

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	I
Abstract	III
Erklärung wissenschaftlicher Integrität	V
Inhaltsverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	XI
1 Einleitung	1
1.1 Ziel der Arbeit	2
2 Theoretische Grundlagen	4
2.1 Planctomyceten	4
2.1.1 Modellorganismus <i>Planctopirus limnophila</i>	5
2.2 Stofftransport von Sauerstoff	6
2.3 Bilanzierung der Abluft	9
2.4 Mathematische Charakterisierung von Bioprozessen	11
2.4.1 Batch-Fermentation	12
2.4.2 Fed-Batch-Kultivierung	13
2.5 Kultivierung im Rührkesselreaktor	15
2.6 Kultivierung im Festbett-Bioreaktor	16
2.7 Biofilme	18
2.8 Fermentationsmedien	20
2.9 Statistische Versuchsplanung	22
3 Material und Methoden	26
3.1 Verbrauchsmaterialien, Chemikalien und Geräte	26
3.2 Verwendeter Organismus	26
3.3 Medien	26
3.3.1 PYGV-Medium	26

3.3.2	Chemisch definiertes Medium D1	27
3.3.3	D1AP _m und D1ASO Medium	27
3.3.4	Medienzusammensetzung im Biofilmscreening	27
3.4	Kultivierungen im Well-Platten Maßstab	28
3.4.1	Vergleich unterschiedlicher Träger in 12-Well-Platten	28
3.4.2	Kultivierungen in 24-Well-Platten (Biofilmscreening)	29
3.4.3	Kultivierungen in 96-Well-Platten (Biofilmscreening)	29
3.5	Schüttelkolbenkultivierungen	30
3.5.1	Herstellung von Kryokulturen	30
3.5.2	Pufferscreening	30
3.5.3	Substitution der komplexen Medienbestandteile	30
3.5.4	Vitaminscreening	31
3.5.5	Medienanpassung mittels Response-Surface-Methode	31
3.6	Bioreaktorkultivierungen	32
3.6.1	Kultivierung im Satzbetrieb (Batch)	33
3.6.2	Kultivierung mit Zufütterung (Fed-Batch)	33
3.6.3	Kultivierung im Satzbetrieb mit 2 mL Festbett	34
3.6.4	Kultivierung im Satzbetrieb mit 40 mL Festbett	34
3.7	Methodenanpassung MTT Assay	34
3.7.1	Anpassung des Lösemittels	35
3.7.2	Variation der Inkubationsdauer	35
3.7.3	Verwendung steigender Lösemittelvolumina im MTT Assay	36
3.7.4	Korrelation MTT-OD ₆₀₀	36
3.8	Analytik	36
3.8.1	Optische Dichte (OD ₆₀₀)	36
3.8.2	Biotrockenmassebestimmung mittels Heizschrank	36

3.8.3	Bestimmung der Glucosekonzentration.....	37
3.8.4	Biofilmquantifizierung mittels Kristallviolettfrärbung	37
3.8.5	MTT-Assay zur Quantifizierung der Biomasse auf Trägeroberflächen....	38
3.8.6	Aminosäurebestimmung	39
3.8.7	Acetatbestimmung	39
3.8.8	Bestimmung der molaren Sauerstoffaufnahme (OUR)	40
3.9	Charakterisierung des Bioreaktorsystems	40
3.9.1	Bestimmung der Sauerstofflöslichkeit im D1ASO-Medium	40
3.9.2	Bestimmung der Mischzeit.....	41
3.9.3	Bestimmung des <i>kLa</i> -Wertes	42
3.9.4	Verweilzeitbestimmung im Rezirkulationskreislauf (Festbett)	43
4	Ergebnisse und Diskussion	45
4.1	Entwicklung eines chemisch definierten Kulturmediums	46
4.1.1	Pufferscreening	46
4.1.2	Substitution der komplexen Medienbestandteile	47
4.1.3	Vitaminscreening	50
4.1.4	Medienanpassung mittels Response-Surface-Methode	52
4.1.5	Entwicklung einer angepassten Aminosäurelösung für <i>P. limnophila</i>	56
4.2	Prozessentwicklung im Rührkesselreaktor (STR).....	58
4.2.1	Sauerstofflöslichkeit <i>c*</i> im D1ASO-Medium	58
4.2.2	<i>kLa</i> -Wert Messung	59
4.2.3	Einfluss des volumetrischen Leistungseintrags <i>P/V</i>	61
4.2.4	Bestimmung der Mischzeit.....	62
4.2.5	Einfluss unterschiedlicher pH-Werte auf das Zellwachstum	64
4.2.1	Batchkultivierungen	65
4.2.2	Korrelationen zur Bestimmung der Biotrockenmasse (BTM)	67

4.2.3	Fed-Batch Kultivierungen	73
4.3	Methodenentwicklung zur Auswahl eines Festbett Trägermaterials für <i>P. limnophila</i>	79
4.3.1	Anpassung des Lösemittels	79
4.3.2	Vergleich der Inkubationszeiten	80
4.3.3	Variation des Verhältnisses von Probe und Lösemittel	82
4.3.4	Vergleich der Trägermaterialien	83
4.3.5	Kalibrierung des MTT-Signals über OD ₆₀₀	85
4.4	Anregung der Biofilmbildung	87
4.4.1	Anregung der Biofilmbildung durch Metallionen	87
4.4.2	Einfluss des C:N Verhältnisses auf die Biofilmbildung	91
4.4.1	Einfluss von H ₂ O ₂ auf die Biofilmbildung	93
4.5	Kultivierungen im Fesbett	95
4.5.1	Einfluss des Volumenstroms auf die Biomasse im Festbett	95
4.5.2	Festbettkultivierung im 2 mL Maßstab	97
4.5.3	Festbettkultivierung im 40 mL Maßstab	99
4.5.1	Verweilzeitbestimmung im Rezirkulationskreislauf (Festbett)	103
5	Fazit und Ausblick	105
5.1	Medienentwicklung	105
5.2	Kultivierung im Suspensionsreaktor	106
5.3	Anpassung des MTT-Assays zur Biomassequantifizierung	107
5.4	Screening zur Anregung des sessilen Wachstums	108
5.5	Wachstumsmonitoring bei Kultivierung mit 40-mL Festbett	109
6	Literaturverzeichnis	112
7	Danksagung	137
8	Veröffentlichungen	139

9	Anhang.....	140
9.1	Nomenklatur.....	140
9.2	Indizes	143
9.3	Ergänzende Medienbestandteile	144
9.4	Sonstige Chemikalien und Reagenzien	147
9.5	Geräte und Kits	148
9.6	Software	149
9.7	Verwendete Trägermaterialien	149
9.8	DoE Versuchsansätze	149
9.8.1	Vitaminscreening	149
9.8.2	RSM Medienanpassung	151
9.9	Kontrollsequenz MiniBio500 exponentieller Feed	151
10	Abbildungsverzeichnis	152
11	Tabellenverzeichnis	159