

ENTWICKLUNG VON SELEKTIVEN BIOSENSOREN MIT IMMOBILISIERTEN MIKROALGEN

UNTERSUCHUNGEN ZUR DETEKTION UND IDENTIFIZIERUNG VON GASFÖRMIGEN UND WASSERGELÖSTEN TOXISCHEN VERBINDUNGEN

Seit einigen Jahren werden Biosensoren als alternative Technologie zur Analyse von Umweltbelastungen diskutiert. Unter Beachtung des Potentials von Mikroalgen in der Biotechnologie soll deren Nutzung in Biosensorsystemen im Rahmen dieser Arbeit weiter erschlossen werden.

Die Basis dafür bildet ein neu entwickeltes Verfahren zur stabilen Immobilisierung von Mikroalgen. Diese Methode ist auf der Trennung von immobilisierten Kulturen und dem kontinuierlichen Kulturmedienstrom durch eine semipermeable Membran begründet. Über einen Zeitraum von mehreren Wochen konnte so eine physiologische Stabilität der Algen unterschiedlicher Taxa aufrecht erhalten werden. Unter Verwendung dieses Verfahrens wurde ein Biosensorsystem konstruiert, das die Chlorophyllfluoreszenz der immobilisierten Organismen als Biosensorsignal nutzt. Die simultane Anwendung verschiedener Mikroalgen in einem Biosensorsystem wurde erstmals durch die Entwicklung von Array-Biochips in Verbindung mit einer Fluoreszenz-Imaging Technik ermöglicht.

Zur Charakterisierung des Biosensors wurden u. a. gasförmige und wassergelöste Schadstoffe im toxikologisch relevanten Meßbereich eingesetzt. Methanol- (50-500 ppm) und Formaldehyddämpfe (0,01-10 ppm) ließen sich durch das konzentrationsabhängige Biosensorsignal der Grünalge *Klebsormidium* innerhalb weniger Minuten signifikant nachweisen. Das reversible Signal konnte außerdem über einen Zeitraum von 30 Tagen in wiederholten Expositionsexperimenten reproduziert werden. In einer wässrigen Lösung konnten mittels verschiedener Mikroalgen die Herbizide Atrazin, Simazin, Diuron, Isoproturon und Paraquat innerhalb kurzer Zeit mit dem Biosensor nachgewiesen werden. Die erreichten Nachweisgrenzen lagen je nach verwendeter Alge und Herbizid zwischen 0,1 und 5 $\mu\text{g l}^{-1}$. Um die Selektivität des Biosensors zu erhöhen, wurden die unterschiedlichen Sensitivitäten der verschiedenen Algen genutzt. Methanol und Formaldehyd konnten signifikant anhand der Reaktionsrate, d. h. dem Quotienten der Biosensorsignale von zwei *Klebsormidium*-Stämmen, identifiziert werden. Mit Hilfe der gleichen Methodik wurde für jedes von fünf Herbiziden ein spezifisches Wirkungsmuster (RP1) erstellt, das auf den Biosensorsignalen von neun Algenstämmen basiert. Zur

Überprüfung dieses Identifizierungsverfahrens wurde ein weiterer Satz der gleichen Wirkungsmuster (RP2) erstellt. Im Vergleich von RP1 und RP2 zeigte sich eine relativ hohe Übereinstimmung zwischen identischen Herbiziden, während höhere Abweichungen zwischen den unterschiedlichen Herbiziden zu beobachten waren.

Das hier entwickelte Biosensorsystem in Kombination mit dem diversitätsbasierten Identifikationsverfahren erwies sich als prinzipiell geeignet zur selektiven Messung von Schadstoffen in Echtzeit. Zukünftige Untersuchungen sollten jedoch besonders in Hinblick auf eine weitere Verbesserung von Selektivität und Sensitivität erfolgen.