Der Algenanzug-Sauerstoff-Produktion mittels phototrophen Mikroorganismen

Autoren: Jan Roitzheim, Marie König

Inhaltsangabe:

1. Ideenfindung Seite 1

1.1 Nähere Projektbeschreibung Seite 1

2. Einleitung Seite 1

2.1 allgemeines über Cyanobakterien Seite 1

2.2 allgemeines über (Mikro-) Algen Seite 3

2.2.2 Caulerpa taxidolia Seite 3

3. Planung Seite 4

3.1 Verwendete Cyanobakterien Seite 4

3.2 Zucht-und Produktionsmedium der Cyanobakterien Seite 5

3.3 Technische Umsetzung Seite 7

4. praktische Umsetzung Seite 8

4.1 Zucht Seite 8

4.1.1 Erste Nährlösung Seite 8

4.1.2 Verbesserte Nährlösung Seite 9

4.2 Erstes Zuchtverfahren Seite 9

4.3 Verbessertes Zuchtverfahren Seite 10

4.3.1 Prinzip des Kohlenstoffdioxid-Generator Seite 11

5. Entwurf eines Sauerstoffanzuges Seite 13

5.1 Genaueren Definitionen des Zieles- und Sauerstoffverbrauchs Seite 13

5.2 Genaueren Definitionen des Zieles- und Sauerstoffverbrauchs Seite 13

5.3 Bestimmung der Sauerstoffproduktion Seite 14

6. Danksagung Seite 15

Bio-Projektkurs Projekt von: Jan Roitzheim, Marie König

–Sauerstoff-Produktion mittels Cyanobakterien-

Herr Nebe

1. Ideenfindung

Die Idee für unser Projekt fand sich sehr schnell. Da sich andere Projektthemen als weniger interessant erwiesen, legten wir uns recht schnell fest. Somit verfolgten wir von Anfang an unser Konzept die unbegrenzte, oder realistischer, eine langanhaltende Versorgung mit Sauerstoff unter Verwendung von Photosynthese-fähigen Organismen zu garantieren.

1.1 Nähere Projektbeschreibung

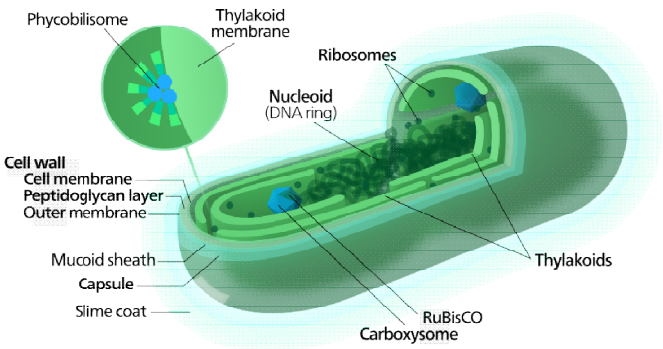
Unsere Grundidee phototrophe Algen für die Sauerstoff-Produktion einzusetzen, erschien uns als vergleichsweise unvorteilhaft, weil die Zucht einer komplexen Pflanze für die alleinige Nutzung der Chloroplasten ineffizient wäre. Daraufhin entschieden wir uns für Cyanobakterien, da diese ja nach der Endosymbionten-Theorie die Vorläufer der Chloroplasten sind und gegenüber höheren Organismen viele Vorteile bieten: Ins Besondere die Zucht von Algen ist ergiebiger, weil diese sich sehr viel schneller durch asexuelle Fortpflanzung vermehren und im Durchschnitt weniger Mineralien benötigen. Auch sind Bakterien meistens resistenter gegenüber wechselnden oder ungünstigen Umweltbedingungen.

2. Einleitung

2.1 allgemeines über Cyanobakterien

Cyanobakterien von den griechischen kyanós, was blau bedeutet, sind sowohl an Land als auch in Gewässern verbreitete Prokaryoten.

Ihr zellulärer Aufbau gleicht dem von Chloroplasten sehr stark (vgl. Endosymbionten- Theorie). Jedoch verlaufen ihre Thylakoide parallel zu der Zellmembran und sie besitzen neben Chlorophyll a auch Phycobilisome, welche eine maximale Absorption der Lichtenergie unterstützen. Durch die unterschiedlichen Phycobiline, welche in den Phycobilisomen vorliegen, lassen sich die verschiedenen Farberscheinungen der Cyanobakterien erklären. Manche Arten sind sogar in der Lage das Zusammenspiel aus Phycobilinen an die vorhandenen Lichtwellen anzupassen.



Modell eines Cyanobakteriums

(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/58/Cyanobacterium-inline.svg/2000px-Cyanobacterium-inline.svg.png)

Die dargestellten Carboxysome unterstützen eine bessere Kohlenstoffdioxid Verarbeitung. Des Weiteren weisen Cyanobakterien meistens noch zusätzliche Schutzschichten neben der Zellmembran auf. Sie kommen sowohl einzellig, als auch in Kolonien vor. Die Fortbewegung erfolgt im Wasser unter Ausnutzung der Auftriebskraft durch Gasvesikel. In Kolonien können fünf verschiedene Zelltypen unterschieden werden: Neben vegetativen und phototropen Zellen gibt es ebenfalls kimaresistente Akineten, für Fortbewegung zuständige *hormogonia (eng.)* und die Heterocysten, spezialisierte Zellen die das Enzym Nitrogenase zur Spaltung von molekularem Stickstoff enthalten, einen Vorteil, den wir uns zu nutzen machen.

Bio-Projektkurs Projekt von: Jan Roitzheim, Marie König

–Sauerstoff-Produktion mittels Cyanobakterien-

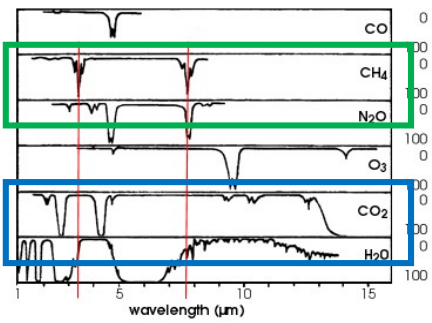
Herr Nebe

Verschiedene Cyanobakterien und ihr farbliches Erscheinungsbild

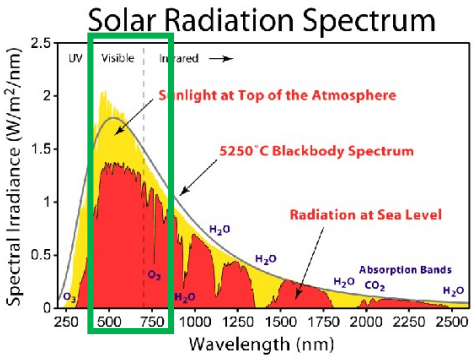
(https://de.wikipedia.org/wiki/Cyanobakterien#/media/File:Tintenstriche.JPG, https://de.wikipedia.org/wiki/Cyanobakterien#/media/File:Blaualgen_in_der_Blauengrotte_2.JPG, https://de.wikipedia.org/wiki/Cyanobakterien#/media/File:Cyanobacteria_Aggregation2.jpg)

(http://www.cell.com/trends/microbiology/pdf/S0966-842X(11)00047-3.pdf)

Cyanobakterien sind die ältesten phototropen Organismen der Erde. Sie sind ungefähr 3,5 Billionen Jahre alt. Ab dem Archaikum begannen jene Einzeller mit der Transformation der Energie der Photonen in chemische nutzbare Energie. Durch das hierbei entstehende zytotoxische Abfallprodukt Sauerstoff starben viele andere Prokaryoten ab und aerobe Organismen vermehrten sich. Jedoch stieg zu dieser Zeit der Anteil des Sauerstoffs in der Atmosphäre noch nicht an, da das hoch reaktive Gas zuerst insbesondere Gesteine oxidierte. Ungefähr vor 3.3 Billionen Jahre begann der Anteil des Sauerstoffs, von 1 % zu 3% (im Proterozoikum) und schließlich zu 21% heute anzusteigen. Der durch die Einzeller produzierte Sauerstoff reagierte auch mit Methan in der Luft zu Kohlenstoffdioxid. Diese Reaktion führte zu der ersten und gleichzeitig längsten Eiszeit, da Methan im Gegensatz zu Kohlenstoffdioxid besonders gut Licht mit der Wellenlänge der höchsten spektralen Bestrahlungsstärke absorbiert.



Lichtabsorbtion Methans im Vergleich zu Kohlenstoffdioxid



spektrale Bestrahlungsstärke in Abhängigkeit der Wellenlänge

(http://chemistry.stackexchange.com/questions/40371/how-much-worse-is-methane-than-co2-as-greenhouse-gas, https://qph.ec.quoracdn.net/main-qimg-7178e1f234f1aabc7d365ddd6899dd96?convert_to_webp=true)

Somit lässt sich zusammenfassen, dass ohne Cyanobakterien das Leben wie es heute ist nicht möglich wäre und Cyanobakterien maßgeblich den Verlauf der Evolution beeinflussten. (http://en.m.wikipedia.org/wiki/Cyanobacteria.htm, http://www.physik.wissenstexte.de/erdzeitalter.htm, http://www.encyclopedia.com/plants-and-animals/mirobes-algae-and-fungi/moneran-and-protistan/cyanobacteria.htm)

Doch auch heute spielen Cyanobakterien als Bestandteil des Planktons eine wichtige Rolle. Zum einen produzieren sie zusammen mit Algen 80% des Sauerstoffs und sind somit ein wichtiger Bestandteil des Sauerstoff- und Kohlenstoffkreislaufs aber auch des Phosphatkreislaufs, weil durch die Cyanobakterien über die Nahrungskette der Phosphor wieder zurück an Land gebracht wird. Am erwähnenswertesten ist ihr Mitwirken im Stickstoffkreislauf durch spezialisierte Zellen, die Heterocysten. Sie kommen in fadenförmigen Kolonien vor und sind in der Lage die starke Bindung des in der Atmosphäre vorkommenden molekularen Stickstoffes (N2) zu für andere Organismen nutzbare Stickstoffverbindungen, zu spalten (NH3, N03…).

(http://www.sciencetimes.com/articles/6407/20150516/nasa-hopes-to-rely-on-algae-and-bacteria-for-oxygen-production-on-mars.htm, archieve.bio.ed.ac.uk/jdeacon/microbes/Cyano.htm, http://www.encyclopedia.com/plants-and-animals/mirobes-algae-and-fungi/moneran-and-protistan/cyanobacteria.htm)

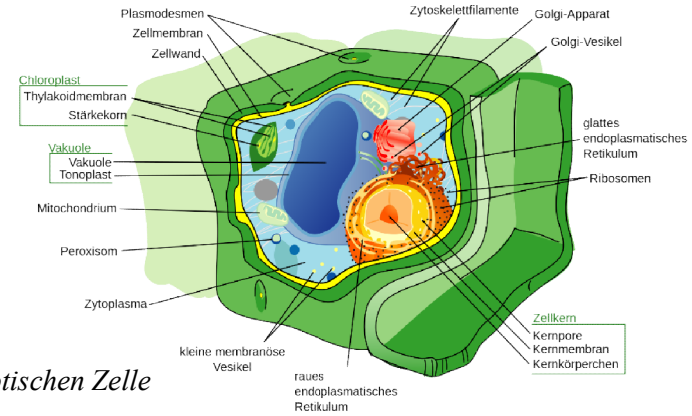
–Sauerstoff-Produktion mittels Cyanobakterien-

Herr Nebe

Cyanobakterien und Mikroalgen könnten zur Lösung oder zumindest bei der Besserung globaler Umweltproblemen helfen. Wie zuvor bereits erwähnt können viele der Algen- und Cyanobakterienarten auf sehr salzigem und trockenem Gebiet überleben und könnten somit durch Desertifikation und Versalzung verlorene Gebiete wieder für die Agrarkultur nutzbar machen. Der vermehrte Anbau von Sauerstoff produzierenden Organismen auf zuvor unkultivierten Flächen könnte auch das Ausmaß des Verlaufes der Klimaerwärmung verringern, weil zum einen Kohlenstoffdioxid abgebaut, aber auch Sauerstoff frei wird, welcher wiederum mit Methan in der Atmosphäre reagieren und somit den Anteil des starken Treibhausgases senken könnte. Auch als alternative schnell wachsende und vor allem gesunde Nahrungsquelle könnten Algen dabei helfen Hungersnöten vorzubeugen. Forscher fanden zudem heraus, dass Cyanobakterien und Mikroalgen ein großes Potenzial haben in Zukunft als umweltfreundlicher Treibstoff zu dienen.

2.2 Allgemeines über (Mikro-) Algen

Algen sind Eukaryonten und besitzen folglich einen Nukleus in welchem das Erbgut getrennt vom Cytoplasma aufbewahrt wird. Des Weiteren verfügen sie über einen Golgi-Apparat, ein glattes und ein raues Endoplasmatisches Retikulum, eine Vakuole sowie Chloroplasten und Mitochondrien als Zellorganellen. Im Gegensatz zu Prokaryoten haben sie neben einer Zellmembran noch eine starre Zellwand, welche zumeist aus Cellulose besteht.



Aufbau einer eukaryotischen Zelle

(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/fc/Plant_cell_structure_svg-de.svg/2000px-Plant_cell_structure_svg-de.svg.png)

Sie kommen sowohl in Süß- als auch Salzwasser vor. Je nach Definition gibt es auch vereinzelt an Land lebende Algenarten. Generell lässt sich sagen, dass Algen, ähnlich den Cyanobakterien, ebenfalls in Kolonien und in fadenförmigen Strukturen vorkommen und einige Arten in der Lage sind in extrem salzigen, sauren, heißen oder kalten Umweltbedingungen überleben zu können.

Viele bekannte Biologen wie Joachim Hämmerling machten sich die weite Spanne in Bezug auf die Zellgröße zum Vorteil um intrazellulare Vorgänge zu untersuchen: Der größte lebende Einzelliger Organismus ist die Alge Caulerpa taxifolia, die über 30 cm groß werden kann.

2.2.2 Caulerpa taxifolia

(http://biogeodb.stri.si.edu/bioinformatics/dfmfiles/files/c/31162/31162.jpg)
(https://www.sciencedaily.com/releases/2015/01/150129160728.htm)

Die in Algen und allen anderen Eukaryoten enthaltenen semiautonomen Chloroplasten und Mitochondrien waren, bevor sie durch Endocytose von einer Eucyte aufgenommen wurden, eigenständige phototrophe bzw. heterotrophe Organismen und sind Vorfahren der heutigen Cyanobakterien, oder im Falle des Mitochondriums stammen sie aus dem Ast der Proteobakterien. Nach der Endosymbionten-Theorie gingen die Prokaryoten eine Symbiose mit der Eucyte ein, nachdem diese die Bakterien durch Phagozytose aufnahm aber nicht verdaute. Diese erste phototrophe eukaryotische, im Wasser lebende Zelle entstand vermutlich vor 1 bis 1.5 Billionen Jahren. Durch weitere Symbiosen entstanden schließlich die heutigen Algenarten.

Doch waren Algen noch an weiteren wichtigen evolutionären Schritten beteiligt, da sie durch die Kolonisierung des Landes zu Vegetation auf der Erde führten und damit erst das Bewohnen des Landes für andere höhere Lebensformen möglich machten.

(https://frederikleliaert.wordpress.com/green-algae/phylogeny-and-molecular-evolution/,https://www.youtube.com/watch?v=CB2XlpD-Ld4 ,http://www.spektrum.de/lexikon/biologie-kompakt/endosymbiontentheorie/3635)

–Sauerstoff-Produktion mittels Cyanobakterien-

Herr Nebe

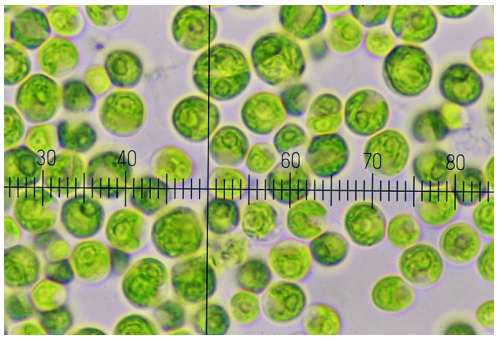
3. Planung

3.1 Verwendete Cyanobakterien

Für weitere Untersuchungen bezüglich der höchst möglichen Sauerstoff-Produktion entschieden wir uns für Oscillatoria sp., Chlorella sp. und Spirulina meneghiniana. Bei Oscillatoria handelt es sich um ein Süßwasser-Cyanobakterium, welches in fadenförmigen Kolonien auftritt. Sie zeichnet sich besonders durch ihre Fortbewegung in schwingenden Bewegungen aus mit welcher sie in der Lage ist die bestmögliche Sonneneinstrahlung zu finden. Heterocysten werden nicht ausgebildet. Jedoch bilden Oscillatoria Gasvesikel aus. Diese Cyanobakterie vermehrt sich durch Fragmentierung und kann in allen möglichen Farben auftreten.

Oscillatoria unter dem Lichtmikroskop (http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/images/Prokaryotes/Oscillatoriaceae/Oscillatoria/sp_18.jpg)

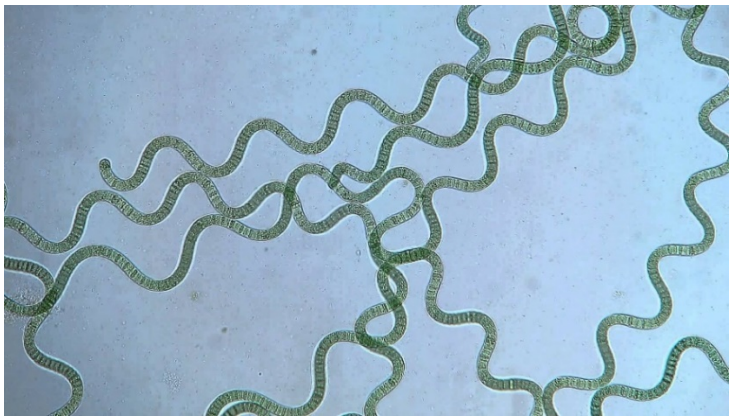
Bei Chlorella handelt sich im Gegensatz zu den anderen beiden Organismus um einen eukaryotischen Einzeller. Die Alge vermehrt sich im Süßwasser durch asexuelle Reproduktion. Die Mikroalge hat einen Durchmesser von 2-10 µm und ist von mehreren Schichten Cellulose umgeben. Neben Mitochondrien weißt sie Chloroplasten mit Chlorophyll a und b auf. Beide Organismen eignen sich besonders für unser Projekt, weil sie die höchsten Chlorophyllanteile aller Lebewesen haben und es schon ein vergleichbares erfolgreiches Experiment gab. Durch das Projekt BIOS-3 gelang es Wissenschaftlern einen Menschen unter Verwendung von 8 m^2 Chlorella komplett mit Sauerstoff zu versorgen.



Chlorella unter dem Lichtmikroskop

(http://www.chlorella-benefit.com/p7lsm_img_4/fullsize/Chlorella_Live_Cell_fs.jpg)

Spirulina (meneghiniana) ist eine in fadenförmigen Kolonien auftretende Salzwasser-Cyanobakterie und vermehrt sich durch mitotische Zellteilung. Vorherrschende Photosynthesepigmente sind neben Chlorophyll a und dem blauem Phycobilin Phycocyanin auch Carotinoide (gelbe bis rote Färbung) und Phycoythrin (rote bis pinke Färbung).



Spirulina unter dem Lichtmikroskop

(https://i.ytimg.com/vi/nZafEOp4K_I/maxresdefault.jpg)

(https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Spirulina, www.botanical-online.com, https://en.m.wikipedia.org/wiki/Oscillatoria, https://de.m.wikipedia.org/wiki/Oscillatoria, www.britannia.com/science/Oscillatoria, https://www.zentrum-der-gesundheit.de/chlorella-algen-pi.html, http://wildpro.twycrosszoo.org/S/0zM_Gracilicutes/Oscillatoria/Oscillatoria.htm, http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=Je3107a6b2e295d50&sk=0&from=results, https://toxische-cyanobakterien.de/en/background-information/toxic-cyanobacteria/)

3.2 Zucht- und Produktionsmedium der Cyanobakterien

Um eine möglichst effiziente und schnelle Vermehrung zu gewährleisten werden wir versuchen ein ausgeglichenes Zuchtmedium zu schaffen.

Zum Einem muss gewährleistet werden, dass den Cyanobakterien beziehungsweise Mikroalgen die benötigten Edukte bzw. Kohlenstoffdioxid, Mineralien, Nährsalze und Wasser zur Verfügung stehen, aber auch ausreichend Sonnenlicht. Nach dem Prinzip der Oberflächenvergrößerung wäre es also am günstigsten ein sehr flaches und großes Zuchtbecken anzulegen. Eine realistischere Alternative ist ein möglichst großes Gefäß zu nehmen und durch eine häufige Umverteilung des Wassers eine gleichmäßige Versorgung der Mikroorganismen zu erreichen.

$$\begin{array}{rl} \text{Teilgleichung Lichtreaktion:} & 12\ H_2O \rightarrow 24\ (H) + 6\ O_2 \\ \text{und Teilgleichung Dunkelreaktion:} & 6\ CO_2 + 24(H) \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \\ \hline & 12\ H_2O + 6\ CO_2 + 24(H) \rightarrow 24\ (H) + 6\ O_2 + C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \end{array}$$

$$= 6\ CO_2 + 6\ H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2$$

$$(genauer)$$
$$= 6\ CO_2 + 12\ H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 + 6\ H_2O$$

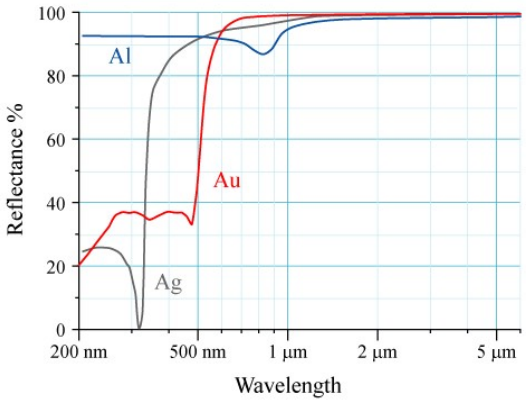
Photosynthese-Reaktionsgleichung (*http://www.chemie.de/lexikon/images/math/e/4/9/e49c3075c556c680d327f8206bae23dc.png*)

Auch durch zusätzliche künstliche Beleuchtung sollte das Ergebnis verbessert werden, da eine Zucht allein durch die Sonne im Winter zu lange dauern würde. Wegen der längeren Lebensdauer und des geringen Energieverbrauches bieten sich besonders LEDs an. Weitere Vorteile sind, dass die Wellenlänge bei LEDs ohne große Umstände in verschiedenen Ausführungen besorgt werden kann und sie eine sehr geringe Betriebstemperatur haben. Da Chlorella einen hohen Chlorophyllgehalt besitzt, wird rotes Licht am besten absorbiert. Daher würde es sich anbieten die Alge mit einer Lichtwellenlänge von 600-800nm zu beleuchten. Spirulina und Oscillatoria werden auf alle Lichtwellenlängen getestet, jedoch vermuten wir, dass weißes oder rotes Licht für die Bakterien am besten ist, da besonders Spirulina alle Farbpigmente enthält und beide Arten Phycobilisomen für bessere Energienutzung aufweisen.

–Sauerstoff-Produktion mittels Cyanobakterien-

Herr Nebe

Neben der zusätzlichen Lichtquelle sollte das Zuchtgefäß, in diesem Fall am besten aus Glas, mit reflektierenden Materialien eingekleidet werden um die Energie des Lichtes optimal auszuschöpfen. Statt Silbernitrat könnte hier Alufolie verwendet werden, um die Produktionskosten gering zu halten.

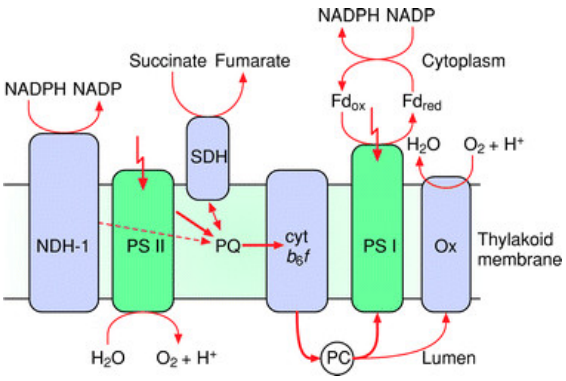


Reflexionsgrad von Aluminium

(blau, Al), Gold (rot, Au) und Silber (grau, Ag) in Abhängigkeit von der Wellenlänge des senkrecht einfallenden Lichts beziehungsweise der elektromagnetischen Strahlung
(https://de.wikipedia.org/wiki/Reflexionsgrad#/media/File:Image-Metal-reflectance.png)

Eine weitere wichtige Voraussetzung ist die Verfügbarkeit der Kofaktoren, welche die Photosysteme benötigen. Wie erhofft weichen die obligatorischen Mineralstoffe für Cyanobakterien nicht von den Inhaltstoffen von handelsüblichem Flüssigdünger ab.

Vereinfachte Darstellung der Thylakoid Membran mit den Photosystemen



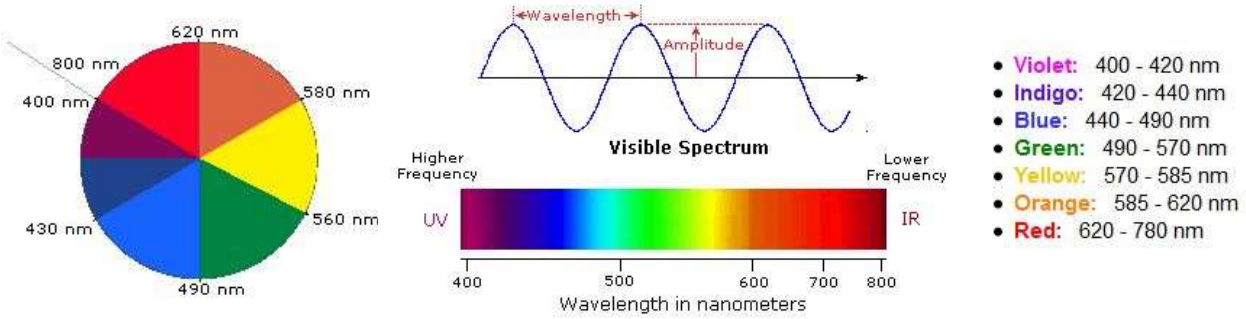
(https://www.researchgate.net/profile/Wim_Vermaas/publication/227981266/figure/fig1/AS:267455515852802@1440777772050/Figure-2-Schematic-representation-of-the-intersecting-photosynthetic-and-respiratory.png)

Table 1 Major complexes involved with photosynthetic and respiratory electron flow in thylakoid membranes in cyanobacteria

Complex	Gene designation	Major proteins	Cofactors	Function
Photosystem II	*psb*	D1, D2, CP43, CP47, PsbO	Mn, Ca, Cl, Fe, PQ, chlorophyll, cyt b_{559}, pheophytin	Light-induced water splitting and PQ reduction
Succinate dehydrogenase	*sdh*	SdhA, SdhB, SdhC	Flavin, FeS centres	Succinate oxidation and PQ reduction
Type-1 NADPH dehydrogenase	*ndh*	NdhA-L	FeS centres	NADPH oxidation and PQ reduction
Cytochrome b_6f	*pet*	cyt b_6, cyt *f*, Rieske, subunit IV	2 cyt *b*, cyt *f* (cyt *c*), FeS	PQH_2 oxidation and PC/cyt c_{553} reduction
Photosystem I	*psa*	PsaA, PsaB and other Psa proteins	Chlorophyll, vitamin K_1, FeS centres	Light-induced PC/cyt c_{553} oxidation and Fd reduction
Cytochrome oxidase	*cta*	CtaC, CtaD, CtaE	Cu_A, Cu_B, Mg, cyt *a*, cyt a_3	Cyt *c* oxidation and O_2 reduction

Übersicht über alle Kofaktoren der Photosynthese in Cyanobakterien

ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES / © 2001 Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group / www.els.net



Das Prinzip der Lichtabsorption (links) und Wellenlängen des sichtbaren Lichtes (rechts)

(https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/spectrpy/uv-vis/spectrum.htm)

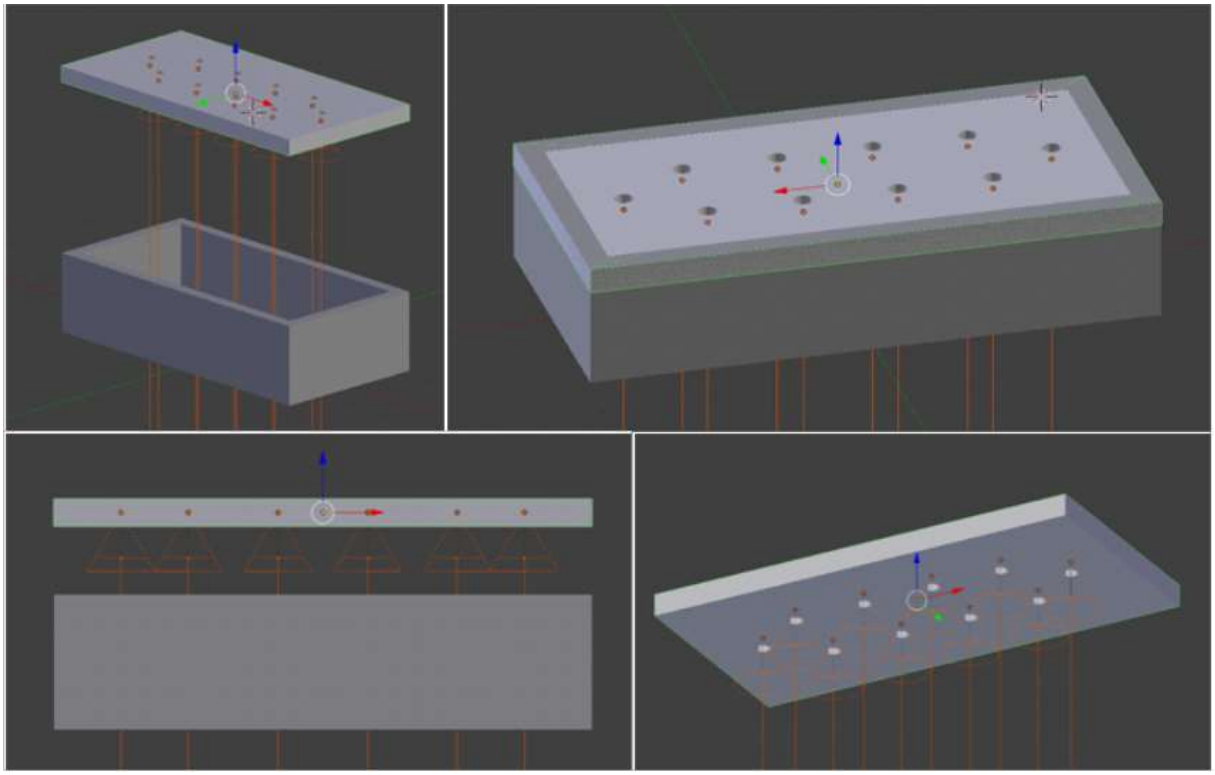
3.3 Technische Umsetzung

Wir planen unseren theoretischen Versuch natürlich in kürzester Zeit auch in die Tat umzusetzen. Zunächst müssen wir jedoch die Cyanobakterien, die wir erhalten haben in großen Mengen züchten. Dies sollte jedoch kein großes Problem darstellen und so soll es schnell an praktische Versuche gehen.

Zunächst wird unser erster Versuch schematisch sein. Das bedeutet wir werden nicht sofort einen kompletten Raum- oder Tauchanzug bauen, sondern unsere Cyanobakterien auf ihre Leistungsfähigkeit testen.

Hierzu möchten wir eine einfache von Außenlicht abgeschirmte Box, die innen mit einer sehr stark reflektierenden Schicht ausgestattet ist, verwenden. Hierzu bietet sich sehr gut Alufolie an, um für eine maximale Reflektion im Kasten zu sorgen. Im inneren werden die Cyanobakterien durch LEDs beleuchtet, damit diese Photosynthese betreiben können. Um die Untersuchung zu vereinfachen werden wir die Organismen nicht direkt zusammen mit ihrem Medium in den mit Alufolie ausgekleideten Kasten geben, sondern einen separaten Glasbehälter benutzen. Mit dieser Strategie lassen sich auch einfacher weitere Lichtquellen im System platzieren.

Wie oben bereits beschrieben, müssen verschiedene Kofaktoren im Wasser gelöst und eine ausreichende Kohlenstoffdioxid und Wasser-Versorgung gewährleistet werden. Um künstlich Kohlenstoffdioxid in unserem geschlossenen System einzuschleusen bietet sich ein abgedichteter Schlauch an, der das Gas in das Innere der Box schleust.



Modell des äußeren Prototyps (erstellt mit Blender)

Mithilfe von einem Sauerstoffmessgerät werden wir dann herausfinden, wie effektiv die einzelnen Cyanobakterien bzw. Grünalgen sind und werden sie auch unterschiedlichen Umwelteinflüssen aussetzten.

Da ein Mensch natürlich große Mengen an Sauerstoff pro Minute verbraucht ist es zu riskant durch einen Versuch zu überprüfen ob die Organismen genügend Sauerstoff produziert, deshalb werden wir nach unseren ersten Versuchen und den so erhaltenen Messwerten zunächst Berechnungen durchführen. Infolge der Ergebnisse können wir hoffentlich sagen, wie viel m^3 Volumen, voll funktionstüchtige Cyanobakterien, man benötigt, damit ein Mensch atmen kann. Fortschreitend haben wir das Ziel, wenn wir eine bestmögliche Produktion erreicht haben, uns auch mit dem Entwurf eines anwendbaren Systems zu beschäftigen. Wie zum Beispiel einen geeigneten Aufbau einen Tiefsee- oder Raumanzuges.

4. praktische Umsetzung

4.1 Zucht

Die Ausgangskulturen wurden uns von Dr. Barbara Melkonian der *Culture Collection of Algae at the University of Collogne* des Biozentrum Kölns gespendet

Ausgangskulturen der Universität Köln

links CCAC 2010 B Oscillatoria sp. mittig CCAC 5321 B Chlorella sp. rechts CCAC 3369 B Spirulina meneghiniana cf.

Das Wachstum der Mikroalgen und der Cyanobakterien hielt sich, entgegen unserer Erwartungen, in Grenzen. Besonders die Zucht des Bakteriums Spirulina blieb bis zum Ende erfolglos. Die anderen beiden Arten wuchsen zwar langsam aber ertragreich.

4.1.1 Erste Nährlosung

Zu Beginn verwendeten wir den Flüssigdünger der Marke Grünland, welcher jedoch das Wasser leicht trübte sich aber dennoch positiv auf das Wachstum auswirkte. Für die Salzwasser-Cyanobakterie Spirulina fertigten wir eine 3.7% Meersalz-Lösung an, die wir ebenfalls mit Dünger anreicherten.

(www.salz-kontor.de/wie-viel-salz-ist-im-meerwasser.php)

Erste Nährlösung

4.1.2 Verbesserte Nährlösung

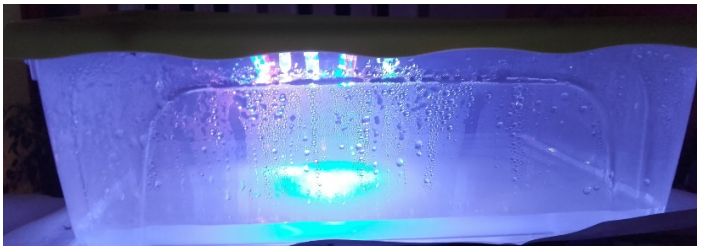
Später erhielten wir von der Universität Köln Informationen über die Zusammensetzung geeigneter Nährlösungen und fertige Stammlösung.

Erste Nährlösung	Zweite Nährlösung (Salzwasser)	Zweite Nährlösung (Süßwasser)
NaCl (nur bei Spirulina 37 g/l)	NaCl (308 mM) (18 g/l)	NaCl (308 mM) (2.5 g/l)
undestilliertes Wasser	$MgSO_4$ x 7 H_2O (20.3 mM)	$MgSO_4$ x 7 H_2O (20.3 mM)
undestilliertes Wasser	KCl (8.1 mM)	KCl (8.1 mM)
/	HEPES (3.0 mM)	HEPES (3.0 mM)
undestilliertes Wasser	$CaCl_2$ x 2 H_2O (2.5 mM)	$CaCl_2$ x 2 H_2O (2.5 mM)
HNO_4 /NH_4	$NaNO_3$ (0.59 mM)	$NaNO_3$ (0.59 mM)
K_2O / P_2O_5	K_2HPO_4 x 3 H_2O (22.0 µM)	K_2HPO_4 x 3 H_2O (22.0 µM) KH_2PO_4
undestilliertes Wasser	Na_2CO_3 (0.3 mM)	/
/ (Carbamidstickstoff)	NTA (Titriplex I)* (52.0µM)	/
Fe als Chelat von EDTA	Fe-EDTA	Fe-EDTA
Zn als Chelat von EDTA	$ZnCl_2$ (2.4 µM)	$ZnSO_4$ x 7 H_2O
Mn als Chelat von EDTA	$MnCl_2$ x 4 H_2O (21.9 µM)	$MnCl_2$ x 4 H_2O (21.9 µM)
/	$CoCl_2$ x 6 H_2O (0.51 µM)	$Co(NO_3)_2$ x 6 H_2O
Cu als Chelat von EDTA	/	$CuSO_4$ x 5 H_2O
Mo (Molybdän)	/	MoO_3
EDTA	Na/EDTA (Titriplex III)* (69.3 µM)	/
B	H_3BO_3 (0.48 mM)	H_3BO_3 (0.48 mM)
/	Vitamin B_{12} (0.15 nM)	Vitamin B_{12} (0.15 nM)
/	Biotin (4.10 nM)	Biotin (4.10 nM)
/ (Carbamidstickstoff)	Thiamine-HCl (0.30 µM)	Thiamine-HCl (0.30 µM)
/ (Carbamidstickstoff)	Niacinamide (0.80 nM)	Niacinamide (0.80 nM)

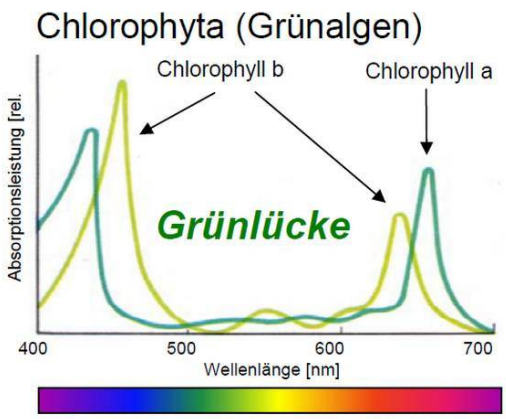
Inhaltsstoffe der verwendeten Nährmedien

4.2. Erstes Zuchtverfahren

Für die Zucht sowie für die späteren Versuche entschieden wir uns blaue, weiße und rote LEDs im Verhältnis 2:3:2 zu verwenden, um sowohl enthaltene Chlorophyll a als auch das Chlorophyll b die optimalen Lichtverhältnisse zu bieten.



Zuchtbehälter (links für Chlorella und Oscillatoria, rechts für Spirulina mit vergrößerter Oberfläche)



Absorbtionsleitung von Chlorophyll a und b in Abhängigkeit der Wellenlänge

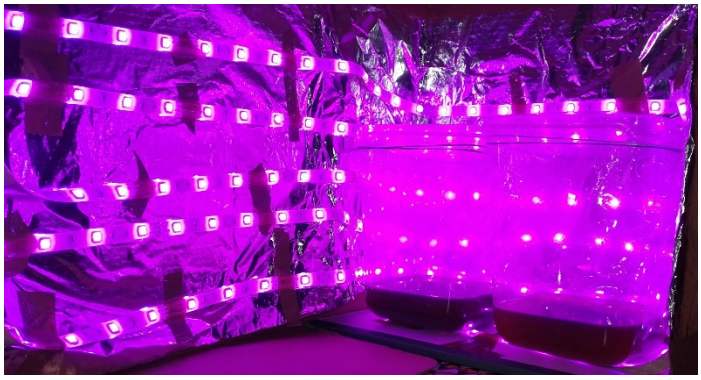
(http://www.gorgonien-lexikon.com/files/images/licht6.jpg)

Unsere ersten Zuchtbehälter bestrahlten wir zunächst mit acht LEDs und verwendeten hohe Gefäße. Jedoch bewegten wir die Organismen mehrfach täglich um zu gewährleisten, dass diese gleichmäßig mit Sauerstoff versorgt wurden. Die Zuchttemperatur betrug ca. 20 Grad.

Oscillatoria und Chlorella vermehrten sich, während die Kolonie Spirulinas kaum wuchs. Um den Einfluss der künstlichen Beleuchtung zu prüfen ließen wir jene für mehrere Tage aus. Alle Arten wuchsen daraufhin nicht mehr und der Bestand nahm sogar bis zu einem gewissen Grad ab.

4.3 Verbessertes Zuchtverfahren

Zuletzt bemühten wir uns durch eine höhere LED Anzahl in Form eines fünf Meter langem LED-Bandes. Das Band erwies sich als sehr praktisch, da es nie eine Temperatur von über 20 Grad erreichte und sich die Farbe des Lichtes mischen ließ. Wir kalibrierten den Anteil des grünen Lichtes herunter und verstärkten die Farben Rot und Blau und erhielten somit einen leicht violetten weißen Ton. Die Lichtquelle befestigten wir in einem Karton den wir vorher aus mehreren Gründen mit Alufolie auskleideten. Zum Einen diente es zur optimalen Nutzung des Lichtes, da dieses durch das Aluminium reflektiert wird, zum Anderen diente es als Isolationsschicht, dazu jedoch später mehr.



Äußerer Zuchtbehälter

Die Auswirkung erhöhter Temperatur auf ca. 30 Grad testeten wir ebenfalls:

Spirulina wuchs, bei sonst gleichbleibenden Bedingungen, weiterhin nicht. Die Kolonien Oscillatorias nahmen zu und die Nährlösung trübte sich leicht. Chlorella trübte sich jedoch weitaus intensiver grünlich, als das Cyanobakterien Oscillatoria. Bei der Stabilisierung und Erhaltung der Temperatur diente hier besonders die Alufolienschicht da sie die Schwankungen der Wärme des 30 cm entfernten, Heizkörpers senkte. Des Weiteren verteilte sich dadurch die Wärme gleichmäßiger im äußeren Zuchtkasten und die Temperatur blieb selbst nach Ausschalten des Heizgerätes lang genug erhalten. Durch mehrfaches Überprüfen und eventuelle Regulation konnten wir somit eine Temperatur von ca. 30 Grad konstant erhalten.
(http://uknowledge.uky.edu/bae_etds/3/)

Den Faktor der Kohlenstoffdioxid-Menge testen wir auch auf einen Effekt auf das Wachstum der Organismen.

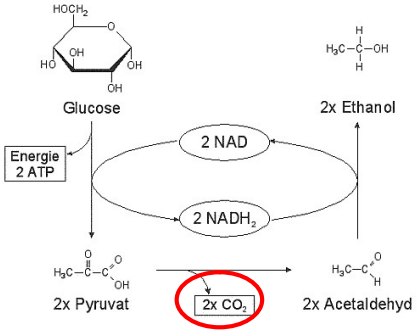
Im Falle Spirulinas vergrößerten wir die Oberfläche der Nährlösung durch ein flacheres Gefäß, um eine schnellere Diffusion Kohlenstoffdioxids in die Flüssigkeit zu erleichtern. Als dieser Versuch, ein besseres Wachstum zu erreichen, ebenfalls fehlschlug und auch die Erhöhung von allen zuvor genannten Aspekten keinen Effekt hervorrief, stellten wir Spirulina zunächst zurück. Für die verbleibenden Organismen entwarfen wir einen Kohlenstoffdioxid-Generator.

4.3.1 Prinzip des Kohlenstoffdioxid-Generator

Das System beruht auf der Verwendung des Abfallstoffes der Gärung.

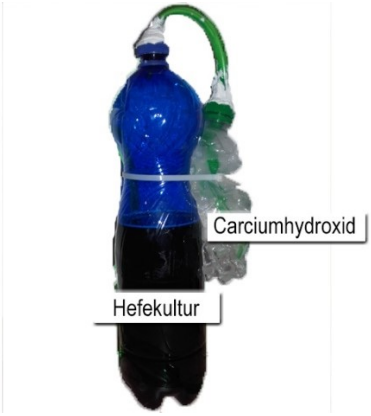
Ablauf der Gärung durch Hefezellen

(http://www.chemryb.at/ckurs/2002/gfx/Gaerung3.gif)



Das Nährmedium für die Reinzuchthefe setzte sich zum größten Teil aus ca. 75% Zuckerlösung zusammen, zu welcher wir jedoch noch 250 ml naturtrüben Apfelsaft und einen EL Flüssig-Dünger hinzufügten. Die letzten beiden Zutaten sollen für genügend Vitamine und Phosphor sowie Nitrat sorgen. Für die empfohlene Zucht-Temperatur von 20-25 Grad, waren keine weiteren Vorrichtungen erforderlich.

Das durch die Hefezellen produzierte Gas schleusten wir schließlich vom Zuchtbehälter in ein mit Wasser zur Hälfte befülltes Gefäß. Durch das Einleiten des Gases in das Wasser kann eine Trennung von möglicher Kondensflüssigkeit oder ähnlichen Verunreinigungen gewährleistet werden. Das Gas steigt durch das Wasser nach oben und kann schließlich durch einen zweiten Schlauch in die Nährlösungen der Algen geleitet werden. Um die Produktion Kohlenstoffdioxids nachzuweisen und die Menge zu ermitteln verwendeten wir Kalkwasser.



Versuchsaufbau: Nachweis der Kohlenstoffdioxid Produktion

$$H_2CO_3 + Ca(OH)_2 \rightarrow CaCO_3 + 2\ H_2O$$

Das entstandene Calciumcarbonat ist ein Feststoff und beginnt sich somit am Boden des Gefäßes abzusetzen und trübt das Kalkwasser.

(http://www.chemie.de/lexikon/Kalkwasser.html)

Bio-Projektkurs Projekt von: Jan Roitzheim, Marie König

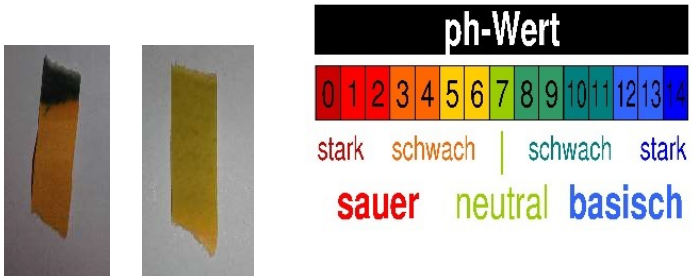
–Sauerstoff-Produktion mittels Cyanobakterien-

Herr Nebe

Trübung des Kalkwassers nach 18 Stunden

Bei der Reaktion von Kalkwasser (Base) mit Kohlenstoffdioxid, bzw. der entstehenden Kohlensäure durch Auflösung des Kohlenstoffdioxids in Wasser, handelt es sich um eine Neutralisationsreaktion.

Daher lässt sich durch die Veränderung des pH-Wertes die Menge des Kohlenstoffdioxids ungefähr bestimmen.



pH-Wert vor dem Test links, pH-Wert nach dem Versuch mitte, pH-Wert Skala rechts

(http://www.allgemeinbildung.ch/arb/arb=che/w_LernPlakate_CHE_pH-Wert.jpg)

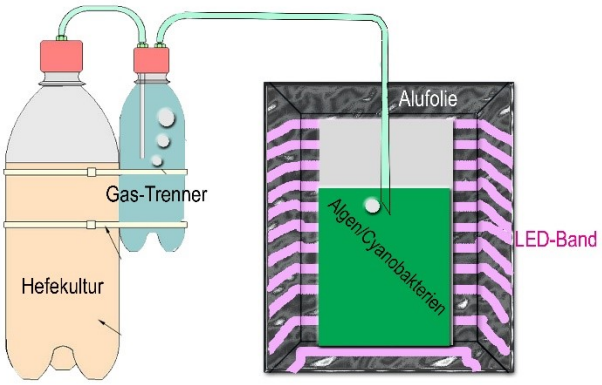
Da der pH-Wert von 14 auf 7 sank und weil es sich bei der Kohlensäure um eine zweiprotonige Säure handelt aber auch Calciumhydroxid zwei Hydroxid-Ionen besitzt, reagieren diese 1:1. Daraus folgt eine ungefähre Menge von 0.0499999 mol bzw. 2.09958 Gramm Kohlenstoffdioxid die sich in dem Kalkwasser lösten und reagierten.

pOH	$K_{W(OH-)}$	Hydroxidionen/l	$K_{W(H3O+)}$	Oxoniumionen/l	pH
14	10^{-14}mol/l	6000000000	10^{0} mol/l	600000000000000000000000	0
13	10^{-13}mol/l	60000000000	10^{-1}mol/l	600000000000000000000000	1
12	10^{-12}mol/l	600000000000	10^{-2}mol/l	60000000000000000000000	2
11	10^{-11}mol/l	6000000000000	10^{-3}mol/l	60000000000000000000000	3
10	10^{-10}mol/l	60000000000000	10^{-4}mol/l	60000000000000000000000	4
9	10^{-9}mol/l	600000000000000	10^{-5}mol/l	6000000000000000000000	5
8	10^{-8}mol/l	6000000000000000	10^{-6}mol/l	6000000000000000000000	6
7	10^{-7}mol/l	60000000000000000	10^{-7}mol/l	60000000000000000000000	7
6	10^{-6}mol/l	600000000000000000	10^{-8}mol/l	6000000000000000000000	8
5	10^{-5}mol/l	6000000000000000000	10^{-9}mol/l	600000000000000000000	9
4	10^{-4}mol/l	60000000000000000000	10^{-10}mol/l	60000000000000000000	10
3	10^{-3}mol/l	600000000000000000000	10^{-11}mol/l	6000000000000000000	11
2	10^{-2}mol/l	6000000000000000000000	10^{-12}mol/l	600000000000000000	12
1	10^{-1}mol/l	60000000000000000000000	10^{-13}mol/l	60000000000000000	13
0	10^{0}mol/l	600000000000000000000000	10^{-14}mol/l	6000000000000000	14

Konzentration Hydroxidionen/Oxoniuminonen in Abhängigkeit des pH-Wertes

(http://netchemie.de/images/lexi/041042.jpg)

Nach Beendung des Versuches konnten wir sogar eine noch höhere CO2 Produktion ermitteln, was wohlmöglich daran lag, dass sich nicht das komplette CO2 in dem Kalkwasser löste.Durch Berechnung des Volumens der aufsteigenden Gasblasen konnten wir einen ungefähren Wert von 3.15 Kubikcentimeter pro Minute ermitteln.



Verbesserter Aufbau zur Zucht (Erstellt mit Photoshop)

(Flaschen: http://www.qsl.net/w2wdx/aquaria/separator.jpg)

5. Entwurf eines Sauerstoffanzuges

5.1 Genaueren Definitionen des Zieles- Sauerstoffverbrauch

Um unserem Ziel einen Anzug zu entwerfen, der in der Lage ist einen Menschen sehr lange mit Sauerstoff zu versorgen, befassten wir uns zunächst mit dem Sauerstoffverbrauch welcher gedeckt werden muss. Hierfür maßen wir die prozentuale Abnahme des Sauerstoffs der Atemluft im Vergleich zur Umgebungsluft. Als Testperson diente Jan Roitzheim

Durchläufe	Sauerstoffgehalt vorher (%)	Sauerstoffgehalt nachher (%)
1.	20,9	17,3
2.	20,5	17,3
3	20,3	17,1
4	20,1	16,0
5.	20,2	16,5
Durschnitt	20,4	16.84

Durchläufe	Sauerstoffgehalt vorher (%)	Sauerstoffgehalt nachher (%)
1.	20,5	16
2.	20,4	17
3	20,2	16,6
4	20,3	16,1
5.	20,2	16,5
Durschnitt	20,32	16.44

Sauerstoffverbrauch im Ruhezustand links und unter starker Belastung rechts

Bei den Werten des Sauerstoffverbrauchs unmittelbar nach starker Belastung muss zudem noch beachtet werden, dass die Atemfrequenz höher ist als im Ruhezustand, selbst wenn wir uns bemühten die Atemzüge ebenso lang zu halten, wie die nach keiner Belastung. Deshalb ist unser Ziel zunächst einen Menschen, welcher keine anstrengenden Bewegungen ausführen muss mit Sauerstoff versorgen zu können.

5.2 Genaueren Definitionen des Zieles- Sauerstoffproduktion

Auch muss beachtet werden, dass uns nur eine begrenzte Fläche und Höhe zur Verfügung steht, wenn wir die Algen in einer Schicht um den Körper anlagern. Sollte dieser nicht ausreichen so wäre es ebenfalls möglich noch einen Tank am Rücken des Anzuges anzufügen. Dieser könnte mit Hilfe eines wasserdichten LED-Schlauches, der in der Mitte des Gefäßes in einer Helix drapiert ist, die Mikroalgen und Cyanobakterien optimal beleuchten.

- für Erwachsene Alter >19 Jahre: $S = 0{,}01545 \cdot L^{0{,}54468} \cdot M^{0{,}46336}$
- Haycock-Formel: $S = 0{,}024265 \cdot L^{0{,}3964} \cdot M^{0{,}5378}$
- DuBois-Formel: $S = 0{,}007184 \cdot L^{0{,}725} \cdot M^{0{,}425}$
- Formel nach Boyd: $S = 0{,}0332965 \cdot L^{0{,}3} \cdot M^{0{,}6157 - 0{,}00816474 \ \ln(M)}$

S -Körperoberfläche in m²

L- Körpergröße in cm

M- Körpermaße in kg

Formeln zur Bestimmung der Körperoberfläche

(https://de.wikipedia.org/wiki/K%C3%B6rperoberfl%C3%A4che#Angaben.2FFormeln_zu_K.C3.B6rperteilen)

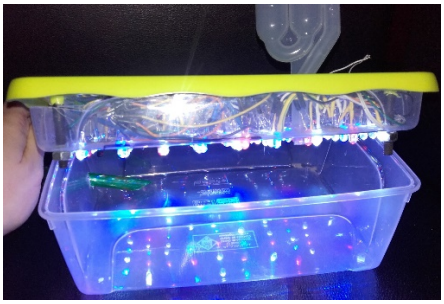
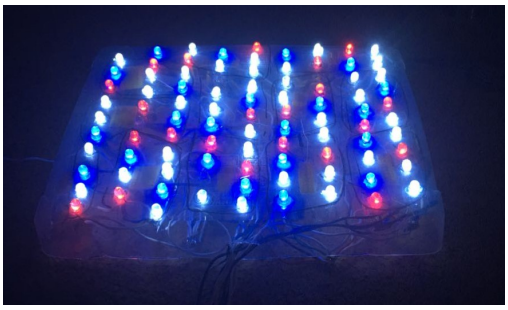
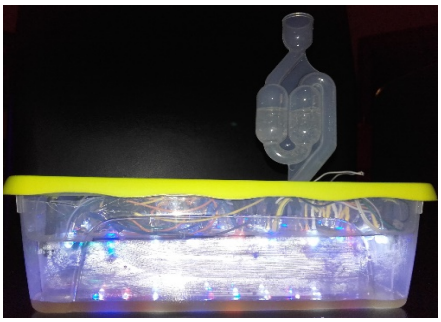
Unter der Verwendung der Formeln zur Bestimmung der Körperoberfläche, wir verwendeten erneut die Werte Jan Roitzheims, ermittelten wir eine durchschnittliche Körperoberfläche von 1.92.

Geht man nun von einer maximalen Höhe von 5cm der Algen/Cyanobakterien Schicht aus, ergibt sich ein Nutzvolumen von höchstens 96 Litern. Nach Abzuges des Kopfes ca. 90 Liter. Durch zwei zylinderförmige Zusatzbehälter (Maße: 15 cm Durchmesser, 45 cm Höhe) die am Rücken befestigt werden, könnte die Kapazität auf 106 Liter gesteigert werden.

5.3 Bestimmung der Sauerstoffproduktion

Auf der Grundlage der Information über vorteilhafte Bedingungen für Chlorellas und Oscillarorias, die wir durch Veränderung des Zuchtmediums, der Temperatur, der Lichteinwirkung und der Kohlenstoffdioxid-Menge herausfanden, erstellten wir schließlich einen Prototyp.

Jedoch orientieren wir uns auch an „3.3.1 Modell des äußeren Prototyps“.

Prototyp zur Bestimmung der Sauerstoffproduktion

Die Nährlösung der Organismen bleibt gleich, ebenso wie das Verhältnis von 2:3:2 zwischen roten weißen und blauen LEDs wobei wir insgesamt 91 Stück verwenden.

Die LEDs sind Luftdicht vom Rest des Prototyps getrennt, sodass das Nachfüllen und Auswechseln der Lösungen keine Probleme verursacht und die Elektronik vor Kondenswasser geschützt ist.

Es handelt sich bei dem Prototypen, im Gegensatz zu den Zuchtbehältern, um ein geschlossenes System. Deshalb ist das Einleiten von Kohlendioxid diesmal notwendig, damit Photosynthese langanhaltend stattfinden kann. Dass Gärröhrchen verhindert Überdrück, welcher durch das Zusätzliche Gas entstehen könnte.

Durch die Wahl eines Flächengefäßes soll zum eine Diffusion erleichtert werde, aber auch garantiert werden, dass alle Zellen mit genügend Licht versorgt sind. Das Gefäß wird zudem außen mit Alufolie umhüllt um möglichst viel der Lichtenergie zu nutzen.

Dieser Aufbau gleicht die der geplanten Schichten des Anzuges, da auch hier durch Alufolie oder Silber eine Verspiegelung für Reflexion des Lichtes sorgen soll und eine schnelle Auskühlung des Körpers verhindert werden könnte. Die vorgesehene Höhe der Flüssigkeit im Anzug entspricht zudem die des maximal möglichen Flüssigkeitstandes des Prototyps.

Zurzeit haben wir leider noch nicht genügend Versuchsergebnisse, um genau Aussagen über die Sauerstoff-Produktion zu treffen. Jedoch erhoffen wir uns baldige Ergebnisse mit Hilfe unseres Prototyps.

6. Danksagung

Wir möchten uns bei unserem Fachlehrer: Dennis Nebe für seine tatkräftige Unterstützung danken.

Desweiten möchten wir uns bei Dr. Barbara Melkonian, sowie der Culture Collection of Algae der Universität zu Köln bedanken für die große Unterstützung der Nährlösungen und der Algen-/Cyano- Kulturen, welche uns kostenlos zur Verfügung gestellt wurden.