch stattfand. Jedoch konnten keine kinetischen Parameter sensorisch erfasst werden und die Beleuchtung war heterogen. Andererseits bestückten Rechmann et al. (2007) das bereits vorgestellte RAMOS mit Leuchtstoffröhren, um die Sensorik des Systems für eine phototrophe Kultivierung zu nutzen. Es ergaben sich allerdings neben den bereits genannten Vorteilen wiederum Nachteile. Die Leuchtstoffröhren waren oberhalb der RAMOS-Kolben angebracht, so dass es zu einer beträchtlichen Verschattung der Kolben durch den Sensorikaufbau, der sich über den Kolben und somit zwischen Lichtquelle und phototropher Zellsuspension befand, kam. Zudem war nur eine Lichtintensität einstellbar.

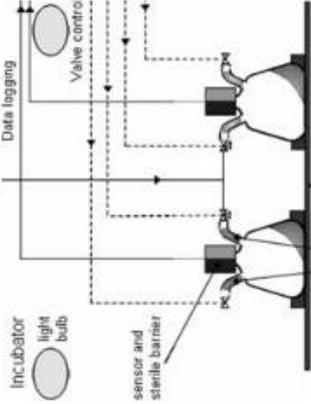
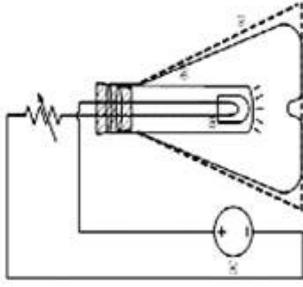
Alle betrachteten Eigenentwicklungen der Literatur weisen ebenfalls wie die kommerziell verfügbaren Photobioreaktoren verschiedenste Vor- und Nachteile auf, so dass keines der betrachteten Kultivierungssysteme ohne weitere Modifikation für reaktionskinetische Untersuchungen nutzbar ist. Die Eigenentwicklung eines Flat-Panel-Reaktors erscheint mit entsprechenden Ausstattungen zur homogenen Beleuchtung und Durchmischung, zum Einbau von Sensorik sowie Zu- und Abläufen für eine kontinuierliche Kultivierungsführung am vielversprechendsten. Die Durchmischung sollte dabei wie bei Xue et al. (2011) durch Begasung und dem daraus resultierendem Airlift-Prinzip realisiert werden. Diese Art der Durchmischung ist einfach zu verwirklichen und bietet Homogenität durch Turbulenz bei entsprechenden Durchströmungsgeschwindigkeiten. Brechung und Reflexion durch die Blasen sollte keinen großen Einfluss auf die Beleuchtung haben.

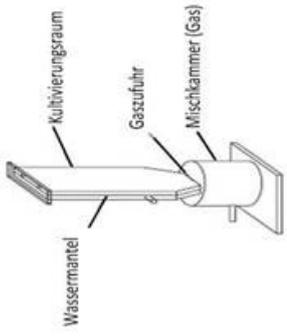
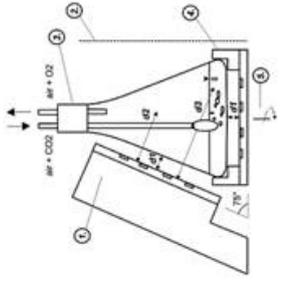
Die Bewertung der Beleuchtung eines eigens entwickelten Reaktors wird aufgrund der großen Bedeutung für eine phototrophe Kultivierung im nachfolgenden Kapitel separat erläutert.

**Tabelle 9: Kultivierungssysteme aus der Literatur für phototrophe Organismen**

Darstellung der in der Literatur recherchierten Konzepte für Photobioreaktoren zur Untersuchung der Abhängigkeit des Wachstums vom Licht in chronologischer Reihenfolge, Bewertung hinsichtlich Eignung für reaktionskinetische Untersuchungen (grün - Vorteile, gelb - tolerierbare Nachteile, rot - nicht tolerierbare Nachteile)

System	Flachgaskolben	Innerlich rotierender Doppelzylinder	Miniaturisierte Blasensäulen	Rohrreaktor teilweise abgedeckt
Darstellung			Nicht verfügbar	
Volumen mL	600	n.a.	30	430
Lichtquelle	Nicht näher spezifizierte Einzellampen	Nicht näher spezifizierte Einzellampen	LED	Leuchtstoffröhren
Organismus	<i>Chlorella ellipsoidea</i>	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	<i>C. vulgaris</i> , <i>S. quadricauda</i> , <i>S. elongatus</i>	<i>Porphyridium</i> sp.
Homogenität/ Durchmischung	■ gut	■ gut	■ gut	■ mittel
Kontinuierliche Kultivierung	■ Bedingt möglich	■ möglich	■ möglich	■ bedingt möglich
O <sub>2</sub> -Austrag	■ gut	■ gut	■ gut	■ schlecht
Sensorik	■ nein	■ nein	■ teilweise	■ bedingt möglich
Homogenität Beleuchtung	■ bedingt	■ nein	■ nein	■ ja
Geringe/definierte Schichtdicke	■ ja	■ ja	■ nein	■ ja
Variation Licht	■ teilweise	■ teilweise	■ teilweise	■ teilweise
Referenz	Tamiya et al. 1953	Miller et al. 1964	Nedbal et al. 1996	Merchuk et al. 1998

System	Plaste-Einweg-Zellkulturflaschen mit rotierender Scheibe abgedeckt	Respiration Activity Monitoring System (RAMOS), Schüttelkolben, Beleuchtung von oben	Schüttelkolben mit interner Beleuchtung
Darstellung			
Volumen mL	900	50	50
Lichtquelle	Leuchtstoffröhren	Leuchtstoffröhren	LED: weiß, rot, gelb, grün, blau
Organismus	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	<i>Wolffia australiana</i>	<i>A. platensis</i>
Homogenität/ Durchmischung	■ schlecht	■ gut	■ gut
Kontinuierliche Kultivierung	■ nein	■ Bedingt möglich	■ Bedingt möglich
O <sub>2</sub> -Austrag	■ schlecht	■ gut	■ gut
Sensorik	■ nein	■ ja	■ nein
Homogenität Beleuchtung	■ mittel	■ nein	■ nein
Geringe/definierte Schichtdicke	■ nein	■ nein	■ nein
Variation Licht	■ ja	■ nein	■ ja
Referenz	Yoshimoto et al. 2005	Rechmann et al. 2007	Wang et al 2007

System	Flat-Panel-Reaktor	Schüttelkolben Beleuchtung seitlich und von unten	Einweg-Wave-Bag-Systeme
Darstellung			
Volumen mL	60	120	1000
Lichtquelle	LED	LED:Weiß, rot, blau	Leuchtstoffröhren und LED
Organismus	<i>Spirulina platensis</i>	<i>Physcomitrella patens</i>	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>
Homogenität/ Durchmischung	Sehr gut	gut	mittel
Kontinuierliche Kultivierung	möglich	bedingt möglich	eingeschränkt möglich
O <sub>2</sub> -Austrag	Sehr gut	gut	mittel
Sensorik	möglich	nein	teilweise vorhanden
Homogenität Beleuchtung	gut	mittel	nein
Geringe/definierte Schichtdicke	ja	nein	nein
Variation Licht	ja	ja	teilweise
Referenz	Xue et al. 2011	Cerff et al. 2009, Cerff und Posten 2012	Lehmann et al. 2013

### 5.2.3 Bewertung der Lichtquellen

#### Arten von Lichtquellen für die phototrophe Kultivierung

Es kann eine Vielzahl von Lichtquellen zur Beleuchtung phototropher Organismen genutzt werden z.B. Glüh-, Halogen- oder Leuchtstofflampen oder Leuchtdioden, welche auf organischer (OLED) oder anorganischer (LED) Photonenemission beruhen. In der Literatur und in kommerziellen Systemen wurden in den meisten Fällen Leuchtstoffröhren (Rechmann et al. 2007; Yoshimoto et al. 2005; Nedbal et al. 1996) und LED (Cerff und Posten 2012; Xue et al. 2011; Wang et al. 2007) genutzt.

Alle Lichtquellen weisen unterschiedliche Spektren auf, für Cyanobakterien kommen dabei eher Leuchtstofflampen, LED und OLED in Frage, da diese einen wesentlichen Anteil Photonen im PAR-Bereich emittieren. Diese Lichtquellen besitzen verschiedene Eigenschaften, deren Vor- und Nachteile in Tabelle 10 hinsichtlich verschiedener für kinetische Untersuchungen geforderter Kriterien wie z.B. Abstrahlungsgeometrie, verfügbarer Spektren und erreichbarer maximaler Lichtintensität gegenübergestellt und für die in dieser Arbeit geforderten Anforderungen wieder nach dem eingeführten Farbschema bewertet wurden.

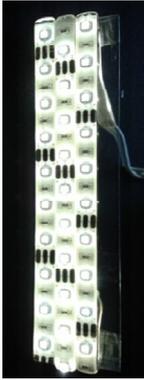
Leuchtstoffröhren werden bereits sehr lange als Lichtquellen verwendet und stellen meist die Standardvariante zur Beleuchtung für phototrophe Organismen dar. Sie sind leicht zu installieren, günstig und scheinen über ihre Länge hinweg homogen Photonen zu emittieren. Sie können leicht bis zu sehr geringen Lichtintensitäten unter  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  mittels Potentiometer gedimmt werden. Andererseits erreichen sie selbst bei Anordnung von mehreren Leuchtstoffröhren nebeneinander nur Lichtintensitäten von bis zu  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Sie decken somit für Cyanobakterien nicht den inhibierenden Bereich der Lichtintensität ab.

LED wurden bereits zur Kultivierung von phototrophen Organismen genutzt und können ebenso leicht in Kultivierungssysteme implementiert werden. Durch den Halbleiteraufbau der LED können verschiedenartige Spektren emittiert werden, wodurch eine gute Anpassung an die spektralen Bedürfnisse der jeweiligen phototrophen Organismen möglich ist. Ebenso können LED sehr hohe Lichtintensitäten emittieren (Hochleistungs-LED bis zu  $3000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Yam und Hassan 2005)), wodurch Untersuchungen im Bereich der Photoinhibition möglich sind. Die stufenlose Dimmung von LED ist ebenfalls durch Potentiometer oder Modulation der Pulsweite möglich, so dass Untersuchungen bei verschiedenen Lichtintensitäten möglich sind. Ein weiterer Vorteil ist, dass LED dadurch auch sehr gut intermittierend zur Untersuchung des Wachstums unter Hell-Dunkel-Rhythmen verschiedener Zeitspannen (von h bis ms) untersucht werden können. Nachteilig wirkt sich allerdings die Punktform der meisten LED aus, so dass selbst bei Anordnung von LED in Rastern eine heterogene Lichtintensitätsverteilung über die Fläche entsteht.

OLED wurden bisher nur sehr selten für phototrophe Kultivierungen eingesetzt (Krujatz 2014). Sie bieten jedoch den großen Vorteil einer flächigen Beleuchtung im Vergleich zu punktförmigen LED. Ebenso wie LED können sie auch stufenlos durch Potentiometer oder Pulsweitenmodulation gedimmt und mit Pulsen betrieben werden. Die nur sehr geringe erreichbare Lichtintensität und der empfindliche Aufbau der OLED wirken sich momentan allerdings noch nachteilig bei der Verwendung aus. Jedoch ist in naher Zukunft anzunehmen, dass OLED ähnlich den LED eine rapide Weiterentwicklung durchlaufen, so dass höhere Lichtintensitäten und robustere Aufbauten verfügbar sein werden (Sasabe und Kido 2013; Wagner 2009b). Besonders erwähnenswert ist, dass keine der ausgewählten Lichtquellen den gesamten für reaktionskinetische Untersuchungen notwendigen Lichtintensitätsbereich vom Kompensationsbereich bis zur Sättigung und Photoinhibition abdecken kann.

**Tabelle 10: Eigenschaften und Bewertung von relevanten Lichtquellen**

Bewertung der zur Kultivierung von Cyanobakterien hier relevanten Lichtquellen für Photobioreaktorsysteme mittels farbiger Markierung: grün - Vorteil, gelb - tolerierbarer Nachteil, rot - nicht tolerierbare Nachteile

Kriterium	Leuchtstoff	LED	OLED
			
<b>Abstrahlungsgeometrie</b>	▪ länglich	▪ punktförmig	▪ flächig
<b>Homogenität</b>	▪ Bedingt möglich bei Anordnung nebeneinander	▪ Bedingt möglich bei Anordnung als Raster	▪ Sehr groß
<b>Verfügbare Spektren</b>	▪ Tageslicht, verschiedene Farben usw.	▪ RGB, warmweiß, kaltweiß, UV, IR usw.	▪ RGB, warmweiß, kaltweiß
<b>Lichtintensität <math>\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}</math></b>	▪ ca. 200	▪ ca. 3.000	▪ ca. 100
<b>Dimmung</b>	▪ Möglich durch Potentiometer	▪ Möglich durch Potentiometer oder Pulsweitenmodulation	▪ Möglich durch Potentiometer oder Pulsweitenmodulation

Charakterisierung von Beleuchtungseinheiten

In der Literatur wird der Charakterisierung der Beleuchtungseinheit verwendeter Photobioreaktoren oftmals viel zu wenig Aufmerksamkeit geschenkt. Häufig wird lediglich eine Lichtintensität ohne weitere Spezifikationen angegeben, was die Reproduzierbarkeit der beschriebe-

nen Experimente stark einschränkt bzw. unmöglich macht. Auch ein Vergleich der Resultate mit Ergebnissen aus anderen Quellen oder eigenen Untersuchungsergebnissen ist kaum möglich. Folgende Angaben zur Charakterisierung der Beleuchtungseinheiten sind notwendig:

- Explizite Angabe zu **Art und Anordnung der Lichtquelle** (z.B. Leuchtstoff, LED oder OLED mit Anzahl, Hersteller und Leistung, am besten mit Skizze der Gesamtanordnung)
- **Spektrum der Lichtquelle** über den gesamten emittierten Bereich, mindestens jedoch über den Absorptionsbereich, welcher für die kultivierten Organismen relevant ist
- **Position der Lichtquelle** mit räumlichem Bezug zum Reaktionsraum (Abstand zwischen Beleuchtungskörper und Reaktionsraum, Geometrie des Kulturgefäßes, am besten mit Skizze)
- **Lichtintensität** mit expliziter Angabe der folgenden Daten
  - Zur Messung der Lichtintensität verwendeter **Lichtsensoren** (Abmaße des Detektorfensters, ausgegebene Einheit ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $\text{W m}^{-2}$ , u.a.), aufgenommener Wellenlängenbereich (z.B. PAR), Produktbezeichnung mit Hersteller)
  - **Messposition des Lichtsensors** (Abstand zur Lichtquelle, Position relativ zum Kultivierungssystem, am besten mit Skizze der Anordnung)
  - Zur Messung der Lichtintensität verwendetes **Medium** im Reaktionsraum (Luft, Wasser, Zellsuspension ggf. mit Konzentrationsangabe)

Alle Beleuchtungseinheiten der in dieser Arbeit verwendeten Kultivierungssysteme wurden entsprechend dieser Liste und wie in Kapitel 4.5 beschrieben hinsichtlich der Lichtverteilung über den Reaktionsraum charakterisiert. Dabei traten große Schwankungen während der Quantifizierung der Lichtintensität mit dem verwendeten Lichtsensor auf; es wurden bis zu 10 % Abweichung zwischen den Messungen einer einzelnen Position an einer Lichtquelle festgestellt. In der Literatur finden sich nur wenige Angaben zu Messabweichungen während der Quantifizierung von Licht, Tedesco und Duerr (1989) geben z.B. 5,5 % an.

Gründe für die starke Messabweichung der Lichtintensität könnten u.a. folgende Gegebenheiten sein. Der große Messkopf des Lichtsensors (Durchmesser 1 cm) bedingt ein großes Messraster, wobei kleine Ortsänderungen besonders im Bereich von punktförmigen Lichtquellen wie LED große Änderungen der auftreffenden Photonenmenge bewirken. Günstiger wären kleinere Messköpfe (Durchmesser 1 mm), bzw. die Verwendung einer Blende, um den Ausschnitt zum Photoneneintritt zu verringern, soweit es die Empfindlichkeit der Sensorelektronik zulässt. Dadurch kann das Messraster verkleinert werden. Die vektorielle Ausbreitung des Lichts im Raum erschwert die Messung mit einem planaren Messkopf zusätzlich. Kleine Winkeländerungen bewirken dabei große Änderungen in der auftreffenden Photonenmenge. Günstiger wäre die Verwendung eines kugelförmigen Messkopfes.

#### 5.2.4 **Fazit**

Insgesamt betrachtet weisen alle recherchierten Photobioreaktoren eine Reihe von Vor- und Nachteilen auf, so dass kein optimales System für reaktionskinetische Untersuchungen vorher-sagbar ist. Mit Blick auf die in den Zielstellungen genannten Anforderungen an die Kultivierungssysteme sind besonders die homogene Beleuchtung und eine einheitliche und geringe Schichtdicke, eine homogene Durchmischung sowie Sensorik zum Monitoring von Stoffwechselfvorgängen wichtig. Sehr günstig erscheinen deshalb Flat-Panel-Photobioreaktoren sowie Schüttelkolben. Diese Reaktortypen besitzen viele Vorteile und tolerierbare Nachteile. Zur Charakterisierung für die Eignung für wachstumskinetische Untersuchungen wurden folgende Systeme ausgewählt:

- Das Respiration Activity MOnitoring System (RAMOS) bietet sich aufgrund seiner online-Sensorik am Schüttelkolben an. Da das System allerdings keine Beleuchtungsmöglichkeit bietet, war die Entwicklung einer Beleuchtungseinheit (CultiLux) notwendig.
- Ein Flat-Panel-Photobioreaktor bietet viele Vorteile für reaktionskinetische Untersuchungen phototropher Zellkulturen, jedoch war kein System mit geringem Volumen des Reaktionsraumes kommerziell verfügbar. Es wurde deshalb ein Flat-Panel-Photobioreaktorsystem im Kleinstmaßstab selbst entwickelt, welches möglichst viele der in den Zielstellungen formulierten Anforderungen erfüllt. Durchmischung durch Begasung des Reaktionsraumes sowie Beleuchtung mittels LED und OLED wurden jeweils zum Homogenisieren / Dispergieren / Suspendieren und Realisieren eines großen variablen Beleuchtungsbereiches ausgewählt.
- Ebenso sollten die am Institut vorhandenen kommerziell verfügbaren mit Leuchtstoffröhren beleuchteten Systeme zum Vergleich getestet werden (Schüttelkolbensystem (Minitron, Infors HT, Bottmingen, Schweiz) und Blasensäulensystem (MS Photo 15 von Molsurf, Dresden, Deutschland)), da diese die momentan in vielen Laboren verfügbaren klassischen Standardsysteme darstellen.

Bei allen getesteten Systemen und den Eigenentwicklungen sollten die Beleuchtungseinheiten und die Lichtverteilung im Reaktionsraum detailliert charakterisiert werden, um eine sehr gute Vergleichbarkeit untereinander sowie mit anderen Publikationen zu ermöglichen.

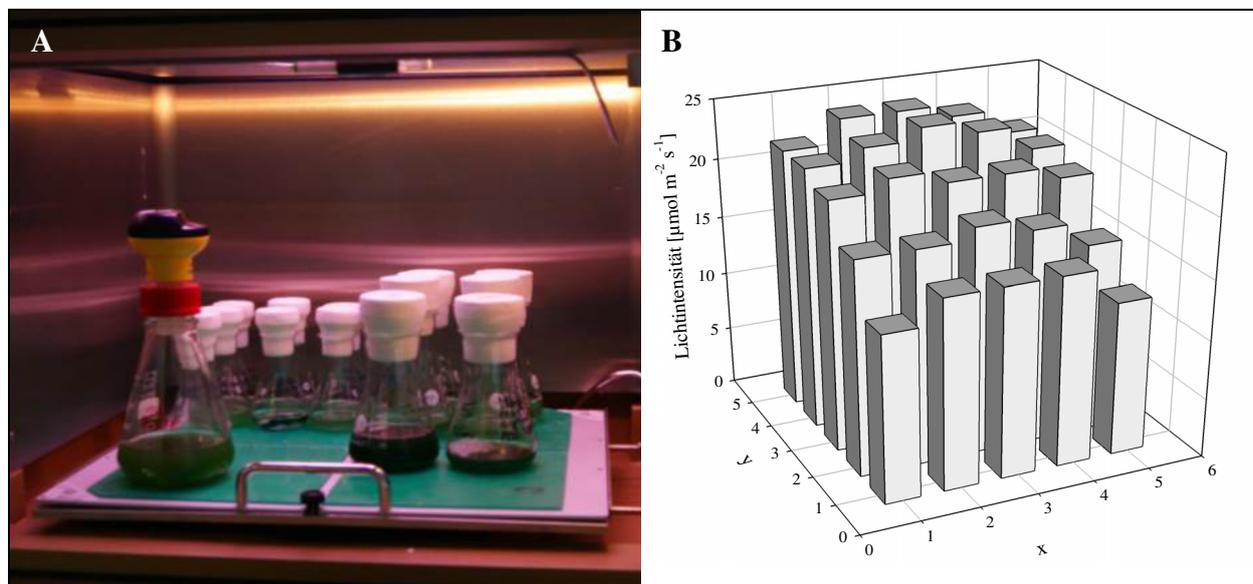
### 5.3 Kultivierung in klassischen Systemen

Es wurden zwei klassische und kommerzielle Photobioreaktorsysteme (ein herkömmlicher Schüttelinkubator mit Leuchtstoffröhren-Beleuchtungseinheit sowie eine übliche Blasensäule mit externer Beleuchtung durch Leuchtstoffröhren) im Labormaßstab hinsichtlich ihrer Beleuchtungseinheit charakterisiert. Anschließend sollte *A. platensis* in beiden Systemen kultiviert und das Wachstum analysiert werden. Anhand der Daten sollte bewertet werden, ob in diesen kommerziellen Systemen aussagekräftige Untersuchungen zum Einfluss des Lichts auf das phototrophe Wachstum und Ableitung reaktionskinetischer Größen möglich sind.

#### 5.3.1 Kommerzieller Schüttelinkubator mit Beleuchtungseinheit

##### Charakterisierung der Beleuchtungseinheit

Schüttelinkubatoren sind primäre Standardsysteme in der Bioverfahrenstechnik (Winkler et al. 2014) und die Verwendung von Schüttelkolben in einfach zu temperierenden Inkubatoren wird für die phototrophe Kultivierung angestrebt. Die Eignung eines Schüttelinkubators mit Beleuchtungseinheit im Inkubatorraum (Abbildung 19A) für reaktionskinetische Untersuchungen sollte ermittelt werden. Die Beleuchtungseinheit besteht aus sechs über dem Schütteltablett angebrachten Leuchtstoffröhren, welche lediglich in Hell-Dunkel-Zyklen im Zeitraum von h und nicht in ihrer Lichtintensität eingestellt werden können. Die aus der Beleuchtung resultierende Lichtintensität wurde auf der Fläche des Schütteltablets quantifiziert (Abbildung 19B).



**Abbildung 19: Kommerzieller beleuchteter Schüttelinkubator**

Foto des beleuchteten Inkubatorinnenraums (Minitron, Infors HT, Bottmingen, Schweiz, Schütteldurchmesser 25 mm, 6 Leuchtstoffröhren GroLux 15 W, Osram Sylvania, Danvers, USA) (A); Lichtintensität in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ( $\pm 10\%$ ) auf dem Schütteltablett ( $420 \times 440 \text{ mm}^2$ ) ohne Schüttelkolbenbeladung, Punkt ( $x = 0$ ;  $y = 0$ ) repräsentiert die linksseitige vordere Ecke des Schütteltablets (B)

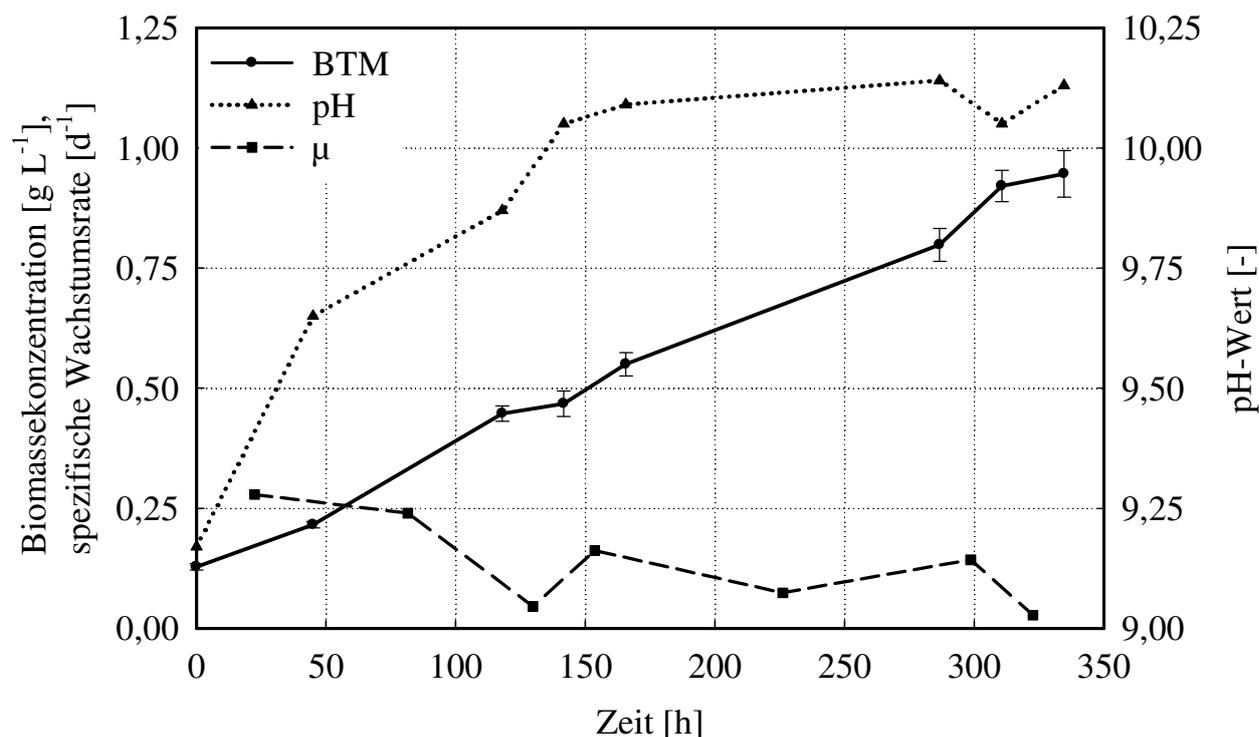
Es war über das Schütteltablear heterogene Verteilung der Lichtintensität zu verzeichnen. Die Werte schwankten von ca. 10 bis 24  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; der Mittelwert der Lichtintensität über die Schütteltablearfläche betrug 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Die Lichtintensität nimmt in den seitlichen Bereichen ( $x = 1$  und  $x = 5$ ) und zur Vorderseite des Inkubatorraumes ( $y = 0$ ) hin ab. Dies erscheint logisch, da die Leuchtstoffröhren in Richtung der x-Achse verlaufen und damit an ihren äußeren Fassungsstellen geringere Lichtintensitäten erreichen. Zudem befinden sich weitere Einbauten z.B. zur Temperierung des Inkubators (Lüfter) zwischen Leuchtstoffröhren und Schütteltablear und die Wände des Inkubators sind nicht reflektierend ausgekleidet, was zusätzlich zu Verschattung und Abnahme der Lichtintensität führt.

Die real auf die Schüttelkolben und die darin befindliche Zellsuspension wirkenden Lichtintensitäten sind schwer abzuschätzen. Erstens ist der Schüttelkolben mit lichtundurchlässigen Wattestopfen versehen und zweitens rotiert das Tablear zur Durchmischung der Schüttelkolben, so dass diese ständig ihre Position in der heterogenen Lichtverteilung wechseln. Die Zellsuspension ist somit zwangsläufig wechselnden Lichtintensitäten ausgesetzt und das resultierende Wachstum dementsprechend undefiniert beeinflusst, die aufgenommenen Werte stellen nur einen Mittelwert der undefinierten Wechsel an Lichtintensität und Hell-Dunkel-Zyklen dar.

Weiterhin ist zu beachten, dass die im Inkubator herrschende Lichtintensität von 20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  im Mittel äußerst gering ist. In der Literatur (Tabelle 1) finden sich Angaben zum Wachstum von *A. platensis* bei solch geringen Lichtintensitäten (Kebede und Ahlgren 1996; Lee et al. 1987), jedoch liegt die Lichtintensität im Inkubator im Vergleich zu anderen Publikationen unterhalb der für die Kompensation angegebenen Lichtintensität (Cogne et al. 2003). Ebenso wurde in der Modellanpassung in dieser Arbeit an die Daten von Xue et al. (2011) eine Kompensationslichtintensität von 30  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ermittelt, welche über der im Schüttelinkubator ermittelten Lichtintensität liegt und kein Wachstum stattfinden dürfte. Es ist aufgrund der divergierenden Literatursagen eine geringe Wachstumsrate und mit geringer Biomassezunahme bzw. kein Wachstum bei Kultivierung in diesem Schüttelinkubator zu erwarten.

### Kultivierung

Es wurden in diesem Schüttelinkubatorsystem mit Beleuchtungseinheit Schüttelkolben mit *A. platensis* PCC 9108 in Zarrouk-Medium kultiviert. Die Kultivierungsbedingungen wurden nach Literaturrecherche, Angaben von der Stammsammlung und eigenen Vorarbeiten (Görner 2012) folgendermaßen gewählt: Temperatur 30 °C, Hell-Dunkel-Zyklus von 16 / 8 h. Die Biomassekonzentration und der pH-Wert wurden in bestimmten Zeitabständen analysiert und die spezifische Wachstumsrate nach Glg. 5 berechnet (Abbildung 20).



**Abbildung 20: Biomasse, pH-Wert, Wachstumsrate bei Kultivierung im Schüttelinkubator**

Biomassekonzentration BTM in  $\text{g L}^{-1}$ , pH-Wert und spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$  von *A. platensis* PCC 9108 über der Kultivierungszeit im Schüttelkolben, Schüttelinkubator (Minitron, Infors HT, Bottmingen, Schweiz),  $30^\circ\text{C}$ , Zarrouk-Medium), Beleuchtung mit Leuchtstoffröhren im Hell-Dunkel-Zyklus von 16 h / 8 h mit einer auf dem Schütteltablar resultierenden mittleren Lichtintensität von ca.  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Der Verlauf der Biomassekonzentration zeigte über den gesamten Kultivierungszeitraum von über 300 h Kultivierung ein lineares Wachstum und die erreichte finale Biomasse betrug  $0,95 \text{ g L}^{-1}$ . Es wurde eine Biomasseproduktivität von ca.  $2,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  nach linearer Regression berechnet. Die maximale Wachstumsrate  $\mu$  betrug zu Beginn der Kultivierung  $0,27 \text{ d}^{-1}$  und verringerte sich dann stetig bis zum Ende der Kultivierung auf einen Wert von  $0,03 \text{ d}^{-1}$ . Der pH-Wert stieg innerhalb von 150 h Kultivierungszeit von pH 9,2 auf pH 10,1 an und verweilte bis zum Ende der Kultivierung in etwa bei diesem Wert. Die gesamten Daten der Kultivierung finden sich tabellarisch in Anhang 3.1.

Lineares Wachstum wurde auch bei anderen Autoren beobachtet (Rodrigues et al. 2010; Sydney et al. 2010; Levert und Xia 2001; Vieira Costal et al. 2000). Rodrigues et al. (2010) ermittelten bei kontinuierlicher Beleuchtung höhere Zuwachsraten im Bereich von  $4,5$  bis  $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  und damit höhere finale Biomassekonzentrationen, wobei dort eine höhere Lichtintensität von  $156 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  und ein anderes Kultivierungssystem verwendet wurde. Sydney et al. (2010) publizierten ebenfalls höhere Werte für Biomassekonzentration und Zuwachsraten ( $2,18 \text{ g L}^{-1}$ ,  $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), arbeitete jedoch im 1 L Rührreaktor und bei einer Lichtintensität von ca.  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Andere Autoren fanden unter kontinuierlicher Lichtintensität von ca.  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  einen ähnlichen linearen Verlauf wie in dieser Arbeit (Vieira Costal et al. 2000).

Wird die ermittelte lineare Zuwachsrate ohne Berücksichtigung der Einflüsse während der Dunkelpphase von 8 h auf kontinuierliche Beleuchtung prozentual abgeschätzt (16 h Licht  $2,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , 24 h Licht  $3,8 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ), so erhöht sich der Wert etwas, reicht jedoch wahrscheinlich aufgrund der niedrigeren eingesetzten Lichtintensität nicht bis an die in der Literatur angegebenen Werte heran.

Der Vergleich der Wachstumskurven ist erschwert, da die real herrschenden Lichtbedingungen im Schüttelkolben nicht bekannt sind und Kultivierungssystem und Beleuchtungsgegebenheiten ebenfalls oft nicht detailliert beschrieben sind bzw. nicht denen dieser Arbeit entsprechen.

Erstaunlich ist zudem, dass es bei der im Schüttelinkubator herrschenden sehr geringen Lichtintensität zu einem Wachstum kam, da der Wert mit  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  nach einigen Literaturangaben (Xue et al. 2011; Cogne et al. 2003) und der Modellanpassung in dieser Arbeit unterhalb der Kompensationslichtintensität liegt und somit kein Wachstum stattfinden sollte. Eventuell ist dies ein Hinweis darauf, dass die Kompensationslichtintensität noch niedriger liegt, wie es auch andere Publikationen angeben (Kebede und Ahlgren 1996; Lee et al. 1987). Andererseits ist nicht genau bekannt, welche Lichtbedingungen real in der Zellsuspension im Schüttelkolben vorherrschte, weshalb keinen reaktionskinetischen Aussagen aus der Kultivierung in diesem System gezogen werden können.

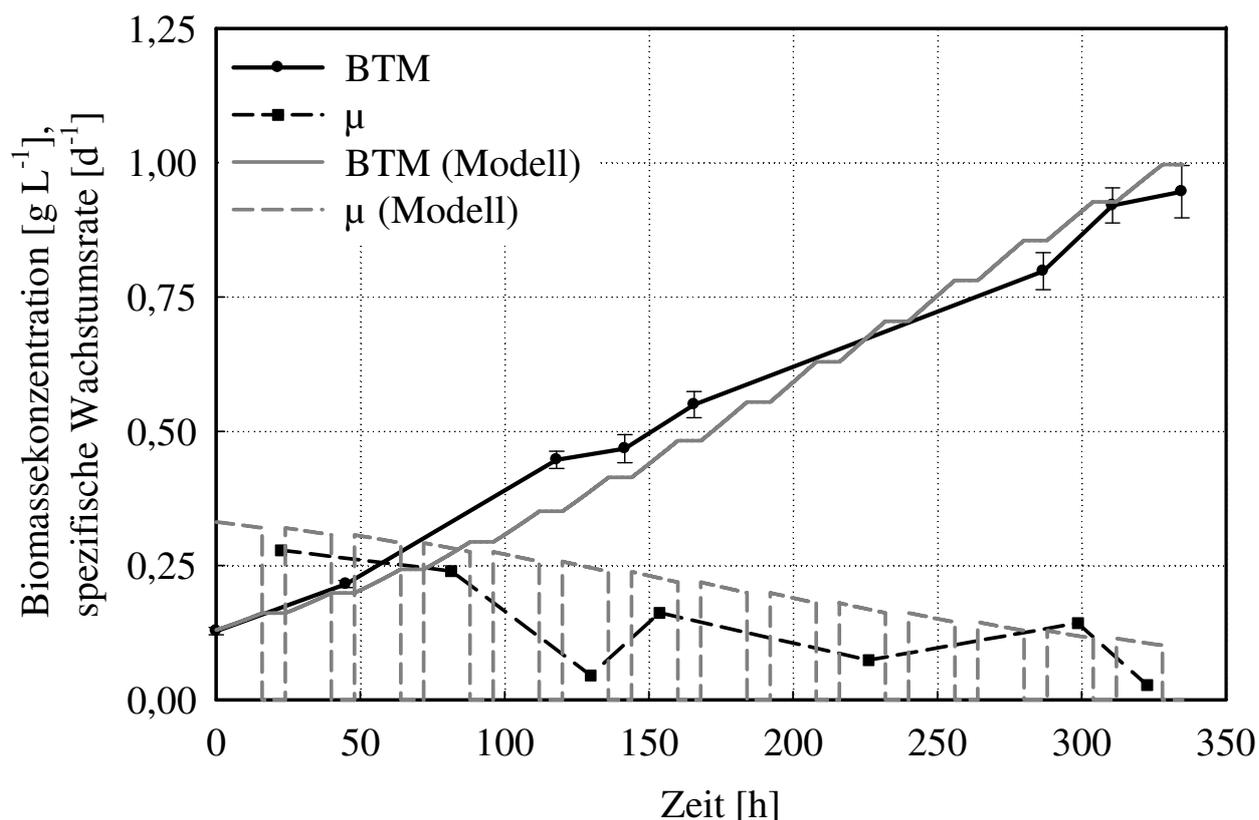
### Modellierung

Mit dem entwickelten Modell (Kapitel 5.1) wurde die Kultivierung von *A. platensis* im Schüttelkolben simuliert, die Ergebnisse sind in Abbildung 21 dargestellt. Alle Parameter wurden aus der Modellanpassung in Kapitel 5.1 ( $\mu_{\text{max}} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,  $K_{\text{SI}} = 70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) und aus eigenen Messungen ( $\epsilon = 1,8 \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) übernommen, außer der Kompensationslichtintensität  $K_{\text{KI}}$ . Diese musste von 30 auf  $6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  reduziert werden, um ein Wachstum bei der im Schüttelinkubator vorherrschenden geringen Lichtintensität von  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  zu realisieren und an die gemessenen Werte der Biomassekonzentration und Wachstumsrate anzupassen.

Der Verlauf der Biomassekonzentration konnte nach Modellberechnung sehr gut nach der erwähnten Reduktion der Kompensationslichtintensität an die Messwerte angepasst werden. Die Bereiche mit stationärer Biomassekonzentration resultieren aus den Dunkelphasen von acht Stunden, da dort kein Wachstum stattfindet. Die Simulation der Wachstumsrate liegt, abgesehen von den Dunkelzyklen an denen  $\mu = 0$ , allerdings höher als die aus den Biomassekonzentrationen berechneten Werte. Die Werte aus den gemessenen Biomassekonzentrationen liegen niedriger, da diese gemittelt über das Probenahmeintervall berechnet wurden, in welchem sich auch Dunkelzyklen befanden. Im Durchschnitt liegen die gemessenen Werte auch um ein Drittel

niedriger als die simulierten, was sich aus dem Verhältnis der Hellzyklen zum gesamten Beleuchtungszyklus ergibt (16 h zu 24 h).

Das Modell kann demzufolge neben der Simulation von phototrophen Kultivierungen im Flat-Panel-Photobioreaktoren auch für solche im Schüttelkolben eingesetzt werden. Zu beachten ist allerdings, dass bei der Modellierung eine Schichtdicke von 1 cm angenommen wurde. Dieses Kriterium ist durch die Paraboloidbildung der Flüssigkeit im Schüttelkolben durch die Rotation aber eigentlich nicht gegeben, wodurch es zu Abweichungen kommen kann.



**Abbildung 21: Modellierung Biomasse und Wachstumsrate im Schüttelinkubator**

Biomassekonzentration BTM in  $\text{g L}^{-1}$  und spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$  von *A. platensis* PCC 9108 über der Kultivierungszeit im Schüttelkolben (Minitron, Infors HT, Bottmingen, Schweiz), 30 °C, Beleuchtung mit Leuchtstoffröhren im Hell-Dunkel-Rhythmus von 16 h/8 h mit einer auf dem Schütteltablar resultierenden mittleren Lichtintensität von  $21 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und Modellierung nach Kapitel 5.1 mit Parametern:  $\mu_{\text{max}} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,  $K_{\text{SI}} = 70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $d = 1 \text{ cm}$ ,  $K_{\text{KI}} = 6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

### Bewertung

Insgesamt betrachtet, ist der Schüttelinkubator mit Leuchtstoffröhren aus folgenden Gründen nicht für reaktionskinetische Untersuchungen geeignet. Erstens ist die Lichtintensität auf der Fläche des Schüttelrührers heterogen verteilt und durch die Beleuchtung von oben ist eine Beschattung durch die Stopfen möglich. Zweitens kann nur eine äußerst geringe Lichtintensität von  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  eingestellt werden, es ist keine Variation möglich. Es herrscht keine definierte Schichtdicke in den Schüttelkolben durch die Paraboloidbildung der Flüssigkeit im Schüttel-

kolben durch die Rotation (Winkler et al. 2014; Büchs et al. 2007) vor. Letztlich besteht neben der manuellen Probenahme auch keine weitere Mess- und Aufzeichnungsmöglichkeit.

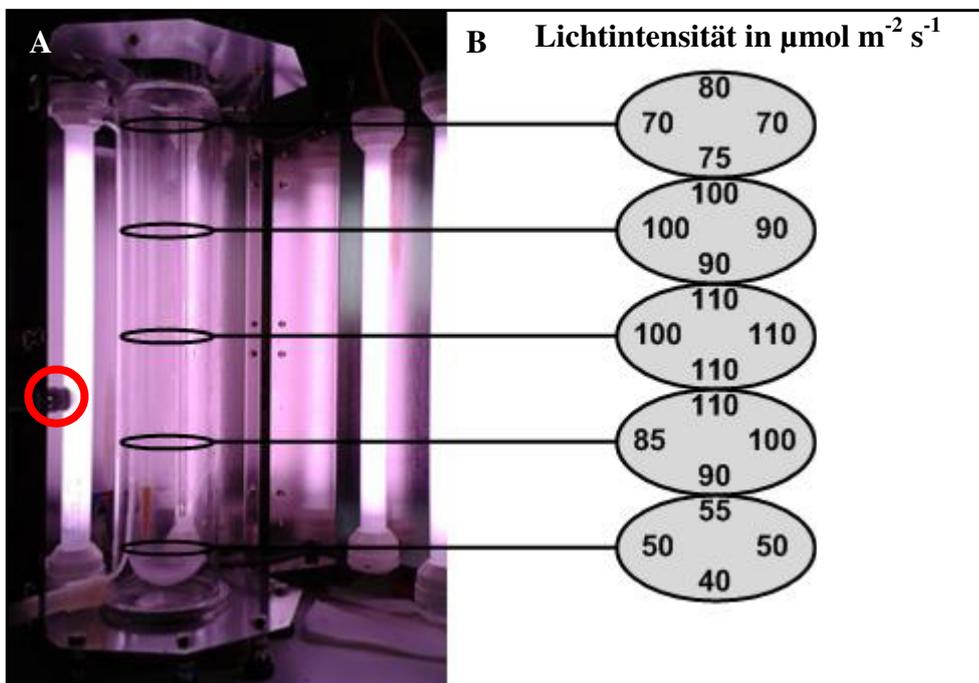
Es zeigte sich während der Kultivierung von *A. platensis* in diesem System ein lineares Wachstum und die Ableitung kinetischer Größen ist aufgrund der undefinierten und nicht einstellbaren Lichtbedingungen nicht möglich. Das System kann lediglich für die Stammhaltung eingesetzt werden, da dort undefinierte Lichtbedingungen toleriert werden können.

### 5.3.2 Extern beleuchtete Blasensäule

Es wurde eine kommerzielle, extern beleuchtete Blasensäule (MS Photo 15, Umex GmbH, Dresden, Deutschland) für die Kultivierung von *A. platensis* PCC 9108 in Zarrouk-Medium getestet. Die Blasensäule besaß ein Arbeitsvolumen von 1,2 L und einen Durchmesser von 65 mm und wurde durch Begasung mit Druckluft durchmischt. Beleuchtet wurde die Zellsuspension von außen durch vier konzentrisch um die Blasensäule angeordneten Leuchtstoffröhren, welche durch ein Potentiometer dimmbar waren. Im System war eine Reihe von Sensorik zur online-Überwachung der Kultivierung integriert (Temperatur, pH-Wert, pO<sub>2</sub>).

#### Charakterisierung der Beleuchtungseinheit

Die Verteilung der Lichtintensität im Kultivierungsraum der Blasensäule ist in Abbildung 22 dargestellt.



**Abbildung 22: Lichtintensität im klassischen System Blasensäule**

Foto der verwendeten Blasensäule (A) und Lichtintensität in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (B) in verschiedenen Höhen und Querschnittspunkten (Ellipsen) der in dieser Arbeit verwendeten Blasensäule nach Lumani (2014); der im System integrierte Lichtsensor (roter Kreis) zeigte bei geschlossenem Lichtmantel eine Lichtintensität von  $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  an

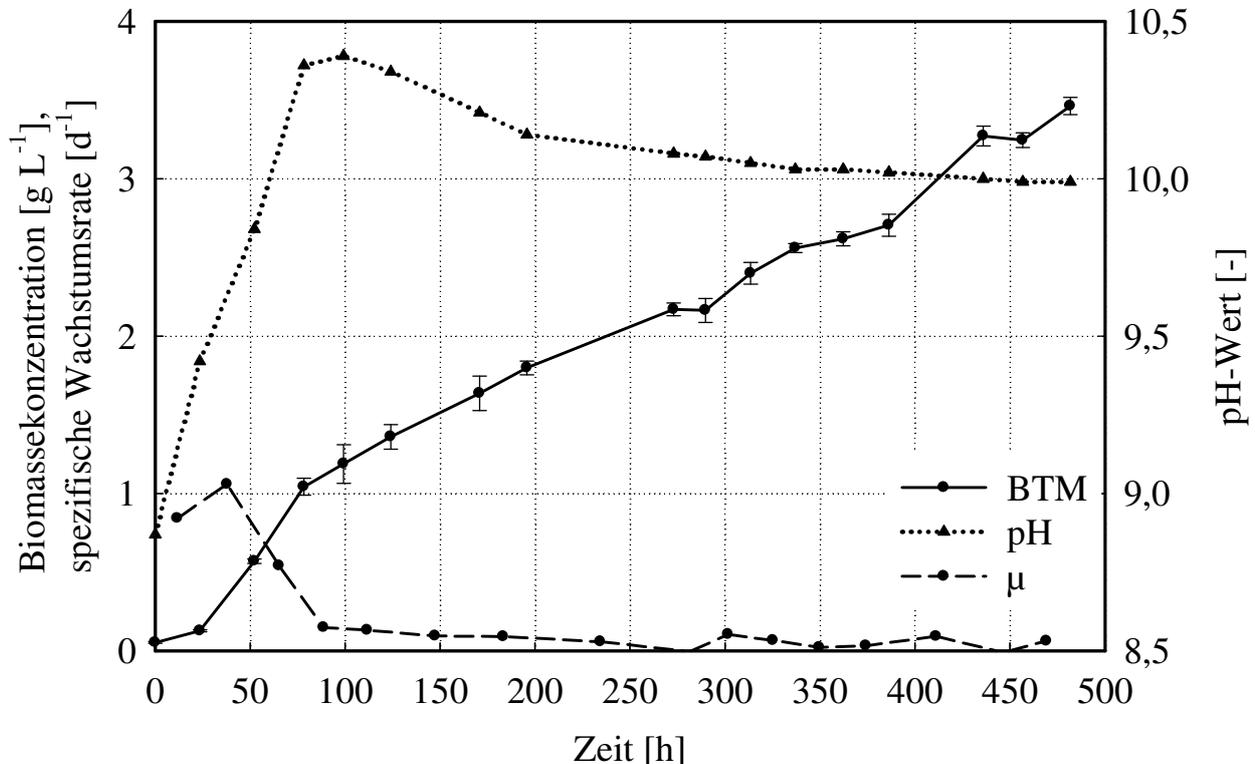
Es zeigte sich, dass die Lichtintensität innerhalb der Blasensäule stark variierte, besonders über die Höhe des Reaktionsraumes. Im mittleren Bereich schien die Lichtintensität unter Berücksichtigung einer Messwertschwankung von ca. 10 % über den Blasensäulenquerschnitt (Ellipsen) ungefähr konstant zu sein. Zum Boden und Kopfraum der Blasensäule hin nahm die Lichtintensität deutlich um bis zu 69 bzw. 45 % ab. Verursacht wurde dies wahrscheinlich durch den zunehmenden verschattenden Einfluss vom Aufbau oben und unten am Reaktionsraum und abnehmender Lichtintensität hin zu den Fassungsunkten der Leuchtstoffröhren. Hier nicht dargestellt, aber unter Kultivierungsbedingungen zutreffend ist, dass ebenso zum Zentrum der Blasensäule hin durch die zunehmende Entfernung von den Lichtquellen als auch die zunehmende Biomassekonzentration die Lichtintensität abnimmt (Kapitel 2.3). Der im Lichtmantel integrierte Lichtsensor (Abbildung 22 roter Kreis) zeigte zum Messzeitpunkt eine höhere Lichtintensität von  $120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  an. Dies war zu erwarten, denn der Sensor ist ca. 5 cm entfernt von der Außenhülle der Blasensäule angebracht, die gezeigten Messwerte wurden im Inneren der Blasensäule ermittelt. Beide Lichtsensoren zeigten am selben Messpunkt unterschiedliche Werte an. Der integrierte Sensor zeigte einen ca. 10 % geringeren Wert an als der transportable. Verursacht wurde dies dadurch, dass die Messköpfe unterschiedlich gestaltet sind. Der integrierte Sensor besitzt einen halbkugelförmigen Messkopf zur Aufnahme der Photonen, der transportable einen planaren. Es werden also unterschiedliche Mengen von Photonen auf den Detektor geleitet und unterschiedliche Messsignale sind die Folge.

### Kultivierung

In Abbildung 23 und 24 ist der Verlauf der Kultivierung von *A. platensis* in der Blasensäule dargestellt. Alle Messdaten sind in einer Tabelle im Anhang 3.2 zu finden. Während der Kultivierung in der Blasensäule stellte sich eine Wachstumsrate von  $1,06 \text{ d}^{-1}$  ein und ein exponentieller Verlauf der Biomassekonzentration war bis ca. 70 h zu erkennen. Danach verringerte sich die Wachstumsrate auf  $0,02 \text{ d}^{-1}$  und es fand lineares Wachstum mit einer Zuwachsrate von ca.  $7 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  statt. Der Effekt der Verdunstung auf die Biomassekonzentration bei Blasensäulenkultivierungen durch die hohen Begasungsraten, die hohe Temperatur und der lange Kultivierungszeitraum ist zu beachten, eventuell kommt es zu geringfügig höheren Biomassekonzentrationen durch die Verdunstung.

Der pH-Wert stieg im Zuge des Wachstums bis 75 h Kultivierungszeit von pH 8,9 auf 10,4 an. Danach war bis zum Ende der Kultivierung ein leichter Abstieg auf pH 10 zu verzeichnen. Vermutlich wird die Alkalisierung durch den Verbrauch der Nährstoffe Carbonat und Hydrogencarbonat hervorgerufen. Diese stehen in einem Gleichgewicht, wobei das Konzentrationsverhältnis der beiden Ionen den pH-Wert beeinflusst; dieser Zusammenhang wird durch die Henderson-

Hasselbalch-Gleichung ( $\text{pH} = \text{pK}_S + \lg \frac{c_{\text{CO}_3^{2-}}}{c_{\text{HCO}_3^-}}$ ) beschrieben. Demnach wird mit einem  $\text{pK}_S = 10,4$  nach 75 h Kultivierungszeit der  $\text{pK}_S$ -Wert erreicht und beide Carbonatformen liegen somit in gleicher Konzentration vor.



**Abbildung 23: Biomasse, pH-Wert, Wachstumsrate der Kultivierung in der Blasensäule**

Biomassekonzentration BTM in  $\text{g L}^{-1}$ , pH-Wert und spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$  von *A. platensis* PCC 9108 über der Kultivierungszeit in der Blasensäule (MS Photo 15, Umex GmbH, Dresden, Deutschland),  $30\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $45\text{ NL h}^{-1}$  Begasung mit Druckluft, Beleuchtung kontinuierlich mit Leuchtstoffröhren mit einer resultierenden mittleren Lichtintensität von ca.  $150\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  (gemessen mittels integriertem Lichtsensor)

Die Carbonatkonzentration wurde mittels Teststreifen über den gesamten Kultivierungszeitraum bestimmt und war nachweislich ausreichend hoch (Daten nicht dargestellt). Der Carbonatgehalt des Mediums sollte zur Bildung von  $4,8\text{ g L}^{-1}$  Biomasse ausreichend sein (Tabelle 11). In der Literatur werden Carbonatverbrauchsdaten von  $0,3\text{ g L}^{-1}\text{ d}^{-1}$  für *A. platensis* angegeben (Sydney et al. 2010), wonach rein rechnerisch auch erst nach 37,9 Tagen das im Medium enthaltene Carbonat verbraucht sein sollte, eine Kohlenstofflimitation kann somit ausgeschlossen werden. Hinzu kommt noch, dass ein zusätzlicher Eintrag an Kohlenstoff durch den Kohlendioxidgehalt der zur Begasung eingesetzten Druckluft stattfand. Gasförmiges Kohlendioxid löst sich sehr gut bei dem hohen vorherrschenden pH-Wert (Kohlenstoff-Carbonat-Gleichgewicht, (Sigg und Stumm 2011; Falkowski und Raven 1997)) und es wird vermutet, dass dieser Eintrag besonders in der linearen Wachstumsphase ab 100 h Kultivierung den Carbonatverbrauch ausglich, weshalb der pH-Wert konstant blieb. Die Carbonationen und der pH-Wert stehen zwar in einem

Verhältnis zueinander, jedoch handelt es sich um ein sehr komplexes System, was bei der Interpretation beachtet werden sollte.

**Tabelle 11: Konzentration der Carbonatformen und erreichbare Biomasse**

Aufstellung der im verwendeten Zarrouk-Medium enthaltenen Konzentrationen an Carbonatspezies Carbonat und Hydrogencarbonat und daraus resultierende Konzentration an Kohlenstoff und Biomasse in  $\text{g L}^{-1}$

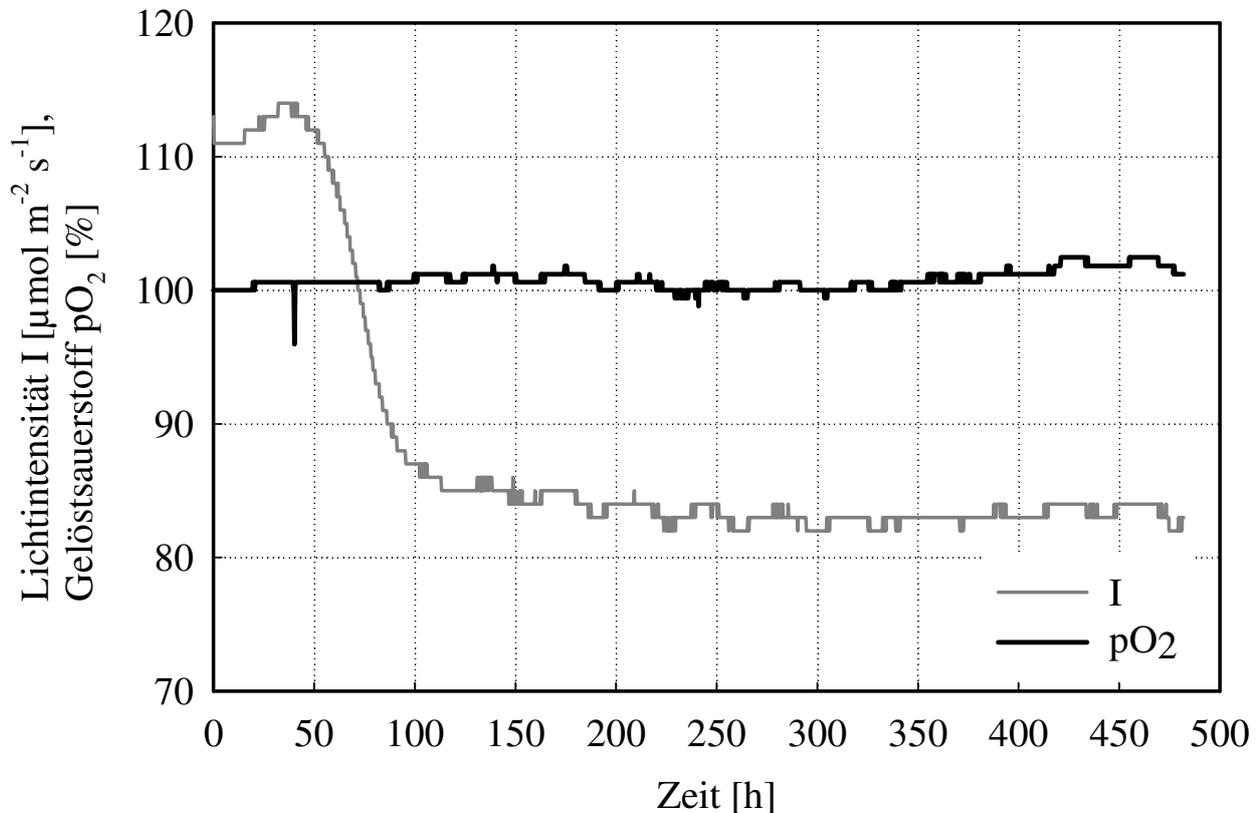
Carbonatform	Konzentration im Medium $\text{g L}^{-1}$	Kohlenstoffkonzentration $\text{g L}^{-1}$	Theoretisch erreichbare Biomassekonzentration <sup>1</sup> $\text{g L}^{-1}$
Carbonat $\text{CO}_3^{2-}$	2,3	0,46	0,9
Hydrogencarbonat $\text{HCO}_3^-$	9,9	1,95	3,9

<sup>1</sup> Annahme Ertragskoeffizient  $Y_{x/c} = 0,5$  nach Abschätzung aus Literaturangaben für *A. platensis* (Lodi et al. 2005; Cogne et al. 2003; Cornet et al. 1992a) und Phytoplankton (Fraga 2001)

Das Wachstum korrelierte mit dem abnehmenden Verlauf der Lichtintensität, welche an der Reaktorwand der Blasensäule gemessen wurde (Abbildung 24). Diese nahm bis zu einer Kultivierungszeit von ca. 100 h progressiv ab und pegelte sich dann auf einem Niveau von ca.  $83 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ein. Dies entspricht dem Verlauf, wenn erst eine ausreichende Lichtintensität für ein exponentielles Wachstum herrscht bis schließlich die Selbstbeschattung der Biomasse so groß ist, dass die Zellen nur noch lichtlimitiert und damit linear wachsen können. Der Gelöstsauerstoff im Medium wurde ebenfalls während der Kultivierung in der Blasensäule aufgezeichnet, es zeigten sich jedoch keine starken Veränderungen (Abbildung 24). Durch den hohen Begasungsstrom mit Luft wurden hier die geringen Änderungen durch die Sauerstoffproduktion der Zellen während der Photosynthese leider nicht sichtbar. Um dieses Signal erfassen zu können, wäre eine Stickstoffbegasung sinnvoll. Der Gehalt an Gelöstsauerstoff betrug während der gesamten Kultivierungszeit 100 - 103 %, wodurch eine Sauerstoffakkumulation ausgeschlossen werden kann.

Am Ausgang der Blasensäule war zur zusätzlichen Sensorik eine Abgasanalyse angeschlossen, um Änderungen des Sauerstoff- und Kohlendioxidgehaltes im Abgas zu detektieren. Diese Werte (nicht dargestellt) zeigten jedoch ebenfalls über den gesamten Kultivierungszeitraum hinweg keine Änderungen. Die Sauerstoffproduktion der Zellsuspension war zu klein im gewählten Aufbau, eine Begasung mit Stickstoff zur besseren Detektion der niedrigen Signale wäre von Vorteil gewesen. Diese Annahme kann mit späteren Daten aus der RAMOS-Kultivierung belegt werden. Dort wurde z.B. eine Sauerstofftransferrate von  $1,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  bei ähnlicher Lichtintensität detektiert. Mit der in der Blasensäule zur Durchmischung hoch gewählten Begasungsrate von  $45 \text{ NL h}^{-1}$  (entspricht einer Sauerstofftransferrate von ca.  $430 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) erhöht sich das Sauerstoffsignal um 0,35 %. Diese geringe Signaländerung kann bei Begasung

mit Luft weder durch die Sauerstoffelektrode in der Zellsuspension noch durch die Abgasanalyse detektiert werden, was die Begasung mit Stickstoff in Blasensäulen erklärt.



**Abbildung 24: Gelöstsauerstoff und Lichtintensität der Kultivierung in der Blasensäule**

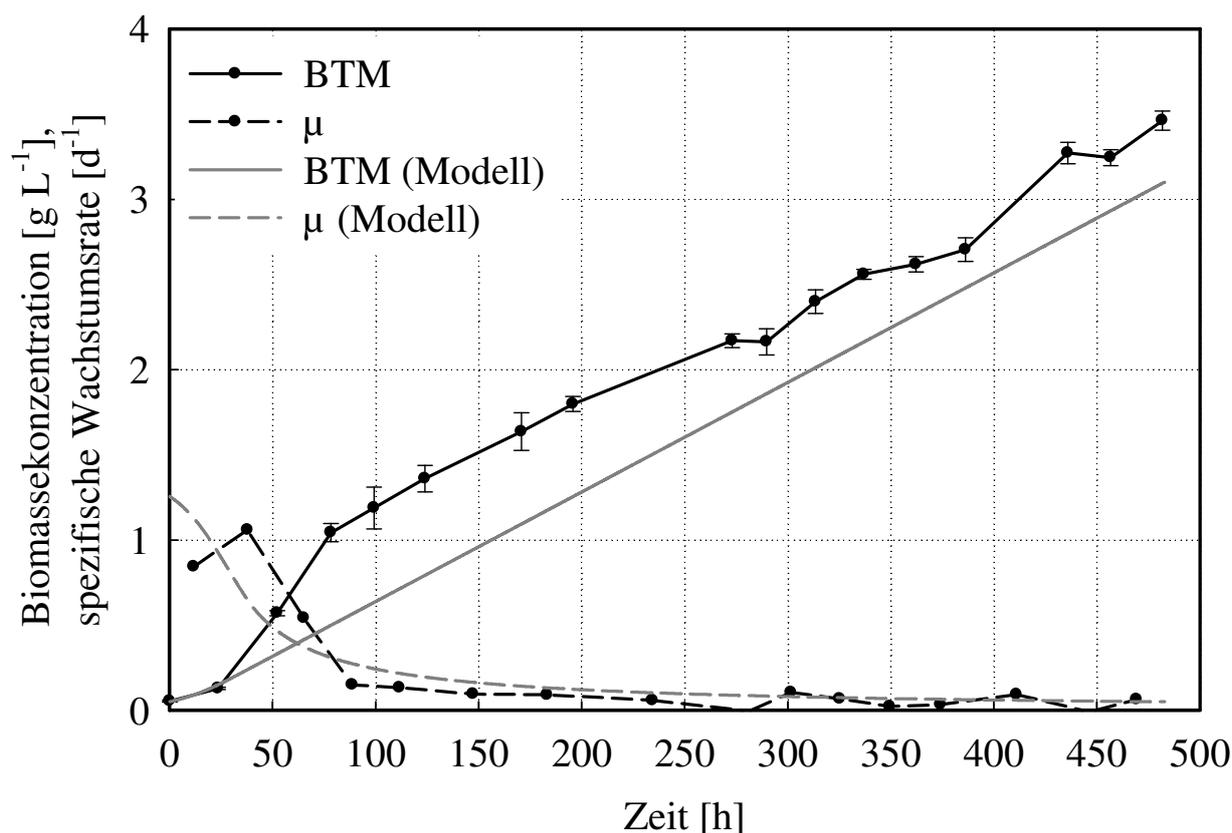
Lichtintensität  $I$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  und Gelöstsauerstoff  $p\text{O}_2$  in % über der Kultivierungszeit während Kultivierung von *A. platensis* PCC 9108 in der Blasensäule (MS Photo 15, Umex GmbH, Dresden, Deutschland),  $30\text{ }^\circ\text{C}$ , Beleuchtung kontinuierlich mit Leuchtstoffröhren mit einer resultierenden mittleren Lichtintensität von ca.  $150\ \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (gemessen mittels integriertem Lichtsensor)

Im Vergleich zur Kultivierung im Schüttelkolben wurde eine höhere finale Biomassekonzentration von ca.  $3,5\ \text{g L}^{-1}$  erreicht, da kontinuierlich mit höherer Lichtintensität und länger kultiviert wurde. Im Vergleich zur Literatur ist der Verlauf des Wachstums ähnlich wie in Blasensäulenkultivierungen anderer Autoren wie z.B. Chen und Zhang (1997). Die Zuwachsrate von  $7\ \text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$  ist geringfügig niedriger als in anderen Publikationen von  $9\ \text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$  (Chen und Zhang 1997), dort wurde allerdings auch eine geringfügig höhere Lichtintensität von  $180\ \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  eingesetzt. Andere Autoren publizierten ebenfalls höhere Zuwachsraten im Bereich von bis zu  $10\ \text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$ , wobei dort auch eine geringfügig höhere Lichtintensität von  $156\ \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  angegeben wurden (Rodrigues et al. 2010). Dem gegenüber wurden auch Zuwachsraten von  $10\ \text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$  im 1 L Rührreaktor und bei einer Lichtintensität von ca.  $40\ \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  publiziert (Sydney et al. 2010). Es zeigt sich hier erneut, dass der Vergleich mit Literaturdaten aufgrund der fehlenden Angaben zur Beleuchtung äußerst schwierig ist.

Insgesamt betrachtet verlief die Blasensäulenkultivierung ähnlich wie in der Literatur beschrieben. Die Ableitung reaktionskinetischer Größen ist geringfügig besser möglich als aus Schüttelkolbenkultivierungen. Es können im verwendeten Blasensäulenaufbau verschiedene Lichtintensitäten appliziert und diverse Signale abgegriffen werden. Dem gegenüber steht der große Durchmesser der Blasensäule sowie der gekrümmte Reaktionsraum, welche die Beschreibung des Lichtgradienten und die Ableitung reaktionskinetischer Aussagen erschweren.

### Modellierung

Die Kultivierung von *A. platensis* in der Blasensäule wurde mit dem entwickelten Modell (Kapitel 5.1) simuliert, die Ergebnisse der Berechnung sind in Abbildung 25 dargestellt. Alle Parameter wurden aus der Modellanpassung in Kapitel 5.1 ( $\mu_{\max} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,  $K_{SI} = 70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) und eigenen Messungen ( $\epsilon = 1,8 \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) sowie der angepassten Kompensationslichtintensität aus der vorhergehenden Modellierung des Wachstums im Schüttelkolben ( $K_{KI} = 6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) übernommen.



**Abbildung 25: Modellierung Biomasse und Wachstumsrate in der Blasensäule**

Biomassekonzentration BTM in  $\text{g L}^{-1}$  und spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$  von *A. platensis* PCC 9108 in der Blasensäule (MS Photo 15, Umex GmbH, Dresden, Deutschland),  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , kontinuierliche Beleuchtung mit Leuchtstoffröhren mit einer mittleren Lichtintensität von  $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  und Modellierung nach Kapitel 5.1 mit Parametern:  $\mu_{\max} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,  $K_{SI} = 70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,  $d = 65 \text{ mm}$ ,  $K_{KI} = 6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$

Die Modellierung zeigt Abweichung zu den Messwerten. Der berechnete Verlauf der Biomassekonzentration liegt deutlich unter den Messwerten, da die Wachstumsrate bereits deutlich früher abfällt. Diese Abweichung erscheint logisch, wenn man bedenkt, dass das genutzte Modell für Flat-Panel-Photobioreaktoren entwickelt wurde, bei denen ein rechteckiger Reaktionsraum gegeben ist. In einer Blasensäule besteht der Reaktionsraum jedoch aus einem Zylinder mit gekrümmter Bestrahlungsfläche, so dass das verwendete Absorptionsmodell nach Lambert-Beer keine befriedigende Beschreibung der Verhältnisse liefert. Die Bestrahlungsfläche nimmt bezogen auf die eingestrahelte Lichtintensität, ohne Berücksichtigung der Absorption, vom Rand zur Mitte der Blasensäule hin zu. Im Inneren könnten also lokal höhere Lichtintensitäten und eine damit verbundene höhere Wachstumsrate vorherrschen. Es müssten andere Absorptionsmodelle für zylindrische Systeme (z.B. Evers 1991; Cornet et al. 1992b; Franco-Lara et al. 2006) angewendet werden, um gezielter die Lichtverhältnisse in der Blasensäule zu simulieren. Ebenso sind Nährstoff- und pH-Limitationen im Modell nicht berücksichtigt, welche bei langen Kultivierungszeiten wie in der Blasensäule durchaus eintreten können.

### Bewertung

Die Blasensäule bietet Sensorik, weist jedoch Nachteile für wachstumskinetische Untersuchungen auf. Die Sauerstoffsensorik in Kombination mit einer hohen Begasungsrate mit Luft zur Durchmischung ist nicht befriedigend, eine Stickstoffbegasung wäre notwendig. Die Leuchtstoffröhren bieten eine variable Beleuchtung mit Lichtintensitäten von bis zu  $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , was keine Untersuchung im Bereich der Sättigung und Inhibition erlaubt. Die Blasensäule besitzt einen großen Durchmesser, wodurch ein starker Lichtgradient im Reaktionsraum auftritt, so dass undefinierte Hell-Dunkel-Zyklen für die Zellen die Folge sind. Ein weiterer Nachteil ist, dass für einen kontinuierlichen Betrieb große Volumina an Medium notwendig wären.

### **5.3.3 Fazit**

Die Kultivierung von *A. platensis* in den klassisch mit Leuchtstoffröhren beleuchteten Systemen Schüttelinkubator und Blasensäule ist möglich. Der Schüttelinkubator bietet aber nur unzureichende Analyse- und Beleuchtungsmöglichkeiten (Heterogenität der Lichtverteilung, keine variable und zu geringe Lichtintensität). Die Blasensäule realisiert ebenfalls keine Bedingungen für kinetische Experimente (Heterogenität der Lichtverteilung, variable aber zu geringe Lichtintensität). Die Lichtintensität im Reaktionsraum kann in beiden Systemen aufgrund der Geometrie nur unter großem Aufwand modelliert werden. Die reaktionskinetische Untersuchung phototropher Organismen ist in den klassischen Systemen nicht möglich, es muss in weiterentwickelte Systeme übergegangen werden.

## 5.4 Entwicklung des CultiLux

Das Schüttelinkubatorsystem RAMOS ist für Experimente mit Schüttelkolben mit online-Analytik der Sauerstoff- und Kohlendioxidtransferraten ausgelegt. Bisher konnten aber nur heterotrophe Organismen im RAMOS kultiviert werden, da keine Beleuchtungseinheit existiert. In der Literatur findet sich lediglich eine Publikation zur Kultivierung eines photosynthetisch aktiven Organismus im RAMOS, wobei eine von den Autoren selbst entworfene Beleuchtung der RAMOS-Kolben mit Leuchtstoffröhren von oben verwendet wurde (Rechmann et al. 2007). Diese birgt zwei wesentliche Nachteile (Kapitel 5.2): erstens wird die Zellsuspension durch die Sensoraufbauten auf den RAMOS-Messkolben verschattet. Zweitens kann nur eine Lichtintensität ( $580 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) eingestellt werden.

In dieser Arbeit sollte deshalb eine modulare Beleuchtungseinheit (CultiLux) zum Einsatz im RAMOS entwickelt werden, welche eine variable Beleuchtung bis zu hohen Lichtintensitäten von  $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  erlaubt. Anschließend wurde die entwickelte Beleuchtungseinheit charakterisiert und die Temperatur in der Schüttelkolbenflüssigkeit untersucht, da die Installation einer Lichtquelle in einem geschlossenen Inkubatorraum eine zusätzliche Wärmeenergiequelle darstellt. Danach wurde das RAMOS mit der Beleuchtungseinheit CultiLux zur Kultivierung des Cyanobakteriums *A. platensis* eingesetzt (Kapitel 5.5).

### 5.4.1 Konzeption

Es wurde ein neues Beleuchtungskonzept für das RAMOS mit den folgenden Eigenschaften entworfen und anschließend aufgebaut. Die Beleuchtung der Schüttelkolben wurde von unten realisiert (Abbildung 26A) um Verschattung durch die Sensoraufbauten zu vermeiden und eine möglichst große Fläche des Flüssigkeitsvolumens im Schüttelkolben zu beleuchten. Eine Aussparung zwischen Kolbenboden und Schütteltablar wurde vorgesehen, diese ermöglicht Einsatz von Dimm- oder Diffusormaterialien sowie, wenn gewünscht, Filtermaterialien für bestimmte Wellenlängenbereiche. Ebenso kann in diesem Zwischenraum Zirkulation zur Wärmeabfuhr stattfinden.

Es wurde eine kreisförmige Anordnung von sechs in Reihe geschalteten LED festgelegt (Abbildung 26B, C), welche auf eine Edelstahlplatte durch thermisch leitenden Spezialkleber fixiert wurden. Dies ermöglicht einen Abtransport der bei der elektrischen Versorgung der LED entstehenden Wärme über das Schütteltablar. Diese Anordnung repräsentiert ein LED-Panel. Zwei LED-Panel können immer parallel über ein Potentiometer angesteuert werden (Abbildung 26B), was für Doppelbestimmungen von Vorteil ist. Die Einstellung der Lichtintensität erfolgt über ein Potentiometer, welches mit einem digitalen Display versehen ist, um eine reproduzier-

bare Einstellung zu ermöglichen. Später ist eine elektronische Ansteuerung über die RAMOS-Software vorgesehen.

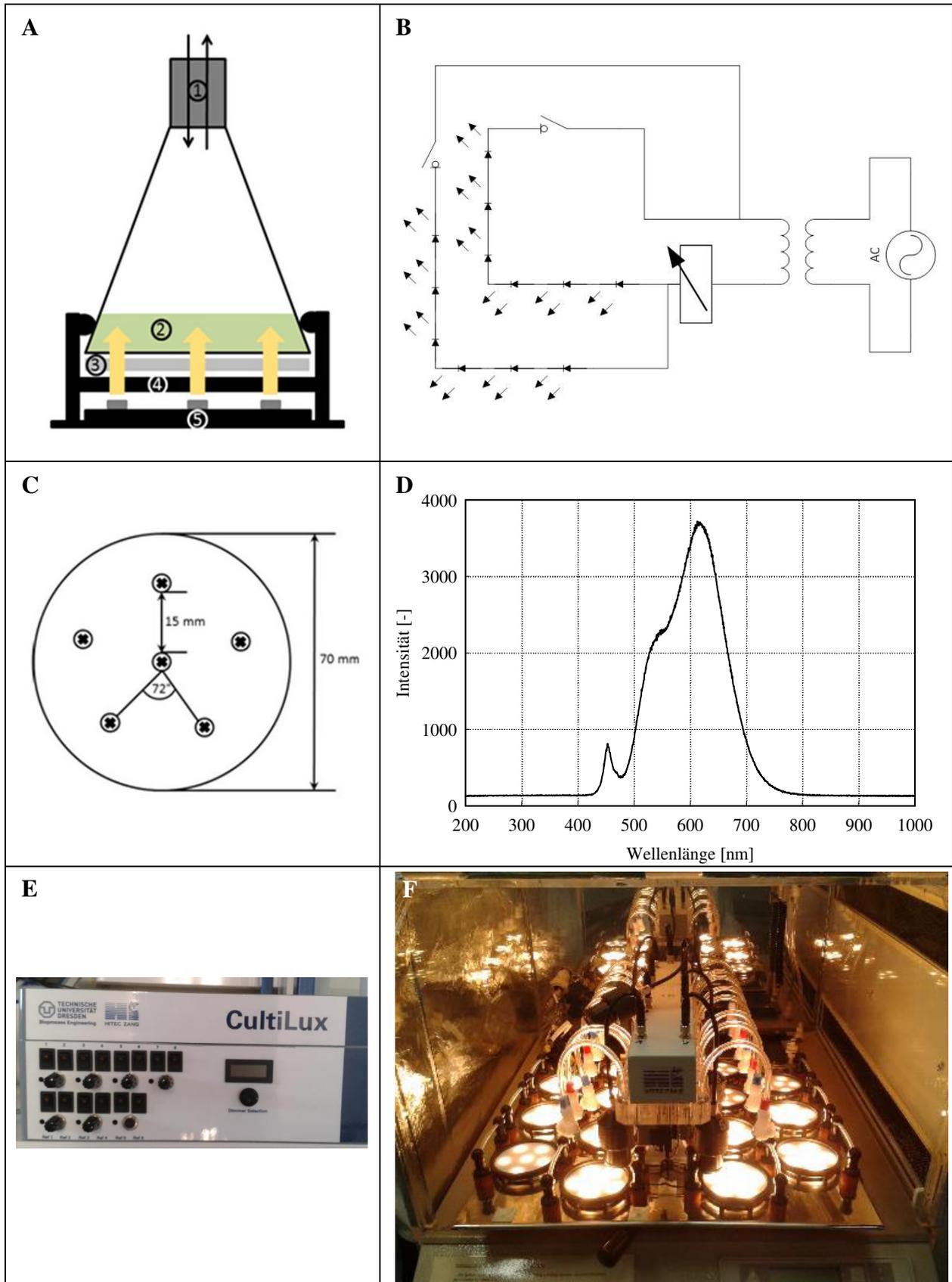
Es wurden warmweiße LED zur Beleuchtung ausgewählt, da diese Dioden Photonen über nahezu den gesamten Wellenlängenbereich emittieren, welche für photosynthetisch aktive Organismen von Interesse sind (PAR-Strahlung 400 - 700 nm, Kapitel 2.2). Mit den gewählten LED ist es möglich, den Großteil der Absorptionsmaxima der existierenden Photosynthesepigmente wie Chlorophylle (430 - 450 nm, 640 - 690 nm) und Phycobiliproteine (500 - 650 nm) anzuregen (Abbildung 26D). Bakterienchlorophylle, die im Bereich von 400 - 750 nm absorbieren, können ebenfalls angeregt werden; falls Wellenlängen im Bereich von UV oder Infrarot benötigt werden, können entsprechende LED auch leicht auf diesem Panel installiert werden.

Der realisierte Gesamtaufbau der modularen Beleuchtungseinheit CultiLux für die acht RAMOS-Messkolben und die sechs Referenzplätze ist in Abbildung 26F dargestellt. Die Steuerbox (Abbildung 26E) ermöglicht die separate Einstellung für die jeweiligen Kolbenplätze mit Schaltern für Stromzufuhr und den Potentiometern für die Einstellung der Lichtintensitäten.

#### **5.4.2 Charakterisierung Beleuchtungseinheit**

##### Bereich der Lichtintensität

Die Einstellung der Lichtintensität von zwei gekoppelten LED-Panels kann über das Potentiometer und Einsatz verschiedener Dimmmaterialien im Bereich von 0 bis zu  $2300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (gemittelt über die LED-Panel-Fläche) variabel eingestellt werden. Die Halbleiterstruktur im Aufbau der LED bedarf einer bestimmten Spannung, um Photonen zu emittieren, welche die minimale Potentiometerstellung bedingt, woraus eine Lichtintensität von  $340 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  resultiert. Die Lichtintensität kann allerdings durch den Einsatz von Dimmmaterialien wie Plexiglas, speziellen Textilien oder Papier noch weiter verringert werden (Tabelle 12). So ist es z.B. mit 2 oder 4 mm weißem Plexiglas möglich, die Lichtintensität bei maximaler Potentiometerstellung um 35 bzw. 57 % zu senken. Mittels handelsüblichem Druckerpapier lässt sich ebenfalls eine gute Dimmung um ca. 67 % erreichen. Bei niedriger Potentiometerstellung kann die Ausgangsintensität und den genannten Dimmmaterialien um 92 - 96 % reduziert werden, womit auch die unteren Bereiche der Lichtintensität zur Untersuchung der Kompensation mit den gewählten Hochleistungs-LED realisiert werden können. Der einstellbare Bereich der Lichtintensität im CultiLux deckt somit in etwa die Lichtintensitäten ab, welchen phototrophe Organismen auch in der Natur ausgesetzt sind: von stark gedimmtem Licht unter der Wasseroberfläche bis hin zu exponiertem Sonnenlicht. Zum Vergleich: die Solarkonstante beträgt ca.  $1368 \text{ W m}^{-2}$ , was einer Lichtintensität von ca.  $6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  entspricht (Xue et al. 2011).



**Abbildung 26: CultiLux-Beleuchtungseinheit für das RAMOS**

Seitenansicht der Anordnung mit 1 - Sensorkopf mit Sauerstoff-, Drucksensor und Gasaustausch, 2 - Zellsuspension im Schüttelkolben, 3 - Diffusor-/Dimmelemente, 4 - Schüttelkolbenhalterung, 5 - LED-Panel (A); Schaltplan (B); Anordnung der LED (markiert durch schwarze Kreuze) auf einem LED-Panel (C); Wellenlängenspektrum der verwendeten warm-weißen LED (D); Steuerbox (E); finaler Aufbau auf RAMOS-Schütteltablett (F)

Die Konstante ist allerdings ein langjähriges Mittel über den alternierenden Abstand zwischen Erde und Sonne ohne Berücksichtigung von atmosphärischen Einflüssen wie Wetter (Bewölkung, Nebel, Smog), weshalb die real auf die phototrophen Organismen wirkende Lichtintensität meist unterhalb der Solarkonstante liegt. Von Interesse ist bei Experimenten zur Untersuchung der Photoinhibition sicherlich lediglich der untere Bereich dieser Stresssituation bis  $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Für *Arthrospira* spp. werden z.B. Lichtintensitäten über  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  als stark inhibierend beschrieben (Xue et al. 2011). Die Beleuchtungseinheit bietet demzufolge ausreichend variable Lichtintensitäten zur Untersuchung des gesamten Bereichs von der Kompensation bis zur Photoinhibition.

Zusätzlich zur Einstellung variabler Lichtintensitäten ist es mit der aufgebauten Beleuchtungseinheit sehr leicht möglich, zwischen dem Kolbenboden und den LED Filtermaterialien einzufügen, um bestimmte Wellenlängenbereiche der von den LED emittierten Photonen zu filtern, falls Experimente mit z.B. Rotlicht gewünscht sind. Alternativ ist es auch möglich, die LED auf dem Panel auszutauschen, wenn anders emittierende LED (wie z.B. farbige, UV- oder Infrarot-LED) benötigt werden.

Lichtintensitäten kommerzieller oder in der Literatur publizierter Eigenentwicklungen von Beleuchtungseinheiten für Schüttelinkubatorsysteme liegen meist, bedingt durch die Verwendung von Leuchtstoffröhren, in Bereichen von 20 bis  $580 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , wobei beachtet werden muss, dass nicht der genaue Messpunkt angegeben wurde (Kuhne et al. 2014; Rechmann et al. 2007). Die Nutzung von LED ermöglicht weitaus höhere realisierbare Lichtintensitäten sowie die Applikation der Beleuchtung vom Kolbenboden her, was einen wesentlichen Vorteil darstellt. Andere Autoren verwenden ebenfalls bereits erfolgreich LED zur Kultivierung phototropher Organismen in Schüttelkolben (Cerff und Posten 2012; Cerff et al. 2009; Wang et al. 2007).

### Tabelle 12: Dimmeffekt durch verschiedene Materialien

Mittlere erreichbarer Dimmeffekt in % bezogen auf maximal ohne Einbauten gemessene Lichtintensität über einem LED-Panel der Beleuchtungseinheit für das RAMOS in Abhängigkeit verschiedener Potentiometerstellungen und Dimmmaterialien

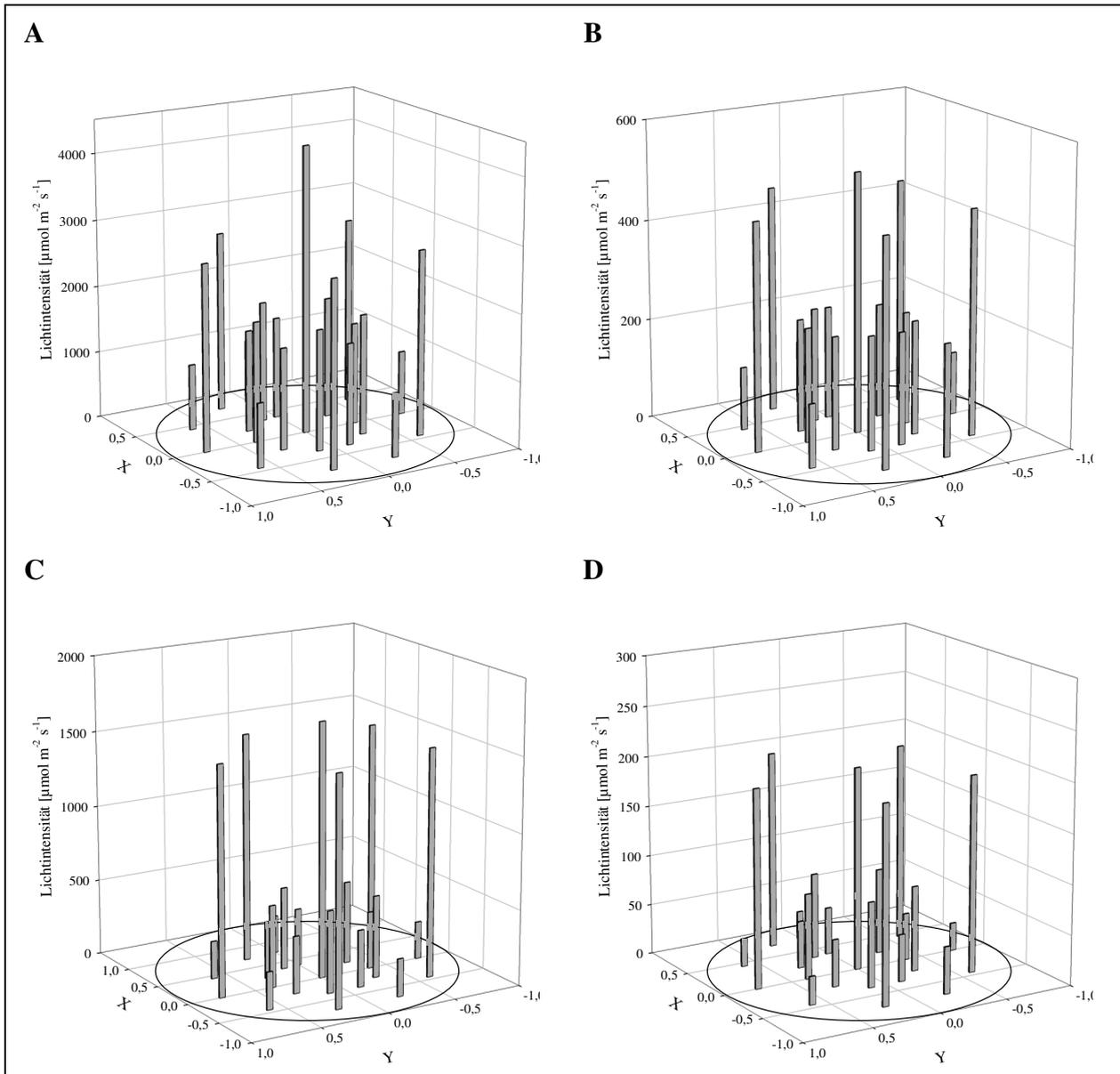
Potentiometer	Dimm-/Diffusormaterial	Dimmeffekt %
Maximal	Weißes Plexiglas 2 mm	35
Maximal	Weißes Plexiglas 4 mm	57
Maximal	Kommerzielles Druckerpapier	67
Minimal	-	85
Minimal	Weißes Plexiglas 2 mm	92
Minimal	Weißes Plexiglas 4 mm	94
Minimal	Kommerzielles Druckerpapier	96

### Verteilung Lichtintensität über Kolbenboden

Die Verteilung der Lichtintensität über den Kolbenboden wurde charakterisiert. Die Lichtintensität wurde dazu über einem LED-Panel direkt auf dem Boden eines leeren Schüttelkolbens an verschiedenen Punkten über der Fläche gemessen. Die Resultate in Abhängigkeit verschiedener Potentiometerstellungen und Einsatz von Dimmmaterialien sind in Abbildung 27 dargestellt. Die Verteilung der Lichtintensität über der Kolbengrundfläche war sehr heterogen, besonders bei hohen Lichtintensitäten, was daraus resultiert, dass LED punktförmige Lichtquellen darstellen. Bei minimaler Dimmung (Abbildung 27A) wird im Zentrum des Kolbenbodens ( $x = 0$ ;  $y = 0$ ) direkt über der zentralen LED eine Lichtintensität von ca.  $4300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  erreicht, welche dann an den Positionen auf und zwischen den weiteren LED von  $2500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  auf ca.  $900 - 1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  im äußeren Bereich abnahm. Während maximaler Dimmung (Abbildung 27B) wurden im Vergleich dazu  $520, 450$  und  $130 - 230 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  an den o.g. Positionen ermittelt. Bei Einsatz von 2 mm Plexiglas (Abbildung 27C, D) wurde die Lichtintensität weiter verringert und diffuser. Besonders auffällig war die Reduktion der zentralen hohen Lichtintensität über dem Zentrum der Kolbengrundfläche und Vereinheitlichung der kreisförmig umliegenden LED.

Andere spezielle Diffusortextilien und -systeme, wie sie im Handel für Lichtdecken oder Fotografie erhältlich sind (z.B. Ronor™, Lidesys), könnten noch weitere Verbesserung der Homogenität der Lichtverteilung bewirken. Ebenso wäre eine Vergrößerung des Abstandes zwischen Kolbenboden und LED-Panel denkbar, da dann der Abstrahlwinkel ( $120^\circ$ ) der LED genutzt wird, was jedoch mit Verringerung der Intensität und mehr Platzbedarf einhergeht.

Es konnte festgestellt werden, dass das CultiLux wesentlich klarer definierte Bedingungen hinsichtlich der Beleuchtung zur Verfügung stellt als kommerzielle Schüttelinkubatoren (Kapitel 5.3) und die Beleuchtungsmöglichkeit des RAMOS mit Leuchtstoffröhren von oben (Rechmann et al. 2007). In der Literatur werden nur sehr selten detaillierte Messungen zur Lichtverteilung über dem Reaktionsraum angegeben wie z.B. bei Krujatz et al. (2015) oder Krautwer (2013). Einige Autoren beschreiben wenigstens verbal den Aufbau der Beleuchtungseinheit und schneiden das Thema der heterogenen Lichtverteilung durch die punktförmigen LED an (Cuaresma et al. 2009; Nedbal et al. 2008; Lee und Palsson 1994). Anderen in der Literatur gezeigten LED-Beleuchtungsmöglichkeiten von unten, entwickelt z.B. von Cerff und Posten (2012) und Cerff et al. (2009), ist das CultiLux in Verbindung mit dem RAMOS dadurch überlegen, dass ein Beobachten von Wachstumsvorgängen im Schüttelkolben online möglich ist.



**Abbildung 27: Verteilung der Lichtintensität im Kolben über einem CultiLux-LED-Panel**

Lichtintensität in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  von sechs kreisförmig angeordneten LED auf einem LED-Panel über der Kolbengrundfläche (kreisförmiger Bereich) mit Mittelpunkt ( $x = 0$ ;  $y = 0$ ); Potentiometerstellung maximal, kein Dimmmaterial (A); Potentiometerstellung minimal, kein Dimmmaterial (B); Potentiometerstellung maximal, 2 mm Plexiglas (C); Potentiometerstellung minimal, 2 mm Plexiglas (D)

### 5.4.3 Untersuchung der Temperaturerhöhung durch Beleuchtung

Nach der Charakterisierung der Beleuchtungseinheit wurde das System mit kontinuierlicher Beleuchtung über einen bestimmten Zeitraum betrieben, wobei keine Temperaturabweichungen im Inkubatorraum durch das interne Temperaturmesssystem des RAMOS detektiert wurden. Allerdings wurde festgestellt, dass sich trotzdem die Temperatur der Flüssigkeit innerhalb der Schüttelkolben erhöhte. Es wurde deshalb untersucht, welchen Einfluss die Beleuchtung in Abhängigkeit verschiedener Lichtintensitäten, Inkubatortemperaturen und Hell-Dunkel-Zyklen auf die Temperatur der Schüttelkolbenflüssigkeit hat. Dies ist von großem Interesse, da

Temperaturänderungen erstens Einfluss auf die Stoffwechselfvorgänge der Zellen sowie zweitens auf die Druckverhältnisse und damit verbundene Gasanalytik im RAMOS haben.

Die Untersuchung fand mit Wasser als Modellmedium statt, wobei die RAMOS-Messkolben anhand des erstellten Versuchsplans unterschiedlichen Bedingungen bzgl. Lichtintensität, Inkubatorsolltemperatur und Belichtungszeit ausgesetzt wurden, währenddessen die Temperatur der Kolbenflüssigkeit aufgezeichnet wurde. Abweichungen der Temperatur der Kolbenflüssigkeit von der Inkubatorsolltemperatur (Tabelle 13) wurden ermittelt und der Verlauf des Experiments Nr. 3 ist für eine Belichtungszeit von 1,5 h und einer Lichtintensität von  $2300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  exemplarisch dargestellt (Abbildung 28).

Es ist ersichtlich, dass erwartungsgemäß ohne Beleuchtung keine Temperaturabweichung messbar war (Abbildung 28 grauer Bereich). Im Gegensatz dazu stieg bei Beleuchtung (Abbildung 28 weißer Bereich) die Temperatur in der Schüttelkolbenflüssigkeit um bis zu 4,4 K im Vergleich zur Inkubatorsolltemperatur an. Mit abnehmender Lichtintensität und Beleuchtungszeit wurde die Abweichung geringer, wobei man davon ausgehen kann, dass bei Beleuchtungszeiten von unter 0,5 h noch kein Gleichgewicht der Erwärmung stattgefunden hat. Bei Beleuchtung stellte sich nach ca. 1 h (mit Erwärmung von ca.  $0,08 - 0,16 \text{ K min}^{-1}$  im linearen Bereich) Beleuchtungszeit ein Gleichgewicht ein.

### Tabelle 13: Temperaturabweichung im RAMOS-CultiLux

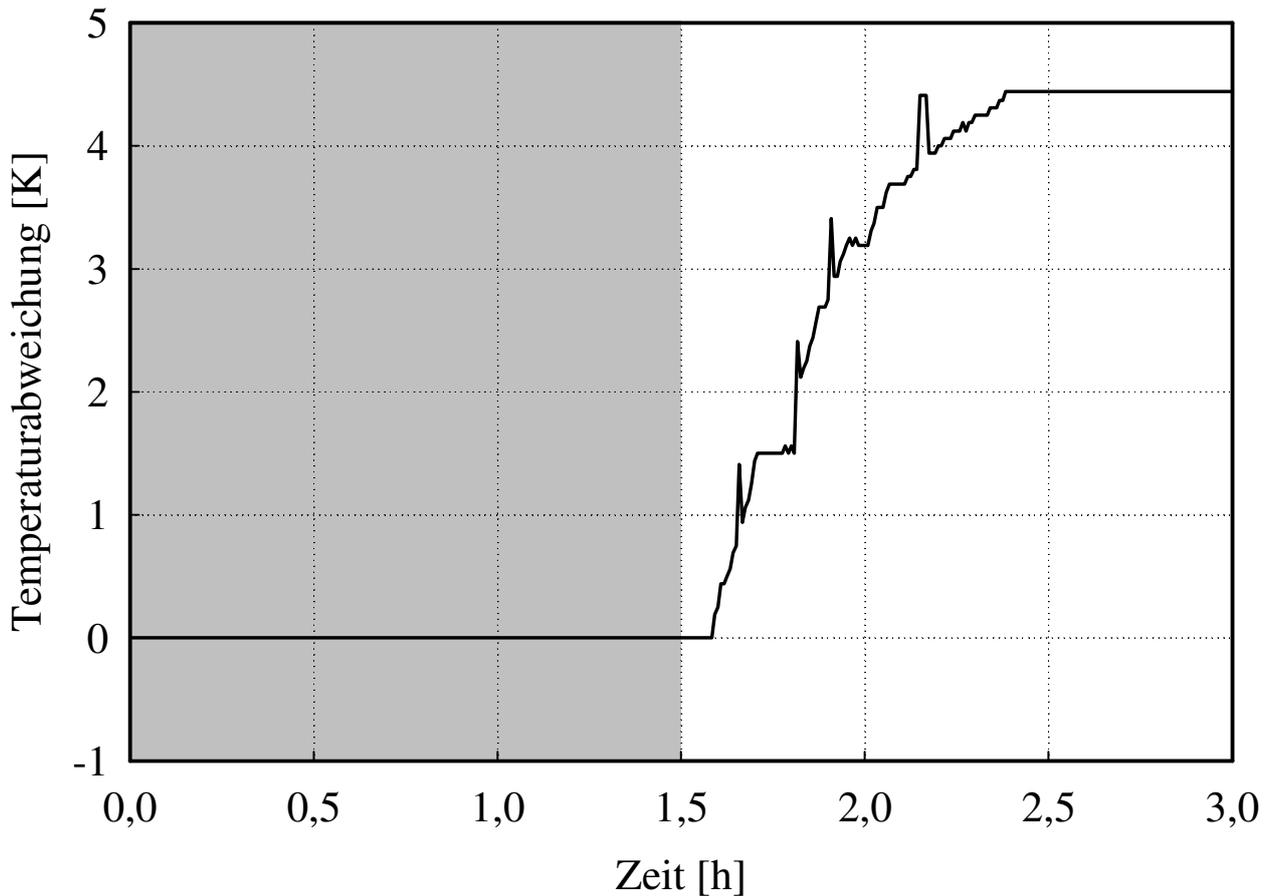
Temperaturabweichung  $\Delta T$  in K in der Schüttelkolbenflüssigkeit im RAMOS-CultiLux in Abhängigkeit der Parameter Inkubatorortemperatur  $T_{\text{soll}}$  in  $^{\circ}\text{C}$ , Beleuchtungszeit  $t_{\text{Licht}}$  in h und Lichtintensitäten  $I$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Nr.	$T_{\text{soll}}$ $^{\circ}\text{C}$	$t_{\text{Licht}}$ h	$I$ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	$\Delta T$ K
1	30	0,5	0	0
2	20	0,5	2300	3,5
3	30	1,5	2300	4,4
4	25	1	1150	1,4
5	25	1	1150	1,5
6	20	1,5	1150	1,4

Es wurde anschließend eine Modellregression anhand des komplettierten Versuchsplans vorgenommen und ein lineares Modell mit allen untersuchten Parametern mit hohem Bestimmtheitsmaß von 0,97 für den Untersuchungsbereich festgelegt.

$$\Delta T = -2,736 + 0,00871 \cdot T_{\text{soll}} + 0,04286 \cdot t_{\text{Licht}} + 0,04429 \cdot I \quad \text{Glg. 19}$$

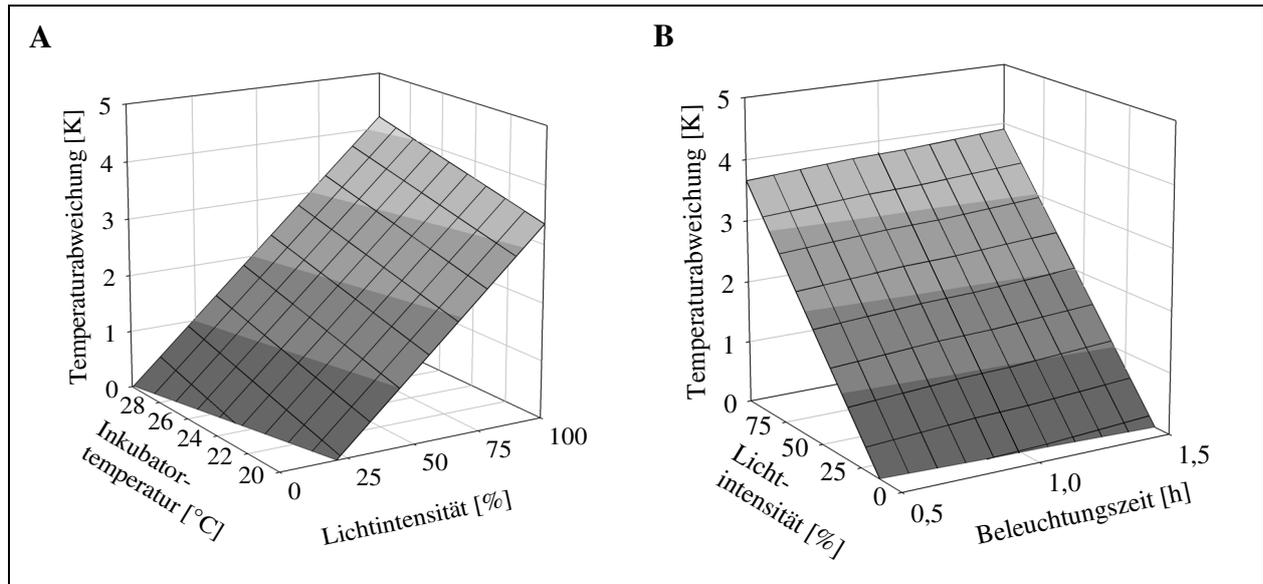
Formel mit: Temperaturabweichung  $\Delta T$  in K, Inkubatorsolltemperatur  $T_{\text{soll}}$  in  $^{\circ}\text{C}$ , Beleuchtungszeit  $t_{\text{Licht}}$  in h, Lichtintensität  $I$  in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .



**Abbildung 28: Temperaturverlauf im RAMOS-Kolben mit CultiLux-Beleuchtungseinheit**

Zeitlicher Verlauf der Temperaturabweichung in K vom Sollwert in der Schüttelkolbenflüssigkeit (Wasser) im RAMOS mit Beleuchtungseinheit CultiLux ohne (grauer Bereich) und mit Beleuchtung (weißer Bereich) mit einer Lichtintensität von  $2300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Das Modell zeigt die größte Beeinflussung der Zielgröße  $\Delta T$  durch den Parameter Lichtintensität. Einen geringen Einfluss übt die Inkubatorsolltemperatur aus (Abbildung 29). Dabei war interessant, dass je niedriger die Solltemperatur des Inkubators war, desto niedriger war auch die Abweichung der Kolbenflüssigkeitstemperatur. In diesem Zustand funktioniert der Wärmeabtransport aus dem Inkubatorraum wahrscheinlich besser. Die Temperaturregelung des RAMOS funktioniert so, dass permanent die Luft des Inkubatorraumes über einen Kühlkörper geleitet und auf eine Temperatur, welche durch den externen Kühlkreislauf vorgegeben ist, gekühlt wird. Bei Bedarf wird mit einer elektrischen Heizung die Luft erwärmt. Wird nun im Falle einer niedrigeren Solltemperatur als der umgebenden Raumtemperatur die meiste Zeit keine Heizung geschaltet, sondern permanent gekühlt, kann die durch die Beleuchtung zusätzlich eingebrachte Wärme besser abtransportiert werden als unter Bedingungen die über der Raumtemperatur liegen und die Heizung zusätzlich in Betrieb genommen wird.



**Abbildung 29: Temperaturabweichung im RAMOS mit CultiLux**

Zielgröße Temperaturabweichung in K in der Schüttelkolbenflüssigkeit vom Sollwert in Abhängigkeit der Parameter Lichtintensität und Inkubator-temperatur (A) und Lichtintensität und Beleuchtungszeit (B)

Die Temperaturabweichung der Kolbenflüssigkeit von der eingestellten Inkubatorsolltemperatur ist diesen Ergebnissen nach bei Beleuchtung nicht vernachlässigbar. Eine Temperaturdifferenz von bis zu 4,4 K wurde detektiert, was einen beträchtlichen Einfluss auf den Stoffwechsel der phototrophen Organismen haben kann. Ebenso kann die Messung des RAMOS beeinträchtigt werden, da der Druck von der Temperatur abhängig ist. Die vom System auf den eingestellten Temperatursollwert abgestimmten Berechnungen für den Gastransfer weichen somit ab.

Grund für die Temperaturerhöhung ist das Einbringen der LED als eine zusätzliche Wärmequelle ins System, was bereits früh von Autoren angemerkt wurde (Lee und Palsson 1994), jedoch selten bei Photobioreaktoranwendungen mit LED beachtet wird. Einerseits geben die LED auf ihrer Kontaktierungsseite Energie ab, andererseits bewirken die von den LED emittierten Photonen, wenn diese auf die Wasserdampfmoleküle im Kolbenkopfraum treffen, eine Energiedissipation ebenfalls in Wärme. Die resultierende Wärme steigert wiederum die Entstehung von Wasserdampf im Kolbenraum und noch mehr Wasserdampfmoleküle treten in Wechselwirkung mit den eingebrachten Photonen, die Aufheizung nimmt zu. Dieser Vorgang ist auch als Treibhauseffekt bekannt, zumal Wasserdampf als eines der entscheidendsten Gase für das Vorantreiben des Treibhauseffekts gilt (Jacob 1999). Die Wärmeproduktion durch den Stoffwechsel der Zellen kommt hinzu. Die Photosysteme sind in der Lage zum Schutz in bestimmtem Maß überschüssige Energie der Bestrahlung mit Photonen in Wärme zu dissipieren (Stryer 2012). Dies wird besonders in Experimenten mit hohen Lichtintensitäten zur Untersuchung der Photoinhibition der Fall sein.

Die einfachste Maßnahme wäre eine entsprechende Reduktion der Inkubator Temperatur, was jedoch nur eine temporäre Hilfslösung darstellt und spätestens bei Experimenten mit Hell-Dunkel-Zyklen werden Probleme auftreten, da sich in der Dunkelphase die Kolbenflüssigkeit auf den niedrigeren Wert abkühlen würde. Günstiger erscheinen Verbesserungen am Design des Kühlsystems zum Abtransport der zusätzlich eingebrachten Wärme. Dies könnte z.B. mit einer Verbesserung der Luftzirkulation oder durch passive (Metallkühlkörper unter LED) oder aktive Kühlelemente (Kühlkreislauf unter den LED) innerhalb des Inkubatorraumes geschehen, um den Wärmeabtransport über das Schütteltablett zu erhöhen.

Es bleibt noch zu klären, was geschieht, wenn kürzere Beleuchtungszeiten appliziert werden. Rein hypothetisch sollte sich bei hochfrequenten Hell-Dunkel-Zyklen eine mittlere resultierende Lichtintensität mit dementsprechender Temperaturerhöhung einstellen (Kapitel 2.3).

Insgesamt betrachtet darf der Einfluss der Temperaturerhöhung auf die Zellen durch die Beleuchtung nicht unterschätzt werden, da Änderungen der Wachstumsrate sowie Zellzusammensetzung die Folge sind (Sili et al. 2012; Torzillo et al. 1986; Torzillo et al. 1984, Kapitel 2.1). Reaktionskinetische Aussagen bzgl. der Abhängigkeit des Wachstums von der Lichtintensität könnten durch den unbekanntem Temperatureinfluss falsch interpretiert werden.

#### **5.4.4 Fazit**

Es wurde eine Beleuchtungseinheit (CultiLux) für das RAMOS mit LED zur Realisierung phototropher Kultivierungen mit variablen Lichtintensitäten von bis zu  $2300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  entwickelt. Die Lichtverteilung des CultiLux ist durch die eingesetzten punktförmigen LED-Lichtquellen jedoch heterogen über dem Reaktionsraum verteilt. Zusätzlich konnte eine Temperaturerhöhung von bis zu 4,4 K in der Schüttelkolbenflüssigkeit durch die Beleuchtung mit einer Lichtintensität von  $2300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  detektiert werden. Hier müssen noch Gegenmaßnahmen ergriffen werden.

## 5.5 Kultivierung im RAMOS-CultiLux

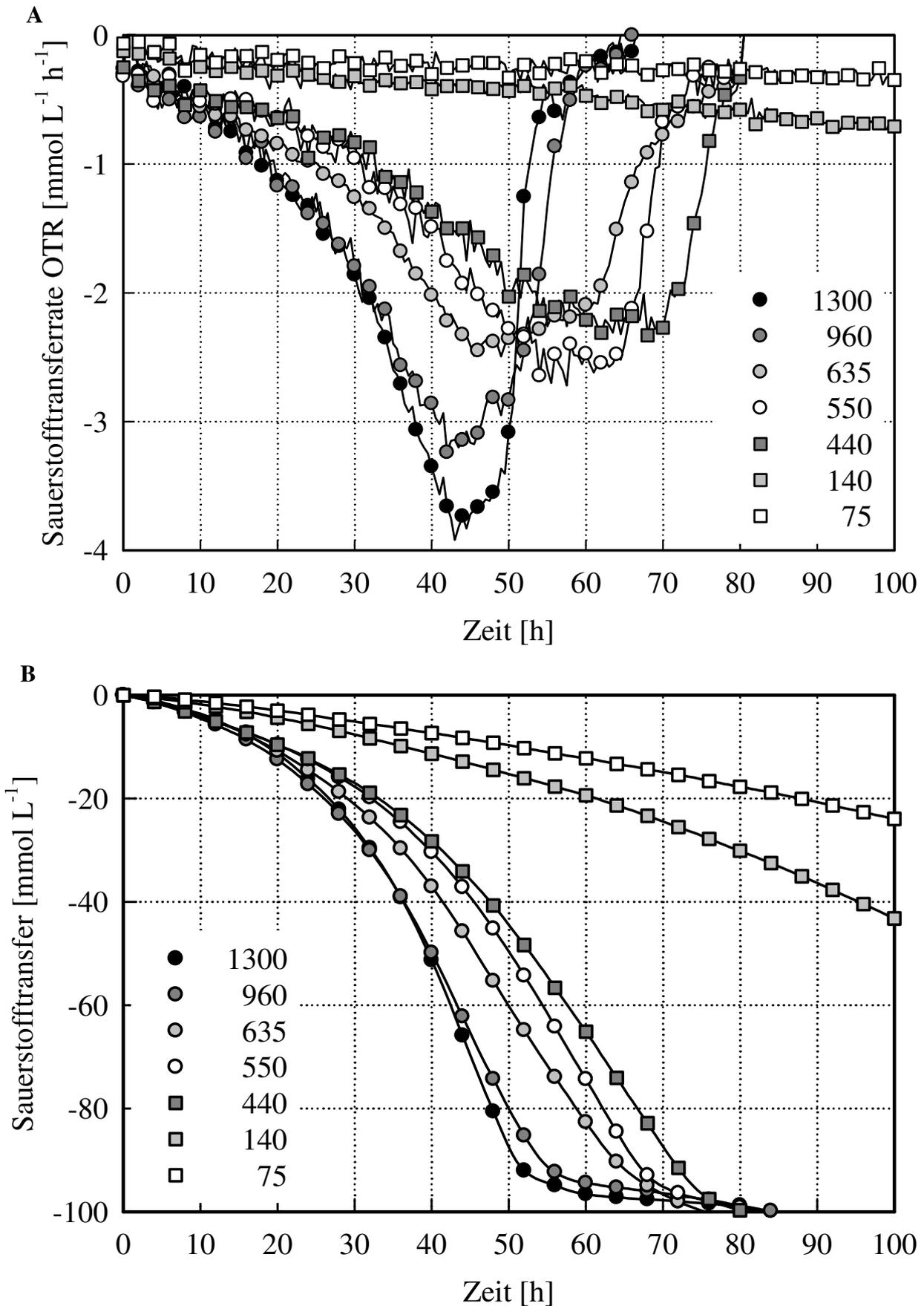
Das RAMOS mit der charakterisierten Beleuchtungseinheit CultiLux wurde zur Kultivierung des Modellorganismus *A. platensis* eingesetzt. Die Kultivierung wurde unter kontinuierlicher Beleuchtung bei unterschiedlichen Lichtintensitäten, sowie Hell-Dunkel-Zyklen und photomixotrophen Bedingungen durchgeführt. Es sollte dabei getestet werden, ob die Sensorik des RAMOS zur Detektion der Photosynthese in den genannten Szenarien geeignet ist. Die Rohdaten der jeweiligen Kultivierungen sind in Anhang 3.3 zu finden und die Daten wurden in der Fachliteratur veröffentlicht ([Socher et al. 2015](#); [Socher et al. 2014](#)).

### 5.5.1 Kultivierung von *A. platensis* mit kontinuierlichem Licht

#### Sauerstoffbildung

Die Zellen von *A. platensis* konnten im RAMOS mit der entwickelten Beleuchtungseinheit CultiLux photoautotroph unter kontinuierlicher Beleuchtung bei verschiedenen Lichtintensitäten erfolgreich kultiviert werden. Es wurden der Sauerstofftransfer (OT) und dessen Rate (OTR) mit der RAMOS-Sensorik erfasst. Dabei sanken die OTR und der OT gemäß den Konventionen bei der Beschreibung der RAMOS-Messwerte auf negative Werte ab, was einer Sauerstoffproduktion entspricht. Positive Werte, wie sie bei heterotrophen Kultivierungen auftreten, bedeuten Sauerstoffverbrauch. Der Kohlendioxidtransfer (CT) und dessen Rate (CTR) würden bei Verbrauch in phototrophen Prozessen ebenfalls negative Werte zeigen, da vereinbarungsgemäß Kohlendioxidbildung wie in heterotrophen Prozessen positive Werte bewirkt. Allerdings zeigten der CT und die CTR erwartungsgemäß keine Werte während der Kultivierung von *A. platensis*, da die Zellen in einem stark alkalischen (pH 9 - 11) und Carbonat-haltigen Medium wachsen. Das Kohlenstoffsubstrat liegt gelöst vor und muss nicht in Form von Kohlendioxid zugeführt werden und Kohlendioxid, welches möglicherweise während der Respiration entsteht, löst sich sofort wieder bei dem hohen pH-Wert im Medium und wird nicht in die Gasphase abgegeben, wodurch kein CTR-Signal messbar ist.

Es wurde die Sauerstoffbildung von *A. platensis* bei Lichtintensitäten von 75, 140, 440, 550, 635, 960 sowie  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  untersucht. Die Sauerstoffbildung ist in Form der OTR und des OT in Abbildung 30 dargestellt. Lichtintensitäten unter  $140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  generierten nur sehr geringe OTR-Signale und kaum Beschleunigung des Signals. Die OTR zeigten bei höheren Lichtintensitäten ab  $440 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  einen progressiv abnehmenden Verlauf bis zu einem minimalen Wert; die Sauerstoffbildung beschleunigte sich durch das Wachstum. Dann wurde ein Anstieg auf  $0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  beobachtet, was bedeutet, dass weder Sauerstoffproduktion noch Respiration mehr stattfand. Das erreichte OTR-Minimum war mit  $-3,8 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  bei  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  am geringsten und die Beschleunigung der Abnahme am größten.



**Abbildung 30: Sauerstoffbildung *A. platensis* im RAMOS-CultiLux kontinuierliches Licht**

Sauerstofftransferrate OTR in  $\text{mmol L}^{-1} \text{h}^{-1}$  (A) und Sauerstofftransfer OT in  $\text{mmol L}^{-1}$  (B) während der Kultivierung von *A. platensis* PCC 9108 im RAMOS mit CultiLux-Beleuchtungseinheit (Zarrouk-Medium, 30 °C, 110 rpm) unter kontinuierlicher Beleuchtung mit verschiedenen Lichtintensitäten in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (siehe Legende)

Insgesamt betrachtet stieg mit steigender Lichtintensität die Beschleunigung der OTR-Abnahme und es wurden niedrigere Minima erreicht. Dies bedeutet, je mehr Photonen den phototrophen Zellen zur Verfügung stehen, desto schneller wachsen die Zellen, was sich in der Sauerstoffbildung und somit der detektierbaren OTR widerspiegelt.

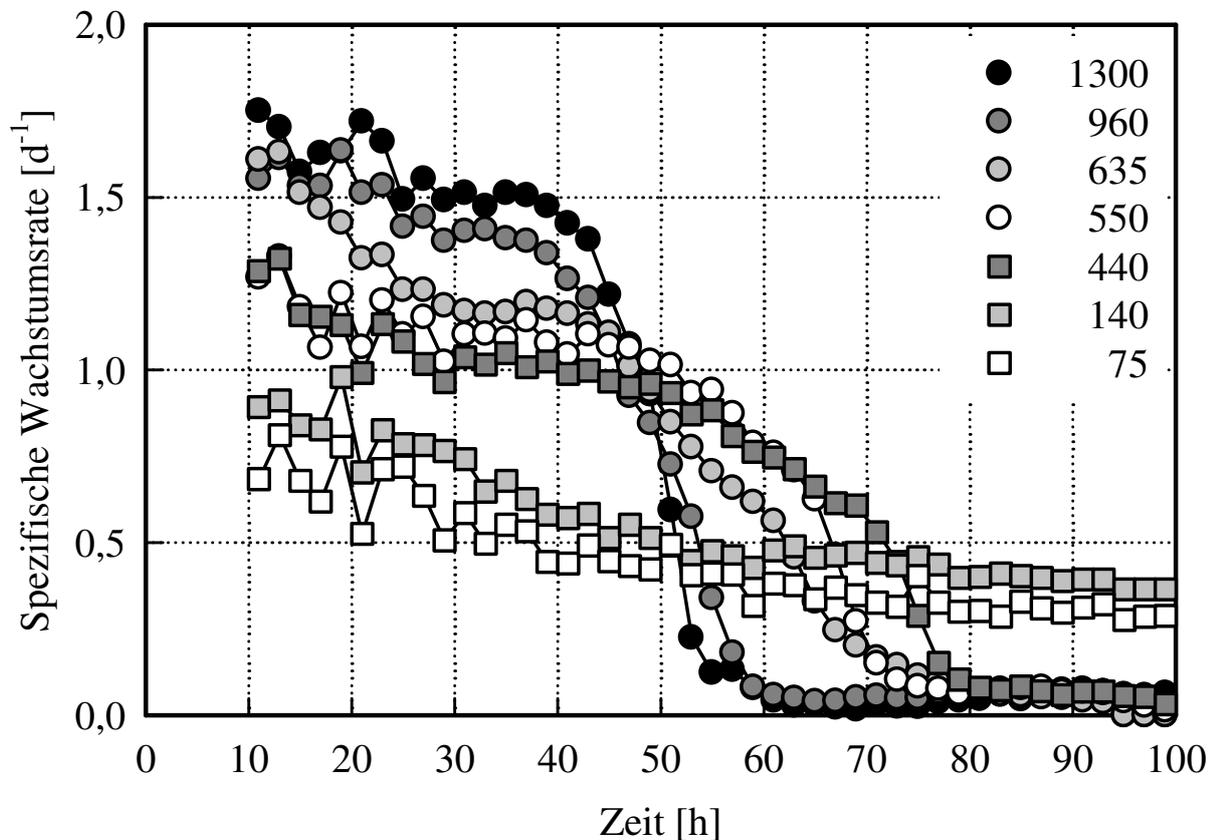
Die Verläufe des Sauerstofftransfers OT zeigten bei sehr niedrigen Lichtintensitäten unter  $140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  eine kontinuierliche Sauerstoffbildung, welche nach 100 h Kultivierungszeit noch nicht beendet war; wohingegen bei den höheren Lichtintensitäten der OT ab dem Erreichen des OTR-Minimums konstant blieb, d.h. kein Sauerstoff mehr gebildet wurde. Insgesamt wurden bei den höheren Lichtintensitäten von  $440 - 1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  jeweils final ca.  $95 \text{ mmol L}^{-1}$  Sauerstoff gebildet. Dies deutet im Gegensatz zu vorherigen Interpretationen (Socher et al. 2014) auf eine Nährstofflimitation und nicht auf die Lichtlimitation durch Selbstbeschattung hin, da rein stöchiometrisch mehr Sauerstoff gebildet werden müsste. Aus dem im Medium enthaltenen  $2,4 \text{ g L}^{-1}$  ( $200 \text{ mmol L}^{-1}$ ) Kohlenstoff würden bei vollständigem Umsatz des vorliegenden Carbonat-Kohlenstoffs zu Kohlenhydrat äquimolar  $200 \text{ mol L}^{-1}$  Sauerstoff entstehen. Auch die Modellierung im folgenden Kapitel deutet auf einen Kohlenstofflimitation hin. Der Autorin sind allerdings keine Quellen bekannt, die jemals eine Kohlenstofflimitation des Zarrouk-Mediums erwähnen. Neben der Kohlenstofflimitationen könnten auch andere inhibierenden Effekte wie z.B. des pH-Wertes noch viele weitere Faktoren die Sauerstoffbildung beeinflussen, diese komplexen Zusammenhänge können an dieser Stelle nicht abschließend geklärt werden; hier müssten noch weitere Untersuchungen erfolgen.

Die aus der Sauerstoffbildung ermittelten Wachstumsraten sind in Abbildung 31 dargestellt. Die erreichten maximalen Werte stiegen mit steigender Lichtintensität und sind in den ersten Stunden der Kultivierung am höchsten. Die höchste Wachstumsrate von  $1,75 \text{ d}^{-1}$  wurde bei  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  erreicht, was den Werten von Xue et al. (2011) entspricht. Diese Beobachtung steht den vielen Literaturangaben zu Photoinhibition bei derlei Lichtintensitäten (Tabelle 1) entgegen.

Durch die zunehmende Selbstbeschattung nimmt die Wachstumsrate kontinuierlich leicht ab, bevor sie dann kurz nach Erreichen der minimale OTR-Werte, z.B. bei  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  nach einer Kultivierungszeit von ca. 45 h stark abfällt, wahrscheinlich aufgrund der oben beschriebenen Kohlenstofflimitation. Bei den niedrigeren Lichtintensitäten setzt der Abfall der Wachstumsrate entsprechend dem späteren Eintreten des OTR-Minimums ein. Bei den niedrigen Lichtintensitäten unter  $140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  zeigte sich analog kein starker Abfall der Wachstumsrate, da dort auch noch keine Limitation des Wachstums durch Kohlenstoff auftrat, lediglich die leichte Abnahme durch die Selbstbeschattung ist zu erkennen.

Es wurden starke Schwankungen bei der Sauerstoffmessung festgestellt. Grund dafür könnten Änderungen der Luftfeuchte und Temperatur durch die Beleuchtung sein (Kapitel 5.4), da die RAMOS-Sensoren sehr sensibel reagieren. Die Messung des Drucks und des Sauerstoffpartialdruckes könnten beeinflusst gewesen sein.

Die ermittelten minimalen OTR von bis zu  $-4 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (Socher et al. 2014, Socher et al. 2015) liegen in der Größenordnung, wie sie für heterotrophe Pflanzenzelllinien wie *Azadirachta indica* (Raval et al. 2003), *Salvia fruticosa* (Geipel et al. 2013) und *Helianthus annuus* (Geipel et al. 2014) beobachtet wurde. Allerdings waren die Werte eine Größenordnung größer als die referierten Werte für photosynthetisch aktive *Wolffia australiana* (Rechmann et al. 2007) und einer photomixotrophen Zelllinie von *H. annuus* (Geipel et al. 2014). Wahrscheinlich spiegeln die unterschiedlichen Verhältnisse der OTR die unterschiedlichen Wachstumsraten der eingesetzten Organismen und unterschiedlich verwendeten Energiequellen (Saccharid und/oder Licht) wieder. So besitzen phototrophe Pflanzenzelllinien längere Verdopplungszeiten im Bereich von 1 - 3 Tagen (Wang 1990) verglichen mit 9 - 12 h für *Arthrospira*. Dadurch zeigen Cyanobakterien einhergehend mit der höheren Photosyntheseaktivität stärkere OTR-Signale.



**Abbildung 31: Wachstumsrate *A. platensis* im RAMOS-CultiLux kontinuierliches Licht**

Spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$  während der Kultivierung von *A. platensis* PCC 9108 im RAMOS mit CultiLux-Beleuchtungseinheit (Zarrouk-Medium bei  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , 110 rpm) unter kontinuierlicher Beleuchtung mit verschiedenen Lichtintensitäten in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (siehe Legende)

## Modellierung

Das in Kapitel 5.1 entwickelte Modell wurde um die Sauerstoffproduktion zur Simulation der OTR (Glg. 20) und des OT (Glg. 21) erweitert, wobei erstere aus dem Zusammenhang für den Sauerstoffübergang (Takors 2014; Chmiel 2006) hergeleitet wurde. So konnte die Sauerstoffbildung für die Kultivierung im RAMOS mit CultiLux bei verschiedenen Lichtintensitäten simuliert werden und ist in Abbildung 33 dargestellt.

$$\frac{dc_{O_2,L}}{dt} = k_L a \cdot (c_{O_2,L}^* - c_{O_2,L}) + Y_{\frac{O_2}{x}} \cdot \mu \cdot c_x$$

$$\frac{dc_{O_2,L}}{dt} \approx 0 \text{ d. h. } OTR \approx OPR \approx Y_{\frac{O_2}{x}} \cdot \mu \cdot c_x \quad \text{Glg. 20}$$

$$OT = \int_0^t OTR \, dt \quad \text{Glg. 21}$$

Formeln mit: Sauerstoffkonzentration in der Liquidphase  $c_{O_2,L}$  in  $\text{mmol L}^{-1}$ , gesättigte Sauerstoffkonzentration in der Liquidphase  $c_{O_2,L}^*$  in  $\text{mmol L}^{-1}$ , flächenbezogener Sauerstofftransportkoeffizient  $k_L a$  in  $\text{h}^{-1}$ , Ausbeutekoeffizient  $Y_{O_2/x}$  in  $\text{g}_{O_2} \text{g}_x^{-1}$ , spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{h}^{-1}$ , Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g L}^{-1}$ , Zeit  $t$  in  $\text{h}$ , Sauerstofftransferate OTR in  $\text{mmol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ , Sauerstoffproduktionsrate OPR in  $\text{mmol L}^{-1} \text{h}^{-1}$ .

Desweiteren wurde das in Kapitel 5.1 entwickelte Modell um das Kohlenstoffsubstrat erweitert unter der Annahme, dass anorganischer Kohlenstoff der einzige mineralische Nährstoff im System ist, der das Wachstum limitiert (Glg. 22 und 23).

$$\gamma(\text{anorganisches C}) = \frac{c_C}{c_C + K_C} \quad \text{Glg. 22}$$

$$\frac{dc_C}{dt} = - \frac{\mu \cdot c_x}{Y_{x/c}} \cdot \frac{c_C}{c_C + K_C} \quad \text{Glg. 23}$$

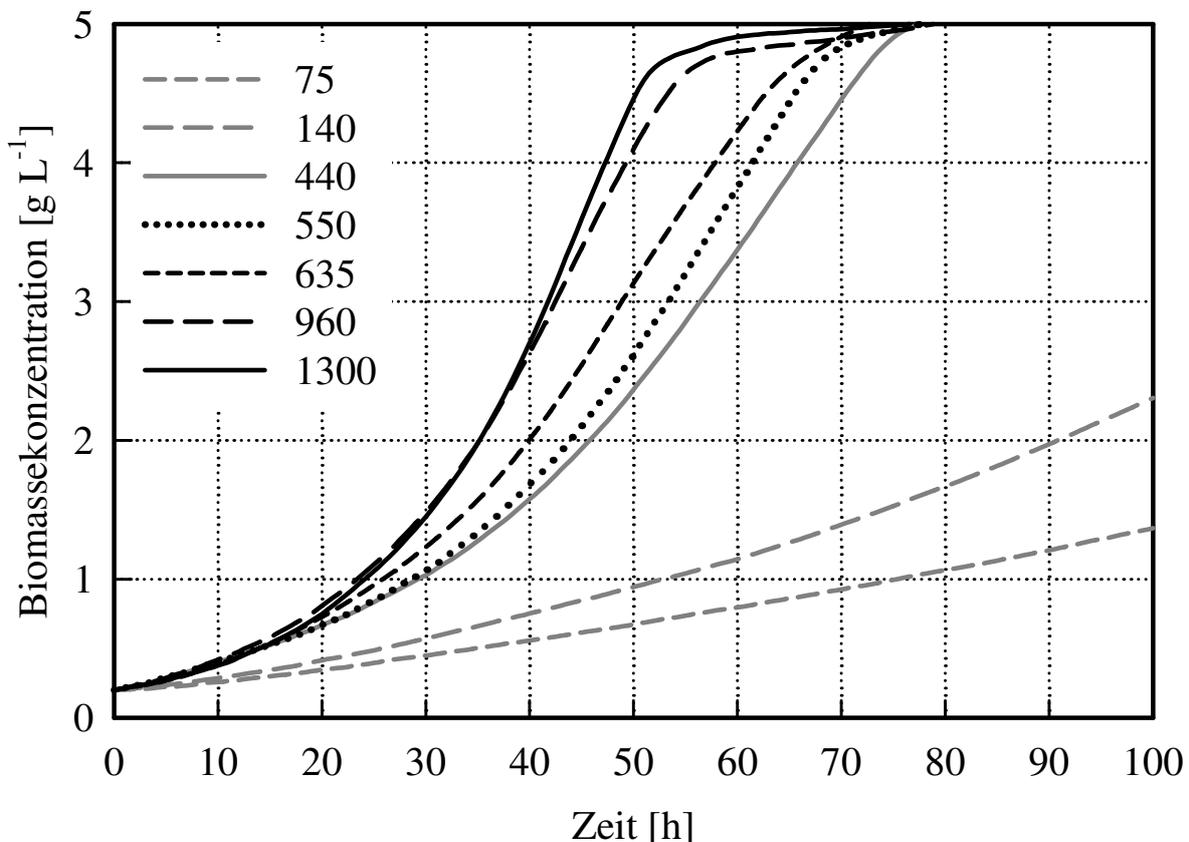
Formeln mit: Kohlenstoffkonzentration im Medium  $c_C$  in  $\text{g L}^{-1}$ , Halbsättigungskonstante für Kohlenstoff  $K_C$  in  $\text{g L}^{-1}$ , Ausbeutekoeffizient  $Y_{x/c}$  in  $\text{g}_x \text{g}_{CO_2}^{-1}$ , spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$ , Biomassekonzentration  $c_x$  in  $\text{g L}^{-1}$ .

Das Modell beschreibt passend die zuvor gemessenen OTR- und OT-Verläufe. Allerdings musste der Sauerstoffbildungskoeffizient stark auf  $0,06 \text{ g}_{O_2} \text{g}_x^{-1}$  reduziert werden, was im Gegensatz zu Literaturangaben von z.B.  $1,97 \text{ g}_{O_2} \text{g}_x^{-1}$  für *A. platensis* (Vonshak 1997) und der Herleitung aus der stöchiometrischen Beziehung ( $2,2 \text{ g}_{O_2} \text{g}_x^{-1}$ , Herleitung aus Biomasseformel für *A. platensis* nach Cogne et al. (2003)  $\text{CH}_{1,596}\text{O}_{0,441}\text{N}_{0,188}$ ) steht. Entweder bildet der verwendete Stamm extrem wenig Sauerstoff oder die Bildung oder die Messung des Sauerstoffs im RAMOS war durch unbekannte Einflüsse reduziert. Ebenso kann die Eignung des aufgestellten Modells für Schüttelkolbenkultivierungen nicht gegeben sein, wie in Kapitel 5.1 bereits diskutiert wurde.

Das Wachstum im Schüttelkolben kann möglicherweise nicht durch das Modell hinreichend beschrieben werden, da im Gegensatz zum Flat-Panel-Photobioreaktor keine einheitliche Schichtdicke durch die rotierende Flüssigkeit im Schüttelkolben erreicht wird.

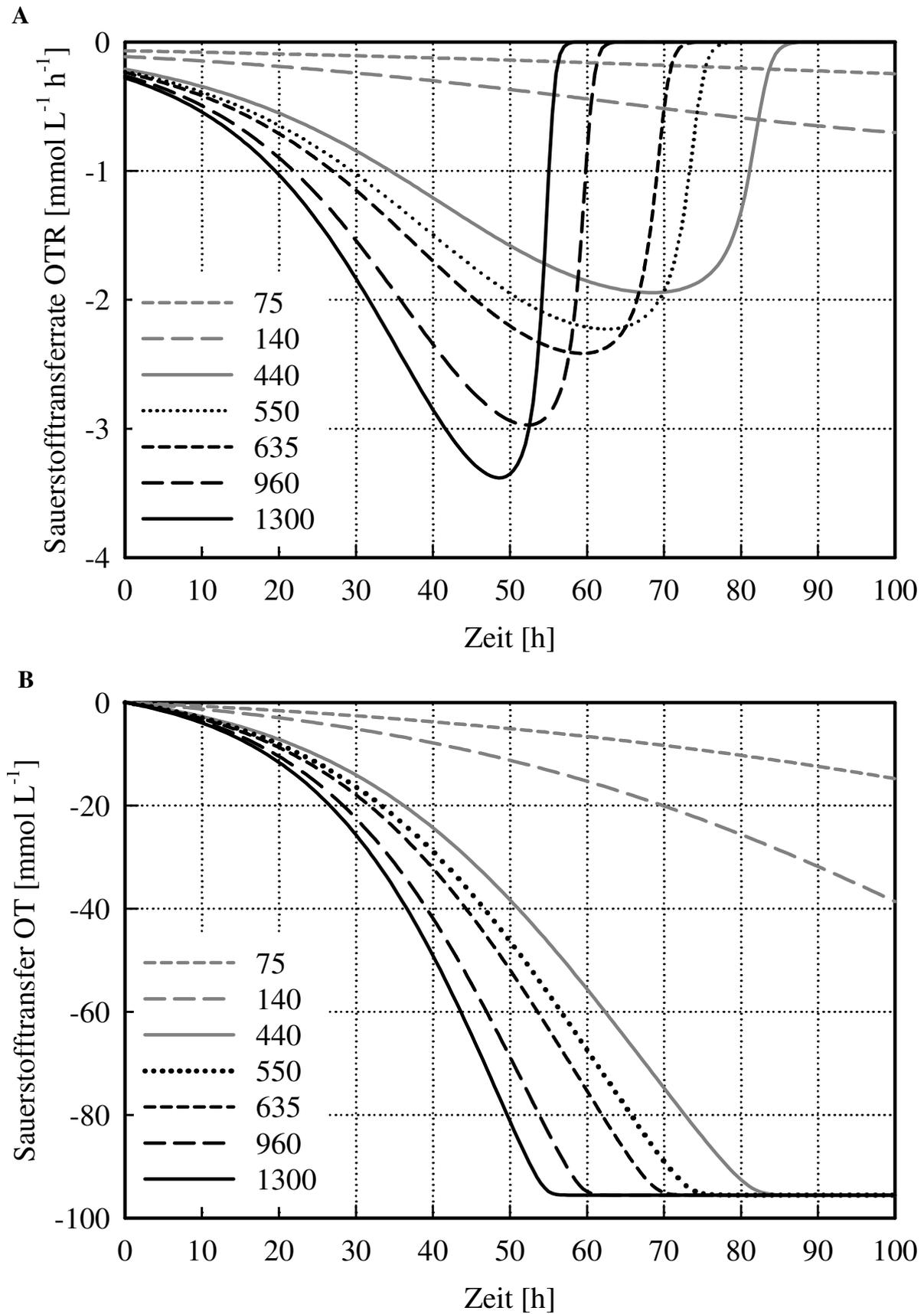
Eine Photoinhibition kann allerdings ausgeschlossen werden, da eine hohe Wachstumsrate  $1,75 \text{ d}^{-1}$  bei der höchsten untersuchten Lichtintensität von  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  von zu Beginn der Kultivierung bestimmt wurde (Abbildung 31).

Die bereits erwähnte Kohlenstofflimitation konnte durch Simulation der Biomassebildung (Abbildung 32) bestätigt werden. Der im Medium enthaltene Kohlenstoff von  $2,4 \text{ g L}^{-1}$  resultiert in einer Biomassebildung von  $4,8 \text{ g L}^{-1}$ , wenn man einen Kohlenstoffgehalt von  $0,515 \text{ g g}^{-1}$  für *A. platensis* (Cogne et al. 2003) annimmt. Diese maximale Biomassekonzentration wurde bei Eintritt des OTR-Minimums erreicht, die Wachstumsrate verringerte sich ebenfalls zu diesem Zeitpunkt stark (Abbildung 31). Andere potentiell limitierende mineralische Nährstoffe (N, P) würden keinen derart starken Abfall des Wachstums bewirken, da sie in der Biomasse gespeichert und nur langsam aufgebraucht werden (Sunda und Huntsman 1997; Geider et al. 1997; Cembella et al. 1982).



**Abbildung 32: Modellierung Biomasse im RAMOS-CultiLux kontinuierliches Licht**

Biomassekonzentration in  $\text{g L}^{-1}$  von *A. platensis* über der Kultivierungszeit im RAMOS mit CultiLux und kontinuierlicher Beleuchtung mit verschiedenen Lichtintensitäten in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (siehe Legende), Modellierung nach Kapitel 5.1 mit Parametern:  $\mu_{\text{max}} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,  $K_{\text{SI}} = 240 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,  $d = 0,4 \text{ cm}$ ,  $K_{\text{KI}} = 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$



**Abbildung 33: Modellierung Sauerstoffbildung RAMOS-CultiLux kontinuierliches Licht**

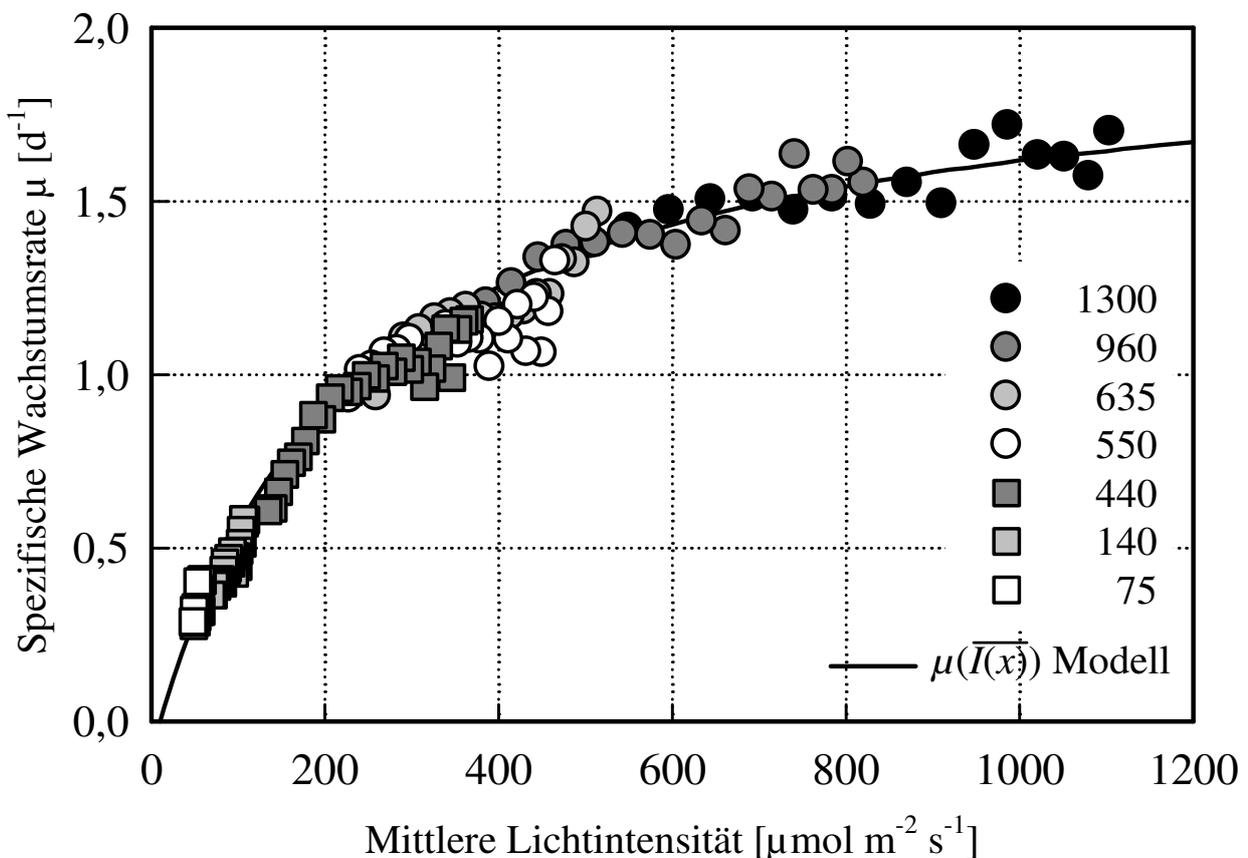
Sauerstofftransferrate OTR in  $\text{mmol L}^{-1} \text{h}^{-1}$  (A) und Sauerstofftransfer OT  $\text{mmol L}^{-1}$  in (B) von *A. platensis* über der Kultivierungszeit im RAMOS mit CultiLux und kontinuierlicher Beleuchtung mit verschiedenen Lichtintensitäten in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (siehe Legende), Modellierung nach Kapitel 5.1 mit Parametern:  $\mu_{\max} = 2 \text{ d}^{-1}$ ,  $K_{SI} = 240 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $d = 0,4 \text{ cm}$ ,  $K_{KI} = 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Reaktionskinetik  $\mu(I)$ -Kurve

Für jede RAMOS-Kultivierung wurden Lichtintensitätsverläufe über der Kultivierungszeit und daraus die mittleren Wachstumsraten nach dem Modell aus Kapitel 5.1 berechnet und anschließend über der mittleren Lichtintensität aufgetragen (Abbildung 34).

Die berechneten Wachstumsraten wurden an das Modell von Xue et al. (2011) angepasst, wobei die ermittelte Kompensationslichtintensität von  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  im Bereich von Literaturwerten (Xue et al. 2011; Cogne et al. 2003) liegt, die Halbsättigungslichtintensität von  $240 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  liegt allerdings höher als erwartet (Xue et al. 2011; Kebede und Ahlgren 1996).

Im Gegensatz zu einigen Literaturangaben (Tabelle 1) konnte festgestellt werden, dass Sättigung erst bei höheren Lichtintensitäten als dort angegeben eintritt und bis zu einer Lichtintensität von  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  keine Photoinhibition des Wachstums beobachtet werden konnte. Wie im Grundlagenteil bereits erläutert, sind die Untersuchungen zum phototrophen Wachstum allerdings schwer vergleichbar. Möglicherweise besteht eine Diskrepanz des beobachtbaren phototrophen Wachstums in Abhängigkeit der eingesetzten Lichtquelle; in der Literatur sehr oft Leuchtstoffröhren und hier LED.

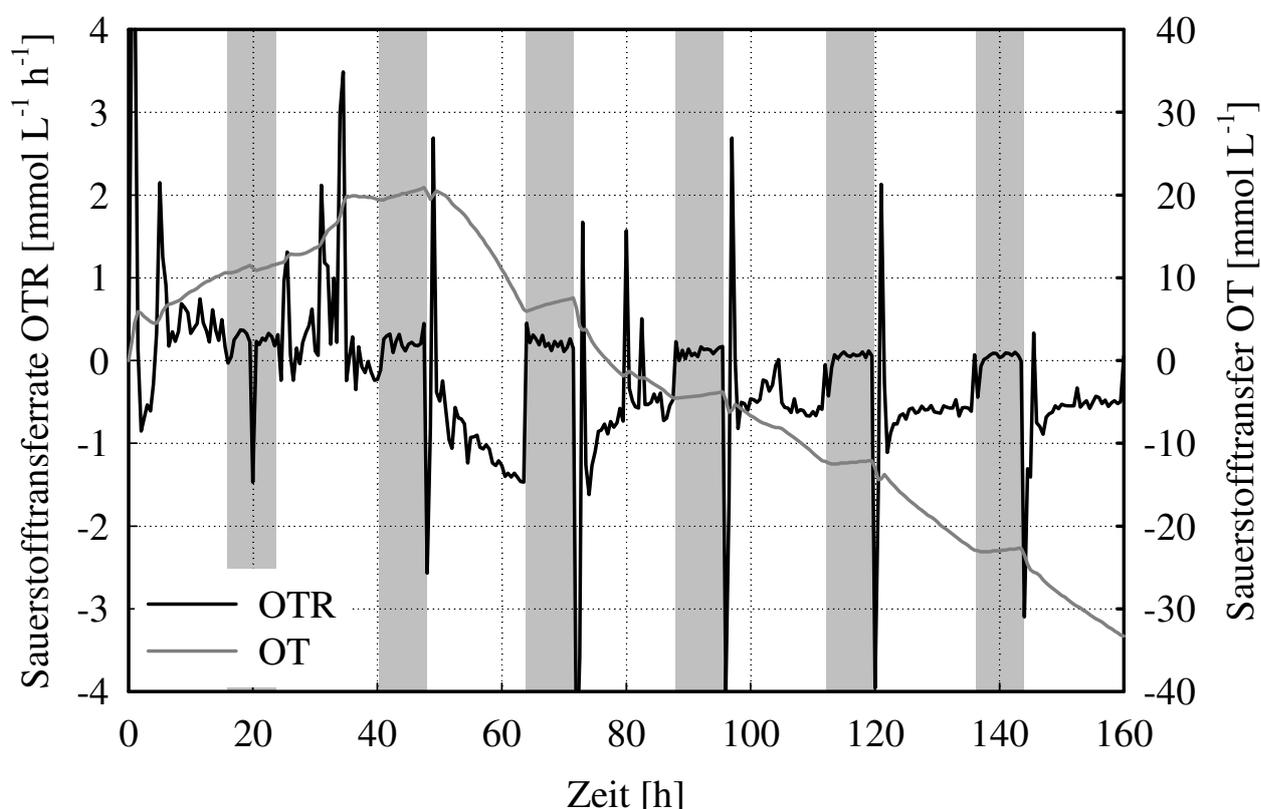


**Abbildung 34:**  $\mu(I)$ -Kurve für *A. platensis* bestimmt aus Kultivierung im RAMOS-CultiLux  
Spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $\text{d}^{-1}$  von *A. platensis* PCC 9108 in Abhängigkeit der Lichtintensität in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  bestimmt im RAMOS mit CultiLux, (Zarrouk-Medium,  $30^\circ\text{C}$ , 110 rpm, kontinuierliche Beleuchtung)

### 5.5.2 Kultivierung von *A. platensis* mit Hell-Dunkel-Zyklen

Nach erfolgreicher Kultivierung von *A. platensis* unter kontinuierlichem Licht im RAMOS mit der CultiLux-Beleuchtungseinheit wurde anschließend das Verhalten bei Applikation von Hell-Dunkel-Zyklen von 16 h / 8 h untersucht.

Es konnten unter diesem Lichtregime ebenfalls Signale von OTR und OT (Abbildung 35) generiert werden. In den beleuchteten Zyklen wurde die photosynthetische Aktivität der Zellen mit einhergehender Sauerstoffproduktion deutlich, wogegen in den Dunkelphasen, wie erwartet, keine Sauerstoffproduktion detektiert werden konnte. Die OTR in diesen Phasen verlief nahe null und der OT blieb konstant, bzw. stieg sehr leicht an, was auf eine leichte Respiration in den Dunkelphasen hinweist. Während der Beleuchtungsphasen verhielt sich der gesamte Verlauf der OTR, lediglich verzögert entsprechend den eingeschobenen Dunkelphasen, wie im Experiment mit kontinuierlicher Beleuchtung. Im dritten Beleuchtungsintervall nach ca. 64 h Kultivierung erreichte die OTR ein Minimum von  $-1,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ , als die Biomassekonzentration im Kolben  $0,2 \text{ g L}^{-1}$  betrug, wobei die Werte vergleichbar zum vorhergehenden Experiment lagen. Danach erhöhte sich die OTR wieder und pegelte sich bei ca.  $-0,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ein.



**Abbildung 35: Hell-Dunkel-Kultivierung von *A. platensis* im RAMOS-CultiLux**

Sauerstofftransferrate OTR in  $\text{mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  (schwarze Linie) und Sauerstofftransfer (OT) in  $\text{mmol L}^{-1}$  (graue Linie) während der Hell-Dunkel-Kultivierung von *A. platensis* (Zarrouk-Medium,  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , 16 h / 8 h Hell-Dunkel-Zyklus., Lichtintensität  $180 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), Dunkelphasen durch graue Balken gekennzeichnet

Der OT stieg erst vermutlich durch die Adaptionszeit mit Respiration an und sank ab ca. 40 h Kultivierungszeit bis 160 h in den Hell-Phasen auf ca.  $33 \text{ mmol L}^{-1}$  ab. Ähnlich wie in den vorhergehenden Experimenten war bei ähnlichen Lichtintensitäten die Sauerstoffbildung ebenfalls noch nicht abgeschlossen. Da kein konstanter OT erreicht wurde.

Zu Beginn der Beleuchtungsphasen wurden starke Fluktuationen des OTR sichtbar, was auf Interferenzen bei der Messung durch Temperaturänderungen hindeuten könnte, wenn die LED angeschaltet werden und die Kolbenflüssigkeit eine Erwärmung erfährt. Daneben könnte ebenfalls additiv die biologische Wärmeentwicklung wirken, da besonders zu Beginn der Beleuchtung eventuell überschüssige Photonen in Wärmeenergie in den Photosystemen der Zellen dissipiert werden, bis sich die Zellen an die Lichtintensität adaptiert haben (Stryer 2012, Vonshak 1997). Die Schwankungen dauerten meist eine RAMOS-Messphase an, bis sich in Inkubator und Schüttelkolbenflüssigkeit wieder ein Temperaturgleichgewicht eingestellt hatte. Dies zeigte erneut deutlich, dass der Einfluss der Beleuchtungseinheit auf die Temperierung nicht vernachlässigt werden kann und Verbesserungen notwendig sind. So könnte in Experimenten mit Hell-Dunkel-Zyklen die erste Messphase nach dem Einschalten der Beleuchtung ausgelassen werden. Der Rhythmus der Mess- und Spülphasen könnte ebenfalls generell an die Beleuchtungszyklen angepasst werden, um beim Start von Beleuchtung immer eine Spülphase zu setzen, was allerdings nur bei entsprechend zusammenpassenden Beleuchtungszyklen (z.B. 16 h hell) und Mess- und Spül-Regime (insgesamt ganzzahliges Vielfaches des Beleuchtungszeitraumes wie z.B. 20 min Spülen und 10 min Messen) funktioniert.

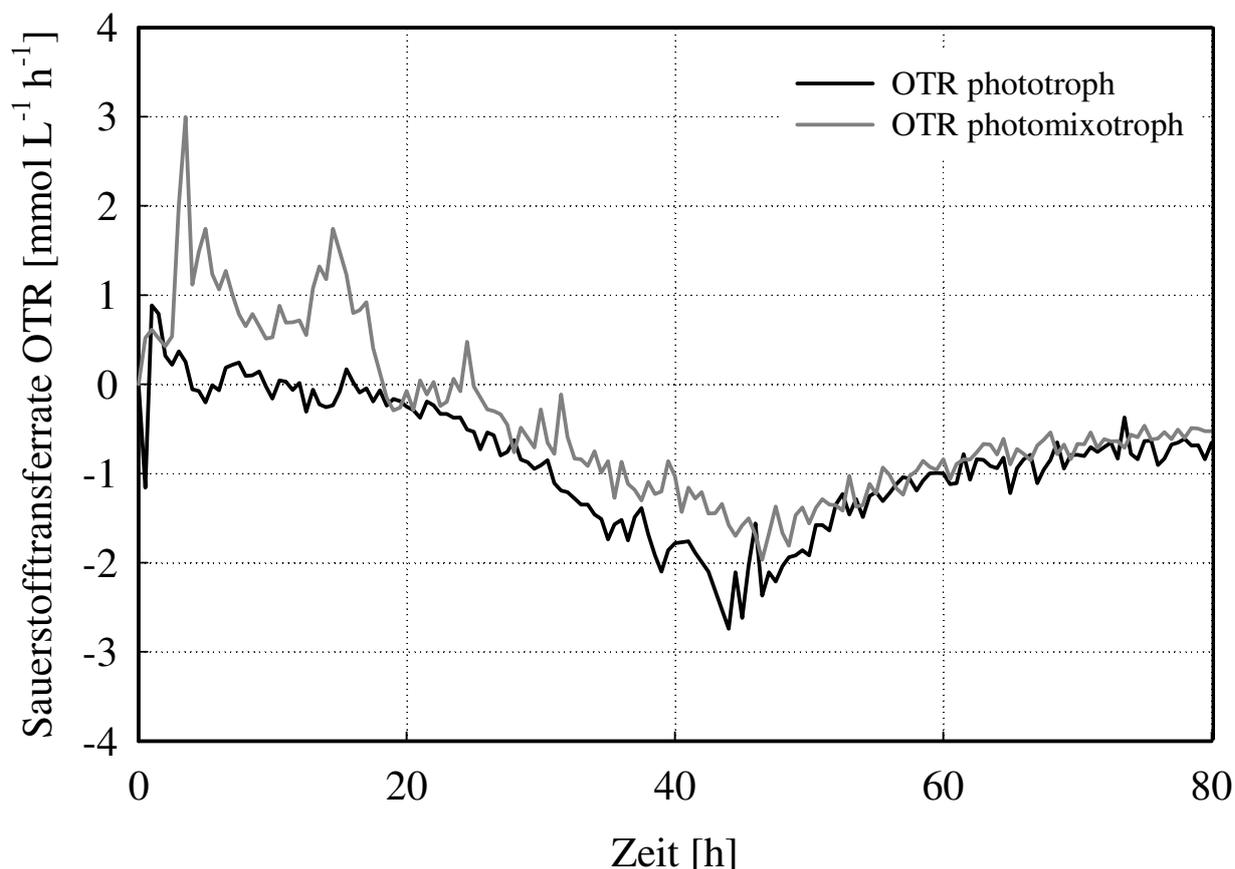
### **5.5.3 Kultivierung von *A. platensis* unter photomixotrophen Bedingungen**

Anschließend wurden die Zellen von *A. platensis* unter photomixotrophen Bedingungen im RAMOS mit CultiLux kultiviert, um den Einfluss der zusätzlichen Kohlenstoff- und Energiequelle Glucose auf die Messung der OTR zu untersuchen. Dafür wurde das eingesetzte Mineralmedium mit  $1,5 \text{ g L}^{-1}$  Glucose supplementiert, da aus der Literatur (Chojnacka und Zielinska 2012; Vonshak 1997; Marquez et al. 1995) und eigenen Voruntersuchungen (Bach 2013) bekannt war, dass Zellen von *A. platensis* dieses Saccharid problemlos verwerten können.

Anfangs lag die OTR (Abbildung 36) der photomixotrophen Kultur höher als die der photoautotrophen, vermutlich verursacht durch die höhere Respiationsaktivität in der lag-Phase, bedingt durch die leicht verfügbare Energie- und Kohlenstoffquelle Glucose. Danach war die Abnahme der OTR der photomixotrophen Kultur geringer und es wurde lediglich ein Minimum von  $-1,5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  erreicht im Vergleich zu  $-2,0 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  der photoautotrophen Kultur. Anschließend pegelten sich im Gegensatz dazu die OTR-Werte bis zum Ende der Kultivierung

bei beiden Kulturen auf ca.  $-0.5 \text{ mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  ein, wie auch bei den vorherigen Beobachtungen bei der gleichen Lichtintensität.

Insgesamt ist die Interpretation der OTR-Kurve der photomixotrophen Kultur allerdings erschwert, da sich in diesem Fall der photomixotrophen Ernährungsweise der Zellen photoautotrophe und heterotrophe Wachstumsanteile überlagern (Chojnacka und Noworyta 2004; Marquez et al. 1995) und die gemessene OTR einen Summenparameter darstellt. Erwartungsgemäß lag die OTR bei photomixotrophen Wachstum von *A. platensis* durch den höheren respirativen Stoffwechselanteil durch die Glucoseverwertung höher als in rein photoautotrophen Medium. Auch der final erreichte OT lag unter photomixotrophen Bedingungen höher ( $60 \text{ mmol L}^{-1}$ ) als unter rein photoautotroph ( $80 \text{ mmol L}^{-1}$ ), es wurde erwartungsgemäß weniger Sauerstoff gebildet. Es konnte gezeigt werden, dass photomixotrophes Wachstumsverhalten im RAMOS mit CultiLux untersucht werden kann.



**Abbildung 36: Photomixotrophe Kultivierung von *A. platensis* im RAMOS-CultiLux**

Sauerstofftransferrate OTR in  $\text{mmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}$  während photomixotropher (graue Linie) und photoautotropher (schwarze Linie) Kultivierung von *A. platensis* PCC 9108 unter kontinuierlichem Licht (Zarrouk-Medium, photomixotroph mit  $1.5 \text{ g L}^{-1}$  Glucose supplementiert,  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , Lichtintensität  $180 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ,  $110 \text{ rpm}$ )

#### 5.5.4 **Fazit**

Die Kultivierung von *A. platensis* ist unter phototrophen (kontinuierlichem Licht unterschiedlicher Intensitäten und Hell-Dunkel-Zyklen) und photomixotrophen Bedingungen im RAMOS-CultiLux möglich. Die photosynthetische Aktivität der Zellen und damit einhergehender Sauerstoffproduktion ist online in Form des Sauerstofftransfers (OT) und dessen Rate (OTR) besonders gut für Lichtintensitäten von über  $140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  detektierbar und ermöglicht einen erweiterten Einblick in Schüttelkolbenkultivierung phototropher Organismen im Vergleich zu kommerziell erhältlichen Schüttelinkubatoren. Die Ergebnisse wurden in der Fachwelt veröffentlicht (Socher et al. 2015; Socher et al. 2014). Ebenfalls wurden bereits mit dem RAMOS-CultiLux die Grünalpengattung *Chlamydomonas reinhardtii* (Daten nicht veröffentlicht) und die Suspensionskulturen einer Pflanzenzelllinie von Sonnenblume *Helianthus annuus* (Geipel et al. 2014) erfolgreich kultiviert.

Nachteilig sind momentan noch die durch die LED bedingte heterogene Lichtverteilung und der Wärmeintrag in den Reaktionsraum. In Kombination mit der undefinierten Schichtdicke der Flüssigkeit bei Rotation, sind die Zellen undefinierten Hell-Dunkel-Zyklen und Temperatureinflüssen ausgesetzt. Dies resultiert darin, dass die gemessenen Sauerstofftransferraten nur einen Summenparameter der schwankenden Lichtverhältnisse darstellen und durch die Temperaturerhöhung beeinflusst sind. Eine Verbesserung des Wärmeabtransports sollte durch konstruktive Änderungen (z.B. Verbesserung der Luftzirkulation im Inkubatorraum oder aktive Wasserkühlung des Schüttelablers) erarbeitet werden.

Nach Betrachtung all dieser Fakten kann festgestellt werden, dass für reaktionskinetische Untersuchungen ohne diese Beeinträchtigung ein System wie z.B. ein Flat-Panel-Photobioreaktor verwendet werden muss. Besonders geeignet erscheint das RAMOS mit CultiLux allerdings zur definierten Kultivierung von Vorkulturen, denn eine Adaption der Zellen an reproduzierbar einstellbares und definiertes LED-Licht kann sehr wichtig für nachfolgende reaktionskinetische Experimente sein. Es wurde auch bereits eine Weiterentwicklung des CultiLux durch die Firma Hit-Tec Zang GmbH vorgestellt, welche es ermöglicht, die Lichtintensität und verschiedenste Lichtregime über das Leitprogramm einzustellen. Ausblickend muss noch für Kultivierungen anderer phototropher Zellen, welche gasförmiges Kohlendioxid zum Wachstum benötigen, eine Gasmischstation (z.B. GMix (Hi Tec Zang GmbH, Herzogenrath, Deutschland)) vorgeschaltet werden. Ebenso ist die Beleuchtungseinheit CultiLux unabhängig vom RAMOS konstruiert, so dass sie zur definierten Beleuchtung in andere noch unbeleuchtete oder mit einer undefinierten Beleuchtungseinheit von oben versehenen Schüttelkolbensystemen leicht übertragen werden kann.

## 5.6 Entwicklung des Flat-Panel-Photobioreaktors

Es sollte ein Flat-Panel-Reaktor (FPR) konzipiert werden, welcher möglichst viele Bedingungen der genannten Ziele zur definierten reaktionskinetischen Untersuchung phototropher Zellen erfüllt. Denn die bereits untersuchten Photobioreaktorsysteme ließen keine wachstumskinetischen Aussagen zu. Es sollte eine hydrodynamische Charakterisierung des Systems mittels CFD-Simulation mit besonderem Fokus auf Homogenität der Zellsuspension und Durchmischung vorgenommen werden. Es konnten so basierend auf der Simulation noch Modifikationen des Reaktionsraumes vor der Fertigung berücksichtigt werden. Danach sollte der FPR konstruiert, gefertigt und aufgebaut werden. Die Beleuchtungseinheit des FPR-Systems sollte dann charakterisiert werden. Die Ergebnisse sind in der Fachwelt veröffentlicht ([Socher et al. 2015](#)).

### 5.6.1 Konzeption

Zur Schaffung einer definierten Reaktor Umgebung für wachstumskinetische Untersuchungen wurde ein FPR aufgrund seiner vielen Vorteile (Kapitel 5.2) zur Eigenentwicklung ausgewählt und folgende Spezifikationen festgelegt.

Die konstruktive Gestaltung des FPR sollte auf einer modularen Bauweise basieren. Die einzelnen Funktionsbereiche (Kultivierungs- bzw. Reaktions- und Temperierungsraum) des Reaktors werden dabei aus transparenten Trennelementen sowie Abstandhaltern und Rahmenkonstruktion aus Edelstahl zusammengesetzt (Abbildung 37A). Dies ermöglicht einen flexiblen Aufbau des Reaktors (Schichtdicke kann durch andere Abstandhalter verändert werden), eine vereinfachte Reinigung der einzelnen Elemente sowie homogene Temperierung des Reaktionsraumes. Die Schichtdicke des Reaktionsraumes soll 1 cm betragen, womit ein geringer Lichtintensitätsverlust über den Reaktionsraum realisiert wird. Die Begasung und Durchmischung des Systems sollen über einen Anschluss im unteren Bereich des Reaktionsraumes erfolgen. Durch die aufsteigenden Gasblasen (Airlift-Prinzip) wird bei gleichzeitiger Durchmischung der Zellsuspension ein optimaler Gasaustausch, insbesondere des Sauerstoffaustauschs, geschaffen.

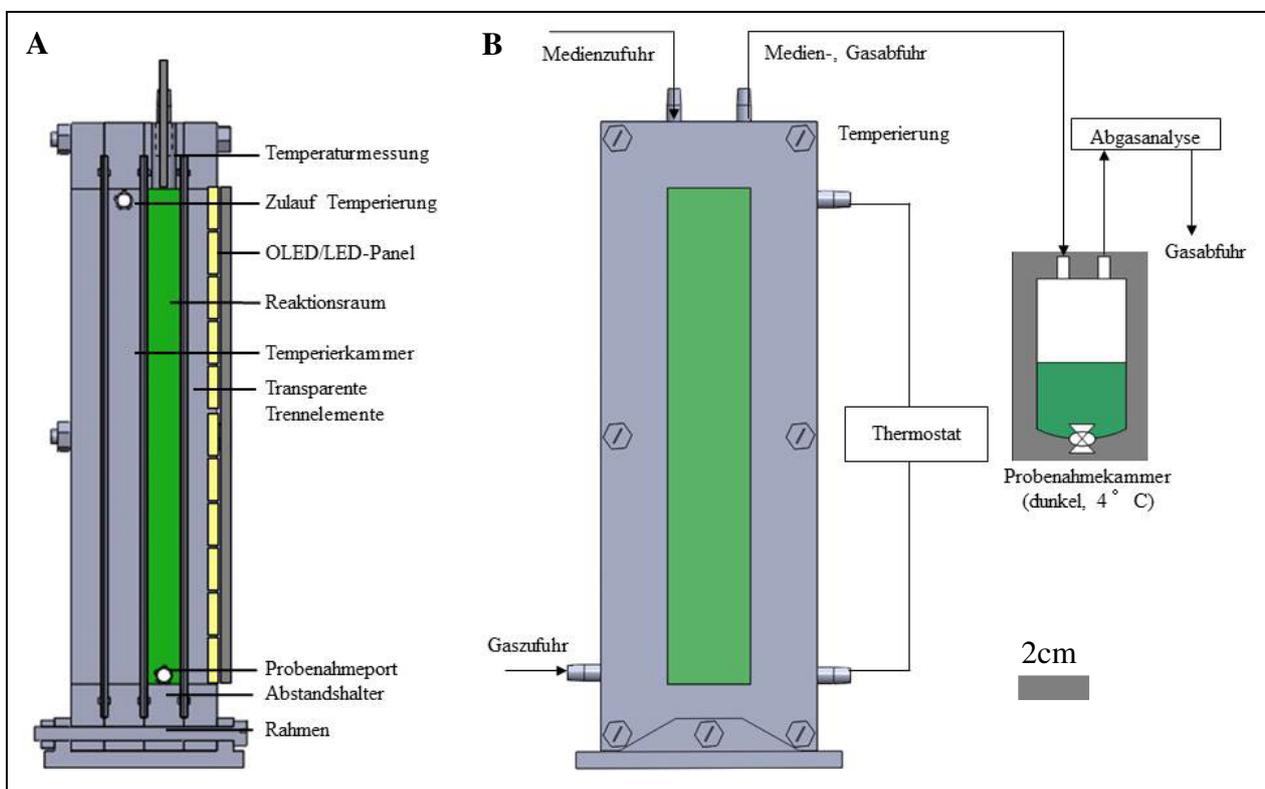
An der Oberseite des Reaktionsraumes befinden sich Anschlüsse für die Inokulation, die Zu- und Abfuhr von frischem Medium und Zellsuspension bei kontinuierlicher Betriebsweise, sowie für den Gasaustrag. Die ausgetragene Zellsuspension kann somit während einer kontinuierlichen Betriebsweise aus dem Reaktor in einen lichtundurchlässigen Behälter geführt und dort für die Probenahme gesammelt werden (Abbildung 37B). Seitlich befindet sich ein zusätzlicher Anschluss für die Probenahme während diskontinuierlicher Betriebsweise.

Die Beleuchtung des Reaktionsraumes soll mit zwei verschiedenen Lichtquellen zur Abdeckung des gesamten relevanten Lichtintensitätsbereiches von der Kompensation bis Photoinhibierung

realisiert werden. Einerseits dient dazu ein LED - Panel für hohe Lichtintensitäten bis in den Bereich der Sättigung und Photoinhibition ( $100 - 2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) und andererseits ein OLED-Panel für geringere Lichtintensitäten ( $1 - 100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Der Abstand der Lichtquelle zur Reaktionskammer ist variabel, wodurch die Lichtintensität und -homogenität beeinflusst werden kann. In Tabelle 14 sind noch einmal zusammenfassend die Ziele und Realisierungsmaßnahmen für den geplanten FPR zusammengefasst. Ähnliche FPR wurden ebenfalls in der Literatur bereits erfolgreich für phototrophe Kultivierungen eingesetzt (Xue et al. 2011; Cuaresma et al. 2009).

**Tabelle 14: Übersicht über Ziele und Realisierung im Flat-Panel-Photobioreaktor**

Ziel	Realisierung
<ul style="list-style-type: none"> <li>Homogene Beleuchtung Reaktionsraum von Kompensation bis Inhibition</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Beleuchtungseinheit mit OLED (<math>1-100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}</math>) und LED-Panel (<math>100 - 2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}</math>)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Homogene Lichtintensität über Reaktorschichtdicke</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Geringe Schichtdicke (1 cm) und geringe Biomassekonzentration (<math>\leq 0,1 \text{ g L}^{-1}</math>), vorzugsweise kontinuierliche Betriebsweise</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Realisierung verschiedener Lichtintensitäten</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Stufenlose Dimmung der Beleuchtungseinheiten</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Realisierung verschiedener Hell-Dunkel-Zyklen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Gepulster Betrieb OLED und LED</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Homogene Durchmischung, Sauerstoffaustag zur Vermeidung einer Sauerstoffhemmung</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Begasung des Reaktors mit Druckluft</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Ausreichende Verfügbarkeit von Kohlenstoffsubstrat</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Basisches, Carbonat-gepuffertes Kulturmedium</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Prozessbeobachtung</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Online: <math>\text{pO}_2</math>, T, <math>\text{O}_2</math> und <math>\text{CO}_2</math> im Abgas</li> <li>Offline: Biomassekonzentration, pH</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Temperierung, leichte Reinigung, Variation Schichtdicke</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Modulare Sandwichbauweise</li> </ul>



**Abbildung 37: Schematischer Aufbau des geplanten Flat-Panel-Photobioreaktor**

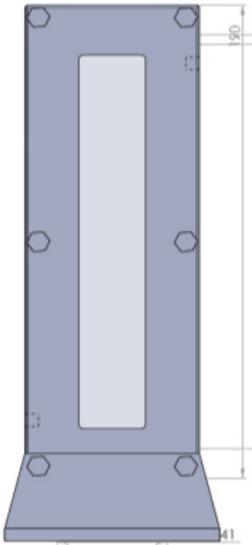
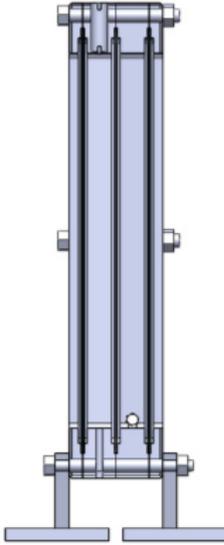
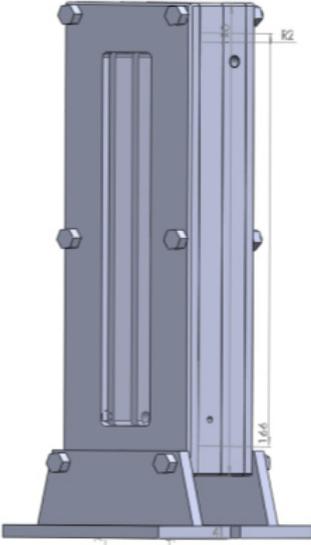
Seitlicher Längsschnitt (A) und Frontansicht (B) des Flat-Panel-Photobioreaktors; der Reaktionsraum zur Kultivierung ist grün dargestellt (Schott 2013)

### 5.6.2 Konstruktion

Der Reaktor wurde in CAD Solid-Works (Tabelle 15 oben, technische Zeichnungen im Anhang 3.4) nach der oben dargestellten Konzeption konstruiert. Die Simulationsergebnisse (folgendes Kapitel 5.6.3) erforderten wenige Anpassungen, welche noch in die Konstruktion eingearbeitet wurden. Danach wurde die Rahmenkonstruktion, bestehend aus zwei Rahmenteilen, den Abstandshaltern für die Temperierung und den Reaktionsraum und dem Standfuß zur Fertigung gegeben; Trennscheiben, Dichtungen, Anschlüsse beschafft und anschließend aufgebaut (Tabelle 15 unten).

**Tabelle 15: Konstruktion des Flat-Panel-Photobioreaktors**

CAD-Modell (oben) und Realaufbau nach Fertigung (unten), Maße des gesamten Reaktors:  $190 \times 65 \times 30 \text{ mm}^3$ , Maße des Reaktionsraumes:  $35 \text{ mL}$ ,  $150 \times 25 \times 10 \text{ mm}^3$

Ansicht	Front	Seite	Schräg
<b>CAD</b>  			
<b>Realaufbau</b>  			

### 5.6.3 Numerische Strömungssimulation

Parallel zur Konstruktion wurde der Reaktionsraum des FPR zur Kultivierung hinsichtlich seiner Strömungseigenschaften mittels einer CFD-Simulation in Kooperation mit dem Helmholtz-Zentrum Dresden Rossendorf (HZDR) untersucht. In der Simulation sollten der Gasvolumenstrom im Bereich von 0,1 - 0,5 vvm sowie verschiedene Positionen der Gaszufuhr variiert und deren Auswirkung auf die Strömungseigenschaften untersucht werden.

#### Festlegungen zur Simulation

Es wurden verschiedene Annahmen zur Durchführung der Simulation getroffen. Erstens wurde ein Zwei-Phasen-System aus Wasser und Luft angenommen, da die Eigenschaften der geplanten Medien in etwa diesen entsprechen. Zweitens wurde das HZDR-Baseline-Modell für die CFD als Basis für die Berechnungen festgelegt (Liao 2013). Drittens stellt die Blasengröße ein wesentliches Kriterium in der CFD dar, wobei diese als monodispers und mit einem Durchmesser von 1 mm (entsprechend der Begasungsöffnung) angenommen wurden. Die Gasvolumenströme wurden in Analogie zu den Versuchen in der in dieser Arbeit verwendeten extern beleuchteten Blasensäule ausgewählt. Die Simulationsergebnisse wurden für einen Gasvolumenstrom von 0,1 (Tabelle 16) und 0,5 vvm (Tabelle 17) hinsichtlich Gasgeschwindigkeit, Gasgehalt und Geschwindigkeit der Flüssigkeit eindimensional in der Frontansicht visualisiert. Aufgrund der geringen Schichtdicke des Reaktionsraumes von 1 cm wurde der Einfluss dieser auf die Hydrodynamik vernachlässigt.

#### Simulationsergebnisse

Die Gasgehalte zeigten bei allen simulierten Fällen eine heterogene Verteilung über den Reaktionsraum, was günstig für die Durchmischung erscheint, da dadurch das Airlift-Prinzip unterstützt wird. Alle Begasungspositionen wiesen ebenso eine heterogene Verteilung der Gas- und Flüssigkeitgeschwindigkeit auf. Besonders im Bereich der Gaszufuhr traten hohe Gasgehalte und Strömungsgeschwindigkeiten in Analogie zu Literaturangaben (Luo und Al-Dahhan 2008) auf. Die Begasungsposition D (von unten in einer Ebene mit Reaktorwand) zeigte dabei die höchste Mischzeit von  $> 100$  s und die geringste Mischgüte von 0,1. Diese Werte sind vergleichbar mit großskaligen FPR ( $V \approx 250$  L), wo Mischzeiten von 60 - 200 s ermittelt wurden (Sierra et al. 2008). Allerdings wiesen die hydrodynamischen Verhältnisse bei dieser Begasungsposition die geringste Scherrate im Vergleich zu den anderen Positionen auf, was für scherempfindliche Organismen von Bedeutung ist. *Arthrospira*-Zellen mit Zellwand sind bei den ermittelten Scherraten von  $6 - 9 \text{ s}^{-1}$  trotz ihres trichomartigen Aufbaus nicht scherempfindlich, sondern erst ab Scherraten von ca.  $60 - 70 \text{ s}^{-1}$  (Converti et al. 2006).

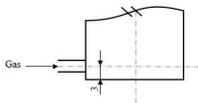
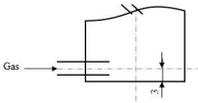
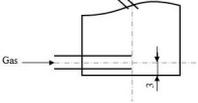
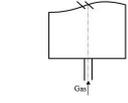
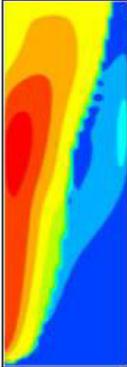
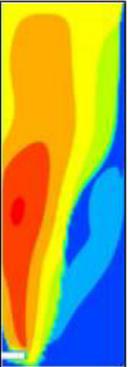
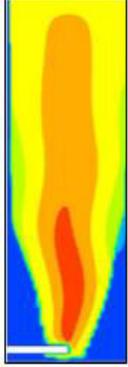
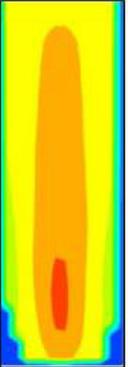
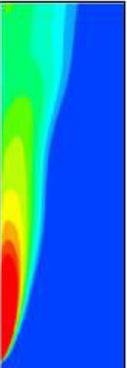
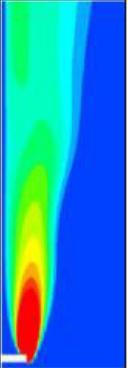
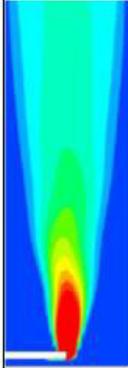
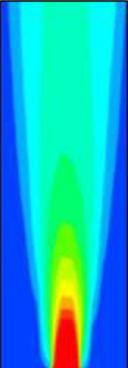
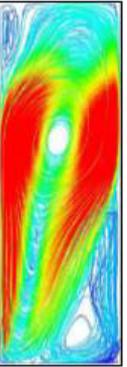
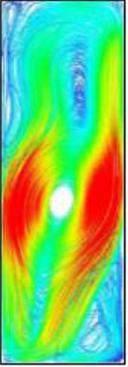
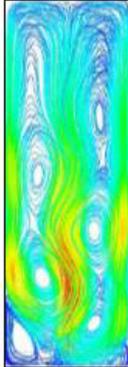
**Tabelle 16: Visualisierung CFD-Simulation des Flat-Panel-Photobioreaktors für 0,1 vvm**

Darstellung der Gasgeschwindigkeit in  $\text{m s}^{-1}$ , des Gasgehalts, der Geschwindigkeit der Flüssigkeit in  $\text{m s}^{-1}$  und volumetrisches Diagramm im Reaktionsraum in eindimensionaler Frontansicht bei einem Gasvolumenstrom von 0,1 vvm in Abhängigkeit der Position der Gaszufuhr nach Liao (2013)

Position / Kriterium	A	B	C	D
<b>Gasgeschwindigkeit</b> [ $\text{m s}^{-1}$ ]				
<b>Gasgehalt</b> [-]				
<b>Geschwindigkeit Flüssigkeit</b> [ $\text{m s}^{-1}$ ]				
<b>Volumetrisches Diagramm</b> [-]				

**Tabelle 17: Visualisierung CFD-Simulation des Flat-Panel-Photobioreaktors für 0,5 vvm**

Darstellung der Gasgeschwindigkeit in  $\text{m s}^{-1}$ , des Gasgehalts, der Geschwindigkeit der Flüssigkeit in  $\text{m s}^{-1}$  sowie Mischzeit in s, Mischgüte und Scherrate in  $\text{s}^{-1}$  im Reaktionsraum in eindimensionaler Frontansicht bei einem Gasvolumenstrom von 0,5 vvm in Abhängigkeit der Position der Gaszufuhr nach Liao (2013)

Position / Kriterium	A	B	C	D
				
<b>Gasgeschwindigkeit</b> [ $\text{m s}^{-1}$ ]				
<b>Gasgehalt [-]</b>				
<b>Geschwindigkeit Flüssigkeit</b> [ $\text{m s}^{-1}$ ]				
<b>Mischzeit [s]</b>	85	60	60	> 100
<b>Mischgüte [-]</b>	0,62	0,82	0,75	0,10
<b>Scherrate [<math>\text{s}^{-1}</math>]</b>	8,96	8,43	6,69	6,37

Die Berechnung der Reynoldszahlen aus den höchsten ermittelten Strömungsgeschwindigkeiten ( $0,03 \text{ m s}^{-1}$  bei  $0,1 \text{ vvm}$  und  $0,052 \text{ m s}^{-1}$  bei  $0,5 \text{ vvm}$ ) ergab Werte im Bereich von  $Re \approx 300 - 600$ , was für eine laminare Strömung im Reaktionsraum spricht (Oertel et al. 2011; Chmiel 2006); zumal die Strömungsgeschwindigkeiten im größten Bereich des Reaktionsraumes niedriger waren. Ähnliche Werte sind in der Literatur zu finden (Su et al. 2010), wobei oft auch niedrigere Reynoldszahlen  $Re \leq 100$  für FPR beschrieben wurden (Moheimani et al. 2011; Kliphuis et al. 2010).

Für einen Gasvolumenstrom von  $0,1 \text{ vvm}$  wurde auch ein Drei-Phasen-System bestehend aus Wasser, Luft und Partikeln simuliert unter der Annahme, dass die Partikel bzw. Zellen kugelförmig sind. Die Ergebnisse dieser Simulation sind in einem volumetrischen Diagramm dargestellt, um Totzonen mit möglichen Ablagerungen von Partikeln bzw. Zellen zu erkennen. Besonders bei der Begasungsposition D kam es zu Ablagerungen (rot gekennzeichnet) in den inneren Ecken des Reaktionsraumes, was sich nachteilig für die Zellen während der Kultivierung auswirken könnte. Nach diesen Simulationsergebnissen wurden deshalb noch Anpassungen der Konstruktion wie z.B. Abrundung der inneren Ecken des Reaktionsraumes zur Vermeidung dieser Totzonen vorgenommen.

Insgesamt betrachtet zeigen die Simulationsergebnisse, dass die Zellen durch die vorherrschende Hydrodynamik ausreichend durchmischt und mit der geringen Schichtdicke, der homogenen Beleuchtungsfläche und der niedrigen Biomassekonzentration einhergehend einem geringen Lichtgradienten ausgesetzt sind; somit sollten reaktionskinetische Aussagen generierbar sein in diesem Photobioreaktorsystem (Kapitel 2.3).

#### Erste Aussagen aus dem Realaufbau

Beim Aufbau des FPR stellte sich heraus, dass aus technischen Gründen höhere Gasvolumenströme von bis zu  $2 \text{ vvm}$  zur Begasung gewählt werden mussten, da der vorhandene Mass Flow Controller die für  $0,1 - 0,5 \text{ vvm}$  sehr niedrigen benötigten Gasvolumenströme nicht realisieren konnte. Dies beeinflusste die hydrodynamischen Verhältnisse im System jedoch nicht negativ. Die höheren Gasvolumenströme führten wahrscheinlich zu einer Erhöhung der Strömungsgeschwindigkeiten und Reynoldszahl, wobei die resultierende Turbulenz mit einer Verbesserung der Durchmischung einhergeht. Es konnte auch eine Verkürzung der Mischzeit auf weniger als  $10 \text{ s}$  im Realaufbau nachgewiesen werden (Versuche nicht dargestellt).

Höhere Gasvolumenströme führen allerdings auch zu einer stärkeren Verdunstung, was ebenfalls in ersten Versuchen festgestellt werden konnte. So verdunsteten ca.  $1 \text{ mL}$  pro Tag Wasser aus dem Reaktor, eine Befeuchtung der einströmenden Luft sowie Ausgleich des Füllstandes mit Wasser oder Medium wären für Kultivierungsexperimente erforderlich. Des Weiteren sollten

weitere Experimente zum Vergleich der Simulation mit der Realität vorgenommen werden. Denn im Experiment kommt es unweigerlich zu Abweichungen, da die anfangs zur Simulation angenommenen Bedingungen nicht zutreffen; ein besonders großes Problem stellt dabei momentan z.B. noch die Abweichung der realen polydispersen Blasenverteilung von der in der CFD angenommen monodispersen dar (Liao 2013; Ziegenhein et al. 2013; Bitog et al. 2011).

#### **5.6.4 Charakterisierungen der Beleuchtungseinheiten**

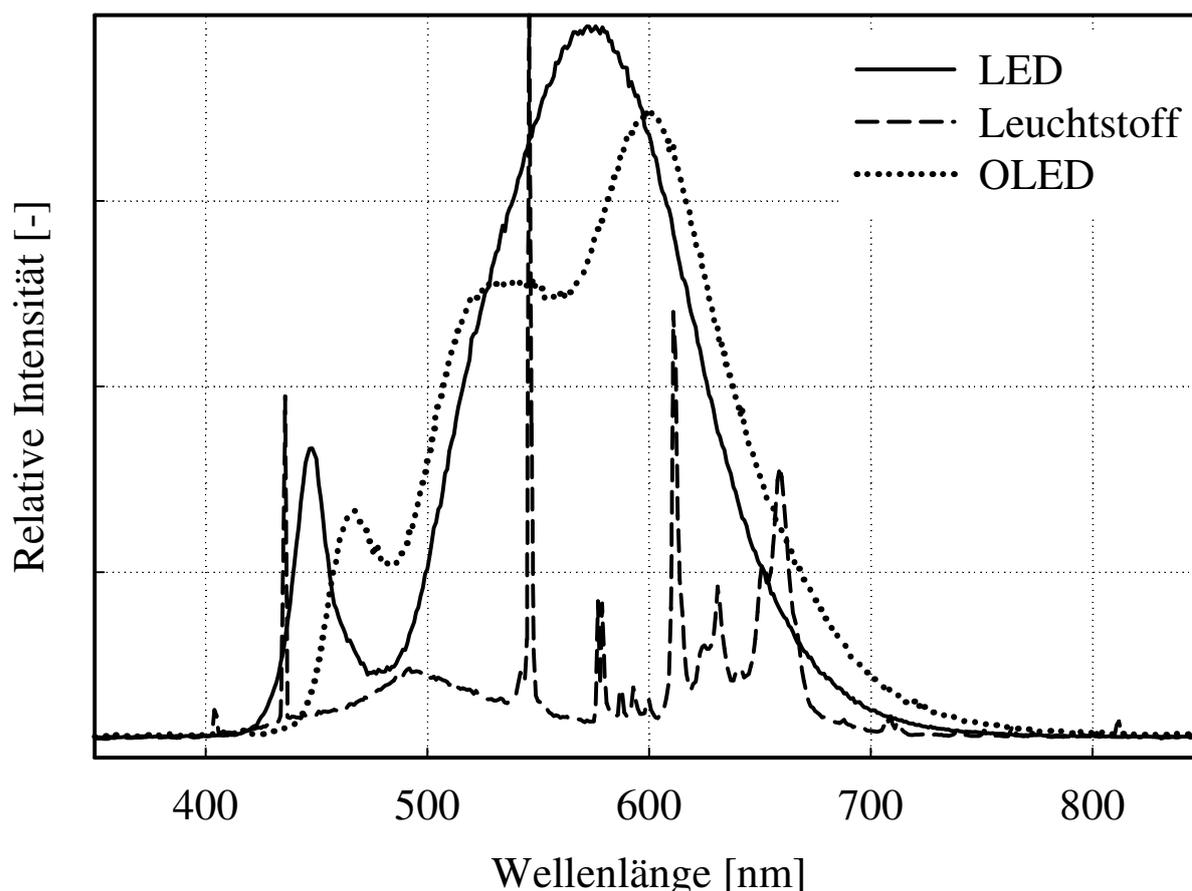
Es wurden zur Beleuchtung des FPR warmweiße OLED und LED ausgewählt, da die *Arthrospira*-Zellen bereits nachweislich im CultiLux ebenfalls mit warmweißen LED beleuchtet wurden und ein Wachstum detektiert werden konnte (Kapitel 5.4). Literaturangaben wiesen zusätzlich darauf hin, dass die Cyanobakterien mit dieser Lichtquelle zum Wachstum gebracht werden können (Xue et al. 2011). Die Lichtquellen wurden beschafft und aufgebaut und hinsichtlich ihres Spektrums, ihrer erreichbaren Lichtintensität und deren Verteilung über den Reaktionsraum charakterisiert.

##### Bereich der Lichtintensität

Die ausgewählte OLED konnte Lichtintensitäten im Bereich von ca.  $15 - 70 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  realisieren. Sie kann deshalb besonders im Bereich geringer Lichtintensitäten zur Untersuchung im Kompensationsbereich sehr gut eingesetzt werden. Das LED-Panel emittierte wesentlich höhere Lichtintensitäten von  $65 - 2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . In diesem Bereich kann die Sättigung und die Photoinhibierung von phototrophen Organismen untersucht werden. Beide Panel in Kombination ermöglichen somit im FPR reaktionskinetische Untersuchungen über einen weiten Bereich der Lichtintensität. Die Dimmung der Panel zur Realisierung noch geringerer Lichtintensitäten ist durch Einsatz verschiedener Dimmmaterialien möglich. Diese wirken besonders beim LED-Panel homogenisierend auf die Verteilung der Lichtintensität über die Fläche des Panels.

##### Spektrum

Neben der Lichtintensität wurde das Spektrum der OLED- und LED-Lichtquellen untersucht und im Vergleich zu Leuchtstoffröhren dargestellt (Abbildung 38). Beide Dioden weisen die typischen Peaks der unterschiedlichen farbigen Emitter (blau ca. 450 - 500 nm, grün 500 - 570 nm, orange-rot ab 600 nm) zur Erzeugung warmweißen Lichts durch Überlagerung dieser auf. Es zeigte sich deutlich, dass die OLED als auch LED den für die Photosynthese notwendigen Wellenlängenbereich von *Arthrospira* (PAR 400 -700 nm) abdecken (Abbildung 2). Besonders auffällig ist im Vergleich der Dioden zu den Leuchtstoffröhren, dass erstere ein wesentlich kontinuierlicheres Spektrum bereitstellen als letztere mit scharfen Intensitätspeaks bei bestimmten Wellenlängen.

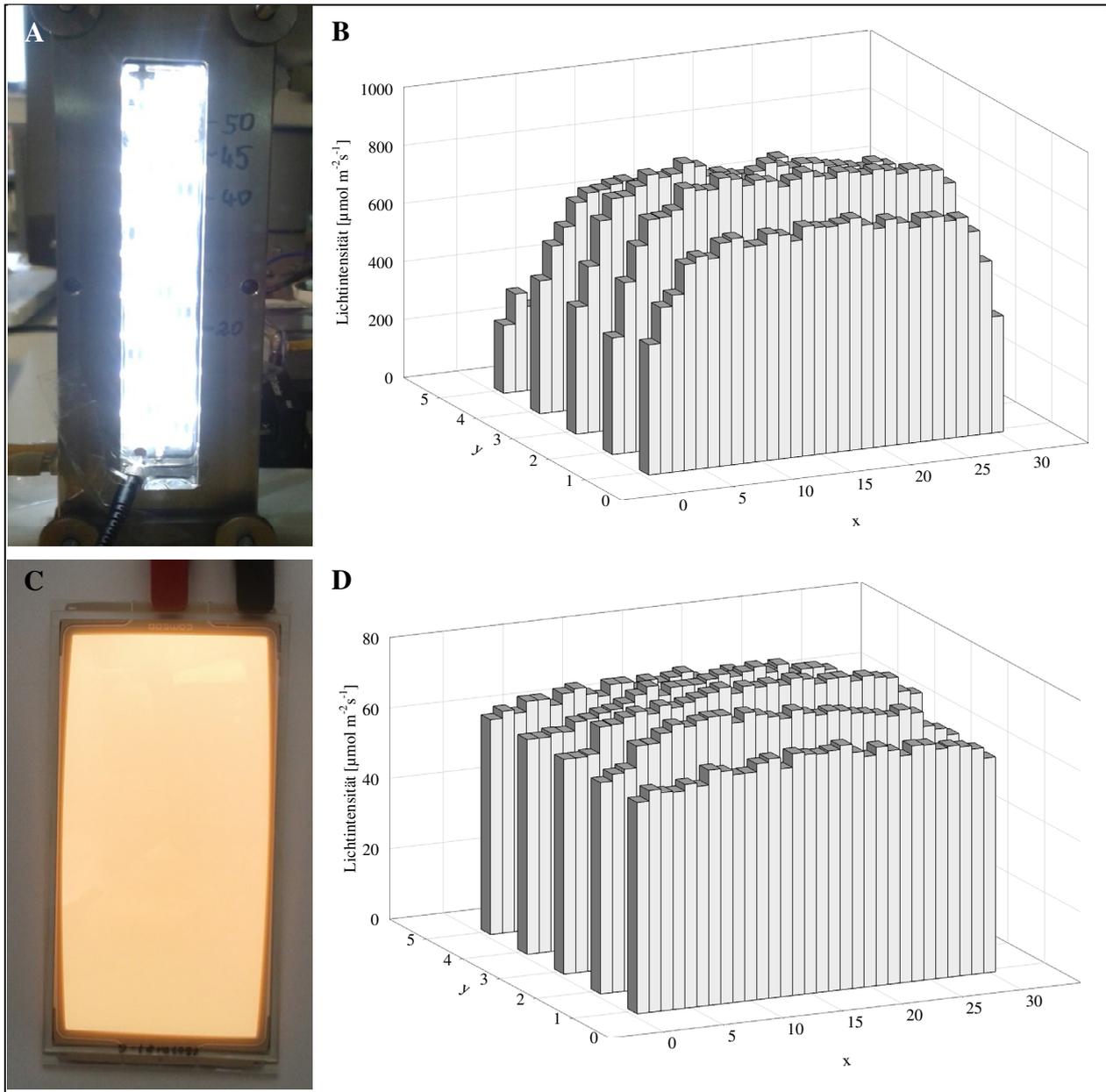


**Abbildung 38: Spektren der Beleuchtungseinheiten des Flat-Panel-Photobioreaktors**

Relative Intensität im Wellenlängenbereich von 300 - 900 nm von warmweißen LED (schwarze Linie), warmweißen OLED (Punktlinie) im Vergleich zu Leuchtstoffröhren (Strichlinie)

#### Verteilung Lichtintensität über Reaktionsraum

Es wurde die Verteilung der Lichtintensität über den Flächen der Beleuchtungseinheiten untersucht. Das LED-Panel (Abbildung 39A, B) wies, wie auch die LED-Panel im CultiLux, bedingt durch die LED als Punktlichtquelle eine Heterogenität über den Reaktionsraum auf. Durch den reihenweise versetzten Aufbau der LED über die Fläche wird allerdings im Zentrum des LED-Panels eine wesentlich geringere Heterogenität als beim CultiLux ersichtlich. Die Lichtintensität schwankt in der Mitte einer Messreihe entlang der x-Achse nur um ca.  $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Am Rand des LED-Panels kommt es durch den Rahmen des FPR zu einer Verschattung um bis zu  $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; wobei sogar die Lichtintensität noch weiter absinkt, wenn die LED sehr nah am Rahmen platziert sind. Vergleichbare Angaben der Literatur sind momentan noch nicht bekannt.



**Abbildung 39: Beleuchtungseinheiten des Flat-Panel-Photobioreaktors**

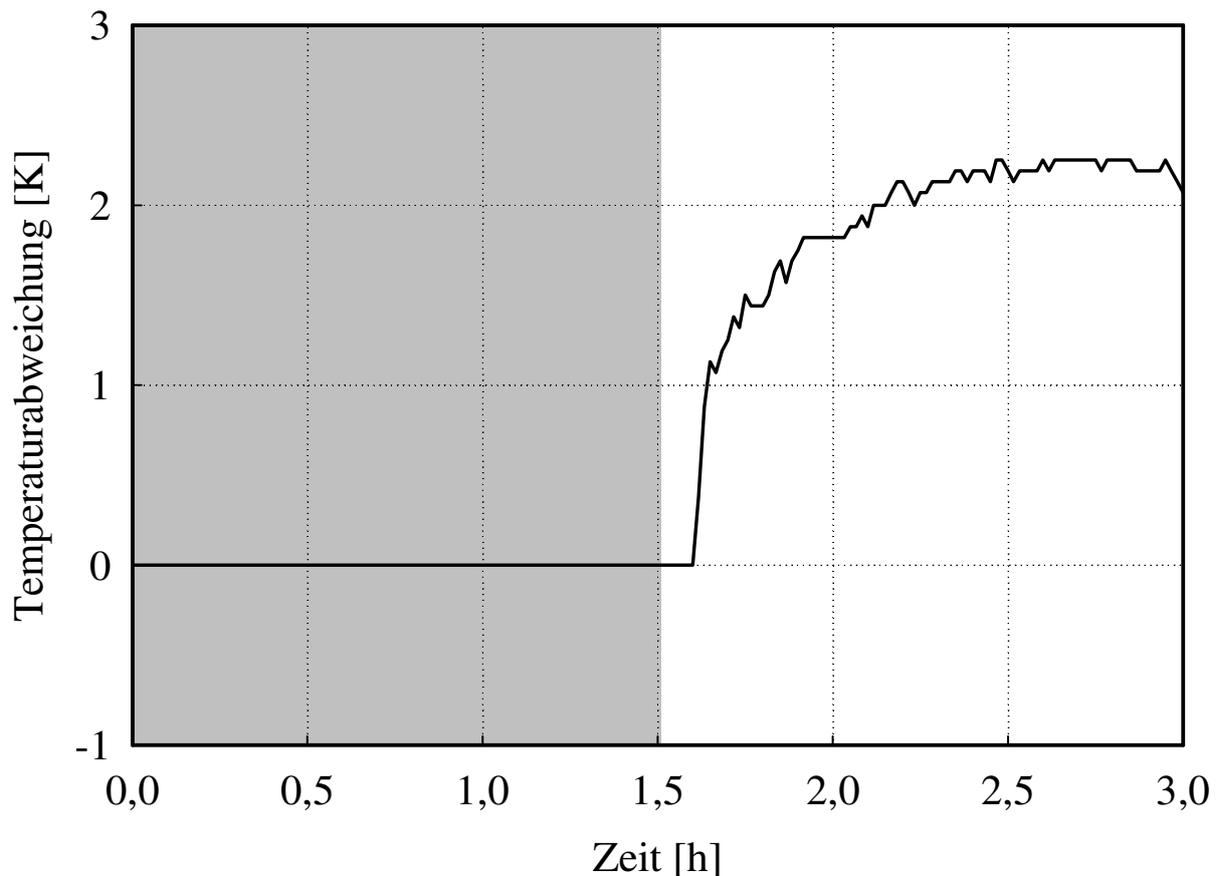
Foto des LED- (A) und des OLED-Panels (C); Lichtintensität in  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  ( $\pm 10\%$ ) im Reaktionsraum des Flat-Panel-Photobioreaktors mit Beleuchtung des LED- (B) bzw. des OLED-Panels (D), Punkt ( $x = 0$ ;  $y = 0$ ) repräsentiert die rechte untere Ecke des jeweiligen Panels

Die Verteilung der Lichtintensität der OLED (Abbildung 39C, D) ist über den Reaktionsraum gesehen homogener als das LED-Panel, die Lichtintensität schwankt nur um wenige Einheiten. Durch den verschattenden Einfluss des Reaktorrahmens kommt es allerdings auch bei dieser homogenen Lichtquelle zu einer Abnahme der Lichtintensität von bis zu  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  am Rand.

Ausblickend sind OLED allerdings zunehmend als homogene und damit vielversprechende Lichtquelle anzusehen, da eine rasche Intensitätserhöhung wie bei der LED-Technologie vorausgesagt wird (Sasabe und Kido 2013; Wagner 2009b). Der Einsatz von OLED in anderen miniaturisierten FPR wurde bereits auch schon publiziert (Krujatz 2014).

### 5.6.5 Untersuchung der Temperaturerhöhung durch Beleuchtung

Da im RAMOS durch die Beleuchtungseinheit CultiLux eine Temperaturerhöhung in der Flüssigkeit im Reaktionsraum bekannt und charakterisiert worden war, wurde auch im entwickelten FPR die Temperatur untersucht. Dazu wurde der FPR mit Wasser befüllt, auf eine Solltemperatur von 30°C temperiert, begast und mit einer hohen Lichtintensität mittels LED-Panel von ca.  $1850 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  beleuchtet. Die Temperatur wurde über die Zeit aufgezeichnet (Abbildung 40).



**Abbildung 40: Temperaturabweichung im Flat-Panel-Photobioreaktor**

Zeitlicher Verlauf der Temperaturabweichung in K vom Sollwert im Reaktionsraum des Flat-Panel-Photobioreaktors (Wasser) ohne (grauer Bereich) und mit Beleuchtung mittels LED-Panel mit einer Lichtintensität von  $1850 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (weißer Bereich)

Es zeigte sich ein deutlicher Temperaturanstieg durch die Beleuchtung von über 2 K über dem Sollwert der Temperatur. Diese Temperaturabweichung ist ähnlich derer im RAMOS; verursacht durch die Dissipation der hohen eingebrachten Lichtenergie. Zudem besteht die Rahmenkonstruktion des FPR aus Metall, welches sehr gut Wärmeenergie von der Lichtquelle zum Reaktionsraum leitet. Temperaturabweichungen von bis zu 4 K wurden auch in der Literatur in Photobioreaktoren bei vergleichbaren Lichtintensitäten publiziert (Morita et al. 2001).

Zur Vermeidung der Temperaturerhöhung sollte ein dynamischeres Kühlsystem für den FPR verwendet werden.

### **5.6.6 Fazit**

Es konnte ein Flat-Panel-Photobioreaktor mit definiertem Reaktionsraum entwickelt werden. Dieser wies mit einer Schichtdicke von 1 cm einen geringen räumlichen Gradienten der Lichtintensität auf. Die Beleuchtung wurde mit OLED- und LED-Paneln realisiert, wobei die Kombination einen weiten Lichtintensitätsbereich für reaktionskinetische Untersuchungen von der Kompensation bis zur Photoinhibierung ermöglicht. Die numerische Strömungssimulation war ein geeignetes Hilfsmittel für die Konstruktion. Die Implementation des Lichts sowie Trichom- bzw. spiralförmiger Partikel in das CFD-Modell wäre wünschenswert gewesen, ist aber zum momentanen Zeitpunkt noch schwierig. Es besteht großer Forschungsbedarf und die Validierung zum Vergleich der Simulationen mit realen Experimenten muss noch optimiert werden, denn für Miniatursysteme steht eine entsprechende miniaturisierte Sensorikentwicklung für Gitterstudien noch aus (Liao 2013).

Es wurde ebenfalls wie im RAMOS-CultiLux eine Temperaturerhöhung im Flat-Panel-Photobioreaktor durch die LED-Beleuchtung festgestellt, was zukünftig durch ein dynamischeres Kühlsystem verringert werden sollte. Ebenso sollte die eingesetzte Sensorik (Sensorspots) hinsichtlich der Bestrahlung untersucht werden, um Abweichungen auszuschließen. Die Begasung des Flat-Panel-Photobioreaktor sollte mit Stickstoff durchgeführt werden, um die Sauerstoffkonzentration im Abgas detektieren zu können.

In Zukunft kann der Flat-Panel-Photobioreaktor genutzt werden, um klare reaktionskinetische Untersuchungen zur Ermittlung der Wachstumsrate und Produktbildung in Abhängigkeit der Lichtintensität vorzugsweise in kontinuierlicher Betriebsweise, durchführen zu können. Anschließend können ebenso Untersuchungen mit intermittierendem Licht durchgeführt werden, um deren Einfluss auf Wachstumsrate und Produktbildung zu testen. Im Flat-Panel-Photobioreaktor können exaktere reaktionskinetische Aussagen generiert werden, als es die vorher dargestellten Systeme der klassischen Schüttelinkubatoren und Blasensäule als auch das CultiLux zu realisieren vermögen.

## 6 Zusammenfassung

Die Photobiotechnologie stellt einen wertvollen Technologiebeitrag zur biobasierten Ökonomie dar. Phototrophe Organismen und ihre speziellen Metabolite können weitreichend in der Pharma-, Nahrungs-, Kosmetik- und Energieindustrie angewendet werden.

Es besteht jedoch bei der Kultivierung phototropher Organismen in technischen Systemen, den Photobioreaktoren, eine große Herausforderung. Die Energiequelle Licht muss den Zellen in benötigter Qualität (Spektrum) und ausreichender Quantität (Lichtintensität) zugeführt werden. Infolge des Wachstums kommt es allerdings durch die steigende Biomassekonzentration und Absorption der zellinternen Pigmente zunehmend zur Selbstbeschattung. Es bildet sich ein räumlicher und zeitlicher Gradient der Lichtintensität im Photobioreaktor aus. Die Durchmischung bewegt die Zellen zusätzlich durch diese Gradienten und über die Kultivierung hinweg gesehen sind die Zellen somit stark schwankenden Lichtintensitäten ausgesetzt.

Die Selbstbeschattung ist unumgänglich und muss bei reaktionskinetischen Untersuchungen (Wachstum und Produktbildung in Abhängigkeit der Lichtintensität) beachtet werden. Dafür sind streng definierte Bedingungen notwendig. Zusätzlich ist der Umgang mit der speziellen Energiequelle Licht hinsichtlich Quali- und Quantifizierung aufgrund seiner Struktur, bestehend aus Photonen, im Vergleich zu kohlenstoffbasierten Energiesubstraten diffizil. Es existieren sehr viele verschiedene Untersuchungssysteme, in denen oft keine klar definierten bzw. ungünstige Lichtbedingungen herrschen; so werden z.B. oft Photobioreaktoren mit hohen Schichtdicken und somit sehr stark abfallenden Lichtintensitätsgradienten eingesetzt. Die Zellen sind undefinierten Lichtregimen unterworfen und die Resultate wie z.B. die ermittelten Wachstumsraten entsprechen nur einem Durchschnittswert aus diesen Überlagerungen anstatt einer definierten Lichtintensität. Klare reaktionskinetische Aussagen können dadurch nicht erhalten werden.

Exakte Ergebnisse sind jedoch äußerst wichtig für die Auslegung von produzierenden Photobioreaktoren. So muss für einen phototrophen Organismus neben der Wachstumsrate und dem Produktgehalt bei einer bestimmten Lichtintensität ebenso bekannt sein, wie sich beide Parameter verhalten, wenn Hell-Dunkel-Zyklen wirken, da diese unvermeidlich in produzierenden Photobioreaktoren auftreten. Wenn dies bekannt ist, können Photobioreaktoren zur Produktion wesentlich besser, z.B. hinsichtlich der Durchmischung, ausgelegt werden.

In dieser Arbeit wurden deshalb verschiedene kommerziell verfügbare als auch in der Literatur beschriebene Photobioreaktorsysteme recherchiert und hinsichtlich ihrer Eignung für reaktionskinetische Untersuchungen bewertet. Besonderer Fokus lag auch auf der Charakterisierung der Beleuchtungseinheiten der Systeme. Zwei kommerzielle Systeme (ein mit Leuchtstoffröhren beleuchteter Schüttelkolbeninkubator und eine extern mit Leuchtstoffröhren beleuchtete klassische Blasensäule) wurden anschließend mit dem Modellorganismus

*Arthrospira platensis* getestet. Es wurde in diesen Systemen festgestellt, dass Wachstum detektierbar ist, jedoch die Lichtbedingungen heterogen sind. Die ermittelten reaktionskinetischen Parameter stellen lediglich einen Durchschnittswert aus den undefinierten Lichtbedingungen dar. Zudem konnten die Systeme technisch keinen ausreichend weiten Bereich der Lichtintensität zur Untersuchung von der Kompensation bis zur Photoinhibition realisieren und die Sensorik am Schüttelkolben war erheblich eingeschränkt.

Anschließend wurde deshalb für ein Schüttelkolbensystem mit integrierter Messung der Atmungsaktivität, das Respiration Activity Monitoring System (RAMOS), eine LED-Beleuchtungseinheit vom Kolbenboden aus (CultiLux) entwickelt und mit *A. platensis* getestet. Diese Entwicklung ermöglicht die Detektion des Wachstums und der Sauerstofffreisetzung in einem weiten Bereich der Lichtintensität (bis zu  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Allerdings waren auch hier die Bestimmung der reaktionskinetischen Parameter beeinflusst, da die Zellen in den Schüttelkolben durch die heterogene LED-Beleuchtung und die Schüttelbewegung wiederum undefiniert schwankenden Lichtintensitäten ausgesetzt waren.

Folglich wurde zur Entwicklung eines Flat-Panel-Photobioreaktors übergegangen. Dieser kann aufgrund seines Aufbaus definierte Lichtbedingungen bereitstellen. Die Konstruktion des Reaktors wurde durch Einsatz numerischer Strömungssimulation (CFD) optimiert. Der Reaktor wurde mit einer kombinierten Beleuchtung aus OLED und LED ausgestattet, um einen weiten Untersuchungsbereich hinsichtlich der Lichtintensität zu realisieren (bis zu  $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Zudem bietet die OLED eine sehr homogene Beleuchtung des Reaktionsraumes, im Vergleich zum heterogenen LED-Panel.

Im RAMOS-CultiLux und im Flat-Panel-Photobioreaktor wurde durch die Beleuchtung eine Temperaturerhöhung im Reaktionsraum festgestellt. Dieser muss durch entsprechende Maßnahmen entgegengewirkt werden, um Einflüsse auf das Wachstum zu verhindern.

Ebenso wurde in der Arbeit ein Modell zur Beschreibung phototrophen Wachstums entwickelt und erfolgreich auf die durchgeführten Kultivierungen angewendet. Erstens ermöglicht es die Simulation des phototrophen Wachstums unter Berücksichtigung des Fakts, dass die Wachstumsrate unterhalb der Kompensationslichtintensität auf null absinkt. Zweitens wird im Prozessmodell die Selbstbeschattung berücksichtigt, indem eine räumlich über die Schichtdicke gemittelte Wachstumsrate ( $\bar{\mu}(I(x, c_x(t)))$ ) berechnet wird, was realistischer als die Verwendung einer gemittelten Lichtintensität ( $\mu(\bar{I}(c_x(t)))$ ) erscheint.

Insgesamt leistet die Arbeit mit den entwickelten Photobioreaktorsystemen und den erhaltenen Aussagen einen entscheidenden Beitrag zum reaktionskinetischen Verständnis des phototrophen Wachstums, um die Photobiotechnologie weiter voranzutreiben.

## Literatur

- Aiba S., Shoda M., Nagatani M. 1968. Kinetics of product inhibition in alcohol fermentation. *Biotechnology and Bioengineering* 10: 845-864.
- Aiba S., Ogawa T. 1977. Assessment of growth yield of a blue-green alga, *Spirulina platensis*, in axenic and continuous culture. *Journal of General Microbiology* 102: 179-182.
- Anderlei T., Büchs J. 2001. Device for sterile online measurement of the oxygen transfer rate in shaking flasks. *Biochemical Engineering Journal* 7: 157-162.
- Babu T. S., Sabat S. C., Mohanty P. 1992. Heat-induced alterations in the photosynthetic electron-transport and emission properties of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B - Biology* 12: 161-171.
- Bach M. 2013. Untersuchung des photomixotrophen Wachstumsverhaltens und des Phycocyaningehalts des Cyanobakteriums *Arthrospira*, Interdisziplinäre Projektarbeit, Technische Universität Dresden, Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik, Dresden.
- Baly E. C. C. 1935. The kinetics of photosynthesis. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences* 117: 218-239.
- Bannister T. T. 1979. Quantitative description of steady-state, nutrient-saturated algal growth, including adaptation. *Limnology and Oceanography* 24: 76-96.
- Béchet Q., Shilton A., Guieysse B. 2013. Modeling the effects of light and temperature on algae growth: State of the art and critical assessment for productivity prediction during outdoor cultivation. *Biotechnology Advances* 31: 1648-1663.
- Becker E. W. 2007. Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances* 25: 207-210.
- Beer A. 1852. Bestimmung der Absorption des rothen Lichts in farbigen Flüssigkeiten. *Annalen der Physik und Chemie* 86: 78-88.
- Beer S., Björk M., Beardall J. 2014. *Photosynthesis in the marine environment*. Oxford: John Wiley & Sons, England.
- Belay A. 2008. *Spirulina (Arthrospira): Production and quality assurance*. In: Gershwin A. und Belay A. (Editoren): *Spirulina in human health and nutrition*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, USA: 1 - 25.
- Bernard O., Remond B. 2012. Validation of a simple model accounting for light and temperature effect on microalgal growth. *Bioresource Technology* 123: 520-527.
- Biggs W. W., Edison A. R., Eastin J. D., Brown K. W., Maranville J. W., Clegg M. D. 1971. Photosynthesis light sensor and meter. *Ecology* 52: 125-131.
- Bitog J. P., Lee I., Lee C., Kim K., Hwang H., Hong S., Seo I., Kwon K., Mostafa E. 2011. Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: A review. *Computers and Electronics in Agriculture* 76: 131-147.

- Björn L. O., Vogelmann T. C. 1994. Quantification of light. In: Kendrick R. E. und Kronenberg G. H. M., (Editoren). Photomorphogenesis in plants. Berlin: Springer Science & Business Media, Deutschland: 17-25.
- Blackman F. F. 1905. Optima and limiting factors. *Annals of Botany* 19: 281-296.
- Bouguer P. 1729. *Essai d'optique, Sur la gradation de la lumière*. Paris: Claude Jombert, Frankreich.
- Boussiba S., Richmond A. E. 1980. C-phycoyanin as a storage protein in the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Archives of Microbiology* 125: 143-147.
- Boussiba S., Richmond A. E. 1979. Isolation and characterization of phycoyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Archives of Microbiology* 120: 155-159.
- Brindley C., Acien F. G., Fernandez-Sevilla J. M. 2011. Analysis of light regime in continuous light distributions in photobioreactors. *Bioresource Technology* 102: 3138-3148.
- Brindley C., Acien F. G., Fernandez-Sevilla J. M. 2010. The oxygen evolution methodology affects photosynthetic rate measurements of microalgae in well-defined light regimes. *Biotechnology and Bioengineering* 106: 228-237.
- Büchs J., Maier U., Lotter S., Peter C. P. 2007. Calculating liquid distribution in shake flasks on rotary shakers at waterlike viscosities. *Biochemical Engineering Journal* 34: 200-208.
- Burgess P. 2009. Variation in light intensity at different latitudes and seasons, effects of cloud cover, and the amounts of direct and diffused light. Continuous Cover Forestry Group (CCFG) Scientific Meeting 2.
- Caperon J. 1967. Population growth in micro-organisms limited by food supply. *Ecology* 48: 715-722.
- Caperon J., Meyer J. 1972. Nitrogen-limited growth of marine phytoplankton II: Uptake kinetics and their role in nutrient limited growth of phytoplankton. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* 19: 619-632.
- Carlozzi P. 2000. Hydrodynamic aspects and *Arthrospira* growth in two outdoor tubular undulating row photobioreactors. *Applied Microbiology and Biotechnology* 54: 14-22.
- Carlozzi P., Ena A., Carnevale S. 2005. Hydrodynamic alterations during cyanobacteria (*Arthrospira platensis*) growth from low to high biomass concentration inside tubular photobioreactors. *Biotechnology Progress* 21: 416-422.
- Carvalho A. P., Malcata F. X. 2003. Kinetic modeling of the autotrophic growth of *Pavlova lutheri*: Study of the combined influence of light and temperature. *Biotechnology Progress* 19: 1128-1135.
- Carvalho A. P., Meireles L. A., Malcata F. X. 2006. Microalgal reactors: A review of enclosed system designs and performances. *Biotechnology Progress* 22: 1490-1506.
- Cembella A. D., Antia N. J., Harrison P. J. 1982. The utilization of inorganic and organic phosphorous compounds as nutrients by eukaryotic microalgae: A multidisciplinary perspective: Part I. *CRC Critical Reviews in Microbiology* 10: 317-391.

- Cerff M., Wagner I., Kipf E., Radtke C., Posten C. 2009. Kinetische Untersuchungen zum Wachstum des Moores *Physcomitrella patens* unter verschiedenen Lichtbedingungen. *Chemie Ingenieur Technik* 81: 1293-1294.
- Cerff M., Posten C. 2012. Enhancing the growth of *Physcomitrella patens* by combination of monochromatic red and blue light - A kinetic study. *Biotechnology Journal* 7: 527-526.
- Chen F., Zhang Y. 1997. High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a fed-batch system. *Enzyme and Microbial Technology* 20: 221-224.
- Chmiel H. 2006. *Bioprozesstechnik: Einführung in die Bioverfahrenstechnik*. München: Spektrum - Akademischer Verlag, Deutschland.
- Chojnacka K., Noworyta A. 2004. Evaluation of *Spirulina* sp. growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. *Enzyme and Microbial Technology* 34: 461-465.
- Chojnacka K., Zielinska A. 2012. Evaluation of growth yield of *Spirulina (Arthrospira)* sp. in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 28: 437-445.
- Ciferri O. 1983. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiological Reviews* 47: 551-578.
- Cogne G., Gros J., Dussap C. 2003. Identification of a metabolic network structure representative of *Arthrospira (Spirulina) platensis* metabolism. *Biotechnology and Bioengineering* 84: 667-676.
- Cohen Z. 1999. *Chemicals from microalgae*. London: Taylor & Francis Ltd, England.
- Converti A., Lodi A., Del Borghi A., Solisio C. 2006. Cultivation of *Spirulina platensis* in a combined airlift-tubular reactor system. *Biochemical Engineering Journal* 32: 13-18.
- Cornet J. F., Dussap C. G., Dubertret G. 1992a. A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: 1. Coupling between light transfer and growth-kinetics. *Biotechnology and Bioengineering* 40: 817-825.
- Cornet J. F., Dussap C. G., Cluzel P., Dubertret G. 1992b. A structured model for simulation of cultures of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in photobioreactors: 2. Identification of kinetic parameters under light and mineral limitations. *Biotechnology and Bioengineering* 40: 826-834.
- Cuaresma M., Janssen M., Vílchez C., Wijffels R. 2009. Productivity of *Chlorella sorokiniana* in a short light - path (SLP) photobioreactor under high irradiance. *Biotechnology and Bioengineering* 104: 352-359.
- Cullen J. J. 1990. On models of growth and photosynthesis in phytoplankton. *Deep-Sea Research Part A - Oceanographic Research Papers* 37: 667-683.
- Degen J., Uebele A., Retze A., Schmid-Staiger U., Trösch W. 2001. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. *Journal of Biotechnology* 92: 89-94.

- Eriksen N. T. 2008a. Production of phycocyanin - A pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology* 80: 1-14.
- Eriksen N. T. 2008b. The technology of microalgal culturing. *Biotechnology Letters* 30: 1525.
- Esser K. 2000. Kryptogamen: 1. Cyanobakterien, Algen, Pilze, Flechten: Praktikum und Lehrbuch. Heidelberg: Springer Verlag, Deutschland.
- Evers E. G. 1991. A model for light-limited continuous cultures: Growth, shading and maintenance. *Biotechnology and Bioengineering* 38: 254-259.
- Falkowski P. G., Raven J. A. 1997. Aquatic photosynthesis. Oxon: Blackwell Science Ltd., England.
- Fraga F. 2001. Phytoplanktonic biomass synthesis: Application to deviations from Redfield stoichiometry. *Scientia Marina* 65: 153-169.
- Franco-Lara E., Havel J., Peterat F., Weuster-Botz D. 2006. Model - supported optimization of phototrophic growth in a stirred-tank photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering* 95: 1177-1187.
- Gantt E. 2011. Oxygenic photosynthesis and the distribution of chloroplasts. *Photosynthesis Research* 107: 1-6.
- Gao K., Li P., Watanabe T., Helbling E. W. 2008. Combined effects of ultraviolet radiation and temperature on morphology, photosynthesis, and DNA of *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Cyanophyta). *Journal of Phycology* 44: 777-786.
- Garcia-Malea M., Brindley C., Del Rio E., Acien F., Fernandez J., Molina E. 2005. Modelling of growth and accumulation of carotenoids in *Haematococcus pluvialis* as a function of irradiance and nutrients supply. *Biochemical Engineering Journal* 26: 107-114.
- Geider R., Mac Intyre H., Kana T. 1997. Dynamic model of phytoplankton growth and acclimation: Responses of the balanced growth rate and the chlorophyll a: Carbon ratio to light, nutrient-limitation and temperature. *Marine Ecology Progress Series* 148: 187-200.
- Geipel K., Socher M. L., Haas C., Bley T., Steingroewer J. 2013. Growth kinetics of a *Helianthus annuus* and a *Salvia fruticosa* suspension cell line: Shake flask cultivations with online monitoring system. *Engineering in Life Sciences* 13: 593-602.
- Geipel K., Song X., Socher M. L., Kümritz S., Püschel J., Bley T., Ludwig-Müller J., Steingroewer J. 2014. Induction of a photomixotrophic plant cell culture of *Helianthus annuus* and optimization of culture conditions for improved alpha -tocopherol production. *Applied Microbiology and Biotechnology* 98: 2029-2040.
- Gershwin M. E., Belay A. 2008. *Spirulina* in human nutrition and health. Boca Raton: Taylor & Francis, USA.
- Glazer A. N. 1987. Phycobilisomes: Assembly and attachment. In: Fay P. und Van Baalen C. (Editoren). *The Cyanobacteria*. Luxemburg: Elsevier, Luxemburg: 69 - 94.

- Glazer A. N. 1999. Phycobiliproteins. In: Cohen Z. (Editor). Chemicals from microalgae. Boca Raton: Taylor & Francis, USA: 261 - 280.
- Gockel T. 2012. Licht. In: Gockel T. (Editor). Kompendium digitale Fotografie. Heidelberg: X.media.press, Deutschland: 3-18.
- Godoy Danesi E. D., Rangel-Yagui C. O., Sato S., Monteiro de Carvalho J. C. 2011. Growth and content of *Spirulina platensis* biomass chlorophyll cultivated at different values of light intensity and temperature using different nitrogen sources. Brazilian Journal of Microbiology 42: 362-373.
- Görner R. 2012. Kultivierung von Cyanobakterien der Gattung *Arthrospira* in einem Photobioreaktor und Evaluierung einer Aufschlussmethode für die gewonnene Feuchtbioasse, Masterarbeit, Hochschule für Technik und Wirtschaft Dresden, Fachbereich Biochemie und Bioverfahrenstechnik, Dresden.
- Grima E. M., Camacho F. G., Pérez J. A. S., Sevilla J. M. F., Fernández F. G. A., Gómez A. C. 1994. A mathematical model of microalgal growth in light - limited chemostat culture. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 61: 167-173.
- Grobbelaar J. U., Kroon B. M. A., Burgerwiersma T., Mur L. R. 1992. Influence of medium frequency light dark cycles of equal duration on the photosynthesis and respiration of *Chlorella pyrenoidosa*. Hydrobiologia 238: 53-62.
- Haldane J. B. S. 1930. Enzymes. London: Longmans, Green and Co, England.
- Harris D. C. 2014. Lehrbuch der quantitativen Analyse. Heidelberg: Springer Verlag, Deutschland.
- Heining M., Buchholz R. 2015. Photobioreactors with internal illumination - A survey and comparison. Biotechnology Journal 10: 1131-1137.
- Hemlata, Fatma T. 2009. Screening of cyanobacteria for phycobiliproteins and effect of different environmental stress on its yield. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 83: 509-515.
- Hi Tec Zang GmbH 2014. RAMOS Benutzerhandbuch.
- Hoseini S. M. 2013. Nutritional and medical applications of *Spirulina* microalgae. Mini - Reviews in Medicinal Chemistry 13: 1231-1237.
- Jacob D. 1999. Introduction to atmospheric chemistry. Princeton: Princeton University Press, USA.
- Jassby A., Platt T. 1976. Mathematical formulation of relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. Limnology and Oceanography 21: 540-547.
- Jeon Y., Cho C., Yun Y. 2005. Measurement of microalgal photosynthetic activity depending on light intensity and quality. Biochemical Engineering Journal 27: 127-131.
- Jerusalimsky N. D., Nerenova N. M. 1965. Quantitative relationships between metabolic products and growth rate of microorganisms (in Russisch). Dokl. Akademie Nauk SSSR 161: 1437-1440.
- Karlson P., Doenecke D., Koolman J. 1994. Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, Deutschland.

- Katsuda T., Shimahara K., Shiraishi H., Yamagami K., Ranjbar R., Katoh S. 2006. Effect of flashing light from blue light emitting diodes on cell growth and astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 102: 442-446.
- Kebede E., Ahlgren G. 1996. Optimum growth conditions and light utilization efficiency of *Spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*) (Cyanophyta) from Lake Chitu, Ethiopia. *Hydrobiologia* 332: 99-109.
- Kliphuis A. M. J., de Winter L., Vejrazka C., Martens D. E., Janssen M., Wijffels R. H. 2010. Photosynthetic efficiency of *Chlorella sorokiniana* in a turbulently mixed short light-path photobioreactor. *Biotechnology Progress* 26: 687-696.
- Kohl J. G., Nicklisch A. 1988. *Ökophysiologie der Algen - Wachstum und Ressourcennutzung*. Berlin: Akademie-Verlag, Deutschland.
- Krautwer T. 2013. *Simulation und Optimierung der Bestrahlung von Rhodobacter sphaeroides DSM 158 in Photobioreaktoren*, Diplomarbeit, Technische Universität Dresden, Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik, Dresden.
- Krujatz F. 2014. *Organic Light for organic production - A novel small scale OLED-based photobioreactor*. DECHEMA - Konferenz Biomaterials - Made in Bioreactors
- Krujatz F., Illing R., Krautwer T., Liao J., Helbig K., Goy K., Opitz J., Cuniberti G., Bley T., Weber J. 2015. Light - field - characterization in a continuous hydrogen-producing photobioreactor by optical simulation and computational fluid dynamics. *Biotechnology and Bioengineering* DOI: 10.1002/bit.25667.
- Kuchling H. 1991. *Taschenbuch der Physik*. Leipzig: Fachbuchverlag GmbH, Deutschland.
- Kuhne S., Strieth D., Weber A., Muffler K., Lakatos M., Ulber R. 2014. Screening of two terrestrial cyanobacteria for biotechnological production processes in shaking flasks, bubble columns, and stirred tank reactors. *Journal of Applied Phycology* 26: 1639-1648.
- Lalli C., Parsons T. R. 1993. *Biological Oceanography: An Introduction*. Oxford: Elsevier Butterworth-Heinemann, England.
- Lambert J. H. 1760. *Photometria, sive de mensura et gradibus luminis, colorum et umbrae*. Augsburg: Sumptibus Vidae Eberhardi Klett, Deutschland.
- Lawlor D. W. 1990. *Photosynthese*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, Deutschland.
- Lee C., Palsson B. 1994. High - density algal photobioreactors using light - emitting diodes. *Biotechnology and Bioengineering* 44: 1161-1167.
- Lee Y. K., Pirt S. J. 1981. Energetics of photosynthetic algal growth - Influence of intermittent illumination in short (40s) cycles. *Journal of General Microbiology* 124: 43-52.
- Lee H., Erickson L., Yang S. 1987. Kinetics and bioenergetics of light - limited photoautotrophic growth of *Spirulina platensis*. *Biotechnology and Bioengineering* 29: 832-843.

- Lehmann N., Rischer H., Eibl D., Eibl R. 2013. Wave - mixed and orbitally shaken single - use photobioreactors for diatom algae propagation. *Chemie Ingenieur Technik* 85: 197-201.
- Levenspiel O. 1980. The Monod equation - A revisit and a generalization to product inhibition situations. *Biotechnology and Bioengineering* 22: 1671-1687.
- Lever J., Xia J. 2001. Modeling the growth curve for *Spirulina (Arthrospira) maxima*, a versatile microalga for producing uniformly labelled compounds with stable isotopes. *Journal of Applied Phycology* 13: 359-367.
- Liao J. 2013. CFD-gestützte Optimierung eines Platten-Photobioreaktors, Interdisziplinäre Projektarbeit, Technische Universität Dresden, Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik, Dresden.
- Lodi A., Binaghi L., De Faveri D., Carvalho J., Converti A., Del Borghi M. 2005. Fed - batch mixotrophic cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Cyanophyceae) with carbon source pulse feeding. *Annals of Microbiology* 55: 181-185.
- Lottspeich F., Engels J. W. 2012. *Bioanalytik*. Heidelberg: Springer Spektrum Verlag, Deutschland.
- Lumani M. 2014. Maßstabsübertragung einer photomixotrophen Suspension der Sonnenblume in eine Blasensäule, Bachelorarbeit, Zürcher Hochschule für angewandte Wissenschaft, Institut für Biotechnologie, Zürich.
- Luo H., Al-Dahhan M. H. 2008. Local characteristics of hydrodynamics in draft tube airlift bioreactor. *Chemical Engineering Science* 63: 3057-3068.
- Luo H., Al-Dahhan M. H. 2004. Analyzing and modeling of photobioreactors by combining first principles of physiology and hydrodynamics. *Biotechnology and Bioengineering* 85: 382-393.
- Ma Z., Gao K. 2010. Spiral breakage and photoinhibition of *Arthrospira platensis* (Cyanophyta) caused by accumulation of reactive oxygen species under solar radiation. *Environmental and Experimental Botany* 68: 208-213.
- Marquez F. J., Nishio N., Nagai I S., Sasaki K. 1995. Enhancement of biomass and pigment production during growth of *Spirulina platensis* in mixotrophic culture. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 62: 159-164.
- Mc Donald G. R., Hudson A. L., Dunn S. M. J., You H., Baker G. B., Whittal R. M., Martin J. W., Jha A., Edmondson D. E., Holt A. 2008. Bioactive contaminants leach from disposable laboratory plasticware. *Science* 322: 917-917.
- Megard R. O., Tonkyn D. W., Senft W. H. 1984. Kinetics of oxygenic photosynthesis in planktonic algae. *Journal of Plankton Research* 6: 325-337.
- Merchuk J., Ronen M., Giris S., Arad S. 1998. Light / dark cycles in the growth of the red microalga *Porphyridium* sp. *Biotechnology and Bioengineering* 59: 705-713.
- Miller R. L., Tsuchiya H. M., Fredrickson A. G., Brown A. H. 1964. Hydromechanical method to increase efficiency of algal photosynthesis. *Industrial & Engineering Chemistry Process Design and Development* 3: 134-139.

- Milligan A., Cospser E. 1997. Growth and photosynthesis of the 'brown tide' microalga *Aureococcus anophagefferens* in subsaturating constant and fluctuating irradiance. *Marine Ecology-Progress Series* 153: 67-75.
- Mishra S. R. 2004. Photosynthesis in plants. Delhi: Arora Offset Press, Indien.
- Mitscherlich E. A. 1909. Das Gesetz des Minimums und das Gesetz des abnehmenden Bodenertrages. *Landwirtschaftliche Jahrbücher* Band 38: 537-552.
- Moheimani N. R., Isdepsky A., Lisec J., Raes E., Borowitzka M. A. 2011. Coccolithophorid algae culture in closed photobioreactors. *Biotechnology and Bioengineering* 108: 2078-2087.
- Monod J. 1949. The growth of bacterial cultures. *Annual Review of Microbiology* 3: 371-394.
- Morita M., Watanabe Y., Saiki H. 2001. Evaluation of photobioreactor heat balance for predicting changes in culture medium temperature due to light irradiation. *Biotechnology and Bioengineering* 74: 466-475.
- Nedbal L., Tichy V., Xiong F., Grobbelaar J. 1996. Microscopic green algae and cyanobacteria in high - frequency intermittent light. *Journal of Applied Phycology* 8: 325-333.
- Nedbal L., Trtílek M., Cervený J., Komárek O., Pakrasi H. B. 2008. A photobioreactor system for precision cultivation of photoautotrophic microorganisms and for high-content analysis of suspension dynamics. *Biotechnology and Bioengineering* 100: 902-910.
- Nielsen E. S. 1975. *Marine Photosynthesis*. Amsterdam: Elsevier, Niederlande.
- Oertel H., Böhle M., Reviol T. 2011. *Strömungsmechanik*. Wiesbaden: Vieweg + Teubner Verlag, Deutschland.
- Ogbonna J., Yada H., Tanaka H. 1995. Effect of cell - movement by random mixing between the surface and bottom of photobioreactors on algal productivity. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 79: 152-157.
- Ohira Y., Abe T., Kuga Y., Ando K. 2000. Effect of intermittent light on oxygen production of *Spirulina platensis*. (in Japanese) *Kagaku Kogaku Ronbunshu* 26: 342-346.
- Ojo E. O., Auta H., Baganz F., Lye G. J. 2014. Engineering characterisation of a shaken, single - use photobioreactor for early stage microalgae cultivation using *Chlorella sorokiniana*. *Bioresource Technology* 173: 367-375.
- Olaizola M., Duerr E. O. 1990. Effects of light intensity and quality on the growth rate and photosynthetic pigment content of *Spirulina platensis*. *Journal of Applied Phycology* 2: 97-104.
- Olivieri A., Degenhardt O. S., McDonald R. G., Narang D., Paulsen I. M., Kozuska J. L., Holt A. 2012. On the disruption of biochemical and biological assays by chemicals leaching from disposable laboratory plasticware. *Canadian Journal of Physiological Pharmacology* 90: 697-703.

- Öncül A. A., Kalmbach A., Genzel Y., Reichl U., Thévenin D. 2010. Characterization of flow conditions in 2 L and 20 L wave bioreactors<sup>®</sup> using computational fluid dynamics. *Biotechnology Progress* 26: 101-110.
- Park K., Kim D., Lee C. 2000. Effect of flashing light on oxygen production rates in high - density algal cultures. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 10: 817-822.
- Peeters J. C. H., Eilers P. 1978. The relationship between light intensity and photosynthesis: A simple mathematical model. *Hydrobiological Bulletin* 12: 134-136.
- Perner - Nochta I., Posten C. 2007. Simulations of light intensity variation in photobioreactors. *Journal of Biotechnology* 131: 276-285.
- Phillips J. N., Myers J. 1954. Growth rate of *Chlorella* in flashing light. *Plant Physiology* 29: 152-161.
- Posten C. 2009. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Engineering in Life Sciences* 9: 165-177.
- Pruvost J., Cornet J., Legrand J. 2008. Hydrodynamics influence on light conversion in photobioreactors: An energetically consistent analysis. *Chemical Engineering Science* 63: 3679-3694.
- Pulz O. 2001. Photobioreactors: Production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57: 287-293.
- Qiang H., Richmond A. 1996. Productivity and photosynthetic efficiency of *Spirulina platensis* as affected by light intensity, algal density and rate of mixing in a flat plate photobioreactor. *Journal of Applied Phycology* 8: 139-145.
- Qiang H., Zarmi Y., Richmond A. 1998. Combined effects of light intensity, light - path and culture density on output rate of *Spirulina platensis* (Cyanobacteria). *European Journal of Phycology* 33: 165-171.
- Raval K. N., Hellwig S., Prakash G., Ramos-Plasencia A., Srivastava A., Büchs J. 2003. Necessity of a two - stage process for the production of azadirachtin-related limonoids in suspension cultures of *Azadirachta indica*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 96: 16-22.
- Rechmann H., Friedrich A., Forouzan D., Barth S., Schnabl H., Biselli M., Böhm R. 2007. Characterization of photosynthetically active duckweed (*Wolffia australiana*) in vitro culture by Respiration Activity Monitoring System (RAMOS). *Biotechnology Letters* 29: 971-977.
- Reynolds H. L., Pacala S. W. 1993. An analytical treatment of root-to-shoot ratio and plant competition for soil nutrient and light. *American Naturalist* 141: 51-70.
- Rodrigues M. S., Ferreira L. S., Converti A., Sato S., Carvalho J. C. M. 2010. Fed - batch cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis*: Potassium nitrate and ammonium chloride as simultaneous nitrogen sources. *Bioresource Technology* 101: 4491-4498.
- Roselló Sastre R. M. 2009. Kopplung physiologischer und verfahrenstechnischer Parameter beim Wachstum und bei der Produktbildung der Rotalge *Porphyridium purpureum*, Dissertation, Universität Karlsruhe, Institut für Bio- und Lebensmitteltechnik, Karlsruhe, Deutschland.

- Rubio F., Camacho F., Sevilla J., Chisti Y., Grima E. 2003. A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnology and Bioengineering* 81: 459-473.
- Sasabe H., Kido J. 2013. Development of high performance OLEDs for general lighting. *Journal of Materials Chemistry C* 1: 1699-1707.
- Schott C. 2013. Etablierung eines Versuchsaufbaus zur Untersuchung verschiedener Lichteinflüsse auf Cyanobakterien, Großer Beleg, Technische Universität Dresden, Institut für Lebensmittel und Bioverfahrenstechnik, Dresden.
- Schwarze R. 2013. CFD - Modellierung - Grundlagen und Anwendungen bei Strömungsprozessen. Heidelberg: Springer Vieweg, Deutschland.
- Seckbach J. 2007. Algae and cyanobacteria in extreme environments. Dordrecht: Springer, Niederlande.
- Sierra E., Acién F. G., Fernández J. M., García J. L., González C., Molina E. 2008. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal* 138: 136-147.
- Sigg L., Stumm W. 2011. Aquatische Chemie - Einführung in die Chemie natürlicher Gewässer. Zürich: vdf Hochschulverlag AG, Schweiz.
- Sili C., Torzillo G., Vonshak A. 2012. *Arthrospira* (Spirulina). In: Whitton B. (Editor). Ecology of cyanobacteria II: Their diversity in space and time. Heidelberg: Springer Verlag, Deutschland. 677-705.
- Smith E. 1936. Photosynthesis in relation to light and carbon dioxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 22: 504-511.
- Socher M. L., Lenk F., Geipel K., Schott C., Püschel J., Haas C., Grasse C., Bley T., Steingroewer J. 2014. Phototrophic growth of *Arthrospira platensis* in a respiration activity monitoring system for shake flasks (RAMOS). *Engineering in Life Sciences* 14: 659-666.
- Socher, M. L., Löser, C., Schott, C., Bley, T., Steingroewer, J. 2015. The challenge of scaling up photobioreactors – modeling and approaches in small scale. *Engineering in Life Sciences*, submitted.
- Steele J. H. 1962. Environmental control of photosynthesis in the sea. *Limnology and Oceanography* 7: 137-150.
- Stryer L. 2012. Biochemie. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, Deutschland.
- Su Z., Kang R., Shi S., Cong W., Cai Z. 2010. Study on the destabilization mixing in the flat plate photobioreactor by means of CFD. *Biomass and Bioenergy* 34: 1879-1884.
- Sunda W. G., Huntsman S. A. 1997. Interrelated influence of iron, light and cell size on marine phytoplankton growth. *Nature* 390: 389-392.
- Sydney E. B., Sturm W., de Carvalho J. C., Thomaz-Soccol V., Larroche C., Pandey A., Soccol C. R. 2010. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource Technology* 101: 5892-5896.

- Takors R. 2014. Kommentierte Formelsammlung Bioverfahrenstechnik. Heidelberg: Springer Verlag, Deutschland.
- Tamiya H., Iwamura T., Shibata K., Hase E., Nihei T. 1953. Correlation between photosynthesis and light - independent metabolism in the growth of *Chlorella*. *Biochimica & Biophysica Acta* 12: 23-40.
- Tedesco M. A., Duerr E. O. 1989. Light, temperature and nitrogen starvation effects on the total lipid and fatty acid content and composition of *Spirulina platensis* UTEX 1928. *Journal of Applied Phycology* 1: 201-209.
- Terry K. L. 1986. Photosynthesis in modulated light - Quantitative dependence of photosynthetic enhancement on flashing rate. *Biotechnology and Bioengineering* 28: 988-995.
- Torzillo G., Giovanetti L., Bocci F., Materassi R. 1984. Effect of oxygen concentration on the protein-content of *Spirulina* biomass. *Biotechnology and Bioengineering* 26: 1134-1135.
- Torzillo G., Pushparaj J. B., Bocci F., Balloni W., Materassi R., Florenzano G. 1986. Production of *Spirulina* biomass in closed photobioreactors. *Biomass* 11: 61-74.
- Urit T., Manthey R., Bley T., Löser C. 2013. Formation of ethyl acetate by *Kluyveromyces marxianus* on whey: Influence of aeration and inhibition of yeast growth by ethyl acetate. *Engineering in Life Sciences* 13: 247-260.
- Van Eykelenburg C. 1980. Ecophysiological studies on *Spirulina platensis* - Effect of temperature, light intensity and nitrate concentration on growth and ultrastructure. *Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology* 46: 113-127.
- Van Eykelenburg C. 1977. Morphology and ultrastructure of cell wall of *Spirulina platensis*. *Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology* 43: 89-99.
- Van Oorschot J. 1955. Conversion of light energy in algal culture, Dissertation, Universität Wageningen, Niederlande.
- Vejrazka C., Janssen M., Streefland M., Wijffels R. H. 2011. Photosynthetic efficiency of *Chlamydomonas reinhardtii* in flashing light. *Biotechnology and Bioengineering* 108: 2905-2913.
- Vieira Costal J. A., Linde G. A., Pires Atala D. I., Mibielli G. M., Kruger R. T. 2000. Modelling of growth conditions for cyanobacterium *Spirulina platensis* in microcosms. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16: 15-18.
- Vonshak A. 1997. *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell-biology and biotechnology*. London: Taylor & Francis Ltd, England.
- Vonshak A., Guy R., Poplawsky R., Ohad I. 1988. Photoinhibition and its recovery in 2 strains of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Plant and Cell Physiology* 29: 721-726.
- Wagner W. 2009a. [http://daten.didaktikchemie.uni-bayreuth.de/experimente/chembox/u\\_blattfarbstoffe/blatt\\_extinktion.html](http://daten.didaktikchemie.uni-bayreuth.de/experimente/chembox/u_blattfarbstoffe/blatt_extinktion.html), Zugriff: 02.02.2015

- Wagner D. 2009b. Organische Leuchtdioden und ihre Zukunft in der Allgemeinbeleuchtung. Licht - Planung, Design, Technik, Handel 61: 808-812.
- Wang C., Fu C., Liu Y. 2007. Effects of using light - emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. Biochemical Engineering Journal 37: 21-25.
- Wang W. 1990. Literature review on duckweed toxicity testing. Environmental Research 52: 7-22.
- Werner S., Kaiser S. C., Kraume M., Eibl D. 2014. Computational fluid dynamics as a modern tool for engineering characterization of bioreactors. Pharmaceutical Bioprocessing 2: 85-99.
- Wilhelm C. 2014. Energiebilanz vom Photon bis zur Biomasse - Konsequenzen für die Algenbiotechnologie "new green chemistry", Vortrag TU Dresden.
- Winkler K., Socher M. L., Flickinger M. C. 2014. Shake Flask Technology. Encyclopedia of Industrial Biotechnology. John Wiley & Sons, Inc. online library. DOI: 10.1002/9780470054581.eib651.
- Wu B. 2013. Advances in the use of CFD to characterize, design and optimize bioenergy systems. Computers and Electronics in Agriculture 93: 195-208.
- Wu H., Abasova L., Cheregi O., Deak Z., Gao K., Vass I. 2011. D1 protein turnover is involved in protection of photosystem II against UV - B induced damage in the cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) platensis*. Journal of Photochemistry and Photobiology Biology 104: 320-325.
- Xue S., Su Z., Cong W. 2011. Growth of *Spirulina platensis* enhanced under intermittent illumination. Journal of Biotechnology 151: 271-277.
- Yam F. K., Hassan Z. 2005. Innovative advances in LED technology. Microelectronics Journal 36: 129-137.
- Yoshimoto N., Sato T., Kondo Y. 2005. Dynamic discrete model of flashing light effect in photosynthesis of microalgae. Journal of Applied Phycology 17: 207-214.
- Zarrouk C. 1966. Contribution a l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima* (Setch. et Gardner) Geitler, Dissertation, Universität Paris, Paris, Frankreich.
- Zelitch I. 1971. Photosynthesis, photorespiration and plant productivity. New York: Academic Press, USA.
- Zhang X., Zhang Y., Chen F. 1998. Kinetic models for phycocyanin production by high cell density mixotrophic culture of the microalga *Spirulina platensis*. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 21: 283-288.
- Ziegenhein T., Rzehak R., Krepper E., Lucas D. 2013. Numerical simulation of polydispersed flow in bubble columns with the inhomogeneous multi - size - group model. Chemie Ingenieur Technik 85: 1080-1091.
- Zwietering M. H., Dekoos J. T., Hasenack B. E., Dewit J. C., Vantriet K. 1993. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. Applied and Environmental Microbiology 57: 1094-1101.

## **Bildquellen**

- 1: [www.kuhner.com/de/produkte/schuettelmaschinen/inkubatoren/isf4-x.html](http://www.kuhner.com/de/produkte/schuettelmaschinen/inkubatoren/isf4-x.html), Zugriff 13.10.2014
- 2: [www.infors-ht.com/index.php/de/produkte/bioreaktoren/tischbioreaktoren/labfors-5-lux](http://www.infors-ht.com/index.php/de/produkte/bioreaktoren/tischbioreaktoren/labfors-5-lux), Zugriff 13.10.2014
- 3: [www.algenbioreaktor.de/wp-content/uploads/products/Photobioreaktor-xCUBIO-pbr-02.jpg](http://www.algenbioreaktor.de/wp-content/uploads/products/Photobioreaktor-xCUBIO-pbr-02.jpg), Zugriff 13.10.2014
- 4: [www.molsurf.de/spezialausruestungen/fotoreaktoren/](http://www.molsurf.de/spezialausruestungen/fotoreaktoren/), Zugriff 13.10.2014
- 5: [www.infors-ht.com/index.php/de/produkte/bioreaktoren/tischbioreaktoren/labfors-5-lux](http://www.infors-ht.com/index.php/de/produkte/bioreaktoren/tischbioreaktoren/labfors-5-lux), Zugriff 13.10.2014
- 6: <http://www.applikon-bio.com/photo-bioreactors=561>, Zugriff 13.10.2014
- 7: <http://www.hitec-zang.de/de/fermentationstechnik/parallel-fermenter-ramos.html>, Zugriff 14.10.2014



## Veröffentlichungen

Die Veröffentlichungen der Autorin sind im Text durch Unterstreichungen markiert.

Socher, M. L.; Löser, C.; Schott, C.; Bley, T.; Steingroewer, J. (2016). The challenge of scaling up photobioreactors – modeling and approaches in small scale. *Engineering in Life Sciences*, DOI: 10.1002/elsc.201500134. (Paper)

Socher, M. L.; Lenk, F.; Geipel, K.; Schott, C.; Püschel, J.; Haas, C.; Grasse, C.; Bley, T.; Steingroewer, J. (2014). Phototrophic growth of *Arthrospira platensis* in a respiration activity monitoring system for shake flasks (RAMOS). *Engineering in Life Sciences*, 14 (6), 659-666. (Paper)

Geipel, K.; Song, X.; Socher, M. L.; Kümmeritz, S.; Püschel, J.; Bley, T.; Ludwig-Müller, J.; Steingroewer, J. (2014). Induction of a photomixotrophic plant cell culture of *Helianthus annuus* and optimization of culture conditions for improved alpha-tocopherol production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98 (5), 2029-2040. (Paper)

Geipel, K.; Socher, M. L.; Haas, C.; Bley, T.; Steingroewer, J. (2013). Growth kinetics of a *Helianthus annuus* and a *Salvia fruticosa* suspension cell line: Shake flask cultivations with online monitoring system. *Engineering in Life Sciences*, 13:593-602. (Paper)

Winkler, K.; Socher, M. L.; Flickinger, M. C. (2014). Shake Flask Technology. In: *Encyclopedia of Industrial Biotechnology*. John Wiley & Sons, Inc., DOI: 10.1002/9780470054581.eib651. (Buchkapitel)

Socher, M. L.; Schott, C.; Löser, C.; Bley, T.; & Steingroewer, J. (2014). Untersuchung von Wachstum und Produktbildung unter verschiedenen Lichtbedingungen in einem Flachbett-Photobioreaktor. *Chemie Ingenieur Technik*, 86 (9), 1539-1539. (Beitrag Special Issue: ProcessNet-Jahrestagung und 31. DECHEMA-Jahrestagung der Biotechnologen)

Socher, M. L.; Krujatz, F.; Bley, T.; Weber, J.; Steingroewer, J.; Löser, C. (2015) The challenge of scaling up photobioreactors – approaches in a small scale for microalgae, DECHEMA Vortrags- und Diskussionstagung: Scale-up and scale-down of bioprocesses, Hamburg-Bergedorf, Deutschland. (Vortrag)

Socher, M. L.; Schott, C.; Löser, C.; Bley, T.; Steingroewer, J. (2014). Growth and active component production of phototrophic organisms under different light regimes in an innovative flat panel photobioreactor. *ProcessNet-Jahrestagung und 31. DECHEMA-Jahrestagung der Biotechnologen*, Aachen, Deutschland. (Poster)

Socher, M. L.; Schott, C.; Löser, C.; Bley, T.; Steingroewer, J. (2014). Untersuchung von *Arthrospira platensis* in einem innovativen Flachbett-Photobioreaktor zum Einfluss verschiedener Lichtregime. *Bundesalgenstammtisch*, Köthen, Deutschland. (Poster)

Socher, M. L.; Geipel, K.; Schott, C.; Lenk, F.; Krujatz, F.; Stange, R.; Weber, J.; Bley, T.; Steingroewer, J. (2014). Cultivation systems and phototrophic organisms for products made by economic-relevant biotechnological processes. *Saxon Biotechnology Symposium*, Dresden, Deutschland. (Poster)

Socher, M. L.; Schott, C.; Löser, C.; Bley, T.; Steingroewer, J. (2013). Study on growth and phycocyanin content of cyanobacteria *Arthrospira* under different light regimes in an innovative set up of photobioreactor. *Algae Biomass summit*, Orlando, Florida, USA. (Poster)

Socher, M. L.; Schott, C.; Löser, C.; Bley, T.; Steingroewer, J. (2013). Untersuchungen zum Wachstum und Phycocyaningehalt des Cyanobakteriums *Arthrospira platensis* unter verschiedenen Lichtregimen. *GVC/DecHEMA Diskussionstagung*, Bad Wildungen, Deutschland. (Poster)

Socher, M. L.; Grasse, C.; Bley, T.; Steingroewer, J. (2012). Cryopreservation with non-toxic cryoprotective agents of the cyanobacterial species *Arthrospira* (Spirulina), DECHEMA Vortrags- und Diskussionstagung: Biopharmazeutische Produktion, Freiburg, Deutschland. (Poster)



## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Prof. Dr. Thomas Bley, Dr. Christian Löser, Dr. Juliane Steingroewer

Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik, TU Dresden

Prof. Dr. Jörg-Uwe Ackermann

Fachbereich Chemieingenieurwesen, HTW Dresden.

Weitere Personen waren an der geistigen Herstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe eines kommerziellen Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir keine geldwerten Leistungen für Arbeiten erhalten, die in Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und ist auch noch nicht veröffentlicht worden.

Die Promotionsordnung der Fakultät Maschinenwesen der TU Dresden wird anerkannt.

Maria Lisa Socher



## Thesen

1. Die phototrophe Kultivierung bietet viele Möglichkeiten zur biobasierten Synthese von Wertstoffen, kommerziell verfügbare Kultivierungssysteme sind jedoch weder für eine effiziente Produktion noch für reaktionskinetische Untersuchungen geeignet.
2. Bisherige Untersuchungen zur Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsrate  $\mu$  von der Lichtintensität  $I$  wurden meist unter ungünstigen und zudem wenig vergleichbaren Versuchsbedingungen durchgeführt. Die Kenntnisse zur Reaktionskinetik des phototrophen Wachstums, insbesondere zur  $\mu(I)$ -Abhängigkeit, sind daher sehr begrenzt.
3. Für wachstumskinetische Untersuchungen bedarf es besonderer Photobioreaktoren, in denen unter definierten Bedingungen kultiviert werden kann, wobei die homogene Lichtintensität im Reaktionsraum besonders wichtig ist.
4. Untersuchungen an zwei kommerziellen Kultursystemen zeigten, dass sich weder der Schüttelinkubator noch die Blasensäule (beide Systeme mit externer Beleuchtung mit Leuchtstoffröhren) für reaktionskinetische Untersuchungen eignen.
5. Es wurde die LED-basierte Beleuchtungseinheit CultiLux entwickelt, mit der sich Schüttelkolben über den Kolbenboden mit variabler Lichtintensität im Bereich von bis zu  $1300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  beleuchten lassen.
6. Die CultiLux-Beleuchtungseinheit wurde mit dem Respiration Activity Monitoring System (RAMOS, Hi Tec Zang GmbH) kombiniert. Versuche mit dem phototrophen Cyanobakterium *Arthrospira platensis* zeigten, dass die vom RAMOS detektierte photosynthetische Sauerstoffbildung zur Untersuchung des lichtabhängigen Wachstums nutzbar ist.
7. Die zur Messung der Sauerstoffbildung im RAMOS notwendige hohe Biomassekonzentration und die Heterogenität der LED bewirken einen räumlich-zeitlichen Lichtgradienten und schränken damit die Aussagekraft der Experimente stark ein.
8. Flat-Panel-Photobioreaktoren bieten für reaktionskinetische Untersuchungen definierte Lichtbedingungen, sind kommerziell jedoch noch nicht im Miniaturmaßstab erhältlich, weshalb eine Eigenentwicklung notwendig war.
9. Die CFD-gestützte Konstruktion des Flat-Panel-Photobioreaktors war sehr vorteilhaft.
10. Im entwickelten Flat-Panel-Photobioreaktor können durch die Verwendung von zwei verschiedenen Lichtquellen (LED und OLED) reaktionskinetische Untersuchungen im Bereich der Lichtintensität von bis zu  $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  durchgeführt werden.



**Anhang**  
**Entwicklung eines definiert beleuchteten Photobioreaktorsystems**  
**zur Untersuchung des Einflusses des Lichts auf das Wachstum**  
**phototropher Organismen am Beispiel des Cyanobakteriums**  
*Arthrospira platensis*

---

Von der Fakultät Maschinenwesen

der

Technischen Universität Dresden

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktoringenieur (Dr.-Ing.)

angenommene Dissertation

---

Master of Science Maria Lisa Socher  
geboren am 28.01.1985 in Dresden

Tag der Einreichung: 03.11.2015

Tag der Verteidigung: 29.02.2016

Gutachter:

Prof. Thomas Bley (Technische Universität Dresden)

Prof. Jörg-Uwe Ackermann (Hochschule für Technik und Wirtschaft Dresden)

Vorsitzender der Promotionskommission:

Prof. Harald Rohm (Technische Universität Dresden)



## Inhaltsverzeichnis

1	Grundlagen _____	2
1.1	Modellsystem Cyanobakterium <i>Arthrospira platensis</i> _____	2
2	Material und Methoden _____	4
2.1	Zarrouk-Medium _____	4
2.2	Komponenten der Blasensäule _____	5
2.3	Korrelation optische Dichte zur Biotrockenmassekonzentration und Bestimmung Extinktionskoeffizient der Zellsuspension _____	5
2.4	Berechnungen _____	8
3	Ergebnisse und Diskussion _____	9
3.1	Klassisches System Schüttelkolben _____	9
3.2	Klassisches System Blasensäule _____	10
3.3	RAMOS-CultiLux _____	11
3.4	Flat-Panel-Bioreaktor _____	26

# 1 Grundlagen

## 1.1 Modellorganismus Cyanobakterium *Arthrospira platensis*

### Inhaltsstoffe und Gehalte

Die chemische Zusammensetzung von *Arthrospira* variiert je nach untersuchter Gattung, Kultivierungs- bzw. Umgebungsbedingung/Isolationsort und Bestimmungsmethoden, es können deshalb nur Bereiche der Gehalte bezogen auf die Biotrockenmasse angegeben werden.

**Tabelle 1: Chemische Zusammensetzung von *Arthrospira***

Gehalte gemittelt nach (Belay 2008 ; Hoseini 2013 ; Vonshak 1997 )

Hauptstoffgruppe	Besondere Spezifikationen	Gehalt <sup>1</sup> [%]	Bemerkungen
Protein		50 - 70	beinhaltet alle essentiellen Aminosäuren (insbesondere Leucin, Isoleucin, Valin)
	Phycocyanin	Bis zu 25	Unter optimalen Bedingungen größte Proteinfraktion
Kohlenhydrate		15 - 25	Hauptsächlich verzweigte, anionische und sulfatierte Polysaccharide
Lipide		6 - 13	Inklusive nicht verseifbarer Fraktion (Chlorophyll a, Carotinoiden, Sterolen, Alkanen, Terpenen)
	gesättigte Fettsäuren	3,6 - 7,8	
	ungesättigte Fettsäuren (meist Omega-6-Fettsäuren u.a. Ölsäure, Linolensäure)	0,15 - 0,2	davon bis zu 50 % Gammalinolensäure
	Cholesterin	0,0001	
Nukleinsäuren		4,2 - 6	
Mineralien		2,2 - 4,8	K, Ca, Cr, Cu, Fe, Mg, P, S, Se, Na, Zn
	Fe	0,058 - 0,18	
	Ca	0,13 - 1,4	
	P	0,67 - 0,9	
	K	0,64 - 1,5	

<sup>1</sup> Der Gehalt bezieht sich auf die Gesamtbiotrockenmasse.

Die Anwendung bestimmter isolierter Metabolite aus *A. platensis* als ernährungsphysiologische, kosmetische und/oder medizinische Wirkstoffe ist in naher Zukunft denkbar. Nachfolgend findet sich eine Tabelle über die in der Literatur referierten nützlichen Inhaltsstoffe in *A. platensis*.

Inhaltsstoffe und Verwendung**Tabelle 2: Wichtige Inhaltsstoffe von *Arthrospira platensis***

Zusammenfassung der Metabolite, deren Stoffgruppe, positiven Eigenschaften und Anwendungen nach Ciferri 1983; Cohen 1999 ; Eriksen 2008a ; Hoseini 2013

Metabolit	Stoffgruppe	Positive Eigenschaft	Anwendung
Allophycocyanin APC	Protein	Wasserlöslich, türkis blau, fluoreszierend	Lebensmittelfarbstoff, Fluoreszenzmarker
Phycocyanin PC	Protein	Wasserlöslich, blau, fluoreszierend, entzündungshemmend	Lebensmittelfarbstoff, Fluoreszenzmarker, pharmazeutischer Wirkstoff
Carotinoide	Tetraterpen	Lipidlöslich, Provitamin A, Antioxidativ wirksam	roter Lebensmittelfarbstoff E 160a, Antioxidant
Chlorophyll a Chl a	Zyklisches Tetrapyrrol/ Pheophytin im Chelatkomplex mit Mg <sup>2+</sup>	Löslich in organischen Lösungsmitteln, fluoreszierend, geruchsneutralisierend	Grüner Lebensmittelfarbstoff E 140, Fluoreszenzmarker, Geruchsneutralisierer
Exopolysaccharide EPS	Anionische Polysaccharide (bestehend aus u.a. Rhamnose, Galactose, Glucose)	Antiviral (Verhinderung Anheftung behüllter Viren wie Humanes Papillom-Virus), Feuchtigkeitsbindend	Pharmazeutischer Wirkstoff, Feuchthaltemittel
Calcium-Spirulan	Intrazelluläres sulfatiertes Polysaccharid	Antiviral	Pharmazeutischer Wirkstoff
Gamma-linolensäure GLA	Dreifach ungesättigte Fettsäure, Omega-6-Fettsäure	Hormonprecursor, positiv bei Psoriasis (Schuppenflechte)	Nahrungsergänzung, Pharmazeutischer Wirkstoff
Vitamin B <sub>12</sub>	Cobalamin	Cofaktor im Aminosäurestoffwechsel, positiv bei Psoriasis (Schuppenflechte)	Nahrungsergänzung, Pharmazeutischer Wirkstoff
Spurenelemente	Metallionen	Cofaktoren im Stoffwechsel	Nahrungsergänzung

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Zarrouk-Medium

In allen Versuchen wurde das für *Arthrospira*-Stämme empfohlene Zarrouk-Medium mit den angegebenen Konzentrationen an Makro (Tabelle 3) und Mikroelementen (Tabelle 4) verwendet.

#### Spurenelemente

**Tabelle 3: Konzentrationen der Spurenelemente in verwendetem Zarrouk-Medium**

Stoff	Konzentration Stammlösung [g 100 mL <sup>-1</sup> ]	Davon in Spurenelemente-lösung [mL L <sup>-1</sup> ]	Endkonzentration im Medium [µg L <sup>-1</sup> ]
ZnSO <sub>4</sub> * 7 H <sub>2</sub> O	0,1	1	5
MnSO <sub>4</sub> * 4 H <sub>2</sub> O	0,1	2	10
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0,2	5	50
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> * 6 H <sub>2</sub> O	0,02	5	5
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> * 2 H <sub>2</sub> O	0,02	5	5
CuSO <sub>4</sub>	0,0005	1	0,025
FeSO <sub>4</sub> * 7 H <sub>2</sub> O		0,7 g	

#### Makroelemente

**Tabelle 4: Konzentrationen der Makroelemente in verwendetem Zarrouk-Medium**

Stoff	Konzentration [g L <sup>-1</sup> ]
NaNO <sub>3</sub>	2,5
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0
NaCl	1,0
MgSO <sub>4</sub> * 7 H <sub>2</sub> O	0,2
CaCl <sub>2</sub> * 2 H <sub>2</sub> O	0,04
NaHCO <sub>3</sub>	13,61
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	4,03
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5

#### Herstellung

Das Medium wurde hergestellt, indem alle Makroelemente separat eingewogen und in entionisiertem Wasser gelöst wurden. In einem Maßkolben wurde entionisiertes Wasser vorgelegt, die im Vorfeld präparierte Spurenelementelösung (5 mL L<sup>-1</sup>) und darauffolgend die gelösten Salze in der angegebenen Reihenfolge unter kräftigem Mischen zugegeben, um Präzipitationen zu vermeiden. Anschließend wurde bis zur Markierung mit entionisiertem Wasser aufgefüllt und der pH-Wert des Mediums bestimmt. Daraufhin wurde das Medium über eine Bottle-top-Filtrationseinheit (Nalgene<sup>TM</sup>, Rochester, USA) mit Celluloseacetat-

Filtermembranen (0,45 µm, Sartorius, Göttingen, Deutschland) steril filtriert. Im Falle der photomixotrophen Wachstumsversuche wurde das hergestellte Zarrouk-Medium mit einer sterilfiltrierte Glucose-Stammlösung für eine finale Konzentration von 1,5 g L<sup>-1</sup> an Glucose supplementiert.

## 2.2 Komponenten der Blasensäule

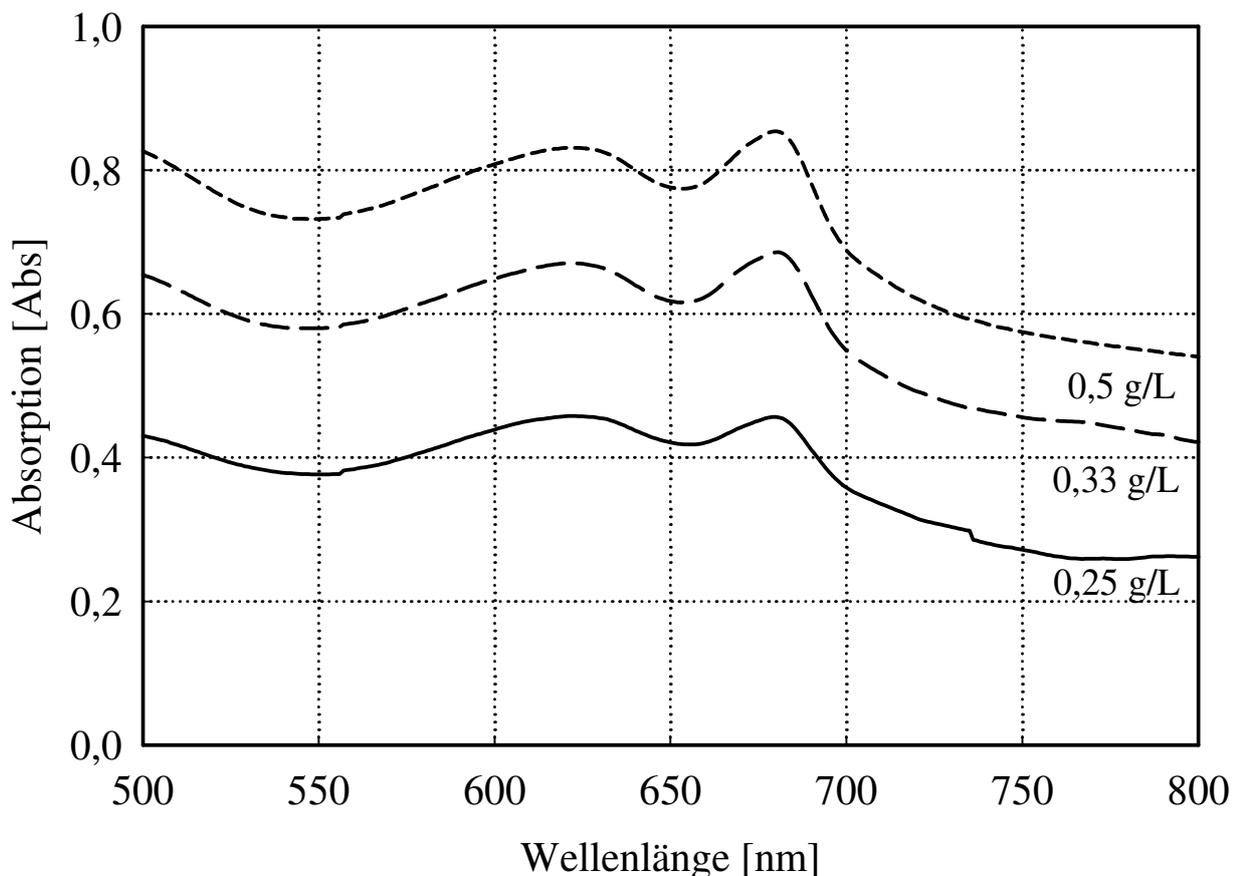
**Tabelle 5: Komponenten der Blasensäule**

Komponente/Bezeichnung	Funktion
Auswerteeinheit EBW64	Anschluss eines PC und Aufzeichnen der Messwerte
pH-Elektrode Z001032551	Messen des Medien-pH [0-14 pH]
pH-Regler dTRANS pH 02	Anzeige des pH-Wertes; Kalibrierfunktion der pH-Elektrode; pH-Regelung
Schlauchpumpen M303	Zudosierung pH-Korrekturmittel
O <sub>2</sub> -Elektrode InPro 6850i	Messung des gelösten Sauerstoff; Messung der Temperatur
O <sub>2</sub> -Messumformer M300	Anzeige des gelösten Sauerstoff; Anzeige Temperatur
Abluft-Gassensor BlueInOne 25	Messen der Abluft CO <sub>2</sub> -[0-25 Vol.%] und O <sub>2</sub> - [0-100 Vol.%]
PAR-Sensor MESA MS-PAR	Messung der photosynthetisch aktiven Strahlung [0...3000 mmol/m <sup>2</sup> *s]
Anzeigegerät GIA 20 EB	Anzeige der Messwerte Beleuchtungsstärke, CO <sub>2</sub> - und O <sub>2</sub> -Gehalt der Abluft
Mass Flow Controller MPC05	Messen des Zuluftstromes [0,1...5 L/min]
Digitale Schaltuhr SC 24	Programmierung von Beleuchtungszyklen
Strahler NARVA 077Lumoflor	Leuchtstofflampe mit ausgeprägtem roten und blauen Spektralbereich
Kreislaufkühler KK4TBE	Temperaturregelung Medium
Toshiba Laptop	Ausgabe und Anzeige Messdaten
EASYControl	Messwerterfassungs-Software EASYBus Sensormodule
Kühlaggregat für Abgaskühler	Kühlung Rückflusskühler
Sterilkupplungen	Sicherstellung der sterilen Befüllung

## 2.3 Korrelation optische Dichte zur Biotrockenmassekonzentration und Bestimmung Extinktionskoeffizient der Zellsuspension

Für eine schnelle Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration wurde die gegenüber einer gravimetrischen Biotrockenmassebestimmung eine schnelle UV/VIS-spektrometrische Messung der optischen Dichte (OD) herangezogen und eine Korrelation zur Biotrockenmassekonzentration wie folgt erstellt. Das Spektrum einer Zellsuspension von *Arthrospira platensis* PCC 9108 wurde in unterschiedlichen Verdünnungsstufen im UV/VIS-Spektrometer (Beckman DU 640, Beckman-Coulter, Brea, USA) im Wellenlängenbereich von 200 – 800 nm gemessen (siehe Abbildung 1). Anschließend wurden von selbigen verdünnten Suspensionen definierte Volumina über zuvor getrocknete und gewogene Filter (Cellulose-Filterpapier quantitativ 434, 2-3 µm Porengröße, VWR, Darmstadt, Deutschland) filtriert. Die

auf dem Filter verbliebenen Zellen wurden zweimal mit entionisiertem Wasser gewaschen, um anhängende Salze zu entfernen, und anschließend bei 103 °C im Trockenschrank getrocknet und ausgewogen. Daraus konnte die Biotrockenmassekonzentration gravimetrisch bestimmt werden. Die Absorptionswerte an den Maxima bei 620 nm (PC), 679 nm (Chl a) sowie im minimalen Bereich der Pigmentkonzentration bei 750 nm aus den Spektren wurden dann über der zugehörigen gravimetrisch ermittelten Biotrockenmassekonzentration aufgetragen (Abbildung 2) und eine lineare Regression vorgenommen (Tabelle 6).



**Abbildung 1: Spektrum von Zellsuspensionen verschiedener Biomassekonzentration**

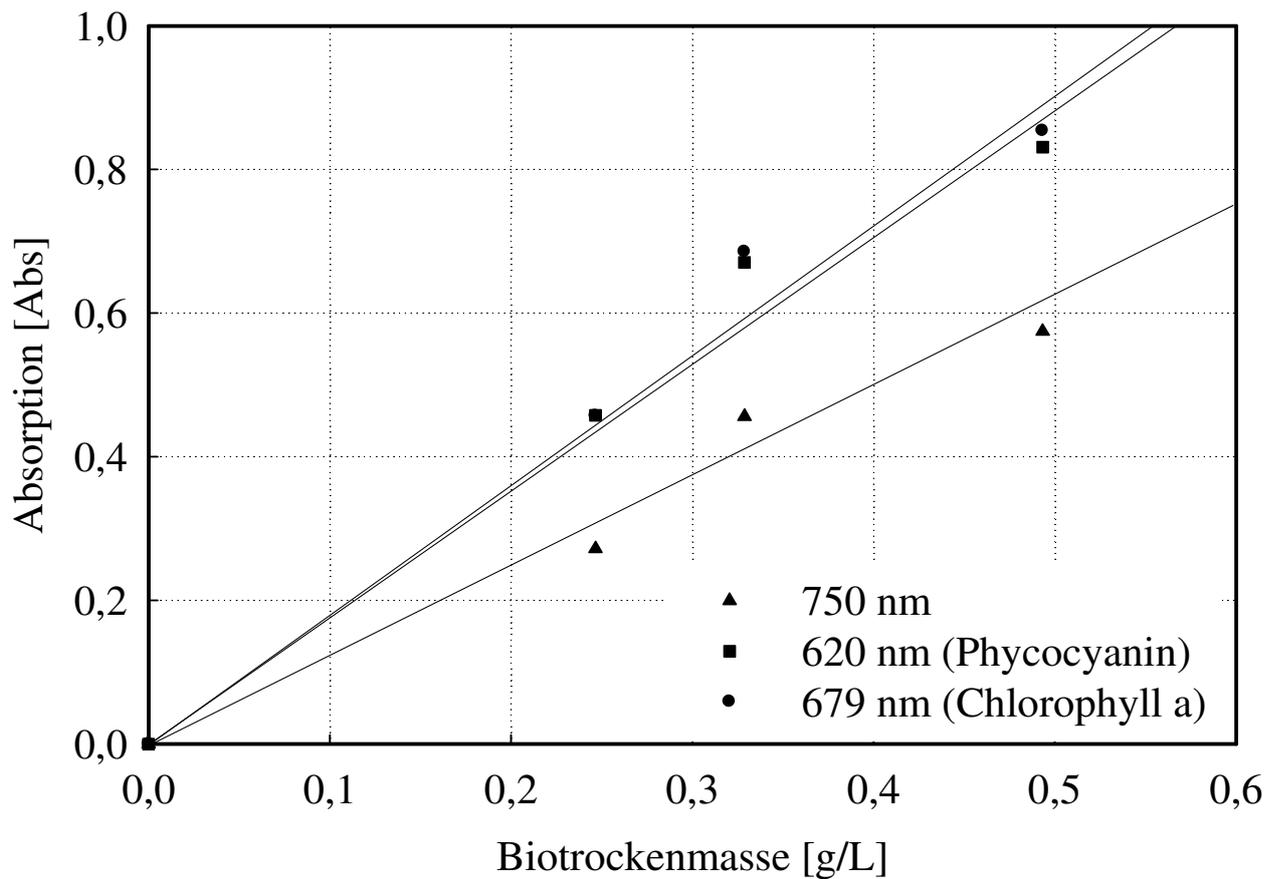
Absorptionsspektrum von Zellsuspensionen unterschiedlicher Biomassekonzentration von *A. platensis* PCC 9108 (Messung mit UV/VIS-Spektrometer Beckman DU 640, Beckman-Coulter, Brea, USA) im Wellenlängenbereich von 500 - 800 nm

Es zeigte sich, dass ab Wellenlänge von 750 nm die Korrelation am günstigsten war, da dort der Einfluss der absorbierenden Pigmente am geringsten ist, erkennbar an dem höheren Extinktionskoeffizienten. Zudem könnten im Bereich von 620 bis 680 nm durch den sich verändernden Phycocyanin- und Chlorophyll-a-gehalt fehlerhafte Absorptionen gemessen werden. Deswegen wurde die routinemäßige Messung der optischen Dichte zur Bestimmung der Biotrockenmassekonzentration bei einer Wellenlänge von 750 nm festgelegt. Die Extinktionskoeffizienten der Biomasse wurden über das Gesetz von Lambert-Beer berechnet.

**Tabelle 6: Lineare Regression der Absorption über der Biotrockenmassekonzentration**

Regressionskoeffizient  $R^2$  und Extinktionskoeffizient von *Arthrospira platensis* PCC 9108 bei verschiedenen Wellenlängen

Wellenlänge [nm]	Regression $y = [\text{Abs}], x = [\text{g L}^{-1}]$	$R^2$ [-]	Extinktions- koeffizient $\epsilon$ [ $\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ]
620	$y=1,80x$	0,86	1,8
679	$y=1,84x$	0,88	1,8
750	$y=1,21x$	0,90	1,2

**Abbildung 2: Darstellung der Absorption über der Biomassekonzentration**

Absorption von Zellsuspensionen von *Arthrospira platensis* PCC 9108 bei verschiedenen Biomassekonzentration bei verschiedenen Wellenlängen; Dreieck - 750 nm, Quadrat - 620 nm (Bereich maximaler Absorption des Phycocyanin), Kreis - 679 nm (Bereich maximaler Absorption des Chlorophyll a)

## 2.4 Berechnungen

### Herleitung $\mu$ -Berechnung aus OT

$$c_x(t) = c_x(t=0) + \frac{OT(t)}{\frac{Y_{O_2}}{c_x}}$$

$$c_x(t + \Delta t) = c_x(t) \cdot e^{\mu \cdot t}$$

Kombination und Umstellung ergibt:

$$\mu_{OTR} = \frac{1}{\Delta t} \cdot \ln \left( \frac{c_x(t=0) \cdot \frac{Y_{O_2}}{c_x} + OT(t + \Delta t)}{c_x(t=0) \cdot \frac{Y_{O_2}}{c_x} + OT(t)} \right)$$

**Glg. 1**

Formeln mit: Biomassekonzentration  $c_x$  in  $g_x L^{-1}$ , Zeit  $t$  in h, Sauerstofftransfer OT in  $g_{O_2} L^{-1}$ , Produktbildungskoeffizient.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Klassisches System Schüttelkolben

#### Messwerte

**Tabelle 7: Rohdaten Schüttelkolbenkultivierung**

(Biotrockenmasse BTM, Standardabweichung der Biotrockenmasse StabW BTM, pH-Wert, spezifische Wachstumsgeschwindigkeit  $\mu$  und Produktivität von *A. platensis* PCC 9108 über die Kultivierungszeit im Schüttelkolben, Inkubator Minitron, Infors, Bottmingen, Schweiz, 30 °C, Beleuchtung mit Leuchtstoffröhren im Hell-/Dunkel-Rhythmus von 16 h / 8 h mit einer auf dem Schütteltablett resultierenden mittleren Lichtintensität von ca. 21  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )

Zeit h	BTM g/L	StabW BTM g/L	pH -	$\mu$ $\text{d}^{-1}$	Produktivität $\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$
0	0,13	0,01	9,17	-	-
45	0,22	0,01	9,65	0,272	4,8
118	0,45	0,02	9,87	0,230	3,8
141,67	0,47	0,03	10,05	0,046	3,3
165,67	0,55	0,02	10,09	0,162	3,3
286,67	0,80	0,03	10,14	0,073	2,8
310,67	0,92	0,03	10,05	0,142	3,0
334,67	0,95	0,05	10,13	0,027	2,8

#### Modellierung

##### Quelltext Madonna:

```

STARTTIME =0
STOPTIME=335
DT = 0.001, DTOUT = 0.01
I0=#I(time)          {[μmol m-2 s-1]}
deltax=1             {[cm]}
umax=2               {[d-1], max. Wachstumsrate}
et=1.8               {[L/g/cm]}
KSI= 70              {[μmol m-2 s-1]}
KKI= 10              {[μmol m-2 s-1]}
x0=0.13              {[g/L]}
init x=x0
k=KSI-2*KKI
xmax= IF x<= logn(i0/kki)/(et*deltax)
THEN deltax
ELSE logn(I0/kki)/(et*x)
u=umax*((ksi-kki)/k/et/x/deltax*logn((I0+k)/(I0*exp(-et*x*xmax)+k))-kki/k*xmax/deltax)
limit u >= 0
d/dt(x)=u/24*x

```

## 3.2 Klassisches System Blasensäule

### Messwerte

**Tabelle 8: Rohdaten Blasensäulen Kultivierung**

Biotrockenmasse BTM, Standardabweichung der Biotrockenmasse StabW BTM, pH, spezifische Wachstumsrate  $\mu$  und Produktivität *A. platensis* PCC 9108 über die Kultivierungszeit im Blasensäulen-Photobioreaktor (MS Photo 15, Umex GmbH, Dresden, Deutschland), 30 °C, Beleuchtung kontinuierlich mit Leuchtstoffröhren mittlerer Lichtintensität von ca. 150  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (gemessen mittels integriertem Lichtsensor)

Zeit h	BTM g/L	StabW BTM g/L	pH -	$\mu$ $\text{d}^{-1}$	Produktivität $\text{mg L}^{-1} \text{h}^{-1}$
0	0,05	0,00	8,87	-	-
23,5	0,13	0,01	9,42	0,84	3,2
52,25	0,57	0,01	9,84	1,06	15,4
78,25	1,04	0,05	10,36	0,54	18,2
99,25	1,19	0,12	10,39	0,15	6,9
124	1,36	0,08	10,34	0,13	7,0
170,75	1,64	0,11	10,21	0,09	5,9
195,75	1,80	0,04	10,14	0,09	6,5
273	2,17	0,04	10,08	0,06	4,8
289,75	2,16	0,08	10,07	0,00	-0,4
313,5	2,40	0,07	10,05	0,10	9,9
337	2,56	0,03	10,03	0,07	6,8
362,25	2,62	0,04	10,03	0,02	2,3
386,25	2,70	0,07	10,02	0,03	3,6
436	3,27	0,06	10,00	0,09	11,4
456,75	3,25	0,05	9,99	-0,01	-1,3
481,75	3,46	0,06	9,99	0,06	8,7

### Modellierung

#### Quelltext Madonna:

```

STARTTIME=0
STOPTIME=483
DT=0.001, DTOUT = 0.1
I0=150          {[ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]}
deltax=6.5      {[cm]}
umax=2         {[d-1], max. Wachstumsrate}
et=1.8         {[L/g/cm]}
KSI= 70        {[ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]}
KKI= 10        {[ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ]}
x0=0.05        {[g/L]}
init x=x0
k=KSI-2*KKI
xmax= IF x<=logn(i0/kki)/(et*deltax)
THEN deltax
ELSE logn(I0/kki)/(et*x)
u=umax*((ksi-kki)/k/et/x/deltax*logn((I0+k)/(I0*exp(-et*x*xmax)+k))-kki/k*xmax/deltax)
limit u >= 0
d/dt(x)=u/24*x

```

### 3.3 RAMOS-CultiLux

Messwerte Kultivierung mit kontinuierlicher Beleuchtung

**Tabelle 9: Rohdaten Kultivierung im RAMOS mit CultiLux**

Licht-intensität	75	140	260	320	440	550	635	720	960	1300	2000
Zeit h	OTR mmol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>										
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,4972	1,30E-03	-0,213	-1,665	-0,867	-0,877	-0,6505	-0,9415	-1,0215	-1,32	-1,685	-1,152
0,9972	-0,0364	-0,1227	-0,468	0,0015	-0,608	-0,441	-0,09575	-0,4531	-0,1845	-0,9965	-0,0588
1,4972	0,0427	-0,0413	-0,5285	-0,0378	-0,379	-0,3205	-0,0167	-0,9825	-0,05275	-0,9225	-0,1935
1,9972	-2,40E-03	-0,1149	-0,5185	-0,081	-0,421	-0,371	-0,04675	-0,8855	-0,12195	-0,729	-0,0691
2,4972	-0,0498	-0,0927	-0,493	-0,144	-0,354	-0,3065	-0,104	-0,822	-0,09415	-0,8505	-0,104
2,9972	-0,0474	-0,1695	-0,4635	-0,197	-0,32	-0,2635	-0,2205	-0,7435	-0,201	-0,835	-0,12045
3,4972	-0,135	-0,1435	-0,548	-0,24	-0,4	-0,284	-0,2385	-0,808	-0,20035	-0,892	-0,3195
3,9972	-0,1264	-0,1535	-0,5195	-0,277	-0,439	-0,5225	-0,24	-0,8505	-0,406	-0,791	-0,373
4,4972	-0,1305	-0,1369	-0,563	-0,3285	-0,429	-0,5125	-0,323	-0,8535	-0,38	-0,816	-0,2985
4,9972	-0,162	-0,2075	-0,511	-0,353	-0,518	-0,5715	-0,3725	-0,868	-0,469	-0,7645	-0,2735
5,4972	-0,1095	-0,186	-0,57	-0,3805	-0,44	-0,398	-0,3615	-0,874	-0,563	-1,0195	-0,2425
5,9972	-0,0726	-0,179	-0,5855	-0,4105	-0,437	-0,298	-0,43	-0,897	-0,493	-1,0545	-0,3165
6,4972	-0,0656	-0,1815	-0,622	-0,366	-0,391	-0,32	-0,3885	-0,9805	-0,502	-1,016	-0,164
6,9972	-0,1305	-0,2085	-0,66	-0,453	-0,445	-0,4835	-0,445	-0,9955	-0,4265	-1,17	-0,3425
7,4972	-0,1805	-0,2175	-0,5995	-0,448	-0,511	-0,564	-0,4325	-0,983	-0,4775	-0,9885	-0,296
7,9972	-0,159	-0,189	-0,599	-0,4215	-0,481	-0,472	-0,4815	-0,976	-0,4195	-0,959	-0,286
8,4972	-0,276	-0,264	-0,6195	-0,511	-0,542	-0,5405	-0,5435	-1,0185	-0,64	-1,03	-0,347
8,9972	-0,2355	-0,214	-0,6875	-0,4785	-0,518	-0,5905	-0,54	-1,075	-0,663	-1,16	-0,4365
9,4972	-0,0808	-0,2045	-0,649	-0,5495	-0,486	-0,4265	-0,5375	-1,055	-0,64	-1,09	-0,3335
9,9972	-0,0894	-0,1855	-0,7005	-0,507	-0,534	-0,4355	-0,541	-1,04	-0,525	-1,063	-0,3585
10,4972	-0,1525	-0,2465	-0,6895	-0,536	-0,428	-0,514	-0,555	-1,105	-0,6355	-1,245	-0,467
10,9972	-0,1232	-0,193	-0,6645	-0,504	-0,447	-0,3955	-0,517	-1,085	-0,5905	-1,06	-0,446
11,4972	-0,1815	-0,261	-0,6935	-0,5175	-0,447	-0,453	-0,562	-1,14	-0,5445	-1,2	-0,365
11,9972	-0,132	-0,1915	-0,8	-0,537	-0,506	-0,4745	-0,598	-1,27	-0,55	-1,315	-0,337
12,4972	-0,2115	-0,277	-0,7005	-0,601	-0,512	-0,5345	-0,6215	-1,195	-0,7515	-1,175	-0,447
12,9972	-0,234	-0,269	-0,6725	-0,642	-0,616	-0,634	-0,611	-1,24	-0,742	-1,335	-0,54
13,4972	-0,168	-0,256	-0,73	-0,526	-0,462	-0,4565	-0,6605	-1,275	-0,6345	-1,23	-0,3605
13,9972	-0,1925	-0,213	-0,7525	-0,6	-0,534	-0,5495	-0,7295	-1,29	-0,748	-1,4	-0,5675
14,4972	-0,163	-0,246	-0,8055	-0,538	-0,556	-0,4975	-0,631	-1,335	-0,637	-1,545	-0,392
14,9972	-0,1011	-0,189	-0,7695	-0,5935	-0,433	-0,469	-0,65	-1,355	-0,6915	-1,52	-0,602
15,4972	-0,1885	-0,2585	-0,7755	-0,6475	-0,496	-0,5545	-0,7205	-1,39	-0,8265	-1,565	-0,6265
15,9972	-0,245	-0,273	-0,7945	-0,6825	-0,597	-0,603	-0,7205	-1,33	-0,736	-1,695	-0,592
16,4972	-0,1605	-0,291	-0,724	-0,615	-0,559	-0,5025	-0,7385	-1,395	-0,9555	-1,54	-0,4935
16,9972	-0,11	-0,2095	-0,732	-0,7075	-0,475	-0,4655	-0,748	-1,445	-0,892	-1,64	-0,6255

Lichtintensität	75	140	260	320	440	550	635	720	960	1300	2000
Zeit h	OTR mmol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>										
17,4972	-0,2325	-0,253	-0,8035	-0,6225	-0,667	-0,553	-0,747	-1,4	-0,8455	-1,745	-0,55
17,9972	-0,183	-0,301	-0,8425	-0,659	-0,576	-0,539	-0,799	-1,285	-0,832	-0,995	-0,69
18,4972	-0,1301	-0,275	-0,8605	-0,7185	-0,578	-0,5895	-0,7875	-1,545	-0,8325	-1,86	-0,713
18,9972	-0,245	-0,335	-0,8535	-0,7735	-0,53	-0,638	-0,788	-1,615	-1,04	-1,975	-0,823
19,4972	-0,229	-0,415	-0,9375	-0,7445	-0,641	-0,703	-0,8435	-1,66	-0,9805	-2,07	-0,8865
19,9972	-0,258	-0,289	-0,903	-0,7855	-0,68	-0,701	-0,8975	-1,52	-1,2	-1,98	-0,7915
20,4972	-0,19	-0,3135	-0,9345	-0,8035	-0,643	-0,64	-0,843	-1,645	-1,17	-2,045	-0,965
20,9972	-0,178	-0,301	-0,976	-0,773	-0,68	-0,668	-0,826	-1,72	-1,105	-2,11	-0,9415
21,4972	-0,1485	-0,2195	-0,976	-0,7115	-0,55	-0,5815	-0,8605	-1,77	-1,07	-2,23	-0,786
21,9972	-0,0362	-0,2125	-0,9835	-0,7975	-0,49	-0,4405	-0,906	-1,745	-1,1	-2,275	-0,9475
22,4972	-0,159	-0,276	-0,976	-0,7725	-0,631	-0,69	-0,931	-1,82	-1,18	-2,35	-1,05
22,9972	-0,2575	0,0335	-1,0145	-0,814	0,0231	-0,374	-0,9795	-1,875	-1,285	-2,47	-1,07
23,4972	-0,2785	-0,4115	-1,08	-0,8615	-0,754	-0,892	-0,9825	-1,93	-1,245	-2,6	-1,07
23,9972	-0,1875	-0,2465	-1,0355	-0,8305	-0,706	-0,7895	-0,9955	-1,955	-1,315	-2,635	-1,11
24,4972	-0,2125	-0,306	-1,075	-0,776	-0,952	-0,786	-0,977	-1,985	-1,385	-2,71	-0,954
24,9972	-0,2795	-0,306	-1,065	-0,7955	-0,698	-0,7815	-0,991	-2,035	-1,255	-2,86	-1,08
25,4972	-0,2215	-0,35	-1,065	-0,8295	-0,757	-0,81	-0,988	-2,09	-1,37	-2,925	-1,17
25,9972	-0,241	-0,331	-1,065	-0,833	-0,759	-0,767	-1,02	-2,12	-1,295	-2,885	-1,245
26,4972	-0,2555	-0,331	-1,15	-0,9485	-0,794	-0,8695	-1,079	-2,245	-1,465	-3,065	-1,365
26,9972	-0,261	-0,3395	-1,22	-0,896	-0,775	-0,9195	-1,0725	-2,235	-1,38	-3,15	-1,27
27,4972	-0,222	-0,4035	-1,175	-1,015	-0,787	-0,918	-1,11	-2,27	-1,575	-3,2	-1,52
27,9972	-0,219	-0,303	-1,14	-0,9755	-0,818	-0,988	-1,17	-2,27	-1,64	-3,245	-1,495
28,4972	-0,163	-0,362	-1,2	-0,97	-0,776	-0,812	-1,135	-2,34	-1,625	-3,35	-1,485
28,9972	-0,194	-0,3455	-1,055	-0,9275	-0,872	-0,8765	-1,16	-2,39	-1,625	-3,46	-1,43
29,4972	-0,1645	-0,345	-1,205	-0,956	-0,838	-0,859	-1,165	-2,46	-1,655	-3,565	-1,58
29,9972	-0,2115	-0,4195	-1,055	-1,0215	-0,749	-0,9435	-1,23	-2,395	-1,575	-3,435	-1,665
30,4972	-0,2165	-0,317	-1,175	-1,055	-0,831	-0,9575	-1,26	-2,505	-1,795	-3,66	-1,78
30,9972	-0,236	-0,373	-1,255	-1,0095	-0,995	-0,931	-1,25	-2,625	-1,74	-3,75	-1,775
31,4972	-0,167	-0,368	-1,305	-1,135	-0,922	-1,012	-1,325	-2,7	-2,015	-3,92	-2,095
31,9972	-0,2735	-0,401	-1,315	-1,05	-1,04	-1,18	-1,29	-2,76	-1,905	-3,82	-1,875
32,4972	-0,271	-0,3905	-1,355	-1,12	-0,87	-1,185	-1,35	-2,795	-1,955	-3,735	-1,975
32,9972	-0,181	-0,3285	-1,265	-1,15	-0,905	-1,06	-1,395	-2,86	-2,145	-3,83	-2,14
33,4972	-0,236	-0,366	-1,28	-1,15	-1,13	-1,23	-1,41	-2,86	-2,085	-3,72	-2,11
33,9972	-0,178	-0,3225	-1,375	-1,165	-1,04	-1,13	-1,425	-2,92	-2,215	-3,685	-2,345
34,4972	-0,172	-0,348	-1,365	-1,17	-1,1	-1,19	-1,5	-3,03	-2,13	-3,665	-2,25
34,9972	-0,279	-0,4025	-1,355	-1,245	-1,18	-1,3	-1,52	-2,98	-2,185	-3,65	-2,39
35,4972	-0,232	-0,367	-1,29	-1,27	-1,09	-1,175	-1,535	-3,035	-2,395	-3,605	-2,515
35,9972	-0,232	-0,4025	-1,375	-1,25	-1,18	-1,25	-1,615	-3,085	-2,435	-3,615	-2,585
36,4972	-0,236	-0,373	-1,375	-1,315	-1,14	-1,315	-1,68	-3,115	-2,565	-3,55	-2,795
36,9972	-0,2345	-0,4035	-1,39	-1,285	-1,27	-1,345	-1,76	-3,09	-2,56	-3,54	-2,82

Licht- intensität	75	140	260	320	440	550	635	720	960	1300	2000
Zeit h	OTR mmol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>										
37,4972	-0,228	-0,3675	-1,425	-1,355	-1,04	-1,445	-1,73	-3,165	-2,645	-3,365	-3
37,9972	-0,2805	-0,358	-1,5	-1,335	-1,3	-1,615	-1,82	-3,215	-2,61	-3,405	-3,025
38,4972	-0,1975	-0,3635	-1,51	-1,37	-1,22	-1,345	-1,855	-3,29	-2,69	-3,085	-3,185
38,9972	-0,1565	-0,342	-1,515	-1,385	-1,32	-1,385	-1,885	-3,215	-2,875	-2,895	-3,24
39,4972	-0,213	-0,347	-1,34	-1,375	-1,38	-1,55	-1,905	-2,765	-2,87	-2,345	-3,365
39,9972	-0,2105	-0,3785	-1,35	-1,425	-1,3	-1,57	-1,955	-2,735	-2,865	-1,85	-3,425
40,4972	-0,301	-0,4195	-1,2365	-1,395	-1,37	-1,49	-2,02	-2,755	-2,86	-1,255	-3,405
40,9972	-0,131	-0,3585	-1,18	-1,41	-1,3	-1,51	-2,03	-2,685	-2,97	-1,07	-3,41
41,4972	-0,2105	-0,391	-1,061	-1,505	-1,32	-1,5	-2,1	-2,52	-3,02	-0,893	-3,685
41,9972	-0,234	-0,348	-0,9275	-1,475	-1,51	-1,64	-2,11	-2,525	-2,935	-0,7215	-3,47
42,4972	-0,2535	-0,3945	-0,816	-1,5	-1,5	-1,755	-2,22	-2,4	-3,24	-0,64	-3,615
42,9972	-0,266	-0,41	-0,7785	-1,56	-1,52	-1,765	-2,165	-2,475	-3,15	-0,4745	-3,555
43,4972	-0,264	-0,38	-0,7125	-1,495	-1,52	-1,795	-2,225	-2,32	-3,14	-0,4925	-3,26
43,9972	-0,22	-0,4245	-0,655	-1,58	-1,56	-1,835	-2,29	-2,145	-3,2	-0,4335	-3,03
44,4972	-0,234	-0,393	-0,6595	-1,595	-1,5	-1,93	-2,325	-2,345	-3,145	-0,5925	-2,86
44,9972	-0,2615	-0,3715	-0,801	-1,645	-1,75	-1,985	-2,33	-2,25	-3,075	-0,551	-2,85
45,4972	-0,243	-0,343	-1,08	-1,625	-1,44	-1,81	-2,41	-3,17	-3,165	-0,6558	-2,895
45,9972	-0,2085	-0,3705	-0,956	-1,67	-1,68	-1,94	-2,49	-3,16	-3,175	-0,4795	-2,815
46,4972	-0,213	-0,4035	-0,9605	-1,72	-1,57	-2,015	-1,94	-3,13	0	-0,3685	-3,27
46,9972	-0,2375	-0,371	-0,929	-1,635	-1,64	-2,03	-2,4	-3,08	-3,01	-0,3745	-4,035
47,4972	-0,257	-0,452	-0,8575	-1,655	-1,74	-2,13	-2,37	-3,06	-2,88	-0,3355	-3,6
47,9972	-0,233	-0,4335	-0,8265	-1,675	-1,8	-2,115	-2,385	-2,98	-2,78	-0,293	-3,085
48,4972	-0,2145	-0,416	-0,783	-1,725	-1,71	-2,14	-2,38	-2,76	-2,815	-0,2295	-2,775
48,9972	-0,2485	-0,3825	-0,758	-1,745	-1,86	-2,19	-2,4	-2,575	-2,845	-0,1567	-2,42
49,4972	-0,205	-0,3905	-0,734	-1,765	-1,76	-2,135	-2,495	-2,46	-2,95	-0,1965	-1,985
49,9972	-0,227	-0,4255	-0,65	-1,715	-1,97	-2,26	-2,405	-2,175	-2,805	-0,151	-1,55
50,4972	-0,329	-0,431	-0,66	-1,72	-2,03	-2,28	-2,355	-1,995	-2,835	-0,1678	-1,387
50,9972	-0,2735	-0,3795	-0,6695	-1,675	-1,98	-2,345	-2,335	-1,79	-2,67	-0,164	-1,2185
51,4972	-0,2615	-0,3885	-0,6105	-1,71	-1,89	-2,295	-2,355	-1,54	-2,56	-0,0823	-0,9885
51,9972	-0,346	-0,4445	-0,5605	-1,735	-2,04	-2,5	-2,375	-1,275	-2,605	-0,0586	-0,9845
52,4972	-0,2285	-0,3935	-0,604	-1,685	-1,86	-2,345	-2,325	-1,069	-2,45	-0,135	-0,7885
52,9972	-0,293	-0,308	-0,3351	-1,7	-1,63	-2,19	-2,295	-0,91	-2,275	-0,065	-0,869
53,4972	-0,1915	-0,393	-0,2202	-1,71	-1,99	-2,39	-2,31	-0,771	-2,19	-0,18	-0,728
53,9972	-0,2395	-0,4065	-0,2555	-1,795	-1,99	-2,365	-2,305	-0,653	-2,12	-0,125	-0,786
54,4972	-0,296	-0,4535	-0,324	-1,725	-2,14	-2,645	-2,285	-0,5625	-1,86	-0,1285	-0,644
54,9972	-0,199	-0,3835	-0,2842	-1,675	-2,04	-2,435	-2,285	-0,4775	-1,62	-0,1295	-0,3554
55,4972	-0,2595	-0,45	-0,3435	-1,605	-2,26	-2,595	-2,21	-0,4255	-1,315	-0,1381	-0,409
55,9972	-0,316	-0,425	-0,2395	-1,59	-2,19	-2,7	-2,185	-0,362	-1,0695	-0,0289	-0,2817
56,4972	-0,2215	-0,4125	-0,2375	-1,595	-2,11	-2,48	-2,18	-0,324	-0,864	-0,0427	-0,3375
56,9972	-0,2765	-0,438	-0,3085	-1,655	-2,06	-2,55	-2,205	-0,3595	-0,9015	-0,185	-0,4205

Lichtintensität	75	140	260	320	440	550	635	720	960	1300	2000
Zeit h	OTR mmol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>										
57,4972	-0,2845	-0,4255	-0,2631	-1,66	-2,08	-2,605	-2,215	-0,275	-0,7535	-0,011	-0,376
57,9972	-0,2975	-0,444	-0,203	-1,555	-2,26	-2,72	-2,18	-0,208	-0,581	-0,0493	-0,2492
58,4972	-0,1855	-0,3915	-0,2769	-1,625	-2,03	-2,4	-2,19	-0,2505	-0,5055	-0,1018	-0,282
58,9972	-0,212	-0,4135	-0,2218	-1,59	-2,11	-2,485	-2,175	-0,207	-0,448	-0,0356	- 0,27685
59,4972	-0,196	-0,4095	-0,386	-1,505	-2,13	-2,49	-2,17	-0,204	-0,2955	-0,1205	-0,2635
59,9972	-0,2465	-0,3865	-0,3526	-1,535	-2,18	-2,555	-2,19	-0,1905	-0,214	-0,164	-0,2675
60,4972	-0,2015	-0,47	-0,391	-1,47	-2,21	-2,475	-2,095	-0,2265	-0,238	-0,1073	- 0,14925
60,9972	-0,2225	-0,462	-0,401	-1,44	-2,18	-2,55	-2,125	-0,1725	-0,1785	-0,1755	-0,2005
61,4972	-0,251	-0,4755	-0,393	-1,45	-2,18	-2,62	-2,075	-0,1265	-0,151	-0,056	- 0,16183
61,9972	-0,337	-0,4685	-0,3802	-1,535	-2,26	-2,56	-2,085	-0,235	-0,3635	-0,0805	-0,287
62,4972	-0,293	-0,525	-0,462	-1,415	-2,31	-2,545	-1,95	-0,136	-0,2655	-0,1526	-0,1467
62,9972	-0,293	-0,528	-0,44	-1,505	-2,21	-2,525	-1,86	-0,1361	-0,187	-0,072	-0,2525
63,4972	-0,2235	-0,5035	-0,3156	-1,355	-2,25	-2,575	-1,79	-0,1101	-0,2845	-0,1034	-0,1935
63,9972	-0,298	-0,4965	-0,4815	-1,325	-2,31	-2,55	-1,65	-0,0998	0,0325	-0,0838	- 0,09425
64,4972	-0,2255	-0,4785	-0,4515	-1,4	-2,17	-2,48	-1,51	-0,145	-0,154	-0,1275	-0,2535
64,9972	-0,2975	-0,49	-0,45	-1,395	-2,32	-2,52	-1,405	-0,193	-0,126	-0,1144	-0,241
65,4972	-0,2745	-0,5195	-0,48	-1,365	-2,2	-2,4	-1,295	-0,1535	-0,1013	-0,1765	-0,248
65,9972	-0,185	-0,4605	-0,4259	-1,365	-2,17	-2,255	-1,218	-0,135	-0,208	-0,1098	-0,2275
66,4972	-0,2355	-0,522	-0,5385	-1,355	-2,18	-2,125	-1,144	-0,1146	-0,2725	-0,1615	-0,277
66,9972	-0,27	-0,5005	-0,3802	-1,31	-2,19	-2,03	-1,028	-0,1034	-0,1985	-0,2655	-0,205
67,4972	-0,3075	-0,497	-0,3837	-1,285	-2,21	-1,96	-1,0045	-0,1305	-0,12285	-0,1565	- 0,18475
67,9972	-0,269	-0,526	-0,407	-1,305	-2,01	-1,52	-0,942	-0,145	-0,1555	-0,207	-0,2445
68,4972	-0,3065	-0,5905	-0,3523	-1,265	-2,33	-1,525	-0,915	-0,1345	-0,11115	-0,1845	-0,2195
68,9972	-0,2685	-0,5435	-0,43	-1,255	-2,19	-1,2625	-0,833	-0,0779	-0,165	-0,0833	- 0,16795
69,4972	-0,264	-0,5315	-0,9745	-1,305	-2,28	-1,034	-0,848	-4,94E-03	-2,68E-01	-0,0723	-0,2255
69,9972	-0,266	-0,539	-0,979	-1,21	-2,26	-1,0205	-0,8145	-0,0714	-0,2435	-0,219	- 0,12655
70,4972	-0,2705	-0,5795	-1,0515	-1,25	-2,27	-0,675	-0,7745	-0,1095	-0,225	-0,3445	- 0,08637
70,9972	-0,285	-0,5305	-1,0275	-1,235	-2,14	-0,6955	-0,713	-0,0746	-0,2435	-0,2515	-0,226
71,4972	-0,223	-0,531	-0,937	-1,205	-1,98	-0,5785	-0,663	-0,0176	-0,2125	-0,2645	-0,2635
71,9972	-0,275	-0,5345	-1,055	-1,195	-2,03	-0,5925	-0,7125	-0,0604	-0,2735	-0,3215	-0,347
72,4972	-0,2625	-0,5145	-1,084	-1,135	-1,97	-0,5575	-0,6725	-0,131	-0,1785	-0,3885	-0,2265
72,9972	-0,259	-0,57	-0,873	-1,255	-2,01	-0,5005	-0,7005	-1,25E-03	-3,05E-01	-0,1819	-0,245
73,4972	-0,317	-0,543	-0,9155	-1,125	-1,87	-0,4555	-0,581	6,82E-03	-1,62E-01	-0,13	-0,1965
73,9972	-0,218	-0,5425	-0,946	-1,16	-1,63	-0,319	-0,564	3,45E-03	-1,47E-01	-0,241	-0,2485
74,4972	-0,2275	-0,5515	-1,044	-1,14	-1,46	-0,319	-0,5565	7,37E-03	-2,10E-01	-0,2225	-0,28

Licht- intensität	75	140	260	320	440	550	635	720	960	1300	2000
Zeit h	OTR mmol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>										
76,4972	-0,2725	-0,582	-0,8315	-1,135	-0,821	-0,253	-0,4415	0,0534	-0,1075	-0,2825	-0,208
76,9972	-0,3125	-0,586	-0,981	-1,15	-0,755	-0,411	-0,448	0,0321	-0,257	-0,368	-0,3485
77,4972	-0,2355	-0,5965	-0,9645	-1,115	-0,582	-0,2245	-0,412	0,0179	-0,3005	-0,2665	-0,287
77,9972	-0,3185	-0,59	-0,913	-1,11	-0,61	-0,365	-0,403	0,000	0,000	-0,335	-0,244
78,4972	-0,2815	-0,597	-0,979	-1,165	-0,462	-0,337	-0,404	0,0256	-0,3055	-0,382	-0,3565
78,9972	-0,239	-0,545	-0,9925	-1,175	-0,498	-0,1875	-0,4105	80,000	0,000	-0,2275	-0,3075
79,4972	-0,3685	-0,578	-0,975	-1,15	-0,458	-0,302	-0,403	0,0907	-0,2385	-0,282	-0,2425
79,9972	-0,2	-0,5255	-1,0025	-1,11	-0,428	-0,2545	-0,3585	0,0415	-0,2195	-0,409	-0,2695
80,4972	-0,2615	-0,5785	-0,878	-1,13	-0,328	-0,2895	-0,332	-0,038	-0,1935	-0,375	-0,251
80,9972	-0,285	-0,5965	-0,9275	-1,04	-0,387	-0,2745	-0,328	0,0188	-0,283	-0,32	-0,197
81,4972	-0,267	-0,6075	-0,9915	-1,095	-0,374	-0,4005	-0,3225	0,0228	-0,3075	-0,3045	-0,213
81,9972	-0,291	-0,4925	-1,09	-1,07	-0,266	-0,259	-0,3055	0,000	0,000	-0,32	- 0,14415
82,4972	-0,2855	-0,6905	-1,141	-1,08	-0,401	-0,2755	-0,27	-0,0551	-0,317	-0,248	-0,2815
82,9972	-0,2505	-0,598	-1,094	-1,115	-0,313	-0,3245	-0,2765	-0,0143	-0,306	-0,362	-0,2385
83,4972	-0,2665	-0,648	-0,9885	-1,07	-0,282	-0,3085	-0,286	0,0176	-0,266	-0,1831	-0,1515
83,9972	-0,2535	-0,565	-1,0385	-1,015	-0,254	-0,3495	-0,2475	-0,0439	-0,2055	-0,32	- 0,13155
84,4972	-0,3305	-0,623	-1,093	-1,055	-0,444	-0,3785	-0,265	-0,0237	-0,155	-0,238	-0,274
84,9972	-0,271	-0,619	-1,135	-1,0045	-0,28	-0,2885	-0,2115	-0,0173	-0,1895	-0,2905	-0,175
85,4972	-0,3515	-0,628	-1,0215	-1,054	-0,501	-0,347	-0,2395	-0,0605	-0,331	-0,2595	-0,232
85,9972	-0,3245	-0,625	-0,94	-1,0465	-0,338	-0,3735	-0,2845	0,0482	-0,376	-0,1437	-0,247
86,4972	-0,3225	-0,6525	-1,074	-1,0235	-0,258	-0,3285	-0,2805	-0,0511	-0,2435	-0,2795	-0,213
86,9972	-0,277	-0,635	-1,03	-0,9795	-0,292	-0,347	-0,2165	-0,000	0,000	-0,3825	-0,1627
87,4972	-0,289	-0,6185	-1,055	-1,0085	-0,266	-0,291	-0,257	-0,0245	-0,288	-0,2875	-0,2725
87,9972	-0,3495	-0,6485	-0,7985	-0,9555	-0,403	-0,4005	-0,196	-0,0128	-0,19	-0,26	-0,1665
88,4972	-0,312	-0,6725	-0,9875	-0,9615	-0,297	-0,4465	-0,2095	-0,071	-0,173	-0,412	-0,252
88,9972	-0,293	-0,636		-0,9025	-0,193	-0,2855	-0,24		-0,292		-0,204
89,4972	-0,284	-0,6525		-0,966	-0,306	-0,2475	-0,2285		-0,3315		-0,212
89,9972	-0,3185	-0,6385		-0,9745	-0,215	-0,2565	-0,2145		-0,2955		-0,3015
90,4972	-0,325	-0,644		-0,8885	-0,379	-0,3795	-0,2015		-0,1669		-0,166
90,9972	-0,3645	-0,672		-0,874	-0,328	-0,3515	-0,17875		-0,1815		-0,2115
91,4972	-0,272	-0,681		-0,8465	-0,342	-0,2795	-0,16735		-0,26		-0,138
91,9972	-0,3435	-0,669		-0,896	-0,256	-0,24	-0,226		-0,3625		-0,307
92,4972	-0,3345	-0,7115		-0,8755	-0,235	-0,2845	-0,1845		-0,326		-0,2615
92,9972	-0,3665	-0,673		-0,85	-0,31	-0,2185	-0,16435		-0,333		-0,272
93,4972	-0,3575	-0,746		-0,8125	-0,37	-0,3615	-0,1509		-0,192		-0,167
93,9972	-0,335	-0,665		-0,842	-0,296	-0,3	-0,1487		-0,3545		-0,248
94,4972	-0,31	-0,679		-0,773	-0,304	-0,2035	-0,24		-0,3295		-0,1995
94,9972	-0,278	-0,6605		-0,7495	-0,279	-0,1611	-0,151		-0,3815		-0,151

## Messwerte Kultivierung mit Hell-Dunkel-Zyklen

Tabelle 10: Rohdaten Kultivierung im RAMOS mit CultiLux

Zeit h	OTR mmol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	OT mmol L <sup>-1</sup>	Zeit h	OTR mmol L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	OT mmol L <sup>-1</sup>
0,0000	0,0000	0,0000	80,0000	1,5700	-1,6400
0,5000	4,4700	2,2300	80,5000	-0,3310	-1,3300
1,0000	4,9800	4,6000	81,0000	-0,4920	-1,5300
1,5000	0,1480	5,8800	81,5000	-0,5590	-1,8000
2,0000	-0,8550	5,7000	82,0000	-0,5750	-2,0800
2,5000	-0,7040	5,3100	82,5000	0,5070	-2,1000
3,0000	-0,5380	5,0000	83,0000	-0,5330	-2,1000
3,5000	-0,6090	4,7100	83,5000	-0,5330	-2,3700
4,0000	-0,2910	4,4900	84,0000	-0,5060	-2,6300
4,5000	0,3360	4,5000	84,5000	-0,4050	-2,8600
5,0000	2,1500	5,1200	85,0000	-0,5020	-3,0900
5,5000	1,2500	5,9700	85,5000	-0,3960	-3,3100
6,0000	0,9080	6,5100	86,0000	-0,7240	-3,5900
6,5000	0,1740	6,7800	86,5000	-0,7000	-3,9500
7,0000	0,3480	6,9100	87,0000	-0,5450	-4,2600
7,5000	0,2330	7,0600	87,5000	-0,4730	-4,5100
8,0000	0,3500	7,2000	88,0000	0,2280	-4,5700
8,5000	0,6870	7,4600	88,5000	-6,7600e-4	-4,5200
9,0000	0,6400	7,7900	89,0000	0,1230	-4,4800
9,5000	0,5780	8,1000	89,5000	0,0191	-4,4500
10,0000	0,3270	8,3200	90,0000	0,1380	-4,4100
10,5000	0,3900	8,5000	90,5000	0,0591	-4,3600
11,0000	0,4470	8,7100	91,0000	0,0886	-4,3200
11,5000	0,7440	9,0100	91,5000	0,0470	-4,2900
12,0000	0,4570	9,3100	92,0000	0,1650	-4,2400
12,5000	0,3590	9,5200	92,5000	0,1320	-4,1600
13,0000	0,2230	9,6600	93,0000	0,1390	-4,1000
13,5000	0,6130	9,8700	93,5000	0,1270	-4,0300
14,0000	0,3620	10,1000	94,0000	0,0822	-3,9800
14,5000	0,2450	10,2000	94,5000	0,1270	-3,9200
15,0000	0,4940	10,4000	95,0000	0,1560	-3,8500
15,5000	0,1630	10,6000	95,5000	0,1690	-3,7700
16,0000	-0,0289	10,6000	96,0000	-4,1900	-4,7800
16,5000	0,0472	10,6000	96,5000	-1,7000	-6,2500
17,0000	0,2490	10,7000	97,0000	2,6900	-6,0000
17,5000	0,3060	10,8000	97,5000	0,0237	-5,3200
18,0000	0,3710	11,0000	98,0000	-0,8230	-5,5200
18,5000	0,3610	11,2000	98,5000	-0,5040	-5,8500
19,0000	0,3240	11,3000	99,0000	-0,5210	-6,1100

<b>Zeit h</b>	<b>OTR mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>OT mmol L<sup>-1</sup></b>	<b>Zeit h</b>	<b>OTR mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>OT mmol L<sup>-1</sup></b>
19,5000	0,2220	11,5000	99,5000	-0,6030	-6,3900
20,0000	-1,4700	11,2000	100,0000	-0,4610	-6,6600
20,5000	0,2320	10,9000	100,5000	-0,4750	-6,8900
21,0000	0,1930	11,0000	101,0000	-0,5030	-7,1400
21,5000	0,2690	11,1000	101,5000	-0,4700	-7,3800
22,0000	0,2430	11,2000	102,0000	-0,2350	-7,5600
22,5000	0,3270	11,3000	102,5000	-0,2520	-7,6800
23,0000	0,2880	11,5000	103,0000	-0,3720	-7,8300
23,5000	0,1790	11,6000	103,5000	-0,2990	-8,0000
24,0000	0,3100	11,7000	104,0000	-0,0624	-8,0900
24,5000	-0,2380	11,8000	104,5000	0,0110	-8,1000
25,0000	0,9520	11,9000	105,0000	-0,5110	-8,2300
25,5000	1,3100	12,5000	105,5000	-0,5660	-8,5000
26,0000	0,0678	12,9000	106,0000	-0,5740	-8,7800
26,5000	-0,2400	12,8000	106,5000	-0,6310	-9,0800
27,0000	0,1520	12,8000	107,0000	-0,4650	-9,3600
27,5000	-0,0398	12,8000	107,5000	-0,6240	-9,6300
28,0000	0,2160	12,9000	108,0000	-0,5940	-9,9300
28,5000	0,3340	13,0000	108,5000	-0,6050	-10,2000
29,0000	0,4240	13,2000	109,0000	-0,6670	-10,5000
29,5000	0,6220	13,4000	109,5000	-0,6720	-10,8000
30,0000	0,1140	13,6000	110,0000	-0,6150	-11,2000
30,5000	0,0630	13,7000	110,5000	-0,6660	-11,5000
31,0000	2,1200	14,2000	111,0000	-0,5560	-11,8000
31,5000	1,1800	15,0000	111,5000	-0,5920	-12,1000
32,0000	1,1400	15,7000	112,0000	-0,0498	-12,2000
32,5000	0,1980	16,0000	112,5000	-0,4290	-12,4000
33,0000	0,9950	16,3000	113,0000	-0,0840	-12,5000
33,5000	0,2190	16,6000	113,5000	0,0710	-12,5000
34,0000	2,9900	17,4000	114,0000	0,0252	-12,5000
34,5000	3,4900	19,0000	114,5000	0,0730	-12,4000
35,0000	-0,2410	19,8000	115,0000	0,1030	-12,4000
35,5000	0,0321	19,8000	115,5000	0,0597	-12,4000
36,0000	0,2860	19,9000	116,0000	0,0449	-12,3000
36,5000	-0,3520	19,9000	116,5000	0,0776	-12,3000
37,0000	0,1660	19,8000	117,0000	0,0589	-12,3000
37,5000	-0,0791	19,8000	117,5000	0,0661	-12,2000
38,0000	-0,1470	19,8000	118,0000	0,1050	-12,2000
38,5000	-0,0102	19,7000	118,5000	0,0350	-12,2000
39,0000	-0,1420	19,7000	119,0000	0,1160	-12,1000
39,5000	-0,2390	19,6000	119,5000	0,0562	-12,1000
<b>Zeit</b>	<b>OTR</b>	<b>OT</b>	<b>Zeit</b>	<b>OTR</b>	<b>OT</b>

<b>h</b>	<b>mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>mmol L<sup>-1</sup></b>	<b>h</b>	<b>mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>mmol L<sup>-1</sup></b>
40,0000	-0,2320	19,5000	120,0000	-3,9600	-13,0000
40,5000	-0,1160	19,4000	120,5000	-1,5700	-14,4000
41,0000	0,2560	19,4000	121,0000	2,1300	-14,3000
41,5000	0,2970	19,6000	121,5000	-0,2700	-13,8000
42,0000	0,3190	19,7000	122,0000	-1,1100	-14,2000
42,5000	0,0971	19,8000	122,5000	-0,8780	-14,7000
43,0000	0,2310	19,9000	123,0000	-0,7650	-15,1000
43,5000	0,3160	20,0000	123,5000	-0,7670	-15,5000
44,0000	0,1770	20,2000	124,0000	-0,6680	-15,9000
44,5000	0,1140	20,2000	124,5000	-0,6430	-16,2000
45,0000	0,1950	20,3000	125,0000	-0,7080	-16,5000
45,5000	0,2200	20,4000	125,5000	-0,5910	-16,9000
46,0000	0,1850	20,5000	126,0000	-0,5760	-17,2000
46,5000	0,1780	20,6000	126,5000	-0,6380	-17,5000
47,0000	0,2040	20,7000	127,0000	-0,6210	-17,8000
47,5000	0,4460	20,9000	127,5000	-0,5510	-18,1000
48,0000	-2,5700	20,3000	128,0000	-0,5980	-18,4000
48,5000	-0,8190	19,5000	128,5000	-0,5940	-18,7000
49,0000	2,6900	20,0000	129,0000	-0,5430	-18,9000
49,5000	-0,3830	20,5000	129,5000	-0,6230	-19,2000
50,0000	-0,4880	20,3000	130,0000	-0,6270	-19,5000
50,5000	-0,2460	20,1000	130,5000	-0,6360	-19,9000
51,0000	-0,6030	19,9000	131,0000	-0,5490	-20,2000
51,5000	-0,9560	19,5000	131,5000	-0,5650	-20,4000
52,0000	-1,0600	19,0000	132,0000	-0,5730	-20,7000
52,5000	-0,5690	18,6000	132,5000	-0,5740	-21,0000
53,0000	-0,6940	18,3000	133,0000	-0,4740	-21,3000
53,5000	-0,7060	18,0000	133,5000	-0,6690	-21,6000
54,0000	-0,7670	17,6000	134,0000	-0,5710	-21,9000
54,5000	-1,2400	17,1000	134,5000	-0,5670	-22,1000
55,0000	-0,9310	16,5000	135,0000	-0,5740	-22,4000
55,5000	-0,9200	16,1000	135,5000	-0,6130	-22,7000
56,0000	-0,9040	15,6000	136,0000	0,0680	-22,9000
56,5000	-1,0500	15,1000	136,5000	-0,4450	-23,0000
57,0000	-1,0700	14,6000	137,0000	-0,0688	-23,1000
57,5000	-1,0200	14,0000	137,5000	0,0122	-23,1000
58,0000	-1,0700	13,5000	138,0000	0,0360	-23,1000
58,5000	-1,2400	12,9000	138,5000	0,0658	-23,1000
59,0000	-1,2700	12,3000	139,0000	0,0886	-23,0000
59,5000	-1,2100	11,7000	139,5000	0,0842	-23,0000
60,0000	-1,2700	11,0000	140,0000	0,0368	-23,0000
<b>Zeit h</b>	<b>OTR mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>OT mmol L<sup>-1</sup></b>	<b>Zeit h</b>	<b>OTR mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>OT mmol L<sup>-1</sup></b>

60,5000	-1,4000	10,4000	140,5000	0,0516	-22,9000
61,0000	-1,3600	9,7300	141,0000	0,0922	-22,9000
61,5000	-1,4100	9,0400	141,5000	0,0863	-22,8000
62,0000	-1,3600	8,3500	142,0000	0,0625	-22,8000
62,5000	-1,4100	7,6500	142,5000	0,1000	-22,8000
63,0000	-1,4600	6,9300	143,0000	0,0601	-22,7000
63,5000	-1,4700	6,1900	143,5000	-9,8300e-3	-22,7000
64,0000	0,4500	5,9400	144,0000	-3,1000	-23,5000
64,5000	0,2150	6,1000	144,5000	-1,3100	-24,6000
65,0000	0,3090	6,2300	145,0000	-1,4100	-25,3000
65,5000	0,2620	6,3800	145,5000	0,3330	-25,6000
66,0000	0,1880	6,4900	146,0000	-0,7520	-25,7000
66,5000	0,3060	6,6100	146,5000	-0,8000	-26,0000
67,0000	0,1700	6,7300	147,0000	-0,8910	-26,5000
67,5000	0,2090	6,8300	147,5000	-0,6810	-26,9000
68,0000	0,1190	6,9100	148,0000	-0,6460	-27,2000
68,5000	0,2320	7,0000	148,5000	-0,6250	-27,5000
69,0000	0,1690	7,1000	149,0000	-0,5480	-27,8000
69,5000	0,2330	7,2000	149,5000	-0,5820	-28,1000
70,0000	0,1080	7,2800	150,0000	-0,5290	-28,4000
70,5000	0,1570	7,3500	150,5000	-0,5440	-28,6000
71,0000	0,2610	7,4500	151,0000	-0,5470	-28,9000
71,5000	0,1460	7,5600	151,5000	-0,5500	-29,2000
72,0000	-5,1300	6,3100	152,0000	-0,5500	-29,5000
72,5000	-3,5800	4,1300	152,5000	-0,3330	-29,7000
73,0000	1,6700	3,6600	153,0000	-0,5630	-29,9000
73,5000	-1,2600	3,7600	153,5000	-0,5180	-30,2000
74,0000	-1,6200	3,0400	154,0000	-0,4850	-30,4000
74,5000	-1,2700	2,3100	154,5000	-0,5790	-30,7000
75,0000	-1,1000	1,7200	155,0000	-0,5000	-31,0000
75,5000	-0,8570	1,2200	155,5000	-0,4320	-31,2000
76,0000	-0,8400	0,8040	156,0000	-0,4460	-31,4000
76,5000	-0,7680	0,4020	156,5000	-0,5210	-31,6000
77,0000	-0,8880	-0,0116	157,0000	-0,4770	-31,9000
77,5000	-0,7370	-0,4180	157,5000	-0,5540	-32,2000
78,0000	-0,8050	-0,8030	158,0000	-0,5110	-32,4000
78,5000	-0,7520	-1,1900	158,5000	-0,4870	-32,7000
79,0000	-0,5790	-1,5200	159,0000	-0,5200	-32,9000
79,5000	-0,7320	-1,8500	159,5000	-0,4980	-33,2000

## Messwerte photomixotrophe Kultivierung

Tabelle 11: Rohdaten Kultivierung im RAMOS mit CultiLux

Zeit h	OTR phototroph $\text{mmol L}^{-1} \text{h}^{-1}$	OTR photomixotroph $\text{mmol L}^{-1} \text{h}^{-1}$
0,0000	0,0000	0,0000
0,5000	-1,1600	0,5200
1,0000	0,8850	0,6120
1,5000	0,7920	0,5150
2,0000	0,3170	0,4278
2,5000	0,2200	0,5373
3,0000	0,3680	2,0087
3,5000	0,2510	2,9957
4,0000	-0,0584	1,1185
4,5000	-0,0750	1,4823
5,0000	-0,2030	1,7433
5,5000	-8,8400e-3	1,2340
6,0000	-0,0690	1,0643
6,5000	0,1870	1,2713
7,0000	0,2180	1,0031
7,5000	0,2450	0,7857
8,0000	0,0942	0,6523
8,5000	0,0984	0,7879
9,0000	0,1430	0,6534
9,5000	-0,0257	0,5121
10,0000	-0,1620	0,5257
10,5000	0,0423	0,8823
11,0000	0,0281	0,6912
11,5000	-0,0647	0,6933
12,0000	0,0155	0,7172
12,5000	-0,3080	0,5504
13,0000	-0,0622	1,0776
13,5000	-0,2240	1,3217
14,0000	-0,2570	1,1757
14,5000	-0,2370	1,7417
15,0000	-0,0816	1,4894
15,5000	0,1660	1,2280
16,0000	0,0214	0,7986
16,5000	-0,0938	0,8298
17,0000	-0,0443	0,9180
17,5000	-0,1930	0,4037
18,0000	-0,0677	0,1303
18,5000	-0,2400	-0,1519
19,0000	-0,1640	-0,2937

<b>Zeit h</b>	<b>OTR phototroph mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>OTR photomixotroph mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>
19,5000	-0,1910	-0,2592
20,0000	-0,2500	-0,0755
20,5000	-0,2890	-0,2870
21,0000	-0,3770	0,0447
21,5000	-0,1920	-0,1143
22,0000	-0,2350	0,0269
22,5000	-0,3330	-0,2431
23,0000	-0,3330	-0,1950
23,5000	-0,3770	0,0613
24,0000	-0,3710	-0,0790
24,5000	-0,5080	0,4753
25,0000	-0,5340	-0,0270
25,5000	-0,7300	-0,1473
26,0000	-0,5400	-0,2845
26,5000	-0,5740	-0,3000
27,0000	-0,7990	-0,3350
27,5000	-0,7580	-0,4530
28,0000	-0,6270	-0,7630
28,5000	-0,8430	-0,4847
29,0000	-0,8720	-0,5973
29,5000	-0,9470	-0,7090
30,0000	-0,9110	-0,2827
30,5000	-0,8520	-0,6557
31,0000	-1,1100	-0,7823
31,5000	-1,1900	-0,1137
32,0000	-1,2100	-0,5917
32,5000	-1,2800	-0,8337
33,0000	-1,3500	-0,8397
33,5000	-1,3500	-0,9160
34,0000	-1,4600	-0,7520
34,5000	-1,5100	-0,9900
35,0000	-1,7400	-0,8613
35,5000	-1,5700	-1,2733
36,0000	-1,5200	-0,8693
36,5000	-1,7500	-1,1167
37,0000	-1,4900	-1,1833
37,5000	-1,3900	-1,3033
38,0000	-1,6800	-1,0967
38,5000	-1,9200	-1,2300
39,0000	-2,1000	-1,2033
39,5000	-1,8600	-0,8620
<b>Zeit</b>	<b>OTR phototroph</b>	<b>OTR photomixotroph</b>

<b>h</b>	<b>mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>
40,0000	-1,7800	-1,0280
40,5000		-1,4300
41,0000	-1,7600	-1,1587
41,5000	-1,8900	-1,2800
42,0000		-1,2103
42,5000	-2,1000	-1,4500
43,0000		-1,4467
43,5000		-1,3400
44,0000	-2,7400	-1,5800
44,5000	-2,1100	-1,7000
45,0000	-2,6200	-1,5833
45,5000	-2,0300	-1,5033
46,0000	-1,5600	-1,6867
46,5000	-2,3700	-1,9667
47,0000	-2,1100	-1,6733
47,5000	-2,2100	-1,3700
48,0000	-2,0400	-1,6667
48,5000	-1,9400	-1,8100
49,0000	-1,9200	-1,4667
49,5000	-1,8600	-1,3800
50,0000	-1,9200	-1,5600
50,5000	-1,5800	-1,3867
51,0000	-1,5800	-1,2900
51,5000	-1,6400	-1,3500
52,0000	-1,3500	-1,3567
52,5000	-1,2300	-1,4167
53,0000	-1,4600	-1,0247
53,5000	-1,2900	-1,3700
54,0000	-1,4900	-1,3567
54,5000	-1,2500	-1,1160
55,0000	-1,2100	-1,2267
55,5000	-1,3100	-0,9347
56,0000	-1,2200	-1,0177
56,5000	-1,1200	-1,1667
57,0000	-1,0400	-1,2367
57,5000	-1,0600	-1,0283
58,0000	-1,1900	-0,9703
58,5000	-1,0800	-0,8593
59,0000	-0,9980	-0,9263
59,5000	-0,9950	-0,9573
60,0000	-0,9960	-0,8390
<b>Zeit h</b>	<b>OTR phototroph mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>OTR photomixotroph mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>

60,5000	-1,1200	-1,0607
61,0000	-1,1100	-0,8947
61,5000	-0,7850	-0,8383
62,0000	-1,0700	-0,8457
62,5000	-0,8390	-0,7610
63,0000	-0,8500	-0,6677
63,5000	-0,9170	-0,6747
64,0000	-0,9430	-0,7860
64,5000	-0,8230	-0,6100
65,0000	-1,2200	-0,8960
65,5000	-0,9400	-0,7253
66,0000	-0,8410	-0,7793
66,5000	-0,7920	-0,8530
67,0000	-1,1100	-0,6853
67,5000	-0,9590	-0,6233
68,0000	-0,8470	-0,5413
68,5000	-0,6490	-0,7847
69,0000	-0,9450	-0,6747
69,5000	-0,7930	-0,8413
70,0000	-0,7900	-0,6703
70,5000	-0,8040	-0,6720
71,0000	-0,7030	-0,5403
71,5000	-0,7590	-0,7147
72,0000	-0,7030	-0,6140
72,5000	-0,6520	-0,6407
73,0000	-0,8320	-0,6360
73,5000	-0,3740	-0,7127
74,0000	-0,7810	-0,5653
74,5000	-0,8400	-0,5957
75,0000	-0,6370	-0,4650
75,5000	-0,6340	-0,6180
76,0000	-0,9050	-0,6090
76,5000	-0,8320	-0,5380
77,0000	-0,6750	-0,6150
77,5000	-0,6560	-0,5070
78,0000	-0,6130	-0,6010
78,5000	-0,6880	-0,4907
79,0000	-0,6840	-0,4980
79,5000	-0,8390	-0,5270
80,0000	-0,6560	-0,5243
80,5000	-0,6410	-0,4890
<b>Zeit h</b>	<b>OTR phototroph mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>	<b>OTR photomixotroph mmol L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup></b>
81,0000	-0,7160	-0,4757

81,5000	-0,6650	-0,5263
82,0000	-0,7220	-0,3620
82,5000	-0,5730	0,0310
83,0000	-0,5760	-0,4507
83,5000	-0,7170	-0,5413
84,0000	-0,6810	-0,4243
84,5000	-0,9080	-0,4600
85,0000	-0,8260	-0,5027
85,5000	-0,4950	-0,4813
86,0000	-0,7460	-0,5477
86,5000	-0,6220	-0,4820
87,0000	-0,7510	-0,4997
87,5000	-0,7750	-0,6270
88,0000	-0,6800	-0,4280
88,5000	-0,6360	-0,6347
89,0000	-0,4790	-0,4903
89,5000	-0,8200	-0,4450
90,0000	-0,8060	-0,5800
90,5000	-0,8660	-0,4560
91,0000	-0,7540	-0,3950
91,5000	-0,6580	-0,3763
92,0000	-0,6670	-0,3650
92,5000	-0,7970	-0,4897
93,0000	-0,6830	-0,3000
93,5000	-0,7570	-0,4800
94,0000	-0,5490	-0,4097
94,5000	-0,8360	-0,2537

## Modellierung

### Quelltext Madonna:

```

STARTTIME =0
STOPTIME=10
DT = 0.001
DTOUT = 0.1
I0=1300           {[imol m-2 s-1]}
deltax=1         {[cm]}
umax=2           {[d-1], max. Wachstumsrate}
et=1.8           {[L/g/cm]}
KSI= 70          {[imol m-2 s-1]}
KKI= 10          {[imol m-2 s-1]}
kco2=0.5         {[g/L]}
y=-2.2           {[go2/gx]}
yco2=1.89        {[gco2/gx]}
x0=0.11          {[g/L]}
init x=x0
init co2=12.2     {[g/L]}
init OT=0
k=KSI-2*KKI

```

```

xmax= IF x<=logn(i0/kki)/(et*deltax)
THEN deltax
ELSE logn(I0/kki)/(et*x)
OTR=y*u*x/32*1000    { mmol/L*h }
next OT=OT+dt*OTR
u=umax*((ksi-kki)/k/et/x/deltax*logn((I0+k)/(I0*exp(-et*x*xmax)+k))-kki/k*xmax/deltax)*co2/(co2+kco2)
r=-umax/ycO2*co2*x/(co2+kco2)
limit u >= 0
d/dt(x)=u/24*x
d/dt(co2)=r

```

### Zusammenfassung Werte Reaktionskinetik

#### Tabelle 12: Sauerstoffbildung von *A. platensis* während Kultivierung im RAMOS-CultiLux

Minimale Sauerstofftransferrate  $OTR_{min}$  in  $mmol L^{-1} h^{-1}$ , totaler Sauerstofftransfer  $OT_{total}$  in  $mmol L^{-1}$ , biomassebezogene Sauerstoffproduktion (BBSP) in  $mmol O_2 g_x^{-1} h^{-1}$  spezifische Wachstumsrate  $\mu$  in  $d^{-1}$  ( $\mu_x$  und  $\mu_{OTR}$  aus Biomassekonzentration bzw. Sauerstofftransferrate  $OTR$  berechnet) während der Kultivierung von *A. platensis* PCC 9108 im RAMOS mit Beleuchtungseinheit CultiLux unter verschiedenen Licht- und Nährstoffregimen (Berechnungen aus Mittelwerten  $n = 2$ )

Licht- und Nährstoffregime	I $\mu mol m^{-2} s^{-1}$	$OTR_{min}$ $mmol L^{-1} h^{-1}$	$OT_{total}$ $mmol L^{-1}$	BBSP $mmol O_2 g_x^{-1} h^{-1}$
kontinuierlich photoautotroph	75	-0,5	61	0,34
	140	-0,8	99	0,53
	180	- 1,5	80	0,18
	260	- 1,5	56	0,57
	320	- 1,8	104	0,43
	440	-2,3	108	0,59
	550	-2,5	107	0,58
	635	- 2,5	106	0,63
	720	- 3,3	108	0,76
	960	- 3,1	101	0,6
	1300	- 3,9	104	0,64
	2000	- 3,6	91	0,54
16 h / 8 h Hell-Dunkel-Zyklus phototroph	180	- 1,5	50	0,20
kontinuierlich photomixotroph	180	- 1,5	60	- <sup>b</sup>

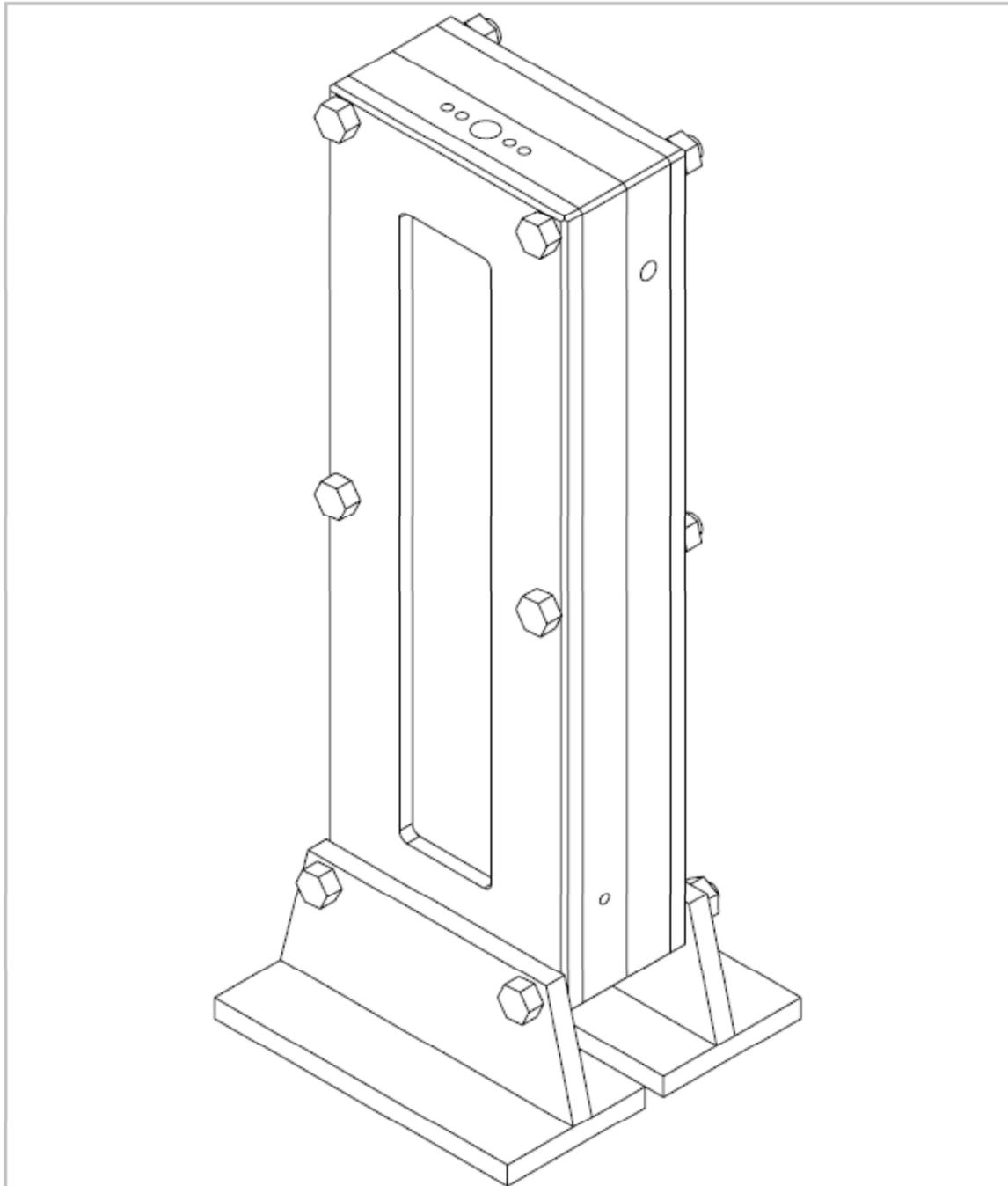
<sup>a</sup> Berechnung  $\mu$  nicht möglich, da keine exponentielle Wachstumsphase erkennbar, lediglich Biomassebildungsrate ermittelt

<sup>b</sup> Berechnung nicht durchgeführt aufgrund der Überlagerung von heterotrophen mit phototrophen Wachstum

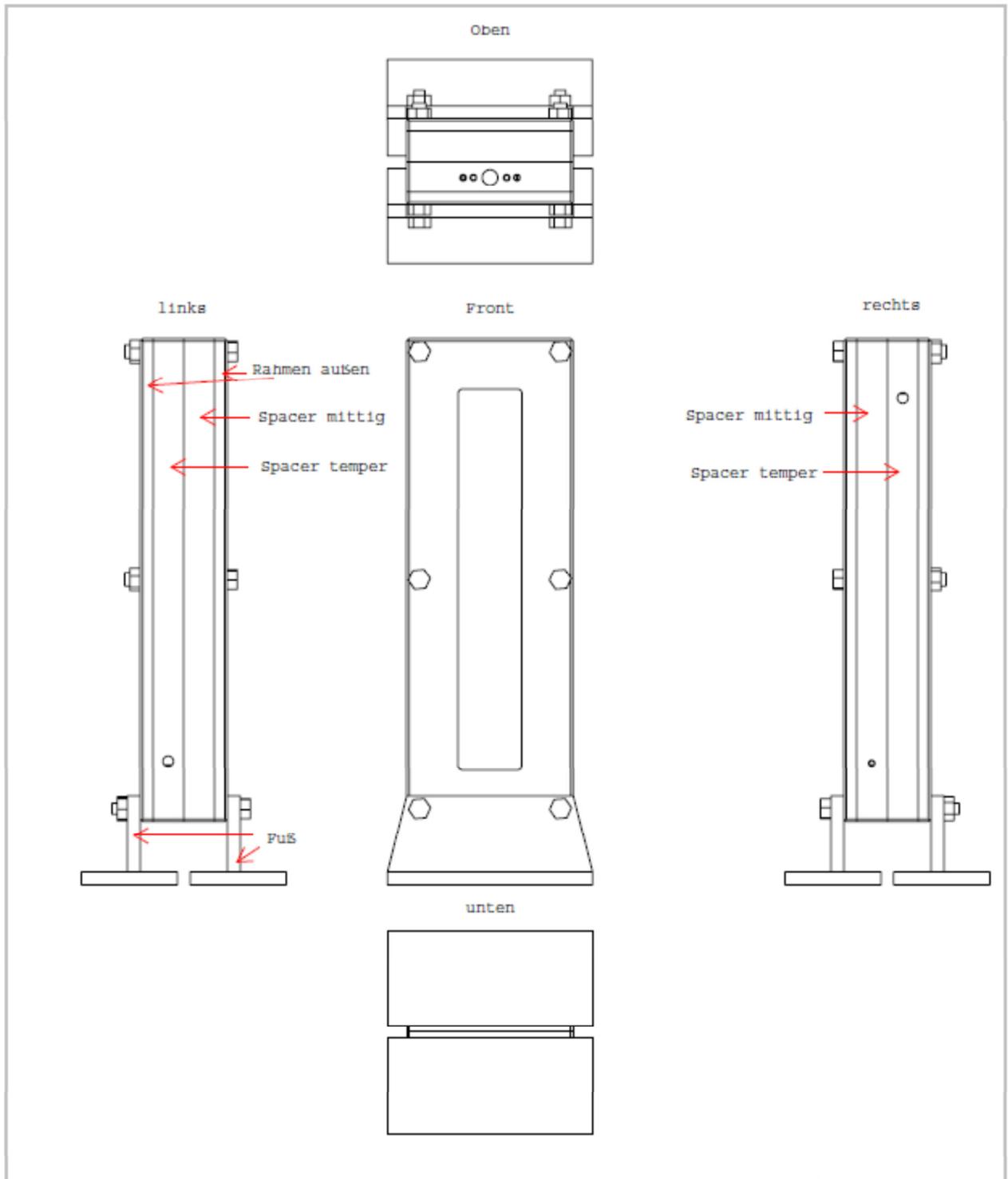
<sup>c</sup> unzureichende Datengrundlage

### 3.4 Flat-Panel-Bioreaktor

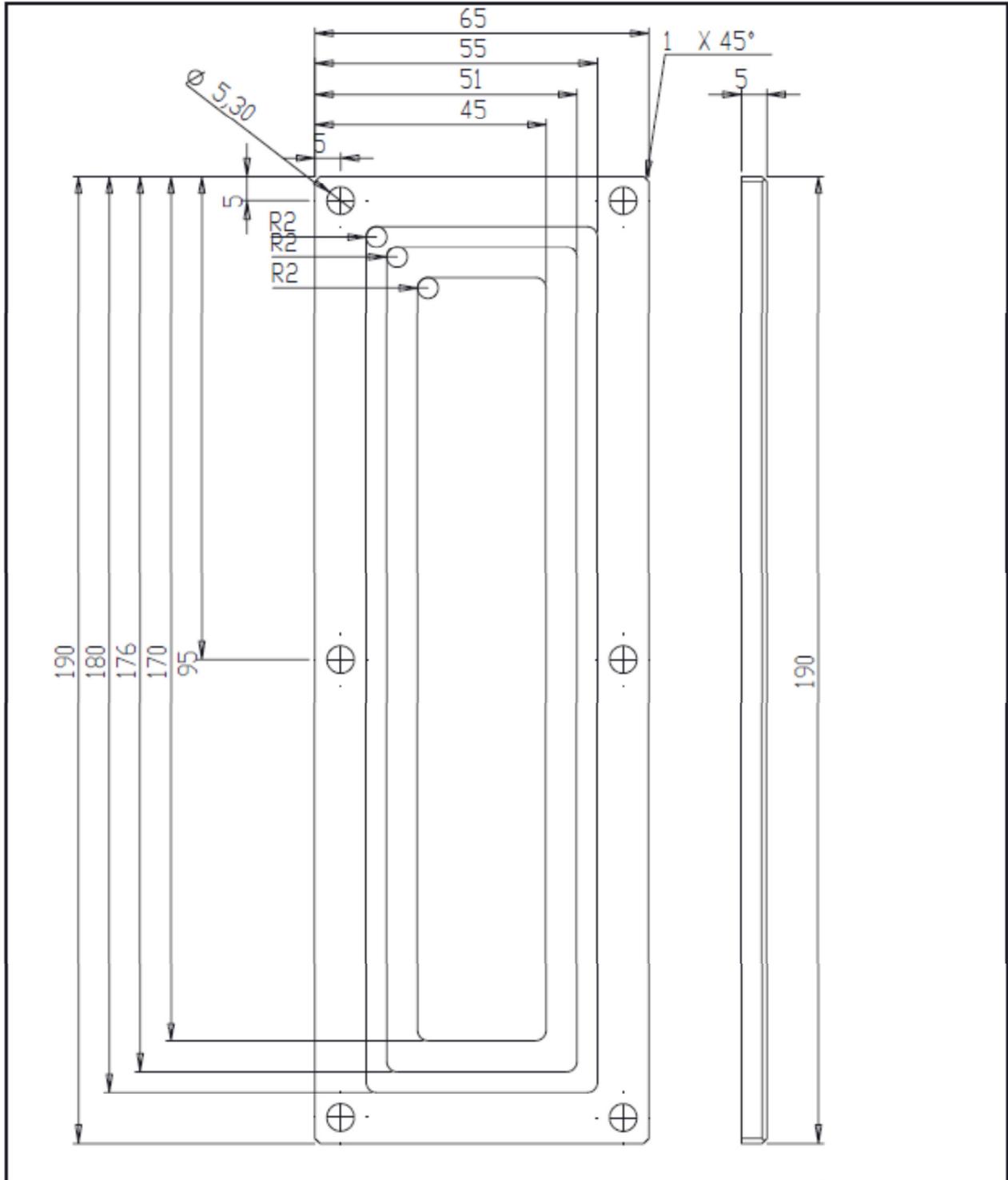
Technische Zeichnungen



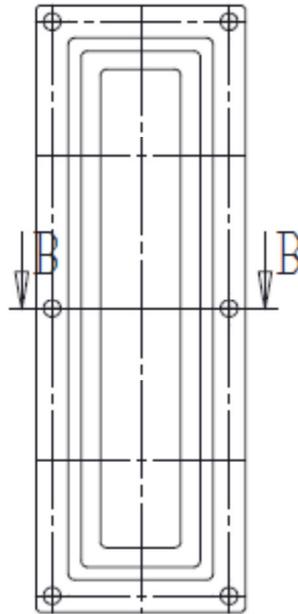
WENN NICHT ANDERS DEFINIERT: ABMESSUNGEN SIND IN MILLIMETER OBERFLÄCHENBESCHAFFENHEIT: TOLERANZEN: LINEAR: WINKEL:		OBERFLÄCHENGÜTE:		ENTGRATEN UND SCHARFE KANTEN BRECHEN		ZEICHNUNG NICHT SKALIEREN		ÄNDERUNG		
GEZEICHNET GEPRÜFT GENEHMIGT PRODUKTION QUALITÄT	NAME SIGNATUR DATUM	WERKSTOFF:	ZEICHNUNGS-NR. <b>flat-Panel_ZBau ohne Schlauch</b>		GEWICHT:		MASSSTAB:1:1		BLATT 1 VON 2	



WENN NICHT ANDERS DEFINIERT: BEMASSUNGEN SIND IN MILLIMETER OBERFLÄCHENBESCHAFFENHEIT: TOLERANZEN: LINEAR: WINKEL:		OBERFLÄCHENGÜTE:		ENTRATEN UND SCHARFE KANTEN BRECHEN		ZEICHNUNG NICHT SKALIEREN		ÄNDERUNG	
NAME		SIGNATUR		DATUM		BENENNUNG:			
GEZEICHNET						ZEICHNUNGSNR. <b>flat-Panel_ZBau ohne Schlauch</b>			
GEPRÜFT									
GEHEMWIGT									
PRODUKTION									
QUALITÄT									
				WERKSTOFF:		MASSSTAB: 1:2		BLATT 2 VON 2	



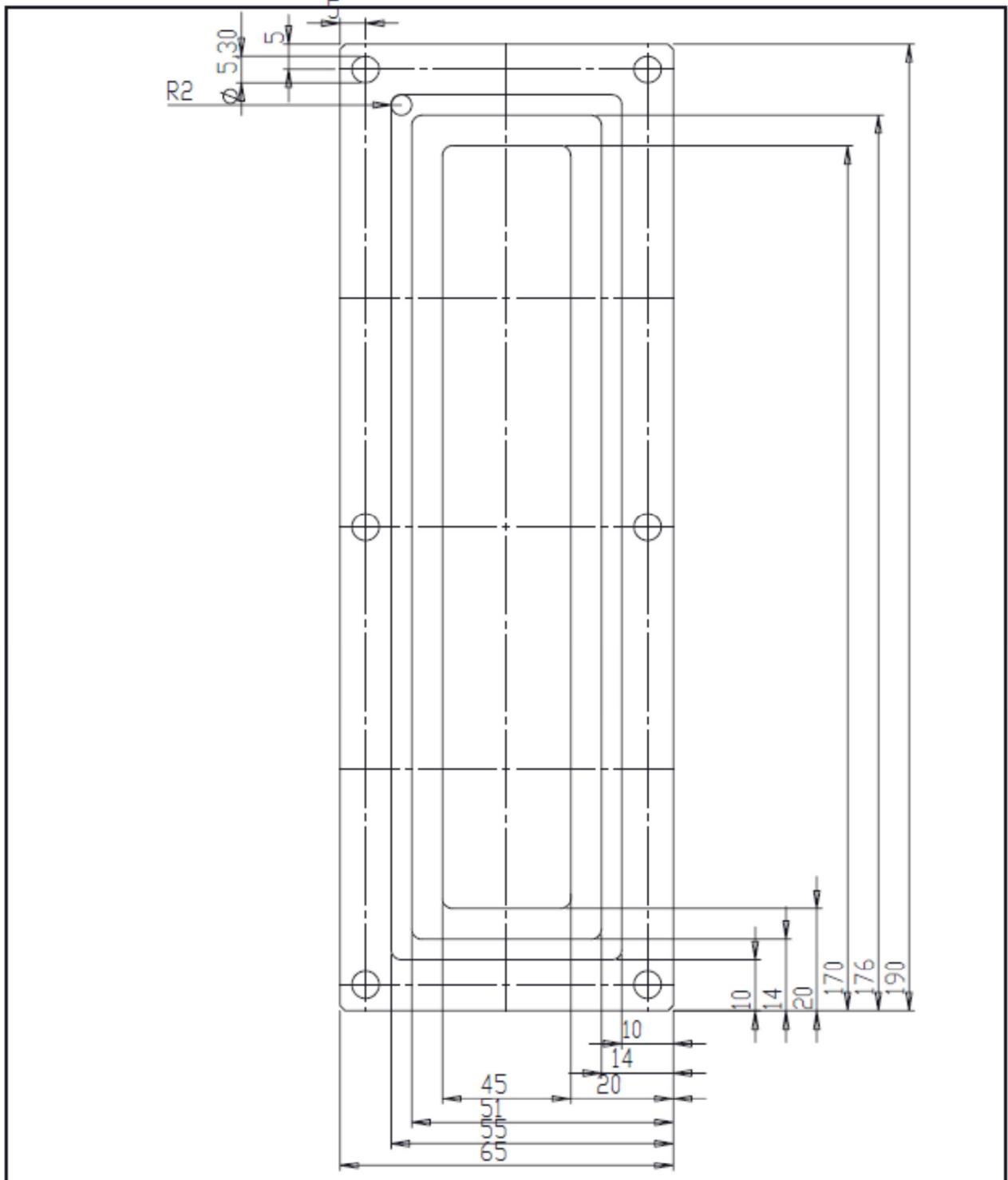
WENN NICHT ANDERS DEFINIERT: BEMESSUNGEN SIND IN MILLIMETER OBERFLÄCHENGÜTE: OBERFLÄCHENBESCHAFFENHEIT: TOLERANZEN: LINEAR: WINKEL:		ENTGRATEN UND SCHARFE KANTEN BRECHEN		ZEICHNUNG NICHT SKALIEREN		ÄNDERUNG	
NAME	SIGNATUR	DATUM		BENENNUNG			
BEZEICHNET							
GEPRÜFT							
BEGUTACHTET							
PRODUKTION							
QUALITÄT			VERKSTOFF:	ZEICHNUNGSNR.		A4	
				Rahmen_außen			
idworks Educational Edit			DRUCKT:	MASSSTAB 1:1		BLATT 1 VON 2	



SCHNITT B-B  
MAßSTAB 2 : 1

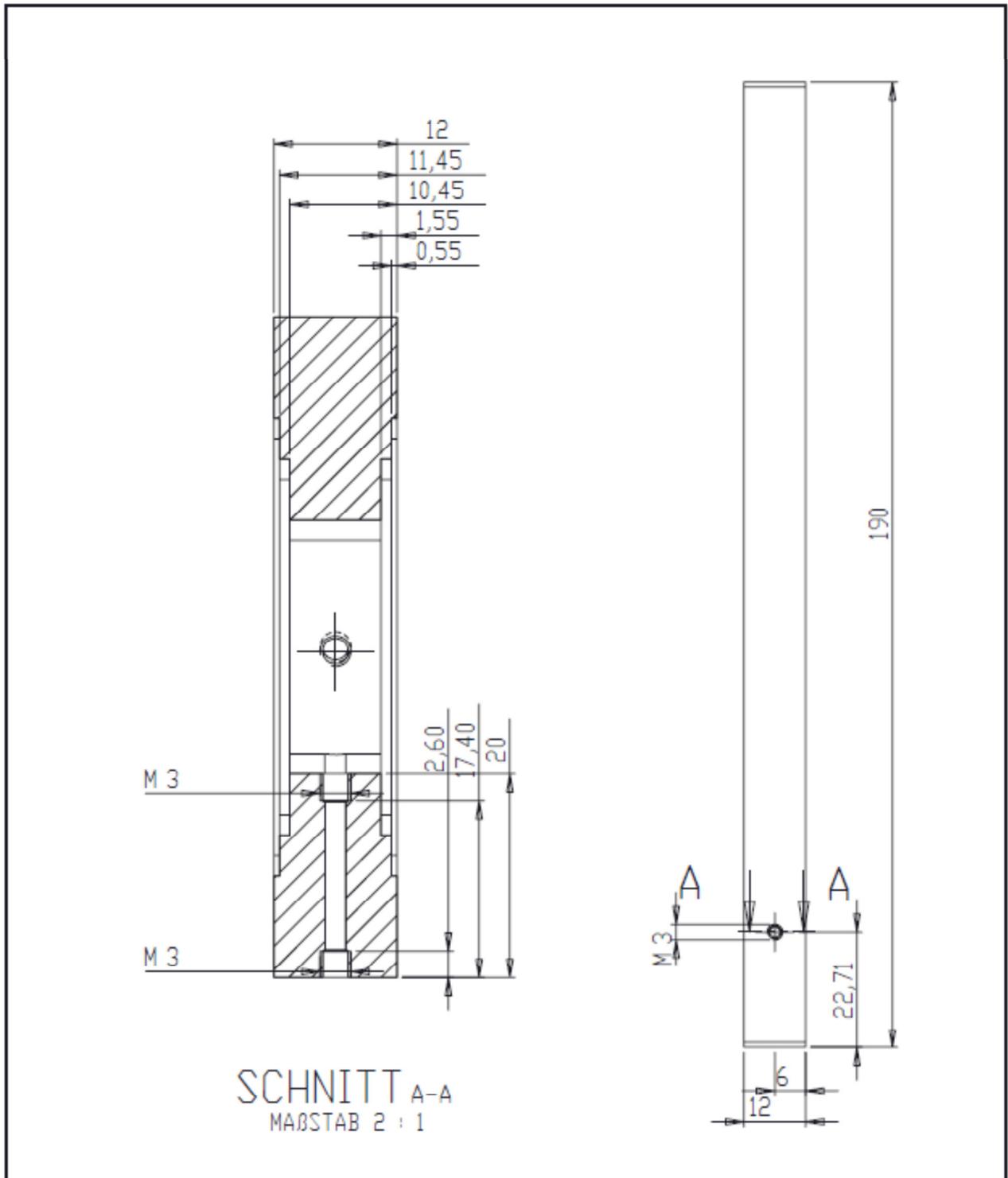


WENN NICHT ANDERS BEFINDERT: BEHÄLTNISSE SIND IN MILLIMETER OBERFLÄCHENBESCHAFFENHEIT TOLERANZEN: LINEAR: WINKEL:		OBERFLÄCHENGÜTE:		ENTGRATEN UND SCHARFE KANTEN BRECHEN		ZEICHNUNG NICHT SKALIEREN		ÄNDERUNG	
NAME		SIGNATUR		DATUM		BENENNUNG			
BEZEICHNET		GEPRÜFT		BEFRIEGT		PRODUKTION			
QUALITÄT		VERKSTOFF:		ZEICHNUNGSNR.		Rahmen_außen		A4	
ERSTELT		MASSSTAB:		BLATT 2 VON 2		dworks Educational Edit für Lehrzwecke			



WENN NICHT ANDERS DEFINIERT: BEMASSUNGEN SIND IN MILLIMETER OBERFLÄCHENBESCHAFFENHEIT: TOLERANZEN: LINEAR: WINKEL:		OBERFLÄCHENGÜTE:		ENTGRATEN UND SCHARFE KANTEN BRECHEN		ZEICHNUNG NICHT SKALIEREN		ÄNDERUNG	
NAME BEZEICHNET		SIGNATUR		DATUM		BEZEICHNUNG		BEZEICHNUNG	
GEPRÜFT		GEHEHIGT		PRODUKTION		BEZEICHNUNG		BEZEICHNUNG	
QUALITÄT		VERSTOFF:		BEZEICHNUNG		ZEICHNUNGSNR.		A4	
BEZEICHNUNG		BEZEICHNUNG		BEZEICHNUNG		MASSSTABE		BLATT 1 VON 3	

idworks Educational Edition  
 für Lehrwerke



VENN NICHT ANDERS DEFINIERT: BEHÄLTNISSE SIND IN MILLIMETER OBERFLÄCHENBESCHAFFENHEIT: TOLERANZEN: LINEAR: WINKEL:		OBERFLÄCHENGÜTE:		ENTGRATEN UND SCHARFE KANTEN BRECHEN		ZEICHNUNG NICHT SKALIEREN		ÄNDERUNG	
BEZEICHNET	NAME	SIGNATUR	DATUM			BENENNUNG			
GEPRÜFT									
BEGUTACHTET									
PRODUKTION									
QUALITÄT					VERKSTOFF:	ZEICHNUNGSNR.		Spacer_mittig A4	
dworks Educational Edit für Lehrzwecke					ZEICHNUNG:	MASSSTAB:		BLATT 2 VON 3	