



Susan Krull (Autor)

# **Biotechnische Itaconsäureproduktion** Nutzung nachwachsender Rohstoffe und Prozessoptimierung



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/7787>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>



---

## Inhaltsverzeichnis

---

<b>1</b>	<b>Einleitung und Zielsetzung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Theorie</b>	<b>3</b>
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



<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>22</b>
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
<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>46</b>
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. raben-</i> <i>horstiana</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
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>132</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>136</b>
	<b>Anhang</b>	<b>152</b>
<b>A</b>	<b>Verzeichnisse und Listen</b>	<b>152</b>
A.1	Abkürzungs- und Symbolverzeichnis . . . . .	153
A.2	Chemikalienliste . . . . .	156
A.3	Geräteliste . . . . .	159
<b>B</b>	<b>Analysenergebnisse</b>	<b>161</b>
B.1	Synthetische Hydrolysate . . . . .	161
B.2	Fettsäuren . . . . .	163
B.3	Ammoniaklösungen . . . . .	164
	<b>Danksagung</b>	<b>165</b>