

---

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2. THEORETISCHE GRUNDLAGEN .....</b>	<b>4</b>
2.1 Filamentöse Mikroorganismen .....	4
2.1.1 <i>Lentzea aerocolonigenes</i> und <i>Rebeccamycin</i> .....	6
2.1.2 <i>Aspergillus niger</i> .....	8
2.2 <i>Morphology Engineering</i> .....	9
2.2.1 Supplementation von Salzen (SEC) .....	11
2.2.2 Supplementation oberflächenaktiver Substanzen .....	11
2.2.3 Supplementation von Makropartikeln (MaPEC) .....	13
2.2.4 Supplementation von Mikropartikeln (MPEC) .....	14
2.2.5 Kombinatorische Anwendung von <i>Morphology Engineering</i> .....	16
2.3 Filamentöse Mikroorganismen im Bioreaktor .....	17
2.3.1 Mycelkultivierungen: Eine Herausforderung im Bioreaktor .....	17
2.3.2 Blasenfreie Begasungssysteme: Ein Lösungsansatz .....	18
2.4 Strukturelle Pelletcharakterisierung .....	20
2.4.1 Mikrocomputertomographie .....	20
2.4.2 Messung lokaler Sauerstoffkonzentrationen in Pellets .....	22
2.4.3 Bestimmung von Diffusionskoeffizienten in Pellets .....	23
<b>3. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>27</b>
3.1 Verwendete Mikroorganismen .....	27
3.1.1 Kultivierung von <i>L. aerocolonigenes</i> .....	27
3.1.1.1 Stammhaltung und Kultivierung im Schüttelkolben .....	27
3.1.1.2 Kultivierung im konventionellen Bioreaktor .....	28
3.1.1.3 Kultivierung mit Membranbegasungseinheit .....	28
3.1.1.4 Charakterisierung der Membranbegasungseinheit .....	30
3.1.1.5 Kultivierung mit Membranbegasungseinheit .....	34
3.1.2 Kultivierung von <i>A. niger</i> .....	34
3.1.2.1 Stammhaltung und Sporenpräparation .....	34
3.1.2.2 Kultivierung im Schüttelkolben .....	35
3.1.3 Kultivierung von <i>B. subtilis</i> .....	35
3.2 <i>Morphology Engineering</i> .....	35
3.2.1 Verwendete Partikel .....	36
3.2.2 Supplementation von Mikropartikeln (MPEC) .....	36
3.2.3 Supplementation von Makropartikeln (MaPEC) .....	36
3.2.4 Supplementation von Lecithin .....	38
3.2.5 Supplementation von Salz .....	38

3.3 Analytik.....	38
3.3.1 Biotrockenmasse (BTM).....	38
3.3.2 Mikroskopie.....	39
3.3.3 Substrat- und Produktquantifizierung.....	39
3.3.3.1 Substratkonzentration.....	39
3.3.3.2 Fructofuranosidase.....	40
3.3.3.3 Glucoamylase.....	40
3.3.3.4 Rebeccamycin.....	41
3.4 Downstream Processing von <i>L. aerocolonigenes</i> .....	42
3.4.1 Produktisolierung.....	42
3.4.2 Aufreinigung.....	42
3.5 Konventionelle Methoden der Pelletanalytik.....	43
3.5.1 Pelletschnitte, Viabilitätsfärbung und CLSM.....	43
3.5.2 Experimentelle Bestimmung der Pelletdichte.....	44
3.6 Minimalinvasive Methoden der Pelletanalytik.....	45
3.6.1 Röntgen- und synchrotronbasierte Mikrocomputertomographie.....	45
3.6.1.1 Probenpräparation.....	45
3.6.1.2 Durchführung der (SR)- $\mu$ -CT-Messungen.....	46
3.6.1.3 Bildauswertung und Datenverarbeitung.....	47
3.6.2 Mikroelektrodenteknik zur Messung von Sauerstoffkonzentrationen in.....	50
Pellets.....	50
3.6.2.1 Durchführung der Sauerstoffprofil-Messungen.....	52
3.6.2.2 Datenauswertung der Sauerstoffprofil-Messungen.....	53
3.6.2.3 Mathematische Modellierung der Sauerstoff-Versorgung.....	53
3.6.3 Mikroelektrodenteknik zur Bestimmung von Diffusionsfaktoren.....	54
3.6.3.1 Durchführung der Diffusionskoeffizienten-Messung.....	55
3.6.3.2 Datenauswertung.....	56
<b>4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....</b>	<b>57</b>
4.1 Rebeccamycin-Produktion, Aufreinigung und Charakterisierung.....	57
4.1.1 Ein neues Membranbegasungsmodul für den blasenfreien Bioreaktor.....	57
4.1.1.1 Charakterisierung der Membranbegasungseinheit.....	58
4.1.1.2 Kultivierung von <i>L. aerocolonigenes</i> mit Membranbegasungseinheit	
im Rührkessel-Bioreaktor.....	64
4.1.2 Rebeccamycin-Aufreinigung und antimikrobielle Wirksamkeit.....	70
4.1.2.1 Isolation und Aufreinigung von Rebeccamycin.....	71
4.1.2.2 Antimikrobielle Wirksamkeit von Rebeccamycin.....	74

4.2 Innere Pelletstruktur unter MPEC-Bedingungen: Strukturaufklärung mittels synchrotronbasierter Mikrocomputertomographie .....	78
4.2.1 Einfluss der Mikropartikelkonzentration auf die Morphologie .....	80
4.2.2 Globale Morphologieentwicklung von MPEC-Pellets .....	85
4.2.3 Einfluss der Mikropartikelgröße auf die Morphologie .....	89
4.2.4 Fazit zur Strukturaufklärung mittels SR- $\mu$ -CT .....	92
4.3 Innovative Sauerstoffmikroelektrodenmessung in Pellets .....	94
4.3.1 <i>L. aerocolonigenes</i> : Sauerstoff-Messungen und Strukturaufklärung .....	95
4.3.1.1 Sauerstoffkonzentrationen in <i>L. aerocolonigenes</i> aus MPEC .....	96
4.3.1.2 Dichtebestimmung von MPEC-Pellets .....	99
4.3.2 <i>A. niger</i> : Sauerstoff-Messungen und Strukturaufklärung .....	101
4.3.2.1 Charakterisierung nicht-supplementierter Pellets .....	101
4.3.2.2 Charakterisierung von MPEC-Pellets .....	107
4.3.2.3 Charakterisierung von SEC-Pellets .....	110
4.3.3 Fazit zur Sauerstoffprofil-Messung und Strukturaufklärung .....	115
4.4 Sauerstoffdiffusion in filamentösen Pellets: Experimentelle Ermittlung und strukturelle Validierung .....	117
4.4.1 Bestimmung effektiver Diffusionsfaktoren .....	118
4.4.2 Fazit zur Bestimmung effektiver Diffusionsfaktoren in filamentösen Pellets .... .....	124
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK .....</b>	<b>127</b>
<b>6. LITERATUR .....</b>	<b>131</b>
<b>7. ANHANG .....</b>	<b>145</b>