

# Mikrobielle Elektrolysezellen: dreidimensionale Charakterisierung einer mit Bakterien bewachsenen Elektrodenoberfläche mithilfe hochauflösender Röntgen- Computertomografie und Röntgenkontrastmittel

Sascha SENCK \*, Markus KASTNER \*\*, Dietmar SALABERGER \*,  
Anita FUCHSBAUER \*\*\*, Johann KASTNER \*  
\* FH OÖ Forschungs & Entwicklungs GmbH, Wels, Österreich  
\*\* FH OÖ Forschungs & Entwicklungs GmbH, Linz, Österreich  
\*\*\* PROFACTOR GmbH, Steyr-Gleink, Österreich

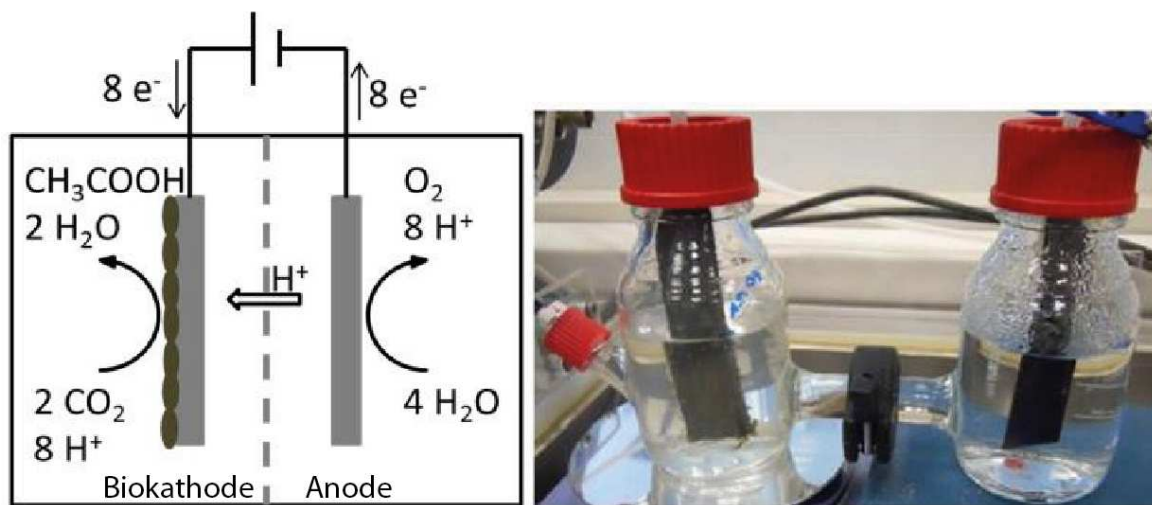
**Kurzfassung.** Mikrobielle Elektrolysezellen (Microbial Electrolysis Cell, MEC) sind eine innovative Möglichkeit zur effizienten Speicherung von regenerativer Energie in Form von Energieträgern mit hoher Energiedichte, z.B. Methan. Der Wirkungsgrad der MEC hängt vor allem von der Ausdehnung der Bakterien- bzw. des bakteriellen Biofilms auf der bewachsenen Elektrodenoberfläche ab. Um die optimale Ausdehnung des Biofilms in Hinblick auf den Wirkungsgrad der MEC zu ermitteln, ist es deshalb nötig das Elektrodenmaterial (Graphitfilz) und den Bakterienbewuchs auf den Elektroden dreidimensional zu charakterisieren. Dabei ist die zerstörungsfreie Ermittlung der Porosität und der Hohlraumstruktur der Elektroden, sowie die Quantifizierung der Ausdehnung des Biofilms, nur mittels hochauflösender Röntgen-Computertomografie (XCT) möglich.

In einer Vorstudie werden verschiedene Bakterienstämme im Graphitfilz kultiviert und durch Kontrastmedien gefärbt, um deren Röntgendichte zu erhöhen und sie mittels hochauflösender CT räumlich darzustellen. Röntgenkontrastmittel enthalten Elemente mit hoher Ordnungszahl, wie z.B. Gold, Osmium, Barium und Iod, die Röntgenstrahlen effizient absorbieren. Die mit dem Biofilm bewachsenen Graphitfilme werden mithilfe eines hochauflösenden XCT-Systems (Nanotom, GE) gemessen. Als Referenzmethoden zur Charakterisierung des Elektrodenmaterials und Bakterien-Biofilms dient Lichtmikroskopie.

Die qualitative Auswertung der CT-Analysen zeigt, dass die dreidimensionale Faserstruktur des Graphitfilzes genügend große Hohlräume zum Eindringen und Aufwachsen der Bakterien aufweist. Mithilfe von Bariumsulfat ist es schließlich möglich den Kontrast zwischen wässrigem Medium und Biofilm zu erhöhen. Weitere Studien sollen untersuchen, ob eine Kombination verschiedener Röntgenkontrastmittel zu einer genauen Quantifizierung der Ausdehnung des Bakterienbewuchses führen kann.

## 1. Einführung

In der klassischen mikrobiellen Elektrolysezelle (microbial electrolysis cell, MEC) zersetzen Bakterien organische Verbindungen und geben dabei Wasserstoff ab [1]. Durch eine neuartige Kombination aus einem elektrochemischen und biotechnologischen Prozess wird das Konzept der MECs in dem hier vorgestellten Versuchsaufbau grundlegend weiterentwickelt. Im Unterschied zur klassischen MEC produzieren die Bakterien in dieser modifizierten MEC keinen Wasserstoff, sondern je nach Bakterienart z.B. Essigsäure oder Methan (siehe Abb. 1) [2]. Das Hauptziel dieses Ansatzes ist die Speicherung von diskontinuierlich erzeugtem regenerativen Strom in Form von flüssigen oder gasförmigen Energieträgern hoher Energiedichte. Der Einsatz von Kohlendioxid als Grundbaustein und regenerativer Energie garantiert dabei eine neutrale CO<sub>2</sub>-Bilanz. Weitere Vorteile dieser MECs sind unter anderem milde Reaktionsbedingungen, eine hohe Produktspezifität sowie die Verwendung kostengünstiger Materialien.



**Abb. 1.** Modifizierte MEC zur Produktion von Essigsäure bzw. Methan. Links: Schematischer Aufbau einer Zweikammer-MEC (nach Nevin [2]). Ein Teil des Biofilms, der sich auf der Kathode anlagert, besteht aus azetogenen Bakterien, die Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) zu Essigsäure (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) reduzieren. Die entstandene Essigsäure kann durch andere Bakterien zu Methan abgebaut werden. Rechts: In der Studie verwendeter Versuchsaufbau einer Zweikammer-MEC bestehend aus einer H-Zelle, in denen sich die Kathode (links: Graphitfilz mit Biofilm) und Anode (rechts: DSA) befinden. Die Glasbehälter sind durch eine Ionaustauschmembran (Cation Exchange Membrane CMI-7000) miteinander verbunden.

Eine wesentliche Komponente einer MEC ist die mit dem regenerativ erzeugten Elektronenstrom durchflossene Elektrode. Das Elektrodenmaterial soll neben der guten elektrischen Leitfähigkeit eine große Oberfläche und eine über das Volumen durchgängige und genügend große Hohlraumstruktur zum Eindringen der Bakterien und Anwachsen eines bakteriellen Biofilms aufweisen. Biofilme bestehen aus einer Schleimschicht in der die Mikroorganismen eingebettet sind und entstehen, wenn Mikroorganismen sich an Grenzflächen ansiedeln [1]. Die Vorteile des in diesem Versuchsaufbau verwendeten Graphitfilzes sind z.B. die geringe Dichte und thermisch wirksame Masse, eine hohe thermische Resistenz, sowie wenig Asche- und Schwefelbestandteile. Die Bakterien selbst nehmen von den Elektroden Elektronen auf und reduzieren je nach Bakterienart CO<sub>2</sub> zu Essigsäure (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>) oder Methan (CH<sub>4</sub>).

Eine große Rolle für den Wirkungsgrad der MEC spielt vor allem die dreidimensionale Ausdehnung der Bakteriensicht im Elektrodenmaterial. Die Ermittlung der Porosität und der Hohlraumstruktur der Elektroden, sowie die räumliche Ausdehnung der Bakteriensicht im Elektrodenmaterial ist in diesem Zusammenhang nur mittels

hochauflösender Röntgen-Computertomografie (XCT) mit Voxelgrößen im Mikrometerbereich möglich. Biologische Zellen und Gewebe bestehen allerdings aus Elementen mit niedriger Ordnungszahl, wie z.B. Kohlenstoff und Sauerstoff, die wenig Kontrast in Röntgenbildern produzieren. Obwohl XCT die zerstörungsfreie Visualisierung von Objekten ermöglicht, sind XCT-Verfahren durch einen relativ schlechten Kontrast in ungefärbten Zellen und Geweben beschränkt. Um diese effektiv visualisieren zu können, müssen Strukturen von Interesse mit einem geeigneten Medium markiert werden [4]. Röntgenkontrastmittel enthalten Elemente mit hoher Ordnungszahl, wie z.B. Iod, Osmium, Gold oder Barium, die Röntgenstrahlen effizient absorbieren. Eine Reihe von Kontrastmitteln sind bereits in biologischen XCT-Untersuchungen verwendet worden, z. B. Osmiumtetroxid ( $\text{OsO}_4$ ) und Gold [5, 6]. Während diese Kontrastmittel direkt die Zellmembran färben, diffundiert Bariumsulfat ( $\text{BaSO}_4$ ) nicht in die Zelle bzw. Zellmembran, sondern erhöht den Kontrast zwischen bakteriellem Biofilm und dessen Umgebung. Voraussetzung für eine Kontrastierung des die Bakterien umgebenden wässrigen Mediums ist jedoch, dass die Bariumsulfat-Partikel nicht in den Biofilm eindringen können. Um dies zu gewährleisten wird eine medizinische Bariumsulfat-Lösung verwendet, deren durchschnittliche Partikelgröße bei ca.  $1\ \mu\text{m}$  liegt. Bereits in früheren XCT-Studien wurde gezeigt, dass Partikel dieser Größe aufgrund einer Größenexklusion nicht in den bakteriellen Biofilm eindringen können [7]. Somit werden nur Bereiche angefärbt, in denen kein Biofilm zu finden ist (negatives Kontrastmittel).

In dieser Vorstudie wird eine bakterielle Mischkultur auf einem Graphitfilz kultiviert und durch ein negatives Kontrastmedium gefärbt (Bariumsulfat). Da die Präparation des sich in der MEC befindlichen bewachsenen Graphitfilzes als sehr schwierig gestaltet, werden für die hier vorgestellten ex-situ Untersuchungen an mit Filz bestückten Probenbehältern durchgeführt. Dadurch soll sichergestellt werden, dass der Biofilm nicht während der Präparation der Proben zerstört wird. Mittels XCT wird dann getestet, ob die die Bakterien umgebene Nährlösung räumlich darzustellen ist. Computertomographie (CT) ist ein bildgebendes Verfahren, in dem durch rechnerbasierte Auswertung einer Vielzahl, aus verschiedenen Richtungen aufgenommenen Röntgenaufnahmen eines Objektes Schnittbilder erzeugt werden. Die so gewonnenen Schnittbilder können dann zu einem dreidimensionalen Volumendatensatz zusammengesetzt werden. Mikro-CT-Systeme erreichen die höchsten Auflösungen konventioneller CT-Geräte. Hier wird mit speziellen Röntgenquellen gearbeitet, die sehr kleine Brennflecke besitzen. Durch den Einsatz von Detektoren mit hoher Auflösung sind damit Detailerkennbarkeiten bis unter  $1\ \mu\text{m}$  erreichbar, wobei bei dieser Voxelgröße die Objektgröße auf wenige Millimeter beschränkt ist. Aus diesem Grund werden in dieser Studie spezielle Probenbehälter verwendet, die mithilfe von Mikro-Stereolithographie hergestellt wurden. Der Außendurchmesser dieser Probenbehälter beträgt 2mm, was im Hinblick auf das verwendete XCT-System eine Voxelgröße von ca.  $1\ \mu\text{m}$  ermöglicht. Neben diesen Miniatur-Probenbehältern werden außerdem Versuche an mit Graphitfilz bestückten Mikroskop-Objektträgern durchgeführt. Dies hat zum einen den Vorteil, dass mithilfe von Lichtmikroskopie (light optical microscopy, LOM) überprüft werden kann, wie stark sich der Biofilm innerhalb einer gewissen Zeit auf den Graphitfasern ausgebreitet. Zum anderen können die Objektträger zusätzlich mithilfe von XCT zwei- und dreidimensional untersucht werden.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Proben und Versuchsaufbau

Als Elektrodenmaterial wurde ein Sigracell® - Graphitfilz der Firma SGL CARBON SE (Deutschland) verwendet. Dieser zeichnet sich durch eine gute elektrische Leitfähigkeit, eine hohe offene Porosität (Dichte: 0,1 g/cm<sup>3</sup>), eine Faserdichte von 1,8 g/cm<sup>3</sup> und einem ungefähren durchschnittlichen Faserdurchmesser von 12 µm aus. Für die verschiedenen Untersuchungen wurden kleine Filzstücke (ca. 2 x 2 mm) präpariert und autoklaviert. Die verwendeten Bakterienkulturen wurden aus dem Klärschlamm einer Abwasserkläranlage (Asten, Österreich) entnommen. Die entnommene Probe wurde zentrifugiert und der Überstand in einem Nährmedium aufgenommen. Die Headspace-Röhrchen wurden dann mit CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> (20:80) begast und in einem Inkubator bei 38°C inkubiert.

Als Probenbehälter dienen zum einen Objektträger für Mikroskope. Mithilfe zweier Styroporstreifen, die auf dem Objektträger befestigt wurden, wurde ein zentraler Bereich von ca. 2 x 2 cm geschaffen, auf dem der autoklavierte Graphitfilz aufgebracht wurde. Anschließend wurde der Graphitfilz mit einem Deckgläschen bedeckt, welches mit Sekundenkleber auf den Styroporstreifen befestigt wurde. Zwischen den Objektträger und das Deckglas wurde die Mischkultur-Suspension injiziert, sodass der Zwischenraum vollständig mit der Suspension gefüllt war. Die fixierten Deckgläser wurden anschließend in eine mit Nährmedium befüllte Petrischale überführt und bei 30 °C für 12 Tage inkubiert. Um sicherzugehen, dass sich der Biofilm auf dem Graphitfilz ausbreitet, wurde jeder Objektträger nach sechs Tagen unter dem Mikroskop überprüft. Als weiterer Probenbehälter wurde ein Mikrostereolithographie-Container aus Photopolymer (Dichte: 1,2 g/cm<sup>3</sup>) verwendet, der von der Firma Fotec (Wiener Neustadt, Österreich) hergestellt wurde. Dieser zeichnet sich durch eine Höhe von 4 mm, einen Durchmesser von 2mm und eine mittlere Wanddicke von ca. 0,2 mm aus. Aufgrund des Designs und der kleinen Ausmaße des Mikrostereolithographie-Probenbehälters ist es möglich, den mit Filz und Mischkultur-Suspension bestückten Behälter mit einer hohen Auflösung zu scannen. Die bestückten Mikrostereolithographie-Container wurden ebenfalls bei 30 °C in einem mit Nährmedium befüllten Plastikbehälter für 7 Tage inkubiert. Insgesamt wurden sechs präparierte Objektträger und vier bestückte Mikrostereolithographie-Probenbehälter für diese Studie verwendet. Zusätzlich wurde ein hochauflösender Scan eines trockenen Graphitfilzes mit einer Auflösung von 0,75 µm durchgeführt. Dazu wurde ein kleines Stück Filz zugeschnitten und in ein Plastikröhrchen mit einem Innendurchmesser von ca. 1mm überführt.

### 2.2 Hochauflösende Röntgen-Computertomografie und Röntgenkontrastmittel

Für die hochauflösenden Scans wurde in dieser Studie ein GE phoenix nanotom® s – System verwendet. Das Gerät zeichnet sich durch eine Nanofokusröhre mit einer maximalen Röhrenspannung von 180 kV, einem digitalen Detektor mit 2304 x 2304 Pixel und einer maximalen Voxelgröße von > 0,5 µm aus. Für die Auswertung der 3D-XCT-Daten diente VGStudioMax 2.2 (Volume Graphics). Die Scanparameter wurden für die jeweiligen Probenbehälter angepasst. Tabelle 1 listet die Einstellungen für die jeweiligen Scans auf.

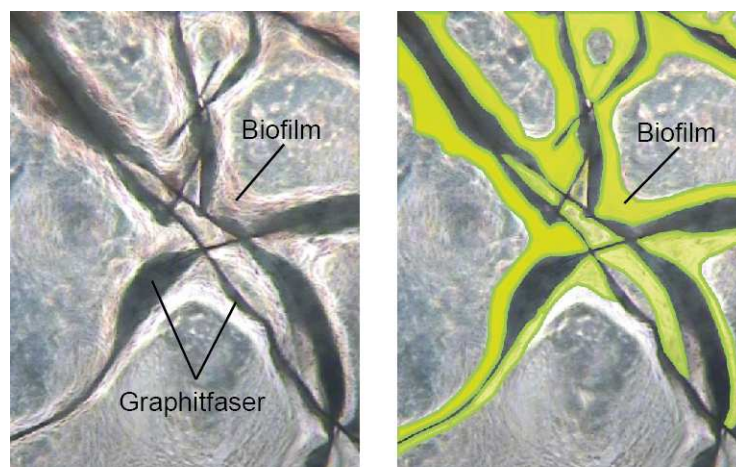
**Tabelle 1.** Scanparameter. Spannung (U), Stromstärke (I), Integrationszeit, Anzahl der Projektionen, Pixelgröße (2D) und Voxelgröße (3D)

	U (kV)	I ( $\mu$ A)	Integrationszeit (ms)	Projektionen	Pixelgröße
<b>Objektträger (2D)</b>	65	230	1800	1	1,7 - 10
<b>Objektträger (3D)</b>	70	150	1300	1700	<b>Voxelgröße</b> 12,5
<b>Probenbehälter</b>					
Trockener Filz	60	410	1200	1700	0,75
Bewachsener Filz	60	170	1300	1900	1,3

Als Röntgenkontrastmittel wurde eine medizinische Bariumsulfatlösung der Firma Bracco verwendet (Prontobario®), deren durchschnittliche Partikelgröße bei ca.  $1\mu\text{m}$  liegt. Für die Versuche wurde eine Suspension mit einem Bariumsulfat-Wasser-Verhältnis von 1:4 verwendet, welche mithilfe einer Pipette in den Zwischenraum zwischen Objektträger und Deckglas bzw. in den Mikrostereolithographie-Container appliziert wurde. Beide Probenbehälter wurden anschließend mit Plastilin verschlossen, um zu verhindern, dass das Bariumsulfat entweicht und die Probe austrocknet. Im Unterschied zu den XCT-Scans wurden die Proben für die 2D-Aufnahmen nicht rotiert. Die resultierende Radiographie wurde aus zehn Einzelprojektionen gemittelt. Die geometrische Vergrößerung wurde für aufeinanderfolgende Aufnahmen erhöht (Übersicht:  $10\mu\text{m}$ , Detailaufnahme:  $1,7\mu\text{m}$ ). LOM-Bilder des bestückten Objektträgers, die vor der Kontrastierung aufgenommen wurden, um die Ausdehnung des Biofilm visuell bzw. qualitativ zu ermitteln, dienen als Vergleich zu den Radiographien.

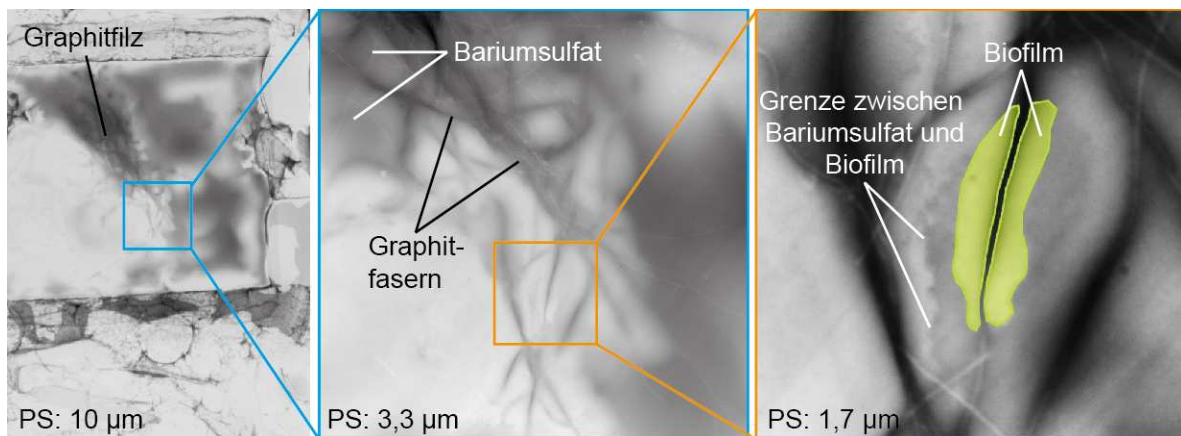
### 3. Ergebnisse

In Abbildung 2 ist eine LOM-Aufnahme ( $100\times$  Vergrößerung) des bewachsenen Graphitfilzes auf einem Objektträger zu sehen. Nach 12 Tagen Wachstum hat sich der Biofilm gleichmäßig an den dargestellten Fasern angelagert. Zur Hervorhebung wurde der Biofilm mithilfe von Photoshop (Adobe) farblich hervorgehoben (rechts).



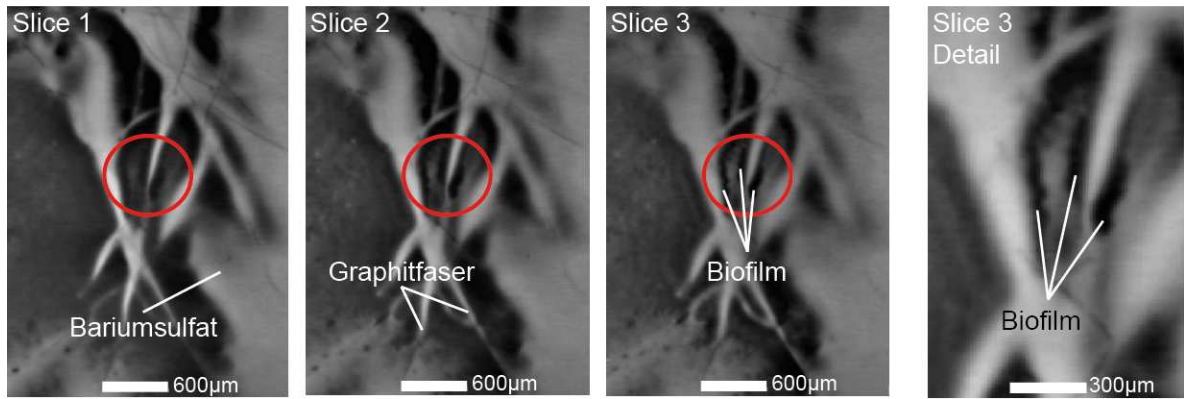
**Abb. 2.** Lichtmikroskop-Aufnahme ( $100\times$  Vergrößerung) eines mit bakteriellem Biofilm bewachsenen Graphitfilzes. Links: Originalaufnahme. Rechts: Farblich hervorgehobener Biofilm.

Abbildung 3 zeigt die gleiche Probe wie oben, nachdem diese mit Bariumsulfat gefärbt und gescannt wurde (siehe Tab. 1; Objektträger: 2D). Da es sich hierbei um Radiographie-Aufnahmen handelt, sind dichtere Bereiche dunkel und weniger dichte Bereiche hell dargestellt. In der Übersichtsaufnahme (links) ist zu erkennen, dass das Bariumsulfat (dunkel) ungleichmäßig verteilt ist und sich vor allem im Bereich des Filzes und rechts davon konzentriert. Dies ist darauf zurückzuführen, dass ein Teil der Röntgenkontrastmittels während der Bariumsulfat-Applikation durch eine undichte Stelle wieder ausgetreten ist. In der ersten Detailaufnahme (blau umrandet, Mitte) lassen sich die einzelnen Graphitfasern und die mit Bariumsulfat gefärbten Bereiche gut voneinander unterscheiden. Bei höherer Vergrößerung (orange umrandet, rechts) lassen sich hellere Bereiche, die an Graphitfasern grenzen, deutlich von dunkleren Bereichen, in denen Bariumsulfat zu finden ist, unterscheiden. Die Grenze zwischen Bariumsulfat und Biofilm ist deutlich zu erkennen. Der zentrale Bereich dieser Detailaufnahme, in dem ebenfalls Biofilm zu sehen ist, wurde mit Hilfe von Photoshop (Adobe) farblich hervorgehoben. Wie für die Ausbreitung von Biofilm charakteristisch, breitet sich dieser entlang den einzelnen Fasern aus (siehe Abb. 2).



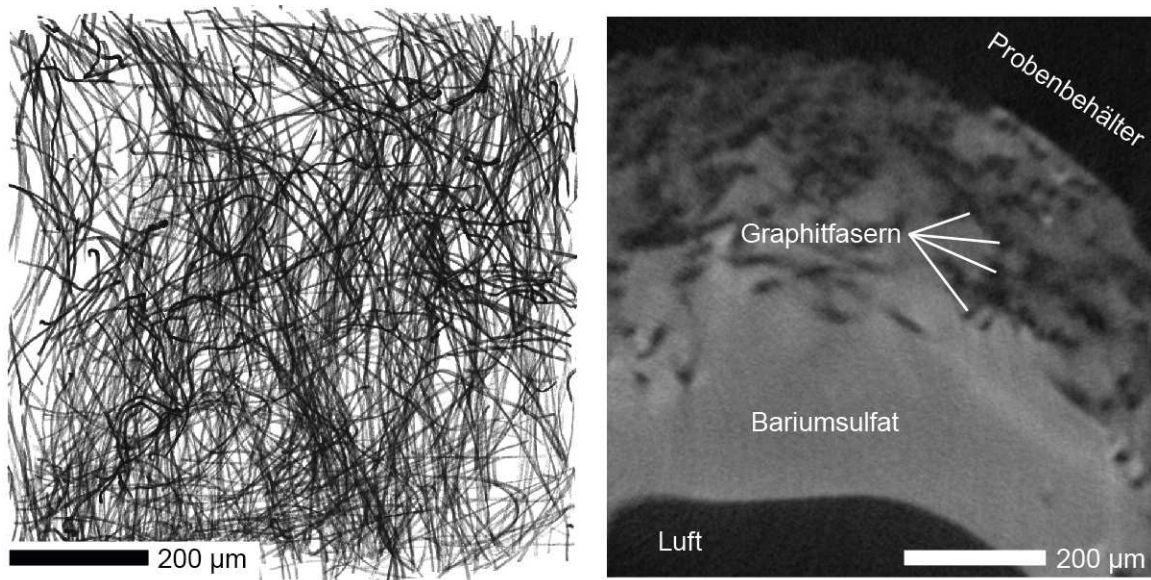
**Abb. 3.** Radiographie-Aufnahmen eines mit Bariumsulfat gefärbten bewachsenen Graphitfilzes nach 12 Tagen Wachstum. Links: Übersichtsaufnahme mit einer Pixelgröße (pixel size, PS) von 10µm. Mitte: Radiographie mit einer Pixelgröße von 3,3 µm. Die einzelnen Graphitfasern und die mit Bariumsulfat gefärbten Bereiche lassen sich gut unterscheiden. Rechts: Detailaufnahme mit einer Pixelgröße von 1,7 µm. Die Bereiche in denen Biofilm zu finden ist sind farblich hervorgehoben. Erkennbar ist zudem die Grenze zwischen gefärbter wässriger Umgebung und dem Biofilm selbst.

Um sicherzustellen, dass die Grenzen zwischen Biofilm und Bariumsulfat in wässriger Lösung nicht auf Superposition-Artefakte zurückzuführen sind, wurde ein XCT-Scan des kompletten Objektträgers durchgeführt (siehe Tab. 1; Objektträger: 3D). Abbildung 4 zeigt aufeinanderfolgende XCT-Schnittbilder (Slices) des mit Biofilm bewachsenen und mit Bariumsulfat gefärbten Graphitfilzes auf einem Objektträger. Der Bereich, der in der Radiografie-Detailaufnahme gekennzeichnet ist (Abb. 3, rechts), ist in dieser Abbildung mit einem roten Kreis gekennzeichnet. Nach der Rekonstruktion der Volumendaten erscheinen dichtere Bereiche (Bariumsulfat und mit Bariumsulfat gefärbte Fasern) hell und weniger dichte Bereiche (Biofilm und Luft) dunkel. Es ist zu erkennen, dass sich die Bereiche in denen sich der Biofilm befindet, nicht auf eine einzelne Schicht beschränkt ist, sondern eine räumliche Ausdehnung (hier in XZ-Richtung) aufweist. Die Detailaufnahme von Slice 3 zeigt deutliche die charakteristische Form und Lage des Biofilms, der in diesen XCT-Schnittbildern dunkel dargestellt ist.



**Abb. 4.** XCT-Schnittbilder des mit Biofilm bewachsenen und mit Bariumsulfat gefärbten Graphitfilzes (auf Objektträger). Voxelgröße: 12,5 µm. Bereiche mit Biofilm sind rot hervorgehoben. Rechts: Detailaufnahme von Slice 3 in denen die charakteristische Form und Lage des Biofilms (dunkel) zu sehen ist.

In Abbildung 5 ist die 3D-Darstellung eines unbewachsenen (links) sowie ein XCT-Schnittbild eines bewachsenen und mit Bariumsulfat gefärbten Filzes (rechts) zu sehen. Der hochauflösende Scan des unbewachsenen Filzes mit einer Voxelgröße von 0,75 µm zeigt die hohe offene Porosität des Elektrodenmaterials. Beim Befüllen des bewachsenen Filzes im Mikrostereolithographie-Container mit Bariumsulfat lies es sich bei den in dieser Vorstudie bestückten Proben nicht vermeiden, dass Lufteinschlüsse in der Probe verbleiben, wie in Abbildung 5 (rechts) zu sehen. Die Filzfasern am oberen Rand dieser Probe sammelten sich zudem entlang der Wand des Probenbehälters. Obwohl die einzelnen Graphitfasern zu erkennen sind, lässt sich der bakterielle Biofilm in dieser Versuchsanordnung nicht eindeutig nachweisen. Die äußeren Bereiche der Probe in denen die Fasern konzentriert sind lassen zwar Bereiche mit niedrigen Grauwerten erkennen, die auf Agglomeration von Fasern schließen lassen, in denen möglicherweise Biofilm vorhanden ist. Der Biofilm ist, auch aufgrund des geringen Kontrasts zwischen Fasern und Biofilm, in den untersuchten Proben allerdings nicht zweifelsfrei zu erkennen.



**Abb. 5.** Links: Trockener Graphitfilz. Voxelgröße 0,75 µm. Volume rendering. Rechts: Mit Biofilm bewachsener und mit Bariumsulfat gefärbter Graphitfilz in Mikrostereolithographie-Container. Voxelgröße 1,3 µm. Luftpneinschlüsse verhindern eine gleichmäßige Diffusion des Röntgenkontrastmittels in der Probe. Bereiche mit niedrigem Grauwert lassen auf Agglomerationen von Graphitfasern (möglicherweise von Biofilm umgeben) schließen. Ein Biofilm lässt sich allerdings in dieser Probe nicht zweifelsfrei nachweisen.

## 4. Diskussion

Der Wirkungsgrad einer MEC hängt in erster Linie von der räumlichen Ausdehnung des bakteriellen Biofilms im Elektrodenmaterial ab. Je mehr Bakterien sich auf dem Substrat ansiedeln, desto höher ist die Ausbeute an z.B. Essigsäure oder Methan. Die optimalen Wachstumsbedingungen für Bakterien und somit die idealen Betriebsbedingungen für eine MEC werden unter anderem von Faktoren wie pH-Wert, Temperatur und Nährmedium bestimmt. Diese Parameter beeinflussen maßgeblich die Ausbreitung des bakteriellen Biofilms. Dieser besteht aus einer Schleimschicht in der die Mikroorganismen eingebettet sind und bietet Schutz vor veränderten Umweltbedingungen. Um den Biofilm effektiv mit XCT visualisieren zu können, müssen jedoch entweder die Zellen an sich oder das sie umgebene Medium gefärbt werden. Während Kontrastmittel wie Osmiumtetroxid oder Gold die Zellmembran direkt färben, diffundiert Bariumsulfat nicht in die Zelle bzw. Zellmembran sondern erhöht den Kontrast zwischen bakteriellem Biofilm und dessen wässriger Umgebung. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass sich mithilfe dieses negativen Röntgenkontrastmittels Biofilm in Graphitfilz nachweisen lässt. Im Gegensatz zu früheren Studien, die das Biofilm-Wachstum in Granulat dokumentierten [7, 8], ist der Nachweis von Biofilm im Elektrodenmaterial einer MEC ein praktisches Beispiel für den Nutzen der zerstörungsfreien Prüfung mithilfe von XCT und Röntgenkontrastmitteln.

Das ultimative Ziel unseres Ansatzes ist die Dokumentation des Biofilm-Wachstums mittels hochauflösender CT, um die Betriebsbedingungen für eine MEC in Hinsicht auf die Produktausbeute zu optimieren. Dabei spielt vor allem räumliche Ausdehnung des bakteriellen Biofilms im Elektrodenmaterial eine wesentliche Rolle, da sich dieser unter Umständen durch eine Limitation der Diffusion von Nährstoffen in die zentralen Bereiche der Biokathode nicht ausbreiten kann.

## Acknowledgements

Dieses Projekt wurde im Rahmen des Programms Regionale Wettbewerbsfähigkeit OÖ 2007-2013 aus Mitteln des Europäischen Fonds für Regionale Entwicklung sowie aus Mitteln des Landes OÖ gefördert.

## Referenzen

- [1] Cheng, S., Logan, B.E.: Sustainable and efficient biohydrogen production via electrohydrogenesis. *PNAS*. 104, 18871–18873 (2007).
- [2] Nevin, K.P., Woodard, T.L., Franks, A.E.: Microbial Electrosynthesis : Feeding Microbes Electricity To Convert Carbon Dioxide and Water to Multicarbon Extracellular Organic. *MBio*. 1, 00103–10 (2010).
- [3] Hall-Stoodley, L., Costerton, J.W., Stoodley, P.: Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.* 2, 95–108 (2004).
- [4] Mizutani, R., Suzuki, Y.: X-ray microtomography in biology. *Micron*. 43, 104–15 (2012).
- [5] Thurner, P., Müller, B., Beckmann, F., Weitkamp, T., Rau, C., Müller, R., Hubbell, J. a., Sennhauser, U.: Tomography studies of human foreskin fibroblasts on polymer yarns. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms*. 200, 397–405 (2003).
- [6] Johnson, J.T., Hansen, M.S., Wu, I., Healy, L.J., Johnson, C.R., Jones, G.M., Capecchi, M.R., Keller, C.: Virtual Histology of Transgenic Mouse Embryos for High-Throughput Phenotyping. 2, (2006).
- [7] Davit, Y., Iltis, G., Debenest, G., Veran-Tissoires, S., Wildenschild, D., Gerino, M., Quintard, M.: Imaging biofilm in porous media using X-ray computed microtomography. *J. Microsc.* 242, 15–25 (2011).
- [8] Rolland du Roscoat, S., Martins, J.M.F., Séchet, P., Vince, E., Latil, P., Geindreau, C.: Application of synchrotron X-ray microtomography for visualizing bacterial biofilms 3D microstructure in porous media. *Biotechnol. Bioeng.* 111, 1265–1271 (2014).