

Einfluss von abiotischen Faktoren auf die Kultivierung und  
Fotosynthese von Mikroalgen am Beispiel von *Chlorella*  
*vulgaris* und Untersuchung der Realisierbarkeit von  
Mikroalgen in der Biotechnologie

Handke, Maja (18)

Siebert, Gregor (17)

Wartini, Carla (18)

Otto-Schott-Gymnasium Jena

Betreuung: Francie Sporbert, Otto-Schott-Gymnasium Jena,

Dr. Christina Walther, Schülerforschungszentrum Jena

Fachgebiet: Biologie

Wettbewerbssparte: Jugend forscht

Wettbewerbsjahr: 2023

## **Kurzfassung**

In der vorliegenden Projektarbeit „Einfluss von abiotischen Faktoren auf die Kultivierung und Photosynthese von Mikroalgen am Beispiel von *Chlorella vulgaris* und Untersuchung der Realisierbarkeit von Mikroalgen in der Biotechnologie" werden aktuell diskutierte Themen der Klimapolitik im Hinblick auf die Auswirkungen auf globale Ökosysteme aufgegriffen. Im Mittelpunkt stehen hierbei photoautotrophe Grünalgen, insbesondere die Art *Chlorella vulgaris* als natürliche CO<sub>2</sub>-Verwerter und Produzenten von Biomasse. Ziel war es, Grundlagen zur Physiologie und der optimierten Kultivierung hinsichtlich kosten- und energiesparender und damit effizienter Methoden zu untersuchen. Neben der Anzucht unter Freilandbedingungen, wurde ein Photobioreaktor gebaut, in dem das Wachstum der *Chlorella vulgaris*-Kulturen unter Einsatz verschiedener Wellenlängen untersucht wurde. Gestützt durch das Fachwissen aus Interviews mit Experten wird die Realisierbarkeit dieser Verfahren im großtechnischen Maßstab und die Bedeutung der Algenbiotechnologie diskutiert.

<b>1</b>	<b>Inhalt</b>	
2	Ziel der Arbeit .....	4
2.1	Theoretische Hintergründe .....	5
2.2	Aufbau und Merkmale von <i>Chlorella vulgaris</i> .....	6
3	Versuch zur Kultivierung von Mikroalgen .....	7
3.1	<i>Methoden</i> .....	7
3.1.1	Versuchsaufbau in Anlehnung an Open Ponds .....	7
3.1.2	Trübungsmessung als Messmethode .....	8
3.1.3	Durchführung Freilandkultivierung von <i>Chlorella vulgaris</i> .....	9
3.2	Ergebnisse der Freilandkultivierung.....	9
3.3	Auswertung der Freilandkultivierung.....	10
3.4	Fehlerbetrachtung der Freilandkultivierung von <i>Chlorella vulgaris</i> .....	12
4	Kultivierung im Photobioreaktor .....	12
4.1	Aufbau des Photobioreaktors.....	12
4.2	Bau Photometer-Raspberry Pi .....	13
4.3	Messergebnisse Photobioreaktor .....	14
4.3.1	Wachstum bei weißem Licht.....	14
4.3.2	Wachstum bei blauen Licht.....	15
4.3.3	Wachstum bei rotem Licht .....	15
4.4	Auswertung Versuch unter Laborbedingungen.....	16
4.5	Fehlerbetrachtung Versuch unter Laborbedingungen .....	16
5	Fazit .....	17
6	Unterstützungsleistung .....	18
7	Quellen .....	19

## 2 Ziel der Arbeit

Die Klimaproblematik ist ein allgegenwärtiges Thema, dessen Auswirkungen auf das globale Ökosystem immer präsenter werden. Die Bundesregierung fordert aktivere Forschung an natürlichen Methoden zur Minimierung der Kohlenstoffdioxidemission und des generellen Anteils in der Luft, um bis 2030 die Emissionen auf 65% gegenüber 1990 zu reduzieren. (BUNDESREGIERUNG 2021)

Algen sind Organismen, welche Photosynthese betreiben, um zu wachsen. Während der Photosynthese fixieren die Algen Kohlenstoffdioxid ( $\text{CO}_2$ ) und produzieren Sauerstoff ( $\text{O}_2$ ). Dementsprechend könnten Algen als natürliche  $\text{CO}_2$ -Verwerter dienen. Darüber hinaus sind Algen in der Wirtschaft vielfältig nutzbar. Gründe für das Potential zur kommerziellen Nutzung von Algen sind die hohe Wachstumsrate sowie ihre Fähigkeit, viel einfallendes Licht für die Photosynthese zu nutzen und mehr Biomasse pro Hektar als andere Pflanzen produzieren zu können. (SCHARFF 2018: 1) Darüber hinaus sind die Bestandteile der Algenbiomasse Grundlage für viele in der Wirtschaft benötigte stoffliche Verbindungen. (DECHEMA 2016: 7) Die aufgezeigten Gründe sind Anlass, Algen genauer zu untersuchen, mit dem Ziel, deren Kultivierung zu optimieren und generell das Konzept "Mikroalgen als nachhaltige Rohstoffquelle und ihre Funktion als  $\text{CO}_2$ -Verwerter" kritisch zu hinterfragen.

Im ersten Teil der Arbeit wird zunächst auf die Physiologie von Algen allgemein eingegangen. Im experimentellen Teil sollte das Algenwachstum unter verschiedenen Belichtungen, bei herbstlichen Wetterbedingungen, beobachtet und analysiert werden. Mit dem Ziel, möglichst kosten-, energiesparend und effizient Algen zu kultivieren, wurde im ersten Versuch die Freilandkultivierung gewählt. Der zweite Versuch beschäftigt sich mit der Optimierung der Kultivierung von Mikroalgen in einem selbst gebauten Photobioreaktor. Dabei wird besonders auf den Einfluss verschiedener Wellenlängen des Lichtspektrums eingegangen. Folgend werden die Ergebnisse der Freiland- und Reaktorversuche verglichen.

Zuletzt wird im dritten Teil dieser Arbeit die Bedeutung und Realisierbarkeit von Mikroalgen in der Algenbiotechnologie untersucht und die Versuche aus den ersten beiden Teilen im großen Maßstab betrachtet.

## 2.1 Theoretische Hintergründe

Zur Artenvielfalt von Mikroalgen zählen über 40.000 bekannte und zusätzliche unerforschte Spezies. Mikroalgen sind insbesondere durch ihre mikroskopische Größe charakterisiert und werden durch ihr höheres Oberflächen-Volumen-Verhältnis von Makroalgen und grünen Pflanzen unterschieden. Das hohe Oberflächen-Volumen-Verhältnis ist die Grundlage für eine höhere Photosyntheseleistung. Umso größer die Oberfläche ist, desto mehr Lichtenergie kann absorbiert und genutzt werden. (STEINBUSCH 2015: 124)

Darüber hinaus hervorzuheben sind die hochwertigen und bedeutsamen Stoffe, welche in ihnen enthalten sind – Eiweiße, Vitamine, ungesättigte Fettsäuren, Carotinoide, Antioxidantien oder Mineralstoffe. Algen sind durch diese wichtigen Inhaltsstoffe in Bereichen der Ernährung und Kosmetik populär. (KLIMAAKTIV 2017: 7) Zur Nahrungsergänzung wird besonders die Spezies *Chlorella vulgaris* kultiviert und in Form eines Extrakts verkauft. (DECHEMA 2016: 8) Neben dieser werden in Wirtschaft und Forschung auch Spezies wie *Haematococcus pluvialis* kultiviert, vorrangig zur Herstellung von *Astaxanthin*, und *Spirulina*, *Arthrospira platensis*.

In Abbildung 1 sind die Einflussfaktoren auf die Biomassebildung, Bestandteile des Prozesses und mögliche Endprodukte dessen graphisch dargestellt.

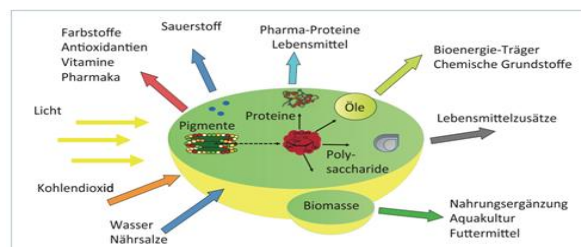


Abbildung 1: Umwandlung von Sonnenlicht und CO<sub>2</sub> durch Stoffwechselvorgänge zu Biomasse und wichtigen Inhaltsstoffen (DECHEMA 2016: 8)

Der hohe Lipidgehalt in der Biomasse verschiedener Arten lässt Mikroalgen auch im Gebiet der energetischen Nutzung zum Mitstreiter werden. So kann Biomasse in Form von Biodiesel, Bioethanol oder auch Biogas vorkommen. (FRAUNHOFER o.A.: 29) Die Produktionsrate von Biomasse von Mikroalgen liegt weitaus höher als die Rate ländlicher Kulturpflanzen. Biomasse soll aufgrund dessen in Zukunft genutzt werden, um fossile Brennstoffe weitgehend abzulösen. (KLIMAAKTIV 2017: 7) Benutzt man für die Herstellung des Kraftstoffes regenerative Energien zur Erzeugung von elektrischem Strom, Wärme sowie für die CO<sub>2</sub>-Versorgung, beispielsweise aus Rauchgasen eines Biomassekraftwerkes, so kommt man letztendlich auf eine Nullemission von Treibhausgasen. Vergleicht man die CO<sub>2</sub>-Bilanz von herkömmlichem Diesel und Biodiesel

aus weiteren Energiepflanzen, z.B. Soja, mit dem vielversprechenden Biodiesel aus Algen, so zeigt sich, dass dessen Nutzung umwelttechnisch sinnvoll ist. (HEMPEL 2013: 123)

Da Algen das CO<sub>2</sub> der Luft als Kohlenstoffressource nutzen können, sind sie dazu in der Lage, eine Verbindung zwischen Industrie und Wirtschaft und dem ökologischen Kohlenstoffkreislauf zu bilden. (DECHEMA 2009: 2)

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass besonders Mikroalgen aufgrund ihrer Physiologie geeignet sind, um industriell kultiviert zu werden.

Im großen Rahmen gibt es ebenfalls unterschiedliche Verfahrensweisen zur Kultivierung von Mikroalgen. Dabei wird zwischen offenen und geschlossenen Systemen unterschieden, die bereits im kleinen Maßstab als Experimente verglichen wurden. Unter offenen Systemen versteht man Anlagen, in denen die Algenkultur in direkten Kontakt mit Sonnenlicht, externer Wärme und Luft, also auch dem in der Luft enthaltenen Kohlendioxid, kommt. Open-Pond-Systeme sind große künstlich angelegte, ungefähr 20 cm tiefe Becken, in welchen die Algen beständig durchmischt werden, um eine homogene Masse zu erhalten. Vorteilhaft bei dieser Methode der Kultivierung sind das einfache Handling und die kostengünstige Produktion. (HEMPEL 2013: 12) Allerdings führt der direkte Kontakt zu abiotischen Faktoren, zu Verdunstungsverlusten und Verunreinigung, zum Beispiel Bakterien- oder Zooplanktonbefall. (DECHEMA 2016: 11) Des Weiteren ist das Wachstumspotential beschränkt, denn obwohl das Becken flach gehalten wird, ist die Eindringtiefe des Sonnenlichts eher gering. Hinzu kommt, dass Open-Pond-Becken, um letztendlich einen wirtschaftlich sinnvollen Ertrag zu erzielen, relativ großflächig gebaut werden müssen und somit viel Fläche in Anspruch nehmen. (HEMPEL 2013: 12) Die großen Konkurrenten, was Fläche, Verluste, Befall, etc. angeht, sind die geschlossenen Systeme, sogenannte Photobioreaktoren. Durch ihre geschlossene Bauweise sind diese wesentlich effizienter als die Open Ponds. Jegliche Umwelteinflüsse können genau eingestellt werden. Darunter zählen Licht, Temperatur und CO<sub>2</sub>-Konzentration, aber auch der pH-Wert kann konstant angepasst werden. Dazu kommen geringe bis keine Verdunstungsverluste sowie ein niedriger Wasserbedarf und Verbrauch

## 2.2 Aufbau und Merkmale von *Chlorella vulgaris*

*Chlorella vulgaris* ist eine *eukaryotische*, im Süßwasser lebende, einzellige, 4–10 µm große Mikrolage mit einer kugeligen Form (siehe Abbildung 2). Außerdem lässt sich *Chlorella vulgaris* zur Übergruppe der *Chlorophyta* und generell zur Gattung der Grünalgen zuordnen. *Chlorella vulgaris* ist in der Forschung schon seit vielen Jahren intensiv untersucht worden. Als

Modellorganismen wurden wesentliche Erkenntnisse über Stoffwechselforgänge in Algen und anderen Pflanzen gesammelt. (HUSS ET AL. 2004: 2) Bei guten Voraussetzungen teilt sich die Mutterzelle in einer Zeit von 16 bis 20h in vier Tochterzellen. Für die Teilung und das Wachstum benötigt die Pflanze Energie, welche *Chlorella vulgaris* hauptsächlich durch die Photosynthese erzeugt. (ECKE 2005: 3)

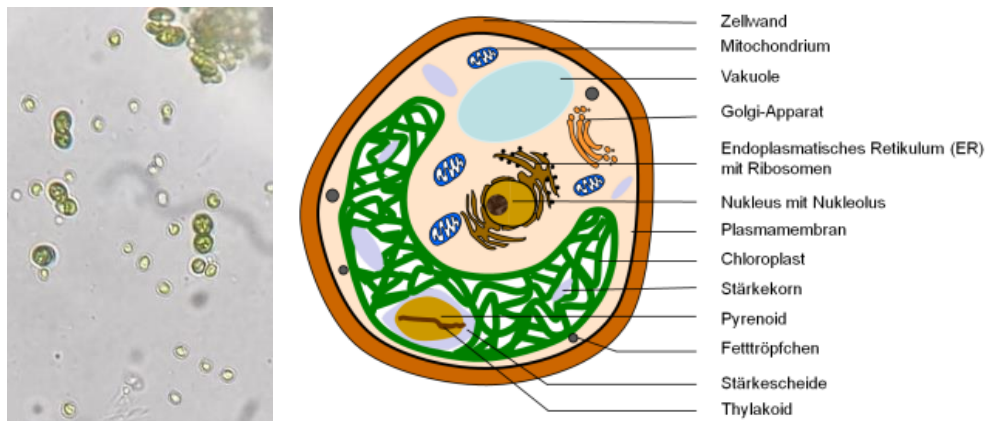


Abbildung 2: Schematische Darstellung vom Aufbau von *Chlorella vulgaris* (rechts, VOGEL 2011: 9), Lichtmikroskopische Aufnahme (links, 2000-fache Vergrößerung, Keyence VHX100, eigene Aufnahme)

### 3 Versuch zur Kultivierung von Mikroalgen

Die meisten Mikroalgen wie *Chlorella vulgaris* wachsen photoautotroph. Demnach können sie ihren gesamten benötigten Kohlenstoff zum Aufbau organischer Verbindung durch Photosynthese decken. Da alle klimatischen Voraussetzungen für die Photosynthese in gemäßigten Breiten, wie Mitteleuropa, vorhanden sind, sollten die Algen auch unter Freilandbedingungen ohne große, komplexe Vorrichtungen, keine Schwierigkeiten haben, zu wachsen. Auf Grundlage dieser Annahme haben wir unseren ersten Versuchsaufbau, wie im nachfolgenden Absatz beschrieben, entwickelt.

#### 3.1 Methoden

##### 3.1.1 Versuchsaufbau in Anlehnung an Open Ponds

Das Freilandkultivieren erfordert den geringsten Aufwand bei der Algenkultivierung. Es wurde ausschließlich ein Behälter mit Wasser, Nährstoffen und einem Algenansatz benötigt. Zum Wachsen nutzen die Mikroalgen ausschließlich das Sonnenlicht und das vorhandene Kohlenstoffdioxid.

Für das Experiment, wurde ein flacher Behälter mit 1800 ml Wasser verwendet. Diesem wurden 200 ml *Chlorella vulgaris* Stammkultur und 2 ml Phytoplanktondünger beigelegt. Der Behälter soll im Folgenden als Zuchtbehälter bezeichnet werden.

Im gesamten Verlauf des Experimentes war zu beachten, dass der Wasseranteil relativ konstant bleiben musste. Um dies zu erreichen, waren die verschiedenen Wittereinflüsse zu reduzieren. Dies wurde erreicht, indem man die Freilandkultur mit einem Deckel schützte und einen geeigneten Stellplatz wählte. Bei der Wahl der Abdeckung war es wichtig, dass die Photosynthese nicht eingeschränkt wird. Demnach mussten eine Belüftung und Belichtung möglich sein. Aus den genannten Überlegungen ergab sich, dass eine Plexiglas-Abdeckung mit Belüftungsschlitzen geeignet erscheint. Der beschriebene Aufbau ist in Abb.3 abgebildet.



Abbildung 3: Open Pond für Freiland Kultivierung mit *Chlorella vulgaris* Lösung

Ein zweiter Behälter ohne Algenzusatz, aber mit demselben Verhältnis aus Nährstoffdünger und Wasser wurde neben dem Zuchtbehälter platziert, mit dem Zweck, die Umwelteinflüsse auf den Versuchsaufbau kenntlich zu machen. Dieser Behälter soll im Folgenden als Wasserbehälter bezeichnet werden.

Im Rahmen der Arbeit, wurden verschiedene Versuche zur Kultivierung von *Chlorella vulgaris* durchgeführt. Dabei bildete die Stammkultur *Chlorella vulgaris* immer die Basis. Da die genaue Konzentration der gelieferten Stammkultur nicht eindeutig zu identifizieren war, blieben in allen folgenden Versuchen die beschriebenen Verhältnisse konstant.

### 3.1.2 Trübungsmessung als Messmethode

In dieser Arbeit wurde das Wachstum mithilfe der analytischen Methode zur Bestimmung der optischen Dichte ermittelt. Die optische Dichte gibt an, wie lichtdurchlässig beziehungsweise getrübt eine Probe ist. Mittels eines Photometers wird die Lichtdurchlässigkeit bestimmt. In einem optisch homogenen Medium mit einem konstanten Brechungsindex bewegt sich Licht geradlinig. Durch die Veränderung der optischen Eigenschaften, wie durch die Zunahme von Zellen, wird die Ablenkung eines Lichtstrahls verursacht. Diesen physikalischen Prozess bezeichnet man als Streuung, welcher eine Trübung verursacht. Die Trübung ist von der Menge

an gestreutem Licht und diese wiederum von der Zunahme der Zelldichte abhängig. Auf Grundlage dieses Zusammenhangs ist es möglich, mittels Photometer, das Wachstumsverhalten durch regelmäßige Messungen über einen längeren Zeitraum festzustellen. Bei den Messungen ist zu beachten, dass die genommenen Proben immer vergleichbar homogen sind, um das Ergebnis nicht zu verfälschen. (WILD 2003: 117).

Für den Versuch stand ein Spektralphotometer der Marke SPECORD 210, Analytik Jena als Messgerät zur Verfügung. Dadurch war es möglich, nicht nur die Trübung zu erfassen, sondern auch die wellenlängenabhängige Absorbanz der Grünalgenkultur zu bestimmen. Daraus ergab sich, dass für die folgenden Messungen lediglich die Absorption bei 430 nm gemessen wurde.

### 3.1.3 Durchführung Freilandkultivierung von *Chlorella vulgaris*

Die Absorbanz wurde vom 10.12.2021 bis zum Einsetzen des Absterbens gemessen. Die Messungen erfolgten alle 7 bis 14 Tage mit Hilfe eines Spektralphotometers. Für jede Messung wird aus den Behältern jeweils eine Probe genommen, in eine Küvette gefüllt und das Absorptionsverhalten bei 430 nm und 680 nm aufgezeichnet.

## 3.2 Ergebnisse der Freilandkultivierung

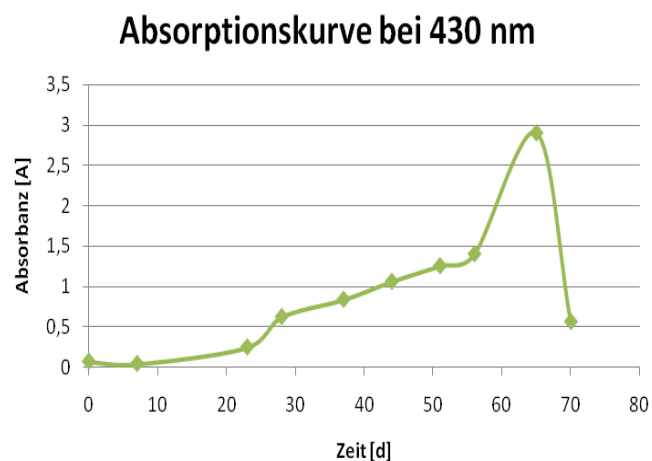


Abbildung 4: Absorptionsverhalten von *Chlorella vulgaris* bei Langzeitkultivierung

In der Abb.7 wurden die Absorbanz bei einer Wellenlänge von 430nm in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Der Graph zeigt, wie viel Licht an verschiedenen Tagen, über den genannten Zeitraum, vom Medium absorbiert wurde.

### 3.3 Auswertung der Freilandkultivierung

Wie im Diagramm zu erkennen ist, entsprechen die gesammelten Werte nicht dem erwarteten Wachstumsverhalten einer Batch-Kultur mit den typischen Wachstumsphasen Latenz Phase, Wachstumsphase, Stationäre Phase und Absterbe Phase.

In den ersten 20 Tagen hat die optische Dichte kaum zugenommen und dementsprechend fand vermutlich kaum Zellteilung statt. Dieser Teil der Kurve ist eindeutig als Adaptionphase zu identifizieren. Jedoch ist zu berücksichtigen, dass in Vergleichsarbeiten, nur eine Adaptionphase von 24 h festgestellt wurde. Dabei ist hervorzuheben, dass ihre Forschungsergebnisse unter Laborbedingungen erfolgten. Außerhalb von Laborbedingungen, beeinflusst durch extrem wechselhaftes Herbstwetter, ist anzunehmen, dass eine Adaptionphase von 20 Tagen nicht ungewöhnlich ist. Die exponentielle Zunahme der Absorbanz zwischen Tag 23 und 28 ist vergleichbar mit den von Frau Scharff festgestellten Ergebnissen. (SCHARFF 2018: 98)

An die exponentielle Phase schließt sich ein langes, lineares Wachstum von 28 Tagen an. Dieses Ergebnis weicht von dem erwarteten Wachstumsverhalten einer Batch-Kultur ab. Nach dieser Annahme hätte die Kultur in eine stationäre Phase übergehen müssen. (Kayser 2013: 8)

Wird jedoch das Wachstumsverhalten mit der Vergleichsstudie von Bialon verglichen, zeigt sich, dass auch er bei der Langzeitkultivierung von *Chlorella vulgaris* nach mehr als 40 Tagen keine sinkende Zellteilung oder das Absterben der Kultur feststellen konnte. (BIALON 2017: 72)

Des Weiteren kann das konstante, lineare Wachstumsverhalten auch durch die Anwesenheit einer weiteren Algenkultur erklärt werden, weil ab Tag 28 im Wasserbehälter eine weitere Algenkultur festzustellen war. Bei den entstandenen Algen handelte es sich ebenfalls um Grünalgen, welche jedoch im Gegensatz zu *Chlorella vulgaris* mit bloßem Auge sichtbar waren. Aufgrund des phänotypischen Erscheinungsbildes, wie in Abb.8 zu erkennen, konnte die entstandene Algenkultur als Fadenalge identifiziert werden.

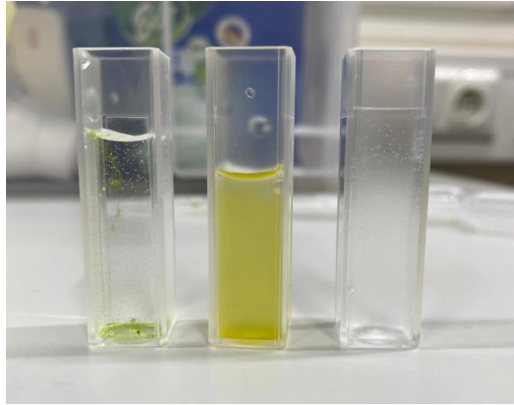


Abbildung 5: Vergleich Proben: Wasserbehälter, Zuchtbehälter und Leitungswasser in Küvette (von links nach rechts)

Da im Wasserbehälter Fadenalgen durch die Beobachtung mit bloßem Auge festgestellt werden konnten, bestand die Vermutung, dass auch im Zuchtbehälter keine Reinkultur mehr vorliegt. Bei einer mikroskopischen Untersuchung, der ursprünglichen *Chlorella vulgaris* Kultur am Tag 65, konnte ebenfalls eine weitere Mikroalge festgestellt werden.

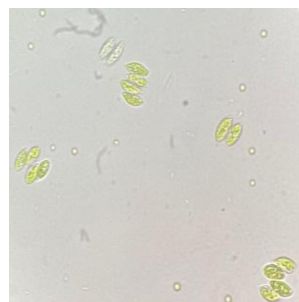


Abbildung 6: Mikroskopie Probe Zuchtbehälter

Beim Vergleich von Abbildung 2 und Abbildung 6 ist zu erkennen, dass die entstandene Algenkultur größer und ovaler als *Chlorella vulgaris* ist. Die konkrete Algenart konnte jedoch nicht näher bestimmt werden. Aufgrund der beschriebenen Ergebnisse wird vermutet, dass die lange stationäre Phase und der zweite exponentielle Anstieg eine Folge der zweiten Algenkultur ist.

Bei der letzten Messung, an Tag 70, war die Absorbanz auffällig gering und dementsprechend auch die vorhandene Biomasse. Die Algen waren abgestorben. Dieses Phänomen lässt sich vermutlich auf die Umweltbedingungen zurückführen. In den Wochen, ab dem 07.12.2021, sank die Temperatur kontinuierlich, bis sie am 15.12 unter 0 °C lag. Daraus lässt sich schließen, dass die Algenkultur im Winter und bei Frost ihren Stoffwechsel weitgehend einstellen.

Zusammenfassend ist darauf hinzuweisen, dass die erfassten Werte zu fehlerbehaftet sind und daher keine allgemeingültige Aussage für das Wachstumsverhalten von *Chlorella vulgaris* ermöglichen.

### 3.4 Fehlerbetrachtung der Freilandkultivierung von *Chlorella vulgaris*

Allgemein ist festzustellen, dass die Kultivierung in Open Ponds wenig aufwändig ist. Dabei ist diese jedoch stark von den Umwelteinflüssen abhängig, wie im vorangegangenen Abschnitt festgestellt.

Das Wachstum von *Chlorella vulgaris* wird maßgeblich von der schwankenden Temperatur beeinflusst. Die Stammkultur benötigte ungefähr 20 Tage, um ihren Metabolismus an die mitteleuropäischen, herbstlichen Bedingungen anzupassen und ist sehr frostempfindlich.

Darüber hinaus ist festzustellen, dass es schwer ist, in Open Ponds eine Reinkultur zu züchten. Durch den Kontakt mit der Luft und des teilweisen eindringenden Regenwassers, verunreinigen verschiedene Mikroorganismen die Zuchtkultur und verfälschen dadurch die Messergebnisse. Zusätzlich zur verunreinigten Probe kommt eine Inhomogenität des Zuchtbehälters hinzu. Aufgrund der flachen Quaderform und dem Absinken der Algen, war, je nachdem wo, die Probe mit der Pipette entnommen wurde, mehr oder weniger Biomasse enthalten. Ein weiteres Problem in der Messreihe sind die zu selten erfassten Werte. Die Messintervalle waren zu groß, um das genaue Wachstumsverhalten zu erklären. Dies ist insbesondere bei Tag 65 der Fall, wodurch das Vorhandensein eines einzelnen Wertes, das Ergebnis des Wachstumsverhaltens sehr stark beeinflusst wird. Eine mögliche Ursache hierfür könnte ein Messfehler, aber auch verschiedenen andere Einflussfaktoren, wie zuvor erläutert, sein.

Daraus ergab sich die zweite Versuchsreihe, welche durch Optimierung des Zuchtbehälters ein effizienteres Wachstum erreichen soll.

## 4 Kultivierung im Photobioreaktor

Ein Photobioreaktor ist ein geschlossenes System zur Begünstigung des Wachstums eines Organismus. Er dient dazu, Algen zu kultivieren und ihr Wachstum unter verschiedenen Einflüssen zu untersuchen.

### 4.1 Aufbau des Photobioreaktors

Der Reaktor besteht aus einem Becken mit knapp 2 Litern Inhalt. In das Gefäß führt ein Tauchkörper, der für die notwendige Gaszufuhr der Algen zuständig ist. Der Deckel besteht aus einem kleinen Holzbrett, das mit reflektierender Folie ausgekleidet ist, damit wenig Licht

verloren geht. Daran sind mehrere Bahnen Leuchtdioden angebracht, die mit einer Stromzufuhr gekoppelt sind. Daraus folgt, dass die Kultur im Kontrast zur Freilandkultivierung, welche durch Tag und Nacht beeinflusst wurde, nun unter einer stetigen Belichtung steht. Das Becken steht auf einem Kleinmagnetrührer, der dafür sorgt, dass die Mikroalgen gleichmäßig durchmischt werden und sich nicht am Rand des Beckens absetzen. Mit einem Mikrocontroller „Raspberry Pi“ verbunden, sind eine Diode und ein Lichtsensor im bzw. am Becken angebracht und fungieren als Photometer. Im Inneren einer Küvette ist eine LED angebracht, die 1 cm Abstand zu ihrem Sensor außerhalb des Beckens hat. Die Lichtabsorption wurde damit wie bei einem Photometer gemessen und dadurch die Konzentration der Algen bestimmt. Um bei jedem Versuch gleiche Verhältnisse zu schaffen, wurde eine Box über den Reaktor gestellt. Dadurch beeinflusste das äußere Licht nicht den Versuch. Der Computer zeichnete dabei in Intervallen von 2 Wochen automatisch Werte auf und speicherte sie ab.

#### 4.2 Bau Photometer-Raspberry Pi

Wie ein Photometer und die Messmethode allgemein funktionieren, wurde im vorherigen Teil beschrieben. Der Laborversuch funktioniert mit der gleichen Methode, hingegen werden hierbei andere Messgeräte verwendet. Der Raspberry Pi schafft zusammen mit dem Programm LabPi eine recht günstige und praktische Alternative zum oben beschriebenen Photometer.

Darüber hinaus wurden ein Bildschirm, Maus und Tastatur als Aus- bzw. Eingabegeräte angeschlossen. Für ein funktionierendes Photometer wurde eine RGB-LED und ein TSL2561 Sensor benötigt, der die Lichtstärke misst. Schließlich wurde die LED als Tauchkörper im Becken angebracht und der Sensor eng an der Außenseite des Beckens befestigt. Die Software von LabPi gibt dabei eine exakte Entfernung von 1 cm zwischen Sensor und LED vor (siehe Abbildung 7). Dadurch konnte die optische Dichte kontinuierlich gemessen und aufgezeichnet werden. Dabei galt die Veränderung der optischen Dichte als Maß für das Algenwachstum.

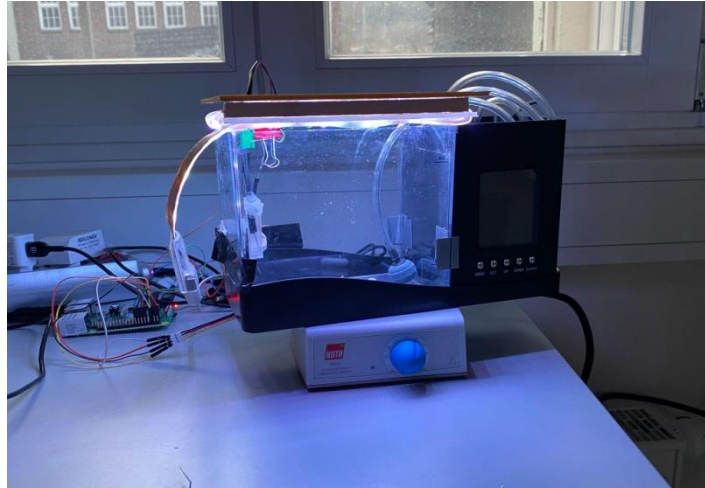


Abbildung 7: Photobioreaktor mit angeschlossener Raspberry Pi

### 4.3 Messergebnisse Photobioreaktor

Diagramme wurden erstellt mit dem LabPi System

#### 4.3.1 Wachstum bei weißem Licht

Messintervall:	2 Wochen
Maximal Absorption:	950.400 sek. nach Beginn (nach 264 Stunden) Absorbanz: 0,37 E
Latenzphase (s):	0 – 144.000
Wachstumsphase (s):	144.000 – 943.200 (222 Stunden)
Stationäre Phase (s):	943.200 – 990.000
Absterbephase (s):	990.000 – 1.209.600

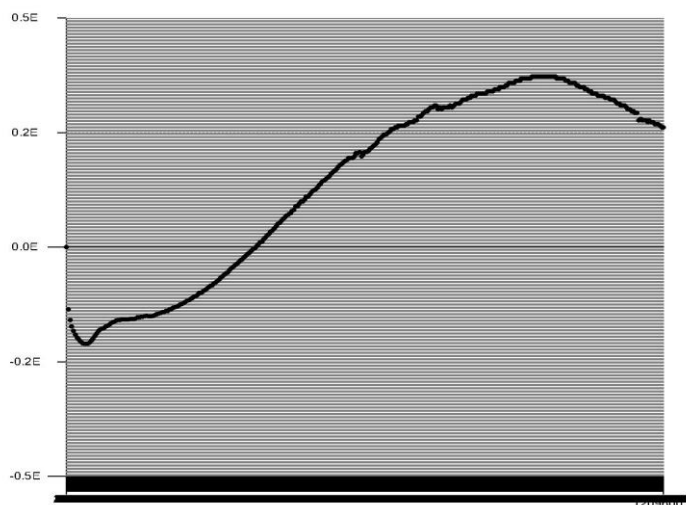


Abbildung 4: Wachstumskurve von Chlorella vulgaris bei weißem Licht

#### 4.3.2 Wachstum bei blauen Licht

Messintervall:	2 Wochen
Maximal Absorption:	1.209.600 sek. nach Beginn (nach 336 Stunden) Absorbanz: 0,87 E
Latenzphase (s):	0 – 50.400
Wachstumsphase (s):	129.600 – 1.209.600 (300 Stunden)
Stationäre Phase (s):	Nicht vorhanden
Absterbephase (s):	Nicht vorhanden

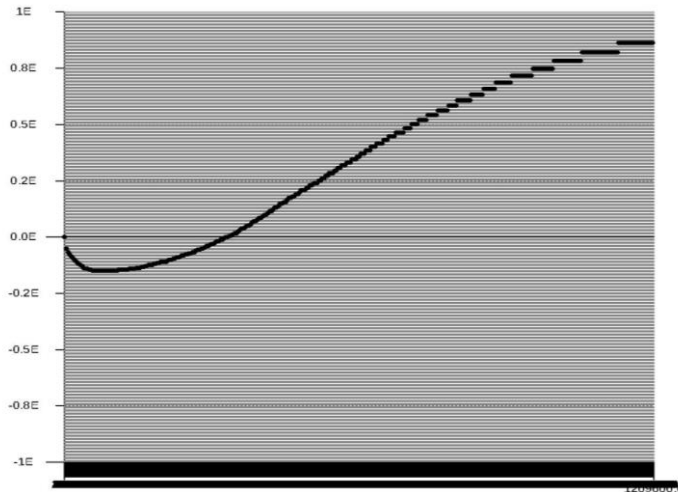


Abbildung 5: Wachstumskurve von *Chlorella vulgaris* bei blauem Licht

#### 4.3.3 Wachstum bei rotem Licht

Messintervall:	2 Wochen
Maximal Absorption:	1.209.600 sek. nach Beginn (nach 336 Stunden) Absorbanz: 0,29 E
Latenzphase (s):	0 – 313.200
Wachstumsphase (s):	313.200 – 1.209.600 (249 Stunden)
Stationäre Phase (s):	Nicht vorhanden
Absterbephase (s):	Nicht vorhanden

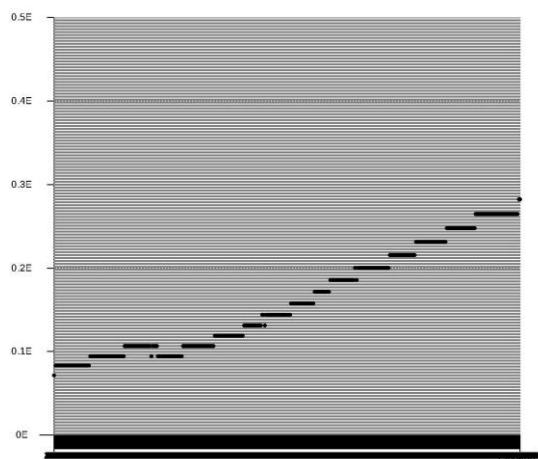


Abbildung 6: Wachstumskurve von *Chlorella vulgaris* bei rotem Licht

#### 4.4 Auswertung Versuch unter Laborbedingungen

In allen drei Versuchen stieg die optische Dichte im Messintervall sichtbar an. Unter dem Einfluss von weißem Licht zeigte sich eine beispielhafte Wachstumskurve. Allerdings setzt die Absterbephase im Gegensatz zu dem Ansatz mit blauem Licht sehr früh ein. Zudem beschränkte sich der Messzeitraum auf 14 Tage. Der Versuch mit blauem Licht ist offensichtlich der effektivste. Er erreichte die höchste optische Dichte bei 0,86 E. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass die Algen bei blauem Licht den größten Anteil an Biomasse produzieren. Es war zu erwarten, dass bei blauem und rotem Licht das Pflanzenwachstum am besten ist. Allerdings ist dabei zu berücksichtigen, dass das Wachstum bei rotem Licht nicht repräsentativ sein konnte, weil die Algen Stammkultur schon nicht mehr ganz frisch war und damit auch dieser Faktor Einfluss auf die Wachstumsdynamik genommen hat.

#### 4.5 Fehlerbetrachtung Versuch unter Laborbedingungen

Um Luft in das System zu bringen, wurde anfänglich eine Tropfbelüftung eingesetzt. Dadurch spritzten immer ein paar Tropfen Wasser an die Decke des Reaktors, die mit LEDs ausgekleidet war. Diese waren nach längerer Nutzung etwas wärmer geworden und ließen das harte Wasser verdunsten. Infolgedessen waren eine Kalkablagerung an der Decke und ein Volumenverlust nach jedem Versuchszeitraum festzustellen. Vor jedem neuen Versuch musste deshalb der Reaktor mit Essig gereinigt werden. Um den Verlust zu vermindern, wurde eine Tauchbelüftung eingesetzt, die das Wasser nicht plätschern ließ und einen präzisen Luftstrom in das Becken beförderte. Außerdem stieg durch die LEDs die Temperatur deutlich an, die dadurch nicht mehr konstant gehalten werden konnte. Im Testzeitraum konnte stets eine Temperaturdifferenz von circa 13 °C in der Nähe der LEDs ermittelt werden. Bei der Veränderung der Wassertemperatur konnte dauerhaft nach den Versuchen eine Temperaturdifferenz von circa 7 °C gemessen werden. Durch einen Magnetrührer mit Rührmagnet im Becken gelang es, die Algenkulturen gleichmäßig zu vermischen und dadurch bessere Ergebnisse zu erlangen. Die Durchführung der Experimente erfolgte nacheinander, sodass die Mikroalgen im Verlauf davon immer älter wurden. So ist etwa die optische Dichte bei rotem Licht am Beginn der Messungen anders als bei den anderen Farben. Rot war dabei der letzte durchgeführte Versuch..

## 5 Fazit

Das Ziel der vorliegenden Projektarbeit war es, das Potential von Mikroalgen zu erschließen, wobei Versuche der Freiland- und Labor Kultivierung im kleinen Maßstab durchgeführt wurden. Aus diesen Untersuchungen gehen die folgenden Ergebnisse hervor. Die Freilandkultivierung in offenen Systemen ist kostengünstig, umweltfreundlich und einfach in der Handhabung. Allerdings schwanken die Umwelteinflüsse der medialen Klimazone zu stark, um ein konstantes und effektives Wachstum der Algenkultur zu garantieren. Durch die direkten Außeneinflüsse konnte keine Reinkultur erhalten bleiben. Die Messwertaufnahme und -auswertung stellte sich als schwierig heraus, da die Messintervalle zu groß waren und keine Homogenität des Mediums gegeben war.

Die Kultivierung unter Laborbedingungen stellte sich zuerst durch den Aufbau komplizierter dar, jedoch war die Messwertaufnahme effektiver und quantitativ besser als die der Freilandkultivierung. Da der Reaktor ein geschlossenes System ist, konnte eine Reinkultur, die auch durch Rührtechnik homogen gehalten wurde, erhalten bleiben. Schaut man allerdings auf den ökologischen Aspekt, zeigt sich, dass durch den Energieverbrauch der Geräte eines Photobioreaktors die Open Ponds sehr viel klimafreundlicher sind. Bezüglich der verschiedenen Lichtspektren wurde herausgefunden, dass blaues Licht sich am besten zur Kultivierung von *Chlorella vulgaris* eignet. Allerdings kann diese Aussage nicht vollwertig als repräsentativ betrachtet werden, da die verwendete Stammkultur wahrscheinlich zum Zeitpunkt des Versuchs mit rotem Licht bereits gealtert war.

Beide Arten der Kultivierung sind auch im großen Maßstab zu finden. Algen tragen mit den Inhaltsstoffen ihrer Biomasse zu unserem Alltag bei, weshalb die wissenschaftliche Weiterentwicklung der Kultivierungssysteme von Bedeutung ist. Die Möglichkeiten der Anwendung reichen sogar in den Bereich der Biokraftstoffe. Dennoch zeigt die Forschung an der Thematik auch viele Grenzen auf, die es zu überwinden gilt.

Insgesamt kann man schließen, dass abiotische Faktoren einen großen Einfluss auf Mikroalgen haben und zur effektiven Kultivierung optimal angepasst werden müssen. Wirtschaftlich gesehen haben Mikroalgen großes Potential, vor allem auch im ökologischen Aspekt. Leider wird dieses Konzept aktuell nicht wissenschaftlich priorisiert.

## **6 Unterstützungsleistung**

Wir möchten uns an dieser Stelle bei allen Personen bedanken, die uns bei der Erstellung dieser Projektarbeit unterstützt haben.

Ein besonderer Dank geht an das Schülerforschungszentrum Jena, welcher uns maßgeblich finanziell unterstützt hat. Des Weiteren möchten wir uns ausdrücklich auch bei Frau Dr. Christina Walther bedanken, für die hervorragende Betreuung und enorme Unterstützung als Außenbetreuer unserer Projektarbeit.

Darüber gilt unser äußerster Dank Frau Prof. Dr. Stephanie Stute, für ihre schnelle, überaus freundliche und motivierte Bereitschaft zu einem Interview.

Außerdem wollen wir uns herzlichst bei Prof. Dr. Timm Wilke für seine fachliche Beratung zum LabPi System bedanken.

## 7 Quellen

- BIALON, J. J. (2017): Modelle für die Wachstumsraten von *Chlorellavulgaris* bei unterschiedlichen Photonenabsorptionsraten und Lichtspektren. Dissertation. - Naturwissenschaftlichen Fakultät der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover <<https://www.repo.uni-hannover.de/bitstream/handle/123456789/8992/1002778255.pdf?sequence=1>>(Stand: 23.10.2017) (Zugriff: 07.09.2021)
- BUNDESREGIERUNG (2021): Generationenvertrag für das Klima, Klimaschutzgesetz 2021, <<https://www.bundesregierung.de/breg-de/themen/klimaschutz/klimaschutzgesetz-2021-1913672>> (Stand: 2021) (Zugriff:13.09.2021)
- DECHEMA (2009): Bestandsaufnahme, Vision und strategische Weiterentwicklung. Positionspapier. Fachgruppe Algenbiologie der Dechema, <[https://dechema.de/Gremien+und+Netzwerke/Biotechnologie/Gremien/Algenbiotechnologie/\\_/Algenpapier\\_V2.pdf](https://dechema.de/Gremien+und+Netzwerke/Biotechnologie/Gremien/Algenbiotechnologie/_/Algenpapier_V2.pdf)> (Stand: 2009) (Zugriff: 23.01.2022)
- DECHEMA(2016): Mikroalgen-Biotechnologie. Gegenwärtiger Stand, Herausforderungen, Ziele. – DEHEMA-Fachgruppe „Algenbiotechnologie“ <[https://dechema.de/dechema\\_media/Downloads/Positionspapiere/PP\\_Algenbio\\_2016\\_ez1.pdf](https://dechema.de/dechema_media/Downloads/Positionspapiere/PP_Algenbio_2016_ez1.pdf)> (Stand: 02.2016) (Zugriff: 23.01.2022)
- ECKE, M. (2005): Mikroalgen der Spezies *Chlorella vulgaris* - ein Naturprodukt mit in Europa bisher unbeachtetem pharmazeutischen Potential. Bioprodukte Prof. Steinberg: GmbH
- HEMPEL (2013): Biodiesel aus Mikroalgen. Dissertation. – Fakultät III - Prozesswissenschaften der Technischen Universität Berlin, <[https://depositonce.tu-berlin.de/bitstream/11303/3932/1/Dokument\\_3.pdf](https://depositonce.tu-berlin.de/bitstream/11303/3932/1/Dokument_3.pdf)> (Stand: 06.06.2013) (Zugriff: 20.05.2022)
- KLIMAAKTIV (2017): Algen. Das Grüne Gold der Zukunft. – Klimaaktiv nawaromarkt,<[https://www.klimaaktiv.at/dam/jcr:602b444a-1da7-4f8f-9cf3-2c84b6c9d9cc/Fachinfo\\_Algen\\_FINAL-2.pdf](https://www.klimaaktiv.at/dam/jcr:602b444a-1da7-4f8f-9cf3-2c84b6c9d9cc/Fachinfo_Algen_FINAL-2.pdf)> (Stand: März, 2017) (Zugriff: 18.03.2022)

KAYSER, O. (2013): Grundwissen Pharmazeutische Biotechnologie. Wiesbaden: Vieweg+Teubner Verlag.

SCHARFF, C. (2018): Einfluss elektromagnetischer Strahlung auf Wachstums- und Stoffwechselprozesse bei Mikroalgen aus der Abteilung Chlorophyta. Dissertation. - Naturwissenschaftlichen Fakultät III Agrar- und Ernährungswissenschaften, Geowissenschaften und Informatik <<https://opendata.uni-halle.de/bitstream/1981185920/8972/1/Einfluss%20elektromagnetischer%20Strahlung%20auf%20Wachstums-%20und%20Stoffwechselprozesse%20bei%20Mikroalgen%20aus%20der%20Abteilung%20Chlorophyta%20%20online.pdf>> (Stand: 9.4.18) (Zugriff:11.06.2022)

STEINBUSCH (2015): Einfluss von Licht und Temperatur auf die Kultivierung von Mikroalgen. Dissertation – Auslegung und Betrieb von Freiland-Pilotanlagen zur Bestimmung prozessrelevanter Kinetiken - <<https://d-nb.info/1074463633/34>>(Stand: 10.07.2015) (Zugriff: 19.02.2022)

WILD, A. (2003): Pflanzenphysiologie in Fragen und Antworten. Eine Studienhilfe für Schule und Hochschule. Mainz: Quelle & Meyer Verlag Wiebelsheim.

