

# Modernisierung und Optimierung des mikrobiologischen Praktikums

## 1 Antragsteller/in

Arbeitsgruppe Technische Biologie  
Dr.-Ing. Lea Winand

## 2 Kurzbeschreibung des Projektes

In diesem Projekt sollen mit Hilfe von QVM-Mitteln neue Praktikumsversuche für das mikrobiologische Praktikum entwickelt und bestehende Versuche optimiert werden. Die Studierenden des Bioingenieurwesens sollen im Rahmen des Praktikums eine erste Einführung in wichtige Aspekte der Fermentationstechnik erhalten. Mit Hilfe eines Biomass Monitoring-Systems wird ein Versuch zur online-Aufnahme von Wachstumskurven im Schüttelkolben etabliert. Außerdem soll den Studierenden durch Verwendung eines automatisierten Fütterungssystems der Unterschied zwischen Batch- und Fed-Batch-Kultivierungen veranschaulicht werden. Durch Integration eines Mikrotiterplatten-Lesegeräts können Enzymreaktionen online verfolgt werden.

## 3 Details zum Projekt

### 3.1 Istzustand vor Beantragung

Im Mikrobiologie-Praktikum lernen die Studierenden des BIWs grundlegende Techniken im Umgang mit Mikroorganismen. Das Praktikum wird in zwei Teile untergliedert. Die Betreuung und Organisation des ersten Teils werden vom Lehrstuhl für Technische Biochemie übernommen. Schwerpunkte sind mikrobiologische Grundtechniken, Keimzahlbestimmungen, die Isolierung von Mikroorganismen sowie deren Identifizierung. Die Zuständigkeit des zweiten Teils obliegt der Arbeitsgruppe für Technische Biologie. Dieser Teil behandelt die Analytik von mikrobiellen Produkten sowie das Wachstumsverhalten von Mikroorganismen. Einige Praktikumsversuche entsprechen nicht dem aktuellen Stand der Technik. Beispielsweise werden Wachstumskurven durch manuelle Probennahme im 30-Minutentakt aufgenommen, wodurch langen Wartezeiten entstehen und dennoch keine vollständige Wachstumskurve des Mikroorganismus mit allen Wachstumsphasen abgebildet werden kann. Die Verwendung von zum Teil veralteten Photometern führte mehrfach zu inkonsistenten Daten. In 2023 wurden bereits Geräte zur Modernisierung des Praktikums angeschafft. Das online Biomass Monitoring-System mit Fütterungseinheit sowie das Mikrotiterplatten-Lesegerät sollen nun in das mikrobiologische Praktikum integriert werden.

### 3.2 Didaktische Grundlagen und Motivation

Eine Vielzahl industrieller Prozesse nutzt Mikroorganismen zur Produktion von verschiedensten Wertprodukten, wie zum Beispiel Lebensmitteln, pharmazeutischen Wirkstoffen oder Enzymen. Das mikrobiologische Praktikum, dessen Ziel es ist, Grundlagen im Umgang mit Mikroorganismen zu vermitteln, soll zukünftig einen größeren Fokus auf verfahrenstechnische Aspekte legen. Die Studierenden werden einen industriell relevanten Mikroorganismus kultivieren und lernen, die Wachstumskinetik und verfahrenstechnische Parameter wie Wachstumsrate, Substratverbrauch oder Ertragskoeffizienten zu bestimmen. Es werden Kultivierungen im Batch- und im Fed-Batch-Verfahren durchgeführt, um die Unterschiede dieser beiden Prozessfahrweisen zu vermitteln. Zudem werden die Studierenden im Umgang mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät vertraut gemacht, welche in der Akademie und Industrie für vielseitige Anwendungen weit verbreitet sind.

### 3.3 Projektziel/Projektbeschreibung

Im bestehenden Versuch V27 werden Wachstumskurven des fakultativ anaeroben Bakteriums *Paracoccus pantotrophus* aufgenommen. Zukünftig soll *Escherichia coli* auf dem Wachstumssubstrat Glucose kultiviert werden, da dieses Bakterium eine größere industrielle Relevanz besitzt. Außerdem wird durch die kurze Generationszeit ermöglicht, einen Großteil der Wachstumsphasen innerhalb der vier Stunden Praktikumszeit abzubilden. Die Glucose- und Lactose-Konzentrationen im Nährmedium sind so zu wählen, dass das diauxische Wachstum von *E. coli* veranschaulicht werden kann. Für den neuen Praktikumsversuch ist vorgesehen, dass die Wachstumskurven durch manuelle Probennahme und durch Nutzung des Biomass Monitoring-Systems aufgenommen werden. Beide Kurvenverläufe werden zur Bestimmung der Wachstumsrate genutzt und miteinander verglichen. Durch die online Messung kann eine Vielzahl von Datenpunkten aufgenommen werden, wodurch die Wachstumskinetik exakt dargestellt werden kann. Die manuelle Probennahme ermöglicht zusätzlich die Bestimmung der substratspezifischen Zellausbeute. Zu diesem Zwecke wird ein Assay etabliert, mit dem die Glucose-Konzentration in der Kulturbrühe ermittelt werden kann. Das Biomass Monitoring-System wird mit einem Liquid Injection-System gekoppelt, wodurch die Kultivierungen im Batch- und im Fed-Batch-Betrieb durchgeführt werden können. Auf diese Weise wird den Studierenden der Einfluss einer Substratfütterung auf das mikrobielle Wachstum verdeutlicht.

In Versuch V23 wird die Enzymaktivität und Stabilität der *Thermus sp.* Alkoholdehydrogenase analysiert. Die Nachweisreaktion beruht auf der Reduktion von NAD zu NADH, welches spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 340 nm ermittelt werden kann. Die bislang verwendeten Photometer liefern zum Teil inkonsistente Daten mit hohen Standardabweichungen. Durch Verwendung des Mikrotiterplatten-Lesegeräts wird der Verlauf der Enzymreaktion in Zukunft online verfolgt und zur Bestimmung der kinetischen Daten verwendet. In Versuch V26 soll bei der Bestimmung der Ethanol-Konzentration ebenfalls auf das Mikrotiterplatten-Lesegerät zurückgegriffen werden. Aufgrund der höheren Sensitivität des Mikrotiterplatten-Lesegeräts ist es ggfs. notwendig, die Konzentrationen der zu vermessenden Proben anzupassen.

### 3.4 Einzelmaßnahmen, Schritte etc.

Folgende Maßnahmen sind von der wissenschaftlichen Hilfskraft durchzuführen:

1. Erstellung eines Versuchsplans zur Modifikation von V27. Folgende Parameter müssen eruiert werden:
  - Konzentration des Inokulums
  - Kulturvolumen
  - Glucose- und Lactosekonzentration im Minimalmedium
  - Für Fed-Batch: unterschiedliche Fütterungsprofile
2. Recherche und Auswahl eines geeigneten Assays zur Messung der Glucose-Konzentration
3. Durchführung der geplanten Versuche im Labor
4. Auswertung der Ergebnisse und Auswahl von geeigneten Fermentationsparametern
5. Erstellung eines neuen Versuchsprotokolls für V27
6. Durchführung von V23 und V26 unter Verwendung des Mikrotiterplatten-Lesegeräts. Ggfs. Anpassung der Probenkonzentrationen bzw. der Verdünnungsreihen, um optimale Ergebnisse zu erzielen.
7. Anpassung der Versuchsprotokolle von V23 und V26.

Die neu erarbeiteten Versuchsprotokolle werden abschließend von der Projektleiterin kontrolliert und ggfs. überarbeitet.

### 3.5 Geplante Laufzeit

6 Monate, ab Mitte 2024. Die neuen und überarbeiteten Praktikumsversuche werden ab SoSe 2025 in das mikrobiologische Praktikum integriert.

### 3.6 Indikatoren zur Evaluation des Projektes

Die Evaluation des Projektes erfolgt nach erstmaliger Durchführung durch das Projektteam sowie durch die Studierenden als Teil der Evaluation des mikrobiologischen Praktikums.

### 3.7 Nachhaltigkeit/Verstetigung

Das Mikrobiologie-Praktikum ist Teil des Moduls „Grundlagen Bioengineering“ und eine Pflichtveranstaltung für Studierende des BIWs. Die neuen und modernisierten Praktikumsversuche werden auch auf die nachfolgenden Semester übertragen, sodass zukünftig alle Studierende des BIWs profitieren. Die Studierenden werden mit state-of-the-art-Geräten (Biomass Monitoring-System, Mikrotiterplatten-Lesegerät) vertraut gemacht und somit besser auf Forschungs- und Entwicklungsprojekte in Akademia und Industrie vorbereitet. Zusätzlich wird die vorgesehene wissenschaftliche Hilfskraft lernen, Laborexperimente eigenständig zu planen, durchzuführen und auszuwerten.

### 3.8 Das Wichtigste in Kürze

Eine Vielzahl industrieller Prozesse nutzt Mikroorganismen zur Produktion von verschiedensten Wertprodukten, wie zum Beispiel Lebensmitteln, pharmazeutischen Wirkstoffen oder Enzymen. Das mikrobiologische Praktikum, dessen Ziel es ist, Grundlagen im Umgang mit Mikroorganismen zu vermitteln, soll modernisiert werden und einen größeren Fokus auf verfahrenstechnische Aspekte legen. Beispielsweise kann durch Integration eines Biomass Monitoring-Systems das Wachstum von Bakterienkulturen online verfolgt und die Wachstumskinetik erfasst werden. Die Nutzung eines automatisierten Fütterungssystems ermöglicht es, Kultivierungen im Batch- und Fed-Batch-Verfahren durchzuführen und somit den Einfluss einer Substratfütterung auf das mikrobielle Wachstum zu veranschaulichen.

