

Multiparametersensor-basiertes intelligentes Frühwarnsystem für Algenmonitoring im Oberflächenwasser

Andreas Auernhammer¹, Cindy Dongxin Hu², Martin Elsner¹, Michael Seidel¹

¹Institut für Wasserchemie und Chemische Balneologie, TU München, Garching, Deutschland

²A.U.G. Signals Ltd., Ontario, Canada

Kontakt: a.auernhammer@tum.de

Einleitung

Algenblüten werden durch den Klimawandel und die Eutrophierung der Gewässer begünstigt und stellen durch die Bildung der hochtoxischen Cyanotoxine ein erhebliches Gesundheitsrisiko für Mensch und Tier dar. [1,2] Algenblüten können durch diskrete Probenahmen und anschließender Analyse der vorkommenden Mikroorganismen, z. B. durch Mikroskopie, in einem Gewässer festgestellt werden. Auch visuelle Anzeichen deuten auf Algenblüten hin, dies können Trübung oder Verfärbung des Wassers oder Aufrahmungen an der Wasseroberfläche sein. Meist werden Algenblüten erst spät entdeckt und den Behörden bleibt nur wenig Zeit, um entsprechende Maßnahmen gemäß der EG-Badewasserrichtlinie [3] wie Warnmeldungen oder Badeverbote auszusprechen. Im AIF-ZIM Projekt sollte eine Multiparametersonde der Firma AUG erstmals in Deutschland getestet werden. Ziel ist es, zukünftig ein Cloud-basiertes Frühwarnsystem für das Algenmonitoring in Oberflächenwasser aufzubauen. Die Multiparametersonde kann in einen See eingetaucht werden und so über einen längeren Zeitraum allgemeine wasserchemische Parameter überwachen. Seitens AUG war es das Ziel, zusätzlich online Nitrat bestimmen zu können. Bei signifikanter Veränderungen der wasserchemischen Parameter, welche mit einer Algenblüte korrelieren, soll hierbei frühzeitig eine Warnmeldung generiert werden. Zukünftig könnte somit den Behörden mehr Zeit verschafft werden, um Warnmeldungen auszusprechen und die entsprechenden Maßnahmen zur Sicherung der Badenden vorzunehmen.

Methoden und Materialien

Für ein kontinuierliches Überwachen bestimmter wasserchemischer Parameter, die eine Algenblüte vorhersagen können, hat das TRITON-Wassersensor-System (Abbildung 1) ein großes Potential. Dieses System besteht zum einen aus einem optischen Sensormodul, welches UV-VIS-Absorptionsspektralanalysen im Bereich von 200 bis 800 nm liefert. A.U.G. Signals kann mit einem speziellen Algorithmus, der eigens für den Nitratsensor entwickelt wurde, die Nitrat-Peaks aus den Adsorptionsspektren herausselektieren und somit unabhängig von der Matrix die Nitratkonzentration im Wasser bestimmen. Ein zweites Modul, die Multiparametersonde Exo2 von YSI, misst leicht zugängliche wasserchemische Parameter wie pH-Wert, Temperatur, Leitfähigkeit, TDS, TSS, Trübung und gelösten Sauerstoff. Das wartungsarme TRITON-Wassersensor-System soll zukünftig vollständig autark Daten sammeln und per Internetzugriff fernüberwacht werden.



Abb. 1: TRITON-Wassersensor-System. **Links oben:** Computermodul. **Links unten:** Optisches Sensormodul. **Rechts:** Multiparametersonde Exo2 von YSI.

Das TRITON-Wassersensor-System kann mit einem Biosensor-Analysesystem kombiniert werden, welches mit einem Microarray-Chip-Reader (MCR-R) (GWK Präzisionstechnik GmbH, München, Deutschland) in automatisierter Form Cyanotoxine wie Microcystin-LR, Anatoxin-a oder Saxitoxin vollautomatisch bestimmt. Das Analyseprinzip beruht auf einem flussbasierten Chemilumineszenz-Mikroarray-Immuno-Assay. Für die Cyanotoxine wird ein indirekt kompetitiver regenerierbarer Mikroarray-Immuno-Assay verwendet, der gleichzeitig verschiedene Cyanotoxine innerhalb von 7 Minuten quantifizieren kann.

Um die Feldtauglichkeit des TRITON-Wassersensor-Systems zu testen, wurden im Zeitraum von Februar 2022 bis Juni 2022 einmal wöchentlich Feldmessungen durchgeführt und zusätzlich Proben genommen, welche anschließend im Labor analysiert wurden. Die Feldmessungen beinhalteten den Einsatz der Multiparametersonde, welche vor Ort für sechs Stunden in dem zu untersuchenden Gewässer in Ufernähe installiert wurde und im Abstand von 10 Minuten für alle Wasserparameter einen Messwert aufgenommen hat. Zusätzlich wurden für weitere Analysen jede Stunde eine Schöpfprobe von 1 L Volumen aus dem Gewässer gesammelt. Im Labor wurde die Nitratkonzentration in den gesammelten Proben mit dem Nitratsensor des TRITON-Wassersensor-Systems gemessen. Zusätzlich wurden Referenzmessungen durchgeführt, um die Messwerte

der Multiparametersonde und des Nitratsensors zu verifizieren. Erste Feldtests wurden am Wiesäckerbach auf Höhe des TUM Forschungszentrums in Garching bei München und an einem Weiher westlich von Günzenhausen durchgeführt.

Für die Referenzmessungen wurde ein Turb® 430 IR von WTW zur Messung der Trübung verwendet. Der pH-Wert und die Leitfähigkeit wurden mit einem inoLab® Multi 9630 IDS von WTW mit der IDS Präzisions-pH-Elektrode Sentix® 980 und der Leitfähigkeitsmesszelle TetraCon® 925 gemessen. Die Nitratkonzentration wurde nach der DIN 38405-9 [4] an einem NanoPhotometer™ von IMPLEN bestimmt.

Im Anschluss zu den wöchentlichen Feldmessungen wurde mit der Multiparametersonde im Zeitraum von August 2022 bis Oktober 2022 ein Langzeittest durchgeführt. Dabei wurde die Multiparametersonde dauerhaft im Kleinen Brombachsee installiert. Alle 30 Minuten wurde für die messfähigen wasserchemischen Parameter die entsprechenden Werte aufgenommen. Die Multiparametersonde wurde alle drei Wochen für Wartungszwecke und zum Kalibrieren der einzelnen Sensoren geborgen und anschließend wieder in dem Gewässer installiert.

Neben den Feldtests sollten im Labor weitere Untersuchungen durchgeführt werden. Dabei wurden Cyanobakterien unter bestimmten Nährstoffbedingungen in einem Photobioreaktor kultiviert und die Wasserparameter durchgehend mit dem TRITON-Wassersensor-System aufgezeichnet. Ziel des Laborversuchs war es, Wasserparameter zu bestimmen, welche auf einen exponentiellen Wachstumsschub der Cyanobakterien oder der Bildung von Cyanotoxinen hinwiesen. Die Antikörper-basierte Messung der Cyanotoxine sollte schlussendlich dazu dienen, dass wasserchemische Daten mit den mikrobiologischen Daten korreliert werden.

Der Photobioreaktor (Abbildung 2) wurde vom Werner Siemens-Lehrstuhl für Synthetische Biotechnologie (Prof. Brück) bereitgestellt und bestand aus vier Hauptkomponenten: einer Blasensäule, Leuchtstoffröhren, einem temperaturgesteuerten Wasserbad, und einer Luftpumpe.

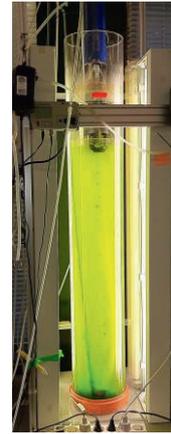


Abb. 2: Photobioreaktor mit integrierter Multiparametersonde

Die Blasensäule bestand aus zwei Plexiglaszylindern mit einer Wandstärke von 3 mm und Durchmesser von 17,9 cm sowie 21,3 cm. Der äußere Zylinder hatte eine Höhe von 105 cm und der innere betrug 67 cm. Der innere Zylinder wurde ca. 3 cm über dem Boden des Photobioreaktors montiert und endete etwa 10 cm unterhalb der Flüssigkeitssäule.

Luft wurde mit einer Pumpe (EHEIM, air pump 400) durch einen Diffusor mittig im inneren Zylinder durch den Photobioreaktor geströmt. Die im Inneren aufsteigenden Luftblasen erzeugten eine Zirkulation des Kulturmediums und sorgten für ausreichend Durchmischung innerhalb des Photobioreaktors.

Die Temperatur der Kultur wurde mit einem temperaturgesteuerten Wasserbad geregelt, von dem aus das Wasser durch einen im Photobioreaktor eingetauchten PVC-Schlauch zirkuliert wurde.

Insgesamt acht Leuchtstofflampen, die an zwei Seiten des Photobioreaktors angebracht waren, sorgten für kontinuierliche Beleuchtung. Die Lichtintensität konnte durch das Abschalten einzelner Leuchtstofflampen verändert werden.

Ergebnisse und Diskussion

Die wöchentlichen Messungen zeigten, dass sich die beobachteten Wasserwerte innerhalb der Messzeiträume nicht signifikant verändert haben.

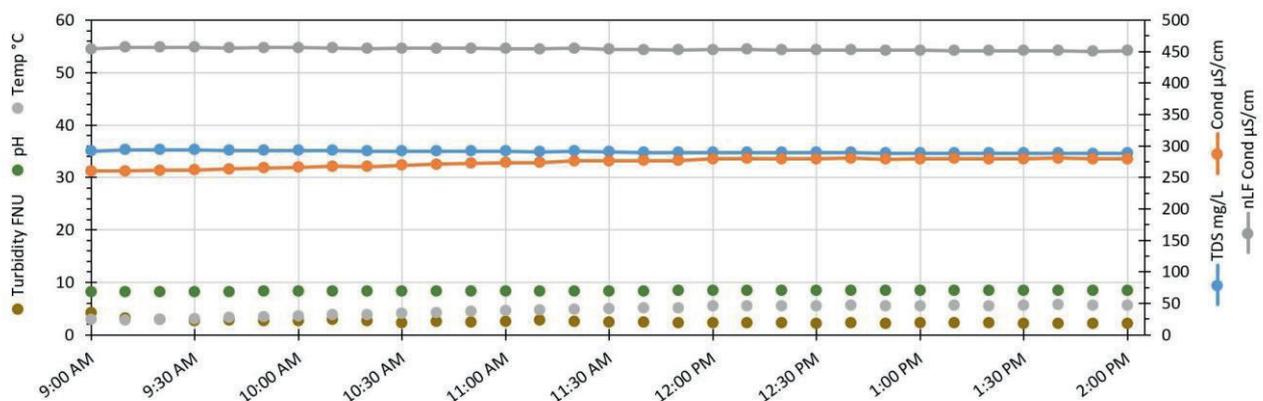


Abb. 3: Messergebnisse der Multiparametersonde gemessen am 08.03.2022 im Wiesäckerbach.

Exemplarisch ist in Abbildung 3 ein Datensatz vom 08.03.2022, gemessen am Wiesäckerbach, dargestellt. Die Temperatur ist über den gesamten Messzeitraum stetig von 2,8 auf 5,7 °C gestiegen, von der auch die Leitfähigkeit abhängt und somit ebenfalls einen Anstieg von 260,2 auf 280,9 $\mu\text{S}/\text{cm}$ aufweist. Die spezifische Leitfähigkeit blieb

Sauerstoff wies ähnliche Schwankungen wie die Temperatur auf und bewegte sich in einem Sättigungsbereich von 100 bis 150 %. Die Konzentration des gelösten Sauerstoffs im Wasser hängt von einigen Faktoren ab wie zum Beispiel von der Temperatur, der Durchmischung innerhalb des Wasserkörpers, der Fläche, die für den Gasaustausch mit

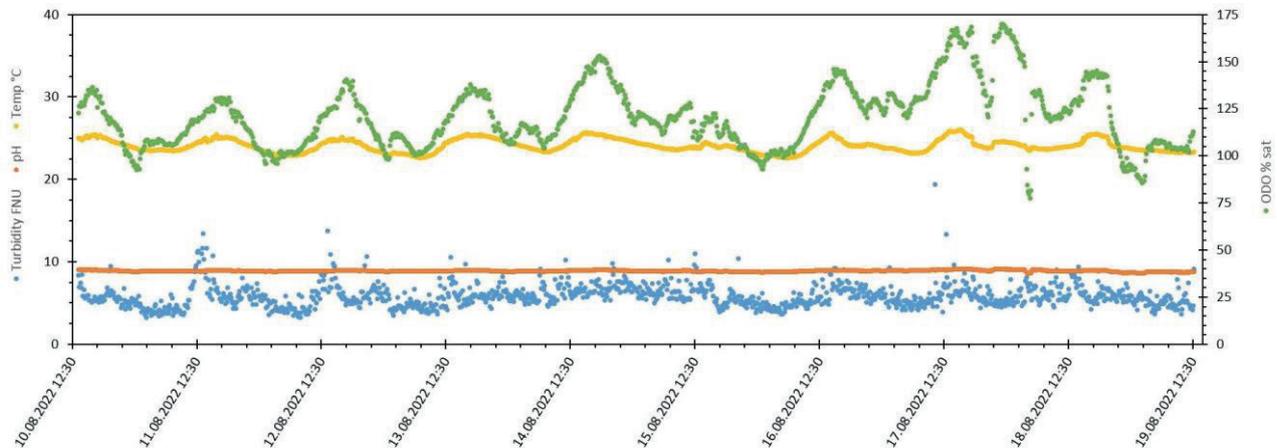


Abb. 4: Messergebnisse der Multiparametersonde gemessen im Zeitraum vom 10.08.2022 bis 19.08.2022 am Kleinen Brombachsee. stabil bei $453,9 \pm 3,1 \mu\text{S}/\text{cm}$ und die Trübung wies einen sehr geringen Wert mit einem Durchschnitt von $2,4 \pm 0,6 \text{ FNU}$ auf. Die Laboranalysen der Schöpfproben wiesen Nitratkonzentrationen von $4,22 \pm 0,13 \mu\text{g}/\text{L}$ auf. Im Gegensatz zu den wöchentlichen und zeitlich sehr begrenzten Feldmessungen am Wiesäckerbach und an dem Weiher westlich von Günzenhausen konnten die Langzeitmessung der Multiparametersonde im Kleinen Brombachsee deutlich zeigen, dass durch Tag- und Nachtwechsel, Regenereignisse und wetterbedingte Temperaturschwankungen signifikante Veränderungen der untersuchten Wasserparameter zu beobachten sind (Abbildung 4).

der Luft zur Verfügung steht, und von Sauerstoffproduktion oder -verbrauch durch photosynthetisch aktive Organismen. Der pH-Wert blieb über den Messzeitraum sehr stabil bei $8,98 \pm 0,08$.

Die Messergebnisse im Photobioreaktor (Abbildung 5) dagegen zeigten für alle Parameter mit Ausnahme der Temperatur sehr konstante Werte an. Die Sauerstoffsättigung betrug $107 \pm 1,2 \%$, der pH-Wert lag bei $9,98 \pm 0,29$ und die Trübung wies $0,1 \pm 0,6 \text{ FNU}$ auf. Die Temperatur betrug durchschnittlich $31,66 \pm 0,79 \text{ °C}$, wobei deutliche tageszeitabhängige Maxima und Minima, ähnlich der Temperaturkurve im Kleinen Brombachsee, zu erkennen sind.

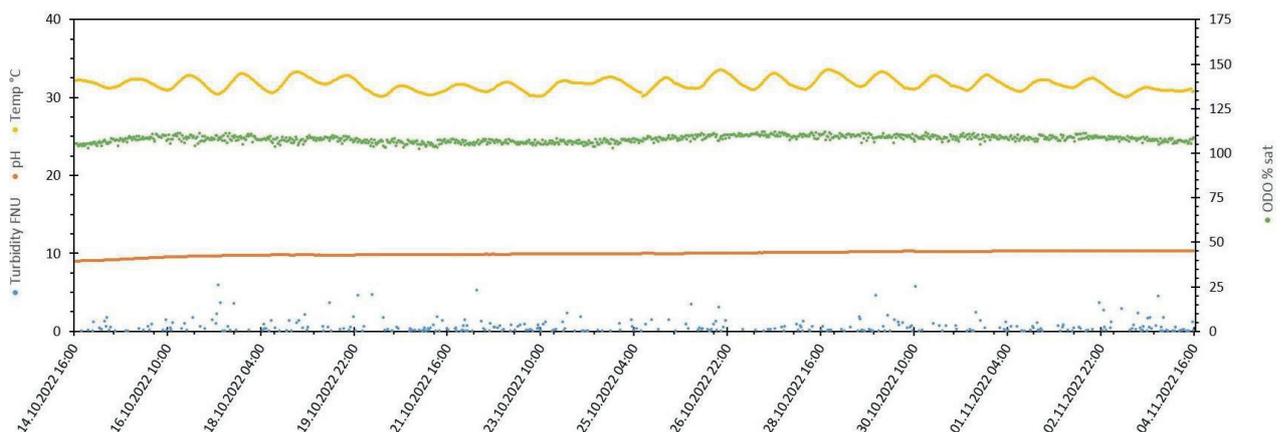


Abb. 5: Messergebnisse der Multiparametersonde gemessen im Zeitraum von 14.10.2022 bis 04.11.2022 im Photobioreaktor.

Die Temperatur und die Sauerstoffsättigung im Wasser wurden deutlich von den Tag- und Nachtzyklen beeinflusst. Die Wassertemperaturen erreichten zwischen 16 und 18 Uhr ihr Tagesmaximum von durchschnittlich $25,3 \text{ °C}$ und die Tagestiefstwerte von durchschnittlich $23,25 \text{ °C}$ wurden zwischen 6 und 8 Uhr morgens verzeichnet. Der gelöste

Zusammenfassung und Ausblick

Die Versuche haben gezeigt, dass die Multiparametersonde im Labor als auch im Feld über einen längeren Zeitraum zuverlässig und wartungsarm arbeitet und kontinuierlich Daten erzeugt. Für eine Einbindung aller online-Sensoren eines Frühwarnsystems mit Echtzeit-Datenanalyse wird

eine umfassende Infrastruktur mit klimatisiertem und wassergeschütztem Raum und eine Verbindung mit dem Internet benötigt. Mit geeignetem 230 V Stromanschluss ist das TRITON-Wassersensor-System in der Lage über eine Internetverbindung die Daten in einer Cloud zu speichern, damit in einem Datenbanksystem über einen Algorithmus eine Algenblüte vorhergesagt werden kann.

Dadurch verliert die Multiparametersonde von YSI aber ihre Mobilität und Autarkie. Lösungen für dieses Problem bietet zum Beispiel die Waterscope Inc. (Budapest, Ungarn) mit der kommerziell erhältlichen WSB Smart Buoy. Dabei handelt es sich um eine batteriebetriebene Boje mit integrierten Sensoren an der Unterseite, dessen Datenerfassungseinheit mittels moderner Funkwellen- oder GSM-basierter NarrowBand-IoT Technologie die ermittelten Wasserparameter in Echtzeit übertragen kann. Durch die mobile Datenverbindung kann die Boje vielfältig und an schwer zugänglichen Bereichen eingesetzt werden.

Der optische Nitratsensor des TRITON-Wassersensor-Systems ist wichtig für die Vorhersage der Algenblüten und könnte ein Vorteil gegenüber anderer Multiparametersonden darstellen. Die meisten Systeme beschränken sich auf die Ermittlung von einfachen Wasserparameter wie pH, Trübung, Leitfähigkeit, ODO, TDS, TSS, Temperatur und ORP. Der optische Nitratsensor ist jedoch noch nicht onlinefähig. Für die Einbindung in ein Cloud-basiertes Online-Frühwarnsystem muss die Prozessierung der Spektren automatisiert und onlinefähig gemacht werden. Ein zusätzlicher Gewinn für das TRITON-Wassersensor-System als Multisensorplattform für ein Frühwarnsystem wäre die Einbindung eines optischen Phosphatsensors, welcher auf denselben grundlegenden Mess- und Auswertungsprinzipien des Nitratsensors basieren könnte. Die Microarray-Analyseplattform MCR R ist für das online-Monitoring geeignet und könnte spezifisch und schnell Daten für die gebildeten Toxine Mikrocystin LR, Anatoxin und Saxitoxin liefern.

Allein durch die starken Schwankungen der relevanten Wasserparameter über den kompletten Tag verteilt oder durch isolierte und unregelmäßige Wetterereignisse ist es schwierig einen Trend auszumachen, welcher eindeutig auf eine bevorstehende Algenblüte hinweist.

Es ist unerlässlich erst einmal unter definierten Bedingungen eine Algenblüte zu erzeugen. Aus diesem Grund wurde in Zusammenarbeit mit dem Werner Siemens-Lehrstuhl für Synthetische Biotechnologie (Prof. Brück) ein Photobioreaktor aufgebaut. Hier kann sowohl die TRITON-Messsonde als auch der MCR R für ein online-Monitoring eingesetzt werden. Nur so kann erforscht werden, welche Einflüsse auf chemischer oder biologischer Ebene eine Algenblüte mit Bildung von Cyanotoxine hervorruft. Diese Daten sollen in einer Datenbank zusammengeführt werden, damit über eine Korrelationsanalyse schlussendlich ein Vorhersagemodell erstellt werden kann.

Es muss durch weitere Forschung herausgefunden werden, welche einfach zu überwachenden wasserchemischen Parameter für ein Vorhersagemodell ausreichen. Will man einen auf maschinelles Lernen basierten Algorithmus entwickeln, wird es unerlässlich sein, die ermittelten Lerndaten mit den selektiven Biosensordaten zu vergleichen. Nur so kann das Vorhersagemodell kontinuierlich verbessert werden und schließlich die Zielvariablen des Algenwachstums und der Toxinbildung mit einem hohen Maß an Genauigkeit vorhergesagt werden. Ein solches Frühwarnsystem könnte es den Behörden ermöglichen, das Risiko von Algenblüten auf täglicher Basis zu bewerten, was für sicheres Trinkwasser und zum Schutz von Badenden wichtig ist.

Literatur

- [1] Heisler, J.; et al.: Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus. In: *Harmful algae*. 8 (2008), Nr. 1, S. 3-13
- [2] Zanchett, G.; Oliveira-Filho, EC.: Cyanobacteria and cyanotoxins: from impacts on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. In: *Toxins*, 5 (2013) Nr. 10, S. 1896-1917.
- [3] Badewasserrichtlinie (EG-BadewRL) Richtlinie 2006/7/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. Februar 2006 über die Qualität von Badegewässern und deren Bewirtschaftung und zur Aufhebung der Richtlinie 76/160EWG.
- [4] DIN 38405-9 (2011), Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Anionen (Gruppe D) – Teil 9: Photometrische Bestimmung von Nitrat (D 9)

Danksagung

Das Projekt wurde gefördert vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) über die Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen „Otto von Guericke“ e.V. (AiF) im Rahmen des Programms „Zentrales Innovationsprogramm Mittelstand“ (ZIM)-Kooperationen unter dem Förderkennzeichen ZF 4630602RH9.

Ein besonderer Dank gilt dem Werner Siemens Lehrstuhl für Synthetische Biotechnologie der TUM für die Bereitstellung des Photobioreaktors, des zugehörigen Equipments und Materialien. Im Besonderen gilt mein Dank Herr Prof. Brück für das Ermöglichen der Zusammenarbeit und dem Bereitstellen des technischen Equipments. Im Weiteren möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Lehrstuhls für die Unterstützung bezüglich der Umsetzung der Labortätigkeiten und bei wissenschaftlichen Fragestellungen bedanken. Insbesondere bedanke ich mich bei PD Dr. Norbert Mehler, Michael Paper und Linda Keil für die Unterstützung und wissenschaftlichen Diskussionen.