

MACS – MIKROBIOLOGISCHE AKTIVITÄTSMESSUNG MITTELS CHEMISCHER SENSOREN, TEILPROJEKT: ZELL- UND MIKROBIOLOGISCHE TESTS SOWIE CHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN

SMWK 100333769 | Laufzeit: 03.2018 – 12.2020 | Yvonne Joseph, IESM TU BA Freiberg; Michael Schlömann, IBW TU BA Freiberg; Ina Prade, FILK Freiberg; Thomas Villmann, Hochschule Mittweida
Categories: Collagen Test/Analytical methods

AUSGANGSSITUATION

Mikroorganismen, wie z. B. Pilze werden in der Biotechnologie und Lebensmittelindustrie intensiv genutzt, um Substanzen und Produkte kosten- und energieeffizient herzustellen. Entscheidend ist dabei allerdings die präzise Steuerung und Optimierung der Lebensbedingungen der Organismen, sodass die kultivierten Organismen die gewünschten Stoffe in höchsten Konzentrationen erzeugen und die Produktion unerwünschter Nebenprodukte weitestgehend unterbunden wird. Ob ein Produktionsprozess erfolgreich war, zeigt sich in der Regel allerdings erst am Ende der Kultivierung.

PROJEKTZIEL

Im Projekt sollte daher eine in-situ sensorische Erfassung der Vitalitätszustände der Organismen realisiert werden. Damit kann bereits während des Produktionsprozesses eine Nachjustierung der Wachstumsbedingungen in Echtzeit erfolgen. Dies würde zu einer Erhöhung der Produktivität der Anlagen und zu einem effizienteren Produktionsprozess führen.

LÖSUNGSWEG

Für die Erfassung des Gesundheitszustandes sollten Substanzen detektiert werden, die von den Mikroorganismen produziert und in die Gasphase abgegeben werden. Diese sogenannten volatilen organischen Komponenten (VOC) sind in der Literatur umfassend beschrieben. Zur Erfassung der VOCs sollten im Projekt intelligente Kulturgefäße für die Anzucht von Mikroorganismen entwickelt werden. Diese sollten chemische Sensoren enthalten. Die Technologie der Sensoren war bereits wissenschaftlich etabliert. Für die Verwendung in den Kulturgefäßen mussten sie allerdings miniaturisiert und die Sensormaterialien auf

die von den Mikroorganismen produzierten Substanzen angepasst werden. Begleitend sollten chromatographische Messungen (GC/MS) durchgeführt werden, um stress-relevante VOCs zu identifizieren. Mit Hilfe einer Mustererkennungssoftware sollten die gemessenen Sensorsignale und Spektren der chromatographischen Analysen mit den angebotenen Lebensbedingungen der Mikroorganismen korreliert werden.

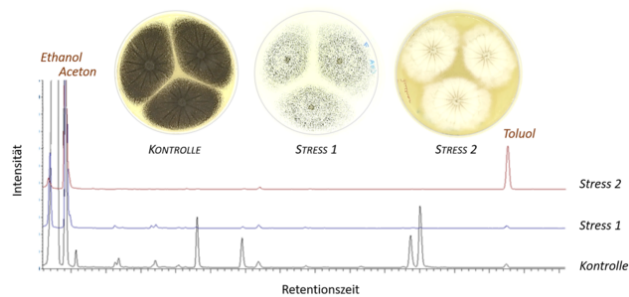


Abb. 1: Gaschromatographische Spektren des Volatiloms von *Aspergillus niger* bei einer Kultivierung unter optimalen (Kontrolle) und suboptimalen Bedingungen (Stress 1 und 2) sowie makroskopisches Erscheinungsbild der Pilze

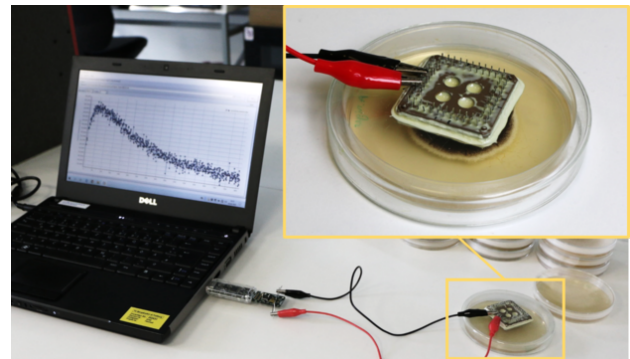


Abb. 2: Messaufbau zur in-situ Detektion volatiler Komponenten und damit des Vitalitätszustandes von *Aspergillus niger* mit Hilfe des entwickelten chemischen Sensors

ERGEBNISSE

Obwohl das Volatilom Aufschluss über den Stoffwechsel von Mikroorganismen geben kann, war vergleichsweise wenig bekannt darüber, welche Substanzen genau mit einem erhöhten Stresslevel assoziiert sind. Es wurde daher zunächst untersucht, unter welchen Bedingungen Stress induziert werden und wie dieser quantitativ erfasst werden kann. Es konnte festgestellt werden, dass eine Einschränkung des Nährstoffangebotes (Kohlenstoff- und Stickstoffquelle, Spurenelemente) sowie Änderungen im pH-Wert geeignet waren, um für die Pilze nachteilige Wachstumsbedingungen zu schaffen. Dies äußerte sich vor allem in einem verminderten Wachstum und einer verringerten Sporenbildung.

Um festzustellen, welche volatilen Komponenten unter den suboptimalen Wachstumsbedingungen von den Organismen produziert und abgegeben werden, wurde die Gasphase in den Kulturgefäßen an definierten Zeitpunkten abgesaugt und chromatographisch analysiert. Dabei konnten Ethanol, Toluol, 2-Butanon und Aceton als wesentliche Marker für suboptimales Wachstum identifiziert werden.

Die Detektionsfähigkeit des Sensors für diese Markersubstanzen wurde anschließend in Laborversuchen mit unterschiedlich konzentrierten Lösungen getestet und war für bestimmte Sensormaterialien erfolgreich. Bei der Messung des Volatiloms in Gegenwart der Pilzkultur waren die Sensoren vermutlich aufgrund emittierender Substanzen aus den komplexen Nährmedien bereits gesättigt. Eine Differenzierung einer gesunden von einer im Wachstum eingeschränkten Kultur war daher mit Standardmedien nicht möglich. In zukünftigen Arbeiten soll nun geprüft werden, ob synthetische, in der Zusammensetzung stark eingeschränkte Medien hier Abhilfe schaffen.

[Bericht anfragen](#)



DANKSAGUNG

Diese Maßnahme wurde mitfinanziert mit Steuermitteln auf Grundlage des von den Abgeordneten des Landtages beschlossenen Haushaltes. Wir bedanken uns für die gewährte Unterstützung.

