

Molekularbiologische Frühwarnsysteme vor Prozessstörungen

M. Lebuhn, B. Munk

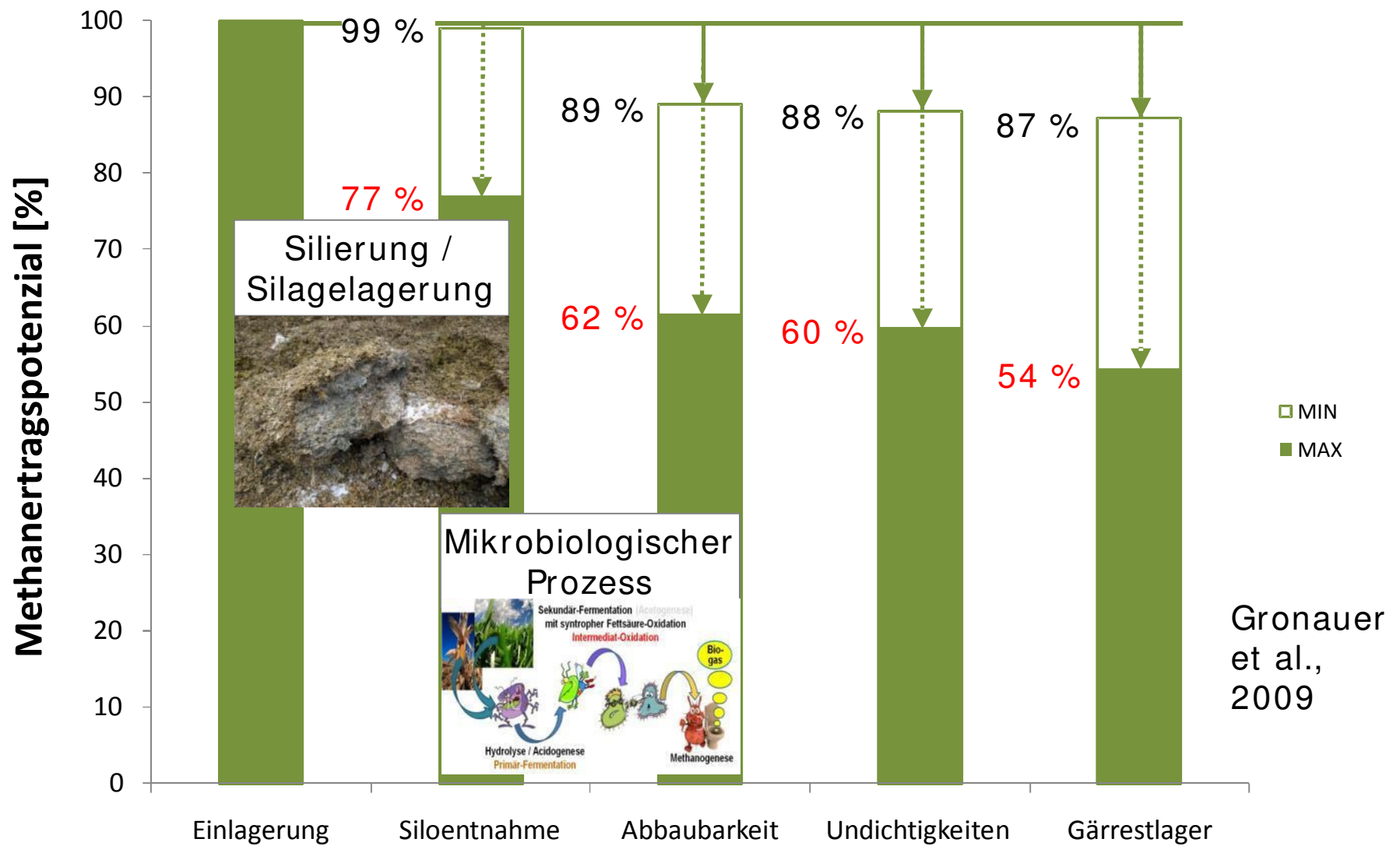
Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen

Mikro- und Molekularbiologie - AQU 1c

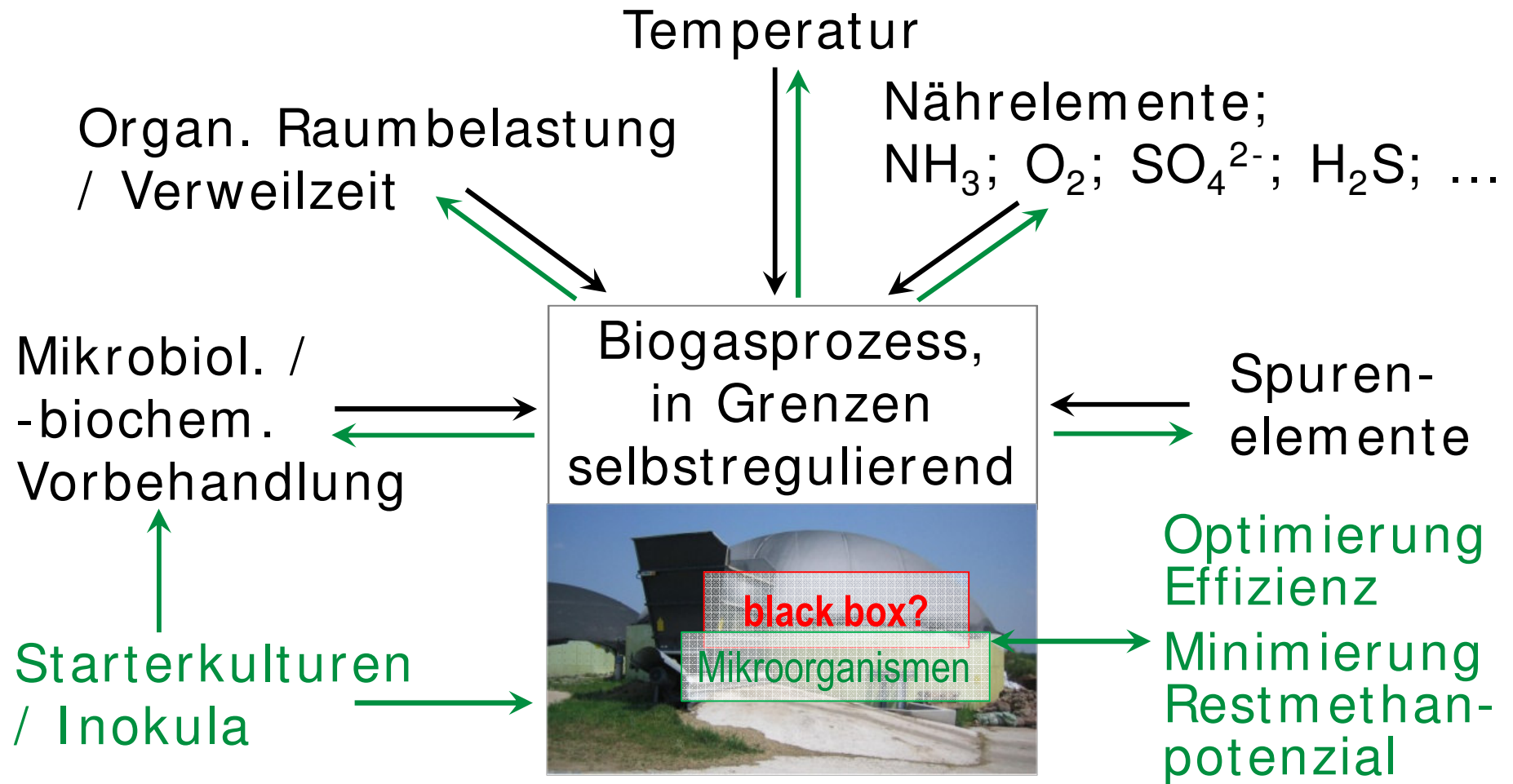
Gliederung

- Hintergrund
 - Biogas - aktuelles mikrobiologisches Prozessmodell
 - Stellgrößen für die Prozessoptimierung
 - Konzept mikrobieller Gilden
- Molekularbiologische Frühwarnsysteme
 - qualitativ: Populationsanalysen → Bioindikatoren → Biomarker
 - quantitativ: ökophysiologische Parameter
 - MQ
 - cDNA/DNA
- Zusammenfassung, Ausblick

Potenzielle Verluste → Optimierungspotenziale



Mikrobiologische Prozessoptimierung



Analytik → Diagnose + Empfehlung → Prozesssteuerung

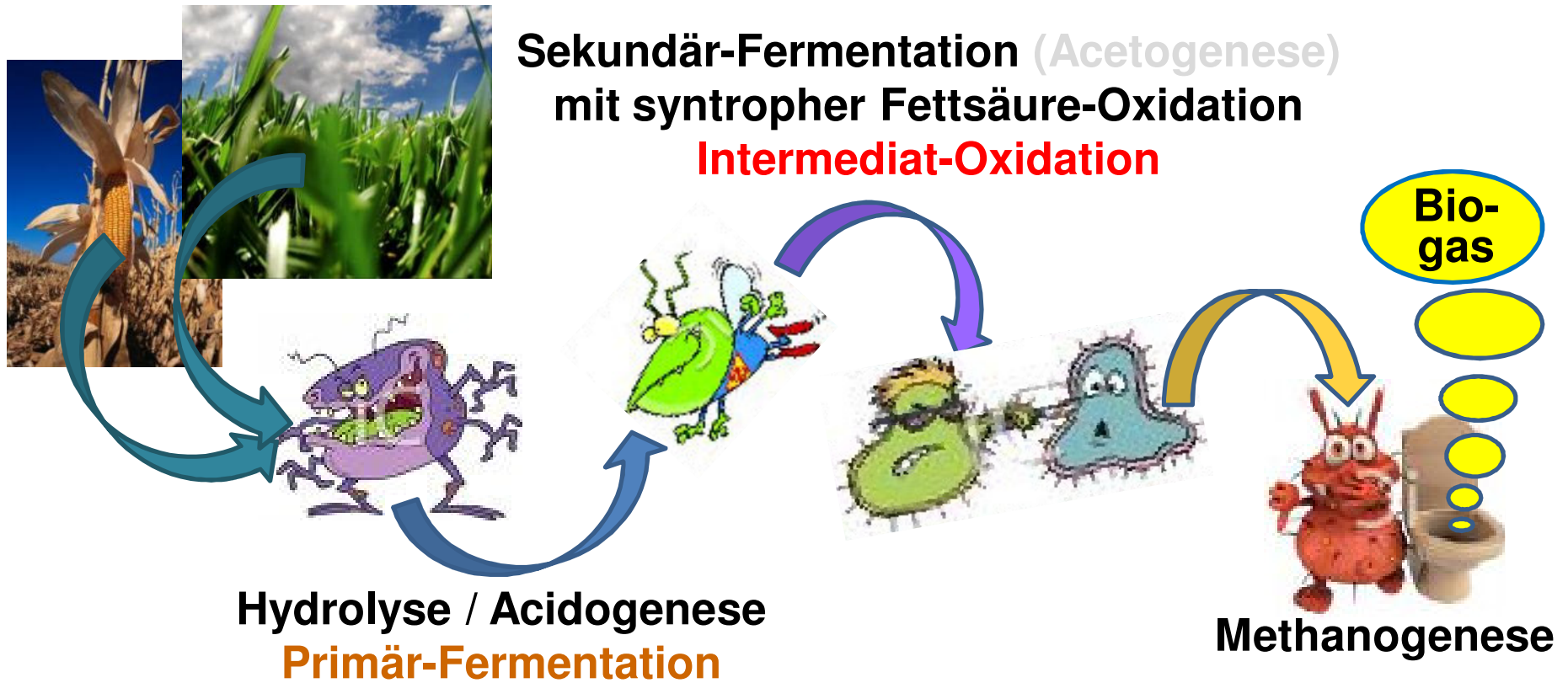
Hier brodelt Leben!



**! ca. 10^{10} Mikroorganismen
- das sind 10 Milliarden -
pro Milliliter (mL) !**

LfL, 2004

Mikrobiologisches Prozessmodell (1)



Cartoons von:

http://translate.googleusercontent.com/translate_c?hl=de&langpair=en|de&u=http://www.clipartguide.com/_pages/0511-0906-2316-5236.html&rurl=translate.google.de&usg=ALkJrhjnNckwCmDozo1qkdNGlq4kn5LWfQ

http://translate.googleusercontent.com/translate_c?hl=de&langpair=en|de&u=http://www.best-of-web.com/pages/100823-225421-845042.html&rurl=translate.google.de&usg=ALkJrh2Y1I_86cCMu03oHTIx2alNj-FA

Das Konzept mikrobieller Gilden (1)

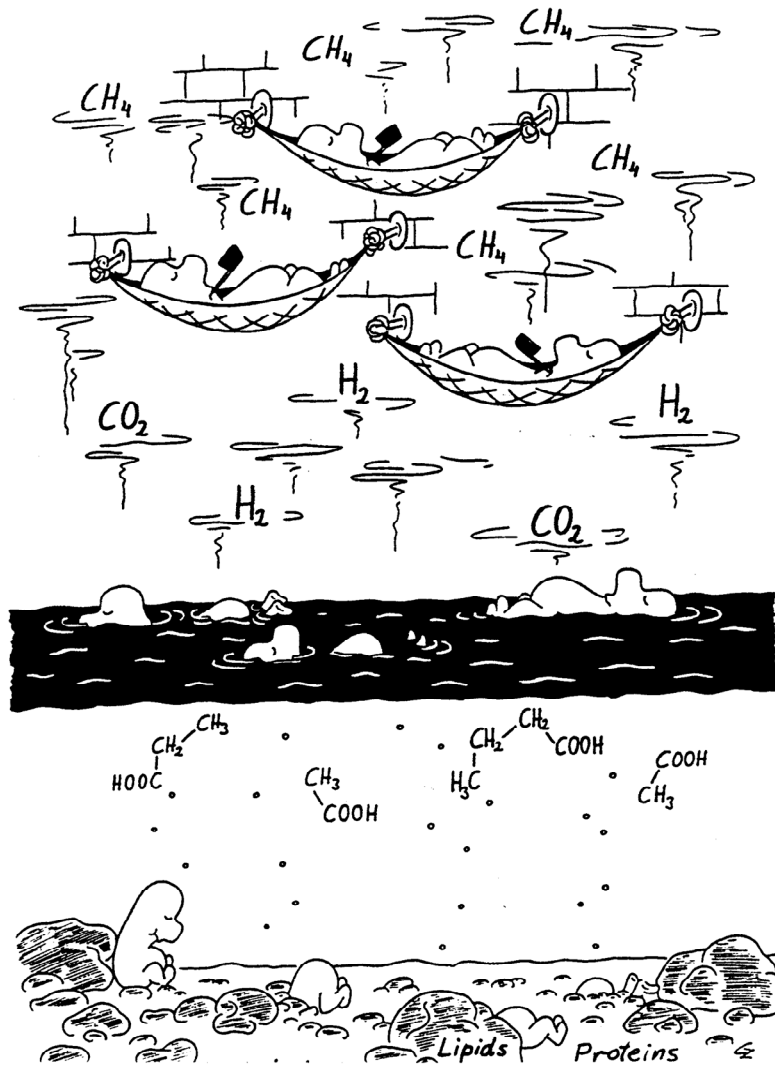


Gleiches Aussehen
-
aber verschiedene
Leistungen ...

http://wps.prenhall.com/esm_madigan_brockbio_10/

Analyse funktioneller Einheiten, “Gilden”;
Ziel ist **DNA** (das Gen) und **mRNA** von Schlüsselenzymen

Das Konzept mikrobieller Gilden (2)



<http://www.joachim-czichos.de/Mikroben/mikroben.html>

DNA:

Analyse der **gesamten** betrachteten Gilde

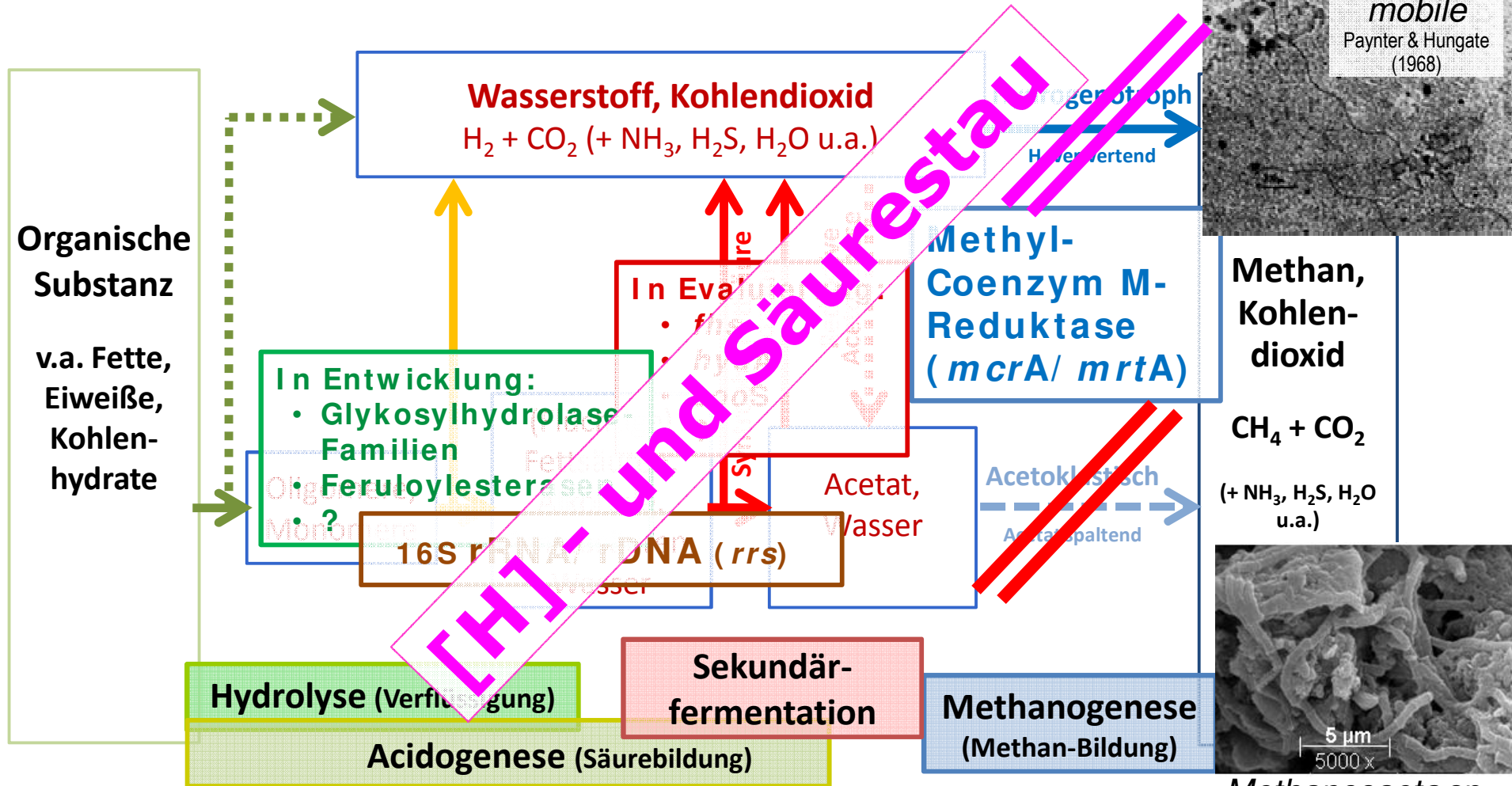
mRNA (\rightarrow cDNA):

Analyse der **aktiven** Fraktion

cDNA/ DNA:

Analyse des Anteils der **aktiven** an der **gesamten** Fraktion

Prozessmodell (2) – Molekulare Biomarker



Bakterien,
Anaerobe Pilze,
Protozoen, Archaeen

Methanogene Archaeen

<http://www.ejbiotechnology.info/content/vol12/issue3/full/4/f8.html>



Spurenelementbedarf – Methanogene Archaeen

Spuren- element	Co	Ni	Na	Se	Mo	Fe	Zn	Cu
	Konzentration in der Frischmasse [mg · kg ⁻¹]							
Mindestgehalt	> 0,03	> 0,06	> 10	> 0,008 ?	> 0,05	> 1	> 0,05 ?	> 0,05 ?
Zielbereich	0,06 - 0,50	0,12 - 1,0	25 - ?	0,01 - 0,05 ?	0,08 - 0,5	5 - 100	0,1 - 10 ?	0,1 - 10 ?

?: Forschungsbedarf, noch nicht abgesichert

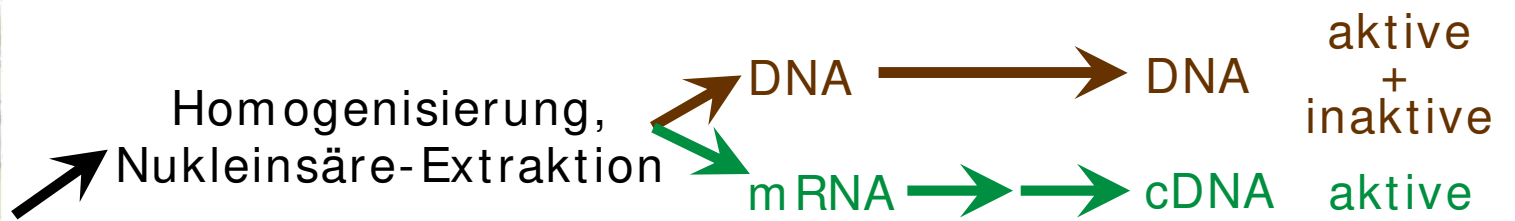
Lebuhn, 2011

Elementgehalt [mg · kg ⁻¹ FM]	Co	Ni	Na	Se	Mn	Mo	W
Maissilage (1)	0,0123	0,19	30	0,006	4,3	0,192	0,006
Maissilage (2)	0,0039	0,044	2,73	0,018	3,0	0,207	0,003
Grassilage (typ.)	0,074	0,59	110	0,064	12	1,53	0,126

Gliederung

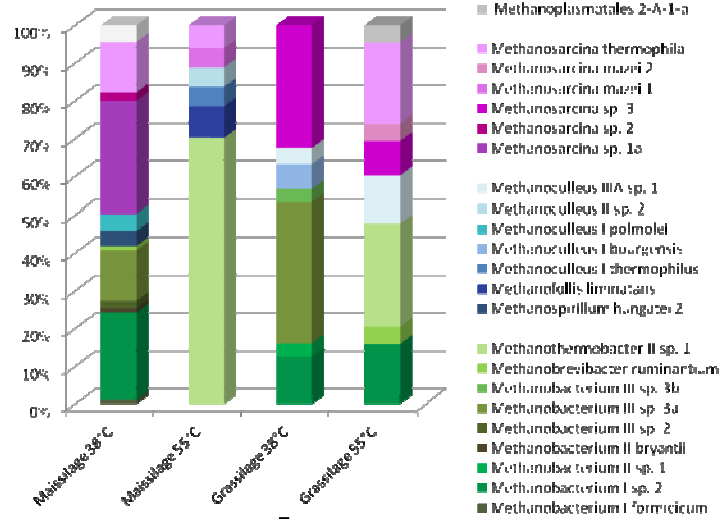
- Hintergrund
 - Biogas - aktuelles mikrobiologisches Prozessmodell
 - Stellgrößen für die Prozessoptimierung
 - Konzept mikrobieller Gilden
- Molekularbiologische Frühwarnsysteme
 - qualitativ: Populationsanalysen → Bioindikatoren → Biomarker
 - quantitativ: ökophysiologische Parameter
 - MQ
 - cDNA/DNA
- Zusammenfassung, Ausblick

Entwicklung von Bioindikatoren/Biomarkern



Populationsanalysen → **Bioindikatoren**

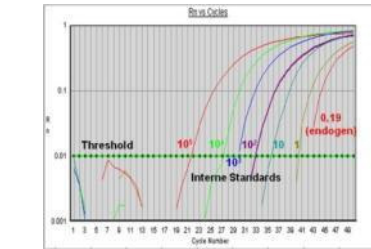
mcrA/mrtA - DNA



Gilden-spezifische PCR

Klonierung, Sequenzierung

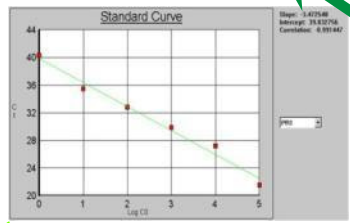
Bioinformatische Auswertung



Quantifizierung

qPCR

RT-qPCR

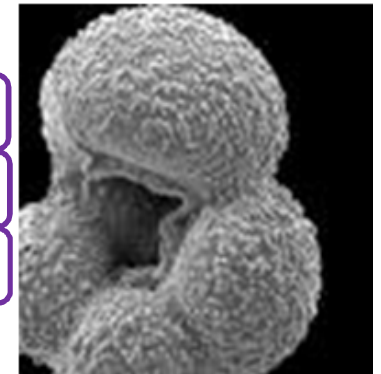
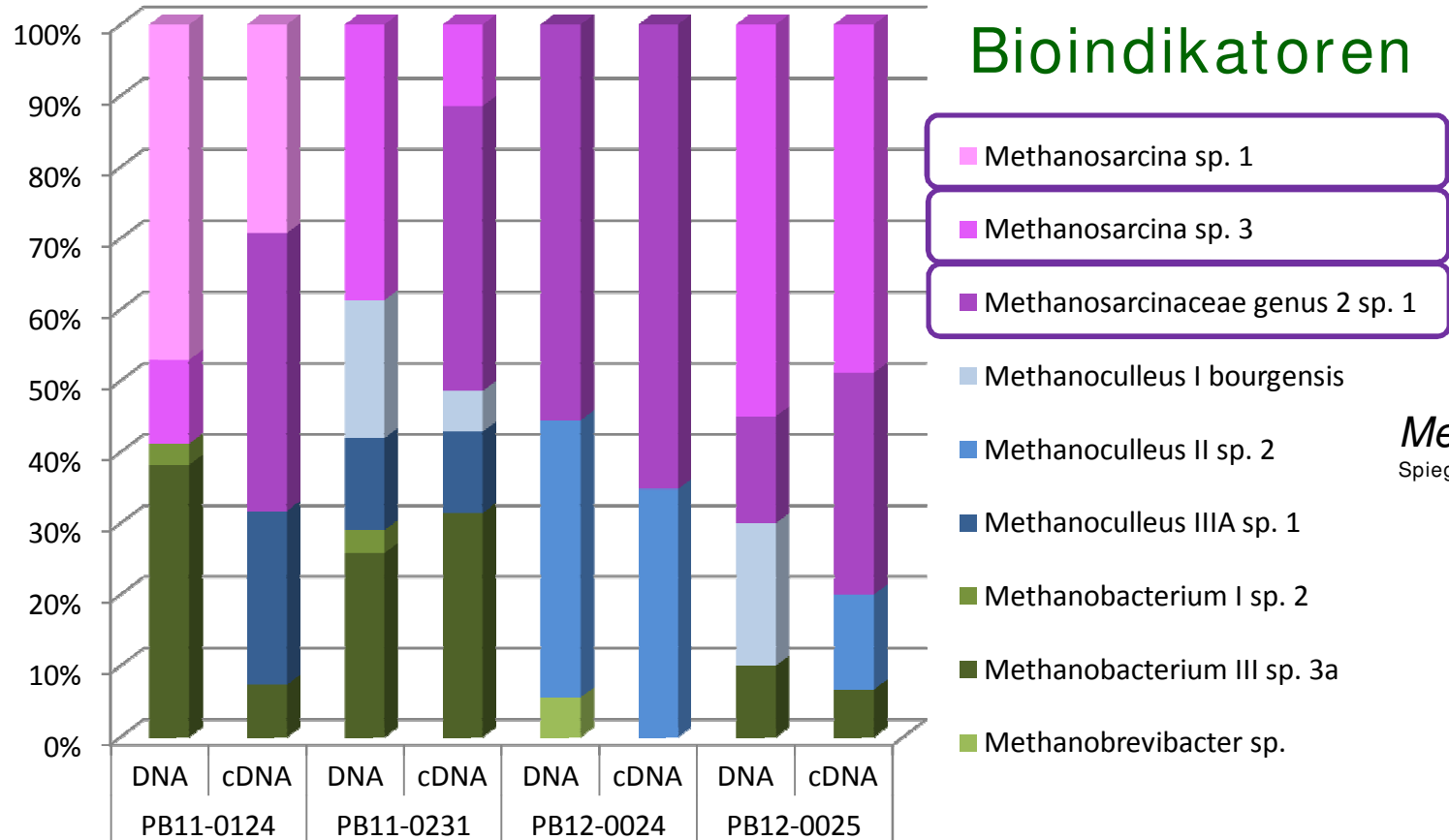


Konstruktion von spezifischen **Biomarkern**



Populationsanalysen – Methanogene Archaeen (Grassilage)

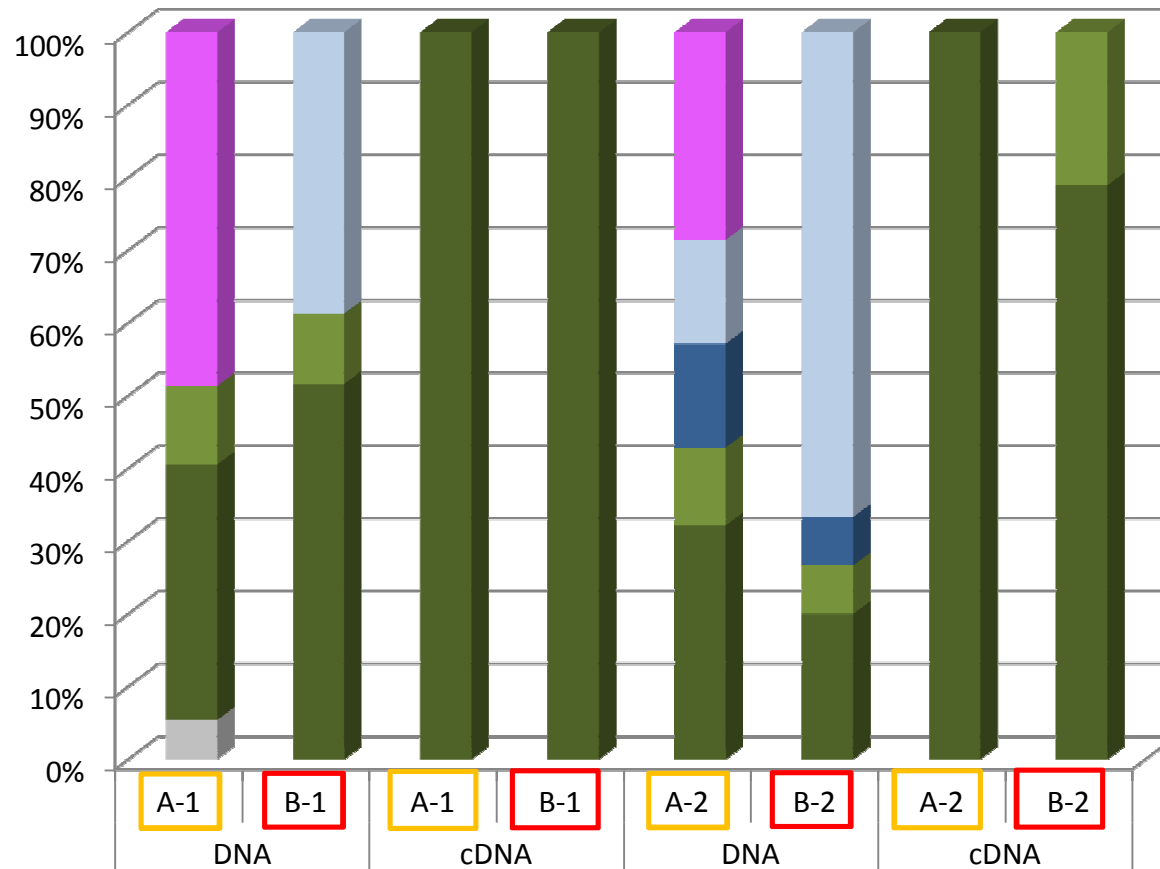
Praxisanlagen – Grassilage (hoher Anteil) mesophil,
stabiler Hochdurchsatzbetrieb; DNA, cDNA



Methanosarcina sp.
 Spiegel, 2009

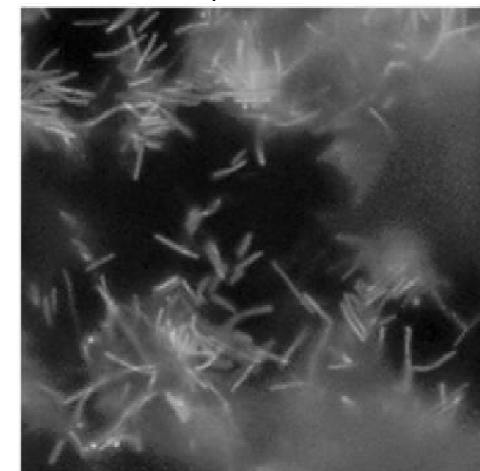
Populationsanalysen – Methanogene Archaeen (Maissilage)

Maissilage mesophil, *mcrA/mrtA*; DNA, cDNA



Bioindikatoren

- Methanosarcina sp. 3
- Methanoculleus I bourgensis
- Methanoculleus I sp.
- Methanobacterium I sp. 2
- Methanobacterium III sp. 3a
- Methanoplasmatales 2-A-2-a

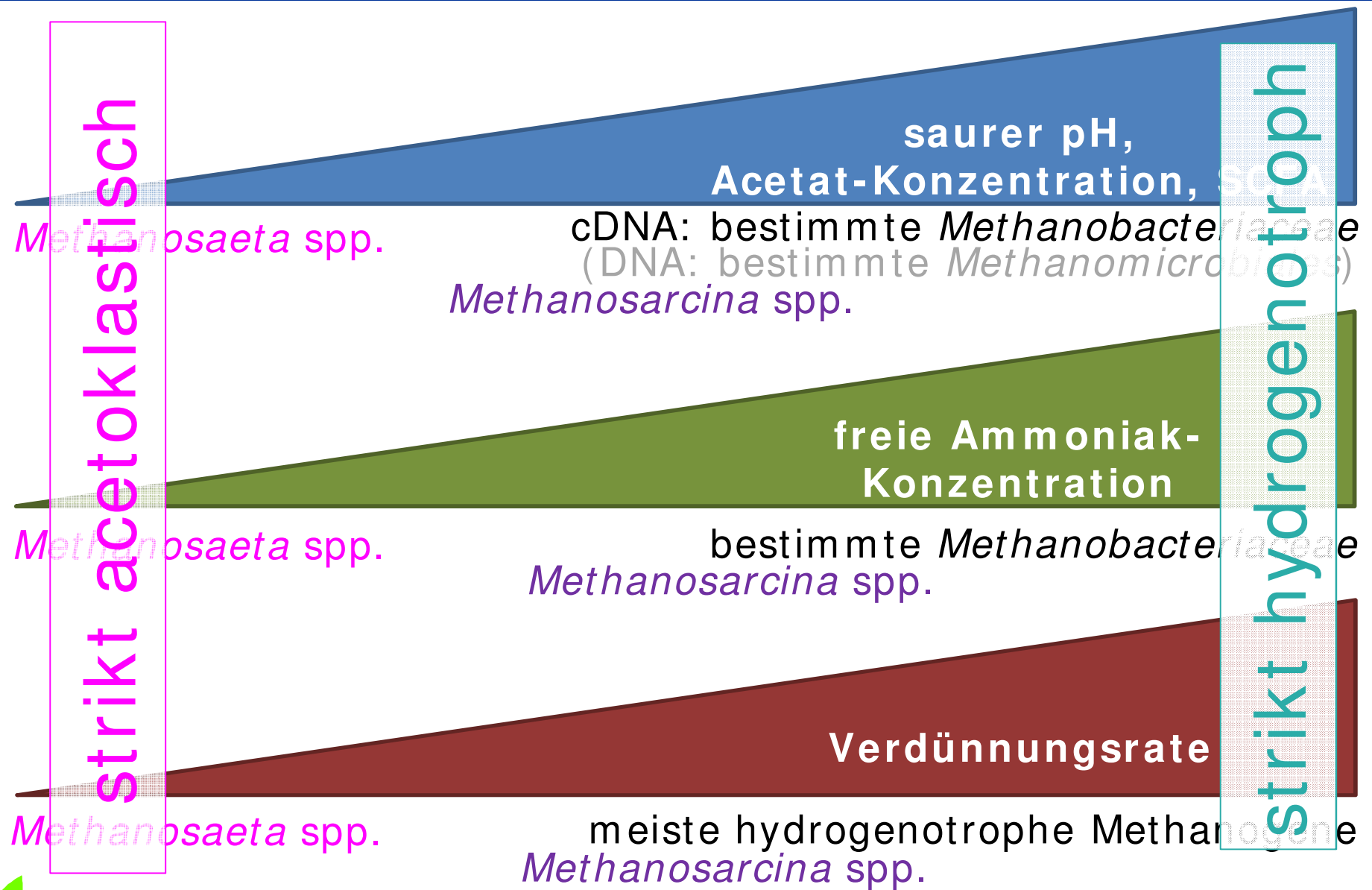


Methanobacterium formicicum

 gestresst

 versäuert (Ni-Mangel)

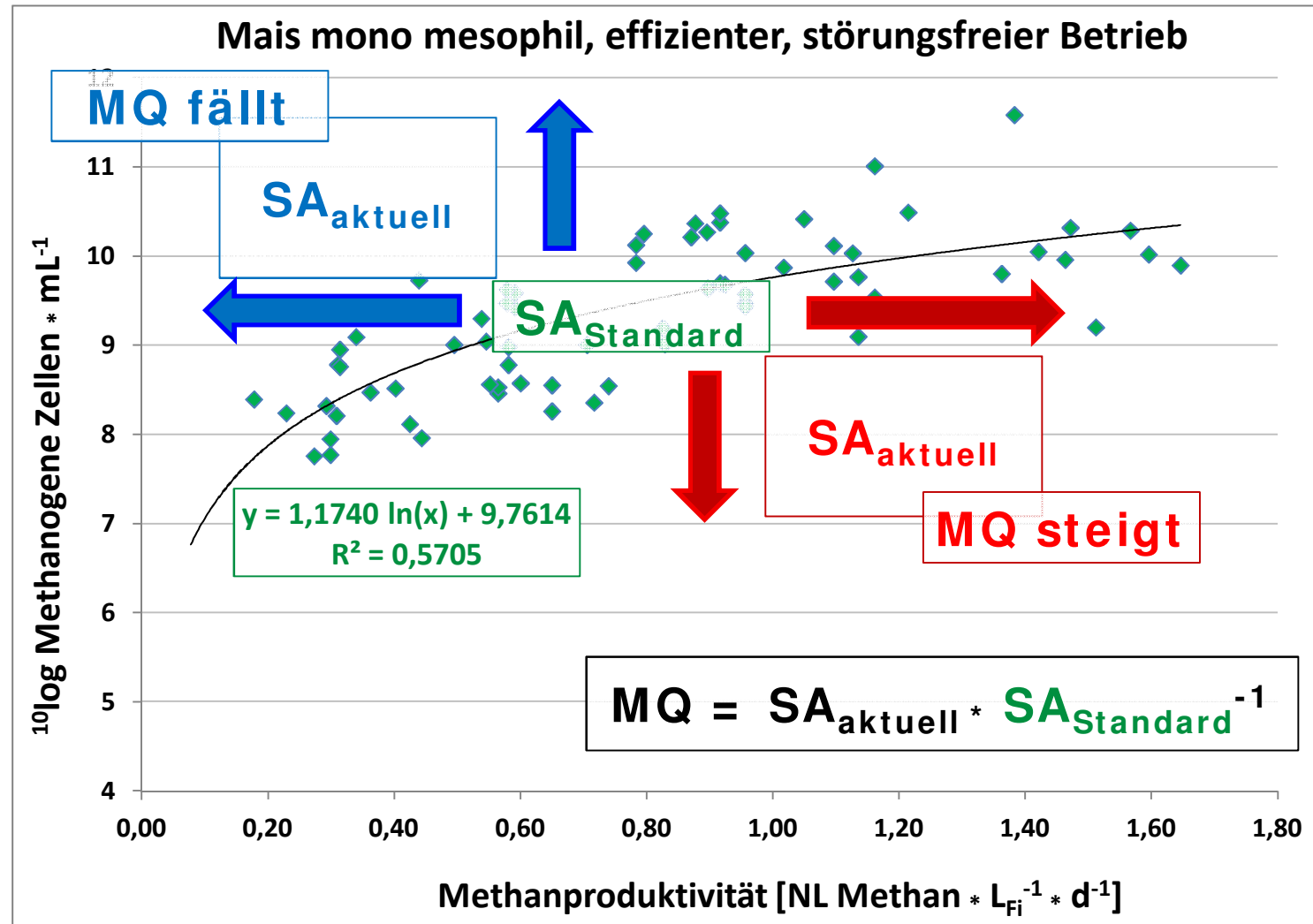
Bioindikatoren – Aktivität methanogener Archaeen



Gliederung

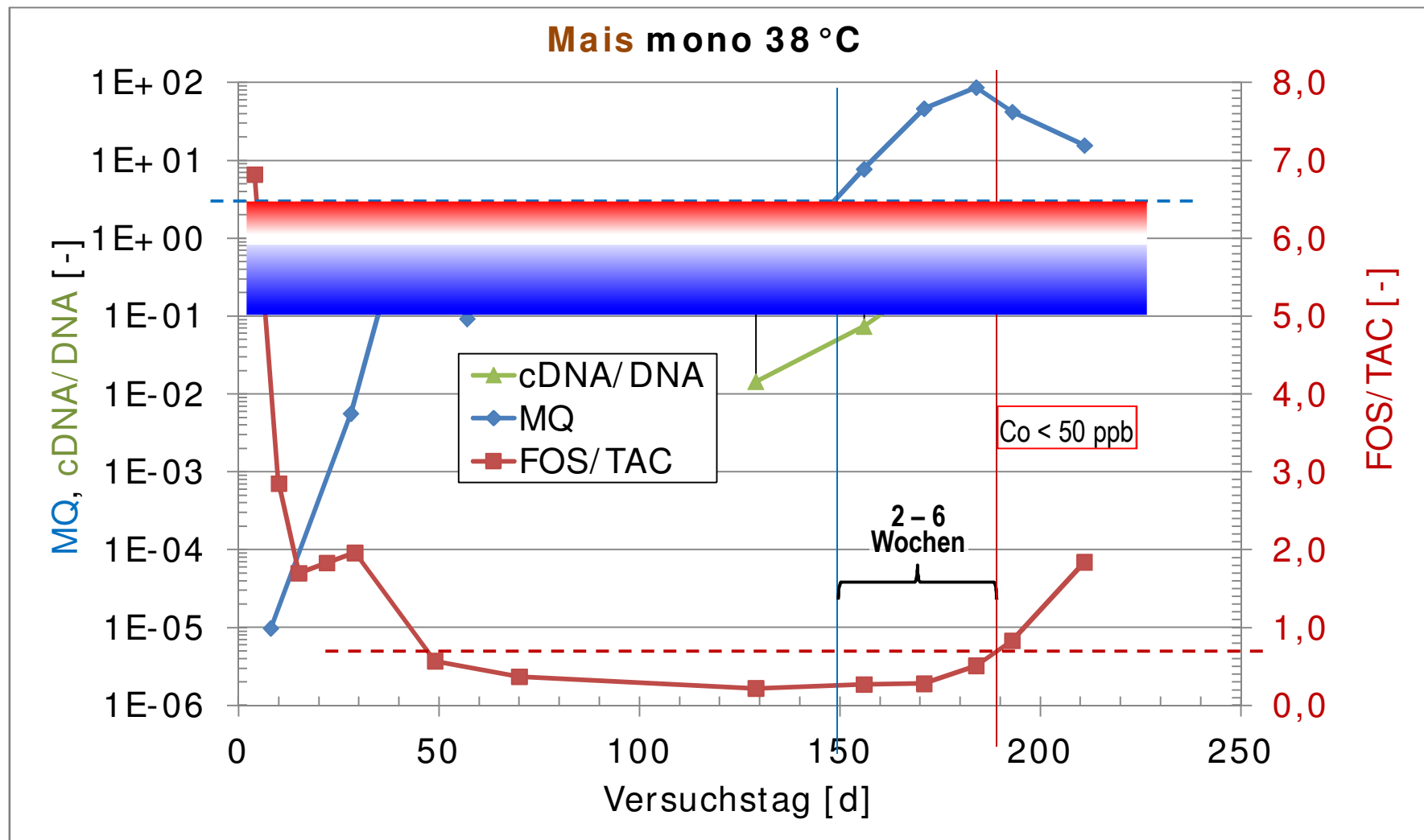
- Hintergrund
 - Biogas - aktuelles mikrobiologisches Prozessmodell
 - Stellgrößen für die Prozessoptimierung
 - Konzept mikrobieller Gilden
- Molekularbiologische Frühwarnsysteme
 - qualitativ: Populationsanalysen → Bioindikatoren → Biomarker
 - quantitativ: ökophysiologische Parameter
 - MQ
 - cDNA/DNA
- Zusammenfassung, Ausblick

Spezifische Aktivität (SA) und Metabolischer Quotient (MQ)



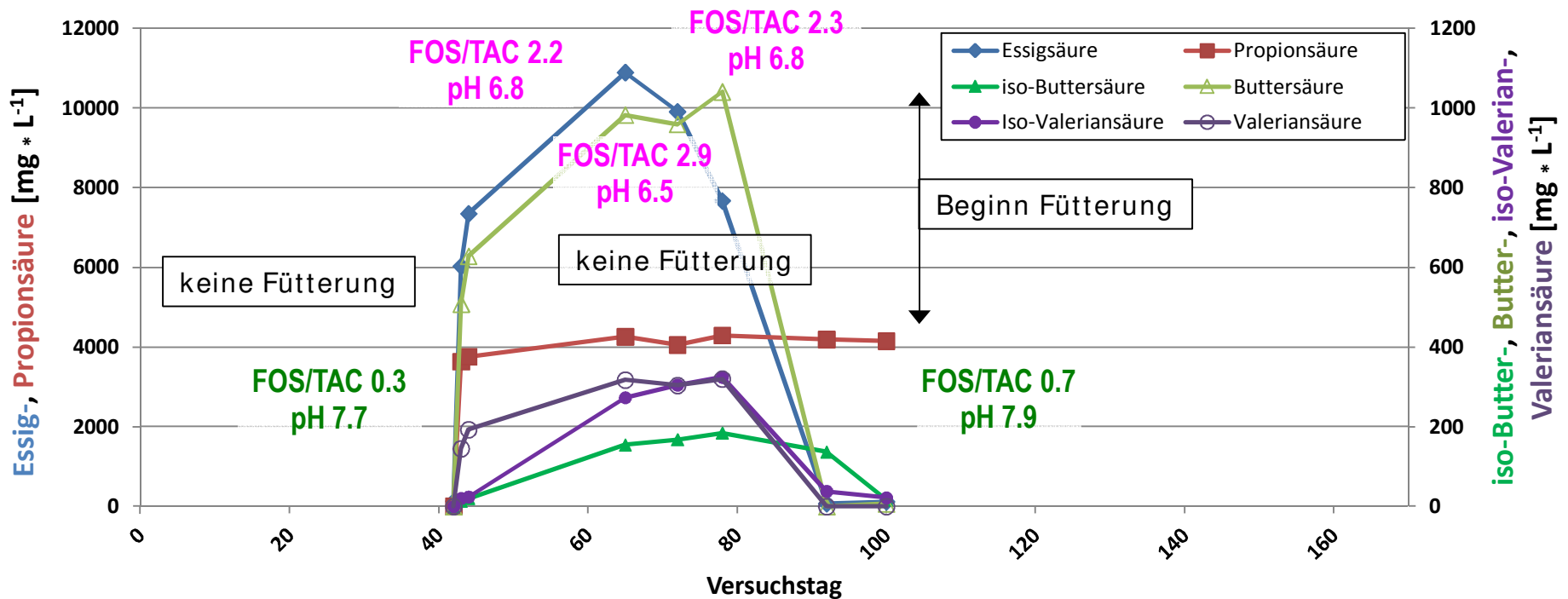
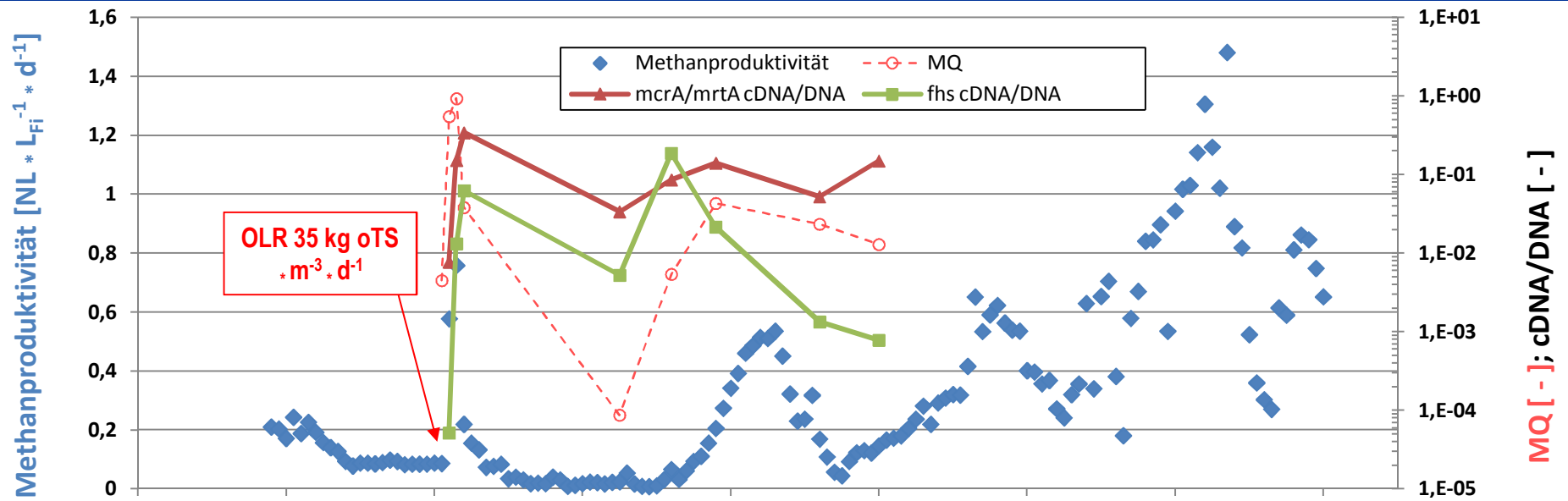
Munk et al., 2010, 2012

Metabolischer Quotient (MQ), cDNA/DNA Methanogene



Munk et al., 2012, 2013

Schockbelastung - Mais mono mesophil, cDNA/DNA, MQ



Gliederung

- Hintergrund
 - Biogas - aktuelles mikrobiologisches Prozessmodell
 - Stellgrößen für die Prozessoptimierung
 - Konzept mikrobieller Gilden
- Molekularbiologische Frühwarnsysteme
 - qualitativ: Populationsanalysen → Bioindikatoren → Biomarker
 - quantitativ: ökophysiologische Parameter
 - MQ
 - cDNA/DNA
- Zusammenfassung, Ausblick

Zusammenfassung und Ausblick

Ökonomie und Ökologie erfordern optimale Prozesseffizienz

→ Prozesszustand beurteilen, Störungen früh erkennen
→ rechtzeitiges/gezieltes Vorsorgen/Vorgehen

Mikrobielle Aktivität reagiert **vor** prozesschemischen Parametern

→ Frühwarnsysteme

- Bioindikatoren
- Metabolischer Quotient
- cDNA/DNA Verhältnis

? Anwendungseinschränkungen, Ursachen?

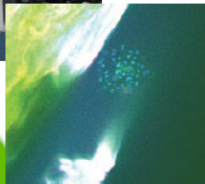
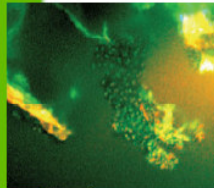
Kenntnis der Populationen und ihrer spezifischen Leistungen
bei unterschiedlichem Anlagenbetrieb/Prozesszustand

besser steuern durch besser wissen und besser messen



Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Mikrobiologische Prozesse in landwirtschaftlichen Biogasanlagen



Schriftenreihe

ISSN 1611-4159

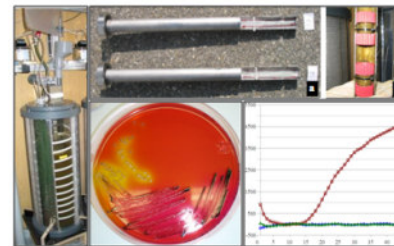
12

2009



Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Abtötung von Salmonellen im Biogasprozess



LfL-Information



Empfehlungen für eine gute fachliche Praxis in landwirtschaftlichen Biogasanlagen aus hygienischer Sicht



Nr. III – 8/2012

Zusammengestellt für die Arbeitsgruppe III (Prozessbiologie, -bewertung und Analytik) im „Biogas Forum Bayern“ von:



Dr. Michael Lebuhn
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen



David Wilken
Fachverband Biogas e.V.



Dr. Michael Knabel
Bayerisches Staatsministerium für Umwelt und Gesundheit



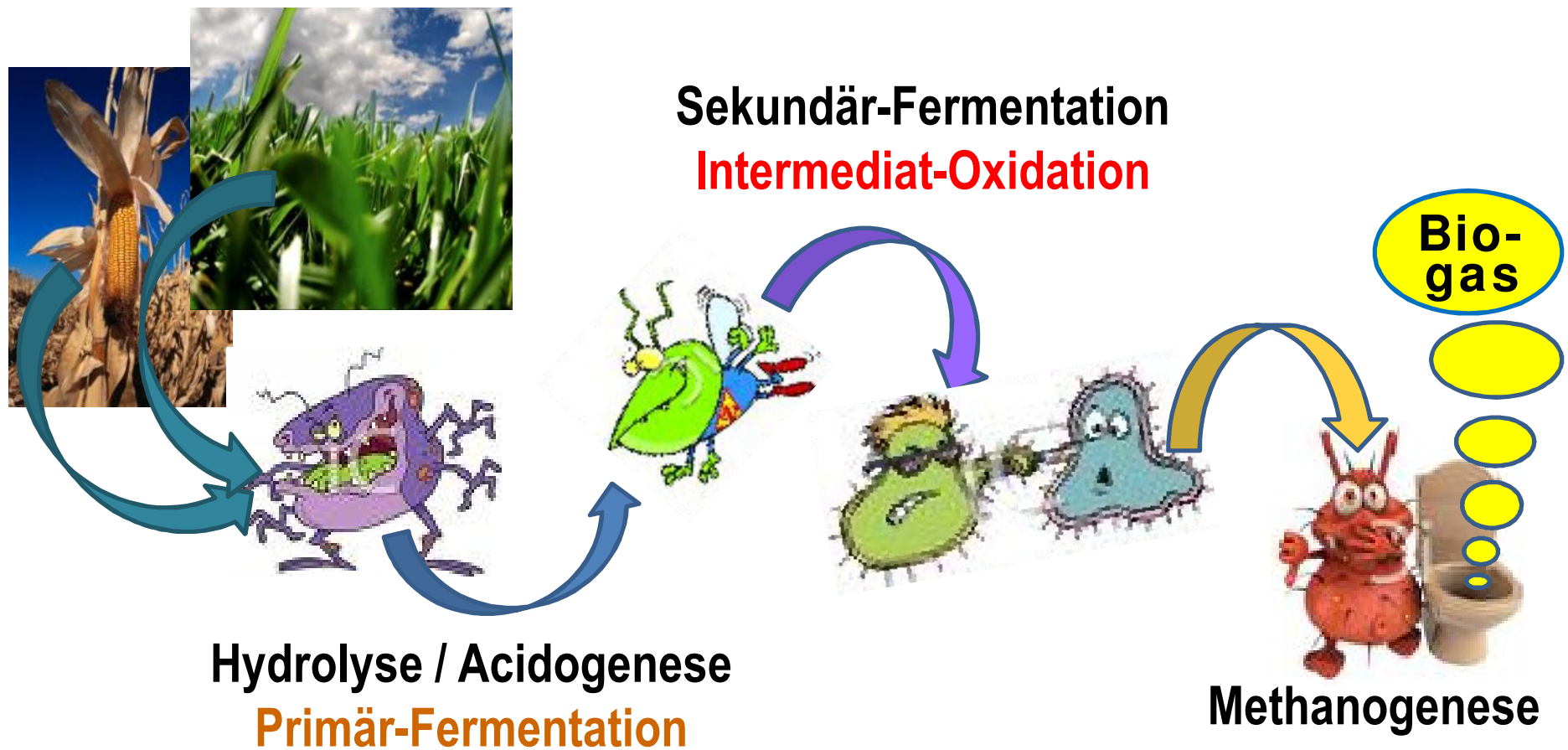
Dr. Johannes Ostentag
Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft



Lebuhn AQU-1c 15 Lm010 22

Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen

... vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!



Cartoons von:

http://translate.googleusercontent.com/translate_c?hl=de&langpair=en|de&u=http://www.clipartguide.com/_pages/0511-0906-2316-5236.html&rurl=translate.google.de&usg=ALkJrhjnNckwCmDozo1qkdNGlq4kn5LWfQ
http://translate.googleusercontent.com/translate_c?hl=de&langpair=en|de&u=http://www.best-of-web.com/pages/100823-225421-845042.html&rurl=translate.google.de&usg=ALkJrh2Y11_86cCMu03oHTIx2aINj-FA