

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik

Biomasse- und Lipidherstellung mit *Microchloropsis salina* in offenen Flachgerinnereaktoren

Torben Ansgar Schädler

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Maschinenwesen
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktor-Ingenieurs

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr.-Ing. Hartmut Spliethoff
Prüfer der Dissertation: 1. Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz
2. Prof. Dr. Thomas Brück

Die Dissertation wurde am 21.10.2020 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Maschinenwesen am 12.04.2021 angenommen.

Danksagung

Die vorliegende Dissertation entstand im Rahmen meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik der Technischen Universität München unter der Leitung von Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz. Zur Entstehung dieser Dissertation haben viele Personen auf unterschiedliche Art und Weise beigetragen, bei denen ich mich an dieser Stelle herzlichst bedanken möchte.

Zuallererst gilt mein Dank Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz für seine hervorragende Betreuung, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Ich danke ihm für seine stete Unterstützung, hilfreichen Gedankenanstöße und auch für die kritische Beurteilung meiner wissenschaftlichen Arbeit. Vor allem danke ich für das entgegengebrachte Vertrauen, meine Arbeit unter umfangreichen Freiheiten im Algentechnikum durchführen zu können.

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. Thomas Brück als Zweitprüfer und Prof. Dr.-Ing. Hartmut Spliethoff als Prüfungsvorsitzender für die Übernahme der jeweiligen Aufgabe.

Außerdem danke ich Prof. Dr. Thomas Brück, Dr. Daniel Garbe und Dr. Andreas Schuster für die sehr gute Zusammenarbeit rund um das Algentechnikum und den Ludwig-Bölkow-Campus.

Ich danke auch meinen weiteren Kooperationspartnern Prof. Dr. Christoph Haisch, Dr. Anna-Catherine Neumann-Cip, Dr. Karin Wieland, Benjamin Portner und Lara Milaković für die gemeinsame Forschungsarbeit und die zahlreichen anregenden Gespräche.

Ich bedanke mich bei Dr. Andreas Apel für seine Unterstützung während meiner ersten Schritte im Algentechnikum, sowie bei meinen Kollegen Lara Wolf, Ayse Koruyucu, Dr. Timm Severin und Dr. Paula Fraga Garcia für die gute Zusammenarbeit zum Thema Mikroalgen.

Mein Dank gilt auch Daniel Caballero Cerbon, Andreas Glatt, Luis de Oliveira, Natascha Mittwollen, David Brandes, Dominik Brunner, Daniel Maugg, Anna-Lena Thurn, Angelina Tzanavari und Philippe Kollovieh für ihre studentische Unterstützung im Labor und Algentechnikum.

Bei allen (ehemaligen) Kollegen am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik, dem Fachgebiet für Systembiotechnologie und der Professur für Selektive Trenntechnik möchte ich mich für die Zusammenarbeit und die großartige Arbeitsatmosphäre bedanken.

Zuletzt danke ich meinen Eltern und meiner Freundin Julia für ihren bedingungslosen Rückhalt, ihre Unterstützung und ihre Teilnahme an meiner Arbeit. Zugegeben, ich danke Julia außerdem für ihre leckeren Kuchen, wenn ich mal wieder an der Reihe war. Meine Kollegen sehen es bestimmt ähnlich.

Inhalt

1	Einleitung	1
2	Problemstellung und Zielsetzung	3
3	Theoretische Grundlagen	7
3.1	Mikroalgen	7
3.1.1	Industrielle Nutzung von Mikroalgen	7
3.1.2	Phototropher Metabolismus	10
3.1.3	Einflussfaktoren auf das Wachstum von Mikroalgen	12
3.2	Photobioreaktoren	20
3.2.1	Anforderungen an Photobioreaktoren	21
3.2.2	Offene Photobioreaktoren	22
3.2.3	Geschlossene Photobioreaktoren	26
3.3	Modellierung phototropher Bioprozesse	28
3.3.1	Kinetik des Mikroalgenwachstums	29
3.3.2	Betrieb von Bioreaktoren	34
4	Material und Methoden	40
4.1	TUM-Algentechnikum und Klimasimulation	40
4.2	Mikroalgenstamm <i>Microchloropsis salina</i>	42
4.3	Reaktionsmedien	43
4.4	Aufbau und Betrieb offener Flachgerinnereaktoren	44
4.4.1	Flachgerinnereaktoren mit 8 m ² Grundfläche	44
4.4.2	Flachgerinnereaktor mit 50 m ² Grundfläche	47
4.4.3	Kontinuierlicher Betrieb der Flachgerinnereaktoren	48
4.4.4	Vorkulturherstellung	50
4.4.5	Reaktorreinigung	50
4.5	Zellabtrennung und Wasserrecycling	51
4.6	Analytische Methoden	51
4.6.1	Optische Dichte	51
4.6.2	Biotrockenmasse	51
4.6.3	Salinität	52
4.6.4	Alkalinität	52
4.6.5	Nitrat	52
4.6.6	Harnstoff	52
4.6.7	Lipide	53

4.7	Prozesskenngrößen	54
4.7.1	Spezifische Wachstumsrate	54
4.7.2	Produktivität	55
4.7.3	Effizienz des CO ₂ -Umsatzes	56
4.8	Modellierung der Biomasse- und Lipidproduktion mit <i>Microchloropsis salina</i>	57
4.8.1	Kinetik des Mikroalgenwachstums	57
4.8.2	Kinetik der Lipidbildung	58
4.8.3	Simulation von Wachstum und Lipidbildung	60
5	Effiziente Produktion von Mikroalgenbiomasse mit <i>Microchloropsis salina</i> im Flachgerinnereaktor	62
5.1	Mikroalgenprozesse im Flachgerinnereaktor mit Wasserrecycling	62
5.1.1	Wasserrecycling mit Kaliumnitrat als Stickstoffquelle	62
5.1.2	Wasserrecycling mit Harnstoff und Sulfatsupplementierung	66
5.2	Effizienz des CO ₂ -Umsatzes mit Harnstoff als Stickstoffquelle	70
5.3	Reduktion des hydraulischen Leistungseintrags im Flachgerinnereaktor	75
6	Lipidproduktion mit <i>Microchloropsis salina</i> im Flachgerinnereaktor	80
6.1	Lipidproduktion im Satzverfahren	80
6.1.1	Einfluss der Stickstofflimitierung auf die Lipidbildung	80
6.1.2	Einfluss der initialen Stickstoffkonzentration auf die Lipidbildung	87
6.2	Kontinuierliche Lipidproduktion	91
6.3	Simulation von Mikroalgenprozessen mit <i>Microchloropsis salina</i> im Flachgerinnereaktor	96
6.3.1	Identifikation von Modellparametern	96
6.3.2	Validierung des Modellansatzes in Satzprozessen	101
6.3.3	Validierung des Modellansatzes mit Fließgleichgewichtszuständen in kontinuierlichen Prozessen	104
6.3.4	Diskussion	105
6.4	Modellgestützte Maßstabsvergrößerung der kontinuierlichen Lipidproduktion	107
6.5	Abschätzung der Produktionskosten von Mikroalgenbiomasse und Lipiden in autarken Flachgerinnereaktoren	118
6.5.1	Flachgerinnereaktoren	118
6.5.2	Produktion von Kohlenstoffdioxid	120
6.5.3	Produktion von Süßwasser	121
6.5.4	Stromerzeugung	122
6.5.5	Produktion von Mikroalgenbiomasse und Lipiden	123
6.5.6	Diskussion	127
7	Zusammenfassung	130
8	Ausblick	137

Literaturverzeichnis	139
Abkürzungs- und Symbolverzeichnis	152
Anhang	155
A.1. Verwendete Geräte	155
A.2. Verwendete Materialien und Chemikalien	158

1 Einleitung

Der globale Primärenergieverbrauch wird aktuell zu etwa 82% aus fossilen Rohstoffen, hauptsächlich Erdöl, Erdgas und Kohle, gedeckt (BGR, 2020). Die bei deren Verbrennung emittierten Treibhausgase gelten als Hauptverursacher des Klimawandels und der globalen Erwärmung (IPCC, 2018). Sind die dadurch entstehenden Kosten und Folgeschäden schon heute erheblich – beispielsweise durch Extremwetterereignisse, Ernteausfälle, mangelnde Wasserversorgung oder gesundheitliche Beeinträchtigungen – so ist bei einem prognostizierten Anstieg der Weltbevölkerung auf bis zu 11 Mrd. Menschen bis 2100 eine weitere Zunahme des Energiebedarfs zu erwarten (Jones und Warner, 2016). Vor diesem Hintergrund ist der Wandel hin zu einer nachhaltigen, decarbonisierten Kreislaufwirtschaft zwingend notwendig, um die Erderwärmung auf das international angestrebte Ziel von 1,5–2 °C bis zum Ende des Jahrhunderts zu begrenzen (European Commission, 2018).

Wegen ihrer intrinsischen Kreislaufnutzung von Ressourcen ist dabei die Bioökonomie von zentraler Bedeutung. Als ein Schlüsselrohstoff einer nachhaltigen Bioökonomie gilt Mikroalgenbiomasse (Bell et al., 2018). Mikroalgen nutzen Sonnenlicht und Kohlenstoffdioxid aus der Luft oder industriellen Abgasen zum Aufbau ihrer Biomasse und können darüber hinaus Stickstoff und Phosphor aus urbanen oder landwirtschaftlichen Abwässern rückgewinnen (Ubando et al., 2020; Venkata Mohan et al., 2020). Einige Spezies akkumulieren bei geeigneten Wachstumsbedingungen hohe Anteile ihrer Biomasse in Form von Speicherlipiden, was sie zu einem vielversprechenden Rohstoff zur Produktion von Flüssigkraftstoffen und Plattformchemikalien macht (Hu et al., 2008). Im Gegensatz zu Biokraftstoffen der ersten Generation aus beispielsweise Zuckerrohr, Zuckerrüben oder Mais, oder der zweiten Generation aus lignocellulosehaltigen Agrarreststoffen gelten nach aktuellen Projektionen nur Biokraftstoffe aus Mikroalgen als langfristig und nachhaltig umsetzbar (Brennan und Owende, 2010; Enamala et al., 2018). Im Vergleich zu konventionellen Agrarpflanzen erreichen Mikroalgen vielfach höhere Erträge bei einem gleichzeitig geringeren Verbrauch von Süßwasser und einer weniger stark ausgeprägten saisonalen Wetterabhängigkeit (Posten, 2012). Da die Produktion von Mikroalgen zudem nicht auf fruchtbare Böden angewiesen ist, kann die unter dem Begriff *‘food or fuel’* bekannte

Konkurrenz zur Lebensmittelproduktion um Agrarflächen umgangen werden (Schenk et al., 2008; Moody et al., 2014).

Zwar wird die Produktion und Nutzung von Mikroalgenbiomasse bereits seit etwa 70 Jahren erforscht, allerdings haben sich gegenwärtig nur wenige Prozesse zur Gewinnung einiger Spezialchemikalien, Nahrungsergänzungsmittel oder Pharmazeutika wie beispielsweise Pigmente, Vitamine und essentielle Fettsäuren wirtschaftlich etabliert (Oncel, 2013; Slocombe und Benemann, 2016). Zudem werden Mikroalgen als Tierfutter vor allem für die Aquakultur eingesetzt. Die kommerzielle Produktion mikroalgenbasierter Flüssigkraftstoffe oder Plattformchemikalien mit geringerer Wertschöpfung konnte bislang jedoch nicht realisiert werden. Dies liegt vor allem an den im Vergleich zu Landpflanzen zu hohen Kosten der Kultivierung und Ernte der Mikroalgenbiomasse, weshalb effizientere Produktionsverfahren verfügbar gemacht werden müssen (Wijffels und Barbosa, 2010; Laurens et al., 2017).

2 Problemstellung und Zielsetzung

Das photoautotrophe Wachstum von Mikroalgen auf Basis von Sonnenlicht und Kohlenstoffdioxid (CO₂) stellt eine interessante Möglichkeit zur nachhaltigen Gewinnung von Biomasse dar (Moheimani et al., 2015). Vor allem die Fähigkeit mancher Mikroalgenspezies, große Mengen an Lipiden zu akkumulieren, gilt als vielversprechender Ansatz zur Produktion von Plattformchemikalien und Biokraftstoffen (Chisti, 2007; Jacob-Lopes et al., 2018). Die Nutzung von Mikroalgen zur Herstellung von Biokraftstoffen bietet den Vorteil, im Vergleich zu klassischen Agrarpflanzen um ein vielfaches höhere Produktivitäten zu erreichen und keine fruchtbaren Böden zu benötigen, so dass eine Konkurrenz zur Lebensmittelproduktion vermieden werden kann (Schenk et al., 2008; Singh et al., 2011; Behera et al., 2015).

Die Kultivierungssysteme zur Herstellung von Mikroalgenbiomasse werden in offene und geschlossene Photobioreaktoren eingeteilt, deren Hauptaufgabe die möglichst gleichmäßige Verteilung von Licht in der Algensuspension darstellt. Während die Algensuspension in offenen Photobioreaktoren im direkten Kontakt zur Atmosphäre steht, ist die Kultur in geschlossenen Reaktoren durch transparente Gefäßwände vollständig von der umliegenden Atmosphäre abgetrennt. Obwohl letztere eine bessere Kontrollierbarkeit der Wachstumsbedingungen bieten und die Kultur vor Kontaminationen von außen schützen, gilt die Installation und der Betrieb geschlossener Photobioreaktoren wegen ihrer höheren Komplexität und schlechten Skalierbarkeit als zu teuer für die industrielle Herstellung von Produkten mit geringer Wertschöpfung (Zittelli et al., 2013b). Es hat sich daher die Annahme durchgesetzt, dass nur einfache, offene Reaktorsysteme unter freiem Himmel für eine wirtschaftliche Produktion von Mikroalgenbiomasse als Rohstoff für Biokraftstoffe geeignet sein können (Borowitzka und Moheimani, 2013).

Der am weitesten verbreitete Typ offener Photobioreaktoren ist der sogenannte *Raceway Pond*, ein mit Teichfolie ausgekleideter Kanal, in dem die Mikroalgensuspension mit einer Schichttiefe von 15–30 cm mit Hilfe eines Schaufelrads ebenerdig zirkuliert wird. Die hohe Schichttiefe sowie eine langsame Durchmischung führen jedoch zu einer schlechten Lichtverfügbarkeit im Reaktor, so dass das Mikroalgenwachstum und die Biomasseproduktivität bereits bei Biotrockenmasse- (BTM) Konzentrationen von nur 0,5–1,0 g L⁻¹ stark abnehmen (Doucha und Lívanský, 2014; de Vree et al., 2015). Dies wiederum erfordert die Abtrennung

großer Mengen an Wasser bei der Produktaufarbeitung, was einen der größten Kostenfaktoren bei der Biomasseproduktion darstellt (Enamala et al., 2018). Folglich konnte eine wirtschaftliche Herstellung von Mikroalgenbiomasse als Rohstoff für Kraftstoffe oder Plattformchemikalien, trotz der Vorteile gegenüber Landpflanzen, bislang wegen zu hoher Kosten der Biomasseproduktion nicht realisiert werden (Acién et al., 2017a; Laurens et al., 2017).

Ein Ansatz zur Senkung der Aufarbeitungskosten ist die Verwendung von Reaktorsystemen mit dünner Schichtdicke und guter Durchmischung, in denen durch eine bessere Lichtverfügbarkeit höhere volumetrische Produktivitäten und Biomassekonzentrationen erzielt werden können (Doucha und Lívanský, 1995; Grivalský et al., 2019). Zu diesem Zweck wurde an der Technischen Universität München (TUM) kürzlich ein ursprünglich in den 1960er Jahren in der ehemaligen Tschechoslowakei entworfener Reaktortyp weiterentwickelt und charakterisiert (Apel et al., 2017; Severin et al., 2018). Diese offenen Flachgerinnereaktoren (FGR, engl. thin-layer cascades) zeichnen sich durch ein um etwa 1° geneigtes Gerinne aus Teichfolie aus, über das die Algensuspension schwerkraftgetrieben in einer nur wenige Millimeter dünnen Schicht herabfließt. Nach dem Durchlauf wird die Suspension von einer Kreiselpumpe zurück an den Ausgangspunkt des Gerinnes befördert. Solche Flachgerinnereaktoren werden im kürzlich errichteten Algentechnikum der TUM auf dem Ludwig-Bölkow-Campus in Ottobrunn betrieben. Dieses Forschungsgebäude ermöglicht in drei Glashallen die physikalische Simulation realistischer Klimabedingungen mit dynamischer Sonnenlichtintensität und Lufttemperatur, um phototrophe Prozesse unter reproduzierbaren Bedingungen evaluieren und skalieren zu können. Auf diese Weise wurden bei Simulation eines spanischen Sommertages mit der Meerwasserspezies *Microchloropsis salina* (*M. salina*, früher *Nannochloropsis salina*) im FGR maximale BTM-Konzentrationen von bis zu 50 g L^{-1} und flächenbezogene BTM-Produktivitäten von bis zu $30 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ bei einer optimalen BTM-Konzentration im Bereich von $15\text{--}20 \text{ g L}^{-1}$ erreicht (Apel et al., 2017; Pfaffinger et al., 2019). Der Einsatz saliner Mikroalgen ist dabei notwendig, um mikrobielle Kontaminationen im offenen Reaktor durch selektive Kultivierungsbedingungen bei einem hohen Salzgehalt und alkalischem pH weitestgehend zu vermeiden (Bartley et al., 2013; Bartley et al., 2014). *M. salina* oder verwandte *Nannochloropsis* sp. können unter stickstofflimitierten Wachstumsbedingungen außerdem bis zu 60% ihrer Trockenmasse in Form von Lipiden akkumulieren, was diese Spezies besonders für die Produktion von Flüssigkraftstoffen interessant macht (Rodolfi et al., 2009; Pfaffinger et al., 2016; Liu et al., 2017). Pfaffinger et al.

(2016, 2019) charakterisierten zudem bereits die lichtabhängige Wachstumskinetik von *M. salina*, was die Auslegung und Skalierung von Prozessen mit diesem Stamm ermöglicht.

Neben der Kultivierung in dünnen Suspensionsschichten ist ein weiterer Ansatz zur Reduktion der Gesamtkosten der Mikroalgenproduktion die Kreislaufführung des eingesetzten Prozesswassers. Nach Abtrennung der Biomasse könnten auf diese Weise unverbrauchte Nährstoffe wiederverwertet und Kosten für die Mediumbereitstellung und Abwasserbehandlung eingespart werden (Farooq et al., 2015b; Lu et al., 2020). Hierbei muss jedoch untersucht werden, inwiefern sich die Kreislaufführung des Wassers auf die Mikroalgenprozesse auswirkt. So ist beispielsweise eine Reduktion des Wachstums durch autoinhibitorische Substanzen denkbar, die durch Sekretion oder Lyse freigesetzt werden könnten (Richmond und Zou, 1999; Rodolfi et al., 2003). Bisherige Studien zu diesem Thema wurden größtenteils bei niedrigen Biomassekonzentrationen von $< 6 \text{ g L}^{-1}$ in geschlossenen Photobioreaktoren durchgeführt und lieferten divergente Ergebnisse. So wurden in unterschiedlichen Studien sowohl inhibitorische Effekte als auch wachstumsfördernde Effekte beobachtet, letztere vermutlich hervorgerufen durch die zusätzliche Nutzung akkumulierter organischer Kohlenstoffverbindungen als heterotrophe Substrate (Hadj-Romdhane et al., 2013; Fon Sing et al., 2014). Die Kreislaufführung des Wassers bei sehr hohen BTM-Konzentrationen von mehr als 20 g L^{-1} , wie sie im FGR erreicht werden, könnte jedoch zu einer verstärkten Akkumulation von Substanzen im Kultivierungsmedium und deutlichen Auswirkungen auf die Mikroalgenprozesse führen. Durch eine Reihe von sequentiellen Satzprozessen mit *M. salina* unter Wiederverwendung des Prozesswassers nach der Zellabtrennung soll daher der Einfluss auf die Mikroalgenprozesse bei realistischen Klimabedingungen untersucht und eine Strategie zur möglichst weitgehenden Kreislaufführung des Wassers erarbeitet werden.

In bisherigen Mikroalgenprozessen in Flachgerinnereaktoren im Algentechnikum wurden bei längerem Satzbetrieb von 2–4 Wochen nur 10–20% des als Kohlenstoffquelle eingesetzten CO_2 in Biomasse fixiert (Apel et al., 2017). Auch für Raceway Ponds werden typische CO_2 -Umsätze von nur 13–20% beschrieben (Doucha und Lívanský, 2006). Etwa 80–90% des eingesetzten CO_2 gehen folglich an die Atmosphäre verloren, was je nach Bezugsquelle für CO_2 einen wesentlichen Kostenfaktor darstellen kann. Zur weiteren Effizienzsteigerung des Gesamtprozesses soll in dieser Arbeit daher untersucht werden, was die Ursache für die geringe CO_2 -Umsatzeffizienz ist und wie diese gesteigert werden kann.

Zudem ist der biomassespezifische hydraulische Leistungseintrag im FGR durch Einsatz einer Kreiselpumpe um den Faktor 2–3 größer als im Schaufelrad-angetriebenen Raceway Pond (Apel, 2017). Da die Mikroalgensuspension nachts kein CO₂ fixiert, könnte die automatisierte nächtliche Abschaltung der Kreiselpumpe den Energiebedarf senken. Die Mikroalgensuspension würde dabei im Sammelbecken am tiefsten Punkt des Gerinnes aufgefangen werden. Allerdings muss untersucht werden, wie sich dies auf die Biomasseproduktivität des Prozesses auswirkt.

Für die Nutzung von Mikroalgen als Rohstoff zur Produktion von Flüssigkraftstoffen ist vor allem ein möglichst hoher Lipidanteil in der Biomasse von Interesse, da Lipide eine besonders hohe Energiedichte aufweisen und in einem für Landpflanzen bereits industriell etablierten Prozess zu Biodiesel umgesetzt werden können (Benemann, 2013). In geschlossenen Laborreaktoren wurde vielfach gezeigt, dass einige Mikroalgenspezies unter bestimmten Stressbedingungen wie einer Stickstofflimitierung Lipidgehalte von bis zu 60% akkumulieren können (Chisti, 2007; Hu et al., 2008). Allerdings konnten diese Prozesse zur Lipidproduktion bislang nicht erfolgreich in offene Reaktorsysteme bei realen Klimabedingungen übertragen werden. In der einzigen veröffentlichten Studie zur Lipidproduktion im FGR halbierte sich der maximale Lipidgehalt von *Chlorella vulgaris* von 57% im geschlossenen Laborreaktor auf 30% im offenen FGR (Přibyl et al., 2012). Dennoch wurde dabei die höchste publizierte Lipidkonzentration unter realen Klimabedingungen von 1,7 g L⁻¹ erzielt. Auch mit *Microchloropsis gaditana* reduzierte sich der maximale Lipidanteil von 38% in einem geschlossenen Röhrensystem auf 24% im offenen Raceway Pond (San Pedro et al., 2014; 2015). Mit *M. salina* wurden in Raceway Ponds bislang nur Lipidanteile von bis zu 25% bei Lipidkonzentrationen von < 0,4 g L⁻¹ erreicht (Boussiba et al., 1987; Crowe et al., 2012). Eine weitere Zielsetzung dieser Arbeit ist daher die Erforschung von Verfahrensweisen und Kultivierungsbedingungen, mit denen hohe Lipidanteile und -produktivitäten mit *M. salina* im FGR erzielt werden können. Um dabei den hohen experimentellen Aufwand der oft mehrwöchigen Mikroalgenkultivierungen zu reduzieren, sollen Biomassewachstum und Lipidbildung von *M. salina* im FGR unter dynamischen Klimabedingungen modelliert und simuliert werden. Anschließend soll die modellgestützte Maßstabsvergrößerung eines Prozesses vom 8 m² (Standard-FGR im Algentechnikum) in den 50 m²-Maßstab erfolgen, um die Skalierbarkeit der Lipidproduktion zu untersuchen.

3 Theoretische Grundlagen

Das folgende Kapitel beschreibt zunächst einige Eigenschaften von Mikroalgen und das daraus resultierende industrielle Interesse an diesen Organismen. Ihr phototropher Metabolismus sowie die wesentlichen Einflussfaktoren auf das Wachstum von Mikroalgen werden erläutert. Anschließend werden die wichtigsten Kultivierungssysteme für Mikroalgen mit einem Fokus auf den hier verwendeten Flachgerinnereaktor vorgestellt. Zuletzt werden die Grundlagen zur mathematischen Beschreibung phototropher Mikroalgenprozesse erläutert.

3.1 Mikroalgen

Algen sind eine breite Gruppe pflanzenartiger, Photosynthese betreibender Organismen. Im Gegensatz zu den höheren Landpflanzen sind die größtenteils aquatischen Algen jedoch strukturell einfacher aufgebaut und weisen keine innere Differenzierung in Wurzeln, Stämme und Blätter mit spezialisierten Gewebetypen auf. Sie lassen sich in vielzellige, bis zu 60 m lange Makroalgen (zum Beispiel Seetang) und einzellige Mikroalgen einteilen. Marine Algen sind schätzungsweise für 50% der globalen Sauerstoffproduktion verantwortlich und stellen als Phytoplankton die wichtigsten primären Biomasseproduzenten der Erde dar (Posten, 2012; Andersen, 2013).

Mikroalgenzellen haben typischerweise einen Durchmesser von nur wenigen Mikrometern, bilden teilweise aber auch größere Zellaggregate. Sie kommen meist submers in Süß- oder Salzwässern vor, haben je nach Spezies aber auch terrestrische Lebensräume, zum Beispiel auf Böden, Felsen oder Pflanzen. Aufgrund ihrer ähnlichen Lebensweise werden auch die prokaryotischen Cyanobakterien (Blualgen) meist zu den ansonsten eukaryotischen Mikroalgen gezählt (Barsanti und Gualtieri, 2014).

3.1.1 Industrielle Nutzung von Mikroalgen

Während natürliche Vorkommen an Mikro- und vor allem Makroalgen insbesondere im asiatischen Raum seit jeher traditioneller Bestandteil der Ernährung sind, begann die gezielte Kultivierung von Mikroalgen im Vergleich zum Jahrtausende alten Anbau von Landpflanzen

erst vor etwa 150 Jahren. Wurden Laborkulturen von Mikroalgen anfangs hauptsächlich zur Erforschung der Photosynthese und pflanzlichen Zellphysiologie genutzt, erkannte man in den 1940er Jahren, dass einige Spezies hohe Anteile ihres Trockengewichts in Form von Lipiden anreichern können, weshalb sie eine potentielle Quelle zur Produktion von Ölen darstellen. Daraufhin entwickelte sich ab den 50er Jahren ein industrielles Interesse an Mikroalgen zur Produktion von Ölen, Proteinen und biologisch aktiven Substanzen für den Futter-, Lebensmittel- und Pharmabereich, was die Entwicklung größerer Kultivierungssysteme unter wirtschaftlichen Gesichtspunkten erforderte. Mit dem „Aquatic Species Programme“ des US Energieministeriums begann erst in den 1980er Jahren die verstärkte Erforschung von Algenbiomasse als Rohstoff zur Produktion von Flüssigkraftstoffen (Borowitzka, 2013; Barsanti und Gualtieri, 2014).

Obwohl der Artenreichtum von Mikroalgen auf einige hunderttausend geschätzt wird, werden bislang nur etwa ein Dutzend Spezies mit einem jährlichen Produktionsvolumen von etwa 30.000 Tonnen kommerziell genutzt, von denen die wichtigsten Vertreter aus den marinen Gattungen *Athrospira*, *Chlorella* und *Dunaliella* stammen (Posten, 2012; Slocombe und Benemann, 2016). Die Mikroalgenbiomasse wird wegen ihres hohen Gehalts an Proteinen, langkettigen ungesättigten Fettsäuren und Vitaminen als Nahrungsergänzungsmittel, Lebensmittelzusatz, für Kosmetika und zum Beispiel für die Aquakultur als Tierfutter eingesetzt. Darüber hinaus werden einige hochwertige Produkte aus Algenbiomasse extrahiert und als Reinstoffe vermarktet. Zu diesen zählen beispielsweise Omega-3-Fettsäuren oder die Pigmentgruppen der Carotine und Phycobiliproteine, die als Lebensmittelfarbstoffe eingesetzt werden. Die Produktion der Mikroalgenbiomasse findet größtenteils in offenen Becken unter freiem Himmel bei selektiven Kultivierungsparametern statt, während teurere geschlossene Kultivierungssysteme auf einige hochwertige Feinchemikalien beschränkt sind (Spolaore et al., 2006; Milledge, 2011; Enamala et al., 2018).

Wie Landpflanzen nutzen auch Mikroalgen Lichtenergie und CO₂ zum Aufbau von Biomasse, was sie vor allem im Hinblick auf den Klimawandel heute mehr denn je zu einem vielversprechenden Rohstoff für eine nachhaltige Bioökonomie macht. Durch die Möglichkeit zur Rezirkulierung von Kohlenstoffdioxid aus Abgasen, sowie von Stickstoff und Phosphor aus städtischen oder industriellen Abwässern kann die Nutzung von Mikroalgenbiomasse zu mehreren der *Ziele* für *nachhaltige Entwicklung* der Vereinten Nationen beitragen, beispielsweise in den Bereichen Ernährung, saubere Energie und Klimaschutz (Behera et al.,

2015; United Nations General Assembly, 2015; Venkata Mohan et al., 2020). Die Europäische Union zählt Algenbiomasse daher zu einem Schlüsselrohstoff ihrer 2018 beschlossenen Bioökonomiestrategie (Bell et al., 2018). Gegenüber klassischen Agrarpflanzen bieten Mikroalgen dabei wesentliche Vorteile: Sie können etwa 10-fach höhere Produktivitäten bei kürzeren Wachstumszyklen und einer geringeren Abhängigkeit von saisonalen Klimavariationen erreichen, ohne dabei auf den Einsatz von Herbiziden oder Pestiziden angewiesen zu sein. Ihr niedrigerer Süßwasserverbrauch ermöglicht auch die Kultivierung in trockeneren Regionen. Da die Kultivierungssysteme keinen Anspruch an die Bodenqualität haben, kann gleichzeitig die Konkurrenz mit der Lebensmittelproduktion um fruchtbares Agrarland umgangen werden (Brennan und Owende, 2010; Zittelli et al., 2013b).

Produktion von Biokraftstoffen aus Mikroalgen

Die Herstellung von Biokraftstoffen aus Mikroalgen verläuft ähnlich wie die bereits kommerziell eingesetzte Produktion von Biodiesel aus beispielsweise Raps oder Soja. Zunächst wird die Mikroalgenbiomasse unter Zufuhr von Sonnenlicht, CO₂ und aller notwendigen Nährstoffe in einem (offenen) Photobioreaktor produziert. Die Ernte der Biomasse kann anschließend beispielsweise durch Zentrifugation oder Flokkulation erfolgen. Eine vollständige Trocknung scheint wegen der hohen Kosten nicht wirtschaftlich umsetzbar zu sein.

Zur weiteren Prozessierung der feuchten Biomasse untersucht die Forschung vor allem zwei verschiedene Strategien: Die Lipidextraktion und Transesterifikation sowie die hydrothermale Verflüssigung (HTL, engl. hydrothermal liquefaction). Der erste Ansatz erfordert meist den mechanischen oder chemischen Aufschluss der Zellen, bevor die Lipide mit Lösungsmitteln aus der Biomasse extrahiert werden. Die anschließende Transesterifikation der Lipide zu Fettsäuremethylestern (Biodiesel) ist ein industriell etablierter Prozess. Der HTL-Ansatz setzt die gesamte Mikroalgenbiomasse bei hohen Temperaturen (280–370 °C) und Drücken (50–250 bar) zu einem Bio-Rohöl um. Wegen seines hohen Anteils an Heteroatomen (vor allem Sauerstoff und Stickstoff) muss zunächst eine Deoxygenation und Denitrogenation folgen, bevor das Bio-Rohöl über eine Hydroprozessierung mit Wasserstoff und Metallkatalysatoren zu einem Kohlenwasserstoff-Gemisch umgesetzt wird, das als Diesel eingesetzt werden kann

(Chaudry et al., 2015; Pierre-Louis Gorry et al., 2018). Ein Prozessschema der beiden Strategien ist in Abbildung 3.1 dargestellt.

Neben der Produktion und Ernte der Mikroalgenbiomasse tragen die energieintensiven Prozessschritte beider Ansätze zu den hohen Gesamtkosten der Produktion von niedrigpreisigen Biokraftstoffen oder Basischemikalien aus Algen bei, weshalb eine kommerzielle Realisierung bislang nicht erfolgreich war (Brennan und Owende, 2010; Moody et al., 2014). Hochrechnungen der Produktionskosten von Biokraftstoffen aus Mikroalgen im industriellen Maßstab liegen in der Größenordnung von 2–4 \$ L⁻¹ (318–636 \$ Barrel⁻¹) und damit etwa um den Faktor 5–10 höher als für fossile Kraftstoffe (Chisti, 2007; Benemann, 2013; Park und Lee, 2016).

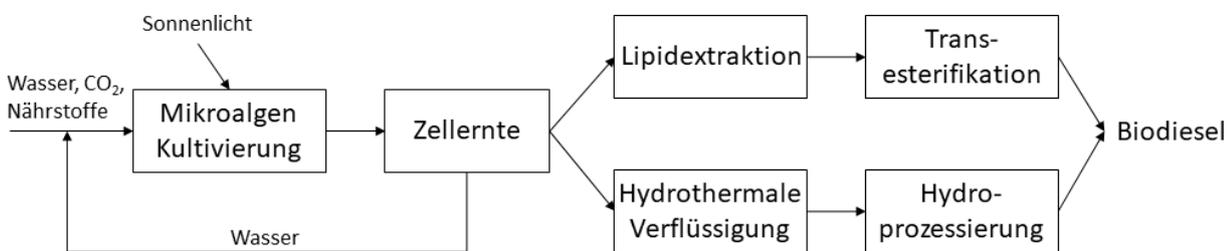
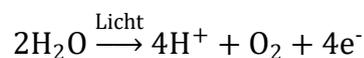


Abbildung 3.1. Schematische Darstellung der zwei hauptsächlich von der Wissenschaft verfolgten Routen zur Herstellung von Biodiesel aus Mikroalgenbiomasse durch Lipidextraktion und Transesterifikation oder hydrothermale Verflüssigung und Hydroprozessierung.

3.1.2 Phototropher Metabolismus

Der wichtigste Stoffwechselmechanismus von Mikroalgen zum Aufbau von Biomasse ist die Photosynthese. Sie kann insgesamt als Redox-Reaktion betrachtet werden, in der Lichtenergie zum Umsatz von CO₂ mit Wasser zu Kohlenhydraten und Sauerstoff genutzt wird. Die Photosynthese teilt sich in zwei Gruppen von Reaktionen auf: die Lichtreaktionen und die Dunkelreaktionen. In den Lichtreaktionen wird photosynthetisch nutzbare Strahlung (PAR, engl. photosynthetically active radiation) im Wellenlängenbereich von 400–700 nm von Lichtsammelkomplexen und Chlorophyll a (Chl a) in den Photosystemen der Thylakoidmembran absorbiert und zur Spaltung von Wasser in Sauerstoff und Protonen genutzt (Tredici, 2010; Masojídek et al., 2013).



Die dabei freigesetzten Elektronen durchlaufen eine Elektronentransportkette, in der oxidiertes Nicotinamidadeninucleotidphosphat (NADP^+) zu NADPH reduziert wird und weitere Protonen aus dem äußeren Chloroplastenstroma durch die Thylakoidmembran ins innere Thylakoidlumen transportiert werden. Das so aufgebaute chemiosmotische Potential treibt die Synthese von Adenosintriphosphat (ATP) an.

Die in den Lichtreaktionen bereitgestellte Energie in Form von NADPH als Reduktionsäquivalenten und ATP wird in den lichtunabhängigen Dunkelreaktionen im Stroma zur Fixierung von CO_2 und dem Aufbau von Kohlenhydraten genutzt.



Der zyklische Reaktionsmechanismus dieser CO_2 -Fixierung wird nach seinen Entdeckern auch als Calvin-Benson-Zyklus bezeichnet. Das zentrale Enzym der Dunkelreaktionen ist die Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase (RuBisCo), das als häufigstes Enzym der Erde betrachtet wird (Barsanti und Gualtieri, 2014). Der Calvin-Benson-Zyklus teilt sich in drei Phasen auf: In der Carboxylierung (1) wird der C_5 -Zucker Ribulosebisphosphat carboxyliert, woraufhin zwei Moleküle 3-Phosphoglycerat gebildet werden. In der Reduktionsphase (2) werden diese unter Verbrauch von ATP und NADPH zum C_3 -Kohlenhydrat Glycerinaldehyd-3-Phosphat reduziert. In der Regenerationsphase (3) wird Ribulosebisphosphat als CO_2 -Akzeptor über eine Reihe von Reaktionen aus den zuvor gebildeten Triosephosphaten regeneriert. Insgesamt wird so alle drei Durchläufe des Zyklus ein Molekül Triosephosphat als Produkt gebildet, welches zur Synthese von Biomasse genutzt werden kann (Masojídek et al., 2013; Barsanti und Gualtieri, 2014). Die Nettoreaktion der Photosynthese wird durch Abbildung 3.2 zusammengefasst.

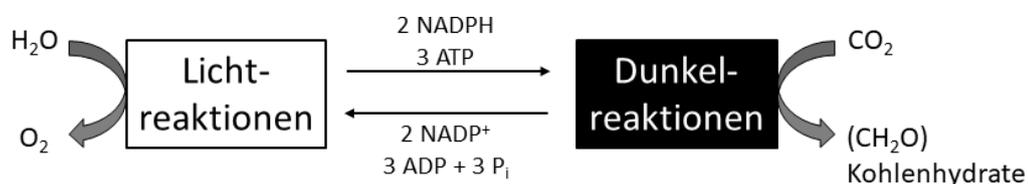


Abbildung 3.2. Schematische Darstellung der Nettobilanz der Photosynthese mit Licht- und Dunkelreaktionen (nach Masojídek et al. (2013)).

Neben der Carboxylasefunktion kann RuBisCo auch eine Oxygenasefunktion ausüben, was vor allem durch ein hohes Verhältnis der Sauerstoff- zur CO_2 -Konzentration begünstigt wird. Diese Konkurrenzreaktion zur Photosynthese wird als Photorespiration bezeichnet, da es sich um eine lichtabhängige Aufnahme von Sauerstoff unter Bildung von CO_2 handelt, was zur

Reduktion der Photosyntheseeffizienz führt. Um den Energieverlust durch Photorespiration zu minimieren, verfügen viele Mikroalgen jedoch über Mechanismen zur lokalen CO₂-Anreicherung in den Chloroplasten (Beardall und Raven, 2013; Barsanti und Gualtieri, 2014). Darüber hinaus sind Mikroalgen zur Photoakklimation fähig, um die Licht- und Dunkelreaktionen auch bei sich verändernden Lichtverhältnissen auszubalancieren. Durch eine Anpassung ihrer Lichtsammelkomplexe und Pigmentzusammensetzung kann das verfügbare Licht möglichst optimal ausgenutzt oder Schaden durch zu intensive Bestrahlung minimiert werden (Masojídek et al., 2013). In den Mitochondrien findet, wie auch bei nicht photosynthetisch aktiven Organismen, die Zellatmung (Respiration) zur Gewinnung von Energie aus organischen Verbindungen unter Verbrauch von Sauerstoff statt. Wenn kein Licht zur Photosynthese zur Verfügung steht (beispielsweise nachts), ist daher eine Abnahme der Biomasse zu beobachten (Tredici, 2010).

3.1.3 Einflussfaktoren auf das Wachstum von Mikroalgen

Um möglichst effiziente Prozesse zur Produktion von Mikroalgenbiomasse entwickeln zu können, ist die Kenntnis der wesentlichen Faktoren, die das Wachstum und die Zusammensetzung der Mikroalgenbiomasse beeinflussen, von besonderer Bedeutung. So sind geeignete klimatische Bedingungen und die ausreichende Versorgung mit allen notwendigen Nährstoffen unabdingbar, um hohe Produktivitäten zu erreichen. Gleichzeitig kann der Metabolismus der Mikroalgenzellen durch gezielte Wahl der Umgebungsbedingungen moduliert werden, um die Zusammensetzung der Biomasse im Hinblick auf gewünschte Produktanforderungen zu verändern. Darüber hinaus ist das Verständnis der Prozessparameter eine Voraussetzung für das Design von Reaktorsystemen, deren Aufgabe die Realisierung der gewünschten Wachstumsbedingungen in der Suspensionskultur ist.

Licht

In phototrophen Bioprozessen ist der wichtigste Einflussfaktor die Verfügbarkeit von Licht als Energiequelle. Dabei macht die photosynthetisch nutzbare Strahlung etwa 40-50% des globalen Sonnenlichtspektrums aus (Apel und Weuster-Botz, 2015). Die Lichtintensität kann je nach Betrachtungsweise als Bestrahlungsstärke ($W\ m^{-2}$) oder Photonenflussdichte (PFD, $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) angegeben werden. Da Licht in Mikroalgensuspensionen innerhalb von nur

wenigen Zentimetern vollständig absorbiert wird, ist der Eintrag und die Verteilung von Licht in der Mikroalgenkultur die wesentliche Herausforderung beim Design des Reaktorsystems. Bis zu vier Zonen unterschiedlicher Lichtverfügbarkeit bilden sich in der Zellsuspension aus (Abbildung 3.3): (1) An der Suspensionsoberfläche kann starke Lichteinstrahlung zu Redox-Ungleichgewichten, der Bildung von Sauerstoffradikalen und einer Beschädigung der Photosysteme der Zellen führen, was als Photoinhibition des Wachstums zusammengefasst wird. (2) Darunter befindet sich bei etwas geringerer Bestrahlungsstärke die Zone der Lichtsättigung, in der die Photosyntheserate maximal ist und sich nicht mit einer Variation der Bestrahlungsstärke ändert. (3) Die zunehmende Absorption des Lichts durch die Algenzellen führt in der darunter liegenden Suspensionsschicht zu einer lichtlimitierten Zone, in der sich die Photosyntheserate proportional zur Lichtintensität ändert. Im Gegensatz zur Photosyntheserate ist hier die photosynthetische Effizienz, gemessen in produzierter Stoffmenge Sauerstoff (pro mg Chl a und Zeit) pro absorbierten Photonen (pro Fläche und Zeit), maximal. (4) Im tiefsten beziehungsweise lichtabgewandten Bereich des Reaktors kann es schließlich so dunkel sein, dass der Kompensationspunkt der Photosynthese unterschritten wird. Hier reicht die Photosyntheserate nicht mehr aus, um den Energie- und Kohlenstoffverbrauch durch Zellatmung auszugleichen, so dass es zur Dunkelrespiration und Abnahme der Biomassekonzentration kommt (Chisti, 2012; Richmond, 2013). Durch eine möglichst turbulente Durchmischung der Algenzellen zwischen den verschiedenen Lichtregimen können die Photoinhibition und Photolimitierung teilweise abgemildert werden. Die verbleibende Bestrahlungsstärke in einer gegebenen Schichttiefe sinkt mit steigender Biomassekonzentration jedoch exponentiell, weshalb die Wachstumsrate bei höheren Zelldichten stark abnimmt (Beardall und Raven, 2013).

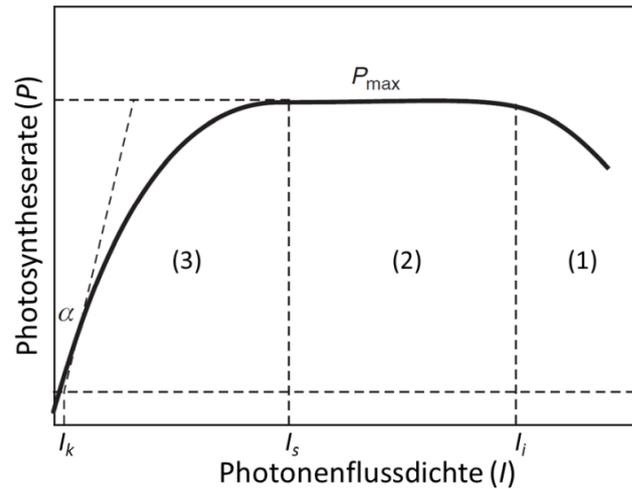
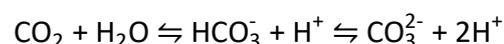


Abbildung 3.3. Photosyntheserate als Funktion der verfügbaren Photonenflussdichte (nach Richmond (2013)). Bei hoher Photonenflussdichte oberhalb von I_i kommt es vor allem an der Oberfläche der Mikroalgensuspension zur Photoinhibition (1). Mit steigender Schichttiefe sinkt die verfügbare Photonenflussdichte in den Bereich der Lichtsättigung (2), bis unterhalb von I_s die Lichtlimitierung eintritt (3). Ist die Photonenflussdichte unterhalb des Kompensationspunktes I_k , überwiegt die Dunkelrespiration. Die lineare Steigung α bei geringen Photonenflussdichten stellt die maximale photosynthetische Effizienz dar.

Kohlenstoffdioxid, pH und Alkalinität

Neben Licht als Energiequelle ist CO_2 als Kohlenstoffquelle das zweite Hauptsubstrat phototropher Bioprozesse. Im Gegensatz zu Landpflanzen ist die Versorgung dichter Mikroalgenkulturen allein mit atmosphärischem CO_2 nicht ausreichend, um hohe Produktivitäten zu erzielen, weshalb das Reaktorsystem einen zusätzlichen Eintrag von CO_2 gewährleisten muss. Beim Stofftransport von CO_2 aus der Gas- in die Flüssigphase befinden sich gemäß dem Zweifilmmodell die CO_2 -Konzentrationen auf beiden Seiten der Phasengrenzfläche im Gleichgewicht mit der jeweiligen Phase. Die Stoffstromdichte sowie die Effizienz der CO_2 -Aufnahme des Reaktorsystems wird damit von der Konzentrationsdifferenz zwischen der partialdruckabhängigen CO_2 -Gleichgewichtskonzentration an der Phasengrenze und der CO_2 -Konzentration im Kern der Flüssigphase bestimmt (Chmiel und Walitza, 2018).

In Wasser liegt CO_2 im Gleichgewicht mit den Basen der Kohlensäure Hydrogencarbonat (HCO_3^-) und Carbonat (CO_3^{2-}) vor, so dass die Verfügbarkeit von CO_2 über das Carbonat-Puffersystem eng mit dem pH gekoppelt ist:



Die drei Spezies werden zusammen als gelöster anorganischer Kohlenstoff bezeichnet (DIC, engl. dissolved inorganic carbon). Je saurer der pH, desto mehr liegt das Gleichgewicht auf der

Seite des CO_2 , während im alkalischen Bereich der Anteil an Carbonat zunimmt (Abbildung 3.4).

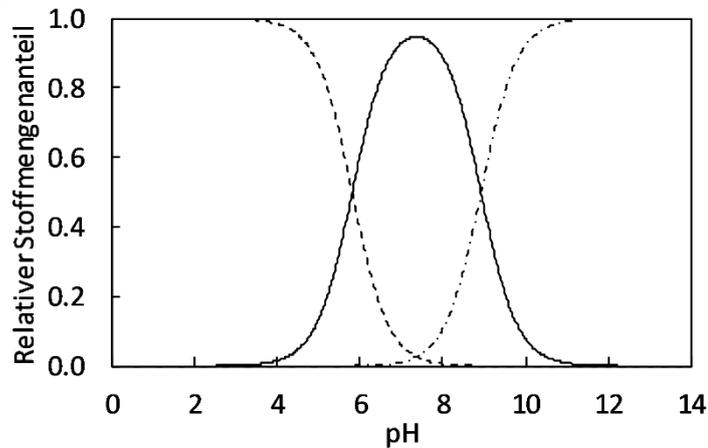


Abbildung 3.4. Relative Gleichgewichtskonzentrationen des Carbonat-Puffersystems in Salzwasser als Funktion des pH (25 °C, 35 g L⁻¹ NaCl). CO_2 (---), HCO_3^- (—) und CO_3^{2-} (---). Gleichgewichtskonstanten $\text{pK}_1 = 5,86$; $\text{pK}_2 = 8,92$; $\text{pK}_w = 13,22$ nach Zeebe und Wolf-Gladrow (2001).

Bei der Aufnahme von gelöstem CO_2 durch Algen wird dieses gemäß des Gleichgewichtszustands aus Hydrogencarbonat und Carbonat unter Verbrauch von Protonen nachgebildet, was zu einem Anstieg des pH führt. Löst sich CO_2 aus der Gasphase in Wasser, werden hingegen Protonen bei der Bildung von Hydrogencarbonat freigesetzt, so dass der pH sinkt. Auf diese Weise kann ein konstanter pH über gezielte Einspeisung von CO_2 im Reaktorsystem geregelt und gleichzeitig die Versorgung der Mikroalgenkultur mit ausreichend Kohlenstoff sichergestellt werden (Grobbelaar, 2013).

Neben der Nutzung von gelöstem CO_2 sind viele Mikroalgenpezies auch zur aktiven Aufnahme von Hydrogencarbonat fähig (Beardall und Raven, 2013). Dies ist vorteilhaft, da Hydrogencarbonat bei pH 8,0–8,9 mit einem Anteil von 51–89% die dominierende Kohlenstoffspezies ist, während der CO_2 -Anteil weniger als 1% beträgt. Vor allem bei Prozessen in offenen Reaktorsystemen kann neben einem hohen Salzgehalt daher auch ein alkalischer pH ≥ 8 eingesetzt werden, um bei selektiven Bedingungen das Risiko einer Kontamination durch andere Organismen zu reduzieren (Borowitzka und Moheimani, 2013).

Der pH bestimmt jedoch nur die anteilige Verteilung zwischen den einzelnen DIC-Spezies, die DIC-Gesamtkonzentration hängt jedoch von einem weiteren Parameter ab: der Alkalinität, beziehungsweise totalen Alkalinität (TA). Die Alkalinität ist ein komplexer Parameter, der auf verschiedene Weise definiert werden kann. Für das CO_2 -System in Mikroalgenkulturen sind zwei Darstellungen hilfreich: (1) Die Alkalinität ist die Konzentration an Protonen, die

äquivalent ist zum Überschuss von Protonenakzeptoren (Basen schwacher Säuren mit $pK \geq 4,5$) gegenüber Protonendonoren (Säuren mit $pK < 4,5$). In dieser Weise bietet in Meerwasser mit einem leicht alkalischen pH von 8,2 die praktische Alkalinität (PA) eine gute Annäherung zur TA (Zeebe und Wolf-Gladrow, 2001):

$$TA \cong PA = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{B}(\text{OH})_4^-] + [\text{OH}^-] - [\text{H}^+]$$

Neben den DIC-Spezies wird dabei auch die natürlich im Meerwasser vorkommende Borsäure, $\text{B}(\text{OH})_3$, berücksichtigt, die im alkalischen Bereich teilweise hydroxyliert als Tetrahydroxyborat, $\text{B}(\text{OH})_4^-$, vorliegt.

Eine andere Definition der Alkalinität entstammt der Betrachtung des Ladungsgleichgewichtes in Wasser: (2) Die Alkalinität ist gleich der Ladungsdifferenz zwischen Kationen und Anionen starker Säuren und Basen:

$$TA = [\text{Na}^+] + 2[\text{Mg}^{2+}] + 2[\text{Ca}^{2+}] + [\text{K}^+] \dots - [\text{Cl}^-] - 2[\text{SO}_4^{2-}] - [\text{Br}^-] - [\text{F}^-] \dots$$

Meerwasser muss wie jede Flüssigkeit jedoch elektrisch neutral sein. Der Ladungsausgleich wird bei Kombination beider Definitionen der TA ersichtlich:

$$\begin{aligned} TA &= [\text{Na}^+] + 2[\text{Mg}^{2+}] + 2[\text{Ca}^{2+}] + [\text{K}^+] \dots - [\text{Cl}^-] - 2[\text{SO}_4^{2-}] - [\text{Br}^-] - [\text{F}^-] \dots \\ &= [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] + [\text{B}(\text{OH})_4^-] + [\text{OH}^-] - [\text{H}^+] \end{aligned}$$

Diese Schreibweise zeigt auf, dass eine Änderung von Ionenkonzentrationen, beispielsweise durch Aufnahme von Nährstoffen wie Nitrat durch die Mikroalgen, den pH und die DIC-Konzentration beeinflussen kann. Auf diesem Weg können die Ionenkonzentrationen im Wasser über eine Änderung der gelösten CO_2 -Konzentration und des Konzentrationsgradienten in der Flüssigphase nicht nur die Biomasseproduktivität limitieren (bei niedriger TA) sondern auch die Effizienz der CO_2 -Aufnahme des Reaktors negativ (bei hoher TA) oder positiv (bei niedriger TA) beeinflussen. Mit zunehmender TA steigt außerdem die Pufferkapazität des Wasser, was sich auf die pH-Regelung auswirken kann (Zeebe und Wolf-Gladrow, 2001).

Temperatur

Die Temperatur beeinflusst alle metabolischen Prozesse. Chemische Reaktionen und Transportvorgänge verlaufen bei höherer Temperatur generell schneller, gleichzeitig

schädigen zu hohe Temperaturen die Zellphysiologie, beispielsweise durch Denaturierung von Proteinen. Daher ist unterhalb einer minimalen und oberhalb einer maximalen Temperatur kein Mikroalgenwachstum möglich. Kurzzeitige Temperaturextrema können dennoch meist toleriert werden, ohne zu einem Absterben der Kultur zu führen. Die optimale Wachstumstemperatur ist abhängig von der Mikroalgenpezies und liegt meist im Bereich von 24-40 °C (Chisti, 2012). Temperaturen außerhalb des optimalen Bereichs beeinträchtigen die Photosyntheseeffizienz: Erhöhte Temperaturen führen zu einer verstärkten Photorespiration, während niedrige Temperaturen die Anfälligkeit für Photoinhibition erhöhen. Gleichzeitig reduzieren niedrigere Temperaturen bei Nacht die respiratorische Biomasseabnahme (Torzillo und Vonshak, 2013; Borowitzka, 2016).

In offenen Reaktorsystemen wird die Wassertemperatur üblicherweise nicht reguliert und schwankt daher mit dem Tag-Nacht-Rhythmus deutlich. Sie ist unter anderem von der Lufttemperatur, der Sonnenlichteinstrahlung und dem Sonnenstand abhängig. Hohe Zelldichten können durch eine nahezu vollständige Absorption des Lichts zu einem stärkeren Temperaturanstieg führen. Die Verdunstung von Wasser an der Oberfläche der Suspension bewirkt hingegen einen Kühlungseffekt (Apel und Weuster-Botz, 2015).

Sauerstoff

Die Photosynthese produziert bei der Spaltung von Wasser Sauerstoff, der sich in der Mikroalgensuspension anreichern kann, wobei bei hoher Bestrahlungsstärke Sauerstoffkonzentrationen von 300–500% der Luftsättigung erreicht werden können. Ein steigendes Verhältnis der Sauerstoff- zur CO₂-Konzentration führt jedoch vermehrt zur Photorespiration als Konkurrenzreaktion zur Photosynthese, da RuBisCO als Hauptenzym der Kohlenstofffixierung neben CO₂ auch Sauerstoff als Substrat akzeptiert. Die Entfernung von Sauerstoff aus der Suspension stellt damit eine wichtige Aufgabe des Reaktorsystems da, um Produktivitätseinbußen durch Photorespiration zu vermeiden. Während dies in geschlossenen Photobioreaktoren meist durch Strippen mit aktiver Begasung in Form einer Blasensäule realisiert wird, ist in offenen Systemen ein hohes Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis für den Gasaustausch mit der Atmosphäre vorteilhaft (Doucha und Lívanský, 1995; Richmond, 2013).

Salinität

Die Verwendung von Meerwasser zur Reduktion des Süßwasserverbrauchs ist ein wichtiger Faktor, um die Kosten und den ökologischen Fußabdruck der Mikroalgenproduktion zu reduzieren. Gleichzeitig vermindert Salzwasser das Risiko für Kontaminationen durch andere Organismen. In offenen Reaktoren kann die Verdunstung zu einem Anstieg des Salzgehalts während des Prozesses führen, weshalb eine möglichst breite Salztoleranz der verwendeten Mikroalgenpezies vorteilhaft ist. Eine Adaption an eine höhere Salinität wird durch intrazelluläre Akkumulation osmoregulatorischer Solute wie beispielsweise Na^+ , K^+ oder Glycerin erreicht, weshalb der Salzgehalt auch einen Einfluss auf die Zusammensetzung der Biomasse haben kann (Borowitzka, 2016).

Nährstoffe

Neben Licht, CO_2 und Wasser benötigen Mikroalgen weitere Nährstoffe zum Aufbau der Biomasse. Die elementare Zusammensetzung mariner Mikroalgen aus Kohlenstoff, Stickstoff, Phosphor und Schwefel beträgt nach Ho et al. (2003) auf Phosphor normiert durchschnittlich $\text{C}_{124}\text{N}_{16}\text{P}_1\text{S}_{1,3}$. Darüber hinaus sind neben Eisen, Magnesium, Calcium, Natrium, Kalium und Chlorid noch weitere Spurenelemente erforderlich, die durch das Reaktionsmedium zur Verfügung gestellt werden müssen. Bei ausreichender Nährstoffversorgung besteht Mikroalgentrockenmasse zu etwa 30–50% aus Proteinen, zu 20–40% aus Kohlenhydraten und zu 8–15% aus Lipiden (Hu, 2013). Zum Erreichen hoher Zelldichten müssen einige Nährstoffe regelmäßig nachgeführt werden, um Limitierungen zu vermeiden. Ein Nährstoffmangel reduziert das Wachstum, kann aber auch gezielt eingesetzt werden, um die Zusammensetzung der Biomasse zu beeinflussen.

Stickstoff ist mit einem Anteil von typischerweise 7–10% der Trockenmasse nach CO_2 der wichtigste Nährstoff in Mikroalgenprozessen. Er wird unter anderem zur Synthese von Proteinen, Nucleinsäuren und photosynthetischen Pigmenten benötigt. Häufig eingesetzte Stickstoffquellen sind Nitrat (NO_3^-), Ammonium (NH_4^+) und Harnstoff ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$). Da die Stickstoffquelle im Vergleich zu anderen Nährstoffen in relativ hoher Konzentration im Reaktionsmedium vorliegt, kann deren Aufnahme durch die Mikroalgen den pH und die Alkalinität des Mediums verändern und so die Verfügbarkeit anorganischen Kohlenstoffs beeinflussen. So führt die Aufnahme von Nitrat zu einem Anstieg des pH beziehungsweise der

Alkalinität, während Ammonium den gegenteiligen Effekt bewirkt. Die Aufnahme von Harnstoff hat nur einen geringen Effekt auf den pH (Hu, 2013; Borowitzka, 2016).

Ein Stickstoffmangel führt zur Limitierung der Proteinsynthese und Zellteilung. Um unter diesen Umständen ein Redox-Ungleichgewicht und oxidativen Schaden zu vermeiden, werden photosynthetisch fixierter Kohlenstoff und Elektronen stattdessen zur Synthese von Kohlenhydraten oder Lipiden, hauptsächlich Triacylglyceriden (TAG), umgeleitet (Hu et al., 2008; Sharma et al., 2012). Diese dienen als Speicherstoffe, die bei einer wiederhergestellten Nährstoffversorgung Energie und Kohlenstoff für eine schnelle Wiederaufnahme des Wachstums liefern. Auf diese Weise können einige Spezies 20–60% ihrer Trockenmasse in Form von Lipiden anreichern, was sie zu einem vielversprechenden Rohstoff für die Produktion von Flüssigkraftstoffen macht (Chisti, 2007). Durch die eingeschränkte Zellteilung schließen sich eine hohe Lipidproduktivität und gleichzeitig hohe Biomasseproduktivität jedoch gegenseitig aus (Přibyl et al., 2012). Häufig führt die Stickstofflimitierung überdies auch zu einer Abnahme des Verhältnisses des Chlorophyll- zu Carotinoid-Gehalts, was eine Reduktion der Photosyntheserate und gelbliche Verfärbung der Algenkultur zur Folge hat (Berges et al., 1996; de Carvalho Lopes et al., 2018).

Phosphor macht unter optimalen Wachstumsbedingungen etwa 1% der Mikroalgentrockenmasse aus und ist unter anderem ein wichtiger Bestandteil des Energiestoffwechsels, der Nucleinsäuren, der Lipidmembran oder bei der Signaltransduktion. Als Phosphorquelle wird in Bioprozessen meist anorganisches Phosphat (H_2PO_4^- oder HPO_4^{2-}) eingesetzt. Ein Phosphormangel führt ähnlich wie ein Stickstoffmangel bei einigen Mikroalgenpezies zu einer Akkumulation von Lipiden oder Kohlenhydraten, wenn auch meist nur in geringerem Ausmaß (Hu, 2013). Für die industrielle Massenproduktion von Mikroalgen ist Phosphor ein potentiell problematischer Rohstoff, da die Phosphatreserven der Erde fossil sind und durch den hohen Verbrauch der Agrarindustrie gegen Ende des 21. Jahrhunderts erschöpft sein könnten. Zudem liegen 83% der Phosphatreserven in nur vier Ländern – Marokko, China, USA und Südafrika – die zusammen zwei Drittel der jährlichen Produktion ausmachen, was die Gefahr wirtschaftspolitischer Abhängigkeiten birgt (Vaccari, 2009). Ein möglichst effizientes Phosphor-Recycling ist daher von großer Wichtigkeit.

Schwefel liegt in Mikroalgenbiomasse etwa in gleicher Menge vor wie Phosphor. Die schwefelhaltigen Aminosäuren Cystein und Methionin sind wichtige Struktur- und

Funktionselemente von Proteinen. Als Bestandteil von beispielsweise Glutathion sowie einigen Vitaminen und Cofaktoren ist Schwefel am Redox-Haushalt und vielen metabolischen Prozessen beteiligt. Mikroalgen nehmen Schwefel als Sulfation SO_4^{2-} über Transportkanäle auf (Giordano und Prioretti, 2016).

Eisen spielt eine zentrale Rolle in den photosynthetischen und respiratorischen Elektronentransportketten. Gebunden in Hämen oder Eisen-Schwefel-Clustern ist es Bestandteil vieler Metalloproteine und an unzähligen Stoffwechselfvorgängen funktional beteiligt. Ein Eisenmangel führt in Mikroalgenzellen zur Abnahme eisenhaltiger photosynthetischer Pigmente wie Chlorophyll a und damit zur Reduktion der Photosynthese- und Wachstumsrate. Eisen wird von Mikroalgen bevorzugt in seiner oxidierten Form als komplexiertes Fe(III) aufgenommen, weshalb in Wachstumsmedien beispielsweise FeCl_3 zusammen mit einem Komplexbildner wie Ethylendiamintetraacetat (EDTA) eingesetzt wird (Marchetti und Maldonado, 2013).

3.2 Photobioreaktoren

Die Aufgabe des Reaktorsystems ist die Realisierung aller erforderlichen Umweltbedingungen in der Mikroalgensuspension, die für ein möglichst optimales Wachstum erforderlich sind. Gleichzeitig müssen die Kapital- und Betriebskosten der Anlagen möglichst niedrig sein, um einen wirtschaftlichen Prozess zu ermöglichen, woraus sich notwendigerweise ein Kompromiss zwischen ideal kontrollierten Wachstumsbedingungen und niedrigen Kosten ergibt. Abhängig davon, ob sie im offenen Austausch mit der Atmosphäre stehen, werden Reaktorsysteme zur Kultivierung von Mikroalgen in *geschlossen* oder *offen* unterteilt. Obwohl sich der Begriff *Photobioreaktor* in der Literatur vor allem für geschlossene Systeme etabliert hat, während offene Systeme oft nur als Becken (engl. pond) bezeichnet werden, soll in dieser Arbeit jeder Reaktor, in dem ein photosynthetischer Prozess abläuft, als Photobioreaktor bezeichnet werden (Grobbelaar, 2008). In diesem Kapitel werden zunächst die wichtigsten Anforderungen an Photobioreaktoren erläutert, bevor ein Überblick über die verbreitetsten Typen von Photobioreaktoren mit einem Fokus auf offenen Systemen folgt.

3.2.1 Anforderungen an Photobioreaktoren

Aus den in Abschnitt 3.1.3 beschriebenen Wachstumsanforderungen der Mikroalgen, ergeben sich die Hauptaufgaben eines Photobioreaktors. Anders als bei klassischen chemoorganotrophen Bioprozessen, in denen vor allem Rührkesselreaktoren eingesetzt werden, ist die größte Herausforderung an das Design von Photobioreaktoren der Eintrag von Licht in die trübe Mikroalgensuspension (Acién Fernández et al., 2012). Da die photosynthetisch aktive Strahlung innerhalb von nur wenigen Zentimetern vollständig absorbiert wird, ist eine große lichtzugewandte Oberfläche notwendig (Doucha und Lívanský, 1995). Eine möglichst turbulente Durchmischung soll den Austausch der Zellen zwischen dunklen und hellen Schichten der Suspension gewährleisten und Sedimentation verhindern. Die Durchmischung muss außerdem die Ausbildung von Konzentrations- und Temperaturgradienten im Reaktor minimieren, um Wachstumslimitierungen oder -inhibitionen zu vermeiden (Doucha und Lívanský, 2014). Bei einer großen Oberfläche und dem Anspruch, möglichst wenig elektrische Energie zum Betrieb von Pumpen oder Rührorganen zu verbrauchen, ist die Durchmischung jedoch eine weitere wesentliche Herausforderung. Darüber hinaus ist ein hoher Gas-Flüssig-Stoffübergangskoeffizient wichtig, um effizient CO₂ in die Suspension einzutragen und Sauerstoff zu entfernen (Zittelli et al., 2013b). Der Gaseintrag muss durch ein Begasungsorgan im Reaktor realisiert werden, das eine feine Dispersion der Gasblasen in der Suspension bewirkt. Die Temperatur kann entweder sehr kostenintensiv geregelt oder allein den Umgebungsbedingungen aus Luft- und Bodentemperatur, Sonnenlichteinstrahlung und Verdunstungskühlung überlassen werden. Bei starker Sonnenlichteinstrahlung besteht dabei jedoch vor allem die Gefahr der Überhitzung der Kultur (Doucha und Lívanský, 2014). Um Produktivitätseinbußen durch Prädatoren oder Konkurrenz zu anderen Organismen zu vermeiden, sollte überdies das Risiko für Kontaminationen minimiert werden. Dies kann durch Verwendung eines geschlossenen Systems oder durch Einsatz selektiver Kultivierungsparameter, beispielsweise ein hoher Salzgehalt und pH, erfolgen. Der Reaktor sollte zudem gut zu reinigen sein, um Kontaminationen beim Neustart einer Kultur zu verhindern und Biofilmbildung an Oberflächen zu vermeiden (Borowitzka und Moheimani, 2013). Schließlich ist eine möglichst weitgehende Automatisierung des gesamten Prozesses erforderlich, um Personalkosten einzusparen.

3.2.2 Offene Photobioreaktoren

Offene Photobioreaktoren stellen wegen ihrer einfachen Konstruktion und Betriebsweise die wirtschaftlichste Möglichkeit zur Massenproduktion von Mikroalgen dar, weshalb sie in fast allen industriellen Prozessen eingesetzt werden. Sie unterteilen sich in passiv durchmischte Reaktoren, in denen keine künstliche Durchmischung erfolgt, und aktiv durchmischte Reaktoren, in denen ein mechanischer Leistungseintrag durch rotierende Mischer, Pumpen oder Gasexpansion erfolgt. Trotz ihrer weiten Verbreitung weisen offene Photobioreaktoren einige Nachteile im Vergleich zu geschlossenen Systemen auf: Da sie im offenen Austausch mit der Umgebung stehen, sind sie anfälliger für Kontaminationen, weshalb sie nur für Mikroalgen geeignet sind, die bei selektiven Kultivierungsparametern schnell wachsen können. Die meisten offenen Reaktortypen haben eine tiefe Suspensionsschicht von 20–40 cm, weshalb nur sehr geringe Zelldichten erreicht werden und bei der Produktaufarbeitung große Wassermengen zu entfernen sind. Ein geringer Leistungseintrag bewirkt zudem meist nur eine mäßige Durchmischung der Suspension. Das Wetter hat einen großen Einfluss auf das Mikroalgenwachstum in offenen Reaktoren und kann beispielsweise bei ungünstigen Temperaturen zu Produktivitätseinbußen führen. Dazu können Nährstoffe durch Regen verdünnt werden oder starke Verdunstung führt zum übermäßigen Anstieg der Salinität (Borowitzka und Moheimani, 2013; Carvalho et al., 2014).

Passiv durchmischte Reaktoren

Passiv durchmischte Reaktoren sind flache Becken, die nur durch Wind, natürliche Konvektion oder natürlich einströmendes Meerwasser durchmischt werden. Sie werden hauptsächlich zur Produktion von β -Carotin mit der hypersalinen Spezies *Dunaliella salina* in Australien eingesetzt (Abbildung 3.5a) und bilden damit die größten Mikroalgenproduktionsanlagen der Welt mit einer Gesamtfläche von mehr als 700 ha (Borowitzka und Moheimani, 2013). Die Becken werden mit Meerwasser befüllt, so dass sich durch Verdunstung ein sehr hoher Salzgehalt $\geq 150 \text{ g L}^{-1}$ einstellt, der Kontaminationen verhindert und die Akkumulation von β -Carotin induziert. Wegen des hohen Salzgehalts, des geringen Leistungseintrags und einer Schichttiefe von bis zu 50 cm ist die Produktivität bei BTM-Konzentrationen von nur 0,1–0,5 g L^{-1} jedoch niedrig; allerdings sind die Betriebskosten so gering, dass eine wirtschaftliche Produktion dennoch möglich ist (Borowitzka, 1999; Benemann, 2013).

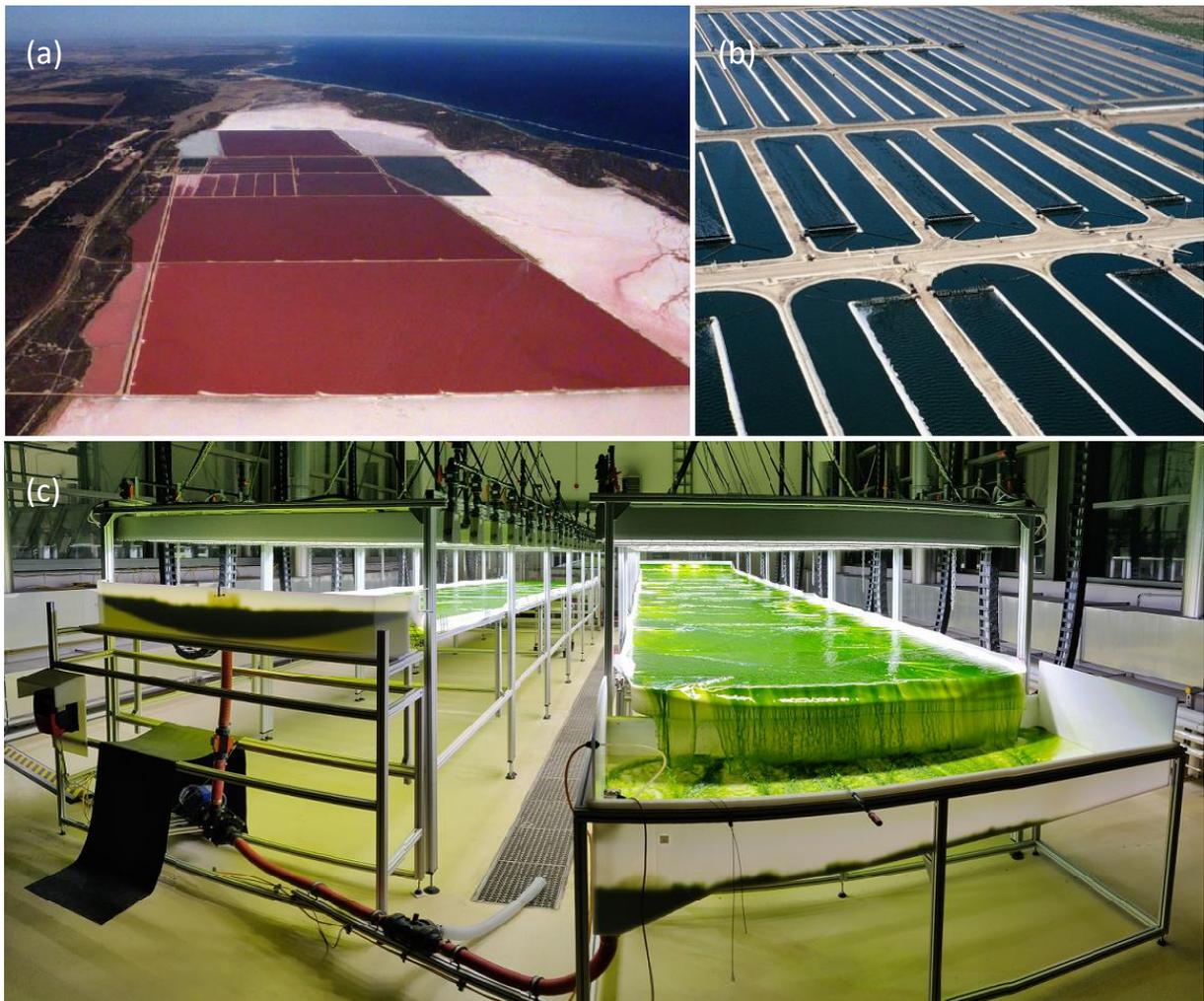


Abbildung 3.5. Offene Photobioreaktoren. (a) Passiv durchmischte Becken von ca. 500 ha zur *Dunaliella salina* Produktion (BASF, Australien). (b) Raceway Ponds mit einer Fläche von je 0,4 und 0,8 ha (Earthrise Nutritionals LLC, USA). (c) 50 m² Flachgerinnereaktor im TUM Algentechikum. (a) und (b) entnommen aus Benemann (2013), CC BY 3.0.

Raceway Ponds und Rundbecken

Die am weitesten verbreiteten Reaktorsysteme zur kommerziellen Mikroalgenproduktion sind sogenannte Raceway Ponds. Sie werden industriell beispielsweise zur Produktion von *Athrospira*, *Chlorella*, *Haematococcus* und *Dunaliella* eingesetzt (Benemann, 2013). Ein Raceway Pond besteht aus zwei ebenerdigen, parallelen Kanälen, die an ihren Enden zu einem geschlossenen Kreislauf verbunden sind (Abbildung 3.5b). Der Kanalboden kann durch kompaktierte Erde oder Teichfolie gebildet werden. Um Sedimentation der Zellen zu verhindern, zirkuliert ein Schaufelrad die Suspension mit einer Geschwindigkeit von 20–30 cm s⁻¹. Aus hydrodynamischen Gründen beträgt die Schichttiefe der Suspension mindestens 15 cm, üblicher sind jedoch 30 cm. Zur pH-Kontrolle und Kohlenstoffversorgung

wird an einer Stelle des Reaktors in einem vertieften Sumpf CO₂ eingespeist. Häufig werden die Reaktoren kontinuierlich mit einem Zulauf für Wasser und Nährstoffe und einem Ablauf bei einer Durchflussrate von 20–40% pro Tag betrieben. Alternative Designs von Raceway Ponds verwenden mehrere mäandernde parallele Kanäle oder anstatt des Schaufelrads andere Antriebssysteme wie Blasensäulen oder Wasserdüsen (Chisti, 2012; Borowitzka und Moheimani, 2013).

Wegen ihrer hohen Schichttiefe bei relativ schlechter Durchmischung und der daraus resultierenden schlechten Lichtverfügbarkeit werden Raceway Ponds nur bei Zelldichten von 0,3-1,0 g L⁻¹ betrieben (de Vree et al., 2015; Masojídek et al., 2015). Die maximale Biomasseproduktivität liegt typischerweise bei 20–25 g m⁻² d⁻¹, mit einigen Ausnahmen an einzelnen Tagen von bis zu 37 g m⁻² d⁻¹ (Moheimani und Borowitzka, 2006); im Jahresdurchschnitt werden jedoch nur 10–15 g m⁻² d⁻¹ erreicht (Borowitzka und Moheimani, 2013; Posten, 2018). Durch die geringe volumetrische Produktivität von typischerweise < 0,2 g L⁻¹ d⁻¹ müssen bei der Aufarbeitung sehr große Mengen Wasser entfernt werden, was einen wesentlichen Kostenfaktor des Gesamtprozesses darstellt. Bei starker Sonneneinstrahlung kann es zudem zur Überhitzung der Kultur bei bis zu 40 °C kommen, da das große Flüssigvolumen über Verdunstung an der Oberfläche nur unzureichend gekühlt wird (Borowitzka und Moheimani, 2013; Doucha und Lívanský, 2014).

Rundbecken stellen einen weiteren Typ offener Photobioreaktoren dar, der heute allerdings nur noch selten eingesetzt wird. Kommerzielle Anlagen zur Produktion von *Chlorella* in Rundbecken befinden sich in Japan, Taiwan und Indonesien (Lee, 2001). Hier wird die 20–40 cm tiefe Algensuspension in einem runden Betonbecken mit einem Durchmesser von bis zu 50 m durch einen zentral gelagerten rotierenden Arm durchmischt. Rundbecken weisen ähnliche Nachteile auf wie Raceway Ponds. Allerdings führt die radiusabhängige Geschwindigkeit des rotierenden Arms zu einer sehr inhomogenen Durchmischung, was zusammen mit der großen mechanischen Belastung, die auf den langen Mischarm wirkt, die Skalierung dieses Reaktortyps begrenzt (Zittelli et al., 2013a).

Flachgerinnereaktoren

Um die schlechte Lichtverfügbarkeit und unzureichende Durchmischung in den tiefen Algensuspensionen der Raceway Ponds und Rundbecken zu umgehen, begann bereits in den 1960er Jahren in Třeboň in der ehemaligen Tschechoslowakei die Entwicklung des Flachgerinnereaktors. In diesem offenen Photobioreaktor fließt die Mikroalgensuspension gravimetrisch in einer dünnen Schicht über eine leicht geneigte Gerinnefläche. Am unteren Ende des Gerinnes wird die Suspension in einem Tank gesammelt und mit einer Kreiselpumpe zurück an das obere Ende gepumpt. Um die Pumpstrecke zu verkürzen, können zwei parallele, in entgegengesetzter Richtung geneigte Gerinne über ein Wendemodul miteinander verbunden werden, so dass die Suspension an den Anfang der Strecke zurückgeführt wird. Bei Nacht oder Regen kann die Pumpe gestoppt und die Algensuspension im Sammelbecken gelagert werden, um Energie zu sparen beziehungsweise das Verdünnen der Kultur durch Regen zu verhindern. Die CO₂-Einspeisung erfolgt ebenfalls im Sammelbecken oder Ansaugrohr der Pumpe (Doucha und Lívanský, 1995; Masojídek et al., 2015). Abbildung 3.5c zeigt einen 50 m² Flachgerinnereaktor am TUM Algentechnikum.

Aufgrund der Schichtdicke der Suspension von nur 6–8 mm sowie der schnelleren Strömung von 40–50 cm s⁻¹ ist die Lichtverfügbarkeit, Durchmischung und Desorption von Sauerstoff in der Suspension im Vergleich zum Raceway Pond deutlich höher (Doucha und Lívanský, 1995). Darüber hinaus führt das 30 bis 50-fach größere Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis zu einer besseren Temperaturregulation, da die dünne Schicht morgens von der Sonne schnell erwärmt wird, während die stärkere volumenbezogene Verdunstung zu einer besseren Kühlleistung in der Mittagshitze führt (Doucha und Lívanský, 2006; Grivalský et al., 2019). Aus diesen Gründen erreichen Flachgerinnereaktoren hohe durchschnittliche Biomasseproduktivitäten von 15–25 g m⁻² d⁻¹. Es wurden maximale BTM-Konzentrationen von bis zu 50 g L⁻¹ mit *Chlorella* sp. und *Microchloropsis salina* erreicht, während maximale Tagesproduktivitäten > 30 g m⁻² d⁻¹ im Bereich optimaler Zelldichten von 15–35 g L⁻¹ erzielt werden können. Durch die im Vergleich zum Raceway Pond etwa um den Faktor 100 höheren Zelldichten müssen in der Produktaufarbeitung deutlich geringere Wassermengen entfernt werden, was wiederum Kosten spart (Masojídek et al., 2011; Masojídek et al., 2015; Apel et al., 2017).

Die größten Flachgerinnereaktoren mit einer Oberfläche von bis zu 1500 m² wurden in Bulgarien und Portugal errichtet (Borowitzka und Moheimani, 2013; Grivalský et al., 2019).

Trotz vielversprechender Vorteile ist dieser Reaktortyp bislang jedoch deutlich weniger verbreitet als der Raceway Pond und wird noch nicht kommerziell eingesetzt. Ein wesentlicher Nachteil im Vergleich zum Raceway Pond sind die Konstruktionskosten bisher errichteter Flachgerinnereaktoren, die aufgrund der verwendeten Materialien – Reaktoren aus Beton oder Glas- beziehungsweise Stahlgerinne auf einem Stahlgerüst – mindestens um den Faktor 5 höher ausfallen (Zittelli et al., 2013a). Apel et al. (2017) zeigten jedoch kürzlich den Aufbau des Gerinnes aus Polyethylen-Teichfolie, die eine wesentlich kostengünstigere Folienkonstruktion auf einem geneigten Boden ermöglicht. Ein Nachteil bei Flachgerinnereaktoren ist außerdem die höhere volumenbezogene Verdunstungsrate, die bei der Verwendung von Meerwasser schneller zu einer höheren Salinität führt, was das Mikroalgenwachstum begrenzt. Außerdem ist im Flachgerinnereaktor der biomassespezifische hydraulische Leistungseintrag durch die Kreiselpumpe im Vergleich zum Schaufelrad-angetriebenen Raceway Pond etwa um den Faktor 2 höher (Apel, 2017).

3.2.3 Geschlossene Photobioreaktoren

Eine Alternative zu offenen Reaktorsystemen bieten geschlossene Photobioreaktoren. Im Gegensatz zu offenen Systemen sind sie durch ein transparentes Material (zum Beispiel Glas oder Polyethylen) gegenüber der Atmosphäre abgeschlossen. Entsprechend stellen Konzentrationsveränderungen durch Verdunstung oder Regen kein Problem für den Prozess dar. Sie bieten einen besseren Schutz vor Kontaminationen, so dass auch Mikroalgen spezialisiert kultiviert werden können, die nicht unter selektiven Bedingungen wachsen (Zittelli et al., 2013b). Da in geschlossenen Reaktoren dünne Schichtdicken von wenigen Zentimetern zum Einsatz kommen, ist die Lichtverfügbarkeit und turbulente Durchmischung in der Suspension deutlich besser als in Raceway Ponds oder Rundbecken (Posten, 2009). Die geringere Verdunstungskühlung macht jedoch eine aktive Temperaturkontrolle durch Wärmetauscher oder Oberflächenbestäubung mit Wasser notwendig. Außerdem sind geschlossene Reaktoren anfälliger für eine Übersättigung mit Sauerstoff, was zu verstärkter Photorespiration führen kann (Pruvost et al., 2016; Ación et al., 2017b).

Die am häufigsten verwendeten Typen geschlossener Photobioreaktoren sind tubulare Reaktoren und Flachplattenreaktoren (Zittelli et al., 2013b). In tubularen Reaktoren zirkuliert die Algensuspension mit $20\text{--}50\text{ cm s}^{-1}$ durch ein mehrere hundert Meter langes Rohrleitungssystem mit einem Rohrdurchmesser von $10\text{--}60\text{ mm}$ (Posten, 2009). Die Rohre

verlaufen horizontal und sind meist in vertikalen Serpentin- oder konisch-spiralförmig angeordnet. Der Leistungseintrag erfolgt durch Kreiselpumpen oder Blasensäulen. In der weltweit größten geschlossenen Photobioreaktoranlage (Abbildung 3.6a, Roquette Klötze, Deutschland) wird ein tubulares Serpentinensystem mit einer Gesamtlänge von 500 km und einem Volumen von 700 m³ zur kommerziellen Produktion von 40 t a⁻¹ *Chlorella* für den Lebensmittel-, Futtermittel-, und Nahrungsergänzungsmittelbereich eingesetzt (Acíen et al., 2017b).

Flachplattenreaktoren bestehen aus zwei transparenten Platten oder Folien, zwischen denen sich die Mikroalgensuspension mit einer Schichtdicke von wenigen Millimetern bis zu 7 cm befindet (Abbildung 3.6b) (Posten, 2009). Die Durchmischung erfolgt üblicherweise durch Gaseintrag mit CO₂-angereicherter Luft. In größeren Anlagen werden mehrere Flachplatten vertikal oder geneigt neben- und hintereinander in Reihen angeordnet. Obwohl Flachplattenreaktoren häufig in der Mikroalgenforschung im Labormaßstab eingesetzt werden und eine Reihe von Outdoor-Demonstrationsanlagen existieren – beispielsweise in Deutschland, Italien und den USA – findet bislang keine kommerzielle Produktion von Mikroalgenbiomasse mit diesem Reaktortyp statt (Zittelli et al., 2013a; Acíen et al., 2017b).

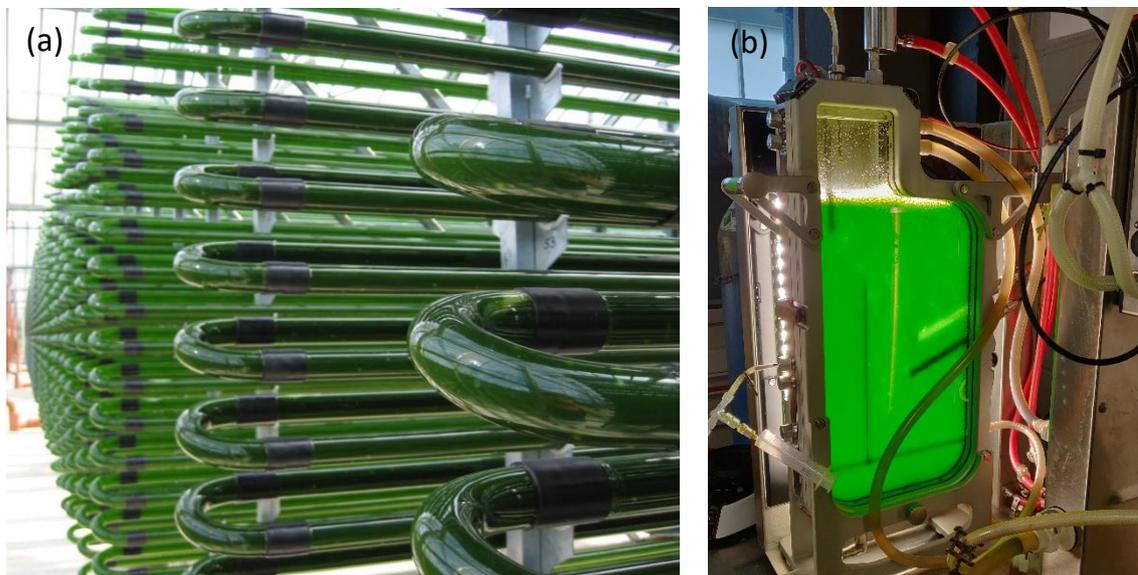


Abbildung 3.6. Geschlossene Photobioreaktoren. (a) Kommerziell eingesetzter Röhrenreaktor in einem Gewächshaus (zur Verfügung gestellt von J. Ullmann, Roquette Klötze (c)). (b) Künstlich beleuchteter Flachplattenreaktor im Labormaßstab.

Eine kommerzielle Produktion von Biokraftstoffen oder Basischemikalien mit geschlossenen Photobioreaktoren erscheint nach heutiger Ansicht nicht wirtschaftlich umsetzbar (Benemann, 2013). Die wesentlichen Limitierungen sind die deutlich zu hohen Kapital- und

Betriebskosten, die sich aus dem komplexeren Aufbau und der aufwendigeren Steuerung im Vergleich zu offenen Reaktorsystemen ergeben. Darüber hinaus sind geschlossene Reaktoren schlecht skalierbar, so dass in großen Anlagen viele kleine Reaktoreinheiten miteinander verbunden werden müssen (Acién Fernández et al., 2012; Zittelli et al., 2013b). Da sie einen besseren Schutz vor Kontaminationen und anderen Umwelteinflüssen bieten, eignen sie sich jedoch gut zur Produktion der Stammkulturen, die zur Inokulation der offenen Produktionsanlagen benötigt werden (Rodolfi et al., 2009).

3.3 Modellierung phototropher Bioprozesse

Zur Beschreibung und Auslegung mikrobieller Bioprozesse können mathematische Modelle verwendet werden, die sich aus einer Kombination von Stoffbilanzen des Reaktorsystems mit formalkinetischen Ansätzen des mikrobiellen Wachstums und der Produktbildung herleiten lassen. Solchen formalkinetischen Ansätzen liegt die stark vereinfachende Annahme zugrunde, dass sich die Zellpopulation als eine Menge einheitlicher Durchschnittszellen beschreiben lässt, deren einzige Charakteristika ihre gesamte Biotrockenmasse- und Produktkonzentration im Reaktionsraum sind. Man spricht in diesem Fall von einem unsegregierten und unstrukturierten Wachstumsmodell (Weuster-Botz und Takors, 2018). Darüber hinaus wird angenommen, dass der Reaktionsraum ideal durchmischt beziehungsweise isotrop ist, dass also alle Stoffkonzentrationen und physikalischen Eigenschaften räumlich homogen sind. In diesem Kapitel werden im Speziellen phototrophe Mikroalgenprozesse beschrieben, in denen die Bestrahlungsstärke in der Zellsuspension das wichtigste wachstumsbestimmende Substrat darstellt. Wenn nicht anders vermerkt, entstammen die mathematischen Herleitungen Chmiel et al. (2018), Sahm et al. (2013) und Doran (2013).

3.3.1 Kinetik des Mikroalgenwachstums

In einem ideal durchmischten, kontinuierlich betriebenen Reaktor lässt sich die zeitliche Änderung einer Stoffkonzentration durch die Massenbilanz um den Reaktionsraum als Summe eines Konvektions- und Reaktionsterms wie folgt beschreiben:

$$\frac{dm_i}{dt} = \frac{d(c_i \cdot V)}{dt} = \dot{V}_{zu} \cdot c_i^{zu} - \dot{V}_{ab} \cdot c_i + r_i \cdot V \quad (3.1)$$

mit	m_i	Masse der Komponente i , g
	t	Zeit, d
	V	Reaktionsvolumen, L
	\dot{V}_{zu}	Zulaufvolumenstrom, L d ⁻¹
	\dot{V}_{ab}	Ablaufvolumenstrom, L d ⁻¹
	c_i	Konzentration der Komponente i im Reaktor und Ablauf, g L ⁻¹
	c_i^{zu}	Konzentration der Komponente i im Zulauf, g L ⁻¹
	r_i	Reaktionsrate der Komponente i , g L ⁻¹ d ⁻¹

Für einen volumenkonstanten Satzprozess, in dem Flüssigphase weder zu- noch abgeführt wird, gilt dann für die Wachstumsrate r_X :

$$r_X = \frac{dc_X}{dt} = \mu \cdot c_X \quad (3.2)$$

mit	r_X	Volumetrische Wachstumsrate, g L ⁻¹ d ⁻¹
	c_X	Biomassekonzentration, g L ⁻¹
	μ	Spezifische Wachstumsrate, d ⁻¹

Entsprechend ist die biomassespezifische Wachstumsrate μ definiert:

$$\mu = \frac{1}{c_X} \cdot \frac{dc_X}{dt} \quad (3.3)$$

Durch Integration von Gleichung (3.3) bei einer konstanten Wachstumsrate μ lässt sich die exponentielle Zunahme der Biomassekonzentration im Satzprozess darstellen:

$$c_X = c_{X,0} \cdot e^{\mu \cdot t} \quad (3.4)$$

mit	$c_{X,0}$	initiale Biomassekonzentration, g L ⁻¹
-----	-----------	---

Ein gut etablierter kinetischer Modellansatz, der die Abhängigkeit der spezifischen Wachstumsrate von einem geschwindigkeitsbestimmenden Substrat beschreibt, stammt von Monod (1949):

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{c_{S1}}{c_{S1} + K_{S1}} \quad (3.5)$$

mit μ_{max} maximale spezifische Wachstumsrate, d^{-1}
 c_{S1} Konzentration des Substrats 1, $g L^{-1}$
 K_S Sättigungskonstante für Substrat 1, $g L^{-1}$

Dieser Zusammenhang bildet eine Sättigungsfunktion, bei der die spezifische Wachstumsrate mit zunehmender Substratkonzentration gegen eine maximale Wachstumsrate μ_{max} konvergiert. Entspricht die Substratkonzentration der Sättigungskonstante K_{S1} , so wird genau die Hälfte der maximalen Wachstumsrate erreicht.

Das Wachstum in phototrophen Mikroalgenprozessen wird vor allem von der Lichtintensität bestimmt, weshalb hier die in der Zellsuspension verfügbare Photonenflussdichte I als limitierendes Substrat betrachtet wird. Da das Licht auf dem optischen Pfad durch die Zellsuspension jedoch zunehmend von den Mikroalgen absorbiert wird, ist die Beschreibung der verfügbaren Photonenflussdichte in Abhängigkeit von der Schichttiefe und Biomassekonzentration notwendig (Abbildung 3.7). Pfaffinger et al. (2016) zeigten, dass für die Lichtabschwächung mit dem in dieser Arbeit verwendeten Mikroalgenstamm *Microchloropsis salina* das Lambert-Beer'sche Gesetz in guter Näherung gilt:

$$I = I_0 \cdot e^{-l \cdot c_x \cdot \varepsilon} \quad (3.6)$$

mit I_0 Eingangsphotonenflussdichte, $\mu mol m^{-2} s^{-1}$
 I Verfügbare Photonenflussdichte in Schichttiefe l , $\mu mol m^{-2} s^{-1}$
 l Länge des optischen Pfads, cm
 ε Extinktionskoeffizient, $L g^{-1} cm^{-1}$

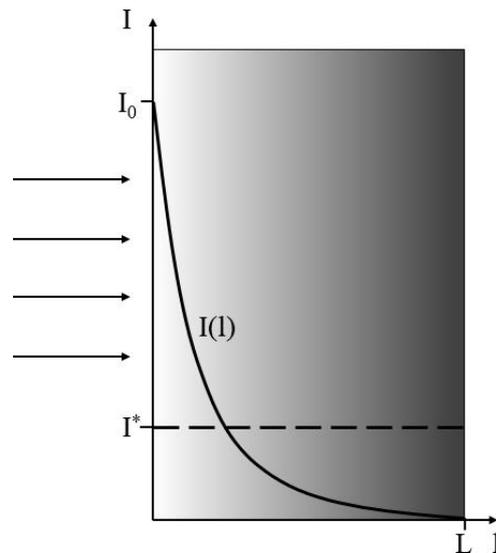


Abbildung 3.7. Schematische Darstellung der Abnahme der Photonenflussdichte I mit zunehmender Schichttiefe l in der Mikroalgensuspension (geändert nach Pruvost und Cornet (2012)). Das Licht (Pfeile von links) tritt mit der Photonenflussdichte I_0 auf die Oberfläche der Suspension und wird durch Absorption bis zur maximalen Schichttiefe L abgeschwächt. Durch Integration von I über der Strecke L lässt sich die integrale Photonenflussdichte I^* bestimmen.

Die entlang des optischen Pfades durch die Zellsuspension abnehmende Photonenflussdichte führt zur Ausbildung der in Abschnitt 3.1.3 erläuterten Zonen der Photoinhibition, Lichtsättigung, Lichtlimitierung und Respiration. Obwohl in diesen Lichtregimen sehr unterschiedliche Wachstumsraten zu erwarten sind, validierten Pfaffinger et al. (2016; 2019) das Modell einer mittleren Wachstumsrate in Abhängigkeit einer integralen Photonenflussdichte für *M. salina* im Flachplatten- und Flachgerinnereaktor. Die integrale Photonenflussdichte I^* ist nach Molina Grima et al. (1997) wie folgt definiert:

$$I^* = \frac{1}{L} \cdot \int_0^L I(c_X, l) dl = \frac{I_0 \cdot (1 - e^{-L \cdot c_X \cdot \varepsilon})}{\varepsilon \cdot c_X \cdot L} \quad (3.7)$$

mit I^* Integrale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
 l Schichttiefe, cm

Auf diese Weise lässt sich die mittlere spezifische Wachstumsrate als Funktion der integralen Photonenflussdichte ausdrücken, die die Photoinhibition bei hoher Bestrahlungsstärke nach einem Inhibitionsmodell nach Pfaffinger et al. (2016) berücksichtigt:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I^*}{K_{S1} + I^* + I^* \cdot \left(\frac{I^*}{K_I}\right)^\varphi} \quad (3.8)$$

mit K_{S1} Sättigungskonstante für die Photonenflussdichte, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
 K_I Photoinhibitionskonstante, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
 φ Sensitivitätsparameter, -

Analog zur spezifischen Wachstumsrate lassen sich auch spezifische Substrataufnahme- und Produktbildungsraten definieren, mit denen die Konzentrationsänderungen von Nährstoffen (beispielsweise der Stickstoffquelle) und gegebenenfalls zusätzlichen Produkten wie Lipide oder Pigmente beschrieben werden können. Dabei werden Bildungsraten positiv definiert, während Aufnahmezeiten negativ definiert werden, da die Substratkonzentration mit dem Zellwachstum abnimmt:

$$-q_S = \frac{1}{c_X} \cdot \frac{dc_S}{dt} \quad (3.9)$$

$$q_P = \frac{1}{c_X} \cdot \frac{dc_P}{dt} \quad (3.10)$$

mit q_S spezifische Substrataufnahmerate, $\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$
 q_P spezifische Produktbildungsrate, $\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$
 c_S Substratkonzentration, g L^{-1}
 c_P Produktkonzentration, g L^{-1}

Die Verhältnisse der spezifischen Raten zueinander bilden die Ertragskoeffizienten. Diese geben beispielsweise wieder, wie viel Substrat zur Bildung einer bestimmten Menge an Biomasse eingesetzt werden muss.

$$Y_{XS} = \left| \frac{dc_X}{dc_S} \right| = \frac{\mu}{q_S} \quad (3.11)$$

$$Y_{PS} = \left| \frac{dc_P}{dc_S} \right| = \frac{q_P}{q_S} \quad (3.12)$$

mit Y_{XS} Biomasseertragskoeffizient, g g^{-1}
 Y_{PS} Produktselektivität, g g^{-1}

Bei intrazellulären Produkten ist insbesondere auch der Produktanteil Q_{PX} in der Biomasse von Interesse:

$$Q_{PX} = \frac{c_P}{c_X} \quad (3.13)$$

In Mikroalgen ist die verstärkte Bildung intrazellulärer Produkte häufig eine Adaption an bestimmte Stressfaktoren, die das Wachstum einschränken. Wie in Abschnitt 3.1.3 beschrieben, führt beispielsweise eine hohe Salinität in *Dunaliella salina* zur Akkumulation von Carotinoiden, während eine Stickstofflimitierung in vielen Algenspezies die Bildung von Speicherlipiden induziert. Ist neben der Photonenflussdichte ein weiteres Substrat wachstumslimitierend, so kann Gleichung (3.8) entsprechend erweitert werden:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I^*}{K_{S1} + I^* + I^* \cdot \left(\frac{I^*}{K_I}\right)^\varphi} \cdot \frac{c_{S2}}{c_{S2} + K_{S2}} \quad (3.14)$$

- mit
- K_{S1} Sättigungskonstante für die Photonenflussdichte, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
 - K_{S2} Sättigungskonstante für Substrat 2, g L^{-1}
 - c_{S2} Konzentration des Substrats 2, g L^{-1}

Darüber hinaus können hohe Konzentrationen eines Stoffes, beispielsweise eines Produkts oder Salzes, zur Inhibition der Wachstums- oder Produktbildungsrate führen. Dies lässt sich durch Hinzunahme eines Inhibitionsterms ausdrücken, hier am Beispiel der Wachstumsrate:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I^*}{K_{S1} + I^* + I^* \cdot \left(\frac{I^*}{K_I}\right)^\varphi} \cdot \frac{c_S}{c_S + K_{S2}} \cdot \left(1 - \frac{c_P}{c_{P,max}}\right)^n \quad (3.15)$$

- mit
- $c_{P,max}$ Produktkonzentration, ab der kein Wachstum mehr beobachtet wird, g L^{-1}
 - n Verstärkungsparameter, -

Hierbei gibt der Parameter n an, ob das Produkt schon bei niedrigen Konzentrationen stark inhibierend wirkt ($n > 1$), oder erst bei hohen Konzentrationen nahe $c_{P,max}$ zur starken Inhibition führt ($n < 1$).

3.3.2 Betrieb von Bioreaktoren

In biotechnologischen Prozessen werden im Allgemeinen drei Prozessführungsvarianten unterschieden: (1) In Satzprozessen findet kein Zu- oder Ablauf in beziehungsweise aus der Flüssigphase statt, so dass alle notwendigen Substrate im Reaktionsmedium vorgelegt werden müssen. (2) In Zulaufprozessen wird der Flüssigphase kontinuierlich weiteres Reaktionsmedium zugeführt. (3) In kontinuierlichen Prozessen wird kontinuierlich weiteres Reaktionsmedium zugeführt während gleichzeitig ein Teil der Flüssigphase aus dem Reaktor abgeführt wird, wobei beide Volumenströme üblicherweise identisch sind, so dass das Reaktionsvolumen konstant bleibt. Da in phototrophen Mikroalgenprozessen die beiden Hauptsubstrate, Licht und CO₂, nicht vorgelegt werden können, sondern kontinuierlich zugeführt werden müssen, ist eine Unterscheidung von Satz- und Zulaufprozessen in diesem Fall wenig sinnvoll. Offene Photobioreaktoren verlieren zudem Wasser durch Verdunstung an die Atmosphäre, so dass gegebenenfalls ein Ausgleich mit zusätzlichem Wasser stattfinden muss, um den Reaktor nicht austrocknen zu lassen. Sofern hohe Zelldichten in dünnen Suspensionsschichten erreicht werden sollen, ist darüber hinaus die nachträgliche Zugabe von Nährstoffen (N, P, Fe, Spurenelemente) notwendig, die nicht in ausreichender Konzentration vorgelegt werden können. Ein Prozess wird in dieser Arbeit daher als Satzprozess bezeichnet, sofern der Verdunstungsausgleich und die intermittierende Zugabe einer konzentrierten Nährstofflösungen die einzige Zufuhr von Flüssigphase in den Reaktor darstellen und das Reaktionsvolumen dabei konstant bleibt.

Stoffbilanz im Satzprozess

Solange keine intermittierende Nährstoffzugabe stattfindet, reduziert sich die allgemeine Stoffbilanz für den Satzprozess auf den Reaktionsterm:

$$\frac{dc_i}{dt} = r_i \quad (3.16)$$

Unter idealen Wachstumsbedingungen bilden sich im Satzprozess sechs typische Wachstumsphasen aus (Abbildung 3.8): Nach der Inokulation des Reaktionsmediums mit einer Stammkultur ist zunächst eine Verzögerungsphase (1) ohne Wachstum zu beobachten, in der sich die Zellen metabolisch an die neuen Umgebungsbedingungen anpassen müssen. Nach einer kurzen Beschleunigungsphase (2) erreicht die Population ihre maximale Wachstumsrate,

so dass es zum exponentiellen Anstieg der Zelldichte kommt (3). Diese exponentielle Wachstumsphase hält solange an, bis mindestens ein Parameter zu einer Limitierung oder Inhibition des Wachstums führt, beispielsweise durch den Verbrauch eines Substrats oder die Akkumulation eines inhibierenden Produktes. Nach einer Übergangsphase (4), in der das Wachstum abnimmt, stellt sich ein Gleichgewicht zwischen Wachstums- und Absterberate ein, so dass die Zelldichte stationär bleibt (5). Wenn schließlich auch intrazelluläre Speicherstoffe aufgebraucht sind oder ein inhibierendes Produkt weiter akkumuliert, übersteigt die Absterberate das Wachstum, so dass eine Abnahme der Zelldichte in der Absterbephase (6) zu beobachten ist.

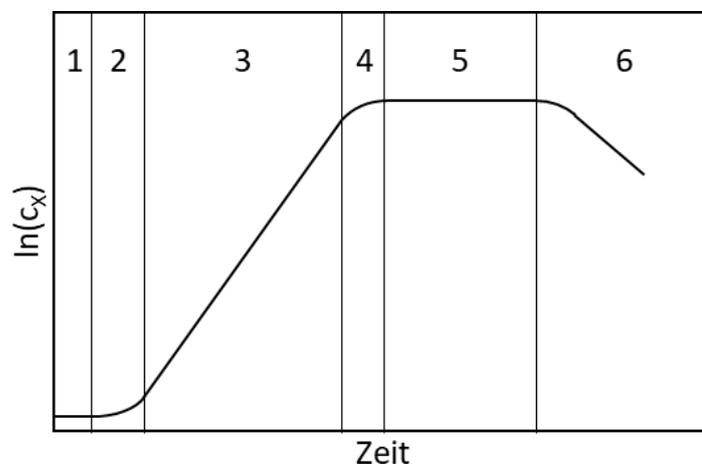


Abbildung 3.8. Schematische Darstellung der Wachstumsphasen im Satzprozess in halblogarithmischer Auftragung (nach Monod (1949)). 1: Verzögerungsphase, 2: Beschleunigungsphase, 3: exponentielle Wachstumsphase, 4: Übergangsphase, 5: stationäre Phase, 6: Absterbephase.

Stoffbilanz im kontinuierlichen Prozess

Im Gegensatz zum Satzprozess wird dem Reaktionsraum im kontinuierlichen Prozess kontinuierlich Flüssigphase zugeführt (Zulaufstrom) und gleichzeitig entzogen (Ablaufstrom). Ist das Reaktionsvolumen durch gleiche Zu- und Ablaufströme konstant, so vereinfacht sich die allgemeine Massenbilanz aus Gleichung (3.1):

$$\frac{dc_i}{dt} = \frac{\dot{V}}{V} \cdot (c_i^{zu} - c_i) + r_i \quad (3.17)$$

mit \dot{V} Zu- und Ablaufvolumenstrom, $L \cdot d^{-1}$

Hierbei wird das Verhältnis aus Volumenstrom und Reaktionsvolumen auch als Durchflussrate bezeichnet, während das reziproke Verhältnis die mittlere hydraulische Verweilzeit angibt.

$$\frac{\dot{V}}{V} = D = \frac{1}{\tau} \quad (3.18)$$

mit D Durchflussrate, d^{-1}
 τ Mittlere hydraulische Verweilzeit, d

Wird die Durchflussrate konstant gehalten, spricht man auch von einer chemostatischen Betriebsweise. Alternativ können die Volumenströme mit einer entsprechenden Regelschleife auch so geregelt werden, dass die Biomassekonzentration oder die Konzentration eines Substrats konstant gehalten wird. Im ersten Fall wird vom turbidostatischen, im zweiten vom nutristatischen Betrieb gesprochen. Die unterschiedlichen Betriebsarten können je nach Wachstumskinetik Vor- und Nachteile bieten. So stellt beispielsweise im turbidostatischen Betrieb das Auswaschen der Zellen bei hohen Durchflussraten nahe der maximalen Wachstumsrate kein Risiko dar.

Sofern die Stoffkonzentrationen im Zulauf sowie die Betriebsparameter des kontinuierlichen Prozesses konstant bleiben, kann sich ein dynamischer Fließgleichgewichtszustand einstellen, bei dem keine zeitliche Änderung der Konzentrationen im Reaktor mehr zu beobachten ist.

$$\frac{dc_i}{dt} = 0 = D \cdot (c_i^{zu} - c_i) + r_i \quad (3.19)$$

$$\Leftrightarrow D \cdot (c_i - c_i^{zu}) = r_i \quad (3.20)$$

Wenn sich keine Biomasse im Zulaufmedium befindet, ergibt sich für die Biomassekonzentration nach Einsetzen von Gleichung (3.2) folgender Zusammenhang:

$$D = \frac{r_X}{c_X} = \mu \quad (3.21)$$

Dies gilt für die Substratkonzentration im Fließgleichgewicht analog. Aus Einsetzen von Gleichung (3.11) folgt:

$$D \cdot (c_S - c_S^{zu}) = r_S = -\frac{\mu \cdot c_X}{Y_{XS}} \quad (3.22)$$

Unter der Voraussetzung, dass sich kein Produkt im Zulaufstrom befindet, gilt für die Produktkonzentration:

$$D \cdot c_p = r_p = c_x \cdot q_p \quad (3.23)$$

Das Produkt aus Durchflussrate und Produktkonzentration wird im Fließgleichgewichtszustand auch als Raum-Zeit-Ausbeute (RZA) bezeichnet:

$$D \cdot c_p = RZA \quad (3.24)$$

mit RZA Raum-Zeit-Ausbeute, $\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$

In industriellen Mikroalgenprozessen ist neben dem Reaktionsvolumen vor allem auch der zur Produktion notwendige Flächenbedarf von Bedeutung. Über das Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis des jeweiligen Photobioreaktors lassen sich volumetrische und flächenbezogene Raten ineinander Umrechnen:

$$OV = \frac{A}{V} \quad (3.25)$$

$$FZA = \frac{RZA}{OV}$$

mit OV Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis, m^{-1}

A Reaktorfläche, m^2

FZA Flächen-Zeit-Ausbeute, $\text{g m}^{-2} \text{d}^{-1}$

Verweilzeitverhalten idealer Reaktoren

Damit sich im kontinuierlichen Betrieb ein Fließgleichgewichtszustand einstellen kann, muss der Bioreaktor über einen längeren Zeitraum bei konstanten Bedingungen und konstanten Konzentrationen im Zulaufstrom betrieben werden. Welche Dauer zur Einstellung eines Fließgleichgewichtszustands mindestens benötigt wird, hängt von der Durchflussrate beziehungsweise der mittleren hydraulischen Verweilzeit sowie von der Idealität der Durchmischung des Reaktors ab. Experimentell zugänglich ist dieses sogenannte Verweilzeitverhalten durch Aufgabe einer inerten Markierungssubstanz, deren Konzentration am Reaktorausgang gemessen werden kann. Hierfür kann beispielsweise ein Salz in Kombination mit einer Leitfähigkeitsmessung verwendet werden. Die Markierungssubstanz

kann entweder als einmaliger Puls oder kontinuierlich in Form einer Sprungfunktion zugegeben werden (Abbildung 3.9).

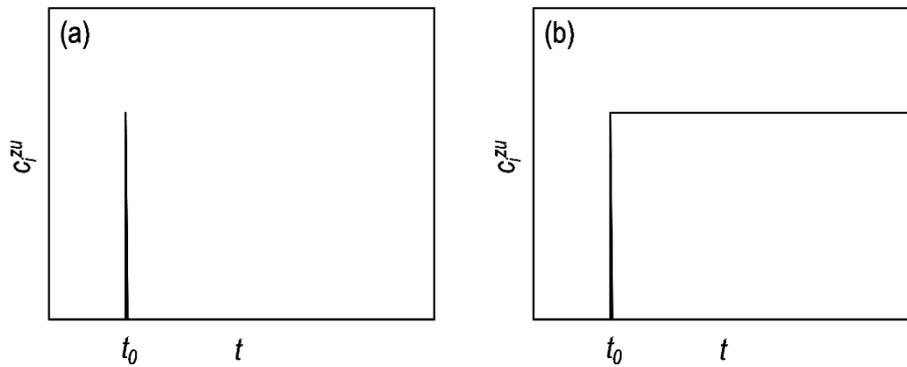


Abbildung 3.9. Zugabe einer Markierungssubstanz i zur Bestimmung des Verweilzeitverhaltens als (a) Puls oder (b) Sprungfunktion zum Zeitpunkt t_0 mit der Konzentration c_i^{zu} im Zulauf.

Die Verweilzeitverteilung $E(t)$ gibt dann an, mit welcher Wahrscheinlichkeit ein Anteil einer zum Zeitpunkt t_0 in den Reaktor gelangten Stoffmenge n_0 diesen zum Zeitpunkt t wieder verlässt (Baerns et al., 2013). Sie wird normiert auf die Stoffmenge n_0 :

$$E(t) = \frac{\dot{V} \cdot c_i(t)}{n_0} = \frac{\dot{V} \cdot c_i(t)}{V \cdot c_{i,0}} = \frac{1}{\tau} \cdot \frac{c_i(t)}{c_{i,0}} \quad (3.26)$$

- mit
- $E(t)$ Verweilzeitverteilung
 - $c_i(t)$ Konzentration des Spurstoffs i zum Zeitpunkt t am Reaktorausgang, mol L⁻¹
 - $c_{i,0}$ Konzentration von i zum Zeitpunkt t_0 , mol L⁻¹
 - n_0 Stoffmenge von i im Reaktor zum Zeitpunkt t_0 , mol

Die Verweilzeitverteilung kann direkt aus dem Antwortsignal einer Pulsfunktion ermittelt werden. Im ideal durchmischten Reaktor stellt sich augenblicklich nach pulsförmiger Aufgabe des inerten Spurstoffs i die homogene Konzentration $c_{i,0}$ im Reaktionsvolumen ein. Aus der Massenbilanzgleichung (3.17) ergibt sich für diesen Fall die Verweilzeitverteilung durch Variablentrennung und Integration:

$$\frac{c_i(t)}{c_{i,0}} = e^{-\frac{t}{\tau}} = E(t) \cdot \tau \quad (3.27)$$

Analog gibt die Verweilzeitsummenkurve $F(t)$ an, welcher Anteil der zum Zeitpunkt t_0 zugegebenen Stoffmenge den Reaktor nach der Zeit t bereits verlassen hat. Sie kann aus dem

Antwortsignal einer Sprungfunktion ermittelt werden und ergibt sich nach Variablentrennung und Integration der entsprechenden Massenbilanz:

$$F(t) = \frac{c_i(t)}{c_i^{zu}} = 1 - e^{-\frac{t}{\tau}} = \int_0^{\infty} E(t) \cdot dt \quad (3.28)$$

mit $F(t)$ Verweilzeitsummenkurve

Abbildung 3.10 zeigt das Verweilzeitspektrum (Antwortsignal der Pulsfunktion) und die Verweilzeitsummenkurve (Antwortsignal der Sprungfunktion) eines ideal durchmischten Reaktors normiert auf die mittlere hydraulische Verweilzeit τ . Beide Fälle zeigen, dass der Reaktor erst nach Ablauf von 3 mittleren hydraulischen Verweilzeiten 95% des Spurstoffs ausgewaschen hat beziehungsweise 95% der Zulaufkonzentration des Spurstoffs erreicht hat. Es ist folglich eine Dauer von mindestens 3 mittleren hydraulischen Verweilzeiten notwendig, um bei konstanten Eingangsbedingungen einen Fließgleichgewichtszustand zu erreichen.

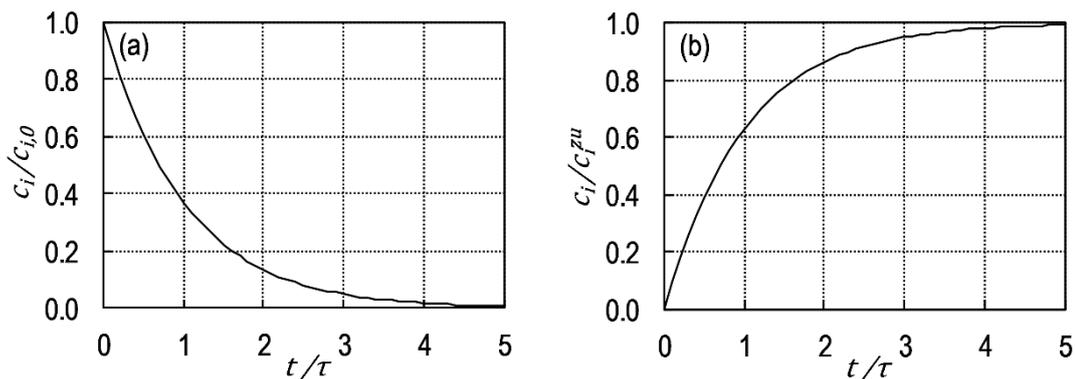


Abbildung 3.10. (a) Verweilzeitspektrum als Antwortsignal einer Pulsfunktion und (b) Verweilzeitsummenkurve als Antwortsignal einer Sprungfunktion im ideal durchmischten kontinuierlichen Reaktor mit der mittleren hydraulischen Verweilzeit τ .

Vergleiche des experimentell ermittelten Verweilzeitverhaltens mit den hier gezeigten Funktionen dienen zur Beurteilung der Abweichung des realen Reaktors vom ideal durchmischten Reaktor. Da die in dieser Arbeit verwendeten Flachgerinnereaktoren jedoch Mischzeiten zur Erreichung von 90%-iger Homogenität von 2-3 Minuten im 8 m² Maßstab und 10 Minuten im 50 m² Maßstab zeigten (Apel, 2017), während sich das Mikroalgenwachstum in der Größenordnung von Stunden und mittlere hydraulische Verweilzeiten in der Größenordnung von Tagen abspielen, kann von idealer Durchmischung in guter Näherung ausgegangen werden.

4 Material und Methoden

Im folgenden Kapitel werden alle in dieser Arbeit verwendeten Anlagen, Materialien und Methoden beschrieben. Dabei werden das TUM-Algentechnikum, die dort angewandte Klimasimulation und der Betrieb der Flachgerinnereaktoren sowie analytische Methoden erläutert. Eine Auflistung der verwendeten Geräte und Materialien ist im Anhang zu finden.

4.1 TUM-Algentechnikum und Klimasimulation

Das Algentechnikum der TU München ist ein Forschungsgebäude auf dem Ludwig-Bölkow-Campus in Ottobrunn bei München (Abbildung 4.1). Hier werden in drei Glashallen mit einer Grundfläche von je $20\text{ m} \cdot 10\text{ m}$ und einem angrenzenden Labortrakt phototrophe Mikroalgenprozesse erforscht. Dabei bietet das Algentechnikum die Möglichkeit der physikalischen Simulation eines gewünschten Klimas mit Lufttemperatur, Luftfeuchtigkeit und Photonenflussdichte, um das Wachstum und die Produktbildung von Mikroalgen unter realen Umgebungsbedingungen im Freiland zu evaluieren.



Abbildung 4.1. Außenansicht des Algentechnikums von der Südseite bei grüner LED-Beleuchtung in drei separaten Klimasimulationshallen sowie dem angeschlossenen Labortrakt (Erdgeschoss) mit Klimazentrale (1. Stock) auf der Nordseite.

Die Simulation der Photonenflussdichte erfolgte durch eine Kombination aus künstlichem LED-Licht mit dem natürlichen, durch das Glasdach einfallenden Sonnenlicht. Dazu wurde die lokale Bestrahlungsintensität durch ein unter dem Glasdach installiertes Spektroradiometer gemessen. Durch Verschattungseffekte der Stahlkonstruktionen und oberhalb der Reaktoren

installierten LED-Segmente trafen im Tagesdurchschnitt 31% der lokal gemessenen Photonenflussdichte auf die Reaktoroberfläche (Apel, 2017). Die Differenz zwischen 31% der lokalen Photonenflussdichte und dem gewünschten Sollwert wurde dann durch die LED-Anlage emittiert und sekundlich aktualisiert, um schnell auf beispielsweise vorbeiziehende Wolken zu reagieren. Das LED-Licht bestand dabei aus einer Kombination aus acht verschiedenfarbigen LEDs, die zusammen eine gute Näherung an das natürliche Sonnenlichtspektrum (Referenzspektrum ASTM G173-03, NREL 2012) im Bereich von 420–750 nm ergaben (Apel et al., 2017).

Die Luftklimasimulation erfolgte entweder über mechanische Konvektion durch Klimaanlage oder über natürliche Konvektion bei automatisierter Öffnung der Fenster auf der Süd- und Nordseite der Hallen. Letzteres war eine Möglichkeit, bei geeigneten Außenbedingungen den energieintensiven Betrieb der Klimaanlage einzusparen. So konnte z.B. bei starker Sonneneinstrahlung und gleichzeitig vergleichsweise kühler Außentemperatur größtenteils auf den Betrieb der Klimaanlage verzichtet werden. Unter diesen Umständen heizten sich die Glashallen durch die Sonneneinstrahlung stark auf, konnten aber durch die automatisierte Fenstersteuerung mit stufenloser Öffnung effektiv gekühlt werden, indem ein Kamineffekt zwischen den weiter unten angebrachten Fenstern auf der Südseite und den höher angebrachten Fenstern auf der Nordseite erzeugt wurde.

Das Schaltverhalten der Klimaanlage war in der Regel folgendermaßen programmiert: Von 6–11 Uhr wurde die mechanische Konvektion durch Klimaanlage genutzt, um das zügige morgendliche Erwärmen zu realisieren. Um Energiekosten einzusparen, wurde von 11–19 Uhr die natürliche Konvektion genutzt, solange Temperaturabweichungen von maximal 1,5 °C eingehalten werden konnten. Bestand für mindestens 30 Minuten eine größere Abweichung, wurden die Fenster automatisch geschlossen und die Klimaanlage zugeschaltet. Während der kühleren Nacht blieben die Klimaanlage von 19–6 Uhr ausgeschaltet. Bei extremen Außenbedingungen im Winter oder Hochsommer wurde das Schaltverhalten der Klimaanlage gegebenenfalls angepasst.

Als Zielklima wurden aufgezeichnete Klimadaten vom 15.06.2012 in Almería, Südspanien gewählt. Dies war ein typischer sonniger Sommertag mit einer maximalen globalen Strahlungsintensität von 991 W m^{-2} , einer minimalen Temperatur bei Nacht von 14 °C und einer maximalen Tagestemperatur von 30 °C. Die Globalstrahlung wurde mit einem Faktor von 0,4 zur Strahlungsintensität im Wellenlängenbereich der photosynthetisch aktiven Strahlung

von 400–700 nm umgerechnet und mit einem Faktor von $4,6 \mu\text{mol W}^{-1} \text{s}^{-1}$ zur Photonenflussdichte konvertiert (Holland und Dragavon, 2014; Apel und Weuster-Botz, 2015). Das Zielklima wurde ausgewählt, da sich die Region Almería an der südspanischen Küste wegen hoher Sonnenlichteinstrahlung, mäßig-hoher Temperaturen, Zugang zu Meerwasser und landwirtschaftlich nicht genutzter Flächen gut für mögliche Mikroalgenprozesse im industriellen Maßstab eignet.

Eine beispielhafte Klimasimulation des spanischen Sommertages im Algentechnikum vom 5. bis 9. Mai 2018 ist in Abbildung 4.2 gezeigt. Wenn in der Beschreibung einzelner Prozesse nicht anders vermerkt, ist davon auszugehen, dass das Zielklima gut wiedergegeben wurde.

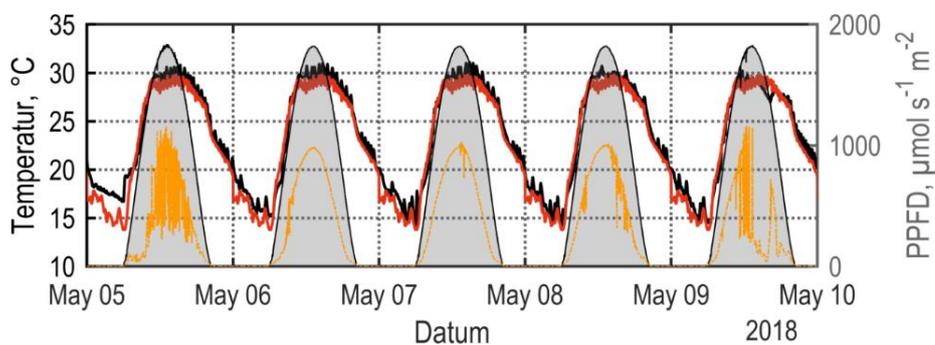


Abbildung 4.2. Physikalische Klimasimulation des spanischen Sommertages im Algentechnikum vom 5. bis 9. Mai 2018. Soll-Lufttemperatur (—), Ist-Lufttemperatur (—), lokale solare Photonenflussdichte (PPFD, —) und Gesamt-Photonenflussdichte aus LED- und Sonnenlicht (graue Fläche).

4.2 Mikroalgenstamm *Microchloropsis salina*

Alle Experimente wurden mit dem Mikroalgenstamm *Microchloropsis salina* durchgeführt (früher *Nannochloropsis salina*; Sammlung von Algenkulturen der Universität Göttingen, SAG 40.85). Diese marine Spezies zeichnet sich durch eine schnelle Wachstumsrate in Salzwasser bei einem leicht alkalischen pH-Optimum von 7,5–8,0 aus (Boussiba et al., 1987). Da viele potentielle Kontaminanten bei diesen selektiven Wachstumsbedingungen nicht oder nur schlecht wachsen, eignet sie sich gut für die Kultivierung in offenen Photobioreaktoren. Die sphärischen Zellen haben typischerweise einen Durchmesser von etwa 2–4 μm und neigen nicht zur Aggregation oder Biofilmbildung, was in Suspensionskulturen ebenfalls von Vorteil ist. Es wurde bereits gezeigt, dass sich *M. salina* gut für die phototrophe Biomasseproduktion in Flachgerinnereaktoren eignet (Apel et al., 2017). Die Fähigkeit der Gattung *Microchloropsis* beziehungsweise *Nannochloropsis*, vor allem unter stickstofflimitierten Bedingungen einen hohen Lipidanteil von mehr 60% der Trockenmasse zu akkumulieren, macht *M. salina*-

Biomasse außerdem zu einem interessanten Rohstoff für die Produktion von Biokraftstoffen (Rodolfi et al., 2009; Pfaffinger et al., 2016). Abbildung 4.3 zeigt eine Lichtmikroskopische Aufnahme von *M. salina*-Zellen.

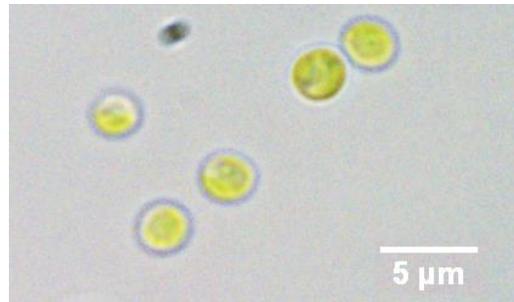


Abbildung 4.3. Lichtmikroskopische Aufnahme von *Microchloropsis salina*-Zellen im Hellfeld.

4.3 Reaktionsmedien

Als Reaktionsmedium wurde ein modifiziertes artifizielles Meerwasser (ASW, engl. artificial sea water; Boussiba et al. 1987) verwendet. Dazu wurde eine NaCl-Lösung vom Soleerzeuger (ReichTank, Pürgen, Deutschland) bereitgestellt, während die übrigen Komponenten manuell eingewogen wurden (Tabelle 4.1 und 4.2). In späteren Experimenten wurde 1 g L⁻¹ Kaliumnitrat als Stickstoffquelle durch 0,3 g L⁻¹ Harnstoff ausgetauscht (äquimolar in Bezug auf Stickstoff), da Harnstoff prozesstechnisch und preislich vorteilhaft war (siehe Abschnitt 5.2).

Tabelle 4.1. Zusammensetzung des artifiziiellen Meerwasser-Mediums.

Komponente	Konzentration, g L ⁻¹
NaCl	27
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	6,6
CaCl ₂	1,5
KNO ₃	1
KH ₂ PO ₄	0,07
Na ₂ EDTA · 2 H ₂ O	0,021
FeCl ₃ · 6 H ₂ O	0,014
Spurenelementlösung	0,05 mL L ⁻¹

Tabelle 4.2. Zusammensetzung der Spurenelementlösung.

Komponente	Konzentration, g L ⁻¹
MnCl ₂ · 7 H ₂ O	12,58
H ₃ BO ₃	12
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ · 4 H ₂ O	7,4
CuCl ₂ · 2 H ₂ O	0,8
ZnCl ₂	0,8

Um Nährstofflimitierungen zu verzögern, wurde vor Inokulation außerdem eine zusätzliche konzentrierte Nährstofflösung zugegeben. Die Nährstofflösung bestand aus den gleichen Komponenten und Konzentrationsverhältnissen wie das ASW-Medium, allerdings ohne NaCl, MgSO₄ · 7 H₂O und CaCl₂. Auf diese Weise wurde zu Prozessbeginn die Gesamtkonzentration der Komponenten KNO₃ (beziehungsweise Harnstoff), KH₂PO₄, Na₂EDTA · 2 H₂O, FeCl₃ · 6 H₂O und der Spurenelementlösung auf das 2- bis 4-fache der ASW-Konzentrationen eingestellt. Sofern eine Nährstofflimitierung im Prozessverlauf vollständig vermieden werden sollte, wurde die gleiche Nährstofflösung zusätzlich bei Bedarf manuell zugegeben, um die Nitratkonzentration im Bereich von 1–3 g L⁻¹ beziehungsweise die Harnstoffkonzentration im Bereich von 0,5–1,5 g L⁻¹ zu halten.

In kontinuierlichen Prozessen wurde in Vorlagebehältern mit einem Volumen von 100–200 L (ARICON Kunststoffwerk, Solingen, Deutschland) ebenfalls ein ASW-Medium in Kombination mit der konzentrierten Nährstofflösung als Zulaufmedium verwendet, so dass auf zusätzliche manuelle Mediumzugaben verzichtet werden konnte.

4.4 Aufbau und Betrieb offener Flachgerinnereaktoren

4.4.1 Flachgerinnereaktoren mit 8 m² Grundfläche

Die insgesamt sechs Flachgerinnereaktoren mit einer Gesamtoberfläche von je 8 m² und einem Arbeitsvolumen von je 55 L bestanden aus zwei parallel nebeneinander liegenden Gerinnen, die um 1° in entgegengesetzter Richtung geneigt waren (Abbildung 4.4). Die Zellsuspension floss von einem Einlaufbecken am höchsten Punkt ausgehend gravimetrisch über das obere Gerinne, wurde durch ein Wendebecken auf das untere Gerinne geleitet und floss von dort in ein Auffangbecken. Eine Kreiselpumpe beförderte die Suspension vom

Auffangbecken zurück in das Einlaufbecken. Die einzelnen Module der Flachgerinnereaktoren waren aus weißem 10 mm starkem High-Density-Polyethylen hergestellt, wurden von Aluminiumgerüsten getragen und waren mit einem mittleren Abstand der Gerinne von 75 cm unterhalb der LED-Segmente positioniert. Für einige Gerinneflächen wurde wesentlich kostengünstigere Polyethylen-Teichfolie verwendet, die von einem Drahtgitter getragen wurde, wobei bereits gezeigt wurde, dass die unterschiedlichen Gerinnematerialien keinen Einfluss auf die Mikroalgenprozesse haben (Apel et al., 2017).

Die Kreiselpumpe wurde mit einem Volumenstrom von $2,4 \text{ L s}^{-1}$ betrieben, was in einer Flüssigkeitsschichttiefe auf dem Gerinne von 5–7 mm resultierte. Im Auffangbecken war eine kombinierte pH/Temperatur-Sonde, ein CO_2 -Eintragssystem aus perforierten Schläuchen sowie ein binärer Füllstandssensor installiert. Der pH wurde vor jedem Prozess über eine Zweipunktmessung, die Temperatur über eine Einpunktmessung kalibriert. Die Inokulation auf eine Startkonzentration von $0,3 \text{ g L}^{-1}$ BTM erfolgte zwischen 17 und 19 Uhr mit 2–3 L einer *M. salina*-Vorkultur der späten exponentiellen Wachstumsphase aus einem identisch aufgebauten FGR mit 4 m^2 Grundfläche. Während der Kultivierung wurde der pH tagsüber durch Zugabe von reinem CO_2 über einen Massendurchflussregler auf pH 8,5 geregelt. Um die Wasserverdunstung auszugleichen, wurden 300–500 mL Leitungswasser über ein Magnetventil automatisch im Auffangbecken zugegeben, sobald der an der Suspensionsoberfläche installierte binäre Füllstandssensor ein Null-Signal (= kein Wasser) ausgab. In einigen Prozessen war außerdem eine Infrarot-Sonde zur Online-Messung der optischen Dichte (OD) im Einlaufbecken installiert. Die Steuerung und Datenerfassung aller Aktoren und Sensoren erfolgte über ein USB-Messsystem in Verbindung mit einem in LabView programmierten Prozessleitsystem. Eine 3D-Zeichnung sowie ein Foto eines 8 m^2 FGR sind in Abbildung 4.4 gezeigt. Die verwendeten Komponenten und Hersteller sind in Tabelle 4.3 aufgelistet.

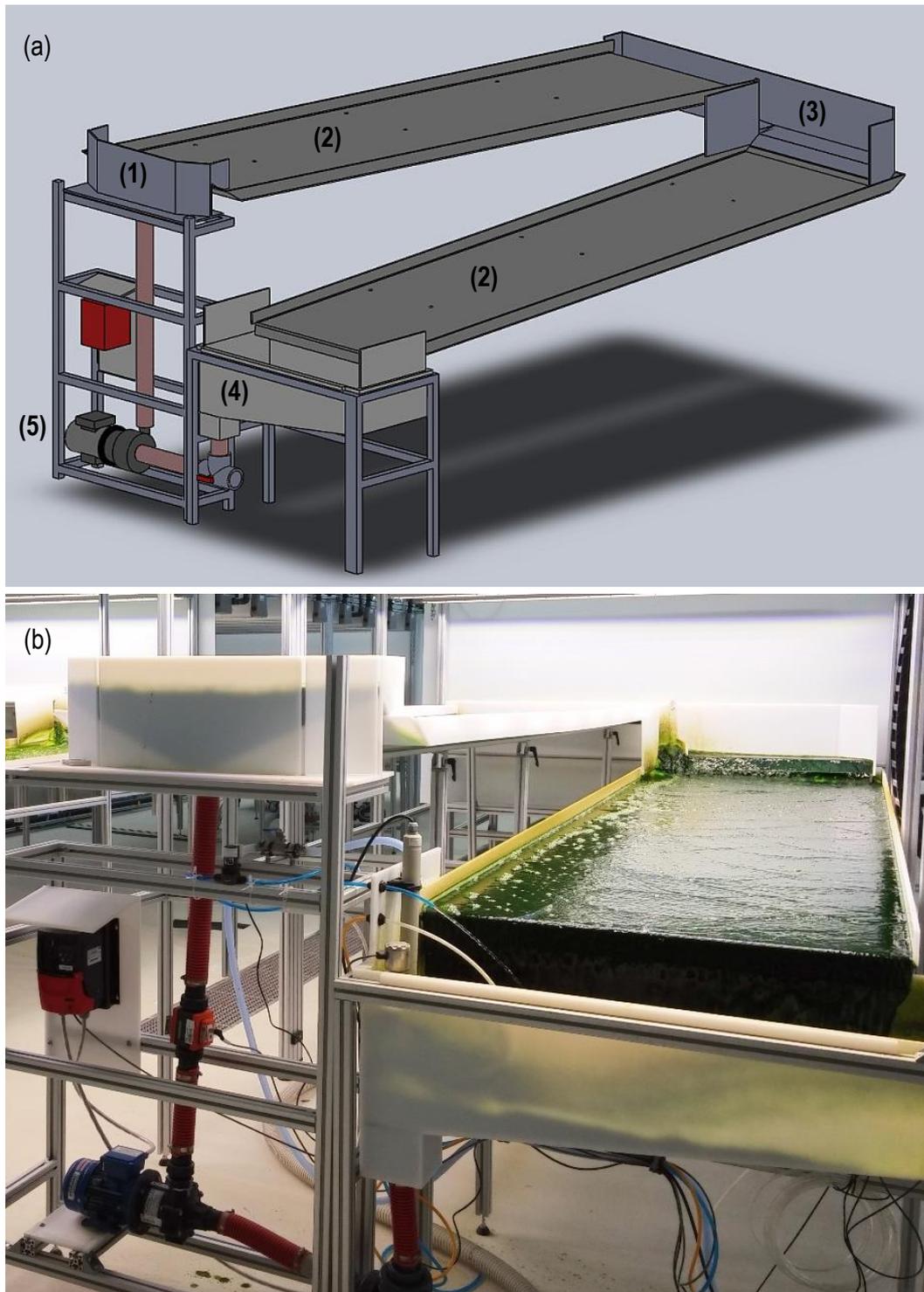


Abbildung 4.4. (a) CAD-Modellzeichnung eines Flachgerinnereaktors (FGR) mit 8 m² Grundfläche und fester Gerinnekonstruktion. (1) Einlaufbecken, (2) Gerinneflächen, (3) Wendebecken, (4) Sammelbecken, (5) Kreiselpumpe. Das Trägergerüst für Gerinne und Wendebecken wurde zur besseren Übersichtlichkeit ausgeblendet. (b) Foto eines FGR nach obiger Zeichnung im laufenden Betrieb mit Mikroalgenkultur.

Tabelle 4.3. Komponenten der Flachgerinnereaktoren.

Komponente	Produkt und Hersteller
Reaktorbecken und feste Gerinne	PE-HD 10 mm, Rauch, Feldkirchen, D
Teichfolie	PE-Bändchenfolie 320 g m ⁻² , Daedler, Trittau, D
Aluminiumgerüst	Aluminiumprofile 80x80E/L, Alvarís, Suhl, D
Drahtgitter	PS3030KFE, 30/3 mm, Mutanox, Berlin, D
Dreiwegehahn	PVC-Welt, Pegnitz, D
Pumpschlauch	Rauspiraflex Liquitec, REHAU, Rehau, D
Pumpe	MKPG, Ventaix, Monschau, D
Volumenstromsensor	MIK, Kobold, Hofheim, D
Frequenzumrichter	Movitrac LTE-B, SEW Eurodrive, Bruchsal, D
pH/Temperatur-Sonde	tecLine 201020/51-18-04-18-120, Jumo, Fulda, D
pH-Transmitter	ecoTrans pH 03, Jumo, Fulda, D
OD-Sonde	ALS-OD4, algae lab systems, Boulder, CO, USA
Füllstandssensor	LFFS, Baumer, Friedberg, D
Magnetventil	Typ 52, Gemü, Ingelfingen, D
CO ₂ -Massendurchflussregler	red-y smart, Voegtlin, Aesch, CH
CO ₂ -Zugabeschlauch	Solvocarb, Linde, Pullach, D
USB-Messsystem	U6, Labjack, Lakewood, CO, USA
Prozessleitsystem	LabView 2017, National Instruments, Austin, TX, USA

4.4.2 Flachgerinnereaktor mit 50 m² Grundfläche

Um die Skalierbarkeit der Mikroalgenprozesse zu evaluieren, wurde ein Flachgerinnereaktor mit einer Oberfläche von 50 m² verwendet, der aus zwei Teichfolien-Gerinnen von je 12 m · 2 m und größeren Einlauf- und Sammelbecken aufgebaut war. Auch hier waren beide Gerinne um 1° in entgegengesetzter Richtung geneigt, im Gegensatz zum 8 m² FGR aber auf gleicher Höhe installiert. Daher wurden die Gerinne nicht durch ein Wendebecken, sondern auf jeder Seite durch eine Kombination aus Auffangbecken, Kreiselpumpe und Einlaufbecken verbunden. Dies sollte eine bessere Skalierung des Reaktors im Freiland ermöglichen, da beide Gerinne auf Rampen in Bodenhöhe installiert werden können und der Reaktor auf die selbe Weise um zusätzliche Gerinne mit Pumpstationen erweitert werden kann. Füllstandssensoren und CO₂-Eintragungssysteme waren in beiden Auffangbecken angebracht, während die

kombinierte pH/Temperatur-Messung und Wasserzugabe zum Verdunstungsausgleich nur in einem Becken stattfand. Da das Gesamtvolumen des Reaktors vom Füllstand in beiden Auffangbecken abhing, fand die automatische Zugabe von Leitungswasser nur dann statt, wenn beide Füllstandssensoren gleichzeitig über einen Zeitraum von 12 Sekunden einen verringerten Füllstand registrierten. Um das Gesamtvolumen der Kultur möglichst gleichmäßig über den Reaktor zu verteilen, steuerten die Füllstandssensoren außerdem den Volumenstrom der nachgeschalteten Kreiselpumpe in einem Intervall von $\pm 0,15 \text{ L s}^{-1}$. Der Grundsollwert des Volumenstroms wurde auf $4,8 \text{ L s}^{-1}$ im Vergleich zum 8 m^2 FGR verdoppelt, um eine vergleichbare Strömung auf dem Gerinne mit doppelter Breite zu gewährleisten. Die Inokulation erfolgte mit einer dichten Vorkultur in der linearen Wachstumsphase auf eine erhöhte Startkonzentration von $0,6 \text{ g L}^{-1}$ BTM. Die erhöhte Animpfdichte war notwendig, um eine exzessive Photoinhibition nach der Inokulation auf dem längeren Gerinne zu verhindern.

4.4.3 Kontinuierlicher Betrieb der Flachgerinnereaktoren

Der kontinuierliche Betrieb der Flachgerinnereaktoren erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie der Satzbetrieb. Eine vorgeschaltete Satzphase mit ASW-Medium und 4-fach konzentrierter Nährstofflösung wurde bis zu einer BTM von $6\text{--}7 \text{ g L}^{-1}$ betrieben, bevor die kontinuierliche Phase gestartet wurde. Das Zulaufmedium für den kontinuierlichen Betrieb wurde in $100\text{--}200 \text{ L}$ Tanks vorgelegt. Für den Zu- und Ablauf kamen je nach benötigtem Volumenstrom zwei verschiedene Peristaltikpumpen zum Einsatz (120U/DM3 oder 530DuN, Watson-Marlow, Rommerskirchen, Deutschland). Um ein Auswaschen der Kultur über Nacht zu verhindern, wurden die Peristaltikpumpen nur Tagsüber von 6 bis 20 Uhr betrieben. Die auf 24 h bezogene Gesamtdurchflussrate D ergab sich zu

$$D = \frac{\dot{V}}{V} \cdot \frac{14 \text{ h}}{24 \text{ h}} \quad (4.1)$$

mit D	Durchflussrate, d^{-1}
V	Reaktorvolumen, L
\dot{V}	Volumenstrom, L d^{-1}

Die kontinuierliche Lipidproduktion erfolgte in einer zweistufigen Reaktorkaskade (Abbildung 4.5). Dem zweiten FGR wurde in der vorgeschalteten Satzphase ASW-Medium mit nur einfach

konzentrierter Nährstofflösung vorgelegt, um die Lipidakkumulation bereits zum Ende der Satzphase zu induzieren. Die Inokulation und der Start des kontinuierlichen Betriebs erfolgten in beiden Reaktoren zeitgleich. Der Ablauf des ersten FGR diente dabei als Zulauf des zweiten FGR, ohne dass diesem weitere Nährstoffe zugeführt wurden. Um die Durchflussraten beider Reaktoren entkoppeln zu können, wurde ein Zwischenbehälter mit Überlauf zwischen dem Ablauf des ersten und dem Zulauf des zweiten FGR eingesetzt.

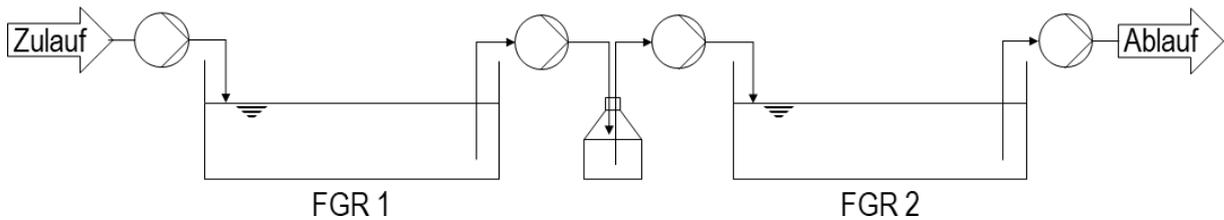


Abbildung 4.5. Prozessschema einer kontinuierlichen zweistufigen Kaskade aus Flachgerinnereaktoren (FGR). Ein Zwischenbehälter diente zur Entkopplung der Durchflussraten beider Reaktoren.

Die Reaktoren der zweistufigen Kaskade wurden entweder chemostatisch bei konstanter Durchflussrate oder turbidostatisch betrieben. Für den turbidostatischen Betrieb wurde eine Regelschleife aus OD-Sonde als Sensor und Peristaltikpumpe (120U/DM3, Watson-Marlow, Rommerskirchen, Deutschland) als Aktor aufgebaut, die über ein USB-Messsystem (U3, Labjack, Lakewood, CO, USA) angebunden waren. Die Steuerung der Pumpe erfolgte über eine Proportional-Integral-Regelfunktion, die in LabView (LabView 2017, National Instruments, Austin, TX, USA) programmiert war. Da der Volumenstrom im turbidostatischen Betrieb nicht konstant war, wurde eine mittlere tägliche Durchflussrate $\bar{D}_{\text{täglich}}$ für den Zeitraum von 0 Uhr bis 24 Uhr bestimmt:

$$\bar{D}_{\text{täglich}} = \frac{1}{V \cdot 24h} \cdot \int_{t=0h}^{t=24h} \dot{V}(t) dt \quad (4.2)$$

Die mittlere Gesamtdurchflussrate \bar{D} des Turbidostaten ergab sich aus der Integration des Volumenstroms über die gesamte Prozessdauer:

$$\bar{D} = \frac{1}{V \cdot (t - t_0)} \cdot \int_{t_0}^t \dot{V}(t) dt \quad (4.3)$$

4.4.4 Vorkulturherstellung

Im Algentechnikum erfolgte die Herstellung der Vorkultur in zwei dauerhaft betriebenen Flachgerinnereaktoren mit einer Grundfläche von 4 m² (40 L). Diese Reaktoren waren in ihrem Aufbau und Betrieb im Wesentlichen identisch zu den 8 m² Reaktoren, wiesen jedoch verkürzte Gerinne und ein kleineres Auffangbecken auf. Bei Inokulation eines Prozesses befand sich stets mindestens eine der *M. salina* Kulturen in den 4 m² Reaktoren in der späten exponentiellen bis frühen linearen Wachstumsphase bei einer optischen Dichte bei 750 nm (OD₇₅₀) von 20–25. Die Vorkultur wurde bei Bedarf frühzeitig verdünnt, um die gewünschte Wachstumsphase zu Beginn eines Experiments zu gewährleisten. Nährstofflimitierungen wurden, wenn nicht anders beschrieben, durch manuelle Zugabe des Zulaufmediums vermieden.

In Abständen von etwa drei Monaten wurden die Vorkulturreaktoren ausgehend von einer *M. salina* Stammkultur neu inokuliert. Diese axenische Stammkultur wurde in sterilen Schüttelkolben mit 100 mL ASW bei Raumtemperatur und Laborlicht gehalten. Zur Herstellung einer Vorkultur für die 4 m² FGR wurde hieraus ein 250 mL Blasensäulenreaktor inokuliert und bei einer Photonenflussdichte von 83 μmol m⁻² s⁻¹, 25 °C und einem Gasvolumenstrom von 12 L h⁻¹ mit Druckluft und 5% (v/v) CO₂ bis zu einer OD₇₅₀ von 2–3 betrieben. Mit dieser Kultur wurde ein 1,8 L Flachplattenreaktor (Labfors Lux 5, Infors HT, Bottmingen, Schweiz) inokuliert, dessen Bestrahlungsstärke und Temperatur gemäß der Klimasimulation vom 15.06.2012 in Almería gesteuert wurden. Der pH wurde durch Zugabe von 0–5% CO₂ zu einem Luftvolumenstrom von 120 L h⁻¹ auf pH 8,5 geregelt. Wenn eine BTM-Konzentration von mindestens 6 g L⁻¹ erreicht war, wurde mit dieser *M. salina* Kultur ein 4 m² FGR im Algentechnikum inokuliert.

4.4.5 Reaktorreinigung

Nach Ende eines Prozesses wurde der Flachgerinnereaktor entleert und zunächst mit warmem Leitungswasser und Schwämmen oder weichen Bürsten mechanisch gereinigt und gespült. Anschließend wurde der Reaktor mit 55 L Leitungswasser betrieben, dem Salzsäure (37%) bis zu einer Konzentration von 0,1 M zugegeben wurde. Die saure Lösung wurde für mindestens 20 min zirkuliert und anschließend mit Natriumhydroxid (fest) auf eine Konzentration von 0,01 M nach Neutralisation der Salzsäure eingestellt. Diese alkalische Lösung wurde für

weitere 3 h zirkuliert, bevor sie durch CO₂-Zugabe auf einen pH < 10 neutralisiert wurde und ins Abwasser geleitet werden konnte. Danach erfolgte nochmals eine Spülung des Reaktors mit Leitungswasser. Unmittelbar vor Beginn eines neuen Prozesses wurde der Reaktor erneut mit Leitungswasser gespült.

4.5 Zellabtrennung und Wasserrecycling

Die Abtrennung der Mikroalgenbiomasse erfolgte am Ende eines Satzprozesses mit einer Spiralplattenzentrifuge (Evodos 10, Evodos, Raamsdonksveer, Niederlande) bei 3000 · g und einer mittleren hydraulischen Verweilzeit in der Zentrifugentrommel von etwa 6 min (Volumenstrom etwa 1,7 L min⁻¹). Bei Studien zur Kreislaufführung des Prozesswassers wurde der Überstand nach der Zentrifugation direkt als Medium für einen weiteren Satzprozess eingesetzt. Dabei wurden 10 L an frischem ASW-Medium ergänzt, um den Wasserverlust beim Ernteprozess auszugleichen. Die anschließende Kultivierung wurde wiederum mit 0,3 g L⁻¹ Biotrockenmasse aus einem frischen Inokulum gestartet.

4.6 Analytische Methoden

4.6.1 Optische Dichte

Die Biotrockenmassekonzentration wurde 5–6 Mal täglich über die Messung der optischen Dichte in einem UV-Vis-Spektralphotometer (Genesys 10S UV-VIS, Thermo Fisher, Waltham, USA) bei 750 nm im Dreifachansatz bestimmt. Dazu wurden die Proben zuvor mit einer NaCl-Lösung (27 g L⁻¹) auf eine OD₇₅₀ von 0,1–0,3 verdünnt. Die NaCl-Lösung diente gleichzeitig als Leerwert.

4.6.2 Biotrockenmasse

Um für jeden Prozess die lineare Korrelation der OD₇₅₀ mit der BTM-Konzentration zu ermitteln, wurde die BTM zusätzlich einmal täglich gravimetrisch über vorgetrocknete und gewogene 1,2 µm Glasfaserfilter (GF/C, Whatman, GE Healthcare, Chicago, IL, USA) bestimmt. Dazu wurde im Dreifachansatz ein Probenvolumen mit etwa 1 mg BTM auf einen Filter pipettiert und über eine Vakuumpumpe (Laboport N 816.3, KNF Lab, Freiburg, Deutschland)

mit dem dreifachen Probenvolumen an vollentsalztem Wasser (VE-Wasser) gewaschen. Die Filter wurden für 48 h bei 80 °C getrocknet und anschließend gewogen.

4.6.3 Salinität

Die Salinität wurde täglich im Überstand einer zentrifugierten Probe (14500 · g, 4 min, Espresso, Thermo Fisher, Waltham, USA) mit einem Refraktometer (HI 96822, Hanna Instruments, Vöhringen, Deutschland) in der ppt-Skala gemessen.

4.6.4 Alkalinität

Sofern die Alkalinität eines Prozesses überwacht wurde, wurde diese täglich im Überstand einer zentrifugierten Probe photometrisch bei 610 nm mittels eines kolorimetrischen Tests (HI755 Checker HC, Hanna Instruments, Vöhringen, Deutschland) nach Herstellerangaben bestimmt. Eine Verdünnung der Probe fand gegebenenfalls mit VE-Wasser statt. Über einen Umrechnungsfaktor von 0,02 mM ppm⁻¹ wurde der Messwert von ppm zu mM konvertiert. Falls die Alkalinität in einem Prozess aktiv gesenkt werden sollte, so wurde mit je 1,6 mL Schwefelsäure (98%) pro 1 mM anzupassender Alkalinität titriert.

4.6.5 Nitrat

Die Überwachung der Nährstoffverfügbarkeit erfolgte über die Messung der Stickstoffquelle, die als wichtigster Makronährstoff als Leitgröße für den Nährstoffbedarf insgesamt verwendet wurde. Wurde Kaliumnitrat als Stickstoffquelle verwendet, so wurde die Nitratkonzentration täglich im Überstand einer zentrifugierten Probe (14500 · g, 4 min) mit semiquantitativen Teststreifen abgeschätzt (Quantofix Nitrat/Nitrit, Macherey-Nagel, Düren, Deutschland). Gegebenenfalls wurde die Probe mit VE-Wasser verdünnt.

4.6.6 Harnstoff

Wenn Harnstoff als Stickstoffquelle verwendet wurde, wurde die Harnstoffkonzentration im Überstand einer zentrifugierten Probe (14500 · g, 4 min) mit einem enzymatischen Test bestimmt (Harnstoff/Ammoniak, r-biopharm, Darmstadt, Deutschland). Der Test basierte auf

der gekoppelt-stöchiometrischen Oxidation von Nicotinamidadenindinukleotid (NADH) über Urease und Glutamat-Dehydrogenase, die bei 340 nm spektroskopisch gemessen wurde. Zuvor wurde eine Kalibriergerade mit bekannten Harnstoffkonzentrationen von 0,02–1,2 g L⁻¹ erstellt. Gegebenenfalls wurde die Probe mit VE-Wasser verdünnt.

4.6.7 Lipide

Gesamtlipidkonzentration

Mikroalgenproben mit bekannter OD₇₅₀ wurden bis zur Messung der Gesamtlipidkonzentration bei –20 °C in 1,5 mL Reaktionsgefäßen eingefroren. Die Bestimmung der Gesamtlipidkonzentration erfolgte über ein modifiziertes Sulpho-Phospho-Vanillin (SPV) Assay (Mishra et al., 2014; Byreddy et al., 2016). Dazu wurden 0,3 g Vanillin in 5 mL Ethanol (reinst) und 45 mL VE-Wasser gelöst und 200 mL ortho-Phosphorsäure (85% w/w) zugegeben, was die Phosphovanillinreagenz ergab. Im Dreifachansatz wurden je 50 µL einer Probe in 10 mL Reaktionsfläschchen für 10 min in 1 mL Schwefelsäure (98% w/w) bei 90 °C inkubiert. Der Reaktionsansatz wurde 5 min auf Eis gekühlt, bevor 2,5 mL der Phosphovanillinreagenz hinzugefügt wurden. Nach manuellem Mischen wurde der Ansatz für 15 min bei 37 °C und 900 rpm (Thermomixer basic, CellMedia, Elsteraue, Germany) inkubiert. Im Anschluss wurde die Absorption bei 530 nm im UV-Vis-Spektralphotometer gemessen. Als Leerwert wurde eine Wasserprobe verwendet, die auf die gleiche Weise behandelt wurde wie die Mikroalgenproben. Die OD₅₃₀ wurde über einen externen Standard mit 0,4–2,0 g L⁻¹ Rapsöl linear mit der Gesamtlipidkonzentration korreliert. Zur Herstellung des Standards wurden 10 mg Rapsöl in 10 mL Hexan gelöst. Hiervon wurden 20–100 µL im Dreifachansatz in Reaktionsfläschchen gegeben. Nach Ausdampfen des Hexans wurden 50 µL VE-Wasser zugegeben und die Ansätze wie Mikroalgenproben behandelt.

Fettsäureprofil

Die Fettsäurezusammensetzung wurde nach einer modifizierten Methode zur kombinierten Extraktion und Transesterifikation mit anschließender Gaschromatographie (GC) bestimmt (Griffiths et al., 2010; Pfaffinger et al., 2016). Hierfür wurden Mikroalgenproben mit mindestens 5 mg Biotrockenmasse zentrifugiert (3100 · g, 10 min, Centrifuge 5810 R,

Eppendorf, Hamburg, Deutschland) und in VE-Wasser resuspendiert. Die Proben wurden für mindestens 4 h bei -80 °C eingefroren und für 48 h bei -50 °C und 12 mbar lyophilisiert (Alpha 1-2 LD Plus, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen, Osterode am Harz, Deutschland). Anschließend wurden 5 mg lyophilisierter BTM in 10 mL Reaktionsfläschchen in 900 μL eisgekühltem Toluol gelöst. Es wurden 100 μL Glyceryl-tri-dodecanoat (C12:0; 2 mg mL^{-1} in Toluol) als interner Standard, 200 μL 2,2-Dimethoxypropan und 2 mL eisgekühltes Natriummethoxid (0,5 M) hinzugefügt und bei 80 °C und 600 rpm für 20 min inkubiert. Nach Abkühlung für 5 min auf Eis wurden 2 mL kaltes HCl in Methanol (5% v/v) zugefügt und wiederum bei gleichen Bedingungen inkubiert. Anschließend wurden je 800 μL doppelt destilliertes Wasser und eisgekühltes Hexan zugegeben, der Reaktionsansatz gemischt und bei 3000 rpm für 2 min zentrifugiert (Rotixa 50 RS, Hettich, Tuttlingen, Deutschland). Die obere Phase mit Fettsäuremethylestern (FAME, engl. fatty acid methyl ester) und dem internen Standard wurde vorsichtig in GC-Fläschchen überführt.

Die FAME wurden mittels GC (GC-2010 Plus, Shimadzu Europa, Duisburg, Deutschland) über eine Quarzglas Stabilwax[®]-Säule (Restek GmbH, Bad Homburg, Deutschland) mit einem Temperaturgradienten (150 °C für 1 min, bis 240 °C mit 5 °C min^{-1} , 240 °C für 6 min) aufgetrennt. Die Injektor-Temperatur betrug 240 °C (Split-Verhältnis 1:10); die Temperatur des Flammenionisations-Detektors lag bei 245 °C . Als Trägergas wurde Wasserstoff mit einer Flussrate von 3 mL min^{-1} verwendet. Ein externer Standard (Marine Oil FAME Mix, Restek AG, Fulda, Deutschland) wurde genutzt, um die einzelnen Fettsäuren von C14:0 bis C24:1 qualitativ und quantitativ zu bestimmen. Da Mikroalgen selbst keine Dodecansäure (C12:0) bilden, diente ein interner C12:0-Standard zur Berechnung der Effizienz der Transesterifikation, so dass die ermittelten FAME-Konzentrationen entsprechend korrigiert werden konnten.

4.7 Prozesskenngrößen

4.7.1 Spezifische Wachstumsrate

In diurnalen, exponentiell wachsenden Mikroalgenprozessen müssen wegen des Tag-Nacht-Wechsels zwei spezifische Wachstumsraten unterschieden werden: Die Tageswachstumsrate, basierend auf mehreren Proben der Lichtphase eines einzelnen Tages; sowie die Mehrtagewachstumsrate, basierend auf je einer Probe zur gleichen Uhrzeit an mehreren

Tagen. Da die Mehrtageswachstumsrate auch die Biomasseabnahme während der Nacht berücksichtigt, ist sie in der Regel deutlich kleiner als die Tageswachstumsrate. Nach Auswahl der entsprechenden Proben erfolgte die Berechnung der beobachteten Wachstumsraten μ über eine Parameterschätzung durch Minimierung der Fehlerquadratsumme nach folgender Gleichung:

$$c_X(t) = c_X(t_0) \cdot e^{\mu \cdot t} \quad (4.4)$$

mit c_X Biotrockenmassekonzentration, g L⁻¹
 t Zeit, d
 μ Konstante spezifische Wachstumsrate, d⁻¹

4.7.2 Produktivität

Bei der Biomasse- und Lipidproduktivität wurde jeweils zwischen der Gesamtproduktivität und der Tagesproduktivität unterschieden. Während sich erstere auf den gesamten Prozesszeitraum von der Inokulation zum Zeitpunkt $t_0 = 0$ d bis zum fortlaufenden Zeitpunkt t bezog, wurde für die Tagesproduktivität ein Zeitraum von 24 h mit $t_0 = t - 1$ d zugrunde gelegt. In Satzprozessen ergab sich die volumetrische Produktivität $P_{V,i}$ des Produktes i aus der innerhalb des betrachteten Zeitraums gebildeten Biotrockenmasse oder Lipidmasse bezogen auf das Kulturvolumen V . Über das Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis ergab sich daraus die Flächenproduktivität $P_{A,i}$.

$$P_{V,i}(t) = (c_i(t) - c_i(t_0)) \cdot (t - t_0)^{-1} \quad (4.5)$$

$$P_{A,i}(t) = P_{V,i}(t) \cdot V \cdot A^{-1} \quad (4.6)$$

mit c_i Produktkonzentration, g L⁻¹
 A Reaktorfläche, m²

Im kontinuierlichen Betrieb muss zur Berechnung der Produktivität eines einzelnen Reaktors zusätzlich die mit dem Volumenstrom \dot{V} ein- und ausgetragene Produktmenge berücksichtigt werden:

$$P_V = \left((c_i(t) - c_i(t_0)) + \frac{1}{V} \cdot \int_{t_0}^t (c_i(t) - c_i^{in}(t)) \cdot \dot{V}(t) dt \right) \cdot (t - t_0)^{-1} \quad (4.7)$$

mit c_i^{in} Konzentration des Produkts i im Zulauf, g L⁻¹

Das Integral wurde numerisch mit der cumtrapz-Funktion in Matlab (Matlab R2020, Mathworks, Natick, USA) bestimmt. Konzentrationen zwischen zwei Probennahmezeitpunkten wurden linear interpoliert.

Zur Berechnung der Gesamtproduktivität einer kontinuierlichen zweistufigen Reaktorkaskade wurde die Produktmenge aus dem zweiten Reaktor auf das Volumen beziehungsweise die Fläche der gesamten Kaskade bezogen. Sofern der Ablaufvolumenstrom des ersten Reaktors größer war als der Zulaufvolumenstrom des zweiten Reaktors, wurde nur der Volumenbeziehungsweise Flächenanteil der ersten Stufe einbezogen, der für die Versorgung der zweiten Stufe notwendig war. Das notwendige Gesamtvolumen V_{total} und die Gesamtfläche A_{total} ergaben sich damit wie folgt:

$$V_{total} = V_2 + V_1 \cdot \dot{V}_2 \cdot \dot{V}_1^{-1} \quad (4.8)$$

$$A_{total} = A_2 + A_1 \cdot \dot{V}_2 \cdot \dot{V}_1^{-1} \quad (4.9)$$

mit

V_i	Volumen des Reaktors i , L
\dot{V}_i	Volumenstrom des Reaktors i , L h ⁻¹
A_i	Fläche des Reaktors i , m ²

Analog zu Gleichung (4.7) wurde die Gesamtproduktivität $P_{V,total}$ bestimmt:

$$P_{V,total} = \left(V_2 \cdot (c_{i,2}(t) - c_{i,2}(t_0)) + \int_{t_0}^t c_{i,2}(t) \cdot \dot{V}_2(t) dt \right) \cdot (t - t_0)^{-1} \cdot V_{total}^{-1} \quad (4.10)$$

mit

$c_{i,2}$	Konzentration des Produkts i in Reaktor 2, g L ⁻¹
-----------	--

4.7.3 Effizienz des CO₂-Umsatzes

Die Effizienz des CO₂-Umsatzes η_{CO_2} wurde definiert als Anteil des in Mikroalgenbiomasse fixierten Kohlenstoffs bezogen auf die Gesamtmenge zugeführten Kohlenstoffs in Form von CO₂ und gegebenenfalls Harnstoff. Dabei wurde ein Kohlenstoffanteil in Mikroalgen von 50% der Trockenmasse angenommen (Schlagermann et al., 2012; Toor et al., 2013). Die insgesamt zugeführte Menge an CO₂ wurde als Integral des CO₂-Massenstroms mit der cumtrapz-Funktion in Matlab anhand von online-Daten mit einer Auflösung von 10 s bestimmt.

$$\eta_{CO_2} = 0,5 \cdot (c_X(t) - c_X(t_0)) \cdot \left(\frac{M_C}{M_{CO_2}} \cdot \int_{t_0}^t \dot{m}_{CO_2}(t) dt + \frac{M_C}{M_{Urea}} \cdot m_{Urea}(t) \right)^{-1} \quad (4.11)$$

mit	c_X	Biotrockenmassekonzentration, g L ⁻¹
	M_i	Molare Masse der Komponente i , g mol ⁻¹
	m_{Urea}	Masse eingesetzten Harnstoffs, g
	\dot{m}_{CO_2}	CO ₂ -Massenstrom, g h ⁻¹

4.8 Modellierung der Biomasse- und Lipidproduktion mit *Microchloropsis salina*

Zur Simulation von Mikroalgenprozessen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor wurde auf Basis der in Kapitel 3.3 vorgestellten Grundlagen zur mathematischen Beschreibung phototropher Bioprozesse ein Modell des Wachstums, Substratverbrauchs und der Lipidbildung erstellt.

4.8.1 Kinetik des Mikroalgenwachstums

Wenn *M. salina* unter stickstofflimitierten Bedingungen kultiviert wird, um die Akkumulation von Lipiden zu induzieren, muss die Stickstoffquelle als zusätzliches limitierendes Substrat berücksichtigt werden. Dazu wird Gleichung (3.8) wie folgt erweitert:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I^*}{K_S + I^* + I^* \cdot \left(\frac{I^*}{K_I}\right)^\varphi} \cdot \frac{c_N}{K_N + c_N} \quad (4.12)$$

mit	μ	Spezifische Wachstumsrate, d ⁻¹
	μ_{max}	Maximale spezifische Wachstumsrate, d ⁻¹
	I^*	Integrale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
	K_S	Sättigungskonstante für die Photonenflussdichte, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
	K_I	Photoinhibitionskonstante, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
	φ	Sensitivitätsparameter, -
	c_N	Konzentration der Stickstoffquelle, g L ⁻¹
	K_N	Sättigungskonstante für die Stickstoffquelle, g L ⁻¹

Die spezifische Aufnahme­rate der Stickstoff­quelle kann über die spezifische Wachstums­rate und den Ertrags­koeffizienten abgeschätzt werden:

$$q_N = \frac{\mu}{Y_{XN}} \quad (4.13)$$

mit q_N Spezifische Aufnahme­rate der Stickstoff­quelle, d^{-1}
 Y_{XN} Biomasse-Ertrags­koeffizient für die Stickstoff­quelle, $g\ g^{-1}$

Wenn nachts jedoch kein Licht für das Wachstum vorhanden ist, wird eine Abnahme der Zelldichte aufgrund von Zellatmung beobachtet. Allerdings zeigte *M. salina* mit zunehmendem Lipidanteil eine verringerte nächtliche Biomasseabnahmerate. Der nur bei Nacht verwendete Zusammenhang zwischen der nächtlichen spezifischen Biomasseabnahmerate b und dem Lipidanteil Q_L wurde durch Gleichung (4.14) ausgedrückt.

$$\mu = -b = -b_{max} \cdot \left(1 - \frac{Q_L - Q_{L,0}}{Q_{L,max} - Q_{L,0}}\right) \quad (4.14)$$

mit b Nächtliche spezifische Biomasseabnahmerate, d^{-1}
 b_{max} Maximale nächtliche Biomasseabnahmerate, d^{-1}
 Q_L Lipidanteil in Biotrockenmasse, $g\ g^{-1}$
 $Q_{L,0}$ Basis-Lipidanteil bei nicht-stickstofflimitiertem Wachstum, $g\ g^{-1}$
 $Q_{L,max}$ Maximaler Lipidanteil, $g\ g^{-1}$

4.8.2 Kinetik der Lipidbildung

Die Akkumulation von Lipiden kann in *M. salina* durch eine Stickstofflimitierung induziert werden. Im Gegensatz zur spezifischen Wachstums­rate ist die spezifische Lipidbildungs­rate q_L folglich invers mit der Konzentration der Stickstoff­quelle korreliert. Außerdem nimmt die spezifische Lipidbildungs­rate mit zunehmendem Lipidanteil in Biotrockenmasse bis zu einem maximalen Lipidanteil ab, was formal einer Produktinhibition entspricht. Ab diesem maximalen Lipidanteil $Q_{L,max}$ werden keine weiteren Lipide mehr gebildet. Die Lipidbildungs­rate ist hingegen maximal mit $q_{L,max}$, wenn keine Stickstoff­quelle mehr vorhanden ist, aber noch keine Lipide akkumuliert wurden, der Lipidanteil also noch bei seinem Grundwert $Q_{L,0}$ für unlimitierte Biomasse liegt. Dieser Zusammenhang lässt sich durch Gleichung (4.15) beschreiben.

$$q_L = q_{L,max} \cdot \left(1 - \frac{c_N}{K_N + c_N}\right) \cdot \left(1 - \frac{Q_L - Q_{L,0}}{Q_{L,max} - Q_{L,0}}\right) \quad (4.15)$$

mit q_L Spezifische Lipidbildungsrate, d^{-1}
 $q_{L,max}$ Maximale spezifische Lipidbildungsrate, d^{-1}

Darüber hinaus kommt es zu Beginn der Stickstofflimitierung auch zu einer weiteren Zunahme der Mikroalgenbiomasse, die nicht mit Gleichung (4.12) beschrieben werden kann. Dieses Zellwachstum bei Stickstoffmangel wird vermutlich durch eine Adaption und Umverteilung des intrazellulären Stickstoffs ermöglicht (Keller et al., 1999; Grobbelaar, 2013). Die Biomassebildung kann dann als Summe der Lipidbildung und der Bildung lipidfreier Biomasse beschrieben werden (Pfaffinger, 2017). Die lipidfreie Biomasse ist dabei die Differenz aus Biotrockenmasse- und Lipidkonzentration. Allerdings findet dieses lipidfreie Biomassewachstum bei Stickstofflimitierung nur solange statt, bis ein minimaler Stickstoffanteil $Q_{N,min}$ in der lipidfreien Biomasse erreicht wird.

$$\mu_{X-L} = \mu_{X-L,max} \cdot \left(1 - \frac{c_N}{K_N + c_N}\right)^\alpha \cdot \frac{Q_N - Q_{N,min}}{Q_N} \quad (4.16)$$

mit μ_{X-L} Spezifische lipidfreie Wachstumsrate, d^{-1}
 $\mu_{X-L,max}$ Maximale spezifische lipidfreie Wachstumsrate, d^{-1}
 α Sensitivitätsparameter für die Stickstoffquelle, -
 Q_N Stickstoffanteil in lipidfreier Biotrockenmasse, $g\ g^{-1}$
 $Q_{N,min}$ Minimaler stickstoffanteil in lipidfreier Biotrockenmasse, $g\ g^{-1}$

Analog zur spezifischen Lipidbildungsrate ist die spezifische lipidfreie Wachstumsrate maximal, wenn im Medium keine Stickstoffquelle mehr verfügbar ist, aber der intrazelluläre Stickstoffanteil bezogen auf lipidfreie Biomasse noch hoch ist. Sie sinkt hingegen mit zunehmender Stickstoffkonzentration im Medium und abnehmendem intrazellulären Stickstoffanteil. Die Inhibition durch die Stickstoffquelle im Medium wird zusätzlich durch den Sensitivitätsparameter α moduliert. Der Stickstoffanteil Q_N in der lipidfreien Biotrockenmasse lässt sich nach Gleichung (4.17) berechnen.

$$Q_N = \frac{\Delta c_N \cdot \varepsilon_N}{\Delta c_{X-L}} \quad (4.17)$$

mit Δc_N Verbrauchte Substratkonzentration, g L⁻¹
 ε_N Stickstoffanteil in der Stickstoffquelle, -
 Δc_{X-L} Gebildete Lipidfreie Biotrockenmasse, g L⁻¹

4.8.3 Simulation von Wachstum und Lipidbildung

Der Flachgerinnereaktor hat eine Mischzeit zum Erreichen von 90% Homogenität in der Größenordnung von wenigen Minuten, weshalb er im Hinblick auf das Mikroalgenwachstum, welches in der Größenordnung von einigen Stunden stattfindet, als ideal durchmischt betrachtet werden kann (Apel, 2017; Severin et al., 2017). Die allgemeine Massenbilanz einer Komponente i bei konstantem Volumen ergibt sich daher nach Gleichung (3.17) zu

$$\frac{dc_i}{dt} = D \cdot (c_i^{zu} - c_i) + r_i \quad (4.18)$$

mit c_i Konzentration der Komponente i , g L⁻¹
 c_i^{zu} Konzentration der Komponente i im Zulauf, g L⁻¹
 t Prozesszeit, d
 D Durchflussrate, d⁻¹
 r_i Reaktionsrate der Komponente i , g L⁻¹ d⁻¹

Mit den Gleichungen (4.12) bis (4.16) können die Reaktionsraten für die Biomassebildung, Lipidbildung und Harnstoffaufnahme abgeschätzt werden:

$$r_X = c_X \cdot \mu + c_{X-L} \cdot (q_L + \mu_{X-L}) \quad (4.19)$$

$$r_L = Q_{L,0} \cdot c_X \cdot \mu + c_{X-L} \cdot q_L \quad (4.20)$$

$$r_N = -c_X \cdot q_N \quad (4.21)$$

mit r_X Biomassebildungsrate, g L⁻¹ d⁻¹
 r_L Lipidbildungsrate, g L⁻¹ d⁻¹
 r_N Aufnahmerate der Stickstoffquelle, g L⁻¹ d⁻¹
 c_{X-L} Konzentration lipidfreier Biomasse, g L⁻¹

Hierbei ist die Lipidbildungsrate nicht von der gesamten Biomassekonzentration sondern von der Konzentration lipidfreier Biomasse abhängig, da angenommen wird, dass neue Lipide nur von metabolisch aktiver Biomasse und nicht von bereits akkumulierten Speicherlipiden gebildet werden (Pfaffinger, 2017).

Um schließlich den zeitlichen Verlauf der BTM-, Lipid- und Stickstoffkonzentration im Flachgerinnereaktor bei dynamischen Klimabedingungen rechnergestützt zu simulieren, wurden die jeweiligen Differentialgleichungen mit dem ode45-Algorithmus in Matlab (Matlab R2020, Mathworks, Natick, USA) gelöst. Dabei wurde die Photonenflussdichte des südspanischen Sommertages zu jedem jeweiligen Zeitpunkt an die Berechnung übergeben. Die maximale Schrittgröße der Simulation betrug 0,01 d. Sofern eine zweistufige Reaktorkaskade simuliert wurde, wurden die jeweiligen Konzentrationen des ersten Reaktors als Zulaufkonzentrationen des zweiten Reaktors verwendet. Die benötigten Modellparameter wurden in verschiedenen experimentellen Untersuchungen identifiziert (siehe Kapitel 6.3.1). Parameterschätzungen wurden durch nichtlineare Regression mit der Curve Fitting Toolbox in Matlab durchgeführt. Durch Vergleich der jeweiligen Simulation mit einer Reihe weiterer unabhängiger Experimente wurde das Modell validiert. Dazu wurden die initialen Bedingungen der Simulationen an die jeweiligen Experimente angepasst.

5 Effiziente Produktion von Mikroalgenbiomasse mit *Microchloropsis salina* im Flachgerinnereaktor¹

5.1 Mikroalgenprozesse im Flachgerinnereaktor mit Wasserrecycling

In diesem Kapitel wird die wiederholte Kreislaufführung des Wassers mit *Microchloropsis salina* bei hohen Zelldichten im offenen Flachgerinnereaktor mit 8 m² Grundfläche (55 L) untersucht. Nährstofflimitationen sollten durch regelmäßige Zugaben einer konzentrierten Nährstofflösung (N, P, Fe und Spurenelemente) vermieden werden. Die Zellabtrennung erfolgte via Zentrifugation nach einer Prozesszeit von 12–14 Tagen. Der Überstand wurde mit 10 L frischem ASW-Medium ergänzt, um Verluste während der Zellabtrennung auszugleichen. Alle Untersuchungen fanden unter physikalischer Klimasimulation des spanischen Sommertages statt.

5.1.1 Wasserrecycling mit Kaliumnitrat als Stickstoffquelle

In der ersten Serie aus insgesamt 8 Satzprozessen mit Kreislaufführung des Wassers wurde reguläres ASW-Medium mit KNO₃ als Stickstoffquelle verwendet. Mit frischem ASW-Medium wurde nach einer Prozessdauer von 14 Tagen eine BTM-Konzentration von 31,2 g L⁻¹ mit einer Gesamtbiomasseproduktivität von 15,6 g m⁻² d⁻¹ (2,3 g L⁻¹ d⁻¹) erzielt. Während sich das erste Wasserrecycling nicht negativ auf das Wachstum und die Produktivität auswirkte, erreichten die Prozesse mit 2-fach und 3-fach rezykliertem Wasser bereits eine stationäre BTM-Konzentration bei 22,8 ± 0,7 g L⁻¹ beziehungsweise 13,8 ± 0,7 g L⁻¹ (Abbildung 5.1a). Die Produktivität reduzierte sich dabei zu 10,7 g m⁻² d⁻¹ beziehungsweise 6,2 g m⁻² d⁻¹. Entsprechend sank auch die spezifische Wachstumsrate in der exponentiellen Wachstumsphase von 0,63 ± 0,15 d⁻¹ mit frischem ASW-Medium auf 0,38 ± 0,06 d⁻¹ mit 3-fach rezykliertem Wasser (Abbildung 5.2).

¹ Einige dieser Ergebnisse sind bereits publiziert in: Schädler, T., Neumann-Cip, A.-C., Wieland, K., Glöckler, D., Haisch, C., Brück, T., und Weuster-Botz, D. (2020). High-Density Microalgae Cultivation in Open Thin-Layer Cascade Photobioreactors with Water Recycling. *Applied Sciences* 10(11), 3883.
Sowie in: Schädler, T., Caballero Cerbon, D., de Oliveira, L., Garbe, D., Brück, T., und Weuster-Botz, D. (2019). Production of lipids with *Microchloropsis salina* in open thin-layer cascade photobioreactors. *Bioresource Technology* 289, 121682

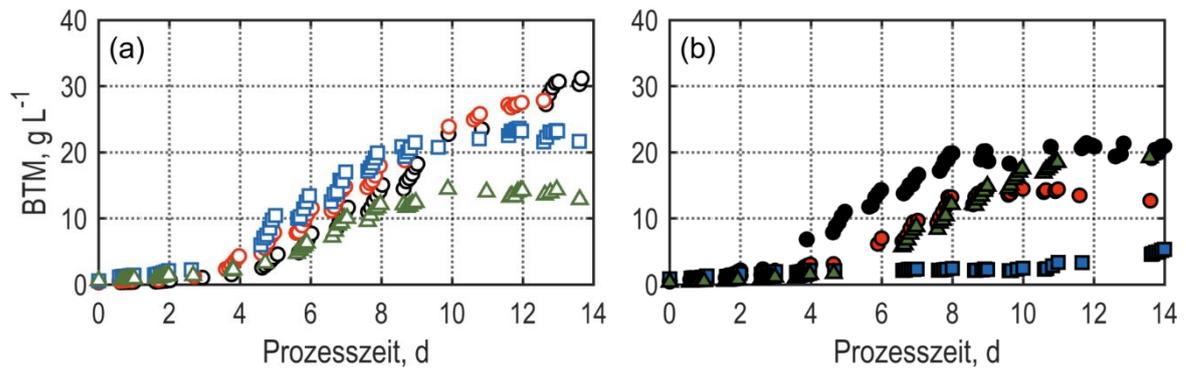


Abbildung 5.1. Biotrockenmassekonzentration (BTM) in sequentiellen Satzprozessen mit Wasserrecycling nach Zellernte mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor bei physikalischer Klimasimulation. Als Medium wurde artifizielles Meerwasser mit KNO_3 als Stickstoffquelle verwendet. (a) Kultivierung mit frischem Wasser (o), 1. Recycling (o), 2. Recycling (□) und 3. Recycling (△). (b) Kultivierung mit 4-fach rezykliertem Wasser (●), 5. Recycling (●), 6. Recycling (■) und 7. Recycling (▲).

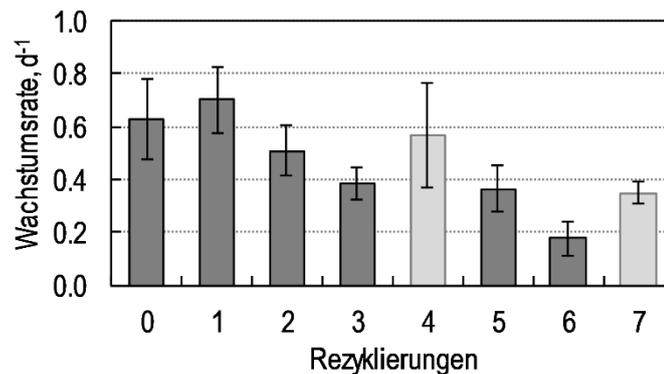


Abbildung 5.2. Spezifische Wachstumsraten von *M. salina* während der ersten 5 Tage in 8 sequentiellen Satzprozessen mit Wasserrecycling im Flachgerinnereaktor. Als Stickstoffquelle wurde KNO_3 verwendet. Hellgraue Balken zeigen Abweichungen von der regulären Prozessdurchführung: Im Satzprozess mit 4-fach rezykliertem Wasser war die Zugabe zusätzlichen ASW-Mediums notwendig, um einen erhöhten Wasserverlust während der vorangegangenen Zellernte zu kompensieren. Zu Beginn der 7. Rezyklierung wurde Magnesiumsulfat zugegeben, um eine mögliche Sulfatlimitierung zu vermeiden. Fehlerbalken repräsentieren die 95%-Konfidenzintervalle.

Der Prozess mit 4-fach rezykliertem Wasser zeigte zunächst eine kurzzeitige Erholung der Produktivität bis auf $10 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ mit einer stationären BTM-Konzentration von $20,2 \pm 0,9 \text{ g L}^{-1}$, nachdem während der vorangegangenen Zellabtrennung ein erhöhter Wasserverlust mit 15 L frischen ASW-Mediums ausgeglichen werden musste, anstelle der sonst ausreichenden 10 L. Anschließend setzte sich die Abnahme des Wachstums und der Produktivität jedoch rasch fort, so dass mit 6-fach rezykliertem Wasser nach einer Prozesszeit von 14 Tagen nur noch eine BTM-Konzentration von $5,3 \text{ g L}^{-1}$ und eine Produktivität von $2,2 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ erreicht wurden. Die Zugabe von $2,6 \text{ g L}^{-1} \text{ MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ zum 7-fach wiederverwendeten Wasser führte erneut

zu einem leichten Wiederanstieg der BTM-Konzentration und Produktivität zu $19,2 \text{ g L}^{-1}$ und $9,5 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$.

Die vom Projektpartner am Institut für Wasserchemie der TU München durchgeführten Analysen einiger Ionenkonzentrationen aus Wasserproben der Satzprozesse zeigten vor allem eine Akkumulation von Kaliumionen von $0,4 \text{ g L}^{-1}$ in frischem ASW-Medium auf bis zu $10,7 \text{ g L}^{-1}$ nach 7-facher Kreislaufführung des Wassers (Abbildung 5.3a). Darüber hinaus wurde eine vollständige Erschöpfung von Sulfat bereits im Verlauf der ersten drei Satzprozesse beobachtet, die mit der Zugabe 10 L frischen ASW-Mediums nach jeder Zellernte nur teilweise ausgeglichen wurde (Abbildung 5.3b).

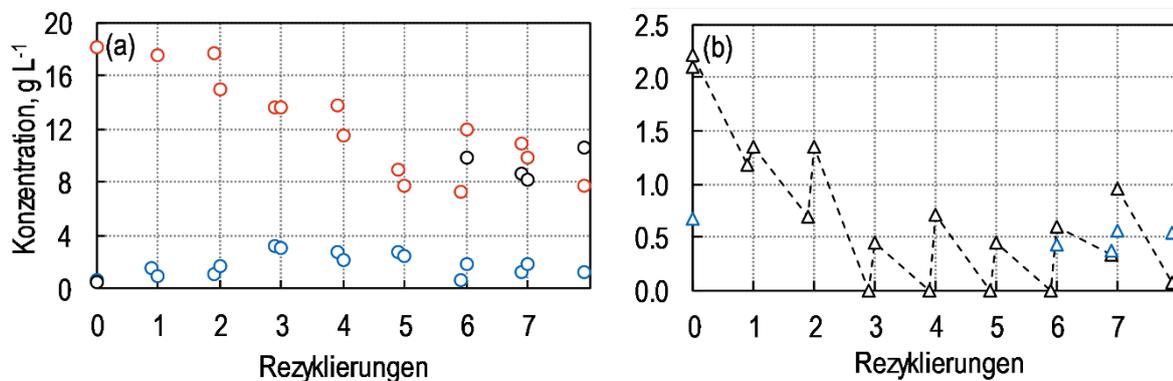


Abbildung 5.3. Ionenkonzentrationen im Wachstumsmedium in 8 sequentiellen Satzprozessen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor mit Wasserrecycling. Als Stickstoffquelle wurde KNO_3 verwendet. Im Satzprozess mit 4-fach rezykliertem Wasser war die Zugabe zusätzlichen ASW-Mediums notwendig, um einen erhöhten Wasserverlust während der vorangegangenen Zellernte zu kompensieren. Zu Beginn der 7. Rezyklierung wurde Magnesiumsulfat zugegeben, um eine mögliche Sulfatlimitierung zu vermeiden. (a) Konzentrationen von Cl^- (\circ), NO_3^- (\circ), K^+ (\circ) und (b) SO_4^{2-} (Δ) und Mg^{2+} (Δ). K^+ und Mg^{2+} wurden nur in Satzprozessen mit 6- und 7-fach rezykliertem Wasser sowie in frischem ASW-Medium gemessen. Sulfatmessungen wurden für eine klarere Darstellung linear interpoliert.

Diskussion

Die Kreislaufführung des Wassers nach Zellabtrennung in sequentiellen Satzprozessen im Flachgerinnereaktor bewirkte ab der zweiten Wiederverwendung eine Abnahme der Wachstumsrate und Biomasseproduktivität von *M. salina*, die sich mit zunehmender Kreislaufführung weiter verstärkte. So betrug die Produktivität nach 6-fachem Wasserrecycling nur noch 14,1% im Vergleich zum Prozess mit frischem Medium. Da Magnesiumsulfat aufgrund seiner hohen Konzentration im ASW-Medium nicht Teil der regelmäßig hinzugefügten Nährstofflösung war, kam es nach drei Satzprozessen zu einem vollständigen Verbrauch des verfügbaren Sulfats. Als ubiquitäres Element in Aminosäuren,

Vitaminen und Cofaktoren wird eine Sulfatlimitierung bei Mikroalgen im Allgemeinen mit einer verringerten photosynthetischen Aktivität und Proteinsynthese assoziiert (Giordano und Prioretti, 2016). Es liegt daher nahe, dass die niedrigen Sulfatkonzentrationen ein wesentlicher Grund für das verringerte Wachstum von *M. salina* waren. Die partielle Erholung des Wachstums nach einer zusätzlichen Sulfatzugabe zu Beginn des Prozesses mit 7-fach rezykliertem Wasser unterstützt diese Vermutung, zeigt aber gleichzeitig, dass der Sulfatmangel nicht der einzige limitierende Faktor war.

Darüber hinaus führte die regelmäßige Zugabe von KNO_3 mit der konzentrierten Nährstofflösung zu einer Akkumulation von Kalium, da nur das Nitrat als Stickstoffquelle vollständig verbraucht wurde. Obwohl Kalium wichtige physiologische Funktionen ausfüllt – beispielsweise im Ionen- und vor allem Phosphattransport, bei der Osmose oder der Aktivität von Enzymen (Markou et al., 2014; Iyer et al., 2015) – ist bei einer Steigerung der Kaliumkonzentration um mehr als das 26-Fache dennoch ein wachstumsinhibierender Effekt durch ein Ionenungleichgewicht denkbar (Talling, 2010). Gleichzeitig bewirkte die Kaliumakkumulation einen Anstieg der Salinität, was durch Reduktion des NaCl -Gehalts in den Zugaben von frischem ASW-Medium als Kompensation des Wasserverlusts bei der Zellabtrennung ausgeglichen wurde. Dies wiederum führte zur Abnahme der Chloridkonzentration von $18,2 \text{ g L}^{-1}$ zu $7,7 \text{ g L}^{-1}$ nach 7 Kreislaufführungen. In ähnlichem Ausmaß dürfte auch die Natriumkonzentration im Laufe der Prozessserie gesunken sein, was jedoch nicht analysiert wurde.

In der Literatur wurden reduzierte Wachstumsraten und Produktivitäten bei Wasserrecycling beispielsweise mit *Nannochloropsis* sp., *Scenedesmus* sp. und *Arthrospira platensis* in geschlossenen Photobioreaktoren beschrieben (Rodolfi et al., 2003; Zhang et al., 2013; Depraetere et al., 2015), was auf die Akkumulation von Zellbruchstücken und autoinhibitorischen Substanzen zurückgeführt wurde. Richmond und Zou (1999) berichteten, dass das Wachstum von *Nannochloropsis* sp. in Flachplattenreaktoren ab $6\text{--}7 \text{ g L}^{-1}$ BTM abnahm, wenn das Wachstumsmedium nicht alle 48 Stunden vollständig durch frisches Medium ersetzt wurde. Auch die Akkumulation von (Exo-) Polysacchariden durch Wasserrecycling wurde als möglicherweise wachstumsinhibierend beschrieben (Hadj-Romdhane et al., 2013; Lu et al., 2020).

5.1.2 Wasserrecycling mit Harnstoff und Sulfatsupplementierung

Eine zweite Serie aus 8 sequentiellen Satzprozessen mit *M. salina* wurde unter gleichen Bedingungen mit Kreislaufführung des Wassers nach Zellabtrennung durchgeführt. Um jedoch die Auswirkung auf die Salinität sowie eine mögliche Wachstumsinhibition durch Akkumulation von Kalium zu vermeiden, wurde KNO_3 im ASW-Medium sowie in der konzentrierten Nährstofflösung durch Harnstoff als Stickstoffquelle ausgetauscht. Dabei wurden $0,3 \text{ g L}^{-1}$ Harnstoff für je 1 g L^{-1} KNO_3 eingesetzt, um ein äquimolares Verhältnis in Bezug auf Stickstoff zu wahren. Darüber hinaus wurde die Sulfatkonzentration regelmäßig mit semiquantitativen Teststreifen abgeschätzt und bei Bedarf mit $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ auf die Ausgangskonzentration im ASW-Medium erhöht, wenn die Sulfatkonzentration unter $0,8 \text{ g L}^{-1}$ sank, um auch die zuvor beobachtete Sulfatlimitierung auszuschließen.

Mit frischem ASW-Medium wurde bei Verwendung von Harnstoff als Stickstoffquelle in einem 14-tägigen Satzprozess eine finale BTM-Konzentration von $31,3 \text{ g L}^{-1}$ und eine Gesamtbiomasseproduktivität von $15,6 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ erreicht, was nahezu identisch war zum Satzprozess mit frischem ASW-Medium und KNO_3 als Stickstoffquelle (Abbildung 5.4a). In der weiteren Prozessabfolge führten die Verwendung von Harnstoff und die Supplementierung von Sulfat jedoch sogar zu einem Anstieg der Produktivität von bis zu 37% bei einer maximalen Produktivität von $21,3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($3,10 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) mit 2-fach rezykliertem Wasser. Erst ab der 5. Kreislaufführung des Wassers sank die Produktivität leicht von $16,8 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ zu $14,9 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ mit 7-fach rezykliertem Wasser. Dieser letzte Satzprozess erreichte mit $30,6 \text{ g L}^{-1}$ eine nur unwesentlich niedrigere BTM-Konzentration als der erste Prozess mit frischem ASW-Medium (Abbildung 5.4b). Die spezifischen Wachstumsraten aller 8 Prozesse lagen zwischen $0,58 \text{ d}^{-1}$ und $0,74 \text{ d}^{-1}$, wobei kein signifikanter Unterschied auf Basis der 95%-Konfidenzintervalle bestand (Abbildung 5.5).

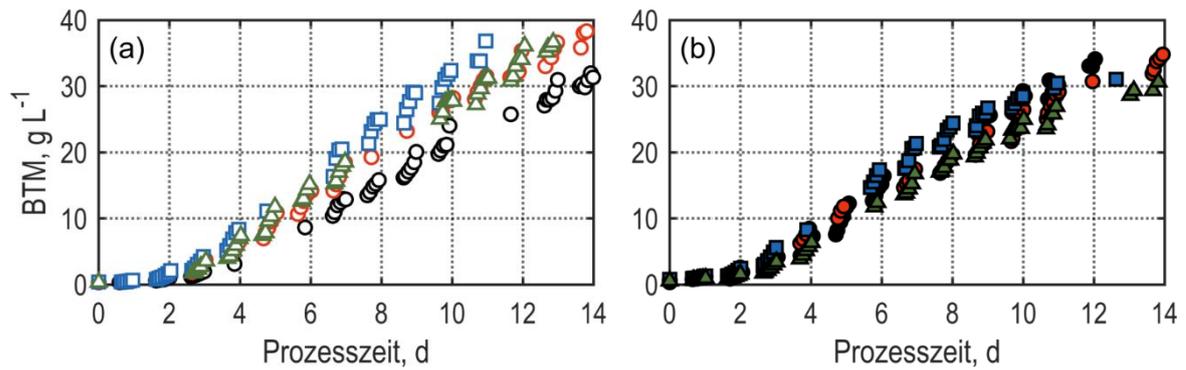


Abbildung 5.4. Biotrockenmassekonzentration (BTM) in sequentiellen Satzprozessen mit Wasserrecycling nach Zellernte mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor bei physikalischer Klimasimulation. Als Medium wurde artifizielles Meerwasser verwendet, mit Harnstoff als Stickstoffquelle verwendet. Die Sulfatkonzentration wurde überwacht und regelmäßig mit Magnesiumsulfat ergänzt. (a) Kultivierung mit frischem Wasser (○), 1. Recycling (◌), 2. Recycling (◻) und 3. Recycling (◻). (b) Kultivierung mit 4-fach rezykliertem Wasser (●), 5. Recycling (●), 6. Recycling (◼) und 7. Recycling (◼).

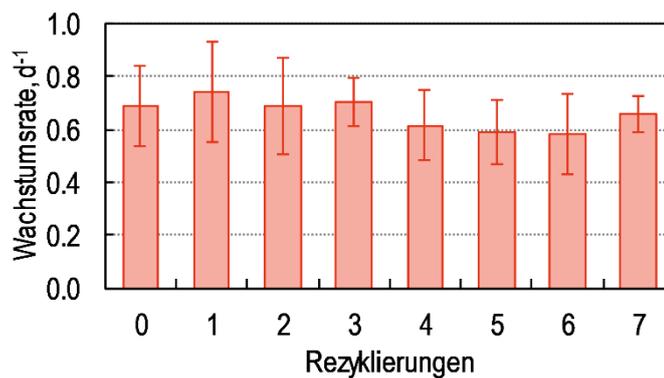


Abbildung 5.5. Spezifische Wachstumsraten von *M. salina* während der ersten 5 Tage in 8 sequentiellen Satzprozessen mit Wasserrecycling im Flachgerinnereaktor. Als Stickstoffquelle wurde Harnstoff verwendet. Zusätzlich wurde die Sulfatkonzentration überwacht und regelmäßig mit Magnesiumsulfat ergänzt. Fehlerbalken repräsentieren die 95%-Konfidenzintervalle.

Die beim Projektpartner vom Institut für Wasserchemie (TUM) durchgeführten Analysen der Ionenkonzentrationen in Wasserproben der Prozessserie mit Harnstoff und Sulfat-supplementierung zeigte einen relativ stabilen Verlauf aller gemessenen Ionenspezies (Na^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , Mg^{2+} und K^+ , Abbildung 5.6). Einzig die Magnesiumkonzentration stieg leicht von $0,72 \text{ g L}^{-1}$ auf $1,46 \text{ g L}^{-1}$ an, blieb jedoch ab der 5. Kreislaufführung des Wassers stabil. Da die Magnesiumkonzentration in Referenz-Meerwasser mit $1,31 \text{ g L}^{-1}$ ähnlich hoch ist (Millero et al., 2008), erscheint es unwahrscheinlich, dass sich dieser Anstieg negativ auf die Biomasseproduktivität auswirkte.

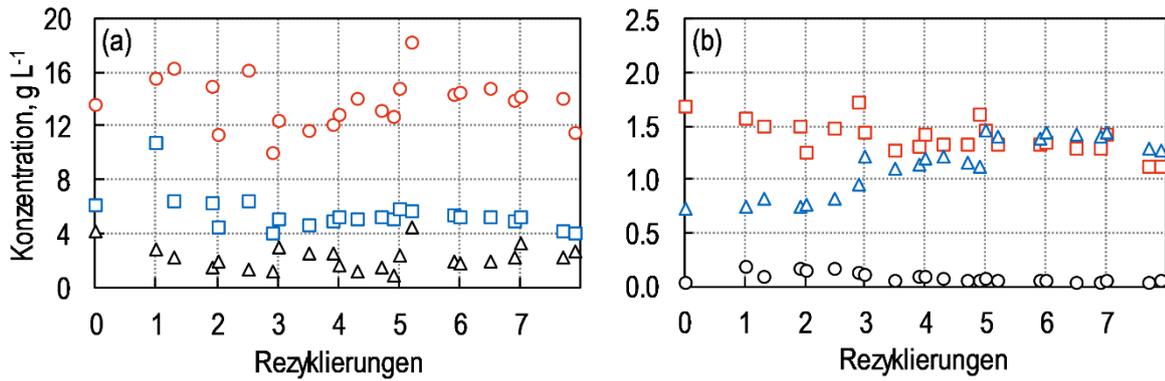


Abbildung 5.6. Ionenkonzentrationen im Wachstumsmedium in 8 sequentiellen Satzprozessen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor mit Wasserrecycling. Als Stickstoffquelle wurde Harnstoff verwendet. Zusätzlich wurde die Sulfatkonzentration überwacht und regelmäßig mit Magnesiumsulfat ergänzt. (a) Konzentrationen von Cl⁻ (○), Na⁺ (□) und SO₄²⁻ (△) und (b) Mg²⁺ (△), K⁺ (○) und Ca²⁺ (□).

Da bei Kreislaufführung des Wassers in Mikroalgenprozessen häufig eine Akkumulation organischer Substanzen wie Exopolysaccharide, Pigmente oder Metabolite beobachtet wird, die durch Sekretion oder Zellyse freigesetzt werden (Hadj-Romdhane et al., 2013; Rossi und Philippis, 2016), wurden am Institut für Wasserchemie zusätzlich zu den Ionen auch die Konzentrationen von Pigmenten aus der Gruppe der Xanthophylle und das Vorkommen gelösten organischen Kohlenstoffs untersucht (DOC, engl. dissolved organic carbon). Obwohl der DOC-Gehalt durch jede Zellabtrennung und Verdünnung mit frischem ASW-Medium als Ausgleich für Wasserverluste etwas abnahm, stieg die Konzentration insgesamt von 0,28 g L⁻¹ auf bis zu 1,94 g L⁻¹ nach 6 Kreislaufführungen an (Abbildung 5.7a). Mit zunehmender Kreislaufführung wurde auch eine verstärkte Färbung des ursprünglich farblosen Wassers in den gelb-rötlichen Bereich beobachtet. Diese Verfärbung kann durch Akkumulation von Xanthophyllen (Lutein, Canthaxanthin und Capsanthin) auf bis zu 74 ± 1,4 mg L⁻¹ erklärt werden, die mutmaßlich durch Zellyse freigesetzt wurden (Abbildung 5.7b).

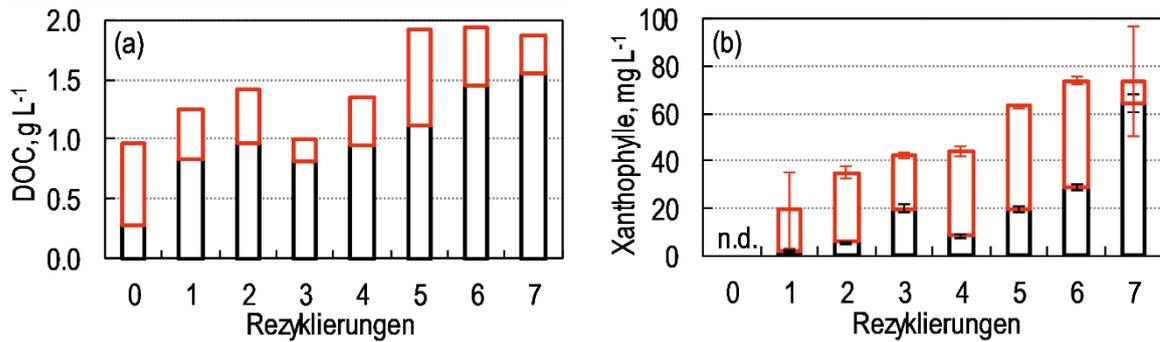


Abbildung 5.7. (a) Konzentration an gelöstem organischem Kohlenstoff (DOC) und (b) summierte Konzentration der Xanthophylle Lutein, Canthaxanthin und Capsanthin in 8 sequentiellen Satzprozessen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor mit Wasserrecycling. Als Stickstoffquelle wurde Harnstoff verwendet. Zusätzlich wurde die Sulfatkonzentration überwacht und regelmäßig mit Magnesiumsulfat ergänzt. Schwarze Balken zeigen die jeweilige Konzentration zu Beginn des Prozesses, rote Balken die Konzentration am Ende des Prozesses vor der Zellernte.

Diskussion

Die Abnahme des Wachstums und der Biomasseproduktivität im Verlauf von 8 sequentiellen Satzprozessen mit Wasserrecycling konnten durch den Austausch von KNO_3 mit Harnstoff und die regelmäßige Sulfatsupplementierung vermieden werden. Durch diese Maßnahmen wurde im Durchschnitt der 8 Prozesse eine finale BTM-Konzentration von $34,7 \pm 3,5 \text{ g L}^{-1}$ erreicht und die mittlere Produktivität um 86% auf $16,8 \pm 1,7 \text{ g L}^{-1}$ erhöht (Abbildung 5.8). Auch die spezifischen Wachstumsraten der Prozessserie waren signifikant höher ($p = 0,0052$, zweiseitig gepaarter t-Test) als Wachstumsraten bei Wasserrecycling mit KNO_3 als Stickstoffquelle und ohne Sulfatsupplementierung. Darüber hinaus wurde sogar eine Steigerung der Gesamtproduktivität in 1- bis 5-fach rezykliertem Wasser gegenüber frischem ASW-Medium beobachtet. Diese Produktivitätssteigerung ist möglicherweise auf die Nutzung akkumulierter organischer Kohlenstoffspezies als heterotrophe Substrate zurückzuführen. Diese Vermutung wird auch dadurch gestützt, dass der Biomasseertragskoeffizient für Harnstoff (als Indikator des gesamten Nährstoffverbrauchs) von $4,2 \text{ g BTM g}^{-1}$ Harnstoff um bis zu 34% auf $6,4 \text{ g BTM g}^{-1}$ Harnstoff in 3-fach rezykliertem Wasser anstieg. In der Literatur wurden wachstumsfördernde Effekte durch heterotrophe Substrate bei Wasserrecycling beispielsweise mit *Nannochloropsis oceanica*, *Chlorella vulgaris* und *Tetraselmis* sp. beschrieben (Kim et al., 2013; Fon Sing et al., 2014; Farooq et al., 2015a).

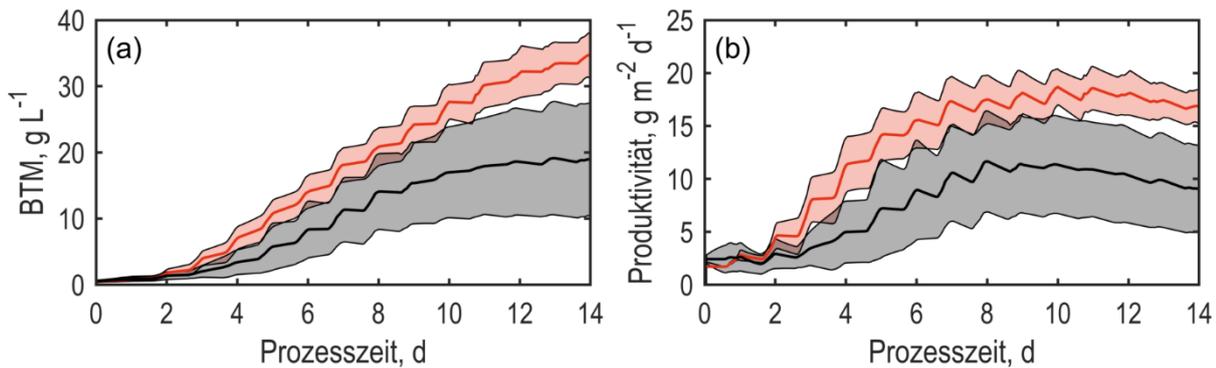


Abbildung 5.8. (a) Mittlere Biotrockenmassekonzentration (BTM) und (b) mittlere flächenbezogene Biomasseproduktivität in je 8 sequentiellen Satzprozessen bei Wasserrecycling mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor. Satzprozesse wurden mit KNO_3 als Stickstoffquelle und ohne Sulfatsupplementierung (—) oder mit Harnstoff und Sulfatsupplementierung durchgeführt (—). Farbige Flächen stellen ± 1 Standardabweichung der entsprechenden Prozessserien dar.

Es lässt sich schlussfolgern, dass die wiederholte Kreislaufführung des Prozesswassers ohne weitere Aufarbeitung in phototrophen Kultivierungen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor auch bei sehr hohen Zelldichten von mehr als 30 g L^{-1} ohne Produktivitätseinbußen durchführbar ist, sofern alle notwendigen Nährstoffe (N, P, Fe, S und Spurenelemente) regelmäßig ergänzt werden und Harnstoff anstelle von KNO_3 als Stickstoffquelle genutzt wird. Sowohl Techno-ökonomische Analysen als auch Lebenszyklusanalysen legen nahe, dass dies ein wichtiger Faktor zur Verbesserung der ökonomischen und ökologischen Bilanz von Mikroalgenprozessen darstellt (Farooq et al., 2015b; Zhu, 2015).

5.2 Effizienz des CO_2 -Umsatzes mit Harnstoff als Stickstoffquelle

Die Verwendung von Harnstoff als Stickstoffquelle in Mikroalgenprozessen mit hoher Zelldichte bieten neben den in Abschnitt 5.1.2 beschriebenen noch weitere Vorteile. Harnstoff ist nicht nur preisgünstiger als Kalium- oder Natriumnitrat, sondern wird wahrscheinlich auch bioenergetisch gegenüber dem stark oxidierten Nitrat im Zellstoffwechsel begünstigt (Sassano et al., 2004; Carvalho et al., 2014). Darüber hinaus führt die Verwendung von Kaliumnitrat zu einem Anstieg der Alkalinität, wenn nur Nitrat verbraucht wird, während Kalium im Wasser akkumuliert – ein Effekt der durch den hohen Nährstoffbedarf bei hohen volumetrischen Produktivitäten, wie sie im Flachgerinnereaktor erzielt werden, erheblich sein kann. Der Anstieg der Alkalinität führt, wie in Abschnitt 3.1.3 erläutert, zu einem Anstieg der Konzentration anorganischen Kohlenstoffs und damit der Konzentration an gelöstem CO_2 . Gemäß dem Zweifilmmodell bewirkt eine hohe CO_2 Konzentration in der Flüssigphase jedoch

eine schlechtere Absorption aus der zugeführten, CO₂-reichen Gasphase und gleichzeitig eine verstärkte Desorption an die CO₂-arme Atmosphäre, was insgesamt in einer reduzierten CO₂-Umsatzeffizienz resultiert. Darüber hinaus wird die Pufferkapazität des Wassers durch das Carbonat-System erhöht, so dass mehr CO₂ zur Absenkung des pH benötigt wird. So berichteten Apel et al. (2017) von einer CO₂-Effizienz von nur 10–20% mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor bei Verwendung von Kaliumnitrat.

Daher wurde in dieser Arbeit in nicht-nährstofflimitierten Satzprozessen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor untersucht, wie sich die Stickstoffquelle und Alkalinität auf die Effizienz des CO₂-Umsatzes auswirken. Zu diesem Zweck wurden drei Prozesse durchgeführt: (1) ein Prozess mit KNO₃ als Stickstoffquelle und ohne Kontrolle der Alkalinität, (2) ein Prozess mit Harnstoff als Stickstoffquelle und ohne Kontrolle der Alkalinität sowie (3) ein Prozess mit Harnstoff als Stickstoffquelle bei gleichzeitiger Kontrolle der Alkalinität bei etwa 10 mM via Titration mit Schwefelsäure. In Prozess 3 wurde außerdem ein überarbeitetes CO₂-Eintragssystem eingesetzt: Anstelle von 3 parallelen Schläuchen (Solvocarb, 3000 Poren m⁻¹, Linde, Pullach, Deutschland) mit einer identischen Länge von je 23 cm und einem Außendurchmesser von 27 mm wurden 3 schmalere Schläuche (Solvox B, 1500 Poren m⁻¹, Linde, Pullach, Deutschland) mit einem Außendurchmesser von 20 mm und feineren Poren verwendet (Abbildung 5.9). Hierbei waren die beiden äußeren Schläuche nur je 15 cm lang, während der mittlere Schlauch eine Länge von 42 cm hatte. Auf diese Weise konnte der mittlere Schlauch in das Ansaugrohr der Kreiselpumpe des Flachgerinnereaktors getaucht werden, während sich das CO₂-Eintragssystem insgesamt tiefer im Sammelbecken des Reaktors befand. Außerdem verfügte der schmalere Schlauchtyp zwar über weniger, aber feinere Poren, so dass kleinere Gasblasen produziert wurden. Insgesamt sollte so das Aufsteigen von Gasblasen an die Suspensionsoberfläche minimiert werden.



Abbildung 5.9. (a) Standardversion des CO₂-Eintragssystems im Flachgerinnereaktor mit 3 Solvcarb-Schläuchen mit einer Länge von je 23 cm und einem Außendurchmesser von 27 mm. (b) Überarbeitetes CO₂-Eintragssystem mit 2 äußeren Solvox B-Schläuchen (20 mm Außendurchmesser) von je 15 cm Länge und einem mittleren Solvox B-Schlauch mit 42 cm Länge, der in das Ansaugrohr der Kreiselpumpe eingetaucht wurde.

Die drei 14-tägigen Satzprozesse zeigten einen nahezu identischen Verlauf der BTM-Konzentration und flächenbezogenen Gesamtbiomasseproduktivität (Abbildung 5.10). Die finalen BTM-Konzentrationen betragen 31,0–32,9 g L⁻¹ bei Produktivitäten von 15,1–16,0 g m⁻² d⁻¹. Der auf die Reaktorfläche bezogene, tagsüber zugeführte CO₂-Massenstrom stieg im Prozess mit KNO₃ während der gesamten Kultivierung trotz einer ab Tag 10 stationären Produktivität weiter auf bis zu 43,7 g m⁻² h⁻¹ an. Entsprechend sank die Effizienz des CO₂-Umsatzes stetig bis zu einem Minimum von nur 10,7% am Ende des Prozesses.

Demgegenüber wurden bei Verwendung von Harnstoff maximale CO₂-Massenströme von nur 7,4 g m⁻² h⁻¹ an Tag 8 ohne Kontrolle der Alkalinität und 4,4 g m⁻² h⁻¹ an Tag 7 mit Kontrolle der Alkalinität erreicht. Die CO₂-Effizienz stieg im ersten Fall auf bis zu 63,7% nach 10 Tagen an und sank bis zum Prozessende wieder auf 53,1% ab. Die Alkalinität stieg in diesem Fall ab Tag 6 von 11 mM auf 27 mM an. Bei Kontrolle der Alkalinität bei etwa 10 mM wurde stattdessen ab Tag 6 bis zum Ende des Prozesses eine CO₂-Effizienz von > 80% mit einem Maximum von 91,6% an Tag 9 erreicht.

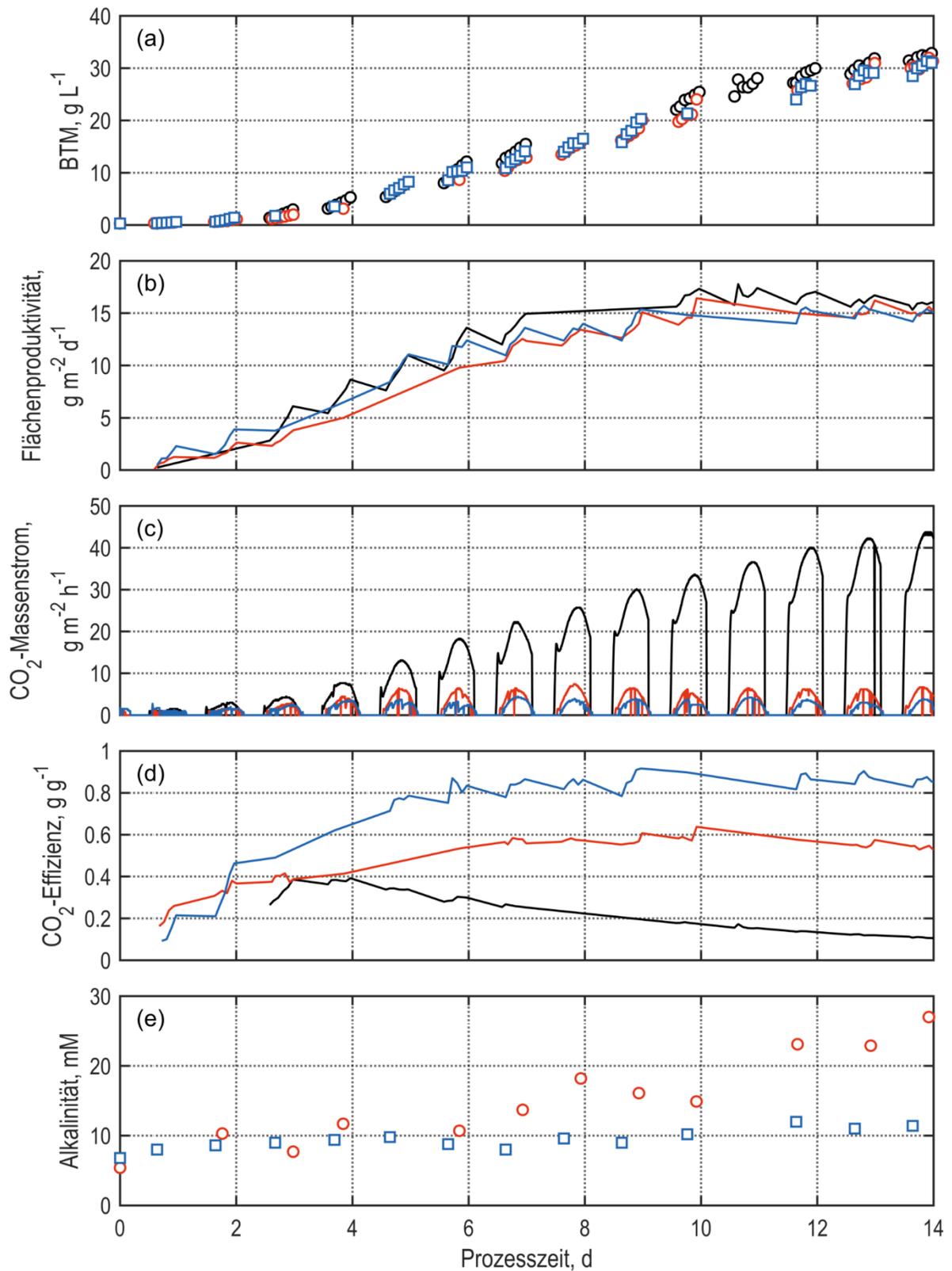


Abbildung 5.10. Verläufe der (a) Biotrockenmassekonzentration (BTM), (b) der flächenbezogenen Gesamtbiomasseproduktivität, (c) des flächenbezogenen CO₂-Massenstroms, (d) der Effizienz des CO₂-Umsatzes und (e) der totalen Alkalinität (TA) in Satzprozessen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor. Satzprozess ohne TA-Kontrolle mit Kaliumnitrat als Stickstoffquelle (○, —; TA nicht gemessen), Satzprozess ohne TA-Kontrolle mit Harnstoff als Stickstoffquelle (○, —), Satzprozess mit Harnstoff als Stickstoffquelle, Kontrolle der TA bei 10 mM via Titration mit Schwefelsäure und verbessertem CO₂-Eintragungssystem (□, —).

Diskussion

Der bei Einsatz von KNO_3 stetig ansteigende CO_2 -Verbrauch lässt sich nicht durch eine entsprechend ansteigende Biomasseproduktivität erklären. Stattdessen hat vermutlich die Akkumulation von Kaliumionen bei Verbrauch von Nitrat zu einem Anstieg der Alkalinität geführt (hier nicht gemessen). Theoretisch lässt sich der Anstieg der Alkalinität durch Kaliumakkumulation aus der insgesamt verbrauchten Molmenge an Nitrat abschätzen, woraus sich bei Vernachlässigung möglicher Kaliumfällung ein Alkalinitätsanstieg von 211 mM ergibt. Dies führte möglicherweise zu einem erhöhten CO_2 -Bedarf zur pH-Regelung und gleichzeitig zu einer verstärkten Desorption an die Atmosphäre sowie einem verringerten Stoffübergang aus den zugeführten CO_2 -Gasblasen, was letztlich in einer sehr geringen Umsatzeffizienz resultierte.

Die Verwendung von Harnstoff als Stickstoffquelle verringerte dieses Problem, da Harnstoff von *M. salina* zu CO_2 und NH_4^+ umgesetzt und vollständig verstoffwechselt werden kann, ohne dass ein Gegenion akkumuliert. Dennoch wurde ein leichter Anstieg der Alkalinität im Prozessverlauf beobachtet, der aus der Aufnahme von Phosphat oder Mikronährstoffen sowie aus der Zufuhr von Calcium- und Magnesiumcarbonat mit dem Leitungswasser als Verdunstungsausgleich resultiert haben könnte. Vermutlich führte dies zur leichten Abnahme der CO_2 -Effizienz im späteren Prozessverlauf.

Im dritten Prozess wurde neben der Verwendung von Harnstoff zum einen die Alkalinität bei etwa 10 mM konstant gehalten, zum anderen wurde ein überarbeitetes CO_2 -Eintragungssystem eingesetzt. Obwohl die Alkalinität in den ersten 6 Tagen der beiden Prozesse mit Harnstoff sehr ähnlich verlief, wurde hier bereits eine deutlich höhere CO_2 -Effizienz erreicht. Dies legt nahe, dass das überarbeitete CO_2 -Eintragungssystem einen geringeren Verlust von CO_2 durch bis an die Suspensionsoberfläche aufsteigende Gasblasen bewirkte. Aufgrund der konstanten Alkalinität sank die CO_2 -Effizienz im weiteren Prozessverlauf nicht ab, sondern blieb stabil bei $84 \pm 4\%$.

Es lässt sich schlussfolgern, dass der Austausch von KNO_3 durch Harnstoff als Stickstoffquelle die Effizienz des CO_2 -Umsatzes etwa um den Faktor 5 verbessern konnte, ohne sich anderweitig auf das Wachstum und die Biomasseproduktivität von *M. salina* auszuwirken. Eine weitere Verbesserung konnte durch Kontrolle der Alkalinität bei etwa 10 mM und eine Überarbeitung des CO_2 -Eintragungssystems erreicht werden, was in einer Effizienzsteigerung im

Vergleich zum KNO_3 -Ausgangsprozess um den Faktor 8 resultierte. Damit wurde im Vergleich mit Literaturdaten eine sehr hohe CO_2 -Umsatzeffizienz erzielt. Doucha und Lívanský (2006) berichteten von einem CO_2 -Umsatz im Flachgerinnereaktor von etwa 70%, während in typischen Raceway Ponds nur etwa 13–20% und in geschlossenen Photobioreaktoren etwa 50–65% erreicht wurden (Sobczuk et al., 2000; Acién et al., 2016).

5.3 Reduktion des hydraulischen Leistungseintrags im Flachgerinnereaktor

Ein wichtiger Kostenfaktor bei der Kultivierung von Mikroalgenbiomasse ist die zur Durchmischung des Reaktionssystems notwendige Energie. Zudem sollte das Verhältnis an Energie, die in Form von Biomasse gewonnen wird, zu der Energie, die für die Produktion dieser Biomasse aufgewendet werden muss, möglichst groß sein (Chisti, 2013; Laurens et al., 2017). Dies gilt vor allem, wenn die zur Erzeugung der Biomasse eingesetzte Energie aus fossilen Brennstoffen stammt. Eine Möglichkeit, den Energiebedarf der Mikroalgenprozesse zu mindern, ist die Reduktion des hydraulischen Leistungseintrags in den Photobioreaktor. Für den Flachgerinnereaktor lässt sich der auf die Reaktorfläche bezogene hydraulische Leistungseintrag nach Gleichung (5.1) berechnen.

$$\frac{P_{hyd}}{A} = \dot{V} \cdot \rho \cdot g \cdot H \cdot A^{-1} \quad (5.1)$$

mit	P_{hyd}	Hydraulischer Leistungseintrag, W
	A	Reaktorfläche, m^2
	\dot{V}	Volumenstrom, L s^{-1}
	ρ	Dichte des Mediums, kg L^{-1}
	g	Erdbeschleunigung, m s^{-2}
	H	Pumphöhe, m

Die Pumphöhe ergibt sich dabei aus der Gerinneneigung und den konstruktionsbedingten Höhensprüngen zwischen den einzelnen Reaktormodulen. Der Anteil dieser Höhensprünge an der Gesamthöhe nimmt jedoch bei zunehmender Gerinnelänge exponentiell ab (Apel, 2017). Zudem ist die Konstruktion der vorhandenen Flachgerinnereaktoren im Algentechnikum nicht bezüglich der Höhensprünge optimiert. Neben der gesamten Pumphöhe von 75 cm im 8 m^2 Reaktor ist daher auch die Betrachtung der reinen Neigungshöhe von 14 cm auf der

Gerinnelänge von 8 m sinnvoll, um den Leistungseintrag im größeren Maßstab abschätzen zu können.

Apel (2017) kalkulierte bei Betrachtung der reinen Neigungshöhe für Flachgerinnereaktoren im Algentechnikum mit einer Oberfläche von 8 m² im Vergleich zu Literaturwerten für Raceway Ponds einen um den Faktor 3,5 höheren biomassespezifischen hydraulischen Leistungseintrag. Da die Schaufelräder der Raceway Ponds nur einen elektrischen Wirkungsgrad in der Größenordnung von 20% aufweisen (Borowitzka, 2005; Lundquist et al., 2010), während Kreiselpumpen einen Wirkungsgrad von etwa 80% erreichen (Gmehling und Brehm, 2013), können Flachgerinnereaktoren dennoch bei einem vergleichbaren biomassespezifischen elektrischen Leistungseintrag betrieben werden. Eine Reduktion des hydraulischen Leistungseintrags böte jedoch weiteres Potential zur Reduktion der Produktionskosten und Steigerung des Energieertrags.

Damit sich der biomassespezifische Leistungseintrag des Mikroalgenprozesses verringert, sollte die Reduktion des hydraulischen Leistungseintrags jedoch nicht zu einer äquivalenten Reduktion der Biomasseproduktivität aufgrund von schlechterer Durchmischung führen. Da in Dunkelheit jedoch ohnehin kein Wachstum stattfindet, erscheint die Kreislaufführung der Suspension während der Nacht nicht notwendig. Es liegt daher nahe, die Kreiselpumpe in diesem Zeitraum abzuschalten, so dass sich die Suspension im Auffangbecken am Ende des Gerinnes sammelt. Allerdings betreiben Mikroalgen auch in Dunkelheit weiterhin Zellatmung, wobei Sauerstoff verbraucht und CO₂ gebildet wird. Um die Sedimentation der Zellen und eine schädigende Unterversorgung mit Sauerstoff während der Nacht zu vermeiden, könnte die Suspension durch Zugabe von Druckluft im Auffangbecken weiterhin kostengünstig durchmischt werden. Zwar wurde bereits von der nächtlichen Lagerung der Suspension in einem Begasten Sammelbecken berichtet (Doucha und Lívanský, 2009), allerdings waren bislang weder Daten zum Einfluss dieser Strategie auf die Prozessleistung verfügbar, noch war diese Möglichkeit in den Flachgerinnereaktoren im Algentechnikum technisch umgesetzt.

Die Flachgerinnereaktoren im Algentechnikum wurden daher mit einer Druckluftversorgung im Auffangbecken ausgestattet. Die Druckluftzugabe am tiefsten Punkt der Suspension wurde dabei durch ein Magnetventil gesteuert. Das Prozessleitsystem wurde um die Möglichkeit erweitert, die Kreiselpumpe zum Zeitpunkt des Sonnenuntergangs automatisiert zu stoppen und zum Sonnenaufgang wiederum automatisiert zu starten. Während die Pumpe

abgeschaltet war, wurde die Druckluftzufuhr im Auffangbecken automatisch eingeschaltet. Ein so durchgeführter, nicht-nährstofflimitierter Satzprozess im 8 m² Maßstab mit *M. salina* unter physikalischer Simulation des spanischen Sommertages wurde mit einem entsprechenden Prozess ohne nächtliches Abschalten der Kreiselpumpe verglichen, um den Einfluss des reduzierten Leistungseintrags auf den Mikroalgenprozess zu untersuchen.

Beide Satzprozesse mit einer Dauer von 12 Tagen erreichten eine im Rahmen der Messgenauigkeit nahezu identische maximale BTM-Konzentration von 34,2 g L⁻¹ bei durchgängig betriebener Pumpe und 33,5 g L⁻¹ bei nächtlicher Abschaltung der Pumpe (Abbildung 5.11). Die Gesamtbiomasseproduktivität betrug jeweils 19,5 g m⁻² d⁻¹ beziehungsweise 19,0 g m⁻² d⁻¹. In der exponentiellen Wachstumsphase von jeweils 5 Tagen erreichten die Prozesse eine spezifische Wachstumsrate von 0,57 ± 0,10 d⁻¹ beziehungsweise 0,53 ± 0,12 d⁻¹. Der Unterschied war auf Basis der 95%-Konfidenzintervalle nicht signifikant. Auch die einzelnen Tageswachstumsraten unterschieden sich nicht auf Basis der 95%-Konfidenzintervalle.

Mit einer Dichte von Meerwasser von 1,025 kg L⁻¹ betrug der hydraulische Leistungseintrag bei durchgehendem Pumpenbetrieb 2,3 W m⁻² bei Berücksichtigung der gesamten Pumphöhe, beziehungsweise 0,42 W m⁻², wenn nur die Gerinneneigung berücksichtigt wurde. Durch das 10-stündige Abschalten der Pumpe bei Nacht reduzierte sich der hydraulische Leistungseintrag im Tagesmittel entsprechend auf 1,3 W m⁻² beziehungsweise 0,25 W m⁻². Zu beachten ist dabei, dass der zusätzliche Leistungseintrag durch Druckluftbegasung nicht berücksichtigt werden konnte, da keine Daten zum Volumenstrom der Druckluft verfügbar waren. Die jeweiligen biomassespezifischen hydraulischen Leistungseinträge sind in Tabelle 5.1 aufgelistet.

Tabelle 5.1. Biomassespezifischer hydraulischer Leistungseintrag im 8 m² Flachgerinnereaktor bei durchgehendem Betrieb sowie bei nächtlicher Abschaltung der Kreiselpumpe.

Betrachtete Höhe	Spez. hyd. Leistungseintrag bei durchgehendem Betrieb, kJ g ⁻¹	Spez. hyd. Leistungseintrag bei nächtlicher Abschaltung, kJ g ⁻¹
Gesamthöhe	10,0	6,0
Gerinneneigung	1,9	1,1

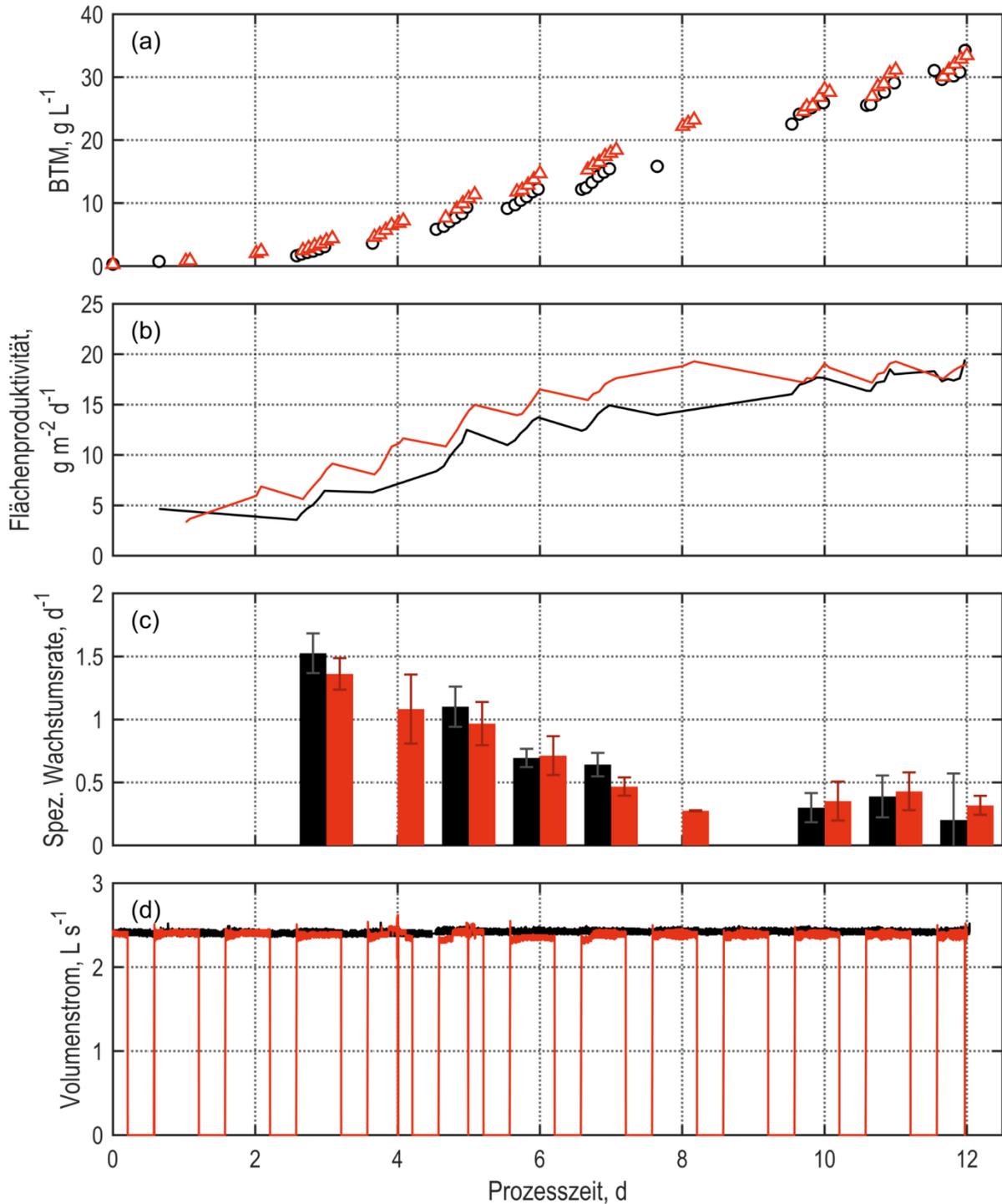


Abbildung 5.11. Verläufe der (a) Biotrockenmassekonzentration (BTM), (b) der flächenbezogenen Gesamtbiomasseproduktivität, (c) der spezifischen Tageswachstumsraten und (d) des Pumpvolumenstroms in Satzprozessen mit *M. salina* im 8 m² Flachgerinnereaktor bei durchgehendem Betrieb der Kreiselpumpe (o, —) sowie bei nächtlichem Abschalten der Kreiselpumpe mit gleichzeitiger Druckluftbegasung im Auffangbecken (Δ, —). Fehlerbalken stellen die 95%-Konfidenzintervalle der spezifischen Wachstumsraten dar.

Mit einer Standardverbrennungsenthalpie für trockene Mikroalgenbiomasse von $22,5 \text{ kJ g}^{-1}$ (de Vree et al., 2015) lässt sich aus dem biomassespezifischen Leistungseintrag der Energieertragsfaktor als Verhältnis von hydraulischem Energieeintrag und dem Energieertrag in Form von Biomasse bestimmen (Tabelle 5.2).

Tabelle 5.2. Verhältnis von hydraulischem Energieeintrag und dem Energieertrag in Form von Biomasse im 8 m^2 Flachgerinnereaktor bei durchgehendem Betrieb sowie bei nächtlicher Abschaltung der Kreiselpumpe.

Betrachtete Höhe	Energieertragsfaktor bei durchgehendem Betrieb, -	Energieertragsfaktor bei nächtlicher Abschaltung, -
Gesamthöhe	2,2	3,8
Gerinneneigung	12,1	20,1

Diskussion

Die nächtliche Abschaltung der Kreiselpumpe bei gleichzeitiger Zufuhr von Druckluft im Auffangbecken hatte im 12-tägigen Satzprozess keinen Einfluss auf das Wachstum und die Biomasseproduktivität von *M. salina*. Durch die Abschaltung der Pumpe bei Nacht wurde der hydraulische Leistungseintrag im Tagesmittel um 42% reduziert. Werden die konstruktionsbedingten Höhensprünge im Flachgerinnereaktor, deren Anteil an der Gesamthöhe bei der Maßstabsvergrößerung exponentiell mit der Gerinnelänge abnimmt, nicht berücksichtigt, so war der hydraulische Leistungseintrag mit $0,25 \text{ W m}^{-2}$ identisch mit den für Raceway Ponds in der Literatur angegebenen Werten von $0,24\text{--}0,26 \text{ W m}^{-2}$ (Lundquist et al., 2010; Huntley et al., 2015). Da Flachgerinnereaktoren und Raceway Ponds vergleichbare Flächenproduktivitäten erzielen, liegen damit auch die biomassespezifischen hydraulischen Leistungseinträge in der selben Größenordnung. Wegen des etwa um den Faktor 4 höheren Wirkungsgrades der Kreiselpumpe im Vergleich zum Schaufelrad des Raceway Ponds können Flachgerinnereaktoren folglich bei einem deutlich geringeren elektrischen Leistungseintrag betrieben werden. Eine weitere Reduktion des Leistungseintrags wäre durch eine verringerte Gerinneneigung denkbar. Eine Halbierung der Neigung auf $0,5^\circ$ führte im Algentechnikum jedoch aufgrund der geringeren Fließgeschwindigkeit zu einer starken Sedimentation der Zellen, weshalb dieser Ansatz nicht weiter verfolgt wurde.

6 Lipidproduktion mit *Microchloropsis salina* im Flachgerinnereaktor²

In diesem Kapitel erfolgt die Untersuchung der Lipidproduktion mit *Microchloropsis salina* im Flachgerinnereaktor unter Einsatz einer Stickstofflimitierung. Als Stickstoffquelle wurde Harnstoff verwendet. Alle Prozesse fanden bei physikalischer Simulation eines spanischen Sommertages statt. Mit Ausnahme der Maßstabsvergrößerung kamen stets Flachgerinnereaktoren mit einer Grundfläche von 8 m² zum Einsatz.

6.1 Lipidproduktion im Satzverfahren

Zunächst wurde ein Verfahren zur Lipidproduktion mit *M. salina* im Satzprozess etabliert. Dazu wurde charakterisiert, wie sich eine Stickstofflimitierung und die initiale Nährstoffkonzentration auf Wachstum und Lipidbildung von *M. salina* auswirken.

6.1.1 Einfluss der Stickstofflimitierung auf die Lipidbildung

Es wurde eine vergleichende Untersuchung von Wachstum und Lipidbildung mit *M. salina* bei nährstofflimitierten und unlimitierten Bedingungen durchgeführt. Im ersten Fall wurde ASW-Medium mit einer initialen Zugabe von einfach konzentrierter Nährstofflösung verwendet, so dass sich eine Harnstoffkonzentration von insgesamt 0,6 g L⁻¹ ergab. Weitere Nährstoffzugaben erfolgten nicht. Im Fall des unlimitierten Satzprozesses wurde die konzentrierte Nährstofflösung regelmäßig manuell so zugegeben, dass die Harnstoffkonzentration 0,5 g L⁻¹ nicht unterschritt, was im Prozessverlauf in einer Zugabe von insgesamt 40-fach konzentrierter Nährstofflösung resultierte.

Der unlimitierte Satzprozess zeigte in den ersten 6 Tagen exponentielles Wachstum mit einer spezifischen Wachstumsrate von $0,58 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$. Danach folgte annähernd lineares (lichtlimitiertes) Wachstum, bis nach einer Prozesszeit von 19,7 Tagen eine finale BTM-

² Einige dieser Ergebnisse sind bereits publiziert in: Schädler, T., Caballero Cerbon, D., de Oliveira, L., Garbe, D., Brück, T., und Weuster-Botz, D. (2019). Production of lipids with *Microchloropsis salina* in open thin-layer cascade photobioreactors. *Bioresource Technology* 289, 121682

Sowie in: Schädler, T., Thurn, A.-L., Brück, T., Weuster-Botz, D. (2021). Continuous Production of Lipids with *Microchloropsis salina* in Open Thin-Layer Cascade Photobioreactors on a Pilot Scale. *Energies*, 14(2), 500.

Konzentration von $41,0 \text{ g L}^{-1}$ erreicht war (Abbildung 6.1). Die flächenbezogene Gesamtbiomasseproduktivität blieb nach 7 Tagen bis zum Ende des Prozesses stationär bei $14,9 \pm 0,8 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Die Lipidkonzentration stieg während des gesamten Prozesses bis zu einem finalen Wert von $5,4 \text{ g L}^{-1}$ an. Maximale Tageslipidproduktivitäten von $3,3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,48 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) wurden von Tag 5 bis Tag 10 erreicht. Der Lipidanteil in Biotrockenmasse blieb konstant bei $15,0 \pm 0,9\%$. Nur in den ersten Tagen nach Inokulation wurde ein erhöhter Lipidanteil von $31,9\%$ gemessen, was einerseits auf den Zustand der Vorkultur zurückzuführen sein kann. Andererseits ist die indirekte Bestimmung des Lipidanteils bei geringen Lipid- und Biomassekonzentrationen vergleichsweise ungenau, da sich die Messschwankungen beider Größen in die Berechnung des Lipidanteils fortpflanzen. Die flächenbezogene Gesamtlipidproduktivität erreichte nach 10 Tagen ein Maximum von $2,3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,34 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) und sank dann auf einen finalen Wert von $1,9 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ab.

Im stickstofflimitierten Prozess wurde der initial zugegebene Harnstoff als Stickstoffquelle innerhalb von 5 Tagen vollständig verbraucht, wobei die spezifische Wachstumsrate in diesem Zeitraum $0,50 \pm 0,04 \text{ d}^{-1}$ betrug. Danach flachte das Wachstum aufgrund der Stickstofflimitierung deutlich ab, so dass nur noch eine Biomassezunahme von $4,4 \text{ g L}^{-1}$ nach 5 Tagen auf eine ab Tag 25 stationäre BTM-Konzentration von $12,7 \pm 0,3 \text{ g L}^{-1}$ zu beobachten war. Folglich erreichte die flächenbezogene Gesamtbiomasseproduktivität nach 7 Tagen ein Maximum von nur $5,8 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ und sank bis zum Ende des Prozesses nach 35 Tagen auf $2,4 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ab. Die Lipidkonzentration stieg bis zu Tag 13 nahezu linear auf $3,4 \text{ g L}^{-1}$ an. Eine maximale Tageslipidproduktivität von $2,1 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,31 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) wurde von Tag 6 bis Tag 13 erzielt. Anschließend flachte die Zunahme der Lipidkonzentration ab, bis ein Maximum von $5,7 \text{ g L}^{-1}$ an Tag 33 erreicht wurde. Der Lipidanteil stieg während der Stickstofflimitierung von $22,7\%$ bis zu einem Maximum von $45,5\%$ an Tag 33 an. Die Gesamtlipidproduktivität erreichte nach 13 Tagen bei einem Lipidanteil von $35,1\%$ ein Maximum von $1,8 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,26 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) und sank bis zum Prozessende nach 35 Tagen auf $1,0 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ab.

Eine Übersicht über die wichtigsten Leistungsparameter beider Prozesse ist in Tabelle 6.1 gezeigt.

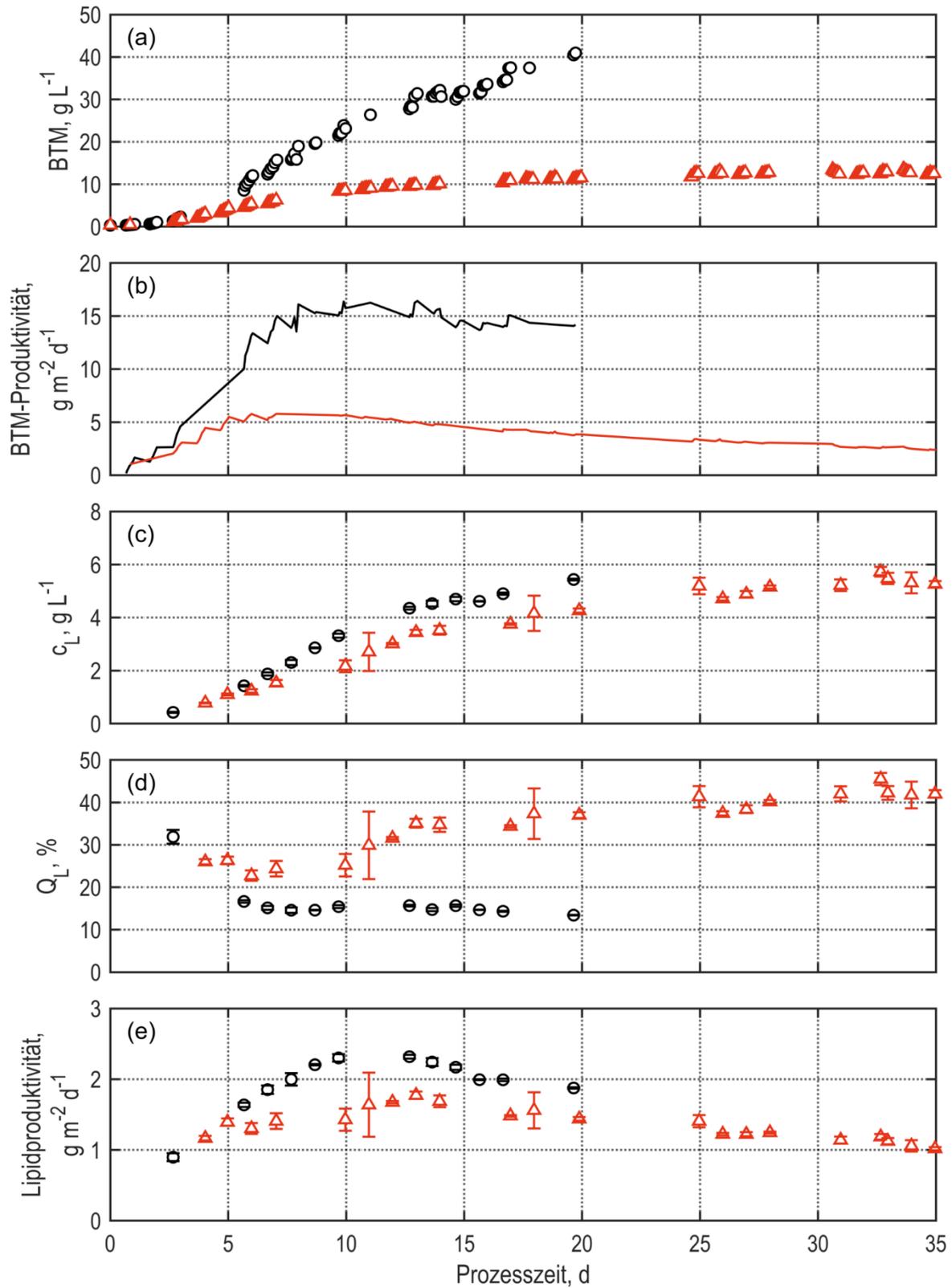


Abbildung 6.1. Satzprozesse mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor bei physikalischer Simulation des spanischen Sommertages unter nicht-nährstofflimitierten (o, —) und stickstofflimitierten Bedingungen (Δ , - -). Zeitliche Verläufe der (a) Biotrockenmassekonzentration (BTM), (b) flächenbezogenen Biomasseproduktivität, (c) Lipidkonzentration c_L , (d) des Lipidanteils Q_L in Trockenmasse und (e) der flächenbezogenen Lipidproduktivität.

Tabelle 6.1. Finale Biomasseproduktivität P_{BTM} , maximale Lipidkonzentration c_L , maximaler Lipidanteil Q_L , maximale Tageslipidproduktivität $P_{L,max}$, und finale Gesamtlipidproduktivität $P_{L,ges}$ in Satzprozessen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor unter nicht-nährstofflimitierten und stickstofflimitierten Bedingungen.

	P_{BTM} , $g\ m^{-2}\ d^{-1}$ ($g\ L^{-1}\ d^{-1}$)	c_L , $g\ L^{-1}$	Q_L , %	$P_{L,max}$, $g\ m^{-2}\ d^{-1}$ ($g\ L^{-1}\ d^{-1}$)	$P_{L,ges}$, $g\ m^{-2}\ d^{-1}$ ($g\ L^{-1}\ d^{-1}$)
Unlimitiert	14,2 (2,06)	5,4	16,6	3,3 (0,48)	1,9 (0,28)
N-limitiert	2,4 (0,32)	5,7	45,5	2,1 (0,31)	1,0 (0,15)

Analyse der Biomassezusammensetzung

Um den Einfluss der Stickstofflimitierung genauer zu untersuchen, wurde die makromolekulare Zusammensetzung der Biomasse von *M. salina* unter unlimitierten und stickstofflimitierten Bedingungen analysiert. Zu diesem Zweck wurden vom Projektpartner am Werner Siemens-Lehrstuhl für Synthetische Biotechnologie (TUM) der Protein- und Kohlenhydratanteil der Biotrockenmasse aus dem stickstofflimitierten und unlimitierten Prozess ermittelt und zur Verfügung gestellt. Neben dem Anstieg des Lipidanteils von 16% auf 46% zeigte sich durch Stickstofflimitierung auch eine Zunahme des Kohlenhydratanteils von 26% auf 35%, während der Proteinanteil stark von 48% auf 12% zurückging (Abbildung 6.2).

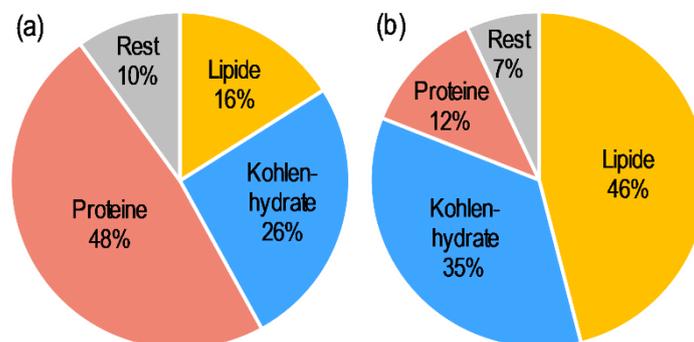


Abbildung 6.2. Makromolekulare Zusammensetzung von *M. salina* Biotrockenmasse in einem (a) nicht-nährstofflimitierten Satzprozess sowie einem (b) stickstofflimitierten Satzprozess im Flachgerinnereaktor.

Darüber hinaus wurde eine Analyse des Fettsäureprofils der Lipidfraktion aus unlimitierter und stickstofflimitierter Biomasse durchgeführt (Tabelle 6.2). Dazu fand eine Umesterung der Fettsäuren mit Methanol zu den entsprechenden Fettsäuremethylestern gefolgt von einer gaschromatographischen Analyse statt. Der Grad der Sättigung des Fettsäureprofils lässt sich durch den Sättigungsindex (engl. fatty acid unsaturation index) beschreiben, der die durchschnittliche Anzahl von C-C-Doppelbindungen pro Fettsäure wiedergibt (Concha et al., 2018). Unter nicht-nährstofflimitierten Wachstumsbedingungen wurde ein Sättigungsindex

von 2,0 ermittelt; unter stickstofflimitierten Bedingungen reduzierte sich der Sättigungsindex auf 0,8. Diese Abnahme von C-C-Doppelbindungen wurde im Wesentlichen durch eine Zunahme der gesättigten Fettsäure Palmitat (C16:0) von 22,0% auf 48,6% der Fettsäuren und eine Abnahme der mehrfach ungesättigten ω -3-Fettsäure Eicosapentaenoat (C20:5) von 28,3% auf 5,5% hervorgerufen.

Tabelle 6.2. Fettsäureprofil von *M. salina* in einem nicht-nährstofflimitierten und einem stickstofflimitierten Satzprozess im Flachgerinnereaktor. Die relativen Anteile der Fettsäuren beziehen sich auf die Gesamtmenge aller identifizierten Fettsäuremethylester. Hervorgehoben sind die gesättigte Palmitinsäure und die mehrfach ungesättigte Eicosapentaensäure, auf deren Anteil die Stickstoffversorgung den größten Einfluss hatte.

Fettsäure	Unlimitiert, %	Stickstofflimitiert, %
C14:0 (Myristat)	6,5 ± 1,2	3,4 ± 0,0
C14:1 (Myristoleat)	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0
C16:0 (Palmitat)	22,0 ± 2,6	48,6 ± 1,9
C16:1 (Palmitoleat)	31,3 ± 1,0	30,1 ± 0,1
C18:0 (Stearat)	0,4 ± 0,1	1,2 ± 0,0
C18:1 (Oleat)	4,8 ± 0,5	6,6 ± 0,6
C18:1 (Vaccenat)	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,0
C18:2 (Linoleat)	1,6 ± 0,2	1,3 ± 0,2
C18:3 (Linolenat)	0,1 ± 0,0	0,4 ± 0,1
C19:0 (Nonadecanoat)	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0
C20:0 (Arachidat)	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C20:1 (11-Eicosenoat)	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C20:2 (11,14-Eicosadienoat)	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C20:4 (Arachidonat)	4,0 ± 0,1	2,1 ± 0,2
C20:3 (11,14,17-Eicosatrienoat)	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
C20:5 (Eicosapentaenoat)	28,3 ± 1,6	5,5 ± 0,1
C22:0 (Behenat)	0,1 ± 0,0	0,0 ± 0,0
C22:1 (Erucal)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
C24:0 (Docosahexaenoat)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
C22:6 (Lignocerat)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
C24:1 (Nervonat)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
Summe	100,1 ± 7,4	100,0 ± 3,2

Diskussion

Die spezifische Wachstumsrate in den ersten Tagen beider Satzprozesse unterschied sich nicht signifikant auf Basis der 95%-Konfidenzintervalle. Im nicht-nährstofflimitierten Prozess hielt die exponentielle Wachstumsphase jedoch einen Tag länger an, bevor durch Lichtlimitierung lineares Wachstum einsetzte. Im Gegensatz dazu wurde im stickstofflimitierten Satzprozess die Wachstumsrate nach Verbrauch des vorgelegten Harnstoffs nach 5 Tagen hauptsächlich durch die fehlende Stickstoffquelle limitiert, weshalb die Biomasseproduktivität deutlich geringer ausfiel.

Unter nicht-nährstofflimitierten Bedingungen blieb der Lipidanteil in Biotrockenmasse konstant bei 15%, während die Stickstofflimitierung zu einer Lipidakkumulation von bis zu 46% führte. Die Stickstofflimitierung bewirkte folglich eine Verdreifachung des Lipidgehalts von *M. salina*. Pfaffinger (2017) erreichte mit *M. salina* im geschlossenen Flachplatten-Photobioreaktor im Labormaßstab bei Stickstofflimitierung einen nochmals höheren Lipidgehalt von bis zu 60%. Dieser maximale Lipidgehalt wurde sowohl bei konstanter Beleuchtung als auch bei Simulation des spanischen Sommertages erzielt. Eine Maßstabsübertragung dieser Prozesse in den offenen Flachgerinnereaktor führte jedoch zu deutlich reduzierten maximalen Lipidgehalten von 45% bei konstanter Bestrahlung beziehungsweise 27% bei Simulation des spanischen Sommertages. Als Ursache für die verringerte Lipidakkumulation wurde ein negativer Einfluss der in offenen Reaktoren unvermeidbaren Kontaminationen angenommen (Pfaffinger, 2017). Auch Přebyl et al. (2012) beobachteten mit *Chlorella vulgaris* eine Reduktion des maximalen Lipidanteils von 57% im geschlossenen Labormaßstab zu 30% im offenen Flachgerinnereaktor. Ein negativer Einfluss auf die Lipidakkumulation in offenen Photobioreaktoren – durch Kontaminationen oder beispielsweise auch die im Gegensatz zum geschlossenen Laborreaktor unkontrollierte Temperatur der Suspension – scheint daher wahrscheinlich.

Aufgrund der niedrigeren Biomasseproduktivität war die Lipidproduktivität bei Stickstofflimitierung insgesamt geringer als bei nicht-nährstofflimitiertem Wachstum. Dies legt die Schlussfolgerung nahe, dass sich eine hohe Biomasseproduktivität (bei ausreichender Nährstoffversorgung) und ein hoher Lipidanteil (bei Stickstofflimitierung) gegenseitig ausschließen – eine Beobachtung, die auch in der Literatur mehrfach beschrieben wurde (Sheehan et al., 1998; Přebyl et al., 2012; Adams et al., 2013; Zienkiewicz et al., 2016).

Allerdings bietet die Lipidproduktion bei Stickstofflimitierung zusätzliche Vorteile: Sowohl der deutlich erhöhte Lipidanteil als auch der erhöhte Kohlenhydratanteil sind bei der Umsetzung der Biomasse zu Biokraftstoffen vorteilhaft, da dies den Produktanteil in der geernteten Biomasse erhöht und so die Aufarbeitungskosten senkt. Außerdem akkumulieren Lipide unter stickstofflimitierten Wachstumsbedingungen hauptsächlich in Form der apolaren Triacylglyceride, die den effizientesten Ausgangsstoff zur Produktion von Flüssigkraftstoffen darstellen (Hu et al., 2008; Bondioli et al., 2012; Du und Benning, 2016). C-C-Doppelbindungen in den Fettsäuren verstärken die Anfälligkeit für Oxidation, weshalb diese bei der Umsetzung zum Biokraftstoff mit Wasserstoff gesättigt werden müssen (Chisti, 2007). Der erhöhte Sättigungsgrad des Fettsäureprofils bei Stickstofflimitierung reduziert daher den Wasserstoffverbrauch bei der Hydrierung. Ebenso ist der geringe Proteingehalt der stickstofflimitierten Biomasse vorteilhaft, da so der Anteil an Heteroatomen, vor allem an Stickstoff und Schwefel, geringer ist, die zu Katalysatorvergiftungen bei der Transesterifikation oder Hydroprozessierung führen und zuvor entfernt werden müssen (Du et al., 2012; Elliott, 2016; Shakya et al., 2018). Die Stickstofflimitierung verringerte daher zwar die Gesamtlipidproduktivität, führte jedoch im Hinblick auf die Produktion von Biokraftstoffen zu einer Qualitätssteigerung der Biomasse. Außerdem betrug der Verbrauch an Stickstoff, Phosphat, Eisen, EDTA und Spurenelementen weniger als 5% des Nährstoffverbrauchs des unlimitierten Satzprozesses, was nicht nur Kosteneinsparungen in der Mediumherstellung bedeutet, sondern auch einen positiven Einfluss auf die ökologische Bilanz des Prozesses hat, die zu einem erheblichen Teil vom Stickstoffdünger abhängt (Lardon et al., 2009; Collet et al., 2014).

Dem Autor ist nur ein berichteter Fall einer Mikroalgenkultivierung im Pilotmaßstab bei realen Klimabedingungen bekannt, bei dem durch Stickstofflimitierung gegenüber nicht-nährstofflimitiertem Wachstum eine gesteigerte Lipidproduktivität erreicht wurde (Rodolfi et al., 2009). Dabei wurde mit *Nannochloropsis* sp. in einem geschlossenen Flachplattenreaktorsystem (110 L) unter freiem Himmel allerdings nur für eine Dauer von 3 Tagen eine maximale Lipidproduktivität von $0,2 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ erzielt. Přibyl et al. (2012) erreichten mit *Chlorella vulgaris* in einem Flachgerinnereaktor ($13,2 \text{ m}^2$) im Gewächshaus eine maximale Lipidkonzentration von $1,7 \text{ g L}^{-1}$ bei einer Gesamtproduktivität von $0,21 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und einem Lipidanteil von 30%. In Raceway Ponds wurden mit *Nannochloropsis* und weiteren

Mikroalpengattungen flächenbezogene Lipidproduktivitäten von bis zu $2 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ und Lipidanteile von 20–45% erzielt (Boussiba et al., 1987; Raes et al., 2014; San Pedro et al., 2015; Millán-Oropeza und Fernández-Linares, 2017). Während die Flächenproduktivität in Raceway Ponds daher etwa mit den im Flachgerinnereaktor erzielten Ergebnissen vergleichbar ist, lagen die volumetrischen Lipidproduktivitäten in Raceway Ponds jedoch wegen des niedrigen Oberfläche-zu-Volumen Verhältnisses stets unter $0,1 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und damit mindestens um den Faktor 10 niedriger. Die in dieser Arbeit durch Stickstofflimitierung im Flachgerinnereaktor erreichte Lipidkonzentration und -produktivität gehören im Literaturvergleich folglich zu den höchsten in Mikroalgenprozessen unter realen Klimabedingungen berichteten Werten. Lipidkonzentrationen von mehr als 2 g L^{-1} wurden bislang nur in geschlossenen Photobioreaktoren unter kontrollierten Laborbedingungen erzielt (Li et al., 2011; Přibyl et al., 2012; Janssen et al., 2018).

6.1.2 Einfluss der initialen Stickstoffkonzentration auf die Lipidbildung

Das vorangegangene Kapitel 6.1.1 hat gezeigt, dass mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor hohe Lipidkonzentrationen und -produktivitäten erreicht werden können. Dabei stellt der Einsatz einer Stickstofflimitierung einen zweiphasigen Satzprozess dar, bestehend aus einer unlimitierten Phase zur initialen Biomasseproduktion, gefolgt von einer stickstofflimitierten Phase zur Lipidakkumulation. Es ist einerseits zu erwarten, dass die Lipidproduktivität in der stickstofflimitierten Phase positiv mit der Zelldichte am Ende der Wachstumsphase korreliert, wenn mehr Zellen vorhanden sind, die Lipide akkumulieren können. Andererseits nimmt die in der Zellsuspension verfügbare Lichtintensität mit steigender Zelldichte ab, was sich möglicherweise negativ auf die Lipidakkumulation auswirkt. Daher wurde in zwei weiteren Satzprozessen untersucht, wie sich eine 4-fache (ASW und 3-fach konzentrierte Nährstofflösung) und 6-fache Nährstoffmenge (ASW und 5-fach konzentrierte Nährstofflösung) im Vergleich zum Satzprozess mit 2-fach-ASW-Medium (ASW und einfach konzentrierte Nährstofflösung, Abschnitt 6.1.1) auf Wachstum und Lipidbildung von *M. salina* auswirken. Dies entsprach jeweils einer Harnstoffkonzentration von insgesamt $0,6 \text{ g L}^{-1}$, $1,2 \text{ g L}^{-1}$ und $1,8 \text{ g L}^{-1}$.

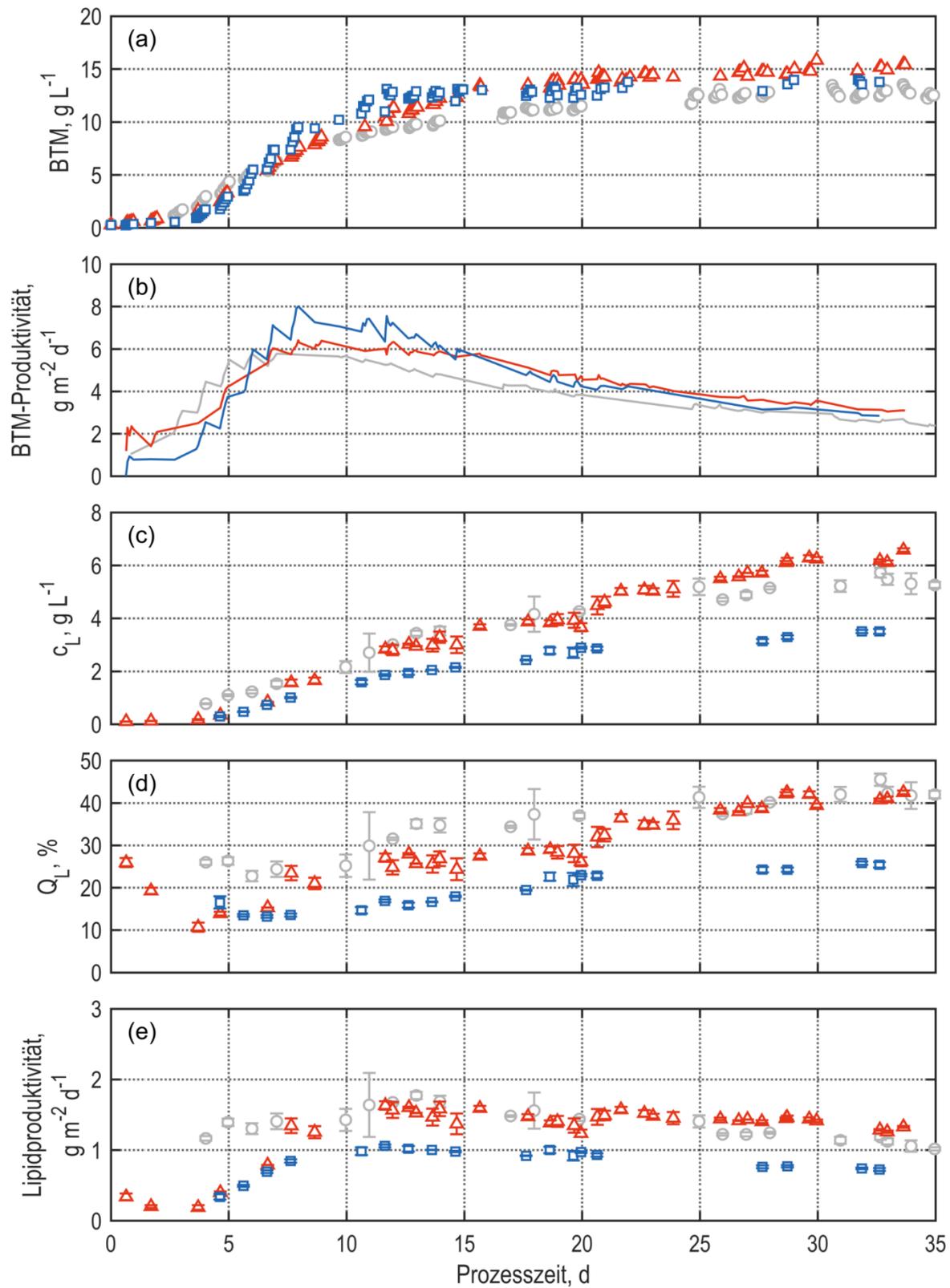


Abbildung 6.3. Satzprozesse mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor bei physikalischer Simulation des spanischen Sommertages. Zeitliche Verläufe der (a) Biotrockenmassekonzentration (BTM), (b) flächenbezogenen Biomasseproduktivität, (c) Lipidkonzentration c_L , (d) des Lipidanteils in Trockenmasse Q_L und (e) der flächenbezogenen Lipidproduktivität mit 2-facher (\circ , ---), 4-facher (\triangle , ---) und 6-facher (\square , ---) Nährstoffkonzentration.

Bei 2-, 4- und 6-facher Nährstoffmenge war der vorgelegte Harnstoff jeweils nach 5, 7 und 7,9 Tagen verbraucht, wobei BTM-Konzentrationen von $3,7 \text{ g L}^{-1}$, $6,4 \text{ g L}^{-1}$ und $9,5 \text{ g L}^{-1}$ zum Ende der ersten Prozessphase erreicht wurden. Die spezifischen Wachstumsraten in der exponentiellen Wachstumsphase betragen $0,50 \pm 0,04 \text{ d}^{-1}$, $0,45 \pm 0,07 \text{ d}^{-1}$ und $0,57 \pm 0,08 \text{ d}^{-1}$. Trotz der unterschiedlichen initialen Nährstoffversorgung erreichten die Prozesse jedoch ähnliche finale BTM-Konzentrationen zwischen $12,5 \text{ g L}^{-1}$ und $15,4 \text{ g L}^{-1}$ und Gesamtbiomasseproduktivitäten zwischen $2,4 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ und $3,1 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Abbildung 6.3).

Im Hinblick auf die Lipidakkumulation zeigten sich jedoch deutliche Unterschiede. Die Verdopplung der vorgelegten Nährstoffmenge vom 2-fach zum 4-fach Medium führte zu einer um 16% erhöhten maximalen Lipidkonzentration von $6,6 \text{ g L}^{-1}$ bei einer Gesamtlipidproduktivität von $1,3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,19 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Dabei wurde von Tag 5 bis Tag 12 eine maximale Tageslipidproduktivität von $2,4 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,35 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) erreicht. Der maximale Lipidanteil in Biotrockenmasse reduzierte sich jedoch auf 42,5%. Ein anderes Bild zeigte sich bei Verdreifachung der vorgelegten Nährstoffmenge auf ein 6-fach Medium: Hier wurde eine geringere maximale Lipidkonzentration von nur $3,5 \text{ g L}^{-1}$ bei einem Lipidanteil von 25,8% erzielt. Entsprechend reduzierte sich auch die maximale Tageslipidproduktivität auf $1,5 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ und die finale Gesamtlipidproduktivität auf $0,7 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$.

Eine Übersicht über die wichtigsten Leistungsparameter aller vier Satzprozesse aus den Abschnitten 6.1.1 und 6.1.2 ist in Tabelle 6.3 gezeigt.

Tabelle 6.3. Finale Biomasseproduktivität P_{BTM} , maximale Lipidkonzentration c_{L} , maximaler Lipidanteil Q_{L} , maximale Tageslipidproduktivität $P_{\text{L,max}}$, und finale Gesamtlipidproduktivität $P_{\text{L,ges}}$ in Satzprozessen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor unter nicht-nährstofflimitierten und stickstofflimitierten Bedingungen bei unterschiedlichen initialen Nährstoffmengen.

Gesamtnährstoffkonzentration	$P_{\text{BTM}}, \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($\text{g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	$c_{\text{L}}, \text{ g L}^{-1}$	$Q_{\text{L}}, \%$	$P_{\text{L,max}}, \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($\text{g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	$P_{\text{L,ges}}, \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($\text{g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$)
41x (unlimitiert)	14,2 (2,06)	5,4	16,6	3,3 (0,48)	1,9 (0,28)
2x	2,4 (0,32)	5,7	45,5	2,1 (0,31)	1,0 (0,15)
4x	3,1 (0,45)	6,6	42,5	2,4 (0,35)	1,3 (0,19)
6x	2,9 (0,41)	3,5	25,8	1,5 (0,22)	0,7 (0,11)

Diskussion

Beide Satzprozesse mit erhöhter Nährstoffkonzentration unterschieden sich in ihrer spezifischen Wachstumsrate nicht signifikant auf Basis der 95%-Konfidenzintervalle vom vorherigen Satzprozess mit 2-fach konzentriertem ASW-Medium. Allerdings erhöhte sich die Dauer der exponentiellen Wachstumsphase um je einen beziehungsweise 2 Tage auf eine Dauer von 5 beziehungsweise 6 Tagen, was zu entsprechend höheren Biomassekonzentrationen am Ende der ersten, nicht-nährstofflimitierten Satzphase führte.

Bei Verdopplung der eingesetzten Nährstoffmenge auf ein 4-fach Medium wurde zunächst eine um 27% erhöhte Gesamtlipidproduktivität und eine Steigerung der maximalen Lipidkonzentration um 16% von 5,7 g L⁻¹ auf 6,6 g L⁻¹ erreicht. Die Ursache hierfür liegt vermutlich in der höheren Biomassekonzentration am Ende der ersten Satzphase, so dass mehr Zellen Lipide akkumulieren konnten. Wie schon der Prozess mit 2-fach konzentriertem Medium gehört dieser im Literaturvergleich damit zu den produktivsten phototrophen Lipidbildungsprozessen unter realen Klimabedingungen und erreichte die bislang höchste beschriebene Lipidkonzentration (siehe auch Diskussion in Abschnitt 6.1.1). Allerdings war der maximale Lipidanteil in Biotrockenmasse leicht reduziert, was auf die geringere Lichtverfügbarkeit bei höheren Zelldichten zurückzuführen sein könnte.

Eine weitere Steigerung der Nährstoffmenge auf ein 6-fach konzentriertes Medium führte im Vergleich zum 2-fach Medium hingegen zu einer niedrigeren Lipidproduktivität und einem deutlich reduzierten Lipidanteil. Obwohl dieser Prozess in den ersten 14 Tagen die höchste Biomasseproduktivität aufwies, führte die geringere Lipidakkumulation sogar zu einer niedrigeren finalen BTM-Konzentration als der Prozess mit 4-fach Medium.

Auch in der Literatur wird ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Bestrahlungsstärke und der Lipidakkumulation beschrieben. Janssen et al. (2018) untersuchten mit *Microchloropsis gaditana* im Flachplattenphotobioreaktor unter Laborbedingungen unterschiedliche biomassespezifische Photonenflussdichten während der stickstofflimitierten Satzphase, indem sie bei gleichbleibender Eingangsbestrahlung die Zelldichte zu Beginn der Stickstofflimitierung variierten. Dabei zeigte sich, dass der maximale Anteil an Triacylglyceriden bei einer Senkung der biomassespezifischen Photonenflussdichte von etwa 38% auf etwa 18% abnahm. Gleichzeitig nahm jedoch der Anteil polarer Lipide von etwa 5% auf etwa 13% zu. Die höchste TAG-Konzentration und Produktivität wurde bei mittlerer

biomassespezifischer Photonenflussdichte erzielt. Ebenso führten höhere Bestrahlungsstärken bei den Spezies *Neochloris oleoabundans* und *Nannochloropsis* sp. zu höheren Lipidanteilen und -produktivitäten in geschlossenen Photobioreaktoren unter Laborbedingungen (Rodolfi et al., 2009; Klok et al., 2013). Zudem bilden Mikroalgen bei hohen Lichtintensitäten vermehrt gesättigte TAG, während niedrige Lichtintensitäten die Synthese polarer und ungesättigter Lipide, vor allem Membranlipide, fördern (Hu et al., 2008; Sharma et al., 2012), die sich weniger effizient zu Biokraftstoffen umsetzen lassen.

6.2 Kontinuierliche Lipidproduktion

Mit dem Ziel einer weiteren Steigerung der Lipidproduktivität wurde die Möglichkeit eines kontinuierlichen Verfahrens mit *Microchloropsis salina* im Flachgerinnereaktor evaluiert. Während Satzprozesse üblicherweise bei sehr niedrigen oder sehr hohen Biomassekonzentrationen Phasen niedriger Produktivität aufweisen, können kontinuierliche Prozesse im Idealfall über lange Zeiträume in stabilen Fließgleichgewichtszuständen bei hoher Produktivität betrieben werden. Zudem bieten sie häufig wirtschaftliche Vorteile, da im kontinuierlichen Betrieb Totzeiten zwischen Prozessen reduziert und die nachfolgenden Anlagen zur Produktaufarbeitung optimal ausgelastet werden können.

Das in Abschnitt 6.1 beschriebene zweiphasige Satzverfahren zur Lipidproduktion – bestehend aus einer unlimitierten ersten Phase zur Biomassebildung gefolgt von einer stickstofflimitierten zweiten Phase zur Lipidakkumulation – wurde daher in eine kontinuierlich betriebene zweistufige Reaktorkaskade transferiert. Hierbei wurde ein erster Flachgerinnereaktor tagsüber kontinuierlich mit frischem Medium versorgt und diente so der Biomasseproduktion. Der Ablauf des ersten Reaktors diente einem zweiten Flachgerinnereaktor als Zulauf. Um die Durchflussraten beider Reaktoren zu entkoppeln, wurde zwischen dem Ablauf des ersten Reaktors und dem Zulauf des zweiten Reaktors ein 50 mL-Zwischengefäß mit Überlauf eingesetzt. Die kontinuierliche Nährstoffzufuhr des ersten Reaktors wurde so gewählt, dass der Harnstoff bereits im ersten Reaktor größtenteils verbraucht wurde, so dass im zweiten Reaktor die Lipidakkumulation durch Stickstofflimitierung induziert werden sollte. Basierend auf den Untersuchungen zur Lipidproduktion in Satzprozessen wurde für den ersten Reaktor ein ASW-Medium mit 4-facher Nährstoffkonzentration (ASW + 3-fach konzentrierte Nährstofflösung) mit einer Harnstoffkonzentration von insgesamt $1,2 \text{ g L}^{-1}$ sowohl als initial

vorgelegtes Medium als auch als Zulauf verwendet. Der kontinuierliche Betrieb startete nach einer vorgeschalteten Satzphase in beiden Reaktoren gleichzeitig, sobald im ersten Reaktor eine BTM-Konzentration von etwa 7 g L^{-1} erreicht war (Abbildung 6.4). Im zweiten Reaktor wurde ein ASW-Medium mit nur 2-facher Nährstoffkonzentration vorgelegt, um die Lipidakkumulation bereits am Ende der Satzphase zu induzieren. Um während des kontinuierlichen Betriebs trotz der im Tagesrhythmus stark schwankenden Lichtintensität eine stabile Zelldichte zu gewährleisten, wurde der erste Reaktor als Turbidostat bei einer Soll- OD_{750} von 18,5 betrieben, was einer BTM-Konzentration von $6,6 \text{ g L}^{-1}$ und etwa der Zelldichte am Ende der Wachstumsphase des Satzprozesses mit gleicher Nährstoffkonzentration entsprach. Der zweite Reaktor hingegen wurde chemostatisch mit einer konstanten Durchflussrate von $0,067 \text{ d}^{-1}$ betrieben, um eine ausreichend lange hydraulische Verweilzeit von 15 Tagen zur Lipidakkumulation zu erzielen.

Die spezifische Wachstumsrate in den ersten 4 Tagen der Satzphase betrug im ersten und zweiten Reaktor jeweils $0,58 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$ und $0,43 \pm 0,10 \text{ d}^{-1}$. Am Ende der Satzphase nach 5,7 Tagen waren aufgrund der unterschiedlichen vorgelegten Nährstoffmengen BTM-Konzentrationen von $7,7 \text{ g L}^{-1}$ und $5,6 \text{ g L}^{-1}$ erreicht. Der Lipidanteil lag in beiden Reaktoren zu diesem Zeitpunkt bereits leicht erhöht bei 23,7%. Im ersten, turbidostatisch betriebenen Reaktor stellte sich einen Tag nach Beginn des kontinuierlichen Betriebs eine stabile Zelldichte von $6,4 \pm 0,4 \text{ g L}^{-1}$ ein. Dabei wurden die über den Zulauf zugeführten Nährstoffe wie erwartet größtenteils verbraucht, so dass die Harnstoffkonzentration im ersten Reaktor während der gesamten kontinuierlichen Phase bei $0,00\text{--}0,32 \text{ g L}^{-1}$ lag. Im zweiten Reaktor betrug die Harnstoffkonzentration hingegen stets weniger als $0,05 \text{ g L}^{-1}$. In Folge dieser Stickstofflimitierung stieg die Lipidkonzentration und der Lipidanteil von stationären $1,2 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ und $19,4 \pm 2,6\%$ im ersten Reaktor auf bis zu $3,5 \text{ g L}^{-1}$ und 34,0% im zweiten Reaktor an. Im zweiten Reaktor stellte sich bereits nach 16 Tagen kontinuierlichen Betriebs – nach also 1,07 mittleren hydraulischen Verweilzeiten – eine stabile Lipidkonzentration von $3,0 \text{ g L}^{-1}$ bei einem Lipidanteil von 29,9% und einer Zelldichte von $10,7 \text{ g L}^{-1}$ ein. Die Gesamtlipidproduktivität des zweiten Reaktors lag während des kontinuierlichen Betriebs bei $1,3\text{--}1,7 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,19\text{--}0,25 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Wie bereits im Vergleich zwischen limitierten und unlimitierten Satzprozessen beobachtet wurde, war die Lipidproduktivität des zweiten Reaktors aufgrund der niedrigeren Biomasseproduktivität somit geringer als im ersten Reaktor.

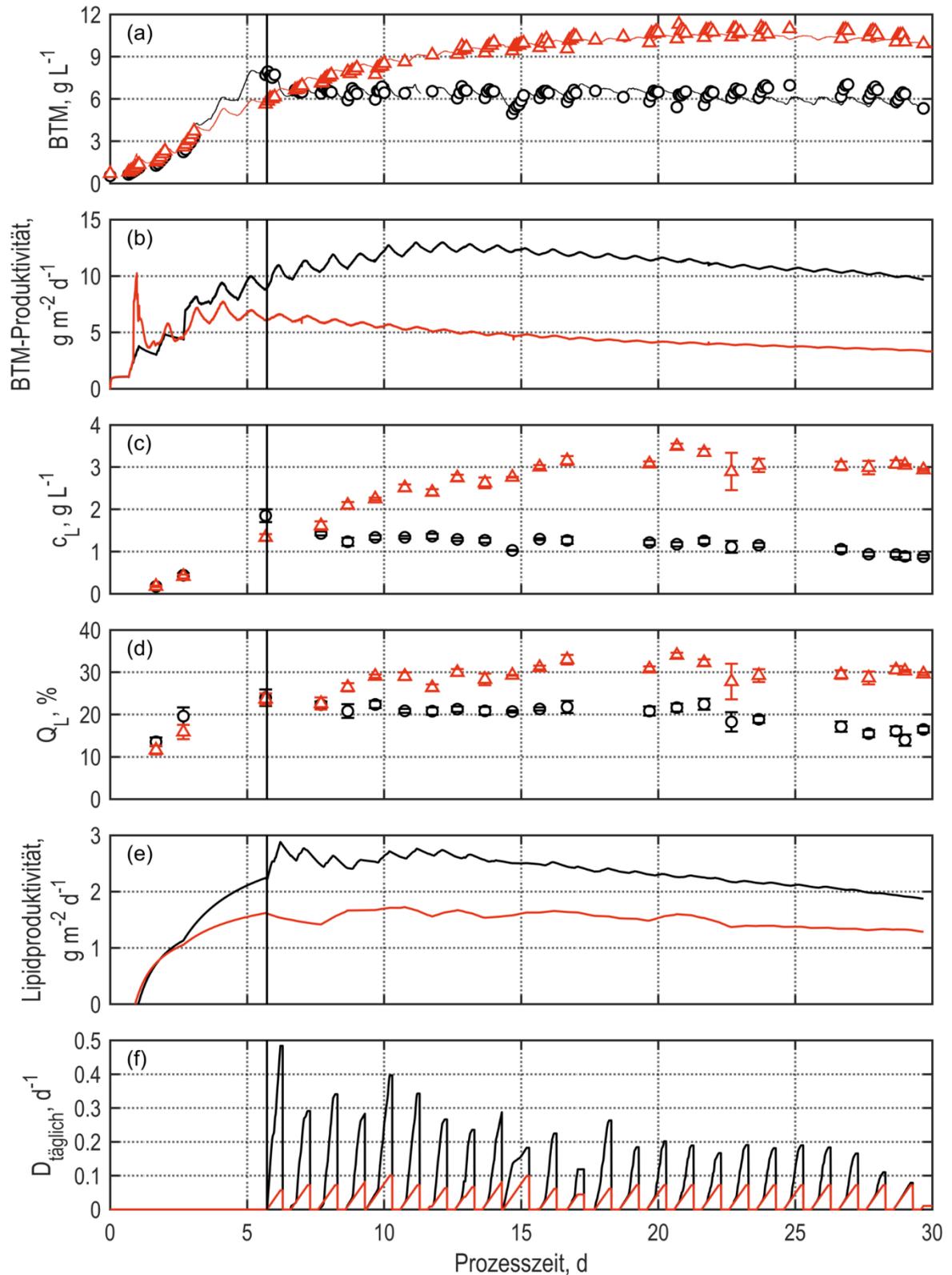


Abbildung 6.4. Kontinuierlicher Prozess mit *M. salina* in einer Kaskade zweier Flachgerinnereaktoren unter physikalischer Simulation des spanischen Sommertages. Der erste Reaktor (o, —) wurde als Turbidostat bei $6,6 \text{ g L}^{-1}$ Biotrockenmasse betrieben. Der zweite Reaktor (Δ , —) wurde chemostatisch bei einer hydraulischen Verweilzeit von 15 Tagen betrieben. Zeitliche Verläufe der (a) Biotrockenmassekonzentration (BTM), (b) flächenbezogenen Biomasseproduktivität, (c) Lipidkonzentration c_L , (d) des Lipidanteils in Trockenmasse Q_L , (e) der flächenbezogenen Lipidproduktivität und (f) der täglichen Durchflussrate $D_{\text{täglich}}$. Die Vertikale markiert den Beginn des kontinuierlichen Betriebs nach 5,7 Tagen.

Die mittlere Durchflussrate im turbidostatisch betriebenen ersten Reaktor betrug $0,23 \text{ d}^{-1}$, wobei die Durchflussrate mit zunehmender Prozessdauer abnahm. Damit lieferte der erste Reaktor im Durchschnitt fast das 3,5-fache des Volumens, das der zweite Reaktor als Zulauf aufnahm. Wegen der im Vergleich zur Lipidakkumulation deutlich schnelleren Biomassebildung könnte der zweite Reaktor der Kaskade in einem Prozess im industriellen Maßstab daher ein Vielfaches der Fläche des ersten Reaktors einnehmen, um etwa gleiche Volumenströme in beiden Reaktoren zu erreichen und die Flächenproduktivität der Gesamtkaskade zu optimieren. Zur Berechnung der Produktivität der Gesamtkaskade wurde daher nur derjenige Anteil der Fläche des ersten Reaktors berücksichtigt, der zur Versorgung des zweiten Reaktors notwendig war. Daraus ergab sich nach einer Prozessdauer von 30 Tagen eine Gesamtlipidproduktivität von $1,4 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,20 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$).

Diskussion

Das zweiphasige Satzverfahren aus einer nicht-nährstofflimitierten Wachstumsphase und einer stickstofflimitierten Lipidbildungsphase wurde erfolgreich in eine kontinuierliche zweistufige Reaktorkaskade übertragen. Um den Eintrag von Stickstoff in den zweiten Reaktor gering zu halten, wurde schon der erste Reaktor bei einer schwach limitierenden Harnstoffkonzentration betrieben. Dies führte im Vergleich zum unlimitierten Satzprozess zu einer geringeren Biomasseproduktivität bei einem leicht erhöhten Lipidanteil. Die tägliche Durchflussrate und damit auch die Biomasseproduktivität des ersten Reaktors nahm jedoch mit zunehmender Prozessdauer ab. Eine mögliche Ursache hierfür war ein aufgrund der schwachen Stickstofflimitierung instabiler Betriebspunkt: Liegt die optische Dichte unterhalb ihres Sollwertes, so reagiert der Turbidostat mit einer Reduktion der Durchflussrate. Dies führt jedoch zu einem geringeren Nährstoffeintrag, was die Stickstofflimitierung verstärkt und in einer Abnahme der Wachstumsrate und weiteren Reduktion der Durchflussrate resultiert. Darüber hinaus verursachte die automatisierte Steuerung der Peristaltikpumpen in der ersten Prozesshälfte gelegentlich Fehler, so dass die Pumpen beispielsweise in der Nacht vom 14. auf den 15. Prozesstag nicht abgeschaltet wurden, was zum teilweisen Auswaschen von Biomasse führte. In der zweiten Prozesshälfte wurde die Ursache für die Steuerungsfehler behoben. Mit einer chemostatischen Betriebsweise könnten diese Probleme umgangen werden. Allerdings erfordert dies die Abschätzung einer konstanten Durchflussrate, bei der sich ein geeigneter Fließgleichgewichtszustand einstellt.

Obwohl die hydraulische Bedingung von 3 Verweilzeiten für einen 95%-igen Austausch des Reaktionsvolumens für den zweiten Reaktor nicht gegeben war, stellte sich bereits 15 Tage (eine Verweilzeit) nachdem im ersten Reaktor eine konstante Zelldichte erreicht war, eine konstante BTM- und Lipidkonzentration im zweiten Reaktor ein. Die hydraulische Verweilzeit der Gesamtkaskade betrug durchschnittlich 19,3 Tage. Im Satzverfahren mit identischer Nährstoffkonzentration war nach 19,3 Tagen ein Lipidanteil in BTM von $28,4 \pm 1,5\%$ erreicht, was gut mit dem hier erzielten stabilen Wert von 29,9% übereinstimmt. Allerdings lagen die BTM- und Lipidkonzentration im kontinuierlichen Prozess um 23,0% und 24,3% niedriger als im Satzprozess zu diesem Zeitpunkt. Folglich waren die Biomasse- und Lipidbildung während der Stickstofflimitierung im kontinuierlichen Verfahren langsamer. Die Ursache hierfür war nicht ersichtlich. Die Lipidproduktivität der Gesamtkaskade war daher mit $1,4 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,20 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) nur unwesentlich höher als im Satzprozess mit $1,3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,19 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$).

In einem vergleichbaren Verfahren mit einer kontinuierlichen Kaskade aus 4 Flachplatten-Photobioreaktoren im Labormaßstab bei konstanten Klimabedingungen erzielten Sung et al. (2017) mit *Microchloropsis gaditana* eine Lipidproduktivität von $0,01 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ bei einer Lipidkonzentration von $0,31 \text{ g L}^{-1}$ und einem Lipidanteil in BTM von 28,0%. Mit *Nannochloropsis* sp. wurden im semikontinuierlichen Verfahren in Flachplatten-Photobioreaktoren unter freiem Himmel in einem 7-tägigen Prozess $0,11 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ Lipide produziert, wobei ein Lipidanteil in BTM von bis zu 68,5% erreicht wurde (keine BTM- oder Lipidkonzentration publiziert) (Bondioli et al., 2012). Kostengünstigere Raceway Ponds mit einer geringen Schichttiefe von 11 cm erzielten mit *Microchloropsis gaditana* eine kontinuierliche Lipidproduktivität von $0,03 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ($3,3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) bei einem Lipidanteil von etwa 20% (San Pedro et al., 2015). Das in dieser Arbeit durchgeführte Verfahren zur kontinuierlichen Lipidproduktion mit *M. salina* in einer zweistufigen Kaskade von Flachgerinnereaktoren lieferte folglich eine deutlich höhere volumetrische Lipidproduktivität bei höheren Lipidkonzentrationen als vergleichbare (semi-) kontinuierliche Prozesse in der Literatur. Lediglich die flächenbezogene Lipidproduktivität fiel in Raceway Ponds höher aus, wobei jedoch nur geringe Lipidanteile erreicht wurden.

6.3 Simulation von Mikroalgenprozessen mit *Microchloropsis salina* im Flachgerinnereaktor

Die Entwicklung und Maßstabsvergrößerung phototropher Mikroalgenprozesse ist wegen der langsamen Wachstums- und Produktbildungsraten um ein Vielfaches zeit- und damit kostenintensiver als vergleichbare Prozesse mit heterotrophen Mikroorganismen. Im Gegensatz zur Kultivierung heterotropher Mikroorganismen in Rührkesselreaktoren ist auch eine Miniaturisierung zum vielfach-parallelisierten Betrieb von Photobioreaktoren bislang nicht realisiert worden. Experimente in offenen Photobioreaktoren sind zudem entweder wetterabhängig oder erfordern den kostspieligen Betrieb von Klimaanlage und Beleuchtungssystemen, wie es im Algentechnikum der Fall ist. Die rechnergestützte Simulation von Mikroalgenprozessen mit Hilfe mathematischer Modelle bietet daher eine alternative Möglichkeit, den experimentellen Aufwand zu reduzieren und die Prozessentwicklung zu beschleunigen. Bevor die modellgestützte Maßstabsvergrößerung der zweistufigen Reaktorkaskade zur kontinuierlichen Lipidproduktion im 50 m² Reaktor erfolgte, sollten somit zunächst geeignete Betriebsparameter über Simulationen identifiziert werden.

6.3.1 Identifikation von Modellparametern

In diesem Abschnitt erfolgt zunächst die Identifikation der kinetischen Parameter sowie die Validierung des in Abschnitt 4.8 erläuterten Modellansatzes zur Simulation von Wachstum und Lipidbildung von *Microchloropsis salina* im Flachgerinnereaktor bei den dynamischen Klimabedingungen des gewählten spanischen Sommertages. Dazu werden experimentelle Daten nährstofflimitierter und -unlimitierter Satzprozesse sowie Fließgleichgewichtszustände kontinuierlicher Prozesse, die nicht zuvor zur Parameteridentifikation genutzt wurden, mit entsprechenden Simulationen verglichen. Als Stickstoffquelle wurde in allen Experimenten Harnstoff verwendet.

Wachstumskinetik

Der spezifische Extinktionskoeffizient $\varepsilon = 0,925 \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, der zur Modellierung des Absorptionsverhaltens und damit der integralen Photonenflussdichte I^* in der Mikroalgen-suspension notwendig ist, wurde bereits von Pfaffinger et al. (2019) mit *M. salina* unter

physikalischer Simulation des spanischen Sommertages bestimmt. Zur Ermittlung der lichtabhängigen Wachstumskinetik wurden 4 nicht-nährstofflimitierte Satzprozesse in Flachgerinnereaktoren mit 8 m² Grundfläche durchgeführt. Bei ausreichend hohen Harnstoffkonzentrationen ($c_N \gg K_N$) kann eine Limitierung durch Harnstoff vernachlässigt und Gleichung (4.12) wie folgt vereinfacht werden:

$$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{I^*}{K_S + I^* + I^* \cdot \left(\frac{I^*}{K_I}\right)^\varphi} \quad (6.1)$$

mit	μ	Spezifische Wachstumsrate, d ⁻¹
	I^*	Integrale Photonenflussdichte, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
	μ_{max}	Maximale spezifische Wachstumsrate = 3,5 d ⁻¹
	K_S	Sättigungskonstante für die Photonenflussdichte = 633 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
	K_I	Photoinhibitionskonstante = 1223 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
	φ	Sensitivitätsparameter für Photoinhibition = 12,6

Mit Hilfe der experimentell ermittelten täglichen konstanten Wachstumsraten μ und der jeweiligen mittleren integralen Photonenflussdichte I^* wurden die Parameter μ_{max} , K_S , K_I und φ mittels nichtlinearer Regression abgeschätzt (Gleichung (6.1), Abbildung 6.5).

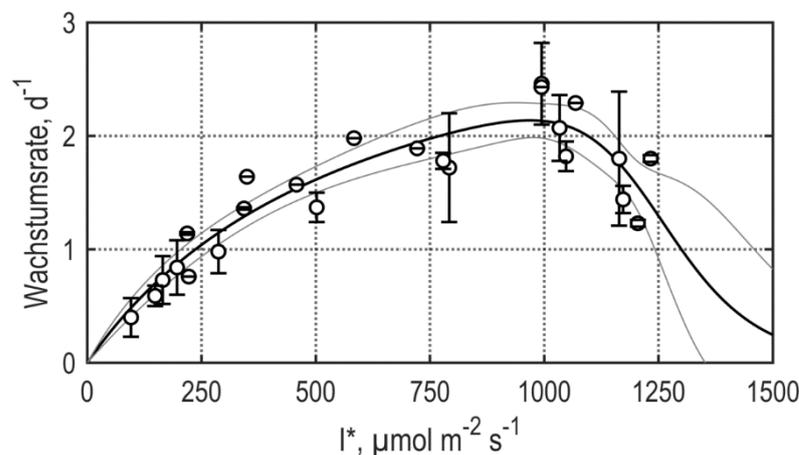


Abbildung 6.5. Tägliche Wachstumsrate (o) von *M. salina* als Funktion der integralen Photonenflussdichte I^* in 4 nicht-nährstofflimitierten Satzprozessen im Flachgerinnereaktor bei physikalischer Simulation des spanischen Sommertages. Die Modellparameter von Gleichung (6.1) wurden mittels nichtlinearer Regression identifiziert (—). Graue Linien (---) stellen das 95%-Konfidenzintervall der identifizierten Gleichung dar.

Die Sättigungskonstante für Harnstoff $K_N = 0,1 \text{ g L}^{-1}$ wurde anschließend über einen kontinuierlichen Prozess mit einer Durchflussrate von $0,3 \text{ d}^{-1}$ abgeschätzt. Dazu wurde mittels der experimentell ermittelten täglichen Wachstumsraten und der jeweiligen mittleren integralen Photonenflussdichte sowie der an diesem Tag gemessenen Harnstoffkonzentration

eine Parameterschätzung durch nichtlineare Regression (Gleichung (4.12)) unter Einsetzen der zuvor bestimmten Modellparameter zur lichtabhängigen Wachstumskinetik durchgeführt (Abbildung 6.6). Der Biomasseertragskoeffizient für Harnstoff $Y_{XN} = 4,2 \text{ g g}^{-1}$ unter unlimitierten Bedingungen wurde bereits zuvor in Satzprozessen bestimmt (siehe Kapitel 5.1.2).

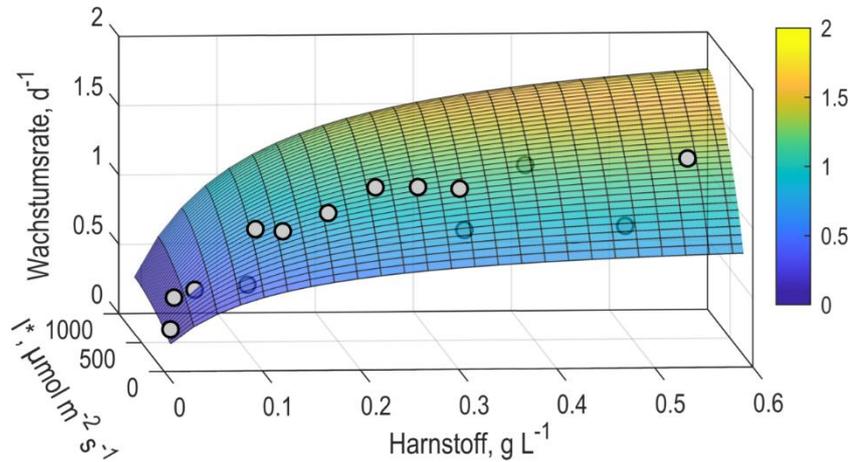


Abbildung 6.6. Tägliche Wachstumsrate (●) als Funktion der Harnstoffkonzentration und integralen Photonenflussdichte I^* im kontinuierlich betriebenen Flachgerinnereaktor bei einer Durchflussrate von $0,3 \text{ d}^{-1}$. Die Sättigungskonstante für Harnstoff K_N wurde mittels nichtlinearer Regression (Gleichung (4.12)) und Einsatz der zuvor bestimmten Modellparameter ermittelt (farbige Oberfläche).

Derselbe kontinuierliche Prozess wurde darüber hinaus verwendet, um die maximale nächtliche spezifische Biomasseverlustrate b_{max} ohne Induktion der Lipidakkumulation abzuschätzen. Hierfür wurde jeweils die nächtliche Abnahme der Zelldichte zwischen 20 Uhr und 6 Uhr mit einem OD-Sensor verfolgt und b_{max} als Mittelwert der über mehrere Nächte beobachteten Biomasseverlustrate nach Gleichung (6.2) berechnet.

$$b_{max} = \ln\left(\frac{c_{X,6h}}{c_{X,20h}}\right) \cdot (t(20h) - t(6h))^{-1} \quad (6.2)$$

mit $c_{X,20h}$ Biotrockenmassekonzentration um 20 Uhr, g L^{-1}
 $c_{X,6h}$ Biotrockenmassekonzentration um 6 Uhr am folgenden Tag, g L^{-1}
 b_{max} Maximale nächtliche spezifische Biomasseverlustrate = $0,17 \text{ d}^{-1}$

Kinetik der Lipidbildung

Der Basis-Lipidanteil $Q_{L,0} = 0,15 \text{ g g}^{-1}$ in *M. salina* wurde bereits zuvor in einem nicht-nährstofflimitierten Satzprozess bestimmt (siehe Abschnitt 6.1.1). Der höchste im Flachgerinnereaktor unter Einsatz einer Stickstofflimitierung beobachtete Lipidanteil wurde als maximaler Lipidanteil $Q_{L,max} = 0,46 \text{ g g}^{-1}$ festgelegt (siehe Abschnitt 6.1.1).

Dasselbe Experiment wurde auch verwendet, um die maximale spezifische Lipidbildungsrate sowie die maximale spezifische lipidfreie Wachstumsrate während der Lipidbildungsphase zu ermitteln. Wenn die Stickstoffquelle vollständig aufgebraucht ist, kann die Substratabhängigkeit in den Gleichungen (4.15) und (4.16) vernachlässigt werden, so dass die maximale spezifische Lipidbildungsrate $q_{L,max} = 0,08 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ anhand der ermittelten Lipidbildungsraten q_L und des jeweiligen Lipidanteils durch nichtlineare Regression abgeschätzt werden kann (Gleichung (6.3) und Abbildung 6.7).

$$q_L = q_{L,max} \cdot \left(1 - \frac{Q_L - Q_{L,0}}{Q_{L,max} - Q_{L,0}} \right) \quad (6.3)$$

- mit
- q_L Spezifische Lipidbildungsrate, d^{-1}
 - Q_L Lipidanteil in Biotrockenmasse, g g^{-1}
 - $q_{L,max}$ Maximale spezifische Lipidbildungsrate = $0,08 \text{ g g}^{-1} \text{ d}^{-1}$
 - $Q_{L,0}$ Basis-Lipidanteil ohne Lipidakkumulation = $0,15 \text{ g g}^{-1}$
 - $Q_{L,max}$ Maximaler Lipidanteil = $0,46 \text{ g g}^{-1}$

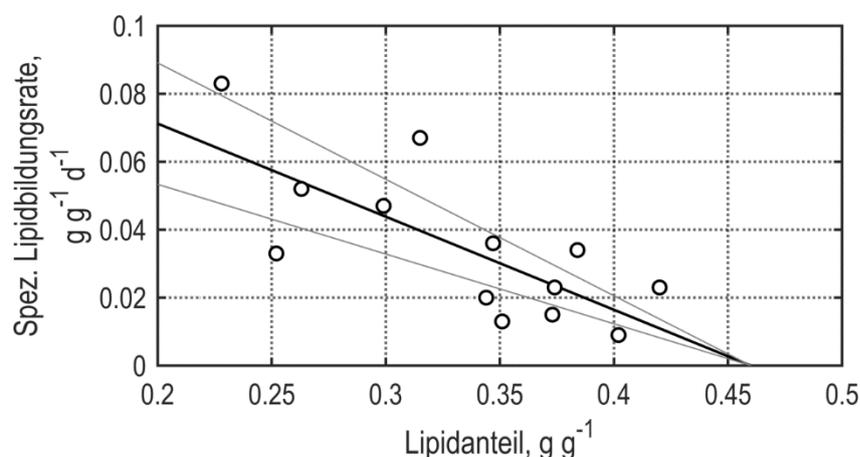


Abbildung 6.7. Spezifische Lipidbildungsrate (o) von *M. salina* als Funktion des Lipidanteils in Biotrockenmasse. Die maximale spezifische Lipidbildungsrate $q_{L,max}$ wurde mittels nichtlinearer Regression und Einsatz der zuvor bestimmten Modellparameter abgeschätzt (—, Gleichung (6.3)). Graue Linien (—) stellen das 95%-Konfidenzintervall der identifizierten Gleichung dar.

Ebenso lassen sich dann die maximale spezifische lipidfreie Wachstumsrate $\mu_{X-L,max} = 0,54 \text{ d}^{-1}$ und der minimale Stickstoffanteil in lipidfreier Biotrockenmasse $Q_{N,min} = 0,06 \text{ g g}^{-1}$ mit Hilfe der experimentell ermittelten spezifischen lipidfreien Wachstumsraten und des jeweiligen Stickstoffanteils durch nichtlineare Regression abschätzen (Gleichung (6.4) und Abbildung 6.8).

$$\mu_{X-L} = \mu_{X-L,max} \cdot \frac{Q_N - Q_{N,min}}{Q_N} \quad (6.4)$$

- mit
- μ_{X-L} Spezifische lipidfreie Wachstumsrate, d^{-1}
 - Q_N Stickstoffanteil in lipidfreier Biotrockenmasse, g g^{-1}
 - $\mu_{X-L,max}$ Maximale spezifische lipidfreie Wachstumsrate = $0,54 \text{ d}^{-1}$
 - $Q_{N,min}$ Minimaler Stickstoffanteil in lipidfreier Biotrockenmasse = $0,06 \text{ g g}^{-1}$

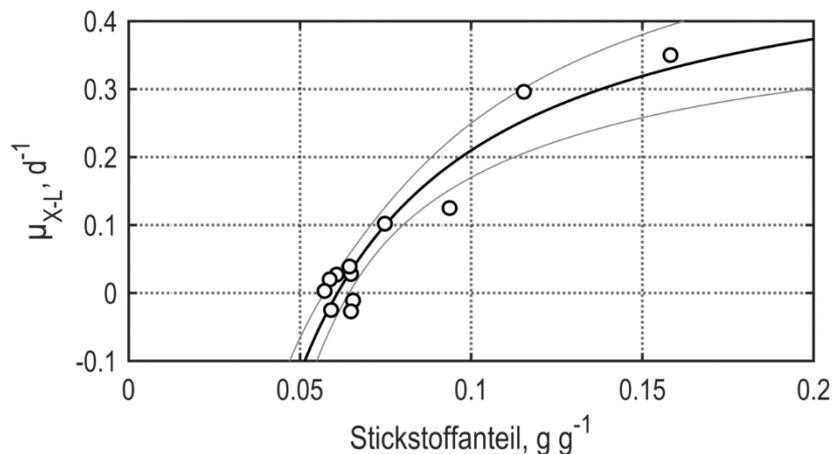


Abbildung 6.8. Spezifische lipidfreie Wachstumsrate μ_{X-L} (o) von *M. salina* als Funktion des Stickstoffanteils in lipidfreier Biotrockenmasse. Die maximale spezifische lipidfreie Wachstumsrate $\mu_{X-L,max}$ sowie der minimale Stickstoffanteil $Q_{N,min}$ wurden mittels nichtlinearer Regression abgeschätzt (—, Gleichung (6.4)). Graue Linien (—) stellen das 95%-Konfidenzintervall der identifizierten Gleichung dar.

Der Sensitivitätsparameter α für die Harnstofflimitierung moduliert die Inhibition des lipidfreien Wachstums durch das Vorhandensein einer Stickstoffquelle im Reaktionsmedium (Gleichung (4.16)). Dieser Parameter konnte jedoch nicht anhand experimenteller Daten abgeschätzt werden. Da das lipidfreie Wachstum allerdings erst nach nahezu vollständigem Verbrauch der Stickstoffquelle eintritt, also bereits bei einer geringen Konzentration der Stickstoffquelle inhibiert wird, muss $\alpha > 1$ gelten. Es wurde daher $\alpha = 2$ gewählt.

Alle ermittelten Modellparameter sind nochmals in Tabelle 6.4 zusammengefasst.

Tabelle 6.4. Identifizierte Modellparameter zur Simulation von Wachstum und Lipidbildung von *M. salina* im Flachgerinnereaktor bei physikalischer Simulation des spanischen Sommertages. Hochgestellte Buchstaben kennzeichnen Parameter, die in denselben Experimenten ermittelt wurden (a: Zusammengefasste Daten aus vier Experimenten; a': Ein Experiment aus a; b, c und d: je ein Experiment).

#	Parameter	Wert	Einheit
1	Extinktionskoeffizient ϵ	0,925	L g ⁻¹ cm ⁻¹
2 ^a	Maximale spezifische Wachstumsrate μ_{max}	3,5	d ⁻¹
3 ^a	Sättigungskonstante für die Photonenflussdichte K_S	633	μmol m ⁻² s ⁻¹
4 ^a	Photoinhibitionskonstante K_I	1223	μmol m ⁻² s ⁻¹
5 ^a	Sensitivitätsparameter für Photoinhibition φ	12,6	-
6 ^b	Sättigungskonstante für Harnstoff K_N	0,1	g L ⁻¹
7 ^{a'}	Biomasseertragskoeffizient für Harnstoff Y_{XN}	4,2	g g ⁻¹
8 ^b	Maximale nächtliche spezifische Biomasseverlustrate b_{max}	0,17	d ⁻¹
9 ^c	Maximale spezifische Lipidbildungsrate $q_{L,max}$	0,08	g g ⁻¹ d ⁻¹
10 ^c	Maximale spezifische lipidfreie Wachstumsrate $\mu_{X-L,max}$	0,54	d ⁻¹
11	Sensitivitätsparameter für Harnstofflimitierung α	2	-
12 ^{a'}	Basis-Lipidanteil in <i>M. salina</i> $Q_{L,0}$	0,15	g g ⁻¹
13 ^c	Maximaler Lipidanteil in <i>M. salina</i> $Q_{L,max}$	0,46	g g ⁻¹
14 ^c	Minimaler Stickstoffanteil in lipidfreier BTM $Q_{N,min}$	0,06	g g ⁻¹

6.3.2 Validierung des Modellansatzes in Satzprozessen

Bevor der Modellansatz zur modellgestützten Maßstabsübertragung von Mikroalgenprozessen angewandt werden konnte, erfolgte zunächst die Validierung des Modells anhand von Satzprozessen unter stickstofflimitierten wie auch -unlimitierten Wachstumsbedingungen unter physikalischer Simulation des spanischen Sommertages.

Simulation eines nicht-nährstofflimitierten Satzprozesses

Ein 14-tägiger nicht-nährstofflimitierter Satzprozess zur Biomasseproduktion wurde mit *M. salina* im 8 m² Flachgerinnereaktor durchgeführt und die experimentell beobachteten Verläufe der BTM- und Lipidkonzentration mit einer entsprechenden Simulation verglichen (Abbildung 6.9a). Das Experiment zeigte in den ersten 6 Tagen eine exponentielle Wachstumsphase mit einer spezifischen Wachstumsrate von $0,58 \pm 0,06$ d⁻¹. Die Simulation unterschied sich in diesem Zeitraum auf Basis des 95%-Konfidenzintervalls mit einer

Wachstumsrate von $0,57 \pm 0,10 \text{ d}^{-1}$ davon nicht signifikant. Nach einer Prozesszeit von 10 Tagen war eine BTM-Konzentration von $23,9 \text{ g L}^{-1}$ im Experiment und $24,1 \text{ g L}^{-1}$ in der Simulation erreicht, was einer Abweichung von nur 0,8% entsprach. Im weiteren Verlauf überstieg das simulierte Wachstum die experimentellen Daten leicht, so dass die Simulation zum Ende des Prozesses nach 14 Tagen die BTM-Konzentration mit $36,1 \text{ g L}^{-1}$ um 12,1% im Vergleich zur experimentell erzielten Konzentration von $32,2 \text{ g L}^{-1}$ überschätzte.

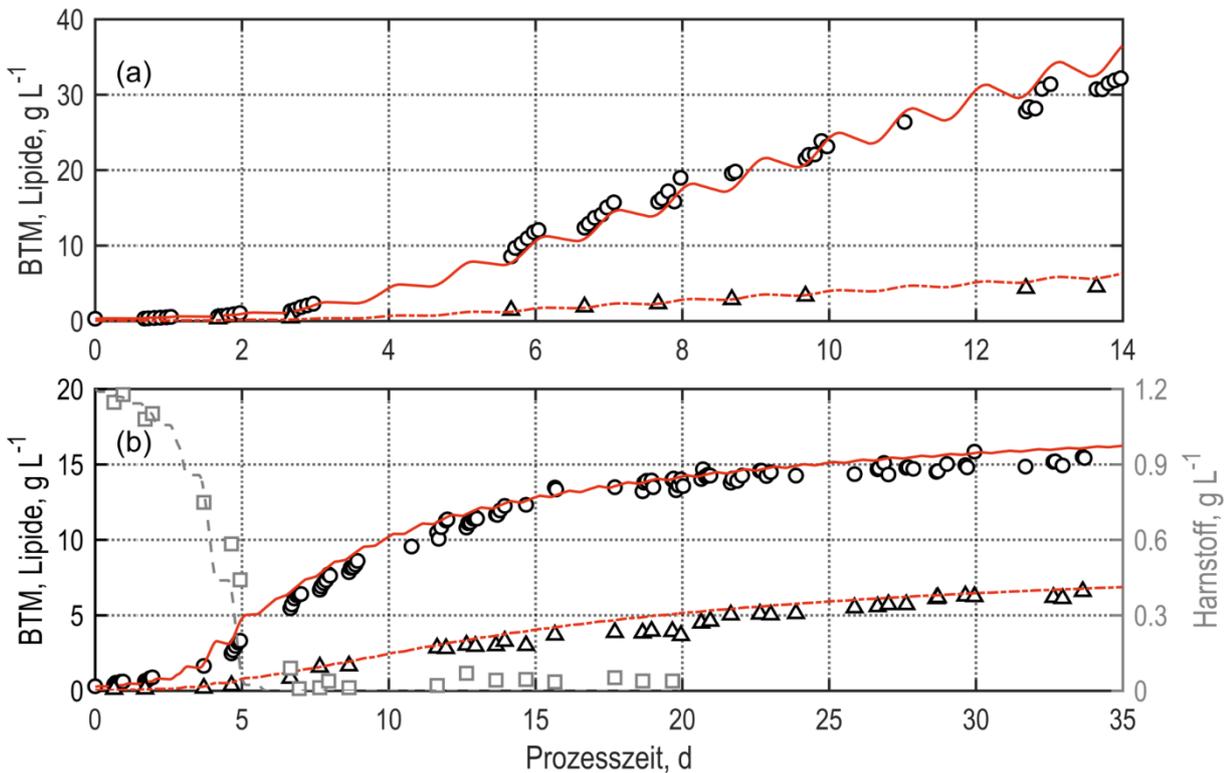


Abbildung 6.9. Satzprozesse mit *M. salina* im 8 m^2 Flachgerinnereaktor bei physikalischer Simulation des spanischen Sommertages unter (a) nicht-nährstofflimitierten und (b) stickstofflimitierten Wachstumsbedingungen. Symbole stellen die zeitlichen Verläufe der experimentell gemessenen Biotrockenmassekonzentration (BTM, ○), Lipidkonzentration (△) und Harnstoffkonzentration (□) dar. Linien zeigen die jeweiligen Simulationen der BTM-Konzentration (—), Lipidkonzentration (- -) und Harnstoffkonzentration (- -).

Da bei ausreichender Stickstoffversorgung keine Lipidakkumulation in *M. salina* induziert wurde, stieg die Lipidkonzentration im Experiment sowie in der Simulation etwa proportional zur Zelldichte an. Nach 10 Tagen waren jeweils $3,3 \text{ g L}^{-1}$ und $3,4 \text{ g L}^{-1}$ erreicht, was einer Überschätzung von 3,3% entsprach. Zum Prozessende hin stieg die Abweichung schließlich auf bis zu 23,6% an, bei einer Lipidkonzentration von $4,5 \text{ g L}^{-1}$ im Experiment und $5,6 \text{ g L}^{-1}$ in der Simulation, was auch eine Folge der überschätzten BTM-Konzentration war. Die Lipidanteile in Biotrockenmasse lagen nach 14 Tagen jeweils bei 14,7% und 17,3%.

Die durchschnittliche absolute (betragsmäßige) Abweichung der BTM- und Lipidkonzentration betrug während des gesamten Prozesses jeweils 9,4% und 9,9%.

Simulation eines stickstofflimitierten Satzprozesses

Ein zweiter Satzprozess im 8 m² Flachgerinnereaktor wurde unter stickstofflimitierten Bedingungen durchgeführt und mit einer entsprechenden Simulation verglichen, um die Kinetik der Lipidakkumulation zu validieren (Abbildung 6.9b). Zur initialen Nährstoffversorgung wurde ein 4-fach Medium (ASW und 3-fach konzentrierte Nährstofflösung) mit einer Harnstoffkonzentration von 1,2 g L⁻¹ verwendet. Die Simulation der Harnstoffaufnahme stimmte in den ersten vier Tagen des Prozesses mit einer Abnahme der Harnstoffkonzentration auf 0,6 g L⁻¹ gut mit den experimentellen Daten überein. Danach wurde die Harnstoffaufnahme etwas überschätzt, so dass der Harnstoff in der Simulation bereits zu Beginn des 6. Tages vollständig verbraucht war, während dies im Experiment erst nach 7 Tagen der Fall war.

Im Experiment wurde innerhalb der ersten 5 Tage exponentielles Wachstum mit einer spezifischen Wachstumsrate von $0,45 \pm 0,07 \text{ d}^{-1}$ beobachtet. In der Simulation dauerte die exponentielle Wachstumsphase ebenfalls 5 Tagen an. Die spezifische Wachstumsrate von $0,57 \pm 0,10 \text{ d}^{-1}$ fiel dabei zwar etwas höher aus, der Unterschied war aber auf Basis der 95%-Konfidenzintervalle nicht signifikant. Die BTM-Konzentration betrug am Ende der exponentiellen Wachstumsphase im Experiment und in der Simulation jeweils 3,3 g L⁻¹ und 4,8 g L⁻¹. Im weiteren Verlauf nahm das Wachstum in beiden Fällen aufgrund der Stickstofflimitierung zunehmend ab. Am Ende des Prozesses nach 34 Tagen prognostizierte die Simulation mit 16,1 g L⁻¹ eine um 4,6% höhere BTM-Konzentration als das Experiment mit 15,4 g L⁻¹ zeigte.

Auch der Anstieg der Lipidkonzentration verlief im Experiment und der Simulation ähnlich. Zum Prozessende waren jeweils 6,6 g L⁻¹ und 6,8 g L⁻¹ erreicht, was einer Überschätzung von 3,0% entsprach. Damit stimmte auch der Lipidanteil in Biotrockenmasse in der Simulation mit 42,1% sehr gut mit dem Experiment mit einem finalen Lipidanteil von 42,5% überein.

Im gesamten Prozessverlauf betrugen die durchschnittlichen absoluten Abweichungen der BTM- und Lipidkonzentration zwischen Experiment und Simulation jeweils 8,7% und 14,1%.

6.3.3 Validierung des Modellansatzes mit Fließgleichgewichtszuständen in kontinuierlichen Prozessen

Zusätzlich zu Satzprozessen wurden auch kontinuierliche einstufige Prozesse mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor ohne induzierte Lipidakkumulation bei physikalischer Simulation des spanischen Sommertages durchgeführt und deren ermittelte BTM-Konzentrationen im Fließgleichgewicht mit den entsprechend simulierten Ergebnissen verglichen. Dabei wurden Durchflussraten von $0,31 \text{ d}^{-1}$, $0,4 \text{ d}^{-1}$, $0,5 \text{ d}^{-1}$ und $0,6 \text{ d}^{-1}$ bei einer jeweiligen Harnstoffkonzentration von $1,2 \text{ g L}^{-1}$, $1,5 \text{ g L}^{-1}$, $1,2 \text{ g L}^{-1}$, und $0,9 \text{ g L}^{-1}$ untersucht (Abbildung 6.10).

Eine Erhöhung der Durchflussrate von $0,31 \text{ d}^{-1}$ auf $0,4 \text{ d}^{-1}$ bei gleichzeitiger Erhöhung der Harnstoffkonzentration im Zulauf von $1,2 \text{ g L}^{-1}$ auf $1,5 \text{ g L}^{-1}$ führte in den Experimenten zunächst zu einem Anstieg der BTM-Konzentration im Fließgleichgewicht von $6,5 \text{ g L}^{-1}$ auf $7,0 \text{ g L}^{-1}$. Eine weitere Erhöhung der Durchflussrate auf $0,5 \text{ d}^{-1}$ und $0,6 \text{ d}^{-1}$ bewirkte bei gleichzeitiger Senkung der Harnstoffkonzentration im Zulauf auf $1,2 \text{ g L}^{-1}$ beziehungsweise $0,9 \text{ g L}^{-1}$ ein deutliches Absinken der BTM-Konzentration im Gleichgewicht auf $4,7 \text{ g L}^{-1}$ und $4,3 \text{ g L}^{-1}$. Die entsprechenden Simulationen sagten die 4 Gleichgewichtszustände mit einer jeweiligen Abweichung von 5,5%, 3,9%, 7,1% und 16,7% voraus. Damit betrug die durchschnittliche Abweichung der untersuchten Fließgleichgewichtszustände 8,3%, wobei nur die höchste Durchflussrate von $0,6 \text{ d}^{-1}$ zu einer größeren Abweichung der Simulation von mehr als 10% führte.

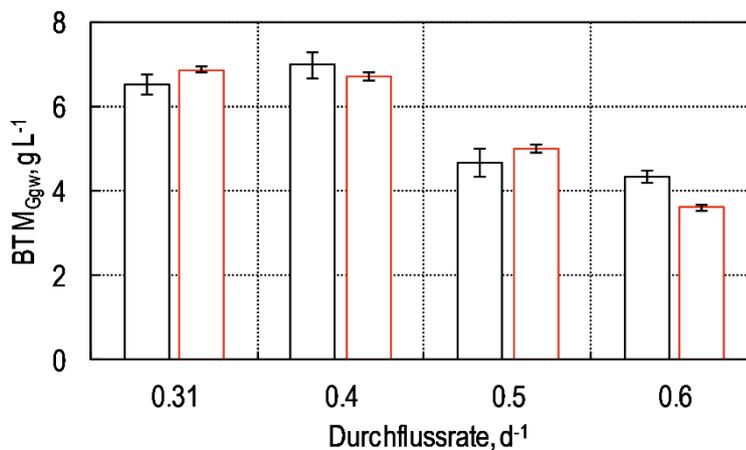


Abbildung 6.10. Experimentell ermittelte (\square) und simulierte (\square) Biotrockenmassekonzentrationen (BTM_{Ggw}) im Fließgleichgewichtszustand bei Durchflussraten von $0,31 \text{ d}^{-1}$, $0,4 \text{ d}^{-1}$, $0,5 \text{ d}^{-1}$ und $0,6 \text{ d}^{-1}$ mit den jeweiligen Harnstoffkonzentrationen im Zulauf von $1,2 \text{ g L}^{-1}$, $1,5 \text{ g L}^{-1}$, $1,2 \text{ g L}^{-1}$ und $0,9 \text{ g L}^{-1}$ mit *M. salina* im kontinuierlich betriebenen Flachgerinnereaktor bei physikalischer Simulation des spanischen Sommertages. Fehlerbalken stellen die Standardabweichung der im Tagesrhythmus schwankenden BTM-Konzentration dar.

Die Unterschiede der einzelnen Fließgleichgewichtszustände ergeben sich aus der positiv korrelierten Abhängigkeit der Wachstumsrate von der Nährstoffkonzentration einerseits, und der negativ korrelierten Abhängigkeit der BTM-Konzentration von der Durchflussrate andererseits. Letzteres ist in phototrophen Prozessen eine Folge der Lichtabhängigkeit des Wachstums: Im Fließgleichgewichtszustand ist die spezifische Wachstumsrate gleich der Durchflussrate. Damit die Wachstumsrate bei höherer Durchflussrate aber zunehmen kann, muss die Zelldichte abnehmen, um die verfügbare Photonenflussdichte in der Suspension zu erhöhen.

6.3.4 Diskussion

Die Simulationen eines nicht-nährstofflimitierten Satzprozesses zur Biomasseproduktion, eines stickstofflimitierten Satzprozesses zur Lipidproduktion sowie von Fließgleichgewichtszuständen in 4 kontinuierlichen einstufigen Prozessen mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor mit dem hier erarbeiteten Modell erzielten eine gute Übereinstimmung mit den experimentellen Daten. Die durchschnittlichen absoluten Abweichungen der Biotrockenmasse- beziehungsweise Lipidkonzentration zwischen der Simulation und dem jeweiligen Experiment lagen in der Größenordnung von 10%, wobei die geringste durchschnittliche Abweichung zu einem Experiment 3,9% und die höchste Abweichung 16,7% betragen.

Im unlimitierten Satzprozess zeichnete sich eine Überschätzung des Biomassewachstums bei sehr hohen BTM-Konzentrationen $> 30 \text{ g L}^{-1}$ ab. Ursächlich hierfür könnten möglicherweise zusätzliche limitierende Effekte sein, die erst bei hohen Zelldichten eintreten und in der Simulation nicht berücksichtigt sind. Diese könnten beispielsweise durch die Akkumulation von Zellbruchstücken oder durch Lyse freigesetzte Pigmente bewirkt worden sein, die zu einem verringerten Lichteintrag in die Zellsuspension führten. Die Akkumulation von gelösten Pigmenten aus der Gruppe der Xanthophylle sowie von partikulären Substanzen wurde bereits in Untersuchungen zur Kreislaufführung des Reaktionsmediums gezeigt (siehe Kapitel 5.1.2).

Am Ende der exponentiellen Wachstumsphase zu Beginn des stickstofflimitierten Satzprozesses zeigte das Experiment im Vergleich zur Simulation eine deutlich geringere BTM-Konzentration. Gleichzeitig fiel die Harnstoffaufnahme im Bereich niedriger Harnstoffkonzentrationen $< 0,5 \text{ g L}^{-1}$ im Experiment entsprechend kleiner aus. Diese Unterschiede

deuten im Modell auf eine Überschätzung des Wachstums bei geringen Harnstoffkonzentrationen hin, was auf eine zu niedrig abgeschätzte Sättigungskonstante K_N zurückzuführen sein könnte. Da die Harnstoffkonzentration in diesem Bereich im Falle eines Satzprozesses jedoch schnell auf null sinkt, war die Auswirkung auf den weiteren Prozessverlauf vergleichsweise gering.

Insgesamt zeigt der Vergleich der durchgeführten Prozesse im Satzverfahren sowie im kontinuierlichen Betrieb mit den entsprechenden Simulationen, dass das hier erarbeitete Modell die Biomasse- und Lipidbildung von *M. salina* im Flachgerinnereaktor unter den klimatischen Bedingungen des gewählten spanischen Sommertages mit einer Ungenauigkeit von etwa 10% gut wiedergeben konnte. Damit steht ein Werkzeug zur Verfügung, mit dem Prozessverläufe unter verschiedenen Bedingungen rechnergestützt abgeschätzt werden können. Dies kann einerseits zur Eingrenzung des experimentellen Raums eingesetzt werden, um den Zeit- und Ressourcenaufwand der Prozessentwicklung und -optimierung zu reduzieren. Andererseits kann es die Planung von Prozessen unterstützen, um beispielsweise den Verbrauch von Nährstoffen oder einen geeigneten Erntezeitpunkt frühzeitig abschätzen zu können. Da die spezifische Wachstumsrate μ als Funktion der integralen Photonendichte I^* berücksichtigt wird, sollte das Modell nicht-nährstofflimitierte Satzprozesse auch unter anderen Lichtverhältnissen als dem hier gewählten spanischen Sommertag vorhersagen können, solange die Lufttemperatur tagsüber in einem vergleichbaren Bereich von etwa 25–35 °C bleibt. In diesem Bereich wirken sich Unterschiede in der Lufttemperatur aufgrund der Verdunstungskühlung an der Wasseroberfläche nur geringfügig auf die Temperatur in der Suspension aus. Allerdings berücksichtigt das Modell bislang keine Lichtabhängigkeit der Lipidakkumulation und der lipidfreien Wachstumsrate bei Stickstofflimitierung, so dass die entsprechenden Modellparameter ($q_{L,max}$, $\mu_{X-L,max}$ und $Q_{L,max}$) unter anderen klimatischen Bedingungen vermutlich neu bestimmt werden müssen.

6.4 Modellgestützte Maßstabsvergrößerung der kontinuierlichen Lipidproduktion

Im Hinblick auf die Kommerzialisierung eines Prozesses ist es von entscheidender Bedeutung, inwiefern zuvor gewonnene Untersuchungsergebnisse in einen größeren Maßstab skalierbar sind. Aus diesem Grund wurde die Übertragbarkeit der kontinuierlichen zweistufigen Reaktorkaskade zur Lipidproduktion in den Pilotmaßstab evaluiert.

In der kontinuierlichen Kaskade in zwei 8 m² Reaktoren hatte sich gezeigt, dass der turbidostatische Betrieb des ersten Reaktors instabil war, wenn die Stickstoffkonzentration im limitierenden Bereich nahe der Halbsättigungskonzentration gehalten wurde (siehe Abschnitt 6.2). Dies hatte mit zunehmender Prozesszeit zur stetigen Reduktion der Durchflussrate geführt, was die Stickstofflimitierung verstärkte und wegen des reduzierten Wachstums in einer weiteren Reduktion der Durchflussrate resultierte. Um dieses Problem zu vermeiden, wurde für die Maßstabsvergrößerung auch im ersten Reaktor stattdessen der chemostatische Betrieb gewählt. Zudem hatte sich in Vorversuchen gezeigt, dass die Biomasseproduktion auch bei chemostatischer Betriebsweise trotz wechselnder Lichtverhältnisse im Tagesrhythmus nicht zu stärkeren Schwankungen der Zelldichte führte.

Für eine optimale Lipidproduktion sollte die BTM-Konzentration im Zulauf des zweiten Reaktors bei etwa 6–7 g L⁻¹ liegen. Dies entsprach der BTM-Konzentration zu Beginn der Lipidakkumulation im produktivsten stickstofflimitierten Satzprozess sowie im turbidostatisch betriebenen ersten Reaktor der zweistufigen Kaskade im 2 · 8 m² Maßstab (Abschnitt 6.1.2 und Abschnitt 6.2). Um eine geeignete Durchflussrate für den chemostatischen Betrieb zu identifizieren, wurden mit Hilfe des zuvor erarbeiteten Modells die BTM- und Harnstoffkonzentration im Fließgleichgewicht als Funktion der Durchflussrate bei einer Harnstoffkonzentration von 1,5 g L⁻¹ im Zulaufmedium simuliert (Abbildung 6.11). Die Simulation ergab eine BTM-Konzentration von 6–7 g L⁻¹ bei einer Durchflussrate von 0,38–0,49 d⁻¹. Die Harnstoffkonzentration lag in diesem Bereich bei 0,07–0,10 g L⁻¹. Um möglichst wenig Harnstoff in den zweiten Reaktor einzutragen, wurde für die Maßstabsvergrößerung folglich eine Durchflussrate im unteren Bereich des identifizierten Intervalls von 0,4 d⁻¹ ausgewählt, was einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 2,5 Tagen entsprach.

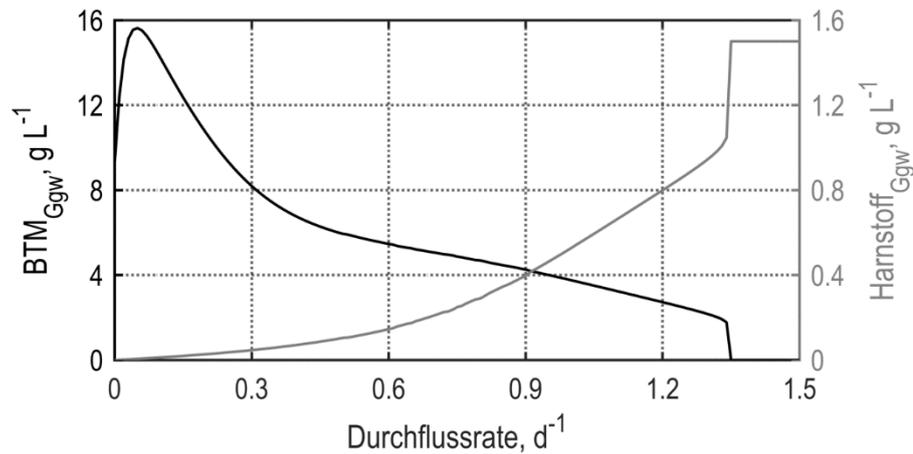


Abbildung 6.11. Simulation der Biotrockenmasse- (BTM_{Ggw} , g L^{-1}) und Harnstoffkonzentration (Harnstoff_{Ggw} , g L^{-1}) im Gleichgewicht (Ggw) als Funktion der Durchflussrate im kontinuierlich betriebenen Flachgerinnereaktor bei einer Harnstoffkonzentration im Zulauf von $1,5 \text{ g L}^{-1}$ und den Klimabedingungen des spanischen Sommertages.

Mit einer konstanten Durchflussrate von $0,4 \text{ d}^{-1}$ im ersten Reaktor wurden daraufhin die BTM- und Lipidkonzentration im zweiten Reaktor im Fließgleichgewicht als Funktion der Durchflussrate des zweiten Reaktors simuliert (Abbildung 6.12). Es wurde anhand dessen für den zweiten Reaktor eine Durchflussrate von $0,05 \text{ d}^{-1}$ (20 d mittlere hydraulische Verweilzeit) als Bereich maximaler BTM- und Lipidkonzentration bei einem Lipidanteil von 38,5% ausgewählt.

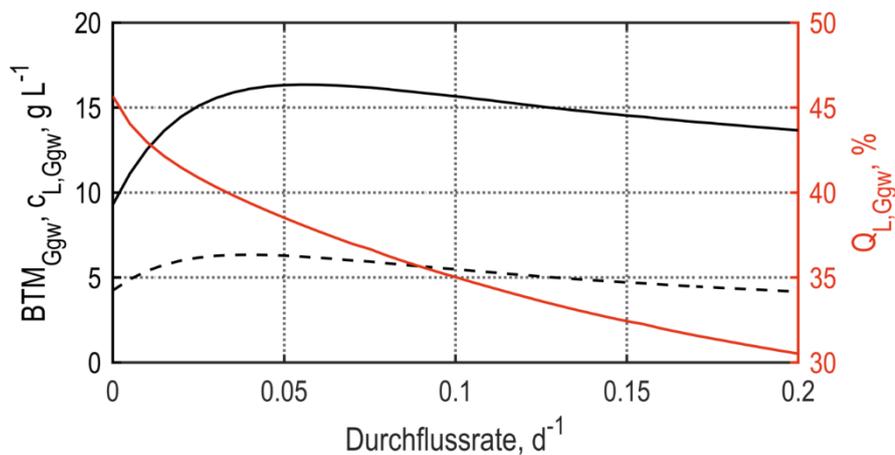


Abbildung 6.12. Simulation der Biotrockenmasse- (BTM_{Ggw} , g L^{-1}) und Lipidkonzentration ($c_{L,Ggw}$, g L^{-1}) sowie des Lipidanteils ($Q_{L,Ggw}$, %) im Gleichgewicht (Ggw) als Funktion der Durchflussrate des zweiten Flachgerinnereaktors einer kontinuierlichen zweistufigen Reaktorkaskade bei den Klimabedingungen des spanischen Sommertages. Für den ersten Reaktor wurde eine Durchflussrate von $0,4 \text{ d}^{-1}$ bei einer Harnstoffkonzentration im Zulauf von $1,5 \text{ g L}^{-1}$ gewählt.

Wegen der unterschiedlichen ausgewählten Durchflussraten von $0,4 \text{ d}^{-1}$ im ersten und $0,05 \text{ d}^{-1}$ im zweiten Reaktor wurde auch in der Maßstabsvergrößerung ein Flachgerinnereaktor mit einer Fläche von 8 m^2 in Halle 1 des Algentechnikums zur Biomasseproduktion genutzt, während die Lipidakkumulation in einem Flachgerinnereaktor mit 50 m^2 Grundfläche in

Halle 3 stattfand. Wie schon zuvor kam dabei in beiden Hallen die physikalische Klimasimulation des spanischen Sommertages zum Einsatz. Beide Reaktoren waren über einen 35 m langen transparenten Silikonschlauch von Halle 1 nach Halle 3 miteinander verbunden. Über ein Zwischengefäß (50 mL) wurden beide Durchflussraten entkoppelt. Die hydraulische Verweilzeit in der Verbindungstrecke betrug damit insgesamt 16 Minuten. Außerdem kam in diesem Prozess das überarbeitete CO₂-Eintragungssystem in beiden Reaktoren zum Einsatz und die Alkalinität wurde täglich kontrolliert, um eine hohe CO₂-Umsatzeffizienz zu erreichen (vergleiche auch Abschnitt 5.2).

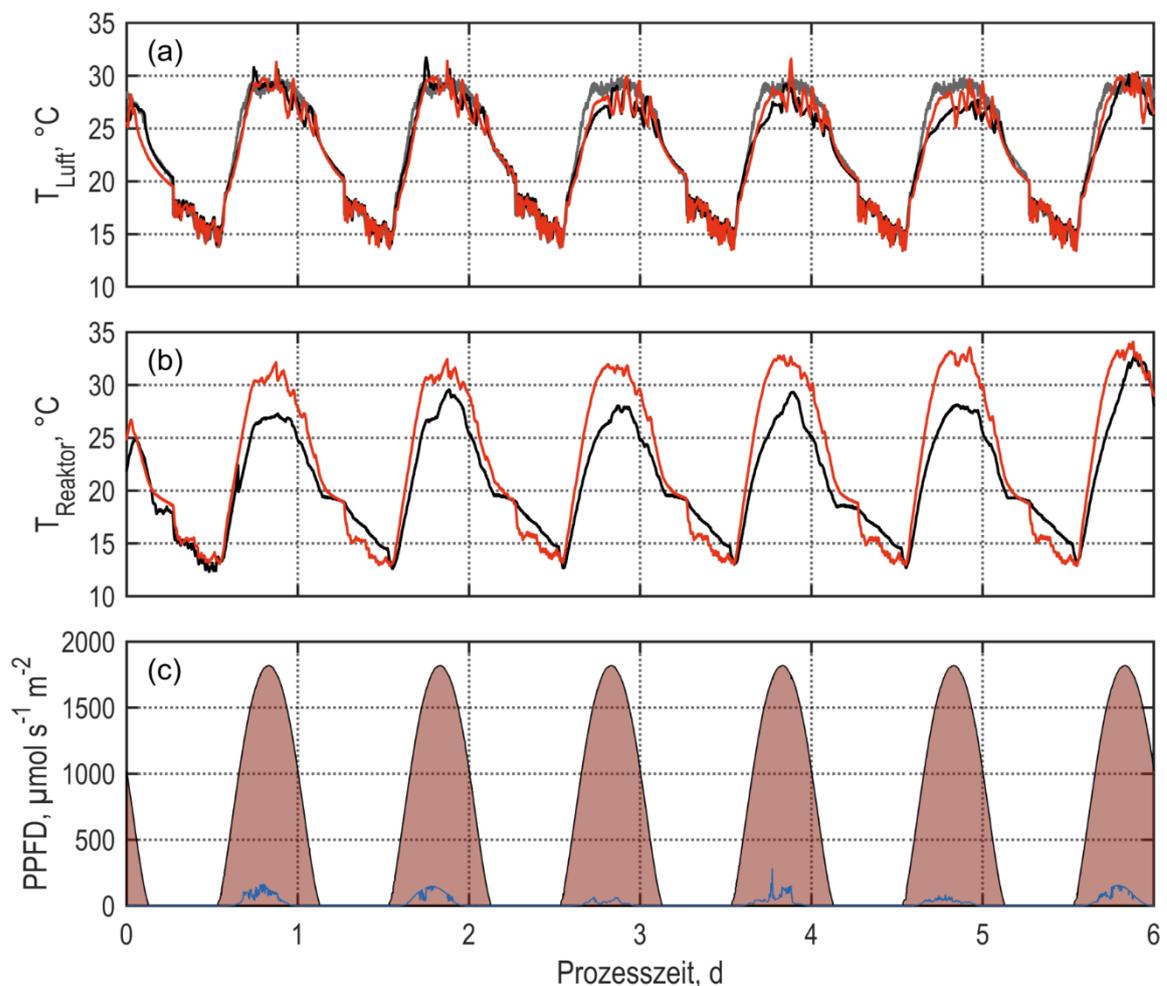


Abbildung 6.13. Physikalische Klimasimulation des spanischen Sommertages während der ersten 6 Tage einer zweistufigen Reaktorkaskade zur kontinuierlichen Lipidbildung vom 15.-21. Januar 2020. Der erste Flachgerinnereaktor (8 m²) wurde in Halle 1, der zweite Reaktor (50 m²) in Halle 3 des Algentechnikums betrieben. (a) Sollwert (—) der Lufttemperatur sowie Istwerte in Halle 1 (—) und Halle 2 (—), (b) Wassertemperatur in Reaktor 1 (—) und Reaktor 2 (—), (c) identische Gesamtphotonenflussdichte (PPFD, schattierte Fläche) und lokale solare PPFD (—).

Da die physikalische Klimasimulation des spanischen Sommertages im Fall der Maßstabsübertragung in zwei verschiedenen Hallen des Algentechnikums umgesetzt werden musste, soll hier zunächst das Klima beider Hallen miteinander verglichen werden. Zur

besseren Übersicht ist das Klima beispielhaft anhand der ersten 6 Prozesstage in Abbildung 6.13 gezeigt. Mit wenigen Ausnahmen aufgrund kalter Außentemperaturen im Januar 2020 wurde die Lufttemperatur in beiden Hallen gut wiedergegeben. Die durchschnittliche absolute Abweichung zum Temperatur-Sollwert war in beiden Hallen über den gesamten Prozessverlauf identisch bei jeweils $1,0 \pm 0,9$ °C. Die Reaktortemperatur lag im zweiten Reaktor jedoch vor allem zu Beginn des Prozesses bis zu $5,4$ °C höher als im ersten Reaktor. Ein ähnlicher Unterschied zwischen dem 8 m² und 50 m² FGR wurde bereits von Apel (2017) beschrieben und auf eine geringere Verdunstungsrate im größeren Reaktor zurückgeführt, die mutmaßlich daraus resultiert, dass sich im 50 m² FGR ein um 40% geringerer Volumenanteil der Suspension im freien Fall zwischen Gerinne und Sammelbecken befindet, wobei eine große Kontaktfläche zwischen Flüssigkeit und Luft besteht. Die Simulation der Bestrahlungsstärke, die aufgrund einer geringen lokalen Sonnenlichtintensität während der Wintermonate größtenteils über die LED-Segmente realisiert wurde, gab die Sollwerte in beiden Hallen nahezu perfekt wieder.

Der 8 m² Reaktor zur Biomasseproduktion wurde in der initialen Satzphase mit 6-fach konzentriertem Medium mit einer Harnstoffkonzentration von $1,8$ g L⁻¹ gestartet. Der 50 m² Reaktor wurde wiederum nur mit 2-fach konzentriertem Medium ($0,6$ g L⁻¹ Harnstoff) gestartet, um die Lipidakkumulation durch Stickstofflimitierung bereits zum Ende der Satzphase zu induzieren. Der 50 m² Reaktor wurde außerdem mit der doppelten optischen Dichte ($OD_{750} = 2$) inokuliert. Dies war notwendig, da sich bereits früher gezeigt hatte, dass eine niedrigere Inokulationsdichte auf den längeren Gerinnestrecken zu einer zu starken Photoinhibition und zum Absterben der Kultur führt (Apel, 2017). Der Verlauf der BTM-Konzentration war in beiden Reaktoren daher um etwa einen Tag zueinander verschoben (Abbildung 6.14). Wegen der unterschiedlichen Nährstoffversorgung erreichten beide Reaktoren am Ende der Satzphase nach einer Prozesszeit von 7 Tagen dennoch eine ähnliche Zelldichte von $7,1$ g L⁻¹ im 8 m² Reaktor und $6,9$ g L⁻¹ im 50 m² Reaktor. Die spezifischen Wachstumsraten in der exponentiellen Wachstumsphase betragen $0,48 \pm 0,06$ d⁻¹ und $0,48 \pm 0,08$ d⁻¹.

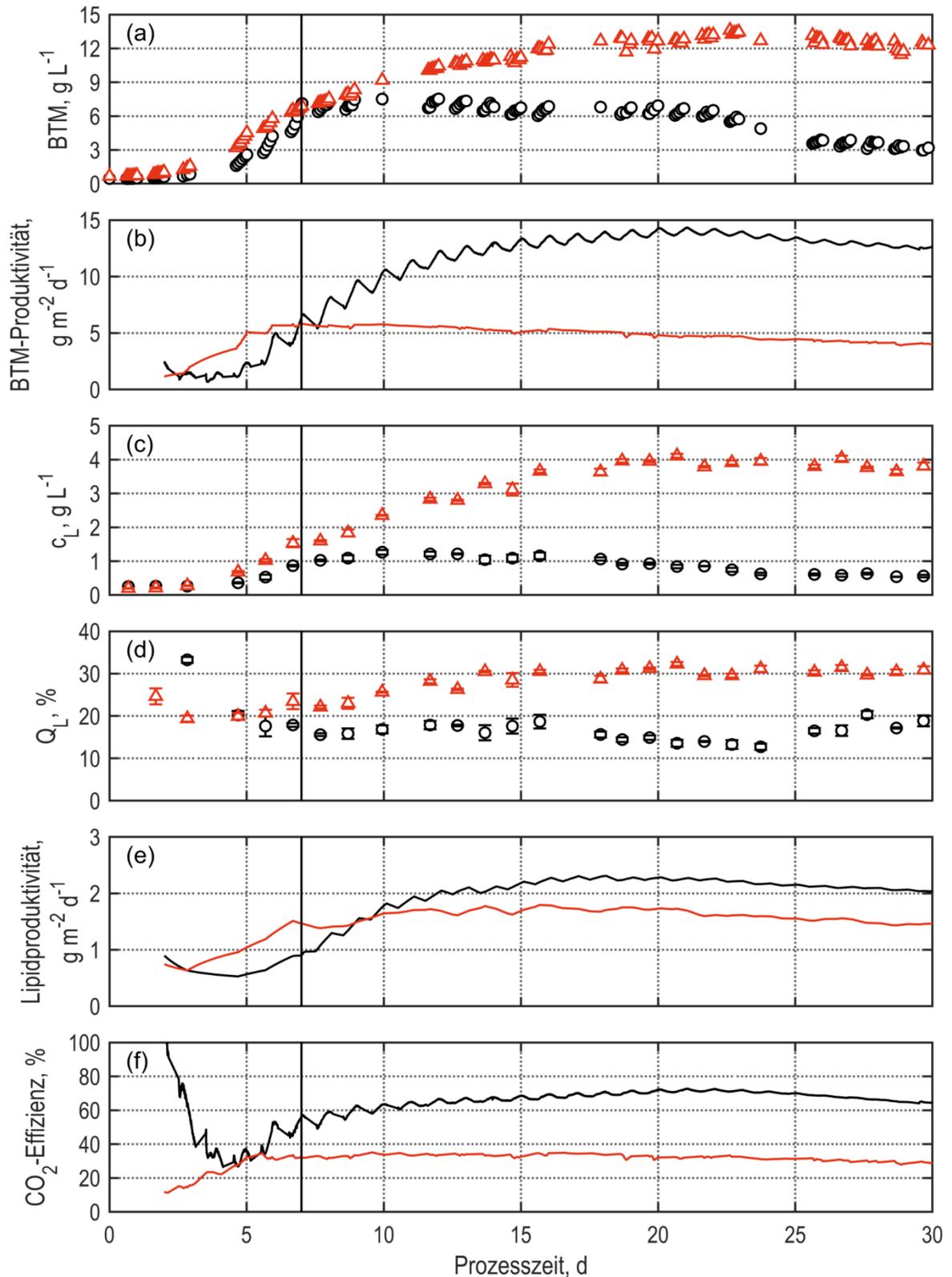


Abbildung 6.14. Kontinuierlicher Prozess mit *M. salina* in einer Kaskade zweier Flachgerinnereaktoren unter physikalischer Simulation des spanischen Sommertages. Der erste Reaktor (○, —) mit einer Fläche von 8 m² wurde chemostatisch bei einer hydraulischen Verweilzeit von 2,5 Tagen betrieben. Der zweite Reaktor (△, —) mit einer Fläche von 50 m² wurde chemostatisch bei einer hydraulischen Verweilzeit von 20 Tagen betrieben. Zeitliche Verläufe der (a) Biotrockenmassekonzentration (BTM), (b) flächenbezogenen Gesamtbiomasseproduktivität, (c) Lipidkonzentration c_L , (d) des Lipidanteils in Trockenmasse Q_L , (e) der flächenbezogenen Gesamtlipidproduktivität und (f) der Effizienz des CO₂-Umsatzes. Die Vertikale markiert den Beginn des kontinuierlichen Betriebs.

Während des kontinuierlichen Betriebs wurde dem ersten Reaktor ein 5-fach Medium (ASW und 4-fach konzentrierte Nährstofflösung) zugeführt. Er erreichte nach 3 hydraulischen Verweilzeiten einen Fließgleichgewichtszustand bei einer BTM-Konzentration von $6,5 \pm 0,3 \text{ g L}^{-1}$, was bei einer Durchflussrate von $0,4 \text{ d}^{-1}$ einer momentanen Biomasseproduktivität von $17,9 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($2,6 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) entsprach. Der Lipidanteil in Biotrockenmasse im ersten Reaktor blieb währenddessen konstant bei $16,5 \pm 2\%$ bei einer Lipidkonzentration von $1,1 \pm 0,1 \text{ g L}^{-1}$.

Nach einer Prozesszeit von 22 Tagen begann die Zelldichte im ersten Reaktor jedoch deutlich zu sinken, bis zum Prozessende nach 30 Tagen nur noch eine BTM-Konzentration von $3,2 \text{ g L}^{-1}$ und eine Lipidkonzentration von $0,6 \text{ g L}^{-1}$ vorlagen. Die Ursache hierfür lag vermutlich in einer Kontamination mit einer anderen Mikroalgenpezies, die erstmals nach einer Prozesszeit von 15 Tagen mikroskopisch entdeckt wurde (Abbildung 6.15). Als Kontaminationsquelle konnte eine bewachsene, transparente Wasserleitung zum Verdunstungsausgleich identifiziert werden.

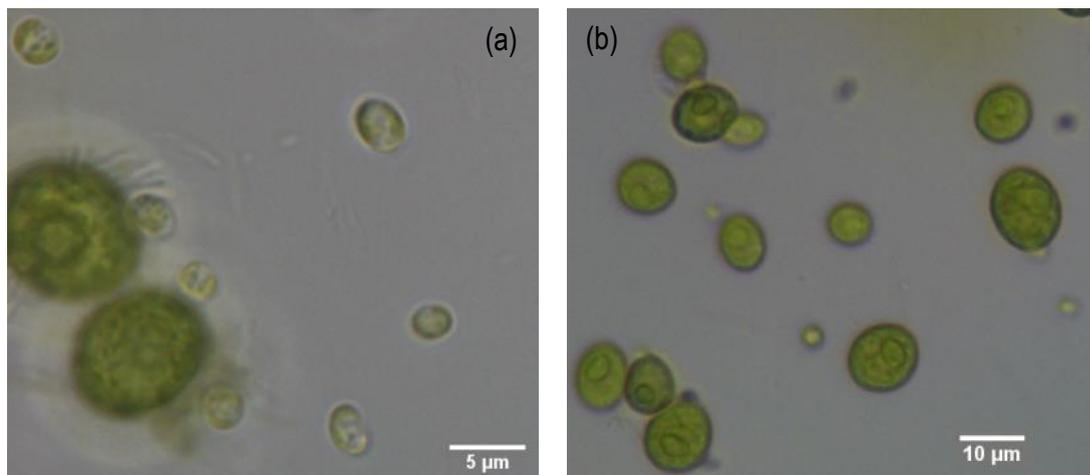


Abbildung 6.15. Lichtmikroskopische Aufnahme zweier Proben aus dem ersten Reaktor der kontinuierlichen Kaskade zur Lipidproduktion nach einer Prozesszeit von 26 Tagen (a) und 29 Tagen (b). Nur kleine Mikroalgenzellen mit einem Durchmesser von etwa $1\text{-}4 \text{ }\mu\text{m}$ gehören zur hier verwendeten Spezies *Microchloropsis salina*, während größere Zellen eine Kontamination, möglicherweise aus der Gattung *Chlorella*, darstellen.

Auf Basis der Morphologie handelte es sich vermutlich um eine Spezies aus der Gattung *Chlorella*, die sowohl in Süß- als auch Salzwasser wachsen kann und bereits erfolgreich im Flachgerinnereaktor kultiviert wurde (Přibyl et al., 2012). Waren nach 15 Tagen nur wenige einzelne fremde Zellen zu beobachten, hatte die Kontamination zum Ende des Prozesses die *M. salina* Kultur im ersten Reaktor größtenteils überwachsen. Dies ging auch mit einem Anstieg des Lipidanteils in Biotrockenmasse auf bis zu $20,3\%$ einher. Die

Gesamtlipidproduktivität des ersten Reaktors sank von einem Maximum von $2,3 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,34 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) auf finale $2,0 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,30 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$).

Im zweiten Reaktor stieg die BTM-Konzentration auf bis zu $13,6 \text{ g L}^{-1}$ nach einer Prozesszeit von 23 Tagen an. Die Lipidkonzentration blieb ab dem 19. Tag etwa stationär bei $3,9 \pm 0,1 \text{ g L}^{-1}$ mit einem Maximum von $4,1 \text{ g L}^{-1}$ nach 21 Tagen. Der Lipidanteil stieg in Folge der Stickstofflimitierung von 19,4% auf 30,5% nach 14 Tagen an und blieb dann bis zum Prozessende weitestgehend konstant. Ein Maximum von 32,3% war nach 21 Tagen erreicht. Die Gesamtlipidproduktivität des zweiten Reaktors lag von Tag 10 bis Tag 30 bei $1,5\text{--}1,8 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,22\text{--}0,27 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Wie schon in Satzprozessen und der kontinuierlichen Kaskade im $2 \cdot 8 \text{ m}^2$ Maßstab war die Lipidproduktivität des zweiten Reaktors wegen der geringen Biomasseproduktivität niedriger als die Lipidproduktivität im ersten Reaktor zur Biomassebildung. Trotz der unterschiedlichen Reaktorgrößen wurden wegen der sehr verschiedenen Durchflussraten beider Reaktoren nur 75% des Ablaufstroms des ersten Reaktors als Zulauf für den zweiten Reaktor benötigt. Unter Berücksichtigung des notwendigen Volumenstroms des ersten Reaktors betrug die Lipidproduktivität der Gesamtkaskade $1,5 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($0,23 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Aufgrund der niedrigen Durchflussrate des zweiten Reaktors hatte die im ersten Reaktor aufgetretene Kontamination im betrachteten Zeitraum noch keine eindeutige Auswirkung auf die Lipidbildung im zweiten Reaktor.

Die Alkalinität stieg im kontinuierlichen Betrieb in beiden Reaktoren nicht auf über 15 mM an, so dass eine Anpassung durch Titration mit Schwefelsäure nicht notwendig war. Trotz niedriger Alkalinität und überarbeitetem CO_2 -Eintragungssystem wurden im Vergleich zum unlimitierten Satzprozess vergleichsweise geringe CO_2 -Umsatzeffizienzen von 64,5% im ersten Reaktor und 29,1% im zweiten Reaktor erzielt. Die CO_2 -Effizienz der Gesamtkaskade betrug 38,9%. Bei einer Überprüfung der CO_2 -Eintragungssysteme im Anschluss an den Prozess wurden Undichtigkeiten an Verbindungselementen der getauchten Gasschläuche in beiden Reaktoren festgestellt, die zu einer verringerten Dispersion der Gasblasen und damit vermutlich zu einem schlechteren Stoffübergang führten.

Vergleich zwischen Maßstabsvergrößerung und Simulation

Ein Vergleich der Maßstabsvergrößerung mit der entsprechenden Simulation (Abbildung 6.16) zeigte, dass sich die vorhergesagte Wachstumsrate während der exponentiellen Wachstumsphase im ersten Reaktor mit $0,57 \pm 0,08 \text{ d}^{-1}$ auf Basis der 95%-Konfidenzintervalle nicht signifikant von der experimentell ermittelten Wachstumsrate unterschied. Die BTM-Konzentration im ersten Reaktor am Ende der Satzphase nach 7 Tagen wurde in der Simulation mit $7,3 \text{ g L}^{-1}$ um 2,8% überschätzt. Im kontinuierlichen Betrieb stellte sich in der Simulation eine um 4,6% höhere BTM-Konzentration von $6,8 \pm 0,1 \text{ g L}^{-1}$ im Fließgleichgewicht ein. Allerdings sagte die Simulation eine geringere Differenz zwischen der niedrigsten Zelldichte am Morgen und der höchsten Zelldichte am Abend von $0,3 \text{ g L}^{-1}$ voraus, während die tägliche Differenz im Experiment bei $0,7 \text{ g L}^{-1}$ lag. Die im Experiment ab Tag 15 aufgetretene Kontamination des ersten Reaktors, die ab Tag 22 zu einer deutlichen Abnahme der Zelldichte führte, konnte durch die Simulation nicht wiedergegeben werden.

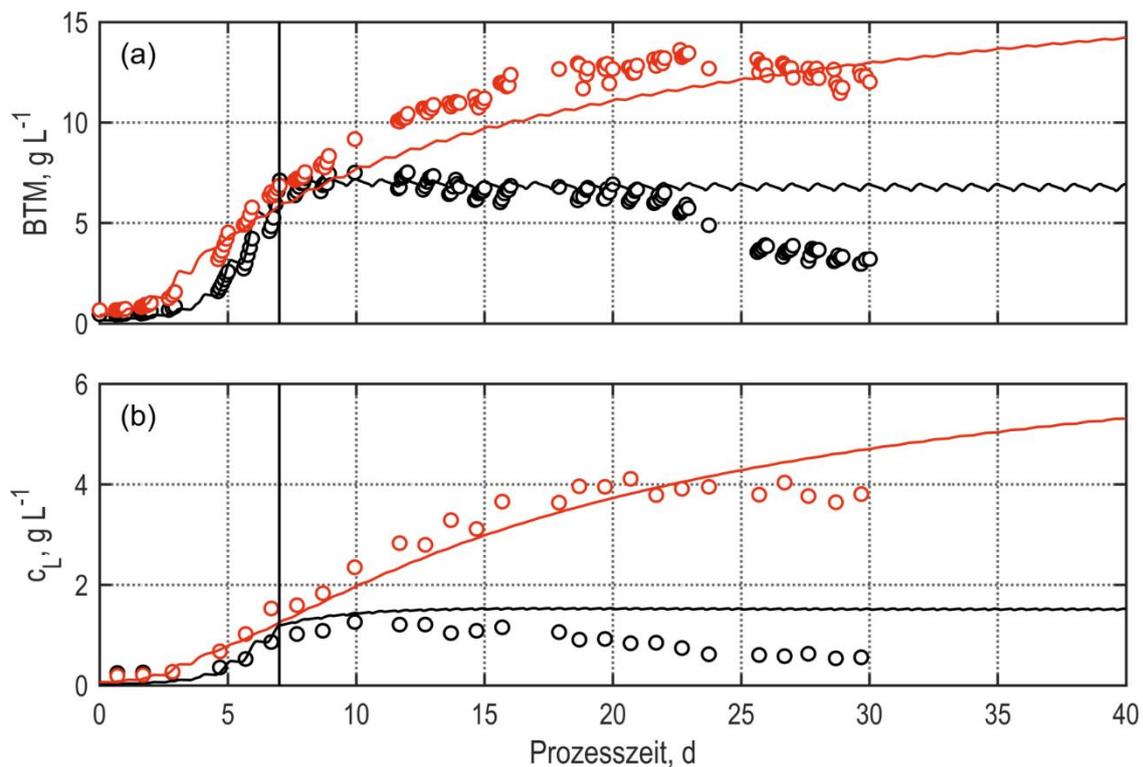


Abbildung 6.16. Zeitlicher Verlauf der (a) Biotrockenmassekonzentration (BTM) und (b) Lipidkonzentration in einer kontinuierlichen Kaskade aus zwei Flachgerinnereaktoren bei physikalischer Simulation des spanischen Sommertages. Der erste Reaktor (8 m^2) wurde zur Biomasseproduktion kontinuierlich mit frischem Medium versorgt und chemostatisch bei einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 2,5 Tagen betrieben. Der zweite Reaktor (50 m^2) zur Lipidakkumulation verwendete den Ablauf des ersten Reaktors als Zulauf bei einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 20 Tagen. Symbole stellen die experimentell gemessene BTM (\circ , \circ) und Lipidkonzentration (\triangle , \triangle) im ersten (schwarz) und zweiten Reaktor (rot) dar. Linien zeigen die dazugehörigen Simulationen.

Die Lipidkonzentration im ersten Reaktor stieg während der Satzphase im Experiment auf $0,9 \text{ g L}^{-1}$ an und wurde in der Simulation mit $1,0 \text{ g L}^{-1}$ um 11,1% überschätzt. Im kontinuierlichen Betrieb blieb die experimentelle Lipidkonzentration bis zum kontaminationsbedingten Absinken stabil bei $1,1 \pm 0,1 \text{ g L}^{-1}$. In der Simulation stellte sich hingegen eine um 34,5% höhere Lipidkonzentration von $1,5 \text{ g L}^{-1}$ ein. Ursächlich hierfür war eine vorhergesagte leichte Lipidakkumulation auf einen Lipidanteil von 22,3%, während der Lipidanteil im Experiment stabil bei 16,5% blieb.

Auch im zweiten Reaktor war die von der Simulation vorhergesagte spezifische Wachstumsrate während der exponentiellen Wachstumsphase mit $0,58 \pm 0,06 \text{ d}^{-1}$ zwar etwas größer als im Experiment beobachtet, dieser Unterschied war jedoch auf Basis der 95%-Konfidenzintervalle nicht signifikant. Allerdings wurde exponentielles Wachstum im zweiten Reaktor aufgrund der eintretenden Stickstofflimitierung in der Simulation nur für 4 anstatt 5 Tage aufrechterhalten. Dies könnte, wie schon bei der Simulation des stickstofflimitierten Satzprozesses, auf eine Überschätzung des Wachstums und der Substrataufnahme bei niedrigen Harnstoffkonzentrationen hindeuten, was zu einem schnelleren Verbrauch des verfügbaren Harnstoffs führt (siehe Abschnitt 6.3.2).

Am Ende der 7-tägigen Satzphase unterschätzte die Simulation die BTM-Konzentration im zweiten Reaktor mit $5,9 \text{ g L}^{-1}$ um 14,5%. Der weitere Anstieg der Zelldichte während der Lipidakkumulation im kontinuierlichen Betrieb fiel in der Simulation etwas flacher aus als im Experiment. So lag die BTM-Konzentration in der Simulation nach 22 Tagen mit $11,6 \text{ g L}^{-1}$ um 12,1% niedriger als im Experiment mit $13,2 \text{ g L}^{-1}$. Ein Vergleich über diesen Zeitpunkt hinaus ist wegen der kontaminationsbedingten Abnahme der BTM-Konzentration im ersten Reaktor nicht sinnvoll. Ein Fließgleichgewicht nach mindestens 3 mittleren hydraulischen Verweilzeiten bei konstanten Konzentrationen im Zulaufstrom konnte im zweiten Reaktor daher nicht erreicht werden. Eine ausreichend lange Simulation über 100 Tage ergab eine stationäre BTM-Konzentration von $17,0 \text{ g L}^{-1}$ (siehe auch Abbildung 6.12).

Die Lipidkonzentration im zweiten Reaktor stieg im Experiment bis zum Ende der Satzphase auf $1,5 \text{ g L}^{-1}$ an, was in der Simulation mit $1,2 \text{ g L}^{-1}$ – zum Teil infolge der geringeren BTM-Konzentration – um 22,9% unterschätzt wurde. Die Lipidanteile betragen dabei jeweils 23,4% und 21,0%. Während des kontinuierlichen Betriebs stieg die Lipidkonzentration in der Simulation aufgrund der durch Stickstofflimitierung induzierten Lipidakkumulation auf $3,9 \text{ g L}^{-1}$ nach einer Prozesszeit von 22 Tagen an, was einer Überschätzung der

experimentellen Beobachtung von 3,9% entsprach. Dabei wurde der Lipidanteil von 34,4% jedoch deutlicher gegenüber dem Experiment bei 29,6% überschätzt. Für den weiteren Verlauf sagte die Simulation einen Anstieg der Lipidkonzentration auf bis zu $6,6 \text{ g L}^{-1}$ im Fließgleichgewicht voraus, was aufgrund der langen mittleren hydraulischen Verweilzeit im zweiten Reaktor von 20 Tagen sowie der aufgetretenen Kontamination nicht experimentell überprüft werden konnte.

Die durchschnittliche absolute Abweichung der BTM-Konzentration zwischen Simulation und Experiment im ersten und zweiten Reaktor lagen innerhalb der ersten 22 Prozesstage jeweils bei 7,2% und 13,5%. Die Lipidkonzentration wich mit durchschnittlich 40,9% im ersten Reaktor deutlich stärker ab, wie bereits weiter oben erläutert wurde. Im zweiten Reaktor lag der Unterschied der Lipidkonzentration zwischen Simulation und Experiment dennoch nur bei durchschnittlich 10,2%.

Diskussion

Die zweistufige Reaktorkaskade zur kontinuierlichen Lipidproduktion mit *M. salina* konnte in den Pilotmaßstab mit einem 8 m^2 Flachgerinnereaktor zur Biomassebildung und einem 50 m^2 Flachgerinnereaktor zur Lipidakkumulation übertragen werden. Die Bauweise des 50 m^2 Reaktors mit zwei gleichhohen Gerinneflächen, die nicht durch ein Wendebecken, sondern durch Pumpstationen und Einlaufbecken an beiden Seiten verbunden sind, lässt sich beliebig durch Hinzufügen weiterer Gerinne mit Pumpstationen erweitern. Außerdem sorgte der chemostatische Betriebsmodus in beiden Reaktoren für einen stabileren und weniger störanfälligen Betrieb. So wurde im ersten Reaktor trotz der aufgetretenen Kontamination eine um 29% höhere Biomasseproduktivität im Vergleich zum turbidostatischen Betrieb im 8 m^2 Maßstab erzielt.

Insgesamt überstiegen die Lipidproduktivität und Lipidkonzentration der Maßstabsvergrößerung die Leistung der vorherigen $2 \cdot 8 \text{ m}^2$ -Kaskade um 16% und 33%. Wie schon die vorherige Kaskade erreichte die Maßstabsvergrößerung somit im Literaturvergleich eine deutlich höhere Lipidkonzentration und volumetrische Lipidproduktivität (siehe auch Abschnitt 6.2). Eine Erhöhung der hydraulischen Verweilzeit im zweiten Reaktor von 15 auf 20 Tage führte jedoch nicht zu einem Anstieg des Lipidanteils in Biotrockenmasse. Dies könnte jedoch auch auf die vergleichsweise kurze Prozessdauer zurückzuführen sein, da erst nach

einer Dauer von 3 Verweilzeiten (60 Tage) nach Einstellung des Gleichgewichtes im ersten Reaktor auch ein Fließgleichgewichtszustand im zweiten Reaktor zu erwarten ist.

Die beobachteten Undichtigkeiten im CO₂-Eintragungssystem legen nahe, dass diesbezüglich eine regelmäßige Überprüfung der Schläuche und Verbindungselemente stattfinden sollte, um CO₂-Verluste zu vermeiden. Zudem führte im zweiten Reaktor vermutlich auch die geringe Biomasseproduktivität während der Lipidakkumulation zu einer niedrigeren Effizienz des CO₂-Umsatzes.

Kontaminationen können in offenen Photobioreaktoren auch bei Auswahl selektiver Prozessbedingungen nie vollends vermieden werden, weshalb die regelmäßige Kontrolle der Kultur durch Mikroskopie und Durchflusszytometrie wichtig ist. Ein Austausch der transparenten Wasserleitungen zum Verdunstungsausgleich durch nicht-transparente Schläuche könnte zudem den Bewuchs dieser Leitungen verhindern.

Der Vergleich des Experiments mit der entsprechenden Simulation zeigte, dass trotz der Fortpflanzung von Vorhersageungenauigkeiten vom ersten zum zweiten Reaktor eine gute Abschätzung des Gesamtprozesses mit dem hier erarbeiteten Modellansatz möglich ist. Eine verstärkte Abweichung trat jedoch bei der Simulation der Lipidkonzentration bei niedrigen Harnstoffkonzentrationen in der Nähe der Sättigungskonzentration K_N im ersten Reaktor der kontinuierlichen Kaskade auf. Die Simulation sagte hier bereits eine leichte Lipidakkumulation voraus, die im Experiment nicht beobachtet wurde. Das Modell verwendete die Sättigungskonstante für Harnstoff K_N gleichzeitig auch als inhibitorischen Parameter für die Lipidbildungsrate. Die fehlerhafte Lipidakkumulation bei Harnstoffkonzentrationen in der Größenordnung von K_N deutet darauf hin, dass ein eigener Inhibitionsparameter oder ein anderer Inhibitionsmechanismus zur genaueren Beschreibung der Lipidakkumulation notwendig sein könnte.

Im Experiment wurde aufgrund der langen hydraulischen Verweilzeit und der aufgetretenen Kontamination kein Fließgleichgewichtszustand abgewartet. Die Gültigkeit des Modells über den vergleichbaren Zeitraum von 22 Tagen hinaus müsste daher in einer Langzeituntersuchung evaluiert werden, zumal mehrmonatige Mikroalgenkultivierungen in großen Reaktoranlagen im Freiland nicht unüblich sind.

6.5 Abschätzung der Produktionskosten von Mikroalgenbiomasse und Lipiden in autarken Flachgerinnereaktoren

Abschließend soll in dieser Arbeit ein Grundkonzept für eine Freilandanlage zur Mikroalgen- und Lipidproduktion mit *Microchloropsis salina* in Flachgerinnereaktoren im industriellen Maßstab erstellt werden. Ein geeigneter Standort mit Klimabedingungen, die zu der hier verwendeten physikalischen Klimasimulation eines südspanischen Sommertages vergleichbar sind, könnte neben Südeuropa beispielsweise die sogenannte MENA-Region sein (engl. für Middle-East & North-Africa). Die Anlage soll über eine Kultivierungsfläche von etwa 10 ha in Küstennähe verfügen, was einer kleinen Produktionsanlage entsprechen könnte, und möglichst autark konzeptioniert sein. Das heißt, dass benötigtes CO₂ durch Adsorption aus der Luft gewonnen wird, das gesamte Wasser entweder direkt aus dem Meer entnommen oder als Süßwasser über Umkehrosmose aus Meerwasser erzeugt wird, und die notwendige elektrische Energie über eine Photovoltaikanlage produziert wird. Als Berechnungsgrundlagen dienen dabei eigene Produktivitäts- und Verbrauchsdaten in Kombination mit Literaturwerten zur CO₂-, Wasser- und Stromproduktion. Auf diese Weise sollen die wesentlichen Kostenfaktoren abgeschätzt und Optimierungspotential identifiziert werden.

6.5.1 Flachgerinnereaktoren

Die Flachgerinnereaktoren verwenden in einer solchen Anlage kein Aluminiumgerüst als Trägerkonstruktion, sondern werden wesentlich günstiger aus Teichfolie auf präpariertem ebenem Boden mit einer Neigung von 1° aufgebaut. Wie im Falle des hier verwendeten 50 m²-Reaktors sind mehrere Gerinneflächen gegenläufig nebeneinander platziert und durch Pumpstationen mit CO₂-Begasungsorganen verbunden. Um die Anzahl der Pumpstationen gering zu halten, sollten die Gerinneflächen möglichst lang sein; gleichzeitig muss jedoch eine ausreichende Versorgung der Mikroalgen mit CO₂ über der gesamten Gerinnelänge gewährleistet sein. Da sich im Algentechnikum selbst bei maximaler photosynthetischer Aktivität zur Mittagszeit keine pH-Änderung über einer Gerinnelänge von 12 m beobachten ließ, scheint eine deutliche Verlängerung der Gerinne möglich (Apel, 2017). Die bislang größten Flachgerinnereaktoren wurden in Portugal mit einer Länge von 75 m errichtet (Grivalský et al., 2019), was als guter Anhaltspunkt zur Anlagenkonzeption erscheint. Bei einer Gerinnebreite von 12,5 m wird das Seitenverhältnis des hier verwendeten 50 m²-Reaktors

beibehalten. Das Auffangbecken sollte zusätzlich auf der gesamten Reaktorbreite eine Länge von etwa 2 m haben. Das Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis von $151,5 \text{ m}^{-1}$ des 50 m^2 -Reaktors wird beibehalten. Um identische Strömungsverhältnisse auf dem Gerinne zu erreichen, wird auch der auf die Gerinnebreite bezogene spezifische Volumenstrom von $2,4 \text{ L s}^{-1} \text{ m}^{-1}$ beibehalten, so dass sich ein Volumenstrom von insgesamt 30 L s^{-1} ergibt. Bei einer Gerinneneigung von 1° und angenommenen Höhensprüngen von 35 cm durch Einlauf- und Sammelbecken errechnet sich die notwendige Pumphöhe je Gerinne zu 1,66 m. Damit kann über Gleichung (6.5) der flächenspezifische elektrische Leistungseintrag bestimmt werden.

$$\frac{P_{el}}{A} = \frac{P_{hyd}}{A \cdot \eta} = \dot{V} \cdot \rho \cdot g \cdot H \cdot (A \cdot \eta)^{-1} \quad (6.5)$$

mit	P_{el}	Elektrischer Leistungseintrag, W
	P_{hyd}	Hydraulischer Leistungseintrag, W
	A	Reaktorfläche, m^2
	η	Wirkungsgrad der Kreiselpumpe, -
	\dot{V}	Volumenstrom, L s^{-1}
	ρ	Dichte des Mediums, kg L^{-1}
	g	Erdbeschleunigung, m s^{-2}
	H	Pumphöhe, m

Bei einer Dichte von Meerwasser von $1,025 \text{ kg L}^{-1}$ und einem angenommenen Wirkungsgrad der Kreiselpumpe von 80% (Gmehling und Brehm, 2013) ergibt sich ein elektrischer Leistungseintrag von $0,65 \text{ W m}^{-2}$. Dabei wird berücksichtigt, dass die Kreiselpumpen nur tagsüber für 14 h betrieben werden (siehe auch Kapitel 5.3). Die Reaktordaten für ein Gerinne sind in Tabelle 6.5 zusammengefasst.

Tabelle 6.5. Konstruktions- und Betriebsparameter der Flachgerinnereaktoren im industriellen Maßstab.

Parameter	Größe	Einheit
Gesamtlänge	77	m
Gerinnebreite	12,5	m
Reaktorfläche	962,5	m ²
Reaktorvolumen	6,27	m ³
Volumenstrom	108	m ³ h ⁻¹
Gerinneneigung	1	°
Pumphöhe	1,66	m
Elektrischer Leistungseintrag	0,65	W m ⁻²
Tägliche Betriebszeit	14	h
Verdunstungsrate	0,576	d ⁻¹
CO ₂ -Umsatzeffizienz	85	%

6.5.2 Produktion von Kohlenstoffdioxid

Das zur Mikroalgenproduktion notwendige CO₂ soll durch eigene Anlagen direkt aus der Luft über das sogenannte *Low Temperature Direct Air Capture*-Verfahren (LT-DAC) gewonnen werden, um nicht von einem lokalen Erzeuger abhängig zu sein. Eine der fortschrittlichsten und bereits im großen Maßstab erprobten Technologien stammt vom schweizer Unternehmen Climeworks (Fasihi et al., 2019). Das CO₂ wird dabei in zwei Schritten über einen Adsorptions-/Desorptionsprozess gewonnen: Luft wird von einem Verdichter angesaugt und durch einen Filter aus Amin-funktionalisierten Zellulosefasern geleitet. Das CO₂ adsorbiert spezifisch an der Filteroberfläche, während die übrige CO₂-arme Luft wieder an die Umgebung abgegeben wird. Wenn das Sorbens gesättigt ist, erfolgt die Desorptionsphase. Dabei wird der Verdichter abgeschaltet, der Filterraum geschlossen und bei Unterdruck erhitzt, was zur Desorption des CO₂ führt. Das CO₂ wird anschließend in einem Behälter gesammelt und die Adsorptionsphase beginnt erneut. Als Nebenprodukt fällt dabei zusätzlich Wasser an, das für die Mikroalgenkultivierung weiterverwendet werden kann. Die Firma Climeworks strebt einen Gestehtungspreis von 75 € je Tonne CO₂ an (Gutknecht et al., 2018; Fasihi et al., 2019). Die Gestehtungskosten enthalten im Allgemeinen Kapitalkosten sowie fixe und variable Betriebskosten. Die Betriebsdaten zur CO₂-Produktion sind in Tabelle 6.6 zusammengefasst.

Tabelle 6.6. Spezifische Produktionsparameter zur Gewinnung von Kohlenstoffdioxid über das *Low Temperature Direct Air Capture*-Verfahren der Firma Climeworks (Zürich, Schweiz).

Parameter	Größe Literatur	Größe verwendet	Einheit
Elektrischer Energiebedarf	200–300	250	kWh t ⁻¹
Thermischer Energiebedarf	1500–2000	1750	kWh t ⁻¹
Flächenverbrauch	0,4	0,4	m ² t ⁻¹ a ⁻¹
Wasserproduktion	0,8–2	1,4	t t ⁻¹
Gestehungskosten	75–105	75	€ t ⁻¹
Gestehungskosten bei kostenfreier Wärme	40	40	€ t ⁻¹

6.5.3 Produktion von Süßwasser

Ein Nachteil von Flachgerinnereaktoren im Vergleich zu Raceway Ponds ist die höhere volumenbezogene Verdunstungsrate, die eine Folge des großen Oberfläche-zu-Volumen Verhältnisses ist. Zwar ist die absolute Verdunstung im Wesentlichen von der Reaktorfläche abhängig, aufgrund des geringeren Volumens führt diese aber im Flachgerinnereaktor zu einem deutlich schnelleren Anstieg der Salinität, wenn kein Verdunstungsausgleich mit Süßwasser stattfindet. Der Verdunstungsausgleich ist daher zwingend erforderlich, sofern die Salinität des Reaktionsmediums konstant gehalten werden soll, um die Produktivität des Prozesses nicht zu beeinflussen. Da eine Produktionsanlage für saline Mikroalgen ohnehin in Meernähe gelegen sein sollte, um Meerwasser als kostengünstige Basis für das Reaktionsmedium nutzen zu können, kann auch der Süßwasserbedarf über Umkehrosmose aus Meerwasser gedeckt werden. Bei einem Salzgehalt des Meerwassers von 3,5% und einer Gewinnungsrate von 50% (also 1 m³ Süßwassergewinnung aus 2 m³ Meerwasser) errechnet sich der minimale theoretische Energiebedarf der Wasserproduktion zu 1,07 kWh m⁻³. Reale RO-Anlagen arbeiten hingegen bei 2–4 kWh m⁻³ (Kim et al., 2019; Park et al., 2020). Insgesamt geben verschiedene Autoren für Süßwasser aus Umkehrosmose je nach Konstruktions- und Betriebsdetails der Anlagen Gestehungskosten von etwa 0,56–2,03 € m⁻³ an (Caldera et al., 2016; Wu et al., 2018; Al-Obaidi et al., 2019). Für die hier vorgenommene Planung wurden zur Produktion von Süßwasser Mittelwerte von 3 kWh m⁻³ und 1,3 € m⁻³ angenommen.

6.5.4 Stromerzeugung

Elektrische Energie wird in der Gesamtanlage im Wesentlichen für die Mikroalgenkultivierung, die Ernte der Biomasse, die CO₂-Produktion sowie die Produktion von Süßwasser benötigt. Dabei soll der gesamte Energiebedarf durch Photovoltaik (PV) aus Sonnenlicht gewonnen werden. Die meisten heutigen PV-Anlagen arbeiten bei einer Umwandlungseffizienz von etwa 20%, wobei modernere Anlagen bereits rund 25% erzielen können (Kabir et al., 2018). Neuere Entwicklungen, die noch nicht im kommerziellen Maßstab eingesetzt werden, erreichen sogar Effizienzen von bis zu 40% (Herez et al., 2020). Vor dem Hintergrund des stetigen Fortschritts der Solartechnologie in den letzten Jahrzehnten erscheint daher die Annahme einer PV-Anlage mit einer Umwandlungseffizienz von 30% etwa im Jahr 2030 realistisch. Die Stromgestehungskosten aus PV lagen für Freianlagen in Süddeutschland bei einer Globalstrahlung von 1300 kWh m⁻² a⁻¹ im Jahr 2018 bei 3,71–4,95 ct kWh⁻¹. Das Fraunhofer-Institut für Solare Energiesysteme prognostiziert für Standorte mit hoher Sonneneinstrahlung von 2000–2500 kWh m⁻² a⁻¹, wie etwa in Südspanien oder der MENA-Region, für das Jahr 2035 Stromgestehungskosten von 1,8–2,9 ct kWh⁻¹ (Kost et al., 2018). Wird der Strom aus einem von einer PV-Anlage gespeisten Akku bezogen, fällt etwa der 2- bis 3-fache Preis an. Dabei kann jedoch ein Teil des Strombedarfs direkt aus der PV-Anlage gedeckt werden, während nur der bei aktueller Sonneneinstrahlung fehlende Anteil aus dem Akku bezogen werden muss, weshalb der Gesamtpreis niedriger liegt. Die Verwendung eines Akkusystems soll in dieser Planung jedoch vorerst vernachlässigt werden, zumal die Reaktoren ohnehin nur tagsüber betrieben werden.

Neben elektrischer Energie wird für die Produktion von CO₂ im LT-DAC-Verfahren auch thermische Energie benötigt. In typischen PV-Anlagen wird der nicht zu elektrischer Energie umgewandelte Teil der Strahlung entweder durch die PV-Zellen absorbiert, was diese aufheizt, oder an die Umgebung reflektiert. Neuere Entwicklungen konnten durch Kombination von PV-Zellen mit Solar-Thermischen-Kollektoren in sogenannten photovoltaisch-thermischen Hybridkollektoren (PVT) gleichzeitig elektrische und thermische Energie gewinnen und so bei nur geringen Mehrkosten die Gesamteffizienz auf bis zu 84% erhöhen (Herez et al., 2020). Daher erscheint der Einsatz eines PVT-Systems sinnvoll, um die zur CO₂-Produktion benötigte thermische Energie gleichzeitig mit der elektrischen Energie zu gewinnen. Die in dieser Planung verwendeten Parameter zur solaren Energiegewinnung sind in Tabelle 6.7 zusammengefasst.

Tabelle 6.7. Parameter zur Gewinnung elektrischer und thermischer Energie über photovoltaisch-thermische Hybridkollektoren.

Parameter	Größe Literatur	Größe verwendet	Einheit
Globalstrahlung	2000–2500	2500	kWh m ⁻² a ⁻¹
Elektrische Effizienz	20–40	30	%
Thermische Effizienz	24–81	50	%
Gesamteffizienz	30–84	80	%
Stromgestehungskosten für 2035	1,8–2,9	2,35	ct kWh ⁻¹

6.5.5 Produktion von Mikroalgenbiomasse und Lipiden

Zur Konzeptplanung der Mikroalgenanlage im industriellen Maßstab wurden zwei Szenarien kalkuliert: Erstens, die Produktion nicht-nährstofflimitierter, proteinreicher Mikroalgenbiomasse, die sich beispielsweise für die Futter- und Lebensmittelindustrie eignen könnte, in einem kontinuierlichen einstufigen Verfahren. Zweitens, die Produktion stickstofflimitierter, lipidreicher Mikroalgenbiomasse, die als Rohstoff zur Gewinnung von Biokraftstoffen genutzt werden kann, in einem 30-tägigen, zweiphasigen Satzprozess aus einer ersten, unlimitierten Wachstumsphase und einer zweiten, stickstofflimitierten Lipidbildungsphase. Zur Lipidproduktion wurde hier der Satzbetrieb gewählt, da dieser im Zeitraum der in dieser Arbeit durchgeführten Experimente zu einem höheren Lipidanteil in Biotrockenmasse führte. Die Prozesskennzahlen zur Biomasse- und Lipidproduktivität sind in Tabelle 6.8 zusammengefasst.

Tabelle 6.8. Prozesskennzahlen der zwei Szenarien zur Produktion nicht-nährstofflimitierter *M. salina*-Biomasse in einem kontinuierlichen einstufigen Verfahren sowie zur Produktion stickstofflimitierter Biomasse in einer kontinuierlichen zweistufigen Reaktorkaskade in Flachgerinnereaktoren.

Parameter	Unlimitierte Biomasse	N-limitierte Biomasse	Einheit
BTM-Produktivität	25 (3,79)	3,1 (0,47)	g m ⁻² d ⁻¹ (kg m ⁻³ d ⁻¹)
BTM-Konzentration	20	13,3	kg m ⁻³
Lipid-Produktivität	3,75 (0,57)	1,3 (0,19)	g m ⁻² d ⁻¹ (kg m ⁻³ d ⁻¹)
Lipidanteil	0,15	0,42	g g ⁻¹
Durchflussrate	0,19	-	d ⁻¹

Zur Abschätzung des CO₂-Bedarfs wurde ein Kohlenstoffgehalt in *M. salina* von 50% (Schlagermann et al., 2012; Toor et al., 2013) angenommen. Bei Kreislaufführung des

Prozesswassers nach der Zellabtrennung wurde in dieser Arbeit über 8 sequentielle Satzprozesse ein erhöhter mittlerer Biomasseertragskoeffizient für Harnstoff von $4,6 \text{ g g}^{-1}$ ermittelt, der hier zur Abschätzung des Harnstoffbedarfs bei unlimitiertem Wachstum verwendet wurde. Für die stickstofflimitierte Biomasseproduktion wurde ein Biomasseertragskoeffizient von $12,4 \text{ g g}^{-1}$ verwendet, was dem Satzprozess mit 4-fach konzentriertem ASW-Medium entsprach (siehe Abschnitt 6.1.2). Neben Harnstoff als Stickstoffquelle wurden auch Phosphor und Eisen als zusätzliche Nährstoffe berücksichtigt, mit denen das Meerwasser supplementiert werden muss. Der Verbrauch von Phosphor und Eisen wurde gemäß dem N:P:Fe-Verhältnis im ASW-Medium von 1:0,11:0,02 proportional zum Harnstoffverbrauch berücksichtigt. Daraus ergaben sich die in Tabelle 6.9 zusammengefassten, auf das Reaktorvolumen bezogenen Verbrauchswerte.

Tabelle 6.9. Auf das Reaktorvolumen bezogener Nährstoffverbrauch zur Produktion nicht-nährstofflimitierter *M. salina*-Biomasse in einem kontinuierlichen einstufigen Verfahren sowie zur Produktion stickstofflimitierter Biomasse im Satzverfahren in Flachgerinnereaktoren. Zur Abschätzung des CO_2 -Bedarfs wurde eine CO_2 -Umsatzeffizienz von 85% angenommen.

Nährstoff	Unlimitierte Biomasse	N-limitierte Biomasse	Einheit
CO_2	8,16	1,01	$\text{kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$
Harnstoff	0,82	0,04	$\text{kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$
Phosphor	43,6	2,1	$\text{g m}^{-3} \text{ d}^{-1}$
Eisen	7,9	0,4	$\text{g m}^{-3} \text{ d}^{-1}$

Die internationalen Nährstoffpreise betragen im Juli 2020 für Harnstoff $186,8 \text{ € t}^{-1}$, für Tripelsuperphosphat mit einem Anteil von 46% P_2O_5 $228,4 \text{ € t}^{-1}$ (IndexMundi, 2020) und für chelatiertes Eisen mit einem Eisengehalt von 13% 1300 € t^{-1} (Alibaba.com, 2020).

Aus den Verbrauchsdaten für CO_2 und Süßwasser sowie dem elektrischen Leistungseintrag im Flachgerinnereaktor lässt sich der elektrische und thermische Energiebedarf der Anlage abschätzen. Die Zellernte der Mikroalgensuspension erfolgt im Großmaßstab häufig in zwei Schritten, beispielsweise als Kombination eines flächenintensiven Flokkulations-/Sedimentationsschritts, gefolgt von einer Filtration oder Zentrifugation. Die im Vergleich zu anderen Photobioreaktorsystem hohen Zelldichten des Flachgerinnereaktors bieten den Vorteil, auf den ersten Schritt zur Konzentrierung der Biomasse verzichten zu können und so Kosten und Fläche einzusparen. Für die im Algentechnikum eingesetzte Zentrifugation mit

Spiralplattentechnologie, die die Biotrockenmasse in einem Schritt auf etwa 300 kg m^{-3} konzentriert, wurde ein Energiebedarf von $0,95\text{--}2 \text{ kWh m}^{-3}$ angegeben (Fasaei et al., 2018) und hier mit einem Mittelwert von $1,48 \text{ kWh m}^{-3}$ einkalkuliert. Der Energieertrag in Form von Biomasse wurde mit einer Standardverbrennungsenthalpie trockener Mikroalgenbiomasse von $22,5 \text{ kJ g}^{-1}$ ($6,25 \text{ kWh kg}^{-1}$) abgeschätzt (de Vree et al., 2015). Die einzelnen Posten zum Energieverbrauch und Energieertrag sind in Tabelle 6.10 zusammengefasst.

Tabelle 6.10. Auf das Reaktorvolumen bezogener elektrischer (el.) und thermischer (therm.) Energiebedarf zur Produktion nicht-nährstofflimitierter *M. salina*-Biomasse in einem kontinuierlichen einstufigen Verfahren sowie zur Produktion stickstofflimitierter Biomasse in einer kontinuierlichen zweistufigen Reaktorkaskade in Flachgerinnereaktoren. Die Energieeffizienz wurde aus dem Quotienten des Energieertrags in Biomasse und dem gesamten Energiebedarf gebildet.

Posten	Unlimitierte Biomasse	N-limitierte Biomasse	Einheit
Kultivierung (el.)	1,38	1,38	$\text{kWh m}^{-3} \text{ d}^{-1}$
Zellernte (el.)	0,28	0,05	$\text{kWh m}^{-3} \text{ d}^{-1}$
CO ₂ (el.)	2,04	0,25	$\text{kWh m}^{-3} \text{ d}^{-1}$
CO ₂ (therm.)	14,28	1,77	$\text{kWh m}^{-3} \text{ d}^{-1}$
Süßwasser (el.)	1,69	1,72	$\text{kWh m}^{-3} \text{ d}^{-1}$
Energieertrag in Biomasse (therm.)	26,67	2,93	$\text{kWh m}^{-3} \text{ d}^{-1}$
Energieeffizienz	1,20	0,57	-

Mit den jeweiligen Gestehungskosten für CO₂ (bei kostenfreier Wärme), Süßwasser, dem elektrischen Strom für die Kultivierung und Zellernte sowie den Nährstoffkosten lassen sich schließlich die Gesamtkosten zur Biomasseproduktion abschätzen. Aus den Gesamtkosten von $0,37 \text{ € kg}^{-1}$ für unlimitierte und $1,77 \text{ € kg}^{-1}$ für stickstofflimitierte Biotrockenmasse ergaben sich aus dem jeweiligen Gesamtlipidgehalt Kosten von $2,43 \text{ € kg}^{-1}$ Lipide beziehungsweise $4,22 \text{ € kg}^{-1}$ Lipide. Nicht enthalten sind dabei die Kosten der Arbeit sowie Kapitalkosten für Land, Reaktoren, Zentrifugen und Infrastruktur wie Straßen und Rohrleitungen. Die einzelnen Kostenpunkte sind in Tabelle 6.11 zusammengefasst. Die relativen Anteile der einzelnen Kosten sind in Abbildung 6.17 dargestellt.

Tabelle 6.11. Biotrockenmassespezifische Produktionskosten nicht-nährstofflimitierter *M. salina*-Biomasse in einem kontinuierlichen einstufigen Verfahren sowie stickstofflimitierter Biomasse in einer kontinuierlichen zweistufigen Reaktorkaskade in Flachgerinnereaktoren.

Posten	Unlimitierte Biomasse	N-limitierte Biomasse	Einheit
Kultivierung	0,9	6,9	ct kg ⁻¹
Zellernte	0,2	0,2	ct kg ⁻¹
CO ₂	8,6	8,6	ct kg ⁻¹
Süßwasser	19,4	158,5	ct kg ⁻¹
Harnstoff	4,1	1,6	ct kg ⁻¹
Phosphor	1,3	0,5	ct kg ⁻¹
Eisen	2,1	0,8	ct kg ⁻¹
Gesamt	36,5	177,2	ct kg ⁻¹

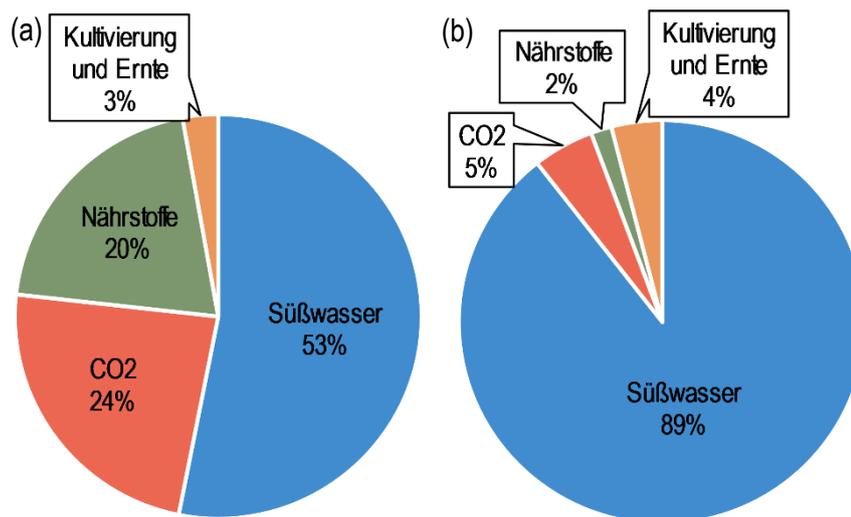


Abbildung 6.17. Kostenanteile zur Produktion von (a) nicht-nährstofflimitierter *M. salina*-Biomasse in einem kontinuierlichen einstufigen Verfahren sowie zur Produktion von (b) stickstofflimitierter Biomasse in einer kontinuierlichen zweistufigen Reaktorkaskade in Flachgerinnereaktoren.

Unter der Annahme von 100 Gerinneflächen und einer jährlichen Auslastung von 90% kann schließlich die Produktionskapazität und Fläche der Gesamtanlage kalkuliert werden (Tabelle 6.12). Zur Kalkulation der minimalen Fläche der PVT-Solaranlage wurde jeweils der Faktor berücksichtigt, der den größeren Flächenbedarf stellt. Bei der Produktion unlimitierter Biomasse mit hohem CO₂-Verbrauch war dies die thermische Leistung der Anlage, bei der Produktion stickstofflimitierter Biomasse mit geringerem CO₂-Verbrauch die elektrische Leistung. Die Kultivierungsfläche nahm mit 96,9% beziehungsweise 98,9% den Großteil der Gesamtanlage ein. Nicht berücksichtigt wurde der Flächenbedarf zur Süßwasserproduktion

sowie für Infrastruktur (zum Beispiel Straßen, Rohrleitungen, Prozessleitstände), Lagerung und Stammkulturherstellung, die jedoch im Vergleich zur Kultivierungsfläche klein ausfallen.

Tabelle 6.12. Produktionskapazität, Verbrauchsdaten und Flächenbedarf einer Produktionsanlage mit 100 Gerinneflächen zur Produktion nicht-nährstofflimitierter *M. salina*-Biomasse in einem kontinuierlichen einstufigen Verfahren sowie zur Produktion stickstofflimitierter Biomasse in einer kontinuierlichen zweistufigen Reaktorkaskade in Flachgerinnereaktoren. Produktionsdaten sind positiv, Verbrauchsdaten negativ angegeben.

Produkt/Rohstoff	Unlimitierte Biomasse	N-limitierte Biomasse	Einheit
Biotrockenmasse	790,5	97,9	t a ⁻¹
Lipide	118,6	41,1	t a ⁻¹
CO ₂	-1.703	-211	t a ⁻¹
Süßwasser	-117.827	-119.916	m ³ a ⁻¹
Elektrische Energie	-1.125	-710	MWh a ⁻¹
Thermische Energie	-2.981	-581	MWh a ⁻¹
Kultivierungsfläche	9,63	9,63	ha
Fläche CO ₂ -Produktion	681	84,3	m ²
Fläche PVT-Solarfeld	2.385	947	m ²
Gesamtfläche	9,93	9,73	ha

6.5.6 Diskussion

Die abgeschätzten Produktionskosten für nicht-nährstofflimitierte Mikroalgenbiomasse von 0,37 € kg⁻¹ sowie für Lipide von 2,43 € kg⁻¹ ohne Stickstofflimitierung beziehungsweise von 4,22 € kg⁻¹ mit Stickstofflimitierung liegen etwa in der Größenordnung der günstigsten Szenarios aus Literaturdaten für offene Photobioreaktorsysteme. Davis et al. (2016) kalkulierten Mikroalgenproduktionskosten von 0,33–0,68 € kg⁻¹ in Raceway Ponds, während die Kosten für geschlossene Reaktorsysteme bei mindestens 4–16 € kg⁻¹ liegen (Norsker et al., 2011; Acien et al., 2017a). Für Biodiesel aus Mikroalgenbiomasse wurden Preise von meist 2–4 \$ L⁻¹ abgeschätzt (Lundquist et al., 2010; Beal et al., 2015), je nach Grundannahmen und Reaktorsystemen reichen die Kosten jedoch von 0,5–75 \$ L⁻¹ (Chisti, 2013; Nagarajan et al., 2013). Die hier durchgeführte Kostenabschätzung zeigt jedoch, dass die Lipidakkumulation durch Stickstofflimitierung – aufgrund der dafür notwendigen langen Verweilzeit im Reaktor und dem daraus resultierenden Süßwasserbedarf – zu einer erheblichen Erhöhung der Produktionskosten führt. Ohne zusätzliche Berücksichtigung der jeweiligen

Biomassezusammensetzung auf die weiteren Prozessierungsschritte erscheint die unlimitierte Prozessstrategie zur Produktion von Lipiden somit trotz des geringeren Lipidgehalts von 15% aus wirtschaftlicher Sicht vorteilhafter.

Zu berücksichtigen ist, dass in der hier durchgeführten Kostenabschätzung nur die Kosten bis zur Bereitstellung der feuchten Mikroalgenpaste mit einem Restwassergehalt von etwa 70% enthalten sind. Außerdem sind keine Betriebskosten für Arbeit sowie Kapitalkosten für Land, Reaktorsysteme und Infrastruktur wie Straßen und Rohrleitungen enthalten. Je nach Szenario ist in der Literatur die Arbeit für etwa 15–50% der Betriebskosten verantwortlich, während Kapitalkosten ungefähr 23–60% der Gesamtkosten ausmachen (Lundquist et al., 2010; Acien et al., 2017a). Unter Berücksichtigung dieser Ausgaben lässt sich daher etwa eine Verdopplung der realen Produktionskosten annehmen.

Andererseits nehmen günstige Literaturszenarios meist eine kostenfreie oder günstige CO₂-Quelle, eine kostenfreie oder günstige Nährstoffversorgung durch Kombination mit landwirtschaftlicher oder urbaner Abwasserbehandlung, sowie einen günstigen Süßwasserpreis durch lokale Versorger beziehungsweise die Kopplung mit einer Abwasserbehandlung an. In der hier durchgeführten Konzeption einer möglichst autarken Anlage mit eigenständiger CO₂- und Wasserversorgung verursachen CO₂, Nährstoffe und Süßwasser jedoch etwa 97% der Gesamtkosten. Vor allem die Produktion von Süßwasser über Umkehrosmose aus Meerwasser für den Verdunstungsausgleich der Reaktoren stellt mit einem Anteil von 53–89% eine enorme Belastung dar. Die Verwendung von Meerwasser als Verdunstungsausgleich ist mit dem in dieser Arbeit verwendeten Stamm *Microchloropsis salina* aufgrund der hohen Verdunstungsrate des Flachgerinnereaktors in der Größenordnung von 0,6 d⁻¹ nicht praktikabel. Dies würde im Satzbetrieb innerhalb von nur einer Woche zu einem Anstieg der Salinität von 3,5% auf 18,2% führen. Auch im kontinuierlichen Betrieb bei einer Durchflussrate von 0,2 d⁻¹ würde sich im Reaktor eine Salinität von etwa 14% im Gleichgewicht einstellen. Untersuchungen zum Wachstum von *M. salina* bei erhöhtem Salzgehalt zeigten jedoch, dass bereits eine Salinität von 6% zu einer Reduktion der Biomasseproduktivität um 37% führt (Daten nicht gezeigt). Die Verwendung von Meerwasser als Verdunstungsausgleich im Flachgerinnereaktor scheint daher nur mit hypersalinen Mikroalgenpezies realisierbar. Der Einsatz von Brackwasser mit reduziertem Salzgehalt, beispielsweise durch unvollständige Umkehrosmose hergestellt oder an einer Flussmündung entnommen, könnte einen Kompromiss zur Reduktion der Süßwasserkosten darstellen. Trotz

der starken Verdunstung in offenen Photobioreaktorsystemen liegt der biomassespezifische Süßwasserverbrauch von Mikroalgen mit hier $149 \text{ m}^3 \text{ t}^{-1}$ für unlimitierte Biomasse und $2918 \text{ m}^3 \text{ t}^{-1}$ für Lipide aus stickstofflimitierter Biomasse deutlich niedriger als beispielsweise für Sojabohnen ($2037 \text{ m}^3 \text{ t}^{-1}$) beziehungsweise Sojaöl ($3980 \text{ m}^3 \text{ t}^{-1}$) (Mekonnen und Hoekstra, 2011).

Auch der Einsatz von Abwässern als Nährstoffquelle böte neben einer günstigen Nährstoffversorgung ebenso den Vorteil, Süßwasserkosten einzusparen (Zhu, 2015). Durch die Abwasserbehandlung als öffentliche Dienstleistung ließen sich zudem möglicherweise Gutschriften generieren, die die Wirtschaftlichkeit der Gesamtanlage positiv beeinflussen könnten. Außerdem verbleibt bei der Prozessierung der Biomasse durch hydrothermale Verflüssigung oder Lipidextraktion ein Großteil des Stickstoffs und Phosphors in einem wässrigen Überstand, der in den Prozess rückgeführt werden kann, um die Nährstoffe zu rezyklieren (Chaudry et al., 2015; Park und Lee, 2016). Eine Alternative zur Reduktion der Nährstoffkosten könnte die Verwendung günstigerer Agrardüngemischungen sein. So nahmen Davis et al. (2016) biomassespezifische Nährstoffkosten von $18,3 \text{ € t}^{-1}$ für die Supplementation mit Ammonium und Diammoniumphosphat an, während in der hier durchgeführten Kalkulation Nährstoffkosten von $74,5 \text{ € t}^{-1}$ für unlimitierte Biomasse und $29,3 \text{ € t}^{-1}$ für stickstofflimitierte Biomasse anfallen.

Zuletzt bietet auch die CO_2 -Versorgung Optimierungspotential zur Kostenreduktion, sofern CO_2 als Abgas beispielsweise von einem lokalen Kraftwerk bezogen werden kann. Dies würde den elektrischen und thermischen Energiebedarf der Gesamtanlage deutlich reduzieren. Alle vorgestellten Optionen zur Kosteneinsparung – die Verwendung eines salzhaltigen Verdunstungsausgleichs, die Kombination mit der Abwasserbehandlung sowie der Bezug von CO_2 aus Industrieabgasen – gehen aufgrund möglicherweise ungünstigerer Wachstumsbedingungen jedoch mit einer potentiellen Reduktion der Biomasse- oder Lipidproduktivität einher, so dass hier ein optimaler Kompromiss zu suchen ist.

7 Zusammenfassung

Die weiter zunehmenden globalen Emissionen von Treibhausgasen sowie das auf breiter internationaler Front angestrebte Ziel, die Erderwärmung bis zum Ende des Jahrhunderts auf 1,5–2 °C zu begrenzen, erhöhen den Druck, die Wirtschaft hin zu einer möglichst decarbonisierten Bioökonomie zu transformieren (European Commission, 2018; IPCC, 2018). Vor diesem Hintergrund bieten die photosynthetisch aktiven Mikroalgen eine vielversprechende Möglichkeit zur Produktion von Biomasse aus Sonnenlicht als Energie- und CO₂ als Kohlenstoffquelle (Bell et al., 2018).

Mikroalgen erreichen im Vergleich zu klassischen Agrarpflanzen bis zu 10-fach höhere Produktivitäten, sind dabei weniger stark von saisonalen Wetterveränderungen beeinflusst und benötigen keine oder kaum Pestizide (Schenk et al., 2008; Posten, 2012). Ihre Produktion ist nicht auf fruchtbare Böden angewiesen, so dass eine Konkurrenzsituation mit der Lebensmittelproduktion um landwirtschaftliche Flächen vermieden wird (Moody et al., 2014). Aufgrund ihrer vielseitigen Zusammensetzung werden Mikroalgenbiomasse oder daraus isolierte Produkte wie Vitamine, Pigmente und Fettsäuren bereits kommerziell als Nahrungsergänzungs- oder Futtermittel sowie im pharmazeutischen Bereich eingesetzt (Oncel, 2013; Slocombe und Benemann, 2016). Einige Spezies sind unter gezielten Stressbedingungen, beispielsweise einer Stickstofflimitierung, zudem in der Lage, große Mengen an energiereichen Speicherlipiden, vor allem Triacylglyceriden, zu akkumulieren, die sich als Rohstoff zur Produktion von Flüssigkraftstoffen eignen (Hu et al., 2008).

Üblicherweise werden sogenannte Raceway Ponds zur offenen Massenproduktion von Mikroalgen unter freiem Himmel eingesetzt, in denen die Zellsuspension in einer ovalen, ebenerdigen Bahn mit einer Schichttiefe von 15–30 cm durch Schaufelräder zirkuliert wird (Carvalho et al., 2014). Wegen der starken Lichtabschwächung bei hoher Schichttiefe können Mikroalgen in diesem Reaktorsystem jedoch nur bis zu einer Biotrockenmasse- (BTM) Konzentration von 0,5–1 g L⁻¹ produktiv wachsen, was die kosten- und flächenintensive Abtrennung großer Wassermengen zur Produktaufarbeitung erforderlich macht (de Vree et al., 2015). Somit sind die Produktionskosten bislang zu hoch, um eine kommerzielle Herstellung von Produkten mit geringer Wertschöpfung wie Kraftstoffe oder Plattformchemikalien aus Mikroalgen zu ermöglichen.

Ein Ansatz zur Reduktion der Produktaufarbeitungskosten ist die Kultivierung von Mikroalgen in dünnen Suspensionsschichten im offenen Flachgerinnereaktor (FGR). In diesem Reaktionssystem fließt die Mikroalgensuspension in einer nur wenige Millimeter tiefen Schicht schwerkraftgetrieben ein geneigtes Gerinne herab und wird nach dem Durchlauf mittels einer Kreiselpumpe zurück an den Ausgangspunkt gehoben. Flachgerinnereaktoren mit einer Größe von 4–50 m² werden im Algentechnikum der Technischen Universität München (TUM) betrieben, wo dynamische Temperatur- und Lichtverläufe physikalisch simuliert werden können, um Mikroalgenprozesse unter realistischen Klimabedingungen zu erforschen. So wurden im FGR unter den Klimabedingungen eines spanischen Sommertages mit der für die Massenproduktion geeigneten Meerwasserspezies *Microchloropsis salina* (*M. salina*) hohe Biomasseproduktivitäten bei BTM-Konzentrationen von bis zu 50 g L⁻¹ erzielt (Apel et al., 2017). Wesentliche Kostenfaktoren des Prozesses sind dabei die Bereitstellung von Nährstoffen, CO₂ und elektrischer Energie.

Durch die Kreislaufführung des eingesetzten Prozesswassers nach der Zellabtrennung können unverbrauchte Nährstoffe wiederverwertet und Kosten zur Abwasseraufbereitung eingespart werden (Farooq et al., 2015b). Allerdings könnten vor allem bei hohen BTM-Konzentrationen im Prozesswasser akkumulierende Substanzen zur Inhibition des Mikroalgenwachstums führen. Eine Zielsetzung dieser Arbeit war daher die Untersuchung des Einflusses von Wasser- und Nährstoffrecycling auf Wachstum und Biomasseproduktivität von *M. salina* im FGR.

Wie auch in Raceway Ponds, wurden in den im Algentechnikum eingesetzten Flachgerinnereaktoren bislang nur 10-20% des als Kohlenstoffquelle verwendeten CO₂ in Biomasse fixiert (Doucha und Lívanský, 2006; Apel et al., 2017). Der größte Teil des künstlich eingetragenen CO₂ ging also an die Atmosphäre verloren, was einen erheblichen Kostenfaktor darstellt. Folglich sollte untersucht werden, welche Ursache zu der geringen CO₂-Umsatzeffizienz führt und wie diese gesteigert werden kann.

Ein weiterer Ansatz zur Senkung der Produktionskosten ist die Reduktion des hydraulischen Leistungseintrags, der im FGR etwa um den Faktor 2–3 größer ist als im Raceway Pond. Da Mikroalgen bei Dunkelheit kein CO₂ fixieren, sollte untersucht werden, wie sich die nächtliche Abschaltung der Kreiselpumpe und Sammlung der Suspension im Auffangbecken am unteren Ende des Gerinnes auf die Biomasseproduktivität des Prozesses auswirkt.

Zur Herstellung von Flüssigkraftstoffen ist vor allem Biomasse mit einem hohen Lipidgehalt interessant. In geschlossenen Laborreaktoren wurde die Akkumulation von Lipiden mit *M. salina* und einigen weiteren Mikroalgenpezies auf bis zu 60% der Trockenmasse unter stickstofflimitierten Wachstumsbedingungen gezeigt (Hu et al., 2008; Pfaffinger et al., 2016). Die Übertragung dieser Prozesse in offene Photobioreaktoren bei realen Klimabedingungen zeigte allerdings eine um bis zu 50% geringere Lipidbildung. So wurden mit *M. salina* in Raceway Ponds nur Lipidanteile von 25% bei niedrigen Lipidkonzentrationen von $< 0,4 \text{ g L}^{-1}$ erreicht (Boussiba et al., 1987; Crowe et al., 2012). Ein weiteres Ziel dieser Arbeit war daher die Identifikation geeigneter Verfahren und Kultivierungsbedingungen zur Steigerung des Lipidgehalts und der Lipidkonzentration mit *M. salina* im FGR. Die Modellierung und Simulation von Biomassewachstum und Lipidbildung von *M. salina* sollte zudem die modellgestützte Maßstabsvergrößerung eines Prozesses ermöglichen, um die Skalierbarkeit der Lipidproduktion zu untersuchen.

In Bezug auf die erste Zielsetzung dieser Arbeit – die Untersuchung des Wasser- und Nährstoffrecyclings in Mikroalgenprozessen – wurde eine Serie von 8 sequentiellen Satzprozessen mit *M. salina* im FGR mit einer Oberfläche von 8 m^2 bei physikalischer Simulation eines spanischen Sommertages durchgeführt (Abbildung 7.1a). Am Ende jedes 12–14-tägigen Prozesses wurde die Mikroalgenbiomasse durch Zentrifugation abgetrennt und der wässrige Überstand direkt als Reaktionsmedium für den nächsten Prozess wiederverwendet. Verbrauchte Nährstoffe wurden nach Bedarf ergänzt, um Nährstofflimitierungen zu vermeiden. Mit frischem Reaktionsmedium wurde eine BTM-Konzentration von $31,2 \text{ g L}^{-1}$ bei einer Gesamtproduktivität von $15,6 \text{ g m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ ($2,3 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) erzielt. Die Wiederverwendung des Wassers führte jedoch bereits nach der dritten Kreislaufführung zu einer Reduktion der spezifischen Wachstumsrate um 40% und der Biomasseproduktivität um 60%. Nach 6-facher Kreislaufführung war die Produktivität um 86% im Vergleich zur Verwendung von frischem Medium gesunken. Beim Projektpartner am Institut für Wasserchemie der TUM durchgeführte Analysen des Prozesswassers konnten zwei wahrscheinliche Ursachen für den Produktivitätsverlust identifizieren: Eine vollständige Erschöpfung des im Reaktionsmedium vorhandenen Sulfats als Schwefelquelle sowie eine starke Akkumulation von Kaliumionen. Letztere war eine Folge der regelmäßigen Zugabe von Kaliumnitrat als Stickstoffquelle. Auf diesen Beobachtungen aufbauend wurde eine zweite Serie von 8 sequentiellen Satzprozessen durchgeführt, wobei Kaliumnitrat durch Harnstoff als

Stickstoffquelle ersetzt, und die Sulfatkonzentration regelmäßig überwacht und gegebenenfalls durch Zugabe von Magnesiumsulfat ergänzt wurde. Es zeigte sich dabei auch nach 8 Prozessen keine signifikante Abnahme der spezifischen Wachstumsrate und Biomasseproduktivität. Stattdessen ließ sich sogar eine Produktivitätssteigerung von bis zu 37% in 1- bis 5-fach wiederverwendetem Wasser gegenüber der Verwendung frischen Mediums beobachten. Gleichzeitig sank der biomassespezifische Nährstoffverbrauch um bis zu 34%. Wasseranalysen führten zu der Schlussfolgerung, dass durch Sekretion oder Zellyse ins Medium freigesetzte organische Substanzen möglicherweise für diesen wachstumsfördernden Effekt verantwortlich waren, indem sie von *M. salina* als zusätzliche heterotrophe Substrate verstoffwechselt wurden.

Durch den Austausch von Kaliumnitrat mit Harnstoff als Stickstoffquelle konnte zudem die Effizienz des CO₂-Umsatzes gesteigert werden: Die zuvor bei Einsatz von Kaliumnitrat akkumulierenden Kaliumionen führten zu einem Anstieg der Alkalinität und damit der Konzentration an gelöstem CO₂ im Medium. Dies hatte einen verringerten Stoffübergang von CO₂ in die Suspension sowie eine erhöhte Desorption von CO₂ an die Atmosphäre zur Folge, so dass in zweiwöchigen Satzprozessen – ähnlich wie in Raceway Ponds – nur 10–20% des eingespeisten CO₂ in Biomasse fixiert wurden. Durch Verwendung von Harnstoff als Stickstoffquelle konnte der Alkalinitätsanstieg reduziert und die Effizienz des CO₂-Umsatzes auf etwa 50% gesteigert werden. Eine mechanische Verbesserung des CO₂-Eintragungssystems sowie die zusätzliche Kontrolle der Alkalinität bei 10–15 mM führten schließlich zu einem CO₂-Umsatz von 85%, so dass der CO₂-Bedarf des Prozesses auf ein Achtel gesenkt wurde.

Eine weitere Steigerung der Effizienz des Prozesses wurde durch Reduktion des hydraulischen Leistungseintrags im FGR erreicht. Anstatt die Kreiselpumpe des FGR durchgehend zu betreiben, wurde die Mikroalgensuspension nachts im Auffangbecken gesammelt und dort kostengünstiger durch Druckluftbegasung durchmischt, um Sedimentation und Sauerstoffmangel zu vermeiden. Dies hatte keinen negativen Einfluss auf Wachstum und Biomasseproduktivität von *M. salina*. Durch automatisiertes Abschalten der Pumpe und Begasen mit Druckluft bei Nacht wurde der hydraulische Leistungseintrag somit um 42% auf 0,25 W m⁻² (1,1 kJ g⁻¹ BTM) reduziert und ist damit vergleichbar zum Raceway Pond (Lundquist et al., 2010).

Zudem wurde die Produktion von Lipiden mit *M. salina* im FGR untersucht. *M. salina* akkumuliert Speicherlipide als Stressantwort auf einen Stickstoffmangel (Pfaffinger et al.,

2016; Ma et al., 2017). Da anhaltender Stickstoffmangel jedoch gleichzeitig zu einer starken Limitierung des Zellwachstums führt, muss ein entsprechender Satzprozess in zwei zeitlich getrennte Phasen aufgeteilt sein: eine unlimitierte Wachstumsphase zur Biomasseproduktion, gefolgt von einer stickstofflimitierten Phase zur Lipidakkumulation. Eine erhöhte Nährstoffmenge in der Wachstumsphase führt dabei einerseits zu einer höheren Zelldichte, so dass in der zweiten Phase potentiell mehr Lipide als intrazelluläres Produkt gebildet werden können. Andererseits reduziert eine höhere Zelldichte aber die Lichtverfügbarkeit in der Suspension, was sich wiederum negativ auf die Produktbildung auswirken kann. Daher sollte zunächst eine optimale Nährstoffkonzentration für eine möglichst hohe Lipidproduktivität gefunden werden. Dazu wurden 35-tägige Satzprozesse im 8 m²-Maßstab bei unterschiedlichen Nährstoffkonzentrationen durchgeführt. Der höchste Lipidanteil in Biotrockenmasse von 46% wurde bei einer niedrigen initialen Harnstoffkonzentration von 0,6 g L⁻¹ erzielt. Allerdings erhöhte sich bei einer initialen Harnstoffkonzentration von 1,2 g L⁻¹ die Gesamtlipidproduktivität auf 1,3 g m⁻² d⁻¹ (0,19 g L⁻¹ d⁻¹) und die maximale Lipidkonzentration auf 6,6 g L⁻¹ bei einem Lipidanteil von 43%. Eine weitere Erhöhung der Nährstoffkonzentration führte zu einer reduzierten Lipidproduktivität und -konzentration. Die in diesem Verfahren erzielten Lipidkonzentrationen und -produktivitäten gehören im Literaturvergleich zu den höchsten in Mikroalgenprozessen unter realen Klimabedingungen berichteten Werten. Lipidkonzentrationen von mehr als 2 g L⁻¹ waren bislang nur in geschlossenen Photobioreaktoren unter kontrollierten Laborbedingungen erzielt worden.

Der zweiphasige Satzprozess zur Lipidproduktion mit einer initialen Harnstoffkonzentration von 1,2 g L⁻¹ wurde anschließend in eine zweistufige Reaktorkaskade zur kontinuierlichen Lipidproduktion überführt. Dabei diente der erste, kontinuierlich mit Zulaufmedium mit 1,2 g L⁻¹ Harnstoff versorgte 8 m²-FGR der Biomasseproduktion. Ein Teil des Ablaufs des ersten Reaktors mit einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 4,3 Tagen wurde dem zweiten 8 m²-Reaktor mit einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 15 Tagen als Zulauf zugeführt, wo aufgrund eines Stickstoffmangels die Lipidakkumulation induziert wurde. Auf diese Weise wurde in einem 30-tägigen Prozess die kontinuierliche Produktion von 3,0–3,5 g L⁻¹ Lipiden bei einem Lipidanteil von 30–34% und einer Gesamtlipidproduktivität der Reaktorkaskade von 1,4 g m⁻² d⁻¹ (0,20 g L⁻¹ d⁻¹) erzielt. Um ideale Betriebsparameter der kontinuierlichen Lipidproduktion zu identifizieren, wurde ein Modellansatz validiert, der die Simulation von Wachstum und Lipidbildung von *M. salina* im FGR bei den Klimabedingungen des spanischen

Sommertages mit Ungenauigkeiten in der Größenordnung von 10% ermöglicht. Auf dieser Basis erfolgte eine modellgestützte Maßstabsvergrößerung der kontinuierlichen Lipidproduktion. Dafür wurde der Prozess in eine zweistufige Kaskade aus einem ersten 8 m²-Reaktor zur Biomasseproduktion und einem zweiten 50 m²-Reaktor zur Lipidakkumulation überführt. Bei einer mittleren hydraulischen Verweilzeit von 2,5 Tagen im ersten und 20 Tagen im zweiten Reaktor wurde eine Lipidproduktivität von 1,5 g m⁻² d⁻¹ (0,23 g L⁻¹ d⁻¹) bei einer Lipidkonzentration von 3,9 g L⁻¹ und einem Lipidanteil in Biotrockenmasse von 31% erreicht (Abbildung 7.1b). Die Maßstabsvergrößerung bei optimierten Betriebsparametern führte im Vergleich zum produktivsten Satzverfahren zu einer Steigerung der volumetrischen Produktivität von 21%. Insgesamt übertrafen die in dieser Arbeit erreichten Lipidkonzentrationen und volumetrischen Produktivitäten Literaturwerte aus Raceway Ponds etwa um den Faktor 10.

Zuletzt wurde anhand der hier erarbeiteten Prozessstrategien und Leistungsdaten eine Abschätzung der Produktionskosten für Mikroalgenbiomasse und Lipide im FGR im industriellen Maßstab vorgenommen. Bei weitestgehend autarker Versorgung der Anlage – durch technische Adsorption von CO₂ aus der Luft, Produktion von Süß- aus Meerwasser durch Umkehrosmose und Energiegewinnung durch ein Solarfeld – ergaben sich Produktionskosten von 0,37 € kg⁻¹ für nicht-stickstofflimitierte Biomasse oder 4,22 € kg⁻¹ für Lipide aus stickstofflimitierter Biomasse. Damit sind die Kosten vergleichbar zu günstigen Literaturszenarios zur Mikroalgenproduktion in Raceway Ponds. Mit etwa 96% machten vor allem Süßwasser, aber auch CO₂ und Nährstoffe den größten Teil der Produktionskosten aus, so dass hier mit dem größten Einsparpotential zu rechnen ist (Abbildung 7.1c). Die Kostenabschätzung zeigte, dass die Induktion der Lipidakkumulation durch Stickstofflimitierung – aufgrund der dafür notwendigen langen Verweilzeit im Photobioreaktor – zu einer erheblichen Steigerung der Produktionskosten führt. Sofern die weitere Prozessierung der Mikroalgenbiomasse nicht zwingend auf einen möglichst hohen Lipidgehalt angewiesen ist, ist die Biomasseproduktion bei unlimitierten Wachstumsbedingungen daher aus wirtschaftlicher Sicht vorteilhafter.

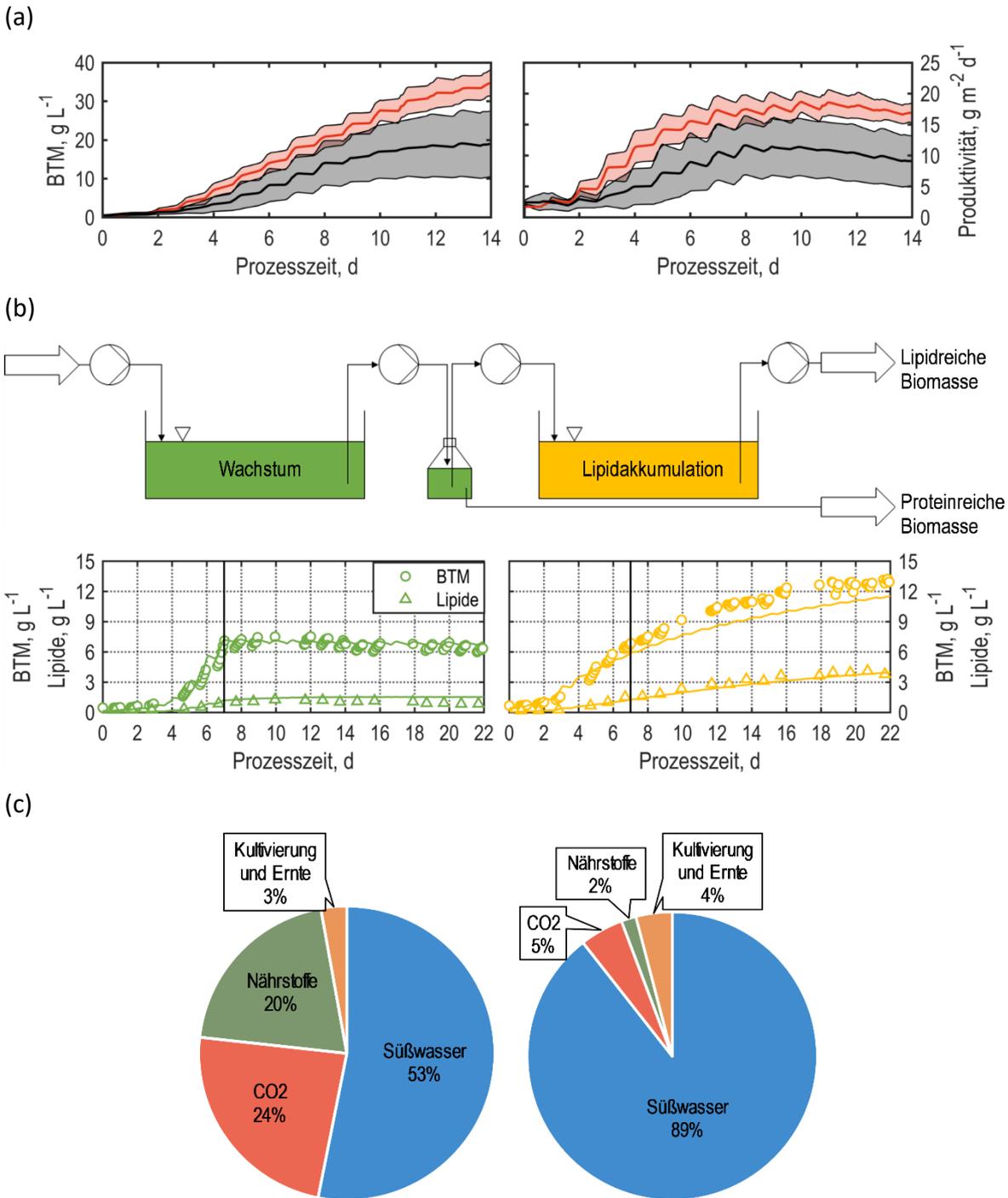


Abbildung 7.1. Mikroalgenprozesse mit *M. salina* im Flachgerinnereaktor bei physikalischer Simulation eines spanischen Sommertages. (a) Mittlere Biotrockenmassekonzentration (BTM) und Biomasseproduktivität in Untersuchungen zum Wasserrecycling in je 8 sequentiellen Satzprozessen mit KNO_3 als Stickstoffquelle (schwarz) sowie mit Harnstoff als Stickstoffquelle (rot). Farbige Flächen stellen ± 1 Standardabweichung der entsprechenden Prozessserien dar. (b) BTM- (o) und Lipidkonzentration (Δ) in einer kontinuierlichen Kaskade aus zwei Flachgerinnereaktoren. Der erste Reaktor (8 m^2 , grün) wurde zur Biomasseproduktion kontinuierlich mit frischem Medium versorgt und bei einer hydraulischen Verweilzeit von 2,5 d betrieben. Der zweite Reaktor (50 m^2 , gelb) zur Lipidakkumulation verwendete den Ablauf des ersten Reaktors als Zulauf bei einer hydraulischen Verweilzeit von 20 d. Farbige Linien zeigen die jeweiligen Simulationen durch das hier erarbeitete Modell. Die Vertikalen stellen den Beginn des kontinuierlichen Betriebs dar. (c) Abgeschätzte Kostenanteile zur Produktion von proteinreicher, unlimitierter Mikroalgenbiomasse (links) und stickstofflimitierter, lipidreicher Biomasse (rechts) im industriellen Maßstab mit autarker CO_2 -, Süßwasser-, und Energieproduktion.

8 Ausblick

In dieser Arbeit wurden Mikroalgenprozesse zur Produktion von Lipiden im offenen Flachgerinnereaktor unter den realen Klimabedingungen eines südspanischen Sommertages untersucht. Bei der verwendeten Klimasimulation handelte es sich um einen warmen, wolkenfreien Tag, der sich ideal zur Mikroalgenproduktion eignete und im Algentechnikum täglich wiederholt wurde. Die erzielten Ergebnisse sind im Jahresmittel daher im oberen Bereich der erwartbaren Prozessleistung anzusiedeln. Um die Mikroalgen- und Lipidproduktion im FGR auch unter wechselhaften Freilandbedingungen evaluieren zu können, könnte zukünftig eine Klimasimulation gewählt werden, die Wetterdaten eines geeigneten Standorts – neben Südeuropa beispielsweise auch Nordafrika – auch über mehrere Tage oder Wochen abbildet. Zudem könnten bei im Jahresrhythmus wechselnden Klimabedingungen unterschiedliche Mikroalgenpezies mit verschiedenen Temperaturoptima jahreszeitenabhängig optimale Produktivitäten erzielen.

Wegen der geringen Wertschöpfung ist die Herstellung von Flüssigkraftstoffen aus Mikroalgenöl bislang nicht wirtschaftlich umsetzbar. Eine Abschätzung der Produktionskosten in dieser Arbeit zeigte, dass vor allem die Produktion von Süßwasser als Verdunstungsausgleich zu einem Großteil des vergleichsweise hohen Preises beiträgt. Die Verwendung von salzhaltigem Wasser bietet daher großes Potential zur Kosteneinsparung. Mit der hier verwendeten Spezies *Microchloropsis salina* ist ein salzhaltiger Verdunstungsausgleich jedoch nur bei Verfügbarkeit geeigneten Brackwassers mit einer Salinität von $\leq 1\%$ denkbar, da die hohe volumetrische Verdunstungsrate des FGR sonst sehr schnell zu einer zu hohen Salzkonzentration führt. Eine Alternative böte die Verwendung hypersaliner Mikroalgenpezies, die auch bei hohen Salzkonzentrationen von 10–20% wachsen können. So wird beispielsweise *Dunaliella salina* bereits kommerziell unter hypersalinen Bedingungen zur Produktion von β -Carotin in offenen Becken oder Raceway Ponds eingesetzt (Moheimani und Borowitzka, 2006; Borowitzka und Moheimani, 2013). Ebenso könnte die Salztoleranz anderer Meerwasserspezies durch klassische Züchtungsmethoden wie UV-Bestrahlung oder chemische Mutagenese oder durch eine adaptive Laborevolution unter schrittweise zunehmender Salzkonzentration gesteigert werden. Der Einsatz einer gezielten

Genomeditierung mittels CRISPR/Cas9 oder ähnlichen Methoden zur Erhöhung der Salztoleranz erscheint für offene Kulturen im Freiland momentan jedoch nicht realistisch.

Eine andere Möglichkeit, Kosten zur Süßwasserproduktion einzusparen, ist die Verwendung von landwirtschaftlichen oder urbanen Abwässern. Diese könnten nicht nur als Verdunstungsausgleich dienen, sondern zugleich wichtige Nährstoffe wie Stickstoff und Phosphor eintragen (Craggs et al., 2013; Molazadeh et al., 2019). Zudem könnten sich, abhängig von den lokalen Regularien, durch Kopplung der Mikroalgenproduktion mit der Abwasserbehandlung als öffentliche Dienstleistung Gutschriften generieren lassen, die die Wirtschaftlichkeit des Gesamtprozesses verbessern. Jedoch muss untersucht werden, inwiefern sich die Verwendung von Abwässern negativ auf die Prozessleistung auswirkt, beispielsweise durch mikrobielle Kontaminationen, ungünstigere Nährstoffverhältnisse oder Trübstoffe, die die Lichtverfügbarkeit in der Suspension verringern.

Weiterhin könnte sich die Wertschöpfung von Mikroalgenprozessen durch Erschließung zusätzlicher Produkte im Bereich der Nahrungsergänzungsmittel, Pharmazeutika oder Spezialchemikalien erhöhen lassen. Durch Separation der Mikroalgenbiomasse in verschiedene Fraktionen in einem Bioraffinerie-Konzept könnten, neben den Triacylglyceriden zur Kraftstoffproduktion, verschiedene weitere parallele Produktströme generiert werden (Vanthoor-Koopmans et al., 2013). So werden bereits essentielle ω -3-Fettsäuren wie Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure, Pigmente und Antioxidantien wie Astaxanthin, β -Carotin und Phycocyanin, oder Vitamine und Exopolysaccharide in jeweils einzelnen Prozessen aus Mikroalgen gewonnen (Schiano di Visconte et al., 2019). Gerade die in dieser Arbeit verwendete Spezies *Microchloropsis salina* bietet mit einem vergleichsweise hohen Anteil der ω -3-Fettsäure Eicosapentaensäure ein interessantes Sekundärprodukt, das die Wirtschaftlichkeit des Gesamtprozesses steigern könnte.

Literaturverzeichnis

- Acién Fernández, F.G., Fernández Sevilla, J.M., und Molina Grima, E. (2012). Principles of photobioreactor design. In: C. Posten & C. Walter (Eds.): *Microalgal Biotechnology: Potential and Production*. Berlin: De Gruyter, 151-179.
- Acién, F.G., Fernández-Sevilla, J.M., und Molina Grima, E. (2016). Supply of CO₂ to Closed and Open Photobioreactors. In: S.P. Slocombe & J.R. Benemann (Eds.): *Microalgal Production for Biomass and High-Value Products*. Boca Raton: CRC Press, 225-252.
- Acién, F.G., Molina, E., Fernández-Sevilla, J.M., Barbosa, M., Gouveia, L., Sepúlveda, C., et al. (2017a). Economics of microalgae production. In: C. Gonzalez-Fernandez & R. Muñoz (Eds.): *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*. Sawston: Woodhead Publishing, 485-503.
- Acién, F.G., Molina, E., Reis, A., Torzillo, G., Zittelli, G.C., Sepúlveda, C., et al. (2017b). Photobioreactors for the production of microalgae. In: C. Gonzalez-Fernandez & R. Muñoz (Eds.): *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts*. Woodhead Publishing, 1-44.
- Adams, C., Godfrey, V., Wahlen, B., Seefeldt, L., und Bugbee, B. (2013). Understanding precision nitrogen stress to optimize the growth and lipid content tradeoff in oleaginous green microalgae. *Bioresour. Technol.* 131, 188-194. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.143>.
- Al-Obaidi, M.A., Filippini, G., Manenti, F., und Mujtaba, I.M. (2019). Cost evaluation and optimisation of hybrid multi effect distillation and reverse osmosis system for seawater desalination. *Desalination* 456, 136-149. doi: <https://doi.org/10.1016/j.desal.2019.01.019>.
- Alibaba.com (2020) 13% Chelated Iron Organic Fertilizer. Online verfügbar unter: <https://www.alibaba.com/> (Zuletzt aufgerufen am 14.09.2020).
- Andersen, R.A. (2013). The Microalgal Cell. In: A. Richmond & Q. Hu (Eds.): *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Chichester: Wiley-Blackwell, 3-20.
- Apel, A. (2017). Offene Flachgerinnereaktoren zur Massenproduktion von Mikroalgen mit physikalischer Klimasimulation. Dissertation. München: Technische Universität München.
- Apel, A.C., Pfaffinger, C.E., Basedahl, N., Mittwollen, N., Göbel, J., Sauter, J., et al. (2017). Open thin-layer cascade reactors for saline microalgae production evaluated in a physically simulated Mediterranean summer climate. *Algal Res.* 25, 381-390. doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.06.004>.
- Apel, A.C., und Weuster-Botz, D. (2015). Engineering solutions for open microalgae mass cultivation and realistic indoor simulation of outdoor environments. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 38(6), 995-1008. doi: 10.1007/s00449-015-1363-1.
- Baerns, M., Hinrichsen, K.-O., Hofmann, H., und Renken, A. (2013). Chemische Reaktoren und deren reaktionstechnische Modellierung. In: M. Baerns, A. Behr, A. Brehm, J. Gmehling, K.-O. Hinrichsen, H. Hofmann, U. Onken, R. Palkovits & A. Renken (Eds.): *Technische Chemie*. Weinheim: Wiley-VCH, 161-218.

- Barsanti, L., und Gualtieri, P. (2014). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*. Boca Raton: CRC Press.
- Bartley, M.L., Boeing, W.J., Corcoran, A.A., Holguin, F.O., und Schaub, T. (2013). Effects of salinity on growth and lipid accumulation of biofuel microalga *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *Biomass Bioenergy* 54, 83-88. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.03.026>.
- Bartley, M.L., Boeing, W.J., Dungan, B.N., Holguin, F.O., und Schaub, T. (2014). pH effects on growth and lipid accumulation of the biofuel microalgae *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *J. Appl. Phycol.* 26(3), 1431-1437. doi: 10.1007/s10811-013-0177-2.
- Beal, C.M., Gerber, L.N., Sills, D.L., Huntley, M.E., Machesky, S.C., Walsh, M.J., et al. (2015). Algal biofuel production for fuels and feed in a 100-ha facility: A comprehensive techno-economic analysis and life cycle assessment. *Algal Res.* 10, 266-279. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.017>.
- Beardall, J., und Raven, J.A. (2013). Limits to Phototrophic Growth in Dense Culture: CO₂ Supply and Light. In: M.A. Borowitzka & N. Moheimani (Eds.): *Algae for Biofuels and Energy*. Dordrecht: Springer, 91-97.
- Behera, S., Singh, R., Arora, R., Sharma, N.K., Shukla, M., und Kumar, S. (2015). Scope of Algae as Third Generation Biofuels. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2(90). doi: 10.3389/fbioe.2014.00090.
- Bell, J., Paula, L., Dodd, T., Németh, S., Nanou, C., Mega, V., et al. (2018). EU ambition to build the world's leading bioeconomy—Uncertain times demand innovative and sustainable solutions. *New Biotechnol.* 40, 25-30. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.06.010>.
- Benemann, J. (2013). Microalgae for Biofuels and Animal Feeds. *Energies* 6(11), 5869-5886. doi: 10.3390/en6115869.
- Berges, J.A., Charlebois, D.O., Mauzerall, D.C., und Falkowski, P.G. (1996). Differential Effects of Nitrogen Limitation on Photosynthetic Efficiency of Photosystems I and II in Microalgae. *Plant Physiology* 110(2), 689. doi: 10.1104/pp.110.2.689.
- BGR (2020). "BGR Energiestudie 2019 - Daten und Entwicklungen der deutschen und globalen Energieversorgung". Hannover: Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe (BGR).
- Bondioli, P., Della Bella, L., Rivolta, G., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Rodolfi, L., et al. (2012). Oil production by the marine microalgae *Nannochloropsis* sp. F&M-M24 and *Tetraselmis suecica* F&M-M33. *Bioresour. Technol.* 114, 567-572. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.123>.
- Borowitzka, M.A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, and fermenters. *J. Biotechnol.* 70, 313-321. doi: [https://doi.org/10.1016/S0079-6352\(99\)80123-4](https://doi.org/10.1016/S0079-6352(99)80123-4).
- Borowitzka, M.A. (2005). Culturing Microalgae in Outdoor Ponds. In: R.A. Andersen (Ed.) *Algal Culturing Techniques*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 205-2018.
- Borowitzka, M.A. (2013). Energy from Microalgae: A Short History. In: M.A. Borowitzka & N.R. Moheimani (Eds.): *Algae for Biofuels and Energy*. Dordrecht: Springer, 1-16.

- Borowitzka, M.A. (2016). Algal Physiology and Large-Scale Outdoor Cultures of Microalgae. In: M.A. Borowitzka, J. Beardall & J.A. Raven (Eds.): *The Physiology of Microalgae*. New York: Springer.
- Borowitzka, M.A., und Moheimani, N.R. (2013). Open Pond Culture Systems. In: M.A. Borowitzka & N.R. Moheimani (Eds.): *Algae for Biofuels and Energy*. Dordrecht: Springer.
- Boussiba, S., Vonshak, A., Cohen, Z., Avissar, Y., und Richmond, A. (1987). Lipid and Biomass Production by the Halotolerant Microalga *Nannochloropsis salina*. *Biomass* 12, 37-47. doi: [https://doi.org/10.1016/0144-4565\(87\)90006-0](https://doi.org/10.1016/0144-4565(87)90006-0).
- Brennan, L., und Owende, P. (2010). Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 14(2), 557-577. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.009>.
- Byreddy, A.R., Gupta, A., Barrow, C.J., und Puri, M. (2016). A quick colorimetric method for total lipid quantification in microalgae. *J. Microbiol. Methods* 125, 28-32. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.04.002>.
- Caldera, U., Bogdanov, D., und Breyer, C. (2016). Local cost of seawater RO desalination based on solar PV and wind energy: A global estimate. *Desalination* 385, 207-216. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2016.02.004>.
- Carvalho, J.C.M., Matsudo, M.C., Bezerra, R.P., Ferreira-Camargo, L.S., und Sato, S. (2014). Microalgae Bioreactors. In: R. Bajpai, A. Prokop & M. Zappi (Eds.): *Algal Biorefineries: Volume 1: Cultivation of Cells and Products*. Dordrecht: Springer.
- Chaudry, S., Bahri, P.A., und Moheimani, N.R. (2015). Pathways of processing of wet microalgae for liquid fuel production: A critical review. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 52, 1240-1250. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.08.005>.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnol. Adv.* 25(3), 294-306. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>.
- Chisti, Y. (2012). Raceways-based production of algal crude oil. In: C. Posten (Ed.) *Microalgal Biotechnology: Potential and Production*. Berlin: De Gruyter, 113-143.
- Chisti, Y. (2013). Constraints to commercialization of algal fuels. *J. Biotechnol.* 167(3), 201-214. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2013.07.020>.
- Chmiel, H., Takors, R., und Weuster-Botz, D. (Eds.). (2018). *Bioprozesstechnik*. Berlin: Springer Spektrum.
- Chmiel, H., und Walitza, E. (2018). Transportvorgänge in Biosuspensionen. In: H. Chmiel, R. Takors & D. Weuster-Botz (Eds.): *Bioverfahrenstechnik*. Berlin: Springer Spektrum, 131-156.
- Collet, P., Lardon, L., Hélias, A., Bricout, S., Lombaert-Valot, I., Perrier, B., et al. (2014). Biodiesel from microalgae – Life cycle assessment and recommendations for potential improvements. *Renewable Energy* 71, 525-533. doi: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.06.009>.
- Concha, E., Heipieper, H.J., Wick, L.Y., Ciudad, G.A., und Navia, R. (2018). Effects of limonene, n-decane and n-decanol on growth and membrane fatty acid composition of the

- microalga *Botryococcus braunii*. *AMB Express* 8(189), 1-8. doi: 10.1186/s13568-018-0718-9.
- Craggs, R.J., Lundquist, T.J., und Benemann, J.R. (2013). Wastewater Treatment and Algal Biofuel Production. In: M.A. Borowitzka & N.R. Moheimani (Eds.): *Algae for Biofuels and Energy*. Dodrecht: Springer, 153-164.
- Crowe, B., Attalah, S., Agrawal, S., Waller, P., Ryan, R., Van Wagenen, J., et al. (2012). A Comparison of *Nannochloropsis salina* Growth Performance in Two Outdoor Pond Designs: Conventional Raceways versus the ARID Pond with Superior Temperature Management. *International Journal of Chemical Engineering* 2012, 920608. doi: 10.1155/2012/920608.
- Davis, R., Markham, J., Kinchin, C., Grundl, N., Tan, E.C.D., und Humbird, D. (2016). "Process Design and Economics for the Production of Algal Biomass: Algal Biomass Production in Open Pond Systems and Processing Through Dewatering for Downstream Conversion", in: *Technical Report NREL/TP-5100-64772*. National Renewable Energy Laboratory.
- de Carvalho Lopes, A.P., dos Santos, F.M.L.F., Vilar, V.J.P., und Pires, J.C.M. (2018). Process Integration Applied to Microalgal Biofuels Production. In: E. Jacob-Lopes, L.Q. Zepka & M.I. Queiroz (Eds.): *Energy from Microalgae*. Springer, 35-58.
- de Vree, J.H., Bosma, R., Janssen, M., Barbosa, M.J., und Wijffels, R.H. (2015). Comparison of four outdoor pilot-scale photobioreactors. *Biotechnol. Biofuels* 8(1), 215. doi: 10.1186/s13068-015-0400-2.
- Depraetere, O., Pierre, G., Noppe, W., Vandamme, D., Foubert, I., Michaud, P., et al. (2015). Influence of culture medium recycling on the performance of *Arthrospira platensis* cultures. *Algal Res.* 10, 48-54. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.014>.
- Doran, P.M. (2013). *Bioprocess engineering principles*. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.
- Doucha, J., und Lívanský, K. (1995). Novel outdoor thin-layer high density microalgal culture system: productivity and operational parameters. *Algological Studies* (76), 129–147.
- Doucha, J., und Lívanský, K. (2006). Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate. *J. Appl. Phycol.* 18(6), 811-826. doi: 10.1007/s10811-006-9100-4.
- Doucha, J., und Lívanský, K. (2009). Outdoor open thin-layer microalgal photobioreactor: potential productivity. *J. Appl. Phycol.* 21(1), 111-117. doi: 10.1007/s10811-008-9336-2.
- Doucha, J., und Lívanský, K. (2014). High Density Outdoor Microalgal Culture. In: R. Bajpai, A. Prokop & M. Zappi (Eds.): *Algal Biorefineries: Volume 1: Cultivation of Cells and Products*. Dordrecht, Netherlands: Springer Netherlands, 147-173.
- Du, Z.-Y., und Benning, C. (2016). Triacylglycerol Accumulation in Photosynthetic Cells in Plants and Algae. In: Y. Nakamura & Y. Li-Beisson (Eds.): *Lipids in Plant and Algae Development*. Cham: Springer, 179-206.
- Du, Z., Mohr, M., Ma, X., Cheng, Y., Lin, X., Liu, Y., et al. (2012). Hydrothermal pretreatment of microalgae for production of pyrolytic bio-oil with a low nitrogen content. *Bioresour. Technol.* 120, 13-18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.007>.

- Elliott, D.C. (2016). Review of recent reports on process technology for thermochemical conversion of whole algae to liquid fuels. *Algal Res.* 13, 255-263. doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.12.002>.
- Enamala, M.K., Enamala, S., Chavali, M., Donepudi, J., Yadavalli, R., Kolapalli, B., et al. (2018). Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 94, 49-68. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.05.012>.
- European Commission (2018). "A sustainable bioeconomy for Europe: strengthening the connection between economy, society and the environment", (Ed.) D.-G.f.R.a. Innovation. Luxembourg: Publications Office of the European Union.
- Farooq, W., Moon, M., Ryu, B.-g., Suh, W.I., Shrivastav, A., Park, M.S., et al. (2015a). Effect of harvesting methods on the reusability of water for cultivation of *Chlorella vulgaris*, its lipid productivity and biodiesel quality. *Algal Res.* 8, 1-7. doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2014.12.007>.
- Farooq, W., Suh, W.I., Park, M.S., und Yang, J.-W. (2015b). Water use and its recycling in microalgae cultivation for biofuel application. *Bioresour. Technol.* 184, 73-81. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.10.140>.
- Fasaei, F., Bitter, J.H., Slegers, P.M., und van Boxtel, A.J.B. (2018). Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems. *Algal Res.* 31, 347-362. doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.11.038>.
- Fasihi, M., Efimova, O., und Breyer, C. (2019). Techno-economic assessment of CO₂ direct air capture plants. *Journal of Cleaner Production* 224, 957-980. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.086>.
- Fon Sing, S., Isdepsky, A., Borowitzka, M.A., und Lewis, D.M. (2014). Pilot-scale continuous recycling of growth medium for the mass culture of a halotolerant *Tetraselmis* sp. in raceway ponds under increasing salinity: A novel protocol for commercial microalgal biomass production. *Bioresour. Technol.* 161, 47-54. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.010>.
- Giordano, M., und Prioretti, L. (2016). Sulphur and Algae: Metabolism, Ecology and Evolution. In: M.A. Borowitzka, J. Beardall & J.A. Raven (Eds.): *The physiology of microalgae*. New York, NY: Springer.
- Gmehling, J., und Brehm, A. (2013). Mechanische Grundoperationen. In: M. Baerns, A. Behr, A. Brehm, J. Gmehling, K.-O. Hinrichsen, H. Hofmann, U. Onken, R. Palkovits & A. Renken (Eds.): *Technische Chemie*. Weinheim: Wiley-VCH, 379-428.
- Griffiths, M.J., van Hille, R.P., und Harrison, S.T.L. (2010). Selection of Direct Transesterification as the Preferred Method for Assay of Fatty Acid Content of Microalgae. *Lipids* 45(11), 1053-1060. doi: 10.1007/s11745-010-3468-2.
- Grivalský, T., Ranglová, K., da Câmara Manoel, J.A., Lakatos, G.E., Lhotský, R., und Masojídek, J. (2019). Development of thin-layer cascades for microalgae cultivation: milestones (review). *Folia Microbiol.* 64(5), 603-614. doi: 10.1007/s12223-019-00739-7.
- Grobbelaar, J.U. (2008). Factors governing algal growth in photobioreactors: the "open" versus "closed" debate. *J. Appl. Phycol.* 21(5), 489. doi: 10.1007/s10811-008-9365-x.

- Grobbelaar, J.U. (2013). Inorganic Algal Nutrition. In: A. Richmond & Q. Hu (Eds.): *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Chichester: Wiley-Blackwell, 123-133.
- Gutknecht, V., Snæbjörnsdóttir, S.Ó., Sigfússon, B., Aradóttir, E.S., und Charles, L. (2018). Creating a carbon dioxide removal solution by combining rapid mineralization of CO₂ with direct air capture. *Energy Procedia* 146, 129-134. doi: <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.07.017>.
- Hadj-Romdhane, F., Zheng, X., Jaouen, P., Pruvost, J., Grizeau, D., Croué, J.P., et al. (2013). The culture of *Chlorella vulgaris* in a recycled supernatant: Effects on biomass production and medium quality. *Bioresour. Technol.* 132, 285-292. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.025>.
- Herez, A., El Hage, H., Lemenand, T., Ramadan, M., und Khaled, M. (2020). Review on photovoltaic/thermal hybrid solar collectors: Classifications, applications and new systems. *Solar Energy* 207, 1321-1347. doi: <https://doi.org/10.1016/j.solener.2020.07.062>.
- Ho, T.-Y., Quigg, A., Finkel, Z.V., Milligan, A.J., Wyman, K., Falkowski, P.G., et al. (2003). THE ELEMENTAL COMPOSITION OF SOME MARINE PHYTOPLANKTON. *J. Phycol.* 39(6), 1145-1159. doi: 10.1111/j.0022-3646.2003.03-090.x.
- Holland, A.D., und Dragavon, J.M. (2014). Algal Reactor Design Based on Comprehensive Modeling of Light and Mixing. In: R. Bajpai, A. Prokop & M. Zappi (Eds.): *Algal Biorefineries: Volume 1: Cultivation of Cells and Products*. 25-68.
- Hu, Q. (2013). Environmental Effects on Cell Composition. In: A. Richmond & Q. Hu (Eds.): *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Chichester, UK: Wiley-Blackwell, 114-122.
- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., et al. (2008). Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J.* 54(4), 621-639. doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x.
- Huntley, M.E., Johnson, Z.I., Brown, S.L., Sills, D.L., Gerber, L., Archibald, I., et al. (2015). Demonstrated large-scale production of marine microalgae for fuels and feed. *Algal Res.* 10, 249-265. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.016>.
- IndexMundi (2020) Commodity Prices. Online verfügbar unter: <https://www.indexmundi.com/commodities/> (Zuletzt aufgerufen am 14.09.2020).
- IPCC (2018). "Summary for Policymakers", in: *Global Warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty*. (Eds.) V. Masson-Delmotte, P. Zhai, H.-O. Pörtner, D. Roberts, J. Skea, P.R. Shukla, A. Pirani, W. Moufouma-Okia, C. Péan, R. Pidcock, S. Connors, J.B.R. Matthews, Y. Chen, X. Zhou, M.I. Gomis, E. Lonnoy, T. Maycock, M. Tignor & T. Waterfield. Geneva, Switzerland: IPCC.
- Iyer, G., Gupte, Y., Vaval, P., und Nagle, V. (2015). Uptake of potassium by algae and potential use as biofertilizer. *Ind. J. Plant Physiol.* 20(3), 285-288. doi: 10.1007/s40502-015-0165-4.

- Jacob-Lopes, E., Zepka, L.Q., und Queiroz, M.I. (2018). Energy from Microalgae: A Brief Introduction. In: E. Jacob-Lopes, L.Q. Zepka & M.I. Queiroz (Eds.): *Energy from Microalgae*. Cham: Springer, 1-4.
- Janssen, J.H., Driessen, J.L.S.P., Lamers, P.P., Wijffels, R.H., und Barbosa, M.J. (2018). Effect of initial biomass-specific photon supply rate on fatty acid accumulation in nitrogen depleted *Nannochloropsis gaditana* under simulated outdoor light conditions. *Algal Res.* 35, 595-601. doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.10.002>.
- Jones, G.A., und Warner, K.J. (2016). The 21st century population-energy-climate nexus. *Energy Policy* 93, 206-212. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2016.02.044>.
- Kabir, E., Kumar, P., Kumar, S., Adelodun, A.A., und Kim, K.-H. (2018). Solar energy: Potential and future prospects. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 82, 894-900. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.09.094>.
- Keller, M.D., Kiene, R.P., Matrai, P.A., und Bellows, W.K. (1999). Production of glycine betaine and dimethylsulfoniopropionate in marine phytoplankton. II. N-limited chemostat cultures. *Marine Biology* 135(2), 249-257. doi: 10.1007/s002270050622.
- Kim, J., Park, K., Yang, D.R., und Hong, S. (2019). A comprehensive review of energy consumption of seawater reverse osmosis desalination plants. *Applied Energy* 254, 113652. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2019.113652>.
- Kim, J., Ryu, B.-G., Lee, Y.-J., Han, J.-I., Kim, W., und Yang, J.-W. (2013). Continuous harvest of marine microalgae using electrolysis: effect of pulse waveform of polarity exchange. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 37(7), 1249-1259. doi: <https://doi.org/10.1007/s00449-013-1097-x>.
- Klok, A.J., Martens, D.E., Wijffels, R.H., und Lamers, P.P. (2013). Simultaneous growth and neutral lipid accumulation in microalgae. *Bioresour. Technol.* 134, 233-243. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.02.006>.
- Kost, C., Shammugam, S., Jülich, V., Nguyen, H.-T., und Schlegel, T. (2018). "Stromgestehungskosten Erneuerbare Energien". Freiburg: Fraunhofer-Institut für Solare Energiesysteme ISE.
- Lardon, L., Hélias, A., Sialve, B., Steyer, J.-P., und Bernard, O. (2009). Life-Cycle Assessment of Biodiesel Production from Microalgae. *Environ. Sci. Technol.* 43(17), 6475-6481. doi: 10.1021/es900705j.
- Laurens, L.M.L., Chen-Glasser, M., und McMillan, J.D. (2017). A perspective on renewable bioenergy from photosynthetic algae as feedstock for biofuels and bioproducts. *Algal Res.* 24, 261-264. doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.002>.
- Lee, Y.-K. (2001). Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. *J. Appl. Phycol.* 13(4), 307-315. doi: 10.1023/A:1017560006941.
- Li, Y., Han, D., Sommerfeld, M., und Hu, Q. (2011). Photosynthetic carbon partitioning and lipid production in the oleaginous microalga *Pseudochlorococcum* sp. (Chlorophyceae) under nitrogen-limited conditions. *Bioresour. Technol.* 102(1), 123-129. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.036>.
- Liu, J., Song, Y., und Qiu, W. (2017). Oleaginous microalgae *Nannochloropsis* as a new model for biofuel production: Review & analysis. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 72, 154-162. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.120>.

- Lu, Z., Loftus, S., Sha, J., Wang, W., Park, M.S., Zhang, X., et al. (2020). Water reuse for sustainable microalgae cultivation: current knowledge and future directions. *Resources, Conservation and Recycling* 161, 104975. doi: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2020.104975>.
- Lundquist, T.J., Woertz, I.C., Quinn, N.W.T., und Benemann, J.R. (2010). "A Realistic Technology and Engineering Assessment of Algae Biofuel Production". Berkeley, California: Energy Biosciences Institute.
- Ma, X.-N., Liu, B., Yang, B., Guo, B.-B., Liu, J., und Chen, F. (2017). Physiochemical and gene expression analyses reveal differential responses of the marine oleaginous alga *Nannochloropsis salina* under different lipid-induction conditions. *J. Appl. Phycol.* doi: 10.1007/s10811-017-1318-9.
- Marchetti, A., und Maldonado, M.T. (2013). Iron. In: M.A. Borowitzka, J. Beardall & J.A. Raven (Eds.): *The Physiology of Microalgae*. New York: Springer, 233-279.
- Markou, G., Vandamme, D., und Muylaert, K. (2014). Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. *Water Res.* 65, 186-202. doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.025>.
- Masojídek, J., Kopecký, J., Giannelli, L., und Torzillo, G. (2011). Productivity correlated to photobiochemical performance of *Chlorella* mass cultures grown outdoors in thin-layer cascades. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 38(2), 307-317. doi: 10.1007/s10295-010-0774-x.
- Masojídek, J., Sergejevová, M., Malapascua, J.R., und Kopecký, J. (2015). Thin-Layer Systems for Mass Cultivation of Microalgae: Flat Panels and Sloping Cascades. In: A. Prokop, R.K. Bajpai & M.E. Zappi (Eds.): *Algal Biorefineries: Volume 2: Products and Refinery Design*. Cham: Springer International Publishing, 237-261.
- Masojídek, J., Torzillo, G., und Koblížek, M. (2013). Photosynthesis in Microalgae. In: A. Richmond & Q. Hu (Eds.): *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Chichester: Wiley-Blackwell, 21-36.
- Mekonnen, M.M., und Hoekstra, A.Y. (2011). The green, blue and grey water footprint of crops and derived crop products. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 15(5), 1577-1600. doi: 10.5194/hess-15-1577-2011.
- Millán-Oropeza, A., und Fernández-Linares, L. (2017). Biomass and lipid production from *Nannochloropsis oculata* growth in raceway ponds operated in sequential batch mode under greenhouse conditions. *Environmental Science and Pollution Research* 24(33), 25618-25626. doi: 10.1007/s11356-016-7013-6.
- Milledge, J.J. (2011). Commercial application of microalgae other than as biofuels: a brief review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 10(1), 31-41. doi: 10.1007/s11157-010-9214-7.
- Millero, F.J., Feistel, R., Wright, D.G., und McDougall, T.J. (2008). The composition of Standard Seawater and the definition of the Reference-Composition Salinity Scale. *Deep Sea Res. Part I* 55(1), 50-72. doi: <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2007.10.001>.
- Mishra, S.K., Suh, W.I., Farooq, W., Moon, M., Shrivastav, A., Park, M.S., et al. (2014). Rapid quantification of microalgal lipids in aqueous medium by a simple colorimetric method. *Bioresour. Technol.* 155, 330-333. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.077>.

- Moheimani, N.R., und Borowitzka, M.A. (2006). The long-term culture of the coccolithophore *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) in outdoor raceway ponds. *J. Appl. Phycol.* 18(6), 703-712. doi: 10.1007/s10811-006-9075-1.
- Moheimani, N.R., Parlevliet, D., McHenry, M.P., Boer, K.d., und Bahri, P. (2015). Past, Present and Future of Microalgae Cultivation Developments. In: N.R. Moheimani, M.P. McHenry, K.d. Boer & P. Bahri (Eds.): *Biomass and Biofuels from Microalgae*. Heidelberg: Springer, 1-18.
- Molazadeh, M., Ahmadzadeh, H., Pourianfar, H.R., Lyon, S., und Rampelotto, P.H. (2019). The Use of Microalgae for Coupling Wastewater Treatment With CO₂ Biofixation. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 7(42). doi: 10.3389/fbioe.2019.00042.
- Molina Grima, E., García Camacho, F., Sánchez Pérez, J.A., Acién Fernández, F.G., und Fernández Sevilla, J.M. (1997). Evaluation of photosynthetic efficiency in microalgal cultures using averaged irradiance. *Enzyme. Microb. Technol.* 21(5), 375-381. doi: [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(97\)00012-4](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(97)00012-4).
- Monod, J. (1949). The Growth of Bacterial Cultures. *Annu. Rev. Microbiol.* 3(1), 371-394. doi: doi:10.1146/annurev.mi.03.100149.002103.
- Moody, J.W., McGinty, C.M., und Quinn, J.C. (2014). Global evaluation of biofuel potential from microalgae. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111(23), 8691-8696. doi: 10.1073/pnas.1321652111.
- Nagarajan, S., Chou, S.K., Cao, S., Wu, C., und Zhou, Z. (2013). An updated comprehensive techno-economic analysis of algae biodiesel. *Bioresour. Technol.* 145, 150-156. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.108>.
- Norsker, N.-H., Barbosa, M.J., Vermuë, M.H., und Wijffels, R.H. (2011). Microalgal production – A close look at the economics. *Biotechnol. Adv.* 29(1), 24-27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.08.005>.
- NREL (2012) Reference Air Mass 1.5 Spectra. Online verfügbar unter: <https://www.nrel.gov/grid/solar-resource/spectra-am1.5.html> (Zuletzt aufgerufen am 01.07.2020).
- Oncel, S.S. (2013). Microalgae for a macroenergy world. *Renewable Sustainable Energy Rev.* 26, 241-264. doi: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.05.059>.
- Park, H., und Lee, C.-G. (2016). Theoretical Calculations on the Feasibility of Microalgal Biofuels: Utilization of Marine Resources Could Help Realizing the Potential of Microalgae. *Biotechnology Journal* 11(11), 1461-1470. doi: 10.1002/biot.201600041.
- Park, K., Kim, J., Yang, D.R., und Hong, S. (2020). Towards a low-energy seawater reverse osmosis desalination plant: A review and theoretical analysis for future directions. *Journal of Membrane Science* 595, 117607. doi: <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2019.117607>.
- Pfaffinger, C. (2017). Reaktionstechnische Untersuchungen zur Lipidherstellung mit *Nannochloropsis* sp. in verschiedenen Photobioreaktoren. Dissertation. München: Technische Universität München.
- Pfaffinger, C.E., Schöne, D., Trunz, S., Löwe, H., und Weuster-Botz, D. (2016). Model-based optimization of microalgae areal productivity in flat-plate gas-lift photobioreactors. *Algal Res.* 20, 153-163. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2016.10.002>.

- Pfaffinger, C.E., Severin, T.S., Apel, A.C., Göbel, J., Sauter, J., und Weuster-Botz, D. (2019). Light-dependent growth kinetics enable scale-up of well-mixed phototrophic bioprocesses in different types of photobioreactors. *J. Biotechnol.* 297, 41-48. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2019.03.003>.
- Pierre-Louis Gorry, Sánchez, L., und Morales, M. (2018). Microalgae Biorefineries for Energy and Coproduct Production. In: E. Jacob-Lopes, L.Q. Zepka & M.I. Queiroz (Eds.): *Energy from Microalgae*. Springer, 88-140.
- Posten, C. (2009). Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Eng. Life Sci.* 9(3), 165-177. doi: 10.1002/elsc.200900003.
- Posten, C. (2012). Introduction – Discovering Microalgae as Source for Sustainable Biomass. In: C. Posten & C. Walter (Eds.): *Microalgal Biotechnology: Potential and Production*. Berlin: De Gruyter, 1-8.
- Posten, C. (2018). Fotobioreaktoren. In: H. Chmiel, R. Takors & D. Weuster-Botz (Eds.): *Bioprozesstechnik*. Berlin: Springer Spektrum, 188-196.
- Přibyl, P., Cepák, V., und Zachleder, V. (2012). Production of lipids in 10 strains of *Chlorella* and *Parachlorella*, and enhanced lipid productivity in *Chlorella vulgaris*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 94(2), 549-561. doi: 10.1007/s00253-012-3915-5.
- Pruvost, J., und Cornet, J.-F. (2012). Knowledge models for the engineering and optimization of photobioreactors. In: C. Posten & C. Walter (Eds.): *Microalgal Biotechnology: Potential and Production*. Berlin: De Gruyter, 181-224.
- Pruvost, J., Cornet, J.-F., und Pilon, L. (2016). Large-Scale Production of Algal Biomass: Photobioreactors. In: Faizal Bux & Yusuf Chisti (Eds.): *Algae Biotechnology: Products and Processes*. Switzerland: Springer.
- Raes, E.J., Isdepsky, A., Muylaert, K., Borowitzka, M.A., und Moheimani, N.R. (2014). Comparison of growth of *Tetraselmis* in a tubular photobioreactor (Biocoil) and a raceway pond. *J. Appl. Phycol.* 26(1), 247-255. doi: 10.1007/s10811-013-0077-5.
- Richmond, A. (2013). Biological Principles of Mass Cultivation of Photoautotrophic Microalgae. In: A. Richmond & Q. Hu (Eds.): *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Chichester: Wiley-Blackwell, 171-204.
- Richmond, A., und Zou, N. (1999). Efficient utilisation of high photon irradiance for mass production of photoautotrophic micro-organisms. *J. Appl. Phycol.* 11(1), 123-127. doi: 10.1023/a:1008033906840.
- Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., et al. (2009). Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 102(1), 100-112. doi: 10.1002/bit.22033.
- Rodolfi, L., Zittelli, G.C., Barsanti, L., Rosati, G., und Tredici, M.R. (2003). Growth medium recycling in *Nannochloropsis* sp. mass cultivation. *Biomol. Eng.* 20(4–6), 243-248. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S1389-0344\(03\)00063-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1389-0344(03)00063-7).
- Rossi, F., und Philippis, R.D. (2016). Exocellular Polysaccharides in Microalgae and Cyanobacteria: Chemical Features, Role and Enzymes and Genes Involved in Their Biosynthesis. In: M.A. Borowitzka, J. Beardall & J.A. Raven (Eds.): *The Physiology of Microalgae*. Heidelberg, Germany: Springer, 565-590.

- Sahm, H., Antranikan, G., Stahmann, K., und Takors, R. (Eds.). (2013). *Industrielle Mikrobiologie*. Heidelberg: Springer Spektrum.
- San Pedro, A., González-López, C.V., Acién, F.G., und Molina-Grima, E. (2014). Outdoor pilot-scale production of *Nannochloropsis gaditana*: Influence of culture parameters and lipid production rates in tubular photobioreactors. *Bioresour. Technol.* 169, 667-676. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.07.052>.
- San Pedro, A., González-López, C.V., Acién, F.G., und Molina-Grima, E. (2015). Outdoor pilot production of *Nannochloropsis gaditana*: Influence of culture parameters and lipid production rates in raceway ponds. *Algal Res.* 8, 205-213. doi: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.02.013>.
- Sassano, C.E.N., Carvalho, J.C.M., Gioielli, L.A., Sato, S., Torre, P., und Converti, A. (2004). Kinetics and bioenergetics of *Spirulina platensis* cultivation by fed-batch addition of urea as nitrogen source. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 112(3), 143-150. doi: 10.1385/ABAB:112:3:143.
- Schenk, P.M., Thomas-Hall, S.R., Stephens, E., Marx, U.C., Mussnug, J.H., Posten, C., et al. (2008). Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *Bioenergy Res.* 1(1), 20-43. doi: 10.1007/s12155-008-9008-8.
- Schiano di Visconte, G., Spicer, A., Chuck, C.J., und Allen, M.J. (2019). The Microalgae Biorefinery: A Perspective on the Current Status and Future Opportunities Using Genetic Modification. *Applied Sciences* 9(22), 4793.
- Schlaggermann, P., Göttlicher, G., Dillschneider, R., Rosello-Sastre, R., und Posten, C. (2012). Composition of Algal Oil and Its Potential as Biofuel. *Journal of Combustion* 2012(Article ID 285185), 1-14. doi: 10.1155/2012/285185.
- Severin, T.S., Brück, T., und Weuster-Botz, D. (2018). Validated numerical fluid simulation of a thin-layer cascade photobioreactor in OpenFOAM. *Eng. Life Sci.* 19, 97-103. doi: 10.1002/elsc.201800097.
- Severin, T.S., Plamauer, S., Apel, A.C., Brück, T., und Weuster-Botz, D. (2017). Rapid salinity measurements for fluid flow characterisation using minimal invasive sensors. *Chemical Engineering Science* 166, 161-167. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2017.03.014>.
- Shakya, R., Adhikari, S., Mahadevan, R., Hassan, E.B., und Dempster, T.A. (2018). Catalytic upgrading of bio-oil produced from hydrothermal liquefaction of *Nannochloropsis* sp. *Bioresour. Technol.* 252, 28-36. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.12.067>.
- Sharma, K.K., Schuhmann, H., und Schenk, P.M. (2012). High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production. *Energies* 5(5), 1532-1553.
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., und Roessler, P. (1998). "A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from algae". Golden, CO, USA: National Renewable Energy Laboratory.
- Singh, A., Nigam, P.S., und Murphy, J.D. (2011). Mechanism and challenges in commercialisation of algal biofuels. *Bioresour. Technol.* 102(1), 26-34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.057>.
- Slocombe, S.P., und Benemann, J.R. (2016). Introduction. In: S.P. Slocombe & J.R. Benemann (Eds.): *Microalgal Production for Biomass and High-Value Products*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, xvii-xxx.

- Sobczuk, T.M., Camacho, F.G., Rubio, F.C., Fernández, F.G.A., und Grima, E.M. (2000). Carbon dioxide uptake efficiency by outdoor microalgal cultures in tubular airlift photobioreactors. *Biotechnol. Bioeng.* 67(4), 465-475. doi: 10.1002/(SICI)1097-0290(20000220)67:4<465::AID-BIT10>3.0.CO;2-9.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., und Isambert, A. (2006). Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.* 101(2), 87-96. doi: <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>.
- Sung, M.-G., Lee, B., Kim, C.W., Nam, K., und Chang, Y.K. (2017). Enhancement of lipid productivity by adopting multi-stage continuous cultivation strategy in *Nannochloropsis gaditana*. *Bioresour. Technol.* 229, 20-25. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.100>.
- Talling, J.F. (2010). Potassium — A Non-Limiting Nutrient in Fresh Waters? *Freshw. Rev.* 3(2), 97-104, 108.
- Toor, S.S., Reddy, H., Deng, S., Hoffmann, J., Spangsmark, D., Madsen, L.B., et al. (2013). Hydrothermal liquefaction of *Spirulina* and *Nannochloropsis salina* under subcritical and supercritical water conditions. *Bioresour. Technol.* 131, 413-419. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.12.144>.
- Torzillo, G., und Vonshak, A. (2013). Environmental Stress Physiology. In: A. Richmond & Q. Hu (Eds.): *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Chichester: Wiley-Blackwell.
- Tredici, M.R. (2010). Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution. *Biofuels* 1(1), 143-162. doi: 10.4155/bfs.09.10.
- Ubando, A.T., Felix, C.B., und Chen, W.-H. (2020). Biorefineries in circular bioeconomy: A comprehensive review. *Bioresour. Technol.* 299, 122585. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122585>.
- United Nations General Assembly (2015) Transforming our World: The 2030 Agenda for Sustainable Development, A/RES/70/1. Online verfügbar unter: <https://sustainabledevelopment.un.org/post2015/transformingourworld/publication>.
- Vaccari, D.A. (2009). Phosphorus: A Looming Crisis. *Sci. Am.* 300(6), 54-59.
- Vanthoor-Koopmans, M., Wijffels, R.H., Barbosa, M.J., und Eppink, M.H.M. (2013). Biorefinery of microalgae for food and fuel. *Bioresour. Technol.* 135, 142-149. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.135>.
- Venkata Mohan, S., Hemalatha, M., Chakraborty, D., Chatterjee, S., Ranadheer, P., und Kona, R. (2020). Algal biorefinery models with self-sustainable closed loop approach: Trends and prospective for blue-bioeconomy. *Bioresour. Technol.* 295, 122128. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122128>.
- Weuster-Botz, D., und Takors, R. (2018). Wachstumskinetik. In: H. Chmiel, R. Takors & D. Weuster-Botz (Eds.): *Bioprozesstechnik*. Berlin: Springer Spektrum, 45-70.
- Wijffels, R.H., und Barbosa, M.J. (2010). An Outlook on Microalgal Biofuels. *Science* 329(5993), 796-799. doi: 10.1126/science.1189003.
- Wu, B., Maleki, A., Pourfayaz, F., und Rosen, M.A. (2018). Optimal design of stand-alone reverse osmosis desalination driven by a photovoltaic and diesel generator hybrid system. *Solar Energy* 163, 91-103. doi: <https://doi.org/10.1016/j.solener.2018.01.016>.

- Zeebe, R.E., und Wolf-Gladrow, D. (2001). Equilibrium. In: *CO₂ in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes*. London: Elsevier, 1-84.
- Zhang, T.-Y., Yu, Y., Wu, Y.-H., und Hu, H.-Y. (2013). Inhibitory effects of soluble algae products (SAP) released by *Scenedesmus* sp. LX1 on its growth and lipid production. *Bioresour. Technol.* 146, 643-648. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.07.142>.
- Zhu, L. (2015). Microalgal culture strategies for biofuel production: a review. *Biofuels, Bioprod. Biorefin.* 9(6), 801-814. doi: 10.1002/bbb.1576.
- Zienkiewicz, K., Du, Z.-Y., Ma, W., Vollheyde, K., und Benning, C. (2016). Stress-induced neutral lipid biosynthesis in microalgae — Molecular, cellular and physiological insights. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 1861(9, Part B), 1269-1281. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.02.008>.
- Zittelli, G.C., Biondi, N., Rodolfi, L., und Tredici, M.R. (2013a). Photobioreactors for Mass Production of Microalgae. In: A. Richmond & Q. Hu (Eds.): *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology*. Chichester: Wiley-Blackwell.
- Zittelli, G.C., Rodolfi, L., Bassi, N., Biondi, N., und Tredici, M.R. (2013b). Photobioreactors for Microalgal Biofuel Production. In: M.A. Borowitzka & N.R. Moheimani (Eds.): *Algae for Biofuels and Energy*. Dordrecht: Springer.

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
ASW	Artifizielles Meerwasser (engl. artificial sea water)
ATP	Adenosintriphosphat
BTM	Biotrockenmasse
Chl a	Chlorophyll a
DIC	Gelöster anorganischer Kohlenstoff (engl. dissolved inorganic carbon)
DOC	Gelöster organischer Kohlenstoff (engl. dissolved organic carbon)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
FAME	Fettsäuremethylester (engl. fatty acid methyl ester)
FGR	Flachgerinnereaktor
GC	Gaschromatographie
HTL	Hydrothermale Verflüssigung (engl. hydrothermal liquefaction)
LT-DAC	Low Temperature Direct Air Capture (Verfahren zur CO ₂ -Gewinnung aus der Luft)
MENA	Nahost und Nordafrika (engl. Middle-East & North-Africa)
NAD(H)	Oxidiertes (reduziertes) Nicotinamidadenindinukleotid
NADP(H)	Oxidiertes (reduziertes) Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
OD _λ	Optische Dichte bei der Wellenlänge λ
PA	Praktische Alkalinität
PAR	Photosynthetisch aktive Strahlung (engl. photosynthetically active radiation)
PFD	Photonenflussdichte
PV	Photovoltaik
PVT	Photovoltaisch-thermischer Hybridkollektor
RuBisCo	Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase
SPV	Sulpho-Phospho-Vanillin Assay
TA	Totale Alkalinität
TAG	Triacylglycerid
TUM	Technische Universität München
VE-Wasser	Vollentsalztes Wasser

Symbolverzeichnis

Symbol	Bedeutung	Einheit
A	Reaktorfläche	m^2
b	Nächtliche spezifische Biomasseabnahmerate	d^{-1}
b_{max}	Maximale nächtliche Biomasseabnahmerate	d^{-1}
c_i	Konzentration der Komponente i	$g L^{-1}$
$c_{p,max}$	Produktkonzentration, ab der kein Wachstum mehr beobachtet wird	$g L^{-1}$
c_i^{zu}	Konzentration der Komponente i im Zulauf	$g L^{-1}$
c_{X-L}	Konzentration lipidfreier Biomasse	$g L^{-1}$
D	Durchflussrate	d^{-1}
\bar{D}	Mittlere Gesamtdurchflussrate	d^{-1}
$\bar{D}_{täglich}$	Mittlere tägliche Durchflussrate	d^{-1}
$E(t)$	Verweilzeitverteilung	-
$F(t)$	Verweilzeitsummenkurve	-
FZA	Flächen-Zeit-Ausbeute	$g m^{-2} d^{-1}$
g	Erdbeschleunigung	$m s^{-2}$
H	Pumphöhe	m
I	Verfügbare Photonenflussdichte in Schichttiefe l	$\mu mol m^{-2} s^{-1}$
I_0	Eingangspotonenflussdichte	$\mu mol m^{-2} s^{-1}$
I^*	Integrale Photonenflussdichte	$\mu mol m^{-2} s^{-1}$
K_I	Photoinhibitionskonstante	$\mu mol m^{-2} s^{-1}$
K_S	Sättigungskonstante für Photonenflussdichte	$\mu mol m^{-2} s^{-1}$
K_N	Sättigungskonstante für die Stickstoffquelle	$g L^{-1}$
l	Länge des optischen Pfads in der Suspension	cm
m_i	Masse der Komponente i	kg
\dot{m}_i	Massenstrom der Komponente i	$kg d^{-1}$
n	Verstärkungsparameter	-
n_0	Stoffmenge zum Zeitpunkt t_0	mol
OV	Oberfläche-zu-Volumen Verhältnis	m^{-1}
P_{hyd}	Hydraulischer Leistungseintrag	W
P_{el}	Elektrischer Leistungseintrag	W

Symbolverzeichnis (Fortsetzung)

Symbol	Bedeutung	Einheit
q_S	spezifische Substrataufnahmerate	$\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$
q_P	spezifische Produktbildungsrate	$\text{g g}^{-1} \text{d}^{-1}$
q_L	Spezifische Lipidbildungsrate	d^{-1}
$q_{L,max}$	Maximale spezifische Lipidbildungsrate	d^{-1}
Q_L	Lipidanteil in Biotrockenmasse	g g^{-1}
$Q_{L,max}$	Maximaler Lipidanteil	g g^{-1}
$Q_{L,0}$	Basis-Lipidanteil bei nicht-stickstofflimitiertem Wachstum	g g^{-1}
Q_N	Stickstoffanteil in lipidfreier Biotrockenmasse	g g^{-1}
$Q_{N,min}$	Minimaler Stickstoffanteil in lipidfreier Biotrockenmasse	g g^{-1}
r_i	Reaktionsrate der Komponente i	$\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$
r_{X-L}	Bildungsrate lipidfreier Biotrockenmasse	$\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$
$r_{X-L,max}$	Maximale Bildungsrate lipidfreier Biotrockenmasse	$\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$
RZA	Raum-Zeit-Ausbeute	$\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$
t	Zeit	d
V	Reaktorvolumen	L
\dot{V}	Zu- und Ablaufvolumenstrom	L d^{-1}
\dot{V}_{zu}	Zulaufvolumenstrom	L d^{-1}
\dot{V}_{ab}	Ablaufvolumenstrom	L d^{-1}
Y_{PS}	Produktselektivität	g g^{-1}
Y_{XS}	Biomasseertragskoeffizient	g g^{-1}
α	Sensitivitätsparameter für die Stickstoffquelle	-
ε	Extinktionskoeffizient	$\text{L g}^{-1} \text{cm}^{-1}$
η	Wirkungsgrad	-
μ	Spezifische Wachstumsrate	d^{-1}
μ_{max}	Maximale spezifische Wachstumsrate	d^{-1}
μ_{X-L}	Spezifische lipidfreie Wachstumsrate	d^{-1}
$\mu_{X-L,max}$	Maximaler spezifische lipidfreie Wachstumsrate	d^{-1}
ρ	Dichte	kg L^{-1}
τ	Mittlere hydraulische Verweilzeit	d
φ	Sensitivitätsparameter	cm

Anhang

A.1. Verwendete Geräte

Tabelle A.1 Komponenten der Flachgerinnereaktoren.

Komponente	Produkt und Hersteller
Reaktorbecken und feste Gerinne	PE-HD 10 mm, Rauch, Feldkirchen, D
Teichfolie	PE-Bändchenfolie 320 g m ⁻² , Daedler, Trittau, D
Aluminiumgerüst	Aluminiumprofile 80x80E/L, Alvarís, Suhl, D
Drahtgitter	PS3030KFE, 30/3 mm, Mutanox, Berlin, D
Dreiwegehahn	PVC-Welt, Pegnitz, D
Pumpschlauch	Rauspiraflex Liquitec, REHAU, Rehau, D
Pumpe	MKPG, Ventaix, Monschau, D
Volumenstromsensor	MIK, Kobold, Hofheim, D
Frequenzumrichter	Movitrac LTE-B, SEW Eurodrive, Bruchsal, D
pH/Temperatur-Sonde	tecLine 201020/51-18-04-18-120, Jumo, Fulda, D
pH-Transmitter	ecoTrans pH 03, Jumo, Fulda, D
OD-Sonde	ALS-OD4, algae lab systems, Boulder, CO, USA
Füllstandssensor	LFFS, Baumer, Friedberg, D
Magnetventil	Typ 52, Gemü, Ingelfingen, D
CO ₂ -Massendurchflussregler	red-y smart, Voegtlin, Aesch, CH
CO ₂ -Zugabeschlauch	Solvocarb, Linde, Pullach, D Solvox B, Linde, Pullach, D
USB-Messsystem	U6, Labjack, Lakewood, CO, USA
Prozessleitsystem	LabView 2017, National Instruments, Austin, TX, USA

Tabelle A.2. Im Algentechnikum verwendete Geräte.

Komponente	Produkt und Hersteller
Alkalinitätsmesser	HI755 Checker HC, Hanna Instruments, USA
Analysenwaage	New Classic MS104S, Mettler Toledo, USA
Durchflusszytometer	Cytoflex, Beckman-Coulter, USA
Heizblockthermostat	HB-12, UniEquip Laborgerätebau- und Vertriebs GmbH, D
Membran-Vakuumpumpe	LABOPORT® N938.50 KN18, KNF Group International, D
Mikroskop	Eclipse E200 Nikon, D
pH-Meter (portabel)	HandyLab 100, SI Analytics, D
Refraktometer	HI96822, Hanna Instruments, USA
Schlauchpumpe	120U/DM3, Watson Marlow, D
Schlauchpumpe	530DuN, Watson Marlow, D
Schlauchpumpe	P_classic 27, Ponndorf, D
Schlauchpumpe	P_classic 10, Ponndorf, D
Spektralphotometer	Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA
Spektroradiometer	Flame-T Ocean Optics Inc., USA
Thermometer	HI98509, Hanna Instruments, USA
Thermoschüttler	basic, CellMedia, D
Tischwaage	ML6002T, Mettler Toledo, CH
Tischzentrifuge	Espresso, Thermo Fisher Scientific, USA
Tischzentrifuge	5810 R, Eppendorf, D
Transferpipetten	20 µL bis 10 mL, Brand, D
Trockenschrank	UF450, Memmert, D
Vortexmischer	Vortex-Genie 2 G560 E, Scientific Industries Inc., USA
Spiralplattenzentrifuge	Evodos 10, Evodos, NL

Tabelle A.3. Verwendete Geräte am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik beziehungsweise am Werner Siemens-Lehrstuhl für Synthetische Biotechnologie, Garching.

Komponente	Produkt und Hersteller
Flachplatten-Photobioreaktor	Labfors 5 Lux, Labfors HT, CH
Gaschromatograph	GC-2010 Plus, Shimadzu Europa GmbH, D
Gaschromatographie-Säule	Quarzglas Stabilwax-Säule, Restek, D
Gelöstsauerstoffsensoren	Visiform DO ECS 120 H0, Hamilton Germany GmbH, D
Inkubator	Labfors HT, Infors, CH
Lyophilisieranlage	Alpha 1-2 LD plus, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen, D
Spektralphotometer	Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, USA
Schlauchpumpe	BVP 501 U, Watson Marlow, D
Standzentrifuge	ROTIXA 50 RS, Hettich Zentrifugen, D
Transferpipetten	20 µL bis 10 mL, Brand, D
Tischzentrifuge	Mikro 220, Hettich Zentrifugen, D

A.2. Verwendete Materialien und Chemikalien

Tabelle A.4. Verwendete allgemeine Materialien.

Material	Hersteller	Artikelnummer
Allzweck-Aluschalen	Carl Roth	PP65.1
Büchner-Trichter	Haldenwanger	-
Einmalspritzen Omnifix (Luer-Lock)	Carl Roth	C542.1
Glas-Feingewindeflaschen 10 mL	neoLab	7-0840
Magnetische Schraubverschlüsse mit Septen	neoLab	7-0849
Mikroeinsätze, konisch (15 mm Spitze)	neoLab	7-0632
Minisart Plus 0,2 µm Spritzenfilter	Sigma Aldrich	17823K
Harnstoff/Ammoniak Test	r-biopharm	10542946035
Quantofix-Teststreifen:		
Gesamteisen 1000	Macherey-Nagel	91330
Nitrat/Nitrit	Macherey-Nagel	91313
Phosphat	Macherey-Nagel	91320
Sulfat	Macherey-Nagel	91329
Saugflasche 100 mL	Schott	-
Whatman Glasfaser-Mikrofilter Ø 25 mm	VWR	513-5225
Puffer pH 7,01	Hanna Instruments	HI 7007
Puffer pH 10,01	Hanna Instruments	HI 7010

Tabelle A.5. Verwendete Chemikalien

Bezeichnung	Summenformel	Hersteller
2,2-Dimethoxypropan	$C_5H_{12}O_2$	Sigma-Aldrich Co., USA
Ammonium-Hepta-Molybdat-Tetrahydrat	$(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4 H_2O$	Mallinckrodt Baker Inc., USA
Antischaum Antifoam 204	-	Sigma-Aldrich, USA
Borsäure	H_3BO_3	Sigma-Aldrich, USA
Calciumchlorid-Dihydrat	$CaCl_2 \cdot 2 H_2O$	AppliChem, D
Di-Natrium-Ethylendiamintetraacetat	Na_2EDTA	Carl Roth, D
Eisen(III)-chlorid-Hexahydrat	$FeCl_3 \cdot 6 H_2O$	Carl Roth, Karlsruhe, D
Ethanol	C_2H_5OH	Sigma-Aldrich Co., USA
Glyceryl tridodecanoat	$C_{39}H_{74}O_6$	Sigma-Aldrich Co., USA
Harnstoff	CH_4N_2O	CLN GmbH, D
Immersionsöl	-	Carl Roth, D
Kaliumchlorid	KCl	Carl Roth, D
Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	Carl Roth, D
Kaliumnitrat	KNO_3	Labochem, D
Kupfer(II)-chlorid	$CuCl_2$	Carl Roth, D
Magnesiumsulfat-Heptahydrat	$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	Labochem, D
Mangan(II)-chlorid-Tetrahydrat	$MnCl_2 \cdot 4 H_2O$	Carl Roth, D
Mariner Ölmix	Marine Oil FAME Mix	Restek, D
Methanol anhydrous (99,8%)	CH_3OH	Sigma-Aldrich Co., USA
Natriumchlorid	NaCl	CLN GmbH, D
Natriumhydroxid	NaOH	Sigma-Aldrich, USA
Natriummethoxid	CH_3ONa	Sigma-Aldrich Co., USA
n-Hexan	C_6H_{14}	Honeywell Speciality Chemicals, D
Phosphorsäure (85%)	H_3PO_4	Sigma-Aldrich Co., USA
Puffer pH 7,01 (HI 7007)	-	Hanna Instruments, USA
Puffer pH 10,01 (HI 7010)	-	Hanna Instruments, USA
Salzsäure (37%)	HCl	Honeywell Speciality Chemicals, D
Schwefelsäure (98%)	H_2SO_4	Labchem International, D
Toluol	$C_6H_5CH_3$	Sigma-Aldrich Co., USA
Vanillin	$C_8H_8O_3$	Sigma-Aldrich Co., USA
Zinkchlorid	$ZnCl_2$	AppliChem, D