

# **Sonnenenergiegewinnung nach dem Vorbild der Natur**

am Beispiel der Purpurbakterien

**George A. Rosenberger (Jg. 1986)**

Maturitätsarbeit an der Kantonsschule Glattal



31. Januar 2005

# Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	5
2. Theoretischer Hintergrund.....	7
2.1 Sonnenenergiegewinnung in der Natur .....	7
2.2 Wasserstoff als Energieträger .....	7
2.3 Purpurbakterien .....	8
2.3.1 Allgemein .....	8
2.3.2 Vorkommen in der Natur.....	9
2.3.3 Äussere Einflüsse auf das Wachstum.....	9
2.3.3.1 Nährstoffansprüche .....	9
2.3.3.2 Lichtquelle .....	9
2.3.3.3 Temperatur.....	9
2.3.4 Chemische Prozesse und Vorgänge .....	9
2.3.4.1 Der Stoffwechsel von phototrophen Bakterien.....	9
2.3.4.2 Wasserstoffproduktion.....	10
2.4 Alternative Möglichkeiten .....	10
3. Experimente .....	12
3.1 Anzucht.....	12
3.1.1 Herstellung der Nährlösung.....	12
3.1.1.1 Theorie.....	12
3.1.1.2 Material und Methoden .....	12
3.1.1.3 Durchführung.....	13
3.1.1.4 Ergebnisse.....	13
3.1.2 Anzucht von Purpurbakterien .....	14
3.1.2.1 Theorie.....	14
3.1.2.2 Material und Methoden .....	14
3.1.2.3 Durchführung.....	15
3.1.2.4 Ergebnisse.....	15
3.1.3 Messung der Vermehrungsgeschwindigkeit von Purpurbakterien .....	15
3.1.3.1 Theorie.....	15
3.1.3.2 Material und Methoden .....	16
3.1.3.3 Durchführung.....	16
3.1.3.4 Ergebnisse.....	17

3.1.4	Nachweis von Wasserstoff .....	17
3.1.4.1	Theorie.....	17
3.1.4.2	Material und Methoden .....	17
3.1.4.3	Durchführung .....	18
3.1.4.4	Ergebnisse.....	19
3.2	Einfluss des Lichts.....	19
3.2.1	Wasserstoffproduktion im künstlichen Licht.....	19
3.2.1.1	Theorie.....	19
3.2.1.2	Material und Methoden .....	19
3.2.1.3	Durchführung .....	20
3.2.1.4	Ergebnisse.....	20
3.2.2	Wasserstoffproduktion im natürlichen Licht.....	21
3.2.2.1	Theorie.....	21
3.2.2.2	Material und Methoden .....	21
3.2.2.3	Durchführung .....	22
3.2.2.4	Ergebnisse.....	22
3.2.3	Wasserstoffproduktion in natürlicher Umgebung.....	23
3.2.3.1	Theorie.....	23
3.2.3.2	Material und Methoden .....	23
3.2.3.3	Durchführung .....	23
3.2.3.4	Ergebnisse.....	23
4.	Diskussion.....	25
4.1	Versuchsbedingungen.....	25
4.1.1	Wasserprobe .....	25
4.1.2	Nährlösung.....	25
4.1.2.1	Allgemein.....	25
4.1.2.2	Probleme bei der Herstellung.....	25
4.1.2.3	Kontamination.....	25
4.1.2.4	Einstellung des pH-Wertes .....	26
4.1.2.5	Erschöpfung einzelner Stoffe in der Nährlösung.....	26
4.1.3	Lichtquelle .....	26
4.1.3.1	Allgemein und Wellenlänge .....	26
4.1.3.2	Künstliches Licht.....	27
4.1.3.3	Natürliches Licht.....	27

4.1.4	Temperatur.....	27
4.1.5	Reaktor .....	27
4.2	Einfluss der Lichtquelle.....	28
4.2.1	Wasserstoffproduktion im Optimum.....	28
4.2.2	Wasserstoffproduktion im Sonnenlicht.....	29
4.3	Umsetzungen in der Praxis .....	30
4.3.1	Potential des verwendeten Reaktors.....	30
4.3.2	Studien möglicher Umsetzungen .....	30
4.4	Umsetzung im Spezialfall Schweiz.....	31
4.5	Ausblick.....	31
5.	Zusammenfassung.....	32
6.	Schlusswort.....	33
7.	Anhang.....	34
7.1	Abbildungen.....	34
7.1.1	Purpurbakterien Ansiedelung .....	34
7.1.2	Purpurbakterien Ansiedelung: Nahaufnahme.....	35
7.1.3	Kontamination Reservebehälter 1 .....	36
7.1.4	Kontamination Reservebehälter 2.....	37
7.1.5	Versuchsaufbau: Wasserstoffproduktion im künstlichen Licht.....	38
7.1.6	Versuchsaufbau: Nachweis von Wasserstoff.....	39
7.1.7	Versuchsaufbau: Wasserstoffproduktion im natürlichen Licht .....	40
7.1.8	Versuchsaufbau: Wasserstoffproduktion in natürlicher Umgebung.....	41
7.2	Bestätigung.....	41
8.	Quellenverzeichnis .....	42

# 1. Einleitung

Die Menschheit hat seit der industriellen Revolution gewaltige technische Fortschritte erzielt und konnte dank vielen Zufällen und Pioniergeist zu dem heutigen Status gelangen. Wir leben in einer Welt, die ohne Technik kaum vorstellbar wäre. Die meisten unserer Maschinen benötigen Energie um zu funktionieren. Unsere Energie hat viele verschiedene Formen. Der Mensch lernte sie im Laufe der Zeit nutzen und zu seinem Vorteil einsetzen. Die ersten „Kraftwerke“ waren Lagerfeuer, mit deren freigesetzter Energie die Menschen kochen oder sich wärmen konnten. Später entdeckte der Mensch Erdöl, Strom und Atomenergie. Alle Energien haben eines gemeinsam. Sie sind in der Natur seit Beginn der Zeit vorhanden und werden genutzt. Unsere Vorfahren interessierten sich nur für den Zweck und Nutzen der Energiequellen. So kam es soweit, dass Kohlendioxidemissionen von Kohlenstoffverbindungen wie Holz und Erdöl bei ihrem Verbrennen in die Atmosphäre gelangten und wir uns damit schliesslich wieder selbst Schaden zufügen, wenn wir diese Emissionen wieder einatmen oder unsere Umwelt vergiften. Auch haben wir vielleicht zu spät festgestellt, dass das „flüssige Gold“, Erdöl, der Energielieferant unserer Autos, Flugzeuge und Maschinen, nicht unbegrenzt verfügbar ist. Hochrechnungen versprechen uns noch 30 Jahre, dann sind unsere Vorräte erschöpft.

Energiequellen wie Atom-, Wasser- und Windkraft sind zwar emissionsfrei, aber Atomenergie bedeutet auch immer Lagerung ihrer hochradioaktiven Brennstäbe, und Wasser- und Windenergie sind nicht überall verfügbar.

Wir stehen mit unserem bestehenden Know-how vor einem grossen Problem. Unsere wichtigsten Energiequellen haben keine langfristige Zukunft. Panik und Angst beherrschen die Energiepolitik. Dabei ging oft eines vergessen: Unsere Hauptenergiequelle, die Sonne. Sonnenenergie wurde lange belächelt, doch in den letzten Jahren wurden enorme Fortschritte gemacht. Solarzellen können an jedem Punkt auf der Erde elektrische Energie herstellen, Solarwasserheizungen auf Hausdächern werden zunehmend genutzt, sind aber in der Anschaffung noch zu teuer. Der Fortschritt auf diesem Gebiet ist nicht aufzuhalten und wahrscheinlich wird in der Zukunft ein Grossteil unserer Energie direkt anstatt indirekt von der Sonne stammen.

Sonnenstrahlen, die mit der bestmöglichen Intensität und dem optimalen Winkel auf die Erde treffen, liefern 400 Watt pro Quadratmeter. Auch wenn wir die gesamte Oberfläche eines Autos mit Solarzellen, die einen Wirkungsgrad von 100% aufweisen könnten, ausstatten würden, könnten wir mit dieser Energie ein heutiges Auto nicht antreiben (Nachtigall, W., 2002). Aber dies ist auch gar nicht nötig. Man kann Energie zwischenspeichern, zum Beispiel in Batterien. Aber Batterien sind extrem aufwändig und brauchen mehr Energie zu ihrer Produktion als sie uns im Endeffekt liefern.

Ein Blick „zurück“ in die Natur und somit in unsere eigene Geschichte zeigt uns, dass die Evolution dieses Problem bereits perfekt gelöst hat. Pflanzen und Bakterien betreiben Photosynthese und produzieren aus Sonnenenergie  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  Glukose, die sie als Energiespeicher verwenden können und bei Bedarf in ATP umwandeln und so später mit zusätzlichen Stoffen ihre Körper ausbilden können. Andere Lebewesen wiederum ernähren sich von diesen Pflanzen und wieder andere ernähren sich von diesen. Die Nahrungskette geht immer so weiter und somit isst auch der Mensch diese Verbindungen, die nur durch Sonnenenergie entstehen können.

Unsere „alten“ Energielieferanten sind im energetischen Sinn nichts anderes als Batterien. Erdöl und Erdgas sind die konservierten Überreste abgestorbener Lebewesen. Alles Leben hinterlässt nach dem Absterben seine Spuren und diese enthalten über das ganze Leben angesammelte und umgewandelte Energieformen.

Ein Schlagwort, das die meisten im Zusammenhang mit Zukunftsenergie kennen, ist Wasserstoff. Das Wasserstoffauto, das uns emissionsfrei auf unseren Strassen transportiert, ist bereits Realität und bald nicht nur im Labor anzufinden. Wasserstoff ist ein extrem guter Energiespeicher. Brennstoffzellen wandeln Wasserstoff und Sauerstoff in Wasser um, dabei entsteht als „Nebenprodukt“ elektrische Energie. Bei diesem Vorgang kann Wasserstoff als Energiespeicher verwendet werden, der die Nachteile von Batterien und Akkumulatoren nicht hat. Das Problem bei der Sache ist allerdings, dass Wasserstoff energieaufwändig aus Wasser abgespalten werden muss.

Photosynthese ist der Prozess, der für die Natur von essentieller Bedeutung ist und ohne den auch wir nicht leben können. Leider haben wir es bis heute noch nicht geschafft, eine technische Photosynthese nach dem Vorbild der Natur zu konstruieren, aber wir haben es in den letzten Jahren geschafft, diesen Vorgang experimentell nutzen zu können.

Purpurbakterien und Grünalgen erzeugen beim Prozess der Photosynthese als Nebenprodukt reinen Wasserstoff in Gasform. Entdeckt wurde dieser Vorgang erstmals im Jahre 1949. In diesem Jahr stellten Gest und Kamen (Schäfer, L., 2003) fest, dass in einer Kultur des schwefelfreien Purpurbakteriums *Rhodospirillum rubrum* erhebliche Mengen Wasserstoff freigesetzt werden, falls die Kultur ammoniumfrei ist und genügend organische Kohlenstoffverbindungen vorhanden sind.

Mit dieser Entdeckung wurden später weitere Versuche durchgeführt und die Kenntnisse erweitert.

### **Zielsetzung:**

**In meiner Maturitätsarbeit möchte ich die biologische Sonnenenergiegewinnung anhand der Wasserstoffproduktion von Purpurbakterien in Experimenten und in der Theorie untersuchen und dabei als praktischen Versuch einen funktionsfähigen Reaktor bauen, der Sonnenenergie in Strom umwandelt.**

**Für meine Versuche möchte ich vor allem den Einfluss der Lichtquelle auf das Wachstum und die Wasserstoffproduktion der Purpurbakterien untersuchen und dabei eine mögliche Anwendung in der Praxis als Energiequelle und die Besonderheiten einer Umsetzung in der Schweiz diskutieren.**

**Ich vermute, dass sich die Wasserstoffproduktionsrate zuerst proportional zur Lichtintensität und der Beleuchtungsdauer verhält und dann asymptotisch einen Grenzwert erreicht.**

## 2. Theoretischer Hintergrund

### 2.1 Sonnenenergiegewinnung in der Natur

Die Grundsatzfrage in der heutigen Energiepolitik lautet: Wie kann die Menschheit die Sonnenenergie in dem Umfang nutzen, wie es die Natur bereits seit den Anfängen tat? Sonnenenergie liefert nur einen sehr geringen Wirkungsgrad. Wenn man allerdings alle Zahlen betrachtet, stellt man fest, dass dies kein Hindernis ist: Pro Jahr wird die Erde von der Sonne mit  $5.6 \cdot 10^{24}$  J bestrahlt. Subtrahiert man die direkte Reflektion dieser Strahlen in den Weltraum kommt man noch immer auf  $3.9 \cdot 10^{24}$  J. Diese gewaltige Menge beträgt das 11000fache des derzeitigen Energiebedarfs der Menschheit (Reiß, T., Hüsing, B., 1993).

Wir haben also immense Energievorräte zur Verfügung und müssen nur noch einen Weg finden, sie zu nutzen. Die Natur selbst absorbiert  $3.2 \cdot 10^{21}$  J pro Jahr. Wenn wir einen Weg finden würden, um es der Natur gleichzutun, wären alle unsere Energieprobleme gelöst.

Viele Wege führen bekanntlich nach Rom. In der Vergangenheit wurde sehr oft nur der technische Aspekt betrachtet. Seit einigen Jahrzehnten wird unter dem Namen Bionik wieder bei der Natur abgeschaut, denn Milliarden von Jahren Evolution haben Systeme entwickelt, die an unsere Verhältnisse auf der Erde perfekt angepasst sind.

Das Schlagwort heisst Photosynthese.

### 2.2 Wasserstoff als Energieträger

Energie ist eine Ressource, die leider nicht fassbar ist. Man muss sie an andere Formen binden, um sie zu transportieren und zu speichern. Es gibt sehr viele Möglichkeiten, aber die in der Natur häufigste ist die Umwandlung in hochenergetische Stoffe durch Photosynthese, die sehr schnell wieder in andere Energieformen umgewandelt werden können.

Die Menschheit nutzt diesen Vorgang indirekt durch Nahrungsaufnahme und kann ohne diese Energieformen den eigenen Organismus nicht am Leben erhalten. Eine Hauptanwendung der Energie heute ist aber der Zwischenschritt durch die Elektrizität. Biologische Ressourcen sind dafür nicht geeignet, da sich die Evolution dieser Möglichkeit nicht hauptsächlich gewidmet hat.

1766 wurde das Element Wasserstoff als entzündbares Gas von Cavendish entdeckt (Koch-Schwessinger, G., 1994). Wasserstoff eignet sich als Energiespeicher für die Anwendungen der Menschheit. Im Gegensatz zu Glucose kann man es nicht essen, aber als Energiespeicher nutzen.

Wasserstoff kann man über verschiedene Methoden gewinnen. Edukt ist aber in den meisten Fällen  $H_2O$ , gewöhnliches Wasser. Der Vorteil hier ist, dass es fast überall verfügbar und deshalb günstig ist.

Heute wird ein Grossteil des Wasserstoffverbrauchs durch Gewinnung mittels fossilen Energiequellen gestillt. Hierbei wird mittels Dampfreformierung von Erdgas oder Naphtha Wasserdampf zu Wasserstoff und  $CO_2$  umgesetzt. Eine andere Möglichkeit ist die Vergasung mittels Schweröl oder Kohle, wobei man Wasserstoff und Kohlendioxid erhält, das noch getrennt werden muss (Reiß, T., Hüsing, B., 1993). Es gibt noch viele weitere Prozesse, bei

denen Wasserstoff aber hauptsächlich als Nebenprodukt entsteht, und die deshalb indirekt sind.

Aus Wasserstoff kann mittels Brennstoffzellen Strom und Wasser gewonnen werden. Umgekehrt funktioniert dieser Vorgang auch. Er wird Wasserstoffelektrolyse genannt. Man kann nun mit beliebigen Stromgeneratoren die Elektrolyse betreiben und so Wasserstoff erzeugen. Zum Beispiel über Photovoltaik mittels Solarzellen, die Sonnenenergie direkt in Strom umsetzen, oder mittels Turbinen, die von Wasser oder heisser Luft angetrieben werden. Es gibt fast keine Grenzen der Möglichkeiten bei der Elektrolyse.

Mit der gespeicherten Energie im elementaren Wasserstoff stellt sich die Frage der weiteren Verwendung.

Als Anwendung eignet sich das Beispiel eines globalen solaren Wasserstoffenergiesystems (Reiß, T., Hüsing, B., 1993). In einem Gebiet mit einer hohen und langen Strahlungsdichte in den Wüsten Afrikas stehen riesige Solarfarmen. Diese produzieren Strom und damit wird durch Elektrolyse Wasserstoff gewonnen. Ähnlich wie mit Elektrizitätsleitungen kann der gasförmige Wasserstoff durch Pipelines über die Kontinente transportiert werden und gelangt so zum Verbraucher, wo er zum Beispiel in Fahrzeugen oder in Kraftwerken wieder in Strom umgewandelt werden kann. Der gasförmige Transport hat den Vorteil, dass die heutige Technik dafür bereits ausgereift ist und keine weiteren Schritte nötig sind. Falls aber an sehr weit entfernte und unzulängliche Orte transportiert werden soll, kann man den Wasserstoff verflüssigen und abfüllen. Er ist nun greifbar wie fossile Ressourcen und kann ähnlich angewendet werden.

## 2.3 Purpurbakterien

### 2.3.1 Allgemein

Nur zwei Gruppen von Bakterien können Licht als Energiequelle zum Wachstum nutzen: Purpurbakterien und Grüne Bakterien (Schlegel, H.G., 1992). Sie sind evolutionstechnische Pioniere aus den Anfängen der Photosynthese. Anders als die Grünen Pflanzen können sie nämlich nicht Wasser als Wasserstoffdonator verwenden, der für die Photosynthese gebraucht wird, sondern benötigen stärker reduzierte Wasserstoffverbindungen wie  $H_2S$ ,  $H_2$  oder organische Verbindungen. Durch diesen Umstand produzieren sie während der Photosynthese auch keinen elementaren Sauerstoff (anoxygene Photosynthese), was essentiell für die Wasserstoffsynthese ist.

Anoxygene, phototrophe Bakterien werden in drei Hauptgruppen unterteilt: Schwefelpurpurbakterien, schwefelfreie Purpurbakterien und Grüne Schwefelbakterien. Die meisten besitzen Bacteriochlorophyll a als Chlorophyll.

Die schwefelfreien Purpurbakterien werden weiter in die spirillenförmige Gattung *Rhodospirillum* unterteilt. Die stäbchenförmigen Gattungen werden nach *Rhodopseudomonas* und *Rhodobacter* zusammengefasst. Die kugelförmigen, beweglichen Zellen bilden *Rhodopila globiformis*. Ihre unterschiedlichen äusseren Erscheinungsformen stehen in direkter Abhängigkeit z.B. mit dem pH Wert der Umwelt. Alle schwefelfreien Purpurbakterien reagieren mehr oder weniger phototaxisch und richten ihre Körper nach verschiedenen Lichtwellenlängen aus (Schlegel, H.G., 1992).

Schwefelwasserstoff hemmt das Wachstum der meisten schwefelfreien Purpurbakterien. Einige Arten ignorieren Schwefelwasserstoff jedoch und andere benutzen ihn sogar als Wasserstoffdonator zur  $CO_2$ -Fixierung (Schlegel, H.G., 1992).

## **2.3.2 Vorkommen in der Natur**

Phototrophe Bakterien sind oft in den anaeroben Zonen vieler Süß- und Salzwässer anzutreffen (Schlegel, H.G., 1992; Schäfer, L., 2003). Man findet sie oberhalb der Faulschlammgrenze im Hypolimnion. In diesem Bereich sind oft nur noch langwellige Strahlen anzutreffen, da die darüber liegende Schicht, das Epilimnion, wo aerober Abbau von Grünalgen und Cyanobakterien betrieben wird, viele kurzwellige Strahlen herausfiltert, die für Purpurbakterien zum Teil schädlich sind.

## **2.3.3 Äussere Einflüsse auf das Wachstum**

### *2.3.3.1 Nährstoffansprüche*

Das Wachstum von Mikroorganismen ist an das Vorhandensein von Wasser gebunden (Schlegel, H.G., 1992). Jeder Organismus hat eigene Bedürfnisse an die im Wasser gelösten Stoffe, die für den Aufbau der Zellen benötigt werden. Zu den elementaren Nährstoffansprüchen zählen die 11 Makroelemente Kohlenstoff, Sauerstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel, Phosphor, Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium und Eisen. Diese Elemente werden von allen Organismen benötigt. Weiter kommen noch diverse Mikro- oder Spurenelemente in der Nährlösung vor, die nur individuell benötigt werden.

### *2.3.3.2 Lichtquelle*

Auch die Lichtquelle ist für die Anzucht von Purpurbakterien einer der wichtigsten Faktoren. Es spielt nicht nur die Bestrahlungsintensität, sondern auch die Wellenlänge eine gewichtige Rolle. Purpurbakterien bevorzugen Licht einer Wellenlänge, das grösser als 600nm ist.

Es existiert eine Grenze wie bei Pflanzen der Lichtkompensationspunkt, bei der die durch die Nitrogenase freigesetzte Menge Wasserstoff wieder durch die Uptake-Hydrogenase verbraucht wird. Bei geringer Bestrahlung lässt sich noch auf eine fast direkte Proportionalität zur produzierten Wasserstoffmenge schliessen, sobald aber die Intensität erhöht wird, flacht die Kurve asymptotisch ab. Der Übergang zwischen linearem und asymptotischem Verhalten liegt ungefähr in einem Bereich von 400 – 800 W/m<sup>2</sup>.

### *2.3.3.3 Temperatur*

Die Temperatur spielt für die Produktion von Wasserstoff eine wichtige Rolle. Da für den Stoffwechsel wichtige Enzyme erst ab einer bestimmten Temperatur optimal oder überhaupt erst funktionieren, müssen diese bestimmten Werte eingehalten werden, wenn ein Wachstum oder überhaupt eine Produktion erreicht werden soll.

In der Vergangenheit wurden viele Forschungen über die idealen Betriebstemperaturen von Purpurbakterienreaktoren gemacht (Koch-Schwessinger, G., 1994; Schäfer, L., 2003). Dabei wurde festgestellt, dass das Optimum in einem Bereich zwischen 30° und 40° C liegt. Alle Temperaturen über 40° C fügen den Organismen in den meisten Fällen irreversible Schäden zu.

## **2.3.4 Chemische Prozesse und Vorgänge**

### *2.3.4.1 Der Stoffwechsel von phototrophen Bakterien*

Anders als bei Grünen Pflanzen ist der Stoffwechsel von phototrophen Bakterien komplizierter, da sie diesen je nach Situation umstellen können. Viele schwefelfreie

Purpurbakterien können sowohl anaerob als auch aerob wachsen. Andere Gruppen können wiederum nur bei ganz bestimmten Lichtverhältnissen wachsen und viele verwerten Wasserstoff oder Schwefelwasserstoff oder Schwefel als Wasserstoffdonatoren. Dieser Vorgang dient zur Kohlendioxidfixierung und zur Assimilation chemischer Substanzen (Schlegel, H.G., 1992).

Aerobes Wachstum ist für einige schwefelfreie Purpurbakterien möglich, wenn ihnen organische Substrate zur Verfügung stehen. Dies ist Beweis dafür, dass sie über ein Atmungsstoffwechselsystem mit Tricarbonsäure-Cyclus verfügen. Prinzipiell wird davon ausgegangen, dass der Grundstoffwechsel die bekannten Reaktionswege beschreitet.

#### 2.3.4.2 Wasserstoffproduktion

Die Wasserstoffproduktion von Purpurbakterien, genannt Biophotolyse, ist ein Abfallprodukt vom eigentlichen Zweck der Photosynthese, der Energieumwandlung. Das Grundproblem unserer technischen Wasserstoffgewinnung, der Aufspaltung von  $2\text{H}_2\text{O}$  in  $2\text{H}_2$  und  $\text{O}_2$  und die damit verbundene Elektronenübertragung auf das Proton, wird von ihnen mittels des Enzyms Nitrogenase gelöst. Sie ist sauerstoffempfindlich, komplex reguliert und synthetisiert nur bei Mangel an gebundenem Stickstoff (Reiß, T., Hüsing, B., 1993, Schlegel, H.G., 1992). Die Nitrogenase ist in den Heterocysten von Purpurbakterien lokalisiert. Ihr eigentlicher Zweck ist die Umwandlung molekularen Stickstoffs aus der Luft in die chemisch gebundene Form Ammonium, die weiter verwendet werden kann. Mit der Stickstofffixierung ist aber auch immer eine Wasserstoffbildung verbunden. Bis zu 50% der dabei übertragenen Elektronen werden auf Protonen übertragen, welche als Wasserstoff freigesetzt werden.

Die Gleichung der Nitrogenase:  $\text{N}_2 + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \Rightarrow$  reagiert durch Nitrogenase zu  $2\text{NH}_3 + \text{H}_2$  (Schäfer, L., 2003).

Für die Organismen ist das Produzieren von Wasserstoff jedoch „Energieverschwendung“, da bei der Nitrogenase ATP verbraucht wird. Die Bakterien verfügen vermutlich deshalb über reversible und Uptake-Hydrogenase, die sie vor dieser Verschwendung schützen. Der gebildete Wasserstoff wird nicht einfach abgegeben, sondern sofort wieder aufgenommen und reoxidiert durch eine Uptake-Hydrogenase. Die Elektronen kommen wieder in die Elektronentransportkette und werden auf Sauerstoff übertragen, um die sauerstoffempfindliche Nitrogenase vor Sauerstoff zu schützen. Über die reversible Hydrogenase ist noch nicht viel bekannt, man weiss aber, dass sie im Labor *in vitro* sowohl Wasserstoff oxidieren, als auch Protonen reduzieren kann (Reiß, T., Hüsing, B., 1993).

Um ein Optimum der Wasserstoffproduktion zu erreichen, muss man nun die Bedingungen so verändern, dass der Organismus nicht abstirbt, aber trotzdem Wasserstoff produziert.

## 2.4 Alternative Möglichkeiten

Alle biologischen Lösungen zur Wasserstoffbildung beruhen auf dem Grundsatz, dass bei Oxidationsreaktionen anfallende überschüssige Elektronen auf Protonen übertragen werden und so als elementarer Wasserstoff ausgestossen werden (Reiß, T., Hüsing, B., 1993).

So gibt es neben der anoxygenen Photosynthese unter anderem bei Purpurbakterien auch die oxygene Photosynthese bei Grünalgen und die Gärung, wobei Wasserstoff aus Biomasse durch Gärung entsteht (Reiß, T., Hüsing, B., 1993).

Cyanobakterien funktionieren sehr ähnlich wie Purpurbakterien. Sie betreiben damit auch anoxygene Photosynthese und verfügen über reversible und Uptake-Hydrogenase. Anders als Purpurbakterien können sie jedoch Wasser als Wasserstoffdonatoren verwenden.

Grünalgen wie zum Beispiel *Chlamydomonas reinhardtii* sind in der Lage,  $H_2$  direkt aus anorganischen Verbindungen wie  $H_2O$  und  $CO_2$  zu synthetisieren (Schäfer, L., 2003). Dabei bedienen sie sich dem Enzym Hydrogenase. Wasserstoff wird dann produziert, wenn ihnen im Licht nicht in genügender Menge  $CO_2$  als Elektronenakzeptor zur Verfügung steht. Die überschüssigen Elektronen werden so auf die Protonen abgegeben. Anders als bei phototrophen und Cyanobakterien stellt diese Hydrogenase im Gegensatz zur dortigen Uptake-Hydrogenase den molekularen Wasserstoff nicht mehr dem Organismus zur Verfügung, sondern gibt ihn direkt an die Umwelt ab. Eine weitere Eigenart dieser Algen ist eine, zwar geringe, Wasserstoffproduktion in der Dunkelheit durch die Vergärung von Assimilationsprodukten, falls Sauerstoff als Elektronenakzeptor fehlt (Reiß, T., Hüsing, B., 1993).

### 3. Experimente

#### 3.1 Anzucht

##### 3.1.1 Herstellung der Nährlösung

###### 3.1.1.1 Theorie

Um Bakterien gezielt ansiedeln zu können wird eine Nährlösung benötigt, die einer individuellen Art eine optimale Umweltversorgung mit den benötigten Nährstoffen garantiert. Das Rezept stammt von Schäfer (Schäfer, L., 2003).

###### 3.1.1.2 Material und Methoden

Folgendes Material wird für diesen Versuch benötigt:

- Standardchemikalien aus Tabelle 1
- 1.8L destilliertes Wasser
- Technische NaOH-Lösung
- 2 x 0.5L-Plastikbehälter mit Deckel
- 2 x 1.0L-Glasbehälter mit Deckel
- 1 x 1.5L-PET-Plastikbehälter mit Deckel
- 2.0L-Rundglasbehälter offen
- 50ml-Rundglasbehälter offen
- Papier, um die Chemikalien abzuwägen
- Spatel
- Pipette mit Gummi
- Elektronische Waage (mit Anzeige bis  $10^{-3}$ g)
- pH-Meter
- magnetisches Mischgerät mit Sonde

Tabelle 1: Benötigte Chemikalien für eine Standardpurpurbakteriennährlösung nach Schäfer (2003).

		Menge in g bei 10 Liter Nährlösung
Milchsäure (90%)	$C_3H_6O_3$	40
L-Glutaminsäure	$C_5H_9NO_4$	10.3
Magnesiumsulfat-heptahydrat	$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	2
Calciumchlorid-2-hydrat	$CaCl_2 \cdot 2 H_2O$	0.75
Di-Kaliumhydrogenphosphat	$K_2HPO_4$	9
Kaliumdihydrogenphosphat	$KH_2PO_4$	6
Thiaminiumdichlorid	$C_{12}H_{18}Cl_2N_4OS \cdot xHO$	0.01
Nicotinsäure	$C_6H_5NO_2$	0.01
4-Aminobenzoesäure	$C_7H_7NO_2$	0.02
Biotin	$C_{10}H_{16}N_2O_3S$	0.001 (0.0015 bei 100l)
Spurenelementlösung		
Ethylendinitrilotetraessigsäure	$C_{10}H_{12}FeN_2NaO_8 \cdot 3$	0.32
Natriumeisen(III)salz-Trihydrat	$H_2O$	
Mangan(II)-chlorid	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.004

Kobalt(II)-chlorid	$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0.0015 (0.016 bei 100l)
Kupfer(II)-sulfat	$\text{CuSO}_4$	0.001 (0.004 bei 100l)
Natriummolybdat	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.0015 (0.012 bei 100l)
Zinkchlorid	$\text{ZnCl}_2$	0.001 (0.008 bei 100l)
Lithiumchlorid	$\text{LiCl}$	0.001 (0.002 bei 100l)
Zinn(II)-chlorid	$\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.001 (0.002 bei 100l)
Borsäure	$\text{H}_3\text{BO}_3$	0.002
Kaliumbromid	$\text{KBr}$	0.004
Kaliumjodid	$\text{KJ}$	0.004
Bariumchlorid	$\text{BaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0.001

Von allen Chemikalien werden ihre individuellen Mengen mit dem Spatel auf dem Papier oder dem Rundglasbehälter auf der elektronischen Waage abgewogen und in das 2.0L-Rundglasgefäß getan. Anschliessend wird der Behälter bis auf 1.00L mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Mittels dem magnetischen Mischgerät und der Sonde, die in den Rundglasbehälter gelegt wird, wird die Lösung solange auf 2/3 der Maximalgeschwindigkeit gemischt, bis keine Fällung mehr von Auge zu erkennen ist.

Nun wird 2 x 0.4L Nährlösungskonzentrat in die zwei 0.5L-Plastikbehälter abgefüllt und die Behälter werden verschlossen und für spätere Zwecke eingefroren und verwahrt.

Das restliche Nährlösungskonzentrat wird nun um den Faktor 10 mit destilliertem Wasser verdünnt. In die beiden 1.0L-Glasbehälter mit Deckel wird jeweils 0.1L Nährlösungskonzentrat umgeleert und mit genau 0.9L destilliertem Wasser aufgefüllt.

Die Behälter (inkl. Sonde) werden nun wieder auf das magnetische Mischgerät gestellt. Auf mittlerer Geschwindigkeit werden nun mittels einer Pipette einzelne Tropfen technischer NaOH-Lösung aus einem offenen 50ml-Rundglasbehälter eingetröpfelt und der ganze Vorgang wird mit dem pH-Meter überwacht. Wenn der pH-Wert der Lösung 7.4 +/- 0.2 erreicht hat, wird der Versuchsaufbau aufgeräumt und eine letzte pH-Kontrolle mit pH-Streifen durchgeführt. Die 1.0L-Glasbehälter werden mit ihrem Deckel verschlossen.

Nun wird 0.8L Nährlösung am selben Tag für weitere Zwecke entnommen. Die restlichen 1.2L werden in eine PET-Plastikflasche getan, verschlossen und für spätere Verwendung sofort eingefroren.

### 3.1.1.3 Durchführung

Der Versuch wurde nach Anleitung durchgeführt.

Die Chemikalien konnten zum Teil wegen der zu ungenauen Waage nicht genau abgewogen werden. Deshalb wurden zu geringe Mengen optisch nach Kristallen aufgeteilt, um dennoch die gewünschten Mengen zu erreichen. Bei den Berechnungen wurde immer aufgerundet. Die Nährlösung erwies sich als starker Puffer, weshalb viel technische NaOH-Lösung verwendet werden musste. Die Genauigkeit beim pH-Wert wurde auf +/-0.1 eingehalten.

### 3.1.1.4 Ergebnisse

Die Nährlösung konnte erfolgreich produziert werden. Auch nach ein paar Tagen setzte sich in der Nährlösung selbst und im Konzentrat kein Niederschlag ab.

### **3.1.2 Anzucht von Purpurbakterien**

#### *3.1.2.1 Theorie*

Dieser Versuch folgt hauptsächlich den Anleitungen von Koch-Schwessinger und Schäfer (Koch-Schwessinger, G., 1994; Schäfer, L., 2003). Der Aufbau entspricht der Anleitung von Schäfer.

Purpurbakterien wachsen in einer Standardnährlösung bei einer Temperatur zwischen 10°C und 40°C bei Lichtbestrahlung bis 800W/m<sup>2</sup>.

In diesem Versuch wird nachgewiesen, dass in einer Wasserprobe aus einem lokalen Gewässer Purpurbakterien enthalten sind und diese sich in einer geeigneten Umgebung vermehren.

#### *3.1.2.2 Material und Methoden*

Folgendes Material wird für diesen Versuch benötigt:

- 10ml Wasserprobe aus einem geeigneten Gewässer
- 250ml Standardpurpurbakteriennährlösung (siehe Kapitel 3.1.1)
- 250ml Rundglasbehälter mit Deckel
- Messbehälter
- Standard Dampfkochtopf mit Wasser
- 75W Glühlampe mit 16cm Durchmesser Reflektor

Für diesen Versuch wird eine Wasserprobe benötigt, in der Purpurbakterien nachgewiesen werden sollen. Mittels des Messbehälters wird aus einem kleineren stehenden Salz- oder Süßgewässer eine geringe Menge Wasser ca. 20cm vom Ufer und 20cm unter dem Wasserspiegel entnommen. Der Behälter wird anschliessend verschlossen.

Nun wird 250ml Standardpurpurbakteriennährlösung in einen 250ml Rundglasbehälter abgefüllt und der Deckel wird darauf so gelegt, dass ein Gasaustausch mit der Umwelt stattfinden kann.

Der Rundglasbehälter wird in einen gewöhnlichen Haushaltsdampfkochtopf, der mit Leitungswasser bis zur Hälfte gefüllt ist, gestellt. Der Dampfkochtopf wird mit dem Deckel verschlossen und auf einer Herdplatte erhitzt, bis der unterste Ring des Dampfkochtopfs erreicht ist. Nach ca. 15min wird er von der Platte genommen und es wird gewartet, bis er abgekühlt ist und sich öffnen lässt. Nach dieser Autoklavation wird der Rundglasbehälter dem Dampfkochtopf entnommen und abgekühlt.

Nun werden 10ml der Wasserprobe aus dem Messbecher dem Rundglasbehälter hinzugefügt. Dabei muss beachtet werden, dass beim Öffnen des halbaufgeschraubten Behälters keine Luft oder andere Kontaminationen eindringen können, der eigene Atem wird dabei beim Umfüllen angehalten. Nun wird der Deckel wieder halb verschlossen um einen Gasaustausch mit der Umwelt zu garantieren.

Der Rundglasbehälter wird nun vor eine 75 Watt Glühlampe mit Reflektor gestellt. Nach 2 – 3 Tagen bilden sich erste kleine gelbliche Punkte und nochmals einige Tage später erste Ansammlungen. Die Nährlösung verfärbt sich purpurn, falls Purpurbakterien in der Nährlösung enthalten waren. Auch Gasblasen an der Oberfläche zeugen von produzierten Gasen der Bakterien.

### 3.1.2.3 Durchführung

Der Versuch wurde wie beschrieben durchgeführt. Die Wasserprobe stammt aus dem „Froschweiher Wermatswil“, lokalisiert in Wermatswil ZH, in der Schweiz. Dieses Biotop wird von der Natur gesteuert und erfüllt als stilles Süssgewässer alle Kriterien, die auf Purpurbakterienvorkommen schliessen lassen.

Der Deckel des Rundglasbehälters wurde durch das Autoklavieren und das Einwirken der Glühlampe spröde.

Nach einem Tag Bestrahlung hat sich eine Fällung im Behälter eingestellt, bei der sich die Bakterien besonders schnell vermehrt haben.

Abbildung 1 und 2 (siehe Kapitel 7.1.1 und 7.1.2) zeigen den Reaktor am 04.12.2004.

### 3.1.2.4 Ergebnisse

Aufgrund der Farbe und der Gasblasen an der Wasseroberfläche konnte man nach einigen Tagen nachweisen, dass die Wasserprobe Purpurbakterien enthielt, die Bakterien vermehren und Ansammlungen anzüchten. Die Tabelle 2 beschreibt die visuellen Änderungen nach jeweils einem Tag.

Tabelle 2: Beobachtungen bei der Aufzucht von Purpurbakterien

Protokolldatum	Beobachtungen
27.11.2004 17.00	Versuchstart. Bis jetzt sind noch keine Ergebnisse sichtbar.
28.11.2004 17.00	In der Lösung hat sich eine Fällung eingestellt.
29.11.2004 17.00	Die Lösung hat sich etwas „milchig“ verfärbt. Ansonsten kein Unterschied.
30.11.2004 17.00	Es sind ganz leicht gelbliche Punkte am Boden bei dem Niederschlag zu erkennen. Dies ist die erste Veränderung.
01.12.2004 17.00	Die gelblichen Punkte wurden fast braun und sind grösser geworden.
02.12.2004 17.00	Die Farbe der Lösung lässt sich nun als purpurbräunlich beschreiben. Es bilden sich kleine Blasen an der Oberfläche. Am Boden beim Niederschlag ist nun deutlich eine Anhäufung von Purpurbakterien zu erkennen.
03.12.2004 17.00	Die Lösung wird dunkler.
04.12.2004 17.00	Die Anhäufung beim Niederschlag wird grösser.
05.12.2004 17.00	keine Änderung sichtbar
06.12.2004 17.00	keine Änderung sichtbar
07.12.2004 17.00	keine Änderung sichtbar
08.12.2004 17.00	Der Satz am Boden wurde dichter. Die Lösung wurde klarer.
09.12.2004 17.00	keine Änderung sichtbar
10.12.2004 17.00	keine Änderung sichtbar
11.12.2004 17.00	keine Änderung sichtbar
12.12.2004 17.00	Versuchsende

## 3.1.3 Messung der Vermehrungsgeschwindigkeit von Purpurbakterien

### 3.1.3.1 Theorie

Purpurbakterien lassen sich als Anhäufungen von Auge gut erkennen. Dabei verändern sie die Farbe und Lichtdurchlässigkeit der Nährlösung im Reaktor. Da ihre optische Erscheinung

proportional zu ihrer Dichte im Reaktor ist, kann mittels Lichtintensitätsmessungen hinter dem Reaktor umgekehrt auf ihr Vorkommen geschlossen werden.

### *3.1.3.2 Material und Methoden*

Für diesen Versuch werden folgende Materialien benötigt:

- 400ml Standardpurpurbakteriennährlösung (siehe Kapitel 3.1.1)
- 4 x 100ml Erlenmeyerkolben
- 4 x Gummipfropfen mit Plastikverbindungsstück
- 4 x 1cm<sup>2</sup> Haushaltaluminiumfolien
- Purpurbakterienansammlungsprobe (siehe Kapitel 3.1.2)
- Dampfkochtopf, zur Hälfte mit Leitungswasser gefüllt
- Spatel
- Feuerzeug
- 75 Watt Glühlampe mit 16cm Durchmesser Reflektor
- Luxmeter „LuxPick“
- 3.5mm Audioklinkenstecker zu RS232 Interfacekabel
- Software „DataPick2000 3.5.1 for Windows“
- PC mit RS232 Interface und Microsoft Windows 2000

In die vier 100ml Erlenmeyerkolben wird je 100ml Standardpurpurbakteriennährlösung aus Versuch 3.1.1 eingefüllt. Die Öffnungen werden mit jeweils einem passenden Gummipfropfen mit Plastikverbindungsstück verschlossen und über das Plastik wird Aluminiumfolie gespannt. Die Erlenmeyerkolben werden nun in einen zur Hälfte mit Leitungswasser gefüllten Dampfkochtopf gestellt und ca. 15min autoklaviert. Danach wird der Dampfkochtopf abgekühlt, bis er sich öffnen lässt. Nachdem die Erlenmeyerkolben auf Zimmertemperatur abgekühlt sind, werden die Pfropfen abgenommen und es wird vermieden, fremde Organismen und Gase, zum Beispiel durch den Atem, in die Gefäße einzuschleusen. Nun wird in beide Erlenmeyerkolben jeweils eine Ansammlung von Purpurbakterien aus dem Rundglas aus einem vorhergehenden Versuch mit einem vorher abgeflamten Spatel getan.

Danach werden die Erlenmeyerkolben wieder mit dem Gummipfropfen verschlossen und in einer Entfernung von 30cm vor eine 75 Watt Glühlampe mit Reflektor gestellt.

Das Luxmeter „LuxPick“ wird über ein 3.5mm Audioklinkenstecker zu RS232 Interface an den PC mit Windows 2000 angeschlossen und mittels der beiliegenden Software „DataPick 2000 3.5.1 for Windows“ auf einen Messabstand von 1min 36sec eingestellt. Das Luxmeter wird ausgesteckt und mit Kontakt an einen Reaktor hinter ihn gestellt.

Nach genau 3 Tagen wird das Luxmeter wieder an den PC angeschlossen und die Testergebnisse werden heruntergeladen.

Die Reaktoren sind bereit zur weiteren Verwendung in Wasserstoffmessversuchen.

### *3.1.3.3 Durchführung*

Der Versuch wurde nach Anleitung durchgeführt.

Leider wurde das Luxmeter während den Messungen durch eine Störung versetzt und seine Position wurde verändert.

### 3.1.3.4 Ergebnisse

Das Luxmeter lieferte einen guten Datensatz von Lichtintensität im Zeitdiagramm (Diagramm 1). Leider ist in der Hälfte ein Unterbruch erkennbar.

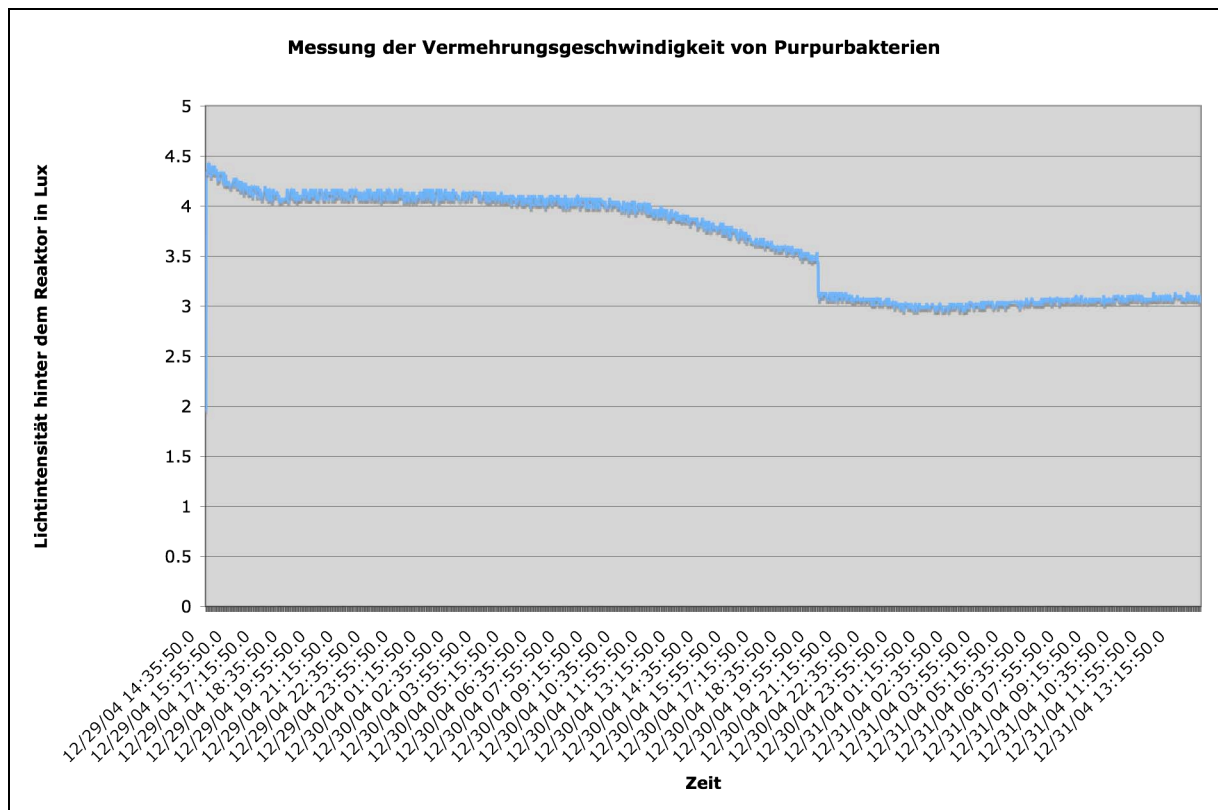


Diagramm 1: Messung der Vermehrungsgeschwindigkeit von Purpurbakterien anhand der Lichtintensität

### 3.1.4 Nachweis von Wasserstoff

#### 3.1.4.1 Theorie

Das von den Purpurbakterien erzeugte Gas wird nun mittels einer Brennstoffzelle auf Vorkommen von Wasserstoff untersucht.

Das Gasreservoir der Brennstoffzelle wird mit dem Gas aufgefüllt und die Ventile werden so geöffnet und geschlossen, dass die Brennstoffzelle funktioniert und einen Stromkreis mit einem Kleinverbraucher schliesst.

#### 3.1.4.2 Material und Methoden

Für diesen Versuch werden folgende Materialien benötigt:

- 100ml Reaktor mit Purpurbakterien, nach 3.1.3 vorbereitet
- H-TEC PEMPower1-Eco 40cm<sup>3</sup> Gasspeicherbehälter
- H-TEC PEMPower1-Eco Brennstoffzelle PEMFC-Kit
- Elektrodenfläche: 16cm<sup>2</sup>           Erzeugte Spannung: 0.3V – 0.9V
- Leistung (H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>): 600mW        Leistung (H<sub>2</sub>/Luft): 300mW
- 2 x 30cm Plastikschlauch
- 2 x 5cm Plastikschlauch
- 3 Klemmventile zum Abklemmen der Plastikschläuche
- 10 Ohm Widerstand

- Standardvoltmeter
- 75 Watt Glühlampe mit 16cm Durchmesser Reflektor
- ca. 50ml destilliertes Wasser

Ein gasproduzierender Reaktor wird von einem vorhergehenden Versuch (wie z.B. bei 3.1.3) vom Aufbau getrennt. Die enthaltenen Purpurbakterien haben noch nicht die ganze Nährlösung gebraucht, sie befinden sich auf dem Höchstniveau der Wasserstoffproduktion. Der Reaktor ist weiterhin in einer Entfernung von 30cm vor einer 75 Watt Glühlampe mit Reflektor positioniert.

Der Gasspeicherbehälter besteht aus einem unteren runden Plexiglasbehälter, der nach oben geöffnet ist und über zwei Schlauchanschlüsse, einer knapp am Rand und einer ca. in der Mitte, und einem oberen Teil, der mit einem Gummiring den unteren luftdicht verschliesst und durch einen Schlauch mit der Aussenwelt verbunden ist. Dieser Schlauch befördert Wasser in den oberen Teil, falls der Druck im Behälter ansteigt.

Vom Gasspeicherbehälter wird der obere Teil entfernt. Nun wird er bis zum Rand mit 40ml destilliertem Wasser gefüllt. Der Deckel wird wieder aufgesteckt. Dabei entstehen keine Luftblasen.

An den mittleren Schlauchstecker wird ein 30cm Plastikschlauch angeschlossen, der mit dem Reaktor verbunden wird, nachdem ein Klemmventil eingefädelt und die Luft mit den Fingern herausgedrückt wurde. Das Ventil wird sofort geschlossen. Auf der anderen Seite des Reservoirs wird ein weiterer 30cm Schlauch angeschlossen, nachdem ein Klemmventil eingefädelt und nachdem die Luft herausgedrückt wurde. Das Ventil wird geschlossen und das andere Ende des Schlauchs wird mit der Brennstoffzelle am oberen Anschluss verbunden. Die Brennstoffzelle verfügt an der anderen Seite über einen Ausgang für Wasser und unter dem Anschluss zum Reservoir über einen Schlauchstummel, der Luft einzieht. Dieses Ventil ist auch geschlossen. Der andere Schlauchstummel ist geöffnet.

Nun wird das Ventil zum Reaktor geöffnet. Nach ein paar Tagen intensivem Bestrahlen mit Licht von der Glühlampe hat sich genügend Gas im Reservoir gebildet, das Wasser wurde durch den Überdruck in den oberen Teil des Behälters gedrückt.

Nun wird der Reaktor vom Behälter mit der Klemme abgetrennt. An die Brennstoffzelle wird der Kleinverbraucher, ein 100Ohm Widerstand, an den roten (+) und an den schwarzen (-) Pol angeschlossen. Die Membran zwischen den beiden Plexiglasscheiben wird mit destilliertem Wasser befeuchtet. Ein Voltmeter misst die Spannung an den beiden Polen.

Nun wird das Ventil zur Brennstoffzelle geöffnet. Das Voltmeter liefert Spannungswerte und Wasser tröpfelt aus dem Wasserschlauch während das Gasvolumen im Reservebehälter stetig kleiner wird.

Im Gas ist gasförmiger Wasserstoff enthalten.

#### *3.1.4.3 Durchführung*

Der Versuch wurde nach Anleitung durchgeführt.

Die Bakterien benötigten für die Produktion von 25ml Gas einen Tag. Mit dieser Menge wurde die Brennstoffzelle betrieben.

Das Voltmeter zeigte für kurze Zeitspanne von ein paar Sekunden eine Spannung an.

Abbildung 6 (siehe Kapitel 7.1.6) zeigt den Versuchsaufbau.

#### *3.1.4.4 Ergebnisse*

Die erzeugte Wasserstoffmenge betrug 25ml. Die Messwerte auf dem Voltmeter schossen für kurze Zeit in die Höhe, es konnte also Strom erzeugt werden.

## **3.2 Einfluss des Lichts**

### **3.2.1 Wasserstoffproduktion im künstlichen Licht**

#### *3.2.1.1 Theorie*

In Versuch 3.1.4 konnte nachgewiesen werden, dass die angezüchteten Purpurbakterien Gase produzieren. In diesem Versuchsaufbau wird nun gemessen, nach wie vielen Tagen eine messbare Gasproduktion gestartet wird und wie viel Gas produziert wird.

Die biologischen Überlegungen sind identisch mit den vorhergehenden Versuchen. In diesem Versuch wird aber noch der technische Aspekt miteinbezogen.

Zwei Reaktoren werden unabhängig voneinander mit einer Purpurbakterienprobe ausgestattet und mit einer Glühlampe bestrahlt. Durch eine Abtrennung von der Aussenluft wird das Gas in einer Messvorrichtung gemessen.

#### *3.2.1.2 Materialien und Methoden*

Für diesen Versuch werden folgende Materialien benötigt:

- Ansammlung von Purpurbakterien, nach 3.1.3 vorbereitet
- 2 x 100ml Standardpurpurbakteriennährlösung (siehe 3.1.1)
- 2 x 100ml Erlenmeyerkolben
- 2 x Gummipfropfen mit Plastikverbindungsstück für die Erlenmeyerkolben
- 2 x Standardchemieschläuche ca. 20cm lang
- 2 x 50ml Rundmesszylinder
- 2 x Gummibänder
- 30cm Haushaltsschnur
- Holzkonstruktion
- mit Leitungswasser gefüllte Gratinform als Wasserbecken
- Dampfkochtopf, zur Hälfte mit Leitungswasser gefüllt
- Spatel
- Feuerzeug
- 75W Glühlampe mit 16cm Durchmesser Reflektor
- Haltevorrichtung aus Holz für die Messzylinder und das Wasserbecken

In beide 100ml Erlenmeyerkolben wird je 100ml Standardpurpurbakteriennährlösung aus Versuch 3.1.1 eingefüllt. Die Öffnungen werden mit jeweils einem passenden Gummipfropfen mit Plastikverbindungsstück verschlossen und über das Plastik wird Aluminiumfolie gespannt. Die Erlenmeyerkolben werden nun in einen zur Hälfte mit Leitungswasser gefüllten Dampfkochtopf gestellt und ca. 15min autoklaviert. Danach wird der Dampfkochtopf abgekühlt, bis er sich öffnen lässt. Nachdem die Erlenmeyerkolben auf Zimmertemperatur abgekühlt sind, werden die Pfropfen abgenommen und es wird vermieden, fremde Organismen und Gase, zum Beispiel durch den Atem, in die Gefäße einzuschleusen. Nun wird in beide Erlenmeyerkolben jeweils eine Ansammlung von Purpurbakterien aus dem Rundglas aus Versuch 3.1.2 mit einem vorher abgeflammt Spatel getan.

Danach werden die Erlenmeyerkolben wieder mit dem Gummipfropfen verschlossen und an die Messapparatur angeschlossen.

Die Messapparatur besteht aus einer Gratinform als Wasserbad, die zur Hälfte mit Wasser gefüllt ist. Ein Holzträger auf der Form liefert mit den Gummibändern und der Haushaltsschnur eine Halterung für die umgekehrten 50ml Rundmesszylinder (siehe Bild 5, Kapitel 7.1.5).

Die Messzylinder werden komplett in Wasser getaucht und alle Luft wird entnommen. Danach werden sie mit der Öffnung nach unten und permanentem Kontakt mit dem Wasserbecken an der Haltevorrichtung befestigt. Der Wasserspiegel im Wasserbecken beträgt ca. 6cm. Der Abstand der Öffnung der Messzylinder zum Boden des Wasserbeckens beträgt ca. 2cm.

Nun werden zwei 30cm lange Standardchemieschläuche an den Reaktoren angeschlossen. Die Schläuche werden vom Reaktor aus im Wasserbad mit den Fingern nach vorne ausgedrückt, damit alle Luft entweichen kann. Permanent unter Wasser wird jeweils ein Schlauch in einen Messzylinder ca. 5cm tief eingeführt.

Die 75 Watt Glühlampe mit Reflektor wird im Abstand von 30cm zu den Reaktoren positioniert. Die Reaktoren werden permanent bestrahlt. Der Raum wird vom Aussenlicht abgedichtet. Die Glühlampe ist die einzige Lichtquelle.

Nach ein paar Tagen wachsen die Purpurbakterienkonzentrate weiter und produzieren Gase, vermutlich Wasserstoff. Wasserstoff ist leichter als die Luft im Reaktor und steigt dadurch um den Druck im Reaktor auszugleichen durch den Schlauch in den Messzylinder. Das Wasser grenzt das Gas von der Luft ab und am Messzylinder kann die Gasproduktion gemessen werden.

### *3.2.1.3 Durchführung*

Der Versuch wurde nach Anleitung durchgeführt.

Bei der Autoklavation ist ein Pfropfen von einem Erlenmeyerkolben abgefallen. Er wurde sofort wieder montiert.

### *3.2.1.4 Ergebnisse*

Wie erwartet produzierten die Purpurbakterien Gase. Jeden Tag produzierten sie mehr und die Werte konnten abgelesen werden. Die Messwerte befinden sich in der Tabelle 3.

Tabelle 3: Messungen der Gasproduktion eines Purpurbakterienreaktors im künstlichen Licht

Datum	Zylinder Blau	Zylinder Rot
11.12.2004 17.00	0ml	0ml
12.12.2004 17.00	0ml	0ml
13.12.2004 17.00	33ml	0ml
14.12.2004 17.00	25ml	20ml
15.12.2004 17.00	0ml	16ml
16.12.2004 17.00	20ml	14ml

## 3.2.2 Wasserstoffproduktion im natürlichen Licht

### 3.2.2.1 Theorie

Purpurbakterien erzeugen auch bei Sonnenlicht Wasserstoff. Dieser Versuch kann bei Temperaturen von 25°C bis 40°C die Wasserstoffproduktion in Abhängigkeit vom Sonnenlicht zeigen.

### 3.2.2.2 Material und Methoden

Folgende Materialien werden für diesen Versuch benötigt:

- 4 x 100ml Erlenmeyerkolbenreaktoren, nach 3.1.3 vorbereitet
- 4 x Standardchemieschläuche ca. 20cm lang
- 4 x 50ml Rundmesszylinder
- 4 x Gummibänder
- 30cm Haushaltsschnur
- mit Leitungswasser gefüllte Gratinform als Wasserbecken
- Haltevorrichtung aus Holz für die Messzylinder und das Wasserbecken
- 30cm x 60cm Holzbrett mit Spalten
- Ca. 2m Befestigungsdraht
- Luxmeter „Luxpick“
- 3.5mm Audioklinkenstecker zu RS232 Interfacekabel
- Software „DataPick 2000 3.5.1 for Windows“
- PC mit RS232 Interface und Microsoft Windows 2000

Die Messapparatur besteht aus einer Gratinform als Wasserbad, die zur Hälfte mit Wasser gefüllt ist. Ein Holzträger auf der Form liefert mit den Gummibändern und der Haushaltsschnur eine Halterung für die umgekehrten 50ml Rundmesszylinder.

Die Messzylinder werden komplett in Wasser getaucht und alle Luft wird entnommen. Danach werden sie mit der Öffnung nach unten und permanentem Kontakt mit dem Wasserbecken an der Haltevorrichtung befestigt. Der Wasserspiegel im Wasserbecken beträgt ca. 6cm. Der Abstand der Öffnung der Messzylinder zum Boden des Wasserbeckens beträgt ca. 2cm.

Nun werden vier 30cm lange Standardchemieschläuche an den Reaktoren angeschlossen. Die Schläuche werden vom Reaktor aus im Wasserbad mit den Fingern nach vorne ausgedrückt, damit alle Luft entweichen kann. Die Messapparatur und die vier Reaktoren werden auf ein Holzbrett geschraubt und mit Draht festgemacht. Permanent unter Wasser wird jeweils ein Schlauch in einen Messzylinder ca. 5cm tief eingeführt.

Die „mobile Messstation“ wird in der Natur auf einem sonnenexponierten Platz montiert und allfällig mit Draht befestigt.

Das Luxmeter „LuxPick“ wird über ein 3.5mm Audioklinkenstecker zu RS232 Interface an den PC mit Windows 2000 angeschlossen und mittels der beiliegenden Software „DataPick 2000 3.5.1 for Windows“ auf einen Messabstand von 4min eingestellt. Das Luxmeter wird ausgesteckt und an einen vor Niederschlägen geschützten Ort in der Nähe der Messstation gestellt.

Die Gasproduktion wird nun täglich bei jedem Messzylinder gemessen. Nach Ende des Experiments werden die Daten des Luxmeters auf den PC übertragen.

### 3.2.2.3 Durchführung

Der Versuch wird nach Anleitung durchgeführt. Die Messstation liegt hinter einem Fenster und ist an die Sonne exponiert. Die Temperatur ist nun konstant 24°C. Es wirkt kein Fremdlicht auf die Reaktoren. Das Luxmeter wird direkt hinter einem Reaktor aufgestellt.

Der Versuchsaufbau wird in Abbildung 7 (Kapitel 7.1.7) dargestellt.

### 3.2.2.4 Ergebnisse

Die Ergebnisse des Luxmeters sind im Diagramm 2 dargestellt.

Die Messwerte des Gasvolumens und der Innentemperatur wurden jeweils alle um 18.00 abgelesen. Sie befinden sich in der Tabelle 4.

Tabelle 4: Messungen der Gasproduktion eines Purpurbakterienreaktors im natürlichen Licht

Datum	Temperatur	Reaktor Grün	Reaktor Rot	Reaktor Gelb	Reaktor Blau
06.01.2005	24°C	3ml	0ml	7ml	0ml
07.01.2005	24°C	1ml	3ml	1ml	1ml
08.01.2005	24°C	0ml	3ml	2ml	3ml
09.01.2005	25°C	0ml	6ml	1ml	0ml

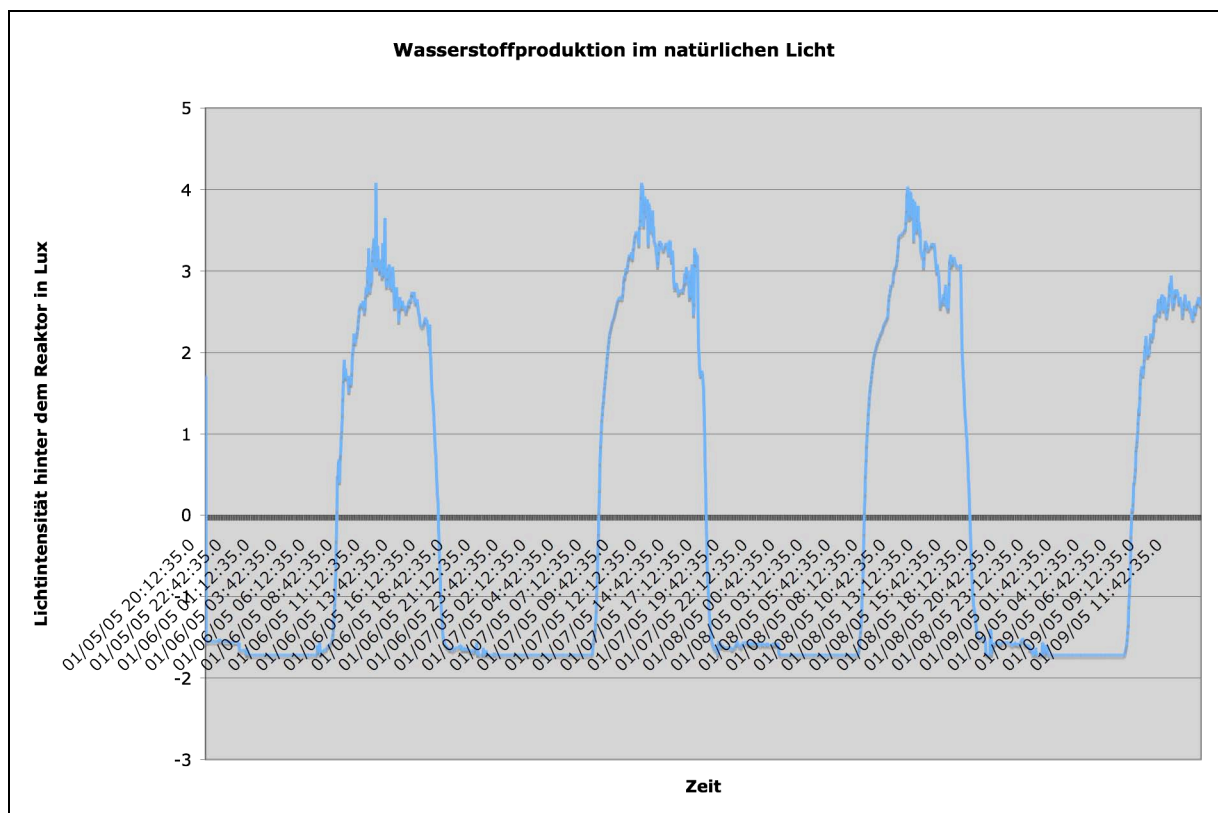


Diagramm 2: Messung der Lichtintensität hinter dem Reaktor im natürlichen Licht

### 3.2.3 Wasserstoffproduktion in natürlicher Umgebung

#### 3.2.3.1 Theorie

Purpurbakterien erzeugen auch bei Sonnenlicht Wasserstoff. Dieser Versuch kann bei Temperaturen von 25°C bis 40°C die Wasserstoffproduktion in Abhängigkeit vom Sonnenlicht zeigen.

Bei Temperaturen unter 10°C zeigt dieser Versuch im Vergleich mit Versuch 3.2.2 die Abhängigkeit der Nitrogenase von der Aussentemperatur.

#### 3.2.3.2 Material und Methoden

Material und Methoden sind identisch zu Versuch 3.2.2.

#### 3.2.3.3 Durchführung

Der Versuch wurde nach Anleitung durchgeführt.  
Die Messstation wurde auf einem permanent zum Sonnenlicht exponierten Balkon in Wermatswil ZH, in der Schweiz aufgestellt.

Das Luxmeter wurde in einer Nische im Abstand von 2m zur Messstation an die Wand geklebt. Am späten Nachmittag stand es im Schatten.

Zum Zeitpunkt des Versuchs lagen die Temperaturen unter 10°C. Um das Wasserbecken vor dem Gefrieren zu schützen, wurde ca. 50g Kochsalz in das Wasserbad gegeben.

Es wurden allen Umständen zum Trotz bei einigen Reaktoren Gase erzeugt.

Abbildung 7 (siehe Kapitel 7.1.8) zeigt den Versuchsaufbau.

#### 3.2.3.4 Ergebnisse

Die Ergebnisse des Luxmeters sind im Diagramm 3 dargestellt.

Die Messwerte des Gasvolumens und der Aussentemperatur wurden jeweils alle um 18.00 abgelesen. Sie befinden sich in Tabelle 5.

Tabelle 5: Messungen der Gasproduktion eines Purpurbakterienreaktors in natürlicher Umgebung

Datum	Temperatur	Reaktor Grün	Reaktor Rot	Reaktor Gelb	Reaktor Blau
02.01.2005	4°C	0ml	0ml	0ml	0ml
03.01.2005	5.5°C	1ml	0ml	4ml	0ml
04.01.2005	5.7°C	0ml	0ml	3ml	0ml
05.01.2005	6.0°C	3ml	0ml	0ml	0ml

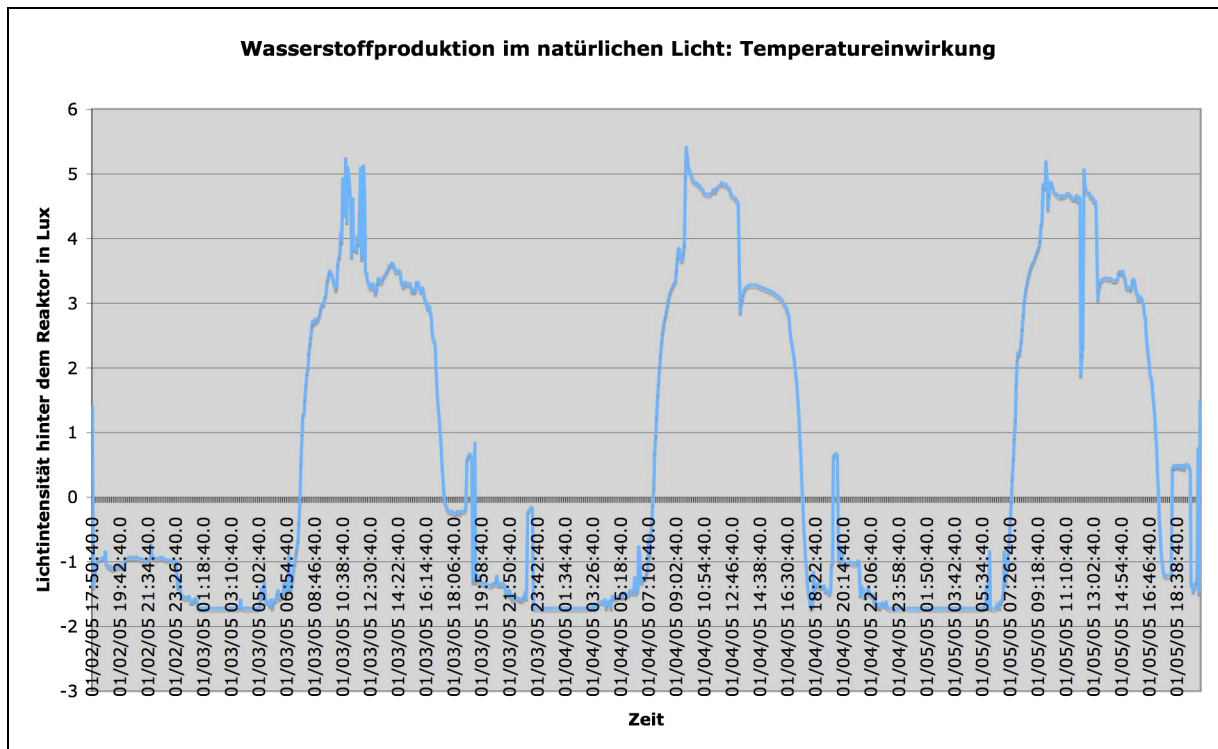


Diagramm 3: Messung der Lichtintensität hinter dem Reaktor in natürlicher Umgebung

## **4. Diskussion**

### **4.1 Versuchsbedingungen**

#### **4.1.1 Wasserprobe**

In Punkt 3.3.1. wird das Vorkommen von Purpurbakterien beschrieben. Nach diesen Regeln kommen sie auch in Gewässern der schweizerischen Umwelt vor. Die verwendete Probe stammt von einem stillen Süßgewässer im Zürcher Oberland, vom „Froschweiher Wermatswil“. Sie wurde wenig unterhalb der Oberfläche in einem Abstand von 20cm vom Ufer entfernt, kurz nach der Faulschlammzone, die von Auge gut erkennbar ist, entnommen. Es wurde darauf geachtet, dass nur Wasser und keine grösseren Schwebkörper enthalten waren. Das Wasser war bräunlich getrübt.

Die Wasserprobe wurde nur für die erste Ansiedlung benötigt. Von den gesammelten 50ml wurden 10ml für die erste Ansiedlung benötigt.

#### **4.1.2 Nährlösung**

##### *4.1.2.1 Allgemein*

Durch Regulation der Anteile und Zugabe von gewissen Stoffen zu einer Nährlösung kann diese auf einen bestimmten Organismus ausgerichtet werden. Man kann so durch eine gezielte Nährlösung einen Organismus fördern oder vermindern.

Für die Versuche sollten mit möglichst wenigen Hilfsmitteln Purpurbakterien angezüchtet und die Organismen vermehrt werden. Mittels einer Wasserprobe, die diese Bakterien enthielt, wäre es möglich mit der geeigneten Nährlösung diese Bakterien zu begünstigen und so ihren Anteil im Biotop zu vergrößern.

##### *4.1.2.2 Probleme bei der Herstellung*

Bei der Planung der Nährlösung hatten sich mehrere Probleme aufgedrängt: Das Rezept nach Schäfer geht von einer Menge von 100L Nährlösung aus. Für die durchgeführten Versuche würde aber eine Menge von maximal 10L genügen. Die sehr geringen Mengen waren mit den Instrumenten der Kantonsschule Glattal nur sehr schwierig abzuwägen, da die verwendete Waage minimal nur bis  $10^{-3}$  g messen kann. Das Problem wurde so gelöst, dass jeweils bei zu geringen Mengen optisch nach Kristallen geteilt, oder auf die nächste messbare Stelle aufgerundet wurde. So war es trotzdem möglich, kleinere Portionen zu produzieren.

##### *4.1.2.3 Kontamination*

Das Hauptproblem bei der Herstellung und Aufbewahrung von Nährlösungen ist die mögliche Kontamination durch die Umwelt. In der Wissenschaft der Mikroorganismen darf dieses Problem nicht unterschätzt werden. Bei der ersten Herstellung von 2L Nährlösungskonzentrat und anschließender Verdünnung von 0.2L Konzentrat auf 2L Nährlösung wurde dieses Problem nur passiv beachtet. Es wurde nur darauf geachtet, dass alle verwendeten Gefässe optisch sauber mit destilliertem Wasser gewaschen waren und es kam nur destilliertes Wasser zur Verdünnung und als Lösungsmittel zum Einsatz. An der Kantonsschule Glattal ist es leider im Gegensatz zu Universitäten und grösseren Labors nicht möglich, grosse Volumina von Flüssigkeiten zu autoklavieren. Die Reservenählösung wurde deshalb einfach in 1L-Flaschen bei Zimmertemperatur in einem dunklen Behälter aufbewahrt. Leider hatte sich nach

drei Wochen eine Verunreinigung in den Behältern verbreitet. Vermutlich war es ein Pilz, der über die Luft oder über die Gefässe hinzugekommen war.

Die optischen Verfärbungen der Reservebehälter wurden in den Abbildungen 3 und 4 fotografiert (siehe Kapitel 7.1.3 und 7.1.4).

Bei den Versuchen 3.1.2, 3.1.4 und 3.2.1 wurde die damals optisch noch nicht kontaminierte Nährlösung verwendet. Da vor jedem Versuch nach dem Umfüllen der Nährlösung in 100ml Erlenmeyerkolben die Gefässe mit der Nährlösung bei mindestens 121° C im Dampfkochtopf autoklaviert wurden, war der Einfluss der verbrauchten Stoffe auf den weiteren Versuch vermutlich eher gering.

Nach diesen Erkenntnissen und mit den neuen Vorkehrungen zur Verminderung einer allfälligen Kontamination wurde nochmals 1L neues Nährlösungskonzentrat produziert. Das Vorgehen war dasselbe wie beim vorherigen Mal. Es genügten wieder 2L fertige Nährlösung, das übrige Konzentrat wurde in der Schule im Tiefkühler eingefroren, falls es später benötigt werden würde. Am selben Tag wurden je 0.01L in acht 100ml Erlenmeyerkolben autoklaviert, luftdicht verschlossen und in einer Plastikkiste bei Zimmertemperatur verdunkelt. Die restliche 1.2L fertige Nährlösung wurde in einem gewöhnlichen Tiefkühler in einer herkömmlichen, sauberen PET-Flasche für eine spätere Verwendung eingefroren.

#### 4.1.2.4 Einstellung des pH-Wertes

Jeder Organismus benötigt einen eigenen, individuellen pH-Wert seiner Umwelt. Die Aufnahme vieler Mineralien und insbesondere Metalle wird erheblich von diesem Faktor mitbestimmt und so auch das Wachstum und die Wasserstoffproduktion reguliert.

Für die meisten Purpurbakterien hat sich ein neutraler Wert im Bereich von pH 7 als Optimum herausgestellt (Schäfer, L., 2003).

Die in diesem Versuch angezüchteten Purpurbakterien gehören vermutlich der Art der *Rhodobacter sphaeroides* an (Schäfer, L., 2003). Für diese Bakterien gilt ein pH von 7.4 +/- 0.2 als Optimum. Dieser pH-Wert wurde mittels technischer NaOH-Lösung eingestellt und hat sich dabei auf 7.4 +/- 0.1 eingependelt. Die Nährlösung hat sich als ziemlich starker Puffer herausgestellt, so dass zum Teil grössere Mengen NaOH verwendet werden mussten, um den Puffer zu kippen.

#### 4.1.2.5 Erschöpfung einzelner Stoffe in der Nährlösung

In den Experimenten hat sich herausgestellt, dass die Nährlösung nach spätestens 2 Wochen permanenter Anzucht und Wasserstoffproduktion in mindestens einem Stoff erschöpft ist und die Bakterien sich nicht weiter vermehren und auch keinen Wasserstoff mehr produzieren.

### 4.1.3 Lichtquelle

#### 4.1.3.1 Allgemein und Wellenlänge

Purpurbakterien benötigen laut Kapitel 2.3.3.2 Licht geeigneter Wellenlänge in der richtigen Intensität. Die optimale Intensität liegt bei 500 – 800W/m<sup>2</sup>. Die optimale Wellenlänge liegt bei ungefähr 600nm. Ursprünglich sollte in den Versuchen auch die optimale Wellenlänge bestimmt werden, der Entscheid fiel allerdings aufgrund der schwierigen Messbarkeit und der Ungenauigkeit unter Nicht-Laborbedingungen dagegen. Die praktischen Überlegungen sind relativ simpel. Man benötigt Folien, die eine bestimmte Wellenlänge filtern und verkleidet

damit den Reaktor. Im Bericht von Rechenberg (Rechenberg, I., 1994) wird dabei der sehr geringe Unterschied in der Wasserstoffproduktionsrate dokumentiert.

#### *4.1.3.2 Künstliche Lichtquelle*

Die verwendete Glühlampe deckt das gesamte Lichtspektrum ab, da sie weisses Licht ausstrahlt. Der Durchmesser des Spiegelreflektors beträgt 16cm. Der Reflektor ist rund und an den Seiten wird das Licht abgebündelt. Die Gesamtfläche des Lichtpegels beträgt so  $0.08\text{m}^2$ . Dies entspricht so einer Lichtstärke von  $994\text{ W/m}^2$ . Da die Reaktoren  $0.3\text{m}$  vom Schirm entfernt stehen und weniger Oberfläche bieten sowie einen grossen Teil des Lichts reflektieren, muss man von ungefähr  $200 - 500\text{ W/m}^2$  ausgehen. Die Lichtintensität beträgt hinter dem Glas  $3.5$  bis  $4.5\text{ Lux/m}^2$ , je nach Verfärbung des Reaktors. Die Messungen sind im Diagramm 1: „Messung der Vermehrungsgeschwindigkeit von Purpurbakterien anhand der Lichtintensität“ abgebildet.

Bei 24h permanenter Bestrahlung wird so eine optimale Versorgung mit Licht garantiert. Deshalb wurden die maximalen Gasmessungen unter dieser Bestrahlung als Optimum bezeichnet.

#### *4.1.3.3 Natürliche Lichtquelle*

Die zweite Lichtquelle ist die schweizerische Sonnenstrahlung Ende Dezember bis Anfangs Januar. Die Lichtintensität hier pendelt zwischen  $-1.7$  und  $4.0\text{ Lux/m}^2$  aufgrund des Tag/Nacht Unterschieds. Die Messungen sind im Diagramm 2: „Messung der Lichtintensität hinter dem Reaktor im natürlichen Licht“ illustriert.

### **4.1.4 Temperatur**

In den reinen Aufzuchtversuchen wurde die Grenze von minimal  $10^\circ\text{C}$  immer eingehalten. Die Basiszimmertemperatur lag jeweils zwischen  $22^\circ$  und  $26^\circ\text{C}$ . Durch die 75 Watt Glühlampe mit Reflektorspiegel ist die Temperatur an der Oberfläche der Reaktoren auf etwas über handwarm, also  $30^\circ$ - $35^\circ\text{C}$  angestiegen.

In Versuch 3.2.3 (siehe auch Abbildung 8, Kapitel 7.1.8) wurden die Auswirkungen einer geringen Temperatur auf den Organismus untersucht. Es wurden vier Versuchsreaktoren mit der Gasvolumenmessenrichtung auf einem Balkon an der Umwelt aufgebaut und Sonnenlicht mit bis zu  $10000\text{ Lumen/m}^2$  exponiert. Die Temperatur pendelte aufgrund des Tag/Nacht Unterschieds in der Zeitperiode vom 02.01.2005 bis 05.01.2005 von  $-1^\circ$  bis  $10^\circ\text{C}$ . Diese Temperatur war zu gering, um grosse Mengen Wasserstoff zu produzieren. 3 Reaktoren produzierten keine Gase, nur ein einziger, der mit der grössten Biomasse und am exponiertesten zum Sonnenlicht stand, konnte pro Tag  $3.5\text{ml}$  Wasserstoff produzieren.

Dieser Versuch bestätigt die Messungen von Schäfer und Koch-Schwessinger, wobei unter  $10^\circ\text{C}$  kein Wasserstoff mehr produziert wird (Schäfer, L., 2003; Koch-Schwessinger, 1994).

### **4.1.5 Reaktor**

Der Reaktorraum bestimmt das Verhalten von Organismen im Labor massgeblich. In diesen Versuchen konnten aufgrund des grossen Aufwands keine Reaktorüberlegungen gemacht werden, da nur die Standardausrüstung eines Chemielabors zur Verfügung stand. Untersuchungen in diese Richtungen wären zwar spannend, aber aufgrund der schwierigen Messbarkeit und der Materialbeschaffung nicht im Bereich des Möglichen gewesen.

Für Versuche mit Purpurbakterien haben sich vor allem die typischen Laborgefässe wie Reagenzgläser oder Erlenmeyerkolben bewährt. Für die Bakterien ist eine optimale Verteilung der Nährstoffe und der Organismen von grossem Vorteil, wobei dies vor allem bei Gefässen mit einem runden Querschnitt erreicht wird (Schäfer, L., 2003). Auch sollte ein gewisses Volumen für die Reaktionen erreicht werden, weshalb Erlenmeyerkolben gut geeignet sind. Sie bieten den Vorteil, dass sie eine kleine, gut verschliessbare Öffnung haben, was in der Mikrobiologie essentiell ist, um Kontamination zu vermindern, und trotzdem ein grosses Volumen fassen.

Flachreaktoren haben den Vorteil, dass sie die auftreffende Strahlung besser absorbieren, allerdings sind diese in der Handhabung schwieriger und sie werden nicht gleichmässig versorgt (Rechenberg, I., 1994).

Mangels professioneller Ausrüstung war es nicht möglich, grössere Gefässe als 100ml Erlenmeyerkolben zu autoklavieren, weshalb meine Wahl auf diese Gefässe fiel. Abgedichtet wurden sie mit gewöhnlicher Aluminiumfolie und später mit Gummipropfen und Standardversuchsschläuchen.

## 4.2 Einfluss der Lichtquelle

In den Versuchen 3.2.1 und 3.2.2 wurde der Einfluss der Quantität der Bestrahlung der Reaktoren auf die Wasserstoffproduktion gemessen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Lichtquelle einen sehr grossen Einfluss auf die Wasserstoffproduktionsrate hat.

### 4.2.1 Wasserstoffproduktion im Optimum

In Versuch 3.2.1 wurde die Wasserstoffproduktionsrate unter künstlichen Bedingungen und unter Verwendung einer Glühlampe gemessen. Die Messwerte der Lichtintensität des Diagramms 1: „Messung der Vermehrungsgeschwindigkeit von Purpurbakterien anhand der Lichtintensität“ sind hier ebenfalls gültig, da der relevante Versuchsaufbau identisch ist. Die Lichtintensität beträgt durchschnittlich ca. 4.00 Lux/m<sup>2</sup>. Dies entspricht 10000 Lumen/m<sup>2</sup>. Das Absinken dieses Wertes führt von der zunehmenden Trübung durch ein Anstieg der Purpurbakterienkonzentration im Reaktor her, ist aber irrelevant, da die Messungen hinter dem Reaktor durchgeführt wurden.

Die Tabelle 3: „Messungen der Gasproduktion eines Purpurbakterienreaktors im künstlichen Licht“ zeigt die gemessenen Werte. Diese Werte gelten jeweils für 100ml Volumen pro 24 Stunden. Die relativen Werte befinden sich in Tabelle 6. Sie leiten sich von den Messungen ab und zeigen den erzeugten Wasserstoff pro Stunde pro Liter Reaktorvolumen. Die Werte aus Tabelle 3 wurden dazu einfach durch den Faktor 2.4 geteilt.

Tabelle 6: relative Messungen der Gasproduktion im künstlichen Licht

Datum	Zylinder Blau $r_{\text{vol}} \text{ ml l}^{-1} \text{ h}^{-1}$	Zylinder Rot $r_{\text{vol}} \text{ ml l}^{-1} \text{ h}^{-1}$
11.12.2004 17.00	0	0
12.12.2004 17.00	0	0
13.12.2004 17.00	13.750	0
14.12.2004 17.00	10.417	8.333
15.12.2004 17.00	0	6.666
16.12.2004 17.00	8.333	5.833

Koch-Schwessinger (1994) gibt bei einer Intensität von 10000 Lumen/m<sup>2</sup> einen Referenzwert von 104 ml l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> an. Dies entspricht einem Vielfachen dieser gemessenen Volumina.

In diesen Versuchen konnte aufgrund fehlender technischer und praktischer Möglichkeiten keine Reinkultur des Stammes der *Rhodobacter sphaeroides* gewonnen werden. Zudem konnten keine grösseren Reaktoren als 100ml Erlenmeyerkolben mit den dadurch verhältnismässig dicken Schläuchen verwendet werden, weshalb vermutlich die Wasserstoffproduktionsrate nicht höher ist.

Für eine Energieeinstrahlung von 994Watt ergibt sich bei 0.3 Watt Leistung eine benötigte Wasserstoffmenge von stündlich 48ml. Maximal konnte 33ml in 24 Stunden erzeugt werden. Nun bleiben noch 0.008594 Watt. Dies ergibt einen elektrischen Wirkungsgrad von  $\eta = 0.000865 \%$ . Dieser Wert ist absolut und darf nur auf die direkte Umwandlung von der Bestrahlungsenergie in elektrische Energie betrachtet werden. Er ist kein Vergleichswert zur Literatur (Schäfer, L., 2003; Koch-Schwessinger, G., 1994), da dort jeweils die produzierte Gasmenge im Verhältnis zur Elektrolyse aufgenommenen Energie als Wirkungsgrad angegeben wird. Mangels geeigneter Ausrüstung war es nicht möglich, den vergleichbaren Wirkungsgrad zu berechnen.

#### 4.2.2 Wasserstoffproduktion im Sonnenlicht

Im Versuch 3.2.2 wurde die Wasserstoffproduktionsrate unter künstlichen Bedingungen und unter Verwendung von Sonnenlicht gemessen. Die Lichtintensitätsmesswerte dieses Versuchs befinden sich im Diagramm 2: „Messung der Lichtintensität hinter dem Reaktor im natürlichen Licht“ dargestellt.

Durch den Tag- und Nacht-Rhythmus und eine unmögliche volle Beleuchtung hinter einem Fenster wird die Beleuchtungsdauer extrem vermindert, was sich direkt in der Wasserstoffproduktionsrate zeigt.

Die Tabelle 4: „Messungen der Gasproduktion eines Purpurbakterienreaktors im natürlichen Licht“ zeigt die gemessenen Werte. Die Werte gelten jeweils für 100ml Volumen pro 24 Stunden. Die relativen Werte befinden sich in Tabelle 7. Sie leiten sich von den Messungen ab und zeigen den erzeugten Wasserstoff pro Stunde pro Liter Reaktorvolumen.

Tabelle 7: relative Messungen der Gasproduktion im natürlichen Licht

Datum	Reaktor Grün $r_{\text{vol}} \text{ ml l}^{-1} \text{ h}^{-1}$	Reaktor Rot $r_{\text{vol}} \text{ ml l}^{-1} \text{ h}^{-1}$	Reaktor Gelb $r_{\text{vol}} \text{ ml l}^{-1} \text{ h}^{-1}$	Reaktor Blau $r_{\text{vol}} \text{ ml l}^{-1} \text{ h}^{-1}$
06.01.2005	1.250	0	2.917	0
07.01.2005	0.417	1.250	0.417	0.417
08.01.2005	0	1.250	0.833	1.250
09.01.2005	0	2.500	0.417	0

Die durchschnittliche Beleuchtungsdauer pro Tag kann aus dem Diagramm 2: „Messung der Lichtintensität hinter dem Reaktor im natürlichen Licht“ entnommen werden. Die durchschnittliche Beleuchtungsdauer liegt hier bei etwa 6h pro Tag.

Die Werte aus der Tabelle 7 müssen nun also mit dem Faktor 4 multipliziert werden, um Vergleiche mit der Literatur anstellen zu können, da die gemessenen Werte aus Tabelle 7 nur für ungefähr 6 anstatt 24 Stunden täglich gelten (Koch-Schwessinger, G., 1994).

Die Lichtintensität betrug täglich während der Intensivbeleuchtungsdauer zwischen 2.5 und 4.0 Lux/m<sup>2</sup>. Der Mittelwert beträgt etwa 3 Lux/m<sup>2</sup>. Dies entspricht 1000 Lumen/m<sup>2</sup>. In der Literatur finden sich leider keine Werte für diese Lichtintensitäten.

Verglichen mit den Werten aus Versuch 3.2.1 zeigt sich aber, dass die Wasserstoffproduktionsrate ungefähr um den Faktor 10 kleiner ist im Sonnenlichtversuch. In Anbetracht der um den Faktor 10 geringeren Lichtintensität zeigt sich eine direkte Proportionalität. In diesem Bereich der Lichtintensität steigt die Wasserstoffproduktionsrate exponentiell an.

## **4.3 Umsetzungen in der Praxis**

### **4.3.1 Potential des verwendeten Reaktors**

Die Versuche haben gezeigt, dass Purpurbakterien tatsächlich unter gegebenen Bedingungen Wasserstoff produzieren können. Wie könnte sich die Menschheit diesen Vorgang zunutze machen? Natürlich ist der Modellreaktor keine geeignete Möglichkeit um Solarzellen bei Kleinverbrauchern wie Uhren oder Taschenrechner zu ersetzen. Wenn man allerdings einen Vergleich zwischen photovoltaischen Zellen und Purpurreaktoren als Wasserstoffherzeuger für die bald kommenden Seriewasserstoffautos betrachtet, könnte man sich vorstellen, dass sich Purpurbakterienreaktoren trotz ihres sehr geringen Wirkungsgrades in Zukunft als Wasserstoffquelle eignen könnten.

Die Schweiz benötigt zur Zeit ungefähr 58000 Gigawattstunden elektrische Energie pro Jahr (Stadt Zürich, 2003).

Die verwendete Brennstoffzelle liefert eine ungefähre Leistung von 0.3 Watt und kann mit 10ml Wasserstoff 750s betrieben werden. Dies entspricht 0.0625 Wattstunden pro 10ml. Man würde pro Jahr also ungefähr  $9.28 \cdot 10^{12}$  L gasförmigen Wasserstoffs benötigen. Einer der verwendeten Reaktoren erzeugt unter optimalen Bedingungen z.B. in der Wüste  $13.75 \text{ ml l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ . So entsteht 0.165L gasförmiger Wasserstoff pro Tag und pro Reaktor. Wenn 365 Tage pro Jahr die Sonne 12 Stunden am Tag immer permanent scheint, werden pro Reaktor jährlich 60.225L Wasserstoff erzeugt. Man würde also 154'089'000'000 Reaktoren mit den angeschlossenen Brennstoffzellen benötigen, um die Schweiz nur mit elektrischer Energie zu versorgen, die indirekt durch Brennstoffzellen und Purpurbakterien erzeugt wurde. Dabei müsste vermutlich jede Woche die Nährlösung gewechselt werden, um den nachhaltigen Betrieb zu ermöglichen. Zudem wäre eine Standfläche von  $1.21021 \cdot 10^9 \text{ m}^2$  nur für die Reaktoren nötig.

Man erkennt sofort, dass dieser Lösungsansatz unmöglich ist und deshalb eine andere Lösung gefunden werden müsste, falls das Kraftwerk wirtschaftlich konkurrenzfähig sein sollte.

### **4.3.2 Studien möglicher Umsetzungen**

In der Literatur findet man viele Machbarkeitsstudien und Konzepte für Kraftwerke mit Purpurbakterien. Die meisten haben Probleme wie die Kurzlebigkeit der Nährlösung und das Problem der kleinen Reaktoren bereits gelöst und arbeiten mit einem Vielfachen der Effizienz, wie sie in diesen Versuchen erreicht wurde. Zwei Reaktoren sind besonders interessant:

Koch-Schwessinger (Koch-Schwessinger, G., 1994) arbeitete an einer Studie eines 500kW-Moduls, das um weitere Elemente einfach erweitert werden kann und so eine grossflächige Stromversorgung ermöglichen könnte. Die Abmessungen betragen in der Breite 3.5m und in der Länge 2900m. Ein mäanderförmiges Produktionsgerinne aus PVC-Folie nimmt die

Bakteriensuspension auf und mittels einer Klarsichtfolie wird der Reaktor luftdicht verschlossen und so kann das Gas abgezogen werden. Der Reaktor wird zusätzlich mittels Wasser gekühlt, damit die Enzyme funktionieren können und auch ein permanenter Betrieb wird durch einfaches Hinzufügen von Wasser und Nährstoffen garantiert. Der solare Wirkungsgrad wird mit  $\eta = 5\%$  geschätzt (Koch-Schwessinger, G., 1994; Reiß, T., Hüsing, B., 1993).

Einen ähnlichen Aufbau verfolgt auch Rechenberg (Rechenberg, I., 1994) in seinen „Heliomiten-Farmen“. Um zylinderpyramidenförmige Spitzen mit einer Höhe von 5m und einem Durchmesser von 4.5m wird ein Schlauch gewickelt, indem sich die Purpurbakterien befinden. Eine solche Farm könnte auf einer Fläche von 60m \* 60m 100kW Spitzenleistung erzeugen. Hier würde der solare Wirkungsgrad ca.  $\eta = 7\%$  betragen.

Bis jetzt ist noch keine Idee dem Experimentstadium entschlüpft, zu viele Probleme stehen der Realisation im Weg. Und von wirtschaftlichen Überlegungen darf auch noch keine Rede sein. Man wird sehen, was die zukünftige Forschung bringt. Auf jeden Fall wird die Wasserstoffherzeugung des Enzyms Nitrogenase weiter verfolgt. Mittels Proteinengineering ist es in Zukunft vielleicht möglich, die Nachteile für die industrielle Wasserstoffproduktion auszumerzen (Reiß, T., Hüsing, B., 1993).

#### **4.4 Umsetzung im Spezialfall Schweiz**

Mehrere Umstände begünstigen die Schweiz als Standort für Purpurbakterien nicht. Die durchschnittliche Sonnenbestrahlung pro Jahr ist im Vergleich zu anderen Ländern der Welt viel zu gering und die für die Nitrogenase benötigten Mindesttemperaturen sind im Winter zu gering, als dass eine Wasserstoffproduktion mit den bekannten Mitteln rentabel wäre. Nur im Frühling bis Spätsommer wäre eine Produktion in der Nähe des Optimums im Süden der Schweiz vermutlich möglich.

#### **4.5 Ausblick**

In diesen Experimenten wurden bereits die Aspekte Lichtintensität und Temperatureinwirkung auf Purpurbakterien untersucht. In weiteren Messungen könnte man eine Reinkultur der Purpurbakterien gewinnen und so vermutlich die Wasserstoffproduktion stark steigern.

Auch wäre eine Machbarkeitsstudie für die Region der südlichen Schweiz im Hochsommer mit einem Versuchsreaktor eine weitere Überlegung wert, da die Ergebnisse und die Erkenntnisse im Vergleich zum schweizerischen Winter vermutlich aufschlussreicher und näher an der Praxis der Biophotolyse sein könnten.

Weitere Verbesserungen der Wasserstoffproduktionsrate könnten in der Zukunft mittels Veränderungen am Organismus selbst erreicht werden, allerdings fehlen hierzu die benötigten Techniken für eine Umsetzung.

Dabei bleiben natürlich immer das eigentliche „Ziel“ und die unzähligen Wege zur Erreichung der Konstruktion eines biologischen Sonnenenergiereaktors, der mit aktuellen Lösungen konkurrieren kann, als Richtung in der sich die meisten Untersuchungen bewegen.

## 5. Zusammenfassung

In den letzten Jahrzehnten wurden viele Grundgedanken unserer Energiepolitik reformiert. Es wurde erkannt, dass bestehende Energieressourcen keine langfristige Zukunft haben und auch unsere Umwelt belasten. Man benötigt neue, unerschöpfliche und umweltverträgliche Quellen für Energie. Betrachtet man die Entwicklung in der Natur, so erkennt man, dass die Evolution eine Lösung gefunden hat, um alles Leben auf der Erde mit Energie zu versorgen, die Photosynthese. Bei diesem Vorgang wird das Sonnenlicht, das die Erde permanent bestrahlt, verwendet um Energie zu assimilieren, die danach allen Lebewesen als Biomasse zur Verfügung steht. Leider wurde diese perfekte Lösung von älteren Generationen gar nicht beachtet, Sonnenergie war zu umständlich.

In den letzten Jahrzehnten wurde viel Grundlagenforschung betrieben, um mittels Naturvorgängen für den Menschen verwertbare Energieformen, wie zum Beispiel elektrische Energie, zu gewinnen. Bereits 1949 erkannten Gest und Kamen (Schäfer, L., 2003), dass Purpurbakterien unter gewissen Umständen reinen Wasserstoff produzieren können.

Mittels des Enzyms Nitrogenase erzeugen sie bei der Photosynthese reinen Wasserstoff, der in der Natur meistens durch das Enzym Uptake-Hydrogenase wieder in den Stoffkreislauf des Organismus gebracht wird, um keine Energie zu verschwenden. In angepassten und optimierten Verhältnissen wird aber mehr Wasserstoff produziert, als wieder aufgenommen werden kann und dieser wird schliesslich an die Umwelt abgegeben.

In mehreren Versuchen wurde in dieser Arbeit der Einfluss des Sonnenlichts sowie der Temperatur auf die Wasserstoffproduktion ermittelt und dabei wurde der Fokus auf eine mögliche praktische Anwendung in der Schweiz gelegt. Dazu wurde eine Probe mit Purpurbakterien aus einem regionalen Gewässer entnommen und die Bakterien wurden vermehrt und konzentriert. Schliesslich wurde das mit einer Standardgasmessungseinrichtung aufgefangene Gas mittels einer angeschlossenen Brennstoffzelle untersucht und es wurde durch erzeugten elektrischen Strom nachgewiesen, dass im Gas Wasserstoff enthalten war.

Schliesslich wurde in einer Diskussion, das Produkt besprochen und Hochrechnungen für industrielle Wasserstoff- und Stromerzeugung mittels dem verwendeten Reaktor gemacht.

Umsetzungen eines Biophotolysereaktors mit Purpurbakterien als Wasserstoffproduzent in der Praxis im grösseren Umfang sind prinzipiell möglich, aber nur bei geeigneten Umweltbedingungen, die in der Schweiz selten anzutreffen sind.

Um die Ergebnisse weiter zu verbessern, müsste man die Versuchsbedingungen optimieren, einen Reinstamm gewinnen und verwenden, sowie in einer temperaturoptimaleren Gegend mit einer hohen Sonnenlichtbestrahlung Versuche durchführen.

## 6. Schlusswort

Liegt unsere energietechnische Zukunft in der Wasserstoffproduktion von Purpurbakterien? Diese Frage habe ich mir ganz zu Beginn gestellt und ich musste leider ziemlich schnell erkennen, dass mit den vorhandenen Kenntnissen und Techniken Purpurbakterienreaktoren im industriellen Sinn vermutlich nie umgesetzt werden können. Trotzdem habe ich die Idee weiterverfolgt und bin zu interessanten Ergebnissen gekommen. Ich habe meine Fragestellung beantworten können und ich habe es sogar geschafft, einen funktionstüchtigen Modellreaktor inklusive Brennstoffzelle zu konstruieren. Auch wurde meine Vermutung, dass eine direkte Abhängigkeit zwischen Lichtbestrahlung, Temperatur und Wasserstoffproduktion besteht, bestätigt. Da dieses Gebiet bereits ausführlich erforscht wurde, stand mir auch sehr viel Literatur zur Verfügung.

Persönlich habe ich auch einiges gelernt. Ich habe dieses Thema gewählt um herauszufinden, ob ich mich nach der Matur für eine Studienrichtung in diesem Bereich einschreiben soll. Ich hatte sehr viel Spass an dieser Arbeit und an den Überlegungen, so dass ich mir vorstellen könnte, weiter an ähnlichen Aufgaben zu arbeiten.

Aber ich wurde trotzdem auch einige Male bei den Versuchsreihen überrascht. So hatte ich zum Beispiel Glück, dass alle Versuche jeweils beim ersten Anlauf gelangen, andererseits habe ich gemerkt, dass im Bereich der Mikrobiologie schnell auch „etwas anderes“ als das erwartete wachsen kann, wie die Pilze in meiner ersten Nährlösung. Aber aus Fehlern lernt man, und beim zweiten Mal habe ich trotz der eingeschränkten Möglichkeiten Vorkehrungen zur Verminderung der Fremdkontamination getroffen.

Natürlich wurde ich bei dieser Arbeit von sehr vielen Leuten unterstützt. Dazu gehört mein MA-Betreuer Herr Paul Walser, der mir immer beratend zur Seite stand und mich mit der nötigen Ausstattung und praktischem Wissen ausgestattet hatte. Für die ganze Phase der Zusammenarbeit mit ihm kann ich wirklich nur Positives berichten und ich bedanke mich ganz herzlich bei ihm für alles.

Auch danke ich Herrn Thomas Fleischmann von der EAWAG Dübendorf, der sich Zeit nahm, mir einige fehlende Chemikalien zu geben und mich beim weiteren Vorgehen mit Tipps und Tricks beraten hat. Er hat mir nach einigen Rückschlägen bei der Kontaktaufnahme mit Wissenschaftlern gezeigt, dass viele doch sehr freundlich sind und sich auch mit dem Nachwuchs, der noch nicht alles weiss, beschäftigen.

Ich danke auch meiner Familie für die Unterstützung während der ganzen Zeit, insbesondere meiner Mutter, der die vielen Bakterien und Chemikalien, die ich in ihrem Dampfkochtopf autoklavierte nicht ganz geheuer waren. Auch meinen Freunden danke ich herzlich für die Unterstützung und die motivierenden Worte.

Schliesslich danke ich allen, die mir mehr oder weniger auf kurzen Etappen geholfen haben.

## **7. Anhang**

### **7.1 Abbildungen**

#### **7.1.1 Purpurbakterien Ansiedelung**

Abbildung 1

## **7.1.2 Purpurbakterien Ansiedelung: Nahaufnahme**

Abbildung 2

### **7.1.3 Kontamination Reservebehälter 1**

Abbildung 3

## **7.1.4 Kontamination Reservebehälter 2**

Abbildung 4

## **7.1.5 Versuchsaufbau: Wasserstoffproduktion im künstlichen Licht**

Abbildung 5

## **7.1.6 Versuchsaufbau: Nachweis von Wasserstoff**

Abbildung 6

## **7.1.7 Versuchsaufbau: Wasserstoffproduktion im natürlichen Licht**

Abbildung 7

### **7.1.8 Versuchsaufbau: Wasserstoffproduktion in natürlicher Umgebung**

Abbildung 8

## **7.2 Bestätigung**

Ich bestätige, dass ich diese Arbeit selbst geleistet habe, dass sich die Mitwirkung anderer Personen auf Korrekturlesen und Beratung beschränkt hat, dass alle übernommenen Teile korrekt erwähnt, zitiert und bibliographiert sind und ich nur die erwähnten Hilfsmittel verwendet habe. Ich bin von den Konsequenzen, die eine Nichteinhaltung dieser Punkte nach sich zieht, in Kenntnis gesetzt worden.

Ort und Datum: .....

Unterschrift: .....

## 8. Literaturverzeichnis

- Koch-Schwessinger, G., „Photobiologische Wasserstoffproduktion durch Purpurbakterien und Biophotolyse“, Dissertation, Technische Universität Berlin, 1994
- Nachtigall, W., „Bionik“, Deutsche Verlags Anstalt DVA, 2002
- Rechenberg, I., „Photobiologische Wasserstoffproduktion in der Sahara“, Friedrich Frommann, Günther Holzboog Verlag, 1994
- Reiß, T., Hüsing, B., „Biologische Wasserstoffgewinnung: Forschungsperspektiven und Technikfolgen“, Verlag TÜV Rheinland, 1993
- Roesler, R., Zittel, W., „Wasserstoff als Energieträger: Wasserstofferzeugung, Wasserstoffeinsetz im Kraftwerkssektor, Wasserstoffspeicherung, -transport und -verteilung, Wasserstoff-Verflüssiger, H<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>-Dampferzeuger“, Studie, Forschungszentrum Jülich GmbH, 1994
- Schäfer, L., „Isolation / Gewinnung von Purpurbakterien“, 2002, Zugriff 01.01.2005, Internet, Zugänglich unter <http://www.bionik.tu-berlin.de/institut/StandardversuchPurpurbakterien.pdf>
- Schäfer, L., „Photobiologische Wasserstoffproduktion in einem Purpurbakterien/Grünalgen-Verbundreaktor“, Dissertation, Technische Universität Berlin, 2003
- Schlegel, H.G., „Allgemeine Mikrobiologie“, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1992
- Stadt Zürich, „Strom“, 2003, Zugriff 01.01.2005, Internet, Zugänglich unter: <http://www3.stzh.ch/internet/ewz/home/produkte/energieprodukte/strom.html>
- Zaborsky, O.R., „BioHydrogen“, Plenum Press New York and London, 1998