

# DAAD RISE weltweit

## Abschlussbericht

Daniel Jupke  
daniel-jupke@web.de

### Inhalt

Inhalt.....	2
Einleitung.....	3
Danksagung .....	3
Allgemeiner Teil.....	3
Visum .....	3
Flug .....	4
Impfungen.....	4
Geld.....	5
Gepäck .....	5
Umgang und Sprache.....	5
Unterbringung und Verpflegung .....	6
Campus .....	6
Laborarbeit .....	7
Reisen und Ausflüge.....	7
Sicherheit.....	8
Fachlicher Teil.....	8
Abstract .....	8
Einleitung.....	8
Instrumentierung .....	11
Experimente .....	13
Fazit.....	14
Literatur .....	15

## Einleitung

Ich hatte die Möglichkeit vom 03.09.2018 bis zum 15.10.2018 ein Praktikum mitsamt DAAD Stipendium am Indian Institute of Technology Indore in Indien zu absolvieren. Dort habe ich in der Arbeitsgruppe von Dr. Kiran Bala an Algen und Nanopartikeln gearbeitet. Nachfolgend sind meine Erfahrungen zusammengefasst. Zuerst in einem allgemeinen Teil mit meinen Vorbereitungen und Erfahrungen und anschließend einem fachlichen Teil über meine genaue Arbeit dort.

## Danksagung

Ich möchte verschiedenen Leuten für diese Chance danken. Dem DAAD, der dies alles erst möglich gemacht hat. Dr. Kiran Bala vom IIT I für die Möglichkeit in ihrer Arbeitsgruppe zu arbeiten. Der ganzen Arbeitsgruppe von Dr. Bala für all die Freundlichkeit und Herzlichkeit, mit der ich aufgenommen wurde. Prof. Krull für das freundliche Empfehlungsschreiben. Und zuletzt meiner Familie und meinen Freunden, sowohl denen in Deutschland, als auch den neuen in Indien, für die großartige Unterstützung.

# Allgemeiner Teil

## Visum

Eine der wichtigsten Dinge, um die man sich kümmern muss, wenn man nach Indien reisen möchte, ist das Visum. Während es inzwischen relativ einfach ist ein Touristenvisum zu erhalten, kann es bei einem Visum für Praktikanten immer noch zu Komplikationen kommen. Eine Grundvoraussetzung für ein Visum ist ein gültiger Reisepass, also sollte dieser auf seine Gültigkeit überprüft werden oder im Zweifelsfall neu beantragt werden. Ein Visum wird in den meisten Fällen nicht direkt bei der indischen Botschaft selbst, sondern einem Dienstleister für Visa beantragt. Hierbei gilt es herauszufinden welcher Dienstleister für das jeweilige Bundesland zuständig ist. In meinem Fall war dies IGCS Visa mit dem Sitz in Hamburg. Die Beantragung ist aber erst frühestens zwei Monate vor Einreise möglich, denn ein indisches Visum ist ab Ausstellungsdatum über einen gewissen Zeitraum gültig. Als ersten Schritt ist es notwendig auf einer Seite der indischen Regierung ein online Antragsformular auszufüllen. Dies ist unter <https://indianvisaonline.gov.in/visa/index.html> zu finden. Hierbei muss, neben diversen persönlichen Angaben, angegeben werden, welchen Visa-Typ man beantragen möchte. Dies ist bei einem Praktikum nicht ganz eindeutig. Ich habe mich für ein Studentenvisum beworben. Dieses ist aber für Studenten gedacht, deren Praktikumsaufenthalt

von ihrer Universität vorgeschrieben ist. Dies war bei mir nicht der Fall. In solchen Fällen wird der Visumsantrag von dem Dienstleister an das indische Konsulat weitergeleitet und dort bearbeitet. Dort wurde dann mein Visumstyp geändert und wieder zurück zum Dienstleister geschickt. Also ist es im Zweifelsfall nicht allzu schlimm, falls man den falschen Visumstyp auswählt. Diese Prozedur kann mitunter etwas dauern, deswegen empfiehlt es sich das Visum einige Zeit vor der Reise zu beantragen. Mir wurde am Ende ein Research Visum ausgestellt. Für die Beantragung müssen unter anderem mehrere Dokumente mit abgegeben werden. Ich habe im Endeffekt eine Immatrikulationsbescheinigung meiner deutschen Hochschule, einen Nachweis des DAAD über die Förderung, einen Nachweis der indischen Hochschule über meine Praktikumsstelle, einen Nachweis meiner Hochschule, dass ich Student bin („Confirmation of studies“), sowie zwei Passbilder (5x5 cm) abgegeben. Die Confirmation of studies habe ich im International Office meiner Universität beantragt. Alles in englischer Sprache. Der Antrag hat 92,50 € gekostet. Nach knapp zwei Wochen war mein Visum abholbereit.

## Flug

Der Flug ist standardmäßig etwas, um das man sich gerne sehr früh kümmert. Denn je früher desto billiger. Da es bei mir zwischendurch nicht klar war, ob mir ein Visum ausgestellt werden würde, habe ich diesen allerdings erst zwei Wochen vor meinem geplanten Abreisedatum gebucht. Dies stellte allerdings kein Problem dar. Wenn man kein Problem damit hat an einem Werktag zu fliegen, kann man hier im Vergleich zu den Wochenenden eine Menge Geld sparen. Ich bin am Ende mit Air India von Frankfurt über Delhi nach Indore geflogen. Insgesamt bin ich fast 11 Stunden geflogen.

Für das Umsteigen in Delhi rechnen viele Reisende laut ihren Erfahrungsberichten immer sehr viel Zeit ein. Zum Teil bis zu sechs Stunden. Ich habe allerdings eine andere Erfahrung gemacht. Beim Hinflug hatte ich etwa drei und beim Rückflug etwa zweieinhalb Stunden und hatte beide Male noch genug Zeit etwas am Flughafen zu essen und mir die Beine zu vertreten.

## Impfungen

Eine wichtige Sache, die man im Voraus erledigen sollte ist der Besuch bei einem Arzt um die empfohlenen Impfungen zu veranlassen. Dies sollte am besten mehrere Wochen vor der Abreise geschehen, da mehrere Impfungen Zeit benötigen um einen Impfschutz aufzubauen und nicht alle Impfungen gleichzeitig verabreicht werden können. Ich wurde gegen Typhus, Cholera, Hepatitis A und B und japanische Enzephalitis geimpft. Diese Impfungen sind aber nicht immer ganz billig, also lohnt es sich bei der Krankenkasse nachzufragen, ob diese erstattet werden.

## Geld

Für Indien lohnt es sich, wenn nicht bereits vorhanden eine Kreditkarte anzuschaffen. Diese können von Studenten oft kostenlos beantragt werden. Dabei sollte man bei seiner jeweiligen Bank aber hinterlegen, dass man plant ins Ausland zu gehen, da sonst die Karte gesperrt werden kann. Es ist aber noch zu sagen, dass besonders in ländlichen Gegenden internationale Kreditkarten nicht immer funktionieren und nur indische Karten akzeptiert werden. Deswegen empfiehlt es sich immer etwas Bargeld dabei zu haben. Die Währung ist die indische Rupie. Diese kann nicht in Deutschland erhalten werden, da es offiziell illegal ist, Rupien aus Indien auszuführen. Also muss man auf Wechselstuben am Flughafen oder in den Städten zurückgreifen. Besonders am Flughafen sind die Kurse aber meist schlecht, sodass man hier, wenn möglich, nur wenig Geld wechseln sollte.

Für all meine Kosten kam ich sehr gut mit dem vom DAAD bereit gestellten Geld aus.

## Gepäck

Als Gepäck habe ich mich hauptsächlich an der Kleidung orientiert, die ich in einem deutschen Sommer tragen würde. Dies hat sich als richtig herausgestellt. Draußen in der Sonne war es meist sehr warm. Selten unter 30°C. Aber in den Gebäuden läuft oft die Klimaanlage. Dadurch ist in diesen Räumen gelegentlich relativ kalt.

Ich habe mir im Vorhinein im Internet Steckdosenadapter bestellt, wobei dies allerdings nicht nötig gewesen wäre. Meine Stecker passten auch so in die Steckdosen.

Antimückenspray ist eine sehr sinnvolle Anschaffung, da besonders nachts oft Insekten ins Zimmer eindringen.

Da ich in der Regenzeit gefahren bin, habe ich mir auch einen Regenschirm mitgenommen. Regenzeit bedeutet allerdings nicht, dass es die ganzen sechs Wochen über geregnet hat. Meist schien die Sonne. Allerdings kam es vor, dass es für zwei oder drei Tage sehr stark dauerhaft geregnet hat.

## Umgang und Sprache

Alle Leute die ich im privaten und wissenschaftlichen Umfeld kennen gelernt habe waren sehr herzlich und gastfreundlich. Jedermann war stets darauf bedacht, dass ich zufrieden war. Dies liegt an der indischen Kultur, die Gastfreundschaft sehr hoch schätzt. Dies kann sehr angenehm sein, mitunter aber auch anstrengend werden. Da mir in manchen Haushalten in denen ich zu Besuch war, nicht gestattet wurde meinen Teller selber in die Küche zu bringen. Die Personen, die ich im Institut kennen gelernt habe konnten alle meist sehr gutes Englisch und eine Verständigung stellte hier kein Problem dar. Etwas anderes, war dies hingegen bei Personen, die man auf der Straße traf. Mir wurde zwar von indischen Freunden versichert,

dass so gut wie jeder Englisch spreche, dies kann ich aber aus meiner eigenen Erfahrung nicht bestätigen. So war die Kommunikation mit Sicherheitspersonal in Einkaufszentren und Straßenverkäufern mitunter schwierig. Dies gestaltete sich meist sehr viel einfacher, wenn man jemanden dabei hatte der Hindi sprach. Denn obwohl Englisch als wissenschaftliche Arbeitssprache anerkannt ist, ist die Alltagssprache trotzdem Hindi. Dies spricht auch so gut wie jeder. Zusätzlich zu Hindi sprechen die meisten Leute auch noch eine oder mehrere weitere Sprachen wie Sanskrit, Bengali oder Punjabi. Dabei handelt sich manchmal um Hindi-Dialekte und manchmal um eine ganz neue Sprache.

## Unterbringung und Verpflegung

Für die Zeit meines Aufenthalts war ich am IITI im sogenannten Guesthouse untergebracht. Um diese Unterkunft hatte sich meine Ansprechpartnerin in Indien Dr. Kiran Bala für mich gekümmert. Das Guesthouse war meist für internationale Gäste und Gastdozenten gedacht. Es war sehr gut und komfortabel eingerichtet. Dementsprechend aber auch nicht ganz billig. Nach einer Woche wurde mir angeboten in das Studentenwohnheim auf dem Campus umzuziehen, aber zu diesem Zeitpunkt schien mir unsinnig erneut umzuziehen.

Das Essen konnte in verschiedenen Mensen, die auf dem Campus verteilt zu finden waren, eingenommen werden. Dabei musste ich mich zunächst an das scharfe Essen gewöhnen. Nach einiger Zeit habe ich es aber sehr zu schätzen gelernt. Generell findet man in Indien sehr viel vegetarisches Essen. Dieses ist meist mit einem grünen Punkt in einem grünen Quadrat und dem Wort „VEG“ für vegetarisch ausgezeichnet. In der normalen Mensa gab es so gut wie nur vegetarisches Essen. Dies lässt sich damit erklären, dass Fleisch etwas teurer und ein großer Anteil der indischen Bevölkerung, zum Teil aus religiösen Gründen, vegetarisch lebt.

## Campus

Der Campus des IITI ist ein paar km<sup>2</sup> groß und von Mauern umgeben. Es gibt zwei bewachte Haupttore. Auch an den meisten Gebäuden auf dem Campus finden sich Sicherheitsleute und es gibt eine Videoüberwachung für die Gebäude. Dies stellt sicher, dass niemand, der nicht auf den Campus gehört auf diesen gelangt und die Studenten auch nachts noch ohne Bedenken über die Straßen auf dem Campus wandern können.

Für den Campus haben die Verantwortlichen in den kommenden Jahren große Pläne. So sollen noch diverse Gebäude für Forschung, Bücherei und Studentenunterbringung hinzugefügt werden.

Als Transportmittel werden Fahrräder bereitgestellt, die per App entsperrt werden können. Diese waren vielleicht nicht immer in der besten Qualität aber fahrtauglich. Außerdem fahren regelmäßig elektrische Golfcarts über den Campus, die einen zu allen Orten auf dem Campus

bringen. Des Weiteren stellt das Institut Busse, die Studenten für einen geringen Aufpreis benutzen können, um in die Innenstadt von Indore zu gelangen.

## Laborarbeit

Für die Arbeit im Labor lohnt es sich, sich vorher mit dem Thema vertraut zu machen, das in dem Praktikum behandelt wird. So kann man bei den Betreuern nach ein paar Papern fragen, die man zuvor lesen kann. Dies ist eine Hilfe für den Einstieg ins Labor, aber nicht zwingend notwendig.

Des Weiteren sollte man sich erkundigen, ob es notwendig ist, einen eigenen Kittel mitzubringen. Ich war darauf nicht vorbereitet und musste mir in den ersten Tagen einen organisieren.

Ich habe in einem Labor mit fünf Doktoranden und einer weiteren Praktikantin gearbeitet, die alle von einer Assistenzprofessorin betreut wurden. Meine Aufgabe bestand darin zwei der Doktoranden bei ihren Versuchen und Laborarbeiten zu unterstützen. Im Labor kamen die meisten Leute morgens um neun Uhr und gingen abends gegen sechs Uhr. An diesen Rhythmus habe ich mich mit meinen Arbeiten angepasst. Es ist sehr gerne gesehen, wenn die Doktoranden darüber hinaus noch länger im Labor bleiben. Dabei ist die Arbeitshaltung aber weit entspannter, sobald die Laborleitung nach Hause gefahren ist. Während meiner Praktikumszeit war ich auch mehrere Male Samstag und Sonntag im Labor. Mir wurde angeboten darauf zu verzichten, aber da ich das Arbeitsleben dort erleben wollte, habe ich dieses Angebot nicht angenommen.

Ich wurde außerdem darum gebeten, einen Vortrag und einen Praktikumsbericht in englischer Sprache zu verfassen. Ich habe am Ende meinen englischen Praktikumsbericht für das IITI als Vorlage für den fachlichen Teil dieses Berichtes verwendet.

## Reisen und Ausflüge

In meinen sechs Wochen habe ich mit den Leuten, die ich im Labor kennen gelernt habe und teilweise allein zahlreiche Ausflüge unternommen. Diverse Male sind wir in die Innenstadt von Indore gefahren, um dort einkaufen oder gut Essen zu gehen. Außerdem haben wir viele der Sehenswürdigkeiten rund um die Stadt angesehen. So zum Beispiel die Wasserfälle von Patalpani oder den Khajrana Ganesh-Tempel. Ich hatte zudem die Chance einen der zwölf wichtigsten hinduistischen Tempel mit dem Namen Mahakaleshvar zu besuchen. Dies war auf jeden Fall ein eindrucksvolles Erlebnis.

Neben den Ausflügen zu berühmten Sehenswürdigkeiten, wurde ich auch oft zu Freunden nach Hause eingeladen. Dort wurde mir die großartige Gastfreundschaft bewiesen, indem für mich gekocht wurde und viel gelacht wurde.

## Sicherheit

Die Sicherheit ist oft ein großes Thema, wenn man über eine Reise nach Indien nachdenkt. Ich wünschte ich könnte sagen, dass all diese Bedenken unbegründet sind. Aber leider beruhen die Geschichten, die man gelegentlich hört auf einer gewissen Wahrheit. So wurde mir von einer indischen Freundin gesagt, dass sie oder ihre Freundinnen eigentlich nie nach zehn Uhr abends allein auf die Straße gehen würden. Einfach weil es nicht sicher sei und eine akute Gefahr bestünde. Diese Gefahr ist für Männer weniger gegeben. Aber soweit man sich an ein paar Vorsichtsmaßnahmen hält, kann eigentlich nichts passieren. Besonders, da die Hostels, wenn sie nicht in einem eingezäunten Bereich liegen, Sicherheitspersonal aufweisen. Solange man seinem gesunden Menschenverstand vertraut und keine unnötigen Risiken eingeht, kann ich eine Praktikumsreise nach Indien wirklich empfehlen.

# Fachlicher Teil

## Abstract

Für ein Praktikum habe ich sechs Wochen am Indian Institute of Technology Indore (IITI), eine öffentliche Einrichtung der höheren Bildung in Indien, verbracht. Dort war ich in der Lage in der Arbeitsgruppe von Dr. Kiran Bala im Bereich der Biosciences and Biomedical Engineering zu arbeiten. Der Fokus in dieser Arbeitsgruppe lag auf der Produktion von Biodiesel mittels Algen.

Meine eigene Hauptarbeit beschäftigte sich mit dem Thema der Biosynthese von Nanopartikeln mittels Algen. Ein Thema, das in den vergangenen Jahren immer mehr Aufmerksamkeit durch die wissenschaftliche Gemeinschaft erhalten hat. Das Ziel der Experimente war es Silbernanopartikel mit einem spezifischen Strang von Grünalgen herzustellen. Die produzierten Nanopartikel wurden daraufhin mit unterschiedlichen Methoden analysiert, um die Bildung nachzuweisen und die Struktur zu überprüfen. Während das Hauptaugenmerk auf der Nanopartikelproduktion lag, konnte ich außerdem mehreren Doktoranden bei der Durchführung ihrer Experimente behilflich sein. Auf diese Art und Weise konnte ich auch in der Biodieselproduktion mittels Algen mitarbeiten. Der Kern dieser Arbeit waren die Umesterung von Lipiden zu Fettsäuremethylestern und deren Gehaltsbestimmung mittels Gaschromatographie.

## Einleitung

Der Begriff „Alge“ schließt verschiedenste Arten von Organismen mit ein. Eine einfache Klassifizierung lässt sich durch den Typ der Pigmente festlegen, den die Zellen enthalten.

Durch diese Pigmente erhalten die Organismen spezifische Farben. Und diese Farbe bestimmt dann die Klasse der Algen, denen diese Spezies zugehörig ist. So lassen sich Grün-, Rot-, Braun- und blaugrüne Algen trennen. Blaugrüne Algen werden allerdings auch häufig als Cyanobakteria bezeichnet. Während die meisten Algen dem Königreich der Eukaryoten zugeordnet werden können, fallen die blaugrünen Algen in das Königreich der Bakterien. Ähnlich vielfältig wie die Farben, nehmen auch die Morphologien der unterschiedlichen Spezies eine Vielzahl von Formen an. So sind einzellige, mehrzellige, Kolonien formende oder Filamente mit einer Länge von mehreren Metern bekannt. Eine Eigenschaft der der meisten dieser Algen ist die photosynthetische Aktivität und die Fähigkeit auf der Basis von Sonnenlicht und CO<sub>2</sub> als Kohlenstoffquelle zu überleben. Meist leben Algen aquatisch, wobei sich auch semiaquatische Formen entwickelt haben. In der Wissenschaft und für industrielle Zwecke werden sie für die Herstellung von Carotinoiden, Fettsäuren, Biodiesel und jüngst auch Nanopartikeln eingesetzt.

Nanopartikel in diesem Kontext sind Partikel auf der Nanoskala, hergestellt aus einem bestimmten Material. Die Größe dieser Partikel reicht von 1 nm bis zu 200 nm. Die Form hängt oft von den Bedingungen bei der Herstellung ab. Verschiedene Formen wie Kugeln, Würfel oder dreieckige Gebilde wurden bis jetzt gebildet und nachgewiesen. Oftmals werden die Partikel aus einem oder in manchen Fällen mehreren Metallen hergestellt. Oxide und Chalkogenide sind aber ebenso möglich. Die Eigenschaften ändern sich mit dem Material, der Form und der Größe der Partikel. Abhängig von den Eigenschaften, können dann Anwendungen gefunden werden. Zum Beispiel die Nutzung als Medikamentenshuttle, die Ausnutzung antibakterieller Eigenschaften oder in Biosensoren. Ein Vorteil stellt das, im Vergleich zu herkömmlichen Materialien, große Oberfläche zu Volumen Verhältnis dar. Die Herstellung dieser Nanomaterialien kann verschiedenen Wegen folgen. Es kann entweder eine physico-chemische oder eine biologische Synthese gewählt werden. Für die chemische Synthese sind oft extreme Bedingungen, wie hohe Temperaturen oder Drücke und die Verwendung toxischer Chemikalien benötigt. Im Vergleich dazu, kann die biologische Synthese unter milden Bedingungen durchgeführt werden. Zum Beispiel 20°C und atmosphärischem Druck. Die Bildung der Nanopartikel gelingt hierbei durch die Nutzung von reduzierenden Enzymen aus den Zellen, die ein in Lösung befindliches Salz reduzieren. Für die Produktion von Silbernanopartikeln ist dieses Salz AgNO<sub>3</sub>. In Experimenten wurden diverse mögliche Wege zur Herstellung dieser Partikel entdeckt. Eine einfache Unterscheidung in diesen Produktionswegen lässt sich dadurch treffen, ob diese Partikel intrazellulär oder extrazellulär gebildet wurden. Für beide Methoden haben sich jeweils zwei Wege etabliert. Der erste Weg für die extrazelluläre Produktion nutzt die Biomoleküle zerstörter Zellen. Die Zellen werden physikalisch oder chemisch aufgeschlossen und die reduzierenden Agenzien für die Reduzierung eines Salzes genutzt. Diese Methode wurde



zuerst 2007 von Xie et al. für Gold- und Silbernanopartikel beschrieben. Ein anderer Weg für die extrazelluläre Produktion ist die Nutzung des Überstandes. Hierbei wird eine Algenkultur entweder zentrifugiert oder filtriert, um eine zellfreie Lösung zu erhalten. Der Überstand wird danach in eine Lösung des Salzes gegeben, aus dem die Nanopartikel hergestellt werden sollen. Hierbei werden die reduzierenden Agenzien im Überstand der Zellen verwendet, ohne diese zu zerstören. Da in den beiden genannten Fällen die Nanopartikel außerhalb der Algenzellen gebildet werden, zählen sie zu den Wegen der extrazellulären Produktion. Davon abgegrenzt ist der Weg der intrazellulären Herstellung. Wie der Name bereits vermuten lässt, werden die Nanopartikel hierbei innerhalb der Zellen gebildet und nachfolgend sekretiert. Auch für diese Art der Herstellung haben sich zwei Wege etabliert. Im ersten Weg werden die Algenzellen ohne Aufschluss geerntet. Nachfolgend werden sie in destilliertem Wasser resuspendiert. Wenn zu dieser Lösung ein Salz zugegeben wird, nehmen die Zellen dieses in sich auf und reduzieren es dort zu Nanopartikeln. Diese Methode hat sich als erfolgreich für verschiedene Metalle erwiesen. Ein Nachteil dieser Methode ist, dass die Zellen innerhalb weniger Stunden ihre metabolische Aktivität verlieren. Dies liegt am osmotischen Druck, dem die Zellen im destillierten Wasser ausgesetzt sind. Dieses Problem tritt bei dem zweiten Weg der intrazellulären Produktion nicht auf. Hier wird das Salz direkt in die Algenkultur gegeben. Es hat sich herausgestellt, dass Algen die einzigen Organismen sind, die auf diese Weise Nanopartikel herstellen können, aufgrund ihrer höheren Toleranz gegenüber bestimmten Metallen. In den Algen bilden sich aus den Salzen Nanopartikel. Diese werden dann von der Zelle mit verschiedenen Polysacchariden überzogen. Dies führt zu der Bildung von stabilen Kolloiden der Partikel, sobald diese in das Kulturmedium abgegeben werden. Durch diese Kolloidbildung ist keine weitere Veränderung an den Partikeln möglich und die Aufreinigung wird einfacher. Die meiste Literatur, die sich zu diesem Thema finden lässt, befasst sich mit der Produktion metallischer Nanopartikel [1].

Die Umesterung ist eine Reaktion, die Triglyceride in Fettsäuren und Glycerin umwandelt. Mit Hilfe dieser Reaktion lässt sich die Menge an neutralen Lipiden, die sich in Form von Triglyceriden in einer Zelle befinden ermitteln. Die Methode beruht auf der Reaktion zwischen einem Triglycerid und einem Alkohol. Zur Bestimmung des Fettsäuregehalts wird standardisierter Weise Methanol verwendet, aber theoretisch könnte die Reaktion auch mit einem beliebigen anderen Alkohol durchgeführt werden. Als Katalysator benötigt diese Reaktion entweder eine Base oder eine Säure. Die Reaktion sollte idealerweise unter Wasserausschluss ablaufen, da sich sonst anstatt Fettsäureestern freie Fettsäuren bilden würden. Da in der Praxis oft die Methode mittels Säure als Katalysator bevorzugt wird, wird diese nachfolgend genauer erklärt. Als Start der Reaktion wird ein Proton der Säure zum Sauerstoffatom der Estergruppe hinzugefügt, um ein Oxoniumion zu formen. Daraufhin wird der Sauerstoff des Alkohols zum zentralen Kohlenstoffatom des Esters angefügt und es

entsteht ein Übergangszustand. Das Sauerstoffatom, das bereits an dem zentralen Kohlenstoffatom gebunden war wird frei und formt einen neuen Alkohol. Wenn diese Reaktion mit einem Triglycerid und Methanol durchgeführt wird, ergeben sich ein Fettsäuremethylester und Glycerin. Welcher Fettsäuremethylester sich bildet, hängt von den Fettsäuren ab, die am Glycerin hängen. Abhängig von der Anwendung der Fettsäuremethylester können verschiedene Zusammensetzungen der Fettsäuren wünschenswert sein [2].

## Instrumentierung

Nachdem Nanopartikel in einem Experiment hergestellt wurden, muss sichergestellt werden, dass es sich um Nanopartikel handelt und welche Form und Größe diese besitzen. Für diesen Zweck haben sich ein paar wissenschaftliche Geräte als besonders hilfreich erwiesen. Das erste ist das UV-VIS-Spektrometer. Es nutzt sichtbares und ultraviolettes Licht, um eine flüssige Probe zu analysieren.  $\pi$ - oder nichtbindende Elektronen von Molekülen in der Probe absorbieren Licht einer bestimmten Wellenlänge und werden von diesem zum Übergang in ein höheres Molekülorbital angeregt. Das Lambert-Beer'sche Gesetz besagt, dass die Absorption einer Probe direkt proportional zu der Konzentration der Lösung ist. Rein technisch gesehen, misst das Photometer aber nicht nur die Absorption, sondern auch andere physikalische Effekte wie die Streuung von Licht, das durch die Probe fällt. Also ist der am Spektrometer bestimmte Wert nicht die Absorption, sondern die sogenannte optische Dichte (OD). Die optische Dichte beschreibt den Intensitätsverlust, wenn Licht einer bestimmten Wellenlänge durch eine Probe fällt [3]. Für die Herstellung bestimmter Nanopartikel können nun in der Literatur angegebene Werte mit den eigenen verglichen werden, um Aussagen darüber treffen zu können, welche Form von Nanopartikeln gebildet wurde.

Eine andere Methode um eine Nanopartikelprobe zu untersuchen, ist das sogenannte powder XRD, kurz für powder X-ray diffractometer. Im deutschen auch Debye-Scherrer-Verfahren genannt. Für dieses Messgerät muss die Probe in Puder- oder kristalliner Form vorliegen. Es wird für Material und Strukturuntersuchungen verwendet. Es verwendet Röntgenstrahlen, die auf die Probe gerichtet werden. Die Probe wirkt dann als ein Beugungsgitter und lenkt den Röntgenstrahl in einem spezifischen Winkel ab. Die Ablenkung an verschiedenen Winkeln wird gemessen und gemeinsam in einem Diagramm dargestellt. Auch für diese Methode können Werte mit der Literatur verglichen werden [4].

Für die Visualisierung der produzierten Nanopartikel wird häufig SEM, oder scanning electron microscopy, im deutschen Rasterelektronenmikroskopie, angewandt. In diesem Instrument wird das Bild durch einen fokussierten Elektronenstrahl erzeugt, welcher die Oberfläche der Probe scannt. Diese Methode ist bis auf wenige Nanometer genau. Das Messgerät arbeitet unter Vakuumbedingungen, damit keine Moleküle aus der Luft den Elektronenstrahl stören. Vor der Messung muss die Probe getrocknet werden und mit einer dünnen Schicht eines

leitenden Materials überzogen werden. Für diesen Zweck wird oft Gold eingesetzt. Außerdem wird die Probe mittels leitfähigen Klebebandes befestigt. Wenn nun Elektronen auf die Probe treffen werden diese abgelenkt oder induzieren die Emission sekundärer Elektronen. Diese Elektronen können detektiert werden und in ein Bild der Probe umgewandelt werden. Wenn die Probe nicht leitfähig wäre, würde sich die Ladung der Elektronen in der Probe ansammeln und es würde zu Problemen bei der Messung kommen. Diese Methode kann genutzt werden, um die Größe und Struktur der produzierten Nanopartikel zu ermitteln [5].

Eine ähnliche Messmethode nutzt TEM, oder Transmissionselektronenmikroskopie. Auch hier geht es wieder um die Visualisierung einer Probe. Aber weniger um die Oberfläche, sondern viel mehr um das Innere der Probe. Auch hier wird ein fokussierter Elektronenstrahl auf eine Probe gelenkt. Aber dieses Gerät basiert nicht auf der Messung abgelenkter oder sekundärer Elektronen, sondern auf der Messung der nicht gestreuten Elektronen. Diese werden detektiert und in ein Bild umgewandelt [6].

Die letzte Methode die häufig zur Anwendung kommt, wenn Nanopartikel analysiert werden sollen, ist DLS, oder Dynamische Lichtstreuung. Mittels dieser Technik können Partikelgrößen ermittelt werden. Es nutzt einen Laserstrahl, der für eine kurze Zeit durch eine wässrige Probe der Partikel gesandt wird. In dieser Lösung wird der Laserstrahl gestreut. Dieser Vorgang wird mehrere Male wiederholt. Während der Laser jedes Mal die gleiche Stelle der Lösung beleuchtet, bewegen sich die Partikel in der Lösung, getrieben von der Brownschen Molekularbewegung, weiter. Dies resultiert in Fluktuationen der gemessenen Intensität des abgelenkten Lichtes. Mit dieser Fluktuation können die Größe der Partikel, der Diffusionskoeffizient oder die Stabilität der Partikel in Lösung studiert werden [7].

Eine Methode die Menge und das Verhältnis verschiedener Fettsäuren in einer Lösung zu studieren ist die GC, oder Gaschromatographie. Dies ist zum Beispiel nach einer Umesterung wie oben beschrieben ein hilfreiches Instrument. Dieses Gerät ist aber nicht nur für Fettsäuren, sondern kann für die Auftrennung und Analyse verschiedenster Moleküle verwendet werden, solange diese verdampfbar sind. Es besteht hauptsächlich aus einem langen, beheizten Schlauch aus Metall, Säule genannt. Am Eingang dieser Säule wird ein Analyt zugegeben. Bevor der Analyt hier wirklich untersucht wird, durchläuft er häufig eine Schutzsäule, um die darauffolgende Säule zur Auftrennung und Analyse von Unreinheiten in der Probe zu schützen. Die Probe wird mittels eines Trägergases durch die Säule transportiert. Hierfür wird oftmals Helium verwendet. Während sie durch die Säule wandern, interagieren die Moleküle der Probe mit der Beschichtung auf der Innenseite der Säule. Unterschiedliche Moleküle interagieren hier auf unterschiedliche Weisen. Dadurch verlässt jedes Molekül die Säule zu einem bestimmten Zeitpunkt. Der sogenannten Retentionszeit. Nach dem Verlassen der Säule werden die Moleküle durch einen Detektor analysiert. Hier kommt oftmals ein FID, also ein Flammenionisationsdetektor zum Einsatz. Der FID besteht aus einer Flamme aus einem

Gemisch von Wasserstoffgas und Luft. Wenn ein auf Kohlenstoff basierendes Molekül diese Flamme betritt, kommt es zur thermischen Ionisierung. Dabei werden Elektronen aus dem Molekül frei. Diese Elektronen werden dann von Elektroden nahe der Flamme detektiert. Dadurch wird ein Strom in den Elektroden induziert, welcher gemessen und mittels Computer ausgewertet werden kann. Wenn eine Probe viel eines spezifischen Moleküls enthält, werden viele Elektronen zu der bestimmten Retentionszeit des Moleküls frei. Mehr Elektronen bewirken einen größeren Strom an der Elektrode und somit einen größeren gemessenen Wert, der im Computer angezeigt werden kann. Das Ergebnis der Messung sind verschiedene Spitzen in einem Diagramm. Jede Spitze steht dabei meist für ein Molekül. Die Werte können mit bekannten Standards der Säule verglichen werden, um das gemessene Molekül zu bestimmen. Basierend auf der Fläche, die ein Peak einnimmt, kann dann die Menge des Moleküls in der Probe berechnet werden [8]. Außerdem ist es empfehlenswert einen internen Standard mit jeder Probe mit laufen zu lassen. Also ein Molekül in bekannter Konzentration. Nach der Messung kann dann verglichen werden, ob der interne Standard an der erwarteten Stelle mit der erwarteten Peakfläche im Diagramm auftaucht. Falls nicht, sollte diese Messung nicht für weitere Auswertungsschritte verwendet werden.

## Experimente

Die hauptsächlichen Experimente, die ich während der Dauer meines Praktikums durchgeführt habe, waren bezüglich der Entstehung von Silbernanopartikeln. Die durchgeführte Reaktion war die Reduktion von  $\text{AgNO}_3$  mittels reduzierender Agenzien in einem Algenextrakt. Das Ziel war es die Reaktion zu optimieren, indem die Konzentrationen der beiden Lösungen, Silbernitrat und Algenextrakt, variiert wurden. Die Nanopartikel wurden extrazellulär mittels aufgeschlossener Algenzellen produziert. Für diesen Zweck mussten als erstes Mikroalgen kultiviert werden. Für diese Versuche wurde ein Stamm des Typs *Chlorella* verwendet. Je nach Bedarf an Biomasse wurden die Algen in 250 mL, 500 mL, 1000 mL, oder 2000 mL Schüttelkolben kultiviert. Das Volumen an Medium in diesen Kolben sollte idealerweise um etwa 40% des Maximalvolumens liegen, um eine ausreichende Sauerstoffversorgung sicherstellen zu können. Dieses Volumen kann aber bezogen auf die benötigte Biomasse und die verwendeten Algenstämme verändert werden. Die Schüttelkolben mit Kultur wurden in einem separaten Raum aufbewahrt, um Kontaminierung mit Mikroorganismen vorzubeugen. Als Lichtquelle wurden Leuchtstoffröhren verwendet, die so angebracht waren, dass die Kulturen etwa 3000 lx erhielten. Mittels Zeitschaltuhr wurde für die Lampen eine Leuchtdauer von 12 h pro Tag eingestellt, um einen Tag- und Nachtrhythmus zu generieren. Die Kulturen wurden einmal morgens und einmal abends manuell geschüttelt, um ein dauerhaftes Sedimentieren der Algenzellen zu verhindern. Die Temperatur wurde mit einer Klimaanlage bei etwa 28°C gehalten. Diese Bedingungen dienten dazu den Zellen möglichst optimale

Wachstumsbedingungen zu bieten. Sobald die Zellen ihre stationäre Phase erreicht hatten wurden sie geerntet. Unter den genannten Bedingungen wurde dieser Zustand am etwa 16 Tag nach dem Animpfen erreicht. Die Ernte wurde mit Hilfe einer Zentrifuge durchgeführt. Dabei wurde die Kultur in 50 mL Reaktionsgefäßen für 5 min bei 5000 rpm zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand verworfen, das Zellpellet in destilliertem Wasser resuspendiert und die Lösung erneut zentrifugiert. Danach wurde das Zellpellet gefriergetrocknet. Für die nachfolgenden Experimente wurde aus der getrockneten Biomasse ein Algenextrakt hergestellt. Dafür wurde ein spezifisches Gewicht gewogen und im Mörser zerkleinert. Nach der Zugabe von reinem Alkohol wurde das Gemisch für 24 h auf einem Magnetrührer gerührt. Der letzte Schritt war eine Filtration um unerwünschte Zelltrümmer los zu werden. Für die Silbernitratlösung wurde  $\text{AgNO}_3$  in destilliertem Wasser gelöst. Die beiden Lösungen wurden dann in verschiedenen Konzentrationen miteinander gemischt um Silbernanopartikel zu erzeugen. Die Herstellung der Partikel wurde dann mit UV-VIS-Spektrometer, SEM und powder XRD nachgewiesen.

Wie bereits erwähnt, bestand ein anderer Teil der Arbeit aus Durchführung einer Umesterung mit anschließender Gaschromatographie. Diese Methode wurde hauptsächlich eingesetzt, um zu testen, wie sich verschiedene Kultivierungsbedingungen auf den Lipidgehalt der Algen auswirken. Um zu bestimmen, welches der Kultivierungsbedingungen eine wünschenswerte Zusammensetzung der neutralen Lipide bewirkt, wurde das folgende Vorgehen gewählt. Nach der Kultivierung wurde die Algenkultur zuerst geerntet und gefriergetrocknet. Zu einer bestimmten Menge an Biomasse wurde dann ein Gemisch aus Methanol, HCl und Chloroform gegeben. Die Salzsäure diente als Katalysator für die Reaktion zwischen den neutralen Lipiden und dem Methanol. Das Chloroform diente als Lösungsmittel. Um die Reaktion zu induzieren, wurde das Gemisch für 2 h auf eine Heizplatte gestellt. Nachfolgend wurden Wasser und ein Gemisch aus Hexan und Chloroform hinzugefügt, um die resultierenden Moleküle zu trennen. Glycerin sammelte sich in der unteren wässrigen Phase. Die Fettsäuremethylester sammelten sich in der oberen organischen Phase. Anschließend wurden die Phasen getrennt und eine Probe von der organischen Phase genommen, um die Gaschromatographie durchzuführen.

## Fazit

Auf der Basis der durchgeführten Experimente und anschließenden Analysen, lässt sich sagen, dass Silbernanopartikel geformt wurden. Die Daten und Ergebnisse der einzelnen Instrumente und die genauen Versuchsdurchführungen werden hier nicht angegeben, aus dem Grund, dass die Experimente unter der Aufsicht von Mrinal Kashyap durchgeführt wurden und die Ergebnisse Teil seiner Arbeit sind. Für diesen Bericht kann aber gesagt werden, dass die Ergebnisse positiv waren und Grundlage für weitere Forschung liefern.

Ich kann sagen, dass ich in einem Praktikum am IITI sehr viel lernen konnte. Nicht nur die grundlegende Arbeitsweise mit Algen, sondern auch der Umgang und die Auswertung verschiedener Instrumente, wie SEM, powder XRD oder GC.

Ich bin sehr dankbar für diese Chance.

## Literatur

1. Dahoumane SA, Mechouet M, Alvarez FJ et al. (2016) Microalgae: An outstanding tool in nanotechnology. RB 1(4). doi: 10.21931/RB/2016.01.04.7
2. Christie WW (1993) Preparation of ester derivatives of fatty acids for chromatographic analysis: *Advances in lipid methodology* 2(69)
3. Weckhuysen BM (2004) *In-situ spectroscopy of catalysts*. American Scientific Publishers, Stevenson Ranch Calif.
4. Yun Y, Zou X, Hovmöller S et al. (2015) Three-dimensional electron diffraction as a complementary technique to powder X-ray diffraction for phase identification and structure solution of powders. *IUCrJ* 2(Pt 2): 267–282. doi: 10.1107/S2052252514028188
5. Todokoro H, Ezumi M (1996) 1498392790061908484-05872358: United States Patent(US5872358A)
6. Walther T (2015) What environmental transmission electron microscopy measures and how this links to diffusivity: thermodynamics versus kinetics. *J Microsc* 257(2): 87–91. doi: 10.1111/jmi.12193
7. Goldberg WI (1999) Dynamic light scattering. *American Journal of Physics* 67(12): 1152–1160. doi: 10.1119/1.19101
8. Poole CF (2015) Ionization-based detectors for gas chromatography. *J Chromatogr A* 1421: 137–153. doi: 10.1016/j.chroma.2015.02.061