

Potential phototropher Biofilme

Kultivierung und Aufarbeitung in Aerosolreaktoren

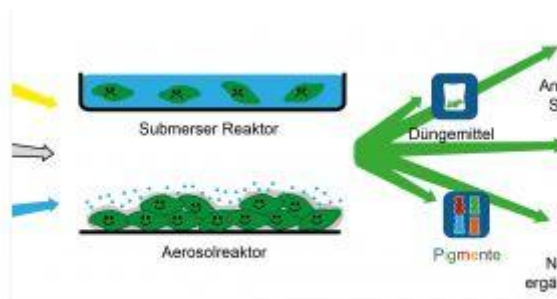


Abb. 1: Zusammenfassung der Kultivierungsmöglichkeiten und Produkte phototropher Biofilme. Licht, CO₂ und Wasser werden zur Kultivierung von phototrophen Biofilmen eingesetzt. Dabei ist das Wachstum submers nicht optimal. Der Aerosolreaktor imitiert das natürliche Habitat, wobei das Medium in Form eines Nährstoffnebels in den Reaktor geleitet wird, wodurch höhere Zelldichten erreicht werden. Die Biomasse oder Teile aus der Biomasse können biotechnologisch verwendet werden.

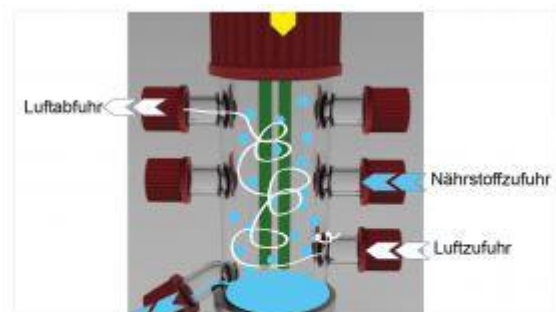


Abb. 2: Schematische Darstellung des entwickelten Aerosolreaktors (emerser Photobioreaktor = ePBR).

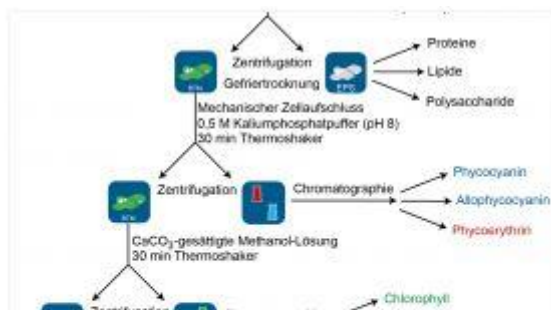


Abb. 3: Kaskadennutzung phototropher Biofilme nach Strieth und Stiefelmaier et al. [21]. BFM = Biofeuchtmasse; BTM = Biotrockenmasse; EPS = extrazelluläre polymere Substanzen.

Phototrophe Biofilme lassen sich nur schwer in gängigen submersen Bioreaktorsystemen kultivieren. Eine neue Generation von Biofilmreaktoren imitiert das natürliche Habitat von Biofilmen, was zu höheren Zelldichten sowie Wachstumsraten führt. Als Beispiel werden hier Aerosolreaktoren zur Biofilmkultivierung vorgestellt sowie eine Aufarbeitungsstrategie zur Kaskadennutzung phototropher Biofilme, die eine mehrfache stoffliche Nutzung mit abnehmender Wertschöpfung ermöglicht.

Mikroalgen können nach aktuellen Hochrechnungen bereits jetzt etwa 30 % des atmosphärischen CO₂ über die Photosynthese binden [1]. Photosynthese ist eine Lebensweise, bei der die Organismen Licht als Energiequelle nutzen, um aus CO₂, Sauerstoff und Kohlenhydrate zu produzieren [2]. Mikroalgen bieten ein breites Spektrum an biotechnologisch interessanten Produkten, wie etwa Farbstoffe (Pigmente), Nahrungsergänzungsmittel sowie Lebens- und Futtermittel (Biomasse) und antimikrobielle Verbindungen (Abb. 1). Unter dem Begriff Mikroalgen werden häufig sowohl Algen als auch Cyanobakterien zusammengefasst. Cyanobakterien sind jedoch Bakterien und bilden im Vergleich zu Algen zusätzlich zu Chlorophyll und Carotinoiden weitere Lichtsammelkomplexe aus, die Phycobilisome. Diese ermöglichen durch das Schließen der „grünen Lücke“ eine effektivere Nutzung des Lichtspektrums.

Terrestrische Cyanobakterien wachsen auf Oberflächen und bilden einen Biofilm aus. Biofilme lassen sich vereinfacht als eine Oberflächen-besiedelnde Gemeinschaft, die durch Lichtenergie angetrieben wird, beschreiben. Diese Gemeinschaft besteht aus unterschiedlichen Mikroorganismen wie Pilzen, Bakterien sowie Mikroalgen und lebt eingebettet in einer Umgebung aus selbst produzierten extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) [3]. Die EPS halten den Biofilm zusammen und schützen ihn vor verschiedenen Umweltfaktoren wie Austrocknung [4] oder Fressfeinden. Außerdem dienen die EPS als Nährstoff- [5] und Wasserspeicher [6], was einen positiven Effekt auf die Stabilität und Fruchtbarkeit des Bodens hat [7,8] und vor Wüstenbildung schützt [9]. Hohe Zelldichten in Kombination mit den schützenden EPS führen zu einer hohen Robustheit und Resilienz gegenüber schwankenden und suboptimalen Bedingungen beim Wachstum im Biofilm [10].

Aus diesem Grund werden Biofilme häufig mit negativen Effekten assoziiert, da unerwünschte Biofilmbildung die Effizienz industrieller Prozesse durch Biofouling sowie Korrosion der besiedelten Oberfläche reduziert. In der Industrie besteht demnach der Bedarf Biofilmbildung zu verhindern, da Biofouling hohe Energie- und Instandhaltungskosten verursacht [11].

Jedoch kann die Kultivierung von phototrophen Mikroorganismen als Biofilm biotechnologische Prozesse einfacher und effizienter gestalten. So sind keine (für den Menschen schädliche) Chemikalien zur Immobilisierung nötig, da sich phototrophe Biofilme natürlich auf Oberflächen ansiedeln [12]. Die Produktaufreinigung sekretierter Substanzen wird durch immobilisierte Zellen erleichtert und höhere Produktivitäten können in kontinuierlichen Prozessen erzielt werden [4], da die Wachstumsrate von der Verdünnungsrate entkoppelt werden kann. Die Kultivierung von terrestrischen Cyanobakterien in submersen Systemen ist zwar möglich, es werden jedoch Änderungen der Zellmorphologie und der EPS von beispielsweise *Nostoc flagelliforme* beschrieben, was in geringeren Ausbeuten [13] und Zellvitalitäten resultiert [14].

Die neue Generation von Biofilmreaktoren

Seit einigen Jahren entsteht eine neue Generation von Biofilmreaktoren, die das natürliche Habitat von phototrophen Biofilmen imitieren. So wurden Systeme entwickelt, die den Tidenhub [15], Regenfall [16], das Flussbett [17], den Waldboden, Moorlandschaften [18] oder die Wüste und den Regenwald imitieren [19]. Die Aerosolreaktoren [4,19] versorgen den Biofilm mit atmosphärischem CO₂ sowie verschiedenen Spurenelementen und Wasser, in Form eines Nährstoffnebels (Abb. 2). Die grünen Stäbe stellen die mit Biomasse bewachsenen Stäbe dar, die gleichzeitig als Lichtwellenleiter dienen zur Versorgung des phototrophen Biofilms mit Licht. Der

Nährstoffnebel (Aerosol) wird mit einem Ultraschallwandler am Boden des Reaktors erzeugt. In die übrigen Anschlüsse werden zur Überwachung der Kultivierung Temperatur- und Feuchtigkeitssensoren eingebaut (Abb. 2). So können im Reaktor die natürlichen Bedingungen der Wüste (wenig Nebel) und des Regenwaldes (viel Nebel) simuliert werden. Die Kultivierung phototropher Biofilme zeigte, dass die Biomasseproduktion im Biofilmreaktor höher ist, als in submersen Systemen [20]. Außerdem werden im Vergleich zu submersen Reaktorsystemen Wasser, Nährstoffe und Energie eingespart, da diese gezielt als Nebel in den Reaktor eingeleitet werden.

Kaskadennutzung phototropher Biofilme

Um cyanobakterielle Biomasse mehrfach stofflich zu nutzen, wurde eine Aufarbeitungsstrategie entwickelt, bei der im ersten Schritt die EPS mit einer kombinierten Methode aus Hitze und Ultraschall extrahiert werden [21]. Die EPS kann dann in ihre drei Hauptbestandteile (i) Proteine, (ii) Lipide und (iii) Polysaccharide separiert und weiterverarbeitet werden. In den EPS sind häufig antimikrobielle Substanzen enthalten, die für die Pharmazie von Interesse sein können. Im Anschluss an die EPS Extraktion wird die Biomasse gefriergetrocknet, die Zellen werden mechanisch

aufgeschlossen und die Phycobiliproteine (Phycocyanin und Allophycocyanin (blaue Farbstoffe) sowie Phycoerythrin (roter Farbstoff)) werden extrahiert. Phycocyanin wird bereits zum Anfärben von Gummibärchen und Smarties verwendet, wird aber auch als Fluoreszenzmarker in der Forschung eingesetzt. Abschließend werden die Pigmente Chlorophyll (grün) und die Carotinoide (orange) isoliert, welche als natürlicher Farbstoff oder als Antioxidantien für den Markt interessant sind. Die verbleibende Biomasse kann als Fischfutter oder Düngemittel eingesetzt werden.

Der Einsatz von phototrophen Biofilmen in der Biotechnologie könnte also eine innovative Lösung sein, um der wachsenden Nachfrage nach natürlichen Produkten, bei geringem Ressourcenverbrauch und simultaner CO₂-Fixierung, gerecht zu werden. Die neuartigen Aerosolreaktoren ermöglichen zudem eine Erweiterung der Agrarflächen in dem sie auf Grund ihres geringen Gewichts im Vergleich zu submersen Systemen als Fassadenreaktoren in Städten implementiert werden können [22,23]. Durch die regionale Produktion von Nahrungsmitteln mit Cyanobakterien in Fassadenreaktoren, kann die CO₂-Emission reduziert werden. Basierend auf den entwickelten Aerosolreaktoren werden aktuell zwei Fassadenreaktoren als Prototypen an der Hochschule Augsburg und dem Umwelt Campus Birkenfeld installiert und auf deren Tauglichkeit über den Labormaßstab hinaus getestet.

Möglicherweise ernährt sich der Mensch in Zukunft von verschiedenen Produkten, gewonnen aus phototrophen Biofilmen, die regional, ökologisch und nachhaltig in Biofilmreaktoren implementiert an Fassaden produziert wurden.

Autoren

Dorina Strieth¹ und Judith Stiefelmaier¹

Zugehörigkeiten

¹TU Kaiserslautern, Fachbereich Maschinenbau und Verfahrenstechnik, Lehrgebiet Bioverfahrenstechnik, Kaiserslautern, Deutschland

Kontakt

Dr.-Ing. Dorina Strieth

Gruppenleiterin phototrophe Systeme
Fachbereich Maschinenbau und Verfahrenstechnik
Lehrgebiet Bioverfahrenstechnik
TU Kaiserslautern
Kaiserslautern, Deutschland
strieth@mv.uni-kl.de
www.mv.uni-kl.de/biovt/

Referenzen

- [1] S. P. Cuellar-Bermudez, J. S. Garcia-Perez, B. E. Rittmann, R. Parra-Saldivar, Photosynthetic bioenergy utilizing CO₂: an approach on flue gases utilization for third generation biofuels, *Journal of Cleaner Production*, 2015, 98: 53–65, DOI: [10.1016/j.jclepro.2014.03.034](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.03.034).
- [2] W. K. Purves, *Biologie*. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag, 2011.
- [3] G. Roeselers, M. C. M. van Loosdrecht, G. Muyzer, Phototrophic biofilms and their potential applications, *Journal of applied phycology*, 2008, 20 (3): 227–235, DOI: [10.1007/s10811-007-9223-2](https://doi.org/10.1007/s10811-007-9223-2).
- [4] D. Strieth, J. Schwing, S. Kuhne, M. Lakatos, K. Muffler, R. Ulber, A semi-continuous process based on an ePBR for the production of EPS using *Trichocoleus sociatus*, *Journal of biotechnology*, 2017, 256: 6–12, DOI: [10.1016/j.jbiotec.2017.06.1205](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.06.1205).
- [5] S. R. Schooling, T. J. Beveridge, Membrane vesicles: an overlooked component of the matrices of biofilms, *Journal of bacteriology*, 2006, 188 (16): 5945–5957, DOI: [10.1128/JB.00257-06](https://doi.org/10.1128/JB.00257-06).
- [6] L. Hobley, A. Ostrowski, F. V. Rao, K. M. Bromley, M. Porter, A. R. Prescott, C. E. MacPhee, D. M. F. van Aalten, N. R. Stanley-Wall, BslA is a self-assembling bacterial hydrophobin that coats the *Bacillus subtilis* biofilm, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110 (33): 13600–13605, DOI: [10.1073/pnas.1306390110](https://doi.org/10.1073/pnas.1306390110).
- [7] T. J. Painter, Carbohydrate polymers in desert reclamation: the potential of microalgal biofertilizers, *Carbohydrate Polymers*, 1993, 20 (2): 77–86, DOI: [10.1016/0144-8617\(93\)90081-E](https://doi.org/10.1016/0144-8617(93)90081-E).
- [8] B. Metting, The systematics and ecology of soil algae, *The Botanical Review*, 1981, 47 (2): 195–312, DOI: [10.1007/BF02868854](https://doi.org/10.1007/BF02868854).

- [9] J. Belnap, J. S. Gardner, Soil microstructure in soils of the Colorado Plateau: the role of the cyanobacterium *Microcoleus vaginatus*, *Great Basin Naturalist*, 1993, 53 (1): 40–47.
- [10] K. Muffler, R. Ulber, J. C. Aurich, *Productive Biofilms*, Springer, 2014.
- [11] S. Cao, J. Wang, H. Chen, D. Chen, Progress of marine biofouling and antifouling technologies, *Chinese Science Bulletin*, 2011, 56 (7): 598–612, DOI: [10.1007/s11434-010-4158-4](https://doi.org/10.1007/s11434-010-4158-4).
- [12] T. R. Garrett, M. Bhakoo, Z. Zhang, Bacterial adhesion and biofilms on surfaces, *Progress in Natural Science*, 2008, 18 (9): 1049–1056, DOI: [10.1016/j.pnsc.2008.04.001](https://doi.org/10.1016/j.pnsc.2008.04.001).
- [13] H. Yu, S. Jia, Y. Dai, Growth characteristics of the cyanobacterium *Nostoc flagelliforme* in photoautotrophic, mixotrophic and heterotrophic cultivation, *Journal of applied phycology*, 2009, 21 (1): 127–133, DOI: [10.1007/s10811-008-9341-5](https://doi.org/10.1007/s10811-008-9341-5).
- [14] K. Gao, C. Ye, Culture of the terrestrial cyanobacterium, *Nostoc flagelliforme* (Cyanophyceae), under aquatic conditions, *Journal of Phycology*, 2003, 39 (3): 617–623, DOI: [10.1046/j.1529-8817.2003.02013.x](https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.02013.x).
- [15] M. B. Johnson, Z. Wen, Development of an attached microalgal growth system for biofuel production, *Applied microbiology and biotechnology*, 2010, 85 (3): 525–534, DOI: [10.1007/s00253-009-2133-2](https://doi.org/10.1007/s00253-009-2133-2).
- [16] H. John W., A. Toby D., Shawn R., Kitchner, Systems, apparatuses and methods for treating wastewater, 24.10.2008. 2008-10-24/2020-01-08.
- [17] A. Ozkan, K. Kinney, L. Katz, H. Berberoglu, Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor, *Bioresource Technology*, 2012, 114: 542–548, DOI: [10.1016/j.biortech.2012.03.055](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.055).
- [18] B. Podola, T. Li, M. Melkonian, Porous Substrate Bioreactors: A Paradigm Shift in Microalgal Biotechnology?, *Trends in biotechnology*, 2017, 35 (2): 121–132, DOI: [10.1016/j.tibtech.2016.06.004](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.06.004).
- [19] S. Kuhne, D. Strieth, M. Lakatos, K. Muffler, R. Ulber, A new photobioreactor concept enabling the production of desiccation induced biotechnological products using terrestrial cyanobacteria, *Journal of biotechnology*, 2014, 192 Pt A: 28–33, DOI: [10.1016/j.jbiotec.2014.10.002](https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.10.002).
- [20] M. Lakatos, D. Strieth, *Terrestrial Microalgae: Novel Concepts for Biotechnology and Applications*//F. M. Cánovas, U. Lüttge, R. Matyssek, eds. *Progress in Botany Vol. 79*. Cham: Springer International Publishing; Imprint; Springer, 2018.
- [21] D. Strieth, J. Stiefelmaier, Cover Picture: *ChemBioEng Reviews* 1/2020, *ChemBioEng Reviews*, 2020, 7 (1): 1, DOI: [10.1002/cben.202070011](https://doi.org/10.1002/cben.202070011).
- [22] T. Schmidt, M.-K. Nguyen, M. Lakatos, *Fassadenintegrierte Bioreaktorsysteme*, Fassade.
- [23] T. Schmidt, M.-K. Nguyen, M. Lakatos, *Phototrophe Mikroorganismen an der Fassade*, Fassade.