



Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Zielsetzung	1
2	Theorie	3
2.1	Biomasse	3
2.1.1	Lignocellulose	3
2.1.2	Weizenkaff	5
2.2	Biokonversion	5
2.2.1	Vorbehandlung	6
2.2.2	Enzymatische Hydrolyse	7
2.2.3	Prozesskonfiguration	9
2.3	Itaconsäure	11
2.3.1	Itaconsäureproduktion und Anwendungen	12
2.3.2	Itaconsäureproduzenten	13
2.4	<i>Trichocomaceae</i>	15
2.4.1	Stoffwechselweg	16
2.4.2	Morphologie	17
2.4.3	Substrate	18
2.4.4	pH-Wert	19
2.5	<i>Ustilaginaceae</i>	20
2.5.1	Stoffwechselweg	20
2.5.2	Morphologie	21



3	Material und Methoden	22
3.1	Kultivierung von <i>Trichocomaceae</i>	22
3.1.1	Herstellung einer Sporensuspension aus Oberflächenkulturen und Stammhaltung	22
3.1.2	Herstellung einer Sporensuspension aus Submerskulturen	23
3.1.3	Bestimmung der Sporenkonzentration	24
3.1.4	Mediumzusammensetzung	24
3.1.5	Kultivierung in Schüttelkolben	25
3.1.6	Kultivierung in Mikrotiterplatten	25
3.1.7	Kultivierung im 1,5 L-Rührreaktor	26
3.1.8	Kultivierung im 15 L-Rührreaktor	27
3.1.9	Probennahme und Aufarbeitung	29
3.2	Kultivierung von <i>Ustilaginaceae</i>	30
3.2.1	Stammhaltung	30
3.2.2	Mediumzusammensetzung	31
3.2.3	Kultivierung in Reagenzgläsern	32
3.2.4	Kultivierung in Schüttelkolben	32
3.2.5	Probennahme und Aufarbeitung	33
3.3	Weizenkaff	33
3.3.1	Bestimmung der Weizenkaffzusammensetzung	33
3.3.2	Vorbehandlung	34
3.3.3	Enzymatische Hydrolyse	35
3.3.4	Eindampfen und Aufreinigung des Weizenkaffhydrolysats	35
3.3.5	Simultane Verzuckerung und Fermentation	36
3.3.6	Separate Verzuckerung und Fermentation	36
3.4	Analytische Methoden	37
3.4.1	Fettsäurebestimmung mittels Gaschromatographie mit Massenspektrometrie-Koppelung	37
3.4.2	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	38
3.4.3	Hochleistungsanionenaustauschchromatographie mit gepulster amperometrischen Detektion	39
3.4.4	Ionenchromatographie	40
3.4.5	Optische Emissionsspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma	40



3.4.6	Bestimmung der Cellulaseaktivität	42
3.4.7	Bestimmung von Glucoseäquivalenten mittels DNS-Reagenz	42
3.4.8	Bestimmung der Proteinkonzentration	43
3.4.9	Mikroskopie	44
3.4.10	Bestimmung der Dissoziationskonstanten	44
3.5	Datenauswertung	45
4	Ergebnisse und Diskussion	46
4.1	Itaconsäureproduktion auf Basis von Lignocellulose	46
4.1.1	Screening nach alternativen Itaconsäurebildnern	46
4.1.2	Verwertung von Monosacchariden aus lignocellulosehaltiger Biomasse	50
4.1.2.1	Zuckerverwertung <i>U. maydis</i>	50
4.1.2.2	Zuckerverwertung <i>U. rabenhorstiana</i>	52
4.1.2.3	Zuckerverwertung <i>A. terreus</i>	55
4.1.2.4	Zuckerverwertung - Vergleich	57
4.1.3	Einfluss von typischen Nebenprodukten aus der Lignocellulose-Vorbehandlung auf die Itaconsäureproduktion	58
4.1.3.1	Einfluss von Nebenprodukten der Vorbehandlung auf <i>U. maydis</i>	58
4.1.3.2	Einfluss von Nebenprodukten der Vorbehandlung auf <i>U. rabenhorstiana</i>	60
4.1.3.3	Einfluss von Nebenprodukten der Vorbehandlung auf <i>A. terreus</i>	61
4.1.3.4	Einflüsse von Nebenprodukten der Vorbehandlung - Vergleich	65
4.1.4	Einfluss der Enzymformulierung	67
4.1.4.1	Einfluss der Enzymformulierung <i>U. maydis</i>	68
4.1.4.2	Einfluss der Enzymformulierung <i>U. rabenhorstiana</i>	69
4.1.4.3	Einfluss der Enzymformulierung auf <i>A. terreus</i>	70
4.1.4.4	Einfluss der Enzymformulierung - Vergleich	71
4.1.5	Synthetisches Weizenkaffhydrolysat	71
4.1.5.1	Synthetisches Weizenkaffhydrolysat - <i>U. maydis</i>	72
4.1.5.2	Synthetisches Weizenkaffhydrolysat - <i>U. rabenhorstiana</i>	73
4.1.5.3	Synthetisches Weizenkaffhydrolysat - <i>A. terreus</i>	75



4.1.5.4	Synthetisches Weizenkaffhydrolysat - Vergleich	78
4.1.6	Auswahl eines Mikroorganismus zur Kultivierung auf Weizenkaffhydrolysat	79
4.2	Itaconsäureproduktion mit <i>A. terreus</i> auf Weizenkaffhydrolysat	81
4.2.1	Charakterisierung des Weizenkaffs	81
4.2.2	Alkalische Vorbehandlung des Weizenkaffs	83
4.2.3	Simultane Verzuckerung und Fermentation mit alkalisch vorbehandeltem Weizenkaff	85
4.2.4	Separate Hydrolyse und Fermentation mit alkalisch vorbehandeltem Weizenkaff	88
4.2.4.1	Enzymatische Hydrolyse von Weizenkaff	88
4.2.4.2	Biokonversion von Weizenkaffhydrolysat	90
4.2.4.3	Biokonversion von konzentriertem Weizenkaffhydrolysat	92
4.2.4.4	Vergleich unterschiedlicher Aufreinigungsoptionen	94
4.2.4.5	Bestimmung der kritischen Ionenkonzentrationen im Hydrolysat	95
4.2.4.6	Kultivierung mit aufgereinigtem Weizenkaffhydrolysat	97
4.2.5	Prozessüberblick: Itaconsäure aus Weizenkaff	98
4.2.6	Vergleich der Kultivierungen auf Weizenkaffhydrolysat mit Glucose	101
4.2.7	Vergleich mit der Literatur	102
4.3	Itaconsäureproduktion auf Basis von Glucose mit <i>A. terreus</i>	107
4.3.1	Referenzkultivierungen im 1,5 L-Rührreaktor	107
4.3.1.1	Kultivierung ohne pH-Kontrolle	107
4.3.1.2	Kultivierung mit pH-Kontrolle	109
4.3.2	Korrekturmittel	110
4.3.3	Startpunkt der pH-Kontrolle	112
4.3.4	Einfluss des pH-Wertes	114
4.3.4.1	Kultivierung mit pH-Kontrolle bei pH 3,4	116
4.3.4.2	Dissoziationsgrad von Itaconsäure	118
4.3.4.3	Bestimmung der Konzentrationen von Itaconsäure und Itaconaten in der Fermentationsbrühe	119
4.3.5	Einfluss von Phosphat	121
4.3.6	Einfluss von Mangan	123



4.3.7	Kultivierung im 15 L-Rührreaktor	124
4.3.8	Vergleich der Kultivierungen mit der Literatur	128
5	Zusammenfassung und Ausblick	132
	Literaturverzeichnis	136
	Anhang	152
A	Verzeichnisse und Listen	152
A.1	Abkürzungs- und Symbolverzeichnis	153
A.2	Chemikalienliste	156
A.3	Geräteliste	159
B	Analysenergebnisse	161
B.1	Synthetische Hydrolysate	161
B.2	Fettsäuren	163
B.3	Ammoniaklösungen	164
	Danksagung	165