

**MASSENKULTUR VON MIKROALGEN MIT PHARMAZEUTISCH  
NUTZBAREN INHALTSSTOFFEN UNTER VERWENDUNG VON CO<sub>2</sub>  
UND NaHCO<sub>3</sub>, GEWONNEN AUS DEN ABGASEN EINES  
BLOCKHEIZKRAFTWERKES**

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität  
zu Kiel

vorgelegt von  
**FRANZISKA JANDER**

Kiel 2001

Referent: Prof. Dr. P. Pohl

Korreferent: Prof. Dr. W. Blaschek

Tag der mündlichen Prüfung: 16.05.2001

Zum Druck genehmigt: 16.05.2001

gez. Prof. Dr. Th. Bauer

-Dekan-

# Inhaltsverzeichnis

<b>A</b>	<b>Einleitung und Zielsetzung</b>	1
<b>B</b>	<b>Material und Methoden</b>	5
<b>1</b>	<b>Material</b>	5
1.1	Algen	5
1.2	Chemikalien	6
<b>2</b>	<b>Methoden</b>	6
2.1	Kultivierung der Algen im Labor	6
2.1.1	Zusammensetzung der Nährlösungen	6
2.1.1.1	10% Seewasser-Nährlösung	6
2.1.1.2	Spirulina-Nährlösung	6
2.1.2	Kultivierungsbedingungen	7
2.1.3	Variation der Wachstumsbedingungen	7
2.1.3.1	Seewasserkonzentration	7
2.1.3.2	Zusatz von Natriumhydrogencarbonat	8
2.1.3.3	Zufuhr von CO <sub>2</sub> unter pH-Steuerung	8
2.1.4	Ernte der Algen aus 8 Liter-Kulturen	8
2.2	Kultivierung der Algen am Blockheizkraftwerk (BHKW)	9
2.2.1	Zusammensetzung der Nährlösung	9
2.2.2	Kultivierungsbedingungen	9
2.2.3	Variation der Wachstumsbedingungen	11
2.2.3.1	Seewasserkonzentration	11
2.2.3.2	Zusatz von Natriumhydrogencarbonat	11
2.2.3.3	Belüftung mit Abgasen des BHKW	11
2.2.4	Ernte der Algen	13
2.3	Herstellung von Natriumhydrogencarbonat	13
2.3.1	Labor	13
2.3.2	Blockheizkraftwerk	13

2.3.2.1	Einleitung von Abgasen in chemisch reine Natronlauge .....	13
2.3.2.2	Einleitung von Abgasen in industrielle Abfall-Natronlauge .....	14
2.4	Analytische Methoden .....	15
2.4.1	Bestimmung der Biomasse .....	15
2.4.2	Bestimmung des pH-Wertes .....	15
2.4.3	Bestimmung des Nitratgehaltes .....	15
2.4.4	Qualitative und quantitative Bestimmung des Fettsäuregehaltes in Cyanobakterien und Chlorophyceen .....	15
2.4.5	Qualitative und quantitative Bestimmung des Chlorophyll-und Carotinoidgehaltes in Cyanobakterien und Chlorophyceen .....	17
2.4.6	Quantitative Bestimmung des Proteingehaltes in Cyanobakterien und Chlorophyceen .....	19
<b>C</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>21</b>
<b>1</b>	<b>Auswahl geeigneter Mikroalgen für die Verwertung von NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub></b> .....	<b>21</b>
1.1	Einführung .....	21
1.2	Ergebnisse .....	24
1.3	Zusammenfassung und Diskussion .....	27
<b>2</b>	<b>Herstellung von NaHCO<sub>3</sub> aus CO<sub>2</sub> bzw. Abgasen eines Blockheizkraftwerkes (BHKW)</b> .....	<b>33</b>
2.1	Einführung .....	33
2.2	Vorversuche im Labor durch CO <sub>2</sub> -Einleitung in NaOH .....	34
2.3	Abgaseinleitung in NaOH am BHKW .....	35
2.4	Zusammenfassung und Diskussion .....	39

<b>3</b>	<b>Entwicklung einer geeigneten Nährlösung für optimale Biomasse-Produktion bei möglichst hohem Verbrauch an NaHCO<sub>3</sub> und/oder CO<sub>2</sub></b>	41
3.1	Einführung	41
3.2	Ergebnisse	42
3.2.1	<i>Chlorella vulgaris</i>	42
3.2.1.1	250 ml-Kleinkulturen	42
3.2.1.2	8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO <sub>3</sub>	44
3.2.1.3	8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO <sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über CO <sub>2</sub> -Zufuhr	46
3.2.2	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	50
3.2.2.1	250 ml-Kleinkulturen	50
3.2.2.2	8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO <sub>3</sub>	50
3.2.2.3	8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO <sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über CO <sub>2</sub> -Zufuhr	53
3.2.3	<i>Monoraphidium braunii</i>	59
3.2.3.1	250 ml-Kleinkulturen	59
3.2.3.2	8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO <sub>3</sub>	59
3.2.3.3	8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO <sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über CO <sub>2</sub> -Zufuhr	62
3.2.4	<i>Spirulina maxima</i> und <i>Spirulina platensis</i>	65
3.2.4.1	250 ml-Kleinkulturen	65
3.2.4.2	8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO <sub>3</sub> mit und ohne Zugabe von Ca <sup>2+</sup>	67
3.2.4.3	8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO <sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über CO <sub>2</sub> -Zufuhr	71
3.3	Zusammenfassung und Diskussion	77
<b>4</b>	<b>Züchtung der ausgewählten Mikroalgen am Blockheizkraftwerk</b>	83
4.1	Einführung	83
4.2	Ergebnisse	86
4.2.1	<i>Chlorella vulgaris</i>	86
4.2.2	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	90
4.2.3	<i>Monoraphidium braunii</i>	96

4.2.4	<i>Spirulina maxima</i> .....	98
4.2.5	<i>Spirulina platensis</i> .....	101
4.3	Zusammenfassung und Diskussion .....	104
<b>5</b>	<b>Einfluß von Abgas-CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub> auf die Zusammensetzung der Biomassen der am BHKW gezüchteten Mikroalgen</b> .....	<b>110</b>
5.1	Einführung .....	110
5.2	Ergebnisse .....	114
5.2.1	Proteine .....	114
5.2.2	Fettsäuren .....	119
5.2.3	Carotinoide und Chlorophylle .....	129
5.3	Zusammenfassung und Diskussion .....	137
<b>6</b>	<b>Verwertung von industrieller Abfall-Natronlauge</b> .....	<b>144</b>
6.1	Einführung .....	144
6.2	Abgaseinleitung in NaOH als Abfallprodukt eines metall- verarbeitenden Betriebes .....	145
6.3	Reinigung des NaHCO <sub>3</sub> -Niederschlages .....	145
6.4	250 ml-Kleinkulturen mit dem erhaltenen NaHCO <sub>3</sub> .....	146
6.5	Zusammenfassung und Diskussion .....	147
<b>D</b>	<b>Zusammenfassung und Schlussbetrachtung</b> .....	<b>149</b>
<b>E</b>	<b>Literatur</b> .....	<b>156</b>

Unsere Atmosphäre wird in zunehmendem Maße durch riesige Mengen an Kohlendioxid belastet. Die Verbrennung von größtenteils fossilen Kohlenstoffverbindungen (Kohle, Öl, Gas) hat seit Beginn der industriellen Revolution zu einem Anstieg der CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Atmosphäre von ca. 30 % geführt. Die CO<sub>2</sub>-Konzentration liegt heute bei durchschnittlich 364 ppm, während sie um 1800 noch bei 290 ppm lag. Durch kontinuierliche Messungen seit einigen Jahrzehnten wurde belegt, daß die CO<sub>2</sub>-Menge in der Umwelt heute völlig atypisch zunimmt (KÖRNER, 1999).

Global wurden 1994 mehr als 22 Milliarden Tonnen Kohlendioxid emittiert, das entspricht einer jährlichen pro-Kopf-Emission von 3,85 Tonnen CO<sub>2</sub> (BACH, 1996). Die pro-Kopf-Emission der 3. Welt-Länder betrug weniger als 3,85 Tonnen CO<sub>2</sub>. Der CO<sub>2</sub>-Ausstoß in Deutschland lag dagegen bei 10,9 Tonnen pro Person, in den USA sogar bei 19,8 Tonnen CO<sub>2</sub> pro Person (KIELER NACHRICHTEN, 29.11.1997).

Deutschland emittiert jährlich insgesamt ca. 900 Mio. t CO<sub>2</sub>. Ein Anstieg der CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Atmosphäre ist höchst wahrscheinlich maßgeblich am Treibhauseffekt und der daraus resultierenden Klimaerwärmung beteiligt. Klimamodelle sagen eine anhaltende Erwärmung der Erdatmosphäre von ein bis drei Grad Celsius in den nächsten 100 Jahren voraus, wenn der Ausstoß der Treibhausgase nicht energisch gesenkt wird (KIELER NACHRICHTEN, 3.11.1998; KÖRNER, 1999). Kohlendioxid hat mit 50 % aller Treibhausgase einen besonders hohen Anteil am Treibhauseffekt. Darum sollen die Kohlendioxid-Emissionen in Deutschland, ausgehend von 1000 Mio. t CO<sub>2</sub>-Ausstoß im Jahr 1990, bis zum Jahr 2005 um 25 % reduziert werden (LINSCHIEDT und TRUGER, 1998; KIELER NACHRICHTEN, 3.11.1998).

Neben dieser Klimaänderung haben erhöhte Kohlendioxid-Konzentrationen aber auch unmittelbare Einflüsse auf die Biosphäre. CO<sub>2</sub> ist die stoffliche Basis des Lebens auf der Erde, die Photosynthese der Pflanzen wird aufgrund eines Mehrangebotes dieses Rohstoffes stimuliert. Die Photosynthese der meisten Landpflanzen ist bei der heutigen atmosphärischen CO<sub>2</sub>-Konzentration (0,03 %) noch nicht CO<sub>2</sub>-gesättigt (KÖRNER, 1999). So ist die normale CO<sub>2</sub>-Konzentration der Luft bei optimaler Temperatur und entsprechender Lichtversorgung meist der limitierende Faktor der Photosynthese.

Algen können Kohlendioxid jedoch noch in Konzentrationen verwerten, die weit über der natürlichen Konzentration, nämlich bei 4-5 %, liegen (ROUND, 1975). Versuche verschiedener Arbeitskreise haben gezeigt, daß Mikroalgen die Fähigkeit besitzen, anorganischen Kohlenstoff in Form von CO<sub>2</sub> oder NaHCO<sub>3</sub> zusätzlich für eine erhöhte Photosyntheserate bzw. Wachstumsrate zu verwerten (PALMQVIST et al., 1990; HANAGATA et al., 1992; GAO et al., 1993; ABDULLAEV et al., 1994; BROWN et al., 1996; MATSUDA et al., 1998; GORDILLO et al., 1999; KÖRNER, 1999; ELZENGA et al., 2000). Dies eröffnet grundsätzlich die Möglichkeit, Massenkulturen von Mikroalgen zur Verwertung von Abgas-CO<sub>2</sub> und damit zur Reduzierung des CO<sub>2</sub>-Ausstoßes in die Atmosphäre einzusetzen.

Wie eingangs erwähnt, wurden 1994 global mehr als 22 Milliarden Tonnen Kohlendioxid emittiert (BACH, 1996). Anhand dieser enormen Mengen wird deutlich, daß Algenkulturen natürlich nur einen sehr geringen Anteil des CO<sub>2</sub> fixieren könnten. Man muß aber bedenken, daß man aus Algenkulturen zusätzlich pharmazeutisch-medizinisch wichtige Inhaltsstoffe gewinnen kann.

Am Pharmazeutischen Institut, Abteilung Pharmazeutische Biologie, der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel besteht eine umfangreiche Sammlung von Mikroalgen, die im Rahmen eines systematischen Screening-Programmes zunächst in Großkulturen (8 Liter- 250 Liter) gezüchtet und anschließend auf pharmazeutisch-medizinisch und umwelttechnologisch nutzbare Inhaltsstoffe untersucht werden. Diese Mikroalgen werden vor allem aufgrund der folgenden Inhaltsstoffe genutzt:

- PROTEINE:

Der hohe Proteingehalt bestimmter Mikroalgen macht deren Nutzung als Eiweißlieferanten möglich (u.a. *Spirulina*-Arten und *Chlorella*- und *Scenedesmus*-Arten). Sie können vor allem aufgrund des hohen Anteils ihrer Proteine an essentiellen Aminosäuren sowohl in der Lebensmittelchemie für den direkten Verzehr als auch in der Viehzucht als Fütterungsmittel eingesetzt werden (BECKER und VENKATARAMAN, 1982; SAXENA et al., 1983; KAY, 1991; DILLON und PHAN, 1993; KÄMPFEL et al., 1995).

- LIPIDE:

Phospholipide, Glycolipide und essentielle, hochungesättigte C<sub>16</sub>-C<sub>22</sub>-Fettsäuren werden von einigen Mikroalgen in großer Menge gebildet (POHL, 1982; DUBACQ und PHAM, 1993; DURAND, 1999). Vor allem die ungesättigten Fettsäuren sind von besonderer

pharmazeutisch-medizinischer Relevanz (CHENG et al., 1999). Sie dienen u.a. der Behandlung von Hyperlipidämien, Atherosklerose (BOROWITZKA, 1988 b) sowie von Neurodermitis.

- PIGMENTE:

Pigmente aus Mikroalgen, wie Phycobiliproteine und Carotinoide, werden v.a. in der Lebensmittelchemie als Farbstoffe eingesetzt (COHEN, 1986; HÖTZEL, 1996). Carotinoide dienen außerdem als Futtermittelzusatz bei Tieren, die der Lebensmittelgewinnung dienen (GOUVEIA, 1996; GOUVEIA, 1997).

Industriell genutzt werden außerdem insbesondere *Dunaliella*-Arten zur Gewinnung von  $\beta$ -Carotin (BOROWITZKA und BOROWITZKA, 1988; BOROWITZKA, 1992), das aufgrund seiner antioxidativen Eigenschaften einen pharmazeutisch-medizinisch wichtigen Inhaltsstoff der Mikroalgen darstellt (KINDL, 1995; HÖTZEL, 1996).

- VITAMINE:

Mikroalgen können der Gewinnung von Vitaminen, vor allem der Vitamine B<sub>6</sub> und B<sub>12</sub>, dienen (BOROWITZKA, 1988 a; VENKATARAMAN et al., 1994).

- POLYSACCHARIDE und EXOPOLYSACCHARIDE :

Sie finden v.a. in der Lebensmittelindustrie als Gelier- und Dispergiermittel Einsatz (MORCK, 1991; FISCHER, 1996; MARSALEK und ROJICKOVA, 1996; Fischer et al., 1997).

Als weitere pharmazeutisch-medizinisch interessante Verbindungen findet man in Mikroalgen Sterole, v.a. Cholesterolderivate (KOHLHASE und POHL, 1988) oder auch Inhaltsstoffe mit cytotoxischer, antibakterieller, fungizider oder antiviraler Aktivität (TEUSCHER et al., 1992; BOROWITZKA, 1995).

Weitere Untersuchungen zeigten, daß Mikroalgen auch unter umwelttechnologischem Aspekt betrachtet relevant sind. Die nach Extraktion der Inhaltsstoffe anfallenden Biomassen können zur Adsorption von Schwermetallen verwendet werden, um zu diesem Zweck zur Reinigung schwermetallbelasteter Abwässer eingesetzt zu werden (FEHRMANN, 1993; FEHRMANN und POHL, 1993).

Neben der Verwendung der Algenbiomasse gab es auch Untersuchungen zur Wirksamkeit der anfallenden Nährlösungen bzw. der daraus gewonnenen Extrakte gegenüber pflanzlichen und tierischen Zellen sowie Tumorzelllinien (VOLK, 1996; SCHULZE, 2000).

Mikroalgen, die aufgrund der oben genannten Inhaltsstoffe von pharmazeutisch-medizinischem Interesse sind, könnten durch Verwertung von Abgas-CO<sub>2</sub> in Form einer erhöhten Biomasse-Ausbeute möglicherweise einerseits eine höhere Ausbeute an Inhaltsstoffen liefern und andererseits einen Beitrag zur Reduzierung des CO<sub>2</sub>-Ausstoßes in die Umwelt leisten.

Ziel dieser Arbeit war es, aus den zu den obigen Zwecken gezüchteten Mikroalgen (Cyanobakterien und Chlorophyceen) geeignete Organismen herauszufinden, bei denen die Biomasse-Ausbeute durch externe Zufuhr von CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium gesteigert werden konnte. Für die dann ausgewählten Mikroalgen sollten anschließend geeignete Nährlösungen zur optimalen Biomasse-Produktion entwickelt werden. Hierfür sollten die Cyanobakterien und Chlorophyceen möglichst viel CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> nutzen, da eines der Ziele dieser Arbeit darin bestand, CO<sub>2</sub> aus den Abgasen eines Blockheizkraftwerkes als Kohlenstoffquelle zu verwenden und damit den CO<sub>2</sub>-Ausstoß in die Umwelt zu reduzieren. Dabei sollte das NaHCO<sub>3</sub> durch chemische CO<sub>2</sub>-Fixierung aus den Abgasen eines Blockheizkraftwerkes einerseits durch Abgaseinleitung in reine NaOH und andererseits durch Einleitung in industrielle Abfall-Natronlauge gewonnen und für die Züchtung der ausgewählten Mikroalgen verwendet werden.

Zuletzt sollte überprüft werden, ob und wie weit die Zusammensetzung der am BHKW erhaltenen Biomassen hinsichtlich pharmazeutisch-medizinisch relevanter Inhaltsstoffe (Proteine, Lipide, Carotinoide, Chlorophylle) ebenfalls durch die externe Zufuhr von CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium beeinflusst wird.

## B

## MATERIAL UND METHODEN

### 1 Material

#### 1.1 Algen

##### CHLOROPHYCEEN:

- *Ankistrodesmus gracilis* (Reinsch) Korshikov 278-2
- *Chlamydomonas reinhardtii* Dangeard 11-32b
- *Chlorella vulgaris* Beijerinck 211-11b
- *Coelastrum microporum* Nägeli 217-1b
- *Dictyococcus varians* Gerneck 221-5
- *Hämatococcus pluvialis* Flotow 34-1a
- *Monoraphidium braunii* (Nägeli) Komarkowa-Legnerova 202-7d
- *Scenedesmus communis* Hegewald 276-4b

##### CYANOBAKTERIEN:

- *Anabaena variabilis* Kützing 1403-4b
- *Chroococcus minutus* (Kützing) Nägeli B 41.79
- *Nostoc carneum* Vaucher, Dr. Mollenhauer, Forschungsinstitut Senkenberg
- *Nostoc insulare* Borzi 54.79
- *Phormidium* species I, EAWAG, Eidg. Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz, Dübendorf, Schweiz
- *Spirulina laxissima* G.S. West 1462.80
- *Spirulina maxima* (Setchell et Gardner) Geitler B 84.79
- *Spirulina platensis* (Nordstedt) Geitler B 85.79
- *Synechocystis aquatilis* Sauvageau B 90.79

Der Zusatz „B“ bedeutet, daß die Algenkultur bakterienhaltig ist.

Herkunft der Algen ohne genauere Angaben: SAG-Sammlung von Algenkulturen, Universität Göttingen (Schlösser 1994).

## **1.2. Chemikalien**

Soweit nicht anders angegeben, wurden Chemikalien und Lösungsmittel von der Fa. E. Merck, Darmstadt in p.a.-Qualität verwendet.

Instant Ocean<sup>®</sup> (Künstliches Meersalz) wurde von der Fa. Aquarium Systems, Sarrebourg, Frankreich bezogen.

## **2 Methoden**

### **2.1 Kultivierung der Algen im Labor**

#### **2.1.1 Zusammensetzung der Nährlösungen**

##### **2.1.1.1 10% Seewasser-Nährlösung**

Die Cyanobakterien und Chlorophyceen wurden in einem anorganischen Süßwassernährmedium nach POHL et al. (1987) gezüchtet (Nährlösung DSN). Diese Nährlösung bestand zu 90 % aus demineralisiertem Wasser und 10 % künstlichem Meerwasser (3,5 g Instant Ocean<sup>®</sup> pro Liter Nährlösung). Pro Liter Nährlösung wurden außerdem je 20 ml Spurenelementlösung A und B nach POHL et al. (1987) zugefügt. Phosphat und Stickstoff wurden der Nährlösung in Form von  $K_2HPO_4 \times 3 H_2O$  (0,005 %) und  $KNO_3$  (0,05 %) zugesetzt.

##### **2.1.1.2 Spirulina-Nährlösung**

*Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* wurden u.a. in einer speziellen carbonathaltigen Nährlösung gezüchtet. Die Kultivierung erfolgte ebenfalls unter Verwendung des anorganischen Süßwassernährmediums nach POHL et al. (1987), wobei der Meerwasserzusatz nur 5 % betrug. Die Spurenelementlösungen A und B sowie  $KNO_3$  wurden in den gleichen Mengen wie bei der DSN-Nährlösung zugegeben,  $K_2HPO_4 \times 3 H_2O$

wurde in einer Konzentration von 0,01 % zugesetzt. Zusätzlich erfolgte die Zugabe von 1,36 % NaHCO<sub>3</sub> und 0,04 % Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> zur Nährlösung.

### **2.1.2 Kultivierungsbedingungen**

Die Mikroalgen wurden unter axenischen Bedingungen in 250 ml-Kleinkulturen sowie in 8 l-Batchkulturen unter Belichtung mit Weißlicht (60 bis 100  $\mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), ständiger Belüftung und häufigem Umschütteln in der Regel 45 Tage gezüchtet. Alle Nährlösungen wurden vor der Beimpfung sterilfiltriert (Sterilfilter der Fa. Sigma, Porengröße 0,45 $\mu\text{m}$ ). Die Temperierung der Kulturen erfolgte in klimatisierten Räumen bei 27°C.

Zur Beobachtung des Wachstumsverlaufes wurde in regelmäßigen Abständen die Absorption der Algensuspensionsdichte in einem Hitachi U 1100 Spektrophotometer bei 440 nm gegen Wasser als Blindwert vermessen. Gleichzeitig wurde die zum jeweiligen Absorptionswert zugehörige gefriergetrocknete Biomasse aus einem Volumen von 100 ml des Ansatzes bestimmt.

Die Lichtintensität wurde mit einem LI 185 B Quantum/Radiometer/Photometer (Fa. LICOR, inc., Lincoln, USA) gemessen, das mit einem Spherical Quantum Sensor ausgestattet war.

### **2.1.3 Variation der Wachstumsbedingungen**

#### **2.1.3.1 Seewasserkonzentration**

Für einige Versuche wurde der ursprüngliche Seewassergehalt der Nährlösung nach POHL et al. (1987) variiert. Neben den Ansätzen mit 10% Seewasser wurden außerdem Versuche mit einem Seewassergehalt von 5% und 2% durchgeführt. Die übrige Zusammensetzung der Nährlösung blieb unverändert.

### **2.1.3.2 Zusatz von Natriumhydrogencarbonat**

Der Einfluß unterschiedlicher  $\text{NaHCO}_3$ -Konzentrationen in der Nährlösung auf das Wachstum der Mikroalgen wurde anhand folgender Zusätze ermittelt:

Zum oben aufgeführten Nährmedium wurde  $\text{NaHCO}_3$  je nach Mikroalge in einer Menge von 0,05 % bis 3,0 % zugefügt. Das Natriumhydrogencarbonat wurde in 250 ml-Vorversuchen als Reinsubstanz zugegeben, in den darauffolgenden Versuchen in Form des am BHKW selbst gewonnenen  $\text{NaHCO}_3$  (siehe unter 2.3.2).

### **2.1.3.3 Zufuhr von $\text{CO}_2$ unter pH-Steuerung**

Die Beeinflussung des Wachstums der Mikroalgen wurde weiterhin hinsichtlich der Einleitung von Kohlendioxid in die Nährlösung untersucht. Die  $\text{CO}_2$ -Zufuhr wurde über den pH-Wert der Nährlösung reguliert (je nach Mikroalge im Bereich zwischen pH 7 und pH 10). Die Kulturen waren mit einer pH-Elektrode und einer pH-Steuereinheit der Firma Dupla Aquaristik GmbH (Bielefeld) ausgestattet. Über einen Schlauch und eine Belüftungskerze wurden die Ansätze bis zum Erreichen des Soll-pH-Wertes mit  $\text{CO}_2$  belüftet.

### **2.1.4 Ernte der Algen aus 8 Liter-Kulturen**

Zur Dokumentation des Wachstumsverlaufes wurde die Biomasse aus Kulturvolumina von 100 ml durch Zentrifugation mit einer Heraeus Sepatech Megafuge 1,0 bei etwa 2800 x g gewonnen.

Die 8 Liter-Kulturen wurden mit Hilfe einer Durchlaufzentrifuge (Heraeus Contifuge 17S) bei etwa 10000 x g zunächst auf ein kleineres Volumen eingeengt (ca. 500 ml). Durch weitere Zentrifugation für 10 Minuten mit der Megafuge 1,0 (s.o.) bei etwa 2800 x g konnte die Biomasse weitgehend von Nährlösung befreit werden. Diese wurde nun mit demineralisiertem Wasser gewaschen und erneut zentrifugiert. Die Biomassen von *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* wurden nach der Zentrifugation 2x mit je 50 ml  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ -Lösung (0,4 %) und 1x mit demineralisiertem Wasser gewaschen.

Die Biomassen wurden gefriergetrocknet (Gefriertrocknungsanlage Beta 1-8 K, Fa. M. Christ GmbH, Osterode/Harz) und das Trockengewicht gravimetrisch bestimmt. Die Lagerung der Biomassen bis zur weiteren Aufarbeitung erfolgte vor Licht und Luft geschützt bei -20°C.

## **2.2 Kultivierung der Algen am Blockheizkraftwerk (BHKW)**

### **2.2.1 Zusammensetzung der Nährlösung**

Die Zusammensetzung der Nährlösung entsprach den unter 2.1.1 aufgeführten Medien.

### **2.2.2 Kultivierungsbedingungen**

Auf dem Gelände des Blockheizkraftwerkes der Gemeindewerke Heikendorf wurde eine Versuchshütte mit einer Grundfläche von 200 x 250 cm aufgebaut (s. Abb. 1). Das Ansetzen, die Sterilfiltration und die Beimpfung der Nährlösungen erfolgten im Labor des Pharmazeutischen Institutes. Anschließend wurden die 8 l-Batchkulturen zum BHKW transportiert und hier ebenfalls unter Belichtung ( $90 \mu\text{mol Photonen m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), ständiger Belüftung und häufigem Umschütteln jeweils 45 Tage gezüchtet (s. Abb. 2). Die Temperierung der Kulturen wurde über das konstante Beheizen der isolierten Versuchshütte auf 27°C gewährleistet.

Die Dokumentation des Wachstumsverlaufes erfolgte wie unter Punkt 2.1.2 beschrieben.

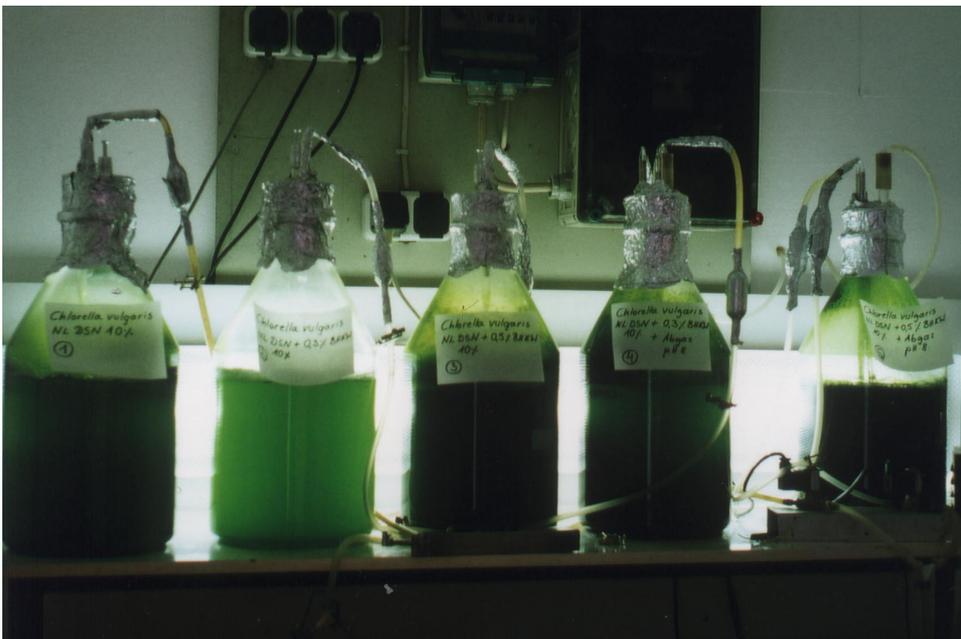
**Abb. 1**

Versuchshütte auf dem Gelände des Blockheizkraftwerkes Heikendorf



**Abb. 2**

Kultivierung von Mikroalgen in 8 l-Batchkulturen am BHKW Heikendorf



## **2.2.3 Variation der Wachstumsbedingungen**

### **2.2.3.1 Seewasserkonzentration**

Die am BHKW gezüchteten Mikroalgen wurden in der Regel im Nährmedium nach Pohl et al. (1987) mit einem künstlichen Seewassergehalt von 10 % gezüchtet. Eine Erniedrigung des Seewassergehaltes auf 5 % erfolgte hier lediglich bei den Kulturen von *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis*, die übrige Zusammensetzung der Nährlösung DSN blieb unverändert.

### **2.2.3.2 Zusatz von Natriumhydrogencarbonat**

Zum oben aufgeführten Nährmedium wurde am BHKW hergestelltes  $\text{NaHCO}_3$  in folgenden Konzentrationen zugesetzt:

CYANOBAKTERIEN: 2,0 % bzw. 3,0 %  $\text{NaHCO}_3$

CHLOROPHYCEEN: 0,3 % bzw. 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$

Damit sollte die Beeinflussung des Wachstumsverlaufes der Kulturen und der Zusammensetzung der Biomasse durch verschiedene  $\text{NaHCO}_3$ -Konzentrationen untersucht werden.

### **2.2.3.3 Belüftung mit Abgasen des BHKW**

Eine weitere Kohlenstoffquelle, die den Mikroalgen zusätzlich zur Verfügung gestellt wurde, war Kohlendioxid. Hierzu wurde vom Schornstein des Blockheizkraftwerkes eine Abzweigung direkt in die Versuchshütte verlegt (s. Abb. 3 und 4). Über eine Saug-Druck-Kompressorpumpe wurde das Abgas des Kraftwerkes ( $\text{CO}_2$ -Gehalt ca. 6,6 Vol. %) über eine Belüftungskerze in den Versuchsansatz geleitet. Ein zwischen Abgasleitung und Algenkulturen aufgebauter Behälter diente zum Auffangen des Kondenswassers des Abgases. Die Abgaszufuhr wurde über den pH-Wert reguliert. Die Kulturen waren wie im Labor mit einer pH-Elektrode und einer pH-Steereinheit der Firma Dupla Aquaristik GmbH (Bielefeld) ausgestattet. Das Abgas wurde bis zum Erreichen des jeweiligen Soll-pH-Wertes zugesetzt:

CYANOBAKTERIEN: pH 9 bzw. pH 10

CHLOROPHYCEEN: pH 7 bzw. pH 8

Es wurde somit getestet, welchen Einfluß die Zufuhr von  $\text{CO}_2$  aus Abgasen und/oder  $\text{NaHCO}_3$  auf das Wachstum und die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Inhaltsstoffe der Mikroalgen hat.

**Abb. 3 und 4**

Abzweigung vom Schornstein des Blockheizkraftwerkes direkt in die Versuchshütte



## **2.2.4 Ernte der Algen**

Das Abernten, die Gefriertrocknung und die Lagerung der Biomassen der am BHKW gezüchteten Algenkulturen erfolgte wie unter Punkt 2.1.4 beschrieben.

## **2.3 Herstellung von Natriumhydrogencarbonat**

### **2.3.1 Labor**

Über einen Schlauch wurde reines Kohlendioxid in Natronlauge (12 %) eingeleitet. Nach Sättigung der Lösung mit  $\text{NaHCO}_3$  kam es zur Niederschlagsbildung durch  $\text{NaHCO}_3$ . Dieses wurde durch Filtration abgetrennt und anschließend luftgetrocknet. Das auf diese Weise gewonnene  $\text{NaHCO}_3$  wurde für Vorversuche mit 250 ml-Kleinkulturen verwendet.

### **2.3.2 Blockheizkraftwerk**

#### **2.3.2.1 Einleitung von Abgasen in chemisch reine Natronlauge**

In der Versuchshütte am BHKW in Heikendorf wurde ein zylinderförmiges Gefäß aus Plexiglas (Höhe=1 m, Durchmesser=0,20 m) mit einem darin befindlichen Rührer installiert, das mit 24 Liter 12 %iger Natronlauge befüllt wurde. Nach der Belüftung der Algenkulturen wurde das überschüssige Abgas über einen Schlauch in die Natronlauge eingeleitet (s. Abb 5). Nach zwei Monaten wurde das gebildete  $\text{NaHCO}_3$  abfiltriert, luftgetrocknet und für die entsprechenden Versuche verwendet. Das Flüssigkeitsvolumen, das sich auf 8 Liter reduziert hatte, wurde zur weiteren Gewinnung von  $\text{NaHCO}_3$  mit 16 Liter 18 %iger Natronlauge aufgefüllt und wiederum mit Abgas belüftet.

### Abb. 5

Fällung von  $\text{NaHCO}_3$  durch Einleitung von überschüssigem Abgas in  $\text{NaOH}$  (12 %)



#### 2.3.2.2 Einleitung von Abgasen in industrielle Abfall-Natronlauge

Anstelle chemisch reiner  $\text{NaOH}$  wurde zur Gewinnung von  $\text{NaHCO}_3$  industrielle Abfall-Natronlauge verwendet. Hierbei handelte es sich um ca. 12 %ige, schwarzgefärbte Abfall-Natronlauge, welche zur Reinigung von Metallblechen verwendet worden war (Fa. PANO Verschlußsystem, Itzehoe). Die Abgaseinleitung erfolgte wie unter Punkt 2.3.2.1 beschrieben. Nach vier Wochen wurde das entstandene  $\text{NaHCO}_3$  abfiltriert. Anschließend wurde der Niederschlag 5x mit demineralisiertem Wasser gewaschen und 2x mit Ethanol umkristallisiert und luftgetrocknet. Das so gewonnene  $\text{NaHCO}_3$  wurde als Zusatz für 250 ml-Kleinkulturen verwendet.

## **2.4 Analytische Methoden**

### **2.4.1 Bestimmung der Biomasse**

Das Trockengewicht der Algen wurde nach Gefriertrocknung gravimetrisch bestimmt.

### **2.4.2 Bestimmung des pH-Wertes**

Der pH-Wert der Probenlösungen wurde mit einem WTW pH 530 pH-Meter gemessen.

### **2.4.3 Bestimmung des Nitratgehaltes**

Der Nitratgehalt der Probenlösungen wurde mit Nitrat-Teststäbchen Merckoquant<sup>®</sup> der Fa. Merck ermittelt. Bei Absinken des Nitrat – Gehaltes auf ca. 50 mg/l wurde Stickstoff in Form von KNO<sub>3</sub> wieder in der entsprechenden Konzentration (0,05 %) zugefügt.

### **2.4.4 Qualitative und quantitative Bestimmung des Fettsäuregehaltes in Cyanobakterien und Chlorophyceen**

Zur Bestimmung des Fettsäuregehaltes wurde die bei GARCES und MANCHA (1993) angegebene Methylierungsmethode durchgeführt:

#### **METHYLIERUNG:**

Etwa 20 mg gefriergetrockneter Biomasse, genau gewogen, und 0,5 mg Heptadecansäure als internem Standard wurden 2,6 ml Methylierungsgemisch (Methanol-Toluol-2,2-Dimethoxypropan und konzentrierte Schwefelsäure im Verhältnis 39:10:2:1) und 1,5 ml Heptan zugesetzt. Die Mischung wurde kurz mit Stickstoff begast und kräftig geschüttelt. Das gut verschlossene Reaktionsgefäß wurde nun für zwei Stunden bei 80°C im Wasserbad erwärmt. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur bildeten sich zwei Phasen, wobei die obere Heptanphase die Fettsäuremethylester enthielt. Jeweils 1 µl der unter Stickstoffbegasung

etwas eingeeengten Heptanphase wurde sowohl für die Gaschromatographie als auch für die Massenspektrometrie (GC-MS) verwendet.

#### GASCHROMATOGRAPHIE:

Gaschromatograph:	Hewlett Packard HP 6890 Series, GC System
Säule:	HP-1 MS Fused Silica Kapillarsäule, L 30,0 m, ID 0,25 mm
Trägergas:	Helium
Flußrate:	1,5 ml/min
Splitverhältnis:	1/30
Temperaturprogramm:	Anfangstemperatur 150°C, 4°C/min ⇒ 300°C
Injektor:	250°C
Detektor:	FID, 300°C

#### MASSENSPEKTROMETRIE (GC-MS):

Gaschromatograph:	HP 5890 Series II, Fa. Hewlett Packard
Säule:	WCOT-Kapillarsäule (Fused Silica), FFAP-DF-0,10; L 25 m, ID 0,25 mm, Fa. Macherey & Nagel
Trägergas:	Helium
Flußrate:	1 ml/min
Splitverhältnis:	1/100
Temperaturprogramm:	10 min 120°C isotherm, 3°C/min ⇒ 220°C, 15 min 220°C Isotherm
Injektor:	250°C

Detektor: Hewlett-Packard HP 5989A-MS Engine Massenspektrometer  
mit Elektronenstoßionisierung bei 70eV

Die Identifizierung der Fettsäuremethylester gelang mit Hilfe verschiedener Fettsäuremethylesterstandardgemische (Bacterial Acid Methyl Ester Mix, Grain Fatty Acid Methyl Ester Mix, Supelco™ 37 Component FAME Mix, alle von der Fa. Supelco) durch Vergleich der relativen Retentionszeiten bezogen auf Heptadecansäure als internen Standard. Zusätzlich erfolgte die Bestimmung der qualitativen Zusammensetzung der Fettsäuren durch eine massenspektrometrische Analyse. Für diese stand eine entsprechende Spektrenbibliothek mit Vergleichsspektren zur Verfügung.

Die prozentualen Anteile der einzelnen Fettsäuren am Gesamtfettsäuregehalt wurden über die im Chromatogramm erhaltenen Peakflächen in Relation zur Peakfläche des internen Standards (Heptadecansäure) errechnet.

#### **2.4.5 Qualitative und quantitative Bestimmung des Chlorophyll- und Carotinoidgehaltes in Cyanobakterien und Chlorophyceen**

##### EXTRAKTION AUS CYANOBAKTERIEN:

25,0 mg gefriergetrocknete Biomasse, genau gewogen, wurden in einem Zentrifugenglas wie folgt erschöpfend extrahiert. Als Extraktionsmittel diente eine Mischung aus Aceton und Methanol im Verhältnis 3:1.

- 1.Extraktion ⇒ mit 20,0 ml Extraktionsmittel für eine Minute auf einem Vortex-Gerät  
(Stufe 8)
- 2.Extraktion ⇒ mit 10,0 ml Extraktionsmittel für eine Stunde auf einer Schüttelmaschine  
(mittlere Stufe)
- 3.Extraktion ⇒ mit 10,0 ml Extraktionsmittel über Nacht auf einer Schüttelmaschine  
(mittlere Stufe)
- 4.Extraktion ⇒ mit 5,0 ml Extraktionsmittel für eine Stunde auf einer Schüttelmaschine  
(mittlere Stufe).

Nach jeder Extraktion wurde die Lösung bei 3000 U/min abzentrifugiert. Die vereinigten Lösungen wurden filtriert und mit Aceton/Methanol auf 50,0 ml aufgefüllt. Alle Extraktionschritte wurden unter Lichtschutz durchgeführt. Die so erhaltene

acetonisch/methanolische Lösung wurde sowohl als Meßlösung für die photometrische Bestimmung des Gesamtcarotinoidgehaltes als auch als Ausgangslösung zur Ermittlung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Carotinoide und Chlorophylle mit Hilfe der HPLC verwendet.

#### EXTRAKTION AUS CHLOROPHYCEEN:

25,0mg gefriergetrocknete Biomasse, genau gewogen, wurden mit 1,5g Seesand (Quarzsand, feinkristallin; 0,1-0,7 mm) in einer Reibschale unter Kraftaufwendung etwa fünf Minuten verrieben. Das so erhaltene Pulver wurde, wie bei den Cyanobakterien beschrieben, entsprechend extrahiert. Als Extraktionsmittel diente Aceton.

#### BESTIMMUNG DES GESAMTCAROTINOIDGEHALTES :

Die photometrische Bestimmung des Gesamtcarotinoidgehaltes wurde in Anlehnung an die bei DAVIES (1976) angegebene Methode durchgeführt:

Die bei der Extraktion der Mikroalgen erhaltene acetonische (bzw. acetonisch-methanolische) Lösung wurde mit einem Hitachi U 1100 Spektrophotometer bei 450 nm gegen Aceton (bzw. Aceton/Methanol 3:1) als Blindwert vermessen. Der Gesamtcarotinoidgehalt (incl. Chlorophylle) konnte mit Hilfe der spezifischen Absorption von Carotinoiden ( $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2500$ ) nach dem Lambert-Beerschen Gesetz berechnet werden. Da bei der photometrischen Vermessung bei 450 nm auch die Chlorophylle miterfaßt wurden, wurde zur Ermittlung des Gesamtcarotinoidgehaltes der nach Lambert-Beer berechnete Gesamtwert um den Chlorophyllanteil korrigiert. Hierzu wurde mittels HPLC die prozentuale Zusammensetzung der Carotinoide und Chlorophylle bestimmt.

#### BESTIMMUNG DER PROZENTUALEN ZUSAMMENSETZUNG DER CAROTINOIDE UND CHLOROPHYLLE MITTELS HPLC:

Die Untersuchungen wurden anhand der Arbeiten von NELIS und DE LEENHEER (NELIS & DE LEENHEER, 1983; NELIS, 1987; NELIS & DE LEENHEER, 1988) durchgeführt. Die bei der Extraktion der Chlorophyceen und Cyanobakterien erhaltene acetonische (bzw. acetonisch-methanolische) Lösung wurde am Rotationsverdampfer bei  $< 40^{\circ}\text{C}$  schonend bis zur Trockne eingengt. Der Rückstand wurde in 4,0 ml des HPLC-Fließmittels (Zusammensetzung s.u.) gelöst und vor Licht geschützt aufbewahrt. Die so erhaltene Lösung

diente als Untersuchungslösung für die HPLC.

HPLC:

HPLC-Pumpe:	Kontron Instruments HPLC PUMP 420
Dosierschleife:	20 µl
Säule:	250 x 4,6 mm Zorbax ODS (5µm)
Fließmittel:	Acetonitril:Dichlormethan:Methanol (60:20:20 V/V)
Flußrate:	1ml/min
Detektor:	Photo Dioden Array Detektor, L 3000, Fa. Merck/Hitachi
Auswertung:	Shimadsu C-R3A Integrator und HPLC-Software-Programm (D-6000 DAD Manager/HPLC Manager, Fa. Merck)

Die Identifizierung der Carotinoide und Chlorophylle erfolgte über den Vergleich derer Retentionszeiten und Absorptionsspektren mit denen von Referenzsubstanzen, während die prozentuale Zusammensetzung über die im Chromatogramm erhaltenen Peakflächen berechnet wurde.

#### **2.4.6 Quantitative Bestimmung des Proteingehaltes in Cyanobakterien und Chlorophyceen**

Der Proteingehalt der Cyanobakterien und Chlorophyceen wurde mit Hilfe der Mikro-Kjeldahl-Methode bestimmt:

AUFSCHLUß:

Ca. 25 mg gefriergetrocknete Biomasse, genau gewogen, wurden mit 2,5 g Selenreaktionsgemisch, 10 ml konzentrierter Schwefelsäure (98 %, stickstofffrei) und zwei

Glasperlen in einem Büchi 430-Digestor drei Stunden lang gekocht und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt.

#### VORLAGE:

In einem 500 ml Erlenmeyerkolben wurden 20,0 ml Salzsäure 0,01N Titrisol<sup>®</sup> und 4 Tropfen Mischindikator 5 vorgelegt. Das Gemisch wurde mit bidestilliertem Wasser auf 150 ml aufgefüllt.

#### DESTILLATION:

Der nach dem Aufschluß erhaltenen Lösung wurden 50,0 ml demineralisiertes Wasser; 50,0 ml Natronlauge 30 % und 2-3 Tropfen Methylrotlösung zugesetzt. Diese Lösung wurde nun mittels einer Büchi 321-Destillationseinheit in die Vorlage destilliert.

#### TITRATION:

Die überschüssige Salzsäure im erhaltenen Destillat wurde mit Natronlauge 0,01N Titrisol<sup>®</sup> zurücktitriert. Parallel wurde ein Blindversuch ohne Probe durchgeführt und der hierbei ermittelte Natronlaugenverbrauch von dem der Probe abgezogen.

Der Stickstoff-bzw. Proteingehalt der Probe ergibt sich nach folgenden Formeln:

$$\% \text{ N} = \frac{V \text{ [ml]} \times 14}{\text{Einwaage [mg]}}$$

V= Verbrauch an Salzsäure 0,01N für die Umsetzung mit NH<sub>3</sub>

E= Einwaage der Probe

$$\% \text{ Protein} = 6,25 \times \% \text{ N}$$

## 1 Auswahl geeigneter Mikroalgen für die Verwertung von $\text{NaHCO}_3$ und $\text{CO}_2$

### 1.1 Einführung

Als Kohlenstofflieferanten stehen den Algen Kohlendioxid, Carbonate, Bicarbonate und organische Verbindungen zur Verfügung, wobei Kohlendioxid die wichtigste Kohlenstoffquelle darstellt. Für die Photosynthese verwerten Algen vorwiegend freies Kohlendioxid, es gibt jedoch auch einige Arten, die sowohl undissoziiertes Kohlendioxid als auch Bicarbonat verwerten können (REITZ, 1986).

Die Photosynthese ist der in den Pflanzen ablaufende biochemische Prozeß, der letztlich für alle biologischen Systeme Energie bereitstellt. Die meisten Algen sind photoautotrophe Organismen, d.h. sie können die Sonnenenergie einerseits bei der Photophosphorylierung zur Bildung von ATP aus ADP und  $\text{PO}_4^{3-}$  nutzen und andererseits bei der Photosynthese unter Assimilation von  $\text{CO}_2$  in mehreren aufeinanderfolgenden Reaktionsschritten Glucose synthetisieren. Sie sind jedoch auch in der Lage, die aus der Assimilation des  $\text{CO}_2$  hervorgegangenen organischen Substanzen durch Atmung wieder zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  abzubauen. Die Photosynthese ist von unterschiedlichen Faktoren abhängig, wie z.B. Licht, Temperatur, Sauerstoff und Kohlendioxid. Die normale  $\text{CO}_2$ -Konzentration der Luft (0,03 %) ist bei optimaler Temperatur und entsprechender Lichtversorgung meist der limitierende Faktor der Photosynthese. Algen können Kohlendioxid jedoch noch in Konzentrationen verwerten, die weit höher, nämlich bei 4-5 %, liegen (ROUND, 1975), wobei ihnen das für die Photosynthese notwendige  $\text{CO}_2$  auch durch eine erhöhte  $\text{HCO}_3^-$ -Konzentration im Nährmedium zugeführt werden kann.

Zur Anpassung an niedrige  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen verfügen Cyanobakterien und Chlorophyceen über einen Mechanismus, durch den sie aktiv anorganischen Kohlenstoff aus dem externen Medium aufnehmen können. Dadurch wird die  $\text{CO}_2$ -Konzentration am aktiven Zentrum der Ribulosebiphosphat-Carboxylase-Oxygenase (Rubisco), dem Hauptenzym der

Photosynthese zur Fixierung von  $\text{CO}_2$ , erhöht. Das wiederum führt zu einer wesentlichen Erhöhung der Photosyntheseeffektivität (BADGER and PRICE, 1992; MARTINEZ et al., 1999; MORONEY et al., 1999; SÜLTEMEYER et al., 1999). Dieser  $\text{CO}_2$ -Anreicherungsmechanismus (engl.  $\text{CO}_2$ -concentrating-mechanism, CCM) ist an zwei Voraussetzungen gebunden:

1. Vorhandensein von membrangebundenen Transport-Systemen, die den anorganischen Kohlenstoff ( $c_i = \text{CO}_2, \text{HCO}_3^-, \text{CO}_3^{2-}$ ) in die Zellen transportieren ( $c_i$ -Transport-System)
2. Vorhandensein von Mikrostrukturen innerhalb der Zellen, um mit deren Hilfe die Konzentration an  $\text{CO}_2$  an der Ribulosebiphosphat-Carboxylase-Oxygenase zu erhöhen (PRICE et al., 1998).

Hierbei muß man den CCM von Cyanobakterien und Chlorophyceen getrennt betrachten. Das  $c_i$ -Transport-System der Cyanobakterien ermöglicht es diesen, aktiv  $c_i$  aus dem externen Medium aufzunehmen und anzureichern. Ist dieser Transportprozeß vollständig eingeleitet, können die Zellen beides, sowohl  $\text{CO}_2$  als auch  $\text{HCO}_3^-$ , als Substrate für den Transport nutzen (BADGER and ANDREWS, 1982; MILLER et al., 1990). Bei den alkalischen pH-Werten, die normalerweise unter diesen Bedingungen herrschen, ist es der  $\text{HCO}_3^-$ -Transport, der vor allem dazu dient, die  $\text{CO}_2$ -Versorgung für die Photosynthese zu sichern (MILLER et al., 1990). Cyanobakterien können sowohl bei hohen als auch bei niedrigen  $\text{CO}_2$ -Konzentrationen Photosynthese betreiben, denn die Zellen sind in der Lage, sich an die jeweils herrschenden  $c_i$ -Konzentrationen im Wachstumsmedium anzupassen. Der  $\text{CO}_2$ -Anreicherungsmechanismus (CCM) ist bei niedriger  $c_i$ -Konzentration maximal induziert, wobei er bei einer hohen Konzentration an anorganischem Kohlenstoff im Medium weniger aktiv ist (BADGER, 1987; MILLER et al., 1990; GOYAL and TOLBERT, 1991; WILLIAMS and COLMAN, 1996). BADGER et al. (1999) gaben an, daß ein voll funktionsfähiger CCM sogar noch bei 5 %  $\text{CO}_2$  aktiv ist. Es wird vermutet, daß es innerhalb des CCM zwei separate Transportmechanismen für  $\text{CO}_2$  und  $\text{HCO}_3^-$  gibt (VOLOKITA et al., 1984; PRICE and BADGER, 1989a), für die BADGER and PRICE (1992) ein mögliches Modell beschreiben. Der  $c_i$ -Transporter, der in der Plasmamembran lokalisiert ist, besitzt Carboanhydraseeigenschaften und damit die Fähigkeit,  $\text{CO}_2$  aus dem Medium in die äußere Plasmamembran aufzunehmen. Hier erfolgt die enzymatisch katalysierte Umwandlung des  $\text{CO}_2$  in  $\text{HCO}_3^-$  und dessen anschließender Transport in das Zellinnere. Das aktive Zentrum der Carboanhydrase kann neben  $\text{CO}_2$  aber auch  $\text{HCO}_3^-$  als Substrat akzeptieren, wobei beide aktiven Aufnahmemechanismen an ein dort

gebundenes Zink-Atom, das  $H^+$ -Ionen-Übertragungsreaktionen katalysiert, gekoppelt sind (SILVERMAN and VINCENT, 1983; SILVERMAN, 1991).

Die für den Ablauf des CCM und der Photosynthese wichtigsten Enzyme Carboanhydrase und Rubisco sind bei den Cyanobakterien in spezifischen Mikrostrukturen—den Carboxysomen—zusammengefaßt. Carboxysomen stellen kristallähnliche, polyedrische Komplexe innerhalb der Zellen dar, die aus Proteinen aufgebaut sind. Sie enthalten den größten Anteil der in den Zellen vorkommenden Rubisco und geringe Mengen an Carboanhydrase (REINHOLD et al., 1989,1991; COLEMAN et al., 1982; BADGER and PRICE, 1989; PRICE et al., 1998). In den Carboxysomen findet einerseits die Umsetzung von  $HCO_3^-$  zu  $CO_2$  und umgekehrt durch Carboanhydrase statt, und andererseits erfolgt hier die Katalyse der  $CO_2$ -Fixierung am Ribulosebiphosphat durch Rubisco.

Der  $CO_2$ -Anreicherungsmechanismus der Chlorophyceen ist weitaus weniger erforscht als der der Cyanobakterien. Es scheint einen aktiven  $CO_2$ -Transport sowohl an der Plasmamembran (SÜLTEMEYER et al., 1989) als auch an der Chloroplastenhülle (MORONEY et al.,1987; SÜLTEMEYER et al., 1988) zu geben. Der Haupteinstrom von anorganischem Kohlenstoff in die Zellen erfolgt über die direkte Aufnahme von  $CO_2$  über die Plasmamembran (BADGER, 1987; SÜLTEMEYER et al., 1989). Die  $HCO_3^-$ -Verwertung durch die Zellen erfolgt ebenfalls über den  $CO_2$ -Aufnahmemechanismus, wobei durch Induzierung einer periplasmatischen Carboanhydrase das  $HCO_3^-$  in  $CO_2$  umgewandelt wird (BADGER, 1987). SÜLTEMEYER et al. (1989) und THEILMANN et al. (1990) haben gezeigt, daß außerdem ein direktes  $HCO_3^-$ -Transportsystem über die Plasmamembran besteht. Die  $c_i$ -Anreicherung in den Zellen der Chlorophyceen erfolgt in erster Linie in Form von  $HCO_3^-$ , unabhängig davon, ob  $CO_2$  oder  $HCO_3^-$  von den Zellen aufgenommen wurde (BADGER and PRICE, 1992).

In Analogie zu den Carboxysomen der Cyanobakterien bestehen bei den Chlorophyceen ähnliche Protein-Strukturen, die sogenannten Pyrenoide (BADGER and PRICE, 1992; SÜLTEMEYER et al., 1999). In den Pyrenoiden, die sich im Stroma der Chloroplasten der Mikroalgen befinden, kann die  $CO_2$ -Konzentration an der Ribulosebiphosphat–Carboxylase-Oxygenase lokal erhöht werden, indem  $HCO_3^-$  vom Stroma in die Pyrenoide diffundiert und dort von der Carboanhydrase in  $CO_2$  umgewandelt wird, wodurch wiederum die Effektivität der Photosynthese bei niedrigen  $c_i$ -Konzentrationen im Medium erhöht wird (PRONINA and SEMENENKO, 1992; RAMAZANOV et al., 1994; RAMAZANOV et al., 1996; PARK et al., 1999).

Ein erstes Ziel dieser Dissertation bestand zunächst darin, Cyanobakterien und Chlorophyceen zu finden, bei denen die Photosyntheserate und damit die Biomasse-Ausbeute durch externe Zugabe von  $\text{CO}_2$  und/oder  $\text{HCO}_3^-$  zum Nährmedium steigt. Für die dann ausgewählten Mikroalgen sollten geeignete Nährlösungen zur optimalen Biomasseproduktion entwickelt werden. Hierfür sollten die Cyanobakterien und Chlorophyceen möglichst viel  $\text{CO}_2$  und /oder  $\text{NaHCO}_3$  nutzen. Das Hauptziel bestand schließlich darin, die am besten geeigneten Mikroalgen unter Verwendung von  $\text{CO}_2$  aus den Abgasen eines Blockheizkraftwerkes zu züchten, damit den  $\text{CO}_2$ -Ausstoß in die Umwelt zu reduzieren und darüberhinaus die erhaltenen Algenbiomassen für die Gewinnung von pharmazeutisch-medizinisch relevanten Inhaltsstoffen zu nutzen.

## 1.2 Ergebnisse

Die Verwertung von anorganischem Kohlenstoff in Form von  $\text{CO}_2$  und /oder  $\text{NaHCO}_3$  wurde an verschiedenen Mikroalgen in unterschiedlichen Konzentrationen getestet.

Am Pharmazeutischen Institut, Abteilung Pharmazeutische Biologie, in Kiel besteht eine umfangreiche Sammlung von Mikroalgen, die im Rahmen eines systematischen Screening-Programmes auf pharmazeutisch-medizinisch und umwelttechnologisch nutzbare Inhaltsstoffe untersucht wurden (PIORRECK, 1983; KOHLHASE, 1987; MARTIN, 1987; HOFFMANN, 1991; FEHRMANN, 1993; FISCHER, 1996; VOLK, 1996; ASSADI POUR, 1998; SCHULZE, 2000). Die in den Tabellen aufgeführten Cyanobakterien und Chlorophyceen stammten aus dieser Sammlung bzw. zusätzlich aus der Algensammlung Göttingen. Sie wurden hinsichtlich folgender Gesichtspunkte untersucht:

1. Wachstum der Mikroalgen in Nährlösung DSN nach POHL et al. (1987) unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$
2. Eignung der Mikroalgen für weitere Versuche unter Verwendung von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$  im Labor und direkt am Blockheizkraftwerk.

Hierzu wurden die ausgewählten Mikroalgen zunächst in 250 ml - Vorversuchen getestet. Der Nährlösung DSN (10 % Seewasser) nach POHL et al. (1987) wurden unterschiedliche Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  zugesetzt und das Wachstum der Algen über einen Zeitraum von 3 Wochen zunächst optisch beurteilt. Anschließend sollte getestet werden, ob die in den 250 ml-Kleinkulturen erhaltenen Ergebnisse auch auf Züchtungen im größeren Maßstab (8 Liter-Kulturen) übertragbar waren. Die Mikroalgen wurden dafür in 8 Liter-Batchkulturen

wiederum mit NaHCO<sub>3</sub> gezüchtet, wobei zur weiteren Beurteilung diese Kulturen durch Einleiten von CO<sub>2</sub> alternativ bei pH 8 bzw. pH 9 gehalten wurden. Gezüchtet wurde unter axenischen Bedingungen unter Dauerbelüftung und Dauerbelichtung von 80 µmol Photonen m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Das Wachstum wurde kontinuierlich über einen Zeitraum von 3 Wochen durch Absorptionsmessungen bei 440 nm im Photometer beurteilt.

**Tab. 1**

Einordnung verschiedener Cyanobakterien hinsichtlich des Wachstums unter Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne CO<sub>2</sub>-Zufuhr

<b>Mikroalgen</b>	<b>Wachstum mit NaHCO<sub>3</sub> 250ml</b>	<b>Wachstum mit NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> 8 l</b>	<b>Eignung für weitere Versuche mit NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub></b>
<i>Anabaena variabilis</i>	- (0,025 – 1 %)	+/-	-
<i>Chroococcus minutus</i>	- (0,1 – 0,4 %)	+/-	-
<i>Nostoc insulare</i>	- (0,3 %)	+/-	-
<i>Spirulina maxima</i>	++ (2 – 3 %)	+/-	+
<i>Spirulina platensis</i>	++ (2 – 3 %)	+/-	+

**Tab. 2**

Einordnung verschiedener Chlorophyceen hinsichtlich des Wachstums unter Zugabe von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne  $\text{CO}_2$ -Zufuhr

Mikroalgen	Wachstum mit $\text{NaHCO}_3$	Wachstum mit $\text{NaHCO}_3$ und $\text{CO}_2$	Eignung für weitere Versuche mit $\text{NaHCO}_3$ und $\text{CO}_2$
<i>Ankistrodesmus gracilis</i>	- (0,3 %)	-	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	+/- (0,3 – 0,5 %)	++	+
<i>Chlorella vulgaris</i>	++ (0,3 – 0,5 %)	++	++
<i>Coelastrum mikroporum</i>	+/- (0,025 – 0,6 %)	+/-	(zu geringe Ausbeute an Biomasse)
<i>Dictyococcus varians</i>	- (0,3 %)	-	-
<i>Hämatococcus pluvialis</i>	- (0,1 – 0,2 %)	-	-
<i>Monoraphidium braunii</i>	+/- (0,3 – 0,5 %)	+	+
<i>Scenedesmus communis</i>	+/- (0,3 %)	-	-

**Bewertungsschlüssel:**

	++	+	+/-	-
<b>Eignung für weitere Versuche mit <math>\text{NaHCO}_3</math> und <math>\text{CO}_2</math></b>	sehr gut	gut	bedingt	nicht geeignet
<b>Wachstum -mit <math>\text{NaHCO}_3</math> -mit <math>\text{NaHCO}_3</math> und <math>\text{CO}_2</math></b>	sehr gut	gut	nur wenig angewachsen	nicht angewachsen

### 1.3 Zusammenfassung und Diskussion

Die Vorversuche dienten der Auswahl geeigneter Mikroalgen zur Verwertung von CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub>. Es wurden verschiedene Cyanobakterien und Chlorophyceen, die aufgrund ihrer pharmazeutisch–medizinisch nutzbaren Inhaltsstoffe von Interesse sind, auf die Beeinflussung ihres Wachstums durch Zugabe von CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium untersucht und beurteilt. Wie aus Tab.1 hervorgeht, erwiesen sich von den getesteten Cyanobakterien vor allem *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* als gut geeignet für weitere Versuche hinsichtlich der Entwicklung einer Nährlösung unter optimaler Zufuhr von CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub>. Beide zeigten ein besseres Wachstum bei Zusatz von 2 % bzw. 3 % NaHCO<sub>3</sub> zur Nährlösung DSN in 250 ml-Kulturen im Vergleich zur normalen Spirulina-Nährlösung. Bei der Züchtung im größeren Maßstab (8 Liter-Batchkulturen) unter Zusatz von 2 % bzw. 3 % NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium und zusätzlicher Einleitung von CO<sub>2</sub> (Steuerung auf pH 8 bzw. pH 9) wuchsen die Kulturen schlechter als in der normalen Spirulina-Nährlösung. In den nachfolgenden Versuchen sollte die Konzentration an NaHCO<sub>3</sub> und die Zufuhr von CO<sub>2</sub> durch Testung verschiedener pH-Werte der Nährlösung optimiert werden. Besondere Aufmerksamkeit sollte außerdem der Frage gewidmet werden, ob *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* die größte Ausbeute an Biomasse bei alleiniger Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> zur Nährlösung erzielen oder bei kombinierter Zufuhr von CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub> in optimaler Konzentration, jeweils im Vergleich mit normaler Spirulina-Nährlösung unter Belüftung.

Die Cyanobakterien *Anabaena variabilis*, *Chroococcus minutus* und *Nostoc insulare* erwiesen sich, wie aus Tab.1 ersichtlich, als ungeeignet, NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> für eine höhere Wachstumsrate zu verwerten.

Tab.2 zeigt, daß die Chlorophyceen *Ankistrodesmus gracilis*, *Dictyococcus varians*, *Hämatococcus pluvialis* und *Scenedesmus communis* ebenfalls ungeeignet waren, um NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> für eine höhere Wachstumsrate zu nutzen. Sie wuchsen sowohl in den 250 ml-Kulturen bei alleiniger Zugabe von Bicarbonat als auch in den 8 Liter-Ansätzen unter kombinierter Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> im Gegensatz zur normalen Nährlösung DSN nicht oder nur schlecht an.

Das Wachstumsverhalten von *Chlorella vulgaris* konnte im Vergleich zur Nährlösung DSN in den 250 ml-Ansätzen durch Zugabe von 0,3 %-0,5 % NaHCO<sub>3</sub> und in den 8 Liter-Kulturen durch Bicarbonatzugabe und zusätzliche pH-Steuerung auf pH 8 durch CO<sub>2</sub>-Einleitung verbessert werden. Auch *Chlamydomonas reinhardtii* und *Monoraphidium braunii* erwiesen

sich als geeignet für weitere Untersuchungen. Dabei bestand das Ziel in der Entwicklung einer Nährlösung mit hoher Biomasseproduktion bei möglichst hohem Verbrauch an  $\text{NaHCO}_3$  und/oder  $\text{CO}_2$  mit dem langfristigen Ziel der Massenkultur dieser Algen direkt am BHKW.

Schon aus den Vorversuchen wurde tendenziell deutlich, daß man die Mikroalgen hinsichtlich der Verwertung von zusätzlich im Nährmedium angebotenem anorganischen Kohlenstoff in 3 Kategorien einteilen konnte:

1. nur  $\text{NaHCO}_3$ -Verwertung
2. Verwertung von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$
3. nur  $\text{CO}_2$ -Verwertung.

Die aus den Ergebnissen der 250 ml-Vorversuche für die weiteren Untersuchungen ausgewählten Mikroalgen sind in den Abbildungen 6 bis 10 dargestellt:

**Abb. 6**

*Spirulina maxima* (Cyanobakterien)



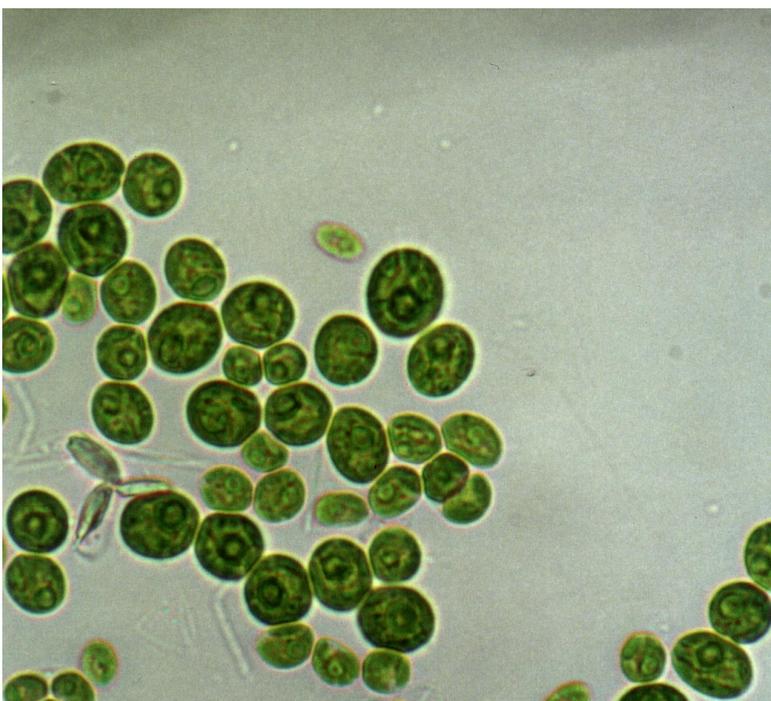
**Abb. 7**

*Spirulina platensis* (Cyanobakterien)



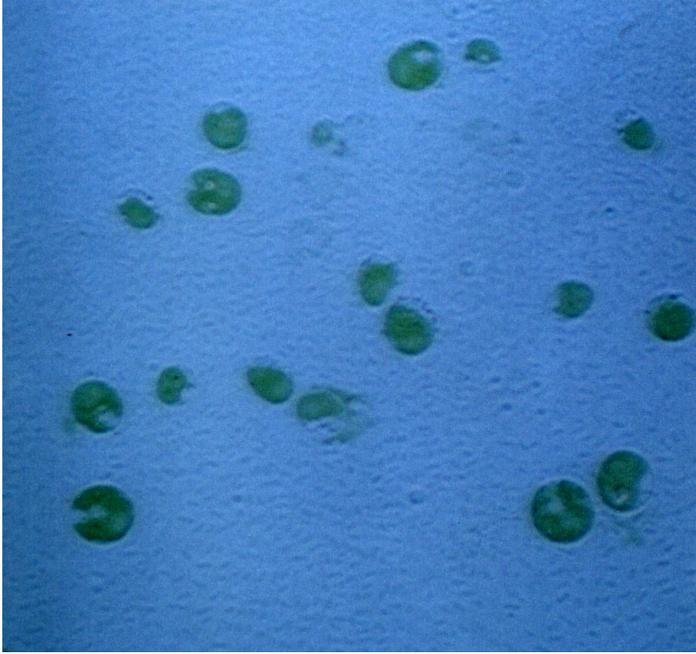
**Abb. 8**

*Chlorella vulgaris* (Chlorophyceae)



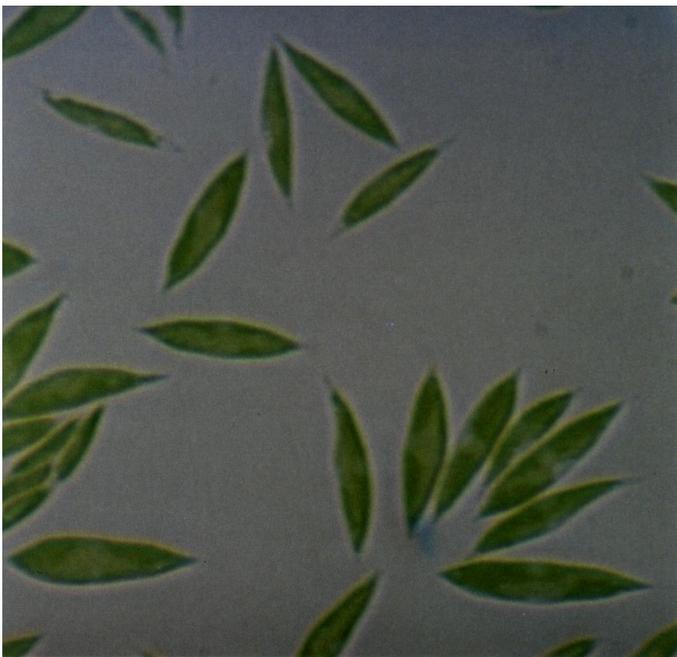
**Abb. 9**

*Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae)



**Abb. 10**

*Monoraphidium braunii* (Chlorophyceae)



Die Organismen sollten im Weiteren jeweils einer der oben genannten Kategorien zugeordnet werden und so bezüglich ihrer Kapazität, den CO<sub>2</sub>-Gehalt im Abgas zu reduzieren, beurteilt werden.

Außerdem sollte im weiteren Verlauf dieser Dissertation neben dem Einfluß von NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> auf die Biomasseproduktion auch die Beeinflussung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Biomasse dieser Cyanobakterien und Chlorophyceen geklärt werden.

Aus den Ergebnissen wurde deutlich, daß es Cyanobakterien und Chlorophyceen gibt, die besser unter der Belüftung der Kulturen mit dem normalen CO<sub>2</sub>-Gehalt der Luft (0,03 %) und ohne Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium wachsen. Eine mögliche Erklärung könnte die pH-Verschiebung sein, d.h. der pH-Wert, der durch Zugabe von CO<sub>2</sub> bzw. Bicarbonat erreicht wurde, lag zuweit vom pH-Optimum der Mikroalgen entfernt. Es könnte außerdem der Fall sein, daß das CO<sub>2</sub> bzw. NaHCO<sub>3</sub> im Medium durch bestimmte Algen nicht in der angebotenen Menge verwertet werden konnte, da der in der Einführung beschriebene CO<sub>2</sub>-Anreicherungs-Mechanismus (CCM) durch die hohe Konzentration an anorganischem Kohlenstoff ( $c_i$ ) im Medium zurückgedrängt wurde (WINDER et al., 1992; PARK et al., 1999). Die Algen waren dabei nicht in der Lage, dies durch Erhöhung der CO<sub>2</sub>-Konzentration an der Ribulosebiphosphat-Carboxylase-Oxygenase (Rubisco) durch verstärkte Diffusion des  $c_i$  aus dem Medium in das Zellinnere zu kompensieren. Das zusätzlich in der Nährlösung angebotene  $c_i$  konnte ebenfalls nicht durch Erhöhung der Aktivität einer evtl. vom CCM unabhängigen Carboanhydrase (PALMQVIST et al., 1990) oder durch erhöhte Rubisco-Aktivität verwertet werden (BEUF et al., 1999). MAJEAU und COLEMAN (1996) beschrieben, daß eine kurzzeitige Erhöhung der CO<sub>2</sub>-Konzentration bei einigen Arten zwar eine Stimulierung der Photosynthese bewirkte, daß es aber bei langfristiger CO<sub>2</sub>-Zufuhr wiederum zu einer verminderten Rate der Photosynthese und der damit verbundenen Rubisco-Aktivität kam.

Eine zu hohe Konzentration an anorganischem Kohlenstoff im Medium kann die Photosyntheserate im allgemeinen vermindern, wobei die Grenzkonzentration, die zur Hemmung der Photosynthese führt, vermutlich bei den einzelnen Cyanobakterien und Chlorophyceen unterschiedlich ist (REITZ, 1986).

Die 5 Mikroalgen, die in den Vorversuchen ein besseres Wachstum unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und/oder CO<sub>2</sub> im Vergleich zur üblichen Nährlösung zeigten, glichen dagegen anscheinend die verminderte Aktivität des CCM aus. Es zeigte sich, daß nicht nur die Aktivität des CCM von der  $c_i$ -Konzentration im Medium abhing (AMOROSO et al., 1998;

SÜLTEMEYER et al., 1998), sondern auch andere Faktoren, die die Photosyntheserate und damit das Wachstumsverhalten beeinflussen, in diesem Fall positiv verändert wurden. Obwohl Cyanobakterien und Chlorophyceen die Möglichkeit besitzen, sich über den CCM an niedrige CO<sub>2</sub>-Konzentrationen zu adaptieren (GOYAL and TOLBERT, 1991; PRICE et al., 1998; SÜLTEMEYER et al., 1998), bedeutet das nicht zwangsläufig, daß sie bei niedrigen CO<sub>2</sub>-Konzentrationen eine höhere Photosyntheserate und Biomasse-Produktion erzielen. GAO et al. (1993) beschrieben z.B. den Einfluß von erhöhten Konzentrationen an CO<sub>2</sub> auf das Wachstum und die Photosynthese der Rotalgen *Gracilaria* sp. und *Gracilaria chilensis* und fanden heraus, daß bei beiden die Wachstumsrate durch erhöhtes CO<sub>2</sub>-Angebot stieg. ABDULLAEV et al. (1994) untersuchten die CO<sub>2</sub>-Assimilation während der Photosynthese sowie die Aktivität von Rubisco bei niedriger und höherer CO<sub>2</sub>-Konzentration u.a. an Keimblättern. Durch eine erhöhte CO<sub>2</sub>-Konzentration wurden der Gehalt und die Aktivität von Rubisco in den Keimblättern erhöht. Überträgt man diese Ergebnisse auf die in den Vorversuchen ausgewählten Mikroalgen, so könnte dies eine mögliche Erklärung für deren erhöhte Photosyntheserate und damit Biomasse-Ausbeute durch ein erhöhtes c<sub>i</sub>-Angebot im Medium sein.

Weiterhin ist zu bedenken, daß CO<sub>2</sub> nicht nur durch aktiven Transport über den CO<sub>2</sub>-Anreicherungsmechanismus in die Zellen transportiert werden kann, sondern auch passiv durch Diffusion vom Medium – mit z.B. niedrigerem pH-Wert bei hoher CO<sub>2</sub>-Konzentration – in das Zellinnere (Stroma bzw. Cytosol) mit höherem pH-Wert gelangen kann (MAGNAS et al., 1995; FRIDLAND et al., 1996; MARCUS, 1997; MERCADO and NIELL, 1999; ELZENGA et al., 2000)). Somit würde es ebenfalls zu einer höheren CO<sub>2</sub>-Konzentration am wichtigsten Photosyntheseenzym Rubisco kommen.

Ein ebenfalls wichtiger Aspekt, der in der Literatur beschrieben wird (PALMQVIST et al., 1994; MORITA et al., 1998), ist die Tatsache, daß es Mikroalgen gibt, die nicht über einen CCM verfügen. Man könnte vermuten, daß bei diesen Mikroalgen eine erhöhte Konzentration an c<sub>i</sub> im Nährmedium in jedem Fall die Photosyntheserate erhöht. Hierüber liegen aber zur Zeit noch keine Literatur-Angaben vor.

## **2 Herstellung von $\text{NaHCO}_3$ aus $\text{CO}_2$ bzw. Abgasen eines Blockheizkraftwerkes (BHKW)**

### **2.1 Einführung**

Ein Blockheizkraftwerk (BHKW) kann durch unterschiedliche Energieträger wie z.B. Gas oder Öl betrieben werden, wobei diese Kraftwerke hinsichtlich des  $\text{CO}_2$ -Ausstoßes relativ umweltfreundliche Strom- und Wärmelieferanten sind. Die von uns genutzten Blockheizkraftwerke in Hohenlockstedt und Kiel/Heikendorf sind erdgasbetriebene Kraftwerke. Ein BHKW stellt eine Gasmotorenanlage dar, bei der sowohl die Kraft als auch die Abwärme des Motors genutzt werden (Kraft-Wärme-Kopplung). Die Kraft des Motors dient dem Antrieb eines Stromgenerators zur Erzeugung von Strom, der anschließend in das allgemeine Stromnetz eingespeist wird. Durch die entstehende beträchtliche Abwärme des Motors wird zunächst das Kühlwasser des Motors erwärmt, wobei die mit dem Kühlwasser abgenommene Wärme nicht verloren geht, sondern an ein Heizwassersystem weitergegeben wird. Dadurch kann zur Wärmeerzeugung ansonsten notwendige Primärenergie eingespart werden. Die Bezeichnung Blockheizkraftwerk resultiert aus der örtlichen Zusammenlegung der Motoren-Abwärme-Einheiten zu Blöcken (ARBEITSGEMEINSCHAFT ASUE, ca.1991).

Das anfangs von uns genutzte BHKW in Hohenlockstedt dient der Versorgung eines Kindergarten- und Schulkomplexes mit Wärme, das BHKW in Heikendorf versorgt derzeit 175 Wohneinheiten eines dortigen Wohngebietes (KIELER NACHRICHTEN, 10.2.99). Der über den Bedarf hinaus erzeugte Strom wird in das öffentliche Netz eingespeist.

Die Abgase solcher Blockheizkraftwerke enthalten neben Stickstoff und nicht verbrauchtem Sauerstoff die Verbrennungsprodukte von Erdgas (Methan), nämlich Wasserdampf und Kohlendioxid. Zusätzlich aber enthalten die Abgase eines BHKW noch „echte“ Schadstoffe, wie CO, CH-Verbindungen, Stickoxide ( $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ ), HCHO sowie S-, Cl- und F-Verbindungen, für die es gesetzlich festgelegte Grenzwerte gibt. Es werden außerdem Katalysatoren eingesetzt, um die Schadstoffkonzentration möglichst gering zu halten. Der bei diesen Katalysatorreaktionen freiwerdende Sauerstoff führt wiederum zur Oxidation von CO und CH-Verbindungen zu  $\text{CO}_2$ , was den  $\text{CO}_2$ -Gehalt im Abgas erhöht.

Die Hauptversuche im Rahmen dieser Dissertation wurden am BHKW in Heikendorf, bei dem der  $\text{CO}_2$ -Gehalt des Abgases bei 6,6 Vol % liegt, durchgeführt. Es sollte untersucht

werden, ob das CO<sub>2</sub> des Abgases zu einer erhöhten Photosyntheserate und damit zu einer höheren Biomasse-Produktion bei geeigneten Mikroalgen beitragen kann. Wie unter 1.1 beschrieben kann man dem Nährmedium von Mikroalgen das für die Photosynthese notwendige CO<sub>2</sub> sowohl als reines CO<sub>2</sub> als auch in Form von HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> zufügen. Das CO<sub>2</sub> kann als synthetisches Gas oder in Form des BHKW-Abgases in die Kulturen eingeleitet werden.

Das HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> kann dem Nährmedium einerseits als chemisch reines NaHCO<sub>3</sub> zugefügt werden, andererseits besteht die Möglichkeit, durch chemische CO<sub>2</sub>-Fixierung aus dem Abgas NaHCO<sub>3</sub> herzustellen. Hierzu wurde das Abgas des Blockheizkraftwerkes Hohenlockstedt bzw. Heikendorf während der Versuche in Natronlauge eingeleitet, so daß es zur Bildung von NaHCO<sub>3</sub> kam:  $\text{NaOH} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{NaHCO}_3 \downarrow$ . Das so gewonnene NaHCO<sub>3</sub> konnte nun den Algenkulturen in entsprechender Konzentration zugefügt werden und stand nach Aufnahme und enzymatischer Umwandlung in CO<sub>2</sub> innerhalb der Zellen ebenfalls für die Photosynthese zur Verfügung. Dabei mußte untersucht werden, ob die Reinheit des auf diesem Wege gewonnenen NaHCO<sub>3</sub> ausreichte, um für die Mikroalgen die gleichen Ausbeuten an Biomasse wie mit chemisch reinem Bicarbonat zu erzielen. Folgende Vorteile sprachen für die Züchtung der Mikroalgen mit Abgas-CO<sub>2</sub> und mit am BHKW gewonnenem NaHCO<sub>3</sub>:

- Verbrauch von Abgas-CO<sub>2</sub> und damit Verminderung des CO<sub>2</sub>-Ausstoßes in die Umwelt
- Für die Herstellung der erforderlichen Natronlauge stehen Natrium-Salze (NaCl) praktisch unbegrenzt und preiswert zur Verfügung (Meerwasser enthält ca. 3 % NaCl)
- NaHCO<sub>3</sub> ist gut zu isolieren aufgrund seiner schlechten Wasserlöslichkeit
- vielfältige Verwendungsmöglichkeiten des NaHCO<sub>3</sub>, da es eine vielseitig einsetzbare Chemikalie darstellt.

## **2.2 Vorversuche im Labor durch CO<sub>2</sub> – Einleitung in NaOH**

Die Gewinnung von NaHCO<sub>3</sub> aus CO<sub>2</sub> und NaOH wurde durch Vorversuche im Labor getestet, um deren Ergebnisse anschließend für die Bicarbonat-Bildung am BHKW zu verwenden. Es zeigte sich, daß es durch Einleitung von reinem Kohlendioxid in Natronlauge 12 % nach Sättigung der Lösung mit NaHCO<sub>3</sub> zur Niederschlagsbildung durch Natriumbicarbonat kam. Nach Filtration und Lufttrocknung konnte das so gewonnene NaHCO<sub>3</sub> für die unter 1.2 aufgeführten Versuche verwendet werden.

## 2.3 Abgaseinleitung in NaOH am BHKW

### BHKW HOHENLOCKSTEDT:

Die ersten Versuche zur Herstellung von  $\text{NaHCO}_3$  durch Einleitung von Abgasen in Natronlauge wurden am BHKW in Hohenlockstedt durchgeführt (s. Abb. 11, 12 und 13). Das Abgas ( $T=120^\circ\text{C}$ ) wurde über eine Abzweigung (2 m Stahlrohr; 8 mm ID) von der Haupt-Abgasleitung im Blockheizkraftwerk zunächst in ein leeres 40 Liter-Gefäß geführt. Auf diesem Weg wurde das Abgas, das unter anderem Wasserdampf,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$  und  $\text{O}_2$  enthielt, bereits stark abgekühlt. In dem 40 Liter-Gefäß kam es einerseits zur Abscheidung von Kondenswasser aus dem Abgas und andererseits zu weiterer Abkühlung des Abgases. Aus diesem Kondenswassergefäß führte ein weiteres Verbindungsrohr in ein 8 Liter-bzw. 40 Liter-Gefäß, welches mit NaOH (12 %) gefüllt war, in die das abgekühlte  $\text{CO}_2$ -haltige Abgas eingeleitet wurde.

Der pH-Verlauf der Lösung und die Niederschlagsbildung sind aus Tab. 3 ersichtlich.

#### **Abb. 11**

Blockheizkraftwerk Hohenlockstedt



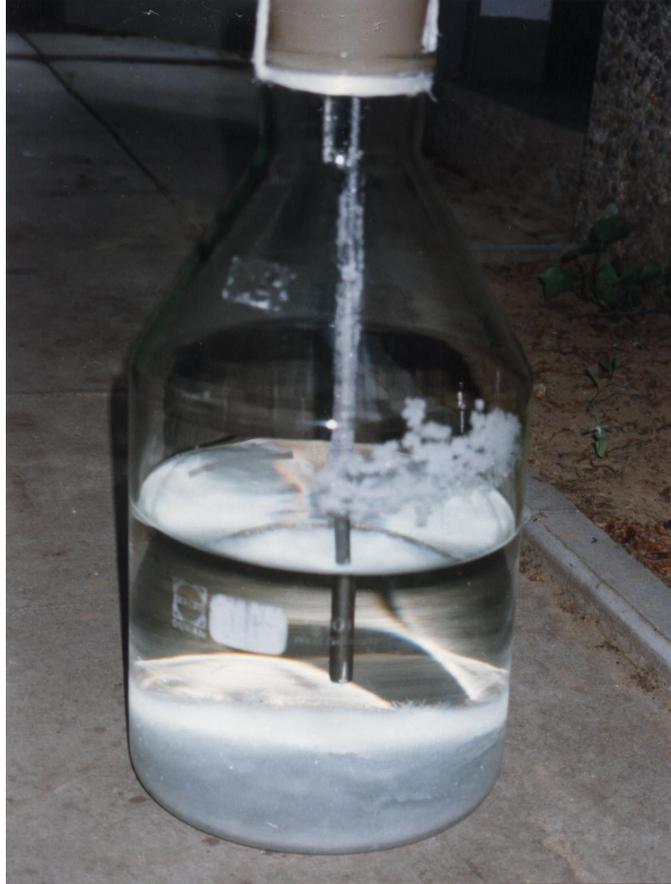
**Abb. 12**

Abzweigung von der Hauptabgasleitung im BHKW in ein leeres 40 Liter-Kondenswasser-Gefäß und anschließende Einleitung des Abgases in NaOH (12 %)



**Abb. 13**

NaHCO<sub>3</sub>-Fällung aus NaOH (12 %)



**Tab. 3**

Einleitung von Abgas in 40 Liter NaOH (12 %) zur Gewinnung von NaHCO<sub>3</sub>

<b>Tag</b>	<b>pH – Wert der Lösung</b>	<b>Niederschlags - Bildung</b>	<b>Ausbeute</b>
1	11	-	
4	11	-	
8	10	+/-	
15	9,6	++	
18	9,5	++	
20	9,5	++	1700 g

Das ausgefallene  $\text{NaHCO}_3$  wurde abfiltriert, luftgetrocknet und in weiteren Versuchen den Algen-Nährlösungen in entsprechender Konzentration zugefügt. Das Filtrat (gesättigte Lösung von  $\text{NaHCO}_3$ ) wurde anschließend mit 10 Liter  $\text{NaOH}$  (30 %) aufgefüllt, so daß 50 Liter einer etwa 6 % igen Natronlauge (gesättigt mit  $\text{NaHCO}_3$ ) entstanden. Hier wurden wiederum die Abgase des BHKW eingeleitet, um erneut  $\text{NaHCO}_3$  zu bilden. Der pH-Verlauf und die Niederschlagsbildung aus dieser Versuchslösung sind Tab. 4 zu entnehmen.

**Tab. 4**

Einleitung von Abgas in 50 Liter  $\text{NaOH}$  6 % (gesättigt mit  $\text{NaHCO}_3$ ) zur Gewinnung von weiterem  $\text{NaHCO}_3$

Tag	pH – Wert der Lösung	Niederschlags-Bildung	Ausbeute an $\text{NaHCO}_3$
1	11	-	
7	10	+/-	
14	9,3	++	
20	9,2	++	
22	9,2	++	6000 g

Das erneut gebildete  $\text{NaHCO}_3$  wurde wie oben beschrieben behandelt und verwendet. Die Gesamtausbeute dieses Versuches betrug ca. 1 kg  $\text{NaHCO}_3$  pro 1 kg  $\text{NaOH}$ , die dafür eingesetzt werden mußten.

#### BHKW HEIKENDORF:

Nach den ersten Versuchen am BHKW in Hohenlockstedt wurde zur Durchführung der nachfolgenden Untersuchungen im Rahmen dieser Dissertation eine Versuchshütte auf dem Gelände des Blockheizkraftwerkes in Heikendorf aufgebaut (siehe Abb.1). Nach der direkten Durchleitung der Abgase durch die Algenkulturen zur Verwertung des darin gelösten  $\text{CO}_2$  wurden diese weiter in 28 Liter einer  $\text{NaOH}$  (12 %) geleitet. Das restliche  $\text{CO}_2$  des Abgases führte wie am BHKW in Hohenlockstedt zur Fällung des schwerlöslichen  $\text{NaHCO}_3$ , das entsprechend gewonnen und verwertet werden konnte. Die Ergebnisse des Versuches am BHKW in Hohenlockstedt ließen sich auch an diesem Kraftwerk bestätigen, die Ausbeute lag

hier bei 1,1 kg  $\text{NaHCO}_3$  pro 1 kg eingesetzter  $\text{NaOH}$ .

## 2.4 Zusammenfassung und Diskussion

Wie aus Tab. 3 ersichtlich sank der pH-Wert der Versuchslösung (40 Liter  $\text{NaOH}$ , 12 %) von anfangs pH 11 nach 20 Tagen auf pH 9,5; da die  $\text{NaOH}$  zur Bildung des schwerlöslichen  $\text{NaHCO}_3$  verbraucht wurde. Es wurde solange Abgas eingeleitet, bis sich der pH-Wert der Lösung stabil zeigte und somit kein weiteres  $\text{NaHCO}_3$  ausfiel. Das Filtrat, das ca. 40 Liter einer mit  $\text{NaHCO}_3$  gesättigten Lösung darstellte, wurde mit 10 Liter  $\text{NaOH}$  (30 %) versetzt, so daß eine etwa 6 % ige  $\text{NaOH}$ , gesättigt mit  $\text{NaHCO}_3$ , entstand. Anhand dieser Versuchslösung wurde getestet, ob bei Einleitung der Abgase in eine  $\text{NaHCO}_3$ -gesättigte Lösung auch ein geringerer Gehalt an  $\text{NaOH}$  ausreichte, um das gewünschte  $\text{NaHCO}_3$  auszufällen. Tab.4 zeigt, daß die Ausbeute nach Stabilisierung des pH-Wertes dieser Lösung auf pH 9,2 bei 6 kg  $\text{NaHCO}_3$  lag und eine Konzentration von 6 % der  $\text{NaOH}$  in diesem Fall ausreichte, um das für spätere Versuche erforderliche  $\text{NaHCO}_3$  zu gewinnen.

Die Ergebnisse der Versuche am BHKW in Hohenlockstedt konnten am Kraftwerk in Heikendorf bestätigt werden. Das weitere Ziel der Arbeiten lag nun in der Entwicklung einer geeigneten Nährlösung für Algen, die sowohl  $\text{CO}_2$  als auch  $\text{NaHCO}_3$  für eine erhöhte Biomasseproduktion verwerten können. Durch die Versuchsanordnung im Blockheizkraftwerk Heikendorf konnten die Algenkulturen zur Bereitstellung von  $\text{CO}_2$  einerseits direkt mit Abgasen belüftet werden. Andererseits wurden die Abgase zur Gewinnung von  $\text{NaHCO}_3$  in 24 Liter Natronlauge (12 %) weitergeleitet. Das  $\text{NaHCO}_3$  wurde dann wiederum dem Nährmedium der Algen in darauffolgenden Versuchen in entsprechender Konzentration zugefügt, so daß hier eine indirekte Reduzierung des  $\text{CO}_2$ -Gehaltes im Abgas durch die Algen erfolgte. Die Konzentration an  $\text{CO}_2$  im Abgas des Kraftwerkes in Heikendorf lag bei 6,6 Vol %. Es zeigte sich, daß auch die zuvor durch die Algenkulturen bereits verringerte  $\text{CO}_2$ -Konzentration ausreichte, um aus einer 12 % igen Natronlauge  $\text{NaHCO}_3$  herzustellen. Neben der eigenen Verwendung des Bicarbonates als Zusatz zum Algen-Nährmedium könnte diese vielseitig verwendbare Substanz auch an andere Verbraucher weitergegeben werden. Man muß jedoch bedenken, daß wegen der in unseren Versuchen verwendeten reinen und gekauften  $\text{NaOH}$ , global betrachtet, keine  $\text{CO}_2$ -Entlastung der Luft erreicht wird. Der Grund hierfür ist, daß für die Herstellung dieser  $\text{NaOH}$  (Einsatz von elektrischer Energie, die wiederum von Verbrennungskraftwerken geliefert wird) von den

Kraftwerken etwa die gleiche Menge an  $\text{CO}_2$  produziert wird, wie die NaOH zu fixieren in der Lage ist. Die  $\text{CO}_2$ -Bilanz ist also insgesamt ausgeglichen. Diese Betrachtung führt aber zu sinnvollen Alternativen:

- Gewinnung der zur NaOH – Herstellung benötigten Energie mit Hilfe von alternativen Energieträgern, z.B. Solar–oder Windkraft, Kernenergie (Energiegewinnung ohne  $\text{CO}_2$ -Produktion)
- Einsatz von industrieller Abfall – Natronlauge (Kap.7).

Außerdem muß man bedenken, daß Algenkulturen, die  $\text{CO}_2$  verwerten, zusätzlich pharmazeutisch – medizinisch wichtige Produkte liefern (Kap.5). Durch eine verbesserte Wachstumsrate aufgrund des extern zugeführten anorganischen Kohlenstoffes erhöht sich desweiteren durch die größere Ausbeute an Biomasse auch die Gesamtmenge der Inhaltsstoffe, die daraus extrahiert werden kann. Ob die Konzentration der Inhaltsstoffe in der Biomasse durch die Zugabe von  $\text{CO}_2$  und/oder  $\text{NaHCO}_3$  ebenfalls beeinflusst wird, sollte im weiteren Verlauf der Arbeiten geklärt werden (Kap. 5).

### **3 Entwicklung einer geeigneten Nährlösung für optimale Biomasse-Produktion bei möglichst hohem Verbrauch an NaHCO<sub>3</sub> und/oder CO<sub>2</sub>**

#### **3.1 Einführung**

Um eine möglichst hohe Ausbeute an pharmazeutisch–medizinisch wichtigen Inhaltsstoffen der hier verwendeten Mikroalgen zu erzielen, sollten für deren Züchtung Nährlösungen entwickelt werden, in denen sie die größte Biomasse-Menge bildeten. Dabei bestand das Ziel darin, den Medien möglichst viel anorganischen Kohlenstoff in Form von CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> zuzusetzen. Die im Labor entwickelten optimalen Nährlösungen sollten später in Kultur-Ansätzen am Blockheizkraftwerk getestet werden, um hier das Abgas–CO<sub>2</sub> als Kohlenstoffquelle zu verwenden und entsprechend zu reduzieren. Um die jeweils optimalen Nährlösungen für *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Monoraphidium braunii*, *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* zu entwickeln, mußte der günstigste Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und/oder CO<sub>2</sub> bei jeder Alge ermittelt werden. Es sollte zunächst durch Testung unterschiedlicher NaHCO<sub>3</sub>-Mengen die jeweils optimale Konzentration dieser Verbindung herausgefunden werden. Davon ausgehend sollte anschließend die CO<sub>2</sub>-Zufuhr durch Steuerung der Nährlösung auf unterschiedliche pH-Werte variiert werden. Durch diese unterschiedlichen Ansätze der Kulturen sollten die Mikroalgen den im Kap. 1 aufgeführten Kategorien der Kohlenstoffverwertung zugeordnet werden. THIELMANN et al. (1990) fanden z.B. heraus, daß *Scenedesmus*-Zellen über zwei Mechanismen in der Lage sind, gelösten anorganischen Kohlenstoff aufzunehmen und im Zellinneren aufzukonzentrieren. Einerseits können sie CO<sub>2</sub> aus einem Medium mit pH 5–8 nutzen, andererseits verwerten sie Bicarbonat aus einem Medium mit pH 7–11.

Der Einfluß des pH-Wertes des Nährmediums auf die Bildung der extrazellulären Carboanhydrase bei *Chlamydomonas reinhardtii* wird von FETT and COLEMAN (1994) beschrieben. Die Carboanhydrase, die, wie vorher beschrieben, das Schlüsselenzym im Aufnahme–und Umwandlungsprozeß von CO<sub>2</sub> und HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> darstellt, wird nach deren Untersuchungen bei *Chlamydomonas reinhardtii* stärker bei hohen als bei niedrigen pH-Werten aktiviert. Daß es deshalb wichtig ist, für jede einzelne der für unsere Versuche verwendeten Mikroalgen das Optimum hinsichtlich der Konzentration von CO<sub>2</sub> und/oder

NaHCO<sub>3</sub> im Medium zu finden, zeigen auch die Ergebnisse von PALMQUIST et al. (1995). Diese zeigten, daß nicht alle Mikroalgen über dieselben Mechanismen zur Aufnahme und Fixierung von gelöstem anorganischen Kohlenstoff verfügen. Sie beschrieben, daß *Chlamydomonas reinhardtii* und *Coccomyxa* sp. sich hinsichtlich der Beschaffung des für die Photosynthese notwendigen CO<sub>2</sub> unterscheiden. *Chlamydomonas r.* konnte sowohl HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> als auch CO<sub>2</sub> aktiv aus dem externen Medium ins Zellinnere transportieren, während *Coccomyxa* sp. deutlich den anorganischen Kohlenstoff in Form von CO<sub>2</sub> bevorzugte.

Obwohl der CO<sub>2</sub>-Anreicherungsmechanismus (CCM) bei den meisten Mikroalgen durch eine hohe Konzentration an anorganischem Kohlenstoff (CO<sub>2</sub> oder HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) im Medium inaktiviert wird, zeigten die für die nachfolgenden Versuche ausgewählten Mikroalgen unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und/oder CO<sub>2</sub> ein erhöhtes Wachstum (Kap. 1), was in diesem Kapitel bestätigt werden sollte. Die Ergebnisse von MATSUDA et al. (1998) lassen vermuten, daß es einen direkten CO<sub>2</sub>-empfindlichen Transportmechanismus in der Zellwand von *Chlorella ellipsoidea* gibt, der die aufgrund des hohen CO<sub>2</sub>-Gehaltes im Medium verminderte Aktivität des CCM-Transportsystems für gelösten anorganischen Kohlenstoff kompensiert. Diese Hypothese konnte von MATSUDA et al. (1998) durch Untersuchungen an anderen Grünalgen (*Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella kessleri*) unterstützt werden. Dieser Transportprozeß wäre eine mögliche Erklärung für das gute Wachstumsverhalten der 5 Mikroalgen in den nachfolgend beschriebenen Versuchen, bei denen den Organismen möglichst viel anorganischer Kohlenstoff als CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> angeboten wurde.

## **3.2 Ergebnisse**

### **3.2.1 *Chlorella vulgaris***

#### **3.2.1.1 250 ml-Kleinkulturen**

*Chlorella vulgaris* wurde in Nährlösung DSN nach POHL et al. (1987) gezüchtet, wobei die Seewasserkonzentration und die Konzentration an NaHCO<sub>3</sub> wie unten aufgeführt variiert wurden. Die optische Beurteilung des Wachstumsverlaufes der Versuchsansätze über einen Zeitraum von 3 Wochen ergab folgende Ergebnisse:

DSN Nährlösung 5 % Seewasser:

Die Kultur zeigte ein gutes Wachstum.

DSN Nährlösung 5 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>:

Im Vergleich zum Ansatz mit derselben Seewasserkonzentration ohne Zusatz von Bicarbonat wuchs diese Kultur besser an.

DSN Nährlösung 10 % Seewasser:

*Chlorella vulgaris* zeigte ein ähnlich gutes Wachstum wie in Nährlösung DSN 5 % Seewasser.

DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>:

Diese Kultur zeigte sowohl im Vergleich zum Nährmedium DSN 10 % Seewasser, als auch zu beiden Nährlösungen mit einem Seewassergehalt von 5 % ein stärkeres Wachstum.

DSN Nährlösung 20 % Seewasser:

Das Wachstumsverhalten dieser Kultur entsprach in etwa dem der Ansätze in Nährlösung DSN 5 % und 10 % Seewasser.

DSN Nährlösung 20 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>:

Die Wachstumsintensität der Kultur entsprach den Ansätzen mit DSN Nährlösung 5 %, 10 % und 20 % Seewasser, jeweils ohne Zusatz von NaHCO<sub>3</sub>.

Anhand der Ergebnisse der 250 ml-Kulturen zeigte sich Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>) als am besten geeignet für die nachfolgenden Versuche im 8 Liter-Maßstab. Es wurde deutlich, daß die Seewasserkonzentration bei den Ansätzen ohne Bicarbonatzugabe keinen gravierenden Einfluß auf den Wachstumsverlauf nahm, wobei sich bei Zusatz von 0,3 % NaHCO<sub>3</sub> die Seewasserkonzentration von 10 % als am besten geeignet erwies.

Im Folgenden sollte der Einfluß höherer Konzentrationen an NaHCO<sub>3</sub> getestet werden, um letztendlich eine Nährlösung zu entwickeln, die bei höchstmöglichem Bicarbonat-Verbrauch die größte Ausbeute an Biomasse ergibt.

### 3.2.1.2 8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO<sub>3</sub>

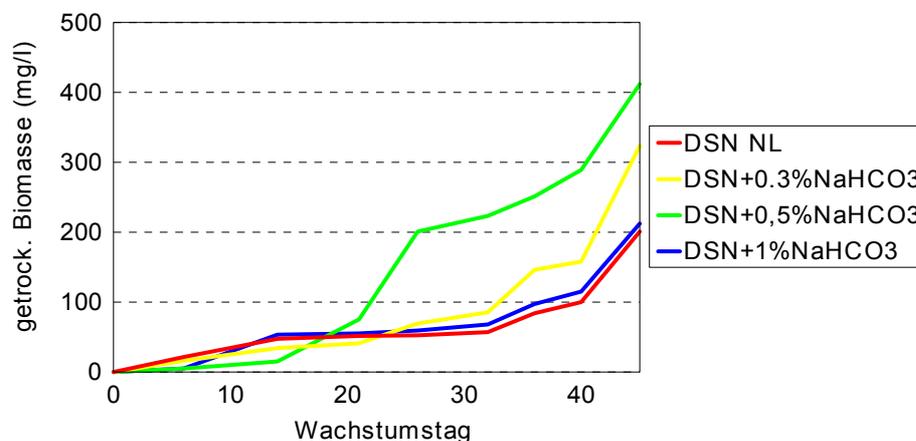
*Chlorella vulgaris* wurde aufgrund der Ergebnisse aus den 250 ml-Kulturen in folgenden Nährmedien gezüchtet:

- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 1,0 % NaHCO<sub>3</sub>

Das am BHKW gewonnene NaHCO<sub>3</sub> wurde verrieben und in der entsprechenden Konzentration der Nährlösung DSN (10 % Seewasser) zugesetzt. Diese wurde anschließend sterilfiltriert und in einem autoklavierten 8 Liter-Gefäß aufgefangen. Im Gegensatz zu den 250 ml-Kulturen sollten die Ergebnisse dieser Ansätze nun quantifiziert werden, um das Wachstumsverhalten von *Chlorella vulgaris* in den verschiedenen Nährmedien zu beurteilen. Der Wachstumsverlauf wurde kontinuierlich mit Hilfe photometrischer Messungen der Algensuspensionsdichte bei 440 nm verfolgt. Parallel dazu wurde die gefriergetrocknete Biomasse aus einem Kulturvolumen von 100 ml bestimmt. Der jeweils herrschende pH-Wert in der Nährlösung wurde ebenfalls kontinuierlich gemessen.

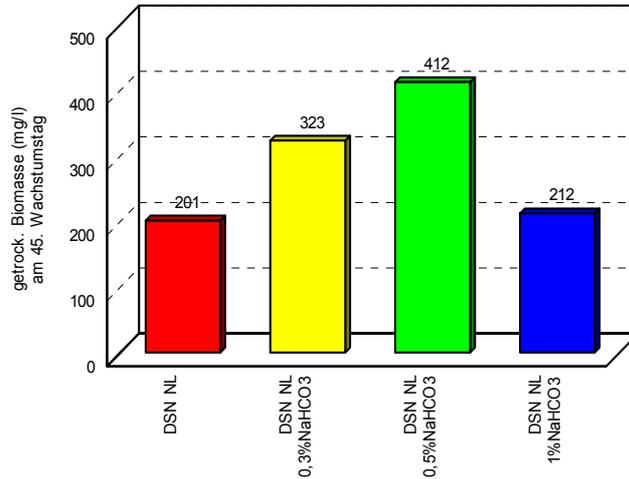
#### Abb. 14

Wachstumskurven von *Chlorella vulgaris* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an NaHCO<sub>3</sub>



**Abb. 15**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Chlorella vulgaris* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  am 45. Wachstumstag



**Abb. 16**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Chlorella vulgaris* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$

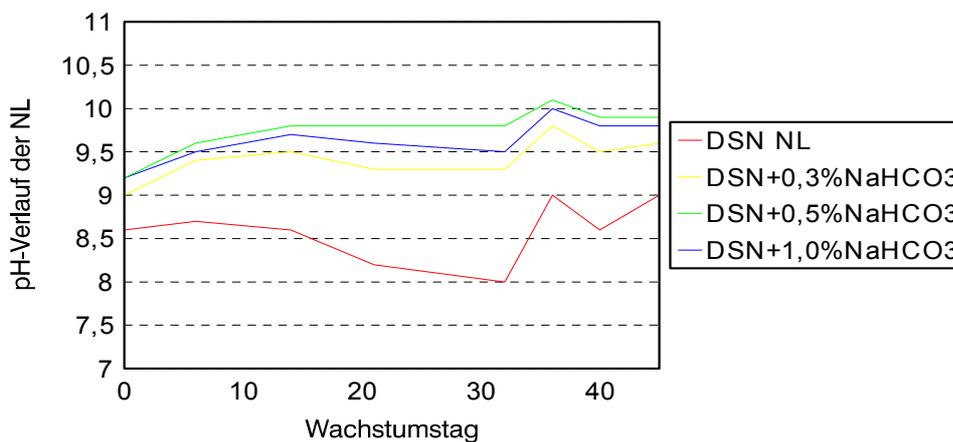


Abb. 14 und 15 lassen erkennen, daß die Algenkultur in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ ) nach 45 Tagen die höchste Ausbeute an Biomasse erzielte.

Der Wachstumsverlauf und die Menge an Biomasse, die am 45. Wachstumstag ermittelt wurde, entsprachen bei Züchtung von *Chlorella vulgaris* in Nährlösung DSN unter Zusatz von 1 %  $\text{NaHCO}_3$  in etwa der Vergleichskultur in Nährlösung DSN (10 % Seewasser) ohne Zusatz von Bicarbonat. Die Konzentration an  $\text{NaHCO}_3$  von 0,3 % im Medium, die sich aus

den 250 ml-Versuchen ergeben hatte, konnte auf 0,5 % optimiert werden, wobei sich zeigte, daß die Wachstumsrate der Kultur bei einer noch höheren Konzentration an  $\text{NaHCO}_3$  von 1,0 % wieder abnahm.

Das Wachstum aller 4 Kulturen verlief bis zum 20. Tag ähnlich. Erst dann machte sich der positive Einfluß des zugesetzten Bicarbonates bemerkbar, so daß sich die Ansätze mit 0,3 % und 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$  nun in ihrem Wachstumsverhalten deutlich von den schlechter wachsenden Kulturen in Nährlösung DSN und Nährlösung DSN (1 %  $\text{NaHCO}_3$ ) absetzten. Es ist zu vermuten, daß *Chlorella vulgaris* den im Medium zusätzlich angebotenen anorganischen Kohlenstoff erst für eine höhere Photosyntheserate und damit Wachstumsrate verwertet, wenn sich eine größere Menge an Biomasse im Nährmedium befindet und somit auch ein erhöhter Bedarf an  $\text{CO}_2$  bzw. Bicarbonat besteht.

Während dieser Versuchsreihe wurde kontinuierlich auch der pH-Wert in den Nährlösungen verfolgt. Wie aus Abb. 16 ersichtlich, verschob sich der Anfangs-pH-Wert der Nährlösung DSN (10 % Seewasser) durch Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  von etwa 8,5 auf ca. pH 9. Je höher die  $\text{NaHCO}_3$ -Konzentration im Medium war, um so höher war auch der in der Nährlösung eingestellte Anfangs-pH-Wert, wobei der Unterschied zwischen den Ansätzen mit 0,3 %, 0,5 % und 1,0 %  $\text{NaHCO}_3$  nicht gravierend war. Die pH-Verlaufskurven zeigten in allen 4 Kulturen einen Anstieg des pH-Wertes während der Wachstumsphase.

### **3.2.1.3 8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW- $\text{NaHCO}_3$ und mit pH-Steuerung über $\text{CO}_2$ -Zufuhr**

*Chlorella vulgaris* wurde innerhalb dieser Versuchsreihe in folgenden Nährmedien gezüchtet:

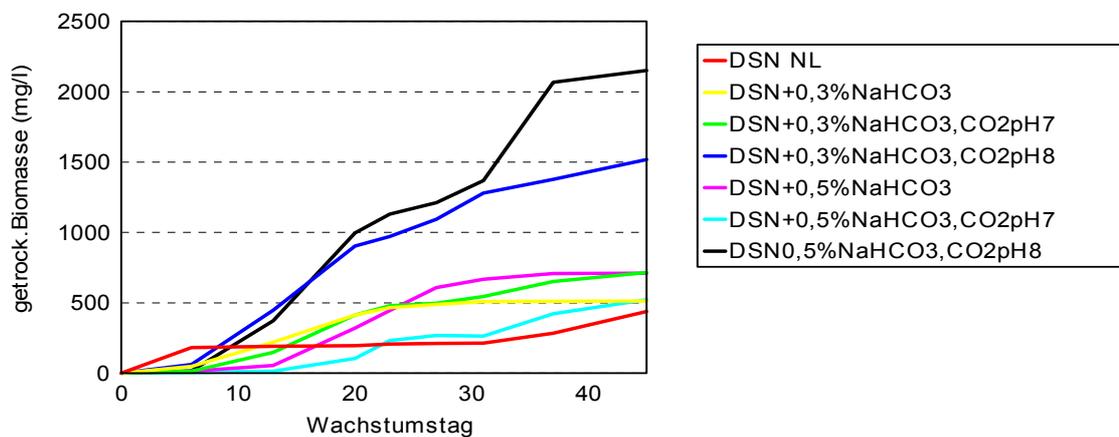
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 7
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 8
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 7
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 8

Um zu testen, ob *Chlorella vulgaris* anorganischen Kohlenstoff ( $c_i$ ) neben  $\text{NaHCO}_3$  auch in Form von  $\text{CO}_2$  zusätzlich verwerten kann, wurde die Zusammensetzung der Nährlösung, die sich aus Kapitel 3.2.1.2 als geeignet erwiesen hatte, in diesen Versuchen entsprechend weiter variiert. Aufgrund der vorhergehenden Versuche war deutlich geworden, daß ein Zusatz von 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$  zum Nährmedium DSN 10 % Seewasser günstig war, wobei auch die Zugabe von 0,3 % Bicarbonat eine deutlich höhere Ausbeute an Biomasse im Gegensatz zur Vergleichsnährlösung ergab. Beide Nährmedien wurden deshalb herangezogen, um zusätzlich den Einfluß von  $\text{CO}_2$  bei unterschiedlicher pH-Steuerung zu testen.

Wie auch in allen nachfolgenden Versuchen im 8 Liter-Maßstab wurde für das Nährmedium das am BHKW gewonnene  $\text{NaHCO}_3$  genutzt. Das  $\text{CO}_2$  wurde in reiner Form aus Stahlflaschen direkt in die Kulturen eingeleitet, wobei der pH-Wert über eine Steuereinheit auf pH 7 bzw. pH 8 reguliert wurde. Der Wachstumsverlauf und die pH-Werte der Nährlösungen wurden wie unter 3.2.1.2 beschrieben ebenfalls kontinuierlich bestimmt.

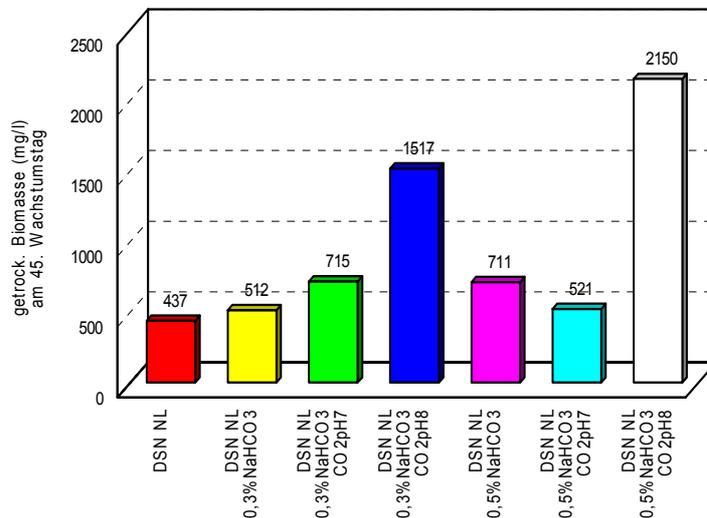
**Abb. 17**

Wachstumskurven von *Chlorella vulgaris* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr



**Abb. 18**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Chlorella vulgaris* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 19**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Chlorella vulgaris* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr

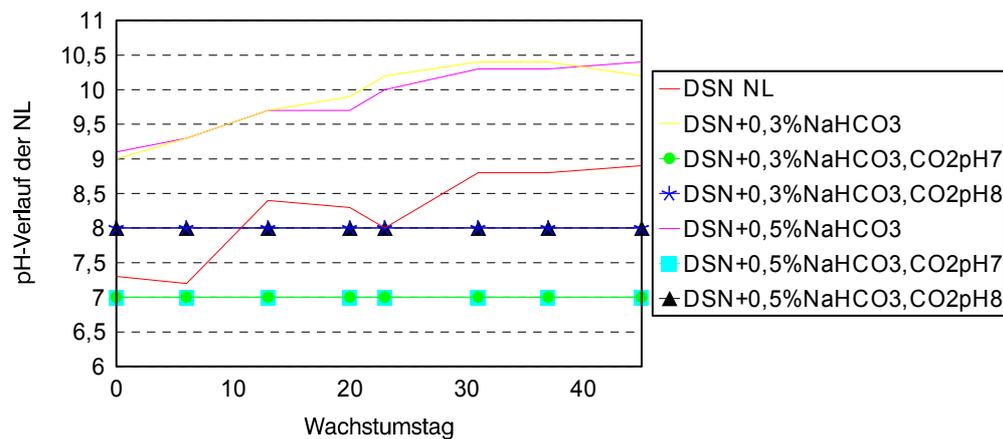


Abb. 17 und 18 machen deutlich, daß die beste Bedingung zur Erzielung einer optimalen Biomasse-Produktion für *Chlorella vulgaris* im Zusatz von 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$  zum Nährmedium DSN 10 % Seewasser und zusätzlicher pH-Steuerung durch  $\text{CO}_2$ -Zufuhr auf pH 8 bestand. Diese Kultur sowie der Ansatz in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$ -Steuerung auf pH 8), setzten sich durch ihre Biomasse-Ausbeute am 45. Wachstumstag

deutlich von den anderen Kulturen ab. Die Vergleichskultur ergab am 45. Wachstumstag die geringste Menge an Biomasse, wobei die Unterschiede bei Zusatz von 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$  bzw. 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$ -Steuerung auf pH 7 nicht so gravierend waren. Die im Vergleich dazu etwas höheren Ausbeuten für Nährlösung DSN (0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$ -Steuerung auf pH 7) und Nährlösung DSN (0,5%  $\text{NaHCO}_3$ ) entsprachen in etwa einander. Wie schon unter 3.2.1.2 beschrieben, wird auch anhand der obigen Wachstumskurven deutlich, daß der im Medium angebotene anorganische Kohlenstoff erst ab einer gewissen Menge an Biomasse in der Kultur zusätzlich verwertet wurde, ein deutlicher Anstieg der Wachstumsrate erfolgte in diesen Ansätzen etwa am 10. Tag.

Die pH-Verlaufskurven der nicht über  $\text{CO}_2$  gesteuerten Kulturen zeigten wie in 3.2.1.2 einen Anstieg der pH-Werte bis zum 45. Wachstumstag. Der Anfangs-pH-Wert der Vergleichskultur lag mit etwa pH 7,5 wiederum deutlich unter dem der Kulturen mit  $\text{NaHCO}_3$ -Zusatz (etwa pH 9). Die Tendenz der pH-Verläufe der Nährlösungen aus 3.2.1.2 und aus dieser Versuchsreihe entsprachen einander, wobei nicht geklärt werden konnte, warum der Anfangs-pH-Wert der Nährlösung DSN (10 % Seewasser) bei der Kultur aus 3..2.1.2 bei ca. 8,5 lag und in dieser Versuchsreihe bei ca. 7,5.

### 3.2.2 *Chlamydomonas reinhardtii*

#### 3.2.2.1 250 ml-Kleinkulturen

*Chlamydomonas reinhardtii* wurde wie bei *Chlorella vulgaris* (Kap.3.2.1) beschrieben in folgenden Nährlösungen gezüchtet und beobachtet:

- DSN Nährlösung 5 % Seewasser:
- DSN Nährlösung 5 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 20 % Seewasser
- DSN Nährlösung 20 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>

Diese Klein-Kulturen von *Chlamydomonas reinhardtii* in den Nährlösungen DSN 5 %, 10 % und 20 % Seewasser ohne Zusatz von Bicarbonat zeigten ein gutes Wachstum, wobei man rein optisch keine Veränderung des Wachstums durch die Variation der Seewasserkonzentration feststellen konnte. Die Wachstumsdichte der Kulturen in Nährlösung DSN 5 %, 10 % und 20 % Seewasser jeweils unter Zusatz von 0,3 % NaHCO<sub>3</sub> lag über der der anderen Kulturen. Aus diesen 250 ml-Vorversuchen war jedoch nicht genau ersichtlich, ob unter Bicarbonatzusatz die Seewasserkonzentration von 5 % bzw. 10 % einen günstigeren Einfluß auf die Biomasseproduktion hatte. Daher wurden die nachfolgenden Versuchsansätze mit verschiedenen NaHCO<sub>3</sub>-Konzentrationen bei Seewasserkonzentrationen von 5 % sowie 10 % durchgeführt.

#### 3.2.2.2 8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO<sub>3</sub>

Aufgrund der Ergebnisse aus den 250 ml-Ansätzen wurden die nachfolgenden Versuchsansätze mit verschiedenen Bicarbonatkonzentrationen (0,3 %, 0,5 %, 1,0 %) bei Seewassergehalten von 5 % sowie 10 % durchgeführt. Hier wurde deutlich, daß bei einer Seewasserkonzentration von 10 % unter Zusatz verschiedener NaHCO<sub>3</sub>-Mengen eine bessere

Wachstumsrate erzielt werden konnte, so daß für alle weiteren Ansätze dieser Seewassergehalt ausgewählt wurde.

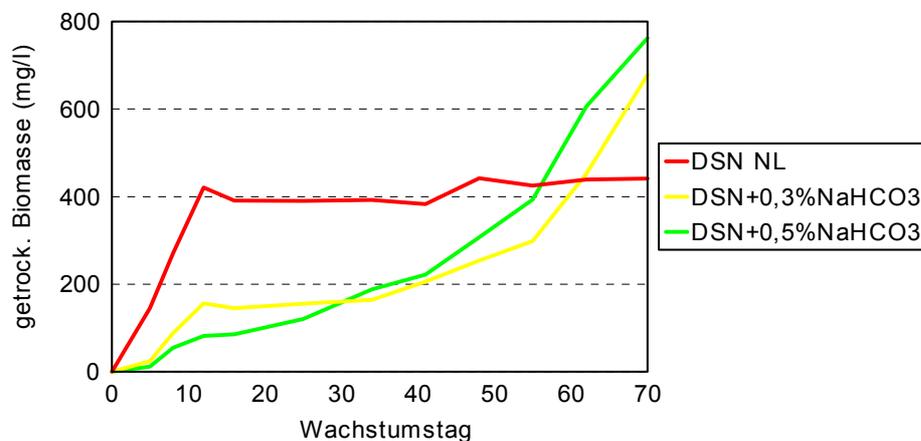
Zur Festlegung der  $\text{NaHCO}_3$ -Konzentration in der Nährlösung, die zu optimaler Biomasse-Produktion führte, wurde *Chlamydomonas reinhardtii* wie folgt gezüchtet:

- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 1,0 %  $\text{NaHCO}_3$

Der Ansatz der Kulturen sowie die Dokumentation des Wachstumsverlaufes und der pH-Verlaufskurve erfolgten wie bei *Chlorella vulgaris* (Kap. 3.2.1) beschrieben.

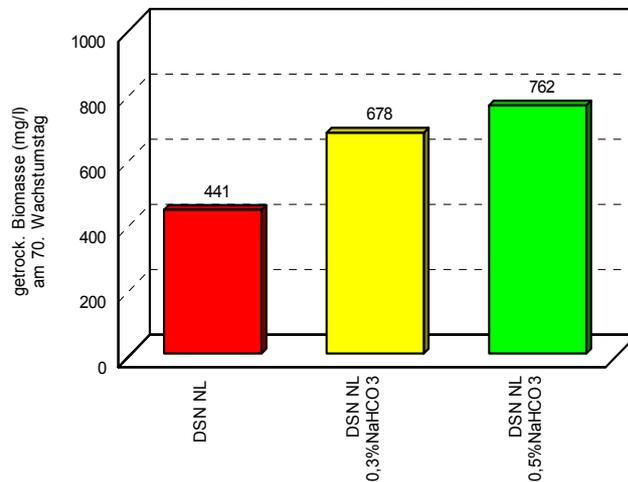
#### Abb. 20

Wachstumskurven von *Chlamydomonas reinhardtii* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$



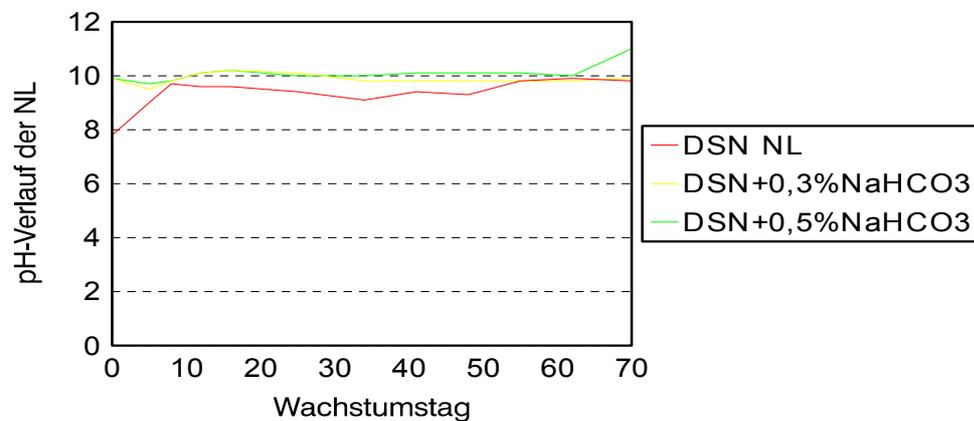
**Abb. 21**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Chlamydomonas reinhardtii* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  am 45. Wachstumstag



**Abb. 22**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Chlamydomonas reinhardtii* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$



Die Kultur in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 1,0 %  $\text{NaHCO}_3$ ) wuchs nicht an, woraus deutlich wurde, daß diese Konzentration an Bicarbonat zu hoch war und somit das Wachstum von *Chlamydomonas reinhardtii* vollständig gehemmt wurde. Abb. 20 zeigt, daß das im Nährmedium gelöste  $\text{NaHCO}_3$  bis zum ca. 55. Tag das Wachstumsverhalten von *Chlamydomonas reinhardtii* verschlechterte. Die Mikroalge konnte den extern zugefügten anorganischen Kohlenstoff in Form von  $\text{NaHCO}_3$  innerhalb dieses Zeitraumes nicht verwerten, um die Photosyntheserate und somit die Biomasse-Ausbeute zu erhöhen. Anhand der Abb. 20 wird aber außerdem deutlich, daß die Wachstumsrate von *Chlamydomonas*

*reinhardtii* etwa ab dem 15. Tag in Nährlösung DSN ohne Zusatz von Bicarbonat relativ konstant blieb, wobei sie dagegen in den Medien unter Zugabe von  $\text{NaHCO}_3$  stetig stieg. Um zu testen, ob die Biomasse-Produktion dieser Kulturen die der Vergleichskultur evtl. zu einem späteren Zeitpunkt übertrifft, wurden die Ansätze aus dieser Versuchsreihe länger als üblicherweise 45 Tage gezüchtet. Es fiel auf, daß ab dem 55. Wachstumstag ein starker Anstieg der Biomassebildung auftrat. Möglicherweise ist auch *Chlamydomonas reinhardtii* erst dann in der Lage, zusätzlich angebotenen anorganischen Kohlenstoff aus dem Medium zu verwerten, wenn der Bedarf daran nach längerer Wachstumszeit durch eine größere Menge an Biomasse im Ansatz erhöht ist. Abb. 21 unterstreicht diese Vermutung; denn die Ausbeute an Biomasse bei der Kultur in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ ) war am 70. Wachstumstag im Vergleich zu beiden anderen Ansätzen am größten.

Der pH-Verlauf der drei Kulturen geht aus Abb.22 hervor. Der Anfangs-pH-Wert der Nährlösung DSN ohne Bicarbonat lag mit pH 8 unter den Werten der Ansätze mit Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  (pH 10). Nach 70 Tagen lagen die pH-Werte aller drei Kulturen ca. bei pH 10, d.h. unabhängig vom  $\text{NaHCO}_3$ -Gehalt des Mediums hatte sich der gleiche Endwert eingestellt. Es fiel auf, daß bei beiden bicarbonathaltigen Ansätzen von *Chlamydomonas reinhardtii* im Gegensatz zur reinen Nährlösung DSN kein Anstieg der pH-Werte im Laufe der Wachstumszeit zu beobachten war.

### **3.2.2.3 8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW- $\text{NaHCO}_3$ sowie mit oder ohne pH-Steuerung über $\text{CO}_2$ -Zufuhr**

In diesem Kapitel sollten die Ergebnisse der 8 Liter-Ansätze aus Kap.3.2.2.2 verwertet und optimiert werden. Es ergaben sich aus dem vorhergehenden Kapitel zwei Punkte, die durch entsprechende Variation der Nährlösungs-Zusammensetzung geklärt werden mußten:

1. Möglichkeit der gleichzeitigen Verwertung von anorganischem Kohlenstoff im Nährmedium in Form von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$
2. Züchtung zunächst in normaler Nährlösung DSN (ca. 2 Wochen) und anschließende Zugabe von  $\text{NaHCO}_3$  und/oder  $\text{CO}_2$  zum Medium in entsprechender Konzentration.

### ERSTE VERSUCHSREIHE:

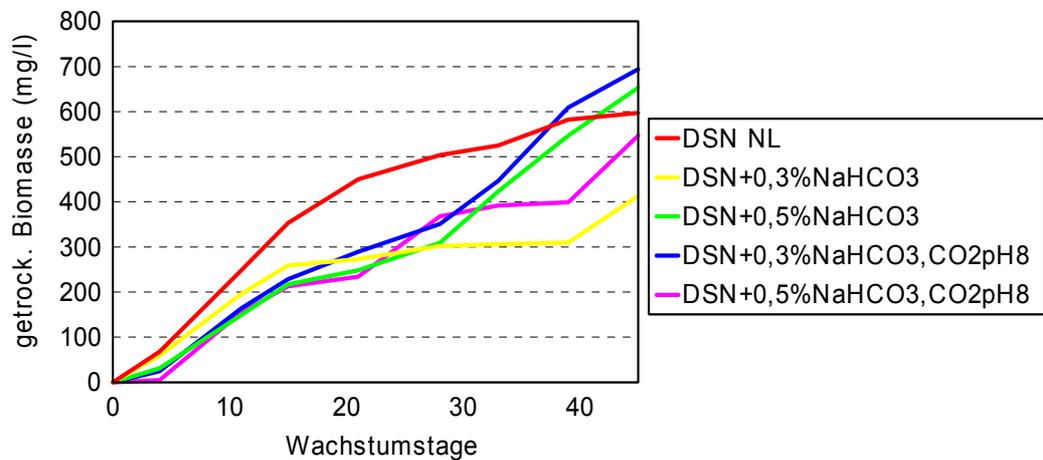
Zur Bestätigung der Ergebnisse aus Kap. 3.2.2.2 und zur Abklärung von Punkt 1. wurde *Chlamydomonas reinhardtii* in den folgenden Nährlösungen gezüchtet:

- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 8
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 8

Das Ansetzen der Kulturen und die Bestimmung des Wachstumsverlaufes sowie des pH-Verlaufes erfolgten wie für *Chlorella vulgaris* beschrieben (Kap. 3.2.1.).

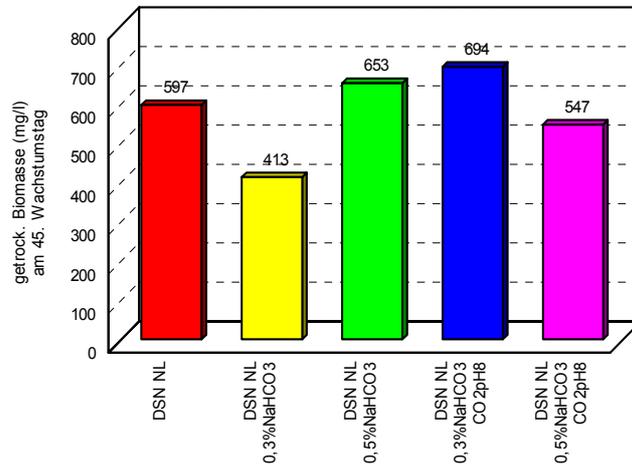
#### **Abb. 23**

Wachstumskurven von *Chlamydomonas reinhardtii* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr



**Abb. 24**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Chlamydomonas reinhardtii* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 25**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Chlamydomonas reinhardtii* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr

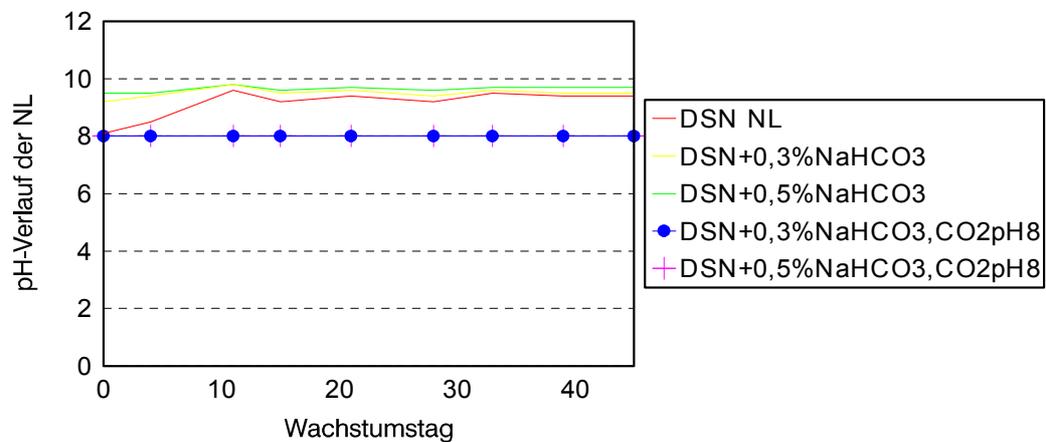


Abb. 24 zeigt, daß *Chlamydomonas reinhardtii* am 45. Wachstumstag in Nährlösung DSN (10 % Seewasser, 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$ -Steuerung auf pH 8) die größte Biomasseausbeute erzielte. Aus Abb. 23 wird erneut deutlich, daß *Chlamydomonas reinhardtii* zunächst am besten in Nährlösung DSN (10 % Seewasser) ohne Bicarbonatzusatz anwächst. Erst ab dem ca. 35. Wachstumstag stieg die Biomassebildung auch in den anderen Ansätzen stärker an, so daß die Kulturen in Nährlösung DSN (0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 8) und in Nährlösung DSN (0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ ) die Vergleichskultur mit ihrer Ausbeute erst ab dem ca. 40. Wachstumstag

übertrafen. Auch hier bestätigt sich wieder die Vermutung, daß die Algen den im Medium angebotenen anorganischen Kohlenstoff besser verwerten können, wenn mehr Biomasse im Ansatz vorhanden ist. Auch die Kulturen in Nährlösung DSN (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>) und in Nährlösung DSN (0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 8) zeigten ab dem ca. 40. Wachstumstag starke Tendenz zur Erhöhung der Wachstumsrate. Sie übertrafen die Ausbeute an Biomasse im Vergleich zum bicarbonatfreien Medium bis zum 45. Wachstumstag jedoch nicht.

Der pH–Verlauf der nicht über CO<sub>2</sub> gesteuerten Ansätze von *Chlamydomonas reinhardtii* entsprach in etwa den Kulturen aus Kap. 3.2.2.2. Der Anfangs pH–Wert der Nährlösung DSN lag mit pH 8 unter den Werten der NaHCO<sub>3</sub>–haltigen Ansätze (ca. pH 9,5). Der pH–Wert, der sich in allen drei Lösungen am 45. Wachstumstag eingestellt hatte, lag bei ca. pH 9,5. Warum die Medien unter Zusatz von 0,3 % bzw 0,5 % NaHCO<sub>3</sub> keinen Anstieg der pH–Werte im Verlauf der Wachstumszeit zeigten, konnte nicht geklärt werden.

#### ZWEITE VERSUCHSREIHE:

Zur Abklärung des anfangs aufgeführten Punktes 2. hinsichtlich der Untersuchung des Einflusses der verzögerten Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> und/oder CO<sub>2</sub> zum Nährmedium und des Einflusses der pH–Wert-Einstellung in der Nährlösung auf die Wachstumsrate wurde die Zusammensetzung der Nährlösungen folgendermaßen weiter variiert:

- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, CO<sub>2</sub> pH 7
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, CO<sub>2</sub> pH 8
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, nach 14 Tagen Zugabe von 0,5 % NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> – Steuerung auf pH 7

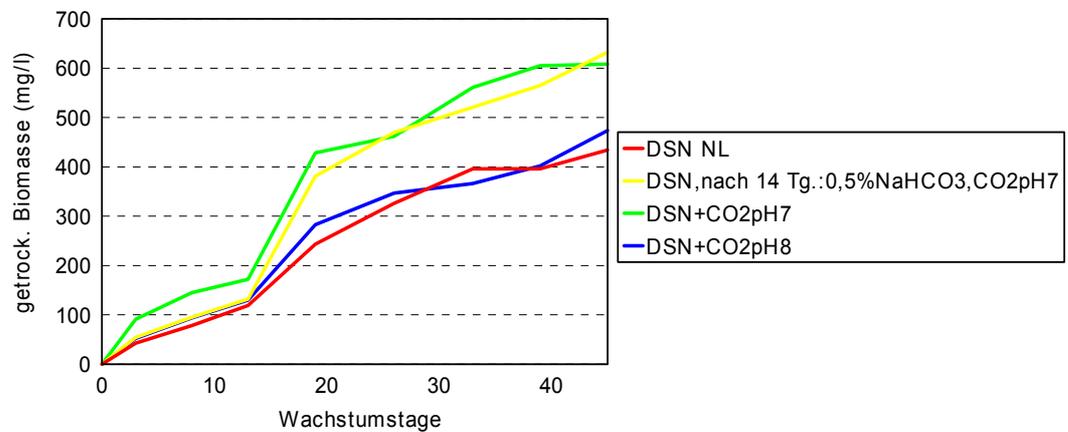
Die pH–Steuerung der letztgenannten Kultur erfolgte auf pH 7, da der Ansatz in Nährlösung DSN (10 % Seewasser, CO<sub>2</sub> pH 7) bis zu diesem Zeitpunkt die höchste Wachstumsintensität gezeigt hatte. Es wurde die Konzentration von 0,5 % NaHCO<sub>3</sub> gewählt, da sich aus der direkt am BHKW durchgeführten Versuchsreihe 1 für *Chlamydomonas reinhardtii* (Kap.4.2.2) ableiten ließ, daß diese Alge auch einen Zusatz von 0,5 % NaHCO<sub>3</sub> zur erhöhten Biomasseproduktion verwerten konnte. Da diese Konzentration an NaHCO<sub>3</sub> im Vergleich zum Ansatz mit 0,3 % NaHCO<sub>3</sub> indirekt einen höheren Verbrauch an Abgas–CO<sub>2</sub> darstellt,

wurde sie für diese Versuchsreihe 2 verwendet, auch wenn der Unterschied beider Ansätze am BHKW nicht gravierend war.

Es sollte anhand der Ergebnisse dieser Versuchsreihe zusätzlich untersucht werden, ob *Chlamydomonas reinhardtii* besser ohne Zugabe von  $\text{NaHCO}_3$ , also bei alleiniger Einleitung von  $\text{CO}_2$  in die Nährlösung wächst.

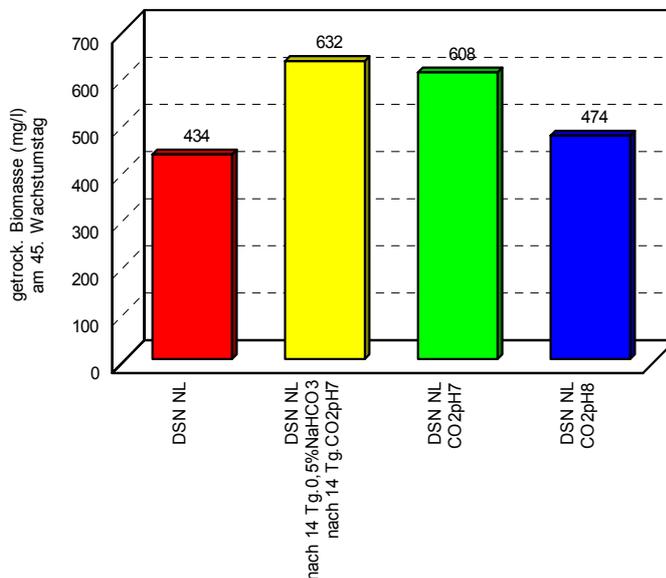
**Abb. 26**

Wachstumskurven von *Chlamydomonas reinhardtii* mit und ohne Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr



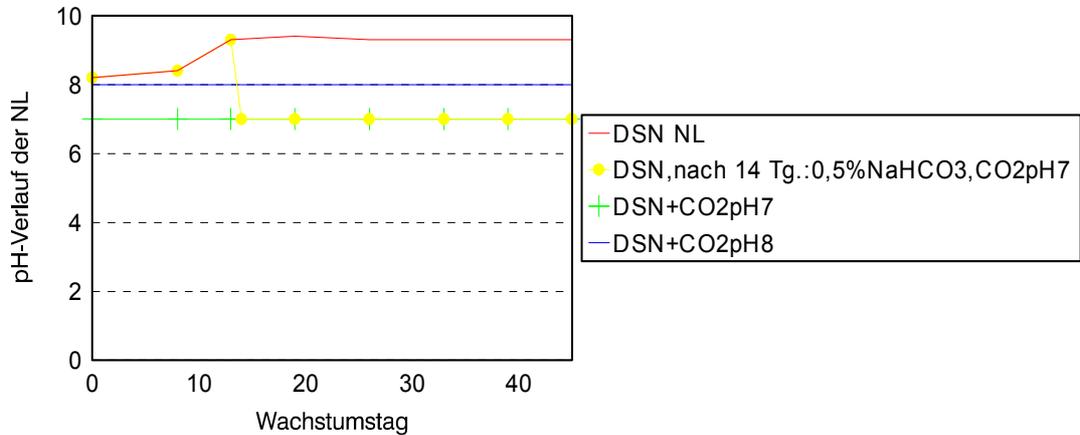
**Abb. 27**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Chlamydomonas reinhardtii* mit und ohne Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 28**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Chlamydomonas reinhardtii* mit und ohne Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr



Aus den Abb. 26 und 27 ergab sich pH 7 als optimaler pH-Wert der Nährlösung zur Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii*. Die größte Ausbeute an Biomasse ergab die Kultur in Nährlösung DSN (10 % Seewasser), der nach 14 Tagen 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$  zugesetzt wurden und deren pH-Wert nach dieser Zeit durch  $\text{CO}_2$ -Einleitung auf pH 7 gesteuert wurde. Eine vergleichbare Ausbeute ergab auch die Züchtung in Nährlösung DSN (10 % Seewasser,  $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 7). Das Wachstumsverhalten von *Chlamydomonas reinhardtii* in Nährlösung DSN (10 % Seewasser) entsprach dem in Nährlösung DSN (10 % Seewasser,  $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 8).

Die pH-Verläufe von a) Nährlösung DSN und b) Nährlösung DSN unter verzögerter Zugabe von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$ -Steuerung auf pH 7 nach 14 Wachstumstagen entsprachen sich natürlich bis zum Zeitpunkt der  $\text{NaHCO}_3$ -Zugabe. Anschließend stellte sich der pH-Wert der Vergleichskultur (Nährlösung DSN) bis zum 45. Wachstumstag auf ca pH 9,5 ein.

### 3.2.3 *Monoraphidium braunii*

#### 3.2.3.1 250 ml-Kleinkulturen

*Monoraphidium braunii* wurde wie bei *Chlorella vulgaris* (Kap.3.2.1) beschrieben in folgenden Nährlösungen gezüchtet und beobachtet:

- DSN Nährlösung 5 % Seewasser:
- DSN Nährlösung 5 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 20 % Seewasser
- DSN Nährlösung 20 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>

Die Versuchsansätze zeigten, daß die optimale Seewasserkonzentration zur Züchtung von *Monoraphidium braunii* unter Zusatz von Bicarbonat bei 10 % lag. Die Kulturen in den Medien mit 5 % Seewasser mit und ohne Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie im Nährmedium DSN (10 % Seewasser) ohne NaHCO<sub>3</sub> zeigten ein gutes Wachstumsverhalten, wobei Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>) die beste Zusammensetzung des Kulturmediums für *Monoraphidium braunii* darstellte und somit als Ausgangspunkt für die nachfolgenden Versuche diente. Die Kulturen in Nährlösung DSN (20 % Seewasser) mit und ohne Bicarbonat wuchsen im Vergleich zu den anderen Ansätzen schlechter.

#### 3.2.3.2 8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO<sub>3</sub>

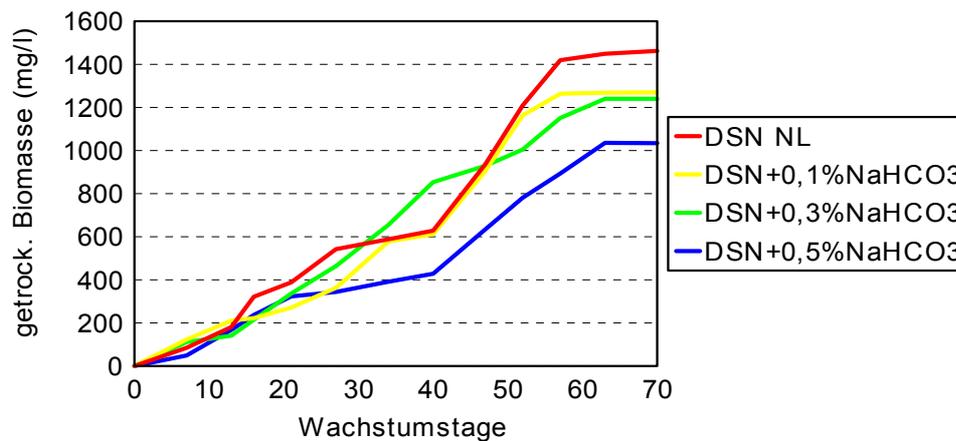
Zur Bestimmung der NaHCO<sub>3</sub>-Konzentration, die zur optimalen Biomasse-Produktion führt, wurde *Monoraphidium braunii* in folgenden Nährmedien gezüchtet:

- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,1 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>

Höhere Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  (1,0 %) verschlechterten das Wachstum gravierend. Der Ansatz der Kulturen sowie die Dokumentation des Wachstumsverlaufes und der pH-Verlaufskurve erfolgten wie bei *Chlorella vulgaris* (Kap. 3.2.1) beschrieben.

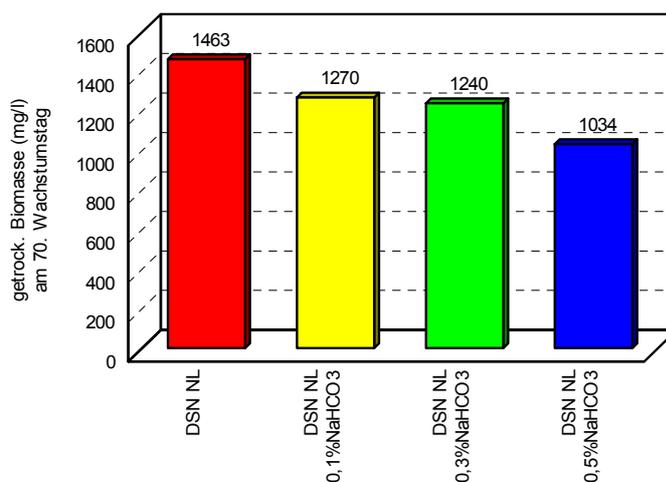
**Abb. 29**

Wachstumskurven von *Monoraphidium braunii* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$



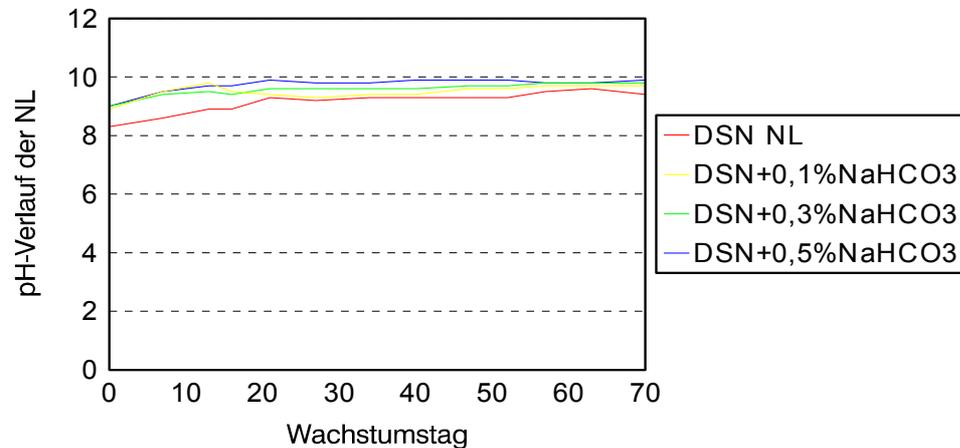
**Abb. 30**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Monoraphidium braunii* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  am 45. Wachstumstag



**Abb. 31**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Monoraphidium braunii* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$



Im Gegensatz zu den vorher beschriebenen Algen konnte bei *Monoraphidium braunii* das Ergebnis der 250 ml-Versuche in den 8 Liter-Ansätzen unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  nicht bestätigt werden. Vermutlich konnte *Monoraphidium braunii* das dem Medium zugesetzte  $\text{NaHCO}_3$  unter den in den 8 l-Flaschen herrschenden Bedingungen nicht verwerten, um mehr Biomasse zu bilden. Möglicherweise beruht dieses abweichende Verhalten auf Unverträglichkeit gegenüber der stärkeren Belüftung und der dadurch erzeugten höheren Turbulenz in den 8 Liter-Kulturen. Dies konnte aber nicht geklärt werden.

Abb. 29 zeigt, daß das Wachstumsverhalten aller vier Kulturen sehr ähnlich ist. Die Biomasseausbeute von *Monoraphidium braunii* am ca. 45. Wachstumstag ist in den Nährlösungen DSN ohne  $\text{NaHCO}_3$ ; mit 0,1 %  $\text{NaHCO}_3$  und mit 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$  fast identisch. Die Züchtung wurde wie bei *Chlamydomonas reinhardtii* bis zum 70. Wachstumstag fortgesetzt. Dadurch sollte überprüft werden, ob das Bicarbonat auch hier evtl. erst zu einem späteren Zeitpunkt verwertet werden konnte. Durch Abb. 30 wird jedoch deutlich, daß die Biomasseausbeute in Nährlösung DSN ohne Zugabe von  $\text{NaHCO}_3$  am höchsten lag und mit zunehmender Konzentration an  $\text{NaHCO}_3$  leicht abnahm.

Die Anfangs-pH-Werte der Nährlösungen lagen bei DSN (10 % Seewasser) bei ca. pH 8,5, bei DSN (10 % Seewasser; 0,1 %, 0,3 % und 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ ) bei ca. pH 9. Die bicarbonathaltigen Ansätze erreichten nach 70 Wachstumstagen einen pH-Wert von ca. 10, der End-pH-Wert der Nährlösung DSN lag bei ca. pH 9,5. Es wurde deutlich, daß die unterschiedlichen Bicarbonatkonzentrationen keinen gravierenden Einfluß auf den pH-Verlauf der Nährmedien ausübten.

### 3.2.3.3 8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über CO<sub>2</sub>-Zufuhr

Da bei den 8 l-Kulturen, wie vorher beschrieben, die alleinige Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> zum Kulturmedium die Wachstumsrate von *Monoraphidium braunii* nicht erhöht hatte, sollte nun der Einfluß der kombinierten Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> getestet werden. Hierbei wurde aufgrund der im Kap. 3.2.3.2 beschriebenen Ergebnisse von einer 0,3 %igen NaHCO<sub>3</sub>-Konzentration ausgegangen, da hierbei im Vergleich zum Zusatz von 0,5 % NaHCO<sub>3</sub> eine bessere Biomasseausbeute erzielt worden war. Da das Ziel in einem möglichst hohen Verbrauch von anorganischem Kohlenstoff lag, wurde die Konzentration von 0,3 % NaHCO<sub>3</sub> der 0,1 % igen Konzentration, bei fast identischen Biomasseausbeuten am 70. Wachstumstag, vorgezogen. Außerdem wurde im Verlauf der Versuche der Einfluß der alleinigen Zugabe von CO<sub>2</sub> zum Medium getestet. Das Ziel bestand bei allen Ansätzen, die unter Belüftung mit CO<sub>2</sub> kultiviert wurden, in der Bestimmung des optimalen pH-Wertes für die Züchtung von *Monoraphidium braunii*.

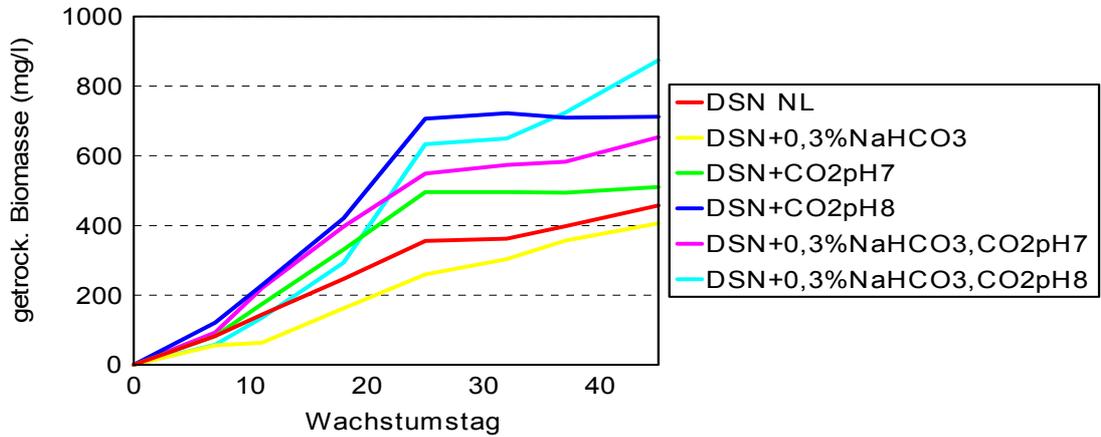
Die Nährmedien wurden wie folgt variiert:

- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, CO<sub>2</sub> pH 7
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, CO<sub>2</sub> pH 8
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 7
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 8

Das Ansetzen der Kulturen und die Bestimmung des Wachstumsverlaufes sowie des pH-Verlaufes erfolgten wie für *Chlorella vulgaris* beschrieben (Kap. 3.2.1.).

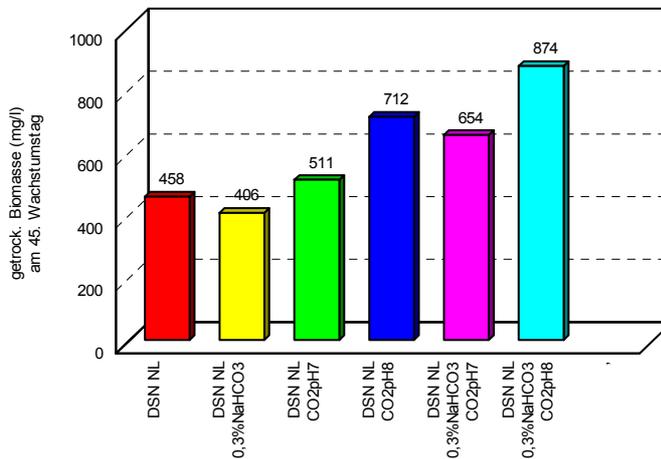
**Abb. 32**

Wachstumskurven von *Monoraphidium braunii* unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr



**Abb. 33**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Monoraphidium braunii* unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 34**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Monoraphidium braunii* unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr

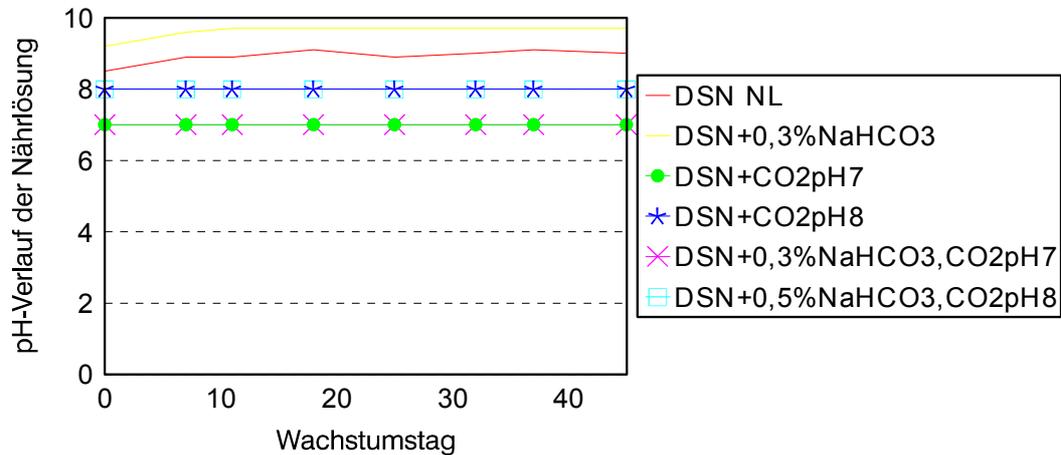


Abb 32 und 33 machen deutlich, daß die Vergleichsansätze in Nährlösung DSN und DSN (0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ) eine deutlich schlechtere Ausbeute an Biomasse am 45. Wachstumstag erbrachten. Nach ca. 10 bis 15 Wachstumstagen setzten sich die anderen Kulturen in ihrem Wachstumsverhalten deutlich positiv von diesen ab. In Abb. 32 ist zu erkennen, daß *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN (0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 8) und in Nährlösung DSN ( $\text{CO}_2$  pH 8) einen ähnlichen Wachstumsverlauf aufzeigte. Gleiches wurde bei den Kulturen in Nährlösung DSN (0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 7) und in Nährlösung DSN ( $\text{CO}_2$  pH 7) beobachtet. Der pH-Wert von 8 erwies sich als eindeutig besser für die Züchtung von *Monoraphidium braunii*, wobei die kombinierte Zugabe von 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$  (Steuerung auf pH 8) ein Optimum darstellte. Während dieser Ansatz auch in den späten Wachstumstagen einen stetigen Anstieg der Biomassebildung zeigte, stagnierte die Kultur in Nährlösung DSN ( $\text{CO}_2$  pH 8) schon ab dem ca. 25. Tag in ihrem Wachstumsverhalten. Obwohl die Biomasseausbeute der auf pH 7 gesteuerten Kulturen niedriger war als die der eben beschriebenen Ansätze, läßt sich die Beobachtung im Wachstumsverhalten übertragen. Auch hier zeigte sich in Nährlösung DSN ( $\text{CO}_2$  pH 7) ab dem ca. 25. Tag bereits eine Phase des Wachstumsstillstandes; die Kultur in Nährlösung DSN (0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CO}_2$  pH 7) ließ dagegen noch einen leichten Anstieg der Wachstumskurve erkennen.

Die pH-Verlaufskurven der nicht über  $\text{CO}_2$  gesteuerten Kulturen entsprachen in etwa den Ergebnissen der Versuche aus Kap.3.2.3.2: der pH-Wert stieg in Nährlösung DSN von ca. 8,5 auf 9, in Nährlösung DSN (0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ) von ca. 9 auf 9,5.

### 3.2.4 *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis*

#### 3.2.4.1 250 ml-Kleinkulturen

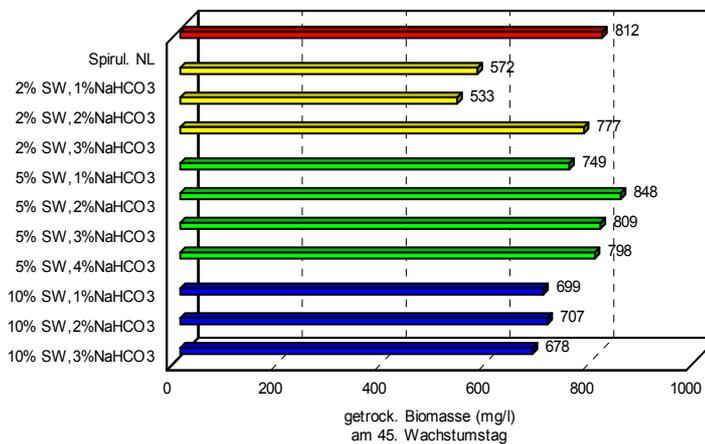
*Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* wurden in Spirulina-Nährlösung (Kap. B, 2.1.1.2) gezüchtet. Dieses Medium enthielt unter anderem 1,36 % NaHCO<sub>3</sub> und 0,04 % Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, der Seewassergehalt betrug 5 %. Zur Entwicklung einer optimalen Nährlösung für die Züchtung dieser Cyanobakterien wurden der Seewassergehalt sowie die NaHCO<sub>3</sub>-Konzentration wie folgt variiert:

- Spirulina-Nährlösung
- DSN Nährlösung 2 % Seewasser, 1 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 2 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 2 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 2 % Seewasser, 4 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 5 % Seewasser, 1 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 5 % Seewasser, 4 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, 1 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, 4 % NaHCO<sub>3</sub>

Die Ansätze von *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* in Nährlösung DSN 2 % und 10 % Seewasser jeweils unter Zusatz von 4 % NaHCO<sub>3</sub> wuchsen nicht an und blieben deshalb in der Auswertung unbeachtet. Die Züchtung und Beobachtung der Kulturen erfolgte wie bei *Chlorella vulgaris* (Kap. 3.2.1) beschrieben.

**Abb. 35**

Biomasseausbeuten der 250 ml-Kulturen von *Spirulina maxima* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an NaHCO<sub>3</sub> bei verschiedenen Seewassergehalten des Nährmediums am 45. Wachstumstag



**Abb. 36**

Biomasseausbeuten der 250 ml-Kulturen von *Spirulina platensis* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an NaHCO<sub>3</sub> bei verschiedenen Seewassergehalten des Nährmediums am 45. Wachstumstag

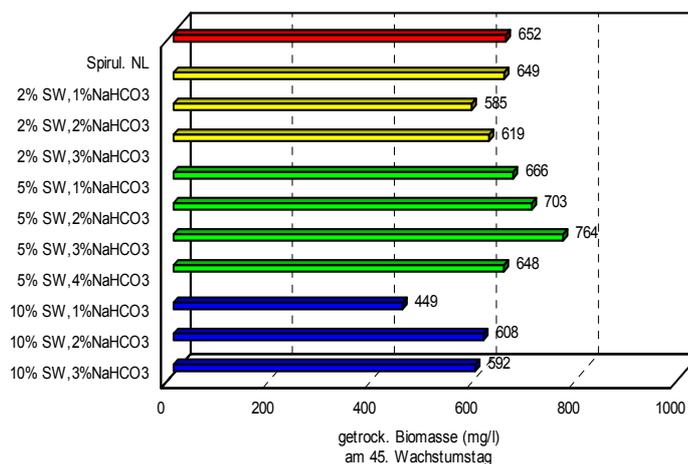


Abb. 35 und 36 machen deutlich, daß bei beiden Cyanobakterien im Vergleich zur Spirulina-Nährlösung eine größere NaHCO<sub>3</sub>-Konzentration im Medium bei einem Seewassergehalt von 5 % zur Erhöhung der Biomasse, die am 45. Wachstumstag geerntet werden konnte, führte. Es zeigte sich, daß die Seewasserkonzentration von 5 %, die auch in der Spirulina-Nährlösung enthalten war, nicht optimiert werden konnte. Der erhöhte Zusatz von Bicarbonat bei einem

Seewassergehalt von 2 % bzw. 10 % im Vergleich zur Spirulina-Nährlösung konnte nicht für eine höhere Photosyntheserate verwertet werden.

Am besten erwies sich für die Züchtung von *Spirulina maxima* Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>), bei der die Biomasseausbeute am 45. Tag höher als bei allen anderen Ansätzen lag. Auch der Ansatz in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>) ergab eine gute Ausbeute, entsprach jedoch der in der üblichen Spirulina-Nährlösung. *Spirulina maxima* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser) unter Zusatz von 1 % bzw. 4 % NaHCO<sub>3</sub> ergab eine Ausbeute, die jeweils unter der in der Spirulina-Nährlösung lag.

Als optimales Medium für die Kultivierung von *Spirulina platensis* ergab sich Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>). Auch die Versuchslösung DSN (5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>) übertraf am 45. Wachstumstag die Biomasseausbeute der in der Spirulina-Nährlösung gezüchteten *Spirulina platensis*. Die Ansätze in Nährlösung DSN (5 % Seewasser) mit einem NaHCO<sub>3</sub>-Gehalt von 1 % bzw. 4 % entsprachen in etwa der Vergleichskultur in der Spirulina-Nährlösung.

#### **3.2.4.2 8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO<sub>3</sub> mit und ohne Zugabe von Ca<sup>2+</sup>**

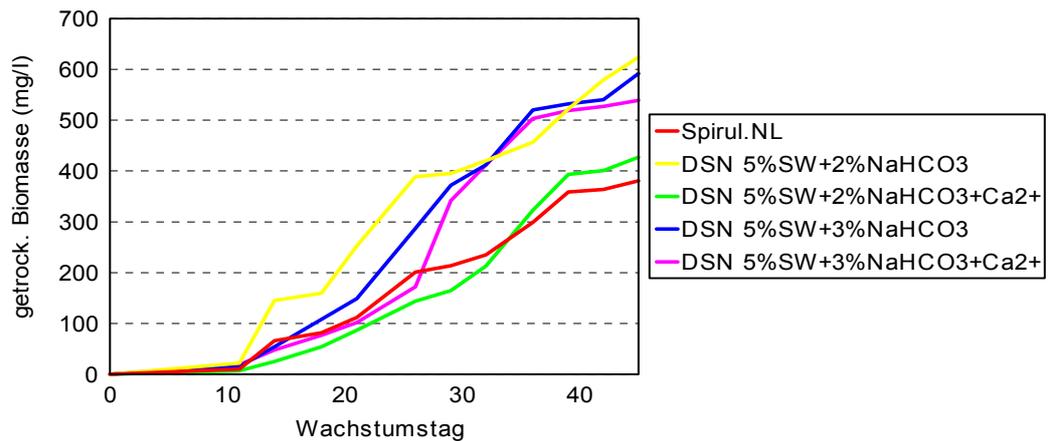
Aufgrund der Ergebnisse der 250 ml-Kleinkulturen wurden sowohl *Spirulina maxima* als auch *Spirulina platensis* im Nährmedium DSN (5 % Seewasser) unter Zusatz von 2 % und 3 % NaHCO<sub>3</sub> im 8 Liter-Maßstab gezüchtet. Es wurde zusätzlich untersucht, ob die Erhöhung der Ca<sup>2+</sup>-Ionen-Konzentration auf 42 mg Ca<sup>2+</sup>/l durch Zugabe von 20 mg Ca<sup>2+</sup>/l Nährlösung DSN 5 % Seewasser einen Einfluß auf das Wachstumsverhalten der Cyanobakterien ausübte. Diese Ca<sup>2+</sup>-Konzentration (41,0–44,5 mg/l) entsprach der im Nährmedium DSN 10 % Seewasser nach POHL et al. (1987). So ergaben sich für diese Versuchsreihe folgende Nährmedien:

- Spirulina-Nährlösung, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>, +20 mg Ca<sup>2+</sup>/l
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, +20 mg Ca<sup>2+</sup>/l

Der Ansatz der Kulturen sowie die Dokumentation der Wachstumsverläufe und der pH-Verlaufskurven erfolgten wie bei *Chlorella vulgaris* (Kap. 3.2.1) beschrieben.

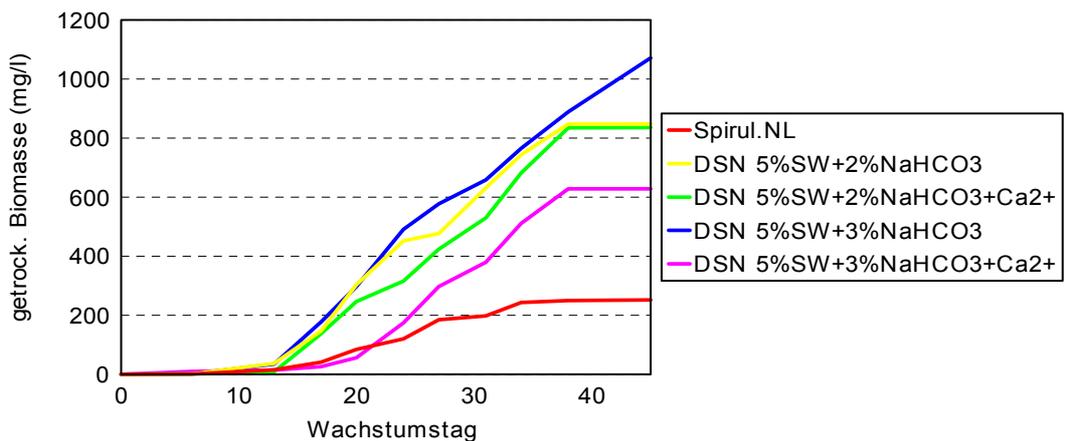
**Abb. 37**

Wachstumskurven von *Spirulina maxima* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  mit und ohne Zugabe von  $\text{Ca}^{2+}$



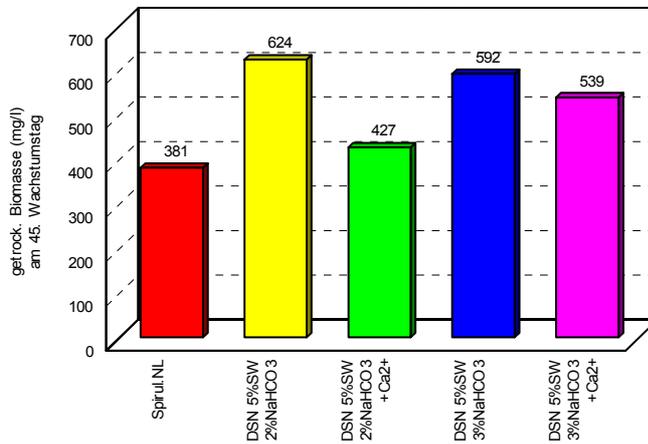
**Abb. 38**

Wachstumskurven von *Spirulina platensis* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  mit und ohne Zugabe von  $\text{Ca}^{2+}$



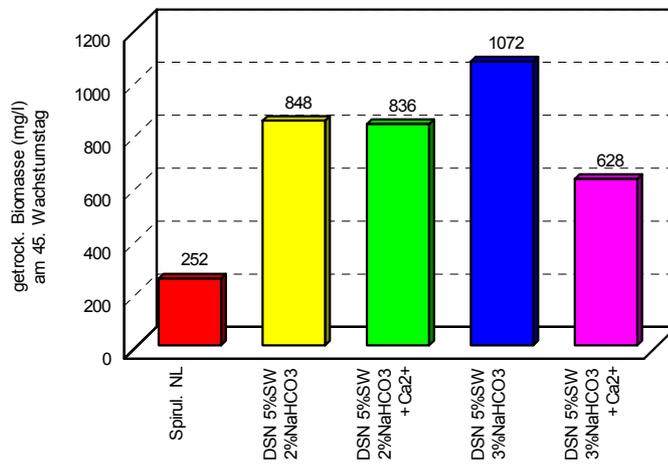
**Abb. 39**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Spirulina maxima* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  mit und ohne Zugabe von  $\text{Ca}^{2+}$  am 45. Wachstumstag



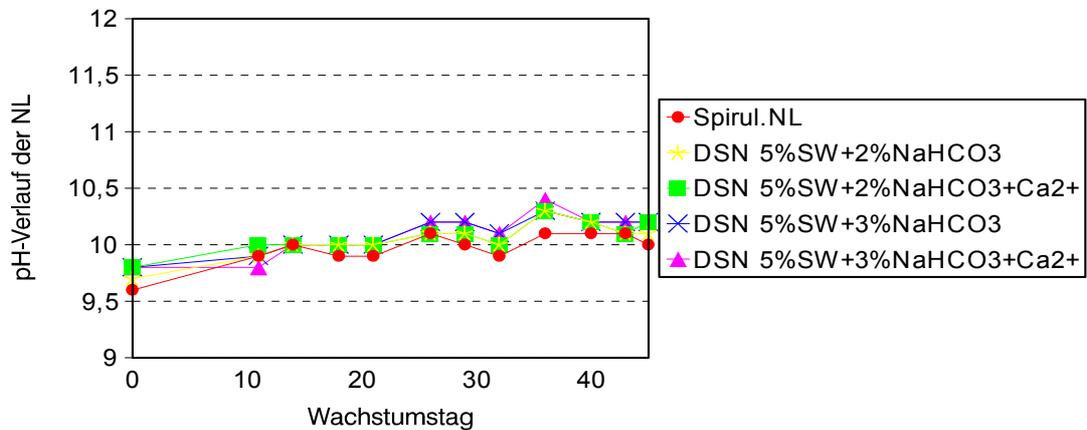
**Abb. 40**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Spirulina platensis* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  mit und ohne Zugabe von  $\text{Ca}^{2+}$  am 45. Wachstumstag



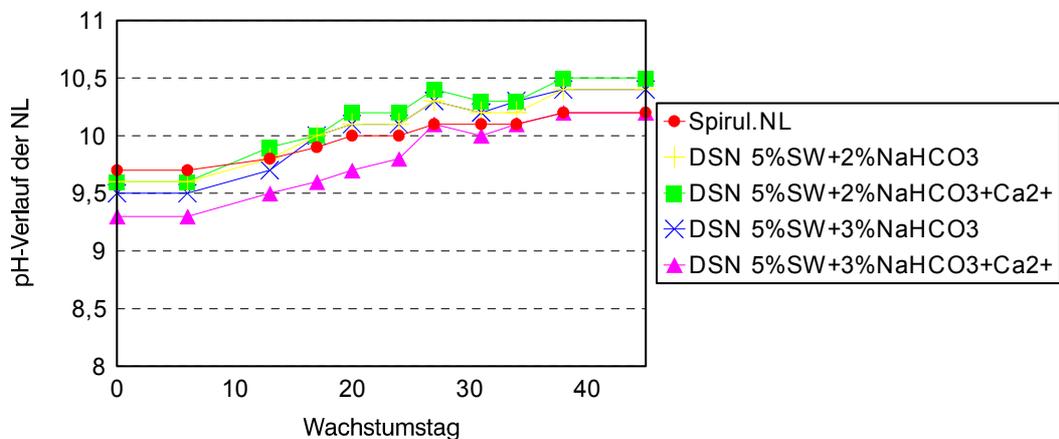
**Abb. 41**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Spirulina maxima* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  mit und ohne Zugabe von  $\text{Ca}^{2+}$



**Abb. 42**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Spirulina platensis* unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  mit und ohne Zugabe von  $\text{Ca}^{2+}$



Diese Versuche bestätigten nochmals, daß eine höhere Konzentration an  $\text{NaHCO}_3$  im Medium (2 bzw. 3 %  $\text{NaHCO}_3$ ) als in *Spirulina*-Nährlösung (1,36 %  $\text{NaHCO}_3$ ; 0,04 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) zu einer deutlich erhöhten Biomasseproduktion führte (Abb. 39 und 40).

Dagegen war der Unterschied im Einfluß auf die Ausbeute der Biomasse zwischen einer 2- und 3 % igen Lösung, wie aus Abb. 39 ersichtlich, bei *Spirulina maxima* nicht so deutlich (NL DSN 5 % Seewasser, 2 %  $\text{NaHCO}_3$ : 624 mg/l; NL DSN 5 % Seewasser, 3 %  $\text{NaHCO}_3$ : 592 mg/l). Bei den Kulturen von *Spirulina platensis* machte sich der Unterschied noch etwas

stärker bemerkbar. Die am 45. Wachstumstag geerntete Biomassemenge lag in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>) bei 1072 mg/l; in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>) bei 848 mg/l.

Die Erhöhung der Ca<sup>2+</sup>-Konzentration auf ca. 42 mg Ca<sup>2+</sup>/l ergab weder für *Spirulina maxima* noch für *Spirulina platensis* einen positiven Einfluß auf die Biomasse-Ausbeute, so daß in den nachfolgenden Versuchen auf die Erhöhung der Ca<sup>2+</sup>-Konzentration verzichtet werden konnte.

Der pH-Verlauf in den Kulturen beider Cyanobakterien geht aus den Abb. 41 und 42 hervor. Bei *Spirulina maxima* stieg der pH-Wert in allen Ansätzen im Laufe der Wachstumszeit von ca. 9,5 auf ca. 10 an, bei *Spirulina platensis* von ca. 9,5 auf ca. 10,5.

### **3.2.4.3 8 Liter-Kulturen unter Zusatz von BHKW-NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über CO<sub>2</sub>-Zufuhr**

#### ERSTE VERSUCHSREIHE:

Zur Entwicklung einer optimalen Nährlösung sollte geklärt werden, ob *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* als zusätzliche Kohlenstoffquelle neben NaHCO<sub>3</sub> auch CO<sub>2</sub> verwerten können. Die Kulturen wurden in folgenden Medien gezüchtet:

- Spirulina-Nährlösung, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 8
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 8

Das Ansetzen der Kulturen und die Bestimmung des Wachstumsverlaufes erfolgten wie für *Chlorella vulgaris* beschrieben (Kap. 3.2.1.).

Die Versuchsreihe ergab, daß *Spirulina maxima* in beiden Ansätzen, die durch CO<sub>2</sub>-Belüftung auf pH 8 gesteuert wurden, ein schlechteres Wachstumsverhalten im Vergleich zu den anderen Kulturen zeigte. Nach anfänglichem Anwachsen des Cyanobakteriums starb

*Spirulina maxima* nach ca. 10 Tagen in diesen Versuchsansätzen ab. Ein ähnliches Verhalten konnte unter diesen Bedingungen bei *Spirulina platensis* festgestellt werden. Dieser Mikroalge war das Wachsen bei Steuerung auf pH 8 zwar möglich, die Biomasse-Ausbeuten lagen jedoch weit unter denen bei Kultivierung von *Spirulina platensis* in Spirulina Nährlösung und Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 2 % bzw. 3 % NaHCO<sub>3</sub>).

#### ZWEITE VERSUCHSREIHE:

Die pH-Werte in den Nährmedien von *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis*, die sich durch Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> ergeben hatten (Kap.3.2.4.2), lagen lt. Abb. 41 und 42 im Bereich von ca. 9,5 bis 10,5. Die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe dieses Kapitels zeigten, daß der durch CO<sub>2</sub>-Einleitung regulierte pH-Wert von 8 einen negativen Einfluß auf die Wachstumsrate von *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* hatte. Da der durch alleinigen NaHCO<sub>3</sub>-Zusatz eingestellte pH-Wert durch die Cyanobakterien besser toleriert wurde, sollte durch die nachfolgenden Versuchsansätze getestet werden, ob *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* eine weitere Erhöhung der Biomasseausbeute bei Steuerung der pH-Werte durch zusätzliche CO<sub>2</sub>-Einleitung auf pH 9 bzw. pH 10 erzielten.

Da anhand der vorangegangenen Versuche mit *Spirulina maxima* nicht geklärt werden konnte, welche Konzentration an NaHCO<sub>3</sub> das Optimum darstellte, wurde sowohl die Nährlösung mit 2 % NaHCO<sub>3</sub> als auch die mit 3 % NaHCO<sub>3</sub> zusätzlich mit CO<sub>2</sub> belüftet. Die Versuchsansätze von *Spirulina maxima* erfolgten in:

- Spirulina-Nährlösung, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 9
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 9

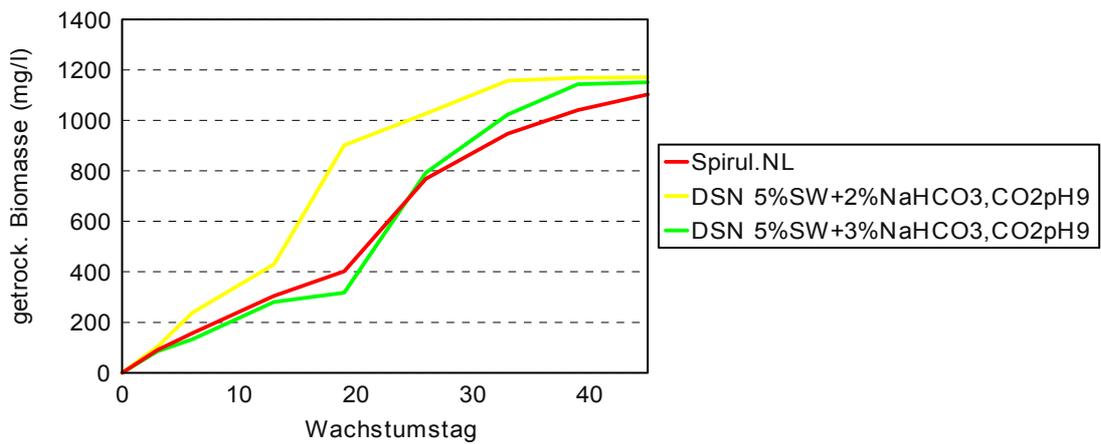
Für *Spirulina platensis* ergab die Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub> in der ersten Versuchsreihe dieses Kapitels die größte Ausbeute an Biomasse. Daher wurde diese Zusammensetzung als Ausgangspunkt für weitere Variationen hinsichtlich der pH-Steuerung durch Zugabe von CO<sub>2</sub> gewählt:

- Spirulina-Nährlösung, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 9
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 10

Der Ansatz der Kulturen sowie die Dokumentation des Wachstumsverlaufes und der pH-Verlaufskurve erfolgten wie bei *Chlorella vulgaris* (Kap. 3.2.1) beschrieben.

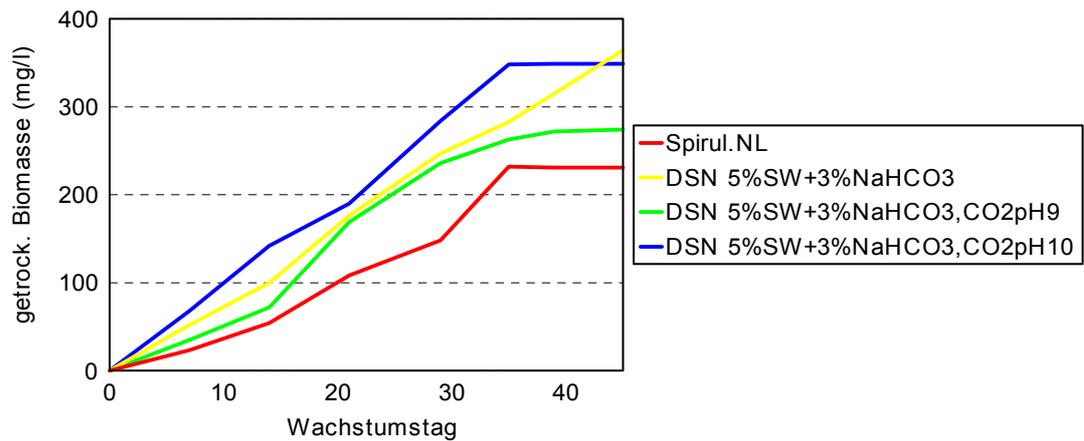
**Abb.43**

Wachstumskurven von *Spirulina maxima* unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über CO<sub>2</sub>-Zufuhr



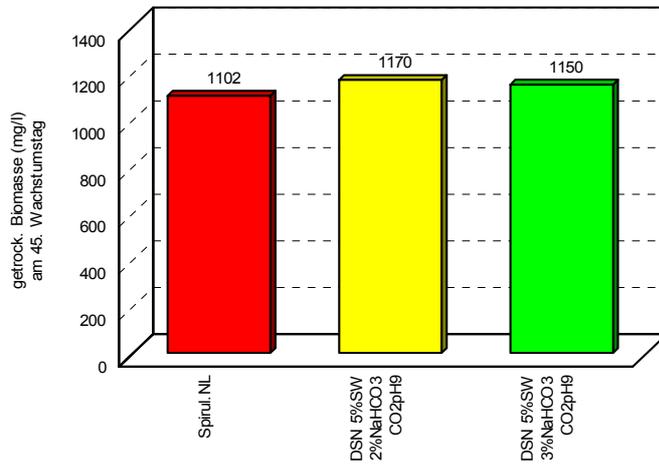
**Abb. 44**

Wachstumskurven von *Spirulina platensis* unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über CO<sub>2</sub>-Zufuhr



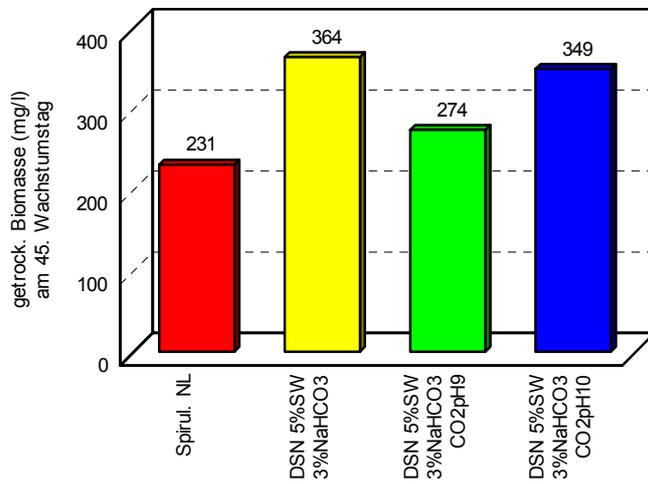
**Abb. 45**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Spirulina maxima* unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



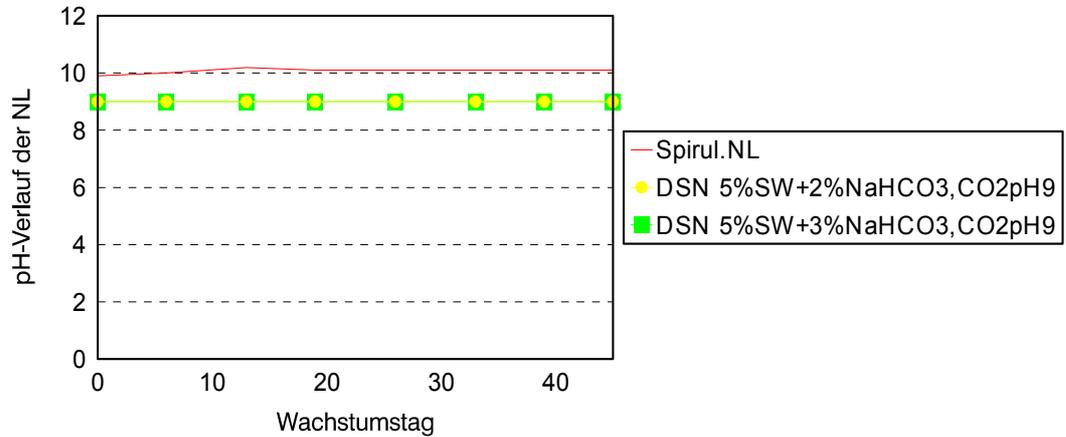
**Abb. 46**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Spirulina platensis* unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



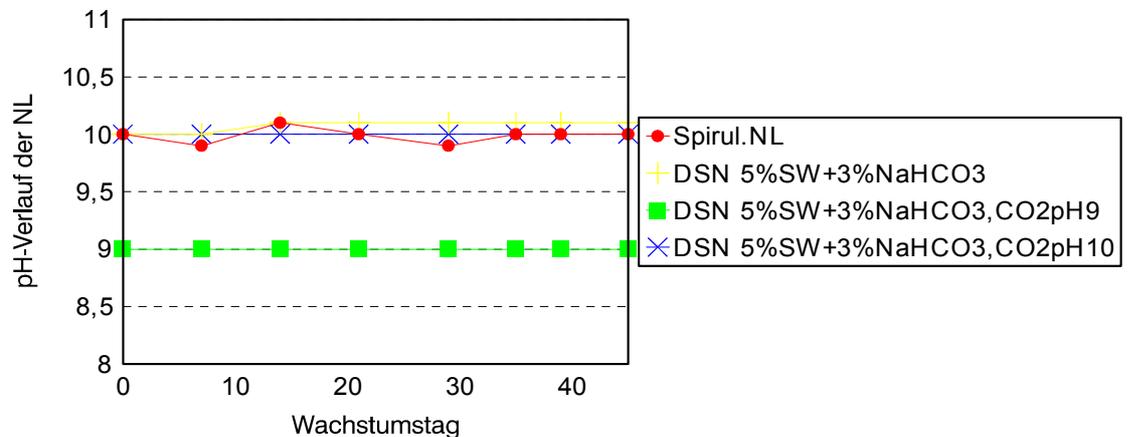
**Abb. 47**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Spirulina maxima* unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr



**Abb. 48**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Spirulina platensis* unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr



Im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser zweiten Versuchsreihe mit Steuerung des pH-Wertes auf 9 war *Spirulina maxima* in der ersten Versuchsreihe dieses Kapitels bei Regulierung auf pH 8 abgestorben.

Wie Abb 45 zeigt, trat in dieser Versuchsreihe jedoch kein gravierender Unterschied in der Biomasse-Ausbeute am 45. Wachstumstag zwischen den Ansätzen in Spirulina-Nährlösung und den beiden auf pH 9 gesteuerten Kulturen auf. Es zeigte sich, daß dieses Cyanobakterium anorganischen Kohlenstoff in Form von  $\text{CO}_2$  nicht zusätzlich verwerten konnte. Da sich das

Wachstumsverhalten von *Spirulina maxima* in den vorangegangenen Versuchen (Kap. 3.2.4.1 und 3.2.4.2) jeweils deutlich besser in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 2 bzw. 3 % NaHCO<sub>3</sub>) als in Spirulina-Nährlösung gezeigt hatte, sollte *Spirulina maxima* in den nachfolgenden Versuchen direkt am Blockheizkraftwerk sowohl in Spirulina-Nährlösung als auch in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>) als Vergleichskultur gezüchtet werden, um einen direkten Vergleich der Biomasseausbeuten mit den pH-gesteuerten Kulturen zu ermöglichen. Bei weiteren Versuchen mit *Spirulina maxima* sollten ausschließlich Nährlösungen mit 2 % NaHCO<sub>3</sub>-Zusatz eingesetzt werden, da festgestellt wurde, daß das Cyanobakterium bei einem Gehalt von 3 % Bicarbonat die Biomasse-Ausbeute nicht weiter steigern konnte.

Abb. 44 und 46 verdeutlichen, daß Nährlösung DSN (5 % Seewasser) mit Zusatz von 3 % NaHCO<sub>3</sub> das optimale Nährmedium für die Kultivierung von *Spirulina platensis* darstellte. Die Biomasse-Ausbeute am 45. Wachstumstag lag in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 10) nur geringfügig niedriger, wobei aus Abb. 44 hervorgeht, daß das Wachstum in diesem Medium etwa seit dem 35. Wachstumstag stagnierte. *Spirulina platensis* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>) dagegen zeigte auch in der späteren Wachstumsphase noch einen stetigen Anstieg der Biomasse-Produktion. Die Ergebnisse in Spirulina-Nährlösung und Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 9) lagen deutlich unter denen der anderen Ansätze. So erwies sich pH 10 für die Kultivierung dieses Cyanobakteriums als eindeutig besser als ein pH-Wert von 9. Man konnte jedoch wie bei *Spirulina maxima* schon jetzt vermuten, daß auch *Spirulina platensis* anorganischen Kohlenstoff nicht zusätzlich in Form von CO<sub>2</sub> für eine bessere Photosyntheserate verwerten konnte. Dies konnte durch die nachfolgenden Züchtungsversuche am BHKW Heikendorf (Kap. 4) bestätigt werden.

### 3.3 Zusammenfassung und Diskussion

Die Untersuchungen zur Entwicklung geeigneter Nährlösungen für die optimale Biomasse-Produktion der hier verwendeten Mikroalgen bei möglichst hohem Verbrauch an  $\text{NaHCO}_3$  und/oder  $\text{CO}_2$  brachten die in Tab. 5 zusammengefaßten Ergebnisse.

**Tab. 5**  
Einordnung der Mikroalgen hinsichtlich der Verwertung von zusätzlich im Nährmedium angebotenen anorganischen Kohlenstoff ( $\text{CO}_2$  bzw.  $\text{NaHCO}_3$ )

Mikroalgen	Optimale Nährlösung	Kategorie	Biomasse - Ausbeute	Steigerung der Biomasse – Ausbeute <sub>1</sub>
<i>Chlorella vulgaris</i>	DSN 10 % + 0,5 % $\text{NaHCO}_3$ + $\text{CO}_2$ pH 8	2	2150 mg/l	392 %
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	DSN 10 % + 0,5 % $\text{NaHCO}_3$ + $\text{CO}_2$ pH 7 <b>oder</b> DSN 10 % + $\text{CO}_2$ pH 7	2 <b>oder</b> 3	632 mg/l <b>bzw.</b> 608 mg/l	46 % bzw. 40 %
<i>Monoraphidium braunii</i>	DSN 10 % + 0,3 % $\text{NaHCO}_3$ + $\text{CO}_2$ pH 8	2	874 mg/l	91 %
<i>Spirulina maxima</i>	DSN 5 % + 2 % $\text{NaHCO}_3$	1	624 mg/l	64 %
<i>Spirulina platensis</i>	DSN 5 % + 3 % $\text{NaHCO}_3$	1	364 mg/l	58 %

<sub>1</sub> im Verhältnis zur Vergleichslösung ohne Zusatz von  $\text{CO}_2$  und  $\text{NaHCO}_3$

- Kategorie**
- 1: nur  $\text{NaHCO}_3$ -Verwertung
  - 2: Verwertung von  $\text{NaHCO}_3$  **und**  $\text{CO}_2$
  - 3: nur  $\text{CO}_2$ -Verwertung

Tab. 5 bestätigt nochmals, daß die hier untersuchten Mikroalgen zusätzlich angebotenes  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$  in unterschiedlicher Menge für eine höhere Biomasse-Produktion verwerten konnten. Dies ist in Übereinstimmung mit den bisher vorliegenden Literatur-Angaben. ELZENGA et al. (2000) untersuchten bei unterschiedlichen Mikroalgen (z.B. *Phaeocystis globosa*, *Dunaliella tertiolecta*, *Emiliana huxleyi*), welche Form des anorganischen Kohlenstoffes ( $\text{CO}_2$  oder  $\text{HCO}_3^-$ ) von diesen genutzt wird. Sie stellten fest, daß der anorganische Kohlenstoff in unterschiedlicher Form verwendet wurde:

- Nutzung von  $\text{HCO}_3^-$  aus dem Nährmedium; durch extrazelluläre, Carboanhydrase-katalysierte Umwandlung des  $\text{HCO}_3^-$  entsteht  $\text{CO}_2$ , das anschließend durch die Zellmembran diffundieren kann
- direkte  $\text{HCO}_3^-$ -Aufnahme aus dem Nährmedium ohne extrazelluläre Umwandlung in  $\text{CO}_2$
- direkte Aufnahme von freiem  $\text{CO}_2$ .

Die obigen Versuche von ELZENGA (2000) zeigten, daß Mikroalgen einerseits innerhalb einer Art je nach Angebot von anorganischem Kohlenstoff im externen Medium unterschiedliche Strategien zur Kohlenstoff-Aufnahme entwickeln. Andererseits bestehen Unterschiede in der Kohlenstoff-Aufnahme zwischen den einzelnen Arten.

Da nur ein Teil des gelösten anorganischen Kohlenstoffs im natürlichen Meerwasser (pH 8,2) in Form von  $\text{CO}_2$  vorliegt, ist es ein großer Vorteil für Algen, wenn sie  $\text{HCO}_3^-$  ebenso als Kohlenstoffquelle nutzen können wie  $\text{CO}_2$  (CAMITZ and PEDERSEN, 1999). Diese Autoren fanden für marine Makroalgen neben der oben beschriebenen extrazellulären, Carboanhydrase-katalysierten Dehydratation von  $\text{HCO}_3^-$  zu  $\text{CO}_2$  weitere Mechanismen zur Verwertung von  $\text{HCO}_3^-$ :

- $\text{HCO}_3^-$ -Transport ins Zellinnere durch eine ATPase-abhängige Pumpe
- direkte  $\text{HCO}_3^-$ -Aufnahme durch Transport über ein Anionen-Austausch-Protein.

GORDILLO et al. (1999) züchteten die Makroalge *Ulva rigida* unter erhöhter  $\text{CO}_2$ -Konzentration im Medium, wodurch deren Wachstumsrate erhöht wurde. Das höhere Kohlenstoff-Angebot für die zusätzliche Produktion von Biomasse bei hoher  $\text{CO}_2$ -Konzentration im Medium wurde nach ihren Angaben durch die nachfolgenden Punkte erreicht, was ebenfalls eine Erklärung für die in unseren Versuchen erzielten höheren Biomassen bei Zusatz von  $\text{CO}_2$  zur Nährlösung sein könnte:

- Der Prozentsatz an photosynthetischer Energie, der für andere Prozesse als für die Kohlenstoff-Fixierung verwendet wurde, wurde vermindert, wodurch der Anteil der Energie, der in die Kohlenstoff-Anreicherung investiert wurde, erhöht werden konnte

- Der Anteil an organischem Kohlenstoff, der in das externe Medium abgegeben wurde, wurde von 40 % auf 14 % erniedrigt
- Der Anteil an assimiliertem Kohlenstoff, der als Substrat für die Atmung genutzt wurde, wurde reduziert.

Die von uns getesteten Cyanobakterien *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* tolerierten im Gegensatz zu den Chlorophyceen einen wesentlich höheren Gehalt an  $\text{NaHCO}_3$  (2 % bzw. 3 %) und nutzten diesen zur Steigerung ihrer Wachstumsrate. Es zeigte sich jedoch bei diesen Organismen, daß eine direkte Verwertung von  $\text{CO}_2$  nicht möglich war, so daß *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* nur das indirekt gebundene  $\text{CO}_2$  in Form von  $\text{NaHCO}_3$  umsetzen konnten. GORDILLO et al. (1998) untersuchten ebenfalls den Einfluß von zusätzlich im Medium angebotenem  $\text{CO}_2$  (1 %  $\text{CO}_2$  im Vergleich zu 0,035%  $\text{CO}_2$  in der Luft) auf die Photosynthese und damit Biomasse–Ausbeute in Kulturen von *Spirulina platensis*. Eine Erhöhung der  $\text{CO}_2$ –Konzentration ergab auch hier keinerlei Veränderungen in der maximalen Wachstumsrate und erniedrigte sogar die maximale Biomasse–Ausbeute. Dieses Ergebnis sollte nochmals in den nachfolgenden Versuchen mit *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* direkt am BHKW (siehe Kap. 4), wiederum mit verschiedenen pH–Werten, bestätigt werden.

Die hier erarbeiteten Nährlösungen für *Chlorella vulgaris* und *Monoraphidium braunii* zur Erzielung einer optimalen Biomasse–Produktion ähnelten sich in ihrer Zusammensetzung, beide konnten sowohl  $\text{NaHCO}_3$  als auch  $\text{CO}_2$  verwerten und zeigten ihr pH–Optimum bei pH 8.

Aus den Versuchen mit *Chlamydomonas reinhardtii* ging nicht eindeutig hervor, ob diese Mikroalge der Kategorie 2 (Verwertung von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$ ) oder 3 (nur Verwertung von  $\text{CO}_2$ ) zuzuordnen war. Die Biomasse–Ausbeuten beider Ansätze der zweiten Versuchsreihe waren sehr ähnlich, so daß die nachfolgenden Versuche am BHKW in Heikendorf genutzt werden sollten, um evtl. eine eindeutige Zuordnung zu ermöglichen (siehe Kap. 4). Im Gegensatz zu den beiden anderen Chlorophyceen lag das pH–Optimum für *Chlamydomonas reinhardtii* bei pH 7.

Es wurde insgesamt deutlich, daß das dem Medium zugesetzte  $\text{CO}_2$  nur effektiv für eine erhöhte Wachstumsrate genutzt werden konnte, wenn der pH–Wert der Nährlösung jeweils auf das Optimum für das Wachstum der entsprechenden Mikroalgen gesteuert wurde. Aus den pH–Verläufen der verschiedenen Kulturen geht hervor, daß der pH–Wert im Nährmedium bei allen Ansätzen innerhalb der Wachstumsphase anstieg. Mikroalgen sind in der Lage, durch Freisetzung von Ausscheidungsprodukten den pH–Wert der Nährlösung zu verändern.

Weiterhin steigt der pH-Wert aufgrund der Verwertung des im Medium enthaltenen  $\text{KNO}_3$  (0,05 %), wodurch KOH entsteht. FERRIS et al. (1995) erklärten einen Anstieg des pH-Wertes im Grundwasser mit dem Wachstum von Cyanobakterien, bei denen während der Photosynthese ein Austauschprozeß zwischen  $\text{HCO}_3^-$  und  $\text{OH}^-$  stattfindet.

Die Variation des pH-Wertes wurde bei den Grünalgen im Bereich pH 7 bis pH 8 gewählt. Da die Chlorophyceen in der Natur in alkalischem Milieu (pH 8,5 – 9,8) wachsen (DURRANI and KHALIL, 1989), sollte getestet werden, wie sich ein pH-Wert im Bereich 7 bis 8 eignet, um eine möglichst hohe Biomasse-Ausbeute zu erzielen. Die Menge an  $\text{CO}_2$ , die jeweils durch die Mikroalgen verwertet wurde, war unabhängig vom pH-Wert, auf den das Medium gesteuert wurde. Da die Erhöhung des pH-Wertes wie oben erwähnt vom  $\text{KNO}_3$ -Verbrauch und vom bei der Photosynthese ablaufenden  $\text{HCO}_3^-/\text{OH}^-$ -Austausch abhing, wurde jeweils bei der Überschreitung des eingestellten pH-Wertes  $\text{CO}_2$  verbraucht. Dabei war es gleich, ob der zu regulierende pH-Wert im Medium bei 7, 8 oder 9 lag. Wichtig war nur, daß mit dem eingestellten pH-Wert optimale Wachstumsbedingungen für die Mikroalgen erreicht wurden. ANAGA and ABU (1996) untersuchten z.B. die Züchtung von *Chlorella* im Abwasser einer Düngemittelfabrik mit einem pH-Wert von 7,4, bei der sie hohe Ausbeuten an Biomasse erzielten.

Die Steuerung des pH-Wertes in den Nährlösungen der Cyanobakterien wurde in den Versuchen dieses Kapitels in Anlehnung an die Untersuchungen von NAIR et al. (1993) mit anderen Cyanobakterien zunächst im Bereich pH 8–9 getestet. Aus den Ergebnissen von ANAGA and ABU (1996) ging hervor, daß *Spirulina* ein alkalischeres Milieu bevorzugt als *Chlorella*. Hier ergab die Züchtung von *Spirulina* in einer Mischung aus Abwasser und filtriertem Seewasser (50/50) mit pH 8,3 eine gute Biomasse-Ausbeute. Da die Züchtung von *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* im Rahmen dieser Dissertation bei pH 8 im Gegensatz zu den Untersuchungen von ANAGA and ABU (1996) sowie von CHANDGOTHIA and SRIVASTAVA (1994) ein schlechtes Wachstumsverhalten zeigten, wurde der pH-Wert in den dann folgenden Versuchen auf pH 9 erhöht. Auch hierbei konnte keine höhere Biomasse-Ausbeute als in den Vergleichskulturen unter alleinigem Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  erzielt werden. Nur durch alleinige  $\text{NaHCO}_3$ -Zugabe bis zu einem pH-Wert von ca. 9,5–10 im Medium (2 % bzw. 3 %  $\text{NaHCO}_3$ ) wurde eine bessere Ausgangssituation für das Wachstum der beiden Cyanobakterien erreicht.

Die in diesem Kapitel gezeigten pH-Verlaufskurven machen deutlich, daß der Anfangs-pH-Wert der Nährlösungen aller Mikroalgen mit zunehmender Konzentration an  $\text{NaHCO}_3$  im Medium stieg. Dieser Befund wird durch die Untersuchungen von SHIRAIWA et al. (1993)

bstätigt, die einen Anstieg des pH-Wertes von ca. pH 6 bis zu pH 9 oder 10 im NaHCO<sub>3</sub>-haltigen Medium verschiedener Grünalgen innerhalb weniger Minuten feststellten. Sie vermuten, daß der pH-Anstieg die Folge der externen Umwandlung von HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> in CO<sub>2</sub> und OH<sup>-</sup> während der Photosynthese durch Zellen mit hoher CO<sub>2</sub>-Affinität ist.

Wegen ihres hohen Bedarfs an NaHCO<sub>3</sub> im Nährmedium (2-3 %) könnten die obigen Cyanobakterien einen Beitrag zur Reduzierung des CO<sub>2</sub>-Gehaltes z.B. in Abgasen leisten, wobei anhand der Ergebnisse dieses Kapitels deutlich wurde, daß die Verwertung des CO<sub>2</sub> nur auf indirektem Wege als NaHCO<sub>3</sub> sinnvoll war.

Der geringere indirekte Verbrauch an CO<sub>2</sub> in Form von NaHCO<sub>3</sub> durch die Chlorophyceen *Chlorella vulgaris* und *Monoraphidium braunii* wurde dagegen teilweise durch die bei diesen Mikroalgen zusätzliche direkte CO<sub>2</sub>-Verwertung kompensiert. HANAGATA et al. (1992) untersuchten 5 Grünalgen hinsichtlich ihrer Toleranz gegenüber einer hohen CO<sub>2</sub>-Konzentration im Medium. Sie fanden heraus, daß v.a. *Scenedesmus* sp. und *Chlorella* sp. höhere Wachstumsraten bei CO<sub>2</sub>-Konzentrationen im Bereich zwischen 10 – 30 % zeigten, was durch unsere Ergebnisse für *Chlorella vulgaris* bestätigt werden konnte. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre eine erhöhte CO<sub>2</sub>-Umsetzungsrate bei der Photosynthese, die PALMQVIST et al. (1990) für *Dunaliella salina*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* und *Chlamydomonas reinhardtii* WT bei 5 % CO<sub>2</sub> im Nährmedium (50–60 µM CO<sub>2</sub>) im Vergleich zu 0,03 % CO<sub>2</sub> im Medium (2–5 µM CO<sub>2</sub>) feststellten.

*Chlamydomonas reinhardtii*, *Monoraphidium braunii* und *Spirulina maxima* erreichten in den 8 l-Kulturen im Labor unter optimalen Bedingungen am 45. Wachstumstag ähnliche Biomasse-Mengen (ca. 600–800 mg/l), während die Ausbeute bei *Spirulina platensis* mit ca. 350 mg/l deutlich darunter lag. *Chlorella vulgaris* erzielte mit 2150 mg/l Nährlösung die höchste Ausbeute, wodurch im Vergleich mit den anderen Mikroalgen auch die Ausbeute an pharmazeutisch-medizinisch nutzbaren Inhaltsstoffen insgesamt am stärksten erhöht wurde. Der direkte Einfluß des Zusatzes von anorganischem Kohlenstoff auf die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Inhaltsstoffe sollte durch spätere Untersuchungen geklärt werden (Kap. 5).

Es ist allerdings nur schwer möglich, die absoluten Werte der Biomassen der verschiedenen Ansätze, wie oben beschrieben, direkt miteinander zu vergleichen. Selbst zwischen den einzelnen Ansatzreihen derselben Mikroalge treten bei Züchtung in der gleichen Nährlösung unterschiedliche absolute Werte auf:

z.B. *Chlorella vulgaris* in Nährlösung DSN 10 % Seewasser als Vergleichskultur

→ Kap. 3.2.1.2 201 mg/l

→ Kap.3.2.1.3 437 mg/l.

Das bedeutet, daß ein Vergleich der absoluten Werte der verschiedenen Ansatzreihen nicht möglich war, während innerhalb jeder einzelnen Versuchsreihe der Einfluß der variablen Faktoren ( $\text{NaHCO}_3$  und/oder  $\text{CO}_2$ ) klar deutlich wurde. Hier war ein Vergleich der absoluten Werte der Biomasse–Ausbeuten aussagekräftig; denn es herrschte für jeden Ansatz einer Versuchsreihe dieselbe Ausgangssituation und somit jeweils die gleichen Bedingungen während der Züchtungsphase (Licht, Belüftung, Beimpfung mit Stammkulturen, Raumtemperatur). Diese können bei den verschiedenen Ansatzreihen leicht variieren und offenbar deswegen zu den beobachteten unterschiedlichen absoluten Werten zwischen den einzelnen Versuchsreihen mit einer Alge führen.

Im Gegensatz dazu war ein Vergleich der prozentualen Steigerung der Biomasse–Ausbeuten im Verhältnis zur Vergleichslösung ohne Zusatz von  $\text{CO}_2$  bzw.  $\text{NaHCO}_3$  auch zwischen den verschiedenen Versuchsreihen durchaus möglich. Tab. 5 macht deutlich, daß *Chlorella vulgaris* mit einer Steigerung der Biomasse–Ausbeute um 392 % den Zusatz von  $\text{CO}_2$  und  $\text{NaHCO}_3$  am besten verwerten konnte. Für *Monoraphidium braunii* lag die Steigerungsrate bei 91 %, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* erzielten durch zusätzlichen anorganischen Kohlenstoff im Medium eine Erhöhung der Biomasse–Ausbeute um ca. 50–60 %.

## 4 Züchtung der ausgewählten Mikroalgen am Blockheizkraftwerk

### 4.1 Einführung

Die jeweils letzte Ansatzreihe der Laborversuche aus Kap. 3 für *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Monoraphidium braunii*, *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis*, aus der die geeignete Nährlösungs-Zusammensetzung für optimale Biomasse-Produktion jeder Mikroalge abgeleitet werden konnte, sollte nun direkt am Blockheizkraftwerk gezüchtet werden. Die Mikroalgen wurden in den unter 4.1.2 aufgeführten Medien gezüchtet, wobei den Kulturen das Kohlendioxid durch Belüftung mit dem Abgas des Kraftwerkes zugeführt wurde (CO<sub>2</sub>-Gehalt des Abgases ca. 6,6 Vol %). Durch die Versuche aus Kap. 3 war festgestellt worden, daß die von uns ausgesuchten Mikroalgen generell geeignet waren, zusätzlich angebotenen anorganischen Kohlenstoff in Form von CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> zur Erhöhung ihrer Wachstumsrate zu verwerten. Durch die Untersuchungen am BHKW sollten zunächst die nachfolgenden Punkte geklärt werden:

- Können die Mikroalgen das Abgas-CO<sub>2</sub> trotz der im Abgas enthaltenen Schadstoffe und anderen Verbindungen ebenso für eine höhere Wachstumsrate verwerten wie das im Labor verwendete synthetische CO<sub>2</sub>
- Können die in Kap. 3 erzielten Ergebnisse hinsichtlich der optimalen Zusammensetzung der Nährlösung (pH-Wert, NaHCO<sub>3</sub>-Konzentration) am BHKW bestätigt werden.

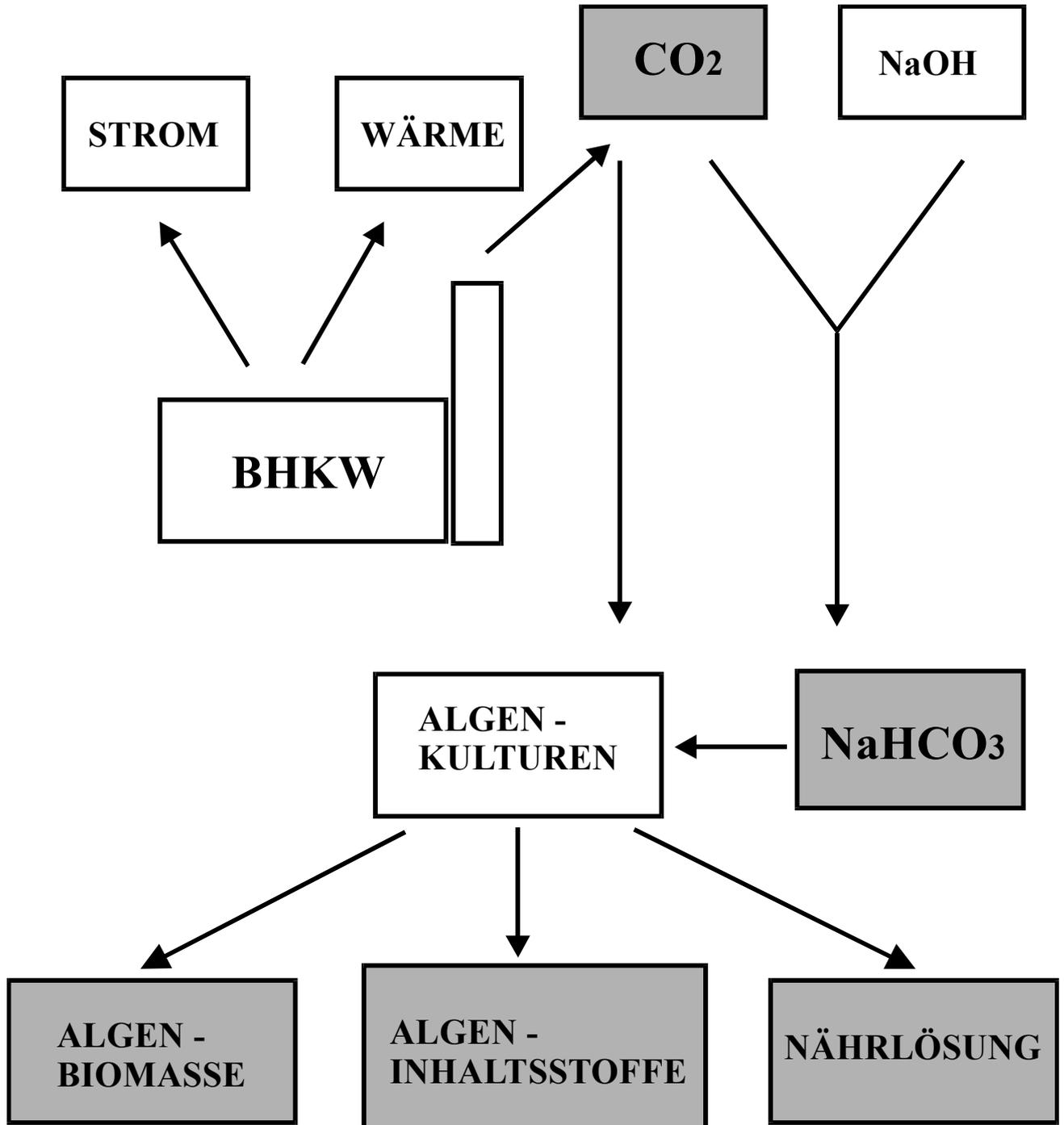
Mikroalgen, die aufgrund ihrer Inhaltsstoffe (Fettsäuren, Carotinoide, Proteine, Vitamine, Phycobiliproteine etc.) von pharmazeutisch-medizinischem Interesse sind, könnten durch Nutzung von Abgas-CO<sub>2</sub> für eine Erhöhung der Wachstumsrate einerseits eine höhere Ausbeute an Inhaltsstoffen erzielen und andererseits einen Beitrag zur Reduzierung des CO<sub>2</sub>-Ausstoßes in die Umwelt leisten. CO<sub>2</sub> ist ein Endprodukt von Verbrennungsvorgängen und wird daher in großer Konzentration von unterschiedlichen Energieerzeugern, Verkehr und vielen Industriezweigen in die Atmosphäre abgegeben. Deutschland emittiert jährlich ca. 900 Mio. t CO<sub>2</sub>. Da ein Anstieg der CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Atmosphäre höchstwahrscheinlich maßgeblich am Treibhauseffekt und der daraus resultierenden Klimaerwärmung beteiligt ist, strebt Deutschland auf der Basis von 1000 Mio. t CO<sub>2</sub>-Ausstoß im Jahr 1990 bis zum Jahr 2005 eine 25 %ige Reduzierung der CO<sub>2</sub>-Emission an (KIELER NACHRICHTEN, 3.11.1998; LINSCHIEDT und TRUGER, 1998; CRUTZEN, 1999). Eine effektive

Möglichkeit, Energie zu sparen und damit die Umwelt von Emissionen zu entlasten, stellt die Kraft-Wärme-Kopplung in Blockheizkraftwerken dar. Die bei der Stromerzeugung anfallende Abwärme verpufft hier nicht nutzlos, sondern wird genutzt. Dadurch kann zur Wärmeerzeugung ansonsten notwendige Primärenergie eingespart werden. Der Einsatz von Blockheizkraftwerken könnte einen nicht unerheblichen Beitrag zur von der Bundesregierung angestrebten 25 % igen Reduzierung der nationalen CO<sub>2</sub>-Emission leisten (ENERGIE SPEKTRUM 6/97). So stellt ein BHKW hinsichtlich des CO<sub>2</sub>-Ausstoßes von vornherein einen relativ umweltfreundlichen Strom- und Wärmelieferanten dar. Der CO<sub>2</sub>-Gehalt des Abgases des BHKW Heikendorf lag bei ca. 6,6 Vol % und reichte für unsere Versuche im 8-Liter-Maßstab größtenteils aus, um die Photosyntheserate der geeigneten Mikroalgen zu erhöhen. Versuche im größeren Maßstab könnten beispielsweise mit Abgasen anderer Kraftwerke, die u. U. einen höheren Gehalt an CO<sub>2</sub> aufweisen, durchgeführt werden. Da das Ziel dieser Dissertation u.a. zunächst darin bestand, pharmazeutisch-medizinisch interessante Mikroalgen herauszufinden, die zusätzlich im Medium angebotenen anorganischen Kohlenstoff in Form von Abgas-CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> verwerten konnten, beschränkten sich unsere Versuche auf die Durchführung am BHKW Heikendorf.

Der Versuchsaufbau am Blockheizkraftwerk Heikendorf ermöglichte nach der direkten Durchleitung der Abgase durch die Algenkulturen zur Verwertung des darin gelösten CO<sub>2</sub> deren Weiterleitung in 28 Liter NaOH (12%). So konnte neben der direkten Bereitstellung von anorganischem Kohlenstoff in Form von CO<sub>2</sub> zusätzlich NaHCO<sub>3</sub> gewonnen werden, das in weiteren Versuchen den Nährmedien der Mikroalgen in entsprechender Konzentration zugesetzt wurde (Kap.2).

Abb. 49

Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus am BHKW Heikendorf



## 4.2 Ergebnisse

Das in den unten aufgeführten Nährmedien enthaltene  $\text{NaHCO}_3$  wurde zuvor am BHKW gewonnen und den Nährlösungen in den erforderlichen Konzentrationen zugesetzt. Vom Schornstein des Blockheizkraftwerkes wurde eine Abzweigung direkt in die Versuchshütte gelegt ( siehe Abb.3 und 4; Kap.B; 2.2.3.3). Durch eine Saug-Druck-Kompressorpumpe wurde das Abgas zunächst durch einen Kondenswasserabscheider und dann über Belüftungskerzen in die Versuchsansätze geleitet. Die Abgaszufuhr wurde über den pH-Wert der Nährlösungen reguliert. Das Abgas wurde jeweils bis zum Erreichen des entsprechenden Soll-pH-Wertes zugesetzt und anschließend in ein Gefäß mit 28 Liter NaOH (12 %) geleitet. Der Wachstumsverlauf wurde kontinuierlich mit Hilfe photometrischer Messungen der Algensuspensionsdichte bei 440 nm verfolgt. Parallel dazu wurde die gefriergetrocknete Biomasse aus einem Kulturvolumen von 100 ml bestimmt. Der jeweils herrschende pH-Wert in der Nährlösung wurde ebenfalls kontinuierlich gemessen.

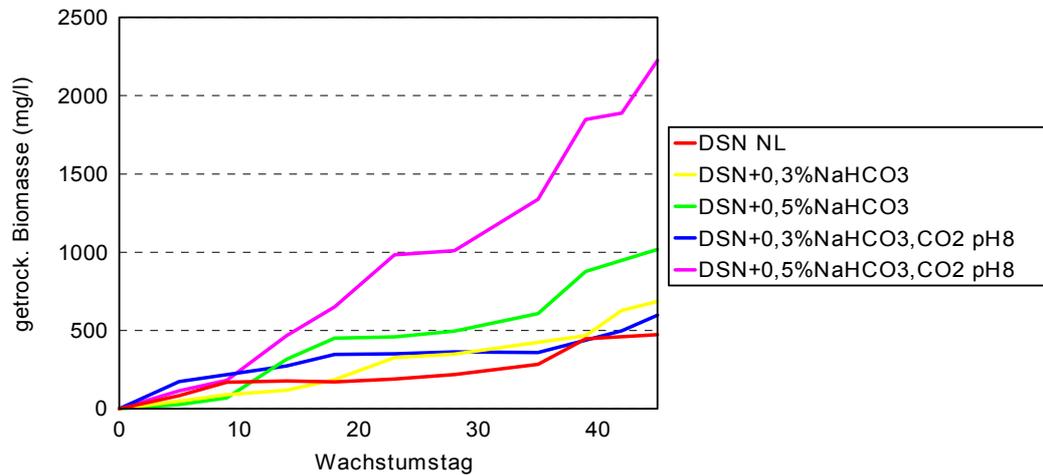
### 4.2.1 *Chlorella vulgaris*

*Chlorella vulgaris* wurde am Blockheizkraftwerk aufgrund der Ergebnisse aus Kap. 3.2.1.3 in folgenden Nährmedien gezüchtet:

- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas –  $\text{CO}_2$  pH 8
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas –  $\text{CO}_2$  pH 8

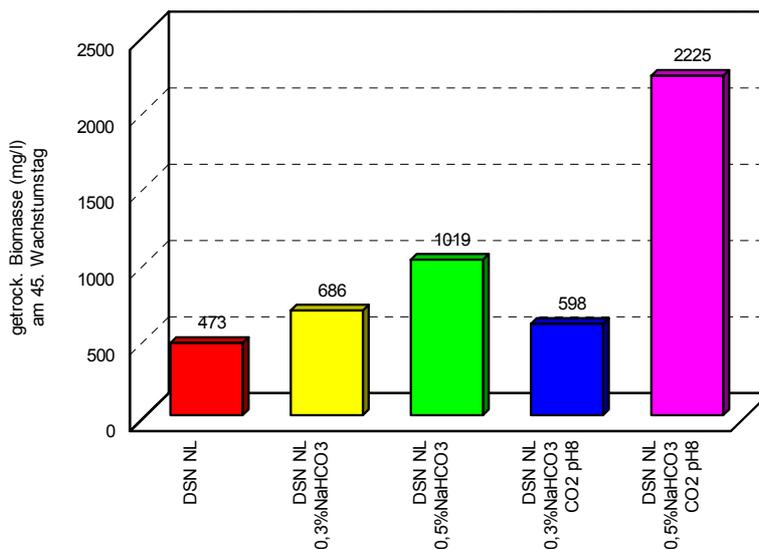
**Abb. 50**

Wachstumskurven von *Chlorella vulgaris* gezüchtet am BHKW unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr



**Abb. 51**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Chlorella vulgaris* gezüchtet am BHKW unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 52**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Chlorella vulgaris* gezüchtet am BHKW unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr

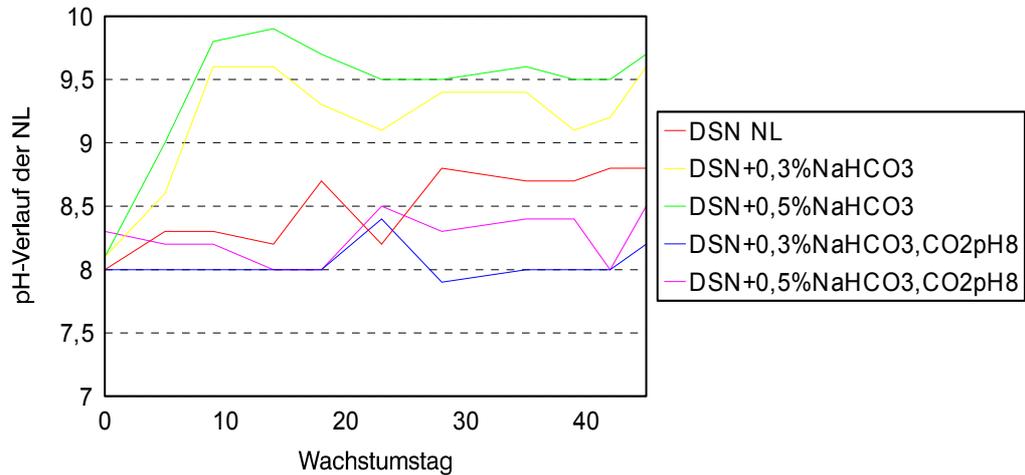


Abb. 50 und 51 verdeutlichen, daß Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 8) auch in dieser Versuchsreihe am BHKW die optimale Zusammensetzung des Mediums für die Züchtung von *Chlorella vulgaris* darstellte. Die Biomasse-Ausbeute am 45. Wachstumstag lag bei dieser Kultur mit 2225 mg/l im Vergleich zu allen anderen Ansätzen deutlich höher. Abb. 51 zeigt, daß die erhöhte Wachstumsrate auch in großem Maße vom Zusatz der optimalen  $\text{NaHCO}_3$ -Konzentration abhing. Die Kultur in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 8) erreichte am 45. Wachstumstag nur eine Biomasse-Menge von 598 mg/l, d.h. auch bei Steuerung des pH-Wertes durch Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr auf denselben pH-Wert in beiden Ansätzen unterschieden sich die Biomasse-Ausbeuten allein aufgrund der unterschiedlichen  $\text{NaHCO}_3$ -Konzentration gravierend. Auch die Kultivierung von *Chlorella vulgaris* in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ ) ergab aufgrund der hier fehlenden Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr mit 1019 mg/l am 45. Wachstumstag weniger Biomasse als in der optimalen Nährlösung. Die Züchtung von *Chlorella vulgaris* in den Nährmedien DSN (10 % Seewasser) und DSN (10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ ) ergab ähnliche Ausbeuten (ca. 500–600 mg/l) sowie Wachstumsverläufe wie in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 8) (Abb. 50 und 51).

Die pH-Verlaufskurven der nicht über Abgas  $\text{CO}_2$ -Zufuhr gesteuerten Kulturen zeigten wie die Ansätze in Kap. 3 einen Anstieg der pH-Werte im Laufe der Wachstumszeit. Der

Anfangs-pH-Wert der Vergleichskultur lag mit pH 8 nur wenig unter dem der Medien mit  $\text{NaHCO}_3$ -Zusatz (etwa pH 8,2). Ihr End-pH-Wert von 8,8 am 45. Wachstumstag unterschied sich dagegen deutlich von dem der bicarbonathaltigen Nährlösungen mit einem End-pH-Wert von ca. 9,5.

Der Anfangs-pH-Wert der gesteuerten Kulturen lag ebenfalls bei ca. pH 8. Anhand der pH-Verlaufskurve wird deutlich, daß der pH-Wert der Nährlösung DSN (0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 8) während der gesamten Wachstumszeit um ca. pH 8,3 pendelte. Es mußte also ständig Abgas- $\text{CO}_2$  zugeführt werden, um den pH-Wert auf den eingestellten Sollwert zu erniedrigen. Bei einem Gehalt von 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$  im Medium reichte der  $\text{CO}_2$ -Gehalt des Abgases dagegen aus, um den pH-Wert der Nährlösung durch Abgas-Zufuhr auf exakt pH 8 einzustellen.

#### 4.2.2 *Chlamydomonas reinhardtii*

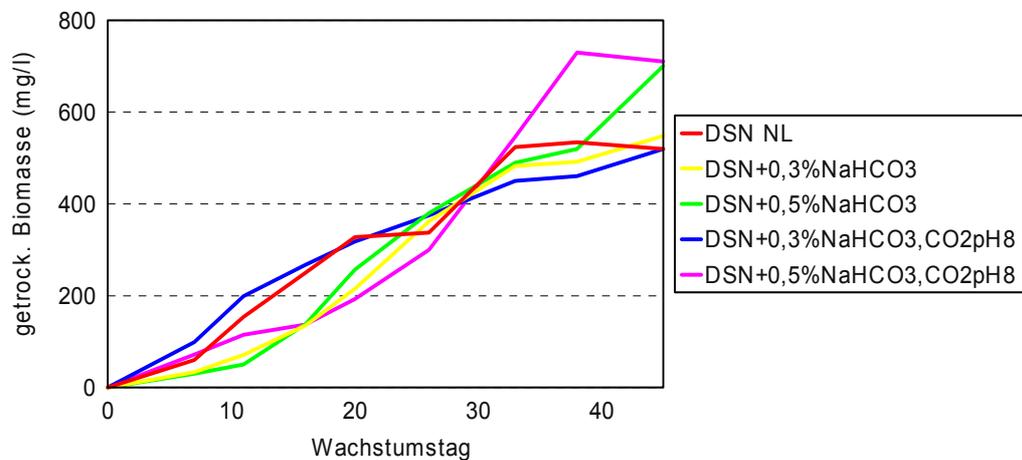
##### ERSTE VERSUCHSREIHE:

*Chlamydomonas reinhardtii* wurde am Blockheizkraftwerk aufgrund der Ergebnisse der ersten Versuchsreihe aus Kap. 3.2.2.3 in folgenden Nährmedien gezüchtet:

- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas- $\text{CO}_2$  pH 8
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas- $\text{CO}_2$  pH 8

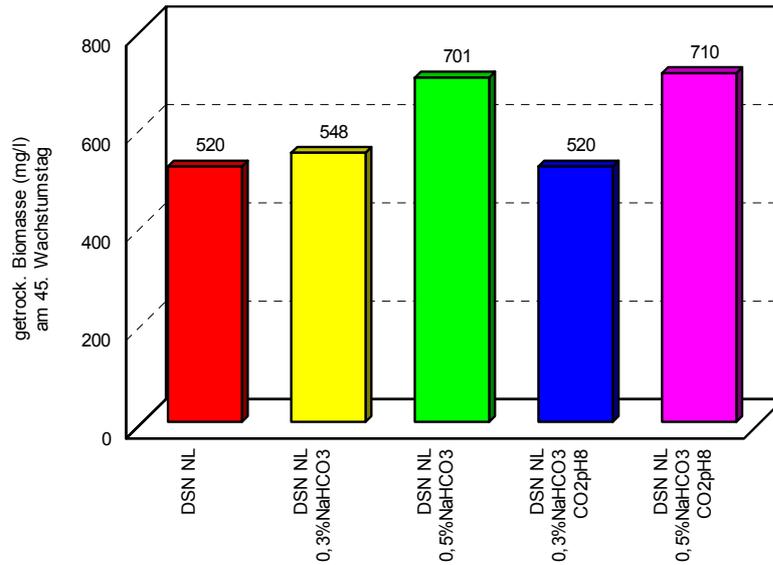
##### **Abb. 53**

Wachstumskurven von *Chlamydomonas reinhardtii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr



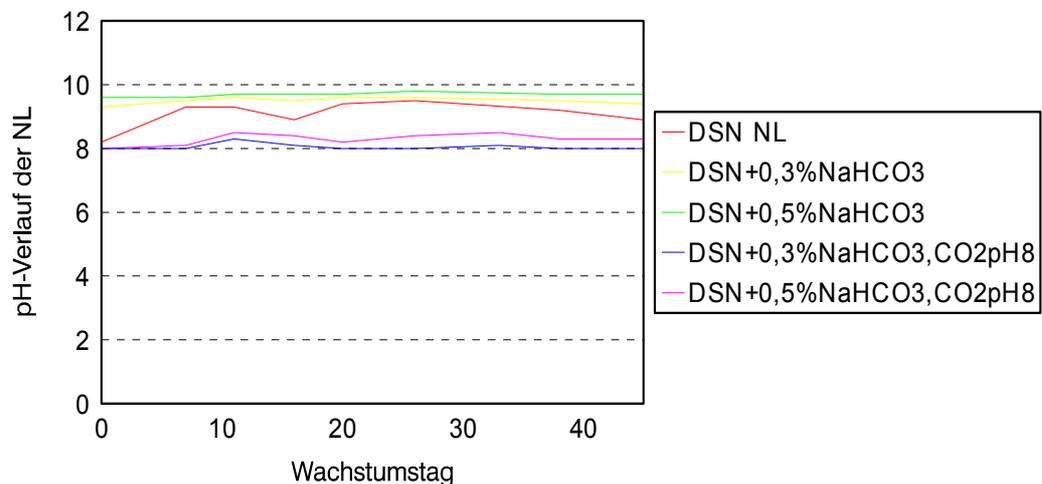
**Abb. 54**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Chlamydomonas reinhardtii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 55**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Chlamydomonas reinhardtii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr



Durch Abb. 53 und 54 wird deutlich, daß die größte Biomasse-Ausbeute am 45. Wachstumstag bei Kultivierung von *Chlamydomonas reinhardtii* in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) bzw. in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>) erzielt wurde (ca. 700 mg/l). Das zusätzliche Angebot von anorganischem Kohlenstoff in Form von Abgas-CO<sub>2</sub> wirkte sich bei der Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* bis zum 45. Wachstumstag nicht steigernd auf die Wachstumsrate aus, die Ausbeute an Biomasse lag bei zusätzlicher Einleitung von Abgas-CO<sub>2</sub> in die bicarbonathaltige Nährlösung nur geringfügig höher. Abb. 53 zeigt, daß das Wachstumsverhalten aller 5 Ansätze bis zum ca. 30. Wachstumstag sehr ähnlich verlief. Erst dann setzten sich Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) sowie Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>) durch eine erhöhte Wachstumsrate (ca. 700 mg Biomasse pro Liter Nährlösung am 45. Wachstumstag) von den anderen Medien (ca. 500 mg/l), ab. Durch die Versuchsreihe am BHKW bestätigte sich die Vermutung aus Kap. 3.2.2.3, daß *Chlamydomonas reinhardtii* das im Kulturmedium angebotene Abgas-CO<sub>2</sub> bzw. NaHCO<sub>3</sub> erst für eine erhöhte Wachstumsrate verwerten konnte, wenn mehr Biomasse im Ansatz vorhanden war. So sollte auch am BHKW eine zweite Versuchsreihe mit verzögerter Zugabe des anorganischen Kohlenstoffes durchgeführt werden. Der Anfangs-pH-Wert der Vergleichslösung lag im Gegensatz zu den bicarbonathaltigen Lösungen (ca. pH 9–9,5) bei ca. pH 8. Der pH-Wert der Nährlösungen DSN (10 % Seewasser, 0,3 % bzw. 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>) blieb während der gesamten Wachstumszeit relativ konstant, wobei der End-pH-Wert der Nährlösung DSN bei ca pH 9 lag. Der pH-Wert der gesteuerten Kulturen pendelte bei 0,5 % NaHCO<sub>3</sub> um ca. pH 8,2; bei 0,3 % NaHCO<sub>3</sub> um exakt pH 8. So mußte wie bei *Chlorella vulgaris* bei höherer Konzentration an NaHCO<sub>3</sub> im Medium ständig Abgas-CO<sub>2</sub> eingeleitet werden, um den pH-Wert möglichst auf pH 8 einzustellen.

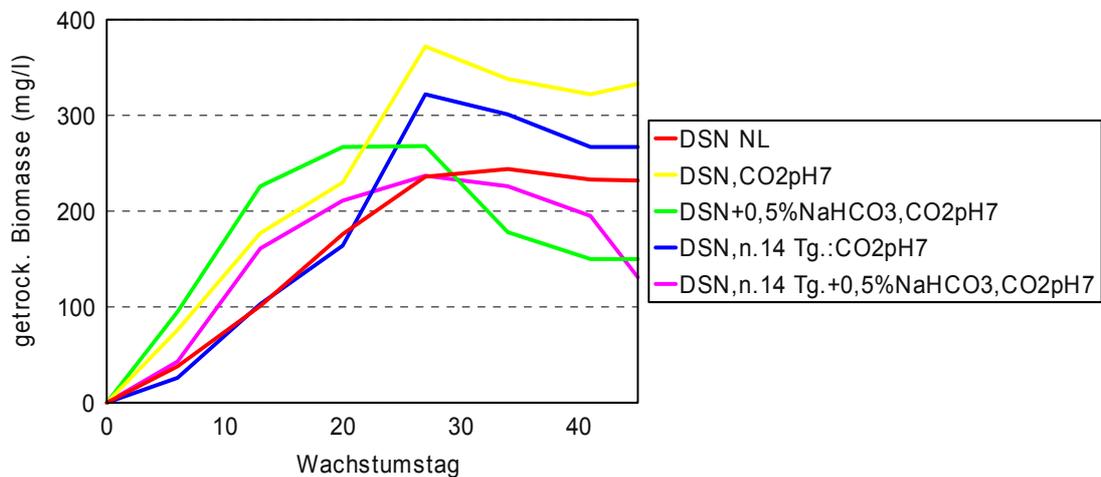
## ZWEITE VERSUCHSREIHE

Die Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* innerhalb der zweiten Versuchsreihe am BHKW erfolgte in Anlehnung an die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe aus Kap. 3.2.2.3 in folgenden Medien:

- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, Abgas - CO<sub>2</sub> pH 7
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> pH 7
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, nach 14 Tagen Abgas-CO<sub>2</sub>-Steuerung auf pH 7
- DSN Nährlösung 10 % Seewasser, nach 14 Tagen Zugabe von 0,5 % NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub>-Steuerung auf pH 7

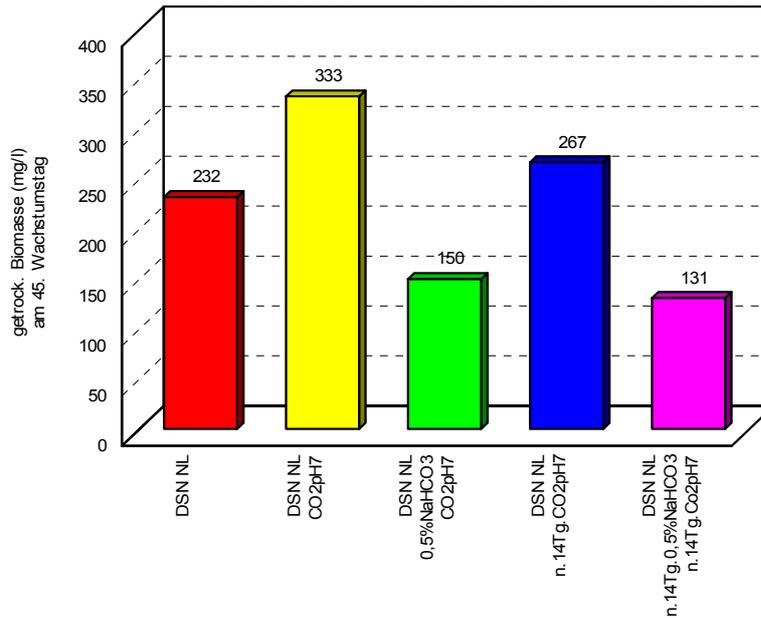
### **Abb. 56**

Wachstumskurven von *Chlamydomonas reinhardtii* gezüchtet am BHKW mit und ohne Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr



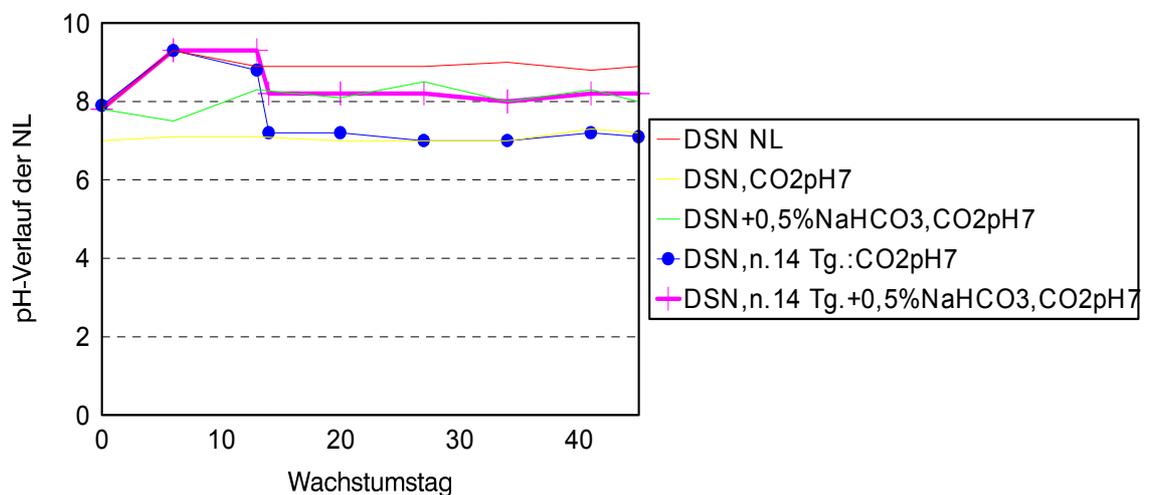
**Abb. 57**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Chlamydomonas reinhardtii* gezüchtet am BHKW mit und ohne Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 58**

pH-Verlaufskurven der Nährlösungen von *Chlamydomonas reinhardtii* gezüchtet am BHKW mit und ohne Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr



Die größte Ausbeute an Biomasse wurde bei Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* in Nährlösung DSN (10 % Seewasser, Abgas-CO<sub>2</sub>-Steuerung auf pH 7) erzielt (ca.300 mg/l). Abb. 56 macht deutlich, daß das Wachstum der Mikroalge in Nährlösung DSN (10 % Seewasser) bei Steuerung des pH-Wertes durch Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr auf pH 7 beginnend nach 14 Wachstumstagen ähnlich verlief, die Ausbeute lag hier mit ca. 250 mg/l nur wenig niedriger. Man kann ableiten, daß bei alleiniger Zufuhr von Abgas-CO<sub>2</sub> zum Nährmedium die verzögerte Einleitung nach 14 Tagen keinerlei positiven Einfluß auf die Erhöhung der Wachstumsrate hatte. Wie aus den pH-Verlaufskurven ersichtlich, ließen sich die bicarbonatfreien Nährlösungen durch den CO<sub>2</sub>-Gehalt im Abgas problemlos auf den Soll-pH-Wert von 7 steuern. Die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe aus Kap. 3.2.2.3 konnten hinsichtlich des kombinierten Zusatzes von NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub> jedoch weder bei sofortiger noch bei verzögerter Zugabe nach 14 Tagen bestätigt werden. Die Ausbeuten lagen am 45. Wachstumstag in beiden Medien mit ca. 150 mg/l unter der Vergleichslösung mit 230 mg/l. Die pH-Verlaufskurven für diese Ansätze machen deutlich, daß der CO<sub>2</sub>-Gehalt im Abgas des BHKW zu niedrig war, um bei einem 0,5 %igen Gehalt an NaHCO<sub>3</sub> im Medium den pH-Wert auf 7 zu regulieren. Der pH-Wert der Nährlösungen konnte lt. Abb. 58 nur auf ca. pH 8 erniedrigt werden. Da das pH-Optimum für die Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* bei pH 7 lag (Kap.3.2.2.3, zweite Versuchsreihe), konnten die Biomasse-Ausbeuten am BHKW bei dieser Zusammensetzung der Nährlösung nicht erhöht werden.

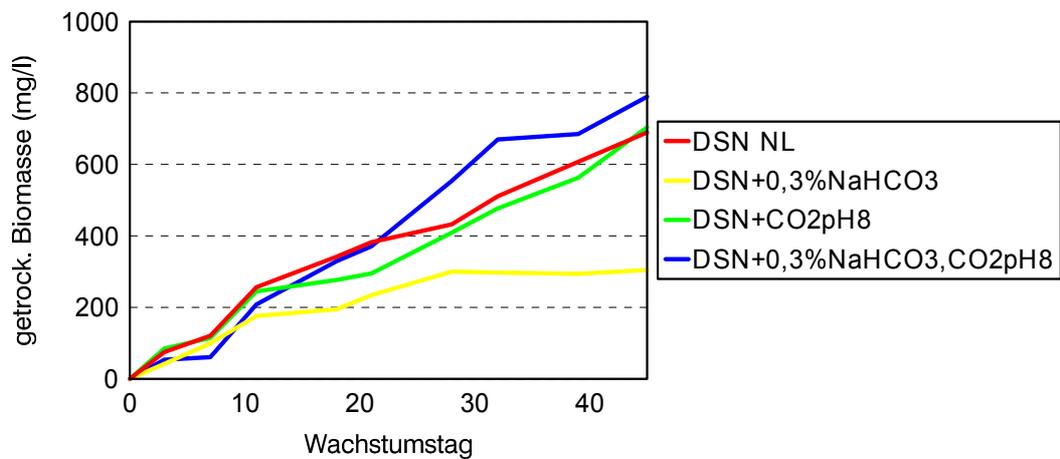
### 4.2.3 *Monoraphidium braunii*

*Monoraphidium braunii* wurde am Blockheizkraftwerk aufgrund der Ergebnisse aus Kap. 3.2.3.3 in folgenden Nährmedien gezüchtet:

- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser, Abgas- $\text{CO}_2$  pH 8
- Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas- $\text{CO}_2$  pH 8

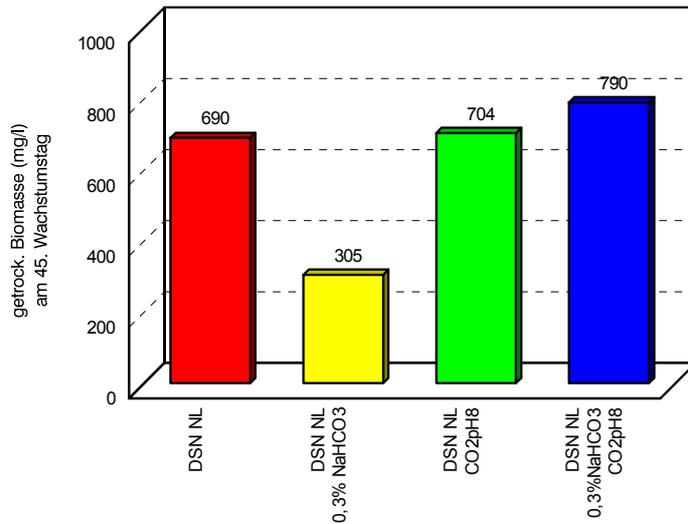
#### Abb. 59

Wachstumskurven von *Monoraphidium braunii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr



**Abb. 60**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Monoraphidium braunii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 61**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Monoraphidium braunii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr

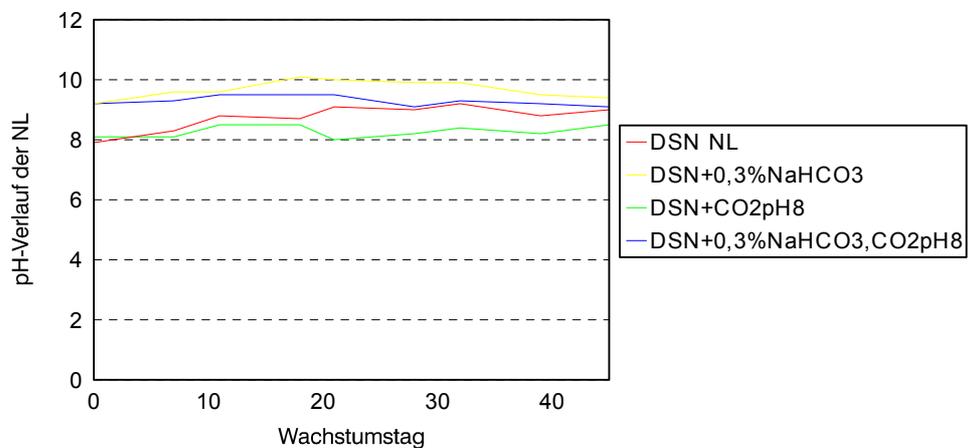


Abb. 59 und 60 bestätigen das Ergebnis der Versuchsreihe aus Kap. 3.2.3.3. Die Biomasse-Ausbeute bei Züchtung von *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN (10 % Seewasser, 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>) lag mit ca. 300 mg/l deutlich unter der der anderen Ansätze. Der Wachstumsverlauf sowie die Biomasse-Ausbeute am 45. Wachstumstag in Nährlösung DSN (10 % Seewasser) und Nährlösung DSN (10 % Seewasser, Abgas-CO<sub>2</sub>-Steuerung auf pH 8) entsprachen etwa einander (ca. 700 mg/l). Ab dem ca. 20. Wachstumstag setzte sich *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Steuerung auf pH 8) durch eine erhöhte Wachstumsrate ab und erreichte am 45. Wachstumstag mit ca. 800 mg/l die größte Ausbeute.

Abb. 61 verdeutlicht den pH-Verlauf der einzelnen Ansätze. Der Anfangs-pH-Wert der bicarbonathaltigen Medien lag mit ca. pH 9 über dem der Nährlösungen ohne Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> (ca. pH 8). Der pH-Wert in Nährlösung DSN stieg bis zum 45. Wachstumstag auf ca. pH 9; Nährlösung DSN (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>) erreichte bis zum ca. 30. Wachstumstag pH 10, der dann bis zum 45. Wachstumstag wieder auf ca. pH 9,5 sank. Der pH-Wert des Kulturmediums DSN (10 % Seewasser), der durch Belüftung mit Abgas-CO<sub>2</sub> auf pH 8 gesteuert wurde, pendelte während der gesamten Wachstumszeit um dieses pH-Optimum.

Obwohl der CO<sub>2</sub>-Gehalt des Abgases nicht ausreichte, um die bicarbonathaltige Nährlösung auf pH 8 zu regulieren (ca. pH 9), zeigte der Ansatz wie oben beschrieben trotzdem das beste Wachstumsverhalten.

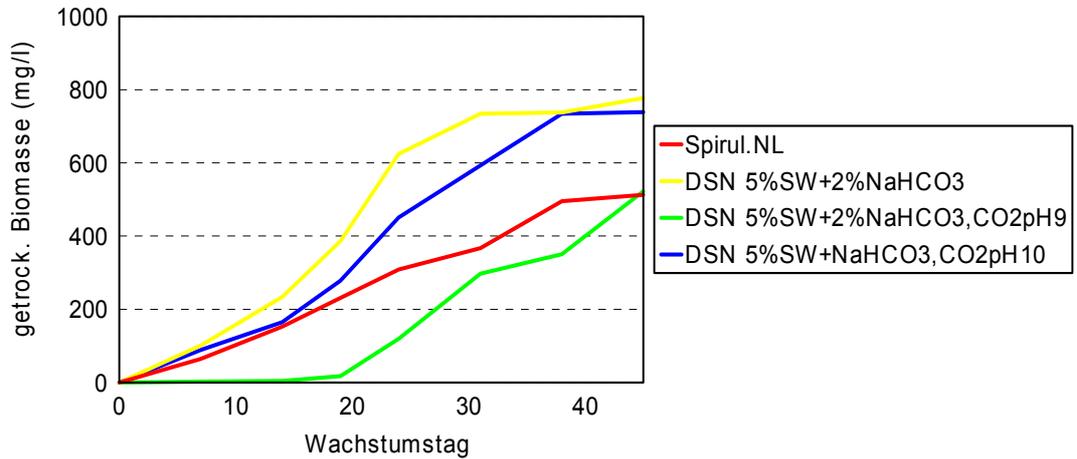
#### 4.2.4 *Spirulina maxima*

*Spirulina maxima* wurde am Blockheizkraftwerk aufgrund der Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe aus Kap. 3.2.4.3 in folgenden Nährmedien gezüchtet:

- Spirulina-Nährlösung, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> pH 9
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> pH 10

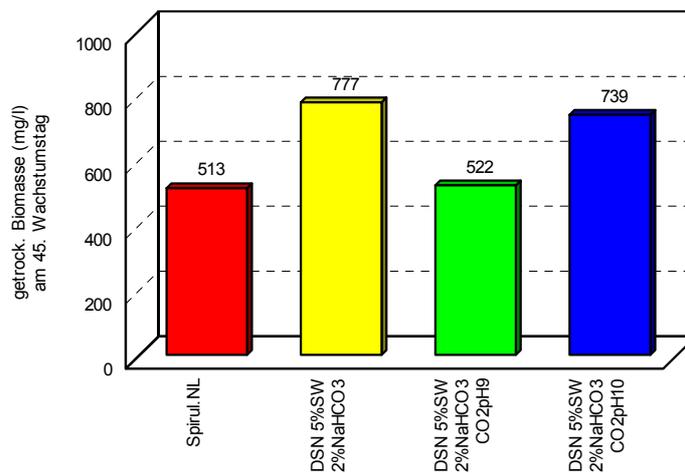
**Abb. 62**

Wachstumskurven von *Spirulina maxima* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr



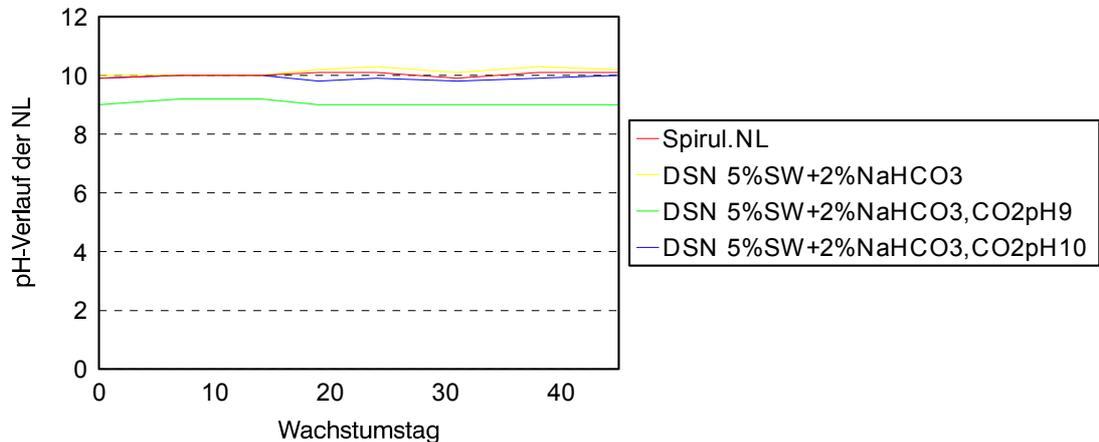
**Abb. 63**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Spirulina maxima* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 64**

pH–Verläufe der Nährlösungen von *Spirulina maxima* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH–Steuerung über Abgas– $\text{CO}_2$ –Zufuhr



Die höchste Biomasse–Ausbeute wurde bei Kultivierung von *Spirulina maxima* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 2 %  $\text{NaHCO}_3$ ) erzielt (777 mg/l). Es wurde durch diese Versuchsreihe erneut bestätigt, daß *Spirulina maxima* anorganischen Kohlenstoff in Form von  $\text{CO}_2$  nicht zusätzlich für eine Erhöhung der Wachstumsrate verwerten konnte. Die Ausbeute in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 2 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas– $\text{CO}_2$ –Zufuhr bis pH 10) lag mit 739 mg/l unter der des optimalen Mediums. Das ähnliche Wachstumsverhalten des Cyanobakteriums in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 2 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas– $\text{CO}_2$ –Zufuhr bis pH 9) sowie in *Spirulina*–Nährlösung bestätigte die Ergebnisse aus Kap. 3.2.4.3. Die Biomasse–Ausbeute beider Kulturen lag mit jeweils ca. 500 mg/l unter dem Ergebnis der anderen Ansätze.

Der pH–Wert der gesteuerten Kulturen konnte durch Abgas– $\text{CO}_2$ –Zufuhr auf den eingestellten pH–Wert reguliert werden (pH 9 bzw. pH 10), der pH–Wert der nicht gesteuerten Ansätze lag während der gesamten Wachstumszeit jeweils im Bereich um pH 10.

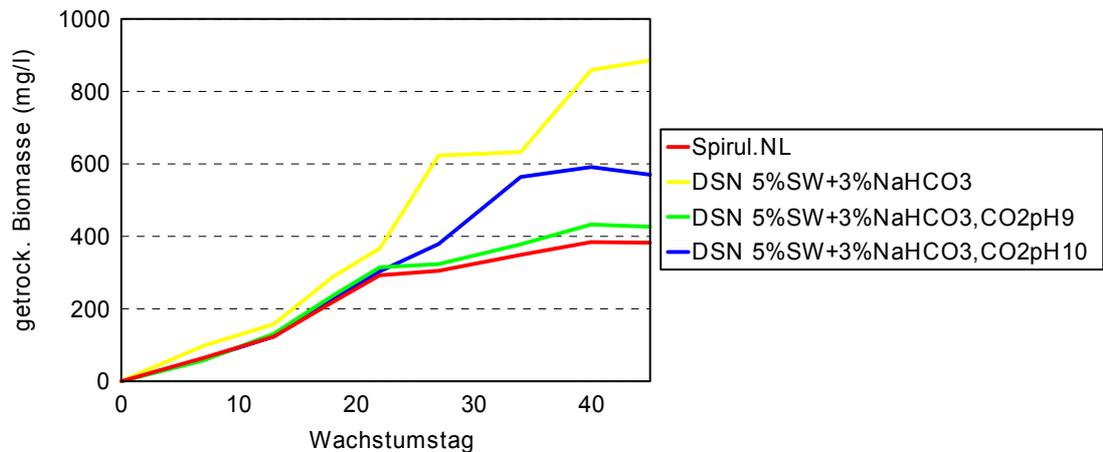
#### 4.2.5 *Spirulina platensis*

*Spirulina platensis* wurde am Blockheizkraftwerk aufgrund der Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe aus Kap. 3.2.4.3 in folgenden Nährmedien gezüchtet:

- Spirulina-Nährlösung, als Vergleichskultur
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> pH 9
- Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> pH 10

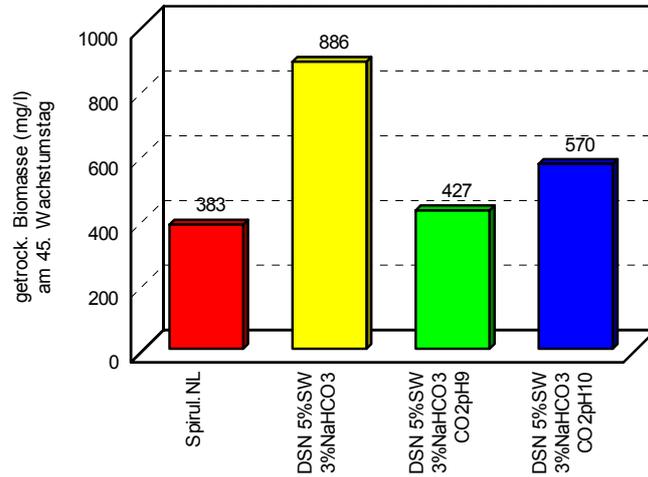
**Abb. 65**

Wachstumskurven von *Spirulina platensis* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr



**Abb. 66**

Biomasseausbeuten der Kulturen von *Spirulina platensis* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr am 45. Wachstumstag



**Abb. 67**

pH-Verläufe der Nährlösungen von *Spirulina platensis* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und mit pH-Steuerung über Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr

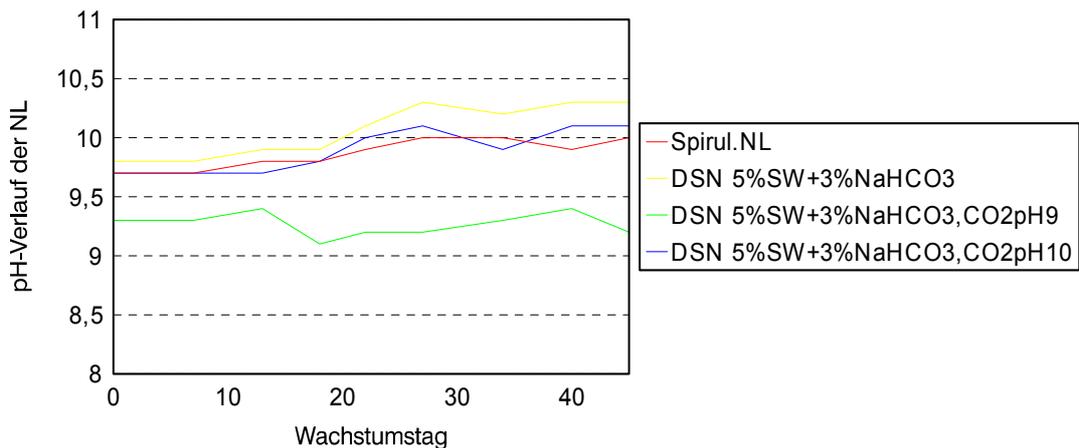


Abb. 66 macht deutlich, daß auch innerhalb dieses Versuches Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 %  $\text{NaHCO}_3$ ) das optimale Medium für die Züchtung von *Spirulina platensis* darstellte (886 mg Biomasse pro Liter Nährlösung am 45. Wachstumstag). Der Wachstumsverlauf sowie die Biomasse-Ausbeute der Kulturen in Spirulina-Nährlösung und

Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 9) entsprachen etwa einander (ca. 400 mg/l). *Spirulina platensis* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 10) erreichte eine Ausbeute von 570 mg Biomasse pro Liter Nährmedium. Es stellte sich heraus, daß durch zusätzliche Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr keine Erhöhung der Wachstumsrate von *Spirulina platensis* erzielt werden konnte.

Der pH-Verlauf der verschiedenen Ansätze geht aus Abb. 67 hervor. *Spirulina*-Nährlösung zeigte einen Anfangs-pH-Wert von ca. pH 9,7 und erreichte nach 45 Wachstumstagen ca. pH 10.

Der Anfangs-pH-Wert in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 10) lag bei ca. pH 9,7 und stieg bis zum ca. 20. Wachstumstag nicht über den eingestellten Sollwert von pH 10. Erst ab diesem Zeitpunkt konnte dem Medium zusätzlich Abgas-CO<sub>2</sub> zugeführt werden, um den pH-Wert nun auf pH 10 zu erniedrigen.

Der pH-Wert des Mediums DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>) entwickelte sich von anfangs pH 9,8 auf einen Endwert von pH 10,3.

Der CO<sub>2</sub>-Gehalt des Abgases reichte nicht aus, um den pH-Wert von Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>) auf den eingestellten Wert von pH 9 zu regulieren. Wie aus Abb. 67 ersichtlich, lag der pH-Wert bei ständiger Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr während der gesamten Wachstumszeit bei ca. pH 9,3.

### 4.3 Zusammenfassung und Diskussion

Die Züchtung der in den Laborversuchen ausgewählten Mikroalgen am Blockheizkraftwerk Heikendorf brachte folgende Ergebnisse:

**Tab. 6**

Einordnung der am BHKW gezüchteten Mikroalgen hinsichtlich der Verwertung von zusätzlich im Nährmedium angebotenen anorganischen Kohlenstoff ( $\text{CO}_2$  bzw.  $\text{NaHCO}_3$ )

Mikroalgen	Optimale Nährlösung	Kategorie	Biomasse - Ausbeute	Steigerung der Biomasse – Ausbeute <sub>1</sub>
<i>Chlorella vulgaris</i>	DSN 10 % + 0,5 % $\text{NaHCO}_3$ + $\text{CO}_2$ pH 8	2	2225 mg/l	370 %
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	DSN 10 % + $\text{CO}_2$ pH 7	3	333 mg/l	44 %
<i>Monoraphidium braunii</i>	DSN 10 % + 0,3 % $\text{NaHCO}_3$ + $\text{CO}_2$ pH 8	2	790 mg/l	15 %
<i>Spirulina maxima</i>	DSN 5 % + 2 % $\text{NaHCO}_3$	1	777 mg/l	52 %
<i>Spirulina platensis</i>	DSN 5 % + 3 % $\text{NaHCO}_3$	1	886 mg/l	131 %

<sub>1</sub> im Verhältnis zur Vergleichslösung ohne Zusatz von  $\text{CO}_2$  und  $\text{NaHCO}_3$

- Kategorie**
- 1: nur  $\text{NaHCO}_3$ -Verwertung
  - 2: Verwertung von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$
  - 3: nur  $\text{CO}_2$ -Verwertung

Die Resultate aus Kap. 3.3 (Tab. 5) konnten, wie nachfolgend beschrieben, größtenteils auch bei Kultivierung der Mikroalgen am BHKW bestätigt werden:

*Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* zeigten die höchste Wachstumsrate in Nährlösung DSN (5 % Seewasser) unter Zusatz von 2 % bzw. 3 % NaHCO<sub>3</sub>. Der pH-Wert, der sich bei dieser NaHCO<sub>3</sub>-Konzentration im Medium einstellte, lag bei pH 10. Es ist bekannt, daß *Spirulina platensis* ein alkalophiles Cyanobakterium darstellt und ein optimales Wachstumsverhalten bei pH 9,0 bis 10,0 aufweist, was sich durch unsere Versuche bestätigen ließ (BELKIN und BOUSSIBA, 1991 a; BELKIN und BOUSSIBA, 1991 b; KLEKNER und KOSARIC, 1992; CHANG et al., 1999). Die Biomasse-Ausbeute konnte durch zusätzliche Belüftung mit Abgas-CO<sub>2</sub>, wie im Laborversuch bewiesen, auch in der Versuchsreihe am BHKW nicht erhöht werden. So läßt sich folgern, daß diese Cyanobakterien nicht geeignet waren, den CO<sub>2</sub>-Gehalt der Abgase des BHKW durch deren direkte Einleitung in die Algenkulturen zu reduzieren. Trotzdem könnten die Mikroalgen durch indirekten Verbrauch des Abgas-CO<sub>2</sub> in Form von NaHCO<sub>3</sub> einen Beitrag zur Erniedrigung des CO<sub>2</sub>-Ausstoßes in die Umwelt leisten. Die Steigerung der Biomasse-Ausbeute im Vergleich zur normalen Spirulina-Nährlösung (NaHCO<sub>3</sub>: 1,36 %, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: 0,04 %) lag für *Spirulina maxima* bei 52 %, für *Spirulina platensis* bei 131 %. Somit könnte durch eine größere Ausbeute an nutzbarer Biomasse über eine Erhöhung des Angebotes an anorganischem Kohlenstoff im Medium auch eine Erhöhung der Gesamtausbeute an pharmazeutisch-medizinisch nutzbaren Inhaltsstoffen erzielt werden. Die Biomasse-Ausbeute konnte für *Spirulina platensis* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>) im Vergleich zum Laborversuch in dieser Untersuchungsreihe noch um ca. 70 % gesteigert werden.

Die von uns verwendeten Chlorophyceen *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii* und *Monoraphidium braunii* konnten das Abgas-CO<sub>2</sub> trotz der darin enthaltenen Schadstoffe und anderen Verbindungen ebenso für eine erhöhte Wachstumsrate nutzen wie das im Labor verwendete synthetische CO<sub>2</sub>. Durch unsere Versuche konnte die Aussage von BROWN et al. (1996) bestätigt werden, daß photosynthetisch aktive Mikroorganismen, wie z.B. Mikroalgen, Abgas-CO<sub>2</sub>, das direkt in die Kulturen eingeleitet wurde, nutzen können. Schadstoffe wie SO<sub>2</sub> und NO wurden bei Versuchen mit simuliertem Abgas durch *Monoraphidium minutum* in Konzentrationen von 200 p.p.m. SO<sub>2</sub> bzw. 150 p.p.m. NO toleriert.

Das optimale Medium für die Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* war Nährlösung DSN (10 % Seewasser, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 7), das im Vergleich zur Nährlösung DSN (10 % Seewasser) zu einer Steigerung der Biomasse-Produktion um 44 % führte. Es zeigte sich, daß *Chlamydomonas reinhardtii* im Medium gelöstes NaHCO<sub>3</sub> nicht zusätzlich für eine

Erhöhung der Wachstumsrate verwerten konnte. Die Steigerung der Biomasse-Ausbeute im Verhältnis zur Vergleichslösung lag sowohl in Nährlösung DSN (10 % Seewasser, Abgas-CO<sub>2</sub> bis pH 7 ⇒ zweite Versuchsreihe) als auch in Nährlösung DSN (10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> bis pH 8 ⇒ erste Versuchsreihe) bei ca. 40 %. Die Ausbeute von *Chlamydomonas reinhardtii* in Nährlösung DSN (10 % Seewasser, 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> bis pH 7) lag mit 150 mg Biomasse pro Liter Nährlösung sogar unter der in Nährlösung DSN (10 % Seewasser, Abgas-CO<sub>2</sub> bis pH 7). Auch hier zeigte sich das praktische Problem, daß der CO<sub>2</sub>-Gehalt des Abgases nicht ausreichte, um den pH-Wert des Mediums auf 7 zu regulieren. Im Laborversuch (Kap. 3.3, Tab. 5) wurde jedoch deutlich, daß auch bei genauer Regulierung des pH-Wertes auf 7 durch synthetisches CO<sub>2</sub> die Biomasse-Produktion im Vergleich zur Nährlösung DSN (CO<sub>2</sub> pH 7) durch das zusätzliche NaHCO<sub>3</sub> im Medium nicht signifikant gesteigert wurde.

BERKOWITZ et al. (1983) fanden heraus, daß die CO<sub>2</sub>-Fixierung bei der Photosynthese von *Chlamydomonas reinhardtii* durch Zusatz von NH<sub>4</sub>Cl um 147 % gesteigert wurde. Die Base, die den pH-Wert des Stromas erhöhte, bedingte einen stärkeren pH-Gradienten und darüber eine Erhöhung des CO<sub>2</sub>-Einstromes sowie der CO<sub>2</sub>-Fixierung während der Photosynthese. In Anlehnung an diese Untersuchungen könnte versucht werden, den Abgas-CO<sub>2</sub>-Verbrauch bei *Chlamydomonas reinhardtii* durch NH<sub>4</sub>Cl-Zugabe zum Nährmedium weiter zu erhöhen und darüber eine noch größere Biomasse-Ausbeute zu erzielen.

Da *Chlorella vulgaris* und *Monoraphidium braunii* neben CO<sub>2</sub> auch NaHCO<sub>3</sub> zur Steigerung der Wachstumsrate verwerten konnten, verbrauchten diese Chlorophyceen insgesamt mehr Abgas-CO<sub>2</sub> als *Chlamydomonas reinhardtii*. Um jedoch konkrete Aussagen zum Verbrauch des Abgas-CO<sub>2</sub> machen zu können, müßte z.B. am Magnetventil der pH-Steuerungseinheit jeder Kultur permanent ein Betriebsstundenzähler installiert werden, über den exakt die Gesamtzeit der CO<sub>2</sub>-Einleitungen summiert würde. Da das Ziel dieser Dissertation zunächst darin bestand, Mikroalgen herauszufinden, die geeignet sind, anorganischen Kohlenstoff in Form von Abgas-CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> für eine Erhöhung der Wachstumsrate zu verwerten, wurde der genaue Verbrauch an Abgas-CO<sub>2</sub> nur am Beispiel einer Kultur bestimmt, um die ungefähre Größenordnung der Reduzierung des CO<sub>2</sub>-Ausstoßes festzulegen. Nach Messung der Abgas-Durchflußrate in dieser Kultur konnte berechnet werden, wieviel Liter Abgas während der gesamten Wachstumszeit (45 Tage) durch die Kultur geleitet wurden. Durch Messung des CO<sub>2</sub>-Gehaltes im Abgas vor der Einleitung in die Kultur (1 %) und danach (0,5 %) wurde der prozentuale Verbrauch an CO<sub>2</sub> festgelegt:

- **Kultur:** *Chlorella vulgaris* in Nährlösung DSN 10 % Seewasser;  
0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> bis pH 8
- **CO<sub>2</sub> – Gehalt des Abgases**  
**vor Einleitung in die Kultur:** 1,0 %
- **CO<sub>2</sub> – Gehalt des Abgases**  
**nach Einleitung in die Kultur:** 0,5 %
- **Abgas - Durchflußrate:** ca. 4 Liter Abgas pro Stunde
- **Abgas – Durchflußzeit**  
**innerhalb von 45 Tagen:** 542 Stunden
- **Abgas – Durchfluß**  
**innerhalb von 45 Tagen:** ca. 2168 Liter
- **Verbrauch an CO<sub>2</sub> durch** ca. 50 % des CO<sub>2</sub>-Gehaltes vor Einleitung in die Kultur  
**die Algenkultur:**

Bei der Abschätzung der durch die Algenkultivierungen erreichten CO<sub>2</sub>-Verminderungen muß man sich von vornherein vor Augen halten, daß aus technischen Gründen, im Vergleich zu dem hohen CO<sub>2</sub>-Ausstoß des BHKW (ca. 2,4 t CO<sub>2</sub> pro Tag), nur vergleichsweise kleine Algenkulturen (8 Liter) getestet werden konnten. Es sollte hier überhaupt erst einmal geprüft werden, ob sich Algenkulturen prinzipiell für diesen Zweck eignen.

So ergab sich für die Abgasmenge von 2168 Liter, die während der gesamten Wachstumszeit durch die 8 Liter-Kultur geleitet wurden, insgesamt ein CO<sub>2</sub>-Volumen von 22 Litern. Durch die Kultivierung von *Chlorella vulgaris* unter Zusatz des Abgases wurde die in die Umwelt abgegebene CO<sub>2</sub>-Menge somit auf ca. 11 Liter reduziert. Das würde ca. 90 Liter CO<sub>2</sub> pro Jahr entsprechen und damit einer Menge von ca. 140 g CO<sub>2</sub> pro Jahr ( $\zeta = 1,527$  g/l).

Die Messung des Verbrauches an Abgas-CO<sub>2</sub> erfolgte für *Chlorella vulgaris* am Beispiel der Nährlösung DSN; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8 (Biomasse-Ausbeute: 598 mg/l). Die Biomasse-Ausbeute des Parallelansatzes von *Chlorella vulgaris* z.B in Nährlösung

DSN (0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) betrug dagegen 2225 mg/l. Es läßt sich schlußfolgern, daß bei Züchtung von *Chlorella vulgaris* in einer Nährlösung mit höherer Biomasse-Produktion auch der Verbrauch an Abgas-CO<sub>2</sub> entsprechend größer wäre. Jede Mikroalge könnte nun auch in der jeweils ermittelten optimalen Nährlösung im Großmaßstab gezüchtet werden und somit insgesamt eine entsprechend größere Gesamtmenge Abgas-CO<sub>2</sub> verwerten. Dadurch könnte wiederum die Gesamtausbeute an pharmazeutisch-medizinisch relevanten Inhaltsstoffen der Mikroalgen weiter erhöht werden. Bei Betrachtung des jährlichen CO<sub>2</sub>-Ausstoßes des BHKW (876 t) wird jedoch, wie bereits gesagt, insgesamt deutlich, daß Algenkulturen nur einen vergleichsweise kleinen Beitrag zur Erniedrigung der CO<sub>2</sub>-Emission in die Atmosphäre leisten können. Um die Reduzierungen des Abgas-CO<sub>2</sub>-Gehaltes durch die verschiedenen Mikroalgen miteinander vergleichen zu können, müßte für jede Algenkultur die oben beschriebene Berechnung durchgeführt werden.

Die geeigneten Nährmedien für die Kultivierung von *Chlorella vulgaris* und *Monoraphidium braunii* am BHKW entsprachen der vorher im Labor ermittelten Zusammensetzung (Nährlösung DSN 10 %; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> bis pH 8 bzw. DSN 10 %; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub> bis pH 8).

*Monoraphidium braunii* zeigte bei Züchtung am BHKW nur eine Steigerungsrate der Biomasse-Produktion um 15 %, während im Laborversuch 91 % erzielt wurden. Da durch den zu geringen CO<sub>2</sub>-Gehalt im Abgas der optimale pH-Wert von 8 im Medium nicht eingestellt werden konnte, wurde die Biomasse-Ausbeute hier auch nur um einen geringeren Wert gesteigert. Durch Nutzung eines Kraftwerkes mit einem höheren Gehalt an CO<sub>2</sub> im Abgas könnte das Wachstumsverhalten von *Monoraphidium braunii* weiter verbessert werden, da sich die Mikroalge in den Versuchen generell als geeignet erwies, zusätzlich angebotenes CO<sub>2</sub> zu verwerten.

Die größte Steigerung der Biomasse-Produktion aller verwendeten Mikroalgen am BHKW erzielte wie im Laborversuch (Kap. 3.3, Tab 5) *Chlorella vulgaris*. Die Erhöhung der Ausbeute um 370 % auf 2225 mg Biomasse pro Liter Nährlösung nach 45 Wachstumstagen zeigte, daß *Chlorella vulgaris* den zusätzlich im Medium angebotenen anorganischen Kohlenstoff am effektivsten nutzen konnte. Das Abgas-CO<sub>2</sub> führte trotz der darin enthaltenen Schadstoffe zu einer extremen Steigerung der Wachstumsrate von *Chlorella vulgaris*. Sowohl Versuche mit *Chlorella* sp. zur Abwasserreinigung in Zuckerfabriken (POLEC et al., 1992, DUDA et al., 1994) als auch Untersuchungen zur Züchtung von *Chlorella* sp. in Industrieabwässern (OKAY et al., 1994) unterstreichen, daß es sich bei dieser Grünalge um eine eher anspruchslose, robuste Mikroalge handelt, die also für solche praktischen Zwecke

hervorragend geeignet wäre.

So stellten sich anhand unserer Versuchsreihe am Blockheizkraftwerk Heikendorf *Chlorella vulgaris* (Kategorie 2) und *Spirulina platensis* (Kategorie 1) aufgrund der hohen Steigerungsraten der Biomassen als am besten geeignet heraus, neben der Bereitstellung von pharmazeutisch–medizinisch wichtigen Inhaltsstoffen einen Beitrag zur Verminderung des CO<sub>2</sub>–Austoßes zu leisten, auch wenn dieser Beitrag, wie beschrieben, nur sehr gering sein kann. Durch die Erhöhung der Biomasse–Ausbeute könnte auch eine größere Gesamtmenge an Inhaltsstoffen extrahiert werden, wenn die Konzentration der Inhaltsstoffe nicht negativ durch den Zusatz von CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> beeinflusst würde. In Kap. 5 soll nun der direkte Einfluß des anorganischen Kohlenstoffes in Form von Abgas–CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> auf die Konzentration der pharmazeutisch–medizinisch wichtigen Inhaltsstoffe der Mikroalgen untersucht werden.

## 5 Einfluß von Abgas-CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub> auf die Zusammensetzung der Biomassen der am BHKW gezüchteten Mikroalgen

### 5.1 Einführung

Mikroalgen werden u.a. aufgrund ihres Gehaltes an folgenden – auch pharmazeutisch-medizinisch nutzbaren – Inhaltsstoffen in größeren Maßstäben industriell genutzt:

#### 1. PROTEINE:

Bestimmte Mikroalgen können aufgrund ihres Proteingehaltes als Eiweißquelle eingesetzt werden (HERRERO et al., 1993). Einige Vertreter der Grünalgen (u.a. *Chlorella*- und *Scenedesmus*-Arten) und Cyanobakterien (v.a. *Spirulina*-Arten) weisen Proteingehalte bis zu 60 % (für *Spirulina*-Arten bis zu 70 %) der Trockenmasse auf (RICHMOND, 1988). RENAUD et al. (1994) bestimmten für *Chlamydomonas* ssp. einen Proteingehalt von 66,9 % des Trockengewichtes der Biomasse.

Die Aminosäurezusammensetzung der Proteine variiert je nach Art und wird außerdem durch die Kultivierungsbedingungen und das Alter der Kulturen bestimmt (Becker, 1988). Glutaminsäure und Asparaginsäure stellen die Hauptaminosäuren der Proteine der Mikroalgen dar, Cystein und Methionin als schwefelhaltige Vertreter sind dagegen nur in geringer Menge vorhanden bzw. fehlen ganz. Andere häufig vorkommende Aminosäuren sind Lysin, Tryptophan, Alanin sowie Phenylalanin (Borowitzka, 1988 a). Die Mikroalgen bzw. die daraus gewonnenen Proteine, die einen hohen Anteil an essentiellen Aminosäuren enthalten (SHANG-HAO, 1988), finden sowohl in der Lebensmittelindustrie für den direkten Verzehr als auch in der Viehzucht als Fütterungsmittel Verwendung (BECKER und VENKATARAMAN, 1982; SAXENA et al., 1983; KAY, 1991; DILLON und PHAN, 1993; KÄMPFEL et al., 1995)).

#### 2. LIPIDE (Phospholipide, Glycolipide) und FETTSÄUREN:

Sie werden von einigen Mikroalgen in großen Mengen (bis zu 63 % der Biomasse) gebildet (POHL, 1982; BECKER, 1988; BOROWITZKA, 1988 b). Mikroalgen enthalten sowohl gesättigte als auch ungesättigte Fettsäuren, die den Organismen als Energiequelle und

Lieferanten verschiedener Metaboliten dienen und außerdem Bestandteil der Biomembranen sind.

Die am häufigsten in Mikroalgen auftretenden gesättigten Fettsäuren sind geradzahlige C 12:0–bis C 18:0–Fettsäuren. Bei den ungesättigten Fettsäuren erstreckt sich die Kettenlänge von C<sub>12</sub> bis C<sub>22</sub> und die Anzahl der Doppelbindungen von 1 bis 6 (POHL, 1982). PRONINA et al. (1998) fanden heraus, daß eine Erniedrigung der CO<sub>2</sub>-Konzentration im Medium zu einer erhöhten Synthese von mehrfach ungesättigten Fettsäuren bei *Chlamydomonas reinhardtii* führte. Kennzeichnend für die Chlorophyceen ist ein hoher Anteil an den Fettsäuren C 16:4 und C 18:3 (YU et al., 1999).

Insbesondere die ungesättigten Fettsäuren sind für den pharmazeutisch–medizinischen Bereich von großer Bedeutung, v.a. Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure (CHENG et al., 1999). Sie sind für den Menschen essentiell, d.h. sie können nicht selbst vom Körper synthetisiert werden, sondern müssen mit pflanzlicher Nahrung aufgenommen werden. Die ungesättigten Fettsäuren stellen einerseits Vorstufen körpereigener Botenstoffe, z.B. der Prostaglandine, dar (Arachidonsäure und ähnliche C<sub>20</sub>-Fettsäuren), dienen andererseits aber auch der direkten Behandlung von Hyperlipidämien und Atherosklerose (BOROWITZKA, 1988 b). Mikroalgen, die reich an diesen Fettsäuren sind, können zur Unterstützung der oben genannten Krankheiten und zur Vermeidung von Mangelzuständen als Nahrungsergänzungsmittel eingesetzt werden.

Einige Cyanobakterien, wie *Calothrix* sp. und *Arthrospira* sp., produzieren große Mengen an  $\gamma$ -Linolensäure (KENYON et al., 1972; DUBACQ and PHAM, 1993; DURAND, 1999).  $\gamma$ -Linolensäure stellt eine nicht essentielle ungesättigte Fettsäure, die aus Linolsäure gebildet werden kann, dar und wird zur Behandlung von Neurodermitis eingesetzt.

### 3. PIGMENTE (Phycobiliproteine, Chlorophylle, Carotinoide)

Phycobiliproteine gehören zu den akzessorischen Pigmenten der Photosynthese. Cyanobakterien, Rhodophyceen, Cryptophyceen und Glaucophyceen bilden neben den lipophilen Pigmenten (Chlorophylle und Carotinoide) diese wasserlöslichen Farbstoffe (HERDER-LEXIKON DER BIOLOGIE, 1994 b; STRASBURGER, 1998). Phycocyanin aus *Spirulina platensis* ist in Japan unter dem Namen „Linablue“ als Lebensmittelfarbstoff zugelassen. Es wird weiterhin zur Färbung kosmetischer Produkte sowie in der pharmazeutischen Technologie zur Färbung von verschiedenen Arzneistoffformulierungen verwendet (COHEN, 1986).

Carotinoide kommen in allen photosynthetisch aktiven Mikroalgen in unterschiedlicher Konzentration vor. Sie stellen zusammen mit den Phycobiliproteinen und den Chlorophyllen b, c, d, e die akzessorischen Pigmente der Photosynthese dar. Die Carotinoide lassen sich in die sogenannten Carotine, die reine Kohlenwasserstoffe darstellen, und in die Xanthophylle, die sauerstoffhaltigen Derivate der Carotine, einteilen (HERDER–LEXIKON DER BIOLOGIE, 1994 a).

Neben  $\beta$ -Carotin, das in allen Cyanobakterien vorkommt, enthalten die Blaualgen Zeaxanthin, Echinenon (Ketocarotinoide), Canthaxanthin sowie Myxoxanthophyll, das in eukaryotischen Algen fehlt. Aufgrund der fehlenden  $\epsilon$ -Cyclase zur Bildung des  $\epsilon$ -Ionenringes bilden Cyanobakterien kein  $\alpha$ -Carotin, Lutein, Violaxanthin und Neoxanthin (VAN DEN HOEK, 1993).

Die Grünalgen weisen neben  $\beta$ -Carotin auch  $\alpha$ -Carotin sowie die Xanthophylle Lutein, Violaxanthin, Neoxanthin, Antheraxanthin und Zeaxanthin auf (SASA et al., 1992; VAN DEN HOEK, 1993).

Industriell genutzt werden vor allem *Dunaliella*-Arten zur  $\beta$ -Carotin-Gewinnung und *Haematococcus*-Arten zur Gewinnung von Astaxanthin (BOROWITZKA und BOROWITZKA, 1988; BOROWITZKA, 1992).  $\beta$ -Carotin ist ein pharmazeutisch–medizinisch wichtiger Inhaltsstoff der Mikroalgen, der im menschlichen Körper zu Vitamin A umgebaut wird (Provitamin A). Es wird aufgrund seiner antioxidativen Eigenschaften zur Prävention der Atherosklerose, koronarer Herzkrankheit und Lichtdermatosen eingesetzt (KINDL, 1995; HÖTZEL, 1996). Neben der Verwendung von  $\beta$ -Carotin als Lebensmittelfarbstoff zum Färben von Butter ist es außerdem als Farbstoff in Kosmetikprodukten zugelassen (HÖTZEL, 1996). Darüberhinaus werden Carotinoide (v.a. Xanthophylle) dem Futter von Tieren zugesetzt, die der Lebensmittelgewinnung dienen (GOUVEIA, 1996; GOUVEIA, 1997). Ziel sind beispielsweise die Intensivierung der Farbe des Eigelbes in Hühnereiern (BAUERNFEIND et al., 1971; CANNELL, 1990) oder die Erzeugung der typischen Lachsfarbe durch Fütterung der Lachse mit Astaxanthin (BENEMANN, 1992).

CZERPAK und BAJGUZ (1997) fanden heraus, daß der Gehalt an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin in *Chlorella pyrenoidosa* durch Zugabe von Cytokininen erhöht wurde.

Chlorophylle werden in die Chlorophylle a, b, c, d, und e unterteilt und stehen als nachwachsende Rohstoffe ubiquitär zur Verfügung. Chlorophyll a ist essentiell an allen Photosynthesereaktionen beteiligt, wohingegen die Chlorophylle b–e sowie die Carotinoide

und Phycobiliproteine akzessorische Pigmente darstellen (LEISTNER und BRECKLE, 2000). Cyanobakterien enthalten im Gegensatz zu den Chlorophyceen, deren Chloroplasten auch Chlorophyll b aufweisen, nur Chlorophyll a (VAN DEN HOEK, 1993).

Neben der Anwendung der Chlorophylle als Farbstoffe werden ihre desodorierenden, bakteriostatischen Eigenschaften z.B. in Form von Lutschtabletten gegen Mundgeruch ausgenutzt (KOCH und HÜHNLER, 1995).

Neben den oben genannten Inhaltsstoffen gibt es weitere Verbindungen, die u.a. von pharmazeutisch–medizinischer Wichtigkeit sind:

- Vitamine, v.a. Vitamin A, B<sub>6</sub> und B<sub>12</sub> (BOROWITZKA, 1988 a; KAY, 1991; VENKATARAMAN et al., 1994)
- Sterole, v.a. Cholesterolderivate (KOHLMASE und POHL, 1988; DISCH et al., 1998)
- Polysaccharide und Exopolysaccharide (BOYLE und READE, 1983; MORCK, 1991; FISCHER, 1996; MARSALEK und ROJICKOVA, 1996; FISCHER et al., 1997), die aufgrund ihrer kolloidalen Eigenschaften in verschiedenen Industriezweigen als Gelier– und Dispergiermittel eingesetzt werden
- Bioaktive Verbindungen, die als potentielle Arzneistoffe eingesetzt werden könnten (MERCHANT, 1990; CARMICHAEL, 1992; TEUSCHER et al., 1992; PATTERSON et al., 1993; BOROWITZKA, 1995; FALCH et al., 1995).

Die Beeinflussung der Zusammensetzung der Biomassen der von uns am Blockheizkraftwerk gezüchteten Mikroalgen durch den Zusatz von Abgas–CO<sub>2</sub> und/oder NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium sollte in diesem Kapitel geklärt werden. Dabei wurden aus der Biomasse jedes Ansatzes einer Versuchsreihe jeweils die Fettsäuren, Proteine, Carotinoide und Chlorophylle extrahiert. Durch Vergleich der Zusammensetzung und Konzentration der Inhaltsstoffe der verschiedenen Kulturen konnte der Einfluß von zusätzlich im Medium angebotenem anorganischen Kohlenstoff beurteilt werden.

Zur Untersuchung der Zusammensetzung der Biomasse von *Chlamydomonas reinhardtii* wurden die Ansätze der zweiten Versuchsreihe am Blockheizkraftwerk Heikendorf herangezogen, da sich hieraus das optimale Medium für die Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* ergeben hatte (Kap. 4.2.3).

## 5.2 Ergebnisse

### 5.2.1 Proteine

Der Proteingehalt der am BHKW gezüchteten Mikroalgen wurde mit Hilfe der Mikro-Kjeldahl-Methode bestimmt. Es wurde darüber zunächst der Gesamtstickstoffgehalt berechnet und anschließend durch Multiplikation des erhaltenen Wertes mit dem Faktor 6,25 der Gesamtproteingehalt ermittelt. Der Nachteil dieser Berechnung liegt darin, daß durch stickstoffhaltige Nicht-Proteine wie Nucleinsäuren und Amine zu hohe Werte für den Gesamtproteingehalt entstehen können (BECKER, 1988).

Tab. 7 bis 11 zeigen daher sowohl den Gesamtstickstoffgehalt als auch den Gesamtproteingehalt für die am BHKW gezüchteten Mikroalgen *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Monoraphidium braunii*, *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis*.

**Tab. 7**

Gesamtstickstoffgehalt und Gesamtproteingehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Chlorella vulgaris* gezüchtet am BHKW unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>Gesamt – stickstoff – gehalt %</b>	7,1	6,2	5,9	7,0	7,2
<b>Gesamt – protein – gehalt %</b>	44,4	38,8	36,6	43,8	45,0
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	473	686	1019	598	2225

Tab. 7 zeigt, daß der Stickstoff- bzw. Proteingehalt der Biomasse von *Chlorella vulgaris* unabhängig von der Zusammensetzung der Nährlösung in allen Ansätzen relativ konstant war. Der Gesamtproteingehalt von *Chlorella vulgaris* lag sowohl in Nährlösung DSN als auch in Nährlösung DSN (0,3 % bzw. 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) bei ca. 45 %. Somit wird deutlich, daß selbst die geringen Schwankungen des Proteingehaltes innerhalb der Ansätze zwischen ca. 37 % und 45 % nicht durch den Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> oder Abgas-CO<sub>2</sub> verursacht wurden. Auch ein Zusammenhang zwischen Biomasse-Ausbeute und Gesamtproteingehalt kann nicht abgeleitet werden; denn die Züchtung von *Chlorella vulgaris* in Nährlösung DSN ergab mit 473 mg/l die geringste Biomasse-Ausbeute der Versuchsreihe, in Nährlösung DSN (0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) mit 2225 mg/l die höchste Ausbeute. Der Gesamtproteingehalt lag in beiden Ansätzen jedoch bei 45 %.

Durch Tab. 7 wird deutlich, daß der Proteingehalt der Biomasse von *Chlorella vulgaris* am niedrigsten war, wenn dem normalen Nährmedium DSN ausschließlich NaHCO<sub>3</sub> als zusätzliche Kohlenstoffquelle zugesetzt wurde. Bei kombiniertem Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub> wurde der gleiche Gesamtproteingehalt wie im Vergleichsmedium DSN erreicht.

**Tab. 8**

Gesamtstickstoffgehalt und Gesamtproteingehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Chlamydomonas reinhardtii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7
<b>Gesamt – stickstoff – gehalt %</b>	9,7	9,9	6,8	9,7	6,6
<b>Gesamt – protein – gehalt %</b>	60,6	61,9	42,5	60,6	41,3
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	232	333	150	267	131

Es ist auffällig, daß der Proteingehalt der Biomassen von *Chlamydomonas reinhardtii* in allen drei Nährlösungen, die jeweils die höchste Biomasseausbeute erzielten, mit ca. 60 % am größten war. Der höchste Gesamtproteingehalt von ca. 62 % wurde in der Biomasse von *Chlamydomonas reinhardtii* in Nährlösung DSN, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 7 bestimmt. In diesem Medium wurde mit 333mg/l außerdem die größte Biomasse-Menge gewonnen. Sowohl die Gesamtproteingehalte als auch die Biomasseausbeuten am 45. Wachstumstag in Nährlösung DSN (0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> pH 7) und in Nährlösung DSN (nach 14 Tagen: 0,5 % NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 7) lagen im Vergleich zu den anderen Ansätzen deutlich niedriger.

Aus Tab. 8 kann abgeleitet werden, daß der alleinige Zusatz von Abgas-CO<sub>2</sub> zum Kulturmedium keinerlei Auswirkungen auf den Gesamtstickstoff-bzw. Proteingehalt hatte. Im Gegensatz dazu kam es durch kombinierte Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub> zu einer deutlichen Erniedrigung des Gesamtstickstoff-und Proteingehaltes.

**Tab. 9**

Gesamtstickstoffgehalt und Gesamtproteingehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Monoraphidium braunii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3 % NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>Gesamt – stickstoff – gehalt %</b>	8,2	7,0	8,1	7,4
<b>Gesamt – protein – gehalt %</b>	51,3	43,8	50,6	46,3
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	690	305	704	790

Wie für *Chlamydomonas reinhardtii* kann auch für *Monoraphidium braunii* abgeleitet werden, daß der alleinige Zusatz von Abgas-CO<sub>2</sub> zum Nährmedium keinen Einfluß auf den Gesamtproteingehalt der Biomasse hatte (jeweils ca. 50 %). Bei alleiniger Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> sowie in Kombination mit Abgas-CO<sub>2</sub> wurde der Gesamtproteingehalt der Biomassen auf ca. 45 % erniedrigt. Ein Zusammenhang zwischen Biomasse-Ausbeute und Gesamtproteingehalt wurde für *Monoraphidium braunii* wie aus Tab. 9 ersichtlich jedoch nicht deutlich.

**Tab. 10**

Gesamtstickstoffgehalt und Gesamtproteingehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Spirulina maxima* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	<b>Spirulina Nährlösung (NL)</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 9</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 10</b>
<b>Gesamt – stickstoff – gehalt %</b>	6,8	4,7	6,8	4,8
<b>Gesamt – protein – gehalt %</b>	42,5	29,4	42,5	30,0
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	513	777	522	739

Tab. 10 zeigt, daß der Gesamtproteingehalt der Biomassen von *Spirulina maxima* in den Nährmedien, in denen die höchsten Biomasseausbeuten erzielt wurden, etwa 10 % unter dem der anderen Ansätze lag. Es ist zu vermuten, daß für *Spirulina maxima* ein umgekehrt proportionaler Zusammenhang zwischen Wachstumsintensität und Gesamtproteingehalt besteht, der jedoch unabhängig vom Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> bzw. Abgas-CO<sub>2</sub> ist.

**Tab. 11**

Gesamtstickstoffgehalt und Gesamtproteingehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Spirulina platensis* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	<b>Spirulina Nährlösung (NL)</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 9</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 10</b>
<b>Gesamt – stickstoff – gehalt %</b>	12,8	10,8	11,3	11,8
<b>Gesamt – protein – gehalt %</b>	80,0	67,5	70,6	73,8
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	383	886	427	570

Für *Spirulina platensis* trifft dieselbe Aussage wie für *Spirulina maxima* zu:

Der Gesamtproteingehalt der Biomasse aus dem Medium, in dem die geringste Biomasse-Ausbeute erzielt wurde (Spirulina-NL), lag mit 80 % im Vergleich zu allen anderen Versuchsansätzen am höchsten. Der geringste Gesamtproteingehalt (ca. 68 %) wurde in der Biomasse aus Nährlösung DSN 5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub> bestimmt, aus der am 45. Wachstumstag jedoch die größte Ausbeute an Biomasse hervorging.

Die beiden Ansätze mit kombiniertem Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub> lagen sowohl hinsichtlich der Biomasse-Ausbeute als auch des Gesamtproteingehaltes relativ eng beieinander, der oben beschriebene Zusammenhang konnte u.U. aus diesem Grunde nicht aus ihnen abgeleitet werden.

## 5.2.2 Fettsäuren

Die qualitative und quantitative Bestimmung des Fettsäuregehaltes erfolgte anhand der von GARCES und MANCHA (1993) beschriebenen Methylierungsmethode. Die entstandenen Fettsäuremethylester wurden mit Hilfe der Gaschromatographie aufgetrennt. Die Identifizierung der Fettsäuren gelang einerseits mittels verschiedener Fettsäurestandardgemische und andererseits durch Kopplung des Gaschromatographen an ein Massenspektrometer. Die erhaltenen Massenspektren konnten mit Hilfe einer Spektrenbibliothek den entsprechenden Fettsäuren zugeordnet werden.

Die quantitative Zusammensetzung der Fettsäuren wurde durch Verwendung von Heptadecansäure als Internem Standard ermittelt.

**Tab. 12**

Gesamtfettsäuregehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Chlorella vulgaris* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>Gesamt – fettsäure – gehalt %</b>	3,31	5,56	6,41	5,71	7,82
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	473	686	1019	598	2225

**Tab 13**

Fettsäurezusammensetzung (% des Gesamtfettsäuregehaltes der Biomasse) von *Chlorella vulgaris* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

Fettsäuren	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3 % NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,5 % NHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,3 % NaHCO <sub>3</sub> + Abgas – CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,5 % NaHCO <sub>3</sub> + Abgas – CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>C 8:0</b>	1,4	0,2	0,1	0,2	0,1
<b>C 10:0</b>	1,1	1,4	1,6	0,5	-
<b>C 12:0</b>	0,5	-	-	-	-
<b>C 14:0</b>	0,6	0,2	0,1	0,2	0,4
<b>C 3-OH 14:0</b>	0,3	0,4	0,1	0,3	0,4
<b>C 16:0 iso</b>	9,1	10,8	9,3	8,8	10,2
<b>C 16:0</b>	24,1	21,6	20,3	19,3	25,6
<b>C 16:1<sup>9</sup></b>	2,1	1,3	0,8	1,8	0,6
<b>C 18:0</b>	0,6	1,3	0,5	0,7	1,3
<b>C 18:1<sup>9</sup> cis</b>	6,0	7,2	10,9	22,8	19,2
<b>C 18:2<sup>9,12</sup></b>	21,1	19,8	20,4	21,0	10,2
<b>C 18:3 α</b>	33,1	35,8	35,9	24,4	32,0

Der Gesamtfettsäuregehalt der Biomasse von *Chlorella vulgaris* war in den verschiedenen Nährmedien relativ unterschiedlich (3,3 % bis 7,8 %). Tab. 12 macht deutlich, daß der Gesamtfettsäuregehalt von *Chlorella vulgaris* sowohl bei alleiniger Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> zum Medium als auch in Kombination mit CO<sub>2</sub> im Vergleich zur Züchtung in Nährlösung DSN erhöht wurde.

Bei Kultivierung von *Chlorella vulgaris* in Nährlösung DSN (0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) wurde einerseits die größte Biomasse-Ausbeute am 45. Wachstumstag erzielt (2225 mg/l), andererseits konnte der höchste Gesamtfettsäuregehalt (7,82 % des Trockengewichtes) festgestellt werden. Dieser Zusammenhang wird besonders durch Betrachtung des geringsten Gesamtfettsäuregehaltes dieser Versuchsreihe (3,31 %) in Nährlösung DSN und die ebenfalls in Nährlösung DSN ermittelte niedrigste Biomasse-Ausbeute unterstrichen.

Die prozentuale Zusammensetzung der Fettsäuren blieb – auch bei unterschiedlichem

Gesamtfettsäuregehalt der Biomassen – in den verschiedenen Medien relativ konstant (Tab. 13). Die dennoch auftretenden Schwankungen konnten nicht in Zusammenhang mit der Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> und/oder Abgas-CO<sub>2</sub> zum Medium gebracht werden.

Auffällig war der hohe Gehalt an C 18:1<sup>9</sup>cis (22,8 % des Gesamtfettsäuregehaltes der Biomasse) von *Chlorella vulgaris* gezüchtet in Nährlösung DSN (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8). Er lag 3,8 x höher als der bei Kultivierung von *Chlorella vulgaris* in Nährlösung DSN (6 % des Gesamtfettsäuregehaltes der Biomasse).

**Tab. 14**

Gesamtfettsäuregehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Chlamydomonas reinhardtii* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7
<b>Gesamt – fettsäure – gehalt %</b>	5,23	4,84	2,61	4,29	2,42
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	232	333	150	267	131

**Tab 15**

Fettsäurezusammensetzung (% des Gesamtfettsäuregehaltes der Biomasse) von *Chlamydomonas reinhardtii* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH–Steuerung über Abgas–CO<sub>2</sub>–Zufuhr

Fettsäuren	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7
<b>C 8:0</b>	Spuren	Spuren	0,4	0,2	0,4
<b>C 10:0</b>	Spuren	0,2	Spuren	Spuren	Spuren
<b>C 12:0</b>	0,4	1,0	0,4	0,5	Spuren
<b>C 14:0</b>	0,8	0,6	1,1	0,7	1,2
<b>C 3-OH 14:0</b>	Spuren	Spuren	Spuren	0,2	Spuren
<b>C 16:0 iso</b>	3,8	3,1	3,8	2,6	3,7
<b>C 16:0</b>	28,7	31,0	30,7	31,2	29,8
<b>C 16:1<sup>9</sup></b>	2,7	2,1	3,8	2,3	2,5
<b>C 18:0</b>	3,8	3,1	3,8	3,3	4,1
<b>C 18:1<sup>9</sup> cis</b>	3,8	6,2	3,8	4,7	8,3
<b>C 18:2<sup>9,12</sup></b>	17,2	16,5	13,0	16,3	20,7
<b>C 18:3 α</b>	38,2	35,1	38,3	37,3	28,9
<b>C 20:0</b>	0,4	0,6	0,4	0,5	0,4
<b>C 20:1</b>	0,2	0,5	0,5	0,2	Spuren

Anhand der Tab. 14 wird deutlich, daß der Gesamtfettsäuregehalt von *Chlamydomonas reinhardtii* durch den Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und/oder Abgas–CO<sub>2</sub> erniedrigt wurde. Er lag mit 5,23 % des Trockengewichtes der Biomasse von *Chlamydomonas reinhardtii*, gezüchtet in Nährlösung DSN, am höchsten. Bei alleiniger Zufuhr von Abgas–CO<sub>2</sub> erreichten die Biomassen einen Gesamtfettsäuregehalt von ca. 4–5 %, die Biomasseausbeute in diesen Medien (333 mg/l bzw. 267 mg/l) war jedoch höher als die in Nährlösung DSN (232 mg/l). Es zeigte sich, daß die Abweichungen zur Nährlösung DSN hinsichtlich des Gesamtfettsäuregehaltes bei alleinigem Zusatz von CO<sub>2</sub> zum Medium jedoch relativ gering waren.

Größere Unterschiede im Gesamtfettsäuregehalt ergaben sich dagegen bei Zusatz von

NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub>. Sowohl die Biomasse-Ausbeuten (150 mg/l bzw. 131 mg/l) als auch die Gesamtfettsäuregehalte (2,61 % bzw. 2,42 %) lagen unter den Ergebnissen bei Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* in Nährlösung DSN (232 mg/l Biomasse-Ausbeute und 5,23 % Gesamtfettsäuregehalt).

Die Fettsäurezusammensetzung zeigte sich auch für *Chlamydomonas reinhardtii* bei Züchtung in den unterschiedlichen Medien relativ konstant. Die hier auftretenden Schwankungen konnten wie bei *Chlorella vulgaris* ebenfalls nicht in Zusammenhang mit dem Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und/oder Abgas-CO<sub>2</sub> zur Nährlösung gebracht werden.

**Tab. 16**

Gesamtfettsäuregehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Monoraphidium braunii* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und/oder pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>Gesamt – fettsäure – gehalt %</b>	6,85	5,3	6,29	5,9
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	690	305	704	790

**Tab 17**

Fettsäurezusammensetzung (% des Gesamtfettsäuregehaltes der Biomasse) von *Monoraphidium braunii* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

Fettsäuren	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>C 8:0</b>	0,4	0,4	0,3	0,5
<b>C 12:0</b>	1,6	-	-	-
<b>C 14:0</b>	0,4	0,6	0,3	0,3
<b>C 16:0 iso</b>	1,3	0,8	1,1	1,0
<b>C 16:0</b>	30,1	30,2	27,0	27,1
<b>C 16:1<sup>9</sup></b>	1,3	2,1	1,0	1,2
<b>C 18:0</b>	0,7	1,1	1,1	0,7
<b>C 18:1<sup>9</sup> cis</b>	17,8	23,4	25,4	18,6
<b>C 18:2<sup>9,12</sup></b>	27,7	17,7	23,8	32,2
<b>C 18:3 α</b>	18,4	23,0	19,1	17,8
<b>C 20:1</b>	-	0,2	0,3	0,2
<b>C 22:0</b>	0,3	0,5	0,6	0,4

Wie aus Tab. 16 ersichtlich, wurde der Gesamtfettsäuregehalt von *Monoraphidium braunii* durch Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> und/oder Abgas-CO<sub>2</sub> nur wenig erniedrigt. Der höchste Gesamtfettsäuregehalt wurde in Nährlösung DSN mit 6,85 % des Trockengewichtes der Biomasse bestimmt, er lag bei Züchtung von *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN (Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) mit 6,29 % nur unwesentlich niedriger.

Die Biomasse-Ausbeute (305 mg/l) sowie der Gesamtfettsäuregehalt der Biomasse (5,3 %) waren bei Kultivierung von *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub> am geringsten.

Die höchste Ausbeute an Biomasse wurde in Nährlösung DSN (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) erzielt (790 mg/l). Auch hier lag der Gesamtfettsäuregehalt (5,9 %) nur wenig unter dem in Nährlösung DSN (6,85 %), in der eine Biomasse-Ausbeute von 690 mg/l erreicht wurde.

Die Fettsäurezusammensetzung der Biomasse von *Monoraphidium braunii* blieb wie bei den anderen Chlorophyceen in den verschiedenen Medien dieser Versuchsreihe relativ konstant.

**Tab. 18**

Gesamtfettsäuregehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Spirulina maxima* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	<b>Spirulina Nährlösung (NL)</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 9</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 10</b>
<b>Gesamt – fettsäure – gehalt %</b>	2,41	2,1	2,4	3,0
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	513	777	522	739

**Tab 19**

Fettsäurezusammensetzung (% des Gesamtfettsäuregehaltes der Biomasse) von *Spirulina maxima* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

Fettsäuren	Spirulina Nährlösung (NL)	NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 9	NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 10
C 8:0	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren
C 10:0	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren
C 12:0	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren
C 14:0	0,3	Spuren	Spuren	Spuren
C 16:0	49,8	52,3	54,2	53,3
C 16:1 <sup>9</sup>	4,2	4,8	4,2	3,3
C 18:0	4,2	9,5	4,2	6,7
C 18:1 <sup>9</sup> cis	8,3	4,8	4,2	3,3
C 18:2 <sup>9,12</sup>	20,7	19,1	25,0	20,0
C 18:3 γ	12,5	9,5	8,3	13,3
C 20:0	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren

Die unterschiedliche Zusammensetzung der Nährmedien hatte auf den Gesamtfettsäuregehalt von *Spirulina maxima* nur einen sehr geringen Einfluß. Der höchste Gehalt wurde bei Züchtung in Nährlösung DSN (2 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis 10) erreicht (3,0 %). Der Gesamtfettsäuregehalt von *Spirulina maxima* lag in den anderen Medien im Bereich von 2,1 % bis 2,41 %.

Die höchsten Biomasse-Ausbeuten wurden in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>) (777 mg/l) und in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 10) (739 mg/l) erzielt. Der Gesamtfettsäuregehalt lag jedoch im Vergleich zu den anderen Nährlösungen bei Züchtung in erstgenanntem Medium mit 2,1 % am niedrigsten, im zweiten Medium mit 3,0 % dagegen am höchsten. So wird deutlich, daß für *Spirulina maxima* kein Zusammenhang zwischen Biomasseproduktion und Höhe des Gesamtfettsäuregehaltes besteht.

Die Fettsäurezusammensetzung von *Spirulina maxima* blieb wie bei den Chlorophyceen unabhängig von der Zusammensetzung der Nährlösungen relativ konstant.

**Tab. 20**

Gesamtfettsäuregehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Spirulina platensis* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	<b>Spirulina Nährlösung (NL)</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 9</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 10</b>
<b>Gesamt – fettsäure – gehalt %</b>	4,32	4,12	3,54	4,08
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	383	886	427	570

**Tab 21**

Fettsäurezusammensetzung (% des Gesamtfettsäuregehaltes der Biomasse) von *Spirulina platensis* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

Fettsäuren	<i>Spirulina</i> Nährlösung (NL)	NL DSN 5 % Seewasser 3% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 9	NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 10
<b>C 8:0</b>	Spuren	Spuren	Spuren	0,3
<b>C 10:0</b>	Spuren	Spuren	Spuren	Spuren
<b>C 12:0</b>	0,7	1,0	0,8	0,6
<b>C 14:0</b>	0,7	0,5	0,5	0,3
<b>C 16:0</b>	46,3	48,5	45,2	49,0
<b>C 16:1<sup>9</sup></b>	6,9	5,3	8,5	7,4
<b>C 18:0</b>	1,4	2,4	1,7	0,7
<b>C 18:1<sup>9</sup> cis</b>	9,3	3,4	8,5	4,9
<b>C 18:2<sup>9,12</sup></b>	27,8	29,1	28,3	29,4
<b>C 18:3 <math>\gamma</math></b>	6,9	9,8	6,5	7,4

Die Ergebnisse für *Spirulina platensis* waren ähnlich wie für *Spirulina maxima*. Der Gesamtfettsäuregehalt wurde nur wenig durch den Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> erniedrigt, er erstreckte sich für alle Nährlösungen über einen Bereich von 3,54 % bis 4,32 % des Trockengewichtes der Biomasse.

Aus den Werten der Tab. 20 wird deutlich, daß auch für *Spirulina platensis* kein Zusammenhang zwischen Biomasse-Ausbeute und Höhe des Gesamtfettsäuregehaltes besteht – trotz niedrigster Biomasse-Ausbeute in *Spirulina*-Nährlösung (383 mg/l) und höchster Biomasse-Ausbeute in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub>) lag der Gesamtfettsäuregehalt von *Spirulina platensis* in beiden Medien bei ca. 4 % des Trockengewichtes der Biomasse.

Die Fettsäurezusammensetzung der Biomasse von *Spirulina platensis* blieb wie bei allen anderen von uns getesteten Mikroalgen relativ konstant und somit unabhängig von der Zusammensetzung des jeweiligen Nährmediums.

### 5.2.3 Carotinoide und Chlorophylle

Die Carotinoide und Chlorophylle wurden mit Aceton bzw. Aceton/Methanol (3:1) aus der Biomasse extrahiert. Der so erhaltene acetonische bzw. acetonisch/methanolische Extrakt wurde zur Bestimmung des Gesamtcarotinoidgehaltes (incl. Chlorophyll) bei 450 nm photometrisch vermessen (DAVIES, 1976).

Die Identifizierung der Carotinoide und Chlorophylle erfolgte mittels HPLC über den Vergleich derer Retentionszeiten und Absorptionsspektren mit denen von Referenzsubstanzen, während die prozentuale Zusammensetzung über die im Chromatogramm erhaltenen Peakflächen berechnet wurde.

**Tab. 22**

Gesamtcarotinoidgehalt und Gesamtchlorophyllgehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Chlorella vulgaris* gezüchtet am BHKW unter Zusatz verschiedener Konzentrationen an NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>Gesamt – carotinoid - gehalt %</b>	0,61	0,51	0,64	0,49	0,73
<b>Gesamt – chlorophyll - gehalt %</b>	0,31	0,32	0,34	0,25	0,38
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	473	686	1019	598	2225

**Tab 23**

Carotinoid- und Chlorophyllzusammensetzung (% des Gesamtcarotinoid- bzw. Chlorophyllgehaltes der Biomasse) von *Chlorella vulgaris* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3 % NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,5 % NHCO <sub>3</sub>	NL DSN 0,3 % NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,5 % NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>Cantaxanthin</b>	22,1	22,6	20,7	20,4	27,1
<b>Lutein</b>	41,6	48,4	45,5	48,3	46,4
<b>Zeaxanthin</b>	17,4	15,0	15,1	16,5	10,7
<b>Echinenon</b>	18,1	9,5	17,2	12,6	12,4
<b>α - Carotin</b>	0,3	1,8	0,5	0,8	-
<b>β - Carotin</b>	0,5	2,7	1,0	1,6	3,4
<hr/>					
<b>Chlorophyll a</b>	45,8	44,3	45,0	46,5	44,0
<b>Chlorophyll b</b>	54,2	55,7	55,0	53,5	56,0

Der Gesamtcarotinoidgehalt von *Chlorella vulgaris* erstreckte sich in den unterschiedlichen Nährmedien über einen Bereich von 0,49 % bis 0,73 % des Trockengewichtes der Biomasse, der Gesamtchlorophyllgehalt von 0,25 % bis 0,38 %. Die Abweichungen zwischen den einzelnen Medien waren also relativ gering.

*Chlorella vulgaris* gezüchtet in Nährlösung DSN (0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) ergab im Vergleich zu allen anderen Ansätzen mit 0,73 % sowohl den höchsten Gesamtcarotinoidgehalt als auch mit 0,38 % den höchsten Gesamtchlorophyllgehalt und mit 2225 mg/l die größte Biomasse-Ausbeute.

Die geringste Biomasse-Ausbeute wurde in Nährlösung DSN erzielt (473 mg/l); der Gesamtcarotinoidgehalt (0,61 %) und der Gesamtchlorophyllgehalt (0,31 %) lagen trotzdem über denen in Nährlösung DSN (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8), in der dagegen eine höhere Biomasse-Ausbeute erzielt wurde (1019 mg/l). Es bestand also kein Zusammenhang zwischen größerer Biomasse-Ausbeute und höherem Carotinoidgehalt in den verschiedenen Nährmedien.

Die Schwankungen innerhalb der Carotinoid- und Chlorophyllzusammensetzung waren relativ gering und unabhängig von der Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub>.

**Tab.24**

Gesamtcarotinoidgehalt und Gesamtchlorophyllgehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Chlamydomonas reinhardtii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH–Steuerung über Abgas–CO<sub>2</sub>–Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7
<b>Gesamt – carotinoid - gehalt %</b>	1,2	0,71	0,59	1,1	0,48
<b>Gesamt – chlorophyll - gehalt %</b>	0,15	0,37	0,1	0,1	0,05
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	232	333	150	267	131

**Tab 25**

Carotinoid- und Chlorophyllzusammensetzung (% des Gesamtcarotinoid- bzw. Chlorophyllgehaltes der Biomasse) von *Chlamydomonas reinhardtii* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7	NL DSN nach 14 Tg.: 0,5% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 7
<b>Cantaxanthin</b>	35,6	38,1	31,6	30,1	40,3
<b>Lutein</b>	33,5	33,9	45,1	32,0	43,6
<b>Zeaxanthin</b>	25,2	22,1	7,5	31,3	8,5
<b>Astaxanthin</b>	1,3	Spuren	0,7	1,2	2,1
<b>α - Carotin</b>	Spuren	Spuren	2,0	0,9	Spuren
<b>β - Carotin</b>	4,4	5,9	13,1	4,5	5,5
<b>Chlorophyll a</b>	49,4	85,5	54,5	13,0	37,3
<b>Chlorophyll b</b>	50,6	14,5	45,5	87,0	62,7

Der Gesamtcarotinoidgehalt von *Chlamydomonas reinhardtii* in Nährlösung DSN lag mit 1,2 % am höchsten im Vergleich zu den Carbonat- und CO<sub>2</sub>-haltigen Medien.

Die Kultivierung im Nährmedium zur optimalen Biomasse-Produktion (NL DSN, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 7) ergab mit 0,37 % den höchsten Gesamtchlorophyllgehalt von *Chlamydomonas reinhardtii*. Auch der Gesamtcarotinoidgehalt lag hier mit 0,71 % im Vergleich zur Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* in Nährlösung DSN (0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 7) höher. Die Biomasse wies bei Züchtung in letztgenanntem Medium einen Gesamtcarotinoidgehalt von 0,59 % des Trockengewichtes auf, bei verzögerter Zugabe des Carbonates und des CO<sub>2</sub> in gleicher Konzentration betrug der Carotinoidgehalt 0,48 % des Trockengewichtes der Biomasse.

Die aufgetretenen Schwankungen im Gesamtcarotinoid- und Chlorophyllgehalt konnten auch bei *Chlamydomonas reinhardtii* nicht in einen direkten Zusammenhang mit der Höhe der Biomasse-Ausbeute gebracht werden. Die in der Carotinoid- und Chlorophyllzusammensetzung auftretenden Abweichungen zwischen den einzelnen Medien ließen nicht auf einen Zusammenhang mit der Zufuhr von Abgas-CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub> schließen.

**Tab. 26**

Gesamtcarotinoidgehalt und Gesamtchlorophyllgehalt (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Monoraphidium braunii* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3 % NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>Gesamt – carotinoid – gehalt %</b>	0,58	0,28	0,45	0,6
<b>Gesamt – chlorophyll – gehalt %</b>	0,85	0,54	0,72	0,71
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	690	305	704	790

**Tab. 27**

Carotinoid- und Chlorophyllzusammensetzung (% des Gesamtcarotinoid- bzw. Chlorophyllgehaltes der Biomasse) von *Monoraphidium braunii* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> sowie mit oder ohne pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	Nährlösung (NL) DSN	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub>	NL DSN + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8	NL DSN 0,3% NaHCO <sub>3</sub> + Abgas - CO <sub>2</sub> ⇒ pH 8
<b>Lutein</b>	31,0	42,3	30,8	25,1
<b>Zeaxanthin</b>	39,3	44,0	39,6	31,9
<b>α - Carotin</b>	3,1	3,5	3,3	2,5
<b>β - Carotin</b>	26,6	10,2	26,3	40,5
<hr/>				
<b>Chlorophyll a</b>	95,4	95,7	95,4	95,2
<b>Chlorophyll b</b>	4,6	4,3	4,6	4,8

Sowohl der Gesamtcarotinoidgehalt (0,28 %) als auch der Gesamtchlorophyllgehalt (0,54 %) von *Monoraphidium braunii* lagen in Nährlösung DSN; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub> am niedrigsten. In diesem Nährmedium wurde außerdem auch die geringste Biomasse-Ausbeute erzielt (305 mg/l).

Die Biomasse-Ausbeute in Nährlösung DSN und Nährlösung DSN (Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) war relativ ähnlich (ca. 700 mg/l), wobei der Gesamtcarotinoidgehalt (0,58 %) und der Gesamtchlorophyllgehalt (0,85 %) im erstgenannten Medium etwas höher lagen als im letztgenannten (Carotinoidgehalt: 0,45 %; Chlorophyllgehalt: 0,72 %).

In Nährlösung DSN (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8), in der die höchste Biomasse-Ausbeute für *Monoraphidium braunii* erreicht wurde (790 mg/l), lagen sowohl der Gesamtcarotinoidgehalt (0,6 %) als auch der Gesamtchlorophyllgehalt (0,71 %) im Vergleich mit den anderen Medien relativ hoch.

Auch für *Monoraphidium braunii* gilt die gleiche Aussage wie für die anderen Chlorophyceen, daß keine Abhängigkeit der Carotinoid- bzw. Chlorophyllzusammensetzung vom Zusatz des NaHCO<sub>3</sub> oder Abgas-CO<sub>2</sub> abgeleitet werden konnte.

**Tab. 28**

Gesamtcarotinoidgehalt und Gesamtchlorophyllgehalt (Chlorophyll a) (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Spirulina maxima* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	<b>Spirulina Nährlösung (NL)</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 9</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 10</b>
<b>Gesamt – carotinoid – gehalt %</b>	0,15	0,13	0,18	0,23
<b>Gesamt – chlorophyll – gehalt (Chloroph. a) %</b>	0,1	0,15	0,2	0,25
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	513	777	522	739

**Tab 29**

Carotinoidzusammensetzung (% des Gesamtcarotinoidgehaltes der Biomasse) von *Spirulina maxima* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	<b>Spirulina Nährlösung (NL)</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 9</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 2 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 10</b>
<b>Myxo - xanthophyll</b>	21,8	13,5	16,8	19,4
<b>Zeaxanthin</b>	23,8	23,8	26,1	28,3
<b>Echinenon</b>	2,0	0,8	3,8	2,7
<b>β - Carotin</b>	52,4	61,9	53,3	49,6

**Tab. 30**

Gesamtcarotinoidgehalt und Gesamtchlorophyllgehalt (Chlorophyll a) (% des Trockengewichtes der Biomasse) von *Spirulina platensis* gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	<b>Spirulina Nährlösung (NL)</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 9</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 10</b>
<b>Gesamt – carotinoid - gehalt %</b>	0,29	0,25	0,19	0,27
<b>Gesamt – chlorophyll – gehalt (Chloroph. a) %</b>	0,35	0,4	0,21	0,42
<b>Biomasse- Ausbeute am 45. Wachstums- tag mg/l</b>	383	886	427	570

**Tab 31**

Carotinoidzusammensetzung (% des Gesamtcarotinoidgehaltes der Biomasse) von *Spirulina platensis* am 45. Wachstumstag gezüchtet am BHKW unter Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und mit pH-Steuerung über Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr

	<b>Spirulina Nährlösung (NL)</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 9</b>	<b>NL DSN 5 % Seewasser 3 % NaHCO<sub>3</sub> + Abgas - CO<sub>2</sub> ⇒ pH 10</b>
<b>Myxo - xanthophyll</b>	9,7	11,9	6,9	11,0
<b>Zeaxanthin</b>	19,4	24,6	13,4	21,7
<b>Echinenon</b>	2,1	2,4	1,6	1,8
<b>β - Carotin</b>	68,8	61,1	78,1	65,5

Auch für die von uns getesteten Cyanobakterien *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* konnte kein Zusammenhang zwischen Gesamtcarotinoidgehalt bzw. Gesamtchlorophyllgehalt und der Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub> zum Nährmedium festgestellt werden.

Bei der Züchtung von *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* in den unterschiedlichen Nährmedien waren sowohl die Schwankungen im Carotinoidgehalt (0,13 % bis 0,23 % für *Spirulina maxima*; 0,19 % bis 0,29 % für *Spirulina platensis*) als auch im Chlorophyllgehalt (0,1 % bis 0,25 % für *Spirulina maxima* ; 0,21 % bis 0,42 % für *Spirulina platensis*) relativ gering.

Auch die im Bereich der Carotinoidzusammensetzung aufgetretenen Schwankungen entstanden nicht durch den Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> bzw. Abgas-CO<sub>2</sub>.

### 5.3 Zusammenfassung und Diskussion

Die Untersuchung des Einflusses von Abgas-CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub> auf die Zusammensetzung der Biomassen der am BHKW gezüchteten Mikroalgen ergab hinsichtlich der jeweils optimalen Nährlösungen folgende Ergebnisse:

**Tab. 32**

Einfluß von  $\text{NaHCO}_3$  und Abgas- $\text{CO}_2$  auf den Protein-, Fettsäure-, Carotinoid- und Chlorophyllgehalt der am BHKW gezüchteten Mikroalgen

<b>Mikroalgen</b>	<b>Optimale Nährlösung</b>	<b>Steigerung der Biomasse – Ausbeute<sub>1</sub></b>	<b>Beeinflussung des Gesamt-Protein-Gehaltes<sub>1</sub></b>	<b>Beeinflussung des Gesamt-Fettsäure-Gehaltes<sub>1</sub></b>	<b>Beeinflussung des Gesamt-Carotinoid/Chlorophyll-Gehaltes<sub>1</sub></b>
<i>Chlorella vulgaris</i>	DSN 10 % + 0,5 % $\text{NaHCO}_3$ + $\text{CO}_2$ pH 8	370 %	+ 1,4 %	+ 136,3 %	+ 19,7 %/ + 22,6 %
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	DSN 10 % + $\text{CO}_2$ pH 7	44 %	+ 2,1 %	- 7,5 %	-40,8 %/ + 146,7 %
<i>Monoraphidium braunii</i>	DSN 10 % + 0,3 % $\text{NaHCO}_3$ + $\text{CO}_2$ pH 8	15 %	- 9,7 %	- 13,9 %	+ 3,4 %/ - 16,5 %
<i>Spirulina maxima</i>	DSN 5 % + 2 % $\text{NaHCO}_3$	52 %	- 30,8%	- 12,9 %	-13,3 %/ + 50 %
<i>Spirulina platensis</i>	DSN 5 % + 3 % $\text{NaHCO}_3$	131 %	- 15,6 %	- 4,6 %	-13,8 %/ + 14,3 %

<sub>1</sub> im Verhältnis zur Vergleichslösung ohne Zusatz von  $\text{CO}_2$  und  $\text{NaHCO}_3$

Tab. 32 macht deutlich, daß der Protein-, Fettsäure-, Carotinoid- und Chlorophyllgehalt bei den einzelnen Mikroalgen durch die Zugabe von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$  unterschiedlich beeinflusst wurde.

Die Biomasse-Ausbeute von *Chlamydomonas reinhardtii* konnte durch Züchtung der Mikroalge in Nährlösung DSN (10 % Seewasser, Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 7) im Vergleich zur Nährlösung DSN um 44 % gesteigert werden. Der Proteingehalt (ca. 60 % des Trockengewichtes der Biomasse) sowie der Fettsäuregehalt (ca. 5 % des Trockengewichtes der Biomasse) blieben trotz des Zusatzes von Abgas- $\text{CO}_2$  relativ konstant. Der Gesamtcarotinoidgehalt von *Chlamydomonas reinhardtii* sank von 1,2 % des Trockengewichtes der Biomasse auf 0,71 % um 40,8 %. Der Gesamtchlorophyllgehalt dagegen stieg um 146,7 % auf 0,37 % des Trockengewichtes der Biomasse an. Durch Zusatz von Abgas- $\text{CO}_2$  zum Nährmedium erzielte man also eine erhöhte Biomasse-Ausbeute (44 %) und darüber eine erhöhte Ausbeute an Proteinen, Fettsäuren, Carotinoiden und Chlorophyllen. Die Chlorophyllausbeute konnte durch direkte Erhöhung des Chlorophyllgehaltes der Biomasse durch Zugabe von Abgas- $\text{CO}_2$  bis pH 7 noch weiter erhöht werden, die Verringerung des Gesamtcarotinoidgehaltes um 40,8 % wurde entsprechend durch die erhöhte Biomasse-Ausbeute (44 %) kompensiert.

Auffällig für *Chlamydomonas reinhardtii* war der hohe Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure (35,1 % des Gesamtfettsäuregehaltes der Biomasse in Nährlösung DSN, Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 7), der mit 1,7 % des Trockengewichtes der Biomasse ebenfalls relativ hoch lag. Somit wäre *Chlamydomonas reinhardtii* gut geeignet, um die essentielle Fettsäure  $\alpha$ -Linolensäure, die auch in pharmazeutisch-medizinischer Hinsicht von Bedeutung ist (siehe 5.1), zu gewinnen. Die Ausbeute an  $\alpha$ -Linolensäure durch Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* in Nährlösung DSN, Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 7 könnte allerdings nur über die Erhöhung der Biomasse-Ausbeute in diesem Medium gesteigert werden.

Der Protein-, Fettsäure- und Chlorophyllgehalt von *Monoraphidium braunii* wurden durch Zusatz von 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$  und Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 8 jeweils um ca. 10 %-15 % erniedrigt. Diese Erniedrigung des Gehaltes an oben genannten Inhaltsstoffen konnte durch Steigerung der Biomasse-Ausbeute um 15 % bei Züchtung von *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN (0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 8) kompensiert werden.

Der Proteingehalt von 51,3 % des Trockengewichtes der Biomasse von *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN wurde durch Zusatz von 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$  und Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 8 zum Nährmedium auf 46,3 % des Trockengewichtes der Biomasse erniedrigt.

KÖRNER (1999) beschreibt, daß bei Pflanzen allgemein eine Reduktion des Eiweißgehaltes bei Züchtung unter erhöhtem CO<sub>2</sub> beobachtet wurde. „CO<sub>2</sub>-gedüngte“ Pflanzen enthalten laut KÖRNER (1999) weniger Blattproteine, auch die Stickstoffkonzentration ist entsprechend erniedrigt. Diese Aussage konnte für *Chlamydomonas reinhardtii* und *Chlorella vulgaris* anhand unserer Untersuchungen nicht bestätigt werden; bei ihnen blieb die Proteinkonzentration trotz des Zusatzes von NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> relativ konstant.

Der Gehalt an Fettsäuren blieb mit 5,9 % des Trockengewichtes der Biomasse trotz der Erniedrigung um 13,9 % bei Züchtung von *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8 im Vergleich mit den anderen untersuchten Mikroalgen relativ hoch. Der ursprüngliche Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure in Nährlösung DSN konnte von 18,4 % des Gesamtfettsäuregehaltes auf 23 % erhöht werden, der Gehalt an Linolsäure dagegen sank von 27,7 % in Nährlösung DSN auf 17,7 % in Nährlösung DSN (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8). Trotzdem würde sich auch *Monoraphidium braunii* aufgrund des Gehaltes an Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure zu deren Gewinnung anbieten. Man erzielt jedoch durch Züchtung von *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) keine Erhöhung der Ausbeute an diesen essentiellen Fettsäuren, da die geringe Steigerung der Biomasse-Ausbeute (15 %) durch die direkte Erniedrigung des Gesamtfettsäuregehaltes (-13,9 %) wieder aufgehoben wurde.

Auffällig für die Carotinoidzusammensetzung von *Monoraphidium braunii* war die Steigerung des Gehaltes an  $\beta$ -Carotin in Nährlösung DSN (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) auf 40,5 % des Gesamtcarotinoidgehaltes im Vergleich zur Nährlösung DSN (26,6 % des Gesamtcarotinoidgehaltes), wobei der Gesamtcarotinoidgehalt mit ca. 0,6 % des Trockengewichtes der Biomasse relativ konstant blieb.

*Spirulina platensis* erwies sich sowohl hinsichtlich der Steigerung der Biomasse-Ausbeute durch erhöhten Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium als auch hinsichtlich der Gewinnung der Inhaltsstoffe als geeignet, zusätzlich den CO<sub>2</sub>-Gehalt des BHKW-Abgases durch NaHCO<sub>3</sub>-Verwertung indirekt zu reduzieren.

*Spirulina maxima* zeigte sich unter Betrachtung dieser Aspekte, vor allem aber aufgrund der geringeren Steigerung der Biomasse-Ausbeute, als weniger geeignet.

Der Gesamtprotein- und Carotinoidgehalt von *Spirulina platensis* wurde in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub>) im Vergleich zur Spirulina-Nährlösung jeweils um ca. 15 % reduziert, was aber durch die Steigerung der Biomasse-Ausbeute in diesem Medium um 131 % kompensiert werden konnte.

Der Chlorophyllgehalt von *Spirulina platensis* wurde dagegen um ca. 15 % erhöht, der Fettsäuregehalt blieb unbeeinflusst von der veränderten Zusammensetzung des Mediums. Die beobachteten Schwankungen im Carotinoid- und Chlorophyll-Gehalt sind jedoch so gering, daß sie durchaus auch auf der eingesetzten Methodik beruhen könnten [Gesamtcarotinoidgehalt: 0,29 % in Spirulina-Nährlösung; 0,25 % in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub>) / Gesamtchlorophyllgehalt: 0,35 % in Spirulina-Nährlösung; 0,4 % in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub>) ]. RICHMOND (1988) gab für *Spirulina* einen Gesamtcarotinoidgehalt von 0,5 % der organischen Biomasse an.

Der Gesamtfettsäure- und Carotinoidgehalt von *Spirulina maxima* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>) wurden im Vergleich zur Spirulina-Nährlösung jeweils um ca. 13 % vermindert, der Proteingehalt sank um ca. 30 % im Vergleich zur Spirulina-Nährlösung. Der Chlorophyllgehalt dagegen stieg um 50 % an. Allerdings wird bei Betrachtung der Absolutwerte des Fettsäuregehaltes [2,41 % in Spirulina-Nährlösung; 2,1 % in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>)] und des Carotinoidgehaltes [0,15 % in Spirulina-Nährlösung; 0,13 % in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>)] deutlich, daß es sich bei den aufgetretenen Schwankungen ebenfalls um sehr geringe, evtl. durch die Methode bedingte Schwankungen handeln könnte.

Besonders interessant für die Nutzung von *Spirulina*-Arten als Nahrungsergänzungsmittel sowie zur Gewinnung pharmazeutisch-medizinischer Inhaltsstoffe ist deren Gehalt an  $\gamma$ -Linolensäure (DUBACQ and PHAM, 1993; TANTICHAROEN et al., 1994; QIUHUI, 1999). Er lag in unserer Versuchsreihe bei der Züchtung von *Spirulina platensis* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub>) bei ca. 10 % des Gesamtfettsäuregehaltes, für *Spirulina maxima* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>) ebenfalls bei ca. 10 %. BOROWITZKA (1988 b) gab für *Spirulina* einen Gehalt an  $\gamma$ -Linolensäure von bis zu 23,7 % des Gesamtfettsäuregehaltes an. *Spirulina* könnte somit aufgrund seiner bereits extensiven Züchtung als Quelle zur Gewinnung von  $\gamma$ -Linolensäure genutzt werden. Problematisch dabei sind allerdings die bei *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* auftretenden Schwankungen im Gesamtfettsäuregehalt von 7 % bis 22 % des Trockengewichtes der Biomasse (BOROWITZKA, 1988 b). RICHMOND (1988) gab für die unter Ernährungsaspekten betrachteten wichtigen Fettsäuren Linolsäure und  $\gamma$ -Linolensäure einen Gehalt von 1,24 % und 1,04 % des Trockengewichtes der Biomasse an. Die Werte für die in unseren Versuchen gezüchtete *Spirulina platensis* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub>) betragen bezogen auf das Trockengewicht der Biomasse 1,2 % für Linolsäure und 0,4 % für  $\gamma$ -

Linolensäure. Für *Spirulina maxima* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>) ergab sich für Linolensäure und  $\gamma$ -Linolensäure ein Gehalt von 0,4 % und 0,2 % des Trockengewichtes der Biomasse.

*Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* werden außerdem aufgrund des hohen Proteingehaltes ihrer Biomasse in größerem Maßstab gezüchtet. Die größten Schwankungen in der Zusammensetzung der Biomasse treten bei *Spirulina* im Gesamtproteingehalt auf, der im Bereich von 50 % bis 70 % des Trockengewichtes der Biomasse liegt (RICHMOND, 1988). Der Proteingehalt von *Spirulina platensis* lag in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 3 % NaHCO<sub>3</sub>) bei 67,5 % des Trockengewichtes der Biomasse, der von *Spirulina maxima* in Nährlösung DSN (5 % Seewasser, 2 % NaHCO<sub>3</sub>) bei ca. 30 % des Trockengewichtes der Biomasse. Cyanobakterien wie *Spirulina*-Arten sind besonders für die menschliche Nahrungsergänzung geeignet, da sie in ihrer Zellwand das Peptidoglycan Murein enthalten, das aus Aminosäuren und Zuckern besteht und somit im menschlichen Verdauungstrakt abgebaut werden kann (BECKER und VENKATARAMAN, 1982).

Der Proteingehalt von *Chlorella vulgaris* wurde durch die Veränderung der Zusammensetzung des Nährmediums nicht beeinflusst (+ 1,4 %), der Carotinoid- und Chlorophyllgehalt dagegen wurden jeweils um ca. 20 % erhöht. Besonders gravierend jedoch beeinflusste die Zugabe von NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub> den Gesamtfettsäuregehalt von *Chlorella vulgaris*, er wurde um 136 % gesteigert.

Die Erhöhung der Biomasse-Ausbeute bei Züchtung von *Chlorella vulgaris* in Nährlösung DSN (0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8) betrug 370 %. Die Gesamtausbeute an Proteinen, Fettsäuren, Carotinoiden und Chlorophyllen konnte also bereits über die Steigerung der Biomasse-Produktion erhöht werden, die Ausbeute an Fettsäuren wurde außerdem durch die prozentuale Erhöhung des Gesamtfettsäuregehaltes bei Zufuhr von CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium gesteigert.

Da *Chlorella vulgaris* z.B. für die Gewinnung von L-Prolin genutzt wird (BOROWITZKA, 1988 a), könnte die Ausbeute daran durch Züchtung dieser Mikroalge unter Zufuhr von CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub> in optimaler Konzentration über die dadurch erhöhte Biomasse-Ausbeute entsprechend gesteigert werden.

Die hohe Steigerung des Gesamtfettsäuregehaltes durch die entsprechende Zusammensetzung der Nährlösung zur Züchtung von *Chlorella vulgaris* führt insgesamt auch zu einer Erhöhung der Ausbeute an  $\alpha$ -Linolensäure. Der Gehalt an  $\alpha$ -Linolensäure v.a. in Chlorophyceen (BECKER, 1988) ist besonders wichtig sowohl für deren medizinische Nutzung als auch für deren Verwendung als Nahrungsergänzungsmittel.

OGBONNA et al. (1997) beschreiben eine weitere Möglichkeit zur Erhöhung des Gehaltes an Proteinen und Chlorophyll in der Biomasse von *Chlorella* sp. durch abwechselnde heterotrophe-autotrophe Kultivierung. Hierbei wurden die Algen zur heterotrophen Kultivierung zunächst in einem autotrophen Wachstumsmedium, das Glucose als organische Kohlenstoff-Quelle enthielt, gezüchtet. Der Protein- und Chlorophyllgehalt der Zellen konnte durch Belichtung der Kulturen und deren Belüftung mit CO<sub>2</sub>-angereicherter Luft am Ende der heterotrophen Phase erhöht werden. Durch anschließende abwechselnde Züchtung der Algen in einem konventionellen Schüttel-Fermenter (heterotroph) und einem Photobioreaktor (autotroph) konnten die heterotrophe und autotrophe Kultivierung der Algen weiterhin kombiniert werden.

Insgesamt zeigte sich, daß *Chlorella vulgaris* einerseits hinsichtlich der Gewinnung von Biomasse und der darin enthaltenen Inhaltsstoffe, andererseits in Bezug auf die Verwertung von Abgas-CO<sub>2</sub> eine sehr geeignete Mikroalge darstellte.

## 6 Verwertung von industrieller Abfall-Natronlauge

### 6.1 Einführung

Wie in Kap. 4 beschrieben, konnten die Algenkulturen durch die Versuchsanordnung im BHKW Heikendorf zur Bereitstellung von  $\text{CO}_2$  direkt mit Abgasen belüftet werden. Anschließend wurden die überschüssigen Abgase zur Gewinnung von  $\text{NaHCO}_3$  nach Passage der Algenkulturen in Natronlauge (12 %) weitergeleitet. Die Hauptversuche (Kap. 4) wurden mit gekaufter reiner  $\text{NaOH}$  durchgeführt. Die elektrische Energie, die für die Herstellung dieser Natronlauge benötigt wird, bedingt in einem Verbrennungskraftwerk etwa denselben  $\text{CO}_2$ -Ausstoß, den die  $\text{NaOH}$  dann wieder aus dem Abgas eines BHKW fixieren kann. Um die  $\text{CO}_2$ -Bilanz nun zugunsten der  $\text{CO}_2$ -Fixierung zu verschieben, ergab sich folgende für uns durchführbare Alternative:

Es sollte zur  $\text{CO}_2$ -Fixierung industrielle **Abfall-Natronlauge** verwendet werden. So wird z.B. Natronlauge industriell in unterschiedlichen Konzentrationen zu Reinigungszwecken verwendet. Die Lauge muß dann nach Gebrauch entsorgt werden, was Entsorgungskosten verursacht. Eine Nutzung solcher Abfall-Lauge zur  $\text{CO}_2$ -Fixierung würde also einerseits zur Verminderung des  $\text{CO}_2$ -Gehaltes in Abgasen führen und andererseits ein Beitrag zur Entsorgung der Abfall-Lauge sein.

In der nachfolgenden Versuchsreihe wurde zur Gewinnung des  $\text{NaHCO}_3$ -Niederschlages industrielle Abfall-Natronlauge der Firma PANO Verschlußsystem GmbH, Itzehoe verwendet, die dort zur Reinigung von Metallplatten genutzt wurde. Sie fiel somit als Abfallprodukt der Firma an und war aufgrund ihrer dortigen Verwendung entsprechend verschmutzt und schwarz gefärbt. Eine Analyse der in der Natronlauge enthaltenen Verunreinigungen (v.a. Fette und Metall-Abrieb) konnte allerdings im Rahmen dieser Dissertation nicht durchgeführt werden.

Es sollte in 250 ml-Kleinkulturen zunächst getestet werden, ob die von uns verwendeten Mikroalgen anstelle des aus reiner  $\text{NaOH}$  gewonnenen sauberen  $\text{NaHCO}_3$ -Niederschlages  $\text{NaHCO}_3$  verwerten konnten, welches aus der Abfall-Lauge durch Fällung erhalten wurde.

## 6.2 Abgaseinleitung in NaOH als Abfallprodukt eines metallverarbeitenden Betriebes

Die Versuche zur Gewinnung von  $\text{NaHCO}_3$  aus Abfall-Natronlauge wurden in der Versuchshütte des BHKW Heikendorf durchgeführt. Die Abgase des BHKW wurden direkt in die Algenkulturen eingeleitet und anschließend nach Passage der Kulturen in ca. 20 Liter der Abfall-Natronlauge eingeleitet. Das  $\text{CO}_2$  der Abgase führte zur Fällung eines bräunlichen Niederschlages von  $\text{NaHCO}_3$ , der nach 3-wöchiger Abgaseinleitung abfiltriert und luftgetrocknet wurde (s. Abb. 68)

### Abb. 68

Aus Abfall-Natronlauge gewonnenes  $\text{NaHCO}_3$



## 6.3 Reinigung des $\text{NaHCO}_3$ -Niederschlages

In 250-ml-Kleinkulturen unter Zusatz des aus der stark verschmutzten Abfall-Lauge gewonnenen, nicht aufgereinigten  $\text{NaHCO}_3$  hatte sich für alle unter 6.4 aufgeführten Mikroalgen in den entsprechenden Medien gezeigt, daß sie unter diesen Bedingungen nicht anwuchsen.

Deshalb wurde das  $\text{NaHCO}_3$ , das noch dunkelbraun gefärbt war, in folgenden Schritten

aufgereinigt, bis es nur noch eine leicht bräunliche Färbung aufwies:

- 5 x Waschen des Niederschlages mit demineralisiertem Wasser
- 3 x Umkristallisation des Niederschlages mit Ethanol

Das Waschen des Niederschlages mit demineralisiertem Wasser sowie die Umkristallisation aus Ethanol wurden in diesem Umfang durchgeführt, da der Niederschlag nach jedem einzelnen Reinigungsschritt immer noch braun gefärbt war. Erst am Ende des gesamten oben aufgeführten Reinigungsprozesses zeigte das  $\text{NaHCO}_3$  nur noch eine leicht bräunliche Färbung. Durch die Verwendung von Ethanol (sehr teures Lösungsmittel) zur Umkristallisation würde die Aufarbeitung des  $\text{NaHCO}_3$ -Niederschlages sehr teuer. Man müßte deshalb testen, ob die Mikroalgen z.B. auch nach Zusatz von nur aus demineralisiertem Wasser umkristallisiertem  $\text{NaHCO}_3$  anwachsen, da das Verfahren mit jedem weiteren Reinigungsschritt teurer wird. Da im Rahmen dieser Arbeiten nur die prinzipielle Verwendbarkeit von Abfall-Natronlauge getestet werden sollte, wurde der Aufreinigungsprozeß nicht weiter variiert.

Mit dem aufgereinigten  $\text{NaHCO}_3$  wurden die nachfolgenden 250 ml-Ansätze durchgeführt, um zu prüfen, ob die von uns am BHKW gezüchteten Mikroalgen (Kap.4) in einem Medium, daß dieses, immer noch, relativ unreine  $\text{NaHCO}_3$  enthält, anwachsen.

#### **6.4 250 ml-Kleinkulturen mit dem erhaltenen $\text{NaHCO}_3$**

Es wurden von den unten aufgeführten Mikroalgen jeweils 250 ml-Kleinkulturen in folgender Zusammensetzung hergestellt.

- *Chlorella vulgaris* :  
Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$
- *Chlamydomonas reinhardtii*:  
Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 %  $\text{NaHCO}_3$
- *Monoraphidium braunii*:  
Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$

- *Spirulina maxima*:  
Nährlösung DSN 5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>
- *Spirulina platensis*:  
Nährlösung DSN 5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub>

Die Kulturen wurden unter Belichtung mit Weißlicht (60-100 µmol Photonen m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) und Belüftung durch ständiges leichtes Schütteln auf einer Schüttelmaschine im Labor gezüchtet. Für jede Mikroalge, die sich in Kap. 4 aufgrund der Verwertung von Abgas-CO<sub>2</sub> und NaHCO<sub>3</sub> als geeignet für die Züchtung am BHKW erwiesen hatte, wurde zunächst eine Nährlösung angesetzt, die die jeweilige optimale NaHCO<sub>3</sub>-Konzentration enthielt. So sollte getestet werden, ob die Mikroalgen überhaupt unter Zusatz des aus Abfall-Natronlauge gewonnenen NaHCO<sub>3</sub> anwachsen.

Es ergaben sich folgende Resultate:

- Die Ansätze von *Chlorella vulgaris* und *Chlamydomonas reinhardtii* wuchsen nach 4 Tagen sichtbar an und zeigten innerhalb der nachfolgenden 14 Tage ein gutes Wachstumsverhalten
- Der Ansatz von *Monoraphidium braunii* wuchs innerhalb von 10 Tagen nicht an.
- Die Ansätze von *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* wuchsen nicht an.  
Aufgrund des sehr hohen NaHCO<sub>3</sub>-Gehaltes war die Nährlösung braun gefärbt, denn auch nach den in 6.3. beschriebenen Aufreinigungsschritten zeigte das NaHCO<sub>3</sub> noch eine bräunliche Färbung.

## 6.5 Zusammenfassung und Diskussion

Die Versuche zur Verwertung von industrieller Abfall-Natronlauge sollten im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter ausgeführt werden, so daß an dieser Stelle lediglich geschlußfolgert werden kann, daß *Chlorella vulgaris* und *Chlamydomonas reinhardtii* auch in Anwesenheit des aus industrieller Abfall-Natronlauge gewonnenen NaHCO<sub>3</sub> wachsen können, aber erst nach aufwendiger Reinigung des NaHCO<sub>3</sub>. Das bedeutet, daß Abfall-Natronlaugen solcher Art prinzipiell verwendbar wären. Die Anwendung würde aber durch die anscheinend notwendige erhebliche Aufarbeitung stark verteuert werden.

Es müßte nun in weiterführenden Versuchen unter Verwendung des aus Abfall-Natronlauge gewonnenen  $\text{NaHCO}_3$  getestet werden, ob die Ergebnisse hinsichtlich der Steigerung der Biomasse-Produktion bei Züchtung der Mikroalgen im optimalen Nährmedium (unter Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  sowie mit oder ohne  $\text{CO}_2$ -Zufuhr) im Vergleich zur Nährlösung ohne Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und Abgas- $\text{CO}_2$  (Kap. 4) in 8 Liter-Ansätzen direkt am BHKW bestätigt werden können.

Trotz des geringen Gehaltes (0,3 %) an  $\text{NaHCO}_3$  wuchs *Monoraphidium braunii* im oben beschriebenen 250 ml-Ansatz nicht an. Auch *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* starben unter den angegebenen Versuchsbedingungen ab.

Folgende Alternativen, die in weiterführenden Versuchen überprüft werden müßten, könnten u.U. zu einer Verbesserung der Ergebnisse führen:

- Weitere Aufreinigung des  $\text{NaHCO}_3$ -Niederschlages (dadurch aber auch weitere Kostensteigerung)
- Verwendung von Abfall-Natronlauge aus anderen Betrieben, deren Verschmutzung evtl. geringer ist bzw. von den Algen toleriert wird (organische Verbindungen?).

Eine grundsätzlich andere hypothetische Alternative im Hinblick auf die  $\text{CO}_2$ -Bilanz wäre die Verwendung von reiner Natronlauge, welche unter Einsatz von solcher Elektroenergie erzeugt wird, die nicht  $\text{CO}_2$  freisetzt, also unter Verwendung von Elektroenergie aus Solar- und Windkraft-Anlagen. Es wäre z.B. denkbar, daß in Ländern mit hoher Sonneneinstrahlung und Zugang zum Meer zuerst durch Meerwasserverdunstung auf bekannte Weise  $\text{NaCl}$  gewonnen wird und anschließend durch solar-betriebene Elektrolyse daraus  $\text{NaOH}$  (sowie  $\text{HCl}$  als Zusatzprodukt). Diese  $\text{NaOH}$  könnte dann zur  $\text{CO}_2$ -Fixierung in hochindustrialisierten Ländern eingesetzt werden. Solch ein Verfahren ist zur Zeit jedoch nur ein hypothetisches Denk-Modell. Ob es sich kostenmäßig realisieren ließe, sei dahingestellt.

## D

# ZUSAMMENFASSUNG UND SCHLUSSBETRACHTUNG

5 Cyanobakterien und 8 Chlorophyceen, die aufgrund ihrer pharmazeutisch-medizinisch nutzbaren Inhaltsstoffe von Interesse waren, wurden auf die Beeinflussung ihres Wachstums durch Zusatz von  $\text{CO}_2$  und  $\text{NaHCO}_3$  zum Nährmedium untersucht.

Da ein Ziel dieser Arbeit darin bestand,  $\text{CO}_2$  aus den Abgasen eines Blockheizkraftwerkes als Kohlenstoffquelle zu verwenden und dadurch den  $\text{CO}_2$ -Ausstoß in die Atmosphäre zu reduzieren, wurde zunächst das  $\text{NaHCO}_3$  durch Einleitung der Abgase des Blockheizkraftwerkes einerseits in reine gekaufte NaOH und andererseits später durch Einleitung in industrielle Abfall-Natronlauge gewonnen. Es wurde den Nährmedien der Mikroalgen in den darauffolgenden Versuchen sowohl im Labor als auch direkt am BHKW in entsprechender Konzentration zugefügt.

Von den Cyanobakterien zeichneten sich bei einer Vorauswahl v.a. *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* durch ein besseres Wachstumsverhalten bei Zugabe einer höheren Konzentration an  $\text{NaHCO}_3$  zum Nährmedium im Vergleich zur normalen Spirulina-Nährlösung aus.

Von den Chlorophyceen erwiesen sich aufgrund ihres besseren Wachstums bei Zusatz von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$  *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii* und *Monoraphidium braunii* als geeignet für weitere Versuche, um eine Nährlösung für deren optimale Biomasse-Produktion bei möglichst hohem Verbrauch an  $\text{NaHCO}_3$  und/oder  $\text{CO}_2$  zu entwickeln.

Die ausgewählten Mikroalgen wurden zunächst jeweils in 8 Liter-Ansätzen im Labor gezüchtet, wobei jede Alge in Medien mit unterschiedlichen Konzentrationen an  $\text{NaHCO}_3$  und unterschiedlichen pH-Steuerungen über  $\text{CO}_2$ -Zufuhr kultiviert wurde. Der Vergleich der Biomasse-Ausbeuten der verschiedenen Ansätze jeweils einer Mikroalge am 45. Wachstumstag ergab für jede Mikroalge die Nährlösung, die zur optimalen Biomasse-Produktion führte. Es zeigte sich, daß *Spirulina maxima*, *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii* und *Monoraphidium braunii* zusätzlich angebotenes  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$  in unterschiedlicher Menge für eine höhere Biomasse-Produktion verwerten konnten. Es wurde tendenziell deutlich, daß man die Mikroalgen aufgrund der Laborversuche hinsichtlich der Verwertung von zusätzlich im Nährmedium angebotenen

anorganischen Kohlenstoff vorläufig in 3 Kategorien einteilen konnte, die sich vor allem durch die pH-Werte der betreffenden Medien unterschieden:

**1. Kategorie** (nur NaHCO<sub>3</sub>-Verwertung):

- *Spirulina maxima* (Nährlösung DSN 5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>)
  - *Spirulina platensis* (Nährlösung DSN 5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub>)
- ⇒ pH der Nährlösungen: ca. 10

**2. Kategorie** (Verwertung von NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub>):

- *Chlorella vulgaris* (Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8)
- *Chlamydomonas reinhardtii* (Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 7)
- *Monoraphidium braunii* (Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8)

**3. Kategorie** (nur CO<sub>2</sub>-Verwertung):

- *Chlamydomonas reinhardtii* (Nährlösung DSN 10 % Seewasser; CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 7)

Die Cyanobakterien *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* tolerierten im Gegensatz zu den Chlorophyceen einen höheren Gehalt an NaHCO<sub>3</sub> im Nährmedium (2 % bzw. 3 %) und nutzten diesen zur Steigerung ihrer Wachstumsrate. Es zeichnete sich jedoch ab, daß eine direkte Verwertung von CO<sub>2</sub> nicht möglich war, so daß *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* nur das indirekt gebundene CO<sub>2</sub> in Form von NaHCO<sub>3</sub> umsetzen konnten.

Die geeignete Nährlösung für *Chlorella vulgaris* und *Monoraphidium braunii* zur Erzielung einer optimalen Biomasse-Produktion ähnelten sich in der Zusammensetzung, beide konnten sowohl NaHCO<sub>3</sub> als auch CO<sub>2</sub> verwerten und zeigten ihr pH-Optimum bei pH 8.

*Chlamydomonas reinhardtii* konnte anhand der Laborversuche noch nicht eindeutig einer Kategorie zugeordnet werden. Im Gegensatz zu den beiden anderen Chlorophyceen lag das pH-Optimum für *Chlamydomonas reinhardtii* bei pH 7. *Chlamydomonas reinhardtii*, *Monoraphidium braunii* und *Spirulina maxima* erreichten unter optimalen Bedingungen am 45. Wachstumstag ähnliche Biomasse-Mengen (ca. 600 bis 800 mg/l), während die Ausbeute

von *Spirulina platensis* mit ca. 350 mg/l deutlich darunter lag. *Chlorella vulgaris* erzielte mit 2150 mg/l die höchste Ausbeute. Dadurch wurde im Vergleich mit den anderen Mikroalgen auch die Gesamtausbeute an pharmazeutisch-medizinisch nutzbaren Inhaltsstoffen bei *Chlorella vulgaris* am stärksten erhöht.

Nach diesen Laborversuchen wurden *Spirulina maxima*, *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii* und *Monoraphidium braunii* direkt am Blockheizkraftwerk gezüchtet. Den Nährmedien wurden wiederum verschiedene Konzentrationen an NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub> über unterschiedliche pH-Steuerung zugeführt. Die verwendeten Mikroalgen konnten bei Züchtung am Blockheizkraftwerk den gleichen Kategorien zugeordnet werden wie in den Laborversuchen. Auch für *Chlamydomonas reinhardtii* war nun eine eindeutige Zuordnung zur Kategorie 3 möglich, so daß sich aufgrund aller Versuche die folgende endgültige Einteilung ergab:

**1. Kategorie** (nur NaHCO<sub>3</sub>-Verwertung):

- *Spirulina maxima* (Nährlösung DSN 5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub>)
- *Spirulina platensis* (Nährlösung DSN 5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub>)  
⇒ pH der Nährlösungen: ca. 10

**2. Kategorie** (Verwertung von NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub>):

- *Chlorella vulgaris* (Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8)
- *Monoraphidium braunii* (Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8)

**3. Kategorie** (nur Abgas-CO<sub>2</sub>-Verwertung):

- *Chlamydomonas reinhardtii* (Nährlösung DSN 10 % Seewasser; Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 7)

Die Biomasse-Ausbeute für *Spirulina maxima* und *Spirulina platensis* konnte durch zusätzliche Belüftung mit Abgas-CO<sub>2</sub>, wie im Laborversuch ebenfalls bestätigt, auch in der Versuchsreihe am Blockheizkraftwerk nicht erhöht werden. So sind diese Cyanobakterien nicht geeignet, den CO<sub>2</sub>-Gehalt der Abgase des BHKW durch deren direkte Einleitung in die Algenkulturen zu reduzieren. Sie könnten aber durch indirekten Verbrauch des Abgas-CO<sub>2</sub> in

Form von  $\text{NaHCO}_3$  einen Beitrag zur Erniedrigung des  $\text{CO}_2$ -Ausstoßes in die Umwelt leisten. Die Steigerung der Biomasse-Ausbeute im Vergleich zur normalen Spirulina-Nährlösung lag für *Spirulina maxima* bei 52 %, für *Spirulina platensis* bei 131 %. Somit könnte durch eine größere Ausbeute an nutzbarer Biomasse über eine Erhöhung des Angebotes an anorganischem Kohlenstoff im Medium auch eine Erhöhung der Gesamtausbeute an pharmazeutisch-medizinisch nutzbaren Inhaltsstoffen erzielt werden.

Die von uns verwendeten Chlorophyceen *Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas reinhardtii* und *Monoraphidium braunii* konnten das Abgas- $\text{CO}_2$  ebenso für eine erhöhte Wachstumsrate nutzen wie das im Labor verwendete synthetische  $\text{CO}_2$ .

Das optimale Medium für die Züchtung von *Chlamydomonas reinhardtii* war Nährlösung DSN 10 % Seewasser, Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 7. Es zeigte sich, daß *Chlamydomonas reinhardtii* im Medium gelöstes  $\text{NaHCO}_3$  nicht zusätzlich für eine Erhöhung der Biomasse-Ausbeute verwerten konnte.

Im Gegensatz dazu konnten die Chlorophyceen *Chlorella vulgaris* und *Monoraphidium braunii* neben  $\text{CO}_2$  auch  $\text{NaHCO}_3$  zur Steigerung der Wachstumsrate nutzen. *Monoraphidium braunii* zeigte bei Züchtung in Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 %  $\text{NaHCO}_3$ , Abgas- $\text{CO}_2$ -Zufuhr bis pH 8 am BHKW gegenüber Nährlösung DSN nur eine Steigerungsrate der Biomasse-Produktion um 15 %. Die größte Steigerung der Biomasse-Ausbeute aller verwendeten Mikroalgen am BHKW erzielte wie im Laborversuch *Chlorella vulgaris* (370 %).

So stellten sich anhand unserer Versuchsreihe am Blockheizkraftwerk *Chlorella vulgaris* (Kategorie 2) und *Spirulina platensis* (Kategorie 1) aufgrund der hohen Steigerungsraten der Biomassen als am besten geeignet heraus.

Durch die Erhöhung der Biomasse-Ausbeute könnte auch eine größere Gesamtmenge an Inhaltsstoffen extrahiert werden. Inwiefern die Zusammensetzung der am BHKW erhaltenen Biomassen hinsichtlich der pharmazeutisch-medizinisch relevanten Inhaltsstoffe (Proteine, Lipide, Carotinoide, Chlorophylle) durch die externe Zufuhr von  $\text{CO}_2$  und/oder  $\text{NaHCO}_3$  zum Nährmedium geändert wurde, wurde durch Untersuchung der verschiedenen Biomassen ermittelt. Der Protein-, Fettsäure-, Carotinoid- und Chlorophyllgehalt wurde bei den einzelnen Mikroalgen durch die Zugabe von  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{CO}_2$  unterschiedlich beeinflusst:

Der Proteingehalt sowie der Gesamtfettsäuregehalt der Biomasse von *Chlamydomonas reinhardtii* blieben trotz der Zufuhr von Abgas- $\text{CO}_2$  zum Medium relativ konstant. Durch Zufuhr von Abgas- $\text{CO}_2$  konnte jedoch insgesamt über die Erhöhung der Biomasse-Ausbeute (44 %) auch eine erhöhte Ausbeute an allen Inhaltsstoffen erzielt werden. Die

Chlorophyllausbeute konnte außerdem durch direkte Erhöhung des Gesamtchlorophyllgehaltes der Biomasse durch Zufuhr von Abgas-CO<sub>2</sub> bis pH 7 noch weiter erhöht werden, die Verringerung des Gesamtcarotinoidgehaltes um 40,8 % wurde entsprechend durch die erhöhte Biomasse-Ausbeute kompensiert.

Der Protein-, Fettsäure- und Chlorophyllgehalt von *Monoraphidium braunii* wurde durch Zusatz von 0,3 % NaHCO<sub>3</sub> und Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8 jeweils um ca. 10-15 % erniedrigt. Diese Erniedrigung des Gehaltes an oben genannten Inhaltsstoffen konnte durch Steigerung der Biomasse-Ausbeute um 15 % bei Kultivierung von *Monoraphidium braunii* in diesem Medium kompensiert werden. Der Gesamtcarotinoidgehalt von *Monoraphidium braunii* in Nährlösung DSN 10 % Seewasser; 0,3 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8 blieb im Vergleich zu Nährlösung DSN relativ konstant (+ 3,4 %).

*Spirulina platensis* erwies sich sowohl hinsichtlich der Steigerung der Biomasse-Ausbeute (131 %) durch erhöhten Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium als auch hinsichtlich der Gewinnung der Inhaltsstoffe als geeignet, zusätzlich den CO<sub>2</sub>-Gehalt des BHKW-Abgases durch NaHCO<sub>3</sub>-Verwertung indirekt zu reduzieren. Der Gesamtcarotinoid- und Chlorophyllgehalt sowie der Gesamtfettsäuregehalt von *Spirulina platensis* blieben relativ unbeeinflusst von der veränderten Zusammensetzung des Mediums. Der im Vergleich zur normalen *Spirulina* Nährlösung um ca. 15 % erniedrigte Gesamtproteingehalt von *Spirulina platensis* in Nährlösung DSN 5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub> wurde durch die Steigerung der Biomasse-Ausbeute in diesem Medium (131 %) deutlich kompensiert. So ergab sich für *Spirulina platensis* über die Steigerung der Biomasse-Ausbeute in Nährlösung DSN 5 % Seewasser; 3 % NaHCO<sub>3</sub> insgesamt eine Erhöhung der Ausbeute aller untersuchten pharmazeutisch-medizinisch wichtigen Inhaltsstoffe.

Während der Gesamtfettsäure- und Carotinoidgehalt von *Spirulina maxima* ebenfalls relativ unbeeinflusst vom erhöhten Zusatz an NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium blieben, sank der Proteingehalt der Biomasse um ca. 30 % im Vergleich zur *Spirulina* Nährlösung. Der Chlorophyllgehalt dagegen stieg um 50 % an. Auch hier konnte die Erniedrigung des Gesamtproteingehaltes von *Spirulina platensis* in Nährlösung DSN 5 % Seewasser; 2 % NaHCO<sub>3</sub> um 30 % durch die Steigerung der Biomasse-Ausbeute (52 %) kompensiert werden. Insgesamt zeigte sich aber, daß *Spirulina maxima* weniger geeignet war als *Spirulina platensis*, zusätzlich angebotenes NaHCO<sub>3</sub> effektiv durch Erhöhung der Biomasse-Ausbeute (*Spirulina maxima*: 52 %; *Spirulina platensis*: 131 %) und der Konzentration der entsprechenden Inhaltsstoffe zu verwerten und darüber den CO<sub>2</sub>-Gehalt des BHKW-Abgases zu vermindern.

Die Erhöhung der Biomasse-Ausbeute von *Chlorella vulgaris* in Nährlösung DSN; 0,5 % NaHCO<sub>3</sub>, Abgas-CO<sub>2</sub>-Zufuhr bis pH 8 betrug bei Züchtung am BHKW 370 %. Die Ausbeute an Proteinen, Fettsäuren, Carotinoiden und Chlorophyllen konnte also bereits über die Steigerung der Biomasse-Ausbeute gravierend erhöht werden. Die Ausbeute an Carotinoiden (+ 19,7 %) und Chlorophyllen (+ 22,6 %) sowie die Ausbeute an Fettsäuren (+ 136 %) wurden außerdem durch direkte Erhöhung des Gesamtcarotinoid-, Chlorophyll- und Fettsäuregehaltes durch Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> und CO<sub>2</sub> zum Nährmedium gesteigert. Insgesamt zeigte sich, daß *Chlorella vulgaris* sowohl hinsichtlich der Gewinnung der Biomasse und der darin enthaltenen pharmazeutisch-medizinisch wichtigen Inhaltsstoffe als auch in Bezug auf die Verwertung von Abgas-CO<sub>2</sub> die am besten geeignete Mikroalge darstellte.

Zur Optimierung der CO<sub>2</sub>-Bilanz zugunsten der CO<sub>2</sub>-Fixierung durch die Mikroalgen sollte weiterhin untersucht werden, ob die von uns am BHKW gezüchteten Mikroalgen auch in einem Medium anwachsen, welches aus industrieller Abfall-Natronlauge gewonnenes NaHCO<sub>3</sub> enthält. Aus den 250 ml-Kleinkulturen ergab sich, daß *Chlorella vulgaris* und *Chlamydomonas reinhardtii* auch in Anwesenheit dieses unreinen NaHCO<sub>3</sub> wachsen konnten. Allerdings war doch eine relativ aufwendige Reinigung dieses NaHCO<sub>3</sub> vonnöten. *Monoraphidium braunii* (0,3 % NaHCO<sub>3</sub>), *Spirulina maxima* (2 % NaHCO<sub>3</sub>) und *Spirulina platensis* (3 % NaHCO<sub>3</sub>) starben unter Zusatz dieses NaHCO<sub>3</sub> zum Nährmedium ab.

Aufgrund unserer Versuche wurde deutlich, daß Algen-Massenkulturen zwar prinzipiell zur CO<sub>2</sub>-Entsorgung aus Abgasen beitragen können, jedoch bei weitem nicht den gesamten CO<sub>2</sub>-Ausstoß eines Blockheizkraftwerkes entsorgen können. Das bedeutet, Algen-Massenzucht nur zum Zweck der CO<sub>2</sub>-Entsorgung wäre sinnlos und unökonomisch. Sie könnte dagegen sinnvoll sein, wenn man als Hauptziel der Algenmassenzucht die Gewinnung nutzbarer „Hochpreis-Biochemikalien“ wie z.B. Carotinoide, Sterole, hochungesättigte Fettsäuren u.a.m. verfolgen würde und als Nebenziel die Entsorgung der Abgase. Die Verwertung des Abgas-CO<sub>2</sub> durch die Algenkulturen würde außerdem zu einer Erhöhung der Biomasse-Ausbeuten und dadurch der Gesamtmenge an pharmazeutisch-medizinisch nutzbaren Inhaltsstoffen führen.

Unsere Arbeiten zeigten weiterhin, daß Natronlauge im Prinzip ein guter Abgas-CO<sub>2</sub> Akzeptor wäre, der mit CO<sub>2</sub> ein vielseitig verwertbares Produkt liefert (NaHCO<sub>3</sub>). In unseren Versuchen konnten durch Zusatz von NaHCO<sub>3</sub> zu den Nährmedien der Mikroalgen in optimaler Konzentration die Biomasse-Ausbeuten und damit wiederum die Gesamtmenge an

Inhaltsstoffen gesteigert werden. Bei Verwendung von NaOH zur Abgas-CO<sub>2</sub>-Bindung spielt jedoch die Öko-Bilanz (hier: CO<sub>2</sub>-Bilanz) eine entscheidende Rolle: Bei Verwendung von NaOH, für deren Herstellung CO<sub>2</sub>-freisetzende Verbrennungs-Energien eingesetzt wurden, brächte die Nutzung dieser NaOH keinen Vorteil: Die bei der NaOH-Erzeugung freigesetzte CO<sub>2</sub>-Menge würde etwa der CO<sub>2</sub>-Menge entsprechen, welche diese Natronlauge wieder binden könnte.

Zur Umgehung dieses Problems gäbe es aber zwei Auswege:

- Verwendung von industrieller Abfall-Natronlauge (Kap.6)
- Verwendung von NaOH, die unter Einsatz von **nicht**-CO<sub>2</sub>-freisetzenden Energien , also unter Verwendung von Elektroenergie aus Solar-und Windkraft-Anlagen, hergestellt wurde. Das gilt unter diesem Aspekt auch für Kernenergie.

Eine Verminderung der bereits jetzt bedenklich hohen und weiter zunehmenden CO<sub>2</sub>-Konzentration in der Luft wäre nur dadurch zu realisieren, daß man alle dafür nur denkbaren Möglichkeiten nutzt. Zwei, wenn auch aufgrund der in dieser Dissertation dargestellten Sachverhalte, letztlich nur relativ kleine Möglichkeiten, wurden hier aufgezeigt:

- Direkte Entsorgung durch Einleitung von Abgas-CO<sub>2</sub> in Algenkulturen
- Indirekte Entsorgung durch Einleitung von Abgas-CO<sub>2</sub> in NaOH und Verwendung des dadurch gebildeten NaHCO<sub>3</sub>.

Der hauptsächliche Ausweg kann aber nur in einer Reduzierung der Verbrennung von fossilen Brennstoffen und der Hinwendung zu den o.g. alternativen Energien liegen.

## E

## LITERATUR

**ABDULLAEV, A.; ALIEV, K.A.; ABDURAKHMANOVA, Z.N.; DZHUMAEV, B.B.; FARKHADI, Z.N.; NASYROV, Y.u.S. (1994)**

The effect of high CO<sub>2</sub> concentration on the characteristics of photosynthetic metabolism of C<sub>3</sub> plants.

Fiziologiya i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii, 26 (2): 131-135

**AMOROSO, G.; SÜLTEMEYER, D. ; THYSSEN, C.; FOCK, H.P. (1998)**

Uptake of HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and CO<sub>2</sub> in cells and chloroplast from the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Dunaliella tertiolecta*.

Plant.Physiol., 116: 193-201

**ANAGA, A.; ABU, G.O. (1996)**

A laboratory-scale cultivation of *Chlorella* and *Spirulina* using waste effluent from a fertilizer company in Nigeria.

Bioresource Technology, 58 (1): 93-95

**ARBEITSGEMEINSCHAFT FÜR SPARSAMEN UND UMWELTFREUNDLICHEN ENERGIEVERBRAUCH E.V., ASUE (ca. 1991, nicht angegeben)**

Blockheizkraftwerke-Grundlagen.

Verlag Rationeller Erdgaseinsatz

**BACH, W.(1996)**

Energie und Klima.

Spektrum der Wissenschaft, 7: 30-40

**BADGER, M.R.; ANDREWS, T.J. (1982)**

Photosynthesis and inorganic carbon usage by the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp..

Plant Physiol., 70: 517-523

**BADGER, M.R. (1987)**

The CO<sub>2</sub> concentrating mechanism in aquatic phototrophs.

In: The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise (Hatch, M.D.; Boardman, N.K.; eds.), Academic press, New York, 10: 219-274

**BADGER, M.R.; PRICE, G.D. (1989)**

Carbonic anhydrase associated with the cyanobacterium *Synechococcus* PCC 7942.

Plant Physiol., 89: 51-60

**BADGER, M.R.; PRICE, G.D. (1992)**

The CO<sub>2</sub> concentrating mechanism in cyanobacteria and microalgae.

Physiologia Plantarum, 84: 606-615

**BADGER, M.R.; PRICE, G.D.; SÜLTEMEYER, D. (1999)**

Carbon acquisition in marine and freshwater cyanobacteria.

Conference on Carbon Acquisition in Marine Macroalgae, Uppsala, Sweden, 1999,

Abstracts S.7

**BAUERNFEIND, J.C.; BRUBACHER, G.B.; KLÄUI, H.M.; MARUSICH, W.L. (1971)**

Use of carotenoids.

In: Carotenoids(Isler, O.; ed.), Birkhäuser Verlag 1971

**BECKER, E.W. (1988)**

Micro-algae for human and animal consumption.

In: Micro-algae biotechnology, (Borowitzka, M.A.; Borowitzka, L.J.; eds.)

Camebridge University Press, 1988: 222-256

**BECKER, E.W.; VENKATARAMAN; L.V. (1982)**

Biotechnology and Exploitation of Algae-The Indian Approach.

Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit GmbH, Eschborn 1982: 96-119

**BELKIN, S.; BOUSSIBA, S. (1991 a)**

Resistance of *Spirulina platensis* to ammonia at high ph values.

Plant and Cell Physiology, 32 (7): 953-958

**BELKIN, S.; BOUSSIBA, S. (1991 b)**

High internal pH conveys ammonia resistance in *Spirulina platensis*.

Bioresource Technology, 38 (2-3): 167-170

**BENEMANN, J.R. (1992)**

Microalgae aquaculture feeds.

Journal of Applied Phycology, 4: 233-245

**BENNETT, A.; BOGORAD, L. (1973)**

Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga.

The Journal of Cell Biology, 58: 419-435

**BERKOWITZ, G.A.; CHEN, C.; GIBBS, M. (1983)**

Stromal acidification mediates in vivo water stress inhibition of nonstomatal-controlled photosynthesis.

Plant Physiology, 72 (4), 1123-1126

**BEUF, L.; KURANO, N.; MIYACHI, S. (1999)**

Rubisco activase transcript (*rca*) abundance increases when the marine unicellular green alga *Chlorococcum littorale* is grown under high-CO<sub>2</sub> stress.

Plant Mol. Biol., 41 (5): 627-635

**BOROWITZKA, M.A. (1988 a)**

Vitamins and fine chemicals from micro-algae.

In: Micro-algal biotechnology, (Borowitzka, M.A.; Borowitzka, L.J.; eds.)

Cambridge University Press, 1988: 153-196

**BOROWITZKA, M.A. (1988 b)**

Fats, oils and hydrocarbons.

In: Micro-algal biotechnology, (Borowitzka, M.A.; Borowitzka, L.J.; eds.)

Cambridge University Press, 1988: 257-287

**BOROWITZKA, M.A. (1992)**

Algal biotechnology products and processes-matching science and economics.  
Journal of Applied Phycology, 4 (3): 267-279

**BOROWITZKA, M.A. (1995)**

Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds.  
Journal of Applied Phycology, 7: 3-15

**BOROWITZKA, M.A.;BOROWITZKA, L.J. (1988)**

*Dunaliella*.

In: Micro-algal biotechnology, (Borowitzka, M.A.; Borowitzka, L.J.; eds.)  
Camebridge University Press, 1988: 27-58

**BOYLE, C.D.; READE, A.E. (1983)**

Characterization of two extracellular polysaccharides from marine bacteria.  
Appl. Environm. Microbiol., 46: 392

**BROWN, L.M.; RIEMER, P.W.F.; SMITH, A.Y.(1996)**

Uptake of carbon dioxide from flue gas by microalgae.  
Energy Conversion and Management, 37 (6-8): 1363-1367

**CAMITZ, A.; PEDERSEN, M.(1999)**

Bicarbonate utilization by *Porphyra umbilicalis* (Rhodophyta).  
Conference on Carbon Acquisition in Marine Macroalgae, Uppsala, Sweden, 1999,  
Abstracts S.10

**CANNELL, R.J.P. (1990)**

Algal Biotechnology.  
In: Applied Biochemistry and Biotechnology, (Weetall, H.; ed.)  
The Humana Press Inc., 1990: 85-105

**CARMICHAEL, W.W. (1992)**

Cyanobacteria secondary metabolites-the cyanotoxins. A review.  
Journal of Applied Bacteriology, 72: 445-459

**CHANDGOTHIA, S.; SRIVASTAVA, P. (1994)**

Inorganic nutrient requirements of *Spirulina subsalsa* oerst ex gomont for mass cultivation.  
Journal of Phytological Research, 7 (2): 97-102

**CHANG, Z.Z.; ZHU, W.B.; YE, X.M.; FANG, Y.; ZHANG, J.Y. (1999)**

The possibility of nitrifying bacteria inoculation in spirulina mass culture.  
Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 15 (3): 191-192

**CHENG, H.C.; CHEN, Y.C.; LIN, L.P. (1999)**

Control of yield and composition of long chain polyunsaturated fatty acids by modulating salinity and temperature for culturing fresh water and marine algae *Chlorella minutissima*.  
Journal of the Chinese Agricultural Chemical Society, 37 (3): 319-327

**COHEN, Z. (1986)**

Products from microalgae.  
In: CRC Handbook of Microalgae Mass Culture (Richmond, A.; ed.)  
CRC Press Boca Raton, Florida: 421-454

**COLEMAN, J.R.; SEEMANN, J.R.; BERRY, J.A.(1982)**

RuBP carboxylase in carboxysomes of blue-green algae.  
Carnegie Inst. Wash. Yr. Book, 81: 83-87

**CRUTZEN, P.J. (1999)**

Verschmutzung und Selbstreinigung der Atmosphäre.  
Naturwiss.Rdsch., 52.Jg., 1: 1-5

**CZERPAK, R.; BAJGUZ, A. (1997)**

Stimulatory effect of auxins and cytokinins on carotenes, with differential effects on xanthophylls in the green alga *Chlorella pyrenoidosa* chick.  
Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 66 (1): 41-46

**DAVIES, B.H. (1976)**

Carotenoids. In: Chemistry and biochemistry of plant pigments, Second Edition, Vol. 2  
(Goodwin, T.W.;ed.)

Academic Press London New York San Francisco, 1976: 38-165

**DILLON, J.C.; PHAN, P.A. (1993)**

Spirulina as a source of proteins in human nutrition.

Bulletin de l'Institut Oceanographique (Monaco), 0 (12): 103-107

**DISCH, A.; SCHWENDER, J.; MULLER, C.; LICHTENTHALER, H.K.; ROHMER, M. (1998)**

Distribution of the mevalonate and glyceraldehyde phosphate/pyruvate pathways for isoprenoid biosynthesis in unicellular algae and the cyanobacterium *Synechocystis* PCC 6714.

Biochem. Journal, 333 (2): 381-388

**DUBACQ, J.P.; PHAM, Q.K. (1993)**

Biotechnology of *Spirulina* lipids: A source of gamma-linolenic acid.

Bulletin de l'Institut Oceanographique (Monaco), 0 (12): 59-64

**DUDA, V.S.; MAKOVETSKA, G.F.; VOITSEKHOVA, M.B. (1994)**

Experience of using chlorococcal algae for purification of sugar factory wastewaters.

Tsukor Ukraini, 3: 19-21

**DURAND, C.H. (1999)**

Production of *Spirulina* biomass rich in gamma-linolenic acid and sulfolipids.

Bulletin de l'Institut Oceanographique (Monaco), 0 (19): 541-546

**DURRANI, F.R.; KHALIL, I.A. (1989)**

Green algae as a protein source in animal feed.

Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research, 32 (2): 117-119

**ELZENGA, J.T.M.; PRINS, H.B.A.; STEFELS, J. (2000)**

The role of extracellular carbonic anhydrase activity in inorganic carbon utilization of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): A comparison with other marine algae using the isotopic disequilibrium technique.

Limnology and Oceanography, 45 (2): 372-380

**FALCH, B.S.; KÖNIG, G.M.; WRIGHT, A.D.; STICHER, O.; ANGERHOF, C.K.; PEZZUTO, J.M.; BACHMANN, H. (1995)**

Biological activities of cyanobacteria: evaluation of extracts and pure compounds.

Planta Medica, 61: 321-328

**FEHRMANN, C. (1993)**

Cadmium-Adsorption an Mikroalgen.

Dissertation Kiel

**FEHRMANN, C.; POHL, P. (1993)**

Cadmium adsorption by non-living biomass of microalgae grown in axenic mass culture.

Journal of Applied Phycology, 5 (6): 555-562

**FERRIS, F.G.; FRATTON, C.M.; GERITS, J.P.; SCHULTZE, L.S.; SHERWOOD, L.B. (1995)**

Microbial precipitation of a Strontium calcite phase at a groundwater discharge zone near Rock Creek, British Columbia, Canada.

Geomicrobiology Journal, 13 (1): 57-67

**FETT, J.P.; COLEMAN, J.R. (1994)**

Regulation of periplasmic carbonic anhydrase expression in *Chlamydomonas reinhardtii* by acetate and pH.

Plant Physiology, 106 (1): 103-108

**FISCHER, D. (1996)**

Untersuchungen über den Einfluß von Züchtungsfaktoren auf die Bildung, Zusammensetzung und das rheologische Verhalten der Exopolysaccharide ausgewählter Cyanobakterien.

Dissertation, Kiel

**FISCHER, D.; SCHLÖSSER, U.G.; POHL, P. (1997)**

Exopolysaccharide production by cyanobacteria grown in closed photobioreactors and immobilized using white cotton towelling.

Journal of Applied Phycology, 9(3): 205-213

**FRIDLAND, L; KAPLAN, A; REINHOLD, L. (1996)**

Quantitative evaluation of the role of a putative CO<sub>2</sub>-scavenging entity in the cyanobacterial CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism.

Biosystems, 37(3): 229-238

**GAILFUß, M. (1997)**

Effektive CO<sub>2</sub>-Inhibitoren.

Energie Spektrum 6/97, 12: 16-19

**GAO, K.; ARUGA, Y.; ASADA, K.; MIYOHARA, M. (1993)**

Influence of enhanced CO<sub>2</sub> on growth and photosynthesis of the red algae *Gracilaria* sp. and *G.chilensis*.

Journal of Applied Phycology, 5(6): 563-571

**GARCES, R.; MANCHA, M. (1993)**

One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues.

Analytical Biochemistry, 211: 139-143

**GORDILLO, F.J.L.; JIMENEZ, C.; FIGUEROA, F.L.; NIELL, F.X. (1998)**

Effects of increased atmospheric CO<sub>2</sub> and N supply on photosynthesis, growth and cell composition of the cyanobacterium *Spirulina platensis* (Arthrospira).

Journal of Applied Phycology, 10 (5): 461-469

**GORDILLO, F.J.L.; NIELL, F.X.; FIGUEROA, F.L. (1999)**

Sources and sinks of carbon fixation on *Ulva rigida* cultured under different CO<sub>2</sub> and N levels.

Conference on Carbon Acquisition in Marine Macroalgae, Uppsala, Sweden, 1999, Abstracts

**GOUVEIA, L.; GOMES, E.; EMPIS, J. (1997)**

Use of *Chlorella vulgaris* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, diets to enhance muscle pigmentation.

Journal of Applied Aquaculture, 7 (2): 61-70

**GOUVEIA, L.; VELOSO, V.; REIS, A.; FERNANDES, H; NOVAIS, J.; EMPIS, J. (1996)**

Evolution of pigment composition in *Chlorella vulgaris*.

Bioresource Technology, 57 (2): 157-163

**GOYAL, A.; TOLBERT, N.E. (1991)**

U.V.inhibition of the dissolved inorganic carbon concentrating mechanism(s) and alternative respiration in unicellar green algae.

Impact of global climatic changes on photosynthesis and plant productivity. Proceedings of the Indo-US Workshop, New Delhi, India (Abrol, Y.P.; Govindjee; Wattal, P.N.; Ort, D.R.; Gnanam, A.; Teramura, A.H.; eds.): 95-107

**HAHN-DEINSTROP, E. (1995)**

Dünnschichtchromatographie im DAB, 1. Teil.

Deutsche Apotheker Zeitung, 135 (28): 27-32

**HANAGATA, N.; TAKEUCHI, T.; FUKUJU, Y.; BARNES, D.J.; KARUBE, I. (1992)**

Tolerance of microalgae to high CO<sub>2</sub> and high temperature.

Phytochemistry, 31 (10): 3345-3348

**HERDER-LEXIKON DER BIOLOGIE (1994 a)**

Stichwort: Carotinoide.

Spektrum Akademischer Verlag

**HERDER-LEXIKON DER BIOLOGIE (1994b)**

Stichwort: Phycobiliproteine.

Spektrum Akademischer Verlag

**HERRERO, C.; ABALDE, J.; FABREGAS, J. (1993)**

Nutritional properties of four marine microalgae for albino rats.

Journal of Applied Phycology, 5 (6): 573-580

**HOFFMANN; M. (1991)**

Untersuchungen über den Einfluß von Züchtungsfaktoren auf die Bildung und Zusammensetzung der Exopolysaccharide von Cyanobakterien (Blaualgen), Grün- und Rotalgen.

Dissertation, Kiel

**HÖTZEL, D. (1996)**

β-Carotin: Fakten, Vermutungen, Trugschlüsse.

Pharmazeutische Zeitung, 141 (15): 48-50

**KAEMPFFEL, U.; BERGHAUSEN, K.H.; LIEFLANDER, M. (1995)**

Eignen sich Cyanobakterien für die menschliche Ernährung? Ein Beitrag über die essentiellen Aminosäuren von Cyanobakterien.

Deutsche Lebensmittel Rundschau, 91 (2): 50-5

**KAY, R.A. (1991)**

Microalgae as food and supplement.

CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 30 (6): 555-573

**KENYON, C.N.; RIPPKA, R.; STANIER, R.Y. (1972)**

Fatty acid composition and physiological properties of some filamentous blue-green algae.

Archiv für Mikrobiologie, 83: 216-236

**KIELER NACHRICHTEN, 29.11.1997**

„China bleibt auf die Kohle angewiesen“

**KIELER NACHRICHTEN, 03.11.1998**

„Klimaschutz: Machen alle Länder mit?“

**KINDL, M. (1995)**

Neue Erkenntnisse zu Betacaroten.

Pharmazeutische Zeitung, 140 (27): 42

**KLEKNER, V.; KOSARIC, N. (1992)**

Degradation of phenols by algae.

Environmental Technology, 13 (5): 493-501

**KOCH, H.P.; HÜHNLER, G. (1995)**

Chlorophyll: Blattgrün als Naturarzneimittel.

Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart

**KÖRNER, C. (1999)**

Biologische Folgen der CO<sub>2</sub>-Erhöhung.

Biologie in unserer Zeit, 29 (6): 353-363

**KOHLHAASE, M. (1987)**

Axenische Massenzucht von Blaualgen.

Dissertation, Kiel

**KOHLHAASE, M.; POHL, P. (1988)**

Saturated and unsaturated sterols of nitrogen-fixing blue-green algae (cyanobacteria).

Phytochemistry, 27: 1735-1740

**LEE, C.M.; LU, C.S.; LU, W.M.; CHEN, P.C. (1995)**

Removal of nitrogenous compounds from wastewaters using immobilized cyanobacteria *Anabaena* CH3.

Environmental Technology, 16 (8): 701-713

**LEISTNER, E.; BRECKLE, S.-W. (2000)**

Pharmazeutische Biologie-Grundlagen und Systematik.

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart

**LINSCHIEDT, B.; TRUGER, A. (1998)**

Instrumente für eine ökologische Marktwirtschaft.

Spektrum der Wissenschaft 8: 30-33

**MAGUAS, C.; GRIFFITHS, H.; BROADMEADOW, M.S.J. (1995)**

Gas exchange and carbon isotope discrimination in lichens: Evidence for interactions between CO<sub>2</sub>-concentrating mechanisms and diffusion limitation.

Planta (Heidelberg), 196 (1): 95-102

**MAJEAU, N.; COLEMAN, J.R. (1996)**

Effect of CO<sub>2</sub> Concentration on Carbonic Anhydrase and Ribulose-1,5-Biphosphate Carboxylase/Oxygenase Expression in Pea.

Plant Physiol., 112: 569-574

**MARCUS, Y. (1997)**

Distribution of inorganic carbon among its component species in cyanobacteria: Do cyanobacteria in fact actively accumulate inorganic carbon?

Journal of Theoretical Biology, 185 (1): 31-45

**MARSALEK, B.; ROJICKOVA, R. (1996)**

Stress factors enhancing production of algal exudates: a potential selfprotective mechanism?

Zeitschrift für Naturforschung, Section C, Biosciences, 51 (9-10): 646-650

**MARTIN, M. (1987)**

Axenische Massenkultur und Analyse der Inhaltsstoffe von nicht stickstofffixierenden Cyanobakterien.

Dissertation, Kiel

**MARTINEZ, F.; VILLAREJO, A.; ROMAN, M.J.; MARCO, E.; RODRIGUEZ, M.L.; ORUS, M.J. (1999)**

Environmental and nutritional factors affecting CCM induction.

Conference on Carbon Acquisition in Marine Macroalgae, Uppsala, Sweden, 1999, Abstract

**MATSUDA, Y.; BOZZO, G.G.; COLMAN, B. (1998)**

Regulation of dissolved inorganic carbon transport in green algae.

Canadian Journal of Botany, 76 (6): 1072-1083

**MERCADO, J.M.; NIELL, F.X. (1999)**

Uptake of CO<sub>2</sub> in air by *Bostrychia scorpioides*.

Conference on Carbon Acquisition in Marine Macroalgae, Uppsala, Sweden, 1999, Abstracts

**MERCHANT, R.E.; RICE, C.D.; YOUNG, H.F. (1990)**

Dietary *Chlorella pyrenoidosa* for patients with malignant glioma: effects on immunocompetence, quality of life and survival.

Phytotherapy Research, 4 (6): 220-231

**MILLER, A.G.; ESPIE, G.S.; CANVIN, D.T. (1990)**

Physiological aspects of CO<sub>2</sub> and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport by cyanobacteria: a review.

Can. J. Bot. 68: 1291-1302

**MORCK, H. (1991)**

Algen-Lieferanten für Hilfsstoffe in der Lebensmittelindustrie und Pharmazie.

Pharmazeutische Zeitung, 136 (39): 9-12

**MORITA, E.; ABE, T.; TSUZUKI, M.; FUJIWARA, S.; SATO, N.; HIRATA, A.; SONOIKE, K.; NOZAKI, H. (1998)**

Presence of the CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism in some species of the pyrenoid-less free-living algal genus *Chloromonas* (Volvocales, Chlorophyta).

Planta Berlin, 204 (3): 269-276

**MORONAY, J.V.; KITAYAMA, M.; TOGASAKI, R.K.; TOLBERT, N.E. (1987)**

Evidence for inorganic carbon transport by intact chloroplasts of *Chlamydomonas reinhardtii*.

Plant Physiol. 83: 460-463

**MORONAY, J.V, ADAMS, J.E.; COLOMBO, S.; LAVIGNE, A.C., POLLOCK, S.V.; SOMANCHI, A. (1999)**

Identification of genes involved in the CCM in *Chlamydomonas reinhardtii*.

Conference on Carbon Acquisition in Marine Macroalgae, Uppsala, Sweden, 1999, Abstract

**NAIR, S.K.; SHEHANA, R.S.; GIRIJA, V.K.; MEENAKUMARI, K.S. (1993)**

Sensitivity of blue green algae to soil reaction – a factor affecting its efficient use as biofertilizer.

Journal of Tropical Agriculture, 31 (1): 116-118

**NELIS, H.J. (1987)**

Bio-Analytische Studie van Ketocarotinoiden met Behulp van Vloeistofchromatografie en Photodiode Array Absorptiedetectie.

Habilitation, Gent, Nederlande

**NELIS, H.J.; DE LEENHER, A.P. (1983)**

Isocratic Nonaqueous Reversed-Phase Liquid Chromatography of Carotinoids.

Analytical Chemistry, 55: 270-275

**NELIS, H.J.; DE LEENHER, A.P. (1988)**

Reversed-Phase Liquid Chromatography of Astacene.

Journal of Chromatography, 452: 535-542

**OGBONNA, J.C.; MASUI, H.; TANAKA, H. (1997)**

Sequential heterotrophic/autotrophic cultivation - an efficient method of producing *Chlorella* biomass for health food and animal feed.

Journal of Applied Phycology, 9 (4): 359-366

**OKAY, O.S.; MORKOC, E.; GAINES, A. (1994)**

Effects of two herbicidal wastewaters on *Chlorella* sp. and *Phaeodactylum tricorutum*.

Environmental Pollution, 84 (1): 1-6

**PALMQVIST, K.; RAMAZANOV, Z.M.; GARDISTROM, P.; SAMUELSSON, G. (1990)**

Adaption mechanism in microalgae to conditions of carbon dioxide-limited photosynthesis: Possible role of carbonic anhydrase.

Fiziologiya Rastanii (Moscow), 37 (5): 912-920

**PALMQVIST, K.; OGREN, E.; LERNMARK, U. (1994)**

The CO<sub>2</sub>-concentrating mechanisms is absent in the green alga *Coccomyxa*: A comparative study of photosynthetic CO<sub>2</sub> and light responses of *Coccomyxa*, *Chlamydomonas reinhardtii* and barley protoplasts.

Plant Cell and Environment, 17 (1): 65-72

**PALMQVIST, K.; SULTEMEYER, D.; BALDET, P.; ANDREWS, T.J.; BADGER, M.R. (1995)**

Characterisation of inorganic carbon fluxes, carbonic anhydrase(s) and ribulose-1,5-biphosphate carboxylase-oxygenase in the green unicellular alga *Coccomyxa*.

Planta (Heidelberg), 197 (2): 352-361

**PARK, Y.I.; KARLSSON, J.; ROJDESTVENSKI, J.; PRONINA, N.; OQUIST, G.; SAMUELSSON, G. (1999)**

Role of a novel photosystem II-associated carbonic anhydrase in photosynthetic carbon assimilation in *Chlamydomonas reinhardtii*.

FEBS-Lett., 444 (1) :102-105

**PATTERSON, G.M.L.; BAKER, K.K.; BALDWIN, C.L.; BOLIS, C.M.; CAPLAN, F.R.; LARSEN, L.K.; LEVINE, I.A.; MOORE, R.E.; NELSON, C.S.; TSCHAPPAT, K.D.; TUANG, G.D.; BOYD, M.R.; CARDELLINA II, J.H.; COLLINS, R.P.; GUSTAFSON, K.R.; SNADER, K.M.; WEISLOW, O.S.; LEWIN, R.A. (1993)**

Antiviral activity of cultured blue-green algae (Cyanophyta).

Journal of Phycology, 29: 125-130

**PIORRECK; M. (1983)**

Untersuchungen über die Bildung von Proteinen, Lipiden und Fettsäuren in mikroskopischen Süßwasseralgen.

Dissertation, Kiel.

**POHL, P. (1982)**

Lipids and fatty acids of microalgae.

In: CRC-Handbook of Biosolar Resources, Vol. I, Part 1 (Zaborsky, O.R.; Mitsui, A.; Black, C.C.; eds.)

CRC-Press, Boca Raton: 383-404

**POHL, P.; KOHLHASE, M.; KRAÜTWURST, BAASCH, K.-H. (1987)**

An inexpensive inorganic medium for the mass cultivation of freshwater microalgae.

Phytochemistry, 26 (6): 1657-1659

**POLEC, B.; KOWALSKA, M.; GOZDEK, K. (1992)**

Trials on intensifying the self-purification of sugar wastewaters in accumulator reservoirs with regard to production of algal biomass.

Gazeta Cukrownicza, 100 (8): 153-157

**PRICE, G.D.; BADGER, M.R. (1989)**

Ethoxzolamide inhibition of CO<sub>2</sub> uptake in the cyanobacterium *Synechococcus* PCC 7942 without apparent inhibition of internal carbonic anhydrase activity.

Plant. Physiol. 89: 37-43

**PRICE, G.D.; COLEMAN, J.R.; BADGER, M.R. (1992)**

Association of carbonic anhydrase activity with carboxysomes isolated from the cyanobacterium *Synechococcus* PCC 7942.

Plant. Physiol., 100: 784-793

**PRICE, G.D.; SÜLTEMEYER, D.; KLUGHAMMER, B.; LUDWIG, M.; BADGER, M.R. (1998)**

The functioning of the CO<sub>2</sub> concentrating mechanism in several cyanobacterial strains: A review of general physiological characteristics, genes, proteins and recent advances.

Canadian Journal of Botany, 76 (6): 973-1002

**PRONINA, N.A.; ROGOVA, N.B.; FURNADZHIEVA, S.; KLYACHKO-GURVICH, G.L. (1998)**

Effect of the concentration of carbon dioxide on the lipid fatty acid composition of *Chlamydomonas reinhardtii* CiA-3 deficient with respect to the carbon dioxide-concentrating mechanism.

Fiziologiya Rastenii Moscow, 45 (4): 529-538

**PRONINA, N.A.; SEMENENKO, V.E. (1992)**

The role of pyrenoid in concentration, generation and fixation of carbon dioxide in chloroplasts of microalgae.

Fiziologiya Rastenii (Moscow), 39 (4): 723-732

**QIUHUI, H. (1999)**

Supercritical carbon dioxide extraction of *Spirulina platensis* component and removing the stretch.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47 (7): 2705-2706

**RAMAZANOV, Z.; RAWAT, M.; HENK, M.C.; MASON, C.B.; MATTHEWS, S.W.; MORONEY, J.V. (1994)**

The induction of the CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism is correlated with the formation of the starch sheath around the pyrenoid of *Chlamydomonas reinhardtii*.

Planta (Heidelberg), 195 (2): 210-216

**RAMAZANOV, Z.; RAWAT, M.; MASON, C.B.; MORONEY, J.V. (1996)**

Ultrastructural and biochemical adaption of algal cells to limiting CO<sub>2</sub>-concentrations.

Scientia Marina 60 (1): 141-148

**REINHOLD, L.; ZVIMAN, M.; KAPLAN, A. (1989)**

A quantitative model for inorganic carbon fluxes and photosynthesis in cyanobacteria.

Plant Physiol. Biochem., 27: 945-954

**REITZ, M. (1986)**

Die Alge im System der Pflanzen.

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York

**RENAUD, S.M.; PARRY, D.L.; THINH, L.V. (1994)**

Microalgae for use in tropical aquaculture. 1. Gross chemical and fatty acid composition of twelve species of microalgae from the Northern Territory, Australia.

Journal of Applied Phycology, 6 (3): 337-345

**RICHMOND, A. (1988)**

*Spirulina*.

In: Micro-algal biotechnology, (Borowitzka, M.A.; Borowitzka, L.J.; eds.)

Cambridge University Press: 85-121

**ROUND, F.E. (1975)**

Biologie der Algen.

Georg Thieme Verlag Stuttgart

**SASA, T.; SUDA, S.; WATANABE, M.M.; TAKAICHI, S. (1992)**

A yellow marine *Chlamydomonas*: Morphology and pigment composition.

Plant And Cell Physiology, 33 (5): 527-534

**SAXENA, P.N.; AHMAD, M.R.; SHYAM, R.; AMLA, D.V: (1983)**

Cultivation of *Spirulina* in sewage for poultry feed.

Experientia, 39: 1077-1081

**SCHLÖSSER, U.G. (1994)**

SAG-Sammlung von Algenkulturen at the University of Göttingen.

Botanica Acta, 107 (3): 113-186

**SCHULZE, C. (2000)**

Gewinnung und Identifizierung von nutzbaren Verbindungen aus den Nährlösungen und Biomassen von Mikroalgen.

Dissertation, Kiel

**SHANG-HAO, L. (1988)**

Cultivation and Application of microalgae in people`s republic of China.

In: Algal Biotechnology, (Stadler, T.; Mollion, J.; Verdus, M.-C.; Karamanos, Y; Morvan, H.; Christiaen, D.; eds.)

Elsevier Applied Science, London: 41-54

**SHIRAIWA, Y.; GOYAL, A.; TOLBERT, N.E. (1993)**

Alkalization of the medium by unicellular green algae during uptake of dissolved inorganic carbon.

Plant and Cell Physiology, 34 (5): 649-657

**SILVERMANN, D.N. (1991)**

The catalytic mechanism of carbonic anhydrase.

Can. J. Bo., 69: 1070-1078

**SILVERMANN, D.N.; VINCENT, S.H. (1983)**

Proton transfer in the catalytic mechanism of carbonic anhydrase.

Crit. Rev. Biochem., 14: 207-255

**STRASBURGER-LEHRBUCH DER BOTANIK FÜR HOCHSCHULEN (1998)**

34. Auflage, neubearbeitet von Sitte, P.; Ziegler, H.; Ehrendorfer, F.; Bresinsky, A.

Gustav Fischer Verlag

**SULTEMEYER, D.F., KLOCK, G.; KREUTZBERG, K.; FOCK, H.P. (1988)**

Photosynthesis and apparent affinity for dissolved inorganic carbon by cells and chloroplasts of *Chlamydomonas reinhardtii* grown at high and low CO<sub>2</sub> concentrations.

Planta, 176: 256-260

**SULTEMEYER, D.F.; MILLER, A.G.; ESPIE, G.S.; FOCK, H.P.; CANVIN, D.T. (1989)**

Active CO<sub>2</sub> transport by the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*.

Plant Physiol., 87: 1213-1219

**SÜLTEMEYER, D.; KLUGHAMMER, B.; BADGER, M.R.; PRICE, G.D. (1998)**

Fast induction of high-affinity HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport in cyanobacteria.

Plant Physiol., 116: 183-192

**SÜLTEMEYER, D.; AMOROSO, G.; BURKHARDT, ST. (1999)**

Inorganic carbon acquisition in marine microalgae.

Conference on Carbon Acquisition in Marine Macroalgae, Uppsala, Sweden, 1999, Abstract

**TANTICHAROEN, M.; REUNGJITCHACHAWALI, M.; BUNNAG, B.; VONKTAVEESUIK, P.; VONSHAK, A.; COHEN, Z.**

Optimization of gamma-linolenic acid (GLA) production of *Spirulina platensis*.

Journal of Applied Phycology, 6 (3): 295-300

**TEUSCHER, E.; LINDEQUIST, U.; MUNDT, S. (1992)**

Cyanobakterien, Quellen biogener Wirkstoffe.

Pharmazeutische Zeitung Wissenschaft, 137 (2): 57-69

**THIELMANN, J.; TOLBERT, N.E.; GOYAL, A.; SENGER, H. (1990)**

Two systems for concentrating carbon dioxide and bicarbonate during photosynthesis by *Scenedesmus*.

Plant Physiology (Bethesda), 92 (3): 622-629

**VAN DEN HOEK, C.; JAHNS, H.M.; MANN, D.G. (1993)**

Algen.

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York

**VENKATARAMAN, L.V.; SOMASEKARAN, T.; BECKER, E.W. (1994)**

Replacement value of blue-green alga (*Spirulina platensis*) for fishmeal and a vitamin-mineral premix for broiler chicks.

British Poultry Science, 35 (3): 373-381

**VOLK, R.B. (1996)**

Kontrollierte Massenzucht von Mikroalgen unter zwei Gesichtspunkten: Zwei-Stufen-Kultivierung zur Steigerung der Carotinoid- und Phycobiliprotein-Produktion und Suche nach Wachstumsinhibitoren aus Mikroalgen-Nährlösungen.

Dissertation, Kiel

**VOLOKITA, M.; ZENVIRTH, D.; KAPLAN, A.; REINHOLD, L. (1984)**

Nature of the inorganic carbon species actively taken up by the cyanobacterium *Anabaena variabilis*.

Plant Physiol., 76: 599-602

**WILLIAMS, T.G.; COLMAN, B.**

The effect of pH and dissolved inorganic carbon on external carbonic anhydrase activity in *Chlorella saccharophila*.

Plant, Cell and Environment, 19: 485-489

**WINDER, T.L.; ANDERSON, J.C.; SPALDING, M.H. (1992)**

Translational regulation of the large and small subunits of ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase during induction of the carbon dioxide-concentrating mechanism in *Chlamydomonas reinhardtii*.

Plant Physiology (Bethesda), 98 (4): 1409-1414

**YU, J.J.; LI, H.F.; ZHOU, H.Q. (1999)**

Fatty acid composition of total, neutral and polar lipids of ten marine microalgae.

Acta Hydrobiologica Sinica, 23 (5): 481-488

## **Danksagung**

Meinem Doktorvater, Prof. Dr. P. Pohl, möchte ich ganz herzlich für die Bereitstellung des Themas danken. Er stand in seiner menschlichen Art jederzeit für Fragen, fruchtbare Diskussionen und zahlreiche, nicht nur fachliche, Anregungen zur Verfügung.

Großer Dank gilt Britta Nilsson, die mich, auch während meines einjährigen Erziehungsurlaubes, liebevoll bei der Pflege meiner Algen unterstützt hat.

Ganz herzlich danke ich Dr. Rainer-Bertram Volk für die Hilfe bei diversen Fragen der Computertechnik.

Dr. Birgit Classen danke ich besonders für die harmonische Zusammenarbeit, vor allem im PB 1-Praktikum.

Bei Kalle Bock bedanke ich mich für seine unermüdliche Hilfe bei allen Problemen, die in unserer Versuchshütte am BHKW auftraten.

Meinen weiteren Kolleginnen und Kollegen, insbesondere Dr. Walter Binder, Dr. Dieter Fischer, Dr. Barbara Momsen, Frauke Rodde, Andrea Roller, Anette Schelz, Dr. Christina Schulze und Maren Wack gilt mein Dank für die gute Zusammenarbeit bei der Semesterarbeit.

Ferner möchte ich mich bei Marion Dirks, Dietrich Christiansen und Carsten Thor-Straten, die immer ein nettes Wort auf den Lippen hatten, bedanken.

Besonders herzlich danke ich meinem Mann und meiner Tochter, die mich durch ihre große Geduld und Unterstützung während der Promotionszeit mein Ziel erreichen ließen.

## Lebenslauf

Vor- und Familienname: Franziska Jander,  
geb. Paetow

Geburtsdatum: 28. Februar 1969

Geburtsort: Schwerin

Eltern: Edda Paetow, geb. Gawehn  
Klaus Rolf Wilhelm Paetow

Kinder: Hannah Louise Jander

Staatsangehörigkeit: deutsch

Abitur: 3. Juli 1987 an der Goethe-Oberschule in Schwerin

Berufsausbildung: September 1987 bis Juli 1988 Ausbildung zum Beruf der  
Apothekenhelferin in der Weststadt-Apotheke in  
Schwerin

Berufliche Tätigkeit: August 1988 bis Oktober 1989 als Apothekenhelferin in  
der Weststadt-Apotheke in Schwerin,  
November 1989 bis April 1990 als Apothekenhelferin in  
der Kurapotheke in Niendorf/Ostsee

Studium der Pharmazie: SS 1990 bis SS 1994 an der Christian-Albrechts-  
Universität zu Kiel

Pharmaziepraktikum: 1. Januar 1995 bis 31. Dezember 1995 in der Europa-  
Apotheke in Hannover

Pharmazeutische Prüfungen: 1. Abschnitt: 9. April 1992  
2. Abschnitt: 5. Dezember 1994  
3. Abschnitt: 18. Januar 1996

Approbation als Apothekerin: 9. Februar 1996

Tätigkeit als Apothekerin: März bis Dezember 1996 in der Europa-Apotheke in  
Hannover

Wissenschaftliche Tätigkeit: seit dem 1. Januar 1997 wissenschaftliche Angestellte am  
Pharmazeutischen Institut, Abteilung Pharmazeutische  
Biologie, Universität Kiel und Beginn der Doktorarbeit;  
Januar 1998 bis Dezember 1998 Erziehungsurlaub