

# Nichtinvasive Online-Fluoreszenzspektroskopie in Rührkessel-Fermentern

Flexible Untersuchung komplexer Bioprozesse

Dr. Ivan Schlembach<sup>1, 2</sup> und Christian Ott<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Leibniz Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie – Hans-Knöll-Institut, Jena <sup>2</sup>Friedrich-Schiller-Universität, Fakultät für Biowissenschaften, Jena <sup>3</sup>Schott AG, Business Unit Electronic Packaging, Landshut

**Korrespondenz:** Dr. Ivan Schlembach, Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie, Beutenbergstraße 11A, Bio Pilot Plant, Office 273, 07745 Jena; **E-Mail:** ivan.schlembach@leibniz-hki.de



## Zusammenfassung

Dieser Beitrag soll den Nutzen von Online-Fluoreszenzspektroskopie für die kontinuierliche Überwachung und Charakterisierung von Bioprocen demonstrieren. Als Beispiel dient die Fermentation des filamentösen Pilzes *Trichoderma reesei* in Gegenwart von Zellulosepartikeln als Kohlenstoffquelle. Dabei wurden verschiedene Strategien zur Messung von Biomasse mittels Fluoreszenz untersucht: die Markierung des Pilzes mittels eines Fluoreszenzproteins sowie die Messung der Autofluoreszenz. Um das volle analytische Potenzial der Fluoreszenzmessungen auszuschöpfen, wurden während der Kultivierung Exzitations-Emissions-Matrix(EEM)-Scans durchgeführt. Dadurch konnte die Produktions- und Verbrauchskinetik verschiedener autofluoreszierender Komponenten aufgeklärt werden. Zusätzlich wurden die Online-Fluoreszenzdaten mit Daten aus der Online-Abgasüberwachung verglichen, welche einen alternativen Ansatz zu Echtzeitschätzungen des Zellwachstums und des Substratverbrauchs bieten.

## Einleitung

### Flexible Online-Messung in trüben Medien

Auf dem Weg zu nachhaltigerem Wirtschaften gewinnt die Biokatalyse in der Pharma- und Biotechnologieindustrie zunehmend an Bedeutung [1, 2]. Im Vergleich zu chemisch-katalytischen Prozessen erlauben biokatalytische Prozesse eine effizientere Ressourcennutzung. Als Biokatalysatoren fungieren dabei Enzyme. Die wirtschaftliche Herstellung dieser Enzyme ist jedoch eine Herausforderung. Dies trifft insbesondere zu, wenn die kontinuierliche Prozesskontrolle durch die

Anwesenheit unlöslicher Medienbestandteile erschwert wird.

Die flexible Online-Fluoreszenzspektroskopie stellt eine Möglichkeit dar, diese Herausforderung zu überwinden. In dem hier vorgestellten Beispiel zur Enzymproduktion in einer Suspension wurde *Trichoderma reesei* als Modellorganismus genutzt. Hierbei handelt es sich um einen industriell vielfach genutzten filamentösen Pilz zur Produktion nativer sowie rekombinanter Proteine [3]. Durch die Verwendung zellulosehaltiger Substrate bei der Fermentation produziert *Trichoderma reesei* einen ausgewogenen Enzymcocktail, der das eingesetzte Sub-

## Key Words

- Fluoreszenz
- PAT/Prozessanalysetechnik
- Spektroskopie
- Fermentation
- Online-Monitoring/In-situ-Monitoring

strat optimal hydrolysiert. Die Verwendung von Feststoff-Substraten wie Zellulose erschwert (wie angeführt) die Bioprocenanalyse stark im Vergleich zur Verwendung löslicher Substrate wie z. B. Glukose. Die festen Zellulosefasern verhindern z. B. eine einfache Quantifizierung der Zelltrockenmasse sowie des Substratverbrauchs.

Optische, nicht spektral aufgelöste Methoden zur Messung des Wachstums wie etwa die optische Dichte bei 600 nm können nicht verwendet werden, da nicht zwischen Lichtabsorption von Zellen und Zellulose unterschieden wird und beide Komponenten das Licht stark

absorbieren. Auch kann das Substrat nicht einfach mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) quantifiziert werden wie etwa bei löslichen Substraten.

Eine der wenigen Methoden, die sich auf zellulosehaltige Fermentationen anwenden lässt, um gravimetrische Daten für die Zelltrockenmasse sowie der Zellulose zu erhalten, ist eine sehr arbeitsaufwendige Methode nach dem Verfahren von Updegraff, modifiziert nach Ahamed und Vermette [4, 5]. Bei dieser Methode wird zunächst die Gesamttrockenmasse einer Probe bestimmt, woraufhin die mikrobielle Biomasse selektiv durch eine Mischung konzentrierter Säuren aufgelöst wird. Nach erneutem Eintrocknen der Probe lässt sich aus der Massenbilanz vor und nach Behandlung mit der Säure auf die Menge an Zellulose und Zelltrockenmasse in der Probe schließen. Diese Methode ist jedoch fehleranfällig, da einerseits manche Teile der Zellulose labil, andererseits gewisse Teile der Zelltrockenmasse resistent gegenüber der Säure sind. Besonders für die Etablierung solch komplexer, feststoffhaltiger Fermentationsprozesse ist die Entwicklung neuer, nichtinvasiver analytischer Methoden daher von großem Interesse. Dazu gehören wichtige Prozesse zur Verwertung nachwachsender Rohstoffe wie z. B. Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) oder Consolidated Bioprocessing (CBP).

Die Online-Fluoreszenzspektroskopie ist ein leistungsfähiges optisches Verfahren zur Überwachung von Bioprozessen, mit dem sich verschiedene Merkmale wie das Wachstum der Biomasse, der Substratverbrauch und die Produktbildung überwachen lassen. Im Vergleich zu anderen häufig angewandten optischen Technologien wie der optischen Dichte oder Streulicht werden Fluoreszenzmessungen weniger durch die Anwesenheit unlöslicher Partikel wie Zellulose beeinträchtigt. Während Online-Fluoreszenzmessungen in kleinen

Mikrotiterplatten-Kulturen gut etabliert sind, gibt es nur wenige Systeme zur Messung der Fluoreszenz in großen Rührkessel-Reaktoren [6].

Dank eines sterilisierbaren Spektrometer-Ports in Kombination mit einem Fluoreszenzspektrometer kann die Fluoreszenz von Rührkessel-Fermentern im Labormaßstab bis hin zu großen industriellen Anlagen online gemessen werden. Durch den modularen Aufbau des Spektrometer-Ports und der zugehörigen Sonde kann ein einzelnes Spektrometer dazu verwendet werden, sequenziell in unterschiedlichen Fermentern stichprobenartig zu messen. Auch kann die Messung während der laufenden Fermentation unterbrochen werden, um etwa das gemessene Fluoreszenzspektrum aus dem Fermenter mit einer Referenzsubstanz außerhalb des Fermenters abzugleichen. Der Spektrometer-Port wird vor dem Sterilisieren über einen Standardanschluss des Fermenters montiert, um eine sichere und sterile In-situ-Prozessüberwachung zu erlauben.

Um die Messung von Biomasse mittels Fluoreszenz zu ermöglichen, wurden verschiedene Strategien getestet. Mithilfe eines Fluoreszenz-Tagging-Ansatzes wurde *T. reesei* rekombinant mit dem rot fluoreszierenden Protein mCherry unter

der Kontrolle eines synthetischen konstitutiven Promotors markiert. Das Protein wurde zytoplasmatisch exprimiert, was eine nichtinvasive Überwachung des Wachstums durch Online-Fluoreszenzmessungen ermöglicht. Neben der mCherry-Fluoreszenz wurden auch verschiedene Autofluoreszenzkanäle zur Messung des Biomassewachstums untersucht.

## Versuchsaufbau

### Sterilsichere Online-Prozessüberwachung mittels Spektrometer-Port

Die Fermentation wurde bei 25 °C in einem Mineralmedium mit 5 g/L Glukose, 2 g/L Pepton und 30 g/L Zellulose durchgeführt. Das Fermentationsvolumen betrug 2,5 L, die Belüftungsrate 2,5 L/min, die Rührerdrehzahl wurde nach den ersten 24 h von 600 U/min auf 800 U/min erhöht und dann konstant gehalten. Der pH-Wert wurde mittels 10 % NaOH-Lösung auf 5,5 geregelt.

Für die nichtinvasive In-situ-Prozessüberwachung wurden Schott ViewPort® Spektrometer-Ports verwendet (Abb. 1, Abb. 2). Diese bieten eine sterile und sichere Schnittstelle für optische Sensoren, wobei die Messungen über das integrierte op-

## Autoren



**Dr. Ivan Schlembach**

Dr. Ivan Schlembach absolvierte 2008–2013 ein Biologiestudium an der RWTH Aachen University und promovierte dort 2013–2017 am Institut für Angewandte Mikrobiologie. Seit 2018 arbeitet er als Postdoc am Biotechnikum des Leibniz Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie – Hans-Knöll-Institut in Jena.



**Christian Ott**

Christian Ott absolvierte 2002–2007 ein Biotechnologiestudium an der University of Applied Sciences Weihenstephan. Als Biotechnologe in der strategischen Forschung und Entwicklung war er 2007–2011 bei Clariant beschäftigt. Seit 2011 arbeitet er bei der Schott AG in Landshut, zunächst als Abteilungsleiter Analytik, seit 2017 als Entwicklungsleiter Biotech.



Abbildung 1: Versuchsaufbau: Rührkessel-Fermenter mit faseroptischer Sonde und Spektrometer-Port (Quelle: Hans-Knöll-Institut, Schott).



Abbildung 2: Spektrometer-Port mit sterilisierbarem optischen Fenster (Quelle: Schott).

tische Fenster des Spektrometer-Ports erfolgen. Die eingesetzten Materialien entsprechen den Anforderungen der Good Manufacturing Practice (GMP). Vor Versuchsbeginn wurde die Einheit aus Reaktor und Spektrometer-Port in einem Dampfautoklaven für 20 min. bei 121 °C sterilisiert. Als Spektrometer wurde ein Agilent Carry Eclipse in Kombination mit einer faseroptischen Sonde genutzt, welche zu jedem Zeitpunkt der Kultivierung

über den Spektrometer-Port am Fermenter montierbar ist.

## Resultate

### Verlauf der Kultivierung

Die Kultivierung von *Trichoderma reesei* RUT-C30-mCherry erfolgte in einem Medium, das 5 g/L Glukose und 30 g/L Alpha-Zellulose als Kohlenstoffquellen enthält. Während der Kultivierung verbraucht der Pilz zunächst die Glukose und wächst exponentiell, bis die Glukose aufgebraucht ist. Dies ist durch einen abrupten Abfall der CO<sub>2</sub>-Transferrate (CTR) nach 100 h Kultivierung gekennzeichnet (Abb. 3A). Nach der Glukoselimitierung beginnt der Pilz mit der Expression von Zellulasen, was dazu führt, dass die CTR wieder langsam ansteigt [7]. Dies wird auch durch die Bestimmung der Proteinkonzentration im Kulturüberstand sichtbar, da die Proteinkonzentration nach 100 h stark zu steigen beginnt (Abb. 3C).

Da die Zellulasen die Zellulose langsamer hydrolysieren als der Pilz die freiwerdenden Zucker metabolisieren kann, ist die CTR direkt proportional zur Zuckerfreisetzungsrate. Mit zunehmender Zellulosekonzentration wird die Zellulose dabei immer schneller abgebaut, weshalb die CTR langsam ansteigt. Nach dem Erreichen eines CTR-Maximums nach ca. 150 h sinkt die CTR wieder langsam. Während dieser Phase hängt die Zuckerfreisetzungsrate und somit auch die CTR direkt von der Zellulosekonzentration ab, da alle Enzymbindestellen an der Zellulose weitgehend mit Zellulasen gesättigt sind [7].

### Evaluation des mCherry-Fluoreszenzsignals zur Messung des Pilzwachstums

Als Referenzmethode für die Quantifizierung des Pilzwachstums wurde die Biotrockenmasse mittels der Updegraff-Methode bestimmt. Die CO<sub>2</sub>-Freisetzungsrate (CTR) wurde als nicht optische Referenzmethode zur Echtzeitquantifizierung des Wach-

tums und Analyse des Stoffwechsels gewählt. Während des anfänglichen exponentiellen Wachstums korrelierte das mCherry-Fluoreszenzsignal gut mit der nach der Updegraff-Methode bestimmten Biotrockenmasse (BTM) (Abb. 3A). Dies wird durch die Abgasmessung weiter bestätigt.

Während des unlimitierten exponentiellen Wachstums ist die CTR direkt proportional zur Menge der vorhandenen Pilzbiomasse, daher kann dieses Signal auch zur Bestimmung des Wachstums des Organismus in Gegenwart von Zellulosepartikeln verwendet werden. Wie in Abb. 3A zu sehen ist, korreliert die CTR in dieser Phase gut mit der BTM. Nach der exponentiellen Wachstumsphase korrelieren die Fluoreszenz und die CTR jedoch nicht mehr mit der BTM. Während die BTM ein Maximum von ca. 8 g/L nach 144 h Kultivierung erreichte, stieg die mCherry-Fluoreszenz unabhängig von der BTM bis ca. 240 h weiter an. Dies steht im Gegensatz zu Beobachtungen in Mikrotiterplatten-Kulturen, bei denen die mCherry-Fluoreszenz auch weit über die Exponentialphase hinaus mit der BTM korrelierte [8]. Dies ist wahrscheinlich auf eine Zellschädigung durch das Rührwerk im Rührkessel-Fermenter zurückzuführen, wobei mCherry-Protein aus dem Zytoplasma in das Medium freigesetzt wird, wo es sich im Laufe der Zeit unabhängig von der BTM anreicherte.

Die Dynamik von Offline-Fluoreszenzmessungen von mCherry (offene rosa Kreissymbole) sowie Proteinmessungen aus dem zellfreien Überstand – gemessen mittels Bradford Assay (hellblau gefüllte Kreise) – ist in Abb. 3C dargestellt und zeigt, dass der größte Anstieg nach dem Erreichen der maximalen BTM erfolgte.

### Evaluation von Autofluoreszenzsignalen zur Messung des Pilzwachstums

Da die mCherry-basierte Schätzung der Biomasse nur während des exponentiellen Wachstums zuverlässig war, wurden andere Autofluores-

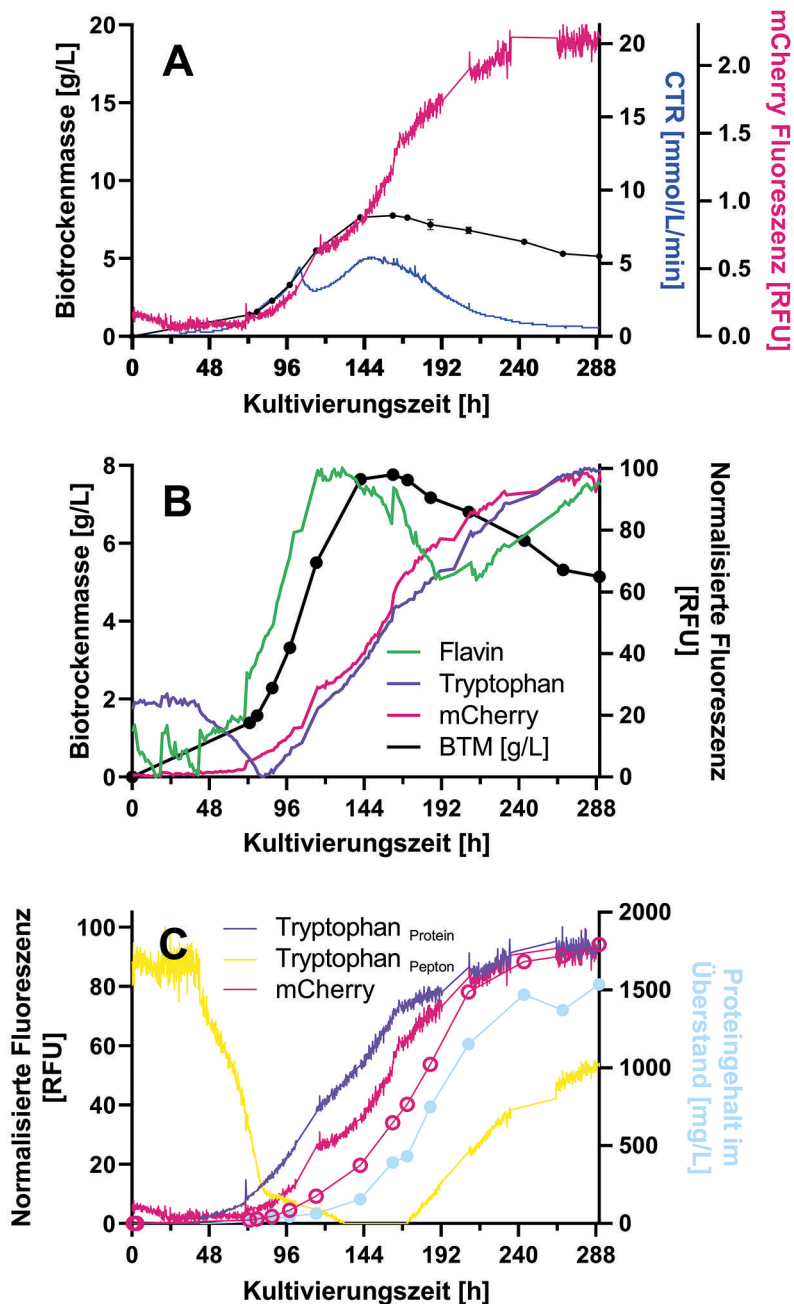


Abbildung 3: Fluoreszenzbasierte Charakterisierung von Wachstum und Proteinbildung von *T. reesei* RUT-C30 mCherry während einer Fermentation in Gegenwart von Zellulose (Quelle: Hans-Knöll-Institut).

zenzsignale untersucht, um nach einem alternativen Biomasseindikator zu suchen. Autofluoreszenz hat den Vorteil, dass sie im Gegensatz zu rekombinanten fluoreszierenden Proteinen auch auf nicht gentechnisch veränderten Wildtyp-Organismen angewendet werden kann.

Das stärkste Autofluoreszenzsignal wurde bei einer Anregung von 285 nm und einer Emission von 350 nm beobachtet – dies ist wahrscheinlich auf Tryptophan-Fluoreszenz zurückzuführen. Das Tryptophan-Signal war bereits vor dem Wachstum im Medium vorhanden, da das Medium 2 g/L Pepton ent-

hielt. Während des anfänglichen Wachstums konnte eine Abnahme dieses Signals beobachtet werden (Abb. 3B). Dies deutet auf den Verbrauch von Pepton durch den Pilz während des Wachstums hin. Kurz bevor die Glukose aufgebraucht war, begann das Signal wieder anzusteigen und folgte bis zum Ende der Kultivierung einem ähnlichen Trend wie das mCherry-Signal.

Abgesehen von Pepton sollte das Signal mit allen Proteinen in der Kulturbühe zusammenhängen, einschließlich der Pilzbiomasse, den ausgeschiedenen Zellulasen und dem mCherry-Protein. Ein weiteres Autofluoreszenzsignal wurde für den Spektralbereich der Riboflavin-Fluoreszenz (Anregung = 450 nm, Emission = 525 nm) aufgezeichnet. Flavin-Fluoreszenz ist in Mikroorganismen allgegenwärtig und kann auch zur Abschätzung des Zellwachstums verwendet werden.

Dieses Signal stieg parallel zu BTM an und erreichte nach 120 h ein Maximum (Abb. 3B). Dabei spiegelte es den mit dem Updegraff-Assay gemessenen Wachstumstrend viel besser wider als die mCherry- oder Tryptophan-Fluoreszenz. Somit bildet die Flavin-Fluoreszenz das Wachstum gut ab und kann daher dazu genutzt werden, das Wachstum in Wildtyp-Stämmen zu verfolgen, die keine Fluoreszenzproteine exprimieren.

### Auflösung spektraler Komponenten mittels PARAFAC-Analyse

Dank des monochromatorbasierten Spektrometers konnten die Daten nicht nur als feste Anregungs-/Emissions-Fluoreszenzkanäle, sondern auch als vollständiger spektraler Fingerabdruck analysiert werden. Ein solcher Exzitations-Emissions-Matrix(EEM)-Scan ist beispielhaft in Abb. 4A dargestellt. Die hellen Flecken zeigen deutliche Fluoreszenzsignale im Bereich von 280 nm Anregung und 365 nm Emission (Tryptophan) sowie bei 590 nm Anregung und 610 nm Emission (mCherry, rot

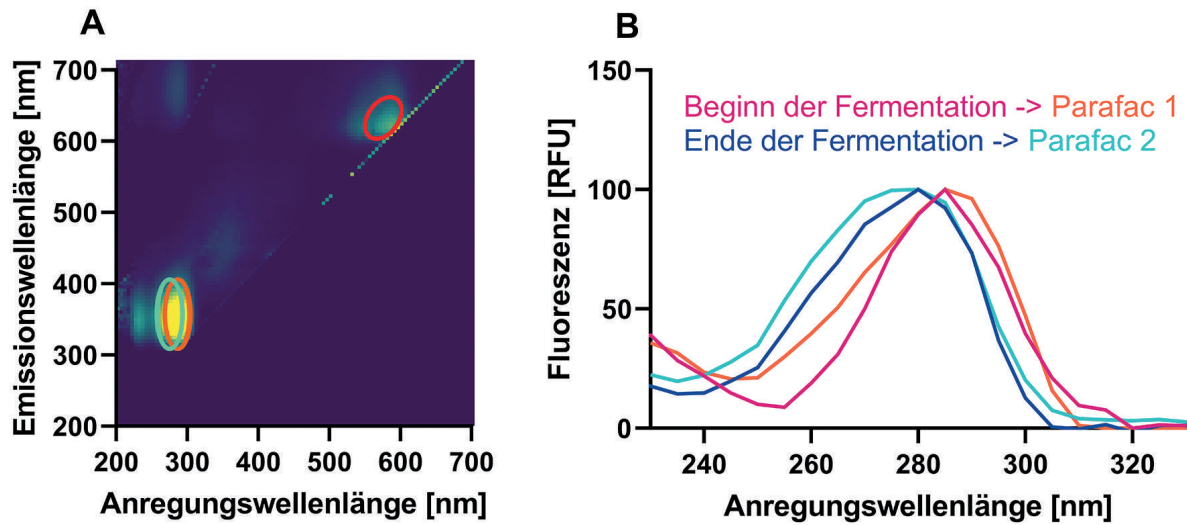


Abbildung 4: Spektral aufgelöste In-situ-Fluoreszenzmessung zur Unterscheidung und Separierung spektral ähnlicher Komponenten mittels PARAFAC (Quelle: Hans-Knöll-Institut).

umkreist). Überlappende Spektren (orange und cyan umkreist) lassen sich mit bloßem Auge nicht unterscheiden und erfordern multivariate statistische Analyse zur Unterscheidung.

Bei der Analyse der Anregungsspektren des Tryptophan-Peaks zu verschiedenen Zeitpunkten der Kultivierung wurde deutlich, dass das Tryptophan-Signal ein Mischsignal aus 2 spektral unterschiedlichen Komponenten war (Abb. 4B). Das Tryptophan-Signal zu Beginn der Fermentation, das im Laufe der Zeit abnahm, unterschied sich deutlich von dem Signal, das parallel zum mCherry-Signal zunahm (Abb. 4B). Mittels eines vollständigen EEM-Scans wurden sämtliche Anregungs- und Emissions-Kombinationen zwischen 200 und 700 nm mit 5 nm Schrittweite gemessen, woraus 5 000 Fluoreszenzkanäle resultieren.

Diese Kanäle wurden mittels Parallelfaktoranalyse (PARAFAC) statistisch ausgewertet, um die Hauptkomponenten aus den Signalen zu extrahieren, die ursächlich für die Fluoreszenz sind [9]. Dabei wurde ein Modell mit 9 Komponenten gewählt. Als Hauptkomponenten wurden neben mCherry 2 Tryptophan-

ähnliche Komponenten gefunden, von denen eine spektral identisch mit dem Spektrum von Pepton (Tryptophan<sub>pepton</sub>) und die zweite Komponente identisch mit dem Spektrum zum Ende der Fermentation war (Tryptophan<sub>protein</sub>), s. Abb. 4B. Auf diese Weise konnten die beiden gemischten Komponenten im Tryptophan-Fluoreszenzbereich durch PARAFAC erfolgreich in die Pepton-Komponente, die verbraucht wird, und die Tryptophan-Komponente, die aus Proteinen stammt und im Laufe der Kultivierung zunimmt, aufgetrennt werden (Abb. 3C, Abb. 4B).

Interessanterweise begann die Pepton-Komponente ab 168 h wieder aufzutauchen, als die BTM zu sinken begann. Dies könnte also eine Folge von Zellyse sein. Da die Tryptophan-Fluoreszenz ein kombiniertes Signal von gelöstem Protein sowie Pilzbiomasse darstellt, wurden die Signale außerdem mit dem zeitlichen Verlauf der Proteinkonzentration im Überstand sowie der mCherry-Fluoreszenz aus dem zellfreien Überstand verglichen (Abb. 3C). Daraus wird ersichtlich, dass der anfängliche Anstieg im Tryptophan-Signal auf das Pilzwachstum zurückzuführen ist, während der An-

stieg nach 144 h Inkubationszeit eher auf extrazelluläre Proteine (Zellulasen und freigesetztes mCherry) zurückzuführen ist.

### Schlussfolgerung und Ausblick

Die Vorteile einer kontinuierlichen Überwachung und Charakterisierung von Bioprosessen konnten im vorliegenden Beispiel erfolgreich demonstriert werden. Der Einsatz von Online-Fluoreszenzspektroskopie während der Fermentation über das Sichtfenster eines sterilsicheren Spektrometer-Ports erlaubte eine vielfältige Analyse des Fermentationsverlaufs. Während der exponentiellen Wachstumsphase konnte das Pilzwachstum gut über die mCherry- oder Tryptophan-Fluoreszenz gemessen werden. Dabei zeigte sich die Flavin-Fluoreszenz als besonders geeigneter Marker, der auch nach der exponentiellen Phase noch gut mit der Biomasse korreliert. Dank spektraler Analyse der Daten konnte die peptonbedingte Tryptophan-Fluoreszenz klar von proteinbedingter Tryptophan-Fluoreszenz unterschieden werden. Dies erlaubt eine optische Messung des Pepton-Verbrauchs.

Neben den hier erwähnten Einsatzmöglichkeiten bietet die Fluoreszenzspektroskopie noch viele weitere Möglichkeiten. So lässt sich anhand von Flavin- und NADH-Autofluoreszenz etwa der Redox-Status der Zellen in Echtzeit erfassen, um so etwa Sauerstoff-Limitierungen unabhängig von einer Sauerstoffelektrode zu detektieren. Auch die Lyse von Zellen ließe sich mittels Fluoreszenzmessung möglicherweise abschätzen. So trat etwa zeitgleich mit dem Absinken der Biotrockenmasse die Pepton-Fluoreszenzkomponente auf. Die Echtzeitüberwachung der Populationsdynamik fluoreszenzmarkierter Co-Kulturen ist ein weiteres interessantes Anwendungsbeispiel [8, 10, 11]. Auch die Echtzeitüberwachung der Bildung pigmentierter Antibiotika via Autofluoreszenz-Quenching und spektraler Streulichtanalyse wurde bereits demonstriert [12].

## Literatur

- [1] Alcántara AR, Domínguez de María P, Littlechild JA, Schürmann M, Sheldon RA, Wohlgemuth R. Biocatalysis as Key to Sustainable Industrial Chemistry. *ChemSusChem* [Internet]. 2022 May 6;15(9):e202102709. Available from: <https://doi.org/10.1002/cssc.202102709>
- [2] Meyer LE, Hobisch M, Kara S. Process intensification in continuous flow biocatalysis by up and downstream processing strategies. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. 2022 Dec;78:102835. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102835>
- [3] Bischof RH, Ramoni J, Seiboth B. Cellulases and beyond: the first 70 years of the enzyme producer *Trichoderma reesei*. *Microb Cell Fact* [Internet]. 2016 Jun 10;15(1):106. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0507-6>
- [4] Ahamed A, Vermette P. Culture-based strategies to enhance cellulase enzyme production from *Trichoderma reesei* RUT-C30 in bioreactor culture conditions. *Biochemical Engineering Journal* [Internet]. 2007 Dec 28;40(3): 399–407. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.11.030>
- [5] Updegraff DM. Semimicro determination of cellulose in biological materials. *Anal Biochem* [Internet]. 1969 Dec;32(3):420–4. Available from: [https://doi.org/10.1016/s0003-2697\(69\)80009-6](https://doi.org/10.1016/s0003-2697(69)80009-6)
- [6] Faassen SM, Hitzmann B. Fluorescence spectroscopy and chemometric modeling for bioprocess monitoring. *Sensors (Basel)* [Internet]. 2015 Apr 30;15(5):10271–91. Available from: <https://doi.org/10.3390/s150510271>
- [7] Antonov E, Schlembach I, Regestein L, Rosenbaum M, Büchs J. Process relevant screening of cellulolytic organisms for consolidated bioprocessing. *Biotechnol Biofuels* [Internet]. 2017 Apr 24;10(106). Available from: <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0790-4>
- [8] Palacio-Barrera AM, Schlembach I, Finger M, Büchs J, Rosenbaum MA. Reliable online measurement of population dynamics for filamentous co-cultures. *Microb Biotechnol* [Internet]. 2022 Nov;15(11):2773–2785. Available from: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14129>
- [9] Pucher M, Wunsch U, Weigelhofer G, Murphy K, Hein T, Graeber D. staRDom: Versatile Software for Analyzing Spectroscopic Data of Dissolved Organic Matter in R. *Water* [Internet]. 2019;11(11):2366. Available from: <http://dx.doi.org/10.3390/w11112366>
- [10] Schlembach I, Grünberger A, Rosenbaum MA, Regestein L. Measurement Techniques to Resolve and Control Population Dynamics of Mixed-Culture Processes. *Trends Biotechnol* [Internet]. 2021 Oct;39(10):1093–1109. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2021.01.006>
- [11] Finger M, Palacio-Barrera AM, Richter P, Schlembach I, Büchs J, Rosenbaum MA. Tunable population dynamics in a synthetic filamentous coculture. *Microbiologyopen* [Internet]. 2022 Oct;11(5):e1324. Available from: <https://doi.org/10.1002/mbo3.1324>
- [12] Finger M, Sentek F, Hartmann L, Palacio-Barrera AM, Schlembach I, Rosenbaum MA, Büchs J. Insights into *Streptomyces coelicolor* A3(2) growth and pigment formation with high-throughput online monitoring. *Eng Life Sci* [Internet]. 2022 Apr 28;23(1):e2100151. Available from: <https://doi.org/10.1002/elsc.202100151>

Die Links wurden zuletzt abgerufen am 12.05.2023.

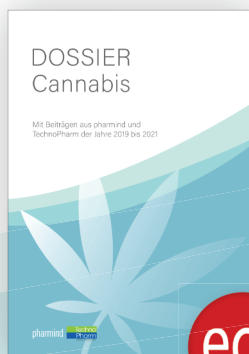
Redaktionsleitung (V. i. S. d. P.): Andreas Gerth. Leitender Redakteur: Jens Renke. Verlag: ECV · Editio Cantor Verlag GmbH, Baendelstockweg 20, 88326 Aulendorf (Germany). Tel.: +49 (0) 7525-940 120. E-Mail: [redaktion-tp@ecv.de](mailto:redaktion-tp@ecv.de). [www.ecv.de](http://www.ecv.de). Herstellung: rdz GmbH. Alle Rechte vorbehalten.

## DOSSIER Cannabis

Das ePaper zum großen Thema der Pharmabranche

### Zielgruppen:

- Pharmaunternehmen
- Zulieferindustrie
- Behörden / Überwachungsämter
- Hochschulen / Universitäten
- Planungs- / Beratungsunternehmen



DOSSIER-Partner:  
**HOFFMANN NEOPAC**  
TINS AND TUBES

Das DOSSIER ist exklusiv im Editio Cantor Verlag erhältlich!

- 1. Ausgabe 2022
- Umfang: 15 Beiträge auf 90 Seiten
- Format: PDF Download
- Preis: 19,90 €

Bestellung im Webshop:

[https://www.ecv.de/buecher/dossier\\_cannabis](https://www.ecv.de/buecher/dossier_cannabis)