



Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IX
Symbolverzeichnis	XIII
Abbildungsverzeichnis	XV
Tabellenverzeichnis	XIX
Allgemeine Einleitung und Zielsetzung	1
I Grundlegende Untersuchungen zur Elektrofermentation mit <i>Clostridium acetobutylicum</i>	5
1 Einleitung	7
2 Theoretische Grundlagen	9
2.1 <i>Clostridium acetobutylicum</i>	9
2.1.1 Aceton-Butanol-Ethanol-Fermentation	9
2.1.2 Zentraler Kohlenstoffmetabolismus	10
2.1.3 Säure-Lösemittelübergang in Satzkultivierungen	12
2.2 Mikrobielle elektrochemische Technologien	12
2.2.1 Bioelektrochemische Systeme	13
2.2.2 Extrazellulärer Elektronentransfer	16
2.3 Steigerung der Lösemittelbildung von <i>C. acetobutylicum</i>	18
3 Material und Methoden	21
3.1 Elektrochemisch beeinflusste Kultivierung	21
3.1.1 Kultivierung in H-Zellen-Reaktoren	21
3.1.2 Kultivierung in Flaschen	22
3.2 Zellaufschluss	22
3.3 Analytik	22
3.3.1 Bestimmung der optischen Dichte	22
3.3.2 Gasanalytik	23
3.3.3 Chromatographie	23
3.3.4 Bestimmung der intrazellulären Pyridinnukleotide	24
3.3.5 Berechnung von Elektronen- und NAD(P)H-Bilanzen	25
3.3.6 Statistische Auswertung	26
4 Ergebnisse und Diskussion	27
4.1 Etablierung der Elektrofermentation in H-Zellen-Reaktoren (BES 1.0)	27
4.1.1 Aufbau des Versuchsstands	27
4.1.2 Elektrofermentationen im BES 1.0	29
4.1.3 Einfluss des elektrischen Potentials	31
4.1.4 Einfluss des Mediators Neutralrot	34
4.2 Optimierung des H-Zellen-Reaktorsystems (BES 2.0)	39
4.2.1 Medienuntersuchungen	39



4.2.2	Anpassung des H-Zellen-Reaktors	41
4.2.3	Elektrofermentation im BES 2.0	43
4.2.4	Analyse der NAD(P) ⁺ /NAD(P)H Verhältnisse bei Elektrofermentationen	47
5	Zusammenfassung und Ausblick	51
II	Reaktorsysteme für die Elektrofermentation mit <i>C. acetobutylicum</i>	53
1	Einleitung	55
2	Theoretische Grundlagen	57
2.1	Getrennte und nicht getrennte BES	57
2.2	Entwicklung bioelektrochemischer Reaktoren	57
2.3	Cyclovoltammetrie	58
3	Material und Methoden	61
3.1	Durchführung cyclovoltammetrischer Messungen	61
3.2	Fermentation im konventionellen Bioreaktor	61
3.3	Design und Konstruktion des elektrochemischen Bioreaktors	62
3.4	Fermentation im elektrochemischen Bioreaktor	62
4	Ergebnisse und Diskussion	63
4.1	Untersuchung abiotischer Faktoren in H-Zellen-Reaktoren	63
4.2	Einsatz nicht getrennter BES	68
4.3	Elektrofermentation im konventionellen Laborbioreaktor (BES 3.0)	71
4.4	Entwicklung eines innovativen elektrochemischen Bioreaktors (BES 4.0)	74
4.4.1	Konzept und Design des BES 4.0	74
4.4.2	Überprüfung der elektrochemischen Eigenschaften des BES 4.0	79
4.4.3	Satzfermentation im BES 4.0	81
4.5	Vergleich der Butanolausbeuten in den verschiedenen BES	84
5	Zusammenfassung und Ausblick	87
III	Untersuchung von Elektronentransfermechanismen für <i>C. acetobutylicum</i>	89
1	Einleitung	91
2	Theoretische Grundlagen	93
2.1	Eisen in bioelektrochemischen Systemen	93
2.2	Eisenhomöostase von <i>C. acetobutylicum</i>	93
2.3	Flavinmetabolismus von <i>C. acetobutylicum</i>	94
2.4	Flavine als endogene Mediatoren	95
2.5	Direkter extrazellulärer Elektronentransfer	96



3	Material und Methoden	101
3.1	Analytik	101
3.1.1	Flavinanalytik	101
3.1.2	Identifikation unbekannter Substanzen mittels GC-MS	102
3.1.3	Bestimmung von Pyruvat im Überstand	102
3.1.4	Bestimmung von löslichen Eisenionen	102
3.2	Mikroskopische Verfahren	103
3.2.1	Flagellenfärbung und -visualisierung	103
3.2.2	Rasterelektronenmikroskopie	104
3.2.3	Energiedispersive Röntgenspektroskopie	104
3.2.4	Leitfähige Atomkraftmikroskopie	104
3.3	Bestimmung homologer Proteinsequenzen	105
4	Ergebnisse und Diskussion	107
4.1	Flavinbinbildung im BES	107
4.1.1	Bildung von Flavinen und weiteren Produkten im BES	107
4.1.2	Mögliche Eisenlimitierung im BES	110
4.1.3	Biologische Verwertung adsorbierter Eisenspezies	115
4.1.4	Flavinbildung bei unterschiedlicher Eisenverfügbarkeit	118
4.1.5	Untersuchung der Flavinbildung im BES	122
4.2	Untersuchung von <i>C. acetobutylicum</i> -Zellen auf (leitfähige) Zellappendizes	126
4.2.1	Visualisierung von Zellappendizes bei Kontrollkultivierungen . . .	126
4.2.2	Visualisierung von Zellappendizes bei Elektrofermentationen . . .	132
4.2.3	Untersuchung der Leitfähigkeit der Zellappendizes	140
5	Zusammenfassung und Ausblick	143
	Gesamtzusammenfassung und Ausblick	144
	Literaturverzeichnis	150
	Anhang	174
A	Geräteliste	177
B	Chemikalienliste	179
C	Kultivierungsmethoden	181
C.1	Stammhaltung und Vorkulturen von <i>C. acetobutylicum</i>	181
C.2	Hauptkulturen von <i>C. acetobutylicum</i>	182
C.3	Kultivierung und Stammhaltung von <i>Lactococcus lactis</i> und <i>Bacillus subtilis</i>	184
D	Konstruktionszeichnungen	185
D.1	H-Zellen-Deckel	185
D.2	Abgaskühler	186
D.3	Elektrochemischer Bioreaktor (BES 4.0)	188
E	Aufbau BES 4.0	191



F	Zusätzliche Versuchsergebnisse	192
F.1	Pyruvatkonzentrationen für Fermentationen im BES 2.0	192
F.2	EDX-Spektren	193
F.3	Produktverläufe und Wachstumskurven bei Eisenadsorptionsversuchen . . .	194
F.4	Exogene Flavinzugabe ins Kultivierungsmedium	195
F.5	Verwertung verschiedener Eisenquellen von <i>C. acetobutylicum</i>	196
F.6	Mikroskopische Aufnahmen	197
F.6.1	<i>B. subtilis</i> Positivkontrolle für REM-Analytik	197
F.6.2	<i>L. lactis</i> Negativkontrolle für die REM-Analytik	200
F.6.3	Weitere mikroskopische Aufnahmen	201
F.7	Korrelation Biotrockenmasse und Leitfähigkeit von Zellsuspensionen . . .	203
G	Angaben zur Person	204
G.1	Veröffentlichungen und Tagungsbeiträge	204
G.2	Betreute studentische Arbeiten	206
G.3	Lebenslauf	208