

Einweg-Photobioreaktoren für das Screening von Mikroalgen

Die Algenbiotechnologie steht zurzeit vor einer großen Herausforderung. Die Lücke zwischen der sehr hohen Anzahl an bekannten Algenspezies und der bisher nur sehr geringen Anzahl an industriell genutzten Spezies soll geschlossen werden. Dies erfordert ein Screeningsystem, mit dem in sehr kurzer Zeit eine größtmögliche Anzahl an Algenspezies untersucht werden kann.

Mikroalgen rücken seit längerer Zeit immer häufiger in den Forschungsfokus von Wissenschaftlern. Schwindende fossile Energieträger sowie das Interesse an einer Etablierung von nachhaltigen und umweltverträglichen Ressourcenkreisläufen forcieren die Nutzung von nachwachsenden Rohstoffen. Mikroalgen haben das Potential, produktiv und effizient Biomasse aufzubauen. Sie sind photosynthetisch autotrophe Organismen und haben eine deutlich höhere Photosyntheseleistung als konventionelle Landpflanzen. Mikroalgenbiomasse kann vielfältig verwendet werden, wie zum Beispiel als Nahrungsmittel, als Nahrungsergänzungsmittel, als Pharmazeutikum, zur Abwasserreinigung, als Quelle für Bioenergie als auch Chemikalien oder als Basis für industrielle Rohstoffe. Eine Übersicht über Mikroalgen, welche zurzeit industriell verwendet werden, geben Raja et al., 2008 [2]. Von den bekannten 25000 Spezies werden derzeit 15 Spezies industriell, in der Regel im Bereich der Biotechnologie, genutzt. Grund hierfür sind nicht die mangelnden Einsatzmöglichkeiten, sondern vielmehr ein mangelhaftes Wissen über Einsatzpotentiale und Inhaltsstoffe, sowie nicht ausreichende Kenntnisse über optimale Kulturführungen. Eine innovative Nutzung der Algenbiotechnologie kann somit nur stattfinden, wenn für spezifische Anwendungsmöglichkeiten die jeweils bestmögliche Mikroalge bekannt ist. Ein Screening, welches auf potentielle Algenkandidaten, notwendige Kultivierungsverfahren und auf die Reaktion der Algenbiomasse unter Stressfaktoren fokussiert, ist unumgänglich. Dabei spielen Sterilität, hoher Probendurchsatz, Reproduzierbarkeit und geringe Kosten bei gleichzeitig nahezu anwendungsorientiertem Größenmaßstab die zentrale Rolle. Bisher ist ein derartiges Screening von Mikroalgen aufgrund der fehlenden Bioreaktoren nicht etabliert, gleichzeitig aber in nahezu allen Applikationen notwendig.



Abbildung 1: Mögliche Bioreaktoren (Mikrotiterplatte, Erlenmeyerkolben, Einwegrührreaktor) für Screeningversuche

Bisherige Screeningversuche basieren auf technisch aufwendigen Bioreaktoren mit einem großem Probenvolumen (>1 L) oder auf dem Einsatz von Mikrotiterplatten mit weniger als 1 mL Probenvolumen. Screeningversuche mit großen Volumina (> 1 L) bieten den Vorteil, dass die produzierte Biomasse gut analysiert werden kann. Ein Nachteil ist jedoch, dass durch die technisch sehr aufwändigen Bioreaktoren ein hoher Probendurchsatz nicht realisiert werden kann.

Des Weiteren wird für die Animpfung der Kultur mindestens 5 % des Reaktorvolumens benötigt. Dies bedeutet, dass zuvor eine Mikroalgenkultur mit einer hohen Zelldichte hergestellt werden muss. Da die Spezies in den Kulturammlungen nur in sehr geringen Populationsgrößen aufbewahrt werden, dauert die Vorkultur mehrere Wochen. Hier liegt der Vorteil der Mikrotiterplatten. Für Versuche mit diesem System werden nur sehr geringfügige Volumina an Mikroalgen-Kulturen benötigt. Jedoch reicht das Volumen einer Mikrotiterplatte nicht für umfangreiche Analysen aus, bzw. es muss in nachfolgenden Versuchsschritten ein reaktorspezifisches „upscaling“ auf entsprechende Größenmaßstäbe erzielt werden. Aus diesem Grund wurde an der Leibniz Universität Hannover ein optimiertes Bioreaktorscreeningsystem entwickelt, welches die Vorteile bisheriger Systeme vereint. Es ermöglicht ein kostengünstiges Algenscreening in großem Maßstab. Eine Zusammenfassung der technischen Details im Vergleich zu bisherigen Systemen ist in Tabelle 1 aufgelistet.

Tabelle 1: Detaildaten möglicher Screening-Bioreaktoren

	Bioreaktor- matte	Mikrotiter- platte	Erlenmeyer- kolben	Einwegrühr- reaktor
Volumen	50 mL	0,3 mL	50 mL	500 mL
Einwegsystem	ja	ja	nein	ja
HPLC- Analyse	ja	nein	ja	nein
Platzbedarf	gering	sehr gering	hoch	sehr hoch
Gasaustausch	sehr gut	sehr gering	gut	sehr gut
Kultivierungsdauer	10-14 Tage	1-2 Tage	30 Tage	>> 30 Tage
Algenwachstum	gut	schlecht	befriedigend	sehr gut
Kosten pro Probe	0,50 Euro	0,04 Euro	5,00 Euro	100,00 Euro

Bei der neu entwickelten Bioreaktormatte handelt es sich um lichtdurchlässige Plastikschläuche im Mattenverbund aus Polyethylen, welche auf der Innenseite mit Ethylenvinylacetat beschichtet sind [1]. Dies ermöglicht eine Photosynthese der Mikroalgen innerhalb des Reaktors. Die Bioreaktormatten, welche herkömmlich als Verpackungsmaterial dienen, werden für die Kulturführung geknickt, so dass die zugeführte Luft an dem Knick die Algensuspension durchströmen kann.

Die Bestimmung der Biomasse erfolgt über ein optisches Sensorssystem, welches automatisch an den einzelnen Probenräumen geführt wird und die Extinktionsspektren der Algensuspension im Bereich zwischen 300-800 nm bestimmt. Weiterhin beinhaltet das Sensorsystem ein Chlorophyll Fluorometer (Mini PAM, Heinz Walz GmbH), mit dem die photosynthetische Aktivität der Algen ermittelt wird. Hierdurch kann auf den physiologischen Zustand der Algen geschlossen werden [3-5]. Mit Hilfe einer Vorrichtung für die exakte automatische Positionierung von Spektrometer und Chlorophyll-Fluorometer können Analysen in Echtzeit realisiert werden.

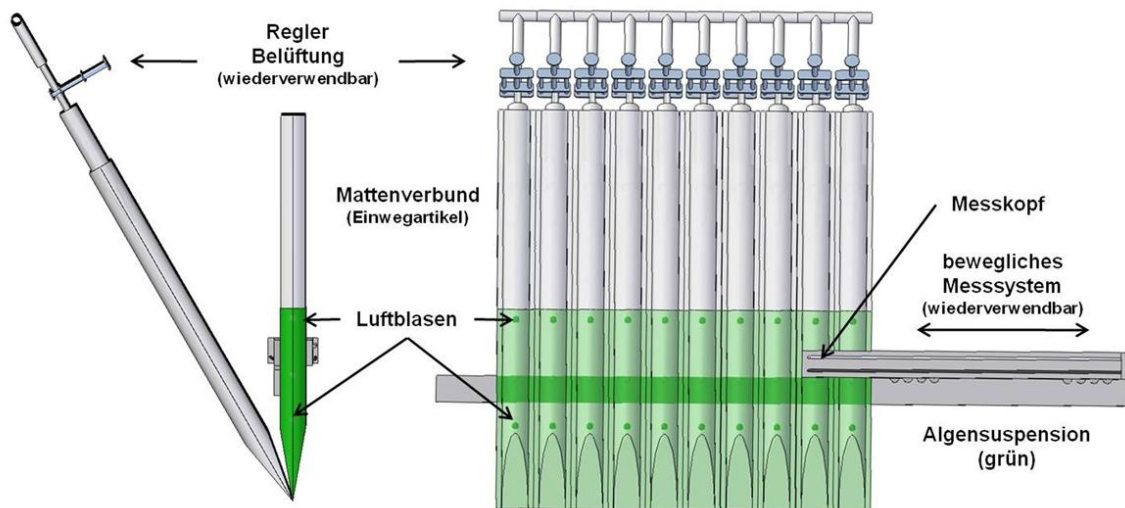


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Mattenbioreaktors als Seitenansicht (links) und als Frontansicht (rechts). Die Zeichnung zeigt den Mattenbioreaktor aus Einwegmaterial, das fahrbare Messsystem mit integriertem Messkopf, welches mittels Lichtleiter an ein Chlorophyll-Fluorometer sowie ein Spektrometer angeschlossen wird. Im oberen Bildabschnitt sind die Regler für die Belüftung der Matten dargestellt, diese werden mit den Matten verbunden und können mehrmals verwendet werden.

Ausbleichen der Algen und Änderungen der Pigment-Häufigkeiten im Gesamtspektrum können ohne eine Entnahme von Proben (daher geringe Kontaminationsgefahr) erkannt und während der Kultur verfolgt werden. Mit Hilfe der Fluoreszenz-Messungen wird hierzu im Licht die photosynthetische Aktivität der Kultur gemessen [5].

Mit dem System kann der Einfluß von Kulturbedingungen auf das Algenwachstum schon bei kurzer Kulturdauer bestimmt werden. Denkbar ist auch, dass Kenngrößen bestimmt werden, die Auskunft über den Gehalt an bestimmten Sekundärstoffen geben. Aus dem Produkt aus Sekundärstoffgehalt und Wachstumsrate können somit Algenstämme selektiert und optimale Wachstumsbedingungen für die Herstellung spezifischer Stoffe quantifiziert werden.

Literatur:

- [1] Chien Po Hsin, Gebrauchsmusterschrift: DE 20 2006 004 463 U1, Bundesrepublik Deutschland Deutsches Patent- und Markenamt 2006.
- [2] R. Raja, S. Hemaiswarya, N. Kumar, S.S. Ashok, R. Rengasamy, A Perspective on the Biotechnological Potential of Microalgae. *Critical Reviews in Microbiology* 2008, 34, 77-88.
- [3] U. Schreiber, Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) Fluorometry and Saturation Pulse Method: An Overview in *Advances in Photosynthesis and Respiration* (Hrsg.: G.C. Papageorgiou, Govindjee), Volume 19, Springer Verlag, 2004, 279-278.
- [4] R.J. Strasser, Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient in Photosynthesis and Respiration (Hrsg.: G.C. Papageorgiou, Govindjee), Volume 19, Springer Verlag, 2004, 321-362.
- [5] Walz, Specifications MINI-PAM and MINI-PAM/B, <http://www.walz.com>, Januar 2011.

Kontakt:

**Sebastian Menke, *Bernhard Huchzermeyer und **Thomas Rath, Leibniz Universität Hannover

*Institut für Botanik

**Institut für Biologische Produktionssysteme, Fachgebiet Biosystem- und Gartenbautechnik Herrenhäuser Str. 2, 30419 Hannover, menke@bgt.uni-hannover.de