

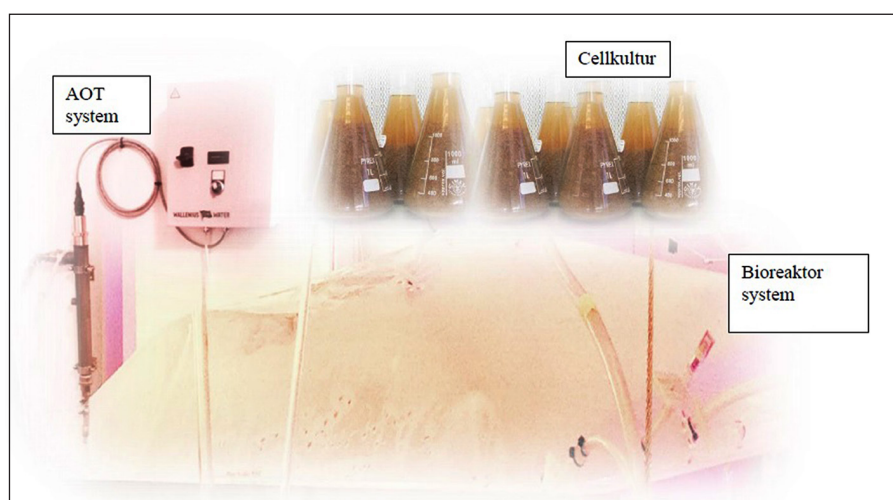
## Effekt av reningsutrustning på näringsfällning och mikroflora i bioreaktorbaserad in vitro-produktion av växtråvara

SAMMAR KHALIL, ANNA HOLEFORS

Detta faktablad baseras på två projekt med det gemensamma syftet att utveckla en hållbar in vitro-baserad produktion av växtråvara. Syftet har även varit att utveckla ett system för recirkulering av näringslösning i storskalig bioreaktorbaserad odling. Två reningssystem testades – rening med "Advanced Oxidation Technologies" (AOT) under 2013 (figur 1) och med kolfilter under 2014 (figur 2). Reningssystemen testades utifrån effektivitet att minska näringsfällningar och mikroflora.

### Bakgrund

Marknaden för örter/medicinalväxter är stor, uppskattad till 544 miljarder SEK. För vissa medicinalväxter är efterfrågan betydligt större än tillgången vilket lett till utarmning av de naturliga bestånden. Då efterfrågan av dessa växter förväntas fortsätta att öka kommer problematiken med växtåvåvubrist och fortsatt utarmning att vara bestående. *In vitro* Planttech har utvecklat en växtcellodlingsplattform som kommer att användas för storskalig kommersiell produktion av växtråvara från svåråtkomliga medicinalväxter. I projektet ville vi undersöka om det går att införa recirkulering av näringslösning i vår växtcell-

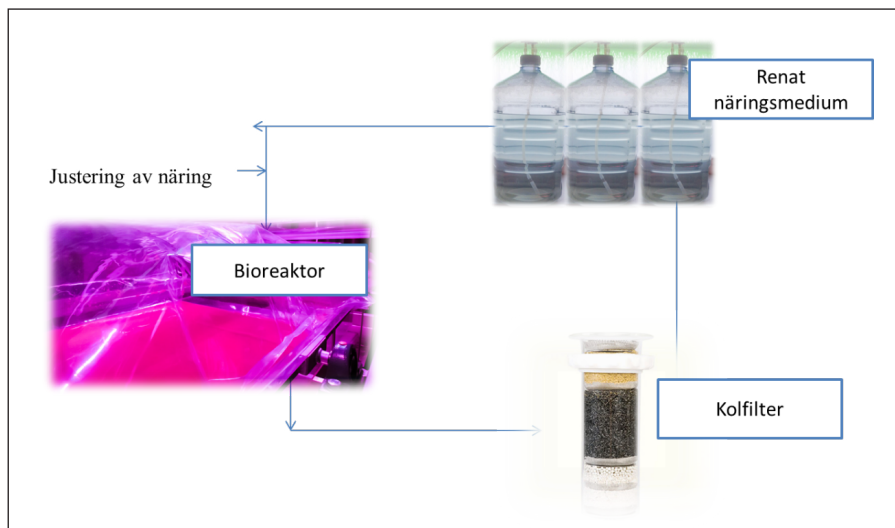


Figur 1. System med AOT-rening

odlingsplattform, liknande den som används i hydroponiska odlingssystem. Recirkulering av näringslösning med rening skulle medföra ytterligare förstärkning av hållbarhetsaspekten genom minskad vatten- och näringsförbrukning. Hydroponisk odling erbjuder optimerade odlingssättningar för växten med hänsyn till tillförsel av vatten och växtnäring vilket leder till en positiv effekt på både avkastning och produktkvalitet (Gruda, 2009). Dessa system kan vara näringslösningssystem såsom Nutrient Film-teknik (NFT) och "ebb and flow"-system eller substratsbaserade odlingssystem där bl.a. torv, pimpsten och sten-

ull används som inert substrat (Alsanius m.fl., 2000). Vatten- och näringscykeln i dessa system kan vara öppna eller slutna system (med cirkulerande näringslösning), där den sistnämnda varianten förespråkas för att minska utsläppen av näringsberikat vatten från växthus vilket leder till övergödning. Slutna system förutsätter behovsanpassad tillförsel av växtnäring för optimering av kulturens tillväxt och utveckling, samt skördeplanering och produktkvalitet.

Vid *in vitro* odling odlas växterna på definierat näringsmedium innehållande näringsalter, vitaminer, socker och hormoner. Under odlingsperioden förbru-



Figur 2. System med kolfilter-rening

kas vissa näringsämnen, socker och hormoner. Växterna kan också utsöndra ämnen som påverkar fortsatt tillväxt negativt och ibland bildas fällningar i näringslösningen. Vid utveckling av recirkulerande näringsystem med rening är det därför viktigt att avlägsna inhiberande substanser, eventuellt bildade fällningar samt ersätta förbrukade näringsämnen och socker. Behandling med ozon och aktivt kol har visat sig vara de mest aktiva metoderna för rening av vatten från bl.a. hormoner. I detta faktablad beskrivs försök med både aktivt kol och reningemetoden "Advanced Oxidation Technologies" (AOT).

### Advanced Oxidation Technologies och kolfilter

AOT används idag inom ett flertal kommersiella tillämpningar såsom ballastvattenhantering inom global sjöfart, badvattenrening i badhus och spa, samt tappvattenrening i större fastigheter som hotell, äldreboenden och kontor.

Den tillämpas också i kommersiella odlingsystem med grönsaker som reningsåtgärd mot växtpatogener. AOT baseras på mycket snabba fysikaliska-kemiska processer där ljus av energier i den ultravioletta delen av spektrumet omvandlas till kemisk energi. Detta sker över halvledande fotokatalytiska material av nanokrystaller som belagts på renarens väggar. Med titandioxid som katalysator bildas fria radikaler i vätskemediet som oxiderar både biologiskt och annat organiskt material.

Kolfilter har använts i olika studier som verktyg för rening av vatten från bl.a. läkemedelsrester och hormoner (Gunnarsson & Larsson 2011). En effektiv reningsåtgärd kommer att bidra till en hållbar produktion av växtråvara i bioreaktorbaserad *in vitro* produktion.

### Genomförande

Båda försöken utfördes i *In vitro* Plant-techs laboratorium i Malmö. Cellkulturer (kallus) av rosenrot används. Cellkulturerna odla-

des i flytande småskaliga 10 liters bioreaktorsystem av typen SUB (single use bioreactor) med luftning och omrörning enligt SOP RCO10. Två system ingick i undersökningarna:

System 1: Kontroll; cirkulerande hydroponiskt system utan reningsåtgärder

System 2: Cirkulerande hydroponiskt system med filter och AOT system som reningsåtgärder resp. med filter och kolfilterutrustning som reningsåtgärder.

Odlingsmedium RC01 bestående av näringsalter, vitaminer och hormoner som ger god tillväxt av rosenrots-cellmassan användes i försöken som utfördes med tre replikat av varje system. I båda systemen justerades näringslösningen med avseende på näringsalter, socker, hormoner och pH innan den återupptogs av plantorna. För att ha rätt näringsjustering analyserades näringslösningen från varje system innan återförsl till växtbädden (AOT) resp. innan kolfilterbehandlingen. Tre subkulturer användes där odlingsperioden för dessa kulturer var tre månader. Försöken upprepades över tid.

I kolfilterbehandlingen användes 20 g aktivt kol per filter. Näringslösningen filterades genom kolfiltret. Den filtrerade näringslösningen analyserades med avseende på näring och mikrobiell tillväxt. Effekten av kolbehandlingen undersöktes en timme respektive 72 timmar efter tillsatts av kolfilter.

Följande analyser utfördes för båda reningsmetoder:

### Tillväxtanalyser

Tillväxten av växtcellmassan registrerades genom färsk- och torrviktsanalyser, samt densitetsmätning av växtcellmassa. Densitetsmätning utfördes en gång per vecka, färskviktsanalyser utfördes vid försökets start, vid byte av näringslösning, samt vid avslutad tillväxtperiod. Torrviktsanalyser utfördes efter avslutad tillväxtperiod.

### Näringsanalyser

Näringsanalyser utfördes vid byte av näringslösning innan och efter rening. Analyserna utfördes av LMI i Helsingborg. Provtagning utfördes varannan vecka under försöksperioden.

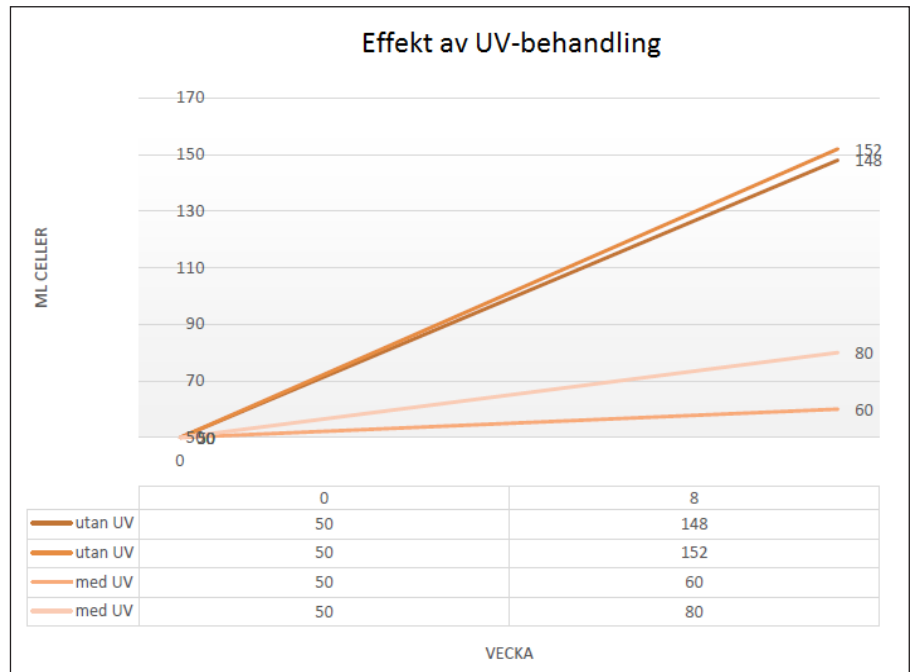
### Mikrobiella analyser

Under försökens lopp undersöktes tillväxt av svamp respektive bakterier i systemet. Analyser utfördes på maltextraktagar (MA) för svamptillväxt och på Tryptic Soya Agar (TSA) för bakterietillväxt. Analyserna var fokuserade på studera förekomsten och inte halten.

### Resultat, AOT

#### Tillväxtanalyser

Cellerna visade bra tillväxt i våra 10-liters bioreaktorsystem. Vi jämförde också hur AOT-behandlingen påverkade celltillväxten och det visade sig att rening av näringslösning genom UV-behandling gav sämre tillväxt av cellkulturerna jämfört med näringslösning som ej renats med UV-ljus (Figur 3).



Figur 3. Effekt av UV-behandling på tillväxt av celler.

### Näringsanalyser

Näringslösningsanalyserna visade inga signifikanta skillnader när det gäller halten av makro- respektive mikronäringsämnen under försökets lopp. Ett undantag för detta var halten av järn och ammoniumkväve som ökade i slutet av försöket och halten av kisel som minskade. Detta innebär att AOT-systemet och cirkulering har en positiv effekt på ackumulering av näringsämnen.

Resultaten från detta första projekt visade att rening med AOT effektivt hämmade fällningar av de flesta näringsämnen men att förekomsten av mikroorganismer är ett problem som behöver undersökas vidare. Slutsatsen att annan reningsutrustning behöver testas för att uppnå en effektivare rening gjorde att av nästkommande projekt där kolfilter testades

kunde startas som en naturlig utveckling och fortsättning på projektet.

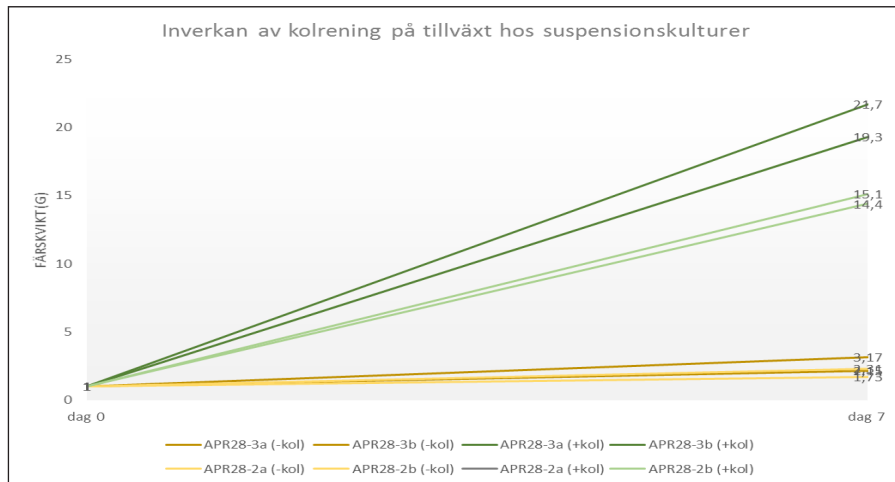
### Resultat, kolfilter

#### Tillväxtanalyser

Cellkulturerna växte bra i våra 10 liters bioreaktorsystem. Vi undersökte också hur det näringsmedium som renats genom kolfiltrering påverkade tillväxten hos växtcellkulturerna. Rening genom kolfiltrering gav bättre tillväxt jämfört med recirkulerat näringsmedium utan kolrening (Figur 4).

#### Näringsanalyser

Näringsanalyser gjordes i början samt i slutet av försöksperioden och visade en minskning i pH samt ledningstalet efter kolbehandling. Behandling med kol orsakade minskning i halten av makro- respektive mikronäringsämnen både i början samt



Figur 4. Inverkan av kolrening på tillväxt hos cellkulturer.

i slutet av försöksperioden. Den lägsta halten var efter 72 timmars behandling. Detta innebär att kolbehandlingen har en positiv effekt på näringsfällning i bioreaktorssystem. Ett undantag från detta är halten av kisel och natrium som ökade efter kolbehandlingen.

### Mikrobiella analyser

De mikrobiella analyserna indikerade ingen förekomst eller tillväxt av varken bakterier eller svamp i

proverna som samlades in under försökets lopp.

Resultaten från detta projekt visar att kolfiltrering är en effektiv metod att använda i bioreaktorssystem för att hämma fällningar av de flesta näringsämnen samt förekomsten av mikroorganismer. Annan reningsutrustning behöver dock testas för att uppnå en effektivare rening. Kiselackumulering är också ett problem som bör undersökas närmare.

### Referenser

- Alsanius B.W., Kristensen L. & Gustafsson P., 2010. *Rädd för vatten - ta prover!* Faktablad Tillväxt trädgård 17. SLU, Alnarp
- Gruda N., 2009. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 82: 141 – 147
- Gunnarsson V. & Larsson E., 2011. *Läkemedelsrester I dricksvattnet - ett osynligt hot.* Seminarium Gröna Kvinnor/ ABF
- Khalil S., 2014a. *Effekt av cirkulerande näringslösning med reningsutrustning på näringsfällning och hormoninnehåll i bioreaktorbaserad in vitro produktion av växtråvara.* Slutrapport för PA-projekt 715/13/FoG. Institutionen för biosystem och teknologi, SLU Alnarp.
- Khalil S., 2014b. *Effekt av reningsutrustning på näringsfällning och hormoninnehåll samt mikroflora i bioreaktorbaserad in vitro produktion av växtråvara.* Slutrapport för PA-projekt 774/14/FoG. Institutionen för biosystem och teknologi, SLU Alnarp.

- Faktabladet är utarbetat inom Institutionen för biosystem och teknologi vid LTV-fakulteten [www.slu.se/bt](http://www.slu.se/bt)
- Projekten är finansierade av Partnerskap Alnarp (PA 774 och 715), <http://partnerskapalnarp.slu.se/> och i samarbete med företaget In vitro Plant Tech, Malmö
- Projektansvarig: Sammar Khalil vid Institutionen för biosystem och teknologi, SLU Alnarp
- Författare: Sammar Khalil, [sammar.khalil@slu.se](mailto:sammar.khalil@slu.se) och Anna Holefors, [anna.holefors@invitroplanttech.se](mailto:anna.holefors@invitroplanttech.se)
- Kristina Engdahl har redigerat detta faktablad
- På webbadressen <http://epsilon.slu.se> kan detta faktablad hämtas elektroniskt