

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 <i>Batch</i> -Fermentation.....	12
2.4.2 <i>Fed-Batch</i> -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 Heizschränk	36

Inhaltsverzeichnis

3.8.3	Bestimmung der Glucosekonzentration.....	37
3.8.4	Biofilmquantifizierung mittels Kristallviolettfärbung	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 Sauerstoffaufnahmerate (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 Kulturmédiums	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 c^* im D1ASO-Medium	58
4.2.2	<i>kLa</i> -Wert Messung	59
4.2.3	Einfluss des volumetrischen Leistungseintrags P/V.....	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

Inhaltsverzeichnis

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