

Dipl.-Ing. Andreas Eberle, Berlin

Sicherheitsfermentation mit mikroverkapselten Systemen

Reihe **17**: Biotechnik

Nr. **156**

Inhaltsverzeichnis

Symbolverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

	Zusammenfassung	1
1	Einleitung	3
2	Stand des Wissens	5
2.1	Gentechnik-Gesetz	5
2.1.1	Entstehungsgeschichte	5
2.1.2	Gentechnikgesetz heute	6
2.1.3	Gentechniksicherheitsverordnung (GenTSV)	6
2.1.4	Angewandte Sicherheitstechnik im Sinne des GenTG und der GenTSV	7
2.2	Organismen	8
2.2.1	<i>Escherichia coli</i>	8
2.2.2	<i>Bacillus subtilis</i>	10
2.2.3	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
2.3	Immobilisierungsmethoden	11
2.3.1	Immobilisierungsmethoden im Überblick	11
2.3.2	Verkapselungsverfahren	12
2.4	Ausschlußgrenzen	14
2.5	Biozide	15
2.5.1	T4-Phagen	15
2.5.2	Lysozym	16
2.5.3	Endo- β -1,4(3)-Glucanase	17
2.5.4	Antibiotika	17
3	Problemstellung	21
4	Material und Methode	23
4.1	Verkapselungsapparatur, -anlage	23
4.2	Verkapselungsverfahren und Modifizierung	25
4.3	Reaktor	26
4.4	Arbeitskonzept und Gesamtanlage	27
4.4.1	Verkapselung	27

4. 4. 2	Verweilzeit der Kapseln im Fällbad	28
4. 4. 3	Kultivierung	28
4. 4. 4	Kultivierung freier Mikroorganismen	29
4. 5	Mikroorganismen	30
4. 6	Wahl der Biozide	31
4. 6. 1	Effektivität	31
4. 6. 2	Streptomycinsulfattransport durch eine Flachmembran	32
4. 7	Einfluß der Medien auf Kapselfestigkeit	33
4. 8	Ausschlußgrenze der Kapselmembran	34
4. 8. 1	Bestimmung der Ausschlußgrenze	35
4. 8. 2	Variation der Ausschlußgrenze	35
4. 9	Analytik	36
4. 9. 1	Glucosebestimmung	36
4. 9. 2	Biomassekonzentration	37
4. 9. 3	Lebendzellzahl-Bestimmung (LZZ) mit Hilfe des MTT-Testes	37
4. 9. 4	Messung der optischen Dichte	38
4. 9. 5	Berechnung der maximalen spezifischen Wachstumsrate	38
4. 9. 6	Ermittlung des Ausbeutekoeffizienten	39
4. 9. 7	Berechnung relevanter Fermentationsgrößen (Q_{O_2} , Q_{CO_2} , $k_L a$, RQ)	39
4. 9. 8	Gelelektrophorese	43
4. 9. 9	TOC-Messung	46
4. 9. 10	Gesamtkohlenhydrattest	46
5	Ergebnisse	48
5. 1	Modifiziertes Verkapselungsverfahren	48
5. 2	Einfluß der Medien auf die Kapselstabilität	48
5. 2. 1	Steigender Endwert mit steigender Konzentration	48
5. 2. 2	Fallender Endwert mit steigender Konzentration	49
5. 2. 3	Steigende Stabilität über den Wert der Anfangsstabilität	50
5. 2. 4	Vergleich von großen und kleinen Kapseln	53
5. 2. 5	Einfluß unterschiedlicher pH-Werte auf die Kapselstabilität	54
5. 3	Wahl der Biozide	55
5. 3. 1	Effektivität und Auswahl	55
5. 3. 2	Messung des Streptomycintransportes durch eine Flachmembran	58
5. 4	Ausschlußgrenze	60
5. 4. 1	Bestimmung der Ausschlußgrenze	60
5. 4. 2	Variation der Ausschlußgrenze	61
5. 5	Kultivierung der Mikroorganismen	67

5. 5. 1 <i>Escherichia coli</i>	67
5. 5. 2 <i>Bacillus subtilis</i>	71
5. 5. 3 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	74
6 · Fehlerbetrachtung	78
7 Diskussion	80
7.1 Einfluß der Medien auf die Kapselstabilität	80
7. 1. 1 Physikalische Effekte	80
7. 1. 2 Chemische Effekte	83
7.2 Ausschlußgrenze	86
7. 2. 1 Bestimmung der Ausschlußgrenze	86
7. 2. 2 Variation der Ausschlußgrenze	87
7. 3 Biozide	90
7. 4 Verkapselungsverfahren	92
7. 4. 1 Verkapselungsapparatur	92
7. 4. 2 Modifiziertes Verkapselungsverfahren	93
7. 4. 3 Arbeitskonzept	93
7. 5 Kultivierung der Mikroorganismen	95
7. 5. 1 Kultivierung freier Mikroorganismen	95
7. 5. 2 Kultivierung verkapselter Mikroorganismen	96
8 Ausblick	99
9 Literatur	100