

Inhaltsverzeichnis

DANKSAGUNG	V
VERSICHERUNG	VII
1 EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2 GRUNDLAGEN UND LITERATURÜBERSICHT	5
2.1 BIOTENSIDE	5
2.1.1 Klassifizierung und Struktur	5
2.1.2 Physiologische Bedeutung von Biotensiden	6
2.1.3 Trehaloselipide aus Rhodococcen	8
2.1.4 Rhamnolipide aus Pseudomonaden	10
2.1.5 Wirkungsmechanismen zur Erhöhung der Bioverfügbarkeit von hydrophoben Schadstoffen	12
2.1.5.1 Strategien bei Rhodococcen	13
2.1.5.2 Strategien bei Pseudomonaden	14
2.1.6 Einsatz von (Bio-)Tensiden bei der Bioremediation	16
2.2 DIE KRITISCHE MIZELLBILDUNGSKONZENTRATION (CMC)	19
2.2.1 Bedeutung und Beeinflussung der cmc	19
2.2.2 Experimentelle Methoden zur Bestimmung der cmc	21
2.2.3 Kalorimetrische Bestimmung mittels Isothermer Titrationskalorimetrie (ITC)	24
2.2.4 Thermodynamik der Mizellbildung	28
2.3 KALORIMETRISCHE UNTERSUCHUNGEN IM SYSTEM BAKTERIUM – TENSID – SCHADSTOFF	31
2.3.1 Wechselwirkungen zwischen Tensiden und Modellmembranen	32
2.3.2 Wachstum von Bakterien auf hydrophoben Schadstoffen	34
2.3.3 Wechselwirkung zwischen hydrophobem Schadstoff und Tensid – Emulsionsstabilität	37
2.4 METHODEN ZUR CHARAKTERISIERUNG DER ZELLOBERFLÄCHE	42
2.4.1 XPS – Ein Blick auf die bakterielle Zelloberfläche	42
2.4.1.1 Prinzip der XPS	43
2.4.1.2 Anwendung auf mikrobielle Systeme (Bakterien)	45
2.4.2 Elektrostatische Wechselwirkungen – Das Zeta-Potential	50
2.4.2.1 Prinzip der Zeta-Potential-Messung	50
2.4.2.2 Anwendung auf Bakteriensuspensionen	52
3 MATERIAL UND METHODEN	54
3.1 EINGESETZTE KALORIMETER	54
3.1.1 Thermal Activity Monitor 2277 (TAM)	54
3.1.2 Micro-DSC II (MDSC)	55

3.2	MIKROORGANISMEN.....	55
3.2.1	<i>Rhodococcus opacus</i> 1CP.....	55
3.2.2	<i>Rhodococcus erythropolis</i> B7g.....	55
3.2.3	<i>Pseudomonas putida</i> mt-2.....	56
3.3	AUSGEWÄHLTE (BIO-)TENSIDE.....	56
3.4	KULTIVIERUNG DER MIKROORGANISMEN.....	58
3.4.1	Kulturmedium.....	58
3.4.2	Anzucht der Vorkulturen.....	58
3.4.2.1	Vorkulturen für die Untersuchung der Wechselwirkung Bakterium-Tensid.....	59
3.4.2.2	Vorkulturen für die kalorimetrischen Wachstumsexperimente.....	60
3.4.2.3	Vorkulturen für die XPS-Analysen.....	61
3.4.2.4	Vorkulturen für die Zeta-Potential-Messungen.....	62
3.5	DURCHFÜHRUNG DER KALORIMETRISCHEN EXPERIMENTE.....	62
3.5.1	Bestimmung der cmc mittels ITC.....	62
3.5.2	Untersuchung der Wechselwirkung zwischen Bakterien und Tensid (ITC).....	63
3.5.3	Untersuchung des Einflusses der (Bio-)Tenside auf das Wachstum der Bakterien.....	63
3.5.4	Untersuchung der Emulsionsstabilität mittels DSC.....	64
3.5.5	Untersuchung des Solubilisierungsvermögens der (Bio-)Tenside mittels ITC.....	64
3.6	DURCHFÜHRUNG DER XPS-ANALYSEN.....	65
3.7	DURCHFÜHRUNG DER ZETA-POTENTIAL-MESSUNGEN.....	65
3.8	ERGÄNZENDE ANALYTIK.....	66
3.8.1	Bestimmung der optischen Dichte / Trübungsmessung.....	66
3.8.2	Bestimmung der Biomasse als Trockenmasse.....	66
3.8.3	Anthrontest zur Konzentrationsbestimmung des Trehalose-tetraesters.....	66
3.8.4	Messung der Oberflächenspannung.....	67
4	ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	68
4.1	EXPERIMENTELLE BESTIMMUNG DER CMC.....	68
4.1.1	Bestimmung der cmc mittels ITC.....	69
4.1.1.1	Referenzsystem: SDS.....	69
4.1.1.2	Rhamnolipid.....	73
4.1.2	Bestimmung der cmc durch Messung der Oberflächenspannung.....	76
4.1.3	Thermodynamische Charakterisierung der Mizellbildung.....	78
4.2	WECHSELWIRKUNG TENSID – BAKTERIUM (INAKTIV).....	80
4.2.1	Wechselwirkung mit SDS.....	81
4.2.1.1	Wechselwirkung in Abhängigkeit von der Biomasse.....	82

4.2.1.2	Wechselwirkung in Abhängigkeit vom Bakterium	85
4.2.1.3	Wechselwirkung in Abhängigkeit vom Substrat	87
4.2.1.4	Thermodynamik der Wechselwirkung SDS – Bakterium und Ermittlung der $cmc_{(BS)}$	90
4.2.2	Wechselwirkung mit Rhamnolipid	95
4.3	WECHSELWIRKUNG TENSID – BAKTERIUM (AKTIV) UND DER EINFLUSS AUF DAS BAKTERIELLE WACHSTUM	99
4.3.1	Wechselwirkung Tensid – Bakterium (aktiver Stoffwechsel)	99
4.3.2	Einfluss der (Bio-)Tenside auf das bakterielle Wachstum	107
4.4	EMULSIONSSTABILITÄT UND SOLUBILISIERUNGSVERMÖGEN DER (BIO-)TENSIDE	113
4.4.1	DSC-Experimente zur Untersuchung der Emulsionsstabilität	113
4.4.1.1	Erläuterung der Mess- und Auswertemethoden	113
4.4.1.2	Stabilität von Hexadecan-in-Wasser-Emulsionen	116
4.4.1.3	Stabilität von Hexadecan-in-Phosphatpuffer-Emulsionen	121
4.4.1.4	Abhängigkeit des Emulsionsgrades von der Konzentration des THL-4	123
4.4.2	Charakterisierung des Solubilisierungsvermögens mittels ITC	124
4.5	CHARAKTERISIERUNG DER ZELLOBERFLÄCHE	129
4.5.1	Untersuchungen der Zelloberfläche mittels XPS	130
4.5.1.1	Erarbeitung des Auswerteverfahrens in Anlehnung an Literaturdaten	130
4.5.1.2	Veränderung der Bakterienzelloberfläche in Abhängigkeit vom Substrat	135
4.5.1.3	Veränderung der Bakterienzelloberfläche durch Zugabe von (Bio-)Tensiden	136
4.5.2	Messung des Zeta-Potentials von Bakteriensuspensionen	140
4.5.2.1	Veränderung des Zeta-Potentials durch die Zugabe von (Bio-)Tensiden	141
4.5.2.2	Substratabhängige Veränderung des Zeta-Potentials am Beispiel der Rhodococcen	144
4.5.3	Veränderungen der Bakterienzelloberfläche durch Autoklavieren	145
4.6	MODIFIZIERUNG DER ZELLOBERFLÄCHE VS. PSEUDOSOLUBILISIERUNG	148
5	ZUSAMMENFASSUNG	152
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	159
	TABELLENVERZEICHNIS	162
	SYMBOL- UND ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	164
	ANHANG	166
	A1: BESTIMMUNG DER CMC VON RHAMNOLIPID DURCH MESSUNG DER OBERFLÄCHENSpannung (BLASENDRUCKMETHODE)	166
	A2: ANGABE DER VERWENDETEN ZELLZAHLEN FÜR DIE ITC (KAPITEL 4.2)	166
	A3: BERECHNUNG DER MOLAREN BIOMASSEKONZENTRATION	168
	LITERATURVERZEICHNIS	169