



(12) **Offenlegungsschrift**

(21) Aktenzeichen: **10 2022 120 539.8**

(22) Anmeldetag: **15.08.2022**

(43) Offenlegungstag: **15.02.2024**

(51) Int Cl.: **G01N 33/18 (2006.01)**

**C02F 3/02 (2006.01)**

**G01N 21/64 (2006.01)**

(71) Anmelder:

**Technische Universität Dresden, Körperschaft  
des öffentlichen Rechts, 01069 Dresden, DE**

(74) Vertreter:

**Kailuweit & Uhlemann Patentanwälte  
Partnerschaft mbB, 01187 Dresden, DE**

(72) Erfinder:

**Schmalz, Viktor, 01069 Dresden, DE; Haaken,  
Daniela, 01069 Dresden, DE; Stolte, Stefan, 01069  
Dresden, DE**

(56) Ermittelte Stand der Technik:

DE	10 2017 223 707	A1
DE	699 05 051	T2
DE	23 49 579	A
US	3 856 634	A
US	2 913 386	A
EP	0 340 654	A2

**CHATURVEDI, Venkatesh; VERMA, Pradeep:**  
**Microbial fuel cell: a green approach for the  
utilization of waste for the generation of  
bioelectricity. In: Bioresources and  
Bioprocessing, Vol. 3, 2016, Art.-No. 38, S. 1-14.**

**DO, Minh Hang [et al.]: Microbial fuel cell-  
based biosensor for online monitoring  
wastewater quality: A critical review. In: Science  
of the Total Environment, Vol. 712, 2020, Art.-No.  
135612, S. 1-11. - ISSN 0048-9697**

**SUN, Hao [et al.]: The Potential of  
Bioelectrochemical Sensor for Monitoring of  
Acetate During Anaerobic Digestion: Focusing  
on Novel Reactor Design. In: Frontiers in  
Microbiology, Vol. 9, 2019, Art.-No. 3357, S. 1-10.**

Rechercheantrag gemäß § 43 PatG ist gestellt.

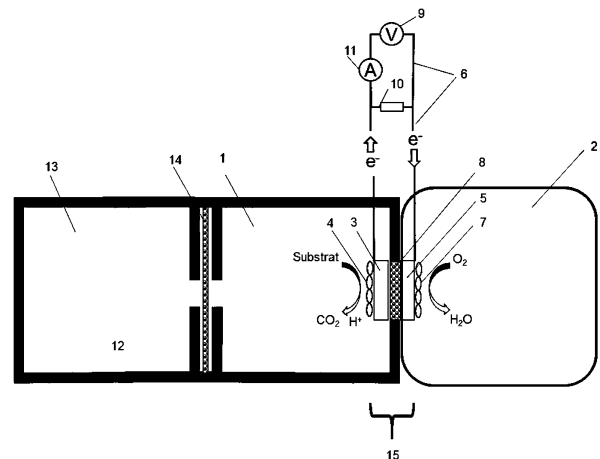
**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen.**

(54) Bezeichnung: **MIKROBIOLOGISCHE SENSORVORRICHTUNG ZUR BESTIMMUNG DER  
SAUERSTOFFKONZENTRATION IN FLÜSSIGKEITEN**

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft einen Sauerstoffsensord (als mikrobiologische Sensorvorrichtung) zur Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in einer Flüssigkeit, vorzugsweise in Oberflächenwasser, Grundwasser und Abwasser. Sie umfasst:

- eine Elektrodenmembraneinheit mit einer Membran, auf deren einer Seite eine Anode und auf deren anderer Seite eine Kathode als Elektroden in flächigem Kontakt mit der Membran stehen,
- einen Anodenraum zur Oxidation eines organischen Substrats unter Elektronenfreigabe, und
- eine an den Anodenraum angrenzende Anionenaustauschermembran,
- mit einer an die Anionenaustauschermembran angrenzenden Vorratsbehälter für das organische Substrat.

Beschrieben wird auch ein Verfahren mit und die Verwendung von einer solchen Sensorvorrichtung zur Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in Flüssigkeiten.



## Beschreibung

**[0001]** Die Erfindung betrifft einen Sauerstoffsensoren zur Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in einer Flüssigkeit, vorzugsweise in Oberflächen-, Grund- und Abwasser.

### Stand der Technik

**[0002]** Die bisher für die Vor-Ort-Überwachung eingesetzten Sauerstoffsensoren basieren auf optischen, elektrochemischen und bioelektrochemischen Messprinzipien.

**[0003]** Sowohl bei optischen als auch bei elektrochemischen Sauerstoffmessprinzipien spielt die Membran bzw. die Membrankappe eine entscheidende Rolle. Ist die Membran verschmutzt oder bildet sich ein biologischer Belag, hat dies unmittelbar eine Verfälschung der Messwerte zur Folge. Membranen und/oder sonstige Teile müssen in kurzen Zeitabständen gewechselt werden.

**[0004]** Bei optischen Methoden beruht der Gas-transport durch eine Membran auf Diffusion und ist nachteiliger Weise in erheblichem Maß von der Temperatur abhängig. Zudem verbraucht sich während der Messung der Fluoreszenz-Farbstoff in der Membran, weshalb die Membran regelmäßig ausgetauscht werden muss. Weiterhin nimmt durch den Verbrauch des Fluoreszenz-Farbstoffs in der Membran die Farbstoffkonzentration ab. Dies stellt in Bezug auf eine kontinuierliche, autarke Sauerstoffüberwachung einen erheblichen Nachteil dar.

**[0005]** Die elektrochemischen Methoden basieren ebenfalls auf einem diffusiven Sauerstofftransport durch eine Membran. In einer sich anschließenden chemischen Reaktion wird der Sauerstoff unter Verbrauch eines Elektrolyten umgesetzt. Der entstehende Strom weist eine lineare Korrelation mit der Sauerstoffkonzentration auf. Zur Überwachung und elektrochemischen Sauerstoffbestimmung werden standardmäßig zwei Messprinzipien, nämlich eine potentiometrische Sauerstoffbestimmung oder eine amperometrische Sauerstoffbestimmung genutzt.

**[0006]** Bei amperometrischen Sensoren wird die Stromstärke einer galvanischen Zelle gemessen, wobei Sauerstoff an einer Kathode umgesetzt wird und dadurch zu einem Strom führt, wie beispielsweise für eine Sauerstoff-Messzelle nach Clark in US2,913,386 beschrieben ist. Der Sauerstoff wird über eine permeable Membran in den Elektrolyten der Messzelle gebracht. Die als Edelmetalle ausgebildeten Elektroden tauchen in den Elektrolyten ein. Nach Anlegen einer für die Reduktion von Sauerstoff typischen Polarisationsspannung lässt sich aufgrund der an der Kathode erzeugten Elektroden ein Strom

messen, der proportional zur Sauerstoffkonzentration der wässrigen Probe ist.

**[0007]** Beim potentiometrischen Messprinzip dagegen wird keine externe Stromquelle angelegt.

**[0008]** Unter anderem in DE2349579A ist das potentiometrische Messprinzip beschrieben. In der dort beschriebenen Variante tauchen eine sauerstoffsensitive Metallelektrode und eine Ag/AgCl-Referenzelektrode in eine mit Elektrolytlösung befüllte elektrochemische Zelle ein. Die elektrochemische Zelle ist mit einer gaspermeablen Membran abgedeckt bzw. wird aus einer solchen gebildet. Dieses bekannte potentiometrische Messprinzip ist aber insofern problematisch, als die Sensitivität von den Korrosionseigenschaften des verwendeten Elektrodenmetalls abhängt und durch eine Anreicherung von Korrosionsprodukten beeinflusst wird, was zu einer erheblichen Drift des Sensorsignals bei Langzeitanwendungen führt.

**[0009]** US 3,856,634 beschreibt ein weiteres bekanntes Verfahren dieses potentiometrischen Messprinzips. Für die potentiometrische Sauerstoffmessung werden als Elektrodenmaterial sogenannte Wolfram-Bronzen, welche neben Wolfram auch Alkalimetalle enthalten, verwendet. Bei diesen als Einschlussverbindungen bekannten Bronzematerialien stellt sich bei Anwesenheit von Sauerstoff ein bestimmtes Potential ein, welches vor allem von Hydroxidionen beeinflusst wird. Problematisch bei dieser potentiometrischen Sauerstoffbestimmung ist die zunehmende chemische Instabilität der angegebenen Verbindungen oberhalb eines pH-Wertes von etwa pH 9. Dies zeigt sich u. a. an einer hohen Drift des Sensorpotentials, was zu einer unzureichenden Reproduzierbarkeit führt.

**[0010]** Auch das in EP0340654A2 beschriebene potentiometrische Verfahren weist den oben beschriebenen Aufbau mit einer sauerstoffsensitiven Elektrode und einer Referenzelektrode auf. Die sauerstoffsensitive Elektrode besteht aus einem elektronisch leitenden ÜbergangsmetallOxid, wobei deren Halbzellen-Potential das Potential einer Korrosionsreaktion darstellt, das sowohl von kathodischen (Elektronen liefernden) Auflösungsreaktionen der Metallelektrode als auch von der die Elektronen konsumierenden Elektroden-Oxidationsreaktionen abhängt. Der Sauerstoff wird an der Elektrode reduziert, wodurch sich ein Potential einstellt, welches von der Sauerstoffaktivität abhängt. Die dazu benötigten Elektronen werden durch eine Auflösungsreaktion an die Metallelektrode geliefert. Dabei wird ebenfalls Elektrolyt verbraucht. Dieser und die Membran müssen regelmäßig ausgetauscht werden.

**[0011]** Aufgrund der dargelegten Nachteile der optischen und elektrochemischen Messprinzipien eig-

nen sich diese nicht für die kontinuierliche Echtzeitüberwachung.

**[0012]** DE102017223707A1 beschreibt die Sauerstoffmessung in Abwässern einer Kläranlage. Der Sauerstoffsensormisst den in der Flüssigkeit des Prozessbeckens enthaltenen Sauerstoff. Der auf einer mikrobiellen Brennstoffzelle (MBZ) basierende Sauerstoffsensormisst aus DE102017223707A1 besteht aus einer Anode und Kathode, welche räumlich voneinander getrennt, jedoch durch eine ionenleitende Membran bzw. Salzbrücke miteinander verbunden sind. Die Anode ist in dem mit Abwasser gefüllten Vorklärungsbecken und die Kathode in dem Bioreaktor der Kläranlage angeordnet. Unter anaeroben/anoxischen Bedingungen wird an der Anode ein sessiler Biofilm erzeugt, wodurch eine Bioanode entsteht. Die aus dem Abwasser stammenden organischen Verbindungen werden an dieser Bioanode oxidiert. Dabei werden Elektronen frei, welche auf die Anode übertragen werden. An der Kathode werden die Elektronen auf den gelösten Sauerstoff übertragen, wobei dieser einer Reduktionsreaktion unterliegt. Der stabile Elektronenfluss durch den Stromkreis erzeugt einen messbaren Strom, der eine lineare Korrelation mit der Sauerstoffkonzentration aufweist. Nachteilig kann nicht sichergestellt werden, dass die Anodenreaktion keinen limitierenden Faktor für den Stromfluss darstellt und der gemessene Stromfluss nur kathodenlimitiert ist, wie es bei MZB-Sauerstoffsensoren nötig wäre.

**[0013]** Denn bei dieser in DE102017223707A1 beschriebenen Verfahrensweise wird im Anodenraum Abwasser vorgelegt, bei dem die Konzentration verschiedener enthaltenen organischen Substrate stark variieren kann. Damit ist der Stromfluss nicht nur kathodenlimitiert, sondern wird auch von den Anodenreaktionen beeinflusst.

**[0014]** Ein weiterer Nachteil ist, dass aufgrund des Verbrauchs des organischen Substrats im Anodenraum dieses regelmäßig nachgefüllt werden muss.

**[0015]** Nachteilig ist zudem, dass durch das Nachfüllen von Abwasser die nötigen anaeroben/anoxischen Bedingungen im Anodenraum schwer aufrechtzuerhalten sind. Denn die Übertragung der bei der Oxidation der aus dem Abwasser enthaltenen organischen Verbindungen freigesetzten Elektronen auf die Anode erfolgt nur unter streng anaeroben bzw. anoxischen Bedingungen. Schon geringe Konzentrationen von freiem, gelöstem Sauerstoff im Abwasser, welches im Anodenraum als Anolyt genutzt wird, bewirken, dass der Stromfluss nicht mehr ausschließlich durch den gelösten Sauerstoff im Kathodenraum kontrolliert und eine ausreichende Menge von Elektronen von der Anode zur Kathode transferiert wird.

**[0016]** Aufgrund der Notwendigkeit anaeroben/anoxischer Bedingungen im Anodenraum scheiden diese bekannten Vorrichtungen somit für den Langzeitbetrieb ohne Wartung aus. Denn gelöster Sauerstoff im Anodenraum würde die freiwerdenden Elektronen aufnehmen und damit die Messung verfälschen.

**[0017]** Nachteilig ist weiterhin, dass bei Lösungen aus DE102017223707A1, in denen im Anodenraum Abwasser vorgelegt wird, welches durch Mikroorganismen oxidiert werden soll, die Änderung der Konzentration bei Verbrauch des organischen Substrats eine Änderung der Leitfähigkeit im Anodenraum hervorruft. Dies führt wiederum zu einem veränderten inneren Widerstand im Anodenraum, so dass die Messung verfälscht wird. Dies hat zur Folge, dass sich das Sensorsignal unabhängig von der Sauerstoffkonzentration der Flüssigkeit auf der Kathodenseite ändert, wodurch der Sauerstoffsensorm seine Funktionsfähigkeit verliert.

**[0018]** Ein weiterer Nachteil ist, dass der Sensor nur in Abwasser, welches biologisch verfügbaren Kohlenstoff enthält, einsetzbar ist. In anderen wässrigen Flüssigkeiten, wie Grundwasser oder Oberflächenwasser, kann er nicht angewendet werden.

**[0019]** Keines der bekannten Verfahren eignet sich für den Langzeitbetrieb, denn in regelmäßigen Zeitabständen sind Wechsel oder Auffüllungen der Innenelektrolyten oder Anolyten notwendig.

#### Aufgabe der Erfindung

**[0020]** Aufgabe ist es daher, einen Sensor und ein Verfahren bereitzustellen, welche die Nachteile des Standes der Technik überwinden. Dabei soll insbesondere eine simple, kostengünstige, kontinuierliche und wartungsfreie Überwachung der Konzentration von gelöstem Sauerstoff in Flüssigkeiten, wie Wasser (bspw. Abwasser aber auch Oberflächen- und Grundwasser), über eine möglichst lange Laufzeit gewährleistet werden.

**[0021]** Weiterhin ist es Aufgabe der Erfindung, die Überwachung der Sauerstoffkonzentration mittels eines Sauerstoffsensors zu realisieren, welcher keine äußere Antriebsspannung benötigt, einfach aufgebaut und kostengünstig herzustellen ist.

**[0022]** Der Betrieb soll insbesondere im Langzeitbetrieb (mindestens 150, besser 180 Tage) ohne menschlichen Eingriff möglich sein. Die Wachstumsbedingungen für Mikroorganismen sollen nicht negativ beeinflusst werden.

## Lösung der Aufgabe

**[0023]** Erfindungsgemäß wird die Aufgabe mit den Merkmalen der unabhängigen Ansprüche gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind in den abhängigen Unteransprüchen angegeben.

**[0024]** Gegenstand der Erfindung ist eine mikrobiologische Sensorvorrichtung zur Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in Flüssigkeiten, umfassend

- eine Elektrodenmembraneinheit mit einer Membran, auf deren einer Seite eine Anode und auf deren anderer Seite eine Kathode als Elektroden in flächigem Kontakt mit der Membran stehen (d. h. Anode und Kathode befinden sich jeweils auf entgegengesetzten Seiten der Membran und es besteht kein Zwischenraum zwischen Anode und Membran sowie zwischen Membran und Kathode, flächiger Kontakt bedeutet, dass die jeweils großflächigsten Seiten von Anode bzw. Kathode mit den großflächigen Seiten der Membran in direktem Kontakt stehen),
- einen Anodenraum zur Oxidation eines organischen Substrats unter Elektronenfreigabe, und
- eine an den Anodenraum angrenzende Anionenaustauschermembran,
- mit einer an die Anionenaustauschermembran angrenzenden Vorratsbehälter für das organische Substrat.

**[0025]** Die mikrobiologische Sensorvorrichtung (im Folgenden auch nur Sensor genannt) funktioniert als mikrobiologische Brennstoffzelle. Die Kathode funktioniert als sauerstoffsensitive Messelektrode.

**[0026]** Neben der Elektrodenmembraneinheit (bekanntermaßen mit Anodenraum auf der Anodenseite und Kathodenraum auf der Kathodenseite) ist ein Vorratsbehälter für das organische Substrat umfasst, der mittels einer Anionenaustauschermembran vom Anodenraum getrennt ist, wobei Substrate wie Anionen, bspw. Acetat-Anionen, die Anionenaustauschermembran aus dem Vorratsbehälter in Richtung Anodenraum passieren können. Durch den mittels Anionenaustauschermembran abgetrennten Vorratsbehälter wird sichergestellt, dass im Anodenraum ein Überschuss des Substrats vorliegt und dass im Anodenraum anoxische Bedingungen aufrechterhalten werden können.

**[0027]** Sinnvoller Weise hat der mikrobiologische Sensor auch einen Strommesser, mit dem die freigegebenen Elektronen gemessen werden können, wobei die Elektronen nur in dem Maße fließen, wie auch im Kathodenraum durch die Reduktion des Sauerstoffs an der Kathode Elektronen verbraucht werden. Verbraucht werden die Elektronen dort nur

durch den Sauerstoff, der sich in der Flüssigkeit befindet. Der Kathodenraum kann auch offen sein, wie beispielsweise bei der Messung von Grundwasser oder Oberflächenwasser in der Natur. Wichtig ist, dass das organische Substrat im Anodenraum im Überschuss, d. h. mit einer Konzentration von mindestens 1 mmol/L, vorliegt, so dass die Anodenreaktionen keinen limitierenden Faktor für den Stromfluss darstellen.

**[0028]** Mikroorganismen oxidieren die organische Substanz an der Anode, wobei freiwerdende Elektronen auf die Anode übergehen. Wichtig ist dabei, dass im Anodenraum anoxische Bedingungen herrschen, da sonst die freiwerdenden Elektronen direkt von diesem Sauerstoff verbraucht werden würden und die Messung verfälschen.

**[0029]** Durch das Vorlegen des organischen Substrats im Vorratsbehälter, d. h. durch die passive Dosierung des biologisch verfügbaren organischen Kohlenstoffs in den Anodenraum, wird ein langzeitstabiler Betrieb der mikrobiologischen Sensorvorrichtung ohne Austausch des Innenelektrolyten ermöglicht sowie anoxische Bedingungen im Anodenraum jederzeit gewährleistet. Für einen autarken langzeitstabilen Betrieb der Sensorvorrichtung (bis 6 Monate) werden die bekannten hochkonzentrierten Lösungen des organischen Substrats im Anodenraum vermieden. Denn durch die bekannte Zugabe hochkonzentrierter Lösungen des organischen Substrats, die bspw. Acetat enthalten, direkt in den Anodenraum nimmt die Ionenstärke des Innenelektrolyten zu stark zu, so dass die Biofilmbakterien sowie die im Innenelektrolyten suspendierten Bakterien im Anodenraum leiden und sterben.

**[0030]** Gegenstand ist des Weiteren auch ein Verfahren zur mikrobiologischen Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in einer Flüssigkeit mit den Schritten

- a) Bereitstellen einer Elektrodenmembraneinheit mit einer Membran, auf deren einer Seite eine Anode und auf deren anderer Seite eine Kathode als Elektroden in flächigem Kontakt mit der Membran stehen (wobei neben einer Wandung auch die Membran den Anodenraum vom Kathodenraum abtrennt),
- b) Bereitstellen eines organischen Substrats in einem Vorratsbehälter, welcher mittels einer Anionenaustauschermembran von dem Anodenraum der Anode (der Elektrodenmembraneinheit) getrennt ist,
- c) Bereitstellen der Flüssigkeit, deren Sauerstoffkonzentration bestimmt werden soll, im Kathodenraum, und
- d) Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in der Flüssigkeit durch Messung des Stromflusses

ses mittels eines Strommessers oder der Spannung mittels eines Spannungsmessers.

**[0031]** Bekanntermaßen befinden sich im Anodenraum notwendigerweise Mikroorganismen, welche einen Biofilm auf der Anode bilden und welche in der Lage sind, das organische Substrat abzubauen, d. h. unter Elektronenfreigabe zu oxidieren. Hierzu eignen sich insbesondere exoelektrogene Mikroorganismen der Gattung *Geobacters* sowie der Gattung *Shewanella*.

**[0032]** Als Flüssigkeiten, deren Sauerstoffkonzentration bestimmt werden soll, kommen insbesondere in Betracht: wässrige Flüssigkeiten wie Abwasser, Grundwasser oder Oberflächenwasser.

**[0033]** Sinnvoller Weise ist die Membran (der Elektrodenmembraneinheit) eine semipermeable Membran, und zwar eine Kationenaustauschermembran zur Passage von  $H^+$ .

**[0034]** Gegenstand ist schließlich auch die Verwendung der erfindungsgemäßen mikrobiologischen Sensorvorrichtung zur Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in Flüssigkeiten, insbesondere auch im erfindungsgemäßen Verfahren.

**[0035]** Ausführungen betreffend die mikrobiologische Sensorvorrichtung betreffen genauso das erfindungsgemäße Verfahren und die Verwendung und umgekehrt.

#### Vorteile

**[0036]** Mit der Erfindung lässt sich die Sauerstoffkonzentration von Abwasser, Grundwasser, aber auch von Oberflächenwasser in Echtzeit bestimmen.

**[0037]** Vorteil ist, dass die Elektrodenmembraneinheit einen konstant geringen Widerstand ermöglicht, welcher unabhängig von Veränderungen der Leitfähigkeit in der Sensorvorrichtung, insbesondere im Anodenraum, ist. Dies wird durch die Verwendung einer Elektrodenmembraneinheit erreicht, bei der Anode und Kathode direkt durch die Membran kontaktiert werden.

**[0038]** Darüber hinaus sorgt der erfindungsgemäße Vorratsbehälter (zur Vorlage eines Konzentrats des organischen Substrats) dafür, dass das organische Substrat im Anodenraum im Überschuss mit  $\geq 1$  mmol/L vorliegt, insbesondere von 10 bis 100 mmol/L, so dass Anodenreaktionen keinen limitierenden Faktor für den Stromfluss darstellen.

**[0039]** Es bedarf mit der Erfindung keines Nachfüllens des organischen Substrats in den Anodenraum, so dass die Erfindung für den Langzeitbetrieb geeignet ist.

**[0040]** Darüber hinaus ist die Erfindung unabhängig von der Konzentration anderer organischer Substrate im Abwasser, denn die Erfindung nutzt ein separat im Vorratsbehälter vorgelegtes organisches Substrat in hoher Konzentration.

**[0041]** Vorteilhaft ist auch, dass es mit der Erfindung leicht ist, die anoxischen Bedingungen im Anodenraum sicherzustellen, was für die Sauerstoffbestimmung erforderlich ist.

**[0042]** Des Weiteren ist keine externe Stromquelle nötig, da die Erfindung nach dem Prinzip einer mikrobiellen Brennstoffzelle arbeitet.

**[0043]** Der Stromfluss ist kathodenlimitiert und wird somit nur durch den gelösten Sauerstoff in der Flüssigkeit im Kathodenraum bestimmt. Anodenreaktionen können vorteilhaft keinen limitierenden Faktor für den Stromfluss darstellen.

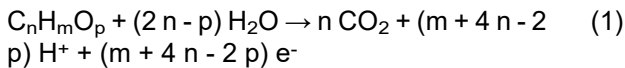
#### Erläuterung der Funktionsweise der Erfindung:

**[0044]** Die Anode ist in dem mit Elektrolyt gefüllten Anodenraum angeordnet, wobei dort anoxische Bedingungen (frei von gelöstem Sauerstoff) vorherrschen und ein anodisches Halbelement gebildet wird. Der Elektrolyt im Anodenraum umfasst in einer Ausführungsform eine Pufferlösung zur Stabilisierung des pH-Wertes im Bereich von 6 bis 9, welche aus dem Abwasser stammende exoelektrogene Mikroorganismen zur Inokulation sowie das aus dem Vorratsbehälter stammende organische Substrat enthält, welches durch die Anionenaustauschermembran zwischen Vorratsbehälter und Anodenraum hindurch diffundiert ist, enthaltend biologisch verfügbaren organischen Kohlenstoff ( $C_{org}$ ), vorzugsweise Acetat-Kohlenstoff. Die exoelektrogenen Mikroorganismen und die Anode bilden eine Biofilmanode aus. Die als Kathode ausgebildete zweite Elektrode, taucht direkt in die zu analysierende Flüssigkeit, bspw. ein Abwasser, ein und bildet ein kathodisches Halbelement. Dabei wird das kathodische Halbelement durch eine Membran (insbesondere eine Kationenaustauschermembran für  $H^+$ ) vom anodischen Halbelement getrennt, wobei Anode und Kathode als Elektrodenmembraneinheit aufgebaut sind und Anode und Kathode direkt an der Membran angebracht sind. Durch einen solchen Aufbau wird der Einfluss einer sich während des Sensorbetriebs ändernden Leitfähigkeit des Elektrolyten (und somit des inneren Widerstands) des anodischen Halbelements auf das Sensorsignal vermieden.

**[0045]** Der Vorratsbehälter, der über eine Anionenaustauschermembran von dem Anodenraum getrennt ist, enthält im Betrieb ein Konzentrat des organischen Substrats, so dass sich im Anodenraum immer ein Überschuss des organischen Substrats einstellen kann.

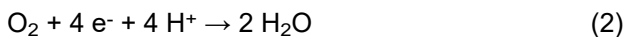
**[0046]** Exoelektrogene Mikroorganismen sind in der Lage, die beim Abbau des organischen Kohlenstoffs (des organischen Substrats) erzeugten Elektronen direkt auf die Anode zu übertragen, und ermöglichen so die Stromerzeugung aus organischen Substanzen.

**[0047]** Im Sinne der Erfindung lagern sich die Mikroorganismen in Form eines Biofilms unteranoxischen Bedingungen auf der Oberfläche der Anode ab und wachsen. In einer Ausführungsform ist der so gebildete Biofilm sessil ausgebildet. Das Wachstum des Biofilms erfolgt unter Mineralisierung des biologisch verfügbaren organischen Kohlenstoffs, welcher im Anodenraum im Überschuss vorliegt. Das organische Substrat wird an der Anode unter Freisetzung von Protonen ( $H^+$ ) zu  $CO_2$  oxidiert. Dabei wird ein Teil der chemisch gebundenen Energie in Form von bei der Oxidation freigesetzten Elektronen ( $e^-$ ) durch den Biofilm auf die Anode gemäß folgender Gleichung übertragen:



**[0048]** Die generierten Elektronen werden über mindestens einen elektrischen Leiter von der Anode zur Kathode und somit vom anodischen Halbelement zum kathodischen Halbelement transportiert. Im Sinne der Erfindung wandern die an der Anode erzeugten Protonen durch die Membran der Elektrodenmembraneinheit, bevorzugt eine Kationenaustauschermembran, zur Kathode der Elektrodenmembraneinheit.

**[0049]** Dabei werden an der Kathode die freigewordenen Elektronen ( $e^-$ ) auf den gelösten Sauerstoff übertragen und dieser dadurch gemäß folgender Gleichung zu Wasser reduziert:



**[0050]** In einer Ausführungsform erfolgt die Reduktion des Sauerstoffs durch aus dem Wasser stammende Mikroorganismen. In einer bevorzugten Ausführungsform lagern sich die Mikroorganismen als Biofilm unter aeroben Bedingungen auf der Oberfläche der Kathode ab und wachsen auf dieser. In einer Ausführungsform ist der so gebildete Biofilm sessil ausgebildet. Das Wachstum des Biofilms erfolgt unter der Verwertung der organischen Verbindungen im Wasser. Bevorzugt ist die Kathode somit biotisch ausgebildet. In einer alternativen Ausführungsform erfolgt die Reduktion des Sauerstoffs ohne das Vorhandensein von aus der Flüssigkeit im Kathodenraum stammenden Mikroorganismen und somit durch eine abiotisch ausgebildete Kathode.

## Bevorzugte Ausführungsformen

**[0051]** In einer Ausführungsform ist durch ein gewähltes Verhältnis der Flächen von der in der Elektrodenmembraneinheit integrierten Anode zu Kathode von 2:1 bis 100:1, bevorzugt 2:1 bis 10:1, die Elektronengenerierung so gezielt einstellbar, dass folgendes eintritt: Liegen die Elektronen entsprechend Gleichung (1) im Überschuss vor, hängt der Stromfluss und somit die Stromstärke und/oder die Zellspannung des Sauerstoffsensors lediglich von der Sauerstoffreduktion an der Kathode nach Gleichung (2) ab. Bei der Angabe der Flächenverhältnisse werden jeweils gesamt Fläche der Anode sowie gesamt Fläche der Kathode berücksichtigt.

**[0052]** In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung liegt die Fläche der Membran der Elektrodenmembraneinheit bei 0,2-7  $cm^2$  (insbesondere 0,8-4,9  $cm^2$ ).

**[0053]** Die Kathode besteht bevorzugt aus einem Platin-Netz oder aus einer Beschichtung von 0,3-3 mg Pt auf Kohlenstoff pro  $cm^2$  Membran auf Kathodenseite.

**[0054]** In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung umfasst die Anode ein elektrisch leitfähiges Material aus Kohlenstoff- und/oder Graphitvlies.

**[0055]** Durch die gewählte Fläche der Membran zwischen Anodenraum und Vorratsbehälter (also die Anionenaustauschermembran) sowie der  $C_{org}$ -Ausgangskonzentration des organischen Substrats im Vorratsbehälter kann zudem die Konzentration des biologisch verfügbaren organischen Kohlenstoffs im Innenelektrolyten des Anodenraums gezielt eingestellt werden, so dass dieser stets im Überschuss im Anodenraum vorliegt, garantiert sauerstofffrei ist und dadurch keinen limitierenden Faktor für den Stromfluss des Sauerstoffsensors darstellt.

**[0056]** Vor diesem Hintergrund ist zwischen Anodenraum und Vorratsbehälter eine Öffnung mit einer Fläche von 0,03-3  $cm^2$ , wobei die zwischen Anodenraum und Vorratsbehälter liegende Anionenaustauschermembran keine solche Öffnung aufweist (und damit Vorratsbehälter und Anodenraum trennt, so dass das organische Substrat durch die Anionenaustauschermembran in Richtung Anodenraum hindurchdiffundieren muss). Vorteilhaft besteht damit ein ausgewogenes Verhältnis zwischen effektiver Bereitstellung des Überschusses an organischem Substrat im Anodenraum und kleinstmöglicher Bauweise der Sensorvorrichtung.

**[0057]** In einer bevorzugten Ausführungsform ist die Flüssigkeit mit der zu bestimmenden Sauerstoffkonzentration ein Oberflächen-, Grund- oder Abwasser, ganz besonders bevorzugt ein Abwasser. Denn vor-

teilhaft eignen sich die erfindungsgemäße Sensorvorrichtung und das Verfahren besonders gut zur dezentralen Messung der Sauerstoffkonzentration.

**[0058]** In einer bevorzugten Ausführung des erfindungsgemäßen Verfahrens hat das organische Substrat im Vorratsbehälter als Konzentrat eine Konzentration von mindestens 0,9 mol/L, besonders bevorzugt 1 bis 4 mol/L. Dies genügt vorteilhaft, um stetig und über lange Zeit einen Überschuss davon von mindestens 1 mmol C/L im Anodenraum bereitzustellen, insbesondere für Acetate als organisches Substrat.

**[0059]** Denn in einer ganz besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist das organische Substrat ein Acetatsalz, beispielsweise ausgewählt aus Natrium-, Ammonium- und Kaliumacetat. Vorteilhaft eignen sich Acetate besonders zur langfristigen Vorlage des durch die Mikroorganismen abzubauenen Kohlenstoffs.

**[0060]** In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform des Verfahrens ist im Anodenraum ein Phosphatpuffer mit pH 6-9 enthalten. Besonders bevorzugt enthält der Puffer bereits die im Anodenraum nötigen Mikroorganismen. Vorteilhaft eignet sich dieser Puffer besonders gut, um das Wachstum des Biofilms auf der Anode zu ermöglichen.

**[0061]** Für die Realisierung der Erfindung ist es auch zweckmäßig, die vorbeschriebenen erfindungsgemäßen Ausgestaltungen, bevorzugten Ausführungsformen und Merkmale der Ansprüche miteinander zu kombinieren.

**Fig. 1** zeigt die erfindungsgemäße mikrobiologische Sensorvorrichtung in einer bevorzugten Ausführung.

**Fig. 2** zeigt den Verlauf der Konzentration von Acetat als organisches Substrat: einmal als Ausführungsbeispiel mit Vorratskammer (in der Legende bezeichnet als „Acetat mit Dosierung“) und einmal als Vergleichsbeispiel ohne Vorratskammer, bei der im Anodenraum Acetat als organisches Substrat mit einer Anfangskonzentration von 2500 mg/L vorgelegt wird (in der Legende bezeichnet als „Acetat ohne Dosierung“). Die linke Diagrammachse zeigt die Zellspannung bei Sauerstoffsättigung im Kathodenraum, welche bei Acetat-Dosierung konstant blieb und die korrekte Funktionsweise der Oxidation des Acetats durch die Mikroorganismen an der Anode und der Sauerstoffdetektion auf der Kathodenseite anzeigt.

**Fig. 3** zeigt für diese Sensorvorrichtungen aus **Fig. 2** (ein Ausführungsbeispiel und ein Vergleichsbeispiel) die korrekte Funktionsweise als Sauerstoffsensor. Die Zellspannung steigt

bei steigender Sauerstoffkonzentration in der Flüssigkeit im Kathodenraum.

**[0062]** Nachfolgend soll die Erfindung anhand eines Ausführungsbeispiels eingehender erläutert werden. Das Ausführungsbeispiel soll die Erfindung beschreiben ohne diese zu beschränken.

Ausführungsbeispiele

Vergleichsbeispiel 1:

**[0063]** **Fig. 2** zeigt ein Vergleichsbeispiel ohne Vorratskammer, bei dem unmittelbar im Anodenraum Acetat als organisches Substrat mit einer Anfangskonzentration von 2500 mg/L vorgelegt wird (in der Legende bezeichnet als „Acetat ohne Dosierung“)

Ausführungsbeispiel 2:

**[0064]** Dieses Ausführungsbeispiel nutzt die Sensorvorrichtung nach **Fig. 1** und wird durch die andere Kurve in **Fig. 2** verdeutlicht (in der Legende bezeichnet als „Acetat mit Dosierung“).

**[0065]** In den vom Anodenraum 1 (ein Gefäß) eingeschlossenen Elektrolyten mit Mikroorganismen taucht eine Anode 3 einer Elektrodenmembraneinheit ein, welche das anodische Halbelement bildet. Dabei entsteht durch die Mikroorganismen des Innenelektrolyten ein Biofilm 4 auf der Oberfläche der Anode. Durch die Oxidation des organischen Substrats des Innenelektrolyten durch die Mikroorganismen, die als Biofilm an der Anode angesiedelt sind, werden  $\text{CO}_2$  und Protonen ( $\text{H}^+$ ) freigesetzt. Die freigesetzten Elektronen ( $\text{e}^-$ ) werden über den Biofilm 4 auf die Anode 3 übertragen. Der Transport der Elektronen ( $\text{e}^-$ ) zu der Kathode 5 erfolgt über den elektrischen Leiter 6. Die Sauerstoffreduktion in der zu analysierenden Flüssigkeit 2 findet an der Kathode 5 der Elektrodenmembraneinheit unter aeroben Bedingungen statt. Die Kathode 5 funktioniert wie eine sauerstoffsensitive Messelektrode. Die Umsetzung erfolgt auch hier über einen Biofilm 7, der sich auf der Kathode 5 bildet. Der Transport der Protonen ( $\text{H}^+$ ) erfolgt über eine als semipermeable Membran ausgebildete Membran 8 der Elektrodenmembraneinheit 15.

**[0066]** Die sauerstoffsensitive Kathode 5 ist durch die Membran 8 mit der Anode 3 verbunden. Alle drei zusammen bilden die Elektrodenmembraneinheit 15. Die Kathode 5 taucht direkt in die zu analysierende Flüssigkeit 2 im Kathodenraum ein. Der Innenelektrolyt im Anodenraum enthält eine Phosphatpufferlösung zur Stabilisierung des pH-Wertes im Bereich von 6 bis 9 sowie biologisch verfügbaren organischen Kohlenstoff als organisches Substrat, in diesem Ausführungsbeispiel als Acetat-Kohlenstoff. Dabei ist der im Anodenraum befindliche Innenelekt-

rolyt frei von gelöstem Sauerstoff. Zur Gewährleistung des Überschusses des organischen Substrats im Elektrolyten im Anodenraum erfolgt eine passive Dosierung aus dem Vorratsbehälter 13 durch eine Anionenaustauschermembran 14 in den Anodenraum 1 der mikrobiologischen Sensorvorrichtung.

13	Vorratsbehälter (für das organische Substrat)
14	Anionenaustauschermembran
15	Elektrodenmembraneinheit

**[0067]** Die Sensorvorrichtung entspricht dabei einer mikrobiellen Brennstoffzelle.

**[0068]** Der Prozess lässt sich über den Spannungsmesser 9 oder durch Verwendung eines externen Widerstands 10 über einen Strommesser 11 überwachen, welche den elektrischen Leitern 6 jeweils zwischengeschaltet sind.

**[0069]** Fig. 2 zeigt ein Diagramm zum zeitlichen Verlauf der Acetatkonzentration (das ist das organische Substrat) im Anodenraum mit und ohne passiver Acetat-Dosierung sowie der Zellspannung des Sensors mit passiver Acetat-Dosierung. Aus Fig. 2 ist ersichtlich, dass bei passiver Dosierung die Acetatkonzentration im Anodenraum während der gesamten Versuchsdauer beispielsweise bis 1600 h, deutlich im Überschuss ( $> 1$  mmol/L) vorliegt. Die Zellspannung bleibt unter diesen Bedingungen annähernd konstant. Ohne eine kontinuierliche Nachlieferung des Acetats über den Vorratsbehälter mit Anionenaustauschermembran wird dieses bereits nach 290 h vollständig verbraucht.

**[0070]** Fig. 3 zeigt die durch den Spannungsmesser 9 gemessene Zellspannung in Abhängigkeit von der Konzentration des gelösten Sauerstoffs in der Flüssigkeit im Kathodenraum. Dabei weist die gemessene Zellspannung eine lineare Korrelation mit der Konzentration des gelösten Sauerstoffs auf.

#### Bezugszeichen

1	Anodenraum
2	Flüssigkeit (im Kathodenraum), welche Sauerstoff enthält, dessen Konzentration bestimmt werden soll
3	Anode (der Elektrodenmembraneinheit)
4	Biofilm (an der Anode)
5	Kathode (der Elektrodenmembraneinheit)
6	Elektrische Leiter
7	Biofilm (an der Kathode)
8	Membran (semipermeabel)
9	Spannungsmesser
10	externer Widerstand
11	Strommesser
12	Organisches Substrat (im Elektrolyt)



**ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG**

*Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.*

**Zitierte Patentliteratur**

- US 2913386 [0006]
- DE 2349579 A [0008]
- US 3856634 [0009]
- EP 0340654 A2 [0010]
- DE 102017223707 A1 [0012, 0013, 0017]

**Patentansprüche**

1. Mikrobiologische Sensorvorrichtung zur Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in Flüssigkeiten (2), umfassend

- eine Elektrodenmembraneinheit (15) mit einer Membran (8), auf deren einer Seite eine Anode (3) und auf deren anderer Seite eine Kathode (5) als Elektroden in flächigem Kontakt mit der Membran (8) stehen,
- einen Anodenraum (1) zur Oxidation eines organischen Substrats (12) unter Elektronenfreigabe, und
- eine an den Anodenraum (1) angrenzende Anionenaustauschermembran (14),
- mit einer an die Anionenaustauschermembran (14) angrenzenden Vorratsbehälter (13) für das organische Substrat (12).

2. Mikrobiologische Sensorvorrichtung nach Anspruch 1, wobei zwischen Anodenraum (1) und Vorratsbehälter (13) eine Öffnung mit einer Fläche von 0,03-3 cm<sup>2</sup> vorhanden ist, wobei die zwischen Anodenraum (1) und Vorratsbehälter (13) liegende Anionenaustauschermembran (14) keine solche Öffnung aufweist.

3. Mikrobiologische Sensorvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei die Kathode (5) Platin und Kohlenstoff umfasst.

4. Mikrobiologische Sensorvorrichtung nach Anspruch 3, wobei in der Kathode (5) mindestens 0,3 mg Pt auf Kohlenstoff pro cm<sup>2</sup> Membran auf Kathodenseite enthalten sind.

5. Mikrobiologische Sensorvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Anode (3) ein elektrisch leitfähiges Material aus Kohlenstoff- und/oder Graphitvlies umfasst.

6. Verfahren zur mikrobiologischen Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in einer Flüssigkeit (2) mit den Schritten

- a) Bereitstellen einer Elektrodenmembraneinheit (15) mit einer Membran (8), auf deren einer Seite eine Anode (3) und auf deren anderer Seite eine Kathode (5) als Elektroden in flächigem Kontakt mit der Membran (8) stehen,
- b) Bereitstellen eines organischen Substrats (12) in einem Vorratsbehälter (13), welcher mittels einer Anionenaustauschermembran (14) von dem Anodenraum (1) der Anode (3) getrennt ist,
- c) Bereitstellen der Flüssigkeit (2), deren Sauerstoffkonzentration bestimmt werden soll, im Kathodenraum, und
- d) Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in der Flüssigkeit (2) durch Messung des Stromflusses mittels eines Strommessers (11) oder der Spannung mittels eines Spannungsmessers.

7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei die Flüssigkeit (2) mit der zu bestimmenden Sauerstoffkonzentration ein Oberflächen-, Grund- oder Abwasser ist.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 oder 7, wobei das organische Substrat (12) im Vorratsbehälter (13) ein Konzentrat mit einer Konzentration von mindestens 0,9 mol/L ist.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 8, wobei das organische Substrat (12) ein Acetatsalz ist.

10. Verfahren nach Anspruch 9, wobei das Acetatsalz ausgewählt ist aus Natriumacetat, Ammoniumacetat und Kaliumacetat.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 10, wobei im Anodenraum (1) ein Puffer mit pH 6-9 enthalten ist.

12. Verwendung einer mikrobiologischen Sensorvorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Bestimmung der Sauerstoffkonzentration in Flüssigkeiten (2).

Es folgen 2 Seiten Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Fig. 1

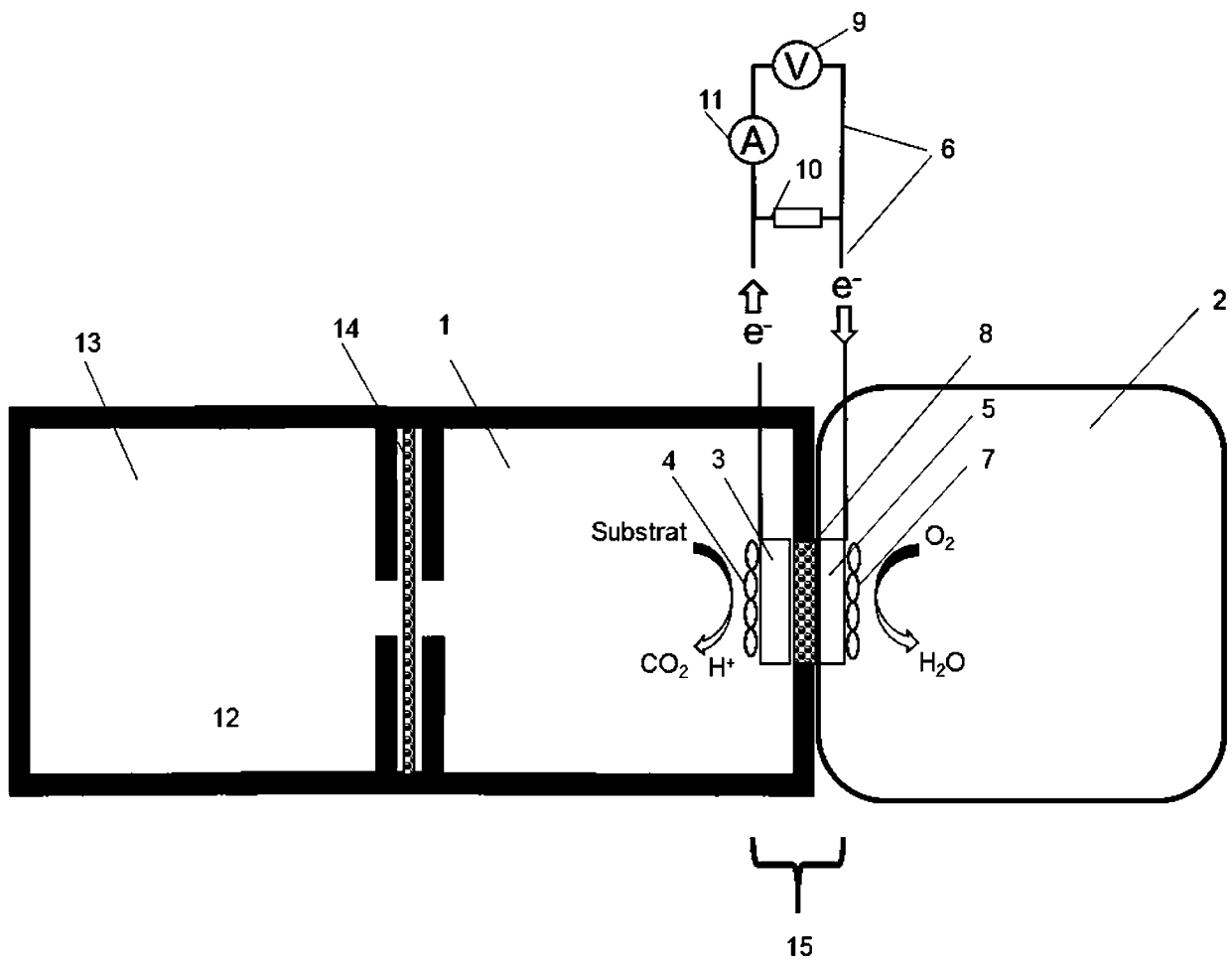


Fig. 2

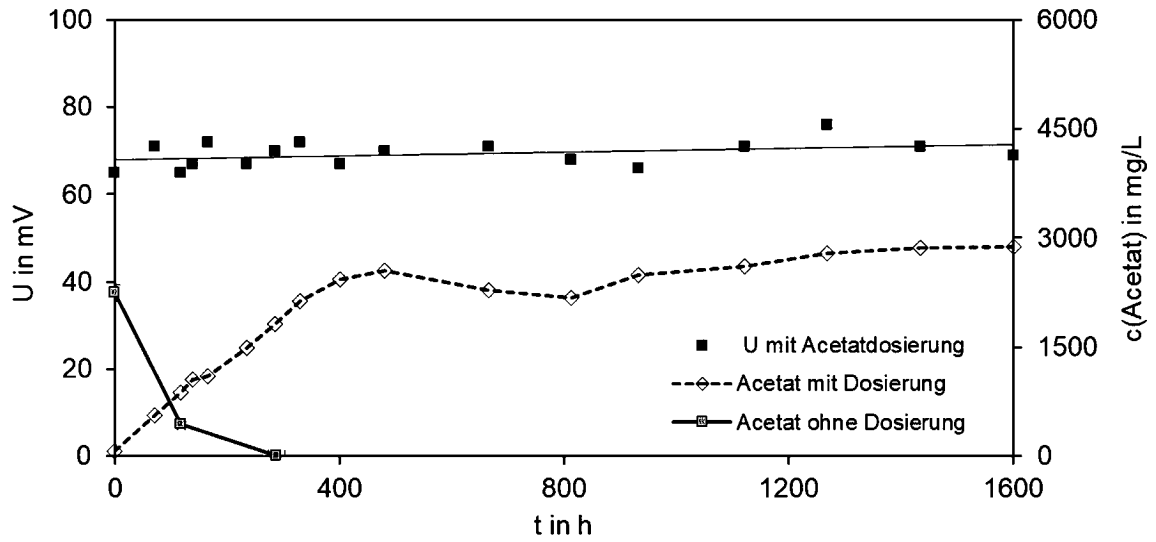


Fig. 3

