

**Optisches On-line-Verfahren
zur Trockengewichtsbestimmung
bei Fermentationen von filamentösen Pilzen**

Vom Fachbereich Biologie der Universität Kaiserslautern
zur Verleihung des akademischen Grades

„Doktor der Naturwissenschaften“

genehmigte
Dissertation
(D386)

vorgelegt von

M. Sc. (Chem.) Eveline Ganpo-Nkwenkwa geb. Tonfack

Vorsitzender:	Prof. Dr. H. J. Schmidt
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. H-G. Kuball
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. T. Anke

Tag der wissenschaftlichen Aussprache
27 November 2002

Kaiserslautern 2002

Inhaltverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Problemstellung	3
3.	Theoretische Grundlagen	4
3.1.	Optische Spektroskopie	4
3.1.1.	Lichtstreuung	4
3.1.1.1.	Rayleigh-Streuung	4
3.1.1.2.	Mie-Streuung	5
3.1.2.	Reflexionsspektroskopie	7
3.1.2.1.	Kubelka-Munk-Theorie	8
4.	Experimenteller Teil	9
4.1.	Substanzen	9
4.1.1.	Polystyrolteilchen	9
4.1.2.	Medien	9
4.1.2.1.	Salzmedium	9
4.1.2.2.	Nährmedien	10
4.1.3.	Pilze und Fermentationsbedingungen	10
4.2.	Trockengewichtsbestimmung	11
4.3.	Geräte	11
4.3.1.	Probengefäß und Rührsystem	11
4.3.2.	Bioreaktoren	13
4.3.3.	Teilchengrößenanalyse	13
4.3.4.	Bildanalysesystem	14
4.3.5.	Diodenarray-Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer	15
4.3.5.1.	Apparat und dessen Entwicklung	15
4.3.5.1.1.	Umbau des Diodenarray-Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer	15
4.3.5.1.2.	Eichung des Diodenarray-Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer	15
4.3.5.1.2.1.	Überprüfung der Gitter- Justierung am Emissionsmonochromator	16
4.3.5.1.2.2.	Durchführung der Eichkurve zur Bestimmung der Wellenlänge des Emissionsmonochromators	24
4.3.5.1.2.3.	Anregungsmonochromator	26

4.3.5.1.2.4.	Überprüfung der Gitter- Justierung im Anregungsmonochromator.....	27
4.3.5.1.2.5.	Darstellung der Einstellung des Anregungsmonochromators nach unvorhergesehenem Abbruch der Messung	28
4.3.5.1.2.6.	Einstellung des Anregungsmonochromators nach unvorhergesehenem Abbruch der Messung	29
4.3.5.2.	Reflexionsintensität in Abgängigkeit des Abstandes Lichtleiter-weißes Papier	32
4.3.6.	Vorschlag zum Aufbau einer neuen einfachen Streulicht-Apparatur	35
5.	Analyse des Streulichtverhalten.....	37
5.1.	Qualitatives Modell zur Beschreibung der Eichkurve von Polystyrol- und Myzelteilchen	37
5.1.1.	Theoretische Überlegungen zur Behandlung der gestreuten/reflektierten Lichtintensität	38
5.1.2.	Experimentelle Suche nach geeigneten Parametern zur Darstellung der Streulichtmessungen	39
5.2.	Untersuchungen am Modell System: Polystyrolteilchen im wässrigen Medium	39
5.2.1.	Habitus der Polystyrolteilchen	40
5.2.2.	Größenverteilung der Polystyrolteilchen	40
5.2.3.	Wellenlängenabhängigkeit der Streulicht- bzw. Reflexionsmessungen	43
5.2.4.	Erstellung einer Eichkurve von wässrigen Suspensionen von Polystyrolteilchen	45
5.3.	Untersuchungen am Myzel	49
5.3.1.	Morphologie des Myzels	49
5.3.2.	Pelletgrößenverteilung des Pilzes Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129	51
6.	Experimentelle Ergebnisse zur Trockengewichtsbestimmung von Pilzen	55
6.1.	Fermentation des Deuteromyceten 273-95	55
6.1.1.	Phänomenologische Diskussion der Fermentation	55
6.1.2.	Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Deuteromyceten 273-95 ...	57
6.1.3.	Auswertung der Messergebnisse und Korrektur	58
6.2.	Fermentation des Ascomyceten A17-99	67
6.2.1.	Phänomenologische Diskussion der Fermentation	67

6.2.2.	Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Ascomyceten A17-99	69
6.2.3.	Auswertung der Messergebnisse und Korrektur	70
6.3.	Fermentation des Ascomyceten (Discomyceten) <i>Ascobolus immersus</i> D01002	73
6.3.1.	Phänomenologische Diskussion der Fermentation	73
6.3.2.	Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Ascomyceten (Discomyceten) <i>Ascobolus immersus</i> D01002.....	75
6.3.3.	Auswertung der Messergebnisse und Korrektur	76
6.4.	Fermentation de Endophyten E99043.....	79
6.4.1.	Phänomenologische Diskussion der Fermentation	79
6.4.2.	Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Endophyten E99043	81
6.4.3.	Auswertung der Messergebnisse und Korrektur	81
6.5.	Fermentation des Basidiomyceten <i>Favolaschia</i> sp. 87129.....	84
6.5.1.	Phänomenologische Diskussion der Fermentation	84
6.5.2.	Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation <i>Favolaschia</i> sp. 87129	86
6.5.3.	Auswertung der Messergebnisse und Korrektur	87
6.6.	Fermentationen des Basidiomyceten <i>Irpex</i> 95282.....	89
6.6.1.	Phänomenologische Diskussion der Fermentation	89
6.6.2.	Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Basidiomyceten 95282	91
6.6.3.	Auswertung der Messergebnisse und Korrektur	92
6.7.	Fermentationen des Basidiomyceten <i>Panaeolus</i> 96026	95
6.7.1.	Phänomenologische Diskussion der Fermentation von <i>Panaeolus</i> 96026.....	95
6.7.2.	Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Basidiomyceten <i>Panaeolus</i> 96026	97
6.7.3.	Auswertung der Messergebnisse und Korrektur	98
6.8.	Verdünnungsreihen des Basidiomyceten <i>Favolaschia</i> 87129	101

6.8.1.	Verdünnungsreihen von Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Vorfermentation im 20 l, Fermentation im 200 l und Vorkultur im 5 l Maßstab).....	101
6.8.1.1.	Auswertung der Messergebnisse und Korrektur	104
6.8.2.	Verdünnungsreihen von <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Vorkultur im 5 l Maßstab)	106
6.8.2.1.	Auswertung der Messergebnisse und Korrektur	107
7.	Fehlerbetrachtung	109
7.1.	Fehlerbetrachtung der Streulichtmessungen an den untersuchten Pilzen.....	109
7.2.	Fehlerbetrachtung der Bestimmung des Myzeltrockengewichts von untersuchten Pilzen 110	
8.	Diskussion der Ergebnisse	115
8.1.	Analyse der Streulichtmessungen zur Trockengewichtsbestimmung bei der Fermentation von Pilzen	115
8.2.	Analyse der Streulichtmessungen zur Trockengewichtsbestimmung bei den Verdünnungsreihen des Basidiomyceten <i>Favolaschia</i> sp. 87129	122
8.3.	Vergleich der Streulichtmessungen zur Trockengewichtsbestimmung bei Fermentation und Verdünnungsreihen des Basidiomyceten <i>Favolaschia</i> sp 87129	126
8.4.	Methode zur MTG-Bestimmung über Streulichtintensitäten	126
9.	Zusammenfassung.....	128
10.	Anhang.....	131
10.1.	Diodenarray – Fluoreszenz- Streulichtspektrometer.....	131
10.1.1.	Übersicht	131
10.1.2.	Inbetriebnahme.....	132
10.1.2.1.	Einschalten der Apparatur.....	132
10.1.2.1.1.	Lampenversorgung (L).....	133
10.1.2.1.2.	Emissionsmonochromator (EM)	133
10.1.2.1.3.	Schrittmotorsteuerungen (SMS).....	135
10.1.2.1.4.	Optometer.....	135
10.1.2.1.5.	Optical Multichannel System (OMS).....	135
10.1.2.1.6.	Rechner (OMS Programm)	135
10.1.2.2.	Ausschalten der Apparatur.....	135
10.1.3.	Ablauf einer Streulicht- bzw. Fluoreszenzmessung.....	136
10.1.3.1.	OMS (Optical Multichannel System) –Programm	137

10.1.3.1.1.	Haupt – Menüzeile	137
10.1.3.1.1.1.	Markierung des gewünschten Hauptmenüpunktes auf der graphischen Oberfläche der OMS Programms mit Hilfe der Maustasten.....	140
10.1.3.1.1.2.	Markierung des gewünschten Hauptmenüpunktes auf der graphischen Oberfläche der OMS Programms mit Hilfe der Funktionstaste F10 und den Pfeiltasten der Tastatur.	141
10.1.3.1.2.	Daten–Fenster.....	141
10.1.3.1.3.	Cursor	142
10.1.3.1.4.	Intensität	142
10.1.3.1.5.	Informationsfeld	142
10.1.3.2.	Steuerung über Menüs und Makro.....	143
10.1.3.2.1.	Steuerung über Menüs.....	143
10.1.3.2.2.	Steuerung über Makro	150
10.1.3.3.	Ablauf einer Messreihe	151
10.1.3.4.	Ablauf einer Langzeitmessung	153
10.1.3.5.	Weiterverarbeitung und Auswertung der Messdaten.....	154
10.1.3.6.	Verlassen des OMS-Programms	155
10.1.4.	Musterbeispiel von Messung und Auswertung	155
10.2.	Linien einer Quecksilberniederdrucklampe	156
10.3.	Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Pilzen nach aufsteigenden Streulichtintensitäten.....	157
10.4.	Fermentation des Basidiomyceten <i>Favolaschia sp</i> 87129 (Fortsetzung).....	161
10.4.1.	Phänomenologische Diskussion der Fermentation (Fortsetzung).....	161
10.4.2.	Fortsetzung der Qualitative Ergebnisse der Streulichtmessungen der Fermentation des Basidiomyceten <i>Favolaschia</i> 87129	165
10.5.	Einfluss der Drehzahl auf die Intensität der Streulichtmessungen.....	166
10.6.	Extinktionsmessung einer Probe der Fermentationsbrühe des Discomyceten <i>Ascobolus immersus</i>	167
11.	Literatur	168

Abkürzungen und Symbole

Abb.	Abbildung
AM	Anregungsmonochromator
c	Konzentration
CCD	Charge Coupled Device
d	Schichtdicke
D	Diodennummer
D_i	Durchmesserklasse
D_M	Mediandurchmesser
$D_{Max.}$	Maximaler Durchmesser
EM	Emissionsmonochromator
Ferm.	Fermentation
Gl.	Gleichung
h	Stunde
Hg	Quecksilber
I und Int.	Intensität
K	Korrektur
Kap.	Kapitel
λ	Wellenlänge
λ_{Ex}	Anregungswellenlänge
λ_{Em}	Emissionswellenlänge
λ_{Max}	Wellenlänge im Emissionsmaximum
MTG	Myzeltrockengewicht
nm	Nanometer
N	Teilchenzahldichte
Nr.	Nummer
v	Wellenzahl
λ_{Ex}	Anregungswellenlänge
λ_{Em}	Emissionswellenlänge
OMS	Optimal Multichannel System
Q_{Str}	Streukoeffizient
σ	Standardabweichung
$s_{y,x}$	Standardfehler der Voraussage
t	Zeit
Tab.	Tabelle
Temp.	Temperatur
UpM	Umdrehungen pro Minute
UV	Ultraviolett
Verd	Verdünnungsreihe

1. Einleitung

Um das Wachstum von Mikroorganismen quantitativ verfolgen zu können, ist die Bestimmung der Biomasse bei der Wachstumskontrolle der Fermentationsprozesse von besonderer Bedeutung. Die gravimetrische Trockengewichtsbestimmung [1], die unterschiedslos sowohl die Biomasse als auch im Medium enthaltene Feststoffe erfasst, ist eines der wichtigsten Verfahren dieser Kontrolle. Eine Trockengewichtsbestimmung mit Hilfe von Streulichtverfahren ist bei der Fermentation von Hefen und Bakterien aufgrund des Wellenlängen/Durchmesser-Verhältnisses im Bereich der Mie-Theorie und eines geometrisch einheitlichen Zellmaterials theoretisch begründbar und experimentell durchführbar [2, 3, 4, 5, 6, 7]. Um zu überprüfen, ob eine im Arbeitskreis entwickelte Fluoreszenzapparatur [8] als Apparatur zur Streulichtmessung genutzt werden kann, wurden mit dieser Apparatur Trockengewichtsbestimmungen bei Hefen und Bakterien [9] durchgeführt und gezeigt, dass das Trockengewicht im großen Konzentrationsbereich des biologischen Materials eine lineare Funktion der Streulichtintensität ist. Die Standardfehler sind kleiner als die Fehler der gravimetrischen Methode und liegen bei ± 0.1 g/l. Kleine morphologische Änderungen des biologischen Materials während der Fermentation haben das Ergebnis der Messung nicht wesentlich beeinflusst. Mit diesen Messungen wurden Ergebnisse aus der Literatur bestätigt [2, 3, 4, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17].

Streulichtuntersuchungen bei filamentösen Pilzen sind aus drei Gründen problematisch: zum einen ist die Größenverteilung der Pellets relativ breit und ändert sich während der Fermentation. Die Pellets erreichen dabei Durchmesser in der Größenordnung von Millimetern, was einem Vielfachen der Wellenlänge der einfallenden Strahlung entspricht. Zum zweiten haben die Pellets wegen des hyphenartigen Wachstums keine einheitliche Form und zum dritten ändert sich die Pelletmorphologie während der Fermentation [9]. In Anbetracht dieser negativen Aussagen könnte man vermuten, dass eine Bestimmung des Trockengewichts über die Lichtstreuung bei filamentösen Pilzen unmöglich ist. D.h. eine Lichtstreuung im eigentlichen Sinn sollte daher nicht mehr auftreten und bei einer "Messung einer Lichtstreuung" schon gar keine Proportionalität zwischen Streulichtintensität und Zahl der Teilchen oder der Masse des streuenden Materials.

Zusätzlich zu den drei genannten grundsätzlichen Problemen ergibt sich aus dem Aufbau der vorhandenen Fluoreszenz-Apparatur noch ein weiteres Problem, nämlich, dass im On-line-System und auch bei Off-line-Messungen das über den Lichtleiter bestrahlte Volumen im Fermenter resp. in jedem verwandten Reaktor sich im Verlauf der Fermentation ändert und sich damit auch das Volumen ändert, in dem das zu messende Streulicht entsteht. Diese Verhältnisse in der "Strahlgeometrie" unterscheiden sich prinzipiell von der häufig verwandten 90°-Geometrie [2] aber auch von der Geometrie, die vorliegt, wenn man unter einem Winkel von ca. 170° bis 178° die Rückstreuung - wie bei vielen Fluoreszenzapparaturen häufig bevorzugt - erfasst. Wie zu zeigen sein wird, kann die "reine 180°"-Geometrie aber auch zu Vorteilen bei einer Streulichtmessung führen.

Allen negativen theoretischen Aussagen zum Trotz konnten spektroskopischen Messungen bei filamentösen Pilzen durchgeführt werden. Zum Einem konnten das Wachstum anhand einer in situ mikrospektrophotometrischen Methode verfolgt [18] und zum Zweiten das Myzeltrockengewicht mit der vorhandenen "Fluoreszenzapparatur" und mit Hilfe einer Eichkurve bestimmt werden [9]. Der Befund von Dochnahl [9] und damit die offensichtliche Verwendbarkeit dieser Methode zur Bestimmung des Trockengewichts innerhalb der Fehlerbreite der Off-line-Bestimmung erfordert eine theoretische Analyse des "Streuprozesses", um das Verfahren in den Routinebetrieb einführen und dort kontrollieren zu können.

2. Problemstellung

In dieser Arbeit soll das Trockengewicht über Streulicht-Messungen in Fermentationsprozessen bei filamentösen Pilzen im On-line-Betrieb bestimmt werden. Wobei hier aber zu diskutieren ist, ob der zur Analyse verwandte Prozess nicht eher als diffuse Reflexion an großen Myzelteilchen als Lichtstreuung zu interpretieren ist. Es sind drei Problemkreise zu behandeln:

1. Aufbauen einer Messanordnung für die Erstellung von Eichkurven, in der die Reflexionen von den Glaswänden des Proben-Gefäßes und vom Rührsystem stark reduziert werden können. Der Fehler bei der Bestimmung bei kleinen Teilchenkonzentrationen kann dadurch verringert werden.
2. Aufbereiten der vorhandenen Fluoreszenz-Apparatur für den Routinebetrieb. D.h. die bisher im Bereich der Physikalischen Chemie entwickelte und auch dort betriebene Apparatur soll so ergänzt werden, dass sie im Bereich der Biotechnologie im Routinebetrieb einsetzbar wird.
3. Überlegungen zur Entwicklung einer wenigstens halb-quantitativen Beschreibung der Abhängigkeit des Streulichts/der diffusen Reflexion der Pellets bei filamentösen Pilzen vom Trockengewicht. Nach Voruntersuchungen ist nämlich zu erwarten, dass die vorliegenden Proben einen Effekt zeigen, der zwischen Mie-Streuung und diffuser Reflexion liegt. Die Lichtstreuung von Polystyrolteilchen mit einer den Pellets ähnlichen Größe soll zur Sammlung von Erfahrungen untersucht werden. Außerdem sind zusätzlich experimentelle Untersuchungen an mehreren filamentösen Pilzen unter unterschiedlichen Bedingungen erforderlich. Dabei sollen die Randbedingungen ausgelotet werden, innerhalb derer die Methode, über Streulichtintensitäten eine Trockengewichtsbestimmung durchzuführen, verwandt werden kann.

3. Theoretische Grundlagen

3.1. Optische Spektroskopie

Die optische Spektroskopie umfasst sämtliche Messmethoden (Absorption, Streuung, Reflexion und Lumineszenz), die auf der Wechselwirkung von Licht mit toter und auch lebender Materie beruhen.

3.1.1. Lichtstreuung

Man spricht von Streuung, wenn die mittlere Teilchengröße mit der Größenordnung der Wellenlänge vergleichbar oder gar kleiner als die Wellenlänge ist. Die Winkelverteilung der Strahlungsdichte bei der Streuung an einem Ensemble solcher Teilchen hängt von Größe, Gestalt und Polarisierbarkeit des Teilchens und von der Beobachtungsrichtung ab.

3.1.1.1. Rayleigh-Streuung

Rayleigh hat die Theorie der molekularen Lichtstreuung an Gasen entwickelt. Diese geht von der Vorstellung aus, dass der elektrische Vektor der einfallenden monochromatischen Lichtwelle die Elektronen eines Moleküls zu erzwungenen Schwingungen gleicher Frequenz anregt, wobei vorausgesetzt ist, dass die Frequenz der Strahlung sehr viel kleiner ist als die Eigenfrequenz der Elektronen (keine Absorption). Das Intensitätsverhältnis Streulicht zu eingestrahlttem Licht ergibt sich hier zu:

$$\frac{I_{\text{St}}}{I_0} = \frac{24\pi^3}{\lambda^4} \left(\frac{n_1^2 - n_0^2}{n_1^2 + 2n_0^2} \right) N V^2, \quad (3.1)$$

wobei I_0 die Intensität der einfallenden Strahlung, I_{St} die der gestreuten Strahlung ist. n_1 ist der Brechungsindex der streuenden Teilchen, n_0 der des umgebenden Mediums, N ist die Anzahl der Teilchen, $V = 4\pi r^3/3$ das Volumen und r der Radius der Teilchen.

3.1.1.2. Mie-Streuung

Die von Mie formulierte Theorie der Lichtstreuung stellt im Prinzip eine Erweiterung der Rayleigh-Streuung in bezug auf beliebige Teilchen dar. Die Rayleigh'sche Streuung ist ein Grenzfall der Mie-Theorie für sehr kleine Teilchen. Die von verschiedenen Punkten des Teilchens abgestrahlten Lichtwellen können interferieren. Dabei entstehen charakteristische Abstrahlkeulen, aus denen auf die Struktur und Abmessungen des Teilchens zurückgeschlossen werden kann. Nach Mie ist das Intensitätsverhältnis der gestreuten (I_{St}) zur einfallenden (I_0) Strahlungsleistung von N Kugeln je Volumeneinheit gegeben durch:

$$\frac{I_{St}}{I_0} = \frac{24 \pi^3}{\lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right) N V^2 = N \pi r^2 Q_{St} \quad (3.2)$$

m ist der relative Brechungsindex, der sich als Quotient aus n_1 und n_0 ergibt. $V = 4\pi r^3/3$ ist das Volumen der Teilchen und Q_{St} der Wirkungsfaktor (Verhältnis von optisch wirksamer zu geometrischer Teilchenfläche $N\pi r^2$). Hier ist, wie bei Rayleigh, noch eine Abhängigkeit von der vierten Potenz der Wellenlänge zu finden. Werden die Teilchen größer, dann wird diese Abhängigkeit in ihrer Potenz kleiner. Um diese Abhängigkeit der Streulichtintensität von der Wellenlänge quantitativ zu ermitteln, geht man von der Annahme aus, dass die Streulichtintensität umgekehrt proportional zu λ^n ist. Die Mie-Theorie lässt sich in vier Bereiche einteilen:

1. Für sehr kleine Teilchen d.h. $r < \lambda/10$: n ist nach der Rayleigh-Theorie gleich 4.
2. Für Teilchen in der Größenordnung von Bakterien, d.h. $r \cong \lambda/4$: n ist nach Rayleigh-Gans- und Jöbst-Näherung [19] gleich zwei.
3. Für große Teilchen, d.h. $r > \lambda$ wird Q_{St} von r unabhängig, d.h. es wird bei gegebenem λ nach Gl. (3.2): $I_{St}/I_0 \approx N\pi r^2 \approx 1/r$. Das Intensitätsverhältnis wird umgekehrt proportional zum Radius der Teilchen.

4. Für sehr große Teilchen, d.h. $r \gg \lambda$ geben die Mie-Formeln eine Streuverteilung, wie man sie nach Intensität und Phase auch aus den Gesetzen der geometrischen Optik durch Trennung von Reflexion, Brechung und Beugung berechnen kann. Es gibt danach keine prinzipielle Trennung zwischen Reflexion, Brechung und Beugung einerseits und Streuung andererseits.

In Abb. 3.1.1 ist die Intensitätsverteilung des gestreuten Lichts in Abhängigkeit des Winkels für Teilchen unterschiedlicher Größe dargestellt. Die symmetrische einhüllende gibt die Intensitätsverteilung des Streulichts für kleine Moleküle in verdünnten Lösungen wieder, die zwei asymmetrischen die größerer Streuteilchen. Die durchgezogene Linie stellt die Streuung von Teilchen dar, deren Durchmesser ungefähr der Hälfte der Wellenlänge der einfallenden Strahlung entspricht.

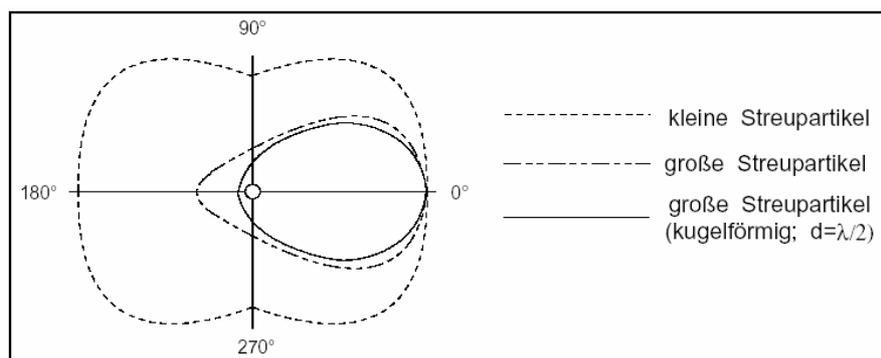


Abb. 3.1.1. Intensitätsverteilung des gestreuten Lichts in Abhängigkeit des Winkels für Teilchen unterschiedlicher Größe.

Abb. 3.1.2 zeigt die Änderung des Exponenten n in Abhängigkeit vom Teilchendurchmesser nach Kortüm [20] bis zu einem Durchmesser von $2.5 \mu\text{m}$. Die Kurve zeigt gemäß der oben gegebenen Diskussion der Mie-Theorie die Abnahme des Exponenten n , der bei weiterer Zunahme der Größe der Teilchen den Wert Null annehmen wird.

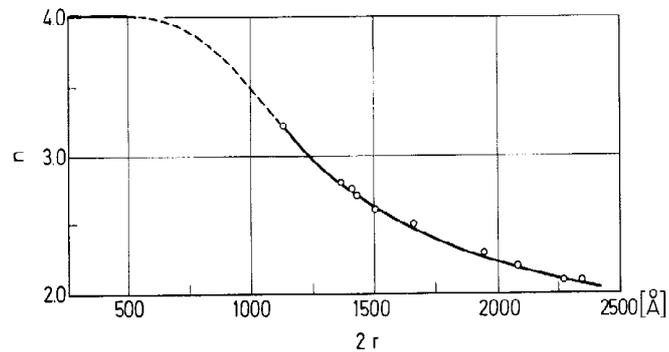


Abb. 3.1.2. Wellenlängen-Exponent n aus der Mie-Theorie als Funktion des Durchmessers von dielektrischen Kugeln [20].

3.1.2. Reflexionsspektroskopie

Unter Reflexionsspektroskopie versteht man die spektrale Untersuchung von Licht, das von einem Körper vornehmlich fester Konsistenz zurückgeworfen wird. Unabhängig von der Teilchendurchmesser wird die einfallende Strahlung entweder regulär oder diffus reflektiert (Abb. 3.1.2).

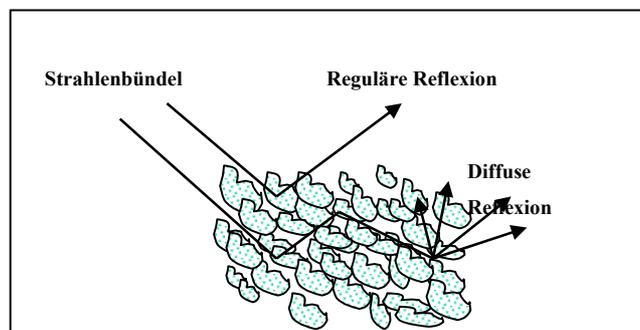


Abb. 3.1.2. Reguläre und diffuse Reflexion einer Lichtstrahlung auf der Fläche von festen Teilchen.

3.1.2.1. Kubelka-Munk-Theorie

Die Voraussetzungen bei der streuenden Transmission und Remission die der Kubelka-Munk-Theorie zugrunde liegen, sind die folgenden Punkte zu beachten:

1. Das Lambert'sche Kosinusetz wird als gültig angenommen (isotrope Streuverteilung), d.h. evtl. vorhandenen regulären Reflexionsanteilen werden abgesehen.
2. Die Teilchen der Schicht sollen völlig regellos verteilt und sehr viel kleiner sein als die Dicke der untersuchten Schicht.
3. Die Schicht wird diffus bestrahlt. Eine diffuse Bestrahlung ist die Umkehr einer diffusen Reflexion. Sie entspricht einer isotropen Winkelverteilung der einfallenden Strahlungsdichte und lässt sich mit Hilfe einer sogenannten Photometerkugel verifizieren. Da bei Mehrfachstreuung isotrope Winkelverteilung der Strahlung im Inneren der Probe angenommen wird, kann man bei diffuser Einstrahlung voraussetzen, dass sie auch in der gesamten Probe vorherrscht. Unter diesen Bedingungen führt die Zweikonstantentheorie von Kubelka und Munk zu Beziehungen, die der experimentellen Prüfung zugänglich sind und die sich in der Praxis, jedenfalls qualitativ, unter geeigneten diesen Voraussetzungen angepassten Messbedingungen auch quantitativ bestätigen.

4. Experimenteller Teil

4.1. Substanzen

4.1.1. Polystyrolteilchen

Die Polystyrolteilchen wurden bei der Firma Duke Scientific Corporation mit einem Durchmesser zwischen 0.250-0.750 mm bzw. bei der Firma BASF mit den Durchmessern zwischen 0.4 bis 1 mm (P426), 0.5 bis 1.2 mm (P326) und 0.6 bis 1.5 mm (P226) bestellt. In Abb. 4.1.1 sind die Systemparameter der Polystyrolteilchen zusammengestellt.

Tab. 4.1.1. Systemparameter der Polystyrolteilchen.

Durchmesser der Polystyrolteilchen	Halbwertsbreite der Verteilung	Lichtabsorption der Kugeln	Brechungs-Index	Geruch und Aussehen	Wasser-Löslichkeit
0.250 bis 0.750 mm (Fa. Duke Scientific Co)	unbekannt	unterhalb 350 nm	1.59 bei $\lambda = 589 \text{ nm}$	weißes geruchloses Pulver	unlöslich
P426 (0.4 bis 0.1 mm) P326 (0.5 bis 1.2 mm) P226 (0.6 bis 1.5 mm) (Firma BASF)	unbekannt	unterhalb 350 nm	unbekannt	weißes geruchloses Pulver	unlöslich

4.1.2. Medien

4.1.2.1. Salzmedium

Um stabile Dispersionen der Polystyrolteilchen im Wasser zu erhalten, wurden diese in einem Salzmedium aufgeschwemmt, deren Dichte ungefähr gleich der des Polystyrols auf ca. 1.05 eingestellt würde. Um die Benetzbarkeit der Polystyrolteilchen zu erhöhen und damit eine stabilere Dispersion zu erhalten und das Klumpen zu verhindern, wird das Salzmedium mit einigen Tropfen Spülmittel versetzt. In einer so präparierten Phase kann mit Hilfe eines Magnetstabes eine stabile Dispersion der Polystyrolteilchen erhalten werden.

Medium M0	(Salz -Medium)	Natriumhydrogencarbonat	9.6 g
		Wasser	100 ml
		Spülmittel	einige Tropfen
		Silikon – Antischaum	einige Sprays
		Dichte	1.04

4.1.2.2. Nährmedien

Vor dem Autoklavieren (121°C, 25 Minuten) der Nährmedien wurde der pH-Wert durch 1 N NaOH- bzw. 1 N HCl- Lösungen eingestellt. Die Angaben beziehen sich, wenn nicht angegeben, auf 1 Liter Mediumvolumen

Medium M1	(HA-Medium)	Glucose	4.0 g
		Hefeextrakt	4.0 g
		Malzextrakt	10.0 g
		pH	5.5
Medium M2	(HMG-Medium)	Glucose	10.0 g
		Hefeextrakt	4.0 g
		Malzextrakt	10.0 g
		pH	5.5

4.1.3. Pilze und Fermentationsbedingungen

Aus der Stammsammlung des LB Biotechnologie der Universität Kaiserslautern wurden die in Tab. 4.1.2 folgenden Pilze bearbeitet. Die jeweiligen Fermentationsbedingungen der benutzten Pilze sind auch in Tab. 4.1.2 zu erhalten.

Tab. 4.1.2. Pilze und Fermentationsbedingungen.

Pilze	Temp.	UpM	Belüftungsrate	Medium
Deuteromycet 273-95 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	25 °C	150	1.5 l/min	M1
Ascomycet A17-99 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	25 °C	150	1.5 l/min	M2

Tab. 4.1.2. Pilze und Fermentationsbedingungen (Fortsetzung).

Ascomycet (Discomycet) <i>Ascobolus immersus</i> D01002 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	25 °C	150	1.5 l/min	M2
Endophyt E99043 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	25 °C	150	1.5 l/min	M2
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	25 °C	150	1.5 l/min	M1
Basidiomycet <i>Irpex</i> 95282 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	25 °C	150	1.5 l/min	M1
Basidiomycet <i>Panaeolus</i> 96026 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	25 °C	150	1.5 l/min	M1

4.2. Trockengewichtsbestimmung

Das von der Kulturbrühe getrennte Myzel wurde auf einem ausgewogenen Filterpapier mindestens 3 Stunden bei 80 °C getrocknet. Vor dem Wiegen des getrockneten Myzels wurde dieses zum Temperatúrausgleich mindestens 15 Minuten im Exsikkator gelegt.

4.3. Geräte

4.3.1. Probengefäß und Rührsystem

Mit der Suspension des Material in der Messlösung zeigte sich bald, dass die Lichtreflexion an den Gefäßwänden und am Magnetrührer für eine genaue Messung zu groß ist. Die einfachen bis dahin verwandten zylindrischen Gefäße für Messlösungen erwiesen sich damit für eine Erhöhung der Messgenauigkeit als nicht geeignet. Die optische Anordnung früherer Messungen im Off-line-Verfahren zur Überprüfung der Massenabhängigkeit musste verbessert werden, um das Reflexions- und Streulicht der materialfreien Lösung in der Küvette zu verringern. Um eine verlässliche Messung der Streulichtintensität von Suspensionen zu gewährleisten, muss die Lichtreflexion der teilchenfreien Lösung in der Küvette, die den Lichtleiter erreicht, sehr klein gegenüber der Streulichtintensität der zu vermessenden Suspension sein. Das ursprünglich verwandte Becherglas wurde im ersten Ansatz gegen ein Probengefäß mit der Form eines „Ellbogens“ [Abb. 4.3.1.(a), Glasbläserei Universität Kaiserslautern] ausgetauscht, um eine Rückstreuung an den geraden Flächen des

Becherglases zu vermeiden. Damit konnte die Intensität der Reflexion und Lichtstreuung um den Faktor 9 vermindert werden. Ein zweites Problem, nämlich die Reflexion über dem Magnetstab, die analog auch vom Rührwerk im Fermenter bei kleinen Myzelkonzentrationen auftreten kann, führte zur Entwicklung eines neuen Rührsystems für die Off-line-Messungen, d.h. für die Eichmessungen, (Abb. 4.3.2, Metallwerkstatt Universität Kaiserslautern) Die erhaltene Streulichtintensität mit dem Gefäß in der Form eines „Ellbogens“ [Abb. 4.3.1.(a)] und dem neuen Rührsystem ist so stark durch die „Eigenstreuung der Messanordnung“ bestimmt, dass sich die zunehmende Konzentration an Polystyrolteilchen nur noch als kleiner Anstieg der Streulichtintensität bemerkbar macht. Man erhält also Bedingungen, die eine Messung mit dieser Kombination unmöglich machen. Im nächsten Schritt wurde für das Probengefäß die Form eines „Hornes“ [Abb. 4.3.1(b), Glasbläserei Universität Kaiserslautern] resp. die Form einer klassischen Lichtfalle [21] gewählt. Die Intensität der Reflexion und der Lichtstreuung konnte dabei um den Faktor 62 vermindert werden. D.h. der Fehler bei kleinen Teilchenkonzentrationen wurde dadurch reproduzierbar um mehr als 100 % verringert.

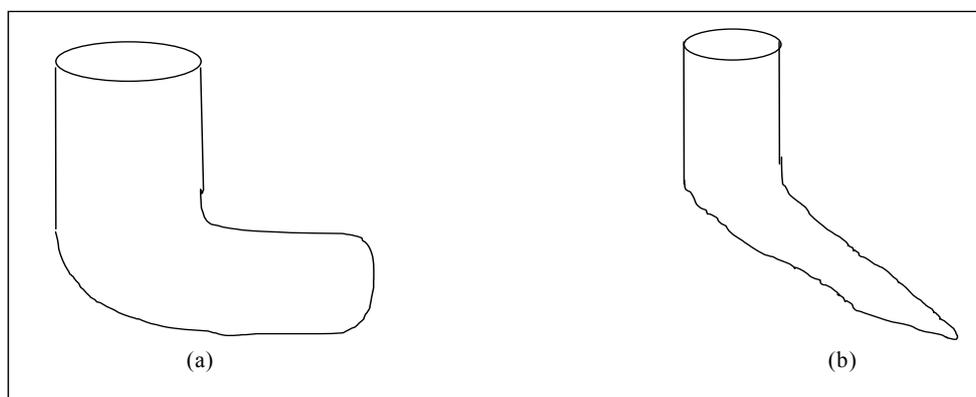


Abb.4.3.1. Probengefäß mit der Form eines „Ellbogens,, (a) und der eines Hornes (b); (klassische Lichtfalle, wie sie z.B. in der Ramanspektroskopie verwandt wird).

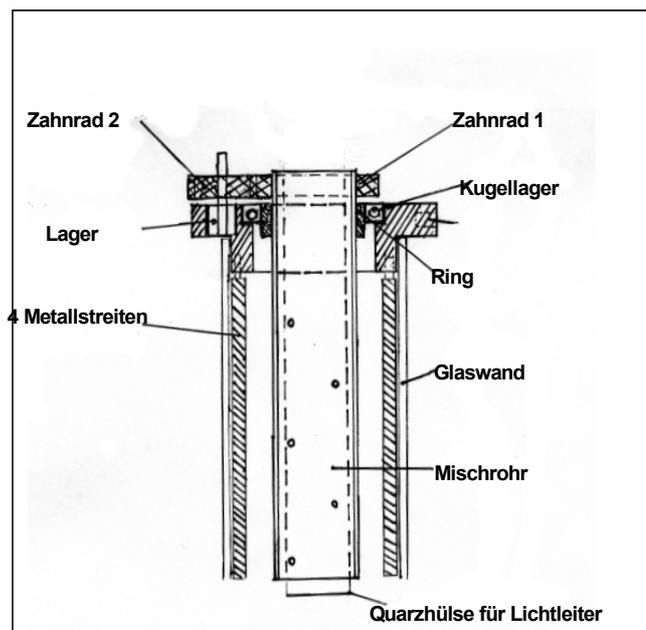


Abb.4.3.2. Rührsystem (gerührt wird über kleine Schaufeln am Metallzylinder; der Rührer wird nicht vom Lichtstrahl aus dem Lichtleiter angestrahlt).

4.3.2. Bioreaktoren

Die Vorkulturen in 500 ml-Erlenmeyerkolben mit Schikane und 250 ml Medium bzw. die Pilze in 5 l-Erlenmeyerkolben ohne Schikane und 2 l Medium wurden auf einer Rundschüttelmaschine (Fa. Brauen, Melsungen AG) bei 120 UpM und Raumtemperatur inkubiert. Als Inokulum für die Vorkulturen dienten mehrere Stückchen der Agarplatte und als Inokulum für 5 l-Erlenmeyerkolben dienten 50 ml aus einer 250 ml Vorkultur. Die Fermentationen im 10 l Maßstab wurden in Blattrührfermentern Biostat S (Fa. Braun Melsungen AG) durchgeführt. Der Fermenter wurde mit einer gut gewachsenen 250 ml Vorkultur angeimpft. Vor dem Autoklavieren der Fermenter wurde der pH-Wert auf 5.5 eingestellt und 3-10 ml Silikonentschäumer zugegeben.

4.3.3. Teilchengrößenanalyse

Für die Polystyrolteilchenverteilung wurde das System – "Partikel-Technik" – [22] (Verfahrenstechnik Uni Kl) benutzt. Es basiert auf einem optischen Prinzip zur schnellen Analyse von Teilchengrößenverteilungen in Suspensionen, Emulsionen, Aerosolen und

Sprays. Es besteht aus einer optischen Anordnung, bei der Laser (5mV Helium - Neon), Strahlsaufweiter, Messstelle, Sammellinse und Multielement-Photodetektor nacheinander in der optischen Achse angeordnet sind. Die Sammellinse bündelt die durch die Teilchen entstehenden Fraunhofer'schen Beugungsspektren und bildet sie auf den im Brennpunkt zentrierten Multielement-Photodetektor ab. In Abhängigkeit von der vorliegenden Teilchengrößenverteilung entsteht eine radialsymmetrische Intensitätsverteilung, deren Energiedichte mit der Entfernung von Zentrum abnimmt und deren Verlauf von der Anzahl und der Größe der im Messvolumen erfassten Teilchen bestimmt wird. Jeder Messbereich wird in 31 logarithmisch geteilte Teilchengrößenklassen zerlegt. Mit dem aus 31 halbkreisförmigen Ringen bestehenden Multielement-Photodetektor wird die Intensitätsverteilung aufgenommen und in spannungsproportionale Werte umgeformt. Aus diesen Werten lässt sich durch Lösen eines linearen Gleichungssystems die zugehörige Teilchengrößenverteilung errechnen. Bringt man N gleichgroße Körper in den Lichtstrahl, so wird die Intensität des Beugungsbildes N mal so groß sein. Die Form des Beugungsbildes, d.h. die Lage der Ringe, wird sich jedoch nicht ändern. Befinden sich N kugelförmige Körper verschiedener Größe im Lichtstrahl, so muss zur Beschreibung ihres Beugungsspektrums, d.h. ihrer Intensitätsverteilung, jedes Teilchen berücksichtigt werden. In diesem Fall sind keine Ringe mehr erkennbar, sondern nur noch eine diffuse, radialsymmetrische Intensitätsverteilung. Diese ergibt sich aus der Summe aller Einzelintensitäten.

4.3.4. Bildanalyseesystem

Die Bildaufnahme erfolgt mit einer CCD - Kamera Type C-2500L der Firma Olympus. Die Auswertung wird mit Hilfe eines im Fachbereich Verfahrenstechnik entwickelten Computerbildanalyseesystems mit dem Programm IMAGE C [23] durchgeführt. Die Längenkali brierung erfolgt mittels eines Präzisionsstahlrings. Der FERET'schen Durchmesser (MittFERET) eines Teilchen, der mittels des Programms Image C ermittelt wird, lässt sich in verschiedenen Richtungen (0°, 90°, 135°) vermessen. Die Parameter FERET0.....FERET135 liefern alle 36 Richtungswerte in denen der FERET'schen Durchmesser eines Teilchen als der Mittelwert von diesen 36 Richtungswerten bestimmt wird.

4.3.5. Diodenarray-Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer

Die hier verwendete Apparatur [8] wurde modular aufgebaut und ist aufgrund ihres hohen experimentellen Standards als Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer sehr breit einsetzbar, da sowohl der Anregungslichtstrahl als auch der zu messende Emissionslichtstrahl im großen Wellenlängenbereich variiert werden kann. Alle Messungen sind mit sehr großer Zeitauflösung durchführbar. Weiterhin erlaubt der Einsatz eines Diodenarrays die gleichzeitige Vermessung eines gesamten Fluoreszenzspektrums in einem großen Wellenlängenbereich. Eine detaillierte Benutzeranweisung ist im Anhang 10.1 erhältlich.

4.3.5.1. Apparat und dessen Entwicklung

4.3.5.1.1. Umbau des Diodenarray-Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer

Um die Arbeitsbedingungen zu erleichtern und direkt an verschiedenen Fermentern arbeiten zu können, wurde das Diodenarray-Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer aus den physikalischen Chemie- Laboratorien in die Labors der Biotechnologie gebracht. Dafür wurde der komplette Messaufbau in einem Messturm übereinander angeordnet und außerdem, da man im Fermentationsraum die Abdunklung als Ganzes kaum schaffen kann, wurden Aluminium-Kästen für die Eichanordnung und zur Abdunklung des Fermenters gebaut. Mit diesen Kästen wird es möglich das Fremdlicht während einer Messung zu vermeiden und nur mit dem aus dem Lichtleiter kommenden Licht die Messungen durchzuführen.

Zur Abschätzung der Empfindlichkeit der Apparatur nach der Umstellung wurden Testmessungen durchgeführt. Dabei wurde festgestellt, dass der Emissionsmonochromator sich nicht mehr vom Computer steuern lässt. Bis der Fehler gefunden wird, wird der Emissionsmonochromator für weitere Messungen per Hand gesteuert.

4.3.5.1.2. Eichung des Diodenarray-Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer

Zur Eichung der Wellenlängenskala wird eine Quecksilberniederdrucklampe verwandt, deren Linien im Anhang 10.2 dargestellt sind. Da sowohl das Gitter als auch das Diodenarray nicht

sehr genau verstellbar –justierbar– ist, muss eine Eichkurve "Wellenlängenskala" am Gerät gegen die eingestellte Wellenlänge erstellt werden. Es muss auch bestimmt werden, welche Photodiode Nr. 1 bis 1024 des Diodenarrays der am Emissionsmonochromator eingestellten Wellenlänge, der sogenannten Schwerpunktwellenlänge, entspricht. Die Anzahl der Dioden, die effektiv ausgeleuchtet werden, liegt zwischen 1022-1024. Auch der Anregungsmonochromator muss justiert werden. Im Gegensatz zum Eichverfahren beim Emissionsmonochromator, bei dem es keinen Freiheitsgrad für eine externe Nacheichung gibt, kann beim Anregungsmonochromator über die Festlegung des Nullpunkts der Schrittmotor-Einstellung, d.h. der Festlegung des Nullpunkts der Zählung durch den Schrittmotor (üblicherweise bei 380 nm), eine Grobeichung durchgeführt werden.

4.3.5.1.2.1. Überprüfung der Gitter- Justierung am Emissionsmonochromator

Zur Eichung des Emissionsmonochromators wird das Licht der Quecksilberniederdrucklampe über den Lichtleiter in den auf verschiedene Schwerpunktwellenlängen eingestellten Emissionsmonochromator eingestrahlt und das jeweilige Spektrum gemessen. Zur Eichung und Prüfung der Linearität des Gitters werden die gewählten Schwerpunktwellenlängen für die Gitter 3, 2 und 1 so gewählt, dass das gesamte Spektralgebiet abgedeckt wird (Tab. 4.3.3). Zusätzlich wird die Spektrallinie eines He-Ne-Lasers vermessen. Die Aufnahmen der Spektren für die Schwerpunktwellenlängen gemäß Tab. 4.3.3 erfolgt im "Kasten" für die Eichung des Myzels (Abschnitt 4.2.4.1.1). Die Auswertungen der Lage der Linien erfolgt über das „Origin 3.5 Template Worksheet“ und die Ergebnisse für die mit den drei Gittern erfolgten Eichungen sind in den Tabellen 4.3.4a, 4.3.4b, 4.3.4c und 4.3.4d zusammengestellt. Die Abbildungen 4.3.3 bis 4.3.9 zeigen beispielhaft einige Spektren für die eingestellten Schwerpunktwellenlängen 350, 450 und 650 der Quecksilberniederdrucklampe, die für die Eichung verwandt wurden.

Tab. 4.3.3. Schwerpunktwellenlängen für die Gitter 3, 2 und 1 am Emissionsmonochromator

Schwerpunktwellenlängen λ_{OEM} (nm) Gitter 3	Schwerpunktwellenlängen λ_{OEM} (nm) Gitter 2	Schwerpunktwellenlängen λ_{OEM} (nm) Gitter 1
200	250	240
250	280	280

Tab. 4.3.3. Schwerpunktwellenlängen für die Gitter 3, 2 und 1 am Emissionsmonochromator (Fortsetzung)

300	300	320
350	345	360
400	395	380
450	430	420
500	520	520
550	575	560
600		
650		
500		

Tab.4.3.4a. Zuordnung der Diodennummer zu den Wellenzahlen der Emissionslinien einer Quecksilberniederdrucklampe für das Gitter 3 im Emissionsmonochromator.

Hg Lampe Gitter 3	λ_{0EM} 200 Diode Nr.	λ_{0EM} 250 Diode Nr.	λ_{0EM} 300 Diode Nr.	λ_{0EM} 350 Diode Nr.	λ_{0EM} 400 Diode Nr.	λ_{0EM} 450 Diode Nr.	λ_{0EM} 500 Diode Nr.
253.5	684 vvs*	517 vvs	351 vvs	184 vvs	16 vs	--	--
296.73	828 w	661 w	495 vw	327 vw	160 w	--	--
302.15	845 vvw	678 vvw	--	346 vvw	180 vvw		
312.57	881 s	716 s	549 s	382 s	215 s	47 w	--
313.17	--	--	--	--	--	--	--
334.15	--	--	--	--	--	117 vvw	--
365.02	--	890 s	724 s	556 s	389 s	221 s	54 s
365.44	--	--	--	--	--	--	--
366.33	--	--	--	--	--	--	--
404.66	--	--	856 vs	689 vs	521 s	354 s	186 vs
407.78	--	--	867 vvw	700 vvw	531 vvw	364 vvw	197 vvw
435.84	--	--	961 vs	794 vs	626 vs	458 vvs	291 vvs
546.07	--	--	--	--	996 s	830 s	662 vs
576.96	--	--	--	--	--	935 w	766 w
579.07	--	--	--	--	--	941 w	774 w

*) vvs = very very strong, vs = very strong, s = strong, vvw = very very weak, vw = very weak und w = weak.

Tab.4.3.4b. Zuordnung der Diodennummer zu den Wellenzahlen der Emissionslinien einer Quecksilberniederdrucklampe für das Gitter 3 im Emissionsmonochromator.

Hg Lampe Gitter 3	λ_{EM} 550 Diode Nr.	λ_{EM} 600 Diode Nr.	λ_{EM} 650 Diode Nr.	λ_{EM} 700 Diode Nr.
253.5	--	--	--	--
296.73	--	--	--	--

Tab.4.3.4b. Zuordnung der Diodennummer zu den Wellenzahlen der Emissionslinien einer Quecksilberniederdrucklampe für das Gitter 3 im Emissionsmonochromator (Fortsetzung).

302.15	--	--	--	--
312.57	--	--	--	--
313.17				
334.15	--	--	--	--
365.02	--	--	--	--
365.44	--	--	--	--
366.33	--	--	--	--
404.66	18 vw	--	--	--
407.78	28 vvw	--	--	--
435.84	122 vs	--	--	--
546.07	493 s	324 s	155 vvs	--
576.96	598 vw	428 vw	259 w	90 w
579.07	604 vw	435 vw	266 w	98 w

*) vvs = very very strong, vs = very strong, s = strong, vvw = very very weak, vw = very weak und w = weak.

Tab.4.3.4c. Zuordnung der Diodennummer zu den Wellenzahlen der Emissionslinien einer Quecksilberniederdrucklampe für das Gitter 2 im Emissionsmonochromator.

Hg Lampe	λ_{EM} 250 DiodeNr	λ_{EM} 280 DiodeNr	λ_{EM} 300 DiodeNr	λ_{EM} 345 DiodeNr	λ_{EM} 395 DiodeNr	λ_{EM} 430 DiodeNr	λ_{EM} 520 DiodeNr	λ_{EM} 575 DiodeNr
253.5	574 vvs	--	--	--	--	--	--	--
296.73	--	860 s	427 s	--	--	--	--	--
302.15	--	980 vvw	--	--	--	--	--	--
312.57	--	--	773 s	--	--	--	--	--
313.17		--	786 s	--	--	--	--	--
334.15	--	--	--	259 vvw	--	--	--	--
365.02	--	--	--	949 vs	--	--	--	--
365.44	--	--	--	960 w	--	--	--	--
366.33	--	--	--	979 w	--	--	--	--
404.66	--	--	--	--	723 vs	--	--	--
407.78	--	--	--	--	795 vw	--	--	--
435.84	--	--	--	--	--	638 vs	--	--
546.07	--	--	---	--	--	--	916 vs	--
576.96	--	--	--	--	--	--	--	558 vw
579.07	--	--	--	--	--	--	--	613 vw

*) vvs = very very strong, vs = very strong, s = strong, vvw = very very weak, vw = very weak und w = weak.

Tab.4.3.4d. Zuordnung der Diodennummer zu den Wellenzahlen der Emissionslinien einer Quecksilberniederdrucklampe für das Gitter 1 im Emissionsmonochromator.

Hg Lampe	λ_{EM} 240 DiodeNr	λ_{EM} 280 DiodeNr	λ_{EM} 320 DiodeNr	λ_{EM} 360 DiodeNr	λ_{EM} 380 DiodeNr	λ_{EM} 420 DiodeNr	λ_{EM} 520 DiodeNr	λ_{EM} 560 DiodeNr
253.5	689 s	136 s	--	--	--	--	--	--
296.73	--	733 w	178 vw	--	--	--	--	--
302.15	--	--	--	--	--	--	--	--
312.57	--	956 vw	397 vvw	--	--	--	--	--
313.17	--	964 w	406 vw	--	--	--	--	--
334.15	--	--	700 vvw	138 vvw	--	--	--	--
365.02	--	--	--	574 vs	290 vs	--	--	--
365.44	--	--	--	580 s	297 s	--	--	--
366.33	--	--	--	592 w	309 w	--	--	--
404.66	--	--	--	--	855 vvs	285 s	--	--
407.78	--	--	--	--	901 w	--	--	--
435.84	--	--	--	--	--	733 vs	--	--
546.07	--	--	---	--	--	--	898 s	299 s
576.96	--	--	--	--	--	--	--	765 w
579.07	--	--	--	--	--	--	--	797 vw

*) vvs = very very strong, vs = very strong, s = strong, vvw = very very weak, vw = very weak und w = weak.

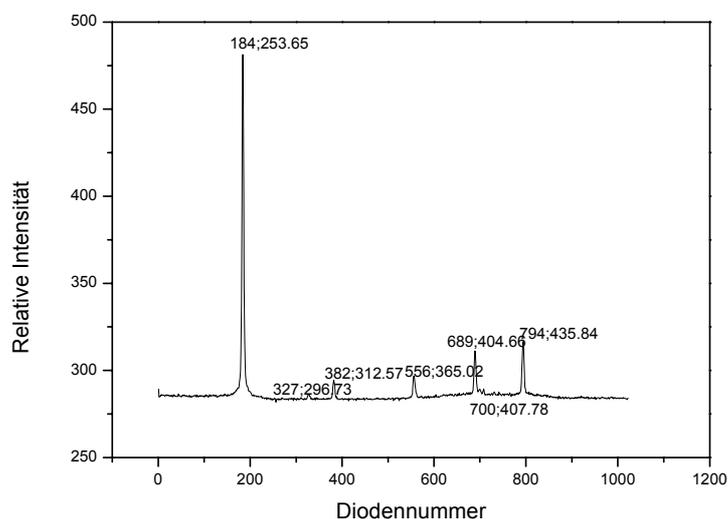


Abb.4.3.3. Spektrum einer Quecksilberniederdrucklampe, gemessen mit dem auf die Schwerpunktwellenlänge 350 nm und Gitter Nr. 3 eingestellten Emissionsmonochromator (Integration 1).

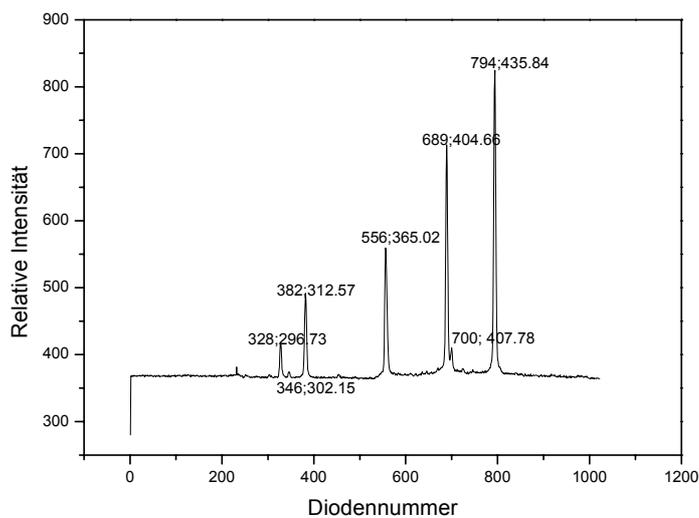


Abb.4.3.4. Spektrum einer Quecksilberniederdrucklampe, gemessen mit dem auf die Schwerpunktwellenlänge 350 nm und Gitter Nr. 3 eingestellten Emissionsmonochromator (Integration 12). Das Spektrum im Bereich der Diodennummern 150-200 wurde ausgeblendet.

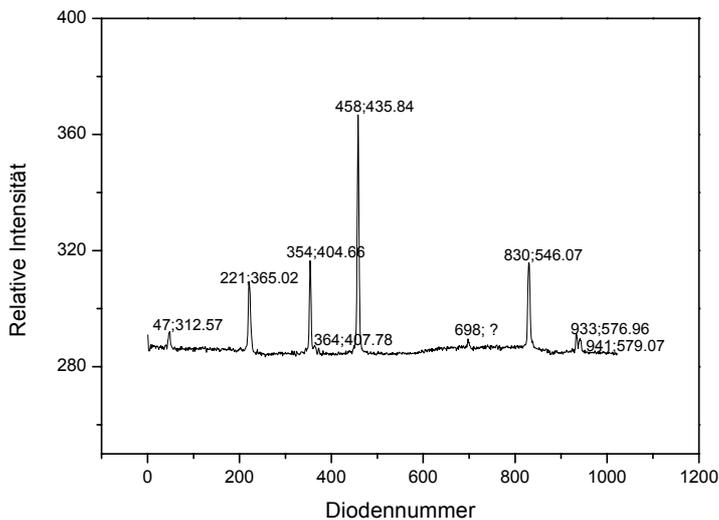


Abb.4.3.5. Spektrum einer Quecksilberniederdrucklampe, gemessen mit dem auf die Schwerpunktwellenlänge 450 nm und Gitter Nr. 3 eingestellten Emissionsmonochromator (Integration 1).

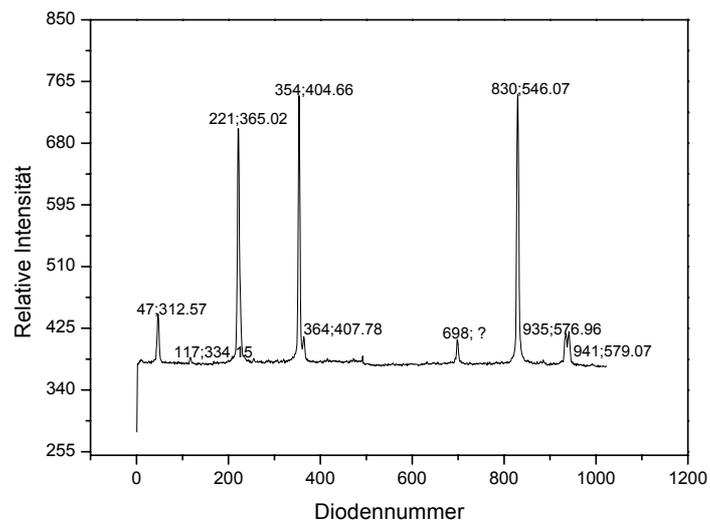


Abb.4.3.6. Spektrum einer Quecksilberniederdrucklampe, gemessen mit dem auf die Schwerpunktwellenlänge 450 nm und Gitter Nr. 3 eingestellten Emissionsmonochromator (Integration 12). Das Spektrum im Bereich der Diodennummern 400-450 wurde ausgeblendet.

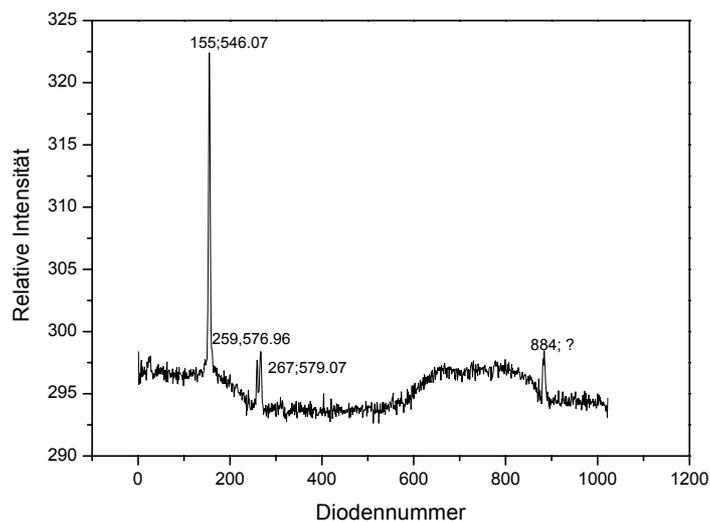


Abb.4.3.7. Spektrum einer Quecksilberniederdrucklampe, gemessen mit dem auf die Schwerpunktwellenlänge 650 nm und Gitter Nr.3 eingestellten Emissionsmonochromator (Integration 1).

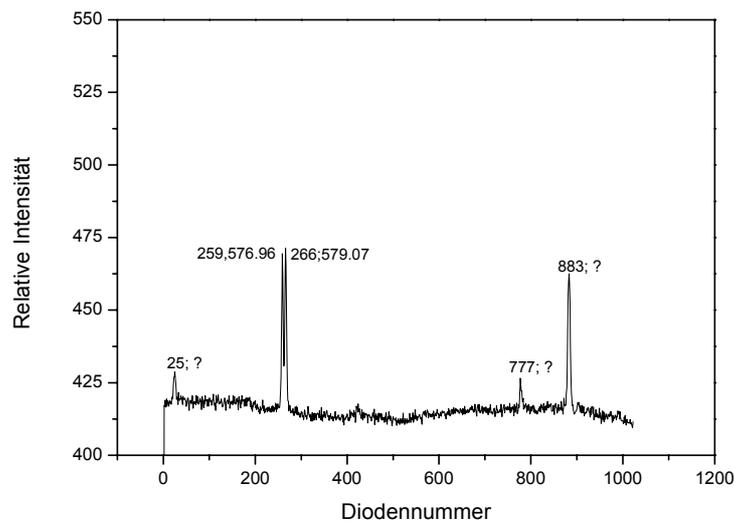


Abb.4.3.8. Spektrum einer Quecksilberniederdrucklampe, gemessen mit dem auf die Schwerpunktwellenlänge 650 nm und Gitter Nr. 3 eingestellten Emissionsmonochromator (Integration 12). Das Spektrum im Bereich der Diodennummern 100-200 wurde ausgeblendet.

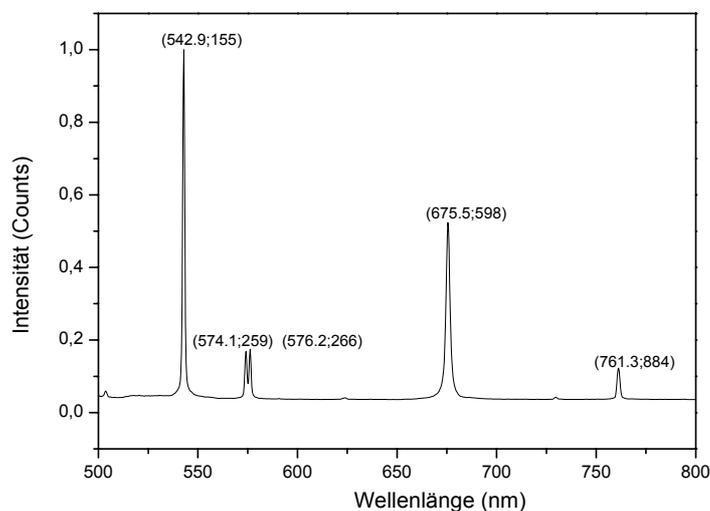


Abb.4.3.9. Spektrum einer Quecksilberniederdrucklampe und eines He-Ne-Lasers, gemessen mit dem auf die Schwerpunktwellenlänge 650 nm Nr. 3 eingestellten Emissionsmonochromator (Integration 1).

Aus der Differenz zwischen zwei Diodennummern der gleichen Emissionslinie von zwei Spektren der Quecksilberniederdrucklampe, wobei die am Emissionsmonochromator zwei eingestellten Schwerpunktwellenlängen einen Unterschied von 50 nm haben, wurde die

Linearität des Gitters und die Zuordnung der Diodennummern überprüft. Die Ergebnisse für das Gitter 3 sind in den Tabellen 4.3.5a., 4.3.5b und 4.3.5c. dargestellt. Diese Differenz zwischen der Spektren liegt zwischen 166-170.

Tab.4.3.5a. Überprüfung der Linearität der Dispersion des Gitters Nr. 3 des Emissionsmonochromators.

Hg Gitter 3	$\lambda_{0EM\ 200}$ DNR ₂₀₀	DNR ₂₀₀ DNR ₂₅₀	$\lambda_{0EM\ 250}$ DNR ₂₅₀	DNR ₂₅₀ DNR ₃₀₀	$\lambda_{0EM\ 300}$ DNR ₃₀₀	DNR ₃₀₀ DNR ₃₅₀	$\lambda_{0EM\ 350}$ DNR ₃₅₀	DNR ₃₅₀ DNR ₄₀₀	$\lambda_{0EM\ 400}$ DNR ₄₀₀
253.5	684 vvs	167	517 vvs	166	351 vvs	167	184 vvs	168	16 vs
296.73	828 w	167	661 w	166	495 vw	168	327 vw	167	160 w
302.15	845 vvww	167	678 vvww	--	--	--	346vvww	166	180vvw
312.57	881 s	165	716 s	167	549 s	167	382 s	167	215 s
313.17	--	--	--	--	--	--	--	--	--
334.15	--	--	--	--	--	--	--	--	--
365.02	--	--	890 s	166	724 s	168	556 s	167	389 s
365.44	--	--	--	--	--	--	--	--	--
366.33	--	--	--	--	--	--	--	--	--
404.66	--	--	--	--	856 vs	167	689 vs	168	521 s
407.78	--	--	--	--	867 vvww	167	700vvww	169	531vvww
435.84	--	--	--	--	961 vs	167	794 vs	168	626 vs
546.07	--	--	--	--	--	--	--	--	996 s
576.96	--	--	--	--	--	--	--	--	--
579.07	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Tab.4.3.5b. Überprüfung der Linearität der Dispersion des Gitters Nr. 3 des Emissionsmonochromators.

Hg Gitter 3	$\lambda_{0EM\ 400}$ DNR ₄₀₀	DNR ₄₀₀ DNR ₄₅₀	$\lambda_{0EM\ 450}$ DNR ₄₅₀	DNR ₄₅₀ DNR ₅₀₀	$\lambda_{0EM\ 500}$ DNR ₅₀₀	DNR ₅₀₀ DNR ₅₅₀	$\lambda_{0EM\ 550}$ DNR ₅₅₀	DNR ₅₅₀ DNR ₆₀₀	$\lambda_{0EM\ 600}$ DNR ₆₀₀
253.5	16 vs	--	--	--	--	--	--	--	--
296.73	160 w	--	--	--	--	--	--	--	--
302.15	180 vvww	--	--	--	--	--	--	--	--
312.57	215 s	168	47 w	--	--	--	--	--	--
313.17	--	--	--	--	--	--	--	--	--
334.15	--	--	117 vvww	--	--	--	--	--	--
365.02	389 s	168	221 s	167	54 s	--	--	--	--
365.44	--	--	--	--	--	--	--	--	--
366.33	--	--	--	--	--	--	--	--	--
404.66	521 s	167	354 s	168	186 vs	168	18 vw	--	--
407.78	531 vvww	167	364 vvww	167	197 vvww	169	28 vvww	--	--
435.84	626 vs	168	458 vvs	167	291 vvs	169	122 vs	--	--
546.07	996 s	166	830 s	168	662 vs	169	493 s	169	324 s
576.96	--	--	935 w	169	766 w	168	598 vw	170	428 vw
579.07	--	--	941 w	167	774 w	170	604 vw	169	435 vw

Tab.4.3.5c. Überprüfung der Linearität der Dispersion des Gitters Nr. 3 des Emissionsmonochromators.

Hg Gitter 3	$\lambda_{0EM\ 600}$ DNr ₆₀₀	DNr ₆₀₀ DNr ₆₅₀	$\lambda_{0EM\ 650}$ DNr ₆₅₀	DNr ₆₅₀ DNr ₇₀₀	$\lambda_{0EM\ 700}$ DNr ₇₀₀
253.5	--	--	--	--	--
296.73	--	--	--	--	--
302.15	--	--	--	--	--
312.57	--	--	--	--	--
313.17	--	--	--	--	--
334.15	--	--	--	--	--
365.02	--	--	--	--	--
365.44	--	--	--	--	--
366.33	--	--	--	--	--
404.66	--	--	--	--	--
407.78	--	--	--	--	--
435.84	--	--	--	--	--
546.07	324 s	169	155 vvs	--	--
576.96	428 vw	169	259 w	169	90 w
579.07	435 vw	169	266 w	168	98 w

4.3.5.1.2.2. Durchführung der Eichkurve zur Bestimmung der Wellenlänge des Emissionsmonochromators

Um die Eichkurve "Wellenlängenskala" am Gerät gegen die am Emissionsmonochromator eingestellte Wellenlänge λ_{0EM} zu bestimmen, wurde zuerst für jede eingestellte Wellenlänge λ_0 die erhaltenen Emissionslinien gegen die entsprechenden Diodennummern D aufgetragen. Wie die Abb. 4.3.10 zeigt, entsteht ein linearer Zusammenhang zwischen den Wellenlängen der Emissionslinien und den Diodennummern. Eine lineare Anpassung erlaubt die Ermittlung von Gleichungen für jede eingestellte Wellenlänge. Mit Hilfe der erhaltenen Achsenabschnitte und Steigungen wurde für jede am Emissionsmonochromator eingestellte Wellenlänge, die sogenannte Schwerpunktwellenlänge, und die zugehörige Diodennummer D_0 des Diodenarrays berechnet. In der Tab. 4.3.6 sind für das Gitter 3 die Achsenabschnitte A, Steigungen B und die erhaltenen Nummern der Schwerpunktdioden D_0 eingetragen. Die Ergebnisse zeigen, dass die am Emissionsmonochromator eingestellte Wellenlänge, die sogenannte Schwerpunktwellenlänge, auf der Diode Nr. 506 liegt.

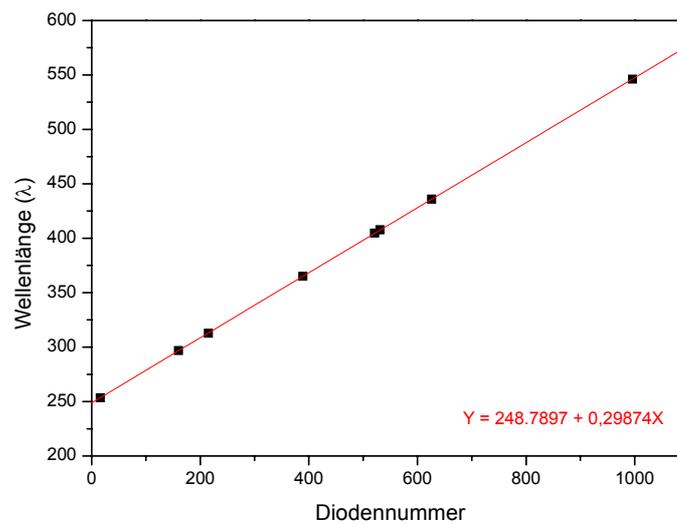


Abb.4.3.10. Eingestellte Wellenlänge am Emissionsmonochromator in Abhängigkeit der Diodennummer und die entsprechende lineare Anpassung bei 400 nm.

Tab.4.3.6. Lineare Anpassung gemäß Gl. 1 der am Emissionsmonochromator mit eingebaute Gitter 3 eingestellten Wellenlänge und die zugehörige Diodennummer.

$Y = A + BX \Rightarrow \lambda = A + BD \Rightarrow D_0 = \frac{\lambda_{0EM} - A}{B}$					
λ_{0EM}	A	ΔA	B	ΔB	D_0
200	48.36102	0.22279	0.29992	0.00028	505.59809
250	99.00784	0.82881	0.29877	0.00117	505.37925
300	148.57603	0.15816	0.29899	0.00022	506.45162
350	198.67195	0.2346	0.29884	0.00042	506.38485
400	248.7897	0.17947	0.29874	0.00035	506.16021
450	299.2392	0.20031	0.29739	0.00024	507.20226
500	349.21172	0.11928	0.29724	0.00026	507.29471
550	399.44737	0.10361	0.29721	0.00024	506.55304
600	449.78391	0.09566	0.29718	0.00024	505.47173
650	500.0067	0.0557	0.29718	0.00024	504.72205
700	553.2225	--	0.26375*	--	556.50237*
Mittelwert			B	ΔB	506.12178 ±
*wurde nicht verwandt			0.29815	0.00036	0.26068

$$Y = A + BX \Rightarrow \lambda = A + BD \quad (4.1)$$

Die Gleichung (4.1) wird durch die Gleichung (4.2) ersetzt

$$\lambda = \lambda_{0EM} + (D - D_0)B \quad (4.2)$$

wobei λ die Wellenlänge des Signals mit der größten Intensität ist, das aus dem Emissionsmonochromator austritt. λ_{0EM} ist die am Emissionsmonochromator eingestellte Wellenlänge (die sogenannte Schwerpunktwellenlänge) und D die Diodennummer, auf der das Signal mit der höchsten Intensität der Linie liegt. D_0 (506) ist die Diodennummer, auf der das Signal mit der höchsten Intensität der Linie liegen sollte und B (0.29815) die Schrittweite (nm/Diode) des Gitters.

4.3.5.1.2.3. Anregungsmonochromator

Anders als beim Emissionsmonochromator ist eine direkte Eichung des Anregungsmonochromators mittels der Quecksilberniederdrucklampe nicht möglich, da bei einer Einstrahlung des Lichts der Quecksilberniederdrucklampe in den Anregungsmonochromator zu wenig Licht auf das Diodenarray fällt, d.h. die Lichtleiteranordnung ist dafür zu lichtschwach. Eine entsprechende Kollimatoranordnung zur besseren Ausleuchtung des Anregungsmonochromators ist nicht vorhanden. Eine Entwicklung einer derartigen Anordnung lohnt sich nicht, da der entsprechende Aufwand für die späteren Messungen nicht erforderlich und nicht sinnvoll ist.

Zur Eichung wird deshalb ein indirekter Weg beschritten, bei der die Eichung des Anregungsmonochromators allerdings nicht mit gleicher Genauigkeit wie beim Emissionsmonochromator durchgeführt werden kann, da hier mit der Xenonlampe anstelle von der Hg-Lampe gearbeitet wird. Die Spaltbreite des Eintrittsspalts des Monochromators wird auf ca. 100 μm eingestellt, der Austrittsspalt wird durch die Lichtleitergeometrie bestimmt resp. mit 0,63 mm. Der Lichtleiter hat an der Stelle des Spaltes eine Breite von 5 mm und eine Höhe von 15 mm, die in einem größeren (14 mm) und einem kleineren (1mm) Bereich geteilt ist. Da das Licht bei der Fermentationsmessung nur zur Anregung von Proben genutzt wird, ist keine Hochauflösung erforderlich, ebenso auch bei der Streulichtmessungen.

4.3.5.1.2.4. Überprüfung der Gitter- Justierung im Anregungsmonochromator

Zur Eichung einer Wellenlängeneinstellung des Anregungsmonochromators, wird dieser zuerst auf die zu bestimmende Wellenlänge auf seiner eigenen Skala eingestellt. Außerdem wird auch der Emissionsmonochromator auf dieselben Wellenlängen eingestellt. Die mit der Xenonhochdrucklampe erzeugte Linie wird mit dem Emissionsmonochromator in ihrer Lage bestimmt und zur Auswertung gespeichert. Die Diodennummer der maximalen Intensität für jede eingestellte Wellenlänge ist in der Tab. 4.3.7. zu sehen. Die jetzt mit der Gleichung (4.2) bestimmte Wellenlänge ist dann der Wellenlängeneinstellung an der Skala des Anregungsmonochromators zuzuordnen. Die Messung wird für 10 Einstellungen durchgeführt und die Ergebnisse sind in der Tab. 4.3.7 zusammengestellt. Die Abb. 4.3.11 zeigt die entsprechende Eichkurve. Mit den verschiedenen eingestellten Schwerpunktswellenlängen kann die Linearität des Gitters des Anregungsmonochromators überprüft werden. Im Gegensatz zum Emissionsmonochromator kann die Skala des Anregungsmonochromators nachgeeicht werden, indem man die "Wellenlänge 380" als Nullpunkt für die Zählung des Schrittmotors wählt und man die Orientierung des Gitters gemäß der erhaltenen Eichkurve geeignet verändert. Abb. 4.3.11 zeigt das endgültige Ergebnis. Um den Abstand zwischen Skala und Wellenlänge klein zu halten, sollte mit einer "Zweipunktseichung" die Verschiebung des Nullpunkts vor der eigentlichen Eichung durchgeführt werden.

Tab.4.3.7. Eichung der Wellenlängeneinstellung des Anregungsmonochromators mit dem Emissionsmonochromator, der mit dem Gitter Nr. 3 versehen wurde.

$\lambda_{0AM} = \lambda_{0EM}$	D _{0AM}	D _{0EM}	D _{0AM} -D _{0EM}	λ_{AM}	$\lambda_{AM}-\lambda_{0AM}$
200	--	505,60		--	--
250	506	505,38	0,62	250.19	0,19
300	507	506,45	0,55	300.16	0,16
350	507	506,38	0,62	350.18	0,18
400	507	506,16	0,84	400.25	0,25
450	507	507,20	0,20	450.02	0,02
500	507	507,30	0,30	499.91	0,09
550	507	506,55	0,45	550.13	0,13
600	506	505,47	0,53	600.16	0,16
650	506	504,72	1,30	650.38	0,38
700	506	556,50*	--	686.68*	0,16
Mittelwert	506,67 ± 0,17	506,1 ± 0,3			
*wurde nicht verwandt					

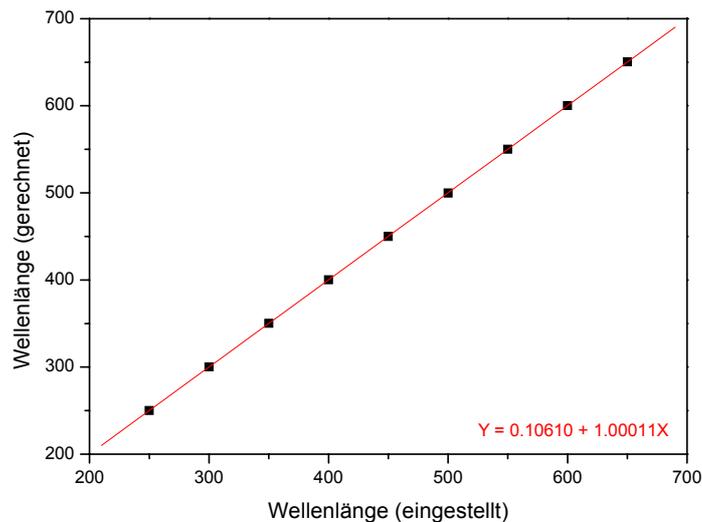


Abb.4.3.11. Gerechnete Wellenlänge in Abhängigkeit der eingestellten Wellenlänge am Anregungsmonochromator und die entsprechende lineare Anpassung.

4.3.5.1.2.5. Darstellung der Einstellung des Anregungsmonochromators nach unvorhergesehenem Abbruch der Messung

Der Anregungsmonochromator muss immer mit der eingestellten Ausgangsstellung „Wellenlänge 380“ und dem Filter „Nr. 6“ ausgeschaltet werden. Wenn das nicht den Fall ist oder wenn der Rechner während einer Messung "abstürzt", ist es erforderlich, den Anregungsmonochromator wieder auf die Ausgangsstellung „Wellenlänge 380“ einzustellen. Das Verfahren dazu entspricht der Eichung des Anregungsmonochromators. Der Anregungsmonochromator wird auf eine Wellenlänge eingestellt und die Wellenlänge des erhaltenen Lichts mit dem Emissionsmonochromator vermessen. Die erhaltene Wellenlänge wird dann mit der am Anregungsmonochromator eingestellten Wellenlänge verglichen. Man errechnet die Differenz zwischen der mit dem Emissionsmonochromator bestimmten Wellenlänge und der am Anregungsmonochromator eingestellten Wellenlänge. Um diese Differenz ist der Nullpunkt (Ausgangsstelle) falsch eingestellt. Anhand dieser Differenz wird der Anregungsmonochromator geeicht, d.h. auf die Ausgangsstellung „Wellenlänge 380“ zurückgestellt, wenn der Zähler des Schrittmotors auf Null steht. Dazu muss die Anzeige des Anregungsmonochromators auf $380 + \text{Differenz}$ (die Differenz kann positiv oder negativ sein) eingestellt werden und anschließend der Rechner neu gestartet (Strg + Alt + Entf).

4.3.5.1.2.6. Einstellung des Anregungsmonochromators nach unvorhergesehenem Abbruch der Messung

Während einer Messung kann der Rechner abstürzen, wobei sich dabei bestimmte Apparate Parameter verändern können. Um die Apparatur wieder gangbar zumachen, sind daher einige Operationen erforderlich, die im folgenden anhand einer vorgekommenen realen Situation beschrieben werden sollen. Zuerst wurde Anhand einer Quecksilberniederdrucklampe überprüft, ob die Einstellung des Emissionsmonochromators nicht verstellt wurde. Ein Spektrum dieser Quecksilberniederdrucklampe wurde mit dem auf die Schwerpunktwellenlänge 450 nm, Gitter Nr. 3 und Integration 1 eingestellten Emissionsmonochromator gemessen. Das erhaltene Spektrum zeigt, dass die Lagen der Emissionsslinien innerhalb der Fehlergrenze mit denen vor dem Absturz aufgenommenen und in Abb.4.3.5 dargestellten Emissionslinien derselben Quecksilberniederdrucklampe und Schwerpunktwellenlänge (450 nm) des Emissionsmonochromators gleich sind, d.h. der Emissionsmonochromator ist in Ordnung und nur des Anregungsmonochromators muss nachgeeicht werden, weil sich offensichtlich die Nullpunktstellung des Schrittmotors verändert hat. Die Nacheichung der Anregungsmonochromator wurde gemäß Abschnitt 4.3.5.1.2.5 für 13 Einstellungen durchgeführt. Mit den verschiedenen eingestellten Schwerpunktwellenlängen wurde die Linearität des Gitters des Anregungsmonochromators überprüft. Am Ende der Eichung zeigen sich, obwohl die Farbe des aus dem Lichtleiter ausstrahlenden Lichtes mit der am Anregungsmonochromator eingestellten Wellenlänge übereinstimmte, in den Tabellen 4.3.8 und 4.3.9 Ergebnisse, die im Vergleich zu der Ergebnissen vor dem Absturz verändert sind. In der Abb. 4.3.12 ist die Abhängigkeit zwischen der am Anregungs- und Emissionsmonochromator eingestellten und über der Eichkurve des Emissionsmonochromators gerechneten Wellenlängen vor und nach dem Absturz dargestellt. Die beide Geraden zeigen unterschiedliche Verläufe. Insbesondere ist zu beachten, dass jetzt zwei Linien beobachtet werden, wobei die zweite Linie nur im unteren Wellenlängenbereich ersichtlich ist. Der Grund dafür ist, dass im diesem Bereich einer Bandpassfilter (200-389 nm) eingebaut wird. Das Erhalten von zwei Linien kann durch die Abbildung am Austrittspalt des Anregungsmonochromator des Lichtes aus zwei Beugungsordnungen geklärt werden, wobei eine unerwünscht ist.

Tab.4.3.8. Eichung der Wellenlängeneinstellung des Anregungsmonochromators mit dem Emissionsmonochromator, der mit dem Gitter Nr. 3 versehen wurde und die zugehörige Diodennummer.

* λ_{0AM}	λ_{0EM}	Dioden nummer	- λ_{EM} (gerechnet)	λ_{0AM}	λ_{0EM}	Dioden nummer	λ_{AM} (gerechnet)
200	200	709	260,52	500	500	645	541,44
	250	978	390,73		550	476	541,06
	225	626	260,78		450	813	541,536
					525	562	541,7
250	250	598	277,43	550	550	561	566,4
	300	895	415,99		600	391	565,71
		431	277,64		500	730	566,79
	200	765	277,22			575	476
	275	979	416,02				
		515	277,68	580	580	506	580
300	300	486	294,04	600	600	475	590,76
		979	441,02				
	350	318	293,95		650	305	590,07
		810	440,64		550	645	590,53
	250	654	294,13				
325	404	294,59	625	390			
	896	441,28					
350	350	375	310,948	650	650	389	615,12
		896	466,28				
	400	207	310,85315		700	220	614,73
		728	466,19				
	300	543	311,03		600	560	616,1
375	291	310,9	675	305	615,07		
	814	466,83					
400	400	812	491,23	700	700	304	639,77
	450	645	491,44		750	134	639,09
	350	981	491,62		650	475	640,76
	425	729	491,49		725	219	639,43
450	450	729	516,49	750	750	217	663,83
	500	581	522,36		800	46	662,85
	400	897	516,58		700	390	665,41
	475	646	516,74		775	134	664,09

* λ_{0AM} (eingestellten Anregungswellenlänge) λ_{0EM} (Schwerpunktswellenlänge am Emissionsmonochromator), λ_{EM} (über die Eichkurve des EM's gerechnete Wellenlänge)

Tab.4.3.9. Eichung der Wellenlängeneinstellung des Anregungsmonochromators mit dem Emissionsmonochromator, der mit dem Gitter Nr. 3 versehen wurde.

$\lambda_{0AM}(\text{eingestellt})$	$\lambda_{AM1}(\text{gerechnet})$ 1. Peak Mittelwert	$\lambda_{EM2}(\text{gerechnet})$ 2. Peak Mittelwert	$\lambda_{EM1} - \lambda_{0AM}$	$\lambda_{EM2} - \lambda_{0AM}$
200	390,72	260,65	190,73	60,65
250	416,0	277,49	166,0	27,49
300	440,98	294,17	140,98	-5,83
350	466,43	310,93	116,43	-39,07
400	491,45	---	91,45	---
450	518,04	---	68,04	---
500	541,43	---	41,43	---
550	566,24	---	16,24	---
580	580	---	0	---
600	590,41	---	-9,58	---
650	615,25	---	-34,75	---
700	639,76	---	-60,24	---
750	664,05	---	-85,95	---

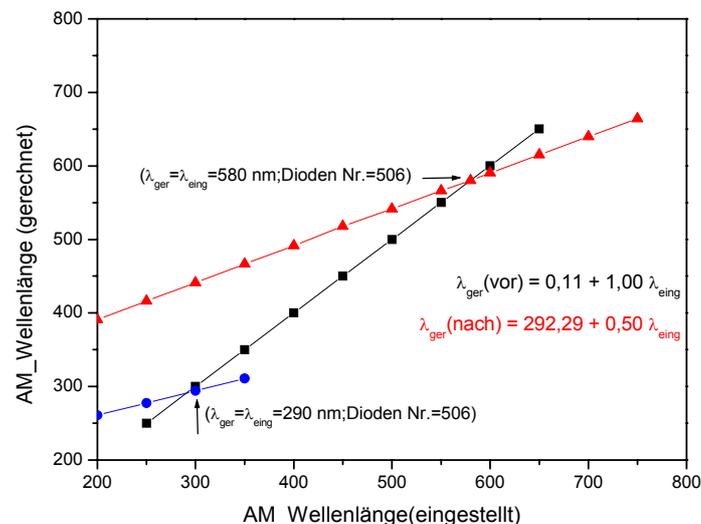


Abb.4.3.12. Gerechneten Wellenlängen über der Eichkurve des Emissionsmonochromators vor und nach dem Absturz vor dem Absturz (■) und nach dem Absturz [1. Linien (▲) und 2. Linien (●)] in Abhängigkeit der eingestellten Wellenlänge am Anregungsmonochromator und die entsprechende lineare Anpassung.

Um die Abweichung zwischen die Wellenlängen vor und nach dem Absturz zur verdeutlichen wurde im Abb. 4.3.13 die am Anregungsmonochromator eingestellten und über der Eichkurve des Emissionsmonochromators gerechneten Wellenlängen in Abhängigkeit der Diodennummer dargestellt. In dieser Abbildung kann man besser beurteilen, wie der Gitter im

Monochromator verstellt ist. Die am Anregungsmonochromator eingestellte Wellenlänge nach dem Absturz ist um ca. 45° versetzt und die über der Eichkurve des Emissionsmonochromators gerechnete um ca. 68° . Hier stellt sich die Frage, welche von beiden Linien der am Anregungsmonochromator eingestellten Wellenlänge zugeordnet ist. Die verfügbare Informationen können zur Zeit keine Lösung geben. Da sich die drei Geraden bei der ersten Linien am 580 nm und Schwerpunktdiodennummer 506 und am 290 nm gleicher Schwerpunktdiodennummer abschneiden, müssen die Messungen, bis das Gitter geeicht wird, mit diesen beiden Werten durchgeführt werden.

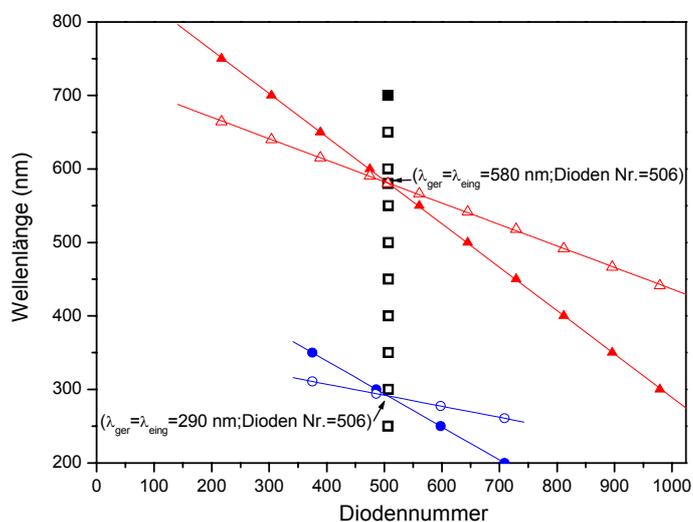


Abb.4.3.13. Eingestellten Wellenlängen am Anregungsmonochromator und gerechneten Wellenlängen über der Eichkurve des Emissionsmonochromators vor dem Absturz (■, □) und nach dem Absturz [1. Linien (▲, △) und 2. Linien (●, ○)] in Abhängigkeit der Diodennummer und die entsprechende lineare Anpassung.

4.3.5.2. Reflexionsintensität in Abgängigkeit des Abstandes Lichtleiter-weißes Papier

Das Verständnis und insbesondere eine theoretische Behandlung des Streulichts resp. der Reflexion der Myzelsuspension verlangt einige Informationen über die Art des eingestrahnten Lichtes, die bei der Verwendung eines Lichtleitersystems nicht allgemein bekannt sind. Um die Geometrie des Lichtstrahls aus dem Lichtleiter zur Erzeugung der Streuung an einer ebenen Fläche und die Divergenz des Lichtstrahls kennen zu lernen, wird der aus dem Lichtleiter austretende Lichtstrahl parallel zu einer optischen Bank auf einen weißen ebenen

Schirm geführt und die von dieser Platte ausgehende Streustrahlung als Funktion des Abstandes zwischen Platte und Lichtleiter wieder über den Lichtleiter gemessen. Als weißer Schirm zur Reflexion wird ein weißes Papier verwandt. Die Geometrie des Lichtstrahls ist kreisförmig. Es zeigt sich, dass der Lichtstrahl, der aus dem Lichtleiter heraustritt, einen Öffnungswinkel von 7.90° besitzt, der dem des Anregungsmonochromators ($\theta_1 = 6.8^\circ$) entspricht. Das Ergebnis zeigt, dass der Öffnungswinkel des Lichtleiters von $\theta_2 = 14.5^\circ$ durch die Art der Ankopplung des Lichtleiters an den Monochromator nicht voll genutzt wird, was für die quantitative Beschreibung des Streulichts zu berücksichtigen ist.

Der gemessenen Intensitätsabfall, der sich zeitabhängig nicht ändert, ist stärker als exponentiell (Abb. 4.3.13). Nach 7 cm ist die gemessene Intensität auf 10 % abgesunken. Der größte Abfall liegt in diesem Fall zwischen 3 cm und 5 cm. Die Abb. 4.3.14 zeigt die Intensität der Reflexion in Abhängigkeit des Abstandes ($1/R^2$) zwischen dem Lichtleiter und dem weißen Papier. Wie zu erkennen ist, zeigt die Kurve über den gesamten Wertebereich gesehen keinen linearen Zusammenhang zwischen der Intensität der Reflexion und $1/R^2$. Nur bei großen Abständen (ab $R = 8$ cm) wird die Intensität der Reflexion eine lineare Funktion von $1/R^2$ [R(Lichtleiter- weißes Papier) (Abb. 4.3.14)].

Die Intensität der Lichtreflexion ist in Abb. 4.3.14 in Abhängigkeit von $1/R^2$ für drei Wellenlängen (λ) 400 nm, 500 nm, und 600 nm angegeben. Die Wellenlängenabhängigkeit der Streuung verändert die Steigung der Kurven. Will man eine Darstellung als spektrale Reflexion berücksichtigen, so ergibt sich diese als ein auf die Einheit des Wellenlängenbereiches bezogener Anteil der Bestrahlungsstärke (spektrale Bestrahlungsstärke) umgekehrt proportional zur Wellenlänge. Die Abb. 4.3.15 zeigt die Intensität der Lichtreflexion in Abhängigkeit der reziproken Wellenlänge bei verschiedenen Abständen Lichtleiter- weißes Papier.

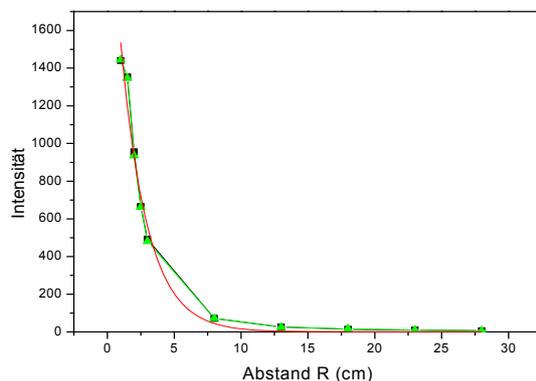


Abb.4.3.13. Die Intensität der Lichtreflexion bei $\lambda = 500 \text{ nm}$ (■), bei $\lambda = 500 \text{ nm}$ nach 5 Stunden (▲), und die exponentielle Anpassung (—) aufgetragen in Abhängigkeit vom Abstand R zwischen dem Lichtleiterkopf und der Ebene des reflektierenden weißen Papiers. Die Gleichung der exponentiellen Anpassung ist $I = I_0 + I_0 \exp(-R/b)$ und der Korrelationskoeffizient beträgt 0,98495, $I_0 = 0$, $I_0 = 2543$ und $b = 1,98$.

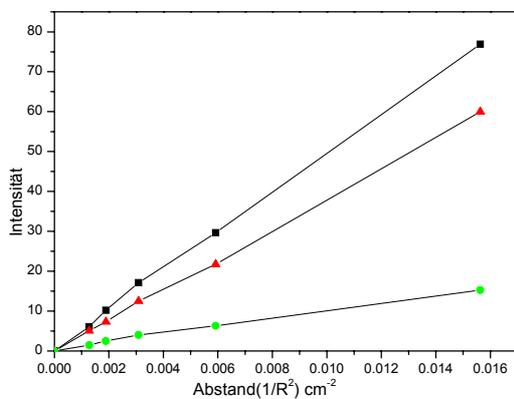


Abb.4.3.14. Die Intensität der Lichtreflexion in Abhängigkeit von $1/R^2$, mit R als Abstand zwischen dem Lichtleiterkopf und der Ebene des reflektierenden weißen Papiers für die Wellenlänge $\lambda = 400 \text{ nm}$ (■), 500 nm (▲) und 600 nm (●).

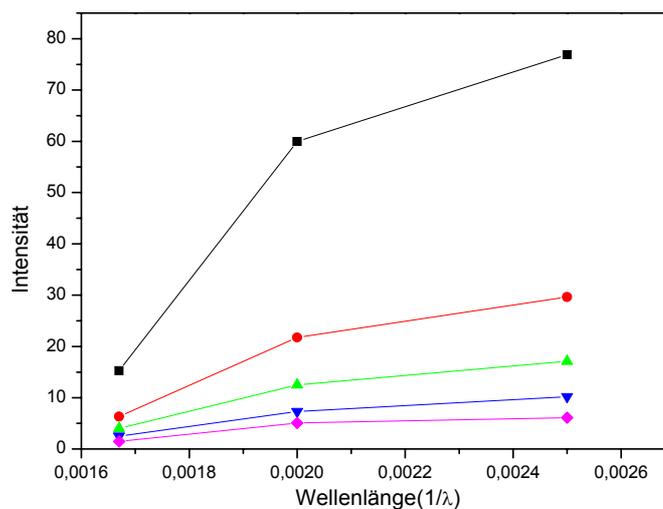


Abb.4.3.15. Die Intensität der Lichtreflexion in Abhängigkeit von der Wellenlänge bei den großen Abständen $R = 8 \text{ cm}$ (■), 13 cm (●), 18 cm (▲), 23 cm (▼) und 28 cm (◆) zwischen dem Lichtleiterkopf und der Ebene des reflektierenden weißen Papiers.

4.3.6. Vorschlag zum Aufbau einer neuen einfachen Streulicht-Apparatur

Der geplante Aufbau der einfachen Streulicht-Apparatur ist in Abb. 4.3.16 schematisch dargestellt. Als Lichtquelle soll eine Lampe mit einer großen Strahlungsdichte im sichtbaren Spektralbereich verwendet werden. Diese Lampe sollte folgende Eigenschaften haben: kompaktes raumsparendes Gehäuse mit geringem Gewicht, hohe Stabilität, einfacher Lampenwechsel möglichst ohne Justierung und eine lange Lebensdauer. Ob ein einfacher Laser verwendbar ist, muss geprüft werden. Ein Filter soll den Bereich der eingestrahnten Wellenlänge einschränken, um Falschlicht zu vermindern, resp. um den Einfluss der Streulichtintensität der Teilchengröße einzuschränken. Im Bereich des Filters wird ein Chopper erforderlich, um Messzeiten vorzugeben resp. zu steuern. An die Lichtquelle wird ein mehrarmiger Lichtleiter aus Glasfasern mit statistisch verteilten Fasern angekoppelt, um das eingestrahlte und das gestreute Licht im und aus dem gleichen Volumen des streuenden Mediums zu erhalten. Hier soll die Erfahrung aus dem Bau der vorhandenen Apparatur eingebracht werden, um wieder Messungen bei großer Eigenabsorption der Fermenterbrühe zu ermöglichen. Ein weiterer Strang aus dem Lichtleiter erlaubt die parallele Messung der eingestrahnten Intensität, um die Messkurven auf konstante Strahlungsleistung zu normieren. Als Empfänger ist die Verwendung einer einfachen Photodiode oder eines Photomultipliers

geplant. Als Rechner genügt ein einfacher PC. Er muss eine Steuerung analog zum vorhandenen Gerät ermöglichen.

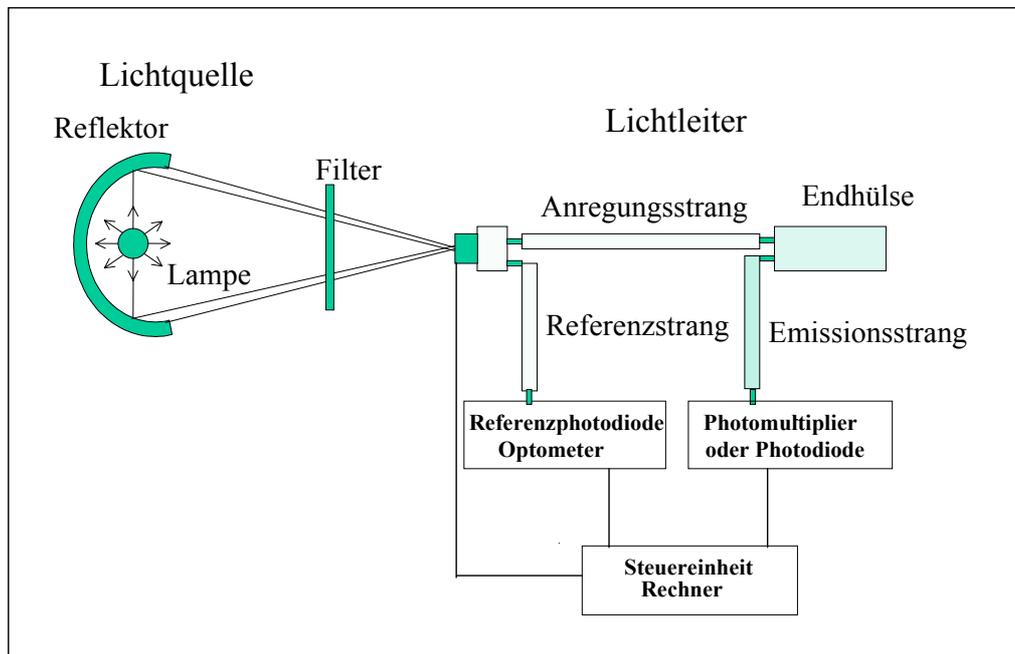


Abb.4.3.16. Schematischer Aufbau einer Streulicht-Apparatur.

5. Analyse des Streulichtverhalten

5.1. Qualitatives Modell zur Beschreibung der Eichkurve von Polystyrol- und Myzelteilchen

Wie in einer früheren Arbeit [9] experimentell nachgewiesen wurde, besteht praktisch keine Wellenlängenabhängigkeit der Intensität der Streustrahlung bei zwei filamentösen Pilzen und einem Hefepilz. Damit lassen sich Streumechanismen, wie man sie bei kleinen Teilchen und aber auch bei einzelligen Lebewesen findet, ausschließen. Es bleibt dann die Frage, wie man auf diesem Befund eine Beschreibung der experimentellen Methode aufbauen kann. Die Mie-Theorie für sehr große Teilchen könnte eine Basis für eine zu entwickelnde Beschreibung liefern. Bei wachsender Partikelzahl mit ansteigenden Durchmessern kann man aber auch bei den Polystyrolteilchen und bei den Fermentationsbrühen von filamentösen Pilzen die streuende Phase in scheinbar strukturierte Schichten aus Teilchen oder aus Pellets zerlegen, an denen dann jeweils eine diffuse Reflexion erfolgen kann. Man hätte hier eine diffuse Lichtstreuung oder Reflexion an Schichten, wie man sie bei der Darstellung von Kubelka-Munk [20] findet.

Eine wesentliche Voraussetzung für die heute verwandten Theorien nach Kubelka-Munk ist, dass die Probe diffus bestrahlt wird, was für das vorliegende Lichtleitersystem nicht der Fall ist. D.h. Kubelka-Munk Lösungen des Problems der diffusen Streuung sind also in unserem Fall nicht anwendbar, da zum einen die Bestrahlung nicht diffus, wie vorher gezeigt, sondern gerichtet ist und zum zweiten, dass die diffuse Streuung von Schichten erfolgt, die sich in unterschiedlichem Abstand vom Lichtleiterkopf befinden. Bei sehr kleinen Teilchenkonzentrationen wird jedes Teilchen zur diffusen Reflexion Anlass geben und die gemessene Intensität wird proportional zur Teilchenzahl. Mit steigender Konzentration wird zum einen eine der Mehrfachstreuung entsprechende Reflexion auftreten, zum anderen aber wird die Eindringtiefe des Anregungslichtstrahls immer kleiner werden und das Modell der diffusen Reflexion einer gerichteten Strahlung an immer dichter werdenden Schichten wird zum Tragen kommen. Die Massenabhängigkeit, resp. die Abhängigkeit von der Trockenmasse, wäre dann möglicherweise z.T. eine Abhängigkeit der Streuung von der Eindringtiefe. Die Behandlung eines analogen Modells für die Fluoreszenz von Stoffen,

adsorbiert an großen Teilchen, könnte für die quantitative Behandlung der diffusen Reflexion an großen Teilchen bei gerichteter Einstrahlung wertvolle Anregungen geben [24].

5.1.1. Theoretische Überlegungen zur Behandlung der gestreuten/reflektierten Lichtintensität

Die quantitative Behandlung der Fluoreszenz in einem analogen Lichtleiterfluoreszenz- und Streulichtspektrometer [8] liefert eine Basis für die Entwicklung eines Modells zur Behandlung der diffusen Reflexion an großen Teilchen bei einer gerichteten Einstrahlung aus einem Lichtleiter, der selbst wieder das Streulicht aus der Probe aufnimmt (Gemischtes Fasersystem zu gleichzeitigen Einstrahlung und der Aufnahme des Streulichtes). Es muss aber davon ausgegangen werden, dass erstens bei der Streuung Anregungslicht und Streulicht die gleiche Wellenzahl besitzt, während die Fluoreszenzwellenlänge von der Anregungswellenlänge verschieden ist, zweitens die aus dem Lichtleiter austretende Anregungsstrahlung geschwächt wird, d.h. nur ein Teil von dieser Strahlung an den Teilchen einfallen wird und drittens wegen des Verlustes nur ein Teil des reflektierten/gestreuten Lichtes vom Detektor aufgenommen wird.

Wenn man die streuende Phase in scheinbar strukturierten Schichten betrachtet, an denen dann jeweils eine diffuse Reflexion oder Streuung erfolgen kann, wird angenommen, dass die Intensität der gesamten Menge des gestreuten Lichtes bei allen Teilchen der Summe der Intensitäten des gestreuten Lichtes bei jedem Teilchen in der differentiellen Schicht und wiederum der Summe über alle Schichten der streuenden Phase entspricht. Da bei wachsenden Teilchenkonzentrationen die Eindringtiefe immer kleiner wird, wird die Anregungsstrahlung nicht mehr alle Teilchen erreichen. Als Folge daraus ist die gemessene Intensität keine lineare Funktion der Teilchenkonzentration, d.h. was gemessen wird, entspricht nicht mehr dem gesamt reflektierte/gestreuete Licht, sondern das von den Teilchen, die sich nahe vom Lichtleiter befinden. Wenn man den Zustand erreicht hat, wo bei zunehmender Teilchenkonzentration die Lichtintensitäten konstant bleiben, könnte angenommen werden, dass nur eine dichtere Schicht (0.5-1 cm) von Teilchen, die kein Licht durchlässt, für die diffuse Reflexion verantwortlich. In diesem Fall könnte die Intensität der gesamten Menge des gestreuten Lichtes der Summe der Intensitäten über alle Schichten entsprechen.

5.1.2. Experimentelle Suche nach geeigneten Parametern zur Darstellung der Streulichtmessungen

In früheren Arbeiten [9] in unserer Arbeitsgruppe wurde gezeigt, dass, unabhängig von der vorliegenden Pelletgrößenverteilung, die Streulichtintensität als eindeutige Funktion des Myzeltrockengewichts dargestellt werden kann, d.h. dass eine Streulicht-Myzeltrockengewichts-Eichkurve erstellt werden kann. Die Eichkurve ist auch bei mittleren Pelletkonzentrationen keine lineare Funktion. Es wurde aber weiterhin gezeigt, dass eine lineare Funktion zwischen Streulichtintensität und Pelletanzahl pro Volumen erhalten wird, wenn man eine Verdünnungsreihe durchführt, bei der eine gleichbleibende Größenverteilung der Pellets (Teilchen) erhalten bleibt, wobei das Myzeltrockengewicht keine lineare Funktion der Pelletanzahl ist. Zusammen mit den oben dargestellten Fakten, muss man daraus ableiten, dass die Mie-Streuung, die eine lineare Funktion zwischen Intensität und Anzahl der Teilchen zeigt, im Fall der Eichkurve nicht anwendbar ist. Die Theorie der diffusen Reflexion, die keine lineare Funktion zwischen Intensität und Anzahl der Teilchen aufweisen muss, könnte eine Basis für die zu entwickelnde Begründung für die existierende Form der Eichkurve liefern. Aus weiteren experimentellen Untersuchungen an Pellets von filamentösen Pilzen soll versucht werden, theoriefähige Parameter zu finden, die die oben beschriebenen theoretischen Ansätze begründen können.

5.2. Untersuchungen am Modell System: Polystyrolteilchen im wässrigen Medium

Um Streulicht von Teilchen in der Größe der Pellets und Teilchen mit einer sehr komplizierten Morphologie, wie sie bei Pilzfermentationen gefunden werden, behandeln und beschreiben zu können, sollen Streulichtexperimente an vergleichbar große Polystyrolteilchen der Firma Duke Scientific Corporation mit einem Durchmesser zwischen 0.250-0.750 μm bzw. der Firma BASF mit den Durchmessern zwischen 0.4 bis 1 μm (P426), 0.5 bis 1.2 μm (P326) und 0.6 bis 1.5 μm (P226) untersucht und behandelt werden. Ihre Form ist im Gegensatz zu der der Pellets einfach, ihre Dichte liegt mit 1.05 oberhalb der Dichte des Myzels, und außerdem absorbieren die Teilchen und ihre Dispersionen in wässrigen Lösungen kein Licht oberhalb von 250 bis 300 nm. Fermentationen dagegen ergeben häufig dunkle Fermentationsbrühen, die die optischen Messungen erschweren. Um eine stabile Dispersion der Polystyrolteilchen im Wasser zu erhalten, wurden diese in einer Salzlösung aufgeschwemmt, deren Dichte ca. 1.05 beträgt. (siehe Abschnitt 4.1.2.1).

5.2.1. Habitus der Polystyrolteilchen

Die Abb. 5.2.1 zeigt Rasterelektronenmikroskopbilder der Polystyrolteilchen der Verteilungen P426 (0.4–1 mm) und P226 (0.6-1,5 mm).

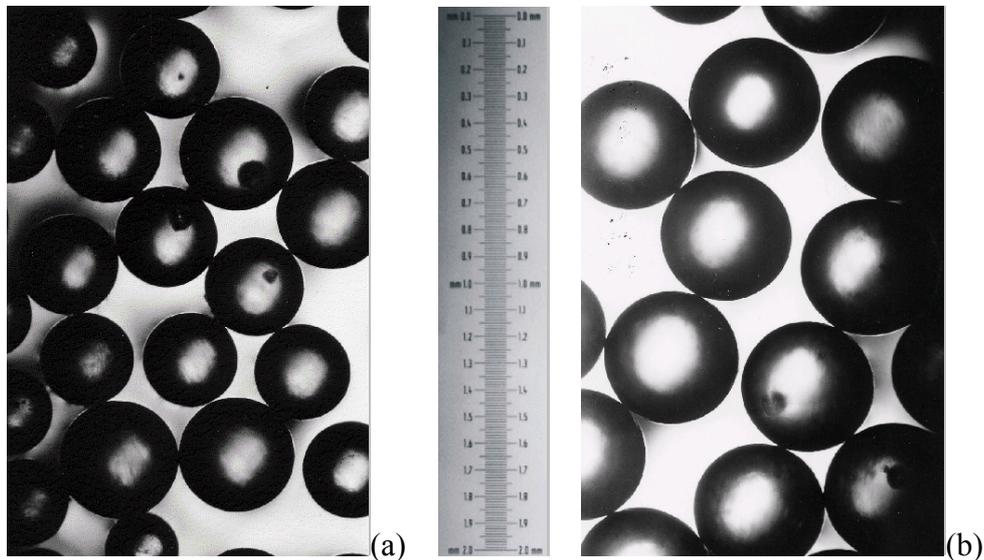


Abb. 5.2.1. Polystyrolteilchen P426 (a) mit dem Durchmesser (0.4–1 mm) und P226 (b) mit dem Durchmesser (0.6-1,5 mm).

5.2.2. Größenverteilung der Polystyrolteilchen

Die Größenverteilung der Polystyrolteilchen wurde mit dem in Abschnitt 4.3.3 beschriebenen Gerät durchgeführt. Da die hier verwendete Polystyrolteilchen verschiedene Größe haben, muss zur Beschreibung ihres Beugungsspektrums, d.h. ihrer Intensitätsverteilung, jedes Teilchen berücksichtigt werden. Die Intensitätsverteilung ergibt sich aus der Summe über alle Einzelintensitäten. Um die Teilchengrößenverteilung auf einen Graph aufzutragen, sollen folgenden Größen definiert werden:

- **Verteilungssumme**

Diese entspricht der Summe der Volumenkonzentration von 0 bis Durchmesserklasse D_i .

- **Summenkurve**

Die Auftragung der Gesamtvolumina über den einzelnen Durchmesserklassen ergibt die q_3 -Verteilung, deren Integration und Normierung auf 1, die normierte Summenkurve ergibt. Zur besseren Darstellung werden die Volumenanteile der einzelnen Durchmesserklassen durch eine gleitende Mittelwertbildung über die beiden Nachbarklassen geglättet.

- **Medianwert**

Der Medianwert entspricht der Durchmesserklasse, über der die normierte Verteilungssumme den Wert 0,5 annimmt und teilt somit die Volumendichteverteilung in zwei gleiche Hälften. Dieser Wert ist ein sinnvoller Parameter für die Beurteilung einer Partikelgrößenverteilung.

In Abb. 5.2.2.bis 5.2.5 sind die Teilchengrößenverteilung der Polystyrolteilchen dargestellt

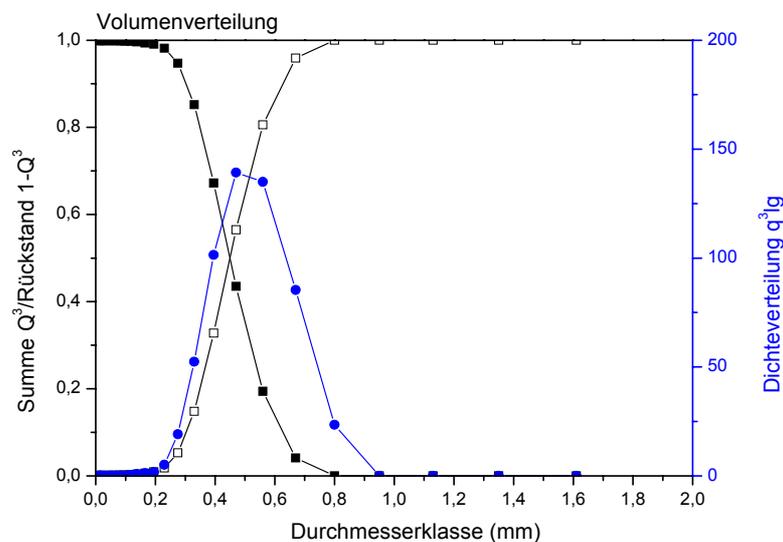


Abb.5.2.2. Größenverteilung [Verteilungssumme (□), Rückstand der Verteilungssumme (■) und Dichteverteilung (●)] der Polystyrolteilchen mit dem Durchmesser zwischen 0.250-0.750 mm.

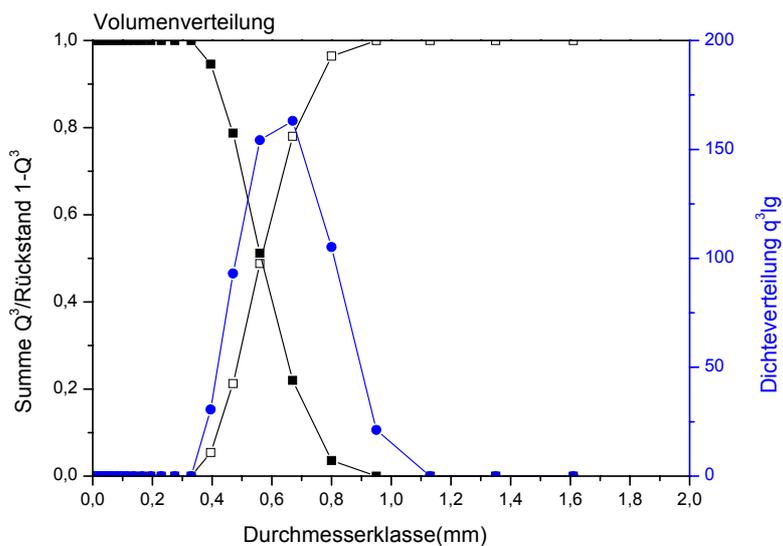


Abb.5.2.3. Größenverteilung [Verteilungssumme (\square), Rückstand der Verteilungssumme (\blacksquare) und Dichteverteilung (\bullet)] der Polystyrolteilchen P426 (0.4–1 mm).

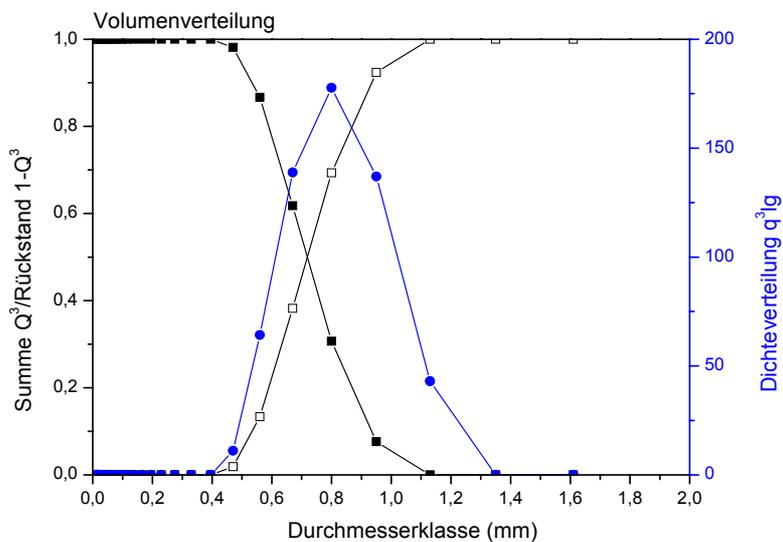


Abb.5.2.4. Größenverteilung [Verteilungssumme (\square), Rückstand der Verteilungssumme (\blacksquare) und Dichteverteilung (\bullet)] der Polystyrolteilchen P326 (0.5–1.2 mm).

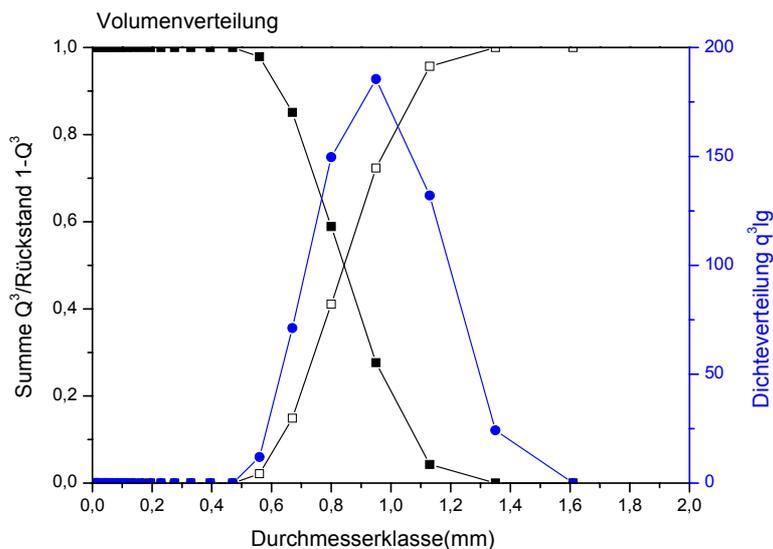


Abb.5.2.5. Größenverteilung [Verteilungssumme (\square), Rückstand der Verteilungssumme (\blacksquare) und Dichtevertellung (\bullet)] der Polystyrolteilchen P226 (0.6–1.5 mm).

5.2.3. Wellenlängenabhängigkeit der Streulicht- bzw. Reflexionsmessungen

Um weitere Informationen über den physikalischen Prozess der Streuung zu erhalten, wurde die Wellenlängenabhängigkeit der Lichtstreuung untersucht, wobei zur Abschätzung der Wellenlängenabhängigkeit der Streulichtintensität die eingestrahlte Lichtintensität als Funktion der Wellenlänge bekannt sein muss. Die vorhandene Apparatur erlaubt die Messung dieser Intensität in Abhängigkeit von der Wellenlänge über einen Referenzstrahl mittels einer Photodiode, deren Photostrom mit einem Optometer bestimmt wird. Über eine entsprechende Eichung wird daraus eine zum Lichtstrom proportionale Energie erhalten. Da der Optometer diese Intensität nicht mehr zu Verfügung stellen kann, wurde eine andere Möglichkeit verwandt um diese Intensität abzuschätzen. Sie ergibt sich aus der Messung der an der Schutzhülle des Lichtleiters gemessenen Reflexion und Streuung sowie aus der Messung einer Streuung an einer DC-Platte, die als Weißstandard genutzt werden kann. Hier ist bekannt, dass das Reflexionsvermögen unabhängig von der Wellenlänge ist [20]. In Tab. 5.2.1 sind einige dieser Werte zusammen mit der Abschätzung von Streulichtverhältnissen für verschiedene Wellenlängen zusammengestellt. Wichtig für die weitere Arbeit ist die Aussage, dass die gefundene Lichtstreuung praktisch unabhängig von der Wellenlänge ist, wie die Zahlen in den beiden letzten Zeilen der Tab. 5.2.1 belegen (bei einem Verhältnis der Streulichtintensitäten von eins gibt es keine Wellenlängenabhängigkeit). Die Abb. 5.2.5 zeigt

die normierten Streulichtintensitäten in Abhängigkeit des Trockengewichtes von Polystyrolteilchen bei $\lambda=350$ nm, 450 nm, 550 nm und 650 nm. Die Streulichtkurven sind hier um die Streuung aus einer Küvette mit polystyrolfreier wässriger Lösung korrigiert und auf den maximalen Streuwert bei einer Trockengewichtseinwaage von 15 g/l normiert. Die Intensität des eingestrahlten Lichtes für die jeweilige Wellenlänge ist hier noch nicht korrigiert; sie wird aber als Folge der Normierung des Messeffekts praktisch korrigiert (Abb. 5.2.5). Wichtig ist der Befund, dass die Streulichtintensität als Funktion des Trockengewichts für alle Wellenlängen die gleiche Abhängigkeit besitzt. Die Messung bei mehreren Wellenlängen, was automatisiert möglich ist, erlaubt eine Verbesserung der Messgenauigkeit.

Einige Angaben zur Theorie der Lichtstreuung sollen die Berechtigung der angedeuteten Analyse untermauern und die Informationen andeuten, die aus der Wellenlängenabhängigkeit einer Lichtstreuung für verschiedene Systeme erhalten werden können. Das ist von Bedeutung, da wegen des Zerschlagens der gewachsenen Pellets beim Rührprozess die Pellets eine sehr breite Größenverteilung haben können.

Tab.5.2.1. Einige charakteristische Streulichtdaten bei der größten Trockengewichtseinwaage von 15 g/l zur Abschätzung der Wellenlängenabhängigkeit der Lichtstreuung.

Wellenlänge λ (nm)	350	450	550	650
Lichtreflexion der DC-Platte (I_{00})	2140	8750	1630	323
Lichtreflexion der Leerglasküvette (I_{01})	—	1630	289	54
Lichtstreuung der Polystyrolteilchen (I_{St})	803	5000	841	180
I_{00}/I_{01}	—	5.4	5.6	6
$(I_{St})/(I_{00}) = I_1$	0.38	0.57	0.52	0.56
$(I_{St})/(I_{01}) = I_2$	—	3.07	2.91	2.14
$I_1 / (I_1)_{(650nm)}$	0.70	1.02	0.93	1
$I_2 / (I_2)_{(650nm)}$	—	1.43	1.40	1

I_{00} ist die Reflexionsintensität der DC-Platte und I_{01} die der Schutzhülle. I_{St} ist die Streulichtintensität der Polystyrolteilchen und I gibt das Intensitätsverhältnis der gestreuten (I_{St}) zur einfallenden (I_{00}) Strahlungsleistung an.

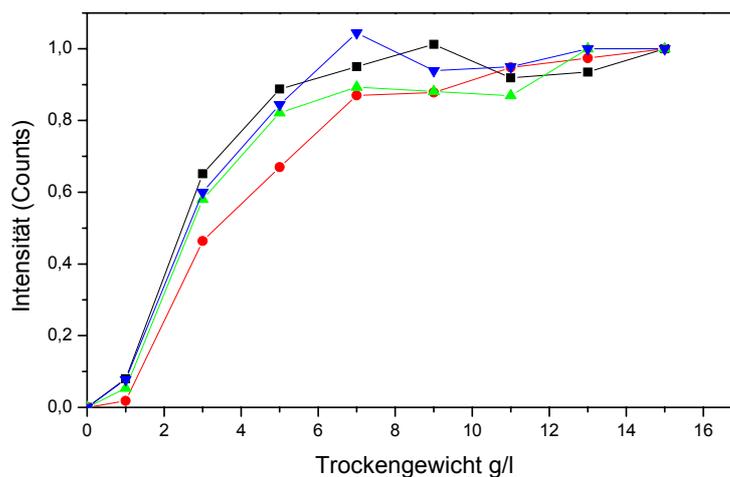


Abb.5.2.5. Normierte Streulichtintensität einer wässrigen Dispersion von Polystyrolkugeln mit Durchmessern von 0.250 bis 0.750 mm bei den Wellenlängen $\lambda = 350$ nm (■), 450 nm (●), 550 nm (▲) und 650 (▼) nm in Abhängigkeit vom Trockengewicht des Polystyrols.

5.2.4. Erstellung einer Eichkurve von wässrigen Suspensionen von Polystyrolteilchen

Zur Verdeutlichung der Verbesserung der Anordnung für die Eichung sind in Abb. 5.2.6 und Abb. 5.2.7 zwei verschiedene Streulichtmessungen dargestellt. Abb. 5.2.6 zeigt das Gewicht an Polystyrolteilchen im Probengefäß mit der Form eines „Ellbogens“ in Abhängigkeit der Streulichtintensität, die noch nicht um die Streuung der teilchenfreien Probe korrigiert ist. Einige wenige Mess- und Systemparameter der Streulichtmessungen an Polystyrolteilchen sind in der Tab. 5.2.2 zusammengestellt, um einen Eindruck des zu untersuchenden Systems zu vermitteln. Die Intensitätsangaben sind hier nicht korrigiert. Aus den Intensitätsangaben der Tab. 5.2.2 ist zu sehen, dass die Korrektur der „Nullpunktsstreuung“ unbedingt erforderlich ist. Es muss angestrebt werden, die „Nullpunktsstreuung und Reflexion“ bei den Polystyrolmessungen vollständig zu unterdrücken.

In Abb. 5.2.7 ist das Gewicht an Polystyrolteilchen im Probengefäß mit der Form eines „Hornes“ in Abhängigkeit der Streulichtintensität dargestellt. Hier ist eine Korrektur der Nullpunktsstreuung nicht erforderlich, da durch die Form des Gefäßes die Reflexionsintensität

der Küvettenwände nicht mehr vom Lichtleiter aufgenommen wird. Die Abb. 5.2.7 zeigt die Trockenmasse an Polystyrolteilchen n in Abhängigkeit der Intensität des Streulichts. Der Gewichtsanteil an Polystyrol in der Küvette entspricht den Gewichtsanteilen an Pellets, die bei den Fermentationen üblicherweise auftreten. Der Bereich, in dem Trockengewicht und Streulicht proportional sind, ist nur ein Viertel des gesamten Messbereiches. Die Streulichtintensität (Abb. 5.2.7) strebt bei hohen Trockenmassen der Polystyrolteilchen einem Grenzwert zu, bei dem die erfassbare Trockenmasse durch die Verringerung der Eindringtiefe der Strahlung in die Polystyrolteilchenlösung begrenzt wird. Im Bereich von 0 bis 7 g/l ist eine Proportionalität zwischen der Trockengewichtsmasse und der Streulichtintensität gut zu erkennen. Der hier erhaltene Messbereich für das Trockengewicht entspricht so dem des zulässigen Bereiches bei Messungen an filamentösen Pilzen, z.B. am System *Crinipellis stipitaria* [25], denn auch hier konnte nur bis zu einer Trockengewichtsmenge von 3 g/l gemessen werden (Abb. 5.2.8).

Tab. 5.2.2. Mess- und Systemparameter der Streulichtmessungen mit Polystyrolkugeln.

Anregungswellenlänge /nm	Messzeit /sec	Streulichtintensität bei einem polystyrolfreien Medium	Streulichtintensität bei der größten Einwaage	Polystyrol-Trockengewicht. /g/l: kleinste Einwaage	Polystyrol-Trockengewicht /g/l: größte Einwaage
350	20	237	1040	1	15
450	20	1730	6730	1	15
550	20	349	1190	1	15
650	20	64	244	1	15

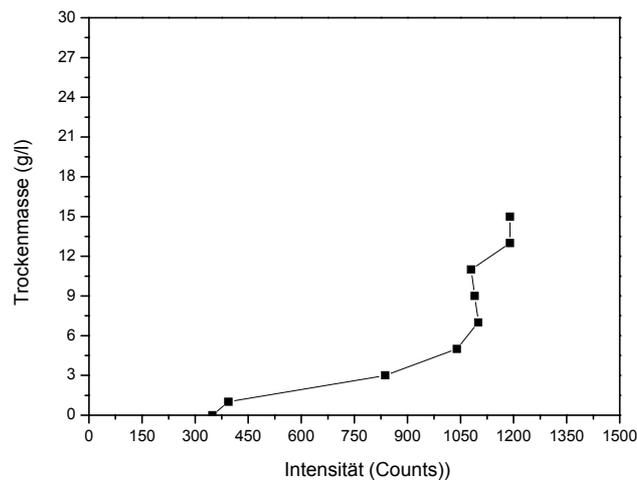


Abb.5.2.6. Trockenmasse einer wässrigen Suspension von Polystyrolteilchen mit Durchmessern von 0.250 bis 0.750 mm im Probengefäß mit der Form eines „Ellbogens“ bei der Wellenlänge $\lambda = 550\text{nm}$ in Abhängigkeit der Streulichtintensität ($\lambda=580\text{nm}$) Trockengewicht [Spaltbreite (Anregung) = 1 mm und Spaltbreite (Emission) = 0.5mm]. Die Suspension wurde mit einem Magnetstab gerührt.

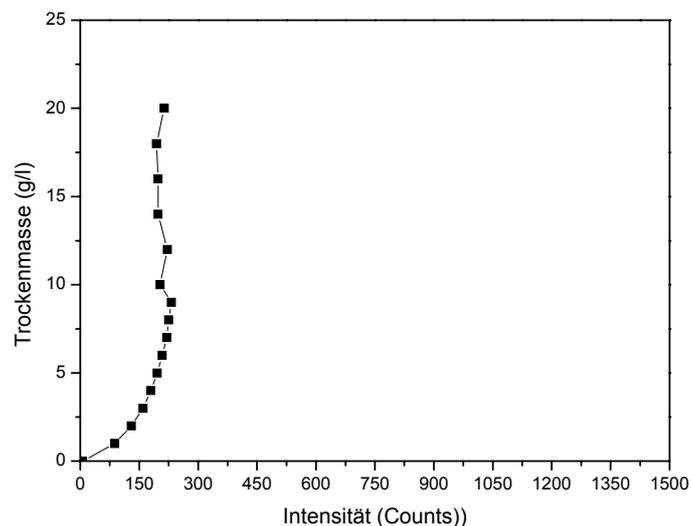


Abb. 5.2.7. Trockenmasse einer wässrigen Suspension von Polystyrolteilchen mit Durchmessern von 0.250 bis 0.750 mm im Probengefäß mit der Form eines „Hornes“ bei der Wellenlänge in Abhängigkeit der Streulichtintensität ($\lambda=580\text{nm}$) [Spaltbreite (Anregung) = 2 mm und Spaltbreite (Emission) = 0.1mm]. Messungen mit dem neuen Rührsystem.

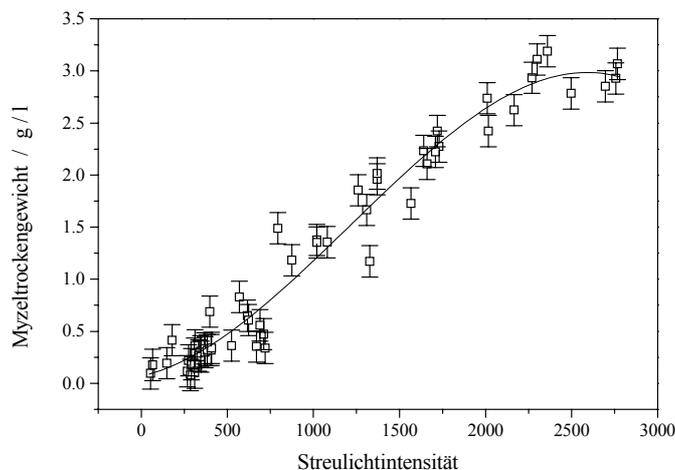


Abb. 5.2.8. Myzelrockgewicht von *Crinipellis stipitaria* JK 364 in Abhängigkeit der Streulichtintensität bei der Wellenlänge $\lambda=580$ nm für vier Fermentationen (Fermentation im 10 l Fermenter bei $T=25^{\circ}\text{C}$, Rührerdrehzahl 150 UpM, Belüftungsrate 20 l/h und mit dem Medium M1).

Es wurden für Polystyrolteilchen mit vier verschiedenen Verteilungen [(0.250-0.750 mm), P426 (0.4-1.0 mm), P326 (0.5-1.2 mm) und P226 (0.6-1.5 mm)] Streulichtmessungen durchgeführt. Die Messbedingungen, d.h. Wellenlängen und Spalt an beiden Monochromatoren der Streulichtintensität wurden gleich eingestellt. Die Abb. 5.2.9 zeigt die Eichkurve der vier Durchmesserverteilungen. Die Teilchen P426 (0.4-1 mm), P326 (0.5-1.2 mm) und P226 (0.6-1.5 mm) zeigen vergleichbare Verläufe bei gleicher Trockenmasse. Die Eichkurven der drei Verteilungen P426 (0.4-1.0 mm), P326 (0.5-1.2 mm) und P226 (0.6-1.5 mm)] zeigen einen anderen Verlauf im Vergleich zur der Verteilung 0.25–0.75 mm. Der Sättigungsbereich, der erwartet wurde und der bei der breiter Größenverteilung (0.25–0.75 mm) zu sehen ist, wurde für die Teilchen mit folgender Größenverteilung [P426 (0.4-1.0 mm), P326 (0.5-1.2 mm) und P226 (0.6 - 1.5 mm)] nicht erhalten.

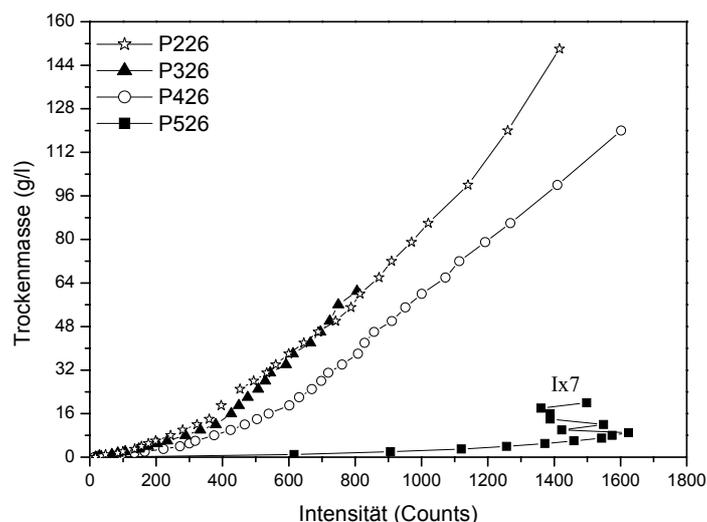


Abb.5.2.9. Trockenmasse des Polystyrols einer wässrigen Suspension von Polystyrolteilchen mit Durchmessern von 0.250 bis 0.750 mm (■), P426 mit Durchmessern von 0.4 bis 1.0 mm) (○), P326 mit Durchmessern von 0.5 bis 1.2 mm (▲) und P226 mit Durchmessern von 0.6 bis 1.5 mm (☆) im Probengefäß in der Form eines „Hornes“ und mit dem neuen Rührsystem in Abhängigkeit von der Streulichtintensität bei der Wellenlänge $\lambda = 580\text{nm}$.

5.3. Untersuchungen am Myzel

5.3.1. Morphologie des Myzels

Die Auswahl der hier und in dieser Arbeit untersuchten Pilze erfolgte nicht nach ihrer Bedeutung bezüglich der biologischen Funktionen. In dieser Arbeit geht es darum zu zeigen, dass mit Hilfe der Streulichtmessung in On-line-Verfahren die Myzeltrockengewichte allgemein bestimmbar sind. Da das Streulichtverhalten wesentlich durch die Form und Größe des streuenden Partikels bestimmt wird, wurden in den folgenden Untersuchungen Pilze ausgewählt, deren Pellets eine sehr unterschiedliche Morphologie besitzen.

Eine 10 ml Probe des Pilzes wird auf eine von unten beleuchtete Probeschale gegeben. Die Pellets werden gleichmäßig auf der Schale verteilt. Sie dürfen sich nicht berühren. Die Bildaufnahme erfolgt mit einer CCD-Kamera Type C – 2500L der Firma Olympus. Die Abb. 5.3.1 zeigt die Proben der Vorkulturen des Deuteromyceten 273-95 und der Basidiomyceten

Irpex 95282 und *Panaeolus* 96056 und die Abb. 5.3.2 die der Fermentationen des Ascomyceten A17-99, Discomyceten D01002 und Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129.

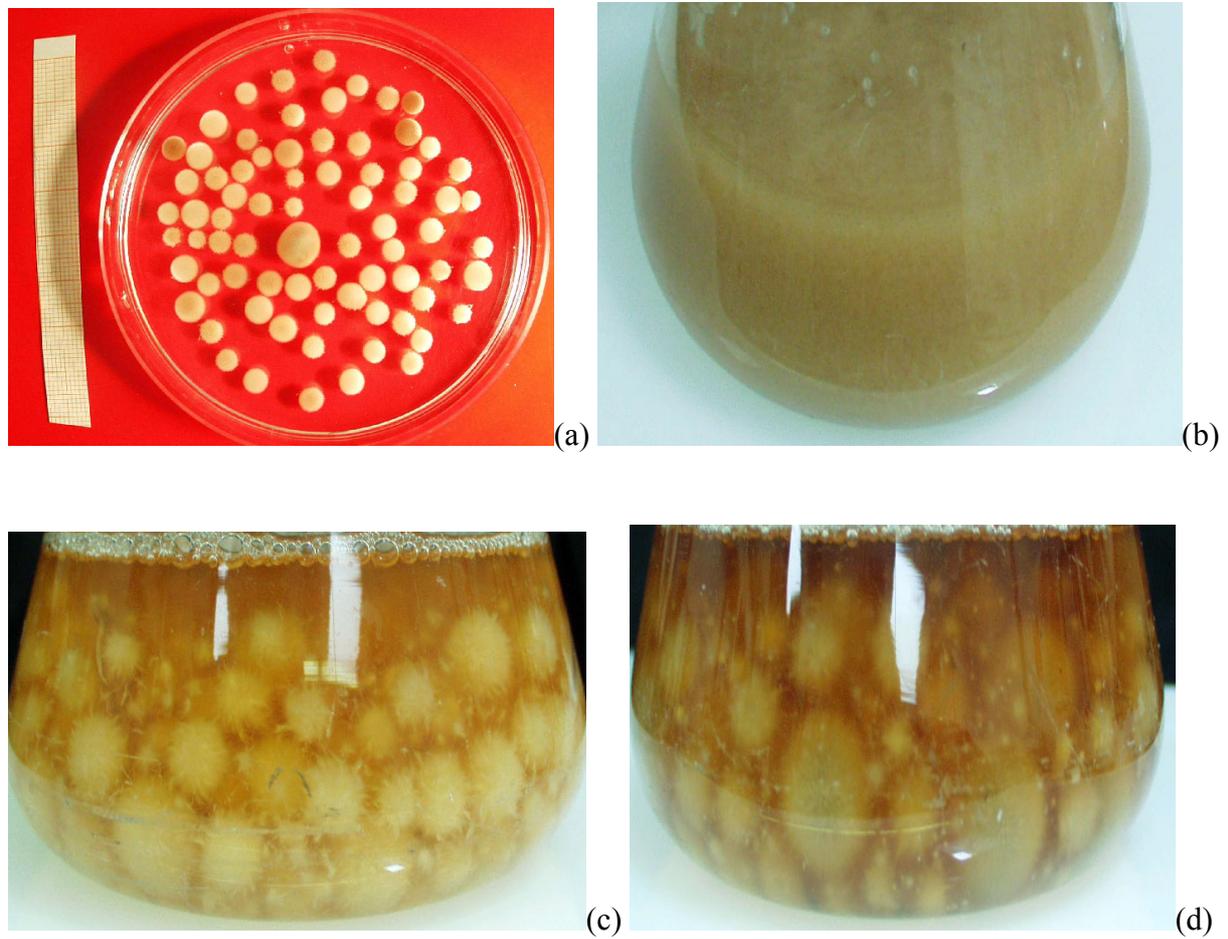
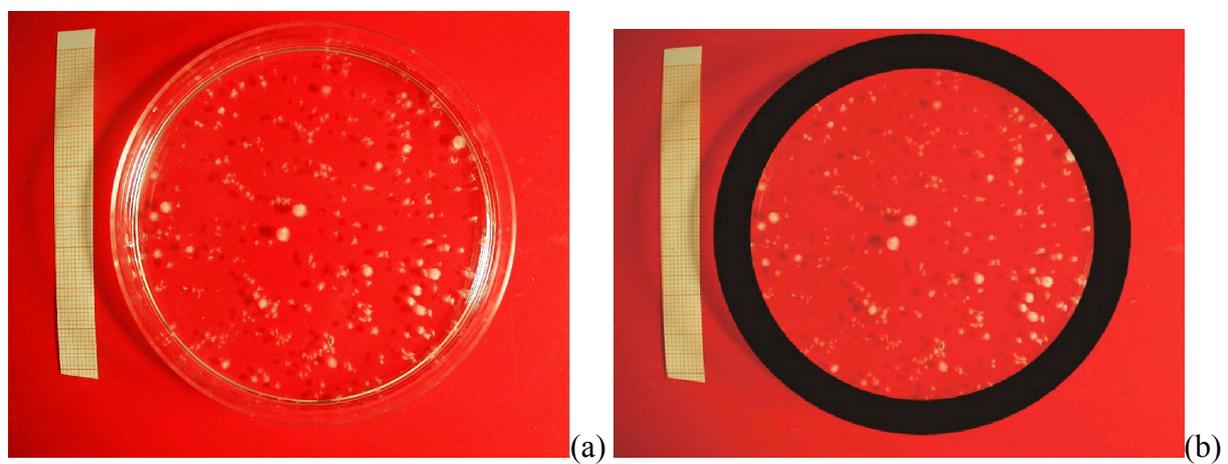


Abb. 5.3.1. Pelletprobe einer Vorkultur von Deuteromycet 273-95 (a, b) und den Basidiomyceten *Irpex* 95282 (c) und *Panaeolus* 96056 (d).



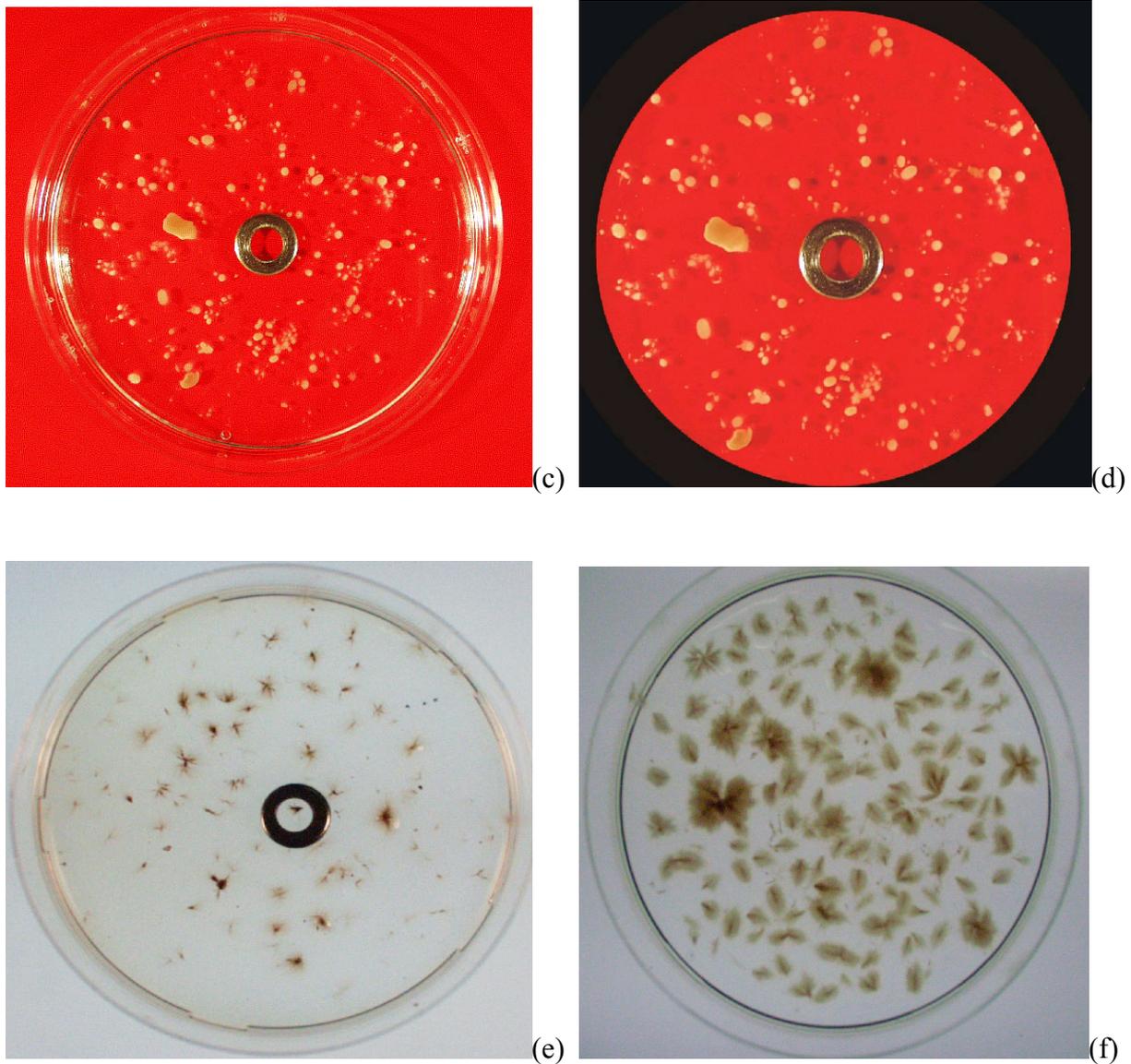


Abb. 5.3.2. Pelletprobe einer Fermentation von Ascomycet A17-99 (a, b), Ascomycet (Discomycet) D01002 (c, d) und Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129 (e, f).

5.3.2. Pelletgrößenverteilung des Pilzes Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129

Die Auswertung der aufgenommenen Probe des Pilzes Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129 wird mit Hilfe des in Abschnitt 4.3.4 beschriebenen Geräts durchgeführt. Die aus den FERETSchen Durchmessern erhaltenen Radien der Pellets werden mit dem Origin Programm in 40 Durchmesserklassen von 1-10 mm mit einer Intervallbreite von 0.250 mm aufgeteilt. Um die Pelletgrößenverteilung auf einen Graph auftragen zu können, sollen folgenden Größen errechnet werden:

- **Mittlere Durchmesser**

Der mittlere Durchmesser ist das arithmetische Mittel aller Durchmesser einer Pelletprobe.

- **Pelletkonzentration**

Die Pelletkonzentration entspricht die Anzahl der Pellets pro Liter Probe.

In Abb. 5.3.3 ist die Pelletanzahl einer Probe aus dem Fermenter über die Pelletdurchmesserklasse zu sehen. Betrachtet man den Verlauf der Pelletanzahl über die Fermentationszeit, dann fällt auf, dass diese zunimmt. Die Abb. 5.3.4 zeigt die Pelletanzahl einer Probe aus der Verdünnungsreihe über die Pelletdurchmesserklasse

Tab.5.3.1. Pelletgrößenverteilung einer Fermentation im 10 l Maßstab und Verdünnungsreihe in einer 5 l Vorkultur des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129.

Probe	Gesamtpelletkonzentration	Mittlere Durchmesser
Fermentation 0h A	700	5,8
Fermentation 0h B	1000	5,4
Fermentation 72h A	4600	2,7
Fermentation 72h B	4800	2,8
Fermentation 96h	7300	2,5
Verdünnungsreihe 72h	4700	3,6
Verdünnungsreihe 96h	5400	2,3

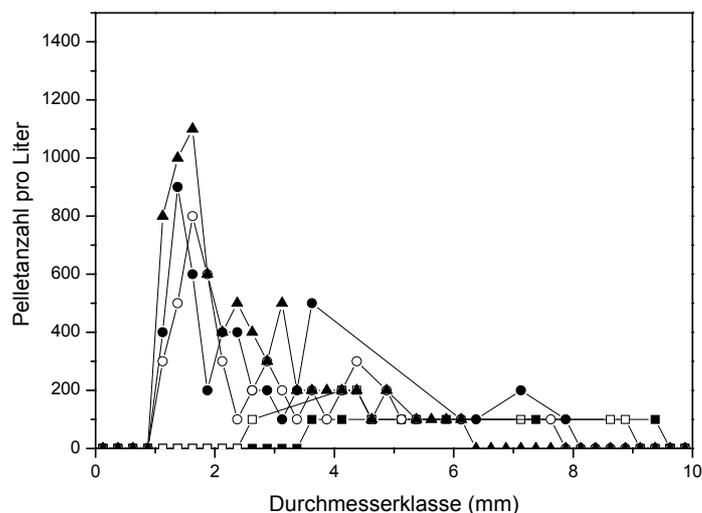


Abb.5.3.3. Pelletgrößenverteilung des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 als Ergebnis einer Bildanalyse der Pelletaufnahme nach Wachstum im Fermenter nach 0 h A (■), 0 h B (□), 72 h A (●), 72 h B (○), und nach 96 h (▲).

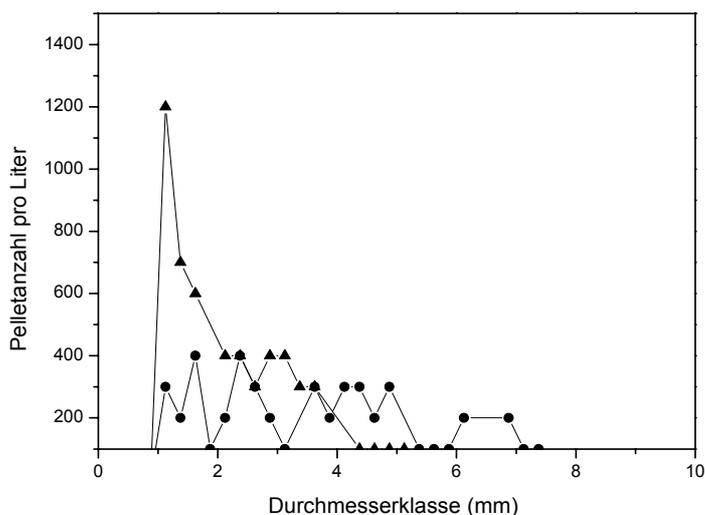


Abb.5.3.4. Pelletgrößenverteilung des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 als Ergebnis einer Bildanalyse der Pelletaufnahme nach Wachstum im Kolben (5 l Maßstab nach 72 h (●) und nach 96 h (▲).

Die Abb. 5.3.5 und Abb. 5.3.6 zeigen die mit einer digitalen Kamera aufgenommenen Bilder und die entsprechende Umwandlungen mit der Bilddatenverarbeitungssoftware. Die Pellets aus der Vorkultur haben meistens eine rundliche Form. Nach der Animpfung im Fermenter werden sich die Pellets durch der Drehung verkleinern und daraus erhält man im Fermenter eine Mischung von kugelförmige und zylinderförmige Pellets.

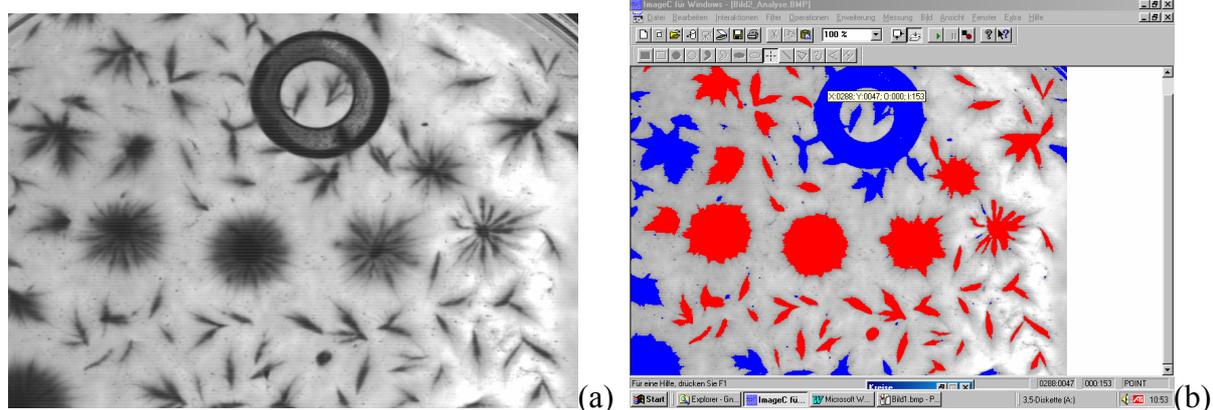


Abb.5.3.5. Pelletaufnahme des Basidiomyceten *Favolaschia* 87129 nach 96 h Wachstum im Kolben vor (a) und nach einer Bildverarbeitung(b).

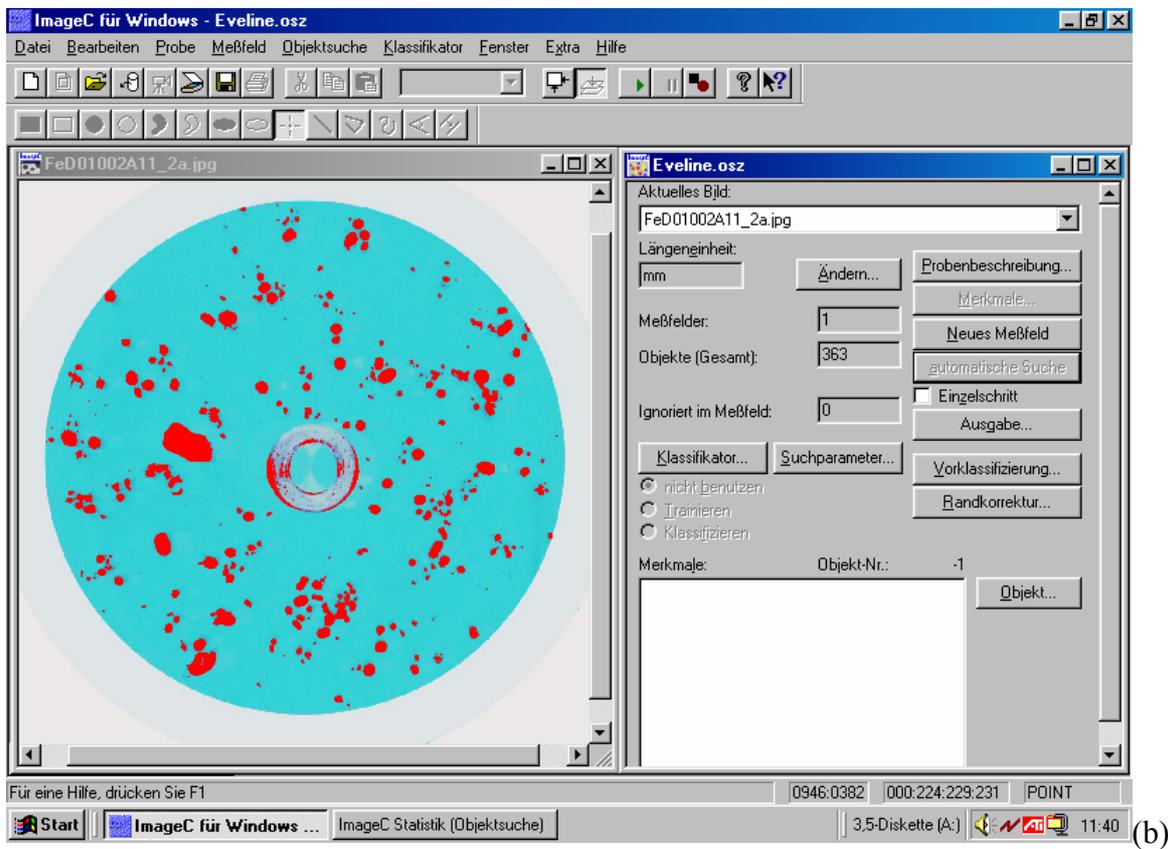
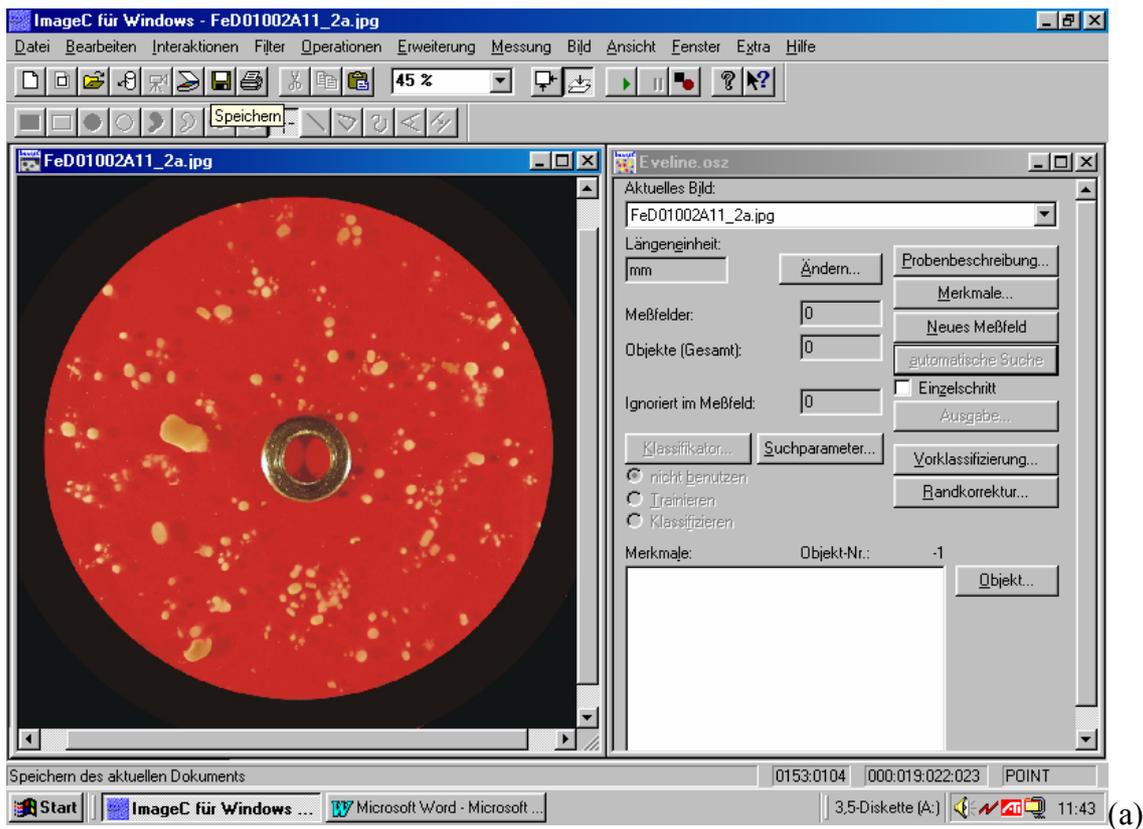


Abb.5.3.6. Pelletaufnahme des Ascomyceten (Discomyceten) D01002 nach 96 h Wachstum im Fermenter vor (a) und nach (b) einer Bildverarbeitung.

6. Experimentelle Ergebnisse zur Trockengewichtsbestimmung von Pilzen

6.1. Fermentation des Deuteromyceten 273-95

6.1.1. Phänomenologische Diskussion der Fermentation

Für den Pilz Deuteromycet 273-95 wurden zwei Fermentationen A und B mit ähnlichen Fermentationsparametern in einem 10 l Fermenter durchgeführt. Als Inokulum wurde für jeden Fermenter eine gut bewachsene Vorkultur verwendet, wobei diese für die Fermentationen A und B jeweils aus Myzelstückchen von verschiedenen Agarplatten, eingebracht in 250 ml Medium in einem 500 ml-Erlenmeyerkolben, stammen. Die Tabelle 6.1.1 stellt die jeweiligen Messwerte beider Fermentationen zusammen. Die Abbildung 6.1.1 zeigt den zeitlichen Verlauf des Myzeltrockengewichts und der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm)^a beider Fermentationen. Im Gegensatz zur Fermentation A, bei der bis zur 30sten Stunde eine deutliche Lag-Phase zu erkennen ist, beginnt der Pilz in der Fermentation B schon kurz nach der Animpfung sehr schnell zu wachsen, ohne dass eine Lag-Phase zu erkennen ist. Am Ende dieser 30 Stunden ist das MTG bei Fermentation B dreifach größer als bei Fermentation A. Bei beiden Fermentationen folgt nach 30 Stunden eine sehr schwache unterschiedliche „exponentielle“ Wachstumsphase. Während bei Fermentation A schon nach 40 Stunden die „exponentielle“ Wachstumsphase endet, steigt das MTG bei Fermentation B weiter bis etwa zur 60. Stunde an. Nach dieser „exponentiellen“ Wachstumsphase schließt sich eine lineare Phase bei Fermentation B bis zur 75. Stunde, bei Fermentation A hingegen nur bis zur 50. Stunde an. Da die beiden Fermentationen frühzeitig abgebrochen wurden, ist ein Übergang von der linearen Phase in die stationäre Phase nicht zu erkennen. Am Ende der Fermentation haben beide Fermentationen fast das gleiche MTG. Insgesamt gesehen zeigen beide Fermentationen keinen für Fermentationsprozesse typischen zeitlichen Verlauf.

Da der Pilz Deuteromycet 273-95 sehr schnell wächst, ist gleich nach der Animpfung ein leichter Anstieg der Streulichtintensität bei beiden Fermentationen zu bemerken. Während bei Fermentation A von Beginn bis zum Ende der Fermentation die Streulichtintensitätskurve und

^aMit der Wellenlänge 580 nm kann gewährleistet werden, dass die Messungen in einem absorptionsfreien Spektralbereich und mit einer hohen Absolutintensität [9] durchgeführt werden. Bei einer Probe der Fermentationsbrühe des Discomyceten *Ascobolus immersus* wurde mit Hilfe einer 1 cm Schichtdicke Küvette eine Extinktion von ca. 0.1 aufgenommen (siehe Anhang 10.5).

die MTG-Kurve parallel laufen, ist dies bei Fermentation B erst nach 10 Stunden der Fall. In Abb. 6.1.1 und der Tab. 6.1.1 fällt auch auf, dass die Streulichtintensität der Fermentation A während der gesamten Fermentationsdauer größer ist als die der Fermentation B, obwohl die Trockengewichtskurve von A unterhalb der von B liegt. Zur besseren Beurteilung der Situation ist hier für die folgende Diskussion darauf hinzuweisen, dass bei beiden Fermentationen das gleiche Medium verwendet wurde. Ein Grund für die unterschiedlichen Streulichtintensitäten bei der Fermentation A und B könnte in einer unterschiedlichen Intensität des eingestrahlten Lichtes liegen, da jede Xenon Lampe häufig nach dem Ein und Ausschalten eine unterschiedliche Intensität abstrahlt resp. der Lichtbogen der Lampe etwa wandert, wodurch sich die Ausleuchtung des Monochromators verändert. Dieser Effekt könnte bei diesen in diesem Abschnitt behandelten Messungen besonders stark zu Tage treten, da die Fermentation B erst viel später durchgeführt wurde, die Lampe aber nach einer kontinuierlichen Nutzung über zwei Monaten intensitätsschwächer geworden ist. Ein direkter Vergleich der eingestrahlten Intensität bei den beiden Fermentationen ist aus experimentellen Gründen nicht möglich. Ein weiterer Grund für die unterschiedlichen Streulichtintensitäten könnte die im Allgemeinen unterschiedliche Wachstumsrate eines Pilzes in Fermentationen sein, die zu einem verschiedenen Habitus der Myzels führen könnte, auch dann, wenn diese praktisch unter gleichen Bedingungen durchgeführt wurden. Letzterer Tatbestand erlaubt einen Vergleich der Ergebnisse damit nur auf der Ebene der Intensität MTG-Kurven durchgeführt werden (Tab. 6.1.2.).

Tab. 6.1.1. Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A und B des Deuteromyceten 273-95.

Fermentation-273-95A			Fermentation-273-95B		
Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit	Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit
160.1	0	0	64.94	0.125	0
193.3	0.3	1	72.12	0.099	0.5
264	0.665	27	74.46	0.825	10
373.1	2.398	40.5	148.1	1.857	25
387	2.731	46	168.4	2.28	29
459.1	2.864	51.5	191.1	2.595	33
506.2	3.87	67.5	296.9	4.194	49
651.2	3.99	73.5	336.1	4.53	53
828.7	6.261	90.5	354.9	4.795	57
			383	5.245	61
			432	5.488	73
			461.3	6.105	83

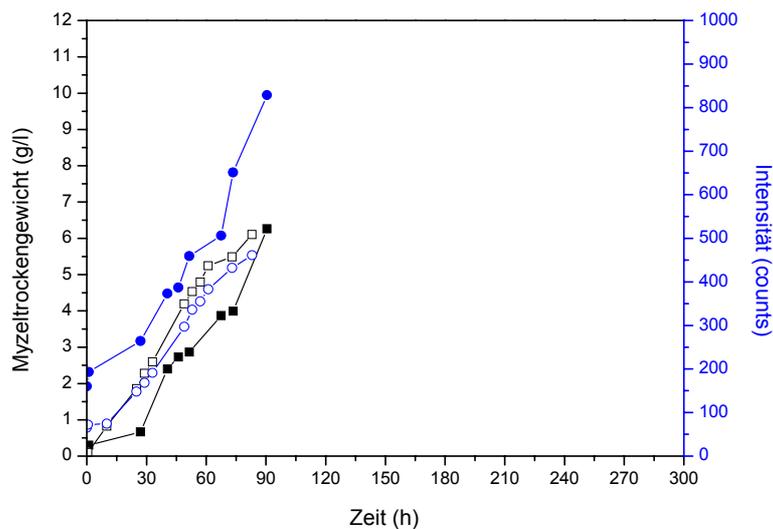


Abb. 6.1.1. Streulichtintensitäten für $\lambda=580$ nm [Fermentationen A (●) und B (○)] und Myzelrockengewichte [Fermentationen A (■) und B (□)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer für die Fermentationen des Deuteromyceten 273-95.

6.1.2. Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Deuteromyceten 273-95

Die MTG(I)-Kurven beider Fermentationen verlaufen nahezu parallel, sind aber deutlich gegeneinander versetzt. Der Unterschied beider Kurven kann entweder durch experimentelle apparative Faktoren oder durch Unterschiede im Habitus der Myzeln der Fermentationen A und B bestimmt sein. Jede Änderung in der Lichtintensität, die zur Anregung der Lichtstreuung genutzt wird, muss sich bemerkbar machen. Das ist ein apparativ bedingter Faktor, der korrigiert werden muss. Unterschiedliche Wachstumsformen des Myzels oder eine unterschiedliche Größenverteilung der Myzelteilchen in den Fermentationen A und B könnten sich ebenfalls in diesen Kurven anzeigen. Änderungen dieser Art würden im Extremfall das Erstellen von Eichkurven unmöglich machen, da es sich hier um eine probenbedingte Veränderung handelt. Eine genaue Analyse der experimentellen Daten, die unter verschiedenen Bedingungen oder zu verschiedenen Zeiten erhalten wurden, ist daher unbedingt erforderlich. In Abb. 6.1.2. sind die Ergebnisse einer Polynomapproximation eingezeichnet, die durchgeführt wurde, um eine Fehlerabschätzung zu erhalten und um artifizielle Effekte aufzuzeigen.

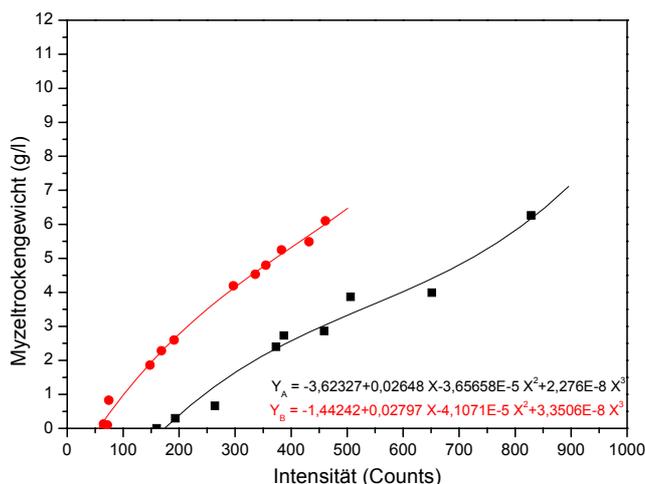


Abb.6.1.2. Myzeltrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda = 580 \text{ nm}$) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Deuteromyceten 2743-95. Die eingezeichneten Kurven sind die Ergebnisse einer Polynomapproximation mit Polynomen 3. Grades für die Fermentationen A und B getrennt.

6.1.3. Auswertung der Messergebnisse und Korrektur^b

Die Intensität einer Xenon Lampe, die sich "eingebraunt" hat, ist relativ konstant. Aus diesem Grund wurde die Lampe des Diodearray-Fluoreszenz- Streulichtspektrometers während der Dauer eines laufenden Fermentationsprozesses nicht abgeschaltet. Intensitätsänderungen ergeben sich durch das Ein- und Ausschalten der Lampe, da sich die Elektrodenoberflächen im Brennprozess und beim Ein- und Ausschalten verändern. Außerdem belegt sich der Quarzmantel einer Lampe beim Brennen mit einer Metall- oder Metalloxidschicht. Da diese Licht stark absorbiert, wird im Laufe der Durchführung aller Fermentationen die ausgestrahlte Intensität der Lampe stark abnehmen. Da die Fermentation B zu einem sehr viel späteren Zeitpunkt als die Fermentation A durchgeführt wurde, könnte letzterer Effekt für die Unterschiede der MTG(I)-Kurven eine entscheidende Rolle gespielt haben. Diese Annahme wird auch durch den Befund gestützt, dass die Streulichtintensität bei der Fermentation B im Verhältnis zum MTG kleiner als bei der Fermentation A ist. Erwähnt werden muss hier aber

^b Da die Messungen der Streulichtintensitäten mit verschiedenen I_0 und in einigen Fällen mit unterschiedlichen Empfindlichkeit der Apparatur gemessen wurden, können die Intensitäten bei verschiedenen Messungen sich bis zu einem Faktor von 10 ändern. Einen Einfluss auf der Genauigkeit der Messungen hat das nicht.

auch, dass jede Veränderung in der Justierung des Lichtstrahls zu einer Intensitätserhöhung oder Intensitätserniedrigung führen kann.

Ein weiterer experimenteller Befund ist die Lichtstreuung des reinen Mediums, bedingt durch nicht gelöste Stoffe in der Nährlösung (I bei $t = 0$ siehe Tab. 6.1.1). Dieses Anteil an der Streuung verschwindet im Laufe der Fermentation, da sich die Partikel lösen resp. vom Pilz als Nährstoff aufgenommen werden. Ein weiterer Effekt, der Messungen am Beginn einer Fermentation verfälscht, ist die Lichtstreuung an den Gefäßwänden. Da zu Beginn der Fermentation wegen der in diesem Zeitpunkt vorhandenen geringen Myzelkonzentration die Eindringtiefe des Anregungslichts sehr groß ist, wird die Reflexion von den Glas- und Metallteilen der Apparatur eine erhöhte Lichtstreuung vortäuschen. Bedingt durch diese anfängliche und von Fermentation zu Fermentation unterschiedliche Streuung des Mediums sind daher die Messungen zu Beginn einer Fermentation mit relativen großen Fehlern behaftet. Aus diesem Grund sollten die ersten Messpunkte einer Lichtstreuung-Myzeltrockengewichtskurve [MTG(I)] für die Erstellung einer Eichkurve nicht verwendet werden. Welche und wie viele der ersten Messpunkte man verwenden kann, ist in jedem Einzelfall zu entscheiden. Für die Fermentationen A und B des Deuteromyceten 273-95 werden hier die Messungen bei $t = 0$ und 1 h von A und die bei $t = 0$ und $t = 0,5$ h bei B nicht weiter verwendet (Tab. 6.1.2).

Abb. 6.1.3. zeigt das MTG in Abhängigkeit der Streulichtintensität bei der Fermentation A und B. Die Verläufe der Kurven bei beiden Fermentationen sind fast parallel. Nach der ersten Korrektur, d.h. dem Ausschließen der zwei ersten Messpunkte, lässt sich sowohl für die Fermentation A als auch für B das MTG als lineare Funktion der Streulichtintensität bei $\lambda = 580$ nm mit Gl. 6.1 beschreiben. Es gibt

$$\text{MTG} = A + BI, \quad (6.1)$$

wenn MTG das Myzeltrockengewicht und I die Streulichtintensität darstellt. Es fällt bei beiden Streulichtkurven auf, dass sie mit $I \rightarrow 0$ nicht gegen Null gehen, d.h. für beide Fermentationen ist $A \neq 0$. Es bleibt also eine Reststreuung, die nicht vom Myzel stammen kann. Zur weiteren Analyse der Daten muss, wie oben beschrieben, diese Reststreuung korrigiert werden, da sie als Apparate-Effekt angesehen werden muss. Diese Korrektur erhält man durch eine Parallelverschiebung der Geraden, gemäß

$$\text{MTG} - A = \text{BI}$$

(6.2)

Das Ergebnis ist in der Abb. 6.1.4 zu sehen.

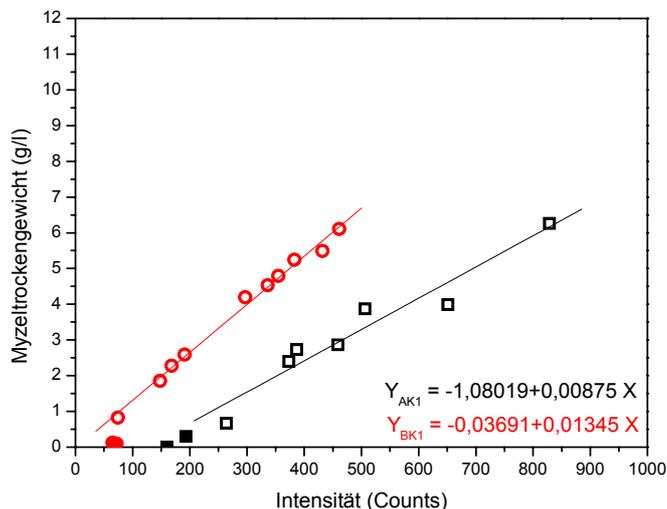


Abb.6.1.3. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Deuteromyceten 273-95. Die eingezeichneten Geraden sind die Ergebnisse einer linearen Anpassung nach der ersten Korrektur, d.h. dem Ausschließen jeweils der zwei ersten Messpunkte für die Fermentationen A (■) und B (●).

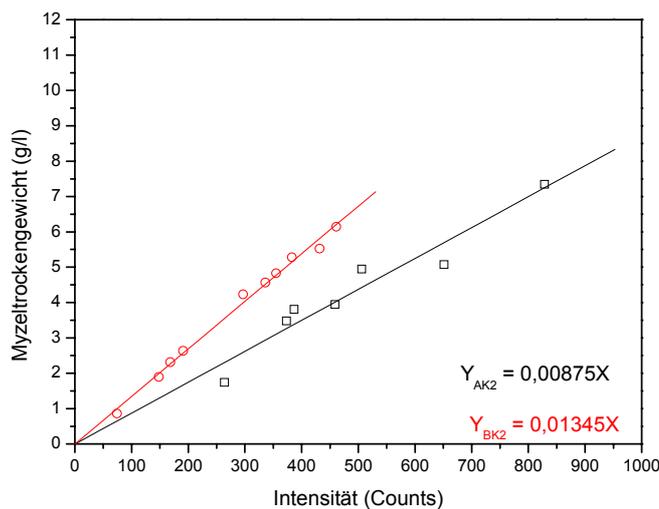


Abb.6.1.4. MTG(I)- Kurven für die Fermentationen A (□) und B (○) des Deuteromyceten 273-95 nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringes Myzelkonzentration.

Es bleibt aber die Frage, wie sich unterschiedliche Intensitäten des Anregungslichtes zur Lichtstreuung auswirken. Beginnt man mit den Theorien der Lichtstreuung (siehe Abschnitt 3.1), dann kann das Streulicht oder in dem vorliegenden Fall auch die diffuse Reflexion in guter Näherung durch den Aussatz Gl. 6.3. dargestellt werden:

$$I_{\text{Str}} = I = I_0 f(r_I) \quad (6.3)$$

I_0 ist die eingestrahelte Anregungsintensität, $f(r_I)$ ist eine Funktion, die die Streuung/diffuse Reflexion als Funktion einer relativen Lichtintensität darstellt. Diese Funktion soll die vorliegenden Messungen in guter Näherung beschreiben. Führt man jetzt Gl. 6.3. in Gl. 6.2. ein, dann ergeben sich für die Streulichtintensität, die beim gleichen Fermenter der praktisch gleichzeitig mit unterschiedlichen Intensitäten I_{0i} und I_{0j} gemessen wird, die folgenden Gleichungen:

$$\overline{\text{MTG}}_i = \text{MTG}_i - A_i = B_i I_{0i} f(r_I) = b_i I_i \quad (6.4)$$

$$\overline{\text{MTG}}_j = \text{MTG}_j - A_j = B_j I_{0j} f(r_I) = b_j I_j \quad (6.5)$$

B ist dabei für alle Fermentationen mit einem gleichen Myzel eine Konstante, die allerdings vom Habitus des Myzels abhängig sein kann. Über diese Abhängigkeit ist zu einem späteren Zeitpunkt noch einmal zu sprechen. A ist eine Konstante, die von Fermentation zu Fermentation verschieden sein kann, da sie als Apparaturkonstante vom Zustand des Fermenters abhängig sein wird. Da bei beiden Messungen das Myzeltrockengewicht gleich ist, d.h.

$$\text{MTG}_i - A_i = \text{MTG}_j - A_j, \quad (6.6)$$

folgt

$$\frac{\overline{\text{MTG}}_i}{\overline{\text{MTG}}_j} = \frac{B_i I_{0i} f(r_I)}{B_j I_{0j} f(r_I)} = \frac{b_i I_i}{b_j I_j} = 1 \quad (6.7)$$

Gemäß der Annahme von Gl. (6.3) soll die Funktion $f(r_T)$ unabhängig vom Zustand des Myzels im Fermenter während der Fermentationsdauer gleich sein. Damit lässt sich Gl. 6.8 mit dem Zwischenschritt

$$\frac{B_i I_{0i}}{B_j I_{0j}} = \frac{b_i I_i}{b_j I_j}$$

wie folgt umrechnen

$$I_i = \frac{b_j}{b_i} I_j = \frac{B_j I_{0i}}{B_i I_{0j}} I_j = \frac{B_j I_j}{B_i I_{0j}} I_{0i}. \quad (6.8)$$

Wenn man von einer bestimmten Messung j als Bezugsmessung ausgeht, dann ist die Streulichtintensität aus einem Fermenter eine lineare Funktion der Anregungsintensität, d.h., je größer I_{0i} ist um so größer wird bei gleicher Trockengewichtsmasse I_i sein. Abb. 6.1.5 gibt diesen Sachverhalt im Sinne einer Geradeschar wieder, wenn man die Anregungsintensität I_0 als Parameter auffasst.

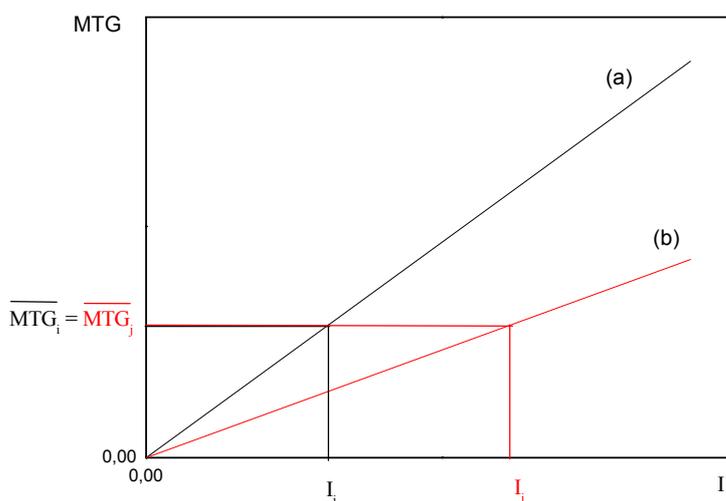


Abb. 6.1.5. Myzeltrockengewicht als Funktion des Streulichts für zwei unterschiedliche Anregungsintensität (a) I_{0i} und (b) I_{0j} .

Ist der Quotient Gl. 6.7 nicht eins, dann folgt aus Gl. 6.7

$$\frac{\overline{\text{MTG}}_i}{\overline{\text{MTG}}_j} = \frac{B_i I_{0i} r_i(I)}{B_j I_{0j} r_j(I)} = \frac{b_i I_i}{b_j I_j} \neq 1, \quad (6.9)$$

und daraus

$$\overline{\text{MTG}}_i(I_{0i}) = \frac{B_i I_{0i}}{B_j I_{0j}} \overline{\text{MTG}}_j(I_{0j}) = \frac{b_i I_i}{b_j I_j} \overline{\text{MTG}}_j(I_{0j}) \quad (6.10)$$

Wählt man jetzt für beide Messungen die gleiche Streulichtintensität $I_i(I_{0i}) = I_j(I_{0j})$, dann folgt aus Gl. 6.10, dass sich die Trockengewichtsmassen im Fermenter i und j wie die Steigungen der zugehörigen Geraden in Abb. 6.1.6. verhalten:

$$\overline{\text{MTG}}_i(I_{0i}) = \frac{b_i}{b_j} \overline{\text{MTG}}_j(I_{0j}) \quad (6.11)$$

Ist $b_i > b_j$ dann ist $\overline{\text{MTG}}_i(I_{0i}) > \overline{\text{MTG}}_j(I_{0j})$. Dieses Ergebnis ist unschwer an den Schnittpunkten der vertikalen Linie mit den beiden Geraden bei $I_i(I_{0i}) = I_j(I_{0j})$ in Abb. 6.1.6. zu erkennen.

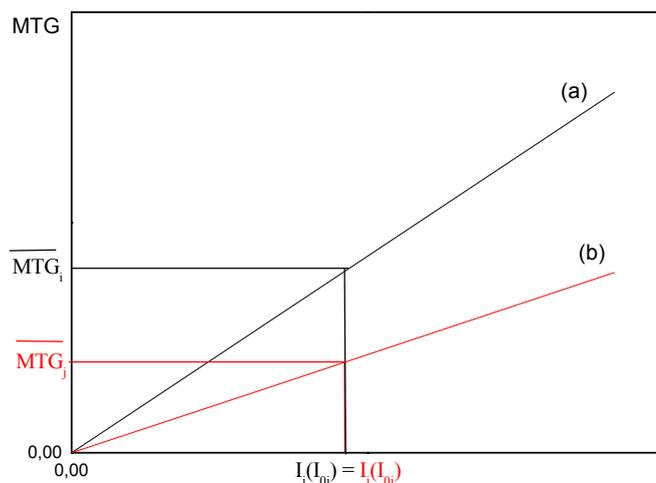


Abb. 6.1.6. Myzeltrockengewicht als Funktion des Streulichts für zwei gleiche Anregungsintensitäten (a) I_{0i} und (b) I_{0j} .

Für den Vergleich der Messdaten zweier Fermenter A und B, die mit verschiedenen Intensitäten I_{0A} und I_{0B} gemessen wurden, ist von den in Abb. 6.1.7 dargestellten Verhältnissen auszugehen. Man kann fragen, wie groß ist die Intensität I'_A , wenn der Fermenter A anstelle von I_{0A} mit der Intensität I_{0B} angeregt worden wäre. Hier kann man wieder auf Gl. 6.4 und Gl. 6.5 zurückgreifen und das Verhältnis aus diesen beiden Gleichungen bilden ($i \equiv$ Messung am Fermenter A mit der Intensität I_{0A} und $j \equiv$ Messung am Fermenter B mit der Intensität I_{0B}). Gl. 6.4 oder Gl. 6.5 wird dann für den Fermenter A zu

$$\overline{MTG}_A(I_{0A}) = MTG_A - A_A = B_A I_{0A} f(r_1) = b_A I_A, \quad (6.12)$$

und für den Fermenter B zu

$$\overline{MTG}_B(I_{0B}) = MTG_B - A_B = B_B I_{0B} f(r_1) = b_B I_B. \quad (6.13)$$

Hätte man jetzt in den Fermenter A auch die Anregungsintensität I_{0B} eingestrahlt, dann würde analog zu Gl. 6.13 für den Fermenter A die Gl. 6.12 wie folgt umgeschrieben werden:

$$\overline{MTG}_A(I_{0B}) = B_A I_{0B} f(r_1) = b_B I'_A(I_{0B}) \quad (6.14)$$

Da die Trockengewichtsmasse für beide Messungen gleich ist

$$\overline{\text{MTG}}_A(I_{0A}) = \overline{\text{MTG}}_A(I_{0B}),$$

was der horizontalen Geraden in Abb. 6.1.7. entspricht,

folgt

$$b_A I_A = b_B I'_A(I_{0B}). \quad (6.15)$$

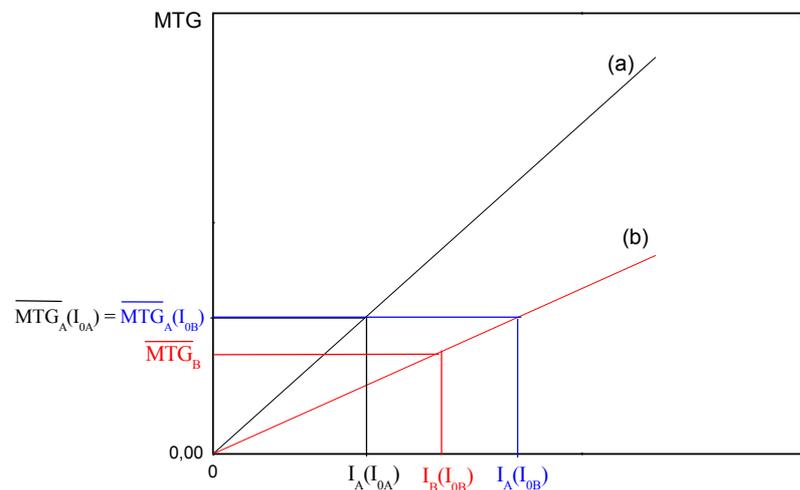


Abb. 6.1.7. Trockengewicht als Funktion des Streulichts für zwei Fermentationen A und B, die mit unterschiedlicher Intensität (a) I_{0A} , (b) I_{0B} angeregt wurden.

Diese Gl. 6.15 resp. Gl. 6.16 erlauben dann die Intensität I'_A , wenn der Fermenter A mit der Intensität I_{0B} gemessen worden wäre, zu berechnen.

$$I'_A = \frac{b_A}{b_B} I_A \quad (6.16)$$

Somit gilt, dass bei

$$b_A > b_B \rightarrow I'_A > I_A, \quad (6.17)$$

was unschwer an der horizontalen Linie in Abb. 6.1.7. abzulesen ist. Ist weiterhin die Lichtstreuung unabhängig von der Intensität, dann ist $B_A = B_B$ und somit wird $b_A/b_B = I_{0A}/I_{0B}$. Kennt man das Verhältnis I_{0A}/I_{0B} zweier verschiedenen Messungen, dann können die Ergebnisse nach Gl. 6.12 und Gl. 6.13 miteinander umgerechnet werden. I_{0A}/I_{0B} kann aus einer direkten Messung erhalten werden, z.B. am Zeitpunkt $t = 0$ an noch nicht angeimpften Nährlösungen. Für Deuteromycet 273-95 ergeben sich nach den vorliegenden Messungen folgende Wert: 2.47.

In Abb. 6.1.8. sind die für zwei Fermentationen A und B erhaltenen Ergebnisse entsprechend umgerechnet. Wie sich zeigt, sind damit beide Fermenter A und B mit der gleichen Eichgerade beschreibbar.

Tab. 6.1.2. Myzeltrockengewicht und Streulichtintensität des Deuteromyceten 273-95 nach der Korrekturen.

I- 27395 A	MTG- 27395 A	I- 27395 AK1	MTG- 27395 AK1	MTG- 27395 AK2	I- 27395 B	MTG- 27395 B	I- 27395 BK1	MTG- 27395 BK1	MTG- 27395 BK2	I- 27395 BK3
160.1	0	--	--	--	64.94	0.13	--	--	--	--
193.3	0.3	--	--	--	72.12	0.1	--	--	--	--
264	0.67	264	0.67	1.75	74.46	0.83	74.46	0.83	0.86	114.46
373.1	2.4	373.1	2.4	3.48	148.1	1.86	148.1	1.86	1.89	227.65
387	2.73	387	2.73	3.81	168.4	2.28	168.4	2.28	2.32	258.85
459.1	2.86	459.1	2.86	3.94	191.1	2.6	191.1	2.6	2.63	293.75
506.2	3.87	506.2	3.87	4.95	296.9	4.19	296.9	4.19	4.23	456.38
651.2	3.99	651.2	3.99	5.07	336.1	4.53	336.1	4.53	4.57	516.63
828.7	6.26	828.7	6.26	7.34	354.9	4.8	354.9	4.8	4.83	545.53
					383	5.25	383	5.25	5.28	588.73
					432	5.52	432	5.52	5.52	664.05
					461.3	6.14	461.3	6.14	6.14	709.08

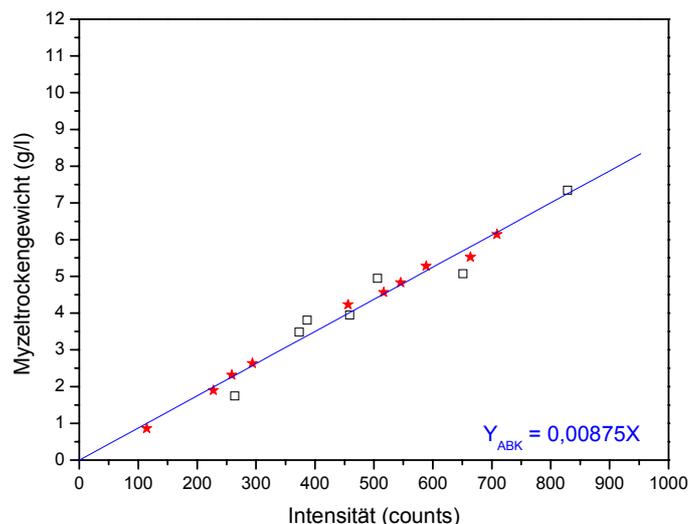


Abb.6.1.8. MTG(I)-Kurven für die Fermentationen A (□) und B (★) für den Deuteromycet 273-95 nach der Korrektur.

6.2. Fermentation des Ascomyceten A17-99

6.2.1. Phänomenologische Diskussion der Fermentation

Es wurden zwei Fermentationen des Ascomyceten A17-99 unter vergleichbaren Bedingungen durchgeführt. Als Inokulum dienten Myzelstückchen einer gut bewachsenen Agarplatte, wobei für die jeweilige Vorkulturen der beiden Fermentationen verschiedene Agarplatten verwendet wurden. Die Messwerte sind in Tab.6.2.1. zusammengestellt. In Abb. 6.2.1 sind die zeitlichen Verläufe der Streulichtintensität und des Myzeltrockengewichts dieser Fermentationen zu entnehmen. Die Myzeltrockengewichtskurven entsprechen einem typischen Fermentationsverlauf. Aus den Kurven des Myzeltrockengewichts lässt sich in den ersten 30 h eine deutliche Lag-Phase erkennen. Während dieser Lag-Phase findet ein sehr geringes Wachstum des Myzels bei beiden Fermentationen statt, wobei in dieser Phase beide Fermentationen vergleichbare Myzeltrockengewichte zeigen. Die „exponentielle“ Wachstumsphase folgt nach etwa 48 Stunden bei Fermentation A und etwa 75 Stunden bei Fermentation B und geht dann in eine lineare Wachstumsphase über, die bis zur 155. Stunde bei Fermentation A und bis zur 210. Stunde bei der Fermentation B andauert. Ab der

„exponentiellen“ Wachstumsphase laufen die beide Fermentationen fast parallel, wobei die Fermentation A zu Myzeltrockengewichte führt, die ca. um den Faktor zwei größer sind als bei B. Der Grund dafür könnte die Verwendung der verschiedenen Agarplatten sein, die dann zu unterschiedlichen Konzentrationen des Myzels in den jeweiligen Vorkulturen führten, d.h. schon nach der Animpfung ist bei der Fermentation A die MTG doppelt so groß wie bei der von B. Weder Fermentation A noch B zeigen eine ausgeprägte stationäre Phase. Am Ende der Fermentation B deutet sich eine leichte Abnahme des Myzeltrockengewichts an.

Die zu Beginn der Fermentation hohe Streulichtintensität ist auf unlösliche Medienbestandteile zurückzuführen, welche einige streuende Partikel enthalten können. Nach ca. 48 Stunden sind diese Feststoffe aufgelöst und auch z.T. von dem Pilz verbraucht, was man daran erkennt, dass nach der Animpfung die Intensitäten bei beiden Fermentationen sinken. Der Wiederanstieg der Streulichtintensitäten ist durch die Zunahme des Myzeltrockengewichts bedingt. Bei der Fermentation A steigt die Streulichtintensität schon ab ca. 48 Stunde steil mit der Zunahme des Myzeltrockengewichts an, während bei der Fermentation B der Wiederanstieg erst ab ca. 75 Stunden stattfindet. Der Anfang der Wiederzunahme der Intensitäten bei beiden Fermentationen stimmt mit dem der Wachstumsphase bei beiden Fermentationen überein. Bis zum Ende der Fermentation nimmt die Streulichtintensität stetig zu und gibt keinen Hinweis auf ein Plateau, wie es sich beim Myzeltrockengewicht angedeutet hat.

Tab. 6.2.1. Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des Myzeltrockengewichts der Fermentationen A und B des Ascomyceten A17-99.

Fermentation-A17-99A			Fermentation-A17-99B		
Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit	Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit
187.5	0	0	221.45	0	0
229.5	0.66	0.5	227.85	0.351	1
172.3	0.62	23.5	114.1	0.698	41
199.2	1	40.5	121.2	1.071	73
212.7	0.95	48	134	1.321	96
246.7	1.62	64.5	173.9	1.792	119
271.5	1.99	73.5	238.4	3.126	140
347.8	3.72	91.5	337.44	5.245	170
528.6	6.18	120.5	379	6.028	185
586.2	7.28	136.5	396.5	6.318	190
620.2	7.98	144	401.1	6.715	195
779	9.545	159.5	457.3	7.129	209
827.4	9.8	167.5	444.8	8.335	216
930.3	9.78	184	558	7.205	266

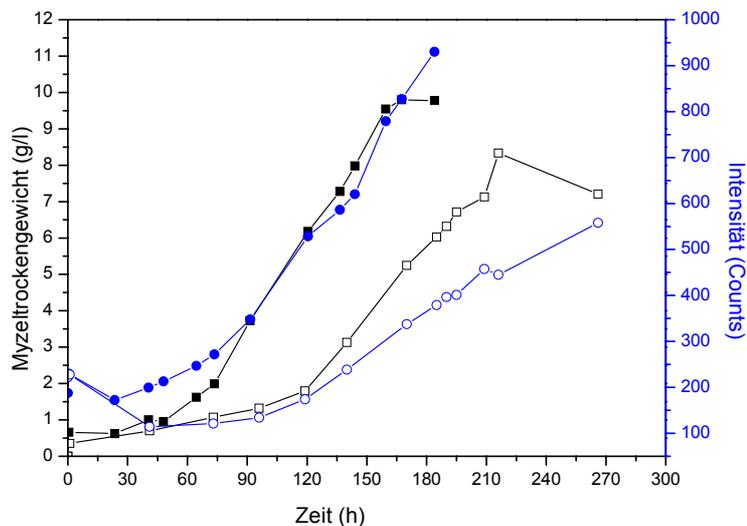


Abb. 6.2.1. Streulichtintensitäten für $\lambda = 580$ nm [Fermentationen A (●) und B (○)] und Myzelrockengewichte [Fermentationen A (■) und B (□)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer für die Fermentationen des Ascomyceten A17-99.

6.2.2. Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Ascomyceten A17-99

Zur Verdeutlichung der Beziehung zwischen Streulichtintensität und Trockengewicht ist das Myzelrockengewicht in Abhängigkeit von der Streulichtintensität in Abb. 6.2.2 dargestellt. Um den Verlauf der MTG(I)-Kurven abzuschätzen, wurde ein Polynom dritten Grades über die Messpunkte angepasst. Die erhaltenen MTG(I)-Kurven zeigen unterschiedlichen Verläufe. Dieser Unterschied ist mit den im Abschnitt 6.1.2 angegebenen Gründen zu erklären. Der Korrelationskoeffizient der angepassten Kurve beträgt 0.99 bei Fermentation A und 0.93 bei B.

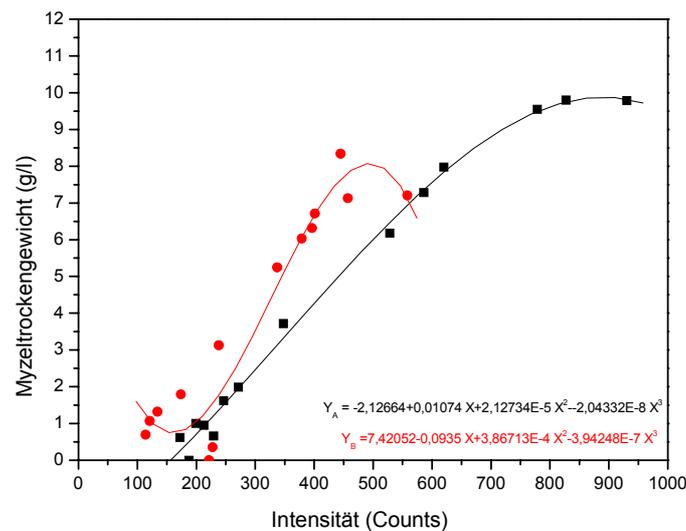


Abb. 6.2.2. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda = 580 \text{ nm}$) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Ascomyceten A17-99. Die eingezeichneten Kurven sind die Ergebnisse einer Polynomapproximation mit Polynomen 3. Grades für die Fermentationen A und B getrennt.

6.2.3. Auswertung der Messergebnisse und Korrektur

Für die erste Korrektur wurden die ersten beiden und die letzten drei Messpunkte bei beiden Fermentationen ausgeschlossen. Die Auftragung der MTG (I) in Abb. 6.2.3 zeigt deutlich, dass sich das MTG beider Fermentationen als lineare Funktion der Streulichtintensität bei $\lambda = 580 \text{ nm}$ mit der Gl. 6.1 beschreiben lässt. Die Korrelationsgeraden treten mit unterschiedlichen Steigungen auf. Die Verläufe der Kurven sind nahezu parallel und wie bei Fermentation des Deuteromyceten 273-95 ist für beide Fermentationen $A \neq 0$. Um die Reststreuung zu korrigieren, wurde eine Parallelverschiebung beider Geraden gemäß Gl. 6.2 durchgeführt. Die Abb. 6.2.4 zeigt das Ergebnis der Verschiebung.

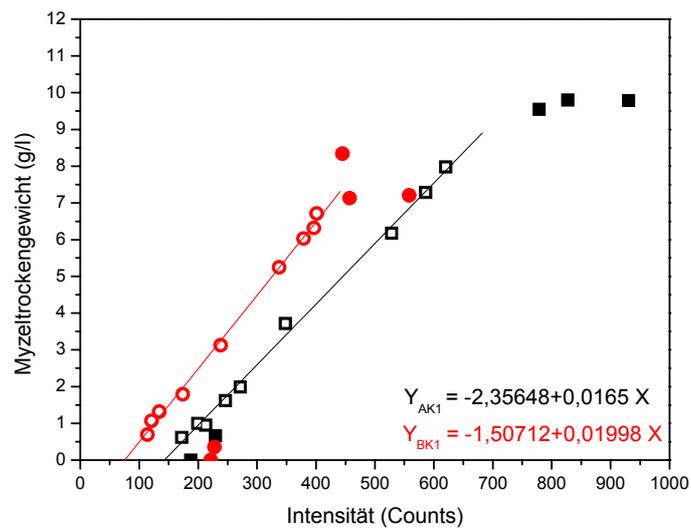


Abb.6.2.3. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Ascomyceten A17-99. Die eingezeichneten Geraden sind die Ergebnisse einer linearen Anpassung nach der ersten Korrektur, d.h. dem Ausschließen jeweils der zwei ersten und der drei letzten Messpunkte für die Fermentationen A (■) und B (●).

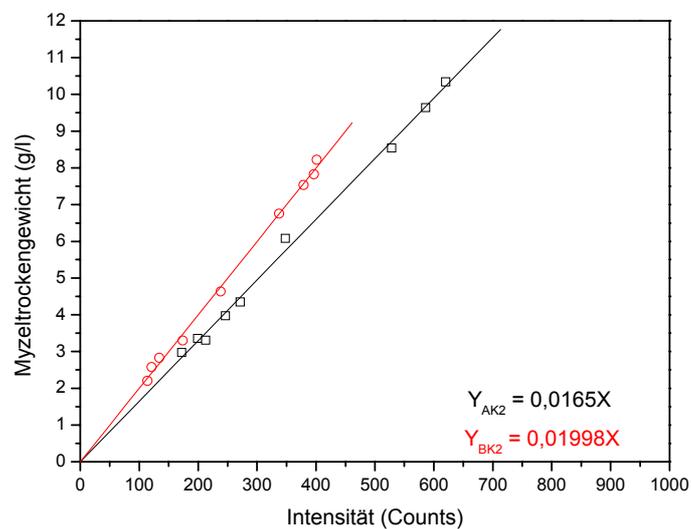


Abb.6.2.4. MTG(I)-Kurven für die Fermentationen A (□) und B (○) des Ascomyceten A17-99 nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

Unter der Annahme, dass die Streulichtmessungen der Fermentation B mit der Intensität I_{0A} durchgeführt worden wäre, d.h. die Messungen der Fermentation A als Bezugsmessungen angenommen wurden, wurden die Streulichtintensitäten der Fermentation B gemäß Gl. 6.16 umgerechnet. Die Abb. 6.2.5 zeigt die umgerechnete Streulichtintensitätswerte am Ende der Korrektur. Aus dieser Darstellung wird deutlich sichtbar, dass sich die beide Fermentationen mit einer einzigen Eichgerade beschreiben lassen.

Tab.6.2.2. Myzeltrockengewicht und Streulichtintensität des Ascomyceten A17-99 nach der Korrekturen.

I- A17-99 A	MTG- A17-99 A	I- A17-99 AK1	MTG- A17-99 AK1	MTG- A17-99 AK2	I- A17-99 B	MTG- A17-99 B	I- A17-99 BK1	MTG- A17-99 BK1	MTG- A17-99 BK2	I- A17-99 BK3
187.5	0	--	--	--	221.45	0	--	--	--	--
229.5	0.66	--	--	--	227.85	0.35	--	--	--	--
172.3	0.62	172.3	0.62	0.62	114.1	0.69	114.1	0.69	2.21	138.16
199.2	1	199.2	1	1	121.2	1.07	121.2	1.07	2.58	146.76
212.7	0.95	212.7	0.95	0.95	134	1.32	134	1.32	2.83	162.26
246.7	1.62	246.7	1.62	1.62	173.9	1.79	173.9	1.79	3.3	210.57
271.5	1.99	271.5	1.99	1.99	238.4	3.13	238.4	3.13	4.63	288.68
347.8	3.72	347.8	3.72	3.72	337.44	5.25	337.44	5.25	6.75	408.61
528.6	6.18	528.6	6.18	6.18	379	6.03	379	6.03	7.54	458.93
586.2	7.28	586.2	7.28	7.28	396.5	6.32	396.5	6.32	7.83	480.13
620.2	7.98	620.2	7.98	7.98	401.1	6.72	401.1	6.72	8.22	485.69
779	9.55	--	--	--	457.3	7.13	--	--	--	--
827.4	9.8	--	--	--	444.8	8.34	--	--	--	--
930.3	9.78	--	--	--	558	7.21	--	--	--	--

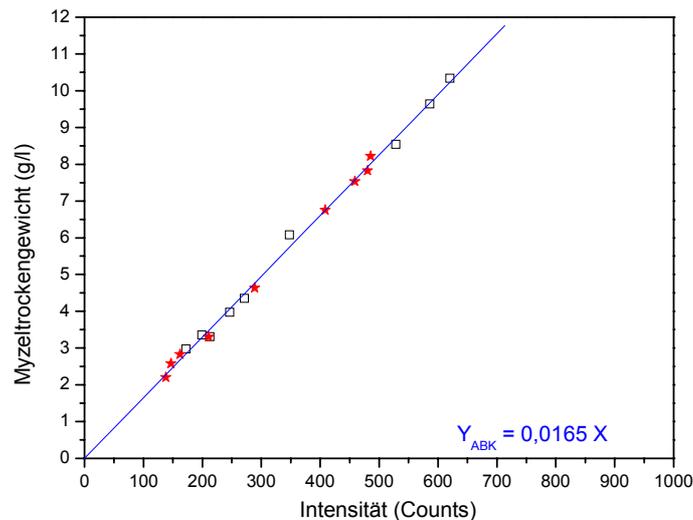


Abb. 6.2.5. MTG(I)-Kurven für die Fermentationen A (□) und B (★) für den Ascomycet A17-99 am Ende der Korrekturen.

6.3. Fermentation des Ascomyceten (Discomyceten) *Ascobolus immersus* D01002

6.3.1. Phänomenologische Diskussion der Fermentation

Der Pilz Ascomycet (Discomycet) *Ascobolus immersus* D01002 wurde in zwei Fermentationen A und B mit identischen Fermentationsparametern in einem 10 l Maßstab eingesetzt. Als Inokulum wurde für jeden Fermenter 250 ml Medium in einem 500 ml-Erlenmeyerkolben einer gut bewachsenen Vorkultur verwendet, wobei die Myzelstückchen der jeweiligen Fermenter aus verschiedenen Agarplatten stammten. Die Tabelle 6.3.1 stellt die jeweiligen Messwerte beider Fermentationen zusammen. Abb. 6.3.1 zeigt den zeitlichen Verlauf des Myzeltrockengewichts und der Streulichtintensität. Bei beiden Fermentationen ist eine Lag-Phase bis etwa 25 Stunden zu sehen. Schon am Ende dieser Lag -Phase treten die Unterschiede im MTG zwischen beiden Fermentationen auf. Eine „exponentielle“ Wachstumsphase folgt der Lag-Phase bis 130 Stunden bei Fermentation A und um ca. 40 Stunden länger bei Fermentation B. Während dieser „exponentielle“ Wachstumsphase ist das MTG bei Fermentation A gegenüber Fermentation B viel höher. Am Ende der exponentielle Wachstumsphase bei Fermentation A ist das MTG auf ca. 7 g/l angestiegen, bei Fermentation B hingegen nur auf 2.8 g/l. Nach der „exponentiellen“ Wachstumsphase deutet sich bei beiden

Fermentationen einer Schulter an, da die beiden Fermentationen einen Standard gemäßen Übergang von der „exponentiellen“ Wachstumsphase in die lineare Phase und anschließend in die stationäre Phase zeigen. Das MTG der Fermentation A fällt nach der linearen Phase gegenüber der Fermentation B stark ab. Am Ende der Fermentation A deutet sich eine leichte Zunahme des MTGs an.

Das benutzte Medium (HMG) erhält nach dem Autoklavieren viele streuende Partikel. Deswegen ist zu erkennen, dass die Streulichtintensität vor der Animpfung bei beiden Fermentationen hohe Werte zeigt. Wie bei dem Pilz Ascomycet A17-99 findet während der Lag-Phase ein geringes Wachstum statt. Die unlöslichen Medienpartikeln wurden entweder aufgelöst oder von dem Pilz verbraucht und dies führt zu einem Abstieg der Intensität bei beiden Fermentationen. Während bei Fermentation A der Verlauf der Intensitätskurve ungleichmäßig ist und eine starke Steigung besitzt, ist ein Anstieg bei Fermentation B fast abwesend. Eine Abnahme der Intensität der Lampe im Laufe der Brenndauer könnte für diese Situation verantwortlich sein.

Bei Fermentation A zeigt der Verlauf der Intensität am Ende der exponentiellen Wachstumsphase des MTGs einen Einbruch und führt zu sehr hohen Intensitäten. Der Grund dafür könnte die Bildung einer dicken Schicht von Myzeln unter dem Lichtleiter sein. Nach einer Drehzahlerhöhung nehmen die Intensitätswerte ab und dann wieder zu, obwohl die MTGs fast konstant bleiben.

Tab. 6.3.1 Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A und B des Ascomyceten (Discomyceten) *Ascobolus immersus* D01002.

Fermentation-D01002A			Fermentation-D01002B		
Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit	Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit
157.2	0	0	99.94	0.185	0
174.9	0.325	1	100.44	0.299	0.5
105.6	0.593	24	77.72	0.377	22,5
123.8	1.219	44	81,2	0.591	47
172.6	1.169	48	91.48	0.983	73
151.3	1.774	55	100.5	1.486	100
206.4	2.842	77	109,6	1.969	118
262.8	4.529	101	113	2.255	127.5
684	6.508	117	116	2.475	142.5
784.3	6.558	121	121.4	2.874	167
896	7.132	126	117.2	3.427	191

Tab. 6.3.1 Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A und B des Ascomyceten (Discomyceten) D01002 (Fortsetzung).

668.1	7.266	141	120.2	3.502	215
449.	7.156	146	128	2.682	247
447	7.026	150	123.6	2.501	263
619.6	6.922	164			
639.1	7.13	170			

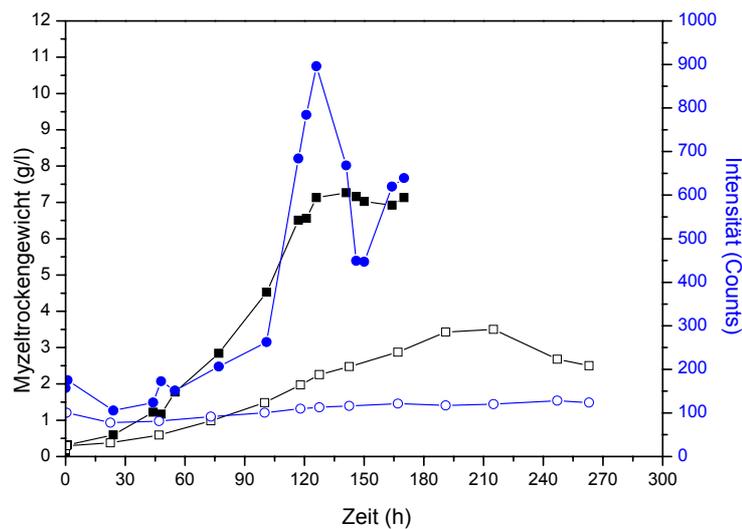


Abb. 6.3.1. Streulichtintensitäten für $\lambda = 580$ nm [Fermentationen A (●) und B (○)] und Myzelrockengewichte [Fermentationen A (■) und B (□)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer für die Fermentationen des Ascomyceten (Discomyceten) *Ascobolus immersus* D01002.

6.3.2. Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Ascomyceten (Discomyceten) *Ascobolus immersus* D01002

Die Darstellung der MTG als Funktion der Streulichtintensität in Abb. 6.3.2 verdeutlicht den engen Zusammenhang zwischen beiden Größen. Hier wird auch für beide Fermentationen ein Polynom dritten Grades angepasst, daraus ist es möglich, die Messfehler abzuschätzen. Auffallend ist die Diskrepanz der beiden MTG(I)-Kurven. Während die Kurve bei Fermentation A spürbar zunimmt, ist bei Fermentation B im Vergleich zu A keine deutliche

Zunahme zu erkennen, obwohl das MTG bei Fermentation B Werte bis 3.5 g/l aufweist. Entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 6.1.2 muss eine Korrektur durchgeführt werden.

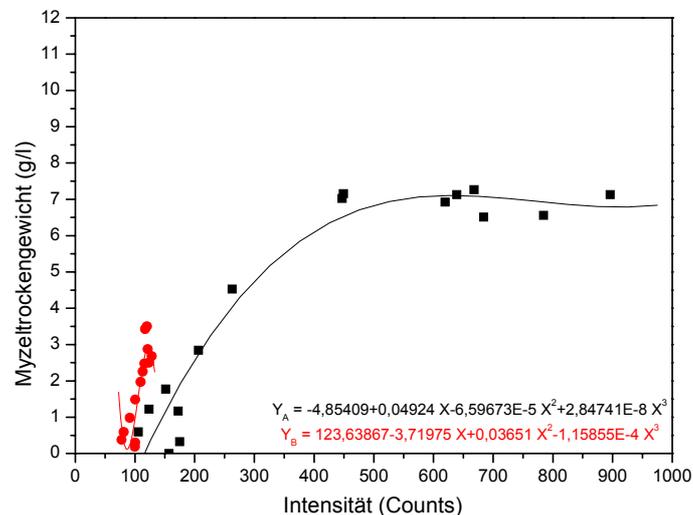


Abb. 6.3.2. Myzeltrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda = 580 \text{ nm}$) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Ascomyceten (Discomyceten) D01002. Die eingezeichneten Kurven sind die Ergebnisse einer Polynomapproximation mit Polynomen 3. Grades für die Fermentationen A und B getrennt.

6.3.3. Auswertung der Messergebnisse und Korrektur

Die erste Korrektur berührt, wie im Abschnitt 6.1.3 dargelegt worden ist, das Ausschließen der ersten Messpunkte bei beiden Fermentationen und in diesem Fall auch einiger letzten Messpunkte bei Fermentation A. Die Messungen bei $t = 0, 1, 117, 121, 126, 141, 164$ und 170 h von Fermentation A und $t = 0$ und 1 h von B wurden nicht berücksichtigt. Die Ergebnisse der Korrektur sind in Tab. 6.3.2 zusammengestellt. Abb. 6.3.3 zeigt, dass durch das Ausschließen von Messpunkten die mit großen Messfehlern behaftet sind, sich das MTG beider Fermentationen jeweils als lineare Funktion der Streulichtintensität bei $\lambda = 580 \text{ nm}$ mit der Gl. 6.1 beschreiben lässt. Die beide Eichgeraden weisen unterschiedliche Verläufe auf und der Achsenabschnitt ist für beide Fermentationen verschieden von Null. Mit Hilfe der Gl. 6.2 wurde die Reststreuung korrigiert, wobei die Eichgeraden gemäß Gl. 6.2 parallel verschoben wurden. Die Abb. 6.3.4 zeigt das Ergebnis dieser Korrektur. Aus dieser Darstellung ist zu sehen, dass die Steigung der Fermentation B deutlich größer als die der Fermentation A.

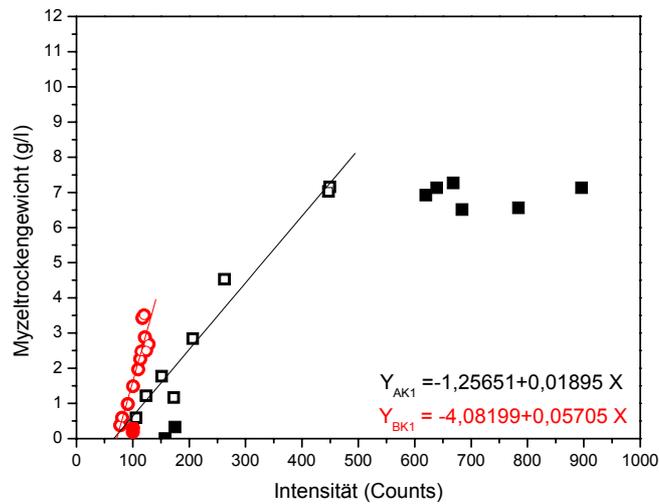


Abb. 6.3.3. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda = 580 \text{ nm}$) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Ascomyceten (Discomyceten) D01002. Die eingezeichneten Geraden sind die Ergebnisse einer linearen Anpassung nach der ersten Korrektur, d.h. dem Ausschließen jeweils der zwei ersten und der drei letzten Messpunkte für die Fermentationen A (■) und B (●)

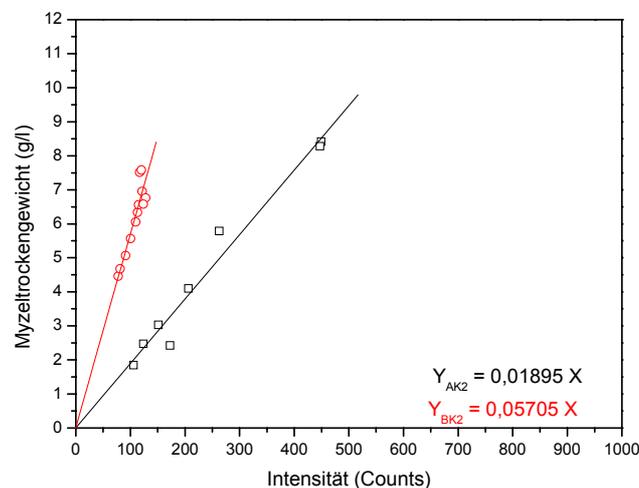


Abb.6.3.4. MTG(I)-Kurven für die Fermentationen A (□) und B (○) des Ascomyceten (Discomyceten) D01002 nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

Um die Messpunkte mit einer einzigen Eichgerade beschreiben zu können, wurde die Fermentation A als Bezugsmessung ausgewählt. Im Bezug auf die Gl. 6.15 im Abschnitt 6.1.3 lassen sich die neuen Streulichtintensitätswerte der Fermentation B umrechnen. In Tab. 6.3.2

sind die Messpunkte alle Korrekturen zusammengestellt. Abb. 6.3.5 zeigt, dass die letzte Korrektur zu einer Beschreibung der beiden Fermentationen mit einer einzigen Eichgerade führt.

Tab. 6.3.2. Myzeltrockengewicht und Streulichtintensität des Ascomyceten (Discomyceten) *Ascobolus immersus* D01002 nach den Korrekturen.

I-D01002 A	MTG-D01002 A	I-D01002 AK1	MTG-D01002 AK1	MTG-D01002 AK2	I-D01002 B	MTG-D01002 B	I-D01002 BK1	MTG-D01002 BK1	MTG-D01002 BK2	I-D01002 BK3
157.2	0	--	--	--	99.94	0.185	--	--	--	--
174.9	0.325	--	--	--	100.44	0.299	--	--	--	--
105.6	0.593	105.6	0.593	1.8495	77.72	0.377	77.72	0.377	4.4589	233.98
123.8	1.219	123.8	1.219	2.4755	81.2	0.591	81.2	0.591	4.673	244.82
172.6	1.169	172.6	1.169	2.4255	91.48	0.983	91.48	0.983	5,0649	275.40
151.3	1.774	151.3	1.774	3.0305	100.5	1.486	100.5	1.486	5.5679	302.56
206.4	2.842	206.4	2.842	4.0985	109,6	1.969	109,6	1.969	6.0509	329.96
262.8	4.529	262.8	4.529	5.7855	113	2.255	113	2.255	6.3369	340.19
684	6.508	--	--	--	116	2.475	116	2.475	6.5569	346.21
784.3	6.558	--	--	--	121.4	2.874	121.4	2.874	6.9559	365.48
896	7.132	--	--	--	117.2	3.427	117.2	3.427	7.5089	352.83
668.1	7.266	--	--	--	120.2	3.502	120.2	3.502	7.5839	361.86
449.2	7.156	449.2	7.156	8.4125	128	2.682	128	2.682	6.7639	385.35
447	7.026	447	7.026	8.2825	123.6	2.501	123.6	2.501	6.5829	372.10
619.6	6.922	--	--	--						
639.1	7.13	--	--	--						

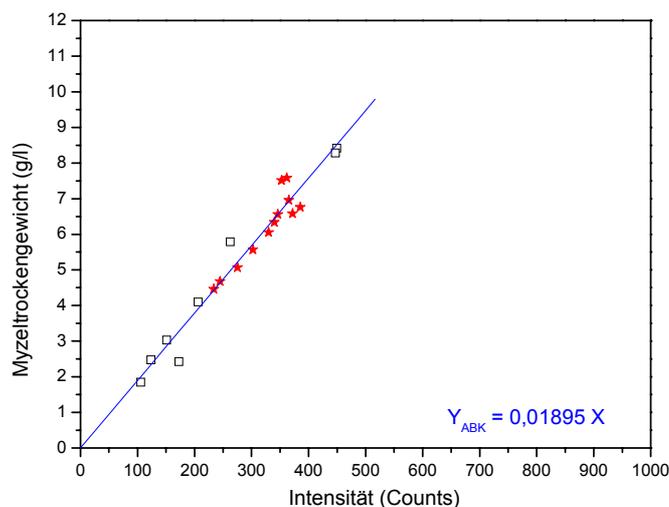


Abb.6.3.5. MTG(I)-Kurven für die Fermentationen A (□) und B (★) D01002 am Ende der Korrekturen.

6.4. Fermentation de Endophyten E99043

6.4.1. Phänomenologische Diskussion der Fermentation

Für die Fermentationen A und B des Endophyten E99043 wurden zwei fünf Tage alte gut bewachsene Vorkulturen im Fermentationsmedium verwendet. Die Myzelstückchen dieser Vorkulturen stammten aus verschiedenen Agarplatten. Die Fermentationen wurden unter vergleichbaren Parametern in einem 10 l Maßstab durchgeführt. Tabelle 6.4.1 gibt eine Übersicht über die Messwerte beider Fermentationen. Die Abbildung 6.4.1 zeigt den zeitlichen Verlauf des MTGs und der Streulichtintensität bei beiden Fermentationen. Da der Pilz E99043 sehr schnell wächst, ist keine deutliche Lag-Phase bei beiden Fermentationen zu erkennen. Die „exponentielle“ Wachstumsphase folgt bei beider Fermentationen etwa zeitgleich (nach 20 Stunden). Die MTGs beider Fermentationen sind bis zum Übergang von der „exponentiellen“ Wachstumsphase in die lineare Phase bei der Fermentation B deckungsgleich. Bei Fermentation B ist nach der „exponentiellen“ Wachstumsphase nach etwa 48 Stunden eine standardmäßig lineare Phase zu erkennen, während das MTG bei der Fermentation A weiter „exponentiell“ bis etwa 60 Stunden ansteigt und anschließend folgt eine kurze lineare Wachstumsphase, da die Fermentation A während dieser linearen Phase ca. nach 100 Stunden abgebrochen wurde. Bei der Fermentation B ist der lineare Anstieg des MTGs stärker als bei Fermentation A. Der Übergang von der linearen Phase in die stationäre Phase findet nicht statt. Der Anstieg des MTGs führt zu hohen MTG-Werten bis zu Ende der Fermentation nach ca. 140 Stunden.

Das verwendete Medium führt zu Beginn der Fermentationen A und B zu hohen Streulichtintensitätswerten, da es streuende Teilchen enthält. Wie bei der Fermentation des Pilzes *Deuteromycet* 273-95 ist kein Abstieg der Streulichtintensität während der Lag-Phase zu erkennen. Der Grund dafür ist auch ein schnelles Wachstum. Obwohl bei Fermentation A das MTG erst ab etwa 48 Stunden größere Werte als bei Fermentation B zeigt, ist bereits nach der Animpfung die Streulichtintensität bei Fermentation A höher als bei Fermentation B. Während bei Fermentation B die MTG-Kurve und die Intensität-Kurve bis Ende der Fermentation parallel laufen, findet eine Abweichung bei Fermentation A ab ca. 60 Stunden statt.

Tab. 6.4.1. Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A und B des Endophyten E99043.

Fermentation-E99043A			Fermentation-E99043B		
Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit	Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit
139.4	0	0	158	0	0
138.6	0.409	0.5	170.3	0.686	16
260.8	0.847	20	214.4	1.411	24
407.6	2.281	39	286.5	2.231	40
589.7	4.29	63	327.6	2.527	48
748.9	4.896	87	367.5	2.88	64
770.9	5.03	97	373.7	2.967	72
			397.1	3.507	80
			425.6	3.573	88
			486	4.585	116
			666.7	5.925	139
			752.3	7.45	152

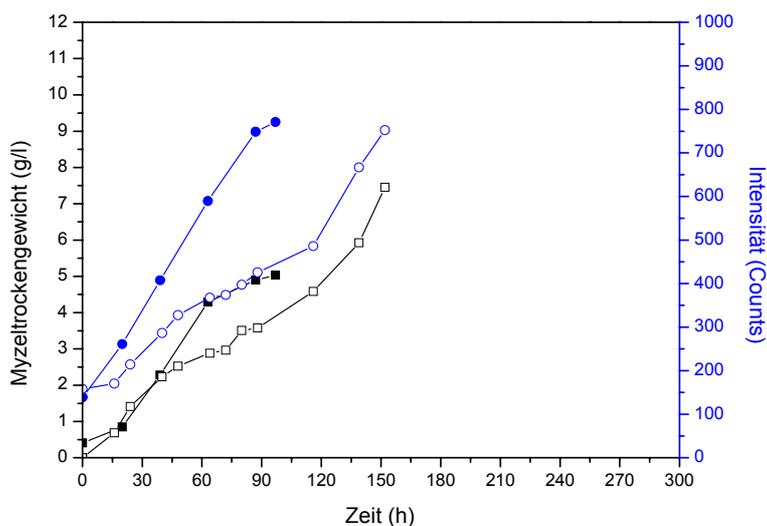


Abb. 6.4.1. Streulichtintensitäten für $\lambda = 580$ nm [Fermentationen A (●) und B (○)] und Myzeltrockengewichte [Fermentationen A (■) und B (□)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer bei den Fermentationen des Endophyten E99043.

6.4.2. Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Endophyten E99043

Um den engen Zusammenhang zwischen MTG und Streulichtintensität zu verdeutlichen, wurden für beide Fermentationen A und B MTG(I)-Kurven in Abb. 6.4.2 dargestellt. Die Anpassung eines Polynoms dritten Grades weist eine gute Korrelation zwischen beide Größen auf. Die Verläufe der MTG(I)-Kurven sind fast parallel. Trotz der gute Korrelation zwischen dem MTG und der Streulichtintensität ist eine deutliche Gegeneinanderversetzung der beiden MTG(I)-Kurven zu bemerken. Eine Erklärung dieses Unterschieds ist in Abschnitt 6.1 dargelegt.

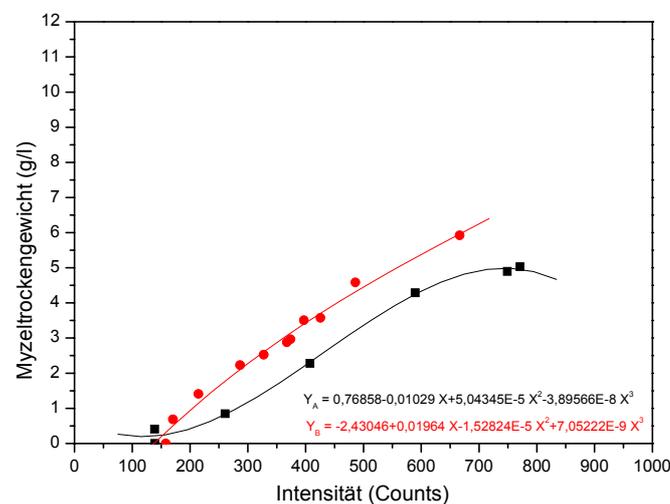


Abb. 6.4.2. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Endophyten E99043. Die eingezeichneten Kurven sind die Ergebnisse einer Polynomapproximation mit Polynomen 3. Grades für die Fermentationen A und B getrennt.

6.4.3. Auswertung der Messergebnisse und Korrektur

Aus den im Abschnitt 6.1.3. angegebenen Gründen sind die Kurvenverläufe zu Beginn der Fermentation mit Messfehlern behaftet und dies führt zum Ausschließen der ersten Messpunkte bei beiden Fermentationen. Hier wurden die Messpunkte bei $t = 0 \text{ h}$ von A und $t = 0 \text{ h}$ bei B nicht berücksichtigt (Tab. 6.4.2). Abb. 6.4.3 zeigt, dass obwohl die Messpunkte nach dieser Korrektur etwa gegeneinander versetzt wurden, sich für die beide Fermentationen das MTG als lineare Funktion der Streulichtintensität bei $\lambda = 580 \text{ nm}$ mit der Gl. 6.1

beschreiben lässt. Hier fällt auch bei beiden Eichkurven auf, dass die Achsenabschnitte nicht gleich null sind. Die Gl. 6.2 erlaubt durch eine Parallelverschiebung der Eichgeraden die verbliebenen Reststreuung zu korrigieren. In Abb. 6.4.4 ist das Ergebnis zu sehen. Die Steigung der Fermentation B ist größer als die der Fermentation A.

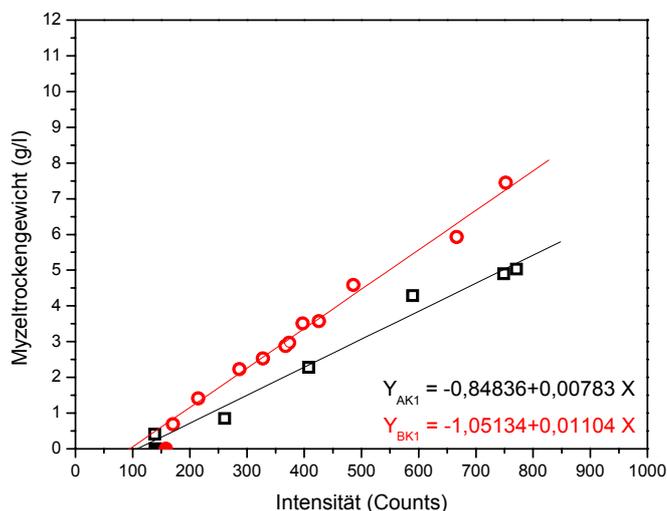


Abb.6.4.3. Myzeltrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Endophyten E99043. Die eingezeichneten Geraden sind die Ergebnisse einer linearen Anpassung nach der ersten Korrektur, d.h. dem Ausschließen jeweils der ersten Messpunkte für die Fermentationen A (■) und B (●).

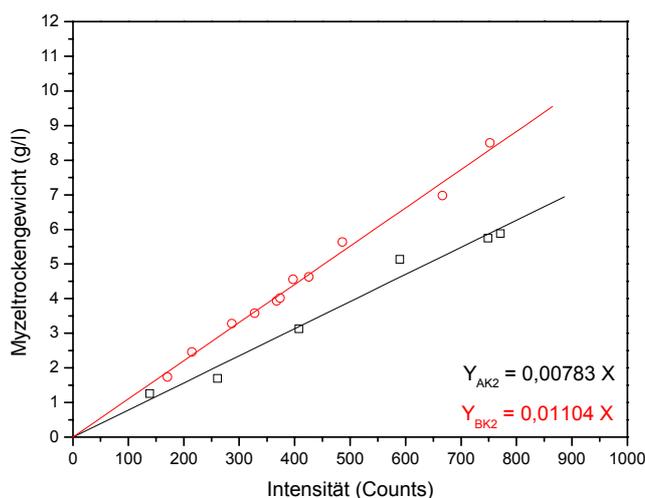


Abb.6.4.4. MTG(I)-Kurven bei der Fermentationen A (□) und B (○) für den Endophyt E99043 nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

Wie bei der anderen Pilzen muss man auch die Messpunkte der beide Fermentationen der Endophyt E99043 mit einer einzigen Eichgerade beschreiben können. Die Messungen der Streulichtintensitäten der Fermentation B wurden zu einem späteren Zeitpunkt nach der Fermentation A durchgeführt. Die Messungen der Fermentation A werden als Bezugsmessungen angenommen. Entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 6.1.3 und gemäß der Gl. 6.15 wurden die Messpunkte der Fermentation B umgerechnet. Die erhaltenen Ergebnisse, die in Abb. 6.4.5 dargestellt wurden, führen zu einer Beschreibung der Fermentationen A und B mit einer gleichen Eichgeraden.

Tab. 6.4.2. Myzeltrockengewicht und Streulichtintensität des Endophyten E99043 nach der Korrekturen.

I- E99043 A	MTG- E99043 A	I- E99043 AK1	MTG- E99043 AK1	MTG- E99043 AK2	I- E99043 B	MTG- E99043 B	I- E99043 BK1	MTG- E99043 BK1	MTG- E99043 BK2	I- E99043 BK3
139.4	0	--	--	--	158	0	--	--	--	--
138.6	0.409	138.6	0.409	1.258	170.3	0.686	170.3	0.686	240.12	1.737
260.8	0.847	260.8	0.847	1.695	214.4	1.411	214.4	1.411	302.30	2.462
407.6	2.281	407.6	2.281	3.129	286.5	2.231	286.5	2.231	403.95	3.282
589.7	4.29	589.7	4.29	5.138	327.6	2.527	327.6	2.527	461.90	3.578
748.9	4.896	748.9	4.896	5.744	367.5	2.88	367.5	2.88	518.16	3.931
770.9	5.03	770.9	5.03	5.878	373.7	2.967	373.7	2.967	526.90	4.018
					397.1	3.507	397.1	3.507	559.90	4.558
					425.6	3.573	425.6	3.573	600.08	4.624
					486	4.585	486	4.585	685.24	5.636
					666.7	5.925	666.7	5.925	940.02	6.976
					752.3	7.45	752.3	7.45	1060.7	8.501

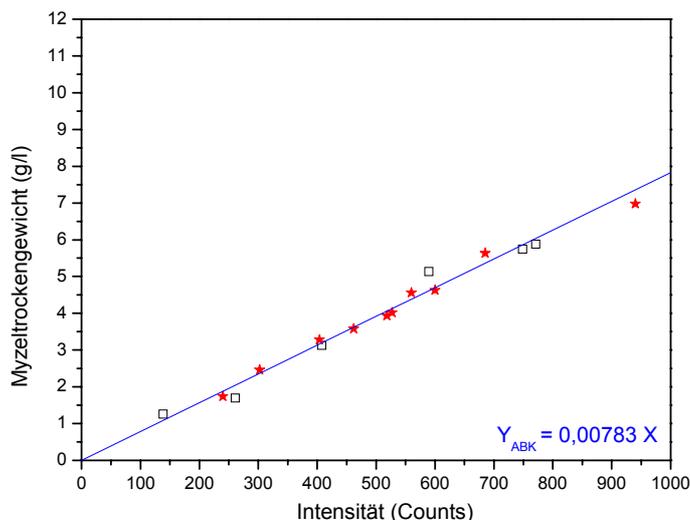


Abb.6.4.5. MTG(I)-Kurven für die Fermentationen A (□) und B (★) für den Endophyt E99043 am Ende der Korrekturen.

6.5. Fermentation des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129

6.5.1. Phänomenologische Diskussion der Fermentation

Der Pilz Basidiomycet 87129 dient zu zwei Fermentationen A und B mit identischen Fermentationsparametern in einem 10 l Maßstab. Als Inokulum wurde für jeden Fermenter 250 ml Medium in einem 500 ml Erlenmeyerkolben einer gut bewachsenen Vorkultur verwendet, wobei die Myzelstückchen der jeweiligen Fermenter aus verschiedenen Agarplatten stammten. Die Messwerte beider Fermentationen sind der Tabelle 6.5.1 zu entnehmen. Abb. 6.5.1 zeigt, dass bei beiden Fermentationen der Pilz nach einer Lag-Phase von etwa 25 Stunden in die „exponentielle“ Wachstumsphase übergeht. Bei beiden Fermentationen sind die Verläufe der MTG-Kurven zeitgleich, obwohl die Menge an Myzel bei Fermentation B zu Beginn der „exponentiellen“ Wachstumsphase schon doppelt größer als bei A ist. Ab dieser „exponentiellen“ Wachstumsphase fällt deutlich auf, dass die Verläufe der MTG-Kurven beider Fermentationen ganz unterschiedlich sind, obwohl sie zeitgleich verlaufen. Bei Fermentation B wächst der Pilz schnell und bereits nach der Lag-Phase ist das MTG um das dreifache angestiegen. Während bei Fermentation B ein starker Anstieg des MTGs um den Faktor sechs größer als bei A vorhanden ist, verzeichnet man bei Fermentation

A hingegen ein langsameren, kontinuierlicheren Anstieg des MTGs bis Ende der Fermentation.

Die zu Beginn der Fermentation hohe Streulichtintensität ist auf unlösliche Medienbestandteile zurückzuführen, welche einige streuende Partikel enthalten können. Nach ca. 25 Stunden, d.h. nach der Lag-Phase des MTGs sind diese Partikel aufgelöst und auch z.T. von dem Pilz verbraucht. Obwohl der Pilz Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129 während der Lag-Phase hohe MTG-Werte hat, ist in dieser Lag-Phase kein Abstieg der Intensitäten bei beiden Fermentationen zu erkennen. Obwohl bei der Fermentation B eine starke Zunahme des MTGs stattfindet, ist der Weiteranstieg der Streulichtintensität niedriger als bei der Fermentation A mit niedrigerer MTG-Zunahme. Die lange Gebrauch der Lampe der Diodenarraysapparatur könnte für die niedrigen Intensitäten bei der Fermentation B verantwortlich sein, da die Fermentation B ca. sieben Monate nach die Fermentation A durchgeführt wurde. Bei Fermentation A laufen die MTG-Kurve und die Intensitätskurve fast parallel bis Ende der „exponentiellen“ Wachstumsphase des MTGs. Während die MTG-Kurve bei der Fermentation B in eine lineare Phase übergeht, läuft die Intensitätskurve weiter „exponentiell“. Gegen Ende der Fermentation bei B zeigt die MTG-Kurve einen degressiven Verlauf, während bei der Intensitätskurve ein Plateau zu erkennen ist.

Tab. 6.5.1. Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A und B des Basidiomyceten 87129

Fermentation-87129A			Fermentation-87129B		
Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit	Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit
164.5	0	0	57.32	0.239	0
172.9	0.26	24	59.86	0.338	0.5
242.3	0.559	48	63.44	0.928	27.5
333.2	0.872	72	63.24	2.675	32.5
434.4	1.269	96	66.18	3.279	48.5
581.9	1.882	120	77.8	4.249	70.5
630.8	2.312	144	83.46	4.729	79.5
658.3	3.16	168	98.58	5.132	94.5
			112.4	5.388	103.5
			137.4	5.22	118.5
			156.8	5.734	127.5
			210.4	5.665	143.5
			214.2	5.612	147.5
			232.4	5.914	151.5

Tab. 6.5.1. Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A und B des Basidiomyceten 87129 (Fortsetzung)

			284.2	5.832	166.5
			350.6	5.064	198.5
			349	4.476	223.5

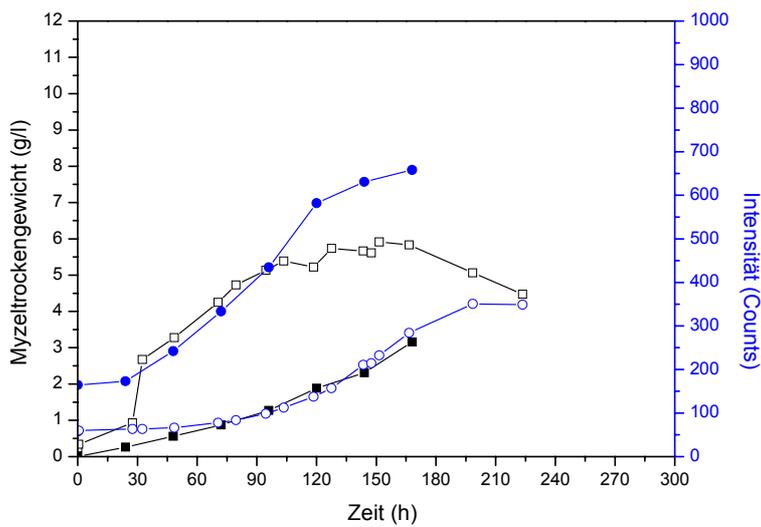


Abb. 6.5.1. Streulichtintensitäten für $\lambda = 580$ nm [Fermentationen A (●) und B (○)] und Myzeltrockengewichte [Fermentationen A (■) und B (□)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer bei den Fermentationen von *Favolaschia* sp. 87129

6.5.2. Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation *Favolaschia* sp. 87129

Um den engen Zusammenhang zwischen dem MTG und der Streulichtintensität zu verdeutlichen zu können, wurde das MTG als Funktion der Streulichtintensität in Abb. 6.5.2 dargestellt. Die MTG(I)-Kurven beider Fermentationen zeigen einen deutlich unterschiedlichen Verlauf. Während bei Fermentation A die Kurve einen vergleichbaren Verlauf mit den anderen Pilzen aufweist, sind bei Fermentation B große Abweichungen zu bemerken. Diese liegen entsprechend den Ausführungen im Abschnitt 6.1.2 darin begründet, dass die Fermentation B von sehr vielen äußeren Einflüssen abhängig ist. Um diese Situation klar zu machen, muss als Testmessung eine neue Fermentation von *Favolaschia* sp. 87129 durchgeführt werden. Die Ergebnisse dieser Fermentation sind im Anhang 10.4 zu sehen. Es

wird für beide Fermentationen ein Polynom dritten Grades angepasst und daraus zeigt sich in Abb. 6.5.2 ganz deutlich die Diskrepanz zwischen beiden MTG(I)-Kurven.

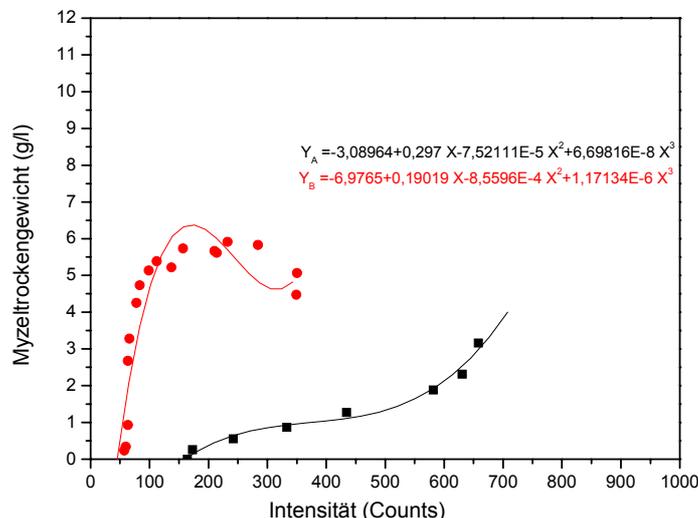


Abb. 6.5.2. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Fermentationen A (■) und [B (●)]des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129. Die eingezeichneten Kurven sind die Ergebnisse einer Polynomapproximation mit Polynomen 3. Grades für die Fermentationen A und B getrennt.

6.5.3. Auswertung der Messergebnisse und Korrektur

Aufgrund der bei Fermentation B anwesenden Abweichungen ist für die Auswertung der Messergebnisse des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 nur die Fermentation A berücksichtigt worden. Für die erste Korrektur wurden die ersten und die letzten Messpunkte ausgeschlossen. Die Auftragung des MTGs(I) in Abb. 6.5.3. zeigt deutlich, dass sich das MTG bei Fermentation A als lineare Funktion der Streulichtintensität bei $\lambda = 580$ nm mit der Gl. 6.1 beschreiben lässt. Da der Achsenabschnitt verschieden null ist, muss wie bei den anderen Pilzen die Reststreuung durch die Verschiebung der Gerade gemäß Gl. 6.2 korrigiert werden. Die Abb. 6.5.4 zeigt das Ergebnis dieser zweiten Korrektur. Es ist hier zu erkennen, dass sich die Fermentation A mit einer Eichgerade beschreiben lässt. In Tab. 6.5.2 sind die Messpunkte aller Korrekturen zusammengestellt.

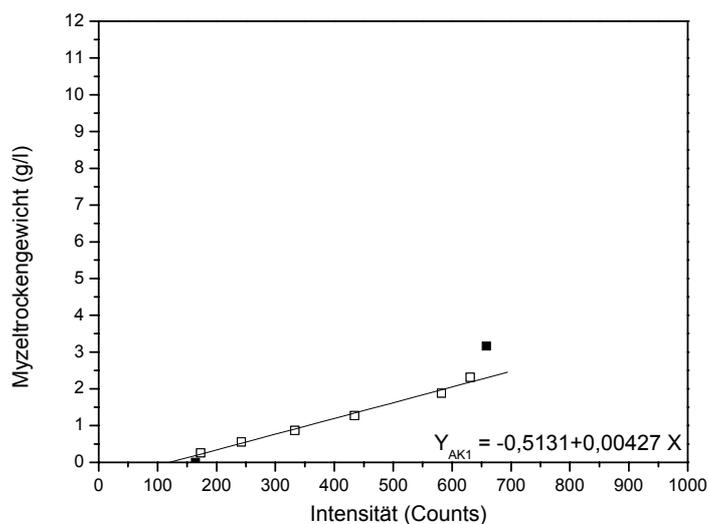


Abb.6.5.3. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Fermentationen A des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129. Die eingezeichnete Gerade ist die Ergebnisse einer linearen Anpassung nach der ersten Korrektur, d.h. dem Ausschließen jeweils des ersten und letzten Messpunkts für die Fermentation A

Tab. 6.5.2. Myzelrockengewicht und Streulichtintensität des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 nach den Korrekturen.

I- 87129 A	MTG 87129 A	I 87129 AK1	MTG 87129 AK1	MTG 87129 AK2
164.5	0	--	--	--
172.9	0.26	172.9	0.26	0.773
242.3	0.559	242.3	0.559	1.072
333.2	0.872	333.2	0.872	1.385
434.4	1.269	434.4	1.269	1.782
581.9	1.882	581.9	1.882	2.395
630.8	2.312	630.8	2.312	2.825
658.3	3.16	--	--	--

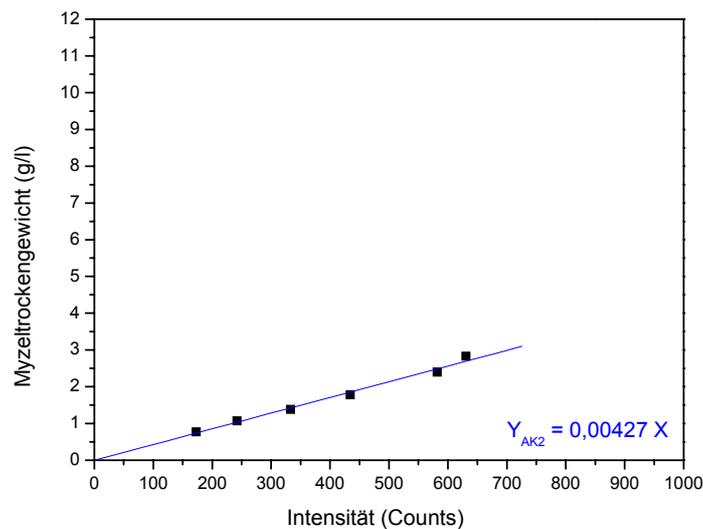


Abb.6.5.4. MTG(I)-Kurven für den Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129 nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

6.6. Fermentationen des Basidiomyceten *Irpex* 95282

6.6.1. Phänomenologische Diskussion der Fermentation

Es wurden zwei Fermentationen des Basidiomyceten *Irpex* 95282 unter vergleichbaren Fermentationsparametern in einem 10 l Maßstab durchgeführt. Als Inokulum wurden zwei fünf Tage alte Vorkulturen im Fermentationsmedium verwendet. Die Myzelstückchen stammten für diese Vorkulturen aus verschiedenen Agarplatten. Die Messwerte sind in Tabelle 6.6.1 zusammengestellt. Die Abbildung 6.6.1 zeigt den zeitlichen Verlauf des MTGs und der Streulichtintensität bei beiden Fermentationen A und B. Bei beiden Fermentationen ist eine Lag-Phase bis etwa 40 Stunden zu erkennen. Während dieser Lag-Phase verlaufen die beide MTG-Kurven deckungsgleich. Zu Beginn der „exponentiellen“ Wachstumsphase ist das Wachstum bei Fermentation A geringer als bei Fermentation B. Die „exponentielle“ Wachstumsphase beginnt bei Fermentation B schon nach 40 Stunden, bei Fermentation A hingegen erst nach ca. 45 Stunden. Ab der „exponentiellen“ Wachstumsphase laufen die beide Kurven fast parallel, wobei das MTG bei Ferm B gegenüber Ferm A geringfügig höher ist. Der Übergang von der „exponentiellen“ in die lineare Wachstumsphase erfolgt bei Fermentation B etwa nach 90 Stunden und erst 30 Stunden später bei Fermentation A. Zu

Beginn der linearen Phase bei Fermentation B (80. Stunde) ist der MTG auf einem maximalen Wert von 3.585 g/l aufgestiegen. Der Übergang in die stationäre Phase erfolgt wieder bei beiden Fermentationen deckungsgleich.

Die zu Beginn der Fermentation hohe Streulichtintensität ist auf unlösliche Medienbestandteile zurückzuführen, welche einige streuende Partikel enthalten können. Nach ca. 48 Stunden sind diese Feststoffe aufgelöst und auch z.T. von dem Pilz verbraucht, was man daran erkennt, dass nach der Animpfung die Intensitäten bei beiden Fermentationen sinken. Der Wiederanstieg der Streulichtintensitäten ist durch die Zunahme des Myzeltrockengewichts bedingt. Bis zum Ende der Fermentationen laufen die beide Intensitätskurven parallel. Während die Intensitätskurve bei Fermentation A bis zu Ende parallel zur MTG-Kurve läuft, ist dies bei B der Fall nur bis zum Übergang der MTG-Kurve von der „exponentiellen“ Wachstumsphase zur linearen Phase. Wenn die MTG-Kurve einen degressiven Verlauf zeigt, ist bei der Intensitätskurve ein Plateau zu erkennen.

Tab. 6.6.1. Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A und B des Basidiomyceten *Irpex 95282*

Fermentation-95282A			Fermentation-95282B		
Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit	Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit
103.48	0.226	0	123	0.378	0
111.6	0.33	0.5	143.3	0.324	0.5
82.71	0.232	16.5	102.6	0.364	16
82.41	0.488	21.5	103.3	0.428	20
81.91	0.48	40.5	106.6	0.388	24.5
84.97	0.364	45.5	114.5	0.52	40.5
118.9	1.166	70.5	117.6	0.642	44.5
257.9	2.848	112.5	130.4	0.922	50.5
262.5	2.974	116.5	150.2	1.14	63
273.5	3.084	120	165.5	1.284	67
283.2	2.998	136	177.1	1.596	71
278.4	3.294	140	191.8	1.726	75
284.4	3.132	144.5	234.3	2.556	87
273.2	2.889	159.5	260.6	2.96	91
274.5	2.912	164	271.3	3.18	95
			291.7	3.21	99
			318.5	3.585	111
			361.6	3.416	115

Tab. 6.6.1. Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A und B des Basidiomyceten *Irpex* 95282 (Fortsetzung)

			371.1	3.344	122
			378.4	3.075	139
			372.9	2.985	145

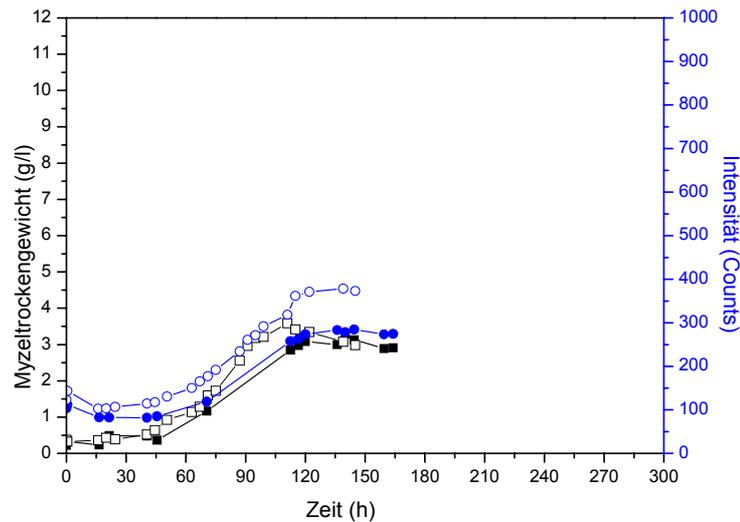


Abb. 6.6.1. Streulichtintensitäten für $\lambda = 580$ nm [Fermentationen A (●) und B (○)] und Myzelrockengewichte [Fermentationen A (■) und B (□)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer bei der Fermentationen des Basidiomyceten 95282

6.6.2. Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Basidiomyceten 95282

In Abb. 6.6.2 ist das MTG als Funktion der Streulichtintensität für die Fermentationen A und B von Basidiomycet 95282 dargestellt. Um eine Fehlerabschätzung zu erhalten, wurde über die Messpunkte die Anpassung eines Polynoms dritten Grades eingezeichnet. Da die beiden Fermentationen nicht um großen zeitlichen Abstand voreinander liegen, ist aus den Verläufen beider Polynomapproximationen zu erkennen, dass die MTG(I)-Kurven fast identisch sind.

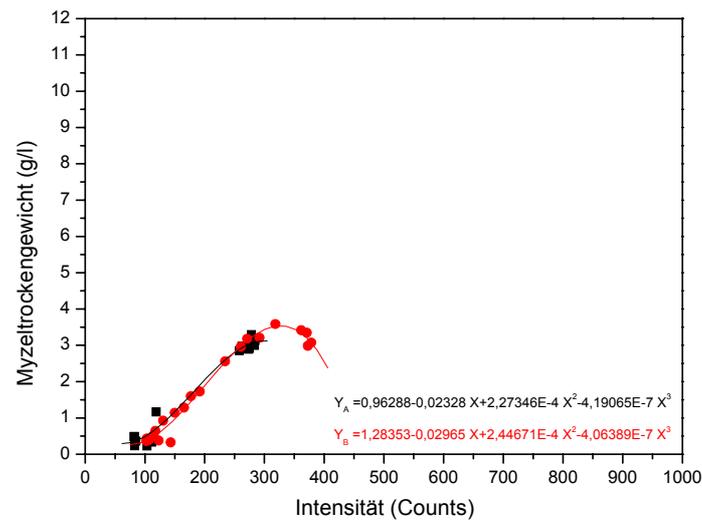


Abb. 6.6.2. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Basidiomyceten *Irpex* 95282. Die eingezeichneten Kurven sind die Ergebnisse einer Polynomapproximation mit Polynomen 3. Grades für die Fermentationen A und B getrennt.

6.6.3. Auswertung der Messergebnisse und Korrektur

Entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 6.1.3 müssen einige Korrekturen durchgeführt werden. Die erste Korrektur beruht auf das Ausschließen von Messpunkten, die mit großen Fehlern behaftet werden können. Lässt man die Messpunkte zu Beginn und am Ende der Fermentation für A und B unberücksichtigt, kann man das MTG jede Fermentation gemäß Gl. 6.1 als eine lineare Funktion der Streulichtintensität bei $\lambda = 580$ nm mit vergleichbaren Steigungen beschreiben. Das Ergebnis ist in Abb. 6.6.3 dargestellt. Um die zweite Korrektur durchführen zu können, muss man unter Benutzung von Gl. 6.2 die MTG(I)-Kurven parallel zu den Nullpunkt verschieben. Da der Verlauf beider Kurven sehr ähnlich ist, ist die Unsicherheit in der Verschiebung sehr gering. Die Verläufe der Geraden sind aus Abb. 6.6.4 ersichtlich.

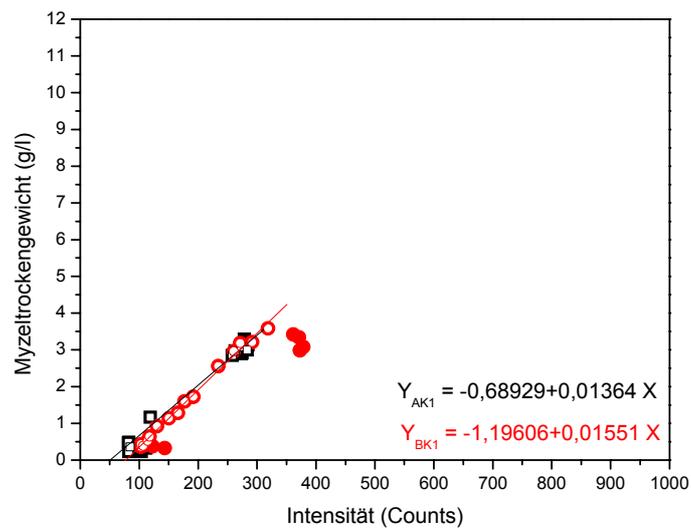


Abb. 6.6.3. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Basidiomyceten *Irpex* 95282. Die eingezeichneten Geraden sind die Ergebnisse einer linearen Anpassung nach der ersten Korrektur, d.h. dem Ausschließen jeweils der zwei ersten und der drei letzten Messpunkte für die Fermentationen A (■) und B (●).

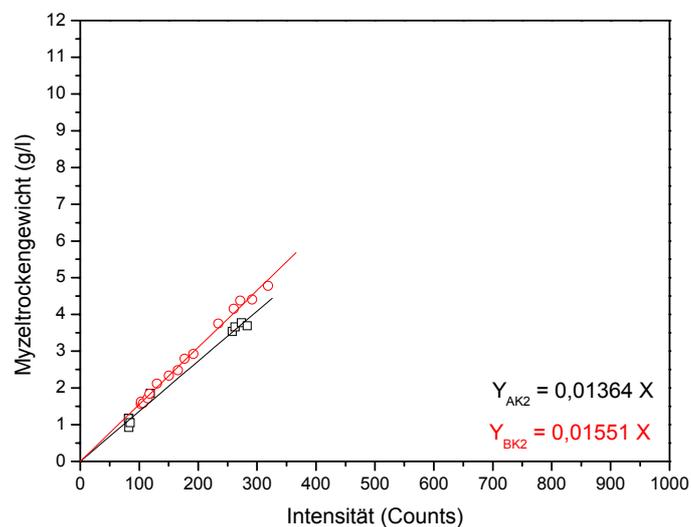


Abb. 6.6.4. MTG(I)- Kurven bei der Fermentationen A (□) und B (○) für den Basidiomycet 95282 nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

Um die beiden Fermentationen mit einer einzigen Eichgerade beschreiben zu können, wurde die Fermentation A als Bezugsmessung ausgewählt. Im Bezug auf die Gl. 6.15 im Abschnitt 6.1.3 lassen sich die neue Streulichtintensitätswerte der Fermentation B umrechnen. In Tab. 6.3.2 sind die Messpunkte aller Korrekturen zusammengestellt. Wie sich in Abb. 6.6.5 zeigt, sind beide Fermenter A und B mit der gleichen Eichgeraden beschreibbar.

Tab. 6.6.2. Myzeltrockengewicht und Streulichtintensität der Fermentation des Basidiomyceten *Irpex* 95282 nach den Korrekturen.

I- 95282 A	MTG- 95282 A	I- 95282 AK1	MTG- 95282 AK1	MTG- 95282 AK2	I- 95282 B	MTG- 95282 B	I- 95282 BK1	MTG- 95282 BK1	MTG- 95282 BK2	I- 95282 BK3
103.48	0.226	--	--	--	123	0.378	--	--	--	--
111.6	0.33	--	--	--	143.3	0.324	--	--	--	--
82.71	0.232	82.71	0.232	0.921	102.6	0.364	--	--	--	--
82.41	0.488	82.41	0.488	1.177	103.3	0.428	--	--	--	--
81.91	0.48	81.91	0.48	1.169	106.6	0.388	--	--	--	--
84.97	0.364	84.97	0.364	1.053	114.5	0.52	114.5	0.52	1.682	129.11
118.9	1.166	118.9	1.166	1.855	117.6	0.642	117.6	0.642	1.804	132.60
257.9	2.848	257.9	2.848	3.537	130.4	0.922	130.4	0.922	2.084	147.03
262.5	2.974	262.5	2.974	3.663	150.2	1.14	150.2	1.14	2.302	169.36
273.5	3.084	273.5	3.084	3.773	165.5	1.284	165.5	1.284	2.446	186.61
283.2	2.998	283.2	2.998	3.687	177.1	1.596	177.1	1.596	2.758	199.69
278.4	3.294	--	--	--	191.8	1.726	191.8	1.726	2.888	216.27
284.4	3.132	--	--	--	234.3	2.556	234.3	2.556	3.718	264.19
		--	--	--	260.6	2.96	260.6	2.96	4.128	293.84
		--	--	--	271.3	3.18	271.3	3.18	4.348	305.91
					291.7	3.21	291.7	3.21	4.372	328.91
					318.5	3.585	318.5	3.585	4.747	359.13
					361.6	3.416	--	--	--	--
					371.1	3.344	--	--	--	--
					378.4	3.075	--	--	--	--
					372.9	2.985	--	--	--	--

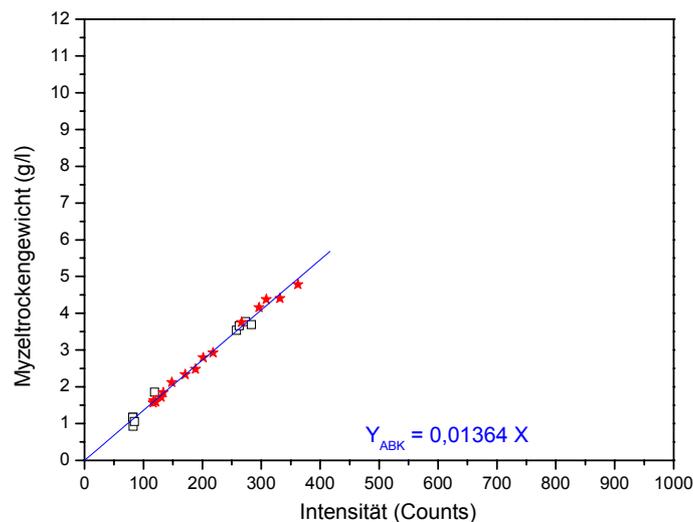


Abb. 6.6.5. MTG(I)-Kurven für die Fermentationen A (□) und B (★) für den Basidiomycet 95282 am Ende der Korrekturen.

6.7. Fermentationen des Basidiomyceten *Panaeolus* 96026

6.7.1. Phänomenologische Diskussion der Fermentation von *Panaeolus* 96026

Für den Pilz Basidiomycet 96026 wurden zwei Fermentationen A und B durchgeführt. Es wurde für jede Fermentation eine 5 Tage alte Vorkultur verwendet, wobei die Myzelstückchen jeder Vorkultur aus verschiedenen Agarplatten stammten. Tab. 6.7.1 gibt eine Übersicht über die Messwerte beider Fermentationen. Der Abb. 6.7.1 ist der zeitliche Verlauf des MTGs und der Streulichtintensität zu entnehmen. Die beide MTG-Kurven entsprechen einem typischen Fermentationsverlauf. Die Verläufe des MTG-Kurven sind bei beiden Fermentationen fast deckungsgleich bis etwa 75 Stunden. Aus der Kurven des MTGs lässt sich nach etwa 30 Stunden bei Fermentation A und erst nach 40 Stunden bei Fermentation B eine Lag-Phase erkennen. Die „exponentielle“ Wachstumsphase folgt bis ca. 75 Stunden bei beiden Fermentationen. Zu Beginn der linearen Phase erkennt man bei Fermentation A eine etwas größere MTG-Zunahme. Nach der „exponentiellen“ Wachstumsphase ist der lineare Anstieg der MTG bei Fermentation A stärker als bei Fermentation B und führt zu dem maximalen MTG von 6.36 g/l nach 96.5 Stunden. Der Übergang von der linearen Phase in die stationäre Phase findet bei beiden Fermentationen in

etwa zeitgleich statt. Während sich bei Fermentation B nach der linearen Phase die standardmäßig stationäre Phase anschließt, fällt das MTG bei Ferm A ab.

Das verwendete Medium führt zu Beginn der Fermentationen A und B zu hohen Streulichtintensitätswerten, da es streuende Teilchen erhält. Nach ca. 40 Stunden (Lag-Phase des MTG-Kurve) sind diese Feststoffe aufgelöst und auch z.T. von dem Pilz verbraucht, dies führt bei beiden Fermentationen zu einen leichten Abstieg der Streulichtintensitäten. Der Wiederanstieg der Streulichtintensitäten ist durch die Zunahme des MTGs bedingt. Im Vergleich zu anderen Fermentationen ist die Intensität sehr niedrig. Der Grund liegt in der schwachen Intensität der Lampe. Wie bei MTG-Kurven laufen die Intensitätskurven deckungsgleich bis zu den Übergang von der „exponentiellen“ Wachstumsphase in die lineare Phase der MTG-Kurve. Während bei der Fermentation A die Intensitätskurve ein Plateau zeigt, ist bei Fermentation B eine weitere Zunahme der Intensität und dann am Ende der Fermentation eine leichte Abnahme zu erkennen. Von Beginn bis zu Ende der Fermentation B laufen die Intensitätskurve und die MTG-Kurve parallel. Bei Fermentation A laufen die Intensitätskurve und die MTG-Kurve während der „exponentiellen“ Wachstumsphase der MTG-Kurve deckungsgleich. Während der MTG-Kurve einen degressiven Verlauf am Ende der Fermentation zeigt, nimmt die Intensitätskurve weiter zu, danach sind ein Plateau und am Ende der Fermentation eine leichte Abnahme zu erkennen.

Tab. 6.7.1. Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A und B des Basidiomyceten *Panaeolus* 96026.

Ferm96026A			Ferm96026B		
Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit	Intensität	Myzeltrockengewicht	Zeit
18.45	0.168	0	17.57	0.239	0
21.34	0.32	0.5	19.25	0.338	0.5
15.72	0.461	18	18.78	0.928	37
15.98	0.507	24	35.43	2.675	57
23.5	1.557	41.5	40.37	3.279	61
26.1	1.85	45.5	51.15	4.249	74
46.74	4.763	68.5	57.08	4.729	84
72.11	6.367	96.5	61.38	5.132	96
78.06	5.603	110.5	64.48	5.388	100
79.12	5.546	113.5	64.83	5.22	104
78.47	5.553	117.5	71.75	5.734	122
77.09	5.137	130.5	74.45	5.665	126
74.42	4.652	134.5	75.02	5.612	130
74.33	4.797	137.5	79.46	5.914	152
			77.05	5.832	157

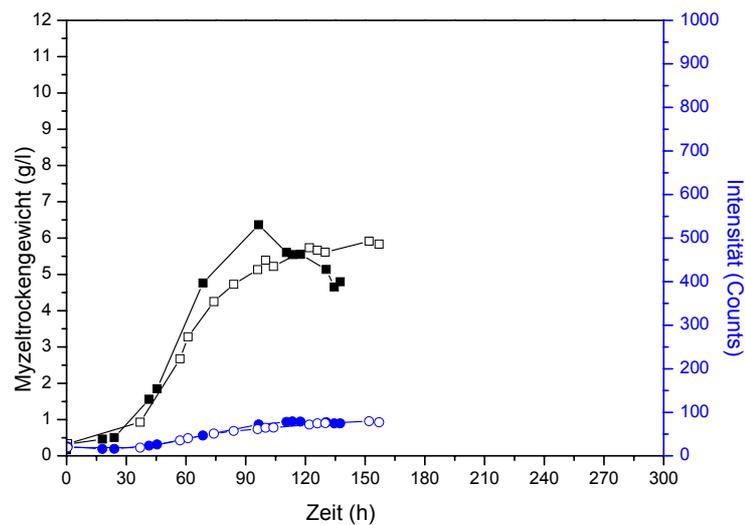


Abb. 6.7.1. Streulichtintensitäten für $\lambda = 580$ nm [Fermentationen A (●) und B (○)] und Myzelrockengewichte [Fermentationen A (■) und B (□)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer bei der Fermentationen des Basidiomyceten 96026.

6.7.2. Qualitative Diskussion der Ergebnisse der Streulichtmessungen und der Trockengewichtsbestimmung der Fermentation des Basidiomyceten *Panaeolus 96026*

Das Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität für die Fermentationen A und B von *Panaeolus 96026* ist in Abb. 6.7.2 dargestellt. Wie bei letzteren Pilzen muss ein Polynom dritten Grades angepasst werden, um die Messfehler abzuschätzen. Die Verläufe beider Polynomapproximationen sind fast deckungsgleich. Obwohl eine deutliche Versetzung der beiden MTG(I)-Kurven nicht zu bemerken ist, müssen gemäß Abschnitt 6.1.2 einige Korrekturen durchgeführt werden.

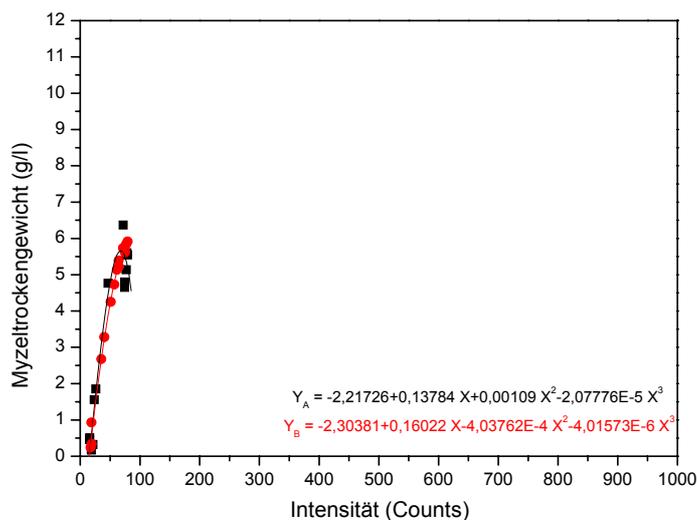


Abb. 6.7.2. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Fermentationen A (■) und B (●) von *Basidiomycet 96026*. Die eingezeichneten Kurven sind die Ergebnisse einer Polynomapproximation mit Polynomen 3. Grades für die Fermentationen A und B getrennt.

6.7.3. Auswertung der Messergebnisse und Korrektur

Die Messpunkte, die mit Fehlern behaftet sein könnten, sind auszuschließen. Für die Fermentationen A und B des *Basidiomycet 96026* werden hier die zwei ersten und die vier letzten Messpunkte von A und die drei ersten und die sechs letzten bei B nicht weiter berücksichtigt (Tab. 6.7.2). Abb. 6.7.3 zeigt das MTG in Abhängigkeit der Streulichtintensität bei der Fermentation A und B. Die Verläufe der Kurven bei beiden Fermentationen sind fast vergleichbar. Das MTG lässt sich sowohl für die Fermentation A als auch für B als lineare Funktion der Streulichtintensität mit Gl. 6.1 beschreiben. Hier fällt auch bei beiden Eichkurven auf, dass die Achsenabschnitte nicht gleich null sind. Die Gl. 6.2 erlaubt durch eine Parallelverschiebung der Eichgeraden die verbliebene Reststreuung zu korrigieren. In Abb. 6.4.4 ist das Ergebnis zu sehen. Die Steigung bei Fermentation B ist größer als die bei Fermentation A

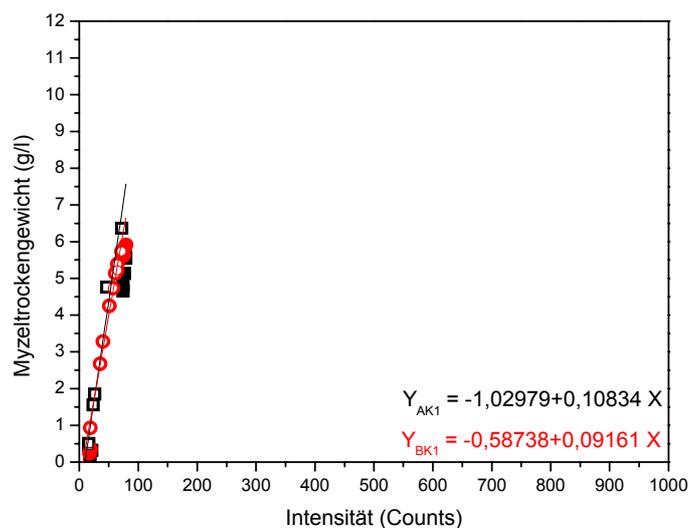


Abb. 6.7.3. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Fermentationen A (■) und B (●) des Basidiomyceten *Panaeolus* 96026. Die eingezeichneten Geraden sind die Ergebnisse einer linearen Anpassung nach der ersten Korrektur, d.h. dem Ausschließen jeweils der zwei ersten und der drei letzten Messpunkte für die Fermentationen A (■) und B (●).

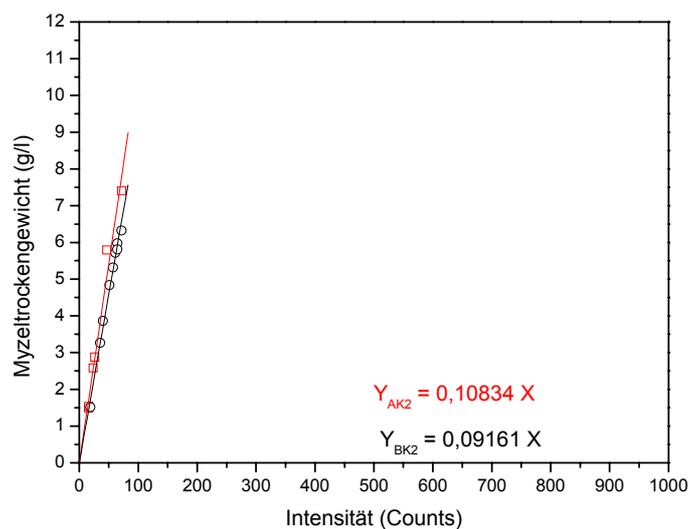


Abb. 6.7.4. MTG(I)-Kurven bei die Fermentationen A (□) und B (○) für den Basidiomycet 96026 nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

Unter der Annahme, dass die Streulichtmessungen der Fermentation A mit der Intensität I_{0B} durchgeführt worden wäre, d.h. die Messungen der Fermentation B als Bezugsmessungen angenommen wurden, wurden die Streulichtintensitäten der Fermentation A gemäß Gl. 6.1.6 umgerechnet. Die Abb. 6.2.5 zeigt die umgerechneten Streulichtintensitätswerte am Ende der Korrektur. Aus dieser Darstellung wird deutlich sichtbar, dass sich die beiden Fermentationen mit einer einzigen Eichgerade beschreiben lassen.

Tab. 6.7.2. Myzeltrockengewicht und Streulichtintensität des Basidiomyceten *Panaeolus* 96026 nach den Korrekturen.

I-96026 A	MTG-96026 A	I-96026 AK1	MTG-96026 AK1	MTG-96026 AK2	I-96026 AK3	I-96026 B	MTG-96026 B	I-96026 BK1	MTG-96026 BK1	MTG-96026 BK2
18.45	0.17	--	--	--	--	17.57	0.24	--	--	--
21.34	0.32	--	--	--	--	19.25	0.34	--	--	--
15.72	0.46	15.72	0.46	1.49	18.59	18.78	0.93	18.78	0.93	1.52
15.98	0.51	15.98	0.51	1.54	18.9	35.43	2.7	35.43	2.7	3.26
23.5	1.56	23.5	1.56	2.59	27.79	40.37	3.28	40.37	3.28	3.87
26.1	1.85	26.1	1.85	2.88	30.87	51.15	4.25	51.15	4.25	4.84
46.74	4.76	46.74	4.76	5.79	55.28	57.08	4.73	57.08	4.73	5.32
72.11	6.37	72.11	6.37	7.4	85.28	61.38	5.13	61.38	5.13	5.72
78.06	5.60	--	--	--	--	64.48	5.39	64.48	5.39	5.98
79.12	5.55	--	--	--	--	64.83	5.22	64.83	5.22	5.81
78.47	5.55	--	--	--	--	71.75	5.73	71.75	5.73	6.32
77.09	5.14	--	--	--	--	74.45	5.67	--	--	--
74.42	4.65	--	--	--	--	75.02	5.61	--	--	--
74.33	4.8	--	--	--	--	79.46	5.91	--	--	--
				--	--	77.05	5.83	--	--	--

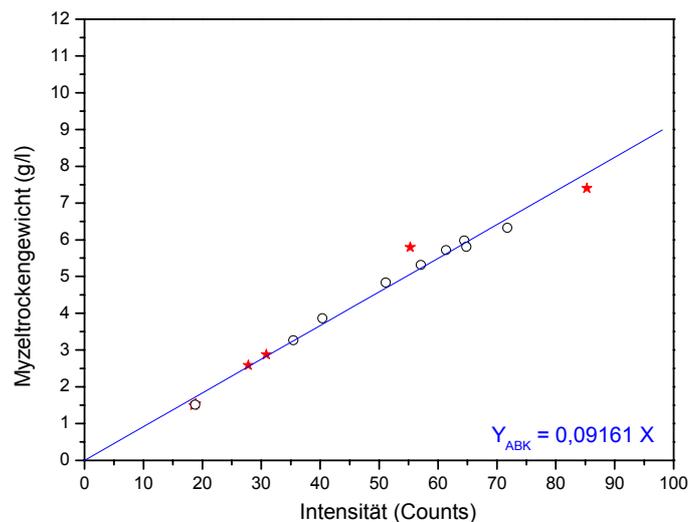


Abb. 6.7.5. MTG(I)-Kurven für die Fermentationen A (★) und B (○) für den Basidiomycet 96026 am Ende der Korrekturen.

6.8. Verdünnungsreihen des Basidiomyceten *Favolaschia* 87129

6.8.1. Verdünnungsreihen von Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129 (Vorfermentation im 20 l, Fermentation im 200 l und Vorkultur im 5 l Maßstab)

Es wurde von vier Proben die Streulichtintensität der Verdünnungsreihe A (drei Proben) und B (eine Probe) durchgeführt. Die erste Probe wurde aus einem 20 l Vorfermenter am Ende der Vorfermentation (A1) entnommen. Dieser Vorfermenter diente zum Animpfen eines 200 l Fermenters. Danach wurden aus dem 200 l Fermenter zu unterschiedlichen Zeiten der Fermentation die zweite (A2) und die dritte (A3) Probe entnommen. Die vierte Probe (B) stammt aus einer Vorkultur eines 5 l Kolbens. Um die Verdünnungsreihe mit einem konstanten Volumen der Probe durchzuführen, wurde für jede Verdünnungsstufe eine 100 ml Probe mit einer Pipette aus dem Horn entnommen und filtriert. Das Myzel diente zur Trockengewichtbestimmung und das Kulturfiltrat zur Verdünnung der Probe im Horn. Ausgehend vom aktuellen MTG wurde jede Probe mit dem Kulturfiltrat verdünnt und von jeder Verdünnungsstufe wurden Streulichtmessungen bei Wellenlänge $\lambda = 580\text{nm}$ durchgeführt.

Die experimentelle Messdaten sind in der Tabelle 6.8.1 dargestellt. Die Abb. 6.8.1 und Abb. 6.8.2 zeigen das eingestellte Myzeltrockengewicht in Abhängigkeit der Streulichtintensität bei Wellenlänge $\lambda = 580\text{nm}$ für diese zwei Verdünnungsreihen. Die Probe aus dem Vorfermenter (A1) und die beide Proben der 200 l Fermenter (A2 und A3) zeigen vergleichbare Streulichtintensitäten bei gleichem Trockenmasse (Abb. 6.8.1). Die Probe der 5 l Kolben-Vorkultur zeigt im Vergleich zu den Proben des Vorfermenters und des Fermenters kleinere Werte der Streulichtintensitäten bei gleichen Trockenmasse (Abb. 6.8.2), obwohl die Anfangskonzentration (ca. 1.8 g/l) bei der Probe der 5 l Kolben Vorkultur größer ist als bei der der dritte Probe aus dem 200 l Fermenter (ca. 1.43 g/l). Der Grund dafür könnte in dem Ein- und Ausschalten der Lampe zu suchen sein, welches die Intensitätsänderungen verursacht haben könnte. Die Streulichtmessungen der Fermentation im 5 l Kolben-Vorkultur wurden ca. zwei Wochen nach die der dritten Probe der Fermentation im 200 l Maßstab durchgeführt. Das MTG lässt sich für die beiden Verdünnungsreihen als lineare Funktion der Streulichtintensität bei $\lambda = 580\text{ nm}$ mit der Gl. 6.1 beschreiben.

Tab. 6.8.1. Myzeltrockengewichte und Streulichtintensitäten der Verdünnungsreihen A und B von *Favolaschia* sp. 87129 des Vorfermenters im 20 l Maßstab am Ende der Vorfermentation (A1), Proben des Fermenters im 200 l Maßstab nach 120 h (A2), nach 192 h (A3) und einer Probe der Vorkultur im 5 l Maßstab nach 96 h (B).

I-87129 A1	MTG-87129 A1	I-87129 A2	MTG-87129 A2	I-87129 A3	MTG-87129 A3	I-87129 B	MTG-87129 B
111.2	0.312	148.6	0.473	341.4	1.433	299.8	1.839
103.6	0.294	136.4	0.445	319.2	1.349	245.4	1.629
98.62	0.276	129.8	0.419	308.6	1.269	221.4	1.443
92.26	0.26	123.8	0.394	285	1.195	185.8	1.203
88.7	0.245	115.6	0.371	252.2	1.124	164	1.003
82.52	0.23	109.8	0.349	239.2	1.058	137	0.787
80.02	0.217	103.6	0.329	223.6	0.996	112.8	0.6175
74.34	0.204	97.14	0.309	208.4	0.937	89.3	0.4846
70.58	0.192	93.64	0.291	198.6	0.882	70.68	0.3578
67.38	0.17	88.66	0.274	182	0.781	57.18	0.2643
62.78	0.151	84.02	0.258	165.2	0.692	48	0.1837
57.72	0.134			146.4	0.577		
53.58	0.111			116.2	0.453		

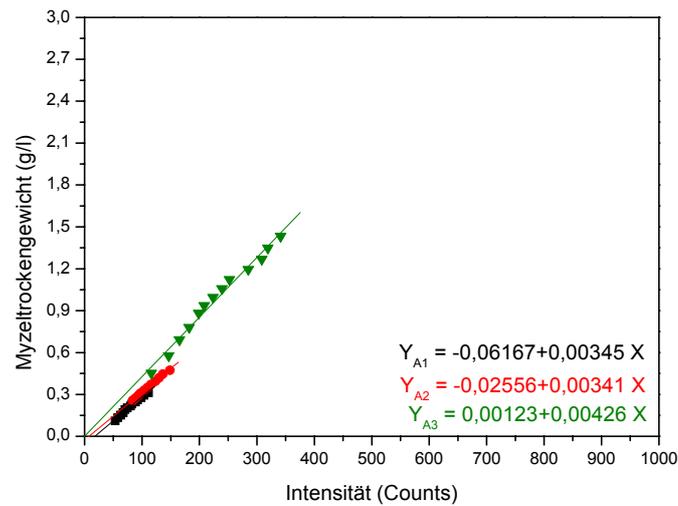


Abb. 6.8.1. Eingestelltes Myzelrockgewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) der Verdünnungsreihe A. resp. einer Probe des Vorfermenters im 20 l Maßstab von *Favolaschia* sp. 87129 am Ende der Vorfermentation (A1, 0.31g/l, ■) Proben des Fermenters im 200 l Maßstab nach 120 h (A2, 0.47 g/l, ●), nach 192 h (A3, 1.43 g/l, ▲). Die eingezeichneten Geraden sind die Ergebnisse einer linearen Anpassung.

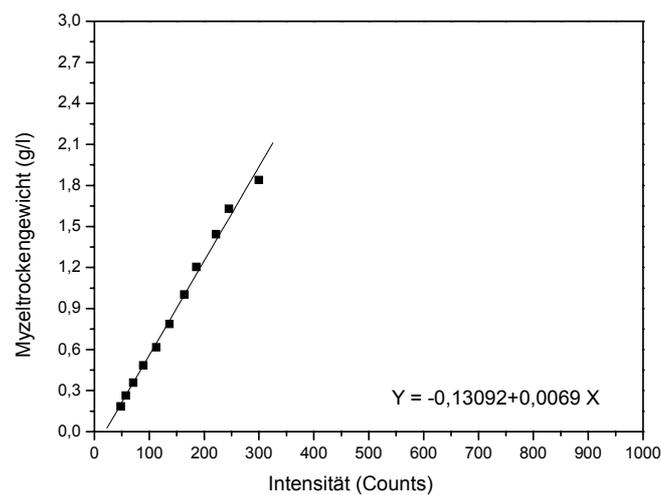


Abb. 6.8.2. Eingestelltes Myzelrockgewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) der Verdünnungsreihe B. resp. einer Probe des Vorkultur im 5 l Maßstab von *Favolaschia* sp. 87129 nach 96 h (1.84 g/l, ■) Die eingezeichnete Gerade ist das Ergebnis einer linearen Anpassung.

6.8.1.1. Auswertung der Messergebnisse und Korrektur

Wie bei den Fermentationen fällt auch hier bei den erhaltenen Eichkurven auf, dass die Achsenabschnitte nicht gleich null sind. Die Gl. 6.2 erlaubt durch eine Parallelverschiebung der Eichgeraden die verbliebenen Reststreuung zu korrigieren. In Abb. 6.8.3 für die Verdünnungsreihe A und Abb. 6.8.4 für die Verdünnungsreihe B sind die Ergebnisse zu sehen. Die Steigung bei der Probe der Verdünnungsreihe B ist größer als die der Proben der Verdünnungsreihe A.

Um die Messpunkte der drei Proben der Verdünnungsreihe A mit einer einzigen Eichgerade beschreiben zu können, wurde die Probe A2 als Bezugsmessung angenommen. Entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 6.1.3 und gemäß die Gl. 6.15 wurden die Messpunkte der Proben A1 und A3 umgerechnet. Die erhaltenen Ergebnisse, die in Abb. 6.8.5 dargestellt wurden, führen zu einer Beschreibung der Proben der Verdünnungsreihe A mit einer gleichen Eichgerade.

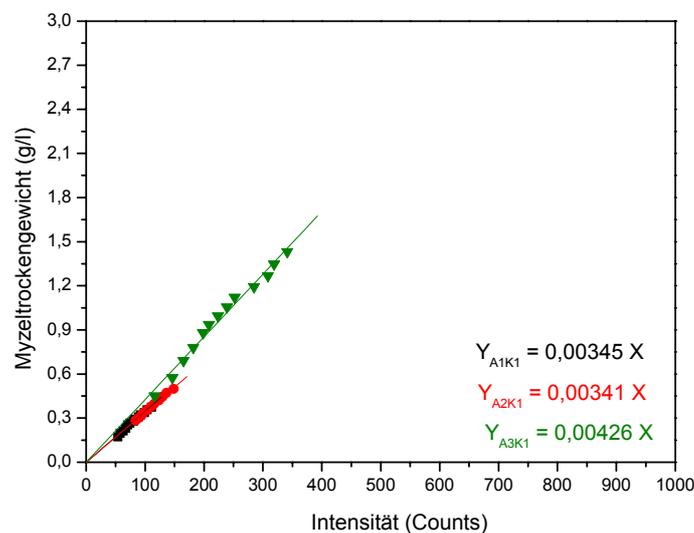


Abb. 6.8.3. Eingestelltes Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) der Verdünnungsreihe A. resp. einer Probe des Vorfermenters im 20 l Maßstab von *Favolaschia* sp. 87129 am Ende der Vorfermentation (A1, 0.31g/l, ■) Proben des Fermenters im 200 l Maßstab nach 120 h (A2, 0.47 g/l, ●), nach 192 h (A3, 1.43 g/l, ▲). Nach der ersten Korrektur, d.h. nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

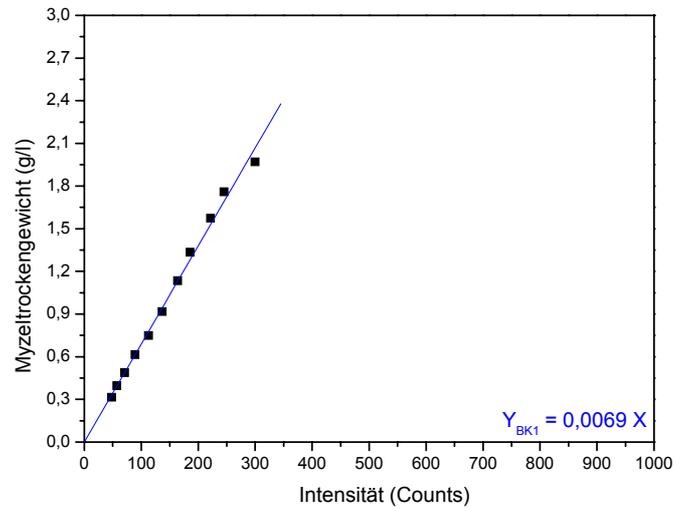


Abb. 6.8.4. Eingestelltes Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda = 580$ nm) der Verdünnungsreihe B. resp. einer Probe der Vorkultur im 5 l Maßstab von *Favolaschia* sp. 87129 nach 96 h (1.84 g/l, ■) nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

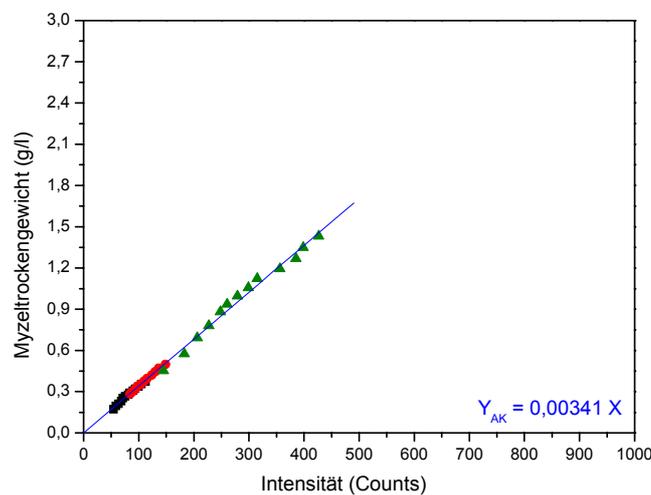


Abb. 6.8.5. Eingestelltes Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) der Verdünnungsreihe A. resp. einer Probe des Vorfermenters im 20 l Maßstab von *Favolaschia* sp. 87129 am Ende der Vorfermentation (A1, 0.31g/l, ■) Proben des Fermenters im 200 l Maßstab nach 120 h (A2, 0.47 g/l, ●), nach 192 h (A3, 1.43 g/l, ▲) am Ende der Korrekturen.

6.8.2. Verdünnungsreihen von *Favolaschia* sp. 87129 (Vorkultur im 5 l Maßstab)

Es wurden zu unterschiedlichen Wachstumszeiten vier Proben entnommen. Jede Probe stammt aus einer 5 l Maßstab Vorkultur von *Favolaschia* sp. 87129. Bei dieser Verdünnungsreihe C wurden ähnliche Messungen wie bei A und B durchgeführt. Die experimentellen Messdaten sind in der Tabelle 6.8.2 dargestellt. Die Abb. 6.8.6 zeigt das eingestellte Myzeltrockengewicht in Abhängigkeit der Streulichtintensität bei Wellenlänge $\lambda=580$ nm für die vier Proben der Verdünnungsreihe B. Die Proben nach 72 h (C1), 96 h (C2) und 144 h (C4) zeigen vergleichbare Streulichtintensitäten bei der gleichen Trockenmasse. Bei der Probe nach 120 h (C3) sind leichten Abweichungen in der Streulichtintensität zu bemerken. Im Vergleich zu anderen Proben zeigt diese Probe höhere Streulichtintensitätswerte. Der Verlauf der vier Geraden zeigt einen linearen Zusammenhang zwischen Streulichtintensität und Myzeltrockengewicht.

Tab. 6.8.2. Myzeltrockengewichte und Streulichtintensitäten der Verdünnungsreihe C von *Favolaschia* sp. 87129 Proben einer Vorkultur im 5 l Maßstab nach 72 h (C1), 96 h (C2), 120 h (C3) und 144 h (C4).

I- 87129 C1	MTG- 87129 C1	I- 87129 C2	MTG- 87129 C2	I- 87129 C3	MTG- 87129 C3	I- 87129 C4	MTG- 87129 C4
159	0.598	143.8	0.657	243.2	0.839	307.6	1.671
142.6	0.563	131.6	0.618	229.2	0.79	275.4	1.48
129.2	0.53	128.8	0.582	216.6	0.743	253	1.311
120.4	0.469	120	0.516	204.4	0.658	217.8	1.029
114.2	0.416	109.2	0.457	181.6	0.583	185	0.807
101	0.347	97.86	0.381	161.8	0.458	152	0.596
93.3	0.289	91.26	0.317	140.8	0.359	127	0.442
81.62	0.227	79.4	0.249	114.8	0.265	105.8	0.307
74.88	0.178	70	0.195	96.6	0.196	83.64	0.213
64.94	0.131	62.96	0.144	84.1	0.136	70.5	0.14
59.46	0.097	59.98	0.107	69.72	0.095	59.56	0.091
				62.14	0.066		

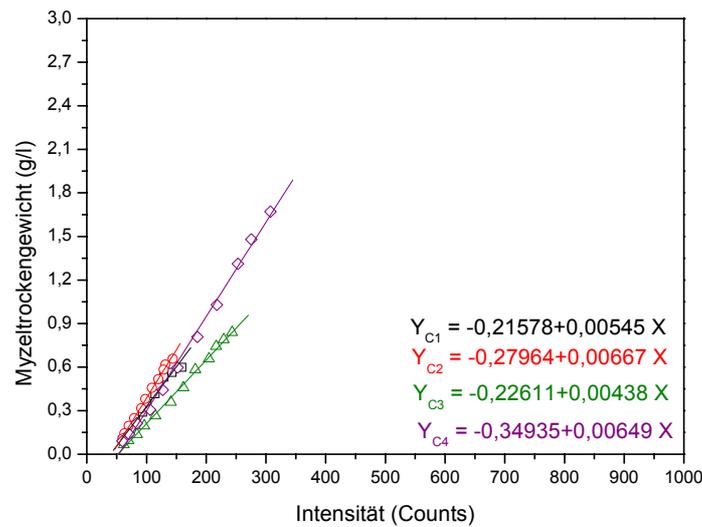


Abb. 6.8.6. Eingestelltes Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) von vier Proben einer Vorkultur im 5 l Maßstab von *Favolaschia* sp. 87129 nach 72 h (C1, 0.60 g/l, \square), 96 h (C2, 0.66 g/l, \circ), 120 h (C3, 0.84 g/l, \triangle) und 144 h (C4, 1.67 g/l, \diamond). Die eingezeichneten Geraden sind die Ergebnisse einer linearen Anpassung.

6.8.2.1. Auswertung der Messergebnisse und Korrektur

Wie bei der Verdünnungsreihen A und B fällt auch hier bei der erhaltenen Eichkurve auf, dass die Achsenabschnitte nicht gleich null sind. Mit Hilfe der Gl. 6.2 wurde die Reststreuung korrigiert, wobei die Eichgeraden gemäß Gl. 6.2 parallel verschoben wurden. Die Abb. 6.8.7 zeigt das Ergebnis dieser Korrektur. Aus dieser Darstellung ist zu sehen, dass die Steigung der Probe C3 deutlich kleiner als die der anderen Proben ist.

Um die Messpunkte der drei Proben der Verdünnungsreihe C mit einer einzigen Eichgerade beschreiben zu können, wurde die Probe C3 mit der kleinsten Steigung als Bezugsmessung ausgewählt. Im Bezug auf die Gl. 6.15 im Abschnitt 6.1.3 lassen sich die neuen Streulichtintensitätswerte der übrigen Proben umrechnen. Abb. 6.3.5 zeigt, dass diese Korrektur zu einer Beschreibung der Verdünnungsreihe der vier Proben mit einer einzigen Eichgerade führt.

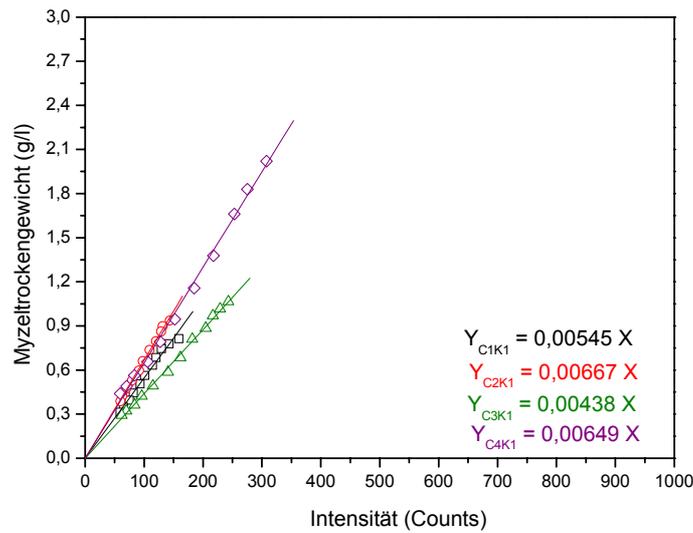


Abb. 6.8.7. Eingestellte Myzeltrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) von vier Proben einer Vorkultur im 5 l Maßstab von *Favolaschia* sp. 87129 nach 72 h (C1, 0.60 g/l, \square), 96 h (C2, 0.66 g/l, \circ), 120 h (C3, 0.84 g/l, \triangle) und 144 h (C4, 1.67 g/l, \diamond). Nach der ersten Korrektur, d.h. nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

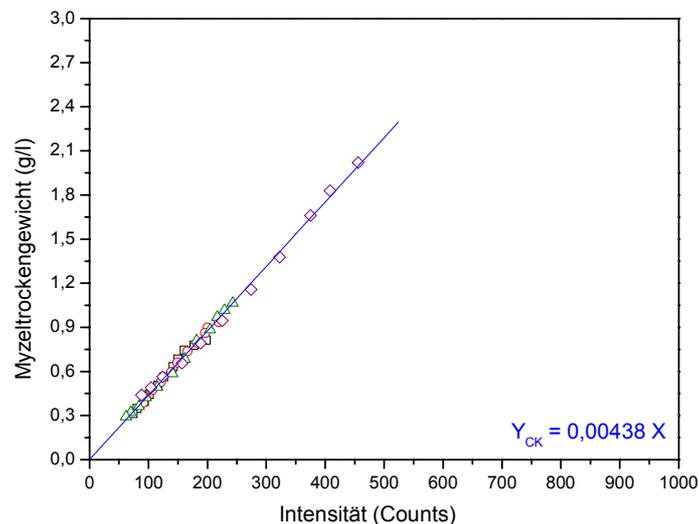


Abb. 6.8.8. Eingestelltes Myzeltrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) von vier Proben einer Vorkultur im 5 l Maßstab von *Favolaschia* sp. 87129 nach 72 h (C1, 0.60 g/l, \square), 96 h (C2, 0.66 g/l, \circ), 120 h (C3, 0.84 g/l, \triangle) und 144 h (C4, 1.67 g/l, \diamond) am Ende der Korrekturen.

7. Fehlerbetrachtung

7.1. Fehlerbetrachtung der Streulichtmessungen an den untersuchten Pilzen

Physikalische Messungen sind immer mit Fehlern behaftet. Es stellt sich daher an dieser Stelle die Frage, inwieweit die im Kap. 6 erstellten Eichgeraden für die Bestimmung des MTG aus Streulichtmessungen aussagefähig sind. Die Fehler der Streulichtmessungen resultieren einmal aus Gegebenheiten der Apparatur wie der Schwankung der Intensität der Lichtquelle und dem Schrotrauschen des Detektors. Zum anderen können sich Schwankungen aus den Vorgängen im Fermenter ergeben, wie z.B. die durch das Rühren im Fermenter, das zu einer nicht gleichmäßigen Bewegung der Myzelteilchen führt. Zur Bestimmung des statistischen Fehlers der Intensitätsmessung wurden während aller Fermentationen der sieben untersuchten Pilze und der drei Verdünnungsreihen des Pilzes Basidiomycet *Favolaschia* 87129 für jeden Messpunkt bei einer gegebenen konstanten Trockengewichtsmasse 5 bis 10 aufeinander folgende Streulichtintensitäten gemessen und daraus jeweils der Mittelwert bestimmt. Als Fehlermaß wird für jede Messung die Standardabweichung

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_i (I_i - \bar{I})^2}{n - 1}} \quad (7.1)$$

berechnet, wobei I_i die experimentell bestimmte Streulichtintensität und \bar{I} die mittlere Intensität darstellt. n ist die Anzahl der Messwerte. In Tab. 7.1.1 sind die Mittelwerte der prozentualen Standardabweichungen $(\sigma \cdot 100) / \bar{I}$ der Streulichtintensitäten zusammengestellt. Bei den Fermentationen liegt der Fehler zwischen 1.6 % und 2.9 %, bei den Verdünnungsreihen zwischen 1.3 % bis 1.9 %. Die Fehler bei der Verdünnungsreihen sind kleiner als die Fehler der Fermentationen. Der Grund liegt darin, dass die Wände des für die Verdünnungsreihen verwendeten Gefäßes mit der Form eines „Hornes“ (Abschnitt 4.2.1) sehr wenig Licht reflektieren (Lichtfalle).

Tab. 7.1.1. Mittelwerte der prozentualen Standardabweichung der Messung der Streulichtintensität.

Pilz	Prozentualer Fehler der Streulichtintensität (%)
Deuteromycet 273-95 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	2.9
Ascomycet A17-99 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	1.9
Ascomycet (Discomycet) <i>Ascobolus immersus</i> D01002 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	1.5
Endophyte E99043 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	2.9
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	2.2
Basidiomycet <i>Irpex</i> 95282 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	1.6
Basidiomycet <i>Panaeolus</i> 96026 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	1.8
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Verdünnungsreihe A 200 l Fermenter)	1.4
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Verdünnungsreihe B 5 l Kolben)	1.9
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Verdünnungsreihe C 5 l Kolben)	1.3

7.2. Fehlerbetrachtung der Bestimmung des Myzeltrockengewichts von untersuchten Pilzen

Der wesentliche Fehler des gravimetrisch bestimmten Trockengewichts (MTG) wird durch die Art der Probenziehung aus dem Fermenter bestimmt. Über der am Fermenterboden befindlichen Öffnung, durch die die Probennahme erfolgt, ist die Verteilung des Myzels nicht immer homogen, so dass sich die aus dem Fermenter geholte Probenmenge, bestehend aus Myzel und Fermentationsbrühe, nicht immer als gleich erweist. Um eine repräsentative Probe zu erhalten, wurde für das MTG-Bestimmung eine 100 ml Probe abgezogen. Trotzdem treten immer wieder Schwierigkeiten bei dem Abziehen der Proben auf, da bei filamentösen Pilzen große Pellets gebildet werden, deren Durchmesser größer sind als der Durchmesser der Öffnung, durch die die Probe entnommen wird. Die Bestimmung des Probenvolumens und die Wägung der getrockneten Filterpapiere, die geringere Fehler verursachen, werden deshalb nicht in den Fehlerberechnungen behandelt. Der Standardfehler wird im Arbeitskreis von

Professor Anke mit 2-3 % [26] angegeben. Insgesamt hat man die Situation, dass der Fehler der Streulichtintensität kleiner als der Fehler der Bestimmung der MTG ist. Vereinfachend kann deshalb für einige Diskussionen die Streulichtintensität als fehlerfrei angesehen werden.

Eine andere Möglichkeit, den Fehler der Messungen direkt zu bestimmen, ergibt sich aus der Anpassung der Eichgerade. Das Prinzip heißt "Methode der kleinsten Quadrate". Bei der linearen Regression ergibt sich der Fehler der Steigung der Gl. 7.1 zu

$$B = \frac{\overline{I \cdot MTG} - \bar{I} \cdot \overline{MTG}}{\overline{I^2} - \bar{I}^2} \quad (7.1)$$

und der des Achsenabschnitts, zu

$$A = \frac{\overline{I^2 MTG} - \bar{I} \cdot \overline{I \cdot MTG}}{\overline{I^2} - \bar{I}^2}, \quad (7.2)$$

wobei der Querstrich über einer Größe anzeigt, dass es sich hier um den entsprechenden Mittelwert handelt. Die Standardabweichung für die Anpassung einer Geraden ist als Summe der Quadrate der Abweichung des $MTG_{\text{experimentell}} - MTG_{\text{gerechnet}}$ dividiert durch $n - 2$ definiert. Der berechnete MTG-Wert ergibt sich aus der Regressionsgeraden Gl. 6.1. Die Standardabweichung wird wie folgt berechnet,

$$SA = \sqrt{\frac{\sum_i (MTG_i - BI_i)^2}{n - 2}} \quad (7.3)$$

Um die Güte dieser Anpassung zu überprüfen, wird die Abweichung der experimentell erhaltenen MTG-Werte von den mittels der Eichgerade berechneten MTG-Werten (BI_i) bestimmt. Die jeweils ermittelten Regressionsparameter, d.h. die Steigungen mit den absoluten und relativen Fehlern, die Standardabweichungen mit den mittleren prozentualen Fehlern ($SA \cdot 100 / MTG_{\text{gerechnet}}$) und die Korrelationskoeffizienten für die Fermentationen und die Verdünnungsreihen sind in Tab. 7.2.1 zusammengestellt. Die Werte der Korrelationskoeffizienten R und die der Standardabweichungen zeigen, dass sich das MTG der untersuchten Pilze sowohl für den Fermentationsprozess als auch für die

Verdünnungsreihen als eine lineare Funktion der Streulichtintensität beschreiben lässt. Die Frage an dieser Stelle ist, wie groß die Abweichung der experimentellen Messpunkte des MTGs von der gerechneten Gerade ist.

Die Genauigkeit der Steigungen der MTG-Bestimmung (ΔB % Tab. 7.2.1) weist sowohl bei den Fermentationen als auch bei den Verdünnungsreihen der untersuchten Pilze einen Wert von weniger als 2 % auf. Bei der Fermentation des Pilzes Basidiomycet 96026 wurde eine große Steigung (916.1 ± 13.4) berechnet, d.h. obwohl das MTG während der Fermentation zugenommen hat, ist die Intensität fast konstant geblieben. Der Grund dafür könnte, wie im Abschnitt 6.1.2 erwähnt wurde, in der Abnahme der Intensität der Lampe liegen. Trotz dieser größeren Steigung im Vergleich zu denen der übrigen Pilze ist die Genauigkeit der Steigungskoeffizienten (1.5 %) mit denen der anderen Pilze vergleichbar. Wie bei den Streulichtmessungen beträgt bei den Verdünnungsreihen der kleinste relative Fehler der Steigung 0.5 %. Ein vergleichbarer Wert (0.6 %) zeigt sich bei der Fermentation des Pilzes Ascomycet A17-99.

Die Standardabweichung liegt bei den Fermentationen der sieben untersuchten Pilze zwischen 0.09 g/l und 0.42 g/l und bei den Verdünnungsreihen zwischen 0.02g/l und 0.05 g/l. Der größte Wert der Standardabweichung (0.42 g/l) zeigt sich bei der Fermentationen des Pilzes Discomycet D01002, der, wie schon in Abschnitt 6.3.1 erwähnt wurde, in den Einzelmessungen schon ganz deutlich mit starken Fehlern behaftet war. Der Mittelwert der prozentualen Standardabweichung liegt zwischen 3-8 % bei den Fermentationen und bei den Verdünnungsreihen zwischen 3-5 %. Durch eine lineare Anpassung können aus den Parametern der Geraden für alle untersuchten Pilze die MTG-Werte mit einem Fehler von etwa 5 % bei der Fermentationen und etwa 4 % bei der Verdünnungsreihen bestimmt werden. Diese Werte zeigen, dass das MTG der Fermentationen und der Verdünnungsreihen der untersuchten Pilze durch Streulichtmessungen mit einem Fehler, der der gravimetrischen Methode entspricht, bestimmt werden kann.

Tab. 7.2.1. Fehler der Steigungen und der Regressionskoeffizienten der MTG-Bestimmung mit Hilfe der Streulichtmessung.

Pilz	$(B \pm \Delta B) \times 10^4$	ΔB (%)	SA g/l	SA (%)	R
Deuteromycet 273-95 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	87.5 ± 1.5	1.7	0.30	6.7	0.98
Ascomycet A17-99 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	165 ± 1	0.6	0.16	3.3	0.99
Ascomycet (Discomycet) <i>Ascobolus immersus</i> D01002 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	189.5 ± 3	1.6	0.42	7.4	0.98
Endophyt E99043 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	78.3 ± 0.9	1.2	0.23	5.3	0.99
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	42.7 ± 0.8	1.9	0.09	5.3	0.99
Basidiomycet <i>Irpex</i> 95282 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	136.4 ± 1.1	0.8	0.11	4.3	0.99
Basidiomycet <i>Panaeolus</i> 96026 (Fermentation A und B in 10 l Maßstab)	916.1 ± 13.4	1.5	0.27	5.7	0.99
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Verdünnungsreihe A 200 l Fermenter)	34.1 ± 0.2	0.5	0.02	4.1	0.99
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Verdünnungsreihe B 5 l Kolben)	69 ± 0.8	1.2	0.05	4.1	0.99
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> sp. 87129 (Verdünnungsreihe C 5 l Kolben)	43.8 ± 0.2	0.5	0.02	3.1	0.99

An dieser Stelle soll zusätzlich noch einmal überprüft werden, ob die prozentuale Standardabweichung bei der Streulichtmethode von der MTG-Konzentration abhängt. Da eine einzige Gerade über die Messpunkte aller Fermentationen und Verdünnungsreihen berechnet werden konnte, konnten die Messpunkte mehreren MTG-Konzentrations-Intervallen zugeteilt werden und dann die Standardabweichung für jedes Intervall gemäß der Gl. 7.3 berechnet werden. Die Messpunkte wurden also sowohl für die Fermentationen als auch für die Verdünnungsreihe in sechs MTG-Konzentrations-Intervalle aufgeteilt. In Tab. 7.2.2 ist das Ergebnis zusammengestellt. In beiden Fällen steigt die Standardabweichung mit der Konzentration. Der Mittelwert der prozentualen Standardabweichung beträgt bei Fermentationen ca. 6 % und bei der Verdünnungsreihen ca. 4 %. Diese Werte sind mit denen der Einzelauswertungen bei den einzelnen Pilzen vergleichbar. Schließt man das kleinste (0–1.9 g/l) und das größte (6–10.9 g/l) MTG-Konzentrations-Intervall bei den Fermentationen und das Intervalle (0.3–0.39 g/l) bei den Verdünnungsreihen aus, in denen größere Abweichungen zu sehen sind, kann man sagen, dass die prozentuale Standardabweichung

unabhängig von der MTG-Konzentration ist. Die Werte der prozentualen Abweichungen sind mit denen der einzelnen Pilzen vergleichbar.

Tab. 7.2.2. Standardabweichungen für Konzentrationsintervalle des MTGs für die Streulichtmethode.

MTG- Konzentration (g/l) Fermentationen	SA (g/l)	SA (%)	MTG- Konzentration (g/l) Verdünnungsreihen	SA (g/l)	SA (%)
0–1.9	0.14	8.1	0–0.29	0.01	4.1
2–2.9	0.19	7.5	0.3–0.39	0.02	5.7
3–3.9	0.23	6.6	0.4–0.49	0.02	4.4
4–4.9	0.19	6.5	0.5–0.69	0.03	4.8
5–5.9	0.36	6.1	0.7–0.99	0.03	3.5
6–10.9	0.29	3.6	1–2	0.05	3.4

Die Fehlerberechnung bestätigt, dass sich die Streulichtintensität mit einem Fehler von 1-3 % belegen lässt, wenn man die Messpunkte durch eine lineare Anpassung der MTG(I)-Kurven beschreibt. Die Standardabweichung der MTG-Bestimmung bei einzelnen Fermentationen der sieben Pilze beträgt zwischen 0.09–0.42 g/l. Dies ergibt einen Mittelwert von ± 0.23 g/l. Für den in dieser Arbeit untersuchten Konzentrationsbereich (0-11 g/l) beträgt die prozentuale Standardabweichung im Mittel um 5 %. Dieser Wert ist mit den in der Literatur angegebenen Werten zu vergleichen. Dochnahl [9] und Ge [7] haben eine detaillierte Berechnung der Fehler der gravimetrischen Methode durchgeführt. Als Fehlermaß haben sie den Standardfehler der Voraussage s_{xy} (SA in unsere Arbeit) gewählt. In der Arbeit von Dochnahl beträgt der Standardfehler der Voraussage ± 0.206 g/l, ermittelt aus vier Fermentationen des Pilzes *Crinipellis stipitaria* JK 364 für einen Konzentrationsbereich von (0–3.5 g/l). Es ergibt sich ein Mittelwert von ± 1.6 g/l für einen Konzentrationsbereich von (0 - 60 g/l) in der Arbeit von Ge [7], ermittelt aus drei Fermentationen vom *Saccharomyces cerevisiae* N.N. A11339-3. Dochnahl und Ge haben dann den Fehler bei der gravimetrischen Methode mit ± 0.2 g /l angegeben, während Defren [26] ohne ausführliche Aussage einen prozentualen Fehler von 2 % angibt, der scheinbar durch eine Abschätzung der Fehler der einzelnen Operationen bei der MTG-Bestimmung berechnet wurde.

Zusammenfassend ergibt sich damit, dass der Fehler des MTGs bei der Streulichtmethode unter den vorliegenden Bedingungen und im mittleren Konzentrationsgebiet des MTGs um 5% liegt, was dem Fehler der gravimetrischen Methode zur Trockengewichtsbestimmung entspricht.

8. Diskussion der Ergebnisse

8.1. Analyse der Streulichtmessungen zur Trockengewichtsbestimmung bei der Fermentation von Pilzen

Im Abschnitt 6 wurde die Bestimmung von Myzeltrockengewichten über Streulicht-/diffuse Reflexions-Messungen von Pilzen ausführlicher dargestellt und im Einzelnen diskutiert. Zur Untersuchung wurden sieben (7) Pilze ausgewählt, deren biologisch aktive Metabolite aus der Fermentation bekannt sind. Wie in Abschnitt 5.3.1 dargestellt, wurden die Pilze nicht nach der Qualität und Bedeutung ihrer Metabolite ausgewählt, sondern wegen ihrer spezifische Morphologie. Nach der Korrektur der Apparate-spezifischen Einflüsse ergibt sich ein linearer Zusammenhang zwischen Streulichtintensität und dem Myzeltrockengewicht. Es zeigt sich, dass unabhängig vom speziellen Verlauf der MTG-Zeitkurve dieser lineare Zusammenhang immer gewährleistet ist. Die Abb. 8.1.1–8.1.7 zeigen noch einmal die Ergebnisse für jeden untersuchten Pilz, wobei hier in den Kurven die Messfehler durch Fehlerbalken dargestellt werden. Es ergibt sich ein vertikaler und ein horizontaler Fehlerbalken, da sowohl der MTG-Bestimmung als auch der Streulichtintensitätsmessung ein Fehler zugewiesen wurde.

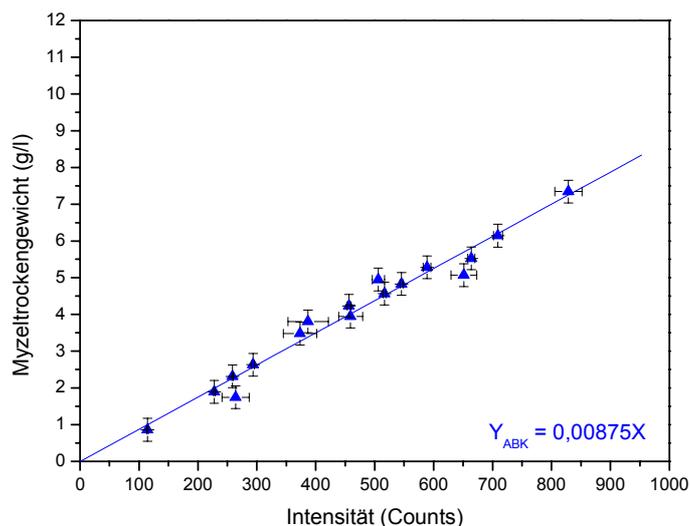


Abb. 8.1.1. Myzeltrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für zwei Fermentationen des Deuteromyceten 2743-95 nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

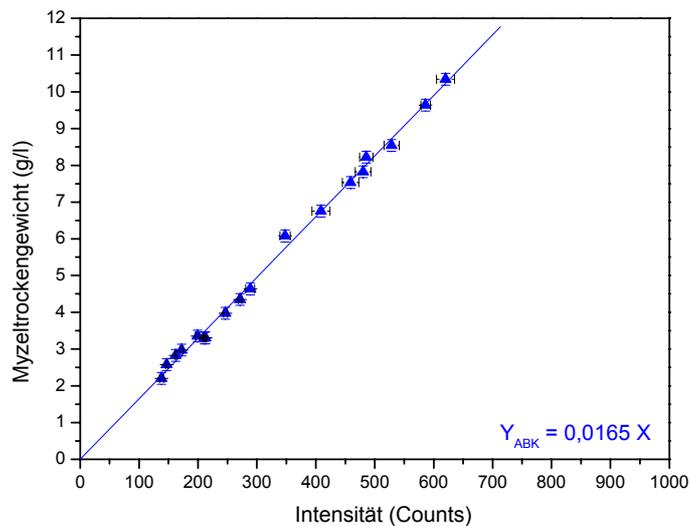


Abb. 8.1.2. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für zwei Fermentationen des Ascomyceten A17-99 nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

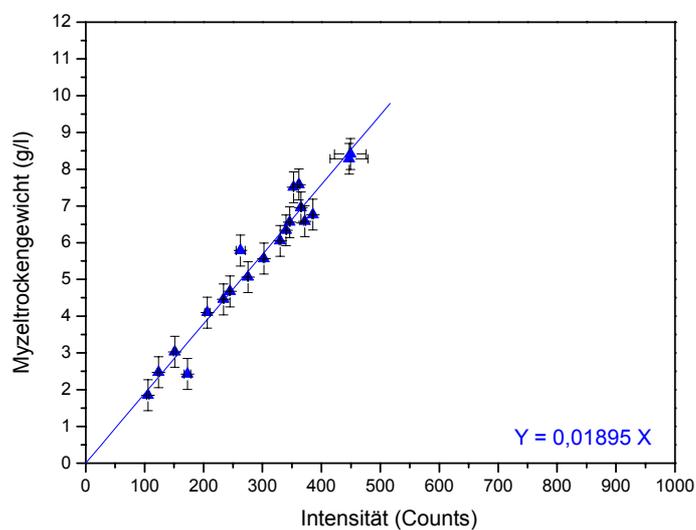


Abb. 8.1.3. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für zwei Fermentationen des Discomyceten (Discomyceten) D01002 nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

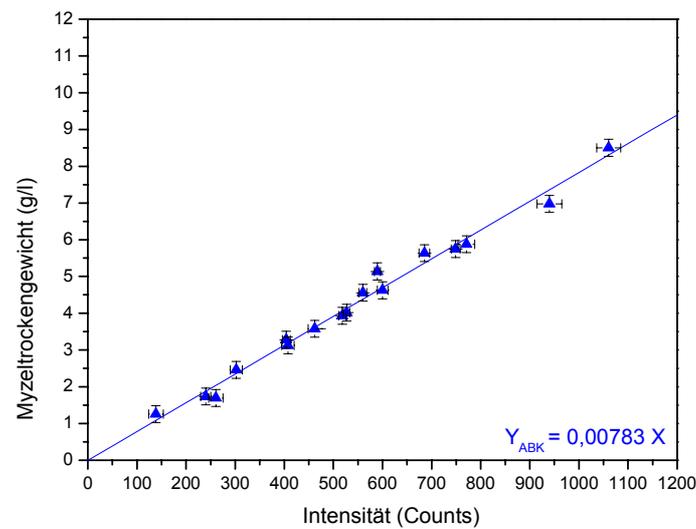


Abb. 8.1.4. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für zwei Fermentationen des Endophyten E99043 nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

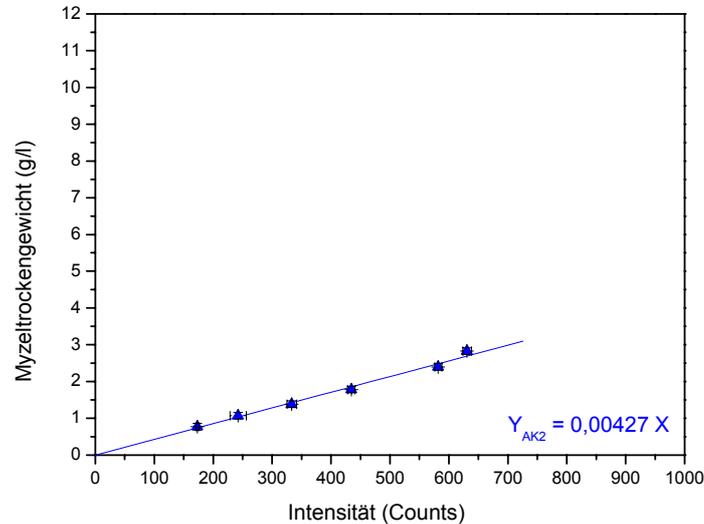


Abb. 8.1.5. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für eine Fermentation von *Favolaschia* sp. 87129 nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten. Hier ist das Ergebnis einer einzelnen Messung dargestellt. Eine zweite unabhängige Kontrollmessung und der Vergleich zu den vorherigen Messungen sind aus technischen Gründen in Anhang 10.4 dargestellt.

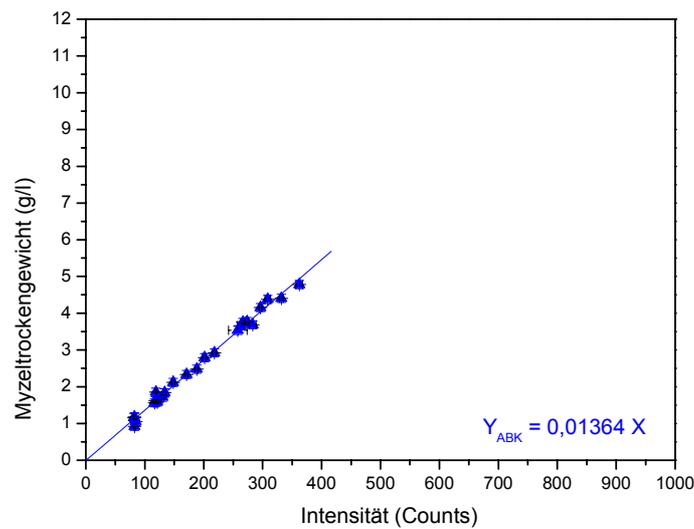


Abb. 8.1.6. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für zwei Fermentationen des Basidiomyceten *Irpex 95282* nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

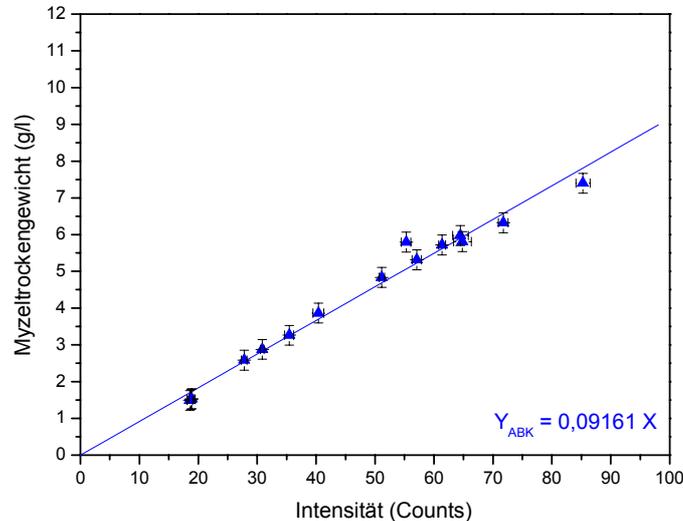


Abb. 8.1.7. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für zwei Fermentationen des Basidiomyceten *Panaeolus 96026* nach alle Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

Zum besseren Vergleich sind in Abb. 8.1.8 alle Ergebnisse noch einmal zusammengestellt. Hierzu ist zu bemerken, dass bis auf einem Fall alle Fermentationen zweimal durchgeführt wurden und dass dabei oft unterschiedliche Steigungen erhalten wurden. Diese Unterschiede

waren in der Größenordnung von 42 %, 19 %, 100 %, 34 %, 13 %, und 17 % und wurden auf unterschiedliche Einstrahlungsintensitäten bei der Streulichtmessung zurückgeführt und dementsprechend korrigiert. Abb. 8.1.8 zeigt, dass alle Fermentationen von verschiedenen Pilzen unterschiedliche Steigungen erhalten. An dieser Stelle stellt sich die Frage, warum hier zwischen den verschiedenen Pilzen unterschiedlichen Steigungen gefunden werden. Im Vergleich sind die Verhältnisse der Steigungen der Geraden bezogen auf dem Pilz A17-99 (Abben 8.1.1 bis 8.1.7) wie folgt 0.53, 1.0, 1.15, 0.47, 0.30, 0.83 und 5.6. Liegen die Ursachen der unterschiedlichen Steigungen bei Fermentationen von verschiedenen Pilzen wie bei den Fermentationen des gleichen Pilzes auch in verschiedenen verwendeten Anregungsintensitäten? oder spielt hier auch die unterschiedlichen Morphologie des Myzels, wie sie sich in Abschnitt 6.1.2 darstellt, eine wesentliche Rolle? Es fällt auf, dass die Pilze Ascomyceten A17-99 und *Ascobolus immersus* D01002, die zur gleichen Klasse gehören, vergleichbare Steigungen ausweisen, während bei den Basidiomyceten *Favolaschia* 87129, *Irpex* 95282 und *Panaeolus* 96026 die Steigungen deutlich unterschiedlich sind. Die Pilze Endophyt E99043 und Deuteromycet 273-95, die sehr schnell wachsen und deswegen eine kurze Lag-Phase (weniger als 30 Stunden) besitzen, zeigen vergleichbare Steigungen.

Bei der Analyse dieser Frage kann man wieder versuchen, die Eichkurven für die verschiedenen Pilze durch einen linearen Faktor analog zur Korrektur verschiedener Anregungsintensitäten aufeinander abzubilden. Die Fermentation des Pilzes Ascomycet A17-99, die den kleinsten Wert sowohl für den prozentualen Fehler der Steigung (0.6 %) als auch für die prozentuale Standardabweichung (3.3 %) aufweist, wurde als Bezugsmessung verwandt. Anhand der Gl. 6.1.5 resp. Gl. 6.16 (siehe Abschnitt 6.1.3)

$$b_A I_A = b_B I'_A (I_{0B}) \quad (6.15)$$

$$I'_A = \frac{b_A}{b_B} I_A \quad (6.16)$$

wurden dann die neuen Streulichtintensitäten der Fermentationen der übrigen Pilze berechnet. Diese Gl. 6.15 resp. Gl. 6.16 erlauben, dann die Intensität I'_A , wenn der Fermenter A mit der Intensität I_{0B} der Fermenter B gemessen worden wäre, zu berechnen.

Die Abb. 8.1.9 und 8.1.10 zeigen die Ergebnisse der durchgeführten Umrechnung für alle untersuchten Pilze. Entsprechend der im Abschnitt 6.1.3 entwickelten Umrechnung ergibt sich, dass mit allen durchgeführten Fermentationen der verschiedenen Pilzen trotz unterschiedlichem Wachstum eine einzige Eichkurve erhalten werden kann. Die unterschiedliche Morphologie des Myzels könnte auch die Intensitätsveränderungen verursachen. In der Arbeiten von Koch [19] bei Bakterien und Dochnahl [9] bei filamentösen Pilzen wurde gezeigt, dass die Streulichtintensität proportional zur Trockenmasse unabhängig von der vorliegenden Größenverteilung ist. Dieser Schluss bedarf aber weiterer Untersuchungen über die Basis einer Theorie, die das Streulichtverhalten von filamentösen Pilzen beschreiben könnte.

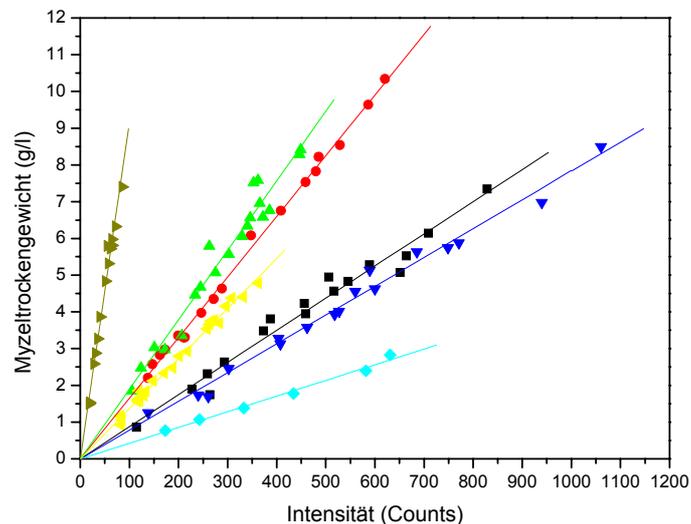


Abb. 8.1.8. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Fermentationen von sieben Pilzen [Deuteromycet 273-95 (■), Ascomyceten A17-99 (●) und *Ascobolus immersus* D01002 (▲), Endophyt E99043 (▼), Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 (◆), *Irpex* 95282 (▼) und *Panaeolus* 96026 (▶)].

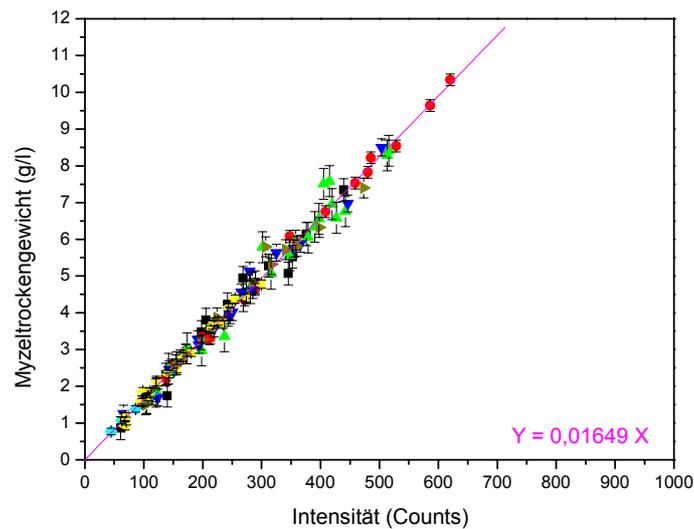


Abb. 8.1.9. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für je zwei Fermentationen von sieben Pilzen [Deuteromycet 273-95 (■), Ascomyceten A17-99 (●) und *Ascobolus immersus* D01002 (▲), Endophyt E99043 (▼), Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 (◆), *Irpex* 95282 (◀) und *Panaeolus* 96026 (▶)] nach allen Korrekturen.

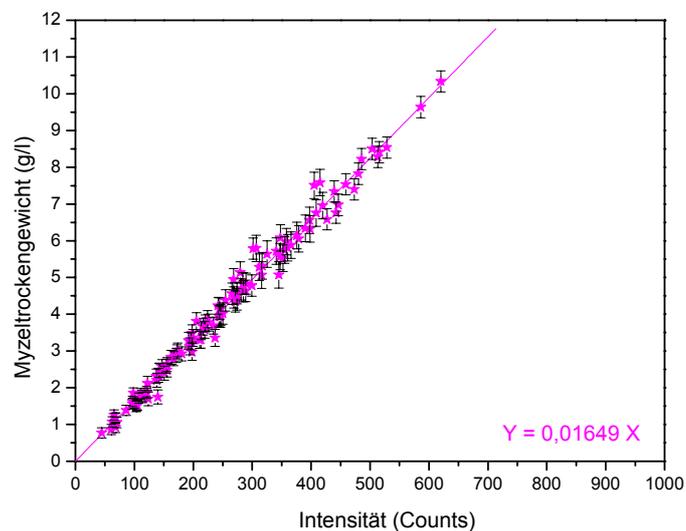


Abb. 8.1.10 Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für zwei Fermentationen von sieben Pilzen nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

8.2. Analyse der Streulichtmessungen zur Trockengewichtsbestimmung bei den Verdünnungsreihen des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129

Wie bei den Fermentationen ergibt sich nach der Korrektur der Apparate spezifischen Einflüsse ein linearer Zusammenhang zwischen Streulichtintensität und dem Myzeltrockengewicht bei den drei Verdünnungsreihen A, B und C. Die Abben. 8.2.1–8.2.3 zeigen noch einmal die Ergebnisse für jede Verdünnungsreihe, wobei hier in den Kurven die Messfehler durch Fehlerbalken dargestellt werden. Es ergibt sich ein vertikaler und ein horizontaler Fehlerbalken, da sowohl der MTG-Bestimmung als auch der Streulichtintensitätsmessung ein Fehler zugewiesen wurde.

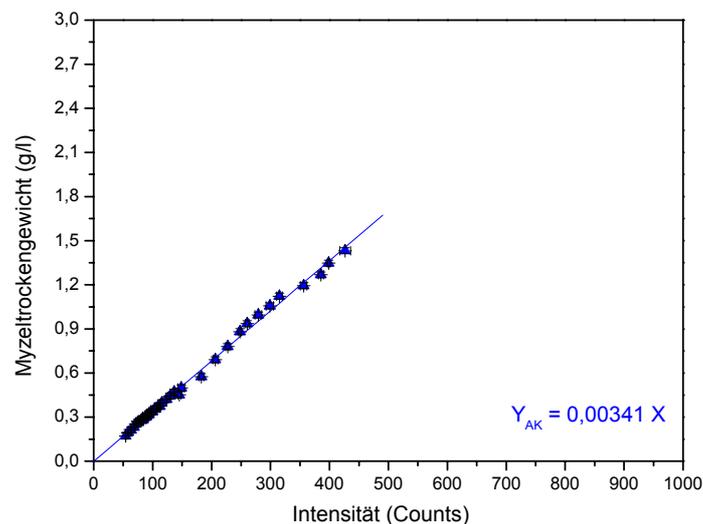


Abb. 8.2.1. Myzeltrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda = 580 \text{ nm}$) für die Verdünnungsreihe A des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 (Vorfermentation im 20 l Maßstab, Fermentation im 200 l Maßstab) nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

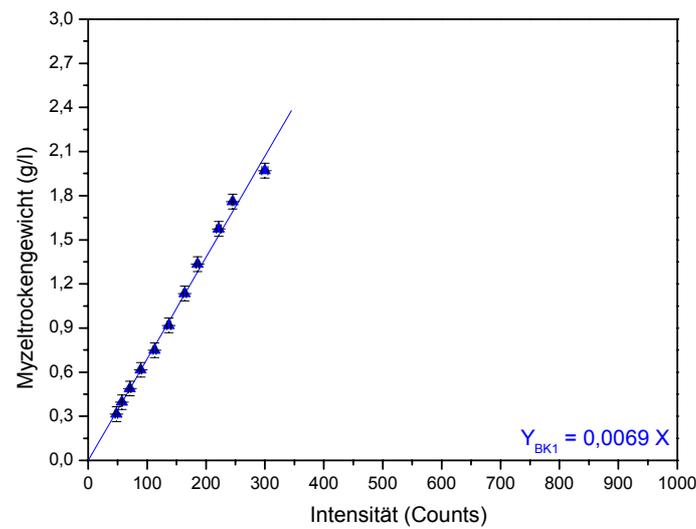


Abb. 8.2.2. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Verdünnungsreihe B des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 (Vorkultur im 5 l Maßstab) nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

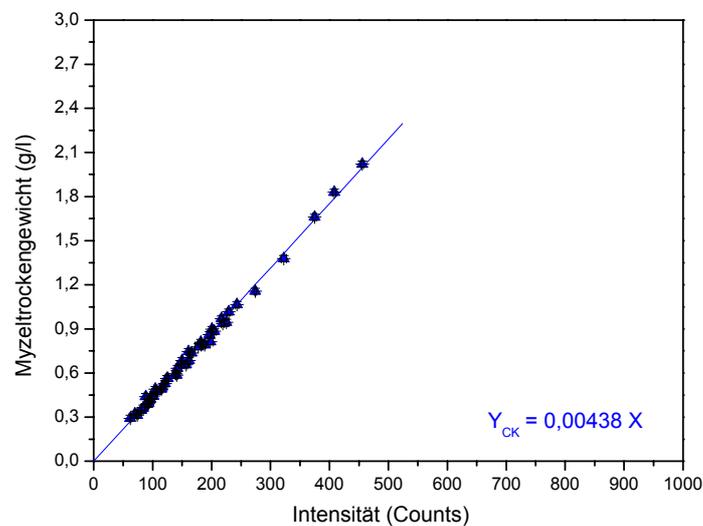


Abb. 8.2.3. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Verdünnungsreihe C des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 (Vorkultur im 5 l Maßstab) nach allen Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

Die Abb. 8.2.4 zeigt einen Vergleich des eingestellten Trockengewichts in Abhängigkeit der Streulichtintensität bei Wellenlänge $\lambda=580$ nm für die Proben der Verdünnungsreihen A, B

und C des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129. Wie schon erwähnt wurde, zeigt der Verlauf der Eichgeraden der drei Verdünnungsreihen einen linearen Zusammenhang zwischen Streulichtintensität und Myzeltrockengewicht. Der Unterschied zwischen den Steigungen der Proben der Verdünnungsreihe ist ungefähr der Faktor 2. Wie für die Fermentationen im Abschnitt 8.1, ist auch hier eine Korrektur durchzuführen, wobei die Eichgeraden der verschiedenen Verdünnungsreihen durch einen linearen Faktor analog zur Korrektur verschiedener Anregungsintensitäten aufeinander abgebildet werden sollen. Die Verdünnungsreihe A, die den kleinsten Wert der Steigung aufweist, wurde als Bezugsmessung verwandt. Anhang der Gl. 6.15 resp. Gl. 6.16 wurden dann die neuen Streulichtintensitäten der Verdünnungsreihen B und C umgerechnet. Die Abben. 8.2.5 und 8.2.6 zeigen die Ergebnisse der durchgeführten Umrechnung für alle untersuchten Pilzen. Entsprechend der im Abschnitt 6.1.3 entwickelten Umrechnung ergibt sich, dass mit allen durchgeführten Verdünnungsreihen trotz unterschiedlichem Wachstum eine einzige Eichkurve erhalten werden kann.

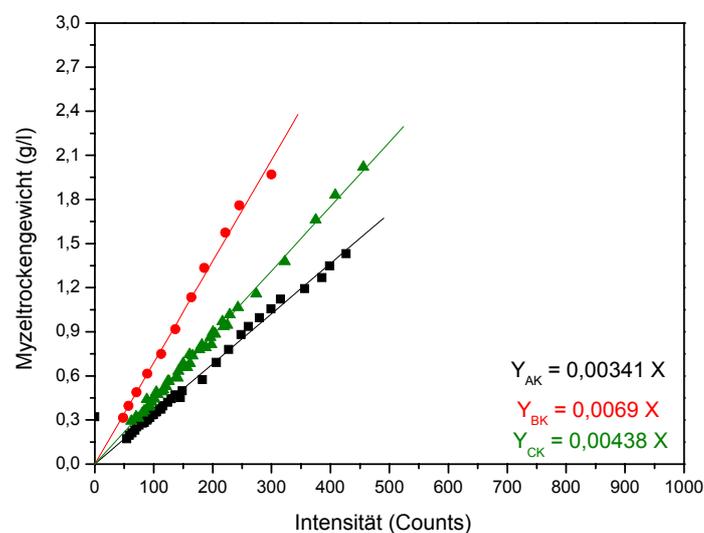


Abb. 8.2.4. Myzeltrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Verdünnungsreihen A (■), B (●) und C (▲) des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129.

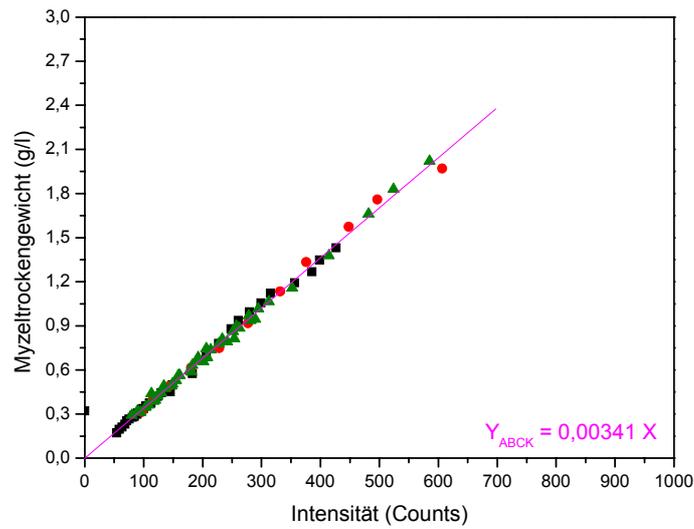


Abb. 8.2.5. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für die drei Verdünnungsreihen des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 nach allen Korrekturen.

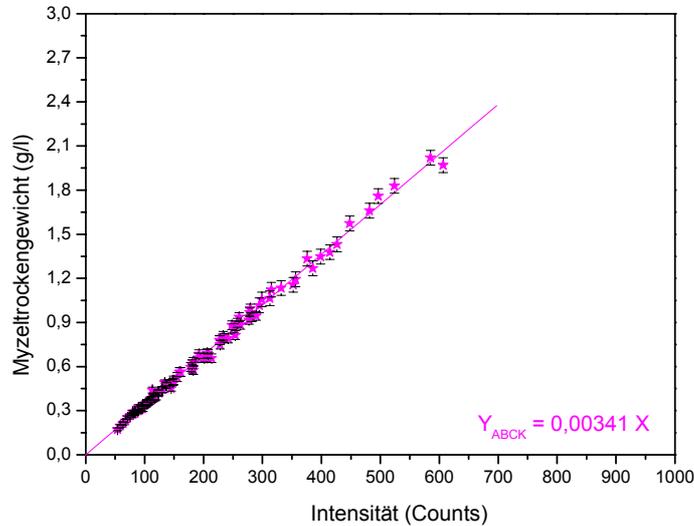


Abb. 8.2.6. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580 \text{ nm}$) für die drei Verdünnungsreihen des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129 nach alle Korrekturen und aufsteigenden Streulichtintensitäten.

8.3. Vergleich der Streulichtmessungen zur Trockengewichtsbestimmung bei Fermentation und Verdünnungsreihen des Basidiomyceten *Favolaschia* sp 87129

Um Aufschluss über die Unterschiede zwischen den Eichkurven für die MTG-Bestimmung im Off-line (Verdünnungsreihe) und On-line (Fermenter) -Verfahren zu bekommen, sind für den Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129 die beiden Eichkurven in Abb. 8.3.1 zusammengestellt. Die im Abb. 8.3.1 dargestellten Eichgeraden weisen keine große Unterschiede aus. Die geringen Steigungsunterschiede liegen im Bereich der Effekte, die bei der Messung mit verschiedenen Anregungsintensitäten I_0 erhalten werden. Eine weitergehende Diskussion ist daher nicht mehr sinnvoll.

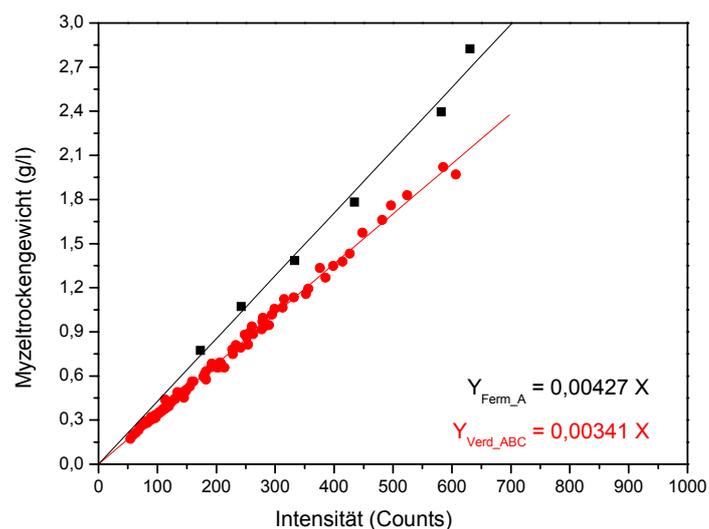


Abb. 8.3.1. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für Fermentation (■) und Verdünnungsreihen (●) des Basidiomyceten *Favolaschia* sp. 87129.

8.4. Methode zur MTG-Bestimmung über Streulichtintensitäten

Abschließend stellt sich an dieser Stelle die Frage, wie man eine MTG-Bestimmung über Streulichtmessungen durchführen sollte. Hierbei sind zwei Fälle zu unterscheiden, nämlich, ob die Intensität des einfallenden Lichtstrahl (I_0) mit dem Optometer oder ganz allgemein

unabhängig mitgemessen werden kann oder nicht. In der folgenden Darstellung wird davon ausgegangen, dass die Intensitäten I_0 nicht gemessen werden kann.

Gemäß der Wachstumsgeschwindigkeit des zu untersuchenden Pilzes sollte man vor Beginn der Messungen abschätzen, wie lange die Fermentation dauern wird und daraus festlegen, in welchen zeitlichen Abständen Streulichtintensitäten aufgenommen werden sollen. Da die Messpunkte zu Beginn (Lag-Phase) und am Ende (stationäre Phase) der Fermentation mit großen Fehlern behaftet sind, sind diese Werte zur Erstellung einer Eichkurve nicht geeignet. Das Ende der Lag-Phase bzw. der stationären Phase lässt sich aus der Zeit-Kurve $I(t)$ erkennen, d.h. sie wird zuerst abfallen und dann am Ende der Lag-Phase wieder ansteigen. Das Ende der Fermentation erkennt man daran, dass $I(t)$ einen konstanten Wert einnimmt und dann häufig abfällt.

Direkt nach der Lag-Phase sollte man zwei MTG-Werte im kurzen Abstand nacheinander gravimetrisch bestimmen. Mit den dazu gemessenen $I(t)$ -Werten kann durch die zwei Punkte die Eichkurve abgeschätzt werden, d.h. eine Eichgerade gemäß Gl. 6.1 angepasst werden. Wenn diese Gerade nicht durch null geht, dann wird gemäß Gl. 6.2 die Reststreuung durch eine Parallelverschiebung der Geraden korrigiert. Damit hat man eine Eichgerade für die laufende Fermentation erhalten, die es erlaubt, für jede gemessene Streulichtintensität das Trockengewicht zu bestimmen.

Um die Methode zusätzlich zu überprüfen, kann man am Ende der exponentiellen Wachstumsphase nochmals einen MTG-Wert gravimetrisch bestimmen.

Die angewandte Methode gilt nur, wenn die Intensität I_0 während der Fermentation konstant bleibt. Schwierigkeiten könnte man erhalten, wenn unterschiedliche Morphologien des Myzels oder eine unterschiedliche Größenverteilung der Myzelteilchen der Pilze während des Fermentationsverlaufs auftreten und zu einem veränderten Streuverhalten führen. Dann könnte es sehr schwierig sein, eine einzige Eichgerade zu erstellen. Nach den bisherigen Erfahrungen treten die beiden hier genannten Probleme zumindest nicht häufig auf.

9. Zusammenfassung

Es sollte untersucht werden, ob das Myzeltrockengewicht filamentöser Pilze über optische Messungen bei Fermentationen von diesen Pilzen On-line bestimmt werden kann. Nach dem derzeitigen Wissenstand über On-line-Bestimmung war bisher über dieser Art nur wenig bekannt [9, 18]. Das in dieser Arbeit entwickelte Verfahren zugrunde liegende Methode beruht auf den Messungen der Lichtstreuung resp. einer diffusen Reflexion des Lichts an den Pellets des Myzels in einem Fermenter, die Durchmesser bis zu einigen Millimetern haben können.

Um im Routinebetrieb direkt an verschiedenen Fermentern arbeiten zu können, wurde ein Diodenarray-Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer aus den Labors der Physikalischen Chemie in die Labors der Biotechnologie gebracht, die insbesondere nicht abgedunkelt werden konnten. Deshalb wurde jeweils ein Aluminiumkasten für die Eichanordnung und einer zur Abdunklung des Fermenters gebaut. Mit diesen Kästen konnte die Erfassung von Fremdlicht während einer Messung vermieden werden. Dazu wurde zur Off-line-Eichung der Lichtstreuung/diffusen Reflexion ein Probengefäß in der Form eines „Hornes“ resp. der Form einer klassischen Lichtfalle [21] und ein dazu angepasstes Rührsystem entwickelt. Dadurch konnte für die externen Eichmessungen die Störung der Messungen durch Reflexionen an den Glaswänden des Probengefäßes und vom Rührsystem gegenüber der von Dochnahl beschriebenen experimentellen Anordnung um den Faktor 62 vermindert werden. Der Fehler bei kleinen Teilchenkonzentrationen wurde so reproduzierbar um mehr als 100 % verringert. Da das Diodenarray-Fluoreszenz- und Streulichtspektrometer aus einzelnen Komponenten besteht, gab es kein Handbuch für diese Apparatur. Aus diesem Grund wurde ein Handbuch für eine schnelle und einfache Nutzung der Apparatur erstellt (siehe Anhang 10.1).

Um eine qualitative Vorstellung für die Lichtstreuung/diffuse Lichtreflexion an sehr großen Teilchen in einem System zu erhalten, in dem die Anregung der Streuung und die Messung des Streulichts über ein und denselben Lichtleiter erfolgt, wurde in der neu entwickelten experimentellen Anordnung das Streulicht von Polystyrolteilchen der Firmen Duke Scientific Corporation und BASF mit einer den Pellets ähnlichen Größe untersucht. Insbesondere wurde bei diesen Polystyrolteilchen keine deutliche Wellenlängenabhängigkeit der Streulichtintensität gefunden, die mit Hilfe einer Theorie der Lichtstreuung erfasst werden

kann. Die hier erhaltenen Befunde sprechen dafür, dass zur quantitativen Darstellung der "gestreuten Lichtintensität" eine Theorie der diffusen Lichtreflexion an kleinen Teilchen verwandt werden sollte.

Bei den Fermentationen von 7 verschiedenen Pilzen wurde festgestellt, dass zu Beginn der Fermentation eine große Streulichtintensität auftritt, die auf unlösliche Medienbestandteile (Glucose, Hefeextrakt und Malzextrakt) zurückzuführen ist. Um den Zusammenhang zwischen MTG und Streulichtintensität zu verdeutlichen, wurde das Myzeltrockengewicht jeder Fermentation als Funktion der Streulichtintensität (I) mit Hilfe eines Polynoms dritten Grades angepasst. Bei dieser Auftragung deutete sich an, dass eine lineare Abhängigkeit Myzeltrockengewicht-Intensität über den gesamten Messbereich nicht erhalten werden kann. Allerdings könnte man feststellen, dass sich das übliche Bild, nämlich gute Korrelation in der exponentiellen Wachstumsphase zeigt.

Die erhaltenen MTG(I)-Kurven zeigen unterschiedliche Verläufe. Insgesamt ergibt sich folgendes Bild: Bei Messungen zu Beginn der Fermentationen sind die Pellets in ihrer Zahl so gering, dass die Verfälschungen der Streuungen aus dem Fermenter, den Glaswänden, den Metallstangen etc., nicht gut korrigiert werden können. D.h. die Messungen zu Beginn der Fermentation sind für eine Bestimmung des Trockengewichtes nicht zuverlässig verwendbar. Es zeigt sich aber auch, dass Messungen am Ende der Fermentation ausgeschlossen werden müssen, da die hier gefundene Streulichtintensität nicht mehr mit dem Trockengewicht korrelierbar ist. Die Ursache dafür dürfte in der zu geringen Eindringtiefe des Anregungslichtes zu suchen sein, d.h. wachsendes Myzeltrockengewicht dunkelt den Lichtleiter ab.

Nach dem Ausschließen der Messpunkte am Anfang und am Ende einer Fermentation kann das MTG bei den Fermentationen als lineare Funktion der Streulichtintensität beschrieben werden. Es zeigt sich aber, dass die dann gefundenen Streulichtgeraden für $I \rightarrow 0$ nicht durch Null gehen. Eine Reststreuung, die nicht von Myzeln stammten, sondern von der Apparatur, bleibt somit über den gesamten Fermentationsprozess nachweisbar. Durch eine Parallelverschiebung der Geraden konnte diese Reststreuung korrigiert werden. Weiterhin wurde gefunden, dass die erhaltenen MTG (I)-Geraden für jeden neuen Fermentationsansatz verschiedene Steigungen zeigen. Der Unterschied in den Steigungen bei den verschiedenen Fermentationen des gleichen Pilzes konnte auf die Änderung der Anregungsintensität, bedingt

durch das jeweils erneute Zünden der Xenon-Hochdrucklampen und deren Altern, zurückgeführt werden. Mit einem linearen Ansatz für das Streuverhalten des Myzels konnte die Abhängigkeit der Lichtstreuung von der Anfangsintensität I_0 korrigiert werden. Hierdurch konnten die beiden Fermentationen des gleichen Pilzes in der Weise korrigiert werden, dass der Myzel-Zuwachs als Funktion der Lichtstreuung mit einer einzigen Eichgerade zu beschreiben ist.

Nach der Korrekturen bei jedem untersuchten Pilz wurde das Myzeltrockengewicht der sieben Pilze als Funktion der Streulichtintensität zusammengestellt. In dieser Darstellung zeigten die eingezeichnete Geraden unterschiedliche Steigungen. Obwohl diese Unterschiede wie bei den verschiedenen Fermentationen des gleichen Pilzes auf die Änderung der Anregungsintensität zurückgeführt und dementsprechend korrigiert wurden, bleibt trotzdem eine Unklarheit, da die unterschiedliche Morphologie des Myzels die Intensitätsveränderungen auch beeinflussen könnte. Gemäß der entwickelten Umrechnungen ergibt sich, dass mit allen durchgeführten Fermentationen der verschiedenen Pilze trotz unterschiedlichem Wachstum eine einzige Eichkurve erhalten werden kann.

In einer Arbeit von Koch [19] wurde bei Bakterien gezeigt, dass die Streulichtintensität proportional zum Volumen der Bakterien und nicht zur Bakterienanzahl ist. Die Analyse der Pelletgrößenverteilungen bei filamentösen Pilzen hat auch gezeigt, dass die Streulichtintensität proportional zum Myzeltrockengewicht unabhängig von der vorliegenden Größenverteilung ist. Trotz dieser Befunde bleiben die Ursachen der Intensitätsveränderungen bei der Fermentationen von verschiedenen Pilzen, d.h. die unterschiedlichen Steigungen im linearen Zusammenhang zwischen MTG und Intensität, ungeklärt.

10. Anhang

10.1. Diodenarray – Fluoreszenz- Streulichtspektrometer

10.1.1. Übersicht

Das Diodenarray –Fluoreszenz- Streulichtspektrometer ist eine modular aufgebaute Apparatur deren schematischer Aufbau in Abb. 10.1.1 dargestellt ist. Die wichtigsten Daten ihrer Komponenten sind in der Tab. 10.1.1 erfasst. Eine ausführliche Beschreibung der Eigenschaften der einzelnen Baugruppen ist in der Arbeit von R. Chenina [27] zu finden.

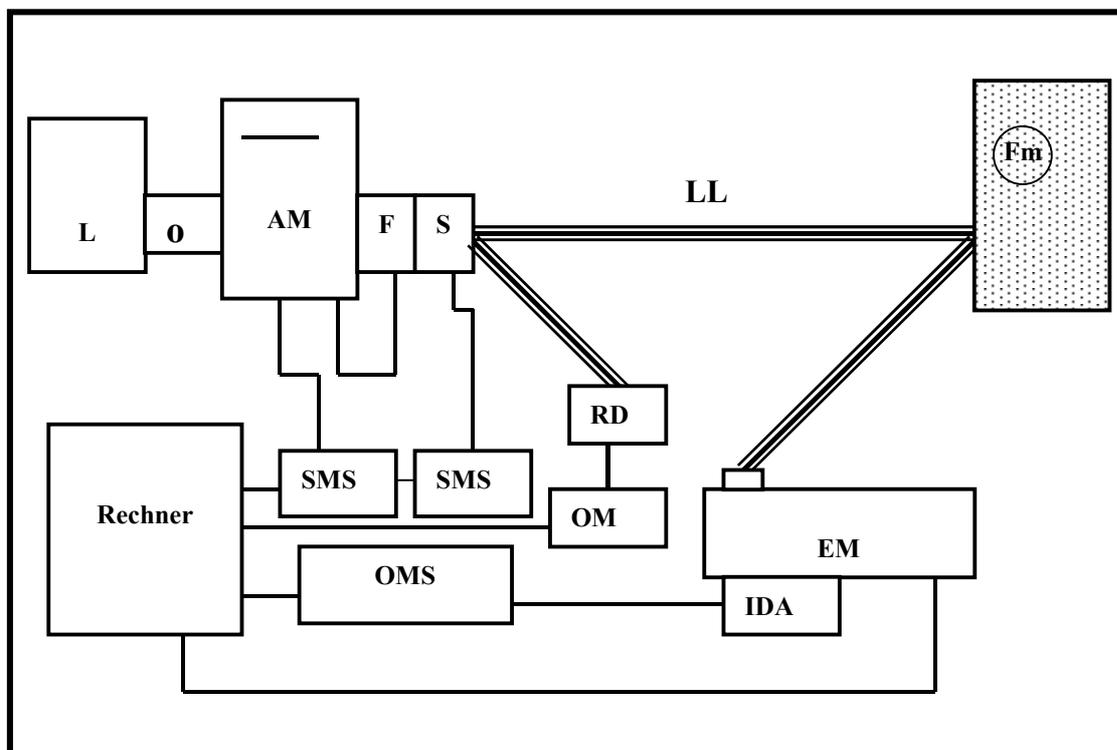


Abb.10.1.1.Schematischer Aufbau des Diodenarray-Fluoreszenzspektrometers. **L**: Lichtquelle mit Lampenversorgung; **O**: Optik (Kollimator); **AM**: Anregungsmonochromator; **F**: Filterrad; **S**: Shutter mit drei festen Einstellungen, nämlich „flächenförmig“, „punktförmig“ und „dunkel“; **LL**: Lichtleiter; **Fm**: Fermenter oder Probe; **RD**: Referenzphotodiode, durch einen Lichtleiter mit dem AM verbunden; **Rechner**: zur Datenerfassung und Auswertung; **EM**: Emissionsmonochromator; **IDA**: Intensiviertes Diodenarray; **OM**: Optometer; **OMS**: Steuereinheit des Diodenarrays; **SMS**: zwei

verschiedene Schrittmotorsteuerungen jeweils für Filter und Shutter für Fläche /Punkt /Dunkel-Stellung.

Tab.10.1.1. Wichtigste Daten der Komponenten des Diodenarray-Fluoreszenzspektrometers.

Lichtquelle	450 W Xenon-Hochdrucklampe (450 W/4)
Anregungsmonochromator: BENTHAM M300EA	Czerny-Turner-Aufbau (Brennweite = 300 nm, F/# = 4.2) mit holographischem Plangitter [1200 Linien/mm (2.7 nm/mm)]; Arbeitsbereich: 200 - 800 nm.
Lichtleiter	11 mm im Durchmesser. Aufgebaut als Sonderanfertigung aus 1000 statistisch verteilten Quarzfasern mit einem Durchmesser von 100 µm und einer Länge von 1,5 m gebündelten, in Querschnitt kreisrunden Fasern an den Enden. Punktförmige (Ø = 0.9 mm) und flächenförmige (Ø = 4.82 mm) Beleuchtung; Transmissionsbereich: 200 nm bis 800 nm.
Emissionsmonochromator: ACTON SPECTRAPRO™-275	Czerny-Turner-Aufbau (Brennweite = 275 nm, F/# = 3.8) mit 3 eingebauten Plangittern [300 Linien/mm (12 nm/mm), 1200 Linien/mm (3 nm/mm), 1800 Linien/mm (2 nm/mm)]; Transmissionsbereich: 200 - 800 nm.
Diodenarray: RETICON RL_RS 1024	1024 Dioden im OMS -Bildverstärker-Array-Detektor der EP&S Karger-Elektronik.

F/# = Öffnungszahl.

10.1.2. Inbetriebnahme

10.1.2.1. Einschalten der Apparatur

Um die einzelnen Operationen zum Einschalten der Apparatur darzustellen, wird die schematische Darstellung der Apparatur in Abb. 10.1.1 in das Blockschema Abb. 10.1.2 umgesetzt und durch entsprechende Steuerelemente ergänzt. Die Reihenfolge der einzelnen Elemente in Abb. 10.1.2 geben außerdem die Reihenfolge an, in der die einzelnen Elemente des Diodenarray-Fluoreszenzspektrometers eingeschaltet werden müssen.

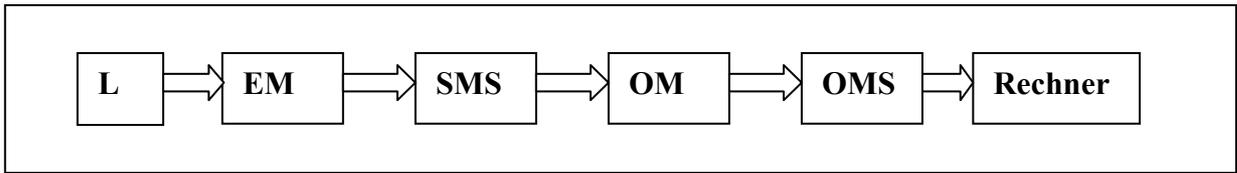


Abb.10.1.2. Reihenfolge des Einschaltens des Diodenarray-Fluoreszenzspektrometers. **L**: Lichtquelle mit Lampenversorgung; **EM**: Emissionsmonochromator; **SMS**: Schrittmotorsteuerungen **OM**: Optometer; **OMS**: Steuereinheit des Diodenarrays; **Rechner**.

10.1.2.1.1. Lampenversorgung (L)

- A Netzschalter „Ein“: die Stromanzeige erscheint und zeigt den Strom $i = 0.00$ an.
- B Startschalter „Ein“ (Zündungsknopf ca. 5 sec drücken). Hat die Lampe gezündet, dann zeigt die Stromanzeige den eingestellte Betriebsstrom an (in der Regel $i = 25$ A).

Hinweis

Überprüfen, ob der Ventilator läuft und die Luft abgesaugt wird (Ozon !).

Nach dem Drücken des Startschalters sollte normalerweise die Xenon-Lampe gezündet haben. Wenn das nicht den Fall ist, sollte man nicht den Startschalter nochmals für 5 sec oder länger drücken, sondern den Netzschalter ausschalten und frühestens nach 10 sec wieder einschalten und erneut zünden.

Nach einem „Kaltstart“ wird nach ca. 10 Minuten die Lampe ihre Betriebstemperatur erreicht haben und stabil brennen. Erst dann kann man mit der Messung beginnen.

10.1.2.1.2. Emissionsmonochromator (EM)

- A Netzschalter an der Stromversorgung des Emissionsmonochromators: „Ein“.

- B Netzschalter am Emissionsmonochromator: „Ein“ (tief drücken). Die Anzeige „Initializing“ erscheint.

Hinweis

Beide Netzschalter, der an der Stromversorgung und der am Emissionsmonochromator müssen auf „Eins“ stehen, damit der Monochromator in Betrieb ist.

Wenn im Monochromator während des „Initializing“ eine Funktion nicht ordnungsgemäß läuft, dann wird die Anzeige „ZERO NOT FOUND“ erscheinen. In diesem Fall sollte man den Monochromator ausschalten und wieder einschalten. Wenn dann die Anzeige „ZERO NOT FOUND“ wieder erscheint, sollte man sich auf Fehlersuche begeben und notfalls sich mit einem Kundendienst in Verbindung setzen (Wartungsfirmen für den Elektronikteil: EP&S Karger-Elektronik. Haidlfinger Moos 2 D-94522 Wallersdorf; ARC Acton Research Corporation P.O.Box 125, 525 Main Streetm Acton, MA 01720, USA).

Wenn ein Computer am „RS232 Port“ des Monochromators angeschlossen ist, ist der Monochromator auf eine externe Kontrolle durch den Computer eingestellt und die Tasten am Monochromator selbst sind nicht aktiv. Auf dem Display des Monochromators erscheint der Text von Abb. 10.1.3, wenn die „Initializing“ abgeschlossen ist.

WAVELENGTH = 200.0NM	
GRATING # 3	300G/MM
SCAN RATE =	100NM/MIN
COMPUTER CONTROL	

Abb.10.1.3. Fenster des Emissionsmonochromators nach dem „Initializing“.

10.1.2.1.3. Schrittmotorsteuerungen (SMS)

- A Die Netzschalter der beiden Schrittmotorsteuerungen (für Filter und für Shutter) auf „Ein“ stellen (Die Netzschalter befinden sich auf den Schrittmotorsteuerungen hinten rechts).

10.1.2.1.4. Optometer

- A Netzschalter „Ein“. Die Anzeige „Model S370“ erscheint am Optometer.
- B Startschalter „Ein“. Die Anzeige gibt die Stromstärke aus der Photodiode an, die proportional zur Intensität des Lichtstrahls aus dem Anregungsmonochromator mit der vorgegebenen Wellenlänge ist (keine Eichung Stromstärke/Intensität vorhanden).

10.1.2.1.5. Optical Multichannel System (OMS)

- A Netzschalter „Ein“.

10.1.2.1.6. Rechner (OMS Programm)

- A Rechner „Ein“.
- B Mit dem Befehl C:\Windows\oms das OMS Fenster aufrufen. Abb. 10.1.5 zeigt die graphische Oberfläche der OMS Programms.

10.1.2.2. Ausschalten der Apparatur

Damit die Apparatur ganz ausgeschaltet werden kann, sind die im Folgenden dargestellten Punkte zu beachten:

- A OMS-Programm: Verlassen (3.6 Verlassen vom OMS-Programm)
- B Die Geräte in umgekehrter Reihenfolge des Einschaltens abschalten (Abb. 10.1.4).

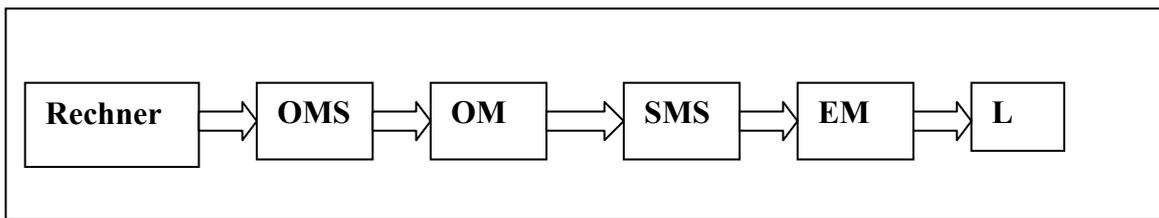


Abb.10.1.4. Reihenfolge des Ausschalten des Diodenarray-Fluoreszenzspektrometers: **Rechner**, **OMS**: Steuereinheit des Diodenarrays, **OM**: Optometer, **SMS**: Schrittmotorsteuerungen, **EM**: Emissionsmonochromator und **L**: Lichtquelle mit Lampenversorgung.

10.1.3. Ablauf einer Streulicht- bzw. Fluoreszenzmessung.

Bei der Streulicht- und Fluoreszenzmessung fallen Daten für die Intensität des gestreuten/emittierten Lichtes als Funktion der Wellenlänge/Wellenzahl an

$$I(\lambda) \text{ oder } I(\bar{\nu}),$$

die natürlich von der eingestrahlten Lichtintensität abhängig sind. Aufgrund der Zeitabhängigkeit der zu untersuchenden Systeme sind die erhaltenen Messgrößen zusätzlich Zeit-(t)- und Stoffmengen-(c)-abhängig

$$I(\lambda, t, c) \text{ oder } I(\bar{\nu}, t, c).$$

Eine Auswertung muss diese Abhängigkeiten entsprechend berücksichtigen können. Hinzu kommt, dass der vorliegende Messprozess im Rahmen dieser Abhängigkeiten gesteuert werden soll. Die zur automatischen Steuerung erforderlichen Größen sind für die Auswertung zu erfassen. Auch die Abhängigkeit der Messgrößen von Apparatekonstanten, die im Einzelnen hier nicht aufgeführt werden sollen, muss für die Auswertung erfasst werden. Damit wird für die Erfassung der Daten ein umfangreiches Softwaresystem zur Verfügung stehen. Das im Folgenden beschriebene Programmpaket für die Steuerung, die Datenerfassung und Auswertung wurde von der Firma Karger-Elektronik entwickelt.

10.1.3.1. OMS (Optical Multichannel System) –Programm

OMS –Software ist ein Programm, das in Verbindung mit den im OMS Steuereinheit befindlichen Hardware-Komponenten (Monochromatoren mit Filter und Shutter, Diodenarray, Bildverstärker, Rechner) die Steuerung des Prozesses erlaubt und die Messdatenübertragung (Streulicht- bzw. Fluoreszenzmessung) durchführt. Außerdem erlaubt es die Analyse und durch das direkte Anzeigen von Daten die sofortiger Kontrolle von Messergebnissen. OMS umfasst alle notwendigen Funktionen für die universelle Echtzeit-Messdatenerfassung. Die Intensität des Messsignals einer Streulicht- bzw. Fluoreszenzmessung über einen A/D Wandler in Counts ist für jede ausgelesene Photodiode des Diodenarrays (Pixel x-Achse) als y-Variable erfasst. Die x-Achse, d.h. der vom Diodenarray aufgenommenen spektrale Bereich wird linear bezüglich der Wellenlänge dargestellt. Die Intensität des Lichtes mit der am Emissionsmonochromator eingestellten Wellenlänge wird mit der 512. Photodiode des Diodenarrays (Pixel Nr. 512) gemessen. Die Eichung resp. die Zuordnung der Diodennummer zu den Monochromator- Einstellungen wird mit der Quecksilberniederdrucklampe derart justiert, dass die eingestellte Wellenlänge in die Mitte des Diodenarrays (Schwerpunkt), d.h. auf die Diode Nr. 512, fällt. Das OMS Programm erlaubt auch die Aufzeichnung der Intensität des „synchronen“ Fluoreszenzspektrums, d.h. eines Fluoreszenzspektrums, bei dem der Abstand zwischen der Anregungswellenzahl und der Emissionswellenzahl, d.h. die Energiedifferenz zwischen Anregungs- und Emissionslicht, konstant ist. Abb. 10.1.5 zeigt die graphische Oberfläche des OMS Programms.

10.1.3.1.1. Haupt – Menüzeile

Die Haupt–Menüzeile des OMS- Programms steht am oberen Bildrand des Grafikfeldes Abb.10.1.5 und stellt 9 Hauptmenüpunkte zur Auswahl:

SHEET: Dieser Hauptmenüpunkt umfasst alle Operationen zur Erstellung von Datenblättern. Ein Datenblatt kann von 4 bis 512 Datensätze (Eintragungen) bestehend aus jeweils 4 Datenkurven (z.B. Fluoreszenzmessungen von 4 verschiedenen Verbindungen) enthalten. Der Name der Datensätze kann max. 8 Zeichen lang sein und darf keine Sonderzeichen besitzen - auch keine Umlaute.

DATASET: Unter diesem Hauptmenüpunkt sind die Operationen zur Bearbeitung, wie save data, load data, delete data etc. von Datensätzen, z.B. $I(\lambda, t, c)$ oder $I(\bar{v}, t, c)$ zusammengefasst.

MODE: Über „Mode“ werden sechs Messbetriebsarten eingestellt, die sich zum einem aus der Erfassung von drei verschiedenartigen Messabläufen und zum anderen durch jeweils drei verschiedene Darstellungsmöglichkeiten der Ergebnisse der drei Messabläufe ergeben.

START: Startet und stoppt die 5 möglichen Betriebsarten mit der Maus über den Menüpunkt Start/Stop oder über die Funktionstaste F8.

CONFIG: Stellt die allgemeine Konfigurationen des Systems ein. Die Konfigurationen sind Einstellungen für die :

- Puffer- und Datenzuordnung,
- Fenstergröße und Fensteraufteilung,
- Dateivorgaben und Dateieinstellungen
- Dioden-Mustereingaben.

Diese Einstellungen können beim Verlassen des Programms abgespeichert werden, so dass die Einstellungen beim Neustart wieder erhalten sind.

Es stehen maximal 18 Puffer (Datensätze) zur Verfügung. Davon können 4 pro Fenster angezeigt werden, um Vergleiche zwischen verschiedenen Messungen zu ermöglichen. Alle von der OMS- Einheit kommenden Messinformationen werden in dem Datensatz DATA0 abgelegt, d.h. für die gewünschte Darstellung muss im richtigen Fenster der Puffer „DATA0“ eingeschaltet sein. Der zweite festgelegte Puffer „BS(0)“ kann nur für das Ablegen von Untergrunddaten verwendet werden, welche bei den Messungen vom Messsignal abgezogen werden, um damit Fehler zu vermeiden. Die Verknüpfung zu den anderen Datensätzen erfolgt anschließend über mathematische Operationen

CALIBRATE: Unter diesem Menüpunkt wird die x-Achse des Messfensters durch Eingabe von mindestens 2 Pixels (Eichwerte) kalibriert. Die Einheiten der Eichung werden im Menü „Values“ (Untermenü von CONFIG) erstellt und eingetragen. Die Eichwerte werden mit den Daten abgespeichert und beim Datenaufwurf erscheint wieder die dazugehörige Eichung. Die Option „Scale Auto“ bewirkt die automatische Anpassung der x-Achsenkalibrierung, wenn die

Wellenlängeneinstellung und die Gittersteuerung am Emissionsmonochromator geändert werden.

IM/EXPORT: Dieses Menü ermöglicht es Daten für den Export und Import nach und in andere Programme aufzubereiten. Mit Import werden Daten, die sich im ASCII-Format auf einem Datenträger befinden, ins OMS in den an erster Stelle stehenden Buffer eingelesen. Mit Export werden die im OMS befindlichen Daten in ein entsprechendes Format gewandelt und für die Weiterverarbeitung z.B. in anderen Programmen, bereitgestellt. Die Daten müssen im ersten Puffer liegen.

UTILITIES: In diesem Menü sind Zusatzprogramme und Programmiererweiterungen eingebunden [Bentham zur Einstellung der Parameter des Anregungsmonochromators, Acton zur Einstellung der Parameter des Emissionsmonochromators, Faser zur Einstellung der Beleuchtungsart (flächen- oder punktförmige) des Lichtleiters und zur Abdunkelung und Colometric] Hier wird auch das Optometer initialisiert.

DESK: Dieser Menü enthält folgende Funktionen: SHELL (Anbinden von Programmen zur Datenweiterverarbeitung); CALCULATOR (Funktion zur Datenberechnung); CUT (Zusammenschneiden von Datenkurven); NOTEBOOK (Messprotokollführung) und MACRO (Tastatur Ablaufprogramm).

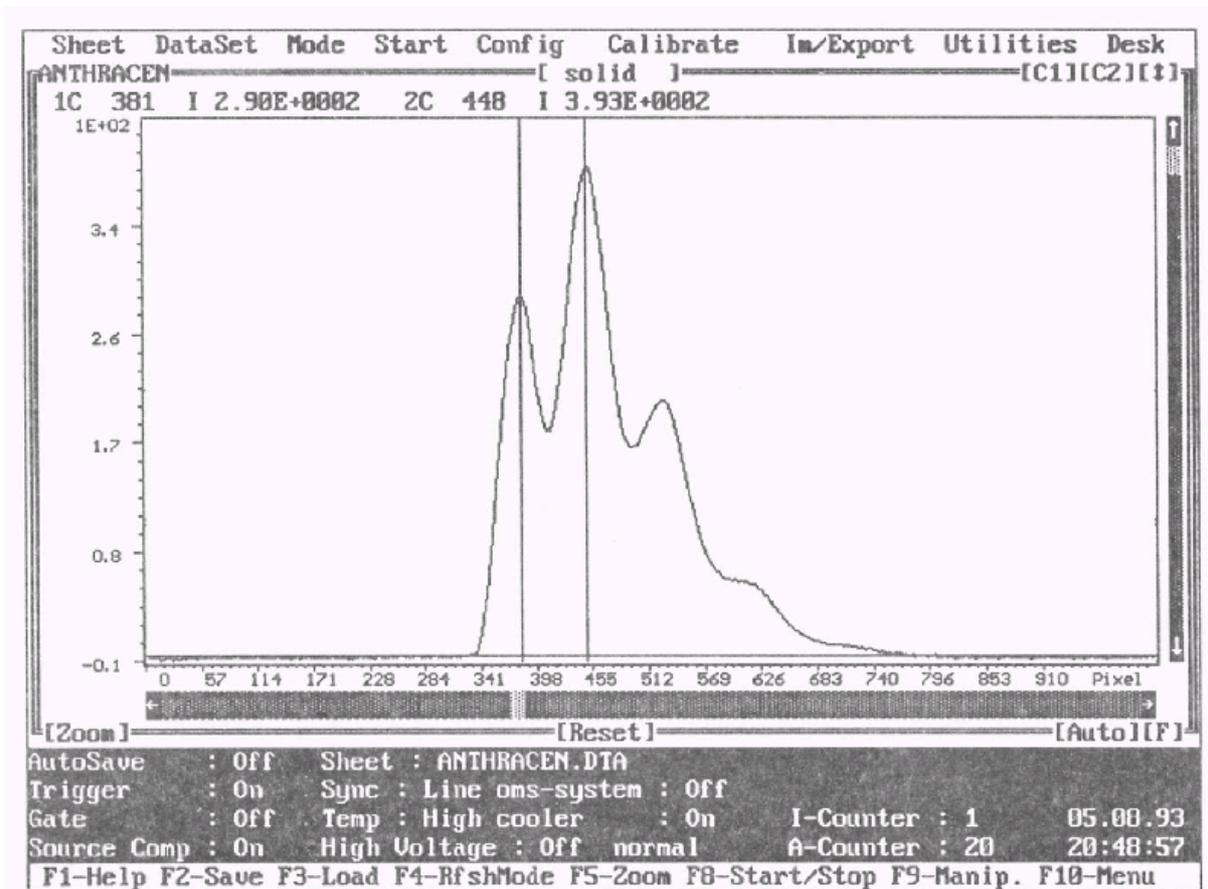


Abb.10.1.5. Die graphische Oberfläche der OMS-4 Software.

10.1.3.1.1.1. Markierung des gewünschten Hauptmenüpunktes auf der graphischen Oberfläche der OMS Programms mit Hilfe der Maustasten.

Linke Maustaste drücken und halten und mit dem dann am Bildschirm erscheinenden Pfeil den gewünschte Menüpunkt in der Haupt-Menüzeile anfahren und die Taste loslassen. Die zum Hauptmenüpunkt gehörenden Untermenüpunkte werden angezeigt. Mit dem Drücken der linken Maustaste wählt man dann das gewünschte Untermenü, mit der rechten Maustaste verlässt man die Untermenüleiste.

10.1.3.1.1.2. Markierung des gewünschten Hauptmenüpunktes auf der graphischen Oberfläche der OMS Programms mit Hilfe der Funktionstaste F10 und den Pfeiltasten der Tastatur.

Menüwahl aus 10.1.3.1.1.1 kann auch mit der Funktionstaste F10 erfolgen. Mit dem Drücken der Taste F10 wird der erste Menüpunkt SHEET oder der zuletzt aktiv gewesene der 9 Menüpunkte unterlegt. Die anderen 8 Menüpunkte sind dann mittels der LINKS – und RECHTS–PFEILTASTEN der Tastatur zu erreichen. ENTER öffnet dann das gewählte Hauptmenü und zeigt das Untermenü. Alle diese Eingaben können mit ESC wieder zurückgesetzt werden.

10.1.3.1.2. Daten–Fenster

Nach dem Aufruf des OMS-Fenster setzt eine Einrahmung das Daten– Fenster ab und signalisiert seine Aktivität mit der roten Einfärbung. An 6 unterbrochenen Stellen sind die Felder eingefügt.

Feld oben rechts: Zeigt die Fensterzahl (W1-W4) oder den aktuellen Datennamen für die Abspeicherung an. Das Feld zeigt 3 Positionen [C1], [C2] und [↕]. Mit [C1], [C2] werden die Cursor 1 oder 2 aktiv geschaltet. Tippt man die jeweiligen Positionen zweimal an, so wird der Cursor- Typ verändert (Kurz - oder Langcursor). [↕] Wird das Pfeilfeld mit der Maus aktiviert, so erfolgt die Umschaltung von der eingestellten Fensterkonfiguration auf das volle Fenster oder umgekehrt. Das volle Fenster ist rot umrandet.

Feld oben Mitte: Umschaltung des Datenkurven-Styles.

Solid: Liniendarstellung

Pixel: Punktdarstellung

Spektrum: Flächen gefüllte Darstellung.

Feld Zoom (unten links): Lässt man die linke Maustaste über dem Zoomfeld los, so können nun im Datenfenster 2 Marker gesetzt werden, zwischen

welchen die Datenkurve gespreizt wird. Die Spreizung der Achsen erfolgt in X- u. Y-Richtung.

- Reset (unten mitte):** Setzt die Spreizung der X- Achse zurück.
- Auto (unten rechts):** Setzt die Datenkurven optimal in das Datenfenster und setzt auch die Spreizung in Richtung der Y- Achse zurück.
- [F] :** Skaliert die größte Kurve im aktuellen Fenster.
- [M]:** Skaliert die Datenkurve „1“ (Blau).

Ein X- und Y-Balken mit Marker und Pfeil-Endfeldern erlauben das Verschieben der Datenkurve und zeigen die Lage der Daten.

10.1.3.1.3. Cursor

Ein Feld links über dem Datenfenster gibt mit dem Anzeige „C“ die Stelle der beiden Cursor in der X- Richtung an.

10.1.3.1.4. Intensität

Nach den Buchstaben „I“ im Cursorfeld (Abb. 10.1.5. 3. Zeile von oben) sind die Intensitätswerte an der Stelle der beiden Cursor (hier vertikale Linien) in Counts pro Scan oder Counts pro Akkumulation angegeben.

10.1.3.1.5. Informationsfeld

Anschließend zum Datenfenster ist ein Informationsfeld zu erkennen. Es zeigt die Schaltzustände der OMS-Steuereinheit sowie einige wichtige Einstellparameter Die Eingaben werden aus den aktuellen Einstellungen unter „MODE“ und „SETTINGS“ übernommen. Das Info-Feld erlaubt das direkte Umschalten von Zuständen auch aus der laufenden Datenaufnahme heraus.

- Trigger (On/Off):** **Triggerausgang (Ein/Aus)** schaltet einen Triggerpuls an einer vorgegebenen Diode (1 bis 1024).

Gate (On/Off):	Pulsbetrieb (Ein/Aus) schaltet den Bildverstärker.
Source Comp (On/Off):	Kompensationseingang (Ein/Aus) ermöglicht die Aufzeichnung eines Referenz–Analogsignals (Lichtsignale für die nachfolgende Daten–Auswertung).
Sheet	Datei zeigt den aktuellen Dateinamen des Datenblattes, unter dem die Daten gespeichert und geladen werden.
Sync (No/Line)	Synchronisation (Aus/Netz) synchronisiert mit jedem Puls den Start des Arrays.
Temp (Low/High)	Temperatur (Tief/Hoch) stellt der Sensor - Temperatur ein.
High Voltage (On/Off):	Hochspannung (Ein/Aus) erzeugt die Spannung im Bildverstärker.
OMS-System (On/Off):	zeigt den Betrieb der Steuereinheit, bei Off erfolgt keine Datenaufnahme.
Cooler (On/Off):	Kühler (Ein/Aus) kühlt das Diodenarray zur Reduzierung des Dunkelstroms.
I-Counter:	0 bis 65536 zeigt die integrierten Bilder pro Datenaufnahme NEIN.
A-Counter:	0 bis 65535 zeigt die angesammelten Bilder pro Datenaufnahme NEIN.

10.1.3.2. Steuerung über Menüs und Makro

10.1.3.2.1. Steuerung über Menüs

Über die Menüs des OMS-Programms ist die Steuerung der Apparatur möglich bei Messungen, deren Parameter nicht im voraus festgelegt werden können, z.B. das Vermessen unbekannter Proben, die Entwicklung neuer Anwendungen oder die Optimierung bestehender Messverfahren. Auf diese Weise können die vielfältigen Möglichkeiten des OMS-Programms ausgenutzt werden, um die für den Einzelfall optimalen Messbedingungen zu ermitteln.

Für die folgenden Operationen wird vorausgesetzt, dass die Apparatur gemäß Abschnitt 2.1 eingeschaltet wurde.

- A** Nach der Öffnung des OMS- Fensters F10 drücken und damit das Hauptmenü aktivieren.
- B** Mit dem Menü „Sheet“ ein Datenblatt herstellen. Ein Datenblatt kann von 4 bis 512 Datensätze (Einträge) zu je 4 Datenkurven (Messungen) enthalten. Die Namen der Datensätze können max. 8 Zeichen lang sein und dürfen keine Sonderzeichen enthalten.
- C** Mit dem Menü „Mode“ kann eine von drei möglichen Betriebsarten für die Messabläufe (Realtime, Single-Shot oder Multitrack) und jeweils eine der drei Darstellungsmöglichkeiten Replay EMS, Replay File oder 3D-Replay EMS gewählt werden. EMS ist ein zusätzlicher Speicher im PC-System für die schnelle Speicherung von großen Datenmengen, die vor dem Verlassen des Programms auf den Datenträger mit Save EMS gesichert werden müssen. Auf dem dann (außer von 3D-Replay EMS) erscheinenden Dialogfenster (Abb. 10.1.6) werden die Einstell- und Informationsmöglichkeiten für den Detektor und den Messmodus angegeben: die Anzahl der Pixels, d.h. hier Zahl der Dioden (1024), die ACD Auflösung (Analog/Digitalwandlung 14 Bit, 16383 Counts), die Zustände der Steuerfunktionen (Hochspannung, Pulsbetrieb, Kompensation Trigger, Temperatur, Synchronisation), die Einstellung von Zählern und die Messzeitanzeige.

Die drei Messabläufen sind:

- Realtime:** In der Realtime-Darstellung werden die zur Zeit aktuellen (Mess-) Daten für ein vorgegebenes Messintervall vom Detektor über die OMS –Steuereinheit übernommen und über den aktivierten Puffer „DATA (0)“ dargestellt. Dieser Vorgang wird mit „START“ (F8) ausgelöst und so lange wiederholt, bis ein Kommando über Tastatur oder Maus durchgeführt wird. Nach Beendigung der Kommandoverarbeitung wird Realtime wieder fortgesetzt. Das Abschalten von Realtime erfolgt mit „STOP“ (F8).
- Single-Shot:** In diesem Messablauf wird nur ein Datensatz eines vorgegebenen Messintervalls vom Detektor übernommen und über „DATA (0)“ im aktuellen Fenster dargestellt. Dieser Vorgang wird mit „START“ (F8) wiederholt.
- Multitrack:** In dieser Mode werden in definierten Zeitabständen aufeinanderfolgende Messungen ohne Änderung der Anregungs- und

Emissionswellenlänge durchgeführt und abgespeichert. Es gehen keine Daten verloren, so dass eine zeitaufgelöste Datenaufnahme stattfindet. Die Daten werden in dem vorhandenen EMS-Speicher abgelegt und mit Save EMS in ein Datenblatt gespeichert, jedoch maximal 512 Bilder bei 2MB freien EMS-Speicher-Aufnahmen von vielen Einzelmessungen. Am Ende der Multitrack wird das letzte aufgenommen Bild angezeigt. Die aufgenommene und im EMS abgelegten Daten sind über die Funktion „Replay“ darstellbar.

Eine Messung für ein Bild ist 20ms. Werden 100 Messungen in der Bildanzahl („Number of Packages“) eingetragen, so ergibt dies eine Messzeit von 2000 ms also 2 Sekunden. Wird eine Totzeit („Dead Time“) zwischen den Messungen eingefügt (keine Messung), so ist die Messung von Langzeitverhalten möglich.

Die drei Darstellungsmöglichkeiten sind:

- Replay EMS: Daten lesen aus dem EMS Speicher. Daten, die sich im EMS befinden, können wiederholend dargestellt werden. Dazu ist es nötig, diesen Menüpunkt anzuwählen und danach das Startkommando F8 zu drücken. Mit STOP (F8) wird die Darstellung angehalten Die einzelnen Bilder werden mit PgUp und PgDn in der Datensatzfolge vor oder zurück geblättert. Das Durchzählen des EMS- Speichers ist von der eingestellten Bilderanzahl im „PACKAGES“ abhängig.
- Replay File: Daten, die sich in einem Autosave- File befinden, können dargestellt werden. Dazu ist es nötig, diesen Menüpunkt anzuwählen und danach das Startkommando F8 zu drücken. Mit STOP (F8) zu drücken. Die einzelnen Bilder werden mit PgUp und PgDn in der Datensatzfolge vor oder zurück geblättert.
- 3D-Replay EMS: Dieser Untermenüpunkt zeichnet die im EMS abgelegten Multitrackdaten als 3D-Grafik am Bildschirm, wobei die dritte Achse die Zeitachse markiert. Vor dem Aktivieren der 3D-Funktion müssen die entsprechenden Daten im EMS- Speicher abgelegt sein. Daten, die sich auf dem Datenträger befinden, müssen mit der Funktion „Load EMS Data“ in den EMS-Speicher geladen werden. Wird nun die 3D-

Funktion aktiviert, erscheint das bekannte Dialogfenster für die verschiedensten Eingaben zur Datenaufnahme, dabei ist die Position „NUMBER OF PACKAGES“ zu berücksichtigen, denn die Anzahl der eingetragenen Bilder bestimmt auch bei der Wiedergabe die Bilderzahl für die optimale 3D-Darstellung. Nach Verlassen des Fensters mit Esc erscheint ein weiteres Einstellfenster für die optimale 3D-Darstellung. Die vorderste Datenkurve ist die erste Kurve und an die X-Achse angepasst und kann mit den vorhandenen Cursors vermessen werden.

Die im Dialogfenster befindlichen Parameter sind wie folgt definiert:

Accumulations: Dies ist das Ansammeln und Mitteln von Messungen im Arbeitsspeicher des Rechners. Die Zahl der kumulierten Einzelspektren (n) läuft von 0 bis 65535 (von 1 bis 65536 Spektren).

Integrations: Dies ist das Ansammeln von Photonen auf den Dioden jeweils vor einer Auslesung der Dioden. Die Zeit der Belichtung der Dioden ist dann das Vielfache (Faktor I) der Zeit des Ausleseprozesses. Man erhält so eine Erhöhung der Belichtungszeit der Dioden. Je geringer die eingestrahelte Lichtintensität ist, um so größer ist der Faktor I zu wählen (Eingabe von I ermöglicht die Zahl der Integrationen im Intervall 0 bis 65536 festzulegen. Die kleinste Auslesezeit (20ms) wird nicht verändert.

Die Auslesezeit einer Diode beträgt 16 μ s

Auslesezeit für alle Dioden nacheinander beträgt

das 1024.fache der Auslesezeit 16,384 ms

Auslesezeit bei Netzsynchronisation ist 20,000 ms

Hinweis:

Die Belichtungszeit ist die Zeit, in der Licht auf die Photodioden fällt. Sie ergibt sich als Produkt aus „Number of Integrations“ und 20 ms für alle 1024 Photodioden mal Auslesezeit. Die Belichtungszeit soll nicht kleiner als 160 μ s (10 Photodioden) sein.

Um den verfügbaren Bereich der Intensität (14 Bit max. 16335 Counts) auch bei kleineren Konzentrationen maximal zu benutzen, ist es erforderlich, unterschiedlichen Integrationsnummern (Belichtungszeiten) während einer Messreihe einzustellen. Die

VIT-Methode (Variable Integration Time), die das ermöglicht kann, erlaubt die Erhöhung von jeder der sechs Intervalle der Intensitätsstufen zum gleich maximalen Intervall der Intensitätsstufe (4096-16335), d.h. jedes Intervall der Intensitätsstufe wird mit der gleichen Genauigkeit gemessen. In diesem Fall sollte die Integrationsnummer mit steigenden Konzentrationen, d.h. steigenden Intensitäten, abgesunken werden. Diese VIT-Methode ermöglicht eine Messreihe mit steigenden Konzentrationen, d.h. steigenden Intensitäten, mit einem konstanten Spalt des Anregungsmonochromators.

Die Messzeit ergibt sich als Produkt aus Belichtungszeit und Anzahl an Auslesevorgängen („Number of Accumulation“).

Die im Menü „Config“ ausgeblendeten (CLEAR ARRAY) Bereiche (Diodenzahl größer als 10 Dioden) können während des Auslesevorgangs übersprungen werden (COMPRESS ARRAY), um so die Belichtungszeit zu verkürzen. Es ist zu empfehlen, diese Belichtungszeit nicht kleiner als 160 μ s einzustellen. Hier können auch, in Verbindung mit dem Menü „Mode“, unterschiedliche Belichtungszeiten für einzelne Diodenbereiche festgelegt werden. Die eingestellte Belichtungszeit gilt danach für alle aktiven Dioden.

- Packages:** Dies ist die Anzahl der Messungen, die ohne Datenverlust zusammenhängend aufgenommen und gespeichert werden können. Bei dieser Betriebsart spricht man von „Multitrack“.
- Dead Time:** Dies ist die Zeit zwischen zwei Messungen im Multitrack, in der keine Daten aufgenommen werden. Die kleinste einzugebende Zeiteinheit ist eine Sekunde.
- Dead Pictures:** Eingabe der nicht zu speichernden Bilder besonders wenn Zeit kleiner als eine Sekunde ist, muss die Bildanzahl eingetragen werden.
- Estimated Time:** Dies ist die gesamte Zeit eines Messvorganges. Diese Zeit wird vom Computer errechnet.
- Trigger At:** Wird hier die Diodenzahl 0 bis 1024 eintragen, so entsteht an dem Trigger-„Ein“ an dieser Dioden-Position ein Triggerpuls am Triggerausgang der OMS- Steuereinheit.
- Trigger Mode:** Umschaltung der Triggerbetriebsarten mit der Leertaste.
- **Mode None:** ist kein Trigger am Ausgang.

- **Mode 1:** ist ein Trigger pro Track (unabhängig von der Zahl der Integration und der Akkumulation).
- **Mode 2:** in jedem Track so viele Trigger wie Integrationen (kein Trigger bei Akkumulation).
- **Mode 3** pro Akkumulation je ein Trigger (kein Trigger bei Integration).
- **Mode 4** ein Trigger pro Scan.
- **Mode 5** ein Trigger pro gesamter Multitrackmessung.

Start Mode: Umschaltung der Startbetriebsart mit der Leertaste.

- **Intern:** ist normaler Datenaufnahmebetrieb.
- **Extern :** Es erfolgt die Auslesung vom Array, aber die Datenaufnahme beginnt erst dann, wenn am Triggereingang der Oms-Steuereinheit ein TTL-Puls ankommt.

Formula: In dieser 43 Zeichen langen Zeile können Funktionen für sich immer wiederholende Datendarstellungen von berechneten oder korrigierten Datenergebnissen eingegeben werden. In „Formula“ die Rohdaten „DATA0“ müssen immer durch die „Number of Accumulation“ dividiert werden.

Use: „N“- (Nein): Schaltet die Formelfunktion aus.

„Y“- (Ja): Schaltet die Formelfunktion ein.

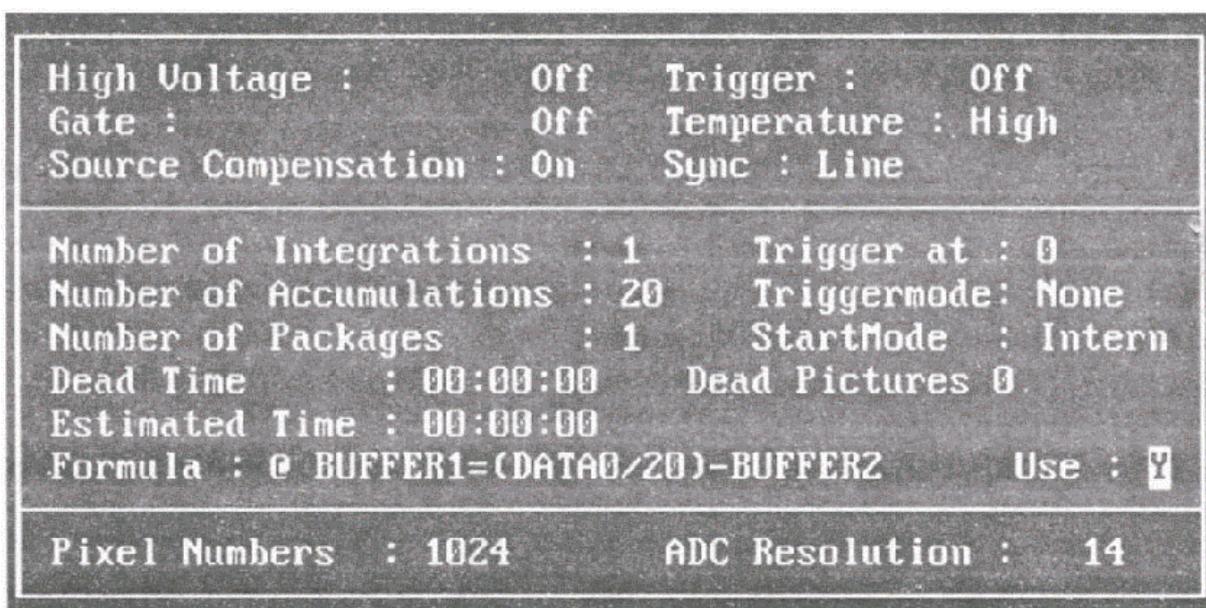


Abb.10.1.6. Dialogfenster zur Einstellung von Messmodus und Detektor-Parametern.

Über das Menü „Config“ wird zuerst die allgemeine Konfiguration des Systems eingestellt. Das Auslesemuster des Diodenarrays wird auch definiert. Die mit der Zoom-Funktion ausgewählten Photodioden können ausgeblendet (CLEAR ARRAY) bzw. wieder aktiviert (WRITE ARRAY) werden. Die ausgeblendeten Bereiche können dann während des Auslesevorgangs übersprungen werden (COMPRESS ARRAY), um so die Aufnahmezeit zu verkürzen.

D Im Menü „Utilities“ sind Zusatzprogramme und Programmiererweiterungen eingebunden wie:

- Bentham zur Einstellung der Parameter des Anregungsmonochromators (Abb. 10.1.7a)
- Acton zur Einstellung der Parameter des Emissionsmonochromators (Abb.10.1.7b)
- Faser zur Einstellung der Beleuchtungsart (flächen- oder punktförmige) des Lichtleiters und zur Abdunklung.

Die unter Spektrograph „Bentham“ und „Acton“ angeordneten Eingaben sind:

Seriell Port: Der Eintrag bestimmt die Adresse der seriellen Schnittstelle

Timeout: Die Eingabe 0-99 bestimmt die Ansprechzeit.

IEEE Port: Der Eintrag bestimmt die Adresse des anzusprechenden Gerätes.

Curr Dial: Spindelanzeige.

SP: Spindelübersetzung.

Wavelength: Die eingegebene Wellenlänge liegt beim Maximum der Abbildungsmittle des Spektrographen-Ausgangs. Beim Betrieb mit einem Diodenarray-Detektor von 1024 Dioden ist dieses Maximum bei Dioden 512.

Speed: Die Verstellgeschwindigkeit des Gitterantriebes ist in Nanometer pro Minute ausgelegt. Sie kann von 0.1nm/min bis 3000nm/min eingegeben werden. Wird ein **Null** eingetragen, so entspricht dies auch der maximalen Schrittgeschwindigkeit.

Grating: Der Gittertyp ist in dieser Spalte eingetragen. Bei der Eingabe „0“ wird die Gitteransteuerung übersprungen.

Filter NR: Die Wahl der Filterstellung erfolgt mit der Zahleneingabe von 1 bis 6. Bei der Eingabe „0“ wird die Filtersteuerung übersprungen.

Hinweis

Die Einstellungen werden mit „Control-Return“ übernommen.

„Enter“ verlässt das Eingabefenster ohne Wirkung.

„Esc“ verlässt Menü und Dialogfenster.

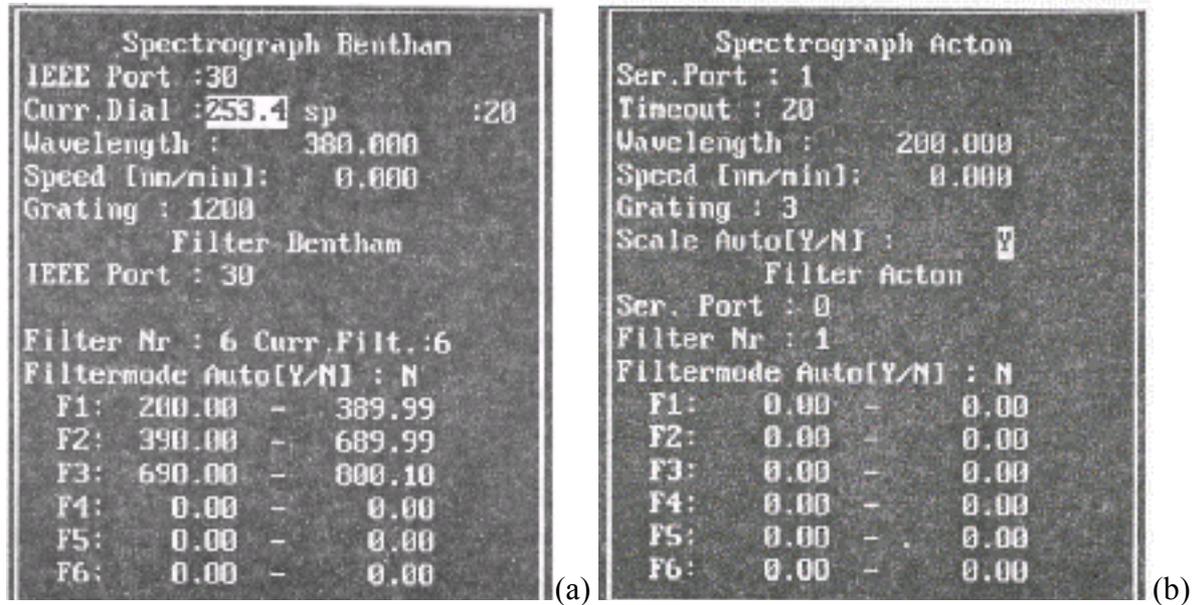


Abb.10.1.7. Menü zur Einstellung der Parameter des Anregungsmonochromators „Bentham“ (a) und des Emissionsmonochromators „Acton“ (b).

10.1.3.2.2. Steuerung über Makro

Hier sind Befehlsfolgen zu einem einzigen Befehl, einem Makro, zusammengefasst und einer bestimmten Tastenkombination zugeordnet. Die häufig verwendeten Makros, wie z.B. zum Einschalten des Detektors und des Bildverstärkers (ALT-G und ALT-H), zum Durchführen einer Messung (ALT-M, ALT-N und ALT-F) oder zum Zurücksetzen der Monochromatoren auf ihre Ausgangseinstellungen (ALT-Q) können abgespeichert werden.

E Mit den unteren Tastenkombinationen sind die Durchführen von den wichtigsten Funktionen möglich. Eine Messung wird nach der folgenden Reihe der Tastenkombinationen durchgeführt.

- **Alt-G** schaltet den Gate - Betrieb am OMS - Programm ein.
- **Alt-H** schaltet den Hochspannungsbetrieb am OMS - Programm ein.

- **Alt-M** führt eine flächenförmige Messung durch. Der Faser ist auf „Dark“ eingestellt.
- **Alt-N** führt eine punktförmige Messung durch. Der Faser ist auf „Dark“ eingestellt.
- **Alt-F** on-line Messungen im Fermenter. Dies ruft die Cmd-Files der Einzelmessung auf.

Hinweis

F7 PAUSE: setzt eine mit „PAUSE“ unterbrochenes Programm fort.

F8 START/STOP: startet und stoppt eine Datenerfassung eines gestellten Messablaufes.

Der Faser auf der gewünschten Belichtungsart einstellen.

10.1.3.3. Ablauf einer Messreihe

Das OMS-Programm erlaubt auch die Programmierung von gewünschten/vorzuziehenden Messabläufen in Makrodateien. Die Kommandobefehle innerhalb des OMS-Programms erlauben das automatische Abarbeiten von Befehlen und ermöglichen somit die Einstellungen von automatischen Messabläufen, so dass bei Fermentationen die Fluoreszenz- bzw. Streulichtspektren der interessierenden Stoffe zu beliebigen Zeiten aufgenommen und gespeichert werden können. Die Befehle des OMS-Programms sind über einen Kommandointerpreten zugänglich. Dieser verarbeitet die notwendigen Befehlsfolgen aus ASCII-Dateien den sogenannten „Command Files“. Der Aufbau einer solchen Datei ist in Abb. 10.1.8 wiedergegeben.

1. Aufbau einer Makrodateien (*.COF) (siehe Abb. 10.1.8)
2. Nach der Öffnung des OMS-Fensters, F10 drücken und das Hauptmenü wird aktiviert.
3. Mit dem Menü „Sheet“ ein Datenblatt herstellen, z.B. C:\OMS\Ferm1\Ferm1_00.DTA
4. Nach der Anwahl von „MACRO“ im Hauptmenü DESK öffnet sich ein Dialogfenster, in dem man die Funktion „EDIT MACRO“ wählt und mit der Tastenkombination ALT-3 öffnet man das editierende MACRO Fenster.

5. Im mit „EDIT MACRO“ geöffneten Fenster schreibt man den Name der Makrodatei.
6. ALT-3 führt die automatische Messung der Makrodatei durch.

Kommando	Ergebnis
hv off gate on integration 5 accumulation 1000 ignore 0 packages 1 getdata openfile c:\Ferm1\Ferm1_00.dta actonnm 430.0 actongrating 3 send370 k3dnw290v1ag benthamnm 287.0 benthamfilternr 1 cleararray 0 1023 writearray 0 1023 cleararray 0 100 cleararray 900 1023 reset redraw accumulation 1000 integration 1 packages 1 ignore 0 @ buffer1=0 @ buffer2=0 singleshoot getdata @ buffer1=data0/1000 @ buffer2=buffer1 setarea getdata @ buffer1=(data0/1000)-buffer2 setdark savedata tryp_00 1 actongrating 1 accumulation 5000 integration 1 packages 1 ignore 0 getdata gate off	Schaltet den Gate- Betrieb am OMS-Programm ein. Schaltet den Hochspannungsbetrieb am OMS-Programm ein. 5 x 1000 Messungen mit je 20 ms. Warteschleife von 1 min 40 s. Start der Datenaufnahme. Öffnen des Datenblatts Ferm1_00.DTA. Emissionswellenlänge = 430 nm. Gitter Nr. 3 des Emissionsmonochromators. Einstellung des Optometers Anregungswellenlänge = 287 nm. Kantenfilter Nr. 1. Eventuell vorhandene Auslesemuster löschen. Alle Photodioden aktivieren Photodioden Nr. 0 bis Nr. 100 ausblenden. Photodioden Nr. 900 bis Nr. 1023 ausblenden. Es werden die Ergebnisse von 1000 x 1 Auslesevorgängen im Arbeitsspeicher des Rechners addiert. Setzen die Messzeit auf 1000 x 1x 20 ms = 20 s. Zurücksetzen der Datenfelder Nr. 1. Zurücksetzen der Datenfelder Nr. 2. Betriebsmodus vorgeben. Start der Datenaufnahme. Ablegen der aufgenommenen Daten (Baseline) im Datenfeld Nr. 2. Flächenförmige Beleuchtung des Lichtleiters. Start der Datenaufnahme. Abziehen der Baseline und Ablegen der Daten im Datenfeld Nr.1. Abdunkeln des Lichtleiters. Speichern des Datenfeldes Nr. 1 als Datensatz TRYP_00 in das aktuelle Datenblatt (Ferm1_00.DTA). Wechsel des Gitters des Emissionsmonochromator. Warteschleife von 1 min 40 s.

hv on actonnm 200.0 actongrating 3 benthamnm 380.0 benthamfilternr 6 exportlib c:\Ferm1\Ferm1_00.dta c:\messung.00\1	Ausschalten des Bildverstärkers. Zurücksetzen der Monochromatoren auf ihre Ausgangsstellungen. ASCII-Export aller im Datenblatt Ferm1_00.DTA gespeicherten Messungen.
---	---

Abb.10.1.8. Beispiel für den Ablauf eines über „Command File“ gesteuerten Messzyklus (Bei Aufruf des „Command File“ ist der Lichtleiter abgedunkelt und der Bildverstärker im Pulsbetrieb (Farbe grün).

10.1.3.4. Ablauf einer Langzeitmessung

Langzeitmessungen sind über diese Art der Steuerung problemlos durchführbar. Mehrere Messzyklen werden mit Hilfe eines Makros, das mehrere „Command Files“ in definierten Zeitabständen aufruft, zusammengefasst und durch Warteschleifen getrennt. Die Dioden sind während dieser Warteschleife ebenfalls ausgelesen, die anfallenden Daten werden jedoch nicht ausgewertet. Abb. 10.1.9 zeigt einen Ausschnitt eines solchen „Command File“.

Kommando	Ergebnis
integration 800 accumulation 1000 ignore 0 packages 1 getdata hv off gate on integration 5 accumulation 1000 ignore 0 packages 1 getdata openfile c:\Ferm1\Ferm1_00.dta actonnm 430.0 savedata tryp_00 1	Verzögerter Start des Messprogramms . Warteschleife von 4 h 26 min 40 s. Die in dieser Zeit angesammelten Daten werden verworfen. Einschalten des Bildverstärkers. 5 x 1000 Messungen mit je 20 ms. Warteschleife von 1 min 40 s. Start der Datenaufnahme. Öffnen des Datenblatts Ferm1_00.DTA. Emissionswellenlänge = 430 nm. Befehle zur Durchführung der Messung (s. Abb. 10.1.8). Speichern des Datenfeldes Nr. 1 als Datensatz TRYP_00 in das aktuelle

<pre> gate off hv on actonnm 200.0 actongrating 3 benthamm 380.0 benthamfilternr 6 exportlib c:\Ferm1\Ferm1_00.dta c:\messung.00\1 integration 858 accumulation 1000 ignore 0 packages 1 getdata hv off gate on integration 5 accumulation 1000 ignore 0 packages 1 getdata openfile c:\Ferm1\Ferm1_01.dta </pre>	<p>Datenblatt (Ferm1_00.DTA) Durchführung aller zum Messzyklus gehörenden Messungen.</p> <p>Ausschalten des Bildverstärkers.</p> <p>Zurücksetzen der Monochromatoren auf ihre Ausgangsstellungen.</p> <p>ASCII-Export aller im Datenblatt Ferm1_00.DTA gespeicherten Messungen.</p> <p>Warteschleife von 4 h 46 min</p> <p>Start des nächsten Messzyklusses.</p>
---	--

Abb.10.1.9. Ausschnitt aus einem „Command File“ zur Durchführung einer Langzeitmessung.

10.1.3.5. Weiterverarbeitung und Auswertung der Messdaten

Die Datenabspeicherung ist so aufgebaut, dass viele Messungen zu einen Datenblock (Datenblatt) zusammengefasst sind. Die Daten Ein- und Ausgaben in ASCII-Format können für die weitere Datenverarbeitung genutzt werden. Die im OMS-Programm befindlichen Daten werden mit dem Untermenüpunkt Export in ein entsprechendes Format mittels eines eigens hierfür entwickelten Programms (Newspect) gewandelt. Die ausführliche Auswertung erfolgt mit dem „Origin Template Worksheet“.

10.1.3.6. Verlassen des OMS-Programms

1. In Bentham (Menü Utilities) die Wellenlänge auf 380 nm und den Filter auf der Nummer 6 einstellen.
2. **Alt-G** schaltet den Gate-Betrieb am OMS-Programm aus.
3. **Alt-H** schaltet den Hochspannungsbetrieb am OMS-Programm aus.
4. **Alt-Q** stellt die Hardware zurück und verlässt das OMS-Programm.

10.1.4. Musterbeispiel von Messung und Auswertung

- A** Nach der Öffnung des OMS- Fensters das Hauptmenü mit F10 oder mit der Maus aktivieren.
- B** Mit dem Menü „Sheet“ (New) ein Datenblatt mit der Erweiterung DTA herstellen. Die Namen der Datensätze max. 8 Zeichen lang, ohne Sonderzeichen.
- C** Mit dem Menü „Mode“ eine von drei möglichen Betriebsarten für die Messabläufe (Realtime, Single-Shot oder Multitrack) und jeweils eine der drei Darstellungsmöglichkeiten (Replay EMS, Replay File oder 3D-Replay EMS) wählen.
- D** Im Menü „Utilities“ die Monochromatoren einstellen.
- Bentham zur Einstellung der Parameter des Anregungsmonochromators.
 - Acton zur Einstellung der Parameter des Emissionsmonochromators.
- E** Eine Messung wird nach der folgenden Reihe der Tastenkombinationen durchgeführt.
- **Alt-G** schaltet den Gate- Betrieb am OMS- Programm ein.
 - **Alt-H** schaltet den Hochspannungsbetrieb am OMS- Programm ein.
 - **Alt-M** führt eine flächenförmige Messung durch. Der Faser ist auf „Dark“ eingestellt.
 - **Alt-N** führt eine punktförmige Messung durch. Der Faser ist auf „Dark“ eingestellt.
 - **Alt-F** on-line Messungen im Fermenter. Ruft die Commando-Files der Einzelmessung.
 - **F8 START/STOP:** startet und stoppt eine Datenerfassung ein gestellten Messablauf. Der Faser auf der gewünschten Belichtungsart einstellen.

F Die im OMS- Programm befindlichen Daten werden mit dem Untermenüpunkt Export in ein entsprechendes Format mittels eines eigens hierfür entwickelten Programms (Newspect) umgewandelt. Die ausführliche Auswertung erfolgt mit dem „Origin Template Worksheet“.

10.2. Linien einer Quecksilberniederdrucklampe

Tab. 10.2.1. Wellenlängen der Linien einer Quecksilberniederdrucklampe.

Lampe	Wellenlängen der Linien (nm)		Lampe	Wellenlängen der Linien (nm)	
Hg (Ar)	253.5	326.4	Hg (Ne)	253.5	---
	265.4	345.2		---	---
	284.8	365.02		296.73	365.02
	302.2	404.66		302.15	404.66
	312.57	435.84		312.57	435.84
	313.15	546.07		313.15	546.07
	313.18	576.96		313.18	576.96
	320.8	579.07		---	579.07

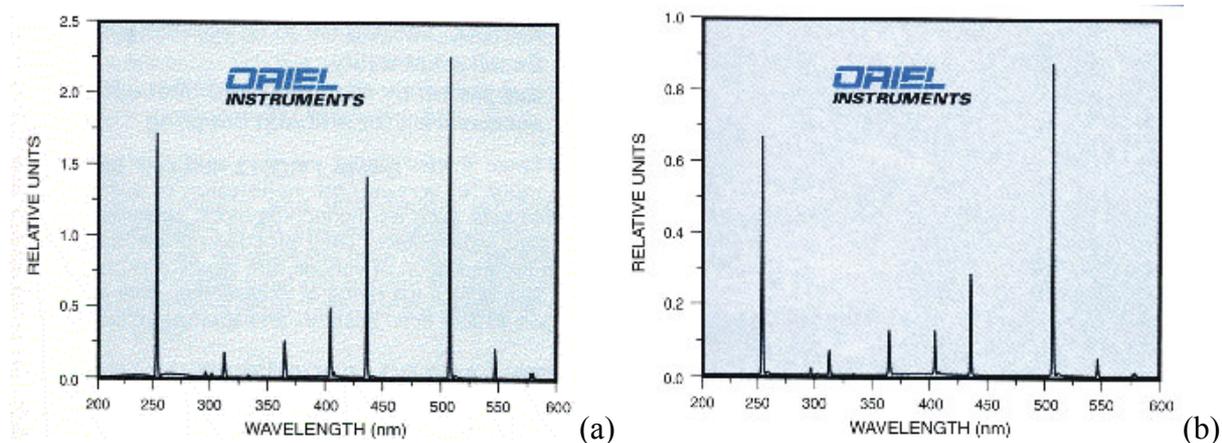


Abb. 10.2.1. Linien einer Quecksilberniederdrucklampe a [Hg(Ar)] und b [Hg(Ne)].

10.3. Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Pilzen nach aufsteigenden Streulichtintensitäten

Tab. 10.3.1. Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Deuteromycet 273-95 nach aufsteigenden Streulichtintensitäten

Intensität		Myzeltrockengewicht		Zeit	
Fermentation 273-95A	Fermentation 273-95B	Fermentation 273-95A	Fermentation 273-95B	Fermentation 273-95A	Fermentation 273-95B
	64.94		0.125		0
	72.12		0.099		0.5
	74.46		0.825		10
	148.1		1.857		25
160.1		0		0	
	168.4		2.28		29
	191.1		2.595		33
193.3		0.3		1	
264		0.665		27	
	296.9		4.194		49
	336.1		4.53		53
	354.9		4.795		57
373.1		2.398		40.5	
	383		5.245		61
387		2.731		46	
	432		5.488		73
459.1		2.864		51.5	
	461.3		6.105		83
506.2		3.87		67.5	
651.2		3.99		73.5	
828.7		6.261		90.5	

Tab. 10.3.2. Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Ascomycet A17-99 nach aufsteigenden Streulichtintensitäten.

Intensität		Myzeltrockengewicht		Zeit	
Fermentation A17-99A	Fermentation A17-99B	Fermentation A17-99A	Fermentation A17-99B	Fermentation A17-99A	Fermentation A17-99B
	114.1		0.698		41
	121.2		1.071		73
	134		1.321		96
172.3		0.62		23.5	
	173.9		1.792		119

Tab. 10.3.2. Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Ascomycet A17-99 nach aufsteigenden Streulichtintensitäten (Fortsetzung).

187.5		1		0	
199.2		1		40.5	
212.7		0.95		48	
	221.45		0		0
	227.85		0.351		1
	238.4		3.126		140
246.7		1.62		64.5	
271.5		1.99		73.5	
	337.44		5.245		170
347.8		3.72		91.5	
	379		6.028		185
	396.5		6.318		190
	401.1		6.715		195
	444.8		8.335		216
	457.3		7.129		209
528.6		6.18		120.5	
	558		7.205		266
586.2		7.28		136.5	
620.2		7.98		144	
779		9.545		159.5	
827.4		9.8		167.5	
930.3		9.78		184	

Tab. 10.3.3. Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Ascomycet (Discomycet) D01002 nach aufsteigenden Streulichtintensitäten.

Intensität		Myzeltrockengewicht		Zeit	
Fermentation A17-99A	Fermentation A17-99B	Fermentation A17-99A	Fermentation A17-99B	Fermentation A17-99A	Fermentation A17-99B
	77.72		0.377		22.5
	81.32		0.591		47
	91.48		0.983		73
	99.94		0.185		0
	100.44		0.299		0,5
	100.5		1.486		100
105.6		0.593		24	
	109.6		1.969		118
	113		2.255		127.5
	116		2.475		142.5
	117.2		3.427		191
	120.2		3.502		215

Tab. 10.3.3. Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Ascomycet (Discomycet) D01002 nach aufsteigenden Streulichtintensitäten (Fortsetzung).

	121.4		2.874		167
	123.6		2.501		263
123.8		1.219		44	
	128		2.682		247
151.3		1.774		55	
157.2		0		0	
172.6		1.169		48	
174.9		0.325		1	
206.4		2.842		77	
262.8		4.529		101	
447		7.026		150	
449.2		7.156		146	
619.6		6.922		164	
639.1		7.13		170	
668.1		7.266		141	
684		6.508		117	
784.3		6.558		121	
896		7.132		126	

Tab. 10.3.4. Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Endophyt E99043 nach aufsteigenden Streulichtintensitäten.

Zeit		Intensität.		Myzeltrockengewicht	
Fermentation E99043A	Fermentation E99043B	Fermentation E99043A	Fermentation E99043B	Fermentation E99043A	Fermentation E99043B
0.5		138.6		0.409	
0		139.4		0	
	0		158		0
	16		170.3		0.686
	24		214.4		1.411
20		260.8		0.847	
	40		286.5		2.231
	48		327.6		2.527
	64		367.5		2.88
	72		373.7		2.967
	80		397.1		3.507
39		407.6		2.281	
	88		425.6		3.573
	116		486		4.585
63		589.7		4.29	
	139		666.7		5.925
87		748.9		4.896	
97		770.9		5.03	

Tab. 10.3.5. Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Basidiomycet 95282 nach aufsteigenden Streulichtintensitäten.

Intensität		Myzeltrockengewicht		Zeit	
Fermentation 95282A	Fermentation 95282B	Fermentation 95282A	Fermentation 95282B	Fermentation 95282A	Fermentation 95282B
81.91		0.48		40.5	
82.41		0.488		21.5	
82.71		0.232		16.5	
84.97		0.364		45.5	
	102.6		0.364		16
	103.3		0.428		20
103.48		0.226		0	
	106.6		0.388		24.5
111.6		0.33		0.5	
	114.5		0.52		40.5
	117.6		0.642		44.5
118.9		1.166		70.5	
	123		0.378		0
	130.4		0.922		50.5
	143.3		0.324		0.5
	150.2		1.14		63
	165.5		1.284		67
	177.1		1.596		71
	191.8		1.726		75
	234.3		2.556		87
257.9		2.848		112.5	
	260.6		2.96		91
262.5		2.974		116.5	
	271.3		3.18		95
273.2		2.889		159.5	
273.5		3.084		120	
274.5		2.912		164	
278.4		3.294		140	
283.2		2.998		136	
284.4		3.132		144.5	
	291.7		3.21		99
	318.5		3.585		111
	361.6		3.416		115
	371.1		3.344		122
	372.9		2.985		145
	378.4		3.075		139

Tab. 10.3.6. Darstellung des MTGs der Fermentationen A und B von Basidiomycet 99026 nach aufsteigenden Streulichtintensitäten.

Intensität.		Myzeltrockengewicht		Zeit	
Fermentation 96026A	Fermentation 96026B	Fermentation 96026A	Fermentation 96026B	Fermentation 96026A	Fermentation 96026B
15.72		0.461		18	
15.98		0.507		24	
	17.57		0.239		0
18.45		0.168		0	
	18.78		0.928		37
	19.25		0.338		0.5
21.34		0.32		0.5	
23.5		1.557		41.5	
26.1		1.85		45.5	
	35.43		2.675		57
	40.37		3.279		61
46.74		4.763		68.5	
	51.15		4.249		74
	57.08		4.729		84
	61.38		5.132		96
	64.48		5.388		100
	64.83		5.22		104
	71.75		5.734		122
72.11		6.367		96.5	
74.33		4.797		137.5	
74.42		4.652		134.5	
	74.45		5.665		126
	75.02		5.612		130
	77.05		5.832		157
77.09		5.137		130.5	
78.06		5.603		110.5	
78.47		5.553		117.5	
79.12		5.546		113.5	
	79.46		5.914		152

10.4. Fermentation des Basidiomyceten *Favolaschia sp 87129* (Fortsetzung)

10.4.1. Phänomenologische Diskussion der Fermentation (Fortsetzung)

Da die Fermentationen A und B des Pilzes Basidiomycet *Favolaschia sp 87129* starke Unterschiede aufgewiesen haben, wurde eine dritte Fermentation C unter vergleichbaren Bedingungen durchgeführt. Mit dieser Fermentation C wird man überprüfen, welcher von

Fermentationen A und B mit großen Messfehlern behaftet wurde. Die Messwerte sind in Tab. 10.4.1 zusammengestellt. In Abb. 10.4.1 sind die zeitlichen Verläufe der Streulichtintensität und des Myzeltrockengewichts der Fermentationen A und C und in Abb. 10.4.2 die der Fermentationen B und C zu entnehmen. In diesen Abbildungen ist zu sehen, dass, wie bei den Fermentationen A und B, die Myzeltrockengewichtskurve der Fermentation C nach einer Lag-Phase von etwa 25 Stunden in die „exponentielle“ Wachstumsphase übergeht. Bis zu Ende dieser Lag-Phase und zu Beginn der exponentiellen Wachstumsphase ist die Menge an Myzel bei Fermentation C mit der der Fermentation A gleich. Während der „exponentiellen“ Wachstumsphase laufen die Fermentationen A und B fast parallel, wobei die Fermentation C zu Myzeltrockengewichten führt, die ca. um den Faktor zwei größer sind als bei A. Der Grund dafür könnte die Verwendung der verschiedenen Agarplatten sein, die dann zu unterschiedlichen Konzentrationen des Myzels in den jeweiligen Vorkulturen führten. Wie mit der Fermentation A, fällt auch hier auf, dass die Fermentation B einen ganz unterschiedlichen Verlauf im Vergleich zur Fermentation C zeigt. Während sich bei Fermentation B ein starker Anstieg des MTG um den Faktor drei größer als bei C erkennen lässt, ist bei Fermentation A hingegen ein langsamer, kontinuierlicher Anstieg des MTGs bis Ende der Fermentation zu sehen. Zur Verdeutlichung dieser Abweichungen wurden die zeitlichen Verläufe der Streulichtintensität und des Myzeltrockengewichts der Fermentationen A, B und C in der Abb. 10.4.3 dargestellt. Da die Fermentationen A und C vergleichbare Verläufe aufweisen, kann man annehmen, dass die gravimetrische Bestimmung des MTGs der Fermentation B mit großen Fehler behaftet wurde.

Bei der Fermentation C wurde auch hohe Streulichtintensitätswerte zu Beginn der Fermentation aufgenommen. Im Vergleich zur Fermentation A sind dieser Werte ca. um den Faktor vier größer und Faktor zwölf zur B. Diese Intensitätsveränderung liegt darin begründet, dass die Lampe der Diodenarray-Fluoreszenz- Streulichtapparatur vor der Fermentation C gewechselt wurde. Trotz dieser starken Abweichung in den Intensitätswerten der drei Fermentationen, laufen die Intensitätskurven der Fermentation A und C fast parallel bis zum Ende der „exponentiellen“ Wachstumsphase der Fermentation A. Während der Intensitätskurve bei der Fermentation A in eine lineare Phase übergeht, läuft die der Fermentation C weiter „exponentiell“ und die Intensitätskurve der Fermentation B bleibt fast konstant bis zum Ende der Fermentation. Dies führt zu den Schluss, dass die Fermentation B mit ungeklärten Fehlern behaftet wird und deswegen muss man die Analyse der Messwerte bei dem Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129 nur die Fermentationen A und C verwenden.

Tab. 10.4.1. Zeitabhängigkeit der Streulichtintensität und des MTGs der Fermentationen A B und C des Pilzes *Favolaschia* sp 87129.

Fermentation 87129A			Fermentation 87129B			Fermentation 87129C		
Intensität	MTG	Zeit	Intensität	MTG	Zeit	Intensität	MTG	Zeit
164,5	0	0	57,32	0,239	0	730	0,077	0
172,9	0,26	24	59,86	0,338	0,5	768,2	0,265	1
242,3	0,559	48	63,44	0,928	27,5	628,6	0,323	25
333,2	0,872	72	63,24	2,675	32,5	691	0,46	45
434,4	1,269	96	66,18	3,279	48,5	881,8	1,217	64
581,9	1,882	120	77,8	4,249	70,5	978,9	1,445	70
630,8	2,312	144	83,46	4,729	79,5	1103	1,69	77
658,3	3,16	168	98,58	5,132	94,5	1270	2,034	88
			112,4	5,388	103,5	1393	2,259	94
			137,4	5,22	118,5	1532	2,613	101
			156,8	5,734	127,5	1722	3,039	112
			210,4	5,665	143,5	1854	3,21	120
			214,2	5,612	147,5	1976	3,662	125
			232,4	5,914	151,5	2024,5	3,991	133
			284,2	5,832	166,5	2308	4,136	146
			350,6	5,064	198,5	2607	4,32	156
			349	4,476	223,5			

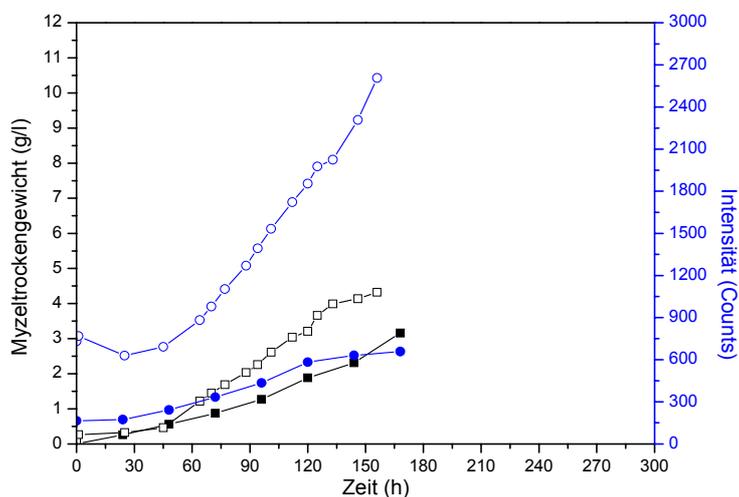


Abb. 10.4.1. Streulichtintensitäten für $\lambda = 580$ nm [Fermentationen A (●) und C (○)] und Myzeltrockengewichte [Fermentationen A (■) und C (□)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer bei den Fermentationen von *Favolaschia* sp. 87129.

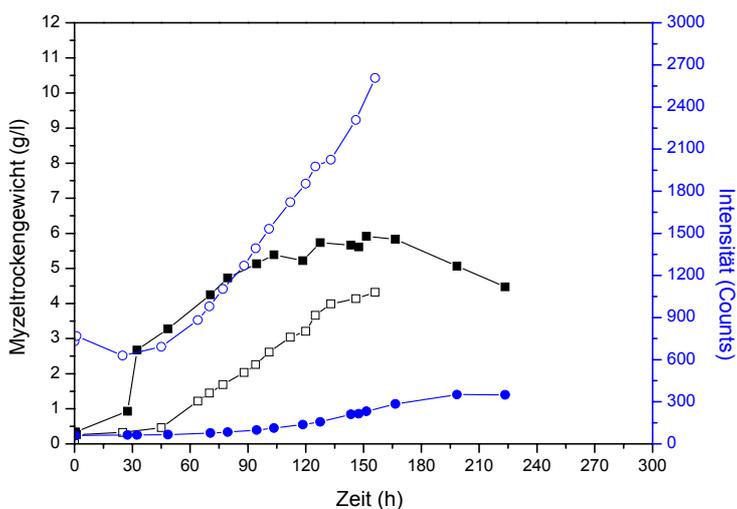


Abb. 10.4.2. Streulichtintensitäten für $\lambda = 580$ nm [Fermentationen B (●) und C (○)] und Myzeltrockengewichte [Fermentationen B (■) und C (□)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer bei den Fermentationen von *Favolaschia* sp. 87129.

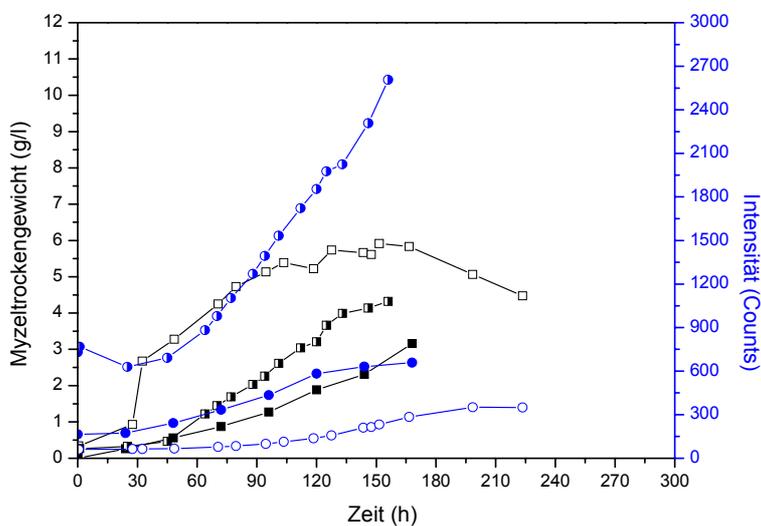


Abb. 10.4.3. Streulichtintensitäten für $\lambda = 580$ nm [Fermentationen A (●), B (○) und C (◉)] und Myzeltrockengewichte [Fermentationen A (■), B (□) und C (◼)] aufgetragen gegen die Fermentationsdauer bei den Fermentationen von *Favolaschia* sp. 87129.

10.4.2. Fortsetzung der Qualitative Ergebnisse der Streulichtmessungen der Fermentation des Basidiomyceten *Favolaschia* 87129

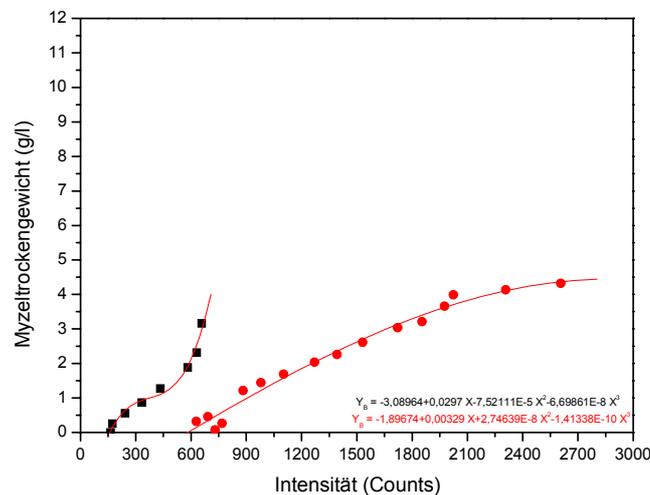


Abb. 10.4.4. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Fermentationen A (■) und C (●) von Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129. Die eingezeichneten Kurven sind die Ergebnisse einer Polynomapproximation mit Polynomen 3. Grades für die Fermentationen A und B getrennt.

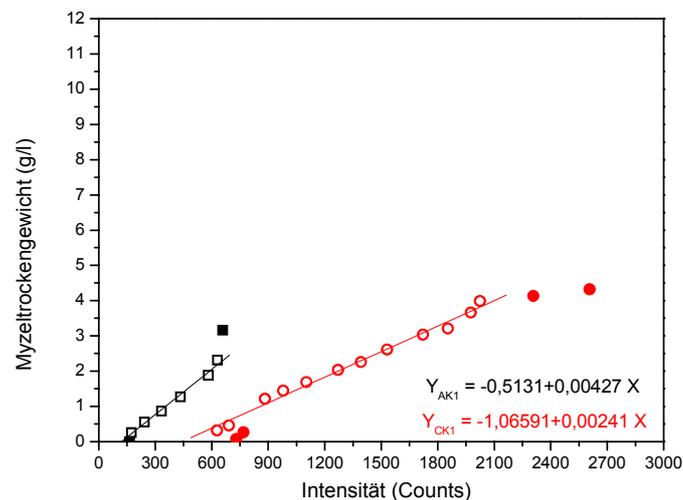


Abb. 10.4.5. Myzelrockengewicht als Funktion der Streulichtintensität ($\lambda=580$ nm) für die Fermentationen A und C von Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129. Die eingezeichneten Geraden sind die Ergebnisse einer linearen Anpassung nach der ersten Korrektur, d.h. dem Ausschließen jeweils der zwei ersten und der drei letzten Messpunkte für die Fermentationen A und B.

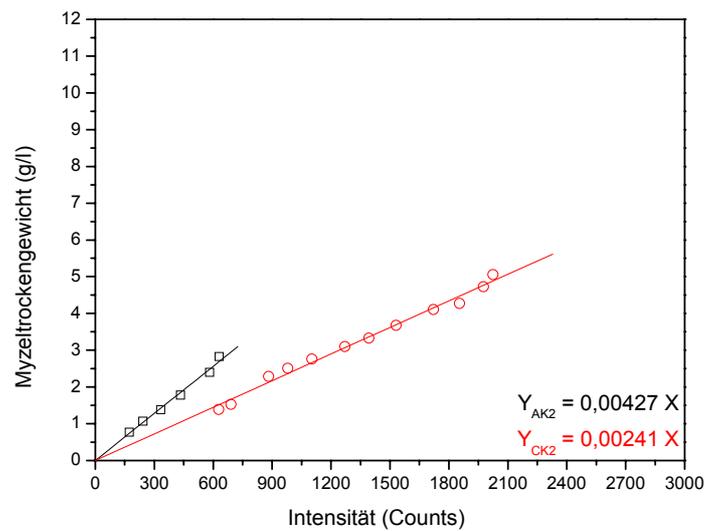


Abb. 10.4.6. MTG(I)- Kurven für den Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129 nach Korrektur der Reststreuung aus dem Fermenter bei geringer Myzelkonzentration.

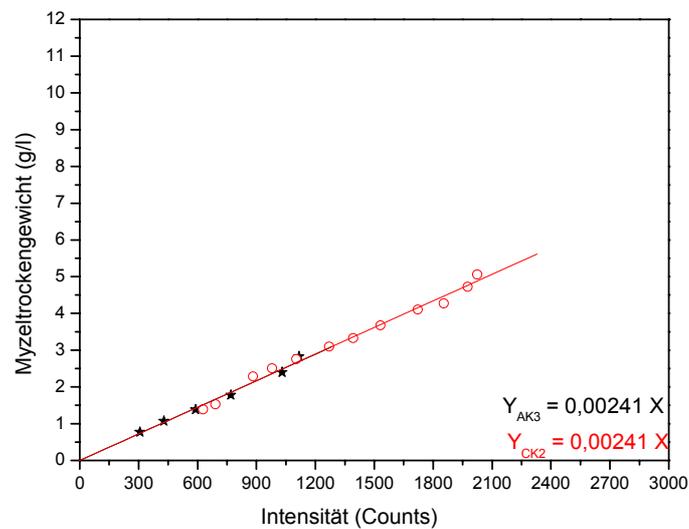


Abb.10.4.7. MTG(I)- Kurven für den Basidiomycet *Favolaschia* sp. 87129 am Ende der Korrekturen.

10.5. Einfluss der Drehzahl auf die Intensität der Streulichtmessungen

Um den Einfluss der Geschwindigkeit des Rührens bei der Fermentationen zu überprüfen, wurden am Ende der Fermentationen der Basidiomyceten *Panaeolus* 96026 und *Favolaschia* 87129 unterschiedliche Drehzahlen eingestellt. Die Ergebnisse sind in Tab. 10.5.1 dargestellt.

Eine Erhöhung der Geschwindigkeit des Rührens zeigt keine deutliche Änderung in der Intensität des Streulichts.

Tab.10.5.1 Einfluss der Drehzahl auf die Intensität der Streulichtmessungen der Fermentationen der Basidiomyceten *Panaeolus* 96026 und *Favolaschia* 87129.

Pilze	I 300 UpM	I 350 UpM	I 400 UpM	I 450 UpM
Basidiomycet <i>Panaeolus</i> 96026A		74.33		77.62
Basidiomycet <i>Panaeolus</i> 96026B		77.05	81.13	
Basidiomycet <i>Favolaschia</i> 87129C	2597		2679	2722

10.6. Extinktionsmessung einer Probe der Fermentationsbrühe des Discomyceten *Ascobolus immersus*

Um die Messungen des Streulichts in einem absorptionsfreien Spektralbereich und mit einer hohen Absolutintensität durchführen zu können, wurde die Anregungswellenlänge 580 nm ausgewählt [9]. Die Abb. 10.6.1 zeigt die Extinktion einer Probe der Fermentationsbrühe des Discomyceten *Ascobolus immersus* mit Hilfe einer 1 cm Schichtdicke Küvette in einem Spektralbereich von 200 bis 700 nm. Bei der Wellenlänge von 580 nm wurde eine niedrige Extinktion von ca. 0.1 registriert.

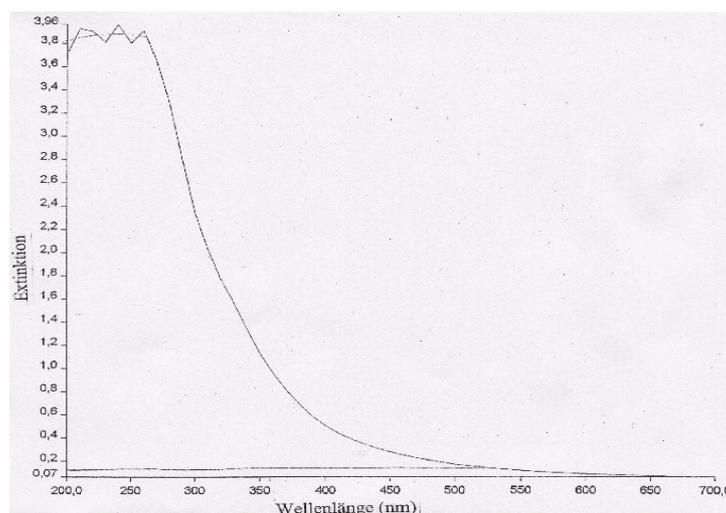


Abb.10.6.1. Spektrum einer Probe der Fermentationsbrühe des Discomyceten *Ascobolus immersus* mit Hilfe einer 1 cm Schichtdicke Küvette in einem Spektralbereich von 200 bis 700 nm

11. Literatur

- [1] Harris C. M., D. B. Kell, *Biosensors*, 1, 17, (1985)
- [2] Junker B. H., Wang D. I. C., *Biotechnol. Bioeng.*, 32, 55, (1988);
- [3] Anders K. D., Plötz F., Scheper T., *GIT Fachz. Lab.*, 10, 1093, (1991);
- [4] Bock U., Scheper T., *DECHEMA Biotechnol. Conf.*, 5, 459, (1992);
- [5] Kennedy M. J., Thakur M. S., *Biotechnol. Bioeng.*, 40, 875, (1992).;
- [6] Kunz W. S., Schulz V., Gellerich F. N., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 38, 52, (1992);
- [7] Ge Z., Cavinato A., *Anal. Chem.*, 66, 1354, (1994)
- [8] Chenina R., Dochnahl A., Huff T., Kuball H.-G., Lange B., Anke H., Anke T., *Dechema-Monographien*, Band 129, VCH Verlagsgesellschaft, 171, (1993).
- [9] Dochnahl A., *Dissertation Univ. Kaiserslautern* (1997)
- [10] Fayolle Ph. Picque D. Corrieu G., *Vibrational Spectroscopy* , 14(2), 247, (1997)
- [11] Bittner C., Wehnert G., Scheper T., *Biotechnol Bioeng* , 60(1), 24, (1998)
- [12] Robertson B. R., Button D. K., Koch A. L., *Appl. and Env. Microbiol.*, 64(10), 3900, (1998)
- [13] Pequignot C., Larroche C., Gros J. B., *Biotechnol. Tech.*, 12(12), 899, (1998)
- [14] Hernandez A., Sanchez H., Olivera V., Exposito M., Gonzalez N., Wong I., *Process Biochemistry*, 35(9), 873, (2000)
- [15] Fayolle Ph., Picque D., Corrieu G., *Food Control*, 11(4), 291, (2000)
- [16] Gitelson Anatoly A., Grits Y. A., Etzion D., Ning Z., Richmond A., *Biotechnol Bioeng.*, 69(5), 516, (2000)
- [17] Hernandez A., Marin M., *Process Biochemistry*, 37(10), 1125, (2002)
- [18] Granade T C., Hehmann M F., Artis W M., *Appl. and Env. Microbiol.*, 49(1), 101, (1985 Jan)
- [19] Koch A. L., *Biochim. Biophys. Acta.* 51, 429, (1961)
- [20] Kortüm G., *Reflexionsspektroskopie*, Springer-Verlag , Berlin (1969)
- [21] Moore J. H., Davis C. C., Coplan M. A., *Building Scientific Apparatus*, Addison-Wesley, London (1983)
- [22] System Partikel Technik (Sympatec) GmbH, *Helos-System 12 KA/LA Bedienungshandbuch*, (1988)
- [23] Imtronic GmbH Systemhaus für Bildverarbeitung, *IMAGE C*, (1999)
- [24] Wang N S., Simmons M B., *Biotechnol. Bioeng.*, 38, 1292, (1991).
- [25] *Publikation in Vorbereitung* (2002)
- [26] Defren K., *VDI-Fortschrittsberichte*, 17/91, (1993)
- [27] Chenina R., *Dissertation Univ. Kaiserslautern* (1997)