

# Inhaltsverzeichnis

## 1. Mikrobielle Verfahrensentwicklung 1

- 1.1 Bioverfahrenstechnik 2
- 1.2 Reaktionstechnik in der mikrobiellen Verfahrensentwicklung 4

## 2. Optimierung von Reaktionsbedingungen im Parallelansatz 13

- 2.1 Stand der Forschung 14
  - 2.1.1 Abschätzung von Eduktflüssen über Massen- und Energiebilanzen 14
  - 2.1.2 Zusammensetzung von Fermentationsmedien 17
  - 2.1.3 Optimierung von Fermentationsmedien 26
  - 2.1.4 Charakterisierung von Schüttelkolben 32
- 2.2 Medienoptimierung mit Genetischem Algorithmus 37
  - 2.2.1 Stochastische Suchstrategien 37
  - 2.2.2 Genetischer Algorithmus zur experimentellen Versuchsplanung 42
- 2.3 Prozeßbeispiele 46
  - 2.3.1 Herstellung von *Arthrobacter simplex* Zellen 46
  - 2.3.2 L-Lysin-Herstellung mit *Corynebacterium glutamicum* 53
  - 2.3.3 Herstellung von Formiatdehydrogenase mit *Candida boidinii* 58
- 2.4 Schlußfolgerungen 63

## 3. Fedbatch-Prozeßentwicklung im Parallelansatz 71

- 3.1 Stand der Forschung 72
  - 3.1.1 ParalleleDosiertechnik 72
  - 3.1.2 Parallelreaktoren 73
- 3.2 Parallele Dosiertechnik und *pH-Kontrolle* 76
- 3.3 Parallele Kleinreaktoren: Begaste Säulen 81
  - 3.3.1 Sauerstoffeintrag in Begasten Säulen 82
  - 3.3.2 Leistungseintrag in Begasten Säulen 85
  - 3.3.3 Wasserverlust in Begasten Säulen 89
  - 3.3.4 Begaste Säulen mit integriertem Sterilfilter 90
- 3.4 Anwendungsbeispiel: Optimierung von Induktorprofilen 92
- 3.5 Schlußfolgerungen 101

#### **4. Reaktionstechnik der intrazellulären Stoffflußanalyse 107**

- 4.1 Stand der Forschung 109
  - 4.1.1 *In-vivo* NMR-Messung intrazellulärer Metabolite 110
  - 4.1.2 Schnelle Probenahme zur Messung intrazellulärer Metabolite 119
- 4.2 Membran-Zyklonreaktor zur *in-vivo* NMR-Messung 125
  - 4.2.1 Verfahrenstechnischer Reaktorentwurf zur *in-vivo* NMR-Messung 125
  - 4.2.2 Verfahrenstechnische Charakterisierung des Zyklonreaktors 129
  - 4.2.3 Reaktionstechnische Charakterisierung der Verweilzeitentkopplung 135
  - 4.2.4 Anwendungsbeispiel zur *in-vivo* 31p-NMR-Messung 136
  - 4.2.5 Anwendungsbeispiel zur *in-vivo* 13C-NMR-Messung 146
- 4.3 Reaktionstechnik der invasiven Messung von Metabolitdynamiken 153
  - 4.3.1 Probenahme mit Metabolitextraktion im Probenahmerohr 153
  - 4.3.2 Anwendungsbeispiel: Glukoseverwertung von *Zymomonas mobilis* 158
  - 4.3.3 Automatisierte Probenahme mit Vorschubeinheit 163
  - 4.3.4 Anwendungsbeispiel: Glukoseverwertung von *Escherichia coli* 167
- 4.4 Schlußfolgerungen 171

#### **5. Reaktionstechnische Analyse im Nutristaten 179**

- 5.1 Stand der Forschung 180
  - 5.1.1 Kinetik mikrobieller Stoffumwandlungen 180
  - 5.1.2 Identifikation makrokinetischer Modelle 185
  - 5.1.3 Prozeßführung im kontinuierlich betriebenen Rührkesselreaktor 190
  - 5.1.4 Automatisierte Optimierung von Reaktionsbedingungen 196
- 5.2 Substratkontrolle 198
  - 5.2.1 Adaptive Prozeßidentifikation mit Kaiman-Filter 199
  - 5.2.2 Verallgemeinerte Minimalvarianzregler 204
  - 5.2.3 Einsatzbeispiele 206
- 5.3 Optimierung von Reaktionsbedingungen im Nutristaten 209
  - 5.3.1 Automatisierte Medienherstellung 209
  - 5.3.2 Systemsteuerung 211
  - 5.3.3 Prozeßbeispiel: 214
- Maximierung der Wachstumsrate von *Candida boidinii*
- 5.4 Makrokinetische Analyse im Nutristaten 218
  - 5.4.1 Optimale Versuchsplanung zur Parameteridentifikation 219
  - 5.4.2 Prozeßbeispiel: 222
- Identifikation der Makrokinetik von *Candida boidinii*
- 5.5 Schlußfolgerungen 227

## **6. Verfahrensentwicklung: 233**

### **Formiatdehydrogenase-Herstellung mit *Candida boidinii***

6.1 Stand der Forschung 234

6.1.1 Dehydrogenasen als industrielle Biokatalysatoren 234

6.1.2 Die methylotrophe Hefe *Candida boidinii* 236

6.1.3 Formiatdehydrogenase aus *Candida boidinii* 238

6.1.4 *Candida boidinii* als Produktionsorganismus 239

6.2 Verfahrenstechnische Analyse 241

6.2.1 Fedbatch-Prozeß im Rührkesselreaktor 242

6.2.2 Kontinuierlicher Prozeß im Rührkesselreaktor 244

6.3 Kontinuierliche Herstellung von Formiatdehydrogenase im Pilotmaßstab 249

6.4 Schlußfolgerungen 253

## **7. Die Rolle der Reaktionstechnik in der mikrobiellen Verfahrensentwicklung 259**

7.1 Optimierung von Reaktionsbedingungen 259

7.2 Reaktionstechnik der intrazellulären Stoffflußanalyse 264

7.3 Identifikation der Reaktionskinetik 268

7.4 Reaktorauslegung und Maßstabsvergrößerung 271

## **8. Literaturverzeichnis 275**

## **9. Symbolverzeichnis 297**

## **10. The Role of Reaction Engineering in Microbial Process Development 305**

10.1 Optimization of the Reaction Conditions 306

10.2 Reaction Engineering for the Study of Intracellular Metabolite Concentrations 310

10.3 Identification of the Reaction Kinetics 314

10.4 Reactor Design and Scale-Up 317