

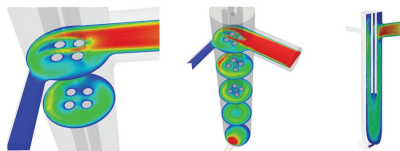


Stephan Kuhne (Autor)

Fermentation von phototrophen Organismen zur Produktion von biotechnologischen Wertstoffen

Stephan Alexander Kuhne

Fermentation von phototrophen Organismen zur Produktion von biotechnologischen Wertstoffen



Cuvillier Verlag Göttingen
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/7051>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany
Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>



Inhaltsverzeichnis

Kurzzusammenfassung	I
Abstract	III
Inhaltsverzeichnis	IV
Abkürzungen	IX
Formelzeichen	X
1. Einleitung.....	1
2. Fermentation von <i>Salvia officinalis</i> zur Gewinnung von biotechnologischen Wertstoffen	3
2.1 Einleitung und Zielsetzung	3
2.2 Stand der Technik zur Kultivierung von <i>Salvia officinalis</i>	4
2.3 Theoretische Grundlagen	5
2.3.1 <i>Salvia officinalis</i>	5
2.3.2 Photosynthese	6
2.3.2.1 Lichtreaktion	6
2.3.2.2 Dunkelreaktion	8
2.3.2.3 Lichtstärke	9
2.3.3 Kultivierung von Pflanzenzellen	9
2.3.3.1 Produktion von Sekundärmetaboliten	10
2.3.3.2 Kultivierungsbedingungen	10
2.3.3.3 Auswahl von Stämmen.....	11
2.3.3.4 Precursor-Zugabe	11
2.3.3.5 Elicitoren	12
2.3.3.6 Aggregatbildung.....	13
2.3.3.7 Begasung	13
2.3.3.8 Scherstress	14
2.3.3.9 Verwendete Kultivierungsstrategien	14
2.3.4 Triterpene.....	16
2.4 Verwendete Stämme von <i>Salvia officinalis</i> (inkl. gen. Modifizierungen).....	17
2.5 Mixotrophe Kultivierung von <i>Salvia officinalis</i> bei verschiedenen Lichtstärken	20
2.5.1 Kultivierung im Schüttelkolben.....	20
2.5.2 Kultivierung im Wavebag-Reaktor.....	28
2.5.3 Kultivierung auf Agarplatten.....	32
2.6 Vergleich mit heterotropher Kultivierung von <i>Salvia officinalis</i>	34
2.6.1 Vergleich der Wachstumsraten.....	34
2.6.2 Vergleich der erhaltenen Biomasse	36
2.6.3 Vergleich der erhaltenen Triterpene	37
2.6.4 Vergleich der Produktivität.....	38
2.7 Kultivierung von <i>Salvia officinalis</i> in Pektinase-haltigen Kultursuspensionen.....	42
2.7.1 Vergleich der erhaltenen Biomasse	42

2.7.2	Vergleich der erhaltenen Triterpene	43
2.7.3	Vergleich der Produktivität.....	44
2.8	Zusammenfassung.....	45
3.	Fermentation von Cyanobakterien zur Gewinnung von biotechnologischen Wertstoffen	49
3.1	Einleitung und Zielsetzung	49
3.2	Stand der Technik	50
3.2.1	Photobioreaktoren.....	50
3.2.1.1	Open Ponds	51
3.2.1.2	Raceway Ponds	51
3.2.1.3	Rohrreaktoren.....	52
3.2.1.4	Platten-Photobioreaktoren.....	53
3.2.1.5	Folienreaktor	54
3.2.1.6	Rührkessel aus Glas	55
3.2.1.7	Blasensäulen.....	55
3.2.1.8	Rührkessel.....	55
3.2.1.9	Zentrifugalreaktor.....	56
3.2.1.10	Fazit.....	56
3.2.2	Kultivierung von Cyanobakterien.....	57
3.3	Theoretische Grundlagen	58
3.3.1	Cyanobakterien	58
3.3.2	Terrestrische Cyanobakterien	60
3.3.3	Wachstumsfaktoren	60
3.3.3.1	Wachstum.....	61
3.3.3.2	Licht	63
3.3.3.3	Kohlenstoffdioxid.....	65
3.3.3.4	pH-Wert.....	67
3.3.3.5	Temperatur	68
3.3.3.6	Mineralsalze	69
3.3.3.7	Wasser	70
3.3.4	Biotechnologische Wertstoffe	70
3.3.4.1	Biomasse	70
3.3.4.2	Photopigmente.....	71
3.3.4.3	Antivirale Wirkstoffe	71
3.3.4.4	Extrazelluläre polymere Substanzen (EPS).....	71
3.3.4.5	Weitere	74
3.3.5	Kultivierung von terrestrischen Cyanobakterien	74
3.3.5.1	Leistungseintrag und mechanische Belastung.....	74
3.3.5.2	Sauerstofftransferrate OTR	75
3.3.5.3	Verwendete Kultivierungsstrategien	76
3.3.6	Statistische Versuchsplanung	79
3.4	Verwendete Organismen.....	82
3.5	Untersuchung und Optimierung der wesentlichen Wachstumsfaktoren	84
3.5.1	Untersuchung des Leistungseintrages.....	84
3.5.2	Untersuchung des pH-Wertes	88
3.5.3	Untersuchung der Temperatur	91
3.5.4	Untersuchung der Lichtstärke.....	94



3.5.5	Untersuchung des CO ₂ -Gehaltes	96
3.6	Modellierung des Wachstums in Abhängigkeit der oben genannten Parameter.....	99
3.6.1	Mathematische Beschreibung der experimentell bestimmten Daten ohne Berücksichtigung von Interaktionen.....	99
3.6.2	Bestimmung der Wechselwirkungen zwischen den Parametern durch DoE.....	104
3.6.3	Mathematische Beschreibung der experimentell bestimmten Daten mit Berücksichtigung von Interaktionen.....	111
3.7	Untersuchung und Optimierung des emersen Wachstums mit DoE.....	115
3.8	Entwicklung eines emersen Photobioreaktors (ePBR)	119
3.8.1	Konzept und Design des ePBR.....	119
3.8.2	Anschlüsse und Sensorik	122
3.8.3	Charakterisierung der Oberflächen.....	123
3.8.4	Lichtversorgung.....	125
3.8.5	Erzeugung des Aerosols	127
3.8.6	Temperatur und Luftfeuchtigkeit.....	128
3.8.7	CFD-Simulation.....	130
3.8.8	Fließschema	131
3.9	Fermentation mit dem ePBR.....	132
3.9.1	Methodik der Kultivierung mit dem emersen Photobioreaktor	132
3.9.2	Untersuchung der Wachstumsraten	133
3.9.3	Untersuchung der Pigment-Synthese.....	136
3.9.4	Untersuchung der EPS-Produktion.....	138
3.9.5	Direkte EPS-Isolierung von der Kultivierungsoberfläche	141
3.10	Produktion von biotechnologischen Wertstoffen.....	142
3.10.1	Biomasse.....	142
3.10.2	Photopigmente	144
3.10.3	EPS	147
3.10.3.1	Einfluss des pH-Wertes auf die EPS-Produktion.....	147
3.10.3.2	Optimierung der submersen EPS-Produktion mit DoE.....	149
3.10.3.3	Vergleich der submersen und emersen EPS-Produktion	152
3.10.3.4	Vergleich der Zusammensetzung der unter submersen und emersen Bedingungen gebildeten EPS	154
3.11	Zusammenfassung.....	156
4.	Diskussion und Ausblick	159
5.	Literaturverzeichnis	161
Anhang	183
A	Methodenteil.....	183
A.1	Bestimmung von verfahrenstechnischen Parametern	183
A.1.1	Bestimmung des Leistungseintrages.....	183
A.1.1.1	Rührkessel.....	183
A.1.1.2	Blasensäule.....	184
A.1.1.3	Schüttelkolben.....	184
A.1.1.4	Wavebag-Reaktor.....	185

A.1.2	Bestimmung des k_{La} -Wertes	186
A.1.3	Sauerstofftransfertrate OTR (Oxygen Transfer Rate)	190
A.1.4	Bestimmung der Beleuchtungsstärke	192
A.1.5	Bestimmung der Oberflächenrauheit	192
A.1.6	Berechnung der CO_2 -Löslichkeit nach Weisenberger	192
A.2	Methodenteil Pflanzenzellkultivierung	195
A.2.1	Stammhaltung	195
A.2.2	Ansetzen der Vorkulturen	195
A.2.3	Animpfen der Hauptkulturen	195
A.2.4	Probennahme	195
A.2.5	Ernte der Biomasse und Quantifizierung	196
A.2.6	Extraktion der Triterpene	196
A.2.7	Kalibriergeraden der Triterpenanalytik	197
A.3	Methodenteil zur Kultivierung terrestrischer Cyanobakterien	201
A.3.1	Stammhaltung	201
A.3.2	Ansetzen der Vorkulturen	201
A.3.3	Animpfen der Hauptkulturen	201
A.3.4	Probennahme	201
A.3.5	Bestimmung der Biomasse	202
A.3.6	Analytik der Photopigmente	203
A.3.7	Extraktion der EPS	204
A.3.8	Analytik der EPS	204
A.3.8.1	Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Dubois	204
A.3.8.2	Bestimmung des Acetylgruppengehalts nach Hestrin	204
A.3.8.3	Kombinierte Protein- und Huminstoffanalyse nach Frølund	205
A.3.8.4	Rhamnolipidanalyse nach Chandrasekaran und BeMiller	205
A.3.8.5	Uronsäureanalyse nach Blumenkrantz und Asboe-Hanson	206
A.3.9	Bestimmung der EPS-Zusammensetzung	206
A.3.10	Versuchsplan und Ergebnisse nach DoE für das submerse Wachstum	207
A.3.11	Versuchsplan und Ergebnisse nach DoE für das emerse Wachstum	209
A.3.12	Versuchsplan und Ergebnisse nach DoE für EPS-Bildung	211
A.3.13	Fluoreszenz-Analytik	212
A.3.14	Script für Berkley-Madonna	213
B	Verwendete Geräte	217
C	Verwendete Chemikalien	221
D	Verwendete Medien und Lösungen	223
D.1	Medien und Lösungen der Pflanzenzellkultivierung	223
D.1.1	LS-Medium	223
D.1.2	HPLC-Eluent	223
D.1.3	Ursol- und Oleanolsäurestandards	223
D.1.4	Standards der Zuckeranalytik	224
D.2	Medien und Lösungen der Cyanobakterienkultivierung	225
D.2.1	BG 11 Medium	225
D.2.2	Lösungen der EPS-Analytik	225
E	Abbildungsverzeichnis	229



F Tabellenverzeichnis 241

G Angaben zur Person..... 243

G.1 Betreute Arbeiten 243

G.2 Veröffentlichungsliste 245

G.3 Lebenslauf 247