

Abschlussbericht:
Modellierung
der fermentativen Synthese von Milchsäure
aus lignocellulosehaltigen Reststoffen

Projekt: MBFSt 2824
1.6.2009 – 30.6.2011

Betreuer:

Prof. Benno Kunz
Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften
Fachbereich Lebensmitteltechnologie
Universität Bonn
Römerstraße 164
53117 Bonn

Stipendiat:

Philipp Adler

Kurzbericht

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Entwicklung eines mathematischen Modells zur Vorhersage von Prozessverläufen von Fermentationsprozessen mit beliebigen Lignocellulose-Hydrolysaten unterschiedlicher Zusammensetzung. Das Modell soll das Wachstum der Mikroorganismen und die Produktbildung quantitativ beschreiben, wobei sowohl der sequentielle als auch der simultane Abbau der in den Reststoffen enthaltenen Monosaccharide berücksichtigt wird. Die Entwicklung dieses Modells erfolgt mithilfe von Modellmedien. Hierbei werden zunächst Teilmodelle für die relevanten Monosaccharide in Einzel-Substrat-Situationen formuliert. Aus diesen Teilmodellen soll anschließend ein Prozessmodell für ein komplexes Substrat entwickelt und mithilfe von Modellreststoffen verifiziert werden.

1 Einleitung

Die Nachfrage nach Milchsäure für industrielle Anwendungen ist in den letzten Jahren erheblich gestiegen. Durch ihren potentiellen Einsatz als Plattformchemikalie gewinnt fermentativ hergestellte Milchsäure insbesondere in chemischen Prozessen, in denen bisher fossile Rohstoffe verwendet wurden, an Bedeutung [5]. Insbesondere die Entwicklung und Etablierung von biologisch abbaubaren Milchsäurepolymeren (Polylactiden, PLA), die erdölbasierte Kunststoffe in Zukunft in vielen Bereichen ersetzen könnten, hat zu einem Wachstum des Milchsäuremarkts geführt [11]. Für eine wirtschaftliche Konkurrenzfähigkeit von PLA und anderen milchsäurebasierten Produkten zu erdölbasierten Chemikalien ist daher eine Kostensenkung erforderlich. Da bei der fermentativen Herstellung von Milchsäure ca. 30% der Gesamtkosten auf das Nährmedium entfallen, ist die Verwendung alternativer Kohlenstoffquellen, wie biogene Rest- und Abfallstoffe aus Landwirtschaft und Industrie, notwendig [1]. Den größten Anteil der anfallenden Nebenprodukte aus Landwirtschaft und Industrie stellen lignocellulosehaltige Reststoffe dar. Diese Rohstoffe enthalten nach Hydrolyse große Mengen fermentierbarer Zucker und sind daher grundsätzlich als Fermentationssubstrat für die biotechnologische Herstellung von Milchsäure geeignet.

In bisherigen Arbeiten wurde die Eignung verschiedener lignocellulosehaltiger Reststoffe bereits empirisch untersucht [z.B. 2, 3]. Da das Monosaccharid-Muster dieser Reststoffe aber stark von der Art und Herkunft des Materials abhängig ist und die Verwertbarkeit der verschiedenen Monosaccharide durch die Milchsäurebakterien unterschiedlich ist, lassen sich die Ergebnisse

dieser Untersuchungen nur schwer auf alternative Substrate übertragen. Folglich ist eine übergreifende Bewertung der ökonomischen Eignung nicht möglich, so dass Beurteilungen alternativer Reststoffe stets mit einem erheblichen experimentellen Aufwand verbunden sind. Mithilfe eines mathematischen Modells könnte aber der grundlegende Zusammenhang zwischen der Zusammensetzung und dem Fermentationserfolg abgebildet werden, wodurch Vorhersagen über Prozessverläufe bei unterschiedlichen Substrat-zusammensetzungen möglich sind. Hierdurch kann der Versuchs- und Zeitaufwand für die Auswahl geeigneter Reststoffe und die Prozessentwicklung erheblich reduziert werden. Allerdings werden Modelle für Produktsynthesen aus Lignocellulose in der Literatur bisher nur unzureichend behandelt. So wurde für die Milchsäuresynthese lediglich ein Modellierungsansatz entwickelt, der sich ausschließlich auf die Verwertung der Cellulosefraktion beschränkt [10]. Ansätze, welche die vollständige Umsetzung von Lignocellulose-Reststoffen berücksichtigen, gibt es bisher nicht.

2 Aufgabenstellung

Diese Arbeit befasst sich mit der Entwicklung eines Modells für die mikrobielle Synthese von Milchsäure aus Lignocellulose-Hydrolysaten. Das zu entwickelnde Modell soll präzise Vorhersagen über Prozessverläufe und Produktivitäten für beliebige lignocellulosische Reststoffe mit unterschiedlichen Zusammensetzungen erlauben und dabei sowohl den simultanen als auch sequentiellen Abbau der einzelnen Teilkomponenten berücksichtigen. Da die quantitativ relevanten Monosaccharide in Lignocellulose Glucose, Galactose, Mannose, Arabinose und Xylose sind [4], werden diese im Modell als Kohlenstoffquellen berücksichtigt. Um weitere Bestandteile von Lignocellulose-Hydrolysaten als Einflussfaktoren auszuschließen, erfolgt die Modellentwicklung und Verifizierung mit Modellmedien, welche die Monosaccharide in definierten Konzentrationen enthalten. Aufgrund seiner Fähigkeit, die relevanten Monosaccharide zu metabolisieren, wird der Stamm *P. pentosaceus* DSM 20336 verwendet. Damit die Modellparameter eindeutig den jeweiligen Monosacchariden zugeordnet werden können, werden sie aus Bioreaktor-Kultivierungen, in denen die einzelnen Monosaccharide als alleinige Kohlenstoffquellen eingesetzt werden, ermittelt. Ein weiterer im Prozessmodell zu berücksichtigender Faktor ist die inhibitorische Wirkung der gebildeten Stoffwechselprodukte Milch- und Essigsäure. Dieser Effekt soll quantifiziert und gegebenenfalls in das Modell integriert werden.

Abschließend erfolgt die Modellverifizierung. Hierbei wird das Modell für Fermentationen mit gemischten Modellsubstraten unterschiedlicher Zusammensetzung validiert, um die Vorhersagegenauigkeit des Modells für komplex zusammengesetzte Substrate zu überprüfen.

3 Modell

In kybernetischen Modellen werden stoffwechselregulatorische Prozesse im Sinne einer Optimierungsstrategie betrachtet. Hierzu werden kybernetische Variablen (u , v) verwendet. Das in dieser Arbeit entwickelte Modell basiert auf dem hybriden kybernetischen Ansatz von Kim et al. [6]. Hybride kybernetische Modelle berücksichtigen die regulierte Verteilung eines Substrataufnahmeflusses unter verschiedene Elementarmoden eines metabolischen Netzwerkes, wobei die pseudo-steady-state-Annahme für intrazelluläre Metabolite gilt.

Für die allgemeine Stoffbilanz extrazellulärer Metabolite (\mathbf{x}) gilt:

$$\frac{1}{c} \frac{d\mathbf{x}}{dt} = \mathbf{S}_x \mathbf{r} \quad (1)$$

wobei \mathbf{S}_x die $(n_x \times n_r)$ stöchiometrische Matrix von n_x extrazellulären Metaboliten ist, \mathbf{r} ist der Vektor aus n_r regulierten Stoffflussraten, und c stellt die Biotrockenmassekonzentration dar.

Unter pseudo-steady-state-Annäherung ($dm/dt = 0$, wobei \mathbf{m} interne Metaboliten darstellt) kann der Vektor \mathbf{r} als konvexe Kombination einer Menge eindeutig definierter Elementarer Flux Moden (EMs) dargestellt werden, die den Raum erreichbarer Zustände des Systems umspannen [EMs selbst können nicht als konvexe Kombinationen anderer EMs dargestellt werden]:

$$\mathbf{r} = \mathbf{Z}\mathbf{r}_M, \mathbf{r}_M \geq 0 \quad (2)$$

\mathbf{Z} ist die $(n_r \times n_z)$ EM-Matrix, wobei n_z die Anzahl der EMs ist und \mathbf{r}_M der Vektor der Wichtungen (interpretiert als Flux-Vektor durch die EMs).

Metabolisches Netzwerk für P. pentosaceus

Ein 100 Reaktionen umfassendes metabolisches Netzwerk wurde mithilfe von Genomdatenbanken für *P. pentosaceus* ATCC 25745 (z.B. <http://www.genome.jp/kegg/kegg2.html>). Das Netzwerk beinhaltet die primären Stoffwechselwege für Glucose, Mannose, Galactose, Arabinose und Xylose. Biomassebildung zusammengefasste Reaktionen für die Synthese von Zellkomponenten (e.g. proteins, lipids, DNA) aus Precursoren wurden von einem metabolischen Modell im Genommaßstab für *Lactobacillus plantarum* [9] abgeleitet. Da *P. pentosaceus* nährstoffreiche Umgebungen benötigt und ein komplexes Medium eingesetzt wird (MRS), wird angenommen, dass aöoe Aminosäuren und Nucleotide (sowie Vitamine) durch das Medium bereitgestellt werden und daher externe Metaboliten sind. Bild 1 gibt eine Übersicht über das metabolische Netzwerk.

Das Netzwerk wurde mithilfe von METATOOL v.5.0 in 5025 EMs zerlegt. Zur Reduzierung der Anzahl der EMs wurde die Methodik der Metabolischen Ertragsanalyse (Metabolic Yield Analysis, MYA) nach Song and Ramkrishna [7] eingesetzt. Für eine realistischere Darstellung der intrazellulären Abläufe wurde außerdem der wachstumsassoziierte ATP-Bedarf während der MYA berücksichtigt. Hierzu wurde der biomasseassoziierte ATP-Verbrauch über die unterschiedlichen EMs berechnet. Für die MYA wurden die Ausbeuten von Batch-Fermentationen verwendet. Da Arabinose und Galactose simultan metabolisiert werden, werden die Daten des simultanen Abbaus zusätzlich in der MYA eingesetzt. Mithilfe der MYA wurde die Anzahl der relevanten EMs auf 14 reduziert.

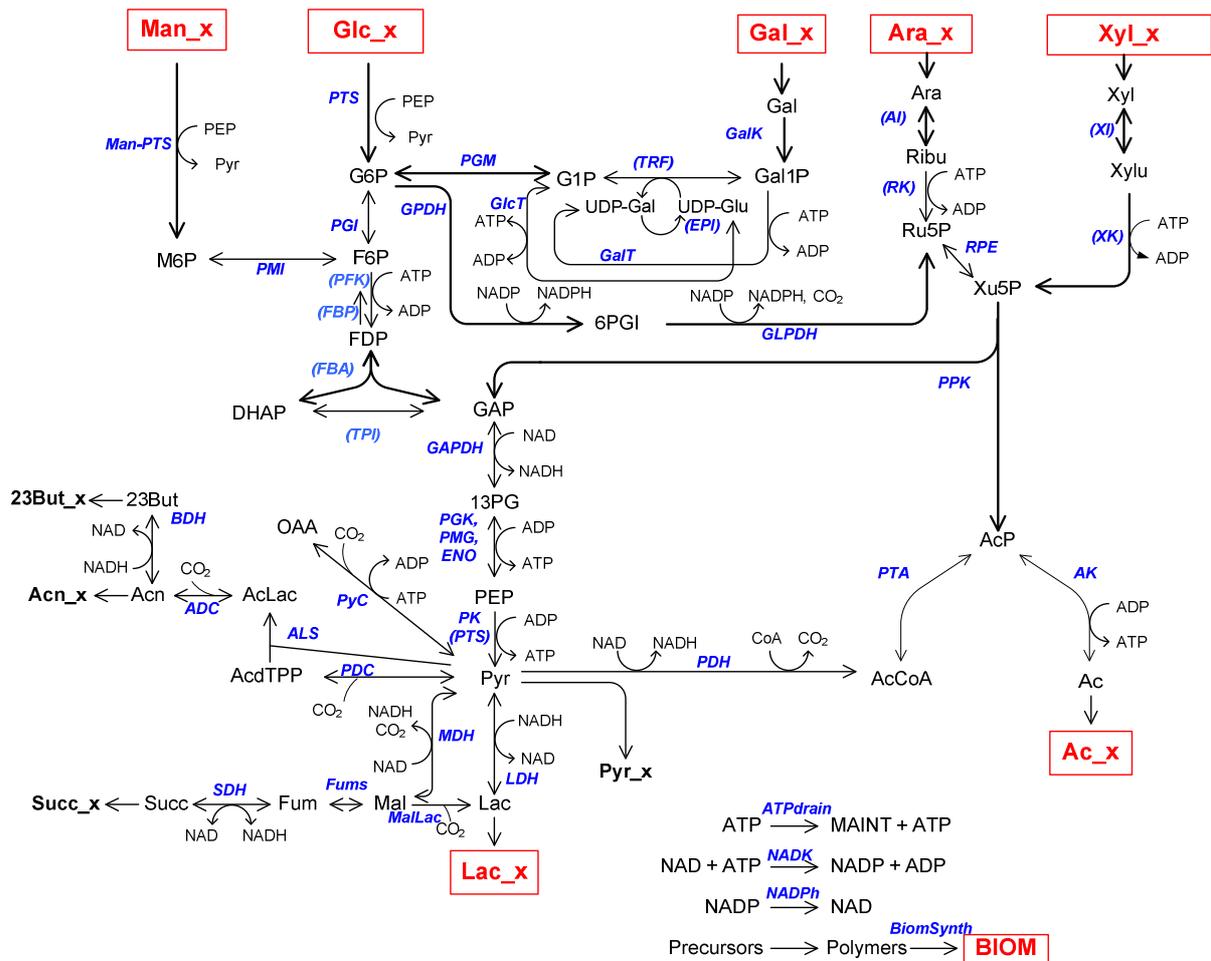


Abb. 1: Metabolisches Netzwerk für *P. pentosaceus*, einschließlich Metabolismus von Glucose, Mannose, Galactose, Arabinose, Xylose. Die Synthese von Biomassekomponenten ist hier aus Gründen der Übersichtlichkeit in einer zusammengefassten Reaktion dargestellt.

*Hybrides kybernetisches Modell für *P. pentosaceus**

Die Bilanzgleichung für extrazelluläre Metabolite lautet:

$$\frac{dx}{dt} = \mathbf{S}_x \mathbf{Z}_M^{kin} \mathbf{v}_{rel} \mathbf{C}, \quad \mathbf{x} = [x_{Glc} \ x_{Man} \ x_{Gal} \ x_{Ara} \ x_{Xyl} \ x_{BIOM} \ x_{MAINT} \ x_{Lac} \ x_{Ac}]' \quad (3)$$

Der Vektor der kybernetischen Variablen \mathbf{v} stellt die Mechanismen, welche die Enzymaktivität existierender Enzyme kontrollieren, dar; \mathbf{e}_{rel} bezeichnet das relative Enzymlevel \mathbf{r}_M^{kin} ist der Aufnahmeratenvektor im unregulierten Zustand.

Die Bilanz für den Enzymvektor \mathbf{e} lautet:

$$\frac{de}{dt} = \boldsymbol{\alpha} + \text{diag}(\mathbf{u}) \mathbf{r}_{E,M}^{kin} - \text{diag}(\boldsymbol{\beta}) \mathbf{e} - \boldsymbol{\mu} \mathbf{e}, \quad \mathbf{e} = [e_1 \ e_2 \ \dots \ e_{14}]' \quad (4)$$

wobei $\boldsymbol{\alpha}$, \mathbf{r}_E und $\boldsymbol{\beta}$ die spezifischen Raten der konstitutiven Enzymsynthese, den unregulierten Teil der induzierten Enzymsynthese und den Enzymabbau bezeichnen; \mathbf{u} ist der Vektor der kybernetischen Variablen für die Enzymsynthese.

The spezifische Wachstumsrate ist

$$\mu = \frac{1}{c} \frac{dx_{\text{BIOM}}}{dt} \quad (5)$$

Die kinetischen Terme für die Substrataufnahme durch die Elementarmode i und die induzierte Enzymsynthese werden mithilfe von Michaelis-Menten-Kinetiken beschrieben, d.h.

$$r_{M,i}^{\text{kin}} = k_i^{\text{max}} \frac{x_j}{x_j + K_{i,j}} \quad \begin{cases} j = \{Glc\} & (i = 1-2) \\ j = \{Man\} & (i = 3-4) \\ j = \{Gal\} & (i = 5-7) \\ j = \{Ara\} & (i = 8-10) \\ j = \{Xyl\} & (i = 11-12) \end{cases} \quad (6)$$

$$r_{M,i}^{\text{kin}} = k_i^{\text{max}} \frac{x_{\text{Gal}}}{x_{\text{Gal}} + K_{i,\text{Gal}}} \frac{x_{\text{Ara}}}{x_{\text{Ara}} + K_{i,\text{Ara}}} \quad (i = 13-14) \quad (7)$$

und

$$r_{EM,i}^{\text{kin}} = k_{E,i}^{\text{max}} \frac{x_j}{x_j + K_{i,j}} \quad \begin{cases} j = \{Glc\} & (i = 1-2) \\ j = \{Man\} & (i = 3-4) \\ j = \{Gal\} & (i = 5-7) \\ j = \{Ara\} & (i = 8-10) \\ j = \{Xyl\} & (i = 11-12) \end{cases} \quad (8)$$

$$r_{EM,i}^{\text{kin}} = k_{E,i}^{\text{max}} \frac{x_{\text{Gal}}}{x_{\text{Gal}} + K_{i,\text{Gal}}} \frac{x_{\text{Ara}}}{x_{\text{Ara}} + K_{i,\text{Ara}}} \quad (i = 13-14). \quad (9)$$

Die EMs 13-14 sind zur Beschreibung des simultanen Abbaus von Arabinose und Galactose notwendig.

Die $S_x Z$ -Matrix ist:

$$S_x Z = \begin{bmatrix} -1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 & -1 & 0 & 0 & -0.0378 & -277.0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0.0311 & 0 & 0.0311 & 0 & 0 & 0.0311 & 0 & 0 & 0.0278 & 0 & 0.0278 & 0.0322 & 7.75 \\ 2 & 0 & 2 & 0 & 0 & 2 & 0 & 0 & 2 & 0 & 2 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1.686 & 2 & 1.686 & 2 & 2 & 1.686 & 1 & 1 & 0.719 & 1 & 0.719 & 1.712 & 200.9 \\ 0 & -0.0365 & 0 & -0.0365 & 0 & 0 & -0.0365 & 1 & 1 & 0.967 & 1 & 0.967 & 0 & 268.0 \end{bmatrix} \begin{matrix} Glc_x \\ Man_x \\ Gal_x \\ Ara_x \\ Xyl_x \\ BIOM \\ MAINT \\ Lac_x \\ Ac_x \end{matrix} \quad (10)$$

In der generalisierten Form sind die kybernetischen Variablen wie folgt definiert:

$$u = \frac{p}{\|p\|_1} \quad (11)$$

$$\mathbf{v} = \frac{\mathbf{p}}{\|\mathbf{p}\|_{\infty}} \quad (12)$$

wobei \mathbf{p} den Return-On-Investment von kritischen Ressourcen darstellt. Als Zielfunktion wird die Kohlenstoffaufnahme gewählt:

$$\mathbf{p} = \text{diag}(\mathbf{f}_c) \text{diag}(\mathbf{e}_{\text{rel}}) \mathbf{r}_M^{\text{kin}} \quad (13)$$

In Gl. 14 ist \mathbf{f}_c der Vektor der Kohlenstoffmole pro mol Substrat, d.h.

$$\mathbf{f}_c = [6 \ 6 \ 6 \ 6 \ 6 \ 6 \ 6 \ 5 \ 5 \ 5 \ 5 \ 5 \ 8.079 \ 1391]. \quad (14)$$

3 Parameterschätzung

Zur Parameterermittlung erfolgten die Fermentationen mit den jeweiligen Monosacchariden (D(+)-Glucose, D(+)-Galactose, D(+)-Mannose, L(+)-Arabinose, D(-)-Xylose) als alleinige Kohlenstoffquellen in einem 3,6 L Rührkessel mit pH- und Temperatur-Regelung.

a) Um den Einfluss der Produktinhibierung durch die gebildeten organischen Säuren Milchsäure und Essigsäure zu bestimmen, wurden für jedes Monosaccharid Fermentationen mit variierenden Milchsäure- und Essigsäure-Startkonzentrationen im Medium durchgeführt. Hierbei wurden beide Säuren auf jeweils drei Faktorstufen variiert. Anschließend wurden die maximalen spezifischen Wachstumsraten ermittelt. Hierbei konnte im untersuchten Konzentrationsbereich kein signifikanter Einfluss der Säurekonzentrationen auf die spezifischen Wachstumsraten festgestellt werden. Daher kann der Einfluss der Produktinhibierung im Modell vernachlässigt werden.

b) Die Bilanzierung des Substratverbrauchs, der Produktbildung sowie des Biomassewachstums erfolgte aus satzweisen Fermentationen mit C-Quellenlimitierung. Die Parameter für die Enzyimbilanz wurden aus der Literatur übernommen [8]. Die Michaelis-Menten-Konstanten K_i wurden auf 0.3 mmol/L festgesetzt. Die Geschwindigkeitskonstanten k_i^{max} wurden durch nicht-lineare Kurvenanpassung der experimentellen Daten mit den Modellsimulationen die relative Gesamt-Fehlerquadratsumme bestimmt. Tabelle 1 fasst die Werte der angepassten und festgesetzten Parameter zusammen.

Tabelle 1: Modellparameter

EM group	glucose		mannose		galactose			arabinose			xylose		arabinose+galactose	
EM	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
k_i^{\max} (mmol h ⁻¹)	1.78	19.87	11.47	18.99	1.69E-12	3.88	11.01	5.89	5.89	18.43	2.03	2.74	18.39	0.0871
$K_{s,i}$ (mmol·L ⁻¹)								0.3						
s	{Glc}	{Glc}	{Man}	{Man}	{Gal}	{Gal}	{Gal}	{Ara}	{Ara}	{Ara}	{Xyl}	{Xyl}	{Gal, Ara}	{Gal, Ara}
$k_{E,i}^*$ (h ⁻¹)								0.01 ^a						
β_i (h ⁻¹) ^a								0.05 ^a						
$k_{E,i}$ (h ⁻¹)								1 ^a						
$e_{i,0}/e_{i,\max}$	0.8	0.8	0.6	0.6	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

^aSong und Ramkrishna [8]

4 Modellverifizierung anhand von Modellmedien

Zur Überprüfung der Vorhersagegenauigkeit des Modells für zusammengesetzte Substrate wurden Fermentationen mit unterschiedlichen Kohlenhydrat-Mischungen durchgeführt und die experimentellen Ergebnisse den Ergebnissen von Modellsimulationen gegenübergestellt (Abb. 2-5).

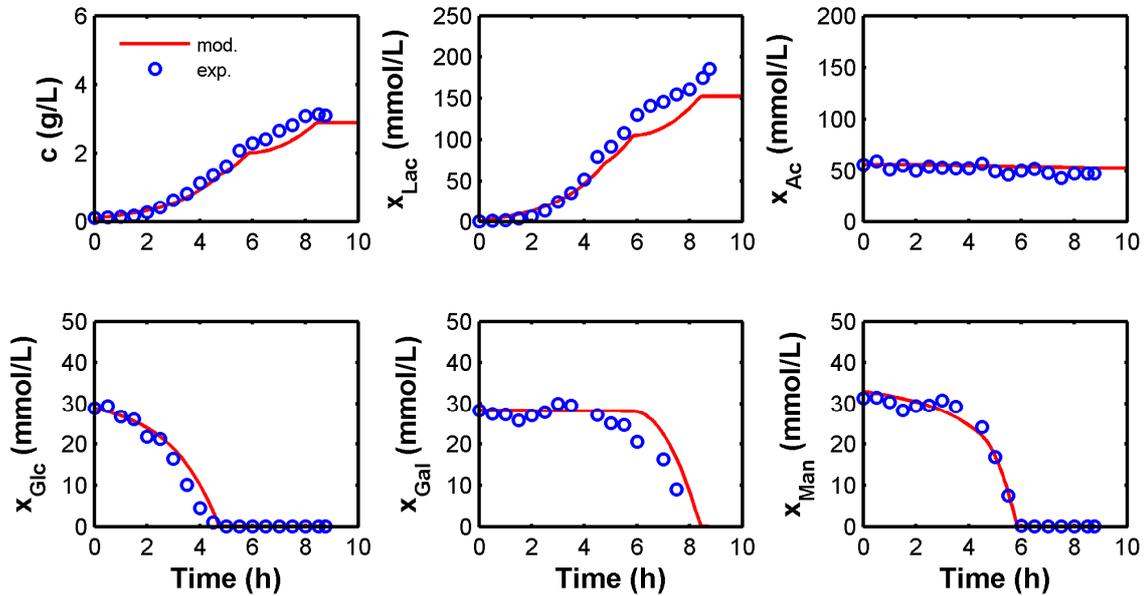


Bild 2: Gegenüberstellung von experimentellen Ergebnissen und Modellsimulationen für das Wachstum von *P. pentosaceus* auf einer Mischung aus 6,6 g Glucose (Glu), 6,6 g/L Galactose (Gal), 6,6 g/L Mannose (Man).

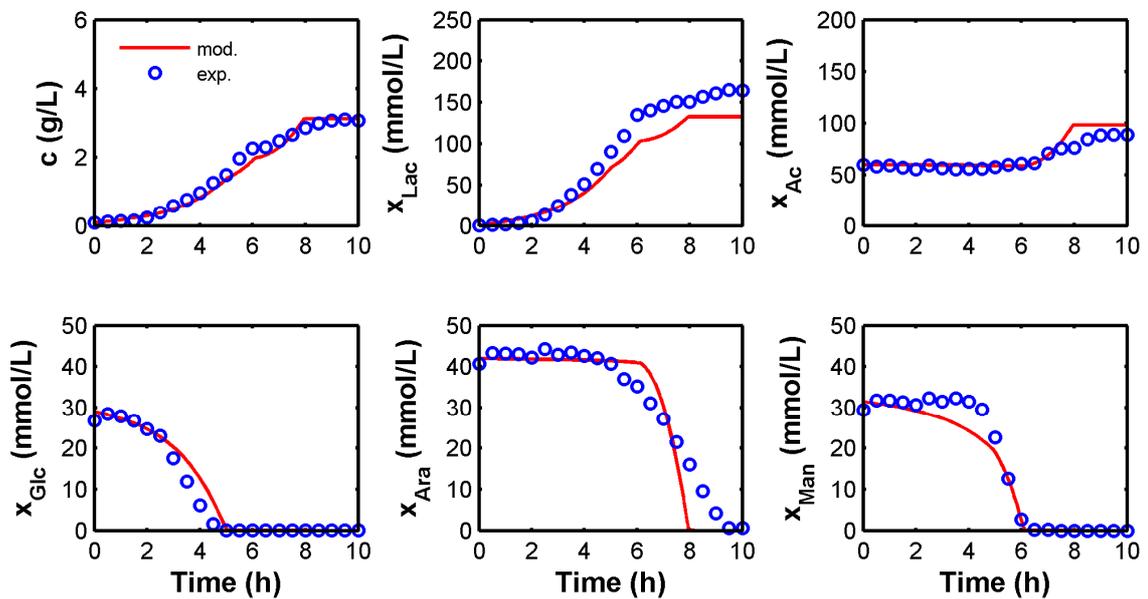


Bild 3: Gegenüberstellung von experimentellen Ergebnissen und Modellsimulationen für das Wachstum von *P. pentosaceus* auf einer Mischung aus 6,6 g Glucose (Glu), 6,6 g/L Arabinose (Ara), 6,6 g/L Mannose (Man).

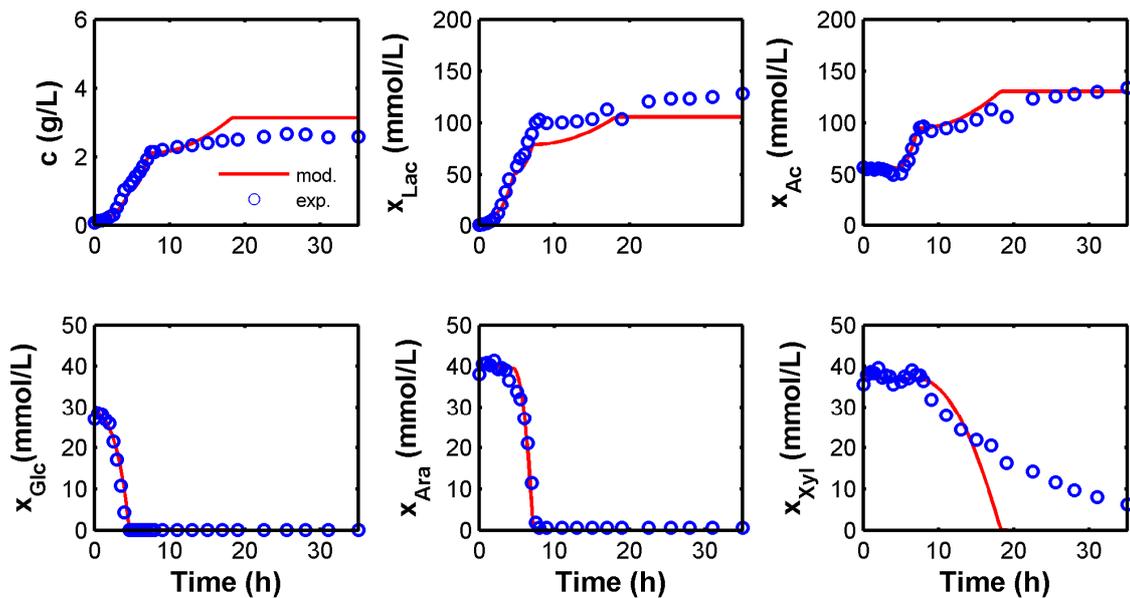


Bild 4: Gegenüberstellung von experimentellen Ergebnissen und Modellsimulationen für das Wachstum von *P. pentosaceus* auf einer Mischung aus 6,6 g Glucose (Glu), 6,6 g/L Arabinose (Ara) und 6,6 g/L Xylose (Xyl).

Die Abbildungen 2-5 zeigen, dass das Modell eine adäquate Vorhersage der experimentellen ermöglicht.

Aus Abbildungen 2 und 3 wird ersichtlich, dass die Milchsäurebildung geringfügig unterschätzt wird. Dies kann auf eine die höhere Ausbeute auf Arabinose im Experiment gegenüber dem Modell (zweite Wachstumsphase) zurückgeführt werden. Die Ausbeuten von Metaboliten sind in dem hybriden kybernetischen Ansatz durch die Struktur des Netzwerkes vorgegeben. Demnach kann aus 1 mmol Arabinose maximal 1 mmol Milchsäure gebildet werden. In den dynamischen Simulationen ist hauptsächlich die EM 10 aktiviert, da hier die höchste Kohlenstoffaufnahme gegenüber den anderen arabinoseaufnehmenden EMs erreicht wird ($k_i^{\max} = 18.43$ mmol/h). Die Milchsäureausbeute beträgt in dieser EM 0.719 mmol/mmol. Experimentell wird aber mehr als 1 mmol Milchsäure pro mmol Arabinose gebildet.

Weiterhin zeigen die Experimente, dass während Wachstum auf Mannose keine vollständige Inhibierung der Metabolisierung von Arabinose bzw. Galactose stattfindet. Diese wäre zu erwarten, da Mannose ebenso wie Glucose über einen PTS-Transporter aufgenommen wird, was in der Regel mit einer Substratrepression Verbunden ist. Das Modell gibt dennoch sehr gute Prognosen über das Verwertungsmuster.

Der sequentielle Abbau von Glucose, Arabinose und Xylose wird qualitativ richtig und quantitativ hinreichend genau dargestellt (s. Abb 4). Gleichzeitig findet experimentell keine vollständige Verwertung von Xylose statt. Die geringere Biomasseendkonzentration lässt sich hierdurch begründen. Bei Kultivierung auf einer Mischung aus 11,5 g/L Glucose (Glu), 2 g/L Galactose (Gal), 4 g/L Arabinose (Ara) und 2,5 g/L Xylose (Xyl) ist der unvollständige Abbau von Xylose noch ausgeprägter (s. Abb. 5). Nach 20 Stunden Fermentation wird praktisch keine Xylose mehr metabolisiert. Insgesamt verbleiben etwa 10 mmol/L im Medium. Im Vergleich zur gebildeten Milchsäuremenge von über 150 mmol/L ist der dadurch entstehende Fehler sehr gering. Es zeigt sich aber, dass weitere Untersuchungen zur Effizienzsteigerung der Xyloseverwertung durchgeführt werden sollten.

Als Ursache für den unvollständigen Xyloseabbau kann eine Limitierung von Cofaktoren für xylosespezifische Enzyme (Xyloseisomerase, Xylulosekinase) herangezogen werden. Beispielsweise werden für Xyloseisomerase Mg^{2+} und Mn^{2+} - Ionen benötigt. Weiterhin könnte eine Produktinhibierung durch Milchsäure schon bei geringen Konzentrationen (<180 mmol/L) vorliegen. Diese wurde allerdings in den Produktinhibierungsversuchen mit extern vorgelegter Milchsäure nicht beobachtet.

Weiterhin zeigt Abb. 5, dass der simultane Abbau von Arabinose und Galactose sehr präzise qualitativ und quantitativ wiedergegeben wird.

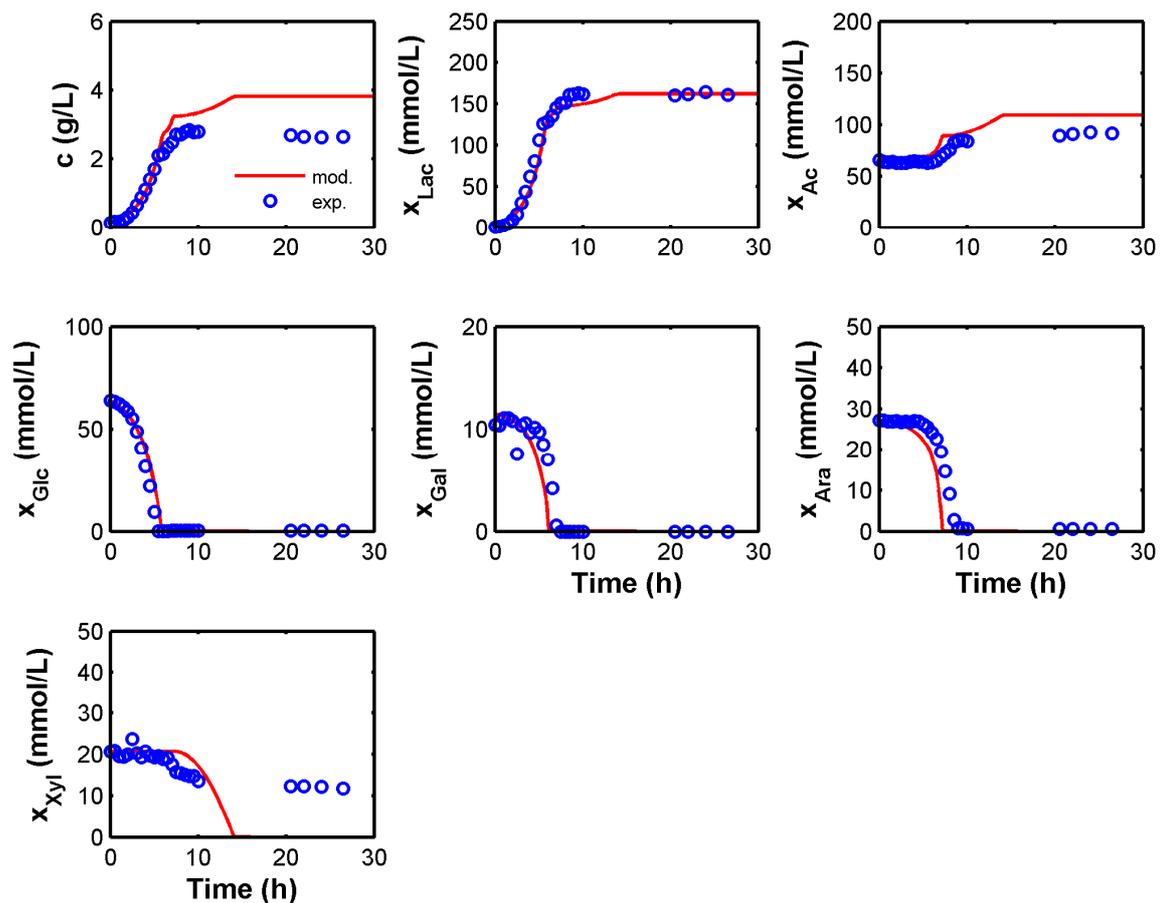


Bild 5: Gegenüberstellung von experimentellen Ergebnissen und Modellsimulationen für das Wachstum von *P. pentosaceus* auf einer Mischung aus 11,5 g/L Glucose (Glu), 2 g/L Galactose (Gal), 4 g/L Arabinose (Ara) und 2,5 g/L Xylose (Xyl).

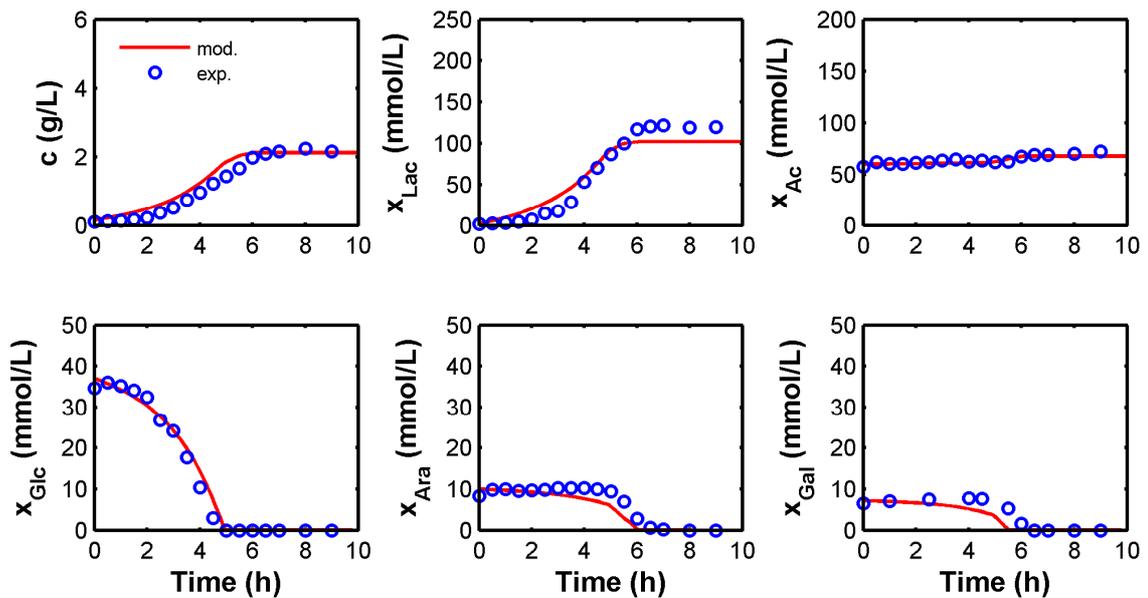


Bild 6: Gegenüberstellung von experimentellen Ergebnissen und Modellsimulationen für das Wachstum von *P. pentosaceus* auf enzymatisch aufgeschlossenem Apfeltrester.

Abb. 6 vergleicht Modellsimulationen und experimentelle Ergebnisse bei Kultivierung auf enzymatisch aufgeschlossenem Apfeltrester als Kohlenstoffquelle. Es ist eine gute Übereinstimmung zwischen experimentellen Ergebnissen und Modellvorhersagen zu beobachten. Die Milchsäurebildung wird geringfügig unterschätzt. Eine Möglichkeit hierfür sind zusätzliche Kohlenstoffquellen (wie Fructose oder Malat), die im Modell nicht berücksichtigt sind. Insgesamt ist eine Übertragbarkeit auf reale Systeme gewährleistet.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass das Modell präzise Vorhersagen über Prozessverläufe mit unterschiedlichen Substratzusammensetzungen liefert. Da der Ansatz die Metabolisierung aller quantitativ relevanten Monosaccharide berücksichtigt, kann es ein effizientes Werkzeug für eine modellbasierte Bewertung eines beliebigen lignocellulosehaltigen Reststoffes als Rohmaterial für die Milchsäuresynthese sein. Das Modell könnte ebenfalls zur Prozessgestaltung und -optimierung eingesetzt werden.

Literatur

- [1] BUSTOS, G.; MOLDES, A. B.; CRUZ, J. M.; DOMINGUEZ, J. M. "Formulation of low-cost fermentative media for lactic acid production with *Lactobacillus rhamnosus* using vinification lees as nutrients". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52 (4) 2004: 801 - 808
- [2] BUSTOS, G.; MOLDES, A. B.; CRUZ, J. M.; DOMINGUEZ, J. M. "Production of lactic acid from vine-trimming wastes and viticulture lees using a simultaneous saccharification fermentation method". *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85 (3) 2005: 466 - 472
- [3] GARDE, A.; JONSSON, G.; SCHMIDT, A. S.; AHRING, B. K. "Lactic acid production from wheat straw hemicellulose hydrolysate by *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus brevis*". *Bioresource Technology* 81 (3) 2002: 217 - 223

- [4] HOFVENDAHL, K.; HAHN-HAGERDAL, B. "*Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources*". *Enzyme and Microbial Technology* 26 (2-4) 2000: 87 - 107
- [5] KAMM, B.; KAMM, M. "*Biorefineries - Multi product processes*". *White Biotechnology* 105 2007: 175 - 204
- [6] KIM, JAE HAN; BLOCK, DAVID E.; SHOEMAKER, SHARON P.; MILLS, DAVID A. "*Conversion of rice straw to bio-based chemicals: an integrated process using Lactobacillus brevis*". *Applied Microbiology and Biotechnology* 86 (5) 2010:
- [7] SONG, H. S.; RAMKRISHNA, D. "*Reduction of a Set of Elementary Modes Using Yield Analysis*". *Biotechnology and Bioengineering* 102 (2) 2009: 554 - 568
- [8] SONG, H. S.; RAMKRISHNA, D. "*Cybernetic Models Based on Lumped Elementary Modes Accurately Predict Strain-Specific Metabolic Function*". *Biotechnology and Bioengineering* 108 (1) 2011: 127 - 140
- [9] TEUSINK, B.; WIERSMA, A.; MOLENAAR, D.; FRANCKE, C.; DE VOS, W. M.; SIEZEN, R. J.; SMID, E. J. "*Analysis of growth of Lactobacillus plantarum WCFS1 on a complex medium using a genome-scale metabolic model*". *Journal of Biological Chemistry* 281 (52) 2006: 40041 - 40048
- [10] VENKATESH, K. V. "*Simultaneous saccharification and fermentation of cellulose to lactic acid*". *Bioresource Technology* 62 (3) 1997: 91 - 98
- [11] WEE, Y. J.; KIM, J. N.; RYU, H. W. "*Biotechnological production of lactic acid and its recent applications*". *Food Technology and Biotechnology* 44 (2) 2006: 163 - 172