

Photonische Verfahren zur Erkennung mikrobieller Belastungen in großskaligen Photobioreaktoren und Durchführung von Bekämpfungsstrategien

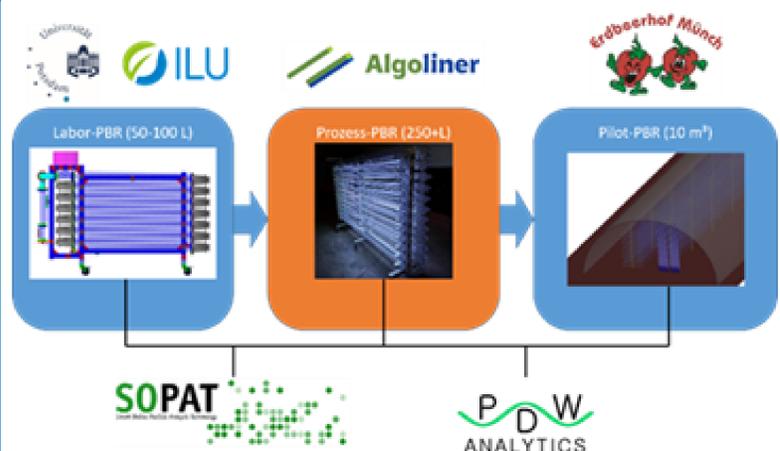
R. Storandt¹, S. Schönfelder¹, J. Scouten², M. Münzberg², D. Pleissner¹, H. Vöth³, J. Podzuweit³, R. Panckow⁴, J. Emmerich⁴, R. Hass⁵, M. Münch⁶
 1 ILU Institut für Lebensmittel- und Umweltforschung e.V., 14806 Bad Belzig; 2 Institut für Chemie&innoFSPEC Universität Potsdam, 14476 Potsdam; 3 Algoliner GmbH&Co.KG, 64409 Messel; 4 SOPAT GmbH, 12099 Berlin; 5 PDW Analytics GmbH, 14476 Potsdam; 6 Landwirtschaftlicher Sonderkulturbetrieb Münch, 64823 Groß-Umstadt

Motivation und Ziele des Vorhabens

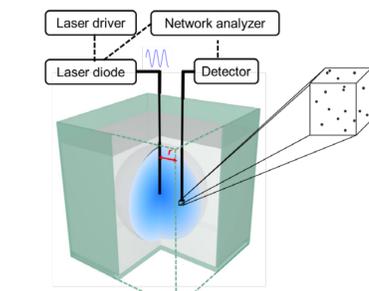
Die großskalige Kultivierung von Mikroalgen und Cyanobakterien kann einen bedeutenden Beitrag zur globalen Versorgung der kontinuierlich wachsenden Weltbevölkerung mit gesunden Nahrungsmitteln und Wertstoffen leisten. Dies geht jedoch mit hohen Ansprüchen an die Reinheit der Biomasse und Produktivität einher. Kontaminationen in Form von Bakterien und Protozoen sowie durch diese Organismen gebildete toxische Verbindungen setzen die Qualität der Biomasse herunter, lassen keine Anwendung in sensiblen Produkten zu

und sorgen für Ertrags- sowie Gewinneinbrüche. Ziele des Verbundprojektes „optiPBR“ sind daher die frühzeitige, automatisierte, speziesunabhängige Erkennung mikrobieller Kontaminationen sowie die Bereitstellung geeigneter Bekämpfungsstrategien.

Das Vorhaben führt zur Entwicklung einer Sensorplattform und Softsensorik, basierend auf neuartiger, bisher im Bereich der Mikroalgen noch nicht eingesetzter photonischer Messtechnik.



SOPAT-Online-Mikroskop.



Funktionsprinzip der Photonendichtewellen (PDW)-Spektroskopie.

Vorgehen

Die Verbundpartner **Algoliner GmbH & Co. KG**, Landwirtschaftlicher Sonderkulturbetrieb Münch (**LwSk Münch**), Institut für Lebensmittel- und Umweltforschung (**ILU**) e. V., **SOPAT GmbH**, Physikalische Chemie & innoFSPEC, Universität Potsdam (**UPPC**) und **PDW-Analytics GmbH** entwickeln Werkzeuge zur Echtzeit-Online-Detektion von Kontaminationen und zur Automatisierung und Digitalisierung der Algenproduktion.

Die durch die Universität Potsdam initiierte Neuheit besteht in der Einbeziehung von Photonendichtewellen (PDW)-Spektroskopie und Raman-Spektroskopie in die Sensorik. Diese werden kombiniert mit Inline-Mikroskopie und intelligenter Bildanalyse der SOPAT GmbH und ergänzt durch faseroptische Trübungssensoren und umfangreiche Regelungstechnik. Mit übergeordneter modellbasierter Software werden die Komponenten zu einer Sensorplattform und steuernden Softsensorik fusioniert.

Die entwickelten Technologien werden in unterschiedlichen Algoliner-Photobioreaktor (PBR)-Systemen eingesetzt. Vom ILU wird die Algenkultivierung zunächst in einem 80 L Labor-PBR optimiert und geeignete Gegenmaßnahmen zur Bekämpfung mikrobieller Belastungen entwickelt. Im Anschluss wird das System auf einen 250 L Prozess-PBR übertragen. Nach erfolgreicher Optimierung und Validierung der optischen Softsensorik wird diese in einen 10 m³ Pilot-PBR beim Praxispartner LwSk Münch installiert, um die Effizienzsteigerung und Anwendbarkeit zu demonstrieren.

Zwischenergebnisse

Mit den Modellalgen *Chlorella vulgaris* und *Arthrospira platensis* und der Kontaminante *Micrococcus luteus* wurden die ersten Untersuchungen durchgeführt. Mit der inline-Mikroskopie konnten die Organismen detektiert werden (Abb.1, a und b). Die Wirkung der pH-Wert-

Absenkung auf 3,0 auf *Chlorella* und *Micrococcus* konnte online beobachtet werden. Die Aggregationen zeigen den sofort einsetzenden Stress und können mitverantwortlich für die in pH-Wachstums-Versuchen beobachtete reversible Wachstumsstagnation bei beiden Organismen sein.

Der Einfluss unterschiedlicher pH-Werte auf das Wachstum von *M. luteus* in NaCl-Pepton-Wasser wurde mittels Absorptionsmessung bei 750 nm untersucht. Entsprechendes Medium wurde in Erlenmeyerkolben vorgelegt und diese direkt mit einer auf Nähragar gewachsenen Plattenkultur angeimpft. Während bei pH 7 ein sofortiges Wachstum zu verzeichnen ist, ist dieses bei erhöhten pH-Werten leicht verzögert. Bei pH 3 und 4 erfolgt eine Wachstumshemmung, die jedoch nach Rückstellung auf pH 7 reversibel ist. Die Dauer der Verzögerung des wieder einsetzenden Wachstums der Kultur beträgt nach pH 3 mehrere Tage.

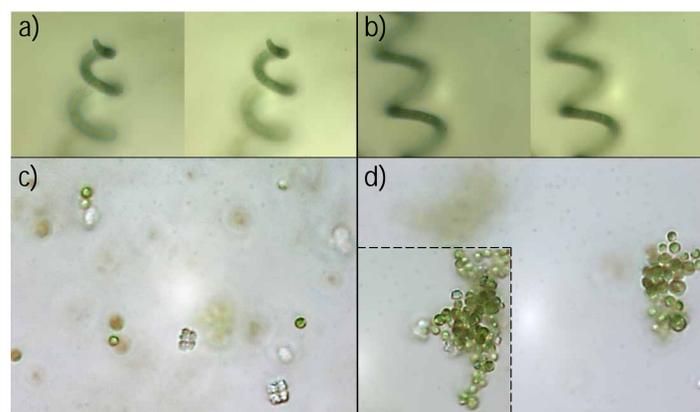


Abb.1.: a), b) *Arthrospira platensis*, online Aufnahmen mit SOPAT-Mikroskop. Jeweils im linken Bild zeigt eine feine blaue Linie den von der Erkennungssoftware als Alge identifizierten Bereich; c), d) *Chlorella vulgaris* und *Micrococcus luteus* (Co-Kultivierung), online Aufnahmen mit SOPAT-Mikroskop; d) Aggregation von *Chlorella*-Zellen nach Absenkung des pH-Wertes auf 3.

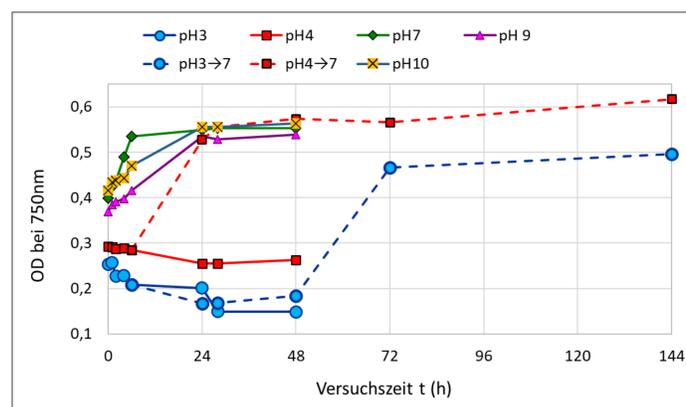


Abb.2: Optische Dichte (Absorption) bei 750 nm verschiedener Kulturen von *Micrococcus luteus* in NaCl-Pepton-Wasser bei unterschiedlichen pH-Werten. Sechs Stunden nach Inokulation wurden die Kulturen mit pH 3 und pH 4 geteilt und jeweils zur Hälfte wieder auf pH 7 eingestellt.

Ausblick: Zunächst werden Wachstumshemmungen bei Kontaminanten durch CO₂-Dosierung, Temperatur und Salzgehalt und deren Kombination untersucht und das Scale-up in den 80 L Maßstab vorbereitet.