

Simulation und Anwendung bioverfahrenstechnischer Kaskadenprozesse zur Behandlung von Abfallströmen

Vom Promotionsausschuss der
Technischen Universität Hamburg

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)

genehmigte Dissertation (Monografie)

von
Nikolai Carsten Jürgensen

aus
Köln

2024

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Johannes Gescher
2. Gutachter: Prof. Dr. -Ing. Ralf Pörtner
Vorsitzende: Prof. Dr. Anna-Lena Heins

Tag der mündlichen Prüfung: 27.09.2024

Identifizier

DOI: <https://doi.org/10.15480/882.13691>

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8879-4077>

Creative Commons Lizenzvertrag

Der Text steht, soweit nicht anders gekennzeichnet, unter der Creative-Commons-Lizenz Namensnennung 4.0 (CC BY 4.0). Das bedeutet, dass er vervielfältigt, verbreitet und öffentlich zugänglich gemacht werden darf, auch kommerziell, sofern dabei stets der Urheber, die Quelle des Textes und o. g. Lizenz genannt werden. Die genaue Formulierung der Lizenz kann unter <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.de> aufgerufen werden.

Zusammenfassung

Die Nutzung fossiler Rohstoffe entspricht keiner nachhaltigen Wirtschaftsweise, weshalb vorhandene Ressourcen effizienter genutzt werden müssen und alternative Energiequellen wie Wasserstoff benötigt werden. Ein Ansatz bietet die mikrobielle Elektrolysezelle (MEZ), welche mithilfe von exoelektrogenen Mikroorganismen biologische Abfallströme in elektrische Energie umwandelt und damit die Erzeugung von Wasserstoff ermöglicht. Diese Arbeit behandelt die energetische und stoffliche Nutzung von biobasierten Abfällen wie Rübensilage und Urin anhand von zwei verschiedenen Prozessausführungen. Es wurde die Verwendung einer MEZ mit einer definierten Co-Kultur aus *Shewanella oneidensis* und *Geobacter sulfurreducens* in Kombination mit den biologischen Abbauprozessen einer Biogasanlage für eine flexible Biogas- und Wasserstoffherzeugung in einem Prozessmodell untersucht. Weiterhin wurde ein Prozessmodell entwickelt, welches die stoffliche Nutzung von Wasserstoff und Kohlendioxid durch mikrobielle Organismen zu Plattformchemikalien zeigt. Zusätzlich wurde untersucht, ob Urin als Substratquelle in einer MEZ mit einer definierten Co-Kultur verwendet werden kann.

Die Aktivität der exoelektrogenen Co-Kultur wurde bei verschiedenen Anodenpotentialen experimentell untersucht. Dadurch war es möglich, eine Elektrodenregelung bei variierendem Anodenpotential zu erarbeiten, um den Elektronenfluss in einer MEZ zu kontrollieren. Zur Beschreibung des anaeroben Abbauprozesses auf Basis von Rübensilage wurde das massenbasierte ADM1 als Prozessmodell genutzt, mit dem das erzeugte Biogas und die produzierten organischen Säuren simuliert werden konnten. Durch die Integration der MEZ in den Biogasprozess konnte in einem Prozessmodell aufgrund der Elektrodenregelung eine Steuerung der Biogas- und Wasserstoffproduktion demonstriert werden. Weiterhin wurde in einem autotrophen Prozessmodell die Nutzung der produzierten Gase gezeigt, welche in Acetoin sowie 2,3-Butandiol umgewandelt werden konnten. Zusätzlich wurde das planktonische Wachstum von *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in sterilem Urin untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass ein Wachstum in Urin unter Zugabe eines geeigneten Elektronendonors und Elektronenakzeptors möglich ist. Im Anschluss wurde die Verwendung von Urin in zwei MEZ-Designs untersucht und die Anodengemeinschaft analysiert. In sterilem Urin wurde eine geringere Stromdichte als im synthetischen Medium gemessen. Dagegen konnte die Stromdichte in einem Durchflusssystem gesteigert werden. Die Analyse der Anodengemeinschaft zeigte, dass *G. sulfurreducens* langfristig als dominante Spezies auftrat und für die Ausbildung eines leitfähigen Biofilms wichtig ist, weshalb eine exoelektrogene Co-Kultur vor dem Einsatz mit Urin oder eines Abfallstromes in synthetischem Medium angezogen werden sollte.

Abstract

The use of fossil raw materials does not correspond to a sustainable economy, which is why existing resources must be utilised more efficiently and alternative energy sources such as hydrogen are needed. One approach is the microbial electrolysis cell (MEC), which uses exoelectrogenic microorganisms to convert biological waste streams into electrical energy, thus enabling the production of hydrogen. This work deals with the energetic and substantial utilisation of biobased waste such as beet silage and urine using two different process designs. The use of a MEC with a defined co-culture of *Shewanella oneidensis* and *Geobacter sulfurreducens* in combination with the biological degradation processes of a biogas plant for flexible biogas and hydrogen production was investigated in a process model. Furthermore, a process model was developed that shows the substantial utilisation of hydrogen and carbon dioxide by microbial organisms to produce platform chemicals. In addition, it was investigated whether urine can be used as a substrate source in a MEC with a defined co-culture.

The activity of the exoelectrogenic co-culture was investigated experimentally at different anode potentials. This made it possible to develop an electrode control at varying anode potentials in order to control the electron flow in a MEC. To describe the anaerobic degradation process based on beet silage, the mass-based ADM1 was used as a process model with which the biogas and organic acids produced could be simulated. By integrating the MEC into the biogas process, it was possible to demonstrate the control of biogas and hydrogen production in a process model based on electrode control. Furthermore, the utilisation of the gases produced, which could be converted into acetoin and 2,3-butanediol, was demonstrated in an autotrophic process model. In addition, the planktonic growth of *S. oneidensis* and *G. sulfurreducens* was analysed in sterile urine. The results showed that growth in urine is possible with the addition of a suitable electron donor and electron acceptor. Subsequently, the use of urine in two MEC designs was investigated and the anode community was analysed. A lower current density was measured in sterile urine than in the synthetic medium. In contrast, the current density could be increased in a flow-through system. Analysis of the anode community showed that *G. sulfurreducens* emerged as the dominant species in the long term and is important for the formation of a conductive biofilm, which is why an exoelectrogenic co-culture should be grown with urine or a waste stream in synthetic medium before use.

Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG.....	I
ABSTRACT	II
INHALTSVERZEICHNIS	III
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
TABELLENVERZEICHNIS.....	X
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	XII
1. EINLEITUNG	1
1.1 Produktion von Plattformchemikalien	3
1.2 Bioelektrochemische Systeme	4
1.2.1 Exoelektrogene Mikroorganismen	6
1.2.2 Elektronentransport Mechanismen.....	8
1.3 Biofilme im bioelektrochemischen System	8
1.4 Urin im bioelektrochemischen System	9
1.5 Anaerober Abbauprozess	11
1.6 Integration eines bioelektrochemischen Systems in den anaeroben Abbau	14
1.7 Modellbildung von Bioprozessen	14
1.7.1 Modellierung des anaeroben Abbauprozesses.....	19
1.7.2 Modellierung eines bioelektrochemischen Systems.....	20
1.7.3 Modellierung der Produktion von Plattformchemikalien.....	21
1.8 Zielsetzung.....	21
2. MATERIAL UND METHODEN	24
2.1 Verwendete Stämme	24
2.1.1 Anzucht der Organismen.....	24
2.1.2 Medien der Organismen	25
2.1.3 Waschen der Vorkulturen.....	28
2.2 Wachstumsexperimente mit Urin	28
2.3 Kultivierung im bioelektrochemischen System	31
2.3.1 Mikrobielle 3-Elektrodenzelle.....	31
2.3.2 3-Elektroden-Durchflusszelle.....	32
2.3.3 3-Elektroden-Drehscheiben-Reaktor.....	33
2.4 Bestimmung von Evaluationsparametern	34
2.5 Analytik	36
2.5.1 Spektrophotometer	36
2.5.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	36
2.5.3 Biotrockenmasse	36
2.5.4 Optische Kohärenztomographie	37
2.5.5 Metagenomanalyse.....	38
2.6 Modellbildung und Implementierung	38
2.6.1 Modell des Biogasprozesses.....	38
2.6.2 Modell der mikrobiellen Elektrolysezelle	45

2.6.3	Modell der Produktion von Plattformchemikalien	46
2.6.4	Parameteridentifikation	49
2.6.5	Substratcharakterisierung für das Biogas-Modell	54
3.	ERGEBNISSE	55
3.1	Energetische und stoffliche Nutzung einer flexiblen Biogasproduktion.....	55
3.1.1	Prozessmodell der mikrobiellen Elektrolysezelle.....	56
3.1.2	Prozessmodell der Biogasproduktion	61
3.1.3	Prozessmodell der Produktion von Plattformchemikalien	66
3.1.4	Gesamtmodell der flexiblen Biogasproduktion	74
3.2	Energetische Nutzung von Urin.....	81
3.2.1	Wachstum der exoelektrogenen Mikroorganismen in Gegenwart von Urin	81
3.2.2	Einfluss von Urin im bioelektrochemischen System.....	83
4.	DISKUSSION	89
4.1	Modellierung einer MEZ zur Steuerung der Stromproduktion	89
4.2	Anwendung des massenbasierten ADM1-Modells.....	92
4.3	Modellierung der Produktion von Plattformchemikalien.....	96
4.4	Etablierung einer Elektrodenregelung für den Biogasprozess in einem Prozessmodell	100
4.5	Urin als alternatives Medium.....	104
4.6	Leistung einer MEZ bei der Verwendung von Urin mit einer Co-Kultur.....	106
5.	FAZIT UND AUSBLICK	111
6.	LITERATURVERZEICHNIS.....	114
7.	ANHANG.....	129
	DANKSAGUNG	141

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Darstellung des prognostizierten Wasserstoffbedarfs in Deutschland nach Industrien von 2015-2050 (links) und des produzierten Wasserstoffs im Jahr 2020 in Deutschland nach verschiedenen Produktionsprozessen (rechts) (Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz 2020; Umweltbundesamt 2016). Die Produktion von Wasserstoff aus Erdgas erfolgt aus der Dampfreformierung, die Produktion aus Öl unterteilt sich in die Petrochemie der Benzinreformierung sowie der Ethylenproduktion und der Oxidation von Schweröl.	2
Abbildung 2: Schematische Darstellung von anodisch betriebenen mikrobiellen elektrochemischen Systemen mit Aufwuchs von Zellen an der Elektrodenoberfläche. Der Elektronenfluss durch einen externen Widerstand oder einer angelegten Spannungsquelle führt zur Reduktion von Sauerstoff in der MBZ (a) oder zur Reduktion von Protonen und Wasserstoffbildung in der MEZ (b) (Klein <i>et al.</i> 2023).....	5
Abbildung 3: Übersicht und potenzieller Ausgleich der Vor- und Nachteile der beiden Modellorganismen <i>S. oneidensis</i> und <i>G. sulfurreducens</i> in einer Co-Kultivierung. Erstellt mit BioRender.com.....	7
Abbildung 4: Zusammensetzung von menschlichem Urin als potentieller Abfallstrom zur Energierückgewinnung in Form von Strom oder zur energetischen Nutzung und Produktion von Wasserstoff in BES (Santoro <i>et al.</i> 2020). Erstellt mit BioRender.com.....	10
Abbildung 5: Schematische Darstellung des Abbaus organischer Substanz bei der Biogasgewinnung durch die anaerobe Vergärung (Weinrich 2017). Erstellt mit BioRender.com.....	12
Abbildung 6: Allgemeine Betrachtung der Massenbilanz einer Spezies <i>i</i> in einem definierten Bilanzraum (nach Chmiel <i>et al.</i> 2018). Als zeitliche Veränderung einer Spezies werden die zu- und abfließenden Stoffströme sowie die Reaktionsraten eines Biokatalysators betrachtet. Erstellt mit Biorender.com.....	18
Abbildung 7: Schematische Darstellung des Konzepts der energetischen und stofflichen Nutzung einer flexiblen Biogaserzeugung. Der anaerobe Abbauprozess wird mit einer MEZ ergänzt. Dadurch können akkumulierende Säuren kontrolliert abgebaut und der pH-Wert stabilisiert werden. Die Kinetik des Abbaus und des Elektronenflusses soll durch das eingestellte Anodenpotential gesteuert werden. Dadurch kann der Elektronenfluss zur Wasserstoff- oder Biogasproduktion gesteuert werden. Zur stofflichen Nutzung kann der anfallende Wasserstoff in einem autotrophen Prozess mit einem angepassten Mikroorganismus in eine Plattformchemikalie wie Acetoin und 2,3-Butandiol umgewandelt werden. Erstellt mit BioRender.com..	22
Abbildung 8: Schematische Darstellung des Konzepts der Verwendung von Urin in einer MEZ für eine energetische Nutzung der Wasserstoffproduktion. Das Konzept basiert auf der Nutzung von exoelektrogenen Mikroorganismen. Erstellt mit BioRender.com.....	23
Abbildung 9: Aufbau einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle (nach Golitsch 2016). Zu sehen sind 1) Eingespannte Arbeitselektrode in Halterung; 2) Konnektierung der Arbeitselektrode; 3) Ag/AgCl Referenzelektrode; 4) Gasauslass; 5) Gaseinlass mit Sterilfilter; 6) Konnektierung Gegenelektrode; 7) Kammer der Gegenelektrode.....	32
Abbildung 10: Aufbau der 3-Elektroden-Durchflusszelle (nach Hackbarth <i>et al.</i> 2020). Zu sehen sind 1) Referenzelektrodenhalter; 2) Gegenelektrodenhalter; 3) Gegenelektrode; 4) PEEK Gehäuse; 5) Arbeitselektrode; 6) Metalldeckel; 7) Dichtungsring; 8) Polycarbonat Sichtfenster.....	33
Abbildung 11: Schematische Darstellung des 3-Elektroden-Drehscheiben-Reaktors mit Peripherie (nach Knoll <i>et al.</i> 2023). Zu sehen sind 1) Schlauchpumpe; 2) Überlauf; 3) Referenzelektrode; 4) pH-Sonde; 5) pH Kontrolle; 6) 10 L Drehschreiben-Reaktor; 7) Gasauslass; 8) Schrittmotor; 9) Gegenelektrode; 10) Arbeitselektrode; 11) Welle.....	34
Abbildung 12: Herangehensweise bei der Parameteranpassung mittels experimenteller Daten der implementierten Modellvarianten in Matlab.	50
Abbildung 13: Darstellung des Prozesses einer flexiblen Biogasproduktion. Der Biogasprozess wird mit einer MEZ kombiniert, wodurch mithilfe einer Elektrodenregelung die Biogas- und Wasserstoffproduktion	

gesteuert werden können. Der entstehende Wasserstoff und das Kohlendioxid können im Anschluss in einem autotrophen Prozess mit einem angepassten Mikroorganismus in Plattformchemikalien umgewandelt werden. Erstellt mit BioRender.com.	56
Abbildung 14: Betrachtung und Modellbildung der MEZ zur Entwicklung einer Elektrodenreglung in einem separaten Prozessmodell, welches für den Prozess einer flexiblen Biogaserzeugung eingesetzt werden kann. Erstellt mit BioRender.com.	56
Abbildung 15: Die gemessene Stromdichte in Korrelation zu verschiedenen Anodenpotentialen bei der Durchführung einer linearen Sweep-Voltammetrie mit einer Schrittrate von $0,25 \text{ mV s}^{-1}$. Dazu sind die Modellanpassungen des Butler-Volmer-Monod (rot) und des Nernst-Monod-Modells (grün) zur Beschreibung der experimentellen Messwerte dargestellt (Knoll <i>et al.</i> 2023). Die gestrichelten Linien stellen die 10 % und 90 % Quantile der Simulation dar.	57
Abbildung 16: Einfluss von Potentialveränderungen auf die Leistung des Elektronenflusses bei 20 % und 50 % (Knoll <i>et al.</i> 2023). Die Anpassung der Stromdichten bei unterschiedlichen Potentialen erfolgte mit dem BVM (rot) und dem NM-Model (grün). Die Potentiale für 20 % und 50 % Elektronenfluss wurden für 2, 4 und 8 h angelegt und mit einem 8 h Intervall bei 100 % Elektronenfluss getrennt. In Hellgrau ist die Standardabweichung der Stromdichten dargestellt.	59
Abbildung 17: Simulation der Stromdichte bei 35 % Elektronenfluss unter Verwendung des BVM-Modells im Vergleich zu den simulierten Daten (links) und den experimentellen Messwerten (rechts) bei Potentialänderung zu 20 % und 50 % des Elektronenflusses (Knoll <i>et al.</i> 2023).	60
Abbildung 18: Simulation und Beschreibung der Biogaserzeugung in einem separaten Prozessmodell auf Basis von Rübensilage. Das Biogasmodell diente als Grundlage für die Beschreibung des Gesamtmodells einer flexiblen Biogasproduktion mit einer integrierten MEZ. Erstellt mit BioRender.com.	61
Abbildung 19: Vergleich der Biogasproduktionsrate anhand von Messwerten und der simulierten Werte aus dem massenbasierten ADM1 und dem Modell mit angepassten Parametern über einen Zeitraum von 130 Tagen. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.	62
Abbildung 20: Vergleich der mittleren Biogasproduktionsraten der experimentellen Daten, des massenbasierten ADM1-Modells und der Modellanpassung über einen Zeitraum von 130 Tagen. Der experimentelle Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.	63
Abbildung 21: Vergleich der Simulationsergebnisse aus dem massenbasierten ADM1 und dem Modell mit an den Messwerten angepassten Parametern über einen Zeitraum von 130 Tagen. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.	64
Abbildung 22: Modellentwicklung der autotrophen Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol. Das autotrophe Prozessmodell wurde zur stofflichen Nutzung von Wasserstoff und Kohlendioxid entwickelt. Erstellt mit BioRender.com.	67
Abbildung 23: Vergleich der Simulationen der Prozessmodelle der <i>budC</i> -Varianten aus verschiedenen Organismen unter heterotrophen Bedingungen in <i>C. necator</i> Stämmen. Es sind die optischen Dichten und die Substratwerte sowie die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol für a) pBBR1_ <i>budC</i> (<i>K. pneumoniae</i>) b) pBBR1_ <i>budC</i> (<i>K. aerogenes</i>) und c) pBBR1_ <i>budC</i> (<i>E. cloacae</i>) dargestellt. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt.	68
Abbildung 24: Vergleich der Simulationen der autotrophen Prozessmodelle mit verschiedenen <i>budC</i> -Varianten aus verschiedenen Organismen unter autotrophen Bedingungen in <i>C. necator</i> Stämmen. Es sind die optischen Dichten, die Gasmengen sowie die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol für pBBR1_ <i>budC</i> (<i>K. pneumoniae</i>) und pBBR1_ <i>budC</i> (<i>E. cloacae</i>) dargestellt. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt.	71

- Abbildung 25: Verlauf und Vergleich der Biogasproduktionsraten anhand von Messwerten und der simulierten Werte aus der Modellanpassung und dem AD-MEZ-Modell über einen Zeitraum von 130 Tagen. Das AD-MEZ-Modell wurde für eine minimale, eine mittlere und eine maximale Acetatverbrauchsrate von 0,4, 1,2 und 2,0 g L⁻¹ d⁻¹ dargestellt. Außerdem wurden verschiedene Anodenpotentiale angelegt, wodurch der Elektronenfluss beeinflusst wurde. Zusätzlich wurde die resultierende Stromdichte in Folge des Elektronenflusses abgebildet. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage. 75
- Abbildung 26: Vergleich der mittleren Biogasproduktionsraten der Modellanpassung und des AD-MEZ-Modells. Gezeigt werden die mittleren Raten über den gesamten Zeitraum von 130 Tagen und in den Zeiträumen bei einem Elektronenfluss von 20 %, 35 % 70 % und 100 %. 76
- Abbildung 27: Vergleich der theoretischen Wasserstoffproduktionsraten aus der resultierenden Stromdichte bei unterschiedlichen Elektronenflüssen des AD-MEZ-Modells. Das Anodenpotential wurde entsprechend auf Elektronenflüsse von 20 %, 35 % 70 % und 100 % gestellt. Aus den Wasserstoffproduktionsraten wurden die produzierten Wasserstoffmengen aus den jeweiligen Zeiträumen berechnet. 77
- Abbildung 28: Verläufe des pH-Werts und der Acetatkonzentration, verglichen mit den experimentellen Messwerten, den simulierten Werten aus der Modellanpassung und der Simulation des AD-MEZ-Modells. Das AD-MEZ-Modell wurde für eine minimale, eine mittlere und eine maximale Acetatverbrauchsrate von 0,4, 1,2 und 2,0 g L⁻¹ d⁻¹ dargestellt. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage. 78
- Abbildung 29: Vergleich der mittleren Acetatkonzentrationen zwischen den simulierten Werten der Modellanpassung und der Simulation des AD-MEZ-Modells. Zudem sind die mittleren pH-Werte zwischen den Simulationsmodellen dargestellt. Die Werte sind für den gesamten Zeitraum von 130 Tagen und den Zeiträumen der verschieden eingestellten Elektronenflüsse abgebildet. 79
- Abbildung 30: Simulierte Verläufe des autotrophen Prozessmodells der *budC* (*E. cloacae*) Variante bei einem konstanten Gasfluss von 1 mL min⁻¹ mit jeweils 4 % und 62 % H₂. Der Anteil von CO₂ und O₂ im Gasfluss betrug zu Beginn 12 % und 22 %. Als Volumen wurden die experimentellen Bedingungen von 1 L Gesamtvolumen und einem Flüssigvolumen von 50 mL gewählt. 80
- Abbildung 31: Wachstumsexperimente wurden mit *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in sterilem Urin durchgeführt und mit synthetischem Medium als Kontrollversuch verglichen. Es wurden unterschiedliche Komponenten des synthetischen Mediums zu den Urinversuchen dazugegeben und das Wachstum daraufhin untersucht. 82
- Abbildung 32: Vergleich der gemessenen Stromdichten der exoelektrogenen Co-Kultur mit synthetischem Medium zu sterilem Urin mit zusätzlichem Laktat über einen Zeitraum von 80 h in einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle. Der Aufbau des Systems ist in Abschnitt 2.3.1 beschrieben. Es konnte eine höhere Stromdichte von 156 µA cm⁻² in synthetischem Medium als in Urin mit 59 µA cm⁻² gemessen werden. .. 83
- Abbildung 33: Darstellung der mittleren Stromdichten nach 80 h als schwarz umrandete Balken im Vergleich von synthetischem Medium zu sterilem Urin mit Laktat in einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle. In blau sind die theoretischen Wasserstoffproduktionsraten basierend auf der mittleren Stromdichte im Vergleich dargestellt. Es wurde eine höhere mittlere Stromdichte im synthetischen Medium sowie eine daraus resultierende Wasserstoffproduktionsrate ermittelt. 84
- Abbildung 34: Darstellung der bioinformatischen Analyse der Anodengemeinschaft nach 80 h im synthetischen Medium (links) und im sterilen Urin mit Laktat (rechts) in einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle. Zu sehen ist die Abundanz der Organismen *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in der Biofilmgemeinschaft, wobei ein deutlicher Unterschied der Verteilung der Organismen zwischen den verwendeten Medien zu erkennen ist. 85
- Abbildung 35: Verlauf der Stromdichte und des Biovolumens der exoelektrogenen Co-Kultur in synthetischem Medium mit sterilem Urin (1/5 Urin des Gesamtvolumens von 275 mL) und nach Austausch des Mediums

- auf unsterilen Urin in der 3-Elektroden-Durchflusszelle. Es wurde über einen Zeitraum von 310 h gemessen und nach 216,7 h 18 mM Laktat als zusätzliche Kohlenstoffquelle zum unsterilen Urin hinzugegeben. Die Flussrate im System wurde nach 146 h konstant bei 23 mL min⁻¹ gehalten. 86
- Abbildung 36: Darstellung der mittleren Stromdichten als schwarz umrandete Balken im Vergleich von synthetischem Medium mit sterilem Urin (1/5 des Gesamtvolumens von 275 mL) zu unsterilem Urin ohne und mit Laktat in der 3-Elektroden-Durchflusszelle. In blau sind die theoretischen Wasserstoffproduktionsraten basierend auf der mittleren Stromdichte dargestellt. Für die mittlere Stromdichte des Mediums wurde die Plateauphase ab 150-193 h für einen Zeitraum von 43 h betrachtet. Die mittleren Stromdichten für unsterilen Urin wurden jeweils über deren gesamten Verlauf bestimmt, da sich keine Plateauphase einstellte. 87
- Abbildung 37: Verlauf der berechneten Porosität des Biofilms sowie der variierten Flussrate und des anwachsenden Biofilms als Biovolumen in der 3-Elektroden-Durchflusszelle (links). Die Flussrate wurde innerhalb der ersten 146 h alle 24 h variiert. Die Porosität zeigt die Kompaktheit des Biofilms und gibt an, wie dicht bzw. wie löchrig dieser sein kann. Die Darstellung der Analyse der Anodengemeinschaft nach 310 h ist im rechten Diagramm abgebildet. 88
- Abbildung A1: Korrelation der optischen Dichte und Biotrockenmasse von *Cupriavidus necator*. 129
- Abbildung A2: Höhenprofile des Biofilms in der 3-Elektroden-Durchflusszelle mit dem OCT aufgenommen und in Fiji verarbeitet. Die Höhenprofile sind zu verschiedenen Zeitpunkten von Anfang bis Ende des Versuchs dargestellt und zeigen die Bedeckung der Arbeitselektrode. 129
- Abbildung A3: Aufnahme und Seitenansicht des Biofilms mit dem OCT auf der Arbeitselektrode. Biofilmaufwuchs ist als weisse Pixel dargestellt, wobei die erste untere Schicht die Anode darstellt. 130
- Abbildung A4: Vergleich der simulierten Werte der Stromdichten und der Messwerte in der mikrobiellen Elektrolysezelle bei der linearen Sweep-Voltammetrie und bei Potentialwechsel zu 20 % und 50 % Elektronenfluss. Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R² beschrieben. 130
- Abbildung A5: Vergleich der simulierten Werte aus der Modellanpassung mit den Messwerten im massenbasierten Prozessmodell der anaeroben Vergärung ADM1. Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R² beschrieben. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage. 131
- Abbildung A6: Raumbelastung durch Rübensilage über einen Zeitraum von 130 Tagen. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage. 131
- Abbildung A7: Vergleich der simulierten Werte mit den Messwerten im heterotrophen Prozessmodell für a) pBBR1_budC (*K. pneumoniae*) b) pBBR1_budC (*K. aerogenes*) und c) pBBR1_budC (*E. cloacae*). Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R² beschrieben. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt. 132
- Abbildung A8: Vergleich der simulierten Werte mit den Messwerten im autotrophen Prozessmodell für a) pBBR1_budC (*E. cloacae*) und b) pBBR1_budC (*K. pneumoniae*). Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R² beschrieben. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt. 133
- Abbildung A9: Vergleich der simulierten Werte mit den Messwerten im autotrophen Prozessmodell für a) pBBR1_cag (*E. cloacae*) und b) pBBR1_cag (*K. pneumoniae*). Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R² beschrieben. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt. 134
- Abbildung A10: Vergleich der Simulationen der autotrophen Prozessmodelle der cag-Varianten aus verschiedenen Organismen unter autotrophen Bedingungen in *C. necator* Stämmen. Es sind die optischen

Dichten, die Gasmengen, sowie die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol für pBBR1_cag (<i>K. pneumoniae</i>) und pBBR1_cag (<i>E. cloacae</i>) dargestellt. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt.	135
Abbildung A11: Vergleich der simulierten Werte aus der Modellanpassung des ADM1 mit dem kombinierten AD-MEZ-Modell und den entsprechenden Messwerten. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.	136

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Genutzte Mikroorganismen.....	24
Tabelle 2: Zusammensetzung der LB-Agar-Platten. Im flüssigen LB-Medium wurde kein Agar hinzugegeben.	25
Tabelle 3: Zusammensetzung des BES-Nährmediums.	26
Tabelle 4: Zusammensetzung der 10x konzentrierten Salzlösung.	27
Tabelle 5: Zusammensetzung der Selenit-Wolframatlösung.....	27
Tabelle 6: Zusammensetzung der 100x konzentrierten Spurenelementlösung.	27
Tabelle 7: Zusammensetzung der 100x konzentrierten Vitaminlösung.	28
Tabelle 8: Übersicht der durchgeführten planktonischen Wachstumsversuche mit Urin in Flaschen.	30
Tabelle 9: Modellstruktur des massenbasierten ADM1 mit fester Stöchiometrie und integrierter MEZ (Weinrich 2017).....	42
Tabelle 10: Modellstruktur des massenbasierten ADM1 mit fester Stöchiometrie und integrierter MEZ (Weinrich 2017).....	43
Tabelle 11: Modellstruktur des massenbasierten ADM1 mit fester Stöchiometrie sowie algebraischer Gleichungen (Weinrich 2017).	44
Tabelle 12: Prozessmodell der heterotrophen Durchführung als Batch.	47
Tabelle 13: Prozessmodell der autotrophen Durchführung als Batch.	49
Tabelle 14: Parameter der Anpassung der Messwerte der linearen Sweep-Voltammetrie mit dem BVM und dem NM-Modell (Knoll <i>et al.</i> 2023).	58
Tabelle 15: Parameter der Anpassung der Messwerte bei Potentialwechsel zu 20 % und 50 % Elektronenfluss mit dem BVM und dem NM-Modell.	60
Tabelle 16: Angepasste Parameter für das BVM-Modell anhand der simulierten Ergebnisse bei 20 % und 50 % des Elektronenflusses zur Bestimmung von Stromdichten bei Änderungen des Potentials.	61
Tabelle 17: Vergleich der Bestimmtheitsmaße als R^2 der Simulationen des massenbasierten ADM1 und aus der Modellanpassung bezogen auf die Messwerte.....	65
Tabelle 18: Vergleich der Modellparameter des massenbasierten ADM1 (Weinrich 2017) und der angepassten Parameter aus der Modellanpassung.	66
Tabelle 19: Vergleich der Bestimmtheitsmaße der Simulationen des heterotrophen Prozessmodells anhand Messdaten verschieden modifizierter <i>C. necator</i> Stämme.....	69
Tabelle 20: Maximale Produktivitäten von Acetoin und 2,3-Butandiol der verschiedenen Stämme mit unterschiedlichen <i>budC</i> -Varianten im heterotrophen Prozess. Gezeigt werden die Werte aus den experimentellen Daten und der Simulationsdaten zum gleichen Zeitpunkt. Zusätzlich sind die maximalen Produktivitäten aus der Simulation über den gesamten Verlauf genannt.	70
Tabelle 21: Angepasste Modellparameter des heterotrophen Prozessmodells der verschiedenen Stämme mit unterschiedlichen <i>budC</i> -Varianten.	70
Tabelle 22: Vergleich der Bestimmtheitsmaße der Simulationen des autotrophen Prozessmodells anhand Messdaten verschieden modifizierter <i>C. necator</i> -Stämme.	73
Tabelle 23: Maximale Produktivitäten von Acetoin und 2,3-Butandiol der insgesamt vier <i>budC</i> - und <i>cag</i> -Varianten im autotrophen Prozess. Gezeigt werden die Werte aus den experimentellen Daten und den Simulationsdaten zum gleichen Zeitpunkt. Zusätzlich sind die maximalen Produktivitäten aus der Simulation der vier Stämme über den gesamten Verlauf gezeigt.	73
Tabelle 24: Angepasste Modellparameter des autotrophen Prozessmodells der verschiedenen Varianten.....	74
Tabelle 25: Übersicht der maximalen Wachstumsraten und der maximal erreichten optischen Dichten von <i>S. oneidensis</i> und <i>G. sulfurreducens</i> in sterilem Urin aus den Wachstumsversuchen verglichen mit	

synthetischem Medium. Die maximalen Wachstumsraten wurden für <i>S. oneidensis</i> zwischen 0-18 h bestimmt und für <i>G. sulfurreducens</i> zwischen 7-25 h.	82
Tabelle 26: Einordnung der angepassten Modellparameter im Bereich der Parameterverteilung des massenbasierten ADM1. Angegeben sind Minimal-, Maximal- sowie Median-Werte der Parameterverteilung (Weinrich 2017).	95
Tabelle A1: Gemessene Aminosäuren und Carbonsäuren in sterilem Urin (Schulze und Stahl 2019; Vagt und Frerichs 2021).....	136
Tabelle A2: Substrateingangswerte des massenbasierten ADM1 auf Basis von Referenzangaben und der Substratcharakterisierung (Weinrich und Nelles 2015; Weinrich 2017; Weinrich <i>et al.</i> 2021).	137
Tabelle A3: Sensitivität der Parameter des BVM- und des NM-Modells auf die Stromdichte bei der Simulation der verschiedenen Prozessausführungen. Die Änderung des Ausgabewertes wurde im stabilen Strombereich bei 100 % Elektronenfluss betrachtet.	137
Tabelle A4: Parameter aus der Modellanpassung der linearen Sweep-Voltammetrie für die 10 % und 90 % Quantile des NM- und des BVM-Modells.....	137
Tabelle A5: Modellparameter des massenbasierten ADM1 mit fester Stöchiometrie (Weinrich 2017)	138
Tabelle A6: Sensitivität der Parameter im Prozessmodell der Biogaserzeugung auf das Ergebnis der Simulation bei 130 d. Die Sensitivität der Wachstumsraten, der Substrataffinitäten und der Zellyse wurden bei einer Parametervariation von 2,5 % berechnet.	138
Tabelle A7: Parameter aus der Modellanpassung für die 10 % und 90 % Quantile der verschiedenen <i>C. necator</i> Stämme im heterotrophen Prozessmodell.....	139
Tabelle A8: Sensitivität der Parameter im heterotrophen Prozessmodell auf das Ergebnis der Simulation bei 58,5 h für <i>budC</i> (<i>K. pneumoniae</i>). Die Sensitivität der Parameter der Rückreaktion wurde auf das Endergebnis der Simulation bezogen.	139
Tabelle A9: Sensitivität der Parameter im heterotrophen Prozessmodell auf das Ergebnis der Simulation bei 58,5 h für <i>budC</i> (<i>K. aerogenes</i>). Die Sensitivität der Parameter der Rückreaktion wurde auf das Endergebnis der Simulation bezogen.	140
Tabelle A10: Sensitivität der Parameter im heterotrophen Prozessmodell auf das Ergebnis der Simulation bei 58,5 h für <i>budC</i> (<i>E. cloacae</i>). Die Sensitivität der Parameter der Rückreaktion wurde auf das Endergebnis der Simulation bezogen.	140

Abkürzungsverzeichnis

α	Übertragungskoeffizient	
A	Amper	
aa	Aminosäuren	
ac	Essigsäure	
AD	Anaerobic Digestion	
ADM1	Anaerobic Digestion Model No.1	
an ⁻	Anionen	
atm	Atmosphärendruck	
BES	Bioelektrochemisches System	
BTM	Biotrockenmasse	
bu	Buttersäure	
C	Coloumb	As
c_i^*	Sättigungskonzentration der Komponente i	mol L ⁻¹
cat ⁺	Kationen	
ch	Kohlenhydrate	
CH ₄	Methan	
CO ₂	Kohlenstoffdioxid	
c_i	Konzentration der Komponente i	g L ⁻¹
cm	Zentimeter	
CSB	Chemischer Sauerstoffbedarf	
d	Tag	
dec	Lyseterm	
DNA	Desoxyribonukleinsäure	
E_i	Potential der Komponente i	V
EPS	Extrazelluläre polymere Substanzen	
F	Faraday	C mol ⁻¹
f	Hinreaktion	
fa	Langkettige Fettsäuren	
g	Gramm	
gas	Gasphase	
h	Stunde	
H ₂	Wasserstoff	
H_i	Henry-Konstante der Komponente i	mol L ⁻¹ atm ⁻¹
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie	
I	Stromdichte	A m ⁻²
I_i	Inhibierungsfunktion der Komponente i	
I_{max}	Maximale Stromdichte	A m ⁻²
IC	Anorganischer Kohlenstoff	
IN	Anorganischer Stickstoff	
in	Eingang	
DXC	Verdaubare Kohlenhydrate	g kg ⁻¹ TS
DXL	Verdaubare Fette	g kg ⁻¹ TS
DXP	Verdaubare Proteine	g kg ⁻¹ TS

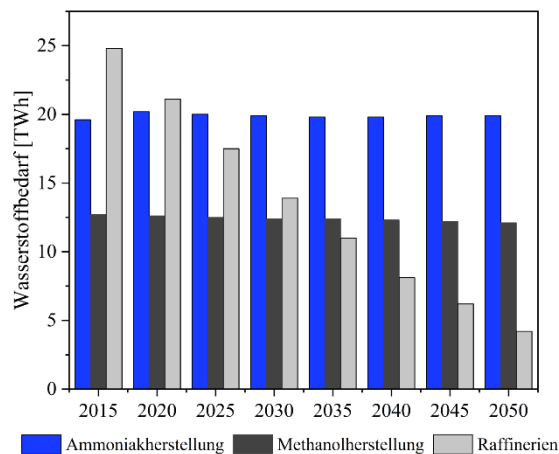
J_{op}	Zielfunktion	
k	Reaktionskonstante erster Ordnung	d^{-1}
K_a	Dissoziationskonstante	$mol\ L^{-1}$
k_{AB}	Kinetische Dissoziationsrate	$L\ mol^{-1}\ d^{-1}$
kg	Kilogramm	
K_H	Henry-Konstante	$mol\ L^{-1}\ bar^{-1}$
K_I	Inhibierungskonstante	$g\ L^{-1}$
k_{La}	Volumetrischer Stoffübergangskoeffizient	d^{-1}
K_S	Halbsättigungskonstante	$g\ L^{-1}$
k_p	Rohreibungskoeffizient	$L\ bar^{-1}\ d^{-1}$
K_w	Ionenprodukt des Wassers	$mol\ L^{-1}$
L	Liter	
liq	Flüssigphase	
m	Meter	
MBZ	Mikrobielle Brennstoffzelle	
mm	Millimeter	
min	Minute	
M	Molar	$mol\ L^{-1}$
M_i	Molare Masse der Komponente i	$g\ mol^{-1}$
MEZ	Mikrobielle Elektrolysezelle	
mmol	Millimol	
μ_{max}	Maximale Wachstumsrate	h^{-1}
μ	Mikro	
N_2	Stickstoff	
O_2	Sauerstoff	
OCT	Optische Kohärenz Tomographie	
OD	Optische Dichte	
OTR	Sauerstofftransferrate	
OUR	Sauerstoffaufnahme	
p	Druck	bar
p_{FM}	Dichte Frischmasse	$kg\ L^{-1}$
pH _{LL} pH _{UL}	Unter und obere pH Grenze	
p_i	Partialdruck der Komponente i	
p_j	Prozessrate	$g\ L^{-1}\ d^{-1} mol\ L^{-1}\ d^{-1}$
p_r	Proteine	
pro	Propionsäure	
p_T	Transferrate	$g\ L^{-1}\ d^{-1} mol\ L^{-1}\ d^{-1}$
q	Volumenstrom	d^{-1}
$q_{S,i}$	Spezifische Substrataufnahmerate	$g\ g^{-1}\ h^{-1}$
$q_{P,i}$	Spezifische Produktbildungsrate	$g\ g^{-1}\ h^{-1}$
Q	Ausgabewert	
R	Ideale Gaskonstante	$J\ mol^{-1}\ K^{-1}$
r	Rückreaktion	
s	Sekunde	

S	Substrat	g L^{-1}
S_i	Gelöste Zustandsgröße der Komponente i	$\text{g L}^{-1} \mid \text{mol L}^{-1}$
SHE	Standard Wasserstoffelektrode	
S_{PQ}	Sensitivität	
su	Zucker	
T	Temperatur	$^{\circ}\text{C} \mid \text{K}$
t	Zeit	
TS	Trockensubstanz	
V_i	Volumen der Komponente i	L
V	Volt	
va	Valeriansäure	
VE-Wasser	Voll entsalztes Wasser	
VFA	Flüchtige organische Säuren	
W	Watt	
w_i	Parameterspezifische Gewichtung	
x_{ch}	Partikuläre Kohlenhydrate	g L^{-1}
x_{li}	Partikuläre Fette	g L^{-1}
x_{pr}	Partikuläre Proteine	g L^{-1}
X	Biomasse	g L^{-1}
Y_i	Ausbeutekoeffizient der Komponente i	$\text{g g}^{-1} \mid \text{mol mol}^{-1}$
y_i	Messwerte	
y_s	Simulierte Werte	

1. Einleitung

Die Nutzung fossiler Rohstoffe ist langfristig begrenzt und entspricht im heutigen Zeitalter der Energiewende nicht den Anforderungen einer nachhaltigen Wirtschaftsweise (Bundesministerium für Bildung und Forschung 2022). Hinzu kommt, dass der Einsatz fossiler Rohstoffe sich negativ auf das globale Klima auswirkt, weshalb alternative Energiequellen benötigt werden, um Treibhausgasemissionen zu senken (Kadier *et al.* 2019). Um den Wandel hin zu einer nachhaltigen und klimaneutralen Wirtschaftsweise zu ermöglichen, kann die Bioökonomie einen Beitrag leisten. Hier wird auf eine möglichst effiziente Verwertung von biologischen Ressourcen oder organischer Abfallstoffe in biobasierten Prozessen als klimaschonende Alternative zu fossilen Rohstoffen gesetzt (Bundesministerium für Bildung und Forschung 2022). Ziel hierbei ist eine Kaskaden- oder Mehrfachnutzung von Rohstoffen wie Biomasse und eine Verlängerung der Wertschöpfungskette. Eine wichtige Rolle spielt dabei die energetische und stoffliche Nutzung von Rest- und Abfallstoffen, beispielsweise in Biogasanlagen und Bioraffinerien (Bundesministerium für Bildung und Forschung 2012). Abwasser oder Abfallstoffe wie beispielsweise Ernterückstände, Kohlendioxid oder Urin können aus der Landwirtschaft, der industriellen Produktion oder aus urbanen Räumen anfallen. In biobasierten Prozessen werden oft Mikroorganismen als Werkzeuge für eine Stoffumwandlung aus Abfallströmen eingesetzt. Eine Kopplung der Elektrochemie mit Bioprozessen wird als bioelektrochemisches System (BES) bezeichnet und gilt als eine vielversprechende Technologie, welche sich noch in der Entwicklung befindet (Schröder *et al.* 2015). Darunter wird auch die mikrobielle Elektrolysezelle (MEZ) eingeordnet. Dieses System bietet eine Erzeugung von Wasserstoff aus organischem Material oder Abfallströmen bei vergleichsweise geringerem Energieaufwand als der Elektrolyse von Wasser (Kadier *et al.* 2016). Wasserstoff wird auch als Energieträger der Zukunft bezeichnet, da bei einer Verbrennung ausschließlich Wasserdampf und kein Kohlendioxid entsteht (Yamin *et al.* 2000). Im Vergleich zu Methan mit 50 MJ kg^{-1} und Benzin mit 44 MJ kg^{-1} hat Wasserstoff mit 120 MJ kg^{-1} die höchste Energiedichte als Brennstoff (Kadier *et al.* 2016). Allein in Deutschland wurden im Jahr 2020 insgesamt bis zu 55 TWh Wasserstoff in der stofflichen Anwendung genutzt (Bundesministerium für Wirtschaft und Energie 2020). Die Produktion von Wasserstoff aus dem Jahr 2020 und der prognostizierte Wasserstoffbedarf nach Industriezweigen in Deutschland sind in Abbildung 1 dargestellt.

Wasserstoffbedarf in Deutschland nach Industrien



Produktion von Wasserstoff in Deutschland 2020

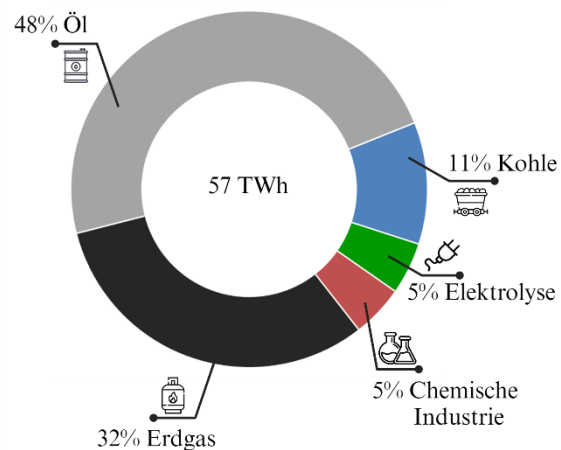


Abbildung 1: Darstellung des prognostizierten Wasserstoffbedarfs in Deutschland nach Industrien von 2015-2050 (links) und des produzierten Wasserstoffs im Jahr 2020 in Deutschland nach verschiedenen Produktionsprozessen (rechts) (Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz 2020; Umweltbundesamt 2016). Die Produktion von Wasserstoff aus Erdgas erfolgt aus der Dampfreformierung, die Produktion aus Öl unterteilt sich in die Petrochemie der Benzinreformierung sowie der Ethylenproduktion und der Oxidation von Schweröl.

Grüner Wasserstoff wird hauptsächlich durch die Elektrolyse von Wasser produziert und seine Erzeugung benötigt viel Strom aus erneuerbaren Energiequellen. Zusätzlich kann eine MEZ eine biobasierte Alternative ermöglichen und zukünftig den Sektor „Power to X“ sinnvoll erweitern. Weiterhin kann diese Technologie in bereits bestehenden Bioprozessen wie der anaeroben Gärung in Biogasanlagen angewendet werden und bietet eine zusätzliche Möglichkeit für die energetische Verwertung von Abfällen und der Produktion von Wasserstoff (Yu *et al.* 2018). In Biogasanlagen wird aus Biomasse Methan und Kohlendioxid produziert, wobei Methan ebenfalls als erneuerbarer Energieträger gilt und zur Strom- und Wärmeerzeugung beiträgt (Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz 2023). Um im Sinne einer Bioökonomie und einer Kaskadennutzung die vorhandenen Ressourcen möglichst effizient einzusetzen, kann Wasserstoff oder das in Biogasanlagen anfallende Kohlendioxid weiterhin stofflich genutzt und in Wert- oder Plattformchemikalien überführt werden. Dafür können beispielhaft Stoffwechselprozesse von Mikroorganismen angepasst und das Produktspektrum bei einer Verwertung von Abfallströmen erweitert werden (Du *et al.* 2011; Härrer *et al.* 2021). Bei diesen komplexen Prozessen gibt es noch ein großes Potenzial für Verbesserungen. Eine Grundlage für die Optimierung der Prozessführung bieten dynamische Modellierungen der biologischen Prozesse, die eine Abbildung von Messwerten bzw. von Zustandsgrößen ermöglichen. Derartige Prozessmodelle können somit als nützliche Werkzeuge zur Verbesserung oder Bewertung des Systems eingesetzt werden (Schügerl und Bellgardt 2000).

1.1 Produktion von Plattformchemikalien

Plattformchemikalien sind Zwischenprodukte, die aus nachwachsenden Rohstoffen in biologischen Prozessen hergestellt und in der chemischen Industrie zur Herstellung von höherwertigen Produkten genutzt werden können (Bomtempo *et al.* 2017). Damit wird im Sinne einer Bioraffinerie zu einer Produktion ohne Erdöl und Erdgas beigetragen (Kamm 2007). Acetoin ist eine Plattformchemikalie, die in der Landwirtschaft, Kosmetik- sowie Lebensmittelindustrie Anwendung findet und als Ausgangsmaterial für die Synthese von 2,3-Butandiol dient (Cui *et al.* 2022; Werpy und Petersen 2004). 2,3-Butandiol ist für die Produktion von chemischen Rohstoffen und flüssigen Kraftstoffen wichtig (Syu 2001).

Acetoin wird mikrobiell aus Pyruvat, einem zentralen Stoffwechselzwischenprodukt, unter Freisetzung von CO₂ produziert. Die Produktion von 2,3-Butandiol erfolgt aus der Reduktion von Acetoin durch eine enzymatische Katalyse der Butandiol-Dehydrogenase (BudC), die als eine reversible Gleichgewichtsreaktion abläuft (Ji *et al.* 2011). Zusätzlich kann 2,3-Butandiol in drei Stereoisomeren auftreten und gehört zur Gruppe der Alkohole (Ji *et al.* 2011). Zu den natürlichen Produzenten von 2,3-Butandiol zählen unter anderem die Mikroorganismen *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella aerogenes* und *Enterobacter cloacae* (Song *et al.* 2019).

Die biotechnologische Herstellung dieser Produkte kann heterotroph durch die Umsetzung von Zuckern über den Entner-Duodoroff-Weg oder autotroph durch die Fixierung von CO₂ über den Calvin-Benson-Bassham-Zyklus erfolgen (Alagesan *et al.* 2018). Um ein möglichst breites Spektrum an Ausgangsstoffen nutzen zu können, sind Knallgasbakterien wie *Cupriavidus necator* H16 für diese Anwendung von großem Interesse (Alagesan *et al.* 2018). Dieser Mikroorganismus kann als heterotrophe Kohlenstoffquelle eine Vielzahl an Rohstoffen wie organische Säuren, Öle und Fruktose abbauen (Boy *et al.* 2021). Unter autotrophen Bedingungen können CO₂ als Kohlenstoffquelle, H₂ als Energiequelle (Elektronendonator) und O₂ als Elektronenakzeptor verwendet werden (Cramm 2009).

Natürlicherweise produziert *C. necator* das Biopolymer Polyhydroxybutyrat (PHB). Jedoch kann aufgrund seiner genetischen Zugänglichkeit das Produktspektrum gentechnisch erweitert werden, wobei die PHB-Produktion deletiert werden kann (Panich *et al.* 2021). Diesem Ansatz folgend wurde ein unter heterotrophen und autotrophen Bedingungen Acetoin produzierender Stamm von *C. necator* entwickelt und weiterführend unter mixotrophen Bedingungen untersucht (Windhorst und Gescher 2019; Härrer *et al.* 2021). Zusätzlich konnte eine autotrophe Herstellung von 2,3-Butandiol durch die genetische Anpassung von *C. necator* gezeigt werden (Bommareddy *et al.* 2020).

1.2 Bioelektrochemische Systeme

Die Verbindung von Biologie und Elektrochemie wird als bioelektrochemisches System bezeichnet und wurde erstmals im Jahr 1911 im Rahmen einer Stromproduktion durch mikrobielle Kulturen entdeckt (Potter 1911). Grundlegend besteht dieses System aus einem Anoden- und Kathodenbereich, in welchem durch Redoxreaktionen die Umwandlung von chemischer in elektrische Energie realisiert werden kann. In anodischen Systemen wird eine Anode als Arbeitselektrode und eine Kathode als Gegenelektrode eingesetzt. Exoelektrogene Mikroorganismen besitzen die Fähigkeit, die Arbeitselektrode zu besiedeln und diese in anodischen Systemen als externen Elektronenakzeptor zu verwenden (Pant *et al.* 2010; Kadier *et al.* 2014; Rabaey und Verstraete 2005). Dadurch können die durch den Stoffwechsel der Mikroorganismen anfallenden Elektronen auf die Anode übertragen werden und stehen durch den Elektronenfluss zur Kathode dort wieder zur Verfügung (Lovley 2006; Rabaey *et al.* 2009). Für den Stoffwechsel können Mikroorganismen organische oder anorganische Substrate als Elektronendonatoren verwenden, wie beispielsweise in Abfallströmen enthaltene Substanzen (Pant *et al.* 2010). Der Elektronenfluss kommt aufgrund einer Potentialdifferenz zwischen Anode und Kathode zustande, wobei Elektronen von einem niedrigen zu einem höheren Potential fließen. Diese Potentialdifferenz kann als Spannung gemessen werden. In kathodischen Systemen wird eine Kathode als Arbeitselektrode eingesetzt und als Elektronendonator für Mikroorganismen genutzt (Harnisch und Holtmann 2019).

Somit ermöglichen bioelektrochemische Systeme mithilfe von Mikroorganismen als Katalysator die Nutzung und den biologischen Abbau von organischen Abfallströmen. Gleichzeitig werden durch die Oxidationsreaktion in der Anodenkammer neben Elektronen auch Protonen erzeugt. Um das Ladungsgleichgewicht aufrechtzuerhalten, diffundieren die Protonen zur Kathode und können dort zu Wasserstoff reduziert werden. Außerdem besteht die Möglichkeit, die anodische und kathodische Kammer in bioelektrochemischen Systemen durch eine Protonenaustauschmembran zu trennen, um eine Diffusion von Sauerstoff in die anodische Kammer zu verhindern (Kim *et al.* 2007). Dadurch soll eine Reduktion von Sauerstoff als Elektronenakzeptor zu Wasser in der Anodenkammer vermieden werden. Der Einsatz einer Membran kann aber den internen Widerstand erhöhen und zu pH-Gradienten führen, wodurch sich der Energieaufwand des Systems und damit Kosten erhöhen können (Harnisch und Schröder 2009; Rozendal *et al.* 2006). Im Zuge des Klimawandels und des Potenzials dieser Technologie sind mikrobielle elektrochemische Systeme für verschiedene Anwendungen entwickelt worden (Schröder 2011; Schröder *et al.* 2015). Darunter sind auch

die mikrobielle Brennstoffzelle (MBZ) sowie die MEZ zu finden, wie in Abbildung 2 dargestellt.

Mikrobielle Brennstoffzellen ermöglichen die Bereitstellung elektrischer Energie aus Abfallstoffen als Energieträger. Durch eine mikrobielle Stoffumsetzung wird Energie in Form von Elektronen auf die Anode übertragen, die über einen externen Widerstand fließen. Auf der Kathodenseite erfolgt dann meist die Reduktion von Sauerstoff als terminaler Elektronenakzeptor, wodurch schließlich Strom bei einer sich einstellenden Zellspannung fließt (Klein *et al.* 2023).

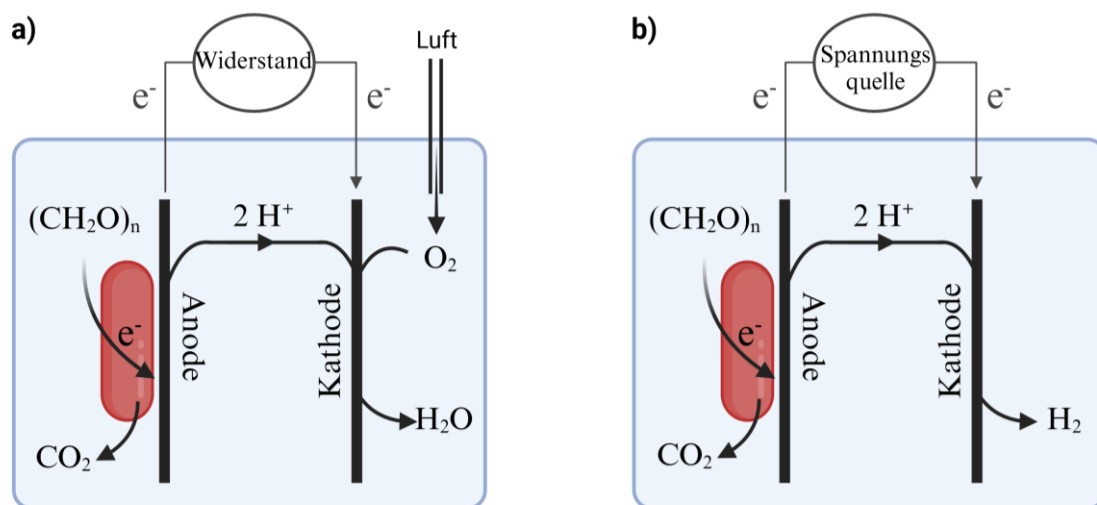


Abbildung 2: Schematische Darstellung von anodisch betriebenen mikrobiellen elektrochemischen Systemen mit Aufwuchs von Zellen an der Elektrodenoberfläche. Der Elektronenfluss durch einen externen Widerstand oder einer angelegten Spannungsquelle führt zur Reduktion von Sauerstoff in der MBZ (a) oder zur Reduktion von Protonen und Wasserstoffbildung in der MEZ (b) (Klein *et al.* 2023).

Mikrobielle Elektrolysezellen sind anodische Systeme mit bioelektrochemischen Prozessen ähnlich der MBZ, bei denen ein zusätzliches Potential angelegt werden muss. Durch Elektronen, die von Mikroorganismen auf die Anode übertragen werden, kann aus Abfallstoffen durch die Reaktion von Protonen an der Kathode Wasserstoff als Energieträger gewonnen werden. In diesem Fall arbeitet das System ohne die Anwesenheit von Sauerstoff. Die Wasserstoffproduktion korreliert daher direkt mit der Stromproduktion und spiegelt auch den Substratumsatz wider (Liu *et al.* 2005; Kadier *et al.* 2019).

Moderne Verfahren der Elektrolyse von Wasser zur Erzeugung von Wasserstoff laufen meist unter für Mikroorganismen extremen pH- und Temperaturbedingungen ab (Zoulias *et al.* 2004; Zeng und Zhang 2010). Unter Standardbedingungen wird idealerweise eine Spannung von 1,23 V benötigt, um Wasserstoff in einem Elektrolyseur zu erzeugen (Hamann und Vielstich 2005). Allerdings müssen aufgrund von Leiterwiderständen meist Überspannungen

überwunden werden, wodurch ein Potentialaufschlag beziehungsweise eine zusätzliche Spannung aufgebracht werden muss. Interessanterweise erfordert die Wasserstoffproduktion in einer MEZ in der Regel weniger Energie ($E = 0,2 - 0,8 \text{ V}$) im Vergleich zur konventionellen Elektrolyse von Wasser ($E > 2,1 \text{ V}$) (Zhang und Angelidaki 2014). Somit reduziert sich der Energiebedarf im Vergleich zu einem Elektrolyseur, da die Elektronen bereits auf einem niedrigen Potential zur Verfügung stehen. Die Effizienz der MEZ kann durch eine optimale Interaktion des exoelektrogenen Mikroorganismus mit der Anode, die Ausbildung eines leitfähigen Biofilms und eine Optimierung von Elektrodenoberflächen oder der Materialien beeinflusst werden (Klein *et al.* 2023).

1.2.1 Exoelektrogene Mikroorganismen

Exoelektrogene Mikroorganismen sind Organismen, die in der Lage sind, Elektronen außerhalb ihrer Zelle zu transferieren und spielen eine entscheidende Rolle in bioelektrochemischen Prozessen, wie zum Beispiel der MEZ (Koch und Harnisch 2016; Logan *et al.* 2019). Darunter haben sich *Shewanella oneidensis* und *Geobacter sulfurreducens* als Modellorganismen des externen Elektronentransfers etabliert (Speers und Reguera 2012; Ikeda *et al.* 2021). In der Natur ermöglicht diese Fähigkeit die Nutzung vorhandener unlöslicher Mineralien wie Eisen als Elektronenakzeptoren (Harnisch und Holtmann 2019). Auf diese Weise können exoelektrogene Organismen in ökologischen Nischen existieren, in denen Sauerstoff als Elektronenakzeptor nur begrenzt oder gar nicht vorhanden ist.

S. oneidensis MR-1 ist ein Gram-negatives, fakultativ anaerobes γ -Proteobakterium in Form eines Stäbchens mit einer optimalen Wachstumstemperatur von 30°C (Venkateswaran *et al.* 1999). Der Organismus wurde aus den Sedimenten des Oneida-Sees im US-Bundesstaat New York isoliert (Myers und Nealson 1988). Es ist dazu in der Lage, verschiedene lösliche oder unlösliche Elektronenakzeptoren wie Fumarat, Schwefel, Nitrat oder Mineralien wie Eisen- und Manganoxid zu reduzieren (Hau und Gralnick 2007; Saffarini 2015; Saffarini *et al.* 2015). Unter oxidischen Bedingungen kann der Organismus verschiedene Elektronendonatoren wie Laktat, Glukose und Formiat zu CO_2 oxidieren. Hingegen wird unter anoxischen Bedingungen Laktat bevorzugt und zu Acetat umgesetzt (Scott und Nealson 1994).

G. sulfurreducens PCA ist ein Gram-negatives δ -Proteobakterium in Form eines Stäbchens und einem Wachstumsoptimum zwischen $30\text{-}35^\circ\text{C}$ (Caccavo *et al.* 1994). Der Organismus wurde aus dem Sediment eines mit Kohlenwasserstoffen kontaminierten Grabens in Oklahoma isoliert und mit der Reduktion von Metallionen in Verbindung gebracht (Caccavo *et al.* 1994). *G. sulfurreducens* gilt als obligat anaerob, wobei jedoch eine gewisse Toleranz

gegenüber der Anwesenheit von Sauerstoff nachgewiesen wurde (Lin *et al.* 2004). Als Elektronenakzeptoren können ebenfalls unlösliche Mineralien wie Eisen oder lösliche Stoffe wie Fumarat genutzt werden (Lovley *et al.* 2011). Dahingegen können Acetat oder sogar Wasserstoff als Elektronendonoren dienen (Lovley *et al.* 2011).

Sowohl *Shewanella* als auch *Geobacter*-Spezies sind in der Lage, Biofilme zu entwickeln und somit die Elektrodenoberfläche in einem BES zu besiedeln. Es konnten von *G. sulfurreducens* eine Biofilmdicke von ca. 120-160 μm und von *S. oneidensis* eine Höhe von 40 μm gezeigt werden (Leang *et al.* 2013; Engel *et al.* 2019). Zusammen in einer Co-Kultur wurde über eine Biofilmdicke von 93 μm berichtet, was geringer als in einer Monokultur mit *G. sulfurreducens* ist (Engel *et al.* 2019; Klein *et al.* 2024). Obwohl *G. sulfurreducens* die Stromproduktion im Vergleich zu *S. oneidensis* übertrifft, macht die genetische Zugänglichkeit von *S. oneidensis* diesen Organismus ebenfalls für die Anwendung im BES interessant (Hana Yi *et al.* 2009; Bursac *et al.* 2017). Dies bietet zusätzlich zu seiner Sauerstofftoleranz den Vorteil, gentechnische Optimierungen des Organismus vornehmen zu können. Aus diesen Gründen können Anodengemeinschaften der beiden Organismen zu positiven Wechselwirkungen und einer effizienteren Umwandlung von organischen Substraten in elektrischen Strom führen (Prokhorova *et al.* 2017). In Abbildung 3 sind mögliche Vorteile einer gemeinsamen Nutzung beider Organismen aufgezählt.

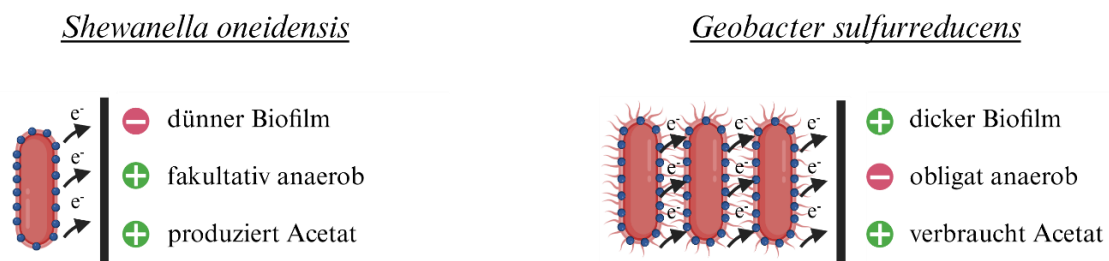


Abbildung 3: Übersicht und potenzieller Ausgleich der Vor- und Nachteile der beiden Modellorganismen *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in einer Co-Kultivierung. Erstellt mit BioRender.com.

So können dickere sowie leitfähigere Biofilme als in der Reinkultur mit *S. oneidensis* entstehen. Des Weiteren kann *S. oneidensis* vorkommenden Sauerstoff für anoxische Wachstumsbedingungen verbrauchen und Acetat als Substrat für *G. sulfurreducens* produzieren (Klein *et al.* 2024).

1.2.2 Elektronentransport Mechanismen

Die Übertragung von Elektronen zu oder von einer Elektrode bildet die Grundlage eines BES. Der Elektronentransport zwischen Elektrode und Mikroorganismen wird über die Kontaktart zur Elektrode definiert. Dazu gehören die direkte sowie Mediator-basierte Elektronenübertragung. Mediatoren oder Shuttle-Moleküle wie Flavine sind redoxaktive Moleküle und können den indirekten Austausch von Elektronen zwischen Mikroorganismus und Elektrode bewirken (Lovley 2012). Hierbei können die Mikroorganismen entweder in Form eines Biofilms auf der Elektrode adhäreren oder als planktonische Zellen vorliegen. Der direkte Elektronentransfer wird zusätzlich in Kurzstreckentransport und Langstreckentransport unterschieden. Für den Kurzstreckentransport werden redoxaktive Membranproteine wie Cytochrome vom Typ c auf der Oberfläche der Zelle genutzt (Lovley 2012). Beim Langstreckentransport werden Elektronen durch leitfähige Biofilme oder leitfähige Zellanhängsel wie Pili übertragen (Lovley 2012). Für einen direkten Elektronentransfer über eine sehr kurze Strecke muss der Organismus direkt an der Elektrodenoberfläche haften. Dadurch können nur eine begrenzte Anzahl von Zellen die Fläche der Elektrode nutzen, was die Stromproduktion limitiert (Lovley 2012). Durch eine Langstreckenübertragung und der Ausbildung eines leitfähigen Biofilms können höhere Stromdichten erzielt werden (Reguera *et al.* 2006).

S. oneidensis und *G. sulfurreducens* besitzen eine ähnliche Struktur der Elektronentransportkette. Beide Organismen haben eine Elektronenleitung aus Cytochromen auf ihrer Zellmembran entwickelt, weshalb angelegte Anodenpotentiale nah an den Standardpotentialen des Membranredoxsystems sein sollten (Harnisch und Holtmann 2019). Dennoch sind die Stromproduktionsraten von *G. sulfurreducens* deutlich höher im Vergleich zu *S. oneidensis* (Dolch *et al.* 2014; Klein *et al.* 2024). Es wurde gezeigt, dass *G. sulfurreducens* leitfähige Pili produziert und dickere sowie leitfähige Biofilme bilden kann (Reguera *et al.* 2005). *S. oneidensis* transportiert Elektronen im direkten Kontakt durch Membranproteine über kurze Strecken. Zusätzlich kann der Organismus Elektronentransportmoleküle wie Flavine produzieren und als Mediator zum Elektronentransfer über längere Strecken nutzen (Beblawy *et al.* 2018; Edel *et al.* 2021; Kotloski und Gralnick 2013).

1.3 Biofilme im bioelektrochemischen System

Unter Biofilmen werden Ansammlungen oder Aggregate von Mikroorganismen in einer selbstproduzierten Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) verstanden (Flemming *et al.* 2016; Weiler *et al.* 2024). Dazu heften sich die Mikroorganismen an eine

Oberfläche und existieren in einer engen Lebensgemeinschaft (Flemming *et al.* 2016). Die hierbei gebildete EPS-Schicht besteht hauptsächlich aus Polysacchariden, Proteinen, Lipiden und extrazellulärer DNA (Fritsche 2016). Zusätzlich bietet ein Biofilm einen natürlichen Schutz gegenüber äußeren Einflüssen wie Antibiotika oder Schwankungen des pH-Wertes (Weiler *et al.* 2024). Die Bildung eines Biofilms beginnt mit der reversiblen Anheftung von planktonischen Zellen an eine geeignete Oberfläche. Anschließend bilden die Ansammlungen von Mikroorganismen eine EPS-Schicht aus und werden darin umschlossen. Mit der Reifung der Schicht sind die Mikroorganismen irreversibel an die Oberfläche gebunden, wobei sich Teile des Biofilms ablösen und einzelne Zellen wieder freigesetzt werden können (Sauer *et al.* 2022). Biofilme können auch aus Mischpopulationen verschiedener Mikroorganismen bestehen, wodurch diese aus synergetischen Effekten potenziell profitieren können (Leonov *et al.* 2021). Die Kommunikation innerhalb des Biofilms zwischen den Mikroorganismen basiert auf Signalmolekülen und wird als Quorum sensing bezeichnet (Muffler und Ulber 2014).

Damit bieten Biofilme die Möglichkeit, eine hohe Zellzahl auf natürliche Weise zu immobilisieren und in biotechnologischen Prozessen anzuwenden (Edel *et al.* 2019). Zusätzlich eignen sich Biofilme besonders für Langzeitproduktionen in beispielsweise Durchflusssystemen, wobei die Biofilmdicke durch die Scherkraft der Flussrate beeinflusst werden kann (Edel *et al.* 2019). Dennoch kann es durch die Aktivitäten der Zellen und durch die Dicke der Biofilme zu Diffusionslimitierungen der Nährstoffversorgung in den unteren Schichten kommen (Renslow *et al.* 2010). In BES ist die Fähigkeit der Anheftung an eine Elektrodenoberfläche durch die Mikroorganismen ein wesentlicher Bestandteil der notwendigen Interaktion für eine direkte Elektronenübertragung (Bause *et al.* 2018; Weiler *et al.* 2024).

1.4 Urin im bioelektrochemischen System

Menschlicher Urin ist eine bernsteinfarbene, durchsichtige Flüssigkeit, die von den Nieren produziert wird (Santoro *et al.* 2020). Die Nieren filtern das Blut, indem sie überschüssiges Wasser und lösliche Abfallstoffe entfernen (Santoro *et al.* 2020). Durchschnittlich produziert ein erwachsener Mensch ca. 1,5 L Urin pro Tag, der von gesunden Menschen als steril gilt, obwohl Mikroorganismen im Urin nachgewiesen werden konnten (Lahr *et al.* 2016; Nazari *et al.* 2020).

Grundsätzlich besteht Urin hauptsächlich aus Wasser und nur zu 4-7% aus organischen und anorganischen Substanzen mit den Hauptelementen von 6,87 g L⁻¹ Kohlenstoff, 8,12 g L⁻¹ Stickstoff, 8,25 g L⁻¹ Sauerstoff und 1,51 g L⁻¹ Wasserstoff (Santoro *et al.* 2020). Die

Zusammensetzung von Urin wird in Abbildung 4 gezeigt. Im frischen Urin sind etwa 85 % des Stickstoffs als Harnstoff gebunden und 95-100 % des Phosphors liegen als gelöstes Phosphat vor (Udert *et al.* 2006). Die Konzentration an organischen Stoffen beträgt rund 10 g CSB L⁻¹, wobei 85 % im Urin leicht biologisch abbaubar sind (Udert *et al.* 2006). Die Zusammensetzung von Urin kann von Mensch zu Mensch variieren und ist abhängig von dessen Alter und Ernährung (Nazari *et al.* 2020).

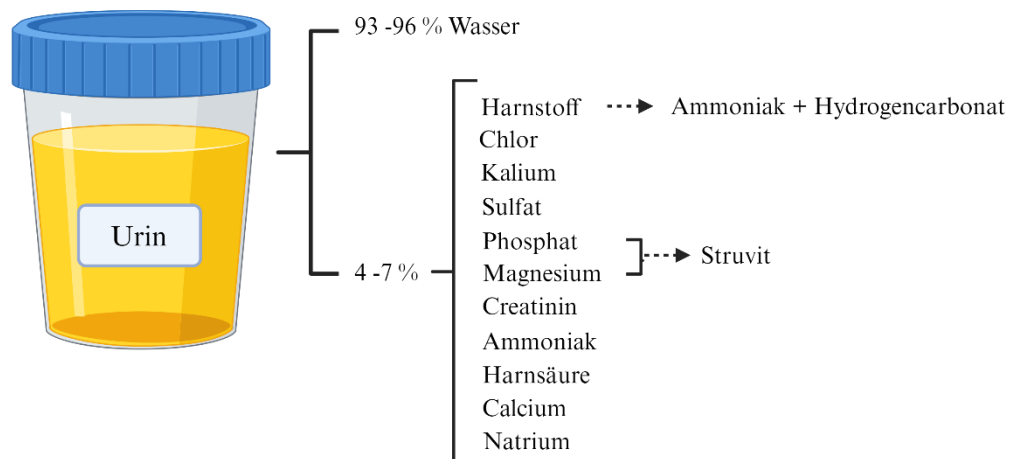


Abbildung 4: Zusammensetzung von menschlichem Urin als potentieller Abfallstrom zur Energierückgewinnung in Form von Strom oder zur energetischen Nutzung und Produktion von Wasserstoff in BES (Santoro *et al.* 2020). Erstellt mit BioRender.com.

Im Sinne einer Bioökonomie wird Urin als wertvoller Abfallstoff betrachtet, dass aufgrund des enthaltenen Kohlenstoffs zur Energierückgewinnung oder aufgrund des enthaltenen Stickstoffs und Phosphats als Düngemittel genutzt werden kann (Rose *et al.* 2015). Es wurde berichtet, dass menschlicher Urin für 10 % des chemischen Sauerstoffbedarfs, 75 % des Stickstoffs und 50 % des Phosphors in kommunalem Abwasser verantwortlich ist (Santoro *et al.* 2020). Für eine Trennung des Urins und folglich Entlastung von Kläranlagen müsste die Abwasserinfrastruktur umgebaut werden, weshalb eine separate Nutzung und Aufbereitung von Urin derzeit schwierig ist (Randall und Naidoo 2018). Außerdem unterliegt Urin während der Lagerung mehreren spontanen Prozessen, wie der Hydrolyse von Harnstoff, der Ausfällung von Struvit (Ammoniummagnesiumphosphat) und der Verflüchtigung von Ammoniak (Ledezma *et al.* 2015; Santoro *et al.* 2020). Beim Ausscheiden hat Urin einen pH-Wert zwischen 5,5-7, der sich durch eine enzymatische Umwandlung und Hydrolyse von Harnstoff zu Ammoniak während der Lagerung in den alkalischen Bereich auf 8,5-9,5 verschieben kann (Santoro *et al.* 2020). Eine Erhöhung des pH-Wertes begünstigt zugleich die Ausfällung von Struvit in Urin und die Verflüchtigung von Ammoniak (Santoro *et al.* 2020).

Mit der Ausfällung von Struvit können Phosphat und bis zu 10% des Stickstoffs in Urin zurückgewonnen werden (Patel *et al.* 2020).

In Folge der natürlichen Hydrolyse des Harnstoffs in Ammonium kann die elektrische Leitfähigkeit von Urin zwischen 21-65 mS cm⁻¹ betragen, weshalb sich Urin als guter Elektrolyt in BES eignet (Santoro *et al.* 2020). Aufgrund dieser Beobachtungen entstand ursprünglich die Idee, Urin als Abfallstrom in einer MBZ zu behandeln und dabei Strom zu erzeugen (Ieropoulos *et al.* 2012). Im Gegensatz zur MBZ kann bei Verwendung einer MEZ durch die Behandlung von Urin Wasserstoff produziert und energetisch genutzt werden (Patel *et al.* 2020). Typischerweise sind die Stromdichten in einer MEZ aufgrund der angelegten externen Spannung höher als in einer MBZ. Daher wurden in verschiedenen MEZ-Ausführungen die Wasserstoffproduktion oder die Reduzierung des chemischen Sauerstoffbedarfs unter Verwendung von Urin untersucht (Kuntke *et al.* 2014; Barbosa *et al.* 2019; Patel *et al.* 2020).

1.5 Anaerober Abbauprozess

Die Bereitstellung von Energie aus Biomasse als erneuerbarer Energieträger beinhaltet neben menschlichen Abfällen wie Urin die energetische Nutzung von Pflanzen, organischen Nebenprodukten sowie aus Abfällen der Landwirtschaft (Kaltschmitt *et al.* 2016). Damit bietet die Verwendung von anaeroben Vergärungs- bzw. Biogasanlagen ein hohes Potenzial für eine nachhaltige Energiebereitstellung zur Strom- und Wärmeerzeugung aus beispielsweise Biomethan (Bundesministerium für Wirtschaft und Energie 2019). Durch den anaeroben Vergärungsprozess entsteht Biogas aus landwirtschaftlichen Abfällen, welches zu 25-45 % aus Kohlendioxid und zu 45-75 % aus Methan besteht (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. 2013). Allerdings muss das Biogas aufgrund von unerwünschten Bestandteilen wie Wasserdampf, Schwefelwasserstoff, Ammoniak oder Spurengasen für eine Nutzung im Erdgasnetz aufbereitet werden (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. 2013; Kaltschmitt *et al.* 2016).

Im anaeroben Abbauprozess produzieren Bakterien und Archaeen aus organischer Biomasse vorwiegend Methan (Gerardi 2003). Dieser komplexe Prozess kann grundlegend in vier Teilschritte die Hydrolyse, Acidogenese, Acetogenese und Methanogenese aufgeteilt werden und ist in Abbildung 5 dargestellt (Kaltschmitt *et al.* 2016).

Im ersten Schritt der Hydrolyse werden die komplexen Verbindungen des organischen Materials, darunter Kohlenhydrate, Fette und Eiweiße, in einfachere Verbindungen gespalten.

Die Spaltung bzw. Hydrolyse wird durch gebildete Enzyme der beteiligten Mikroorganismen katalysiert. Dadurch entstehen Aminosäuren, Zucker und Fettsäuren (Sahm 1981).

Im zweiten Schritt der Acidogenese werden die gebildeten Zwischenprodukte durch fermentative Bakterien in organische Säuren (Propion- und Buttersäure), Wasserstoff, Ethanol sowie Kohlendioxid abgebaut. Diese Stufe kann von der Konzentration des gelösten Wasserstoffs und der Temperatur stark beeinflusst werden. So entstehen bei hohem Wasserstoffpartialdruck mehr Propion- und Buttersäure, aber dafür weniger Essigsäure (Acetat) (Sahm 1981).

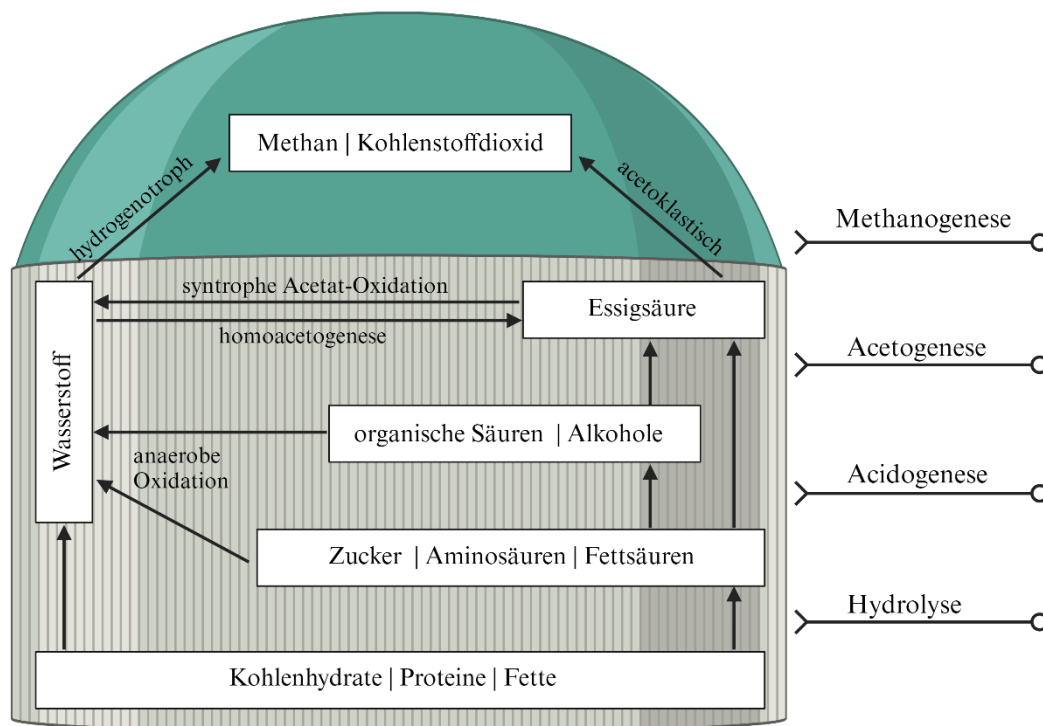


Abbildung 5: Schematische Darstellung des Abbaus organischer Substanz bei der Biogasgewinnung durch die anaerobe Vergärung (Weinrich 2017). Erstellt mit BioRender.com.

Im dritten Schritt der Acetogenese werden die vorherigen Produkte durch syntrophe Bakterien zu überwiegend Essigsäure, Wasserstoff und Kohlendioxid umgesetzt. Auch in diesem Schritt beeinflusst ein zu hoher gelöster Wasserstoffgehalt den Stoffwechsel der Mikroorganismen und verhindert die Umsetzung der Zwischenprodukte zu Essigsäure (Sahm 1981). Folglich reichern sich organische Säuren wie Propion-, Butter- und Valeriansäure an und inhibieren daraufhin die Methanbildung. Aus diesem Grund müssen die acetogenen Bakterien in einer engen Lebensgemeinschaft mit methanogenen Archaeen stehen, die Wasserstoff zusammen mit Kohlendioxid zu Methan umsetzen (Sahm 1981). Somit kann in der hydrogenotropen Methanbildung direkt der Wasserstoff aus der syntrophen Oxidation der Säuren abgebaut

werden. Zusätzlich kann in der Homoacetogenese der gelöste Wasserstoff zusammen mit Kohlendioxid in Essigsäure umgesetzt werden. Insgesamt ist dieser Vorgang jedoch nur als schwache Reaktion im Prozess beteiligt (Cord-Ruwisch *et al.* 1988).

Im vierten Schritt der Methanogenese werden von strikt anaeroben Archaeen die Zwischenprodukte Essigsäure, Wasserstoff und Kohlendioxid zu Methan umgewandelt. Die hydrogenotrophen Methanbildner produzieren Methan aus Wasserstoff und Kohlendioxid, während acetoklastische Methanbildner durch die Spaltung von Essigsäure Methan synthetisieren. In der Regel wird über die acetoklastische Methanogenese wie bei der Klärschlammvergärung mehr Methan im Vergleich zum hydrogenotrophen Prozess gebildet. Bei diesem Vorgang wird Methan zu 70 % aus der Verwertung von Essigsäure und nur zu 30 % aus der Wasserstoffverwertung gebildet (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. 2016). Allerdings zeigte sich, dass im Betrieb der landwirtschaftlichen Biogasanlagen bei kurzen Verweilzeiten und hohen Raumbelastungen die hydrogenotrophe Methanbildung und syntrophe Acetat-Oxidation begünstigt werden (Nettmann *et al.* 2009). Aufgrund ihrer geringen Wachstumsgeschwindigkeit reagieren besonders die methanogenen Mikroorganismen empfindlich auf Störungen, weshalb die Betriebsbedingungen in optimalen Bereichen gehalten werden müssen. Mitunter ist die Temperatur eine wichtige Einflussgröße für das Wachstum, denn grundsätzlich existieren für die beteiligten Mikroorganismen verschiedene Optima (Kaltschmitt *et al.* 2016). Schließlich können starke Schwankungen zu einer Hemmung der Methanbildung sowie einer Anreicherung von Säuren führen (Chae *et al.* 2008). Daher ist es wichtig, ein konstantes Temperaturniveau zu halten und damit einen stabilen Abbauprozess zu gewährleisten. Ähnliche Zusammenhänge gelten für den pH-Wert. Obwohl säurebildende Bakterien saure Umgebungsbedingungen bevorzugen, sind sie doch in der Lage, auch bei höheren pH-Werten noch Substrate umzusetzen (Kaltschmitt *et al.* 2016). Dagegen sind die empfindlichen Methanbildner zwingend auf einen neutralen pH-Bereich angewiesen (Kaltschmitt *et al.* 2016). Um eine Hemmung zu vermeiden, wird der Prozess meist in einem optimalen pH-Bereich von 7-7,5 betrieben (Kaltschmitt *et al.* 2016).

Schwankende Substratqualitäten können einen Anlagenbetrieb und die Effizienz des Prozesses beeinflussen, weshalb Verfahren zur Prozesscharakterisierung, Überwachung und Regelung notwendig sind (Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. 2016). Hierbei bietet die Modellierung von Biogasanlagen eine Grundlage der Prozessregelung und Zustandsüberwachung (Weinrich 2017).

1.6 Integration eines bioelektrochemischen Systems in den anaeroben Abbau

Im anaeroben Abbauprozess kann es durch unterschiedliche Eigenschaften der eingesetzten Abfälle häufig zu Instabilitäten, einer Anhäufung von organischen Säuren und somit zu einer Senkung des pH-Wertes, zu niedrigen Produktionsraten und einer Hemmung der Methanproduktion kommen (Yu *et al.* 2018). Der Einsatz eines BES wie einer MEZ kann dem entgegenwirken.

In einer experimentellen Durchführung konnte gezeigt werden, dass durch den Betrieb einer MEZ im Biogasprozess erhöhte Konzentrationen von Propionat, Butyrat und Acetat abgebaut werden können und damit die Prozessstabilität unterstützt wird, da ein zusätzlicher Elektronenakzeptor zur Verfügung steht (Cerrillo *et al.* 2016). Des Weiteren konnte nicht nur der Abbau der Substrate beschleunigt, sondern auch die Methanproduktion gefördert werden, da an der Kathode zusätzlicher Wasserstoff bereitgestellt wird (Cerrillo *et al.* 2018). Außerdem wurden Studien zum Einfluss von unterschiedlich angelegten Spannungen auf die Methanbildung durchgeführt (Yu *et al.* 2018). Durch den Einsatz einer MEZ zeigte sich, dass das Wachstum von exoelektrogenen Bakterien wie *G. sulfurreducens* gefördert wird und sich als dominierende Spezies an der Anode durchsetzt (Yu *et al.* 2018).

Somit kann eine MEZ in der Kombination beider Prozesse zu einem erhöhten Abbau der Substrate bzw. der organischen Säuren und einem stabileren pH- und Prozessbereich beitragen (Yu *et al.* 2018). Dadurch wird nicht nur der benötigte chemische Sauerstoffbedarf zur Oxidation der Substanzen reduziert, sondern auch Wasserstoff produziert und eine Hemmung der Methanbildner verhindert (Rabaey *et al.* 2009).

Alternativ bietet der Einsatz einer MBZ im anaeroben Abbauprozess sehr ähnliche Vorteile (Rabaey *et al.* 2009). Es wurde bereits ein komplexer mathematischer Ansatz und eine Simulation der Verknüpfung von einer MBZ mit dem anaeroben Abbauprozess vorgestellt (Picioreanu *et al.* 2007). In diesem Modell wurde ein anodischer Biofilm mit Mediator basierendem Elektronentransfer im Zusammenhang mit dem Anaerobic Digestion Model No 1 (ADM1) simuliert, um den Abbau von Substraten, Wachstum des Biofilms und Stromdichten sowie die Methanproduktion abzubilden (Picioreanu *et al.* 2007).

1.7 Modellbildung von Bioprozessen

Ein mathematisches Modell wird als Abbild eines realen Systems definiert, welches das Verhalten des realen Vorbilds korrekt simuliert und auch als „digitaler Zwilling“ bezeichnet werden kann (Schügerl und Bellgardt 2000; Herwig *et al.* 2021). Der Begriff „digitaler Zwilling“ hat in verschiedenen Bereichen der Industrie unterschiedliche Bedeutungen und

umfasst in der Bioprozessindustrie ein Werkzeug zur virtuellen Repräsentation physischer Systeme, welche den gesamten Lebenszyklus des Bioprozesses abbildet (Herwig *et al.* 2021). Das Verhalten des originalen Systems soll hierbei durch mathematische Gleichungen beschrieben werden, die im Wesentlichen auf physikalischen und chemischen Gesetzmäßigkeiten sowie dem Wissen über die inneren Strukturen und Eigenschaften des realen Systems basieren (Schügerl und Bellgardt 2000).

Allgemein kann in drei verschiedenen Modellierungsmöglichkeiten, dem White-Box-, dem Black-Box- und dem Grey-Box-Modell unterschieden werden (Isermann und Münchhof 2010). Das White-Box-Modell setzt ein vollständiges theoretisches Wissen über die Funktionsweise und Struktur des realen Systems voraus, welches in mathematische Gleichungen umgesetzt wird (Haranen *et al.* 2016). Black-Box-Modelle stützen sich auf experimentelle Messungen und beschreiben Ein- und Ausgangswerte, aber geben keinen Einblick in das System (Haranen *et al.* 2016). Das Grey-Box-Modell ist eine Kombination der theoretischen Struktur und experimenteller Daten (Haranen *et al.* 2016). Die Modellbildung von Bioprocessen besteht meist aus einer Kombination von theoretischen Studien und praktischen Experimenten (Schügerl und Bellgardt 2000). Da diese Modelle zu einem wissenschaftlichen Verständnis der Prozessvariablen und ihrer Auswirkung auf das Endprodukt beitragen, können mathematische Prozessmodelle zur Planung, Steuerung und Optimierung von Bioprocessen eingesetzt werden (Herwig *et al.* 2021). Weiterhin wird in biologischen Systemen zwischen kinetischen Modellen und Prozessmodellen unterschieden, wobei das kinetische Modell zur Beschreibung biokatalytischer Reaktionen in ein Prozessmodell zur Beschreibung eines Reaktionssystems einfließt. Der Schwerpunkt in biologischen Systemen liegt auf dem Verhalten der Zellen und der Produktbildung, welche auf Grundlage mathematischer Verknüpfungen berechnet werden können (Schügerl und Bellgardt 2000).

Kinetische Modelle werden verwendet, um beispielsweise das Zellwachstum, den Stoffwechsel und eine entsprechende Produktbildung zu beschreiben, welche aus Prozessbeobachtungen, experimentellen Messdaten oder vorhandenem Wissen erfasst werden können (Hass und Pörtner 2009; Herwig *et al.* 2021). Die Komplexität des mikrobiellen Stoffwechsels erschwert jedoch meist eine umfassende Modellierung der Stoffwechselaktivitäten (Hass und Pörtner 2009). Aus diesem Grund enthalten mathematische Modelle für das Zellwachstum oft vordefinierte Annahmen und Vereinfachungen, welche grundsätzlich in unstrukturierte, strukturierte, unsegregierte und segregierte Modelle unterschieden werden können (Hass und Pörtner 2009). In diesem Zusammenhang bedeutet unsegregiert, dass eine

Zellpopulation als eine durchschnittliche Zelle repräsentiert wird. Heterogenitäten der Zellpopulation und der Status individueller Zellen wird dagegen in segregierten Modellen betrachtet. Der Begriff unstrukturiert bedeutet, dass intrazelluläre Vorgänge außer Acht gelassen und nur Änderungen in der Umgebung der Zelle betrachtet werden (Hass und Pörtner 2009). Die meisten Wachstumsmodelle sind im Ansatz unstrukturiert und unsegregiert und werden zur Beschreibung der zellspezifischen Wachstums-, Substratverbrauchs- und Produktbildungsrate angewendet (Chmiel *et al.* 2018).

Hierbei wird in der Modellbildung oft das Konzept des limitierenden Substrats genutzt, das eine Abhängigkeit der zellspezifischen Reaktionsgeschwindigkeiten von der Substratkonzentration bedeutet, wobei Prozessvariablen wie pH-Wert oder Temperatur vernachlässigt werden (Chmiel *et al.* 2018). Für eine Beschreibung des Zusammenhangs zwischen der Wachstumsrate und der Substratkonzentration wird häufig die Monod-Kinetik verwendet (Gl.1) (Sahm *et al.* 2013). Es existieren auch alternative Modellansätze, die diesen formellen Zusammenhang beschreiben (Hass und Pörtner 2009; Ahring 2003).

$$\mu = \mu_{max} \frac{c_S}{c_S + K_S} \quad \text{Gl.1}$$

Die maximal erreichbare Wachstumsrate wird als μ_{max} (h^{-1}) und die Substratkonzentration als c_S (g L^{-1}) dargestellt. Zusätzlich gibt K_S (g L^{-1}) die Halbsättigungskonstante an, welche eine Substratkonzentration bei halb maximaler Wachstumsrate repräsentiert (Sahm *et al.* 2013). Eine Formulierung von Ausbeutekoeffizienten Y_{FG} ermöglichen beispielsweise eine mathematische Verknüpfung des Verbrauchs eines Substrats mit der Bildung von Biomasse oder einer Produktbildung (Gl.2) (Hass und Pörtner 2009). Dadurch können Umsatzraten in einem biologischen System beschrieben werden, ohne den exakten Zellmetabolismus zu kennen (Hass und Pörtner 2009).

$$Y_{FG} = \frac{\Delta F}{\Delta G} \quad \text{Gl.2}$$

Hierbei wird ΔF für eine produzierte Menge wie der Biomasse oder des Produkts und ΔG für eine verbrauchte Menge an Substrat oder einer produzierten Menge an Biomasse dargestellt (Hass und Pörtner 2009). Das verbrauchte Substrat kann prinzipiell von der Zelle für Wachstum, die Produktbildung und den Erhaltungsstoffwechsel genutzt werden (Chmiel *et al.* 2018). Die Substrataufnahmerate der Zellen wird durch eine zellspezifische Substrat-

aufnahmerate q_S dargestellt, welche mit der Wachstumsrate der Zellen μ und eines Ausbeutekoeffizienten Y_{XS} der gebildeten Biomasse pro umgesetzten Substrat verknüpft wird (Gl.3) (Hass und Pörtner 2009). Für den Erhaltungsterm m_S wird das Substrat zur Aufrechterhaltung von Stoffwechselfunktionen verbraucht, jedoch nicht für ein Wachstum der Zellen (Chmiel *et al.* 2018).

$$q_S = \frac{\mu}{Y_{XS}} + m_S \quad \text{Gl.3}$$

Zusätzlich wird häufig die mikrobielle Produktbildung mit der Wachstumsrate der Zellen oder dem Verbrauch eines wachstumslimitierenden Substrats in eine Abhängigkeit gebracht (Chmiel *et al.* 2018). In Analogie zur Substrataufnahmerate kann eine zellspezifische Produktbildungsrate q_P formuliert werden, welche mit der Wachstumsrate und eines Ausbeutekoeffizienten Y_{PX} des gebildeten Produkts pro gebildeter Biomasse verknüpft wird (Gl.4) (Hass und Pörtner 2009). Eine Produktbildung aus dem Erhaltungsstoffwechsel kann durch m_P ausgedrückt werden, welche wachstumsunabhängig ist (Hass und Pörtner 2009; Chmiel *et al.* 2018).

$$q_P = \mu \cdot Y_{PX} + m_P \quad \text{Gl.4}$$

Allerdings ist ein Verständnis der Prozesse eine Voraussetzung, um die Produktbildungskinetiken auf metabolischer Ebene abzubilden, da diese meist individuell für unterschiedliche Produktionsstämme gebildet werden müssen (Chmiel *et al.* 2018).

Ein Prozessmodell wird aus Massen- und Stoffbilanzen aufgebaut. Hierfür werden die jeweiligen Massen oder Molmengen einer Spezies in einem Bilanzraum aufgestellt und erfassen idealerweise alle zu- und abfließenden Stoffströme sowie Reaktionen im System (Abbildung 6) (Chmiel *et al.* 2018). Damit wird der Bereich definiert, dessen zeitliche Änderung der Massen oder Molmenge beschrieben werden soll. Die Umwandlung einer Komponente des Systems wird durch eine Reaktionsrate beschrieben und kann mit biologischen Katalysatoren wie einer ganzen Zelle unter Verwendung geeigneter mathematischer Reaktionskinetiken erfolgen (Chmiel *et al.* 2018). Auf diese Weise werden kinetische Modelle in ein Prozessmodell integriert. Häufig wird in Prozessmodellen eines Bioreaktors von einem einphasigen, ideal homogen durchmischten Reaktionsvolumen ausgegangen, sodass Konzentrationsgradienten der Reaktionskomponenten nicht berücksichtigt werden (Chmiel *et al.* 2018).

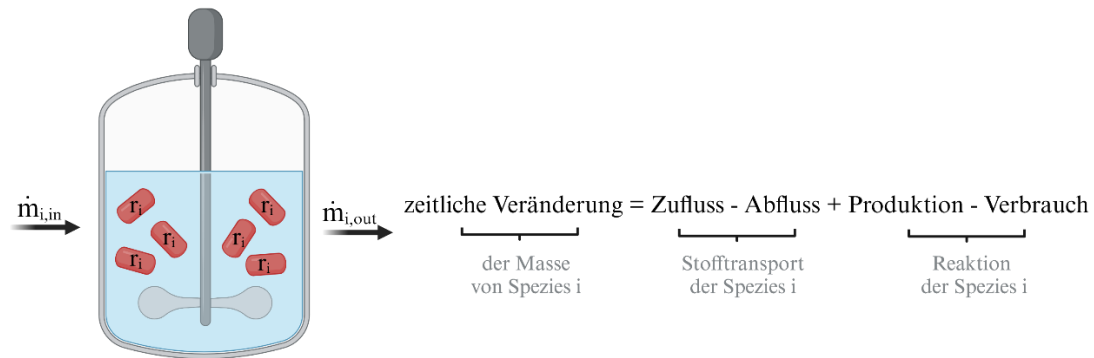


Abbildung 6: Allgemeine Betrachtung der Massenbilanz einer Spezies i in einem definierten Bilanzraum (nach Chmiel *et al.* 2018). Als zeitliche Veränderung einer Spezies werden die zu- und abfließenden Stoffströme sowie die Reaktionsraten eines Biokatalysators betrachtet. Erstellt mit Biorender.com.

Für die Durchführung eines Bioprozesses ist die Wahl der Prozessführung ein wesentlicher Aspekt. Es wird zwischen diskontinuierlichen und kontinuierlichen Betriebsweisen unterschieden (Hass und Pörtner 2009). Zu den diskontinuierlichen Prozessführungen gehören der Batch- und Fed-Batch-Betrieb. Im Batch-Betrieb wird das Substrat zu Beginn zugegeben, nach der Inokulation verbraucht und die Produkte nach Beendigung des Versuchs entfernt. Während des Betriebs werden keine Flüssigkeiten hinzu- oder abgeführt, weshalb das Volumen als konstant betrachtet werden kann. Lediglich die Begasung zur Sauerstoffversorgung in oxischen Prozessen wird betrieben (Doran 2013). Der Fed-Batch-Betrieb verläuft ähnlich zum Batch-Prozess mit dem Unterschied, dass Substrate während der Kultivierung in den Reaktor gegeben werden. Für die Zufütterung von frischem Substrat oder Medium können verschiedene Strategien verwendet werden (Hass und Pörtner 2009). Hierdurch können Wachstumslimitierungen durch zu hohe Substratkonzentrationen umgangen werden. Jedoch erhöht sich damit auch das Reaktionsvolumen im Reaktor, weshalb der Vorgang aufgrund der Füllhöhe zeitlich begrenzt ist (Doran 2013). Ein weiterer Vorteil gegenüber dem Batch-Betrieb stellt eine verlängerte Wachstumsphase mit einer meist erhöhten Produktausbeute dar (Hass und Pörtner 2009). Zu einer kontinuierlichen Betriebsweise gehört unter anderem der Chemostat (Hass und Pörtner 2009). Beim Chemostat wird meist ein stationärer Zustand von Mediumskomponenten und Biomassekonzentration erreicht. Dies wird durch einen gleich großen Zulauf- und Ablaufstrom bei einem konstanten Reaktionsvolumen erreicht, wobei es bei zu hohen Flussraten zu einem Auswaschen der Zellen kommen kann (Doran 2013).

Generell wird über einen gesamten Bioprozess das eingesetzte Substrat verbraucht und Produkte gebildet. Dieser Prozessverlauf lässt sich für jede der zuvor genannten Betriebsarten mithilfe aufgestellter Massenbilanzen als gewöhnliche Differentialgleichungen erster

Ordnung beschreiben (Schügerl und Bellgardt 2000). Im Folgenden wird beispielhaft die Bilanzierung zur Beschreibung der Biomasse für ein Substrat und ein Produkt im Batch-Betrieb dargestellt (Gl.5-7) (Chmiel *et al.* 2018). Ein Term, der das Absterben von Zellen beschreibt, wird nicht berücksichtigt.

$$\frac{dc_X}{dt} = \mu \cdot c_X \quad \text{Gl.5}$$

$$\frac{dc_S}{dt} = -q_S \cdot c_X \quad \text{Gl.6}$$

$$\frac{dc_P}{dt} = q_P \cdot c_X \quad \text{Gl.7}$$

1.7.1 Modellierung des anaeroben Abbauprozesses

In der Vergangenheit wurden bereits mathematische Ansätze und Modellstrukturen entwickelt, um die Prozessdynamik von Biogasprozessen besser zu verstehen, zu simulieren und Betriebsbedingungen zu optimieren (Donoso-Bravo *et al.* 2011). Der Fokus lag hier vor allem bei dynamischen Modellansätzen. Jedoch ist der anaerobe Abbauprozess ein sehr komplexer Vorgang, der nicht nur eine große Menge an experimentellen Daten und Messwerten erfordert, sondern auch zu einer großen Variabilität der kinetischen Parameter bei der Modellierung führt (Donoso-Bravo *et al.* 2011). Als Resultat vieler Vorarbeiten und entwickelter mathematischer Modellansätze des anaeroben Abbauprozesses entstand das ADM1 als erste einheitliche Modellstruktur und setzte sich damit als Grundlage in diesem Anwendungsgebiet durch (Batstone *et al.* 2002; Donoso-Bravo *et al.* 2011). Dieses Modell beinhaltet die Beschreibung der vier Abbauphasen in 19 Biokonversionsverfahren und enthält Berechnungen von Phasenübergangsprozessen, pH-Wert Bestimmungen sowie Inhibierungsfunktionen und Temperaturabhängigkeiten (Batstone *et al.* 2002). Mit der Zeit wurde dieses Standardmodell weiterentwickelt und mit weiteren mathematischen Prozessen wie einer geschlossenen Kohlenstoff und Stickstoffbilanz erweitert (Blumensaat und Keller 2005; Rosen und Jeppsson 2005; Donoso-Bravo *et al.* 2011).

Das ADM1 ist über die Bezugseinheit des chemischen Sauerstoffbedarfs der zugeführten Substrate definiert und verwendet eine Monod-Kinetik zur Beschreibung der Biokonversionsverfahren. Für eine praxisnahe Simulation wurde das ADM1 in eine Modellstruktur mit massenbasierter Bezugseinheit überführt (Weinrich und Nelles 2021b). Dazu wurden die einzelnen Elemente durch den entsprechenden theoretischen Sauerstoffbedarf geteilt und Modellkomponenten durch Umrechnung der stöchiometrischen

Koeffizienten mit den zugehörigen molaren Massen bestimmt (Weinrich und Nelles 2021b). Somit wurde unter anderem eine Modellstruktur mit festen stöchiometrischen Bilanzen für feste Biomasseertragskoeffizienten auf Basis empfohlener Standardwerte entwickelt (Weinrich und Nelles 2021b). Die komplexen Modellstrukturen des ADM1 werden üblicherweise in einer sogenannten Petersen-Matrix dargestellt (Rosen und Jeppsson 2005; Weinrich 2017).

1.7.2 Modellierung eines bioelektrochemischen Systems

Zur Entwicklung eines mathematischen Modells eines bioelektrochemischen Systems müssen biologische und elektrochemische Prozesse kombiniert werden. Es wurden bisher unterschiedliche, jedoch meist sehr komplexe Modellansätze entwickelt und beschrieben, wobei sich ein Großteil der Simulationen auf die Anwendung einer MBZ gegenüber einer MEZ bezieht (Oliveira *et al.* 2013; Gadkari *et al.* 2018). Von grundlegendem Interesse sind dynamische Modelle, die sowohl die Lebensweise in Form eines Biofilms als auch die Prozesse eines BES sowie die Interaktion zwischen Mikroorganismen und Elektrodenoberflächen beschreiben können (Asrul *et al.* 2021). Dies beinhaltet die Art des Elektronentransfers im Biofilm und zur Elektrode, Zellwachstum, Biofilmbildung und -ablösung auf der Elektrode, Substrat- und Ionentransfer in porösen Biofilmen, Massenbilanzen zwischen der Flüssigphase und dem Biofilm, Stoffumwandlungen im Biofilm sowie die Leitfähigkeit des Biofilms (Li *et al.* 2022). Diese Modelle können auf gewöhnlichen Differentialgleichungen oder partiellen Differentialgleichungen basieren, wobei letztere wesentlich komplexer in der Berechnung sind, dafür aber zusätzlich zur zeitlichen, eine räumliche Dimension berücksichtigen. Somit können sie das Biofilmwachstum, die Nährstoffdiffusion oder pH-Gradienten effizienter beschreiben (Luo *et al.* 2016).

Im BES werden häufig an der Elektrode ablaufende Prozesse mit der Butler-Volmer-Gleichung oder der Nernst-Gleichung beschrieben (Li *et al.* 2022). Dahingegen werden biologische Prozesse meist durch Massenbilanzen und der Monod-Kinetik repräsentiert (Li *et al.* 2022). Aus der Kombination biologischer und elektrochemischer Prozesse entstanden die Butler-Volmer-Monod und die Nernst-Monod-Gleichung (Gadkari *et al.* 2018). Aufgrund der zuvor genannten sehr komplexen Prozesse gilt es als äußerst schwierig, die Mechanismen und Zustandsvariablen eines BES detailliert bzw. umfassend zu bestimmen und zu simulieren (Li *et al.* 2022). Dennoch kann eine Modellierung zu einem besseren Verständnis der Leistung des Systems und der Optimierung von Steuerungs- und Betriebsvariablen beitragen (Ortiz-Martínez *et al.* 2015).

1.7.3 Modellierung der Produktion von Plattformchemikalien

Die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol soll in einem Prozessmodell mit genetisch veränderten *C. necator*-Stämmen beschrieben werden. Es wurden bisher verschiedene Modellierungsansätze entwickelt, um die Steuerung und Optimierung der PHB-Produktionsprozesse von *C. necator* zu ermöglichen (Horvat *et al.* 2013; Lopar *et al.* 2013), jedoch nicht die 2,3-Butandiol-Produktion durch diesen Organismus. Diese PHB-Modelle existieren in unterschiedlicher Komplexität und wurden angewendet, um die Kinetik und Prozessparameter des mikrobiellen Wachstums und der PHB-Synthese in Batch- und Fed-Batch-Betrieb auf Basis unterschiedlicher und gemischter Substratquellen zu bestimmen (Špoljarić *et al.* 2013; Yousuf und Winterburn 2016). Zusätzlich wurden diese Simulationen zur Optimierung von Substratfütterungsstrategien vorgeschlagen. Dabei wurden die Auswirkungen auf das Wachstum und die PHB-Produktion bewertet (Mozumder *et al.* 2014). Eines dieser Modelle konzentriert sich auf den autotrophen Prozess der PHB-Synthese von *C. necator* unter Berücksichtigung des Gastransfers und der Aufnahme von CO₂, H₂ und O₂ (Mozumder *et al.* 2015). Zusätzlich existiert ein heterotrophes kinetisches Modell des natürlichen 2,3-Butandiol-Produzenten *K. oxytoca*, welches das Zellwachstum und die Produktion von 2,3-Butandiol unter dem Einfluss von Substrat- und Produkthemmung in einer Batch-Fermentation beschreibt (Kim *et al.* 2016).

1.8 Zielsetzung

Im Hinblick auf eine ressourceneffiziente und nachhaltige, biobasierte Wirtschaftsweise behandelt diese Arbeit die energetische und stoffliche Nutzung von biobasierten Abfallströmen wie Urin und Rübensilage anhand von verschiedenen Prozessausführungen, welche in Abbildung 7 und 8 dargestellt sind. Es soll die Verwendung einer MEZ mit einer definierten Co-Kultur aus *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in Kombination mit den biologischen Abbauprozessen einer Biogasanlage für eine flexible Biogas- und Wasserstoff-erzeugung in einem mathematischen Prozessmodell untersucht werden. Hierzu soll eine Elektrodenregelung für unterschiedliche Anodenpotentiale und damit eine Steuerung der Biogas- und Wasserstoffproduktion entworfen werden. Weiterhin soll in einem autotrophen Prozessmodell gezeigt werden, dass der produzierte Wasserstoff und Kohlendioxid durch mikrobielle Organismen zu Plattformchemikalien umgesetzt werden können. Dazu werden die einzelnen Prozesse MEZ, Biogasprozess und autotrophe Produktion von Plattformchemikalien in separaten mathematischen Prozessmodellen betrachtet und validiert. Zusätzlich wird untersucht, ob Urin als Substratquelle in einer MEZ mit einer definierten Co-

Kultur verwendet werden kann, wodurch kein Konflikt zwischen energetischer und stofflicher Nutzung entstehen sollte.

Für den Prozess einer flexiblen Biogaserzeugung wird ein mathematisches Prozessmodell entworfen, das die Ergänzung einer Biogasanlage mit einer MEZ betrachtet. Der daraus anfallende Wasserstoff und Kohlendioxid können im Anschluss durch mikrobielle Organismen in einem autotrophen Prozess stofflich genutzt und in Plattformchemikalien umgewandelt werden. Es soll gezeigt werden, dass die MEZ dazu beitragen kann, eine Akkumulation von organischen Säuren zu verringern und den pH-Wert zu stabilisieren. Dadurch kann der Biogasprozess in einem optimalen Betriebsfenster gehalten werden. Außerdem soll gezeigt werden, dass die Kinetik des Elektronenübergangs der exoelektrogenen Mikroorganismen durch das eingestellte Anodenpotential gesteuert werden kann. Somit kann der Elektronenfluss kontrolliert werden, wodurch eine flexible Biogaserzeugung möglich ist. Die Elektronen, die auf die Anode übertragen werden, stehen der Biogaserzeugung nicht mehr zur Verfügung, werden aber zur Wasserstoffproduktion an der Kathode genutzt. Schließlich soll diese Regelungstechnik und die kontrollierte Elektronenflussrate zur Biogaserzeugung oder zur Wasserstoffproduktion in einem Prozessmodell abgebildet werden. Für eine stoffliche Nutzung kann der entstehende Wasserstoff in einem autotrophen Prozess unter Fixierung von Kohlendioxid mit einem angepassten Mikroorganismus in Acetoin und 2,3-Butandiol umgewandelt werden und in einem weiteren Prozessmodell betrachtet werden.

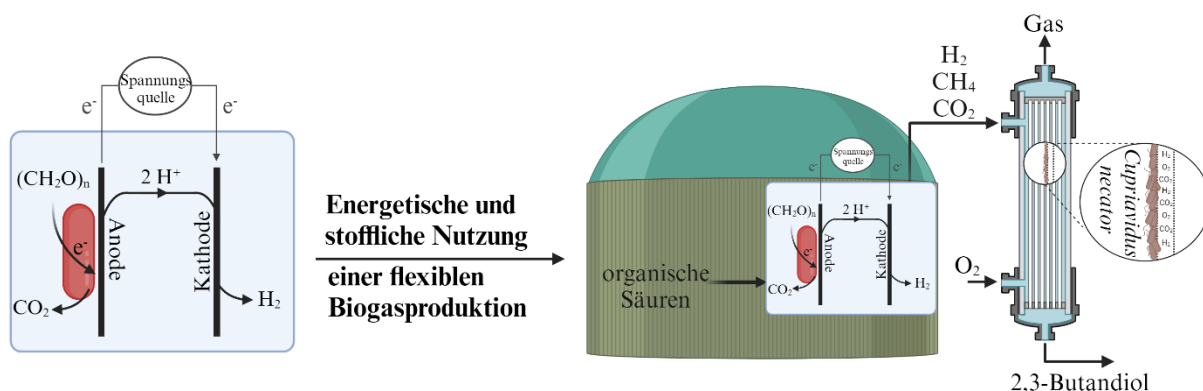


Abbildung 7: Schematische Darstellung des Konzepts der energetischen und stofflichen Nutzung einer flexiblen Biogaserzeugung. Der anaerobe Abbauprozess wird mit einer MEZ ergänzt. Dadurch können akkumulierende Säuren kontrolliert abgebaut und der pH-Wert stabilisiert werden. Die Kinetik des Abbaus und des Elektronenflusses soll durch das eingestellte Anodenpotential gesteuert werden. Dadurch kann der Elektronenfluss zur Wasserstoff- oder Biogasproduktion gesteuert werden. Zur stofflichen Nutzung kann der anfallende Wasserstoff in einem autotrophen Prozess mit einem angepassten Mikroorganismus in eine Plattformchemikalie wie Acetoin und 2,3-Butandiol umgewandelt werden. Erstellt mit BioRender.com.

In einem weiteren Ansatz wird die Verwendung von Urin in einer MEZ untersucht. Eine experimentelle Machbarkeitsstudie soll zeigen, ob Urin durch gemessene Stromdichten energetisch für eine nachhaltige Wasserstoffproduktion genutzt werden kann. Dazu werden die exoelektrogenen Mikroorganismen *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* eingesetzt. Im Anschluss wird der Einfluss von Urin auf die Anodengemeinschaft und die Leistungsfähigkeit im Vergleich zu synthetischem Medium untersucht. Außerdem werden die Auswirkungen auf den Biofilm in einem Durchflusssystem betrachtet.

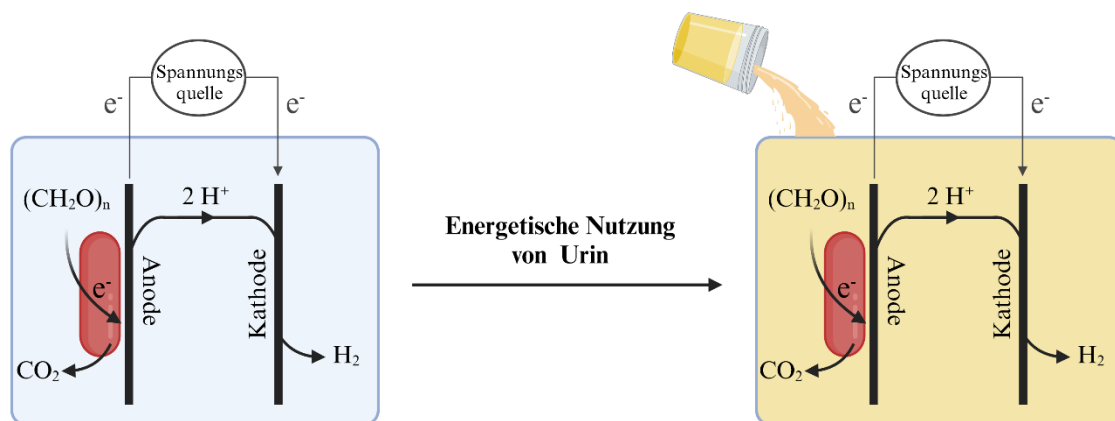


Abbildung 8: Schematische Darstellung des Konzepts der Verwendung von Urin in einer MEZ für eine energetische Nutzung der Wasserstoffproduktion. Das Konzept basiert auf der Nutzung von exoelektrogenen Mikroorganismen. Erstellt mit BioRender.com.

2. Material und Methoden

In diesem Abschnitt werden die Anzucht der verwendeten Mikroorganismen und die genutzten bioelektrochemischen Systeme beschrieben. Diese wurden sowohl mit dem BES-Nährmedium als auch mit Urin betrieben. Die Versuche wurden nach den angegebenen Evaluationsparametern und mit bestimmten analytischen Methoden ausgewertet. In einem 3-Elektroden-Drehscheiben-Reaktor wurden Experimente mit einer exoelektrogenen Co-Kultur bei verschiedenen Anodenpotentialen im größeren Maßstab durchgeführt, die später als Grundlage für das Modell der MEZ verwendet wurden. Für die Simulation des anaeroben Abbauprozesses wurde ein Datensatz vom Deutschen Biomasseforschungszentrum (DBFZ) zur Verfügung gestellt. Bei der Modellbildung der Produktion von Plattformchemikalien wurden experimentelle Daten vom Institut für Technische Mikrobiologie (TMI) der Technischen Universität Hamburg (TUHH) bereitgestellt. Die Modellbildung und Modellimplementierung werden in diesem Kapitel erläutert.

Die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien wurden von AppliChem (Darmstadt, Deutschland), Carl Roth (Karlsruhe, Deutschland), Merck (Darmstadt, Deutschland), Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, USA) oder VWR (Radnor, PA, USA) bezogen.

2.1 Verwendete Stämme

Für die durchgeführten Versuche in dieser Arbeit wurden die in Tabelle 1 aufgelisteten Stämme verwendet. Es wurden Kryokulturen aus aktiven Kulturen der Mikroorganismen erstellt. Dafür wurden 0,9 mL der jeweiligen Kultur mit 0,6 mL einer 50 %-igen Glycerinlösung gemischt und bei -80°C gelagert. Aus den Kryokulturen wurden Vorkulturen bzw. Lagerkulturen für die durchgeführten Experimente angezogen.

Tabelle 1: Genutzte Mikroorganismen.

Organismus	Quelle
<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	(Dolch <i>et al.</i> 2016)
<i>Geobacter sulfurreducens</i> PCA	(Dolch <i>et al.</i> 2016)

2.1.1 Anzucht der Organismen

Für die Kultivierung von *S. oneidensis* wurde eine Kryokultur auf eine LB-Agar-Platte ausgestrichen, bei 30°C für 24 h inkubiert (Inkubator I, Memmert, Schwabach, Deutschland) und anschließend im Kühlschrank bei 4°C gelagert. Die Zusammensetzung des LB-Agar-Mediums ist Tabelle 2 aufgelistet. Diese wurde für ein bis zwei Wochen verwendet, um

Kulturen im flüssig LB-Medium anzuziehen und bei 30°C sowie 180 rpm im Schüttelinkubator (New Brunswick Innova® 44, Eppendorf, Hamburg, Deutschland) zu inkubieren. Die Zellen der flüssigen Kultur wurden anschließend gewaschen und für die durchgeführten Co-Kulturversuche im BES verwendet.

Tabelle 2: Zusammensetzung der LB-Agar-Platten. Im flüssigen LB-Medium wurde kein Agar hinzugegeben.

Substanz	Menge
Trypton	10 g L ⁻¹
Hefeextrakt	5 g L ⁻¹
NaCl	5 g L ⁻¹
Agar [2%]	20 g L ⁻¹

Das BES-Nährmedium wurde zur Kultivierung von *G. sulfurreducens* angepasst und 20 mM Fumarsäure als Elektronenakzeptor sowie 20 mM Natriumacetat anstelle von 20 mM Natriumlaktat als Elektronendonator hinzugegeben. Das Medium wurde anaerobisiert, auf pH 7,0 eingestellt und mit einer Kryokultur beimpft. Die 250 mL Flüssigkultur wurde bei 30°C für zwei bis drei Tage inkubiert und konnte anschließend bei Raumtemperatur für vier Wochen gelagert werden. Von dieser Stammkultur wurden vor einem BES-Versuch 10 mL in ein frisches BES-Nährmedium überimpft und für zwei Tage bei 30°C inkubiert.

2.1.2 Medien der Organismen

Das BES-Nährmedium wurde wie bereits beschrieben in angepasster Form zur Anzucht von *G. sulfurreducens* und für anaerobe Kulturen von *S. oneidensis* mit 20 mM Fumarsäure als Elektronenakzeptor verwendet. Bei der Co-Kultivierung von *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* im BES wurde das Medium ohne zusätzlichen Elektronenakzeptor mit Natriumlaktat als Elektronendonator vorbereitet. Das BES-Nährmedium ist in Tabelle 3 beschrieben und wurde aus den Lösungen in Tabelle 4-7 zusammengesetzt.

Die folgenden Lösungen wurden mit VE-Wasser hergestellt und anschließend bei 121°C für 20 Minuten im Autoklav (DX-65 und VE-150, Systec, Linden, Deutschland) sterilisiert. Angesetzte Reagenzien, wie Vitamine und Natriumascorbat und Calciumchlorid wurden steril filtriert (Filtropur S, Porengröße 0,2 µm, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) und an der Sterilbank (Thermo Scientific MSC-Advantage-Sicherheitswerkbank, Fisher-Scientific, Schwerte, Deutschland) zu dem autoklavierten BES-Nährmedium hinzugegeben. Zum

Anaerobisieren der Hefeextrakt-, Natriumascorbat- und der Calciumchloridlösung, sowie des BES-Nährmediums wurde eine Membran-Vakuumpumpe VP 86 (VWR, Radnor, PA, USA) verwendet. Dazu wurde zwei Minuten lang ein Vakuum angelegt und anschließend zwei Minuten lang mit einer Mischung aus 80 % N₂ und 20 % CO₂ steril begast. Dieser Prozess wurde in mindestens 15 Zyklen durchgeführt um sicherzustellen, dass kein gelöster Sauerstoff mehr vorlag. Das BES-Nährmedium wurde vor und nach der Zugabe der Komplementierlösung auf pH 7,0 titriert und im Kühlschrank bei 4°C gelagert.

Weiterhin wurden Wachstumsversuche und Experimente im BES mit Urin als Medium anstelle des BES-Mediums durchgeführt. Der Urin wurde von fünf männlichen und fünf weiblichen Personen gesammelt, gemischt und bei -20°C gelagert. Die für die Versuchsdurchführung eingesetzten Urinmengen wurden zuvor autoklaviert. Im Anschluss wurde die Urinmischung unter sterilen Bedingungen auf pH 7,0 titriert und für die Wachstumsversuche anaerobisiert. Die Zusammensetzung des sterilen Urins wurde im Zentrallabor der TUHH auf Aminosäuren, Kohlenhydrate sowie Carbonsäuren untersucht und ist im Anhang in Tabelle A1 gelistet.

Tabelle 3: Zusammensetzung des BES-Nährmediums.

Substanz	Menge
10x Salzlösung	100 mL L ⁻¹
NaHCO ₃	1,80 g L ⁻¹
Na ₂ CO ₃	0,50 g L ⁻¹
MgCl ₂ · 6 H ₂ O	0,21 g L ⁻¹
Na-D, L-Laktat (60%)	3,73 g L ⁻¹
100x Spurenelementlösung	10 mL L ⁻¹
Selenit-Wolframatlösung	1 mL L ⁻¹
<i><u>Komplementierlösung</u></i>	
100x Vitaminlösung	10 mL L ⁻¹
10% Hefeextrakt	10 mL L ⁻¹
0,2 M Natriumascorbat	1 mL L ⁻¹
0,4 M CaCl ₂ · 2 H ₂ O	1 mL L ⁻¹

Tabelle 4: Zusammensetzung der 10x konzentrierten Salzlösung.

Substanz	Menge
KH_2PO_4	4,2 g L ⁻¹
K_2HPO_4	2,2 g L ⁻¹
NH_4Cl	2,0 g L ⁻¹
KCl	3,8 g L ⁻¹
NaCl	3,6 g L ⁻¹

Tabelle 5: Zusammensetzung der Selenit-Wolframatlösung.

Substanz	Menge
NaOH	0,5 g L ⁻¹
Na_2SeO_3	3,0 mg L ⁻¹
$\text{Na}_4\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	4,0 mg L ⁻¹

Tabelle 6: Zusammensetzung der 100x konzentrierten Spurenelementlösung.

Substanz	Menge
Nitrilotriessigsäure	2,14 g L ⁻¹
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0,10 g L ⁻¹
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,30 g L ⁻¹
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,17 g L ⁻¹
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,20 g L ⁻¹
$\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,30 g L ⁻¹
H_3BO_3	5,00 mg L ⁻¹
$\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$	5,00 mg L ⁻¹
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,11 g L ⁻¹
$\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	0,11 g L ⁻¹
$\text{NaWO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	0,20 g L ⁻¹

Tabelle 7: Zusammensetzung der 100x konzentrierten Vitaminlösung.

Substanz	Menge
Biotin	2,0 mg L ⁻¹
Folsäure	2,0 mg L ⁻¹
Pyridoxin-HCl	10,0 mg L ⁻¹
Thiamin-HCl	5,0 mg L ⁻¹
Riboflavin	5,0 mg L ⁻¹
DL-Capantothenat	5,0 mg L ⁻¹
Nicotinsäure	5,0 mg L ⁻¹
Vitamin B12	0,1 mg L ⁻¹
p-Aminobenzoesäure	5,0 mg L ⁻¹
Liponsäure	5,0 mg L ⁻¹

2.1.3 Waschen der Vorkulturen

Um sicherzustellen, dass alle im Vorkulturmedium enthaltenen Elektronenakzeptoren vor der Beimpfung eines BES-Reaktors entfernt werden, wurden die Vorkulturen gewaschen. Die Vorkulturen von *G. sulfurreducens* und *S. oneidensis* wurden bei 6000 rpm für 10 min zentrifugiert (Sorvall RC-5C Plus, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Anschließend wurde der Überstand verworfen und das Pellet mit 50 mL steriler Salzlösung resuspendiert. Im Anschluss wurden die Zellen erneut unter gleichen Bedingungen zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Pellet in 5 mL der Salzlösung resuspendiert. Danach konnte jeweils die optische Dichte (GENESYS™ 20, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) der Organismen und das benötigte Volumen der Zellsuspensionen bestimmt werden. Die Versuche der Co-Kultivierung wurden mit einem Verhältnis der optischen Dichte von *S. oneidensis* zu *G. sulfurreducens* von 10:1 inokuliert.

2.2 Wachstumsexperimente mit Urin

Für die Durchführung der anoxischen Wachstumsversuche wurde, wie bereits in 2.1.1 beschrieben, eine Vorkultur der verwendeten Organismen angezogen. Die Vorkulturen wurden anschließend gewaschen und die Menge des benötigten Zellvolumens für einen Startwert der OD₆₀₀ von 0,01 der Experimente berechnet. Die sterilen Wachstumsversuche mit Urin wurden in Triplikaten durchgeführt. Hierfür wurde in 100 mL Flaschen mit einem Flüssigvolumen von 50 mL gearbeitet. Dazu wurde eine Urinlösung und für Kontrollversuche

das BES-Medium verwendet. Die sterile Urinlösung wurde vor der experimentellen Durchführung anaerobisiert und auf pH 7,0 titriert.

Die Animpfung der Flaschenexperimente erfolgte am späten Abend. Nach der Inokulation wurden die Flaschen bei 30°C inkubiert (Inkubator I, Memmert, Schwabach, Deutschland). Anschließend wurden in regelmäßigen Abständen und unter sterilen Bedingungen Proben zur Bestimmung des Zellwachstums genommen. Außerdem wurde entsprechend dem jeweiligen Experiment die pure Urinlösung mit Fumarat, der Vitaminlösung, Hefeextrakt, Acetat, Laktat, Na-Ascorbat und CaCl_2 ergänzt, um den Einfluss verschiedener Zusätze, die im BES-Nährmedium enthalten sind, auf das Wachstum der Mikroorganismen in Urin zu untersuchen. Eine Übersicht der Flaschenexperimente ist in Tabelle 8 festgehalten.

Tabelle 8: Übersicht der durchgeführten planktonischen Wachstumsversuche mit Urin in Flaschen.

Stamm	Medium	Elektronendonor		Elektronenakzeptor		Komplementierlösung		
	Urin [mL]	1 M Laktat [mL]	1 M Acetat [mL]	Fumarat (4,64 g L ⁻¹)	10% Hefeextrakt [mL]	Vitaminlösung [mL]	0,2 M Na-Ascorbat [μL]	0,4 M CaCl ₂ [μL]
<i>G.s.</i>	48,5		1	✓	0,5			
<i>G.s.</i>	48,5		1	✓		0,5		
<i>G.s.</i>	47,9		1	✓	0,5	0,5	50	50
<i>G.s.</i>	49		1	✓				
<i>G.s.</i>	49		1					
<i>S.o.</i>	48,5	1		✓	0,5			
<i>S.o.</i>	48,5	1		✓		0,5		
<i>S.o.</i>	47,9	1		✓	0,5	0,5	50	50
<i>S.o.</i>	49	1		✓				
<i>S.o.</i>	49	1						

2.3 Kultivierung im bioelektrochemischen System

Die in dieser Arbeit durchgeführten Versuche im BES wurden chronoamperometrisch ausgeführt, um den zeitlichen Verlauf der Stromerzeugung des Biofilms bei einem konstanten Potential zu messen (Bard und Faulkner 2001). Hierfür wurde ein konstantes Potential von 0 V gegen eine Standard-Wasserstoffelektrode (SHE) oder von -0,199 V gegen Ag/AgCl als Referenzelektrode (Bezugselektrode SE11 oder SE23I, Sensortechnik Meinsberg, Deutschland) an der Arbeitselektrode angelegt. Zum Anlegen des Potentials wurden Potentiostaten wie der MultiEmStat3+ (PalmSens, Houten, Niederlande), Multi Autolab M204 (Metrohm, Utrecht, Niederlande), Interface 1010E/5000E (Gamry, Philadelphia, PA, USA) genutzt und der Strom in Intervallen von 60 s gemessen. Die Versuche der Co-Kultivierung wurden mit einem Verhältnis der optischen Dichte von *S. oneidensis* zu *G. sulfurreducens* von 10:1 inokuliert und mit einer OD₆₀₀ von insgesamt 0,1 angeimpft.

2.3.1 Mikrobielle 3-Elektrodenzelle

Die Stromproduktion der Mikroorganismen wurde als Batchversuch in einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle untersucht. In diesem System wurden Experimente mit dem BES-Nährmedium und mit Urin durchgeführt. Als Arbeitselektrode wurde ein Graphitvlies (Sigracell GFD 2.5; SGL Carbon, Wiesbaden, Deutschland) mit einer Grundfläche von 3,5 cm x 6 cm verwendet und in der entsprechenden Halterung im System fixiert, wodurch die frei zugängliche Oberfläche der Arbeitselektrode 36 cm² betrug. Als Stromabnehmer diente eine Kanüle (Sterican 0,8x120 mm, B.Braun, Melsungen, Deutschland), die mit dem Graphitvlies verbunden wurde. Dieses wurde zuvor für 20 min in Isopropanol eingeweicht, um die Hydrophilie des Materials zu verbessern und im Anschluss mit VE-Wasser gründlich abgespült. Die Gegenelektrode bestand aus einem Platinnetz (99,9 %, 10,24 Maschen mm⁻², ChemPur, Karlsruhe, Deutschland) und wurde mithilfe eines Platindrahts (Ø 0,1 mm, 99,9 %; ChemPur, Karlsruhe, Deutschland) verbunden.

Das Reaktorsystem umfasste ein Arbeitsvolumen von 275 mL und wurde vor dem Autoklavieren mit vier M5-Schrauben dicht verschlossen sowie mit VE-Wasser befüllt. Vor dem Versuchsbeginn wurde an der Sterilbank (Thermo Scientific MSC-Advantage-Sicherheitswerkbank, Fisher-Scientific, Schwerte, Deutschland) das VE-Wasser mit dem entsprechenden Medium ersetzt und die separat sterilisierte Referenzelektrode eingeschraubt. Es wurden Triplikate jeder Versuchsreihe angesetzt und bei 30°C inkubiert. Um anoxische Bedingungen zu gewährleisten, wurde der freie Kopfraum des Reaktors während der Versuchsdurchführung mit einer Mischung aus 80 % N₂ und 20 % CO₂ steril begast. Ein

Magnetrührer und Rührstab (topolino, IKA-Werke, Staufen, Deutschland) sorgten für eine konstante Durchmischung des Mediums. Eine beispielhafte mikrobielle 3-Elektrodenzelle ist in Abbildung 9 dargestellt.

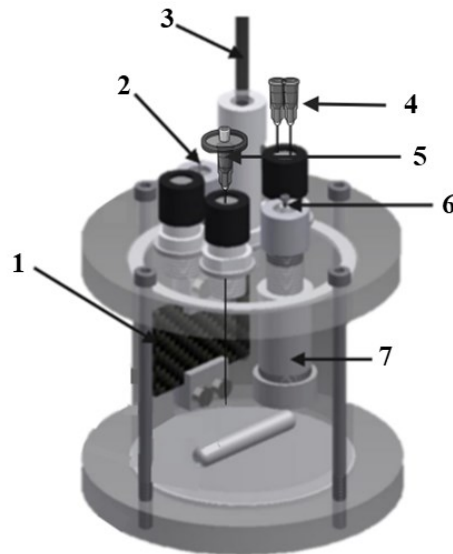


Abbildung 9: Aufbau einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle (nach Golitsch 2016). Zu sehen sind 1) Eingespannte Arbeitselektrode in Halterung; 2) Konnektierung der Arbeitselektrode; 3) Ag/AgCl Referenzelektrode; 4) Gaseinlass; 5) Gaseinlass mit Sterilfilter; 6) Konnektierung Gegenelektrode; 7) Kammer der Gegenelektrode.

2.3.2 3-Elektroden-Durchflusszelle

Eine von Hackbarth *et al.* (2020) entwickelte 3-Elektroden-Durchflusszelle wurde verwendet, um die Stromproduktion der Mikroorganismen sowie das Wachstum des Biofilms bei verschiedenen Flussraten zu untersuchen. In diesem System wurden Experimente mit dem BES-Nährmedium und mit Urin durchgeführt. Als Arbeitselektrode wurde eine 100 mm x 20 mm Graphitplatte (MR40, Müller & Rössner, Niederkassel, Deutschland), mit einer freien Oberfläche von 20 cm² genutzt und am Boden der Durchflusszelle eingelassen. Die Arbeitselektrode wurde zuvor für 20 min in Isopropanol gewaschen und im Anschluss mit VE-Wasser gründlich abgespült. Die Gegenelektrode bestand aus sechs Iridium-Tantal beschichteten Titanplatten (Platinode® MMO Anode 177, Umicore, Hanau, Deutschland) mit einer gleich großen Oberfläche wie der Arbeitselektrode. Diese konnten in dem dafür vorgesehenen Gegenelektrodenhalter aus Polyetheretherketon (PEEK) fixiert und eingeschraubt werden. Die Verbindung zu den eingesetzten Elektrodenmaterialien wurde über einen Kontakt mit Titanschrauben hergestellt.

Das System, in Abbildung 10 dargestellt, bestand aus PEEK und konnte somit vollständig autoklaviert werden. Im Anschluss daran wurde im Zulauf des Reaktorsystems die separat sterilisierte Referenzelektrode in eine Halterung eingeschraubt. Das System wurde mit einem Arbeitsvolumen von 275 mL betrieben und durch Viton®-Schläuche (Roth, Karlsruhe,

Deutschland) mit einer 250 mL Flasche als Reservoir verbunden. Die Versuchsdurchführung erfolgte bei Raumtemperatur unter anoxischen Bedingungen. Um dies zu gewährleisten, wurde das System mit einer Mischung aus 80 % N₂ und 20 % CO₂ steril begast. Außerdem wurde das Medium im Reaktorsystem bei einer eingestellten Flussrate durchgepumpt (Ismatec ISM 944, Ismatec Laboratoriumstechnik GmbH, Wertheim-Mondfeld).

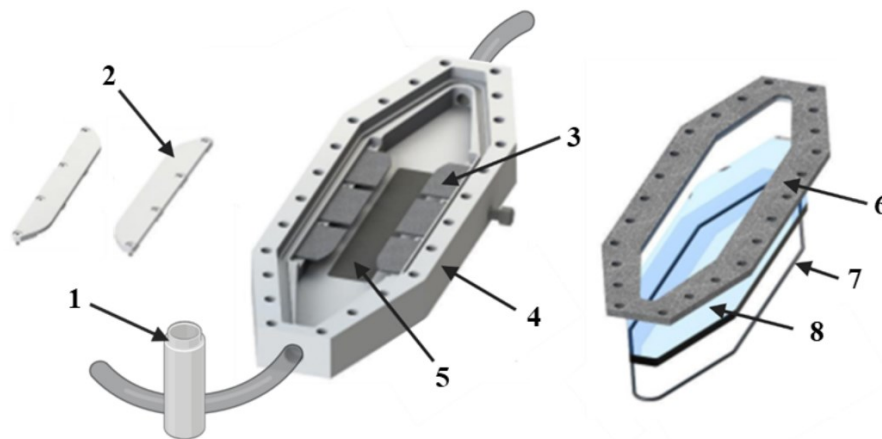


Abbildung 10: Aufbau der 3-Elektroden-Durchflusszelle (nach Hackbarth *et al.* 2020). Zu sehen sind 1) Referenzelektrodenhalter; 2) Gegenelektrodenhalter; 3) Gegenelektrode; 4) PEEK Gehäuse; 5) Arbeitselektrode; 6) Metalldeckel; 7) Dichtungsring; 8) Polycarbonat Sichtfenster.

2.3.3 3-Elektroden-Drehscheiben-Reaktor

In diesem System wurden Experimente der Co-Kultivierung im größeren Maßstab durchgeführt, die später als Grundlage für das Modell der MEZ verwendet wurden. Bei der Versuchsdurchführung wurden verschiedene anodische Potentiale zwischen -0,2 V und 0,2 V in unterschiedlichen Zeitintervallen untersucht, um ihren Einfluss auf die Leistung zu bestimmen. Der Drehscheiben-Reaktor im 3-Elektrodenaufbau (Hackbarth *et al.* 2023; Knoll *et al.* 2023) umfasste einschließlich der Peripherie ein Gesamtvolumen von 12,6 L und ist in Abbildung 11 dargestellt.

Die Peripherie bestand aus Edelstahlrohren mit einem Durchmesser von 10 mm und einem Schlauchpumpensystem (Masterflex™ L/S™ analoge Konsolenpumpe mit Easy-Load-II-Pumpenköpfen, Fisher Scientific, Schwerte, Deutschland) mit gasdichten Schläuchen (Masterflex™ L/S™ Viton™ FDA-konforme Pumpenschläuche, Fisher Scientific, Schwerte, Deutschland). Der pH-Wert wurde in einem Mischgefäß automatisch durch das Fermenterkontrollsystem Biostat® A (Sartorius AG, Göttingen, Deutschland) und einer pH-Sonde kontrolliert. Zusätzlich konnte das Mischgefäß, sowie der Drehscheiben-Reaktor durch Silikonheizmatten (LCS Isotherm GmbH & Co. KG, Frankfurt, Deutschland) auf 30°C temperiert werden. Als Arbeitselektrode fanden sieben Graphitplatten mit einer

Gesamtoberfläche von 0,5 m² Verwendung. Die Gegenelektrode bestand aus acht titanbeschichteten Halbscheiben mit einer Gesamtoberfläche von 0,25 m². Die Rotation der Arbeitselektroden wurde mit einem Schrittmotor (bipolarer NEMA-11-Schrittmotor mit 100:1-Getriebe, Phidget, Calgary, Kanada) auf 1 rpm eingestellt. Das Reaktorsystem und die Peripherie wurden zuvor autoklaviert und unter sterilen Bedingungen zusammengesetzt.

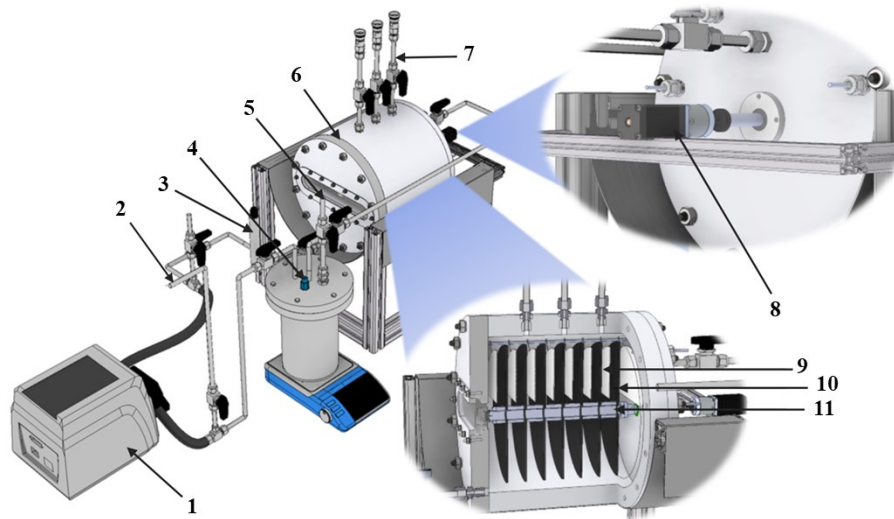


Abbildung 11: Schematische Darstellung des 3-Elektroden-Drehscheiben-Reaktors mit Peripherie (nach Knoll *et al.* 2023). Zu sehen sind 1) Schlauchpumpe; 2) Überlauf; 3) Referenzelektrode; 4) pH-Sonde; 5) pH Kontrolle; 6) 10 L Drehscheiben-Reaktor; 7) Gasauslass; 8) Schrittmotor; 9) Gegenelektrode; 10) Arbeitselektrode; 11) Welle.

2.4 Bestimmung von Evaluationsparametern

Die Ergebnisse der durchgeführten Versuche und Simulationen wurden anhand von verschiedenen berechneten Parametern bewertet. Darunter wurde die maximale spezifische Wachstumsrate μ_{max} (h⁻¹) der verwendeten Mikroorganismen bestimmt. Diese ergibt sich aus der zeitlichen Änderung der Biomassenkonzentration c_x (g L⁻¹) innerhalb eines Zeitintervalls t (h) und kann nach Gleichung 8 analytisch bei hohen Substratkonzentration annähernd bestimmt werden, wobei ein exponentielles Wachstum vorausgesetzt wird (Hass und Pörtner 2009).

$$c_X = c_{X_0} \cdot e^{\mu_{max} \cdot t} \quad \text{Gl.8}$$

Die volumetrische Produktivität oder auch Raum-Zeit-Ausbeute Q_P (g L⁻¹ h⁻¹), wurde mit Gleichung 9 bestimmt. Die Endkonzentration des Produkts c_P wird mit Δc_P (g L⁻¹) beschrieben, wohingegen Δt (h) für das betrachtete Zeitintervall steht (Doran 2013).

$$Q_P = \frac{\Delta c_P}{\Delta t} \quad \text{Gl.9}$$

Die Stromdichte J (A m^{-2}) wurde aus dem gemessenen Strom I (A) und der freien Oberfläche A (m^2) im BES berechnet. Um die mittlere Stromdichte zu erhalten, wurde die durchschnittliche Stromdichte zusätzlich durch das zu betrachtende Zeitintervall Δt (h) dividiert (Gl.10).

$$J = \frac{I}{\Delta t \cdot A} \quad \text{Gl.10}$$

Der coulombsche Wirkungsgrad CE gibt das Verhältnis vom gemessenen Strom I zu den metabolisch zur Verfügung gestellten Elektronen an (Logan *et al.* 2006). Dazu wurde der erzeugte Strom in einem Zeitintervall bestimmt und durch die metabolisch freigesetzte Menge an Elektronen dividiert. Diese Gesamtmenge an Elektronen wurde aus dem Verbrauch an Laktat Δc , dem Reaktorvolumen V_R , der Elementarladung e ($1,602 \cdot 10^{-19}$ C), der Avogadro-Konstanten N_A ($6,022 \cdot 10^{23}$ mol $^{-1}$) und den zur Verfügung stehenden Elektronen z_e (12) durch den Laktatverbrauch berechnet (Gl.11) (Knoll *et al.* 2023).

$$CE = \frac{\int_{t_0}^t I dt}{\Delta c \cdot e \cdot V_R \cdot z_e \cdot N_A} \quad \text{Gl.11}$$

Die theoretisch produzierte Stoffmenge an Wasserstoff n_{H_2} (mol s $^{-1}$) wurde aus dem erzeugten Strom I , der Faraday-Konstante F (96485 C mol $^{-1}$), und der Elektronen pro H₂ Molekül z_{H_2} (2) berechnet (Gl.12) (Utesch und Zeng 2018).

Um die volumetrisch produzierte Menge an Wasserstoff V_{H_2} (m 3 h $^{-1}$) zu erhalten, wurde Gleichung 12 mit dem idealen Gasgesetz erweitert. Dabei steht R für die ideale Gaskonstante (8,314 J mol $^{-1}$ K $^{-1}$), T für die Temperatur (K) und p für den Druck (Pa). Die theoretisch produzierte Energiemenge wurde mit Hilfe des Heizwertes von Wasserstoff (119,7 MJ kg $^{-1}$) bestimmt (Wallace und Ward 1983).

$$n_{H_2} = \frac{I}{F \cdot z_{H_2}} \quad \text{Gl.12}$$

$$V_{H_2} = \frac{I \cdot R \cdot T}{p \cdot F \cdot z_{H_2}} \quad \text{Gl.13}$$

2.5 Analytik

Die entnommenen Versuchsproben wurden mit unterschiedlichen Methoden gemessen und analysiert.

2.5.1 Spektrophotometer

Zur Messung der optischen Dichte wurde ein Photometer (GENESYS™ 20, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) verwendet und bei einer Wellenlänge von 600 nm gemessen. Die Messung wurde bis zu einer optischen Dichte von 0,4 unverdünnt durchgeführt. Überstieg die unverdünnte Probe diesen Wert, musste eine Verdünnungsreihe angesetzt werden. Als Referenzwert wurde voll entsalztes Wasser (VE-Wasser) als Nullprobe verwendet. Zusätzlich wurde der Trübheitswert des entsprechend verwendeten Mediums gemessen und mit VE-Wasser als Referenzwert verglichen.

2.5.2 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Die Quantifizierung von organischen Säuren wurden mit Hilfe einer Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) analysiert. Dazu wurde das UltiMate3000 SD HPLC-System (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) mit integriertem Brechungsindexdetektor RefractoMax520 (ERC, Riemerling, Deutschland) verwendet. Es wurden 150 µL der Proben vor der Analyse mit einem 0,2 µm Polyethyltetrafluorethylen (PTFE)-Filter (VWR, Darmstadt, Deutschland) gefiltert und mit 15 µL einer 0,5 mM Schwefelsäure in einer 96-Well-Mikrotiterplatte gemischt. Für die Messung wurde eine Aminex HPX-87H Säule (BioRad, München, Deutschland) als stationäre Phase, bei einer Säulentemperatur von 60°C verwendet. Als Laufmittel der mobilen Phase diente 5 mM Schwefelsäure bei einer Flussrate von 0,6 mL min⁻¹. Dabei wurden Retentionszeiten gemessen, die sich aus der Interaktion eines Stoffes mit beiden Phasen ergibt und aufgrund von externen Standards den organischen Säuren zugeordnet werden konnte. Die Proben wurden auf Laktat und Acetat hin untersucht.

2.5.3 Biotrockenmasse

Um die Biotrockenmasse der Zellen zu bestimmen, wurde das Leergewicht der dafür verwendeten 2 mL Mikroreaktionsgefäße gewogen und notiert. Diese wurden zuvor über

Nacht in den Trockenschrank gestellt, um unerwünschte Reste verdampfen zu lassen. Anschließend wurden aus einem Wachstumsversuch zu verschiedenen Zeitpunkten Proben entnommen und jeweils 1 mL in die Gefäße gegeben. Für jeden Probenzeitpunkt wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt. Hierfür wurde die optische Dichte jeder genommenen Probe gemessen und notiert. Anschließend wurde die Probe für 4 min bei 16000 rpm zentrifugiert und der Überstand von den sedimentierten Zellen getrennt. Anschließend wurden diese in 1 mL VE-Wasser resuspendiert und erneut zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und die sedimentierten Zellen bei 70°C für 24 h im Trockenschrank getrocknet. Die Biotrockenmasse der Bakterien wurde durch Subtraktion des Leergewichts vom gewogenen Wert ermittelt. Die Ergebnisse dieser Bestimmung sind im Anhang in Abbildung A1 zu finden und wurden für die Modellierung zur Berechnung der Biomassetrockenmasse BTM (g L^{-1}) einer Deletionsmutante von *Cupriavidus necator* H16 (Windhorst und Gescher 2019) in Korrelation zu der gemessenen optischen Dichte OD_{600} genutzt (Gl.14).

$$BTM = 0,6416 \cdot OD_{600} + 0,0632 \quad \text{Gl.14}$$

2.5.4 Optische Kohärenztomographie

Die Entwicklung des Biofilms wurde mittels optischer Kohärenztomographie (OCT) mit einem Ganymede II - LSM04 OCT-Gerät von Thorlabs (Dachau, Deutschland) quantifiziert. OCT ist ein nicht-invasives bildgebendes Verfahren, das Oberflächen mit Licht scannt und somit die Darstellung von dreidimensionalen Strukturen ermöglicht (Wagner und Horn 2017). Das Licht ist in der Lage die Probe zu durchdringen, wodurch ein Tiefenprofil an jedem gescannten Punkt mit einer Gesamtfläche von 6 mm x 4 mm erstellt werden kann. Der austretende Lichtstrahl wird nach Kontakt mit der Probe reflektiert und interferiert anschließend mit einem Referenzlichtstrahl. Durch Aufnahmen des Tiefenprofils der Probe entlang der Z-Achse entsteht eine zweidimensionale Ansicht des Biofilms. Die Anreihung dieser zweidimensionalen Aufnahmen resultiert schließlich in einer 3D-Aufnahme des Biofilms. Die Bilder wurden an festen Positionen am Anfang, in der Mitte und am Ende der Anode aufgenommen, mit Fiji (ImageJ Version 1.53/2.1.0) verarbeitet und im Anschluss das Biofilmvolumen bestimmt (Bauer *et al.* 2019; Hackbarth *et al.* 2020). Die Biofilmporosität wurde durch Subtraktion der mittleren Biofilmhöhe vom bestimmten Biofilmvolumen und anschließender Teilung des Ergebnisses durch die mittlere Biofilmhöhe berechnet.

2.5.5 Metagenomanalyse

Für die metagenomische Analyse des Biofilms wurden die Bioanoden nach dem Experiment entnommen und bei -20 °C gelagert. Zur Extraktion der genomischen DNA wurde ein 1-2 cm² großes Stück aus den Bioanoden herausgeschnitten oder der Biofilm von der Graphitplatte abgekratzt und die DNA mit dem Qiagen DNeasy PowerBiofilm-Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) gemäß den Anweisungen des Herstellers isoliert. Die Gesamtkonzentration und Reinheit der extrahierten DNA wurde mit einem NanoDrop 2000 Spektrophotometer (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) und dem Qubit dsDNA Assay Kit (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) gemessen. Anschließend wurden 400 ng DNA je Probe für das Native Barcoding Kit 24 V14, SQK-NBD114.24 (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, UK) verwendet. Die Sequenzierung erfolgte mit einem MinION Mk1b und einer R10.4.1 Fließzelle unter Verwendung der MinKNOW Software v.22.10.7 (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, UK).

2.6 Modellbildung und Implementierung

Die individuellen Modellstrukturen sowie die zugehörigen Verfahren zur Prozesssimulation und Parameterabschätzung wurden in Matlab (The MathWorks, Inc., USA, Version 2020b) implementiert und durchgeführt. Matlab ist ein Programm zur Berechnung und Simulation von komplexen mathematischen Strukturen, womit mathematische Probleme selbst definierter Modellsysteme auf Grundlage von Matrizenrechnungen gelöst werden können (Stein 2015).

2.6.1 Modell des Biogasprozesses

In dieser Arbeit wurde die Simulation der Biogasproduktion mit dem massenbasierten ADM1 auf Basis von Rübensilage durchgeführt. Der dazu verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage mit einem Reaktorvolumen von 35 L. Im Allgemeinen bildet das ADM1 die Grundlage für die Simulation des Prozesses (Batstone *et al.* 2002; Batstone 2006). In diesem Ansatz werden Modellparameter und Eingangswerte mit der Bezugseinheit des chemischen Sauerstoffbedarfs benötigt. Diese Messgröße erschwert jedoch den praxisnahen Einsatz des Modells, weshalb eine Modellstruktur mit massenbasierter Bezugseinheit von Weinrich und Nelles (2021b) eingeführt wurde. Die in dieser Arbeit verwendete Modellstruktur und die resultierende Petersen-Matrix des massenbasierten ADM1 mit festen stöchiometrischen Bilanzen von Weinrich (2017) sind in den Tabellen 9-11 dargestellt.

Zusammengefasst besteht das massenbasierte Modell aus 19 Prozessen mit 34 Stoffkomponenten und beinhaltet 52 Parameter sowie Differentialgleichungen erster Ordnung (Weinrich und Nelles 2021b). Die Simulation des ADM1 folgt dem Ansatz eines idealen kontinuierlich betriebenen Rührkessels. Eine Änderung der gelösten Komponenten S_i (g L^{-1}) oder der ungelösten Komponenten X_i (g L^{-1}) wurde über eine entsprechende Massenbilanzgleichung berechnet (Gl.15, 16) (Weinrich 2017). Neben der Fest-Flüssigphase wurde ebenfalls die Gasphase bilanziert (Gl.17) (Weinrich 2017).

$$\frac{dS_i}{dt} = \frac{q_{in}}{V_{liq}} \cdot (S_{i,in} - S_i) + \sum_j p_j \cdot v_{i,j} - p_{T,j} \quad \text{Gl.15}$$

$$\frac{dX_i}{dt} = \frac{q_{in}}{V_{liq}} \cdot (X_{i,in} - X_i) + \sum_j p_j \cdot v_{i,j} \quad \text{Gl.16}$$

$$\frac{dS_{gas,i}}{dt} = -\frac{q_{gas}}{V_{gas}} \cdot S_{gas,i} + \frac{V_{liq}}{V_{gas}} \cdot p_{T,j} \quad \text{Gl.17}$$

Hierbei bleibt das Reaktionsvolumen V_{liq} (L) konstant, da der Zulauf q_{in} (L d^{-1}) gleich dem Ablauf in einem kontinuierlich betriebenen Rührkessel bzw. einem Chemostat entspricht. Die kinetische Reaktionsrate und der stöchiometrische Ertragskoeffizient wurden jeweils mit p_j ($\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$) und $v_{i,j}$ (g g^{-1}) dargestellt. Das Volumen in der Gasphase entspricht V_{gas} (L), $p_{T,j}$ steht für die kinetische Transferrate und q_{gas} (L d^{-1}) für den austretenden Volumenstrom des Gases. Im Allgemeinen wurde die kinetische Reaktionsrate aus der Monod-Kinetik der Komponente X_i und einer Inhibierungsfunktion I_i berechnet (Gl.18) (Weinrich 2017).

$$p_j = \mu_{m,i} \cdot \frac{S_i}{K_{S,i} + S_i} \cdot X_i \cdot I_i \quad \text{Gl.18}$$

In einem anaeroben Biogasprozess kann das Wachstum und auch die Produktbildung der Mikroorganismen durch unterschiedliche Komponenten gehemmt werden. Diese Effekte wurden mit einer Inhibierungsfunktion abgebildet. Diese kann sich aus mehreren Funktionen verschiedener Inhibierungsterme zusammensetzen, welche in Tabelle 11 dargestellt sind. In der Regel setzt sich die Funktion aus einer Inhibierungskontante K_I (g L^{-1}) und der Konzentration einer hemmenden Komponente S_I (g L^{-1}) zusammen (Gl.19) (Weinrich 2017).

$$I_i = \frac{K_I}{K_I + S_I} \quad \text{Gl.19}$$

Zusätzlich wurden in dem Modell pH-Inhibierungsfunktionen auf Basis einer Hill-Inhibierungsgleichung $I_{pH,i}$ verwendet (Siegrist *et al.* 2002; Rosen *et al.* 2006), weshalb untere $pH_{LL,i}$ und obere $pH_{UL,i}$ pH-Grenzen des jeweiligen Prozesses definiert wurden (Gl.20, 21) (Weinrich 2017).

$$I_{pH,i} = \frac{K_{pH,i}^{n,i}}{K_{pH,i}^{n,i} + S_{H^+}^{n,i}} \quad \text{Gl.20}$$

$$K_{pH,i} = 10^{-\frac{pH_{UL,i} + pH_{LL,i}}{2}} \quad \text{Gl.21}$$

Die Berechnung des pH-Wertes wurde anhand einer Ionenbilanzierung der Kationen und Anionen sowie der Dissoziationsprodukte der organischen Säuren und der Puffersysteme durchgeführt (Tabelle 11). Allgemein wurden die Dissoziationsprodukte S_i^- (g L^{-1}) durch eine kinetische Dissoziationsrate $k_{AB,i}$ ($\text{L mol}^{-1} \text{d}^{-1}$) und einer Dissoziationskonstante $K_{a,i}$ (mol L^{-1}) der gelösten Komponente S_i (g L^{-1}) berechnet (Gl.22) (Weinrich 2017).

$$p_j = k_{AB,i} \cdot (S_i^- \cdot (K_{a,i} + S_{H^+}) - K_{a,i} \cdot S_i) \quad \text{Gl.22}$$

Der Stoffaustausch zwischen der Flüssig- und Gasphase wurde über das Henry-Gesetz berechnet. Betrachtet wurden die Biogasbestandteile an Methan, Kohlendioxid und Wasserstoff. Der Phasenübergang wurde durch den stoffspezifischen Henry-Koeffizienten bei 38°C , einem Stoffübergangskoeffizienten $k_L a$ (d^{-1}), dem Partialdruck in der Gasphase $p_{gas,i}$ und der Konzentration in der Flüssigphase S_i ermittelt (Gl.23) (Weinrich 2017).

$$p_{T,j} = k_L a \cdot (S_i - K_{H,i} \cdot p_{gas,i}) \quad \text{Gl.23}$$

Der Fluss der Biogaserzeugung q_{gas} (L d^{-1}) wurde aus dem Gesamtdruck p_{gas} (bar) der einzelnen Gase, dem Atmosphärendruck p_{atm} (bar) und einem Rohrreibungskoeffizient k_p ($\text{L bar}^{-1} \text{d}^{-1}$) berechnet (Gl.24) (Thamsiriroj und Murphy 2011; Weinrich 2017).

$$q_{gas} = k_p \cdot (p_{gas} - p_{atm}) \cdot \frac{p_{gas}}{p_{atm}} \quad \text{Gl.24}$$

Standardwerte der Modellparameter des massenbasierten ADM1 mit fester Stöchiometrie sind im Anhang in Tabelle A5 gelistet.

Bei der Integration des Modells der MEZ in das massenbasierte ADM1 wurde die Bilanzierung der simulierten Acetatkonzentration angepasst. Dazu wurde die MEZ als ein Acetatverbraucher angenommen, weshalb das Modell mit einer minimalen Verbrauchsrate von $0,4 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, einer mittleren Rate von $1,2 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und einer maximalen Verbrauchsrate von $2 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ durchgeführt wurde. Diese Aufnahmerate von Acetat für einen anodisch elektroaktiven Biofilm wurde anhand von Versuchs- und Simulationsdaten gewählt (Korth *et al.* 2020; Zarabadi *et al.* 2019; Zhu *et al.* 2013). In den nachfolgenden Tabellen 9 und 10 wurde die Peterson-Matrix angepasst und die MEZ als zusätzlicher Acetatverbraucher in der Bilanzierung eingefügt. Im Gesamtmodell wurde für die Simulation der MEZ die Nernst-Monod-Gleichung genutzt (Marcus *et al.* 2007; Hamelers *et al.* 2011).

Tabelle 9: Modellstruktur des massenbasierten ADM1 mit fester Stöchiometrie und integrierter MEZ (Weinrich 2017).

Komponente i →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Prozessrate
Prozess j ↓	S_{su}	S_{aa}	S_{fa}	S_{va}	S_{bu}	S_{pro}	S_{ac}	S_{h2}	S_{ch4}	S_{IC}	S_{IN}	S_{h2o}	$p_j ↓$
1 Hydrolyse X_{ch}	1,111											-0,1111	$k_{ch}X_{ch}$
2 Hydrolyse X_{pr}		1											$k_{pr}X_{pr}$
3 Hydrolyse X_{li}	0,1348		0,9511							-0,0293		-0,0566	$k_{li}X_{li}$
4 Acidogenese S_{su}	-13,2724				0,9113	2,2734	4,8975	0,3047		4,4571	-0,1506	-0,4211	$\mu_{m,su} \frac{S_{su}}{K_{S,su} + S_{su}} X_{su} I_{su}$
5 Acidogenese S_{aa}		-11,5665		1,8371	2,3289	0,5380	6,1053	0,1230		2,8335	2,1033	-5,3026	$\mu_{m,aa} \frac{S_{aa}}{K_{S,aa} + S_{aa}} X_{aa} I_{aa}$
6 Acidogenese S_{fa}			-8,2136				14,5554	0,8376		-0,7246	-0,1506	-7,3043	$\mu_{m,fa} \frac{S_{fa}}{K_{S,fa} + S_{fa}} X_{fa} I_{fa}$
7 Acetogenese S_{va}				-11,5757		7,9149	6,4459	0,4188		-0,5594	-0,1506	-3,4940	$\mu_{m,va} \frac{S_{va}}{K_{S,va} + S_{va}} \frac{X_{va} S_{va}}{S_{va} + S_{bu}} I_{va}$
8 Acetogenese S_{bu}					-12,9817		16,6347	0,5584		-0,3891	-0,1506	-4,6718	$\mu_{m,bu} \frac{S_{bu}}{K_{S,bu} + S_{bu}} \frac{X_{bu} S_{bu}}{S_{bu} + S_{va}} I_{bu}$
9 Acetogenese S_{pro}						-23,3892	18,1566	1,8392		13,1283	-0,1506	-10,5843	$\mu_{m,pro} \frac{S_{pro}}{K_{S,pro} + S_{pro}} X_{pro} I_{pro}$
10 Methanogenese S_{ac}							-26,5447		6,7367	18,4808	-0,1506	0,4778	$\mu_{m,ac} \frac{S_{ac}}{K_{S,ac} + S_{ac}} X_{ac} I_{ac}$
11 Methanogenese S_{h2}								-2,9703	5,5548	-17,1839	-0,1506	13,7499	$\mu_{m,h2} \frac{S_{h2}}{K_{S,h2} + S_{h2}} X_{h2} I_{h2}$
MEZ							-1						$q_{MEZ,ac}$
12 Zerfall X_{su}													$k_{dec}X_{su}$
13 Zerfall X_{aa}													$k_{dec}X_{aa}$
14 Zerfall X_{fa}													$k_{dec}X_{fa}$
15 Zerfall X_{va}													$k_{dec}X_{va}$
16 Zerfall X_{bu}													$k_{dec}X_{bu}$
17 Zerfall X_{pro}													$k_{dec}X_{pro}$
18 Zerfall X_{ac}													$k_{dec}X_{ac}$
19 Zerfall X_{h2}													$k_{dec}X_{h2}$

Tabelle 10: Modellstruktur des massenbasierten ADM1 mit fester Stöchiometrie und integrierter MEZ (Weinrich 2017).

Komponente $i \rightarrow$	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	Prozessrate
Prozess $j \downarrow$	X_{ch}	X_{pr}	X_{li}	X_{su}	X_{aa}	X_{fa}	X_{va}	X_{bu}	X_{pro}	X_{ac}	X_{h2}	$p_j \downarrow$
1 Hydrolyse X_{ch}	-1											$k_{ch}X_{ch}$
2 Hydrolyse X_{pr}		-1										$k_{pr}X_{pr}$
3 Hydrolyse X_{li}			-1									$k_{li}X_{li}$
4 Acidogenese S_{su}				1								$\mu_{m,su} \frac{S_{su}}{K_{S,su} + S_{su}} X_{su} I_{su}$
5 Acidogenese S_{aa}					1							$\mu_{m,aa} \frac{S_{aa}}{K_{S,aa} + S_{aa}} X_{aa} I_{aa}$
6 Acidogenese S_{fa}						1						$\mu_{m,fa} \frac{S_{fa}}{K_{S,fa} + S_{fa}} X_{fa} I_{fa}$
7 Acetogenese S_{va}							1					$\mu_{m,va} \frac{S_{va}}{K_{S,va} + S_{va}} \frac{X_{va} S_{va}}{S_{va} + S_{bu}} I_{va}$
8 Acetogenese S_{bu}								1				$\mu_{m,bu} \frac{S_{bu}}{K_{S,bu} + S_{bu}} \frac{X_{bu} S_{bu}}{S_{bu} + S_{va}} I_{bu}$
9 Acetogenese S_{pro}									1			$\mu_{m,pro} \frac{S_{pro}}{K_{S,pro} + S_{pro}} X_{pro} I_{pro}$
10 Methanogenese S_{ac}										1		$\mu_{m,ac} \frac{S_{ac}}{K_{S,ac} + S_{ac}} X_{ac} I_{ac}$
11 Methanogenese S_{h2}											1	$\mu_{m,h2} \frac{S_{h2}}{K_{S,h2} + S_{h2}} X_{h2} I_{h2}$
MEZ												$q_{MEZ,ac}$
12 Zerfall X_{su}	0,19	0,77	0,04	-1								$k_{dec}X_{su}$
13 Zerfall X_{aa}	0,19	0,77	0,04		-1							$k_{dec}X_{aa}$
14 Zerfall X_{fa}	0,19	0,77	0,04			-1						$k_{dec}X_{fa}$
15 Zerfall X_{va}	0,19	0,77	0,04				-1					$k_{dec}X_{va}$
16 Zerfall X_{bu}	0,19	0,77	0,04					-1				$k_{dec}X_{bu}$
17 Zerfall X_{pro}	0,19	0,77	0,04						-1			$k_{dec}X_{pro}$
18 Zerfall X_{ac}	0,19	0,77	0,04							-1		$k_{dec}X_{ac}$
19 Zerfall X_{h2}	0,19	0,77	0,04								-1	$k_{dec}X_{h2}$

Tabelle 11: Modellstruktur des massenbasierten ADM1 mit fester Stöchiometrie sowie algebraischer Gleichungen (Weinrich 2017).

Komponente i →	8	9	10	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	Prozessrate
Prozess j ↓	S_{h2}	S_{ch4}	S_{IC}	S_{an^-}	S_{cat^+}	S_{va^-}	S_{bu^-}	S_{pro^-}	S_{ac^-}	S_{hco3^-}	S_{nh3}	$S_{gas,h2}$	$S_{gas,ch4}$	$S_{gas,co2}$	$p_j \downarrow$
20 Dissoziation S_{va}						-1									$k_{AB,va}(S_{va^-}(K_{a,va} + S_{H^+}) - K_{a,va}S_{va})$
21 Dissoziation S_{bu}							-1								$k_{AB,bu}(S_{bu^-}(K_{a,bu} + S_{H^+}) - K_{a,bu}S_{bu})$
22 Dissoziation S_{pro}								-1							$k_{AB,pro}(S_{pro^-}(K_{a,pro} + S_{H^+}) - K_{a,pro}S_{pro})$
23 Dissoziation S_{ac}									-1						$k_{AB,ac}(S_{ac^-}(K_{a,ac} + S_{H^+}) - K_{a,ac}S_{ac})$
24 Dissoziation S_{IC}										-1					$k_{AB,co2}(S_{hco3^-}(K_{a,co2} + S_{H^+}) - K_{a,co2}S_{IC})$
25 Dissoziation S_{IN}											-1				$k_{AB,IN}(S_{nh3^-}(K_{a,IN} + S_{H^+}) - K_{a,IN}S_{IN})$
26 Phasenübergang S_{h2}	-1											$\frac{V_{liq}}{V_{gas}}$			$k_{La}(S_{h2} - 2K_{H,h2}p_{h2})$
27 Phasenübergang S_{ch4}		-1											$\frac{V_{liq}}{V_{gas}}$		$k_{La}(S_{ch4} - 16K_{H,ch4}p_{ch4})$
28 Phasenübergang S_{co2}			-1										$\frac{V_{liq}}{V_{gas}}$		$k_{La}(S_{co2} - 2K_{H,co2}p_{h2})$
Inhibierungsfunktionen											pH-Wert				
$I_{su} = I_{aa} = I_{pH,aa}I_{IN,lim}$	$I_{fa} = I_{h2fa}I_{pH,aa}I_{IN,lim}$			$I_{va} = I_{bu} = I_{pH,aa}I_{IN,lim}I_{h2,c4}$							$S_{nh4^+} = S_{IN} - S_{nh3}$				
$I_{pro} = I_{pH,aa}I_{IN,lim}I_{h2pro}$	$I_{ac} = I_{nh3}I_{pH,ac}I_{IN,lim}$			$I_{h2} = I_{pH,h2}I_{IN,lim}$							$S_{H^+} = -\frac{\Phi}{2} + 0,5\sqrt{\Phi^2 + 4K_w}$				
$I_{IN,lim} = \frac{S_{IN}}{S_{IN} + K_{S,IN}}$	$I_{h2,fa} = \frac{K_{I,h2,fa}}{K_{I,h2,fa} + S_{h2}}$			$I_{h2,c4} = \frac{K_{I,h2,c4}}{K_{I,h2,c4} + S_{h2}}$							$\Phi = S_{cat^+} + \frac{S_{nh4^+}}{17} - \frac{S_{hco3^-}}{44} - \frac{S_{ac^-}}{60} - \frac{S_{pro^-}}{74} - \frac{S_{bu^-}}{88} - \frac{S_{va^-}}{102} - S_{an^-}$				
$I_{h2,pro} = \frac{K_{I,h2,pro}}{K_{I,h2,pro} + S_{h2}}$	$I_{nh3} = \frac{K_{I,nh3}}{K_{I,nh3} + S_{nh3}}$										Gasphase				
$I_{pH,aa} = \frac{K_{pH,aa}^{n_{aa}}}{K_{pH,aa}^{n_{aa}} + S_{H^+}^{n_{aa}}}$	$n_{aa} = \frac{3}{pH_{UL,aa} - pH_{LL,aa}}$			$K_{pH,aa} = 10^{-\frac{pH_{UL,aa} + pH_{LL,aa}}{2}}$							$p_{h2} = S_{gas,h2} \frac{RT}{2}$				
$I_{pH,ac} = \frac{K_{pH,ac}^{n_{ac}}}{K_{pH,ac}^{n_{ac}} + S_{H^+}^{n_{ac}}}$	$n_{ac} = \frac{3}{pH_{UL,ac} - pH_{LL,ac}}$			$K_{pH,ac} = 10^{-\frac{pH_{UL,ac} + pH_{LL,ac}}{2}}$							$p_{ch4} = S_{gas,ch4} \frac{RT}{16}$				
$I_{pH,h2} = \frac{K_{pH,h2}^{n_{h2}}}{K_{pH,h2}^{n_{h2}} + S_{H^+}^{n_{h2}}}$	$n_{h2} = \frac{3}{pH_{UL,h2} - pH_{LL,h2}}$			$K_{pH,h2} = 10^{-\frac{pH_{UL,h2} + pH_{LL,h2}}{2}}$							$p_{co2} = S_{gas,co2} \frac{RT}{44}$				
											$p_{gas} = p_{h2} + p_{ch4} + p_{co2} + p_{h20}$				
											$q_{gas} = k_p \cdot (p_{gas} - p_{atm}) \cdot \frac{p_{gas}}{p_{atm}}$				

2.6.2 Modell der mikrobiellen Elektrolysezelle

Um ein BES in der Ausführung als MEZ mathematisch zu beschreiben, wurde ein vereinfachtes kinetisches Modell verwendet. Es wurden Experimente einer Co-Kultivierungen im 3-Elektroden-Drehscheiben-Reaktor durchgeführt und die Datensätze als Grundlage für das Prozessmodell der MEZ verwendet (Knoll *et al.* 2023). Um diesen Prozess anhand von Polarisationskurven und Potentialänderungen im System darzustellen, wurden die Butler-Volmer-Monod (BVM; Gl.25) und die Nernst-Monod-Gleichung (NM; Gl.26) angewendet und miteinander verglichen (Hamelers *et al.* 2011). Grundlegend bestehen diese Gleichungen aus einem ersten Term, der die Potentialabhängigkeit der Stromdichte beschreibt und dem Monod-Term, der die Abhängigkeit vom Substrat definiert.

$$I = I_{\max} \cdot \left(\frac{1 - e^{-\frac{F}{RT} \cdot \eta}}{K_1 \cdot e^{-(1-\alpha) \frac{F}{RT} \cdot \eta} + K_2 \cdot e^{-\frac{F}{RT} \cdot \eta} + 1} \right) \cdot \left(\frac{S}{\frac{K_M}{K_1 \cdot e^{-(1-\alpha) \frac{F}{RT} \cdot \eta} + K_2 \cdot e^{-\frac{F}{RT} \cdot \eta} + 1} + S} \right) \quad \text{Gl.25}$$

$$I = I_{\max} \cdot \left(\frac{1}{1 + e^{-\frac{F}{RT} (E - E_{KA})}} \right) \cdot \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \quad \text{Gl.26}$$

In der BVM-Gleichung wird die Stromdichte als Funktion des Überpotentials η berechnet, wobei dieses als $E_A - E_{S/P}$ definiert ist (Hamelers *et al.* 2011). Dabei entspricht E_A dem Anodenpotential (V) und $E_{S/P}$ dem Redoxpotential des Substrats (V), wie beispielhaft Acetat. In der NM-Gleichung wird das Anodenpotential mit E dargestellt, wobei E_{KA} für das Potential bei der Hälfte der maximalen Rate steht, wenn $I = 0,5 \cdot I_{\max}$ ist. Dies entspricht einem Potential von -0,155 V gegenüber der Standard-Wasserstoffelektrode (SHE) (Torres *et al.* 2008). Mit F , R und T wurden die Faraday-Konstante (96485 C mol^{-1}), die ideale Gaskonstante ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) und die Temperatur (303 K) miteinbezogen.

Der Wert des Übertragungskoeffizienten α liegt zwischen 0-1, beträgt jedoch typischerweise für die meisten elektrochemischen Reaktionen 0,5 (Maurya *et al.* 2022). Der Parameter K_1 beschreibt den Prozess der Geschwindigkeit der biochemischen Reaktion im Vergleich zur elektrochemischen Reaktion, wohingegen K_2 das Verhältnis der Vorwärts- zur Rückreaktion der Redoxkomponente im BES beschreibt (Hamelers *et al.* 2011). Das Substrat wird mit S dargestellt und die Substrataffinität wird mit K_M und K_S beschrieben. Bei diesem Ansatz ist neben dem Anodenpotential die maximale resultierende Stromdichte I_{\max} ein wesentlicher limitierender Faktor für die Berechnung der Stromdichte I .

2.6.3 Modell der Produktion von Plattformchemikalien

Es wurde ein mathematisches Modell verwendet, um die vom TMI der TUHH zur Verfügung gestellten heterotrophen und autotrophen experimentellen Daten der Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol zu simulieren. Die heterotrophen Experimente wurden im Minimal-Medium 81 von der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) bei 30°C mit 20 mM Fruktose durchgeführt. Die autotrophen Versuche wurden im Minimal-Medium 81 bei 30°C mit einer Gasmischung aus 80 % H₂, 5 % CO₂, 15 % O₂ in einer Gasdichten 1 L Flasche mit einem Flüssigvolumen von 50 mL durchgeführt. In den Versuchsdurchführungen wurden gentechnisch veränderte *C. necator*-Stämme verwendet.

Die Versuchsdaten dienen als Grundlage der Modellvalidierung. Dazu wurden die Modellstrukturen individuell an die Prozessbeobachtungen der jeweiligen Produktionsprozesse der genetisch veränderten *C. necator*-Stämme angepasst. Das Modell bietet eine Struktur, um Zellwachstum unter Verwendung der Monod-Kinetik, der Synthese von Acetoin und 2,3-Butandiol sowie Gleichgewichtsreaktionen und die Aufnahme und Übertragung von Gasen für die autotrophen Prozesse zu bestimmen.

Heterotrophes Prozessmodell

Aus den experimentellen Messwerten der heterotrophen Versuchsdurchführung ging ein Wachstum der Zellen bei einem Verbrauch von Fruktose als Substrat hervor. Zusätzlich wurde die Produktion von zwei Produkten, Acetoin und 2,3-Butandiol nachgewiesen, welche mit dem Zellwachstum und dem verbrauchten Substrat zusammenhing. Nachdem das Substrat fast vollständig aufgebraucht war, konnte eine Abnahme der Zellen sowie eine Rückreaktion von 2,3-Butandiol zu Acetoin festgestellt werden. In einer weiteren experimentellen Durchführung wurde eine Wachstumshemmung ab einer 2,3-Butandiolkonzentration von 10 mM nachgewiesen. Diese Prozessbeobachtungen wurden in einer mathematischen Modellstruktur berücksichtigt und abgebildet.

Das heterotrophe Prozessmodell wurde aus vier Differentialgleichungen (Gl.27, 28, 29, 30) zur Berechnung der Biomasse, der Substrat- und Produktkonzentrationen aufgebaut, welche in acht kinetischen Raten näher beschrieben werden und in Tabelle 12 zusammengefasst sind. Das Modell basiert auf der Monod-Kinetik zur Beschreibung der Wachstumsrate μ (h⁻¹) von Zellen X (g_{zellen} L⁻¹) in Abhängigkeit vom verwendeten Substrat $c_{S,F}$ (g L⁻¹), einschließlich einer Substrataffinitätskonstante $K_{S,F}$ (g L⁻¹) (Gl.31). Um den Effekt der Zellyse in Abhängigkeit der Substratkonzentration darzustellen, wurde ein Ansatz mit einer minimalen und einer maximalen Lyserate mit $\mu_{d,min}$ (h⁻¹) und $\mu_{d,max}$ (h⁻¹) angegeben (Gl.35) (Kern *et al.*

2016). Um eine initiale Verzögerung des Wachstums oder der Produktion zu beschreiben, wurde ein Term als Exponentialfunktion der Zeit t_{lag} (h) (Gl.34, 35) eingefügt (Aehle et al. 2012). Unter Berücksichtigung einer Produktinhibition der Zellen durch Butandiol wurde ein Inhibitionsterm verwendet, der die Wachstumskinetik und Zelllyse über eine Produktinhibitionskonstante $K_{I,B}$ (g L^{-1}) beeinflusst (Gl.32, 36) (Mulchandani und Luong 1989). Die spezifische Aufnahmerate der Zellen von Fruktose $q_{S,F}$ ($\text{g g}_{\text{zellen}}^{-1} \text{h}^{-1}$) wurde durch die Wachstumsrate und einem Ausbeutekoeffizienten der Biomasse aus der Substrataufnahme $Y_{X,F}$ ($\text{g}_{\text{zellen}} \text{g}^{-1}$) beschrieben (Gl.33).

Aus den Ausbeutekoeffizienten der Produktion von Acetoin $Y_{X,A}$ ($\text{g}_{\text{zellen}} \text{g}^{-1}$) und 2,3-Butandiol $Y_{X,B}$ ($\text{g}_{\text{zellen}} \text{g}^{-1}$) wurden die spezifischen Produktionsraten von Acetoin $q_{P,A}$ ($\text{g g}_{\text{zellen}}^{-1} \text{h}^{-1}$) und 2,3-Butandiol $q_{P,B}$ ($\text{g g}_{\text{zellen}}^{-1} \text{h}^{-1}$) berechnet (Gl.34, 37). Dieser Ansatz der spezifischen Produktbildungsraten wurde aus Chmiel *et al.* (2018) entnommen. Eine Rückreaktion von 2,3-Butandiol zu Acetoin wurde im Falle einer Substratlimitierung berücksichtigt, wie sie in den experimentellen Daten beobachtet wurde (Gl.38). Dabei wurde die maximale Aufnahmerate von 2,3-Butandiol als $q_{B,max}$ ($\text{g g}_{\text{zellen}}^{-1} \text{h}^{-1}$) mit einer Affinitätskonstante $K_{P,B}$ (g L^{-1}), einem Ausbeutekoeffizienten von Acetoin aus 2,3-Butandiol $Y_{A,B}$ (g g^{-1}) und in Abhängigkeit der vorliegenden 2,3-Butandiolkonzentration beschrieben. Dieser Ansatz basiert auf einer ähnlichen Struktur wie der Monod-Kinetik.

Tabelle 12: Prozessmodell der heterotrophen Durchführung als Batch.

Differentialgleichungen			
$\frac{dX}{dt} = (\mu - \mu_d) \cdot X$	(27)	$\frac{dc_{P,A}}{dt} = q_{P,A} \cdot X$	(29)
$\frac{dc_{S,F}}{dt} = -q_{S,F} \cdot X$	(28)	$\frac{dc_{P,B}}{dt} = q_{P,B} \cdot X$	(30)
Kinetische Raten			
$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{c_{S,F}}{c_{S,F} + K_{S,F}} \cdot (1 - e^{-\frac{t}{t_{lag}}})$	(31)	$\mu_d = \mu_{d,min} + \mu_{d,max} \cdot \frac{K_{S,F}}{K_{S,F} + c_{S,F}}$	(35)
$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{c_{S,F}}{c_{S,F} + K_{S,F}} \cdot (1 - e^{-\frac{t}{t_{lag}}}) \cdot \frac{K_{I,B}}{K_{I,B} + c_{P,B}}$	(32)	$\mu_d = \mu_{d,min} + \mu_{d,max} \cdot \frac{K_{S,F}}{K_{S,F} + c_{S,F}} \cdot \frac{c_{P,B}}{c_{P,B} + K_{I,B}}$	(36)
$q_{S,F} = \frac{\mu}{Y_{X,F}}$	(33)	$q_{P,B} = \frac{\mu}{Y_{X,B}}$	(37)
$q_{P,A} = \frac{\mu}{Y_{X,A}}$	(34)	$q_{P,AB} = Y_{A,B} \cdot q_{B,max} \cdot \frac{c_{P,B}}{c_{P,B} + K_{P,B}}$	(38)

Autotrophes Prozessmodell

Aus den experimentellen Messwerten der autotrophen Versuchsdurchführung ging eine Abnahme der Zellen über den Versuchszeitraum hervor. Es wurde ein Verbrauch der gasförmigen Substrate, Wasserstoff, Sauerstoff und Kohlendioxid nachgewiesen, was zu einer

Produktbildung von Acetoin und 2,3-Butandiol führte. Nachdem das Kohlendioxid verbraucht war, konnte eine Hin- und Rückreaktion zwischen Acetoin und 2,3-Butandiol festgestellt werden. Sobald zusätzlich Sauerstoff verbraucht war, wurde eine Reaktion von Acetoin zu 2,3-Butandiol beobachtet. Diese Prozessbeobachtungen wurden in einer mathematischen Modellstruktur berücksichtigt und abgebildet.

Das autotrophe Prozessmodell ist in Tabelle 13 zusammengefasst und umfasst neun Differentialgleichungen sowie 15 kinetische Raten, die im Vergleich zum heterotrophen Modellansatz zusätzlich die Aufnahme und den Transfer von Gas-Substraten berücksichtigen. Die Berechnung der Konzentrationen der gelösten Gase CO_2 , O_2 und H_2 als $c_{\text{CO}_2,l}$, $c_{\text{O}_2,l}$, $c_{\text{H}_2,l}$ (mol L^{-1}) (Gl.45, 46, 47) wurden aus der Gasübertragungsrate und der Gasaufnahme über einen Stoffübergangskoeffizienten $k_L a$ (h^{-1}), den Gleichgewichtskonzentrationen $c_{\text{CO}_2}^*$, $c_{\text{O}_2}^*$, $c_{\text{H}_2}^*$ (mol L^{-1}) und unter Berücksichtigung eines Ausbeutekoeffizienten der Biomasse Y_{X,CO_2} , Y_{X,O_2} , Y_{X,H_2} ($\text{g}_{\text{zellen}} \text{mol}^{-1}$) zur Gasaufnahme durchgeführt. Aus diesem Grund wurden die Henry-Konstanten H_{CO_2} , H_{O_2} , H_{H_2} ($\text{mol L}^{-1} \text{atm}^{-1}$) in Abhängigkeit der Temperatur bei 30°C und Atmosphärendruck P (atm) berechnet, um die entsprechenden Gaslöslichkeiten $c_{\text{CO}_2}^*$, $c_{\text{O}_2}^*$, $c_{\text{H}_2}^*$ mit ihren Partialdrücken in der Gasphase $c_{\text{CO}_2,g}$, $c_{\text{O}_2,g}$, $c_{\text{H}_2,g}$ (Gl.59, 60, 61) zu beschreiben (Sander 2023). Die Partialdrücke wurden mit Hilfe des idealen Gasgesetzes aus der Gasübertragungsrate, dem Flüssigkeitsvolumen V_L (L), dem Gasvolumen V_G (L), der idealen Gaskonstante R ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) und der Temperatur T ($303,15 \text{ K}$) berechnet (Gl.42, 43, 44).

Die Wachstumsrate und Zelllyse wurden in Abhängigkeit zu den verfügbaren gelösten Gasen gesetzt, die durch ihre zugehörigen Affinitätskonstanten K_{CO_2} , K_{O_2} , K_{H_2} (mol L^{-1}) beschrieben wurden (Gl.48, 49). Sobald ein Gas verbraucht war, wurden die kinetischen Raten mit weiteren Formeln berechnet (Gl.57, 58), um weiterhin einen Verbrauch der noch verfügbaren Gase bestimmen zu können. Die Hinreaktion von Acetoin zu 2,3-Butandiol wurde durch die maximale Aufnahme von Acetoin $q_{f1,A,max}$ und $q_{f2,A,max}$ ($\text{g g}_{\text{zellen}}^{-1} \text{ h}^{-1}$), die Affinitätskonstanten $K_{f1,A}$ und $K_{f2,A}$ (g L^{-1}), sowie der Ausbeutekoeffizienten $Y_{f1,B,A}$ und $Y_{f2,B,A}$ (g g^{-1}) berechnet (Gl.53, 55, 62, 63). Dahingegen wurde die Rückreaktion von 2,3-Butandiol zu Acetoin über die maximale Aufnahme von 2,3-Butandiol $q_{r,B,max}$ ($\text{g g}_{\text{zellen}}^{-1} \text{ h}^{-1}$), eine Affinitätskonstante $K_{r,B}$ (g L^{-1}) und einem Ausbeutekoeffizienten $Y_{r,A,B}$ (g g^{-1}) beschrieben (Gl.54, 56). Diese Ansätze basieren auf einer ähnlichen Struktur wie der Monod-Kinetik. Nach Bedarf wurden die Differentialgleichungen (Gl.40, 41) mit den spezifischen Ratengleichungen zur Beschreibung der Hin- und Rückreaktionen

(Gl.53, 54, 55, 56, 62, 63) angepasst und als individuelle Modellstruktur für jeden Datensatz durch die verschiedenen Stämme implementiert.

Die Henry-Konstanten der Gase sind bei Temperaturänderungen nicht konstant, weshalb diese im autotrophen Modell für 30°C mit Gleichung 64 berechnet wurden (Sander 2023). Die Referenztemperatur wird mit T^\ominus (298,15 K), die Henry-Konstante der Referenztemperatur mit H_S^\ominus und eine entsprechende Konstante mit B (K) beschrieben (Sander 2023).

$$H_S = H_S^\ominus \cdot \exp\left(B\left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T^\ominus}\right)\right) \quad \text{Gl.64}$$

Tabelle 13: Prozessmodell der autotrophen Durchführung als Batch.

Differentialgleichungen			
$\frac{dX}{dt} = (\mu - \mu_d) \cdot X$	(39)	$\frac{dc_{H_2,g}}{dt} = -k_L a \cdot (c_{H_2}^* - c_{H_2,l}) \cdot \frac{V_L \cdot R \cdot T}{V_G \cdot P}$	(44)
$\frac{dc_{P,A}}{dt} = q_{P,A} \cdot X$	(40)	$\frac{dc_{O_2,l}}{dt} = k_L a \cdot (c_{O_2}^* - c_{O_2,l}) - X \frac{\mu}{Y_{X,O_2}}$	(45)
$\frac{dc_{P,B}}{dt} = q_{P,B} \cdot X$	(41)	$\frac{dc_{CO_2,l}}{dt} = k_L a \cdot (c_{CO_2}^* - c_{CO_2,l}) - X \frac{\mu}{Y_{X,CO_2}}$	(46)
$\frac{dc_{O_2,g}}{dt} = -k_L a \cdot (c_{O_2}^* - c_{O_2,l}) \cdot \frac{V_L \cdot R \cdot T}{V_G \cdot P}$	(42)	$\frac{dc_{H_2,l}}{dt} = k_L a \cdot (c_{H_2}^* - c_{H_2,l}) - X \frac{\mu}{Y_{X,H_2}}$	(47)
$\frac{dc_{CO_2,g}}{dt} = -k_L a \cdot (c_{CO_2}^* - c_{CO_2,l}) \cdot \frac{V_L \cdot R \cdot T}{V_G \cdot P}$	(43)		
Kinetische Raten			
$\mu = \mu_{max} \cdot \frac{c_{O_2,l}}{c_{O_2,l} + K_{O_2}} \cdot \frac{c_{CO_2,l}}{c_{CO_2,l} + K_{CO_2}} \cdot \frac{c_{H_2,l}}{c_{H_2,l} + K_{H_2}}$	(49)	$\mu_{switch} = \mu_{max} \cdot \frac{c_{O_2,l}}{c_{O_2,l} + K_{O_2}} \cdot \frac{c_{H_2,l}}{c_{H_2,l} + K_{H_2}}$	(57)
$\mu_d = \mu_{d,min} + \mu_{d,max} \cdot \frac{c_{O_2,l}}{c_{O_2,l} + K_{O_2}} \cdot \frac{c_{CO_2,l}}{c_{CO_2,l} + K_{CO_2}} \cdot \frac{c_{H_2,l}}{c_{H_2,l} + K_{H_2}}$	(50)	$\mu_{d,switch} = \mu_{d,min} + \mu_{d,max} \cdot \frac{c_{O_2,l}}{c_{O_2,l} + K_{O_2}} \cdot \frac{c_{H_2,l}}{c_{H_2,l} + K_{H_2}}$	(58)
$q_{P,A} = \frac{\mu}{Y_{X,A}}$	(51)	$c_{O_2}^* = c_{O_2,g} \cdot P \cdot H_{O_2}$	(59)
$q_{P,B} = \frac{\mu}{Y_{X,B}}$	(52)	$c_{CO_2}^* = c_{CO_2,g} \cdot P \cdot H_{CO_2}$	(60)
$q_{f1,A} = q_{f1,A,max} \cdot \frac{c_{P,A}}{c_{P,A} + K_{f1,A}}$	(53)	$c_{H_2}^* = c_{H_2,g} \cdot P \cdot H_{H_2}$	(61)
$q_{r,B} = q_{r,B,max} \cdot \frac{c_{P,B}}{c_{P,B} + K_{r,B}}$	(54)	$q_{f2,A} = q_{f2,A,max} \cdot \frac{c_{P,A}}{c_{P,A} + K_{f2,A}}$	(62)
$q_{f1,BA} = Y_{f1,BA} \cdot q_{f1,A}$	(55)	$q_{f2,BA} = Y_{f2,BA} \cdot q_{f2,A}$	(63)
$q_{r,AB} = Y_{r,AB} \cdot q_{r,B}$	(56)		

2.6.4 Parameteridentifikation

Verfahren der numerischen Identifikation von Modellparametern ermöglichen es, ein individuelles Prozessverhalten sowie einen Verlauf von Messgrößen realitätsnah anhand der aufgestellten Modellstrukturen darzustellen. Das Verfahren der Modellparameteranpassung benötigt als Grundlage einen experimentellen Datensatz. Dazu wurden im ersten Schritt der Simulationsdurchführung die Anfangswerte des Modelleingangs sowie Startwerte der

unbekannten Prozessparameter festgelegt. Im Anschluss konnte die Simulation zum Lösen der Differentialgleichungen der Modellstruktur durchgeführt werden. Hierbei wurde in jedem Iterationsschritt die Abweichung zwischen den Messwerten und den Simulationsergebnissen bestimmt, mittels einer Zielfunktion zusammengefasst und bewertet. Die gesuchten Modellparameter wurden in diesem numerischen Optimierungsverfahren schrittweise angepasst, um eine möglichst geringe Abweichung des Modells von den experimentellen Messgrößen zu erreichen.

Zusätzlich konnte eine Monte-Carlo basierte Unsicherheitsanalyse der Parameteranpassung durchgeführt werden, um Veränderungen in der Parameterverteilung zu bestimmen (Arndt *et al.* 2021; Moser *et al.* 2021). Um die Parameter optimal anzupassen und die Modellabweichung effektiv zu minimieren, ist es wichtig, die richtige Zielfunktion zu wählen, die Startwerte der Prozessparameter sorgfältig zu bestimmen und das Optimierungsverfahren der Modellstruktur zu berücksichtigen oder anzupassen. Eine Übersicht des allgemeinen Ablaufs der Herangehensweise wurde in Abbildung 12 dargestellt.

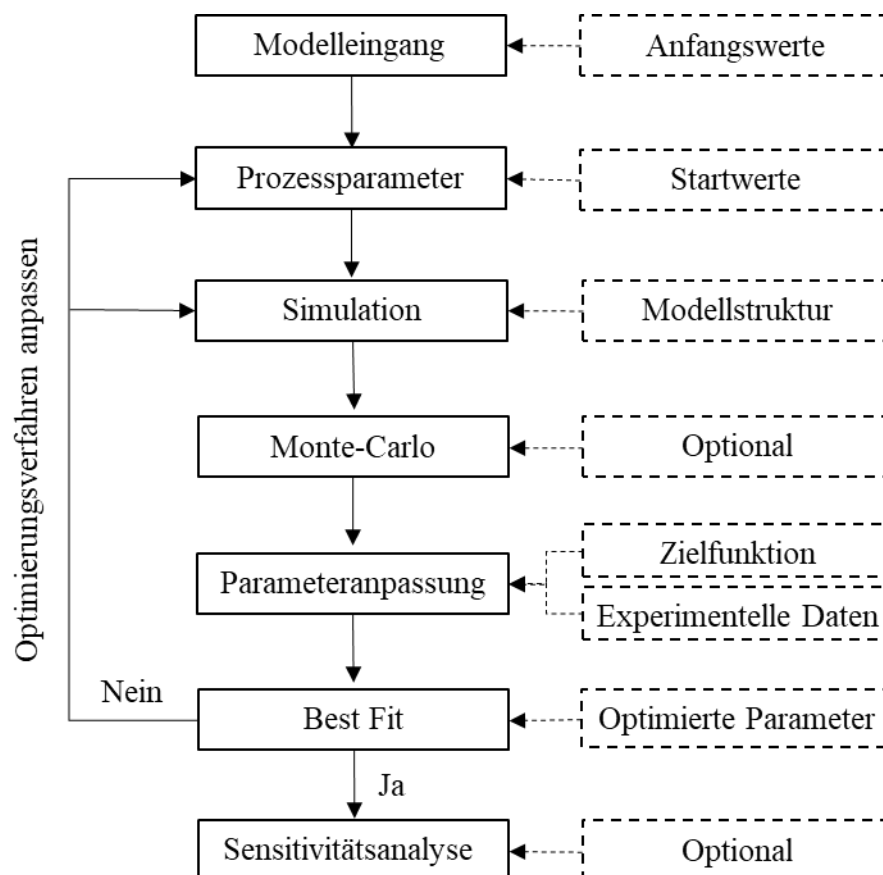


Abbildung 12: Herangehensweise bei der Parameteranpassung mittels experimenteller Daten der implementierten Modellvarianten in Matlab.

Numerische Lösung von Differentialgleichungen

Das Lösen von gewöhnlichen Differentialgleichungen erster Ordnung basiert auf numerischen Verfahren durch eine näherungsweise Berechnung der gesuchten Lösung (Shampine und Reichelt 1997). Die Berechnung erfolgt über die Integration eines vorgegebenen Zeitintervalls und einer gegebenen Anfangsbedingung der Startwerte (Schweizer 2013). Bei jedem Schritt wendet der Löser einen bestimmten Algorithmus auf die Ergebnisse der vorherigen Schritte an, wobei im ersten Schritt die Anfangsbedingung die notwendigen Informationen liefert, um die Integration voranzutreiben.

In dieser Arbeit wurde ausschließlich der numerische Löser *ode15s* in Matlab genutzt. Dieser Löser basiert auf einem Mehrschrittverfahren variabler Ordnung von 1 bis 5 und verwendet ein numerisches Differenzierungsverfahren (Shampine und Reichelt 1997). Dieser eignet sich vor allem für die Berechnung von steifen Differentialgleichungen, wenn alternative Löser ineffizient funktionieren (Schweizer 2013).

Optimierungsverfahren der Modellparameter

Das Prinzip eines Optimierungsverfahren in Matlab beruht auf der Anwendung von numerischen Optimierungsalgorithmen, um die Werte von Variablen zu optimieren. Dies geschieht auf der Grundlage der zuvor gewählten und definierten Zielfunktion, die maximiert oder minimiert werden soll. Zusätzlich können Nebenbedingungen in Form von Grenzwerten der Parameter vorgegeben werden. In diesem Verfahren wird das lokale Optimum in der nahen Umgebung der entsprechenden Startwerte oder innerhalb eines definierten Wertebereichs identifiziert (Walters *et al.* 1991).

In Matlab kann zwischen verschiedenen Optimierungsalgorithmen gewählt werden. Für das Modell des Biogasprozesses wurde die iterative Optimierungsmethode *fminsearch* benutzt. Diese Funktion sucht ohne Nebenbedingungen nach dem Minimum eines nichtlinearen Optimierungsproblems und basiert auf einem Simplexverfahren nach der Nelder-Mead Methode (Nelder und Mead 1965; Lagarias *et al.* 1998). Diese Funktion wurde aufgrund ihrer vergleichsweise einfachen Anwendbarkeit zur Parameteranpassung der komplexen Modellstruktur des Biogasprozesses verwendet.

Das Modell der Produktion von Plattformchemikalien wurde mit der Optimierungsmethode *fmincon* berechnet. Diese Funktion sucht iterativ nach dem Minimum eines nichtlinearen Optimierungsproblems auch unter Erfüllung von definierten Nebenbedingungen. Dazu verwendet der Algorithmus das Innen-Punkt-Verfahren (Byrd *et al.* 1999; Byrd *et al.* 2000). Bei der Verwendung der Funktion *fminsearch* kann es unter Umständen zu negativen Werten

der Parameteranpassung an mehrere Messgrößen kommen. Um dies zu verhindern, wurde als Optimierungsmethode *fmincon* gewählt und Grenzwerte der Parameter festgelegt.

In dem Modell der MEZ wurde die Optimierungsmethode *lsqnonlin* angewendet. Dieser Algorithmus basiert auf dem Trust-Region-Reflektionsverfahren und minimiert die quadratische Summe zwischen den beobachteten und den modellierten Daten auch unter Erfüllung gegebener Nebenbedingungen (Coleman und Li 1994; Coleman und Li 1996). Dieser eignet sich vor allem für die Bestimmung von nichtlinearen Optimierungsproblemen. Diese Funktion ließ sich vergleichsweise einfach für die Parameteranpassung einer Messgröße unter Verwendung von Grenzwerten etablieren.

Zielfunktion

Die Zielfunktion in einer Modellierung hat die grundlegende Bedeutung, die Gesamtleistung oder Qualität des Modells zu bewerten (Donoso-Bravo *et al.* 2011). Sie dient als Kriterium, welches optimiert oder minimiert werden soll, um das Modell an die vorliegenden Daten oder Bedingungen anzupassen. Als Zielfunktion J_{ob} wurde die Minimierung und Berechnung der Fehlerquadratsumme zwischen den simulierten Werten y_s und den experimentellen Daten y_i definiert (Gl.62).

$$J_{ob} = \sum_{i=1}^n |(y_s - y_i)^2| \quad \text{Gl.62}$$

Die Berechnung der Zielfunktion kann zusätzlich durch parameterspezifische Gewichte w_i ergänzt werden. Dadurch kann der Einfluss von verschiedenen Wertebereichen der Messgrößen bei der Parameteranpassung berücksichtigt werden (Donoso-Bravo *et al.* 2011). Gewichtungsfaktoren wurden hinzugefügt, um experimentelle Messgrößen wie Biomasse, Substrat- oder Produktkonzentrationen an das Modell anzupassen (Gl.63).

$$J_{ob} = \sum_{i=1}^n w_i |(y_s - y_i)^2| \quad \text{Gl.63}$$

Um das Ergebnis der Modellanpassung bewerten zu können, wurde das Bestimmtheitsmaß R^2 verwendet. Dieses Gütekriterium wird aus dem Restwert von 1 minus dem Verhältnis der quadrierten Differenzen zwischen den experimentellen Daten y_i und den simulierten Daten y_s sowie den quadrierten Differenzen zwischen den experimentellen Daten und dem Mittelwert der experimentellen Daten \bar{y}_i berechnet (Nash und Sutcliffe 1970; Arndt *et al.* 2021). Bei

einem Bestimmtheitsmaß von 1 entsprechen die simulierten Daten einer vollständigen Übereinstimmung mit den gemessenen experimentellen Daten (Moser *et al.* 2021). Ein Wert von 0 bedeutet, dass die Modellvorhersagen dem Mittelwert der beobachteten Daten entsprechen, wohingegen ein negativer Wert auftritt, wenn das Modell schlechter als der beobachtete Mittelwert ist (Mozumder *et al.* 2014).

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - y_s)^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y}_i)^2} \quad \text{Gl.64}$$

Monte-Carlo basierte Unsicherheitsanalyse

Zur Erstellung einer Unsicherheitsanalyse und der Darstellung der modellparametrischen Unsicherheit der Prozessvariabilität wurden Unsicherheitsbänder bestimmt (Loucks und van Beek 2017). Die Gesamtheit der möglichen Ergebnisse und die zugehörigen Eintrittswahrscheinlichkeiten wurden in 1000 Simulationen betrachtet. Dabei wurden Modell-Eingangswerte mit einer normalverteilten Standardabweichung von 5 % versehen, wobei die Funktion *prctile* in Matlab verwendet wurde, um den Mittelwert sowie die 10 %- und 90 %-Quantile jeder Modellparameterverteilung zu berechnen.

Sensitivitätsanalyse

Das Ziel der Sensitivitätsanalyse ist es zu beschreiben, wie groß der Einfluss von Änderungen der Modelleingabewerte auf die Ausgabewerte des Modells ist (Loucks und van Beek 2017). Es handelt sich somit um die Untersuchung der Gewichtung von Ungenauigkeiten bzw. Unsicherheiten bei der Modellierung. Dazu wurde ein Modellparameter in 1000 Simulationen mit einer normalverteilten Standardabweichung von 20 % variiert, während die anderen Parameter als konstant betrachtet wurden. Durch die Variation der Wahrscheinlichkeitsverteilungen der Eingaben konnte die Sensitivität dieser Verteilungen auf die Ausgabeverteilungen bestimmt werden (Loucks und van Beek 2017). Dazu wurden die Veränderung und die relative Breite der Parameter- (ΔP) und Ausgabeverteilung (Q) im 80 %-Intervall bezogen auf den gemittelten Parameterwert (P_0) betrachtet. Ein Parameter wurde bei einem Wert von 5 % als Sensitiv (S_{PQ}) eingestuft und mit Gleichung 65 berechnet.

$$S_{PQ} = \frac{Q(P_0 + \Delta P) - Q(P_0 - \Delta P)}{2\Delta P} \quad \text{Gl.65}$$

2.6.5 Substratcharakterisierung für das Biogas-Modell

Für die Anwendung des Modells des anaeroben Abbauprozesses ist es notwendig, die benötigten Eingangswerte auf Basis des dazugegebenen Substrates zu bestimmen. Schließlich können die Eigenschaften des eingesetzten Substrates einen erheblichen Einfluss auf die Modellrechnung ausüben, weshalb eine Substratcharakterisierung zur Bestimmung des Modelleingangs wichtig ist. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.

Die Charakterisierung erfolgte auf der Grundlage der Methodik von Weinrich und Nelles (2021a). Von Bedeutung sind hierbei fermentierbare Nährstoffklassen bzw. die Konzentrationen der partikulären Bestandteile von Kohlenhydraten x_{ch} , Proteinen x_{pr} , und Fetten x_{li} (g L^{-1}). Diese wurden nach den Gleichungen 66-68 bestimmt (Weinrich *et al.* 2021).

$$x_{ch} = TS \cdot DXC \cdot \rho_{FM} \cdot 10^{-2} \quad \text{Gl.66}$$

$$x_{pr} = TS \cdot DXP \cdot \rho_{FM} \cdot 10^{-2} \quad \text{Gl.67}$$

$$x_{li} = TS \cdot DXL \cdot \rho_{FM} \cdot 10^{-2} \quad \text{Gl.68}$$

Die Berechnung erfolgte über einen aus dem bereitgestellten Datensatz gemessenen Gesamtfeststoffgehalt TS (%) des gefütterten Substrats, den verdaubaren Kohlenhydraten DXC , Proteinen DXP und Fetten DXL (g kg^{-1} TS) sowie einer Dichte der Frischmasse ρ_{FM} mit 1 kg L^{-1} (Weinrich *et al.* 2021). Die verdaubaren Nährstoffe wurden mittels Literaturangaben von bereits charakterisierter Rübensilage bestimmt (Weinrich und Nelles 2015; Weinrich und Nelles 2021a). Die zusätzlich für den Modelleingang benötigten Werte für gelösten Stickstoff S_{IN} , Acetat S_{ac} , Propionat S_{pro} , Butyrat S_{bu} , Valerat S_{va} (g L^{-1}) sowie Kationen S_{cat+} und Anionen S_{an-} (mol L^{-1}) wurden ebenfalls aus Literaturangaben übernommen (Weinrich und Nelles 2015; Weinrich *et al.* 2021; Weinrich 2017).

3. Ergebnisse

Es wurde die energetische und stoffliche Nutzung von biobasierten Abfällen wie Rübensilage und Urin anhand von zwei verschiedenen Prozessausführungen untersucht. Dazu wurde die Verwendung einer MEZ mit einer definierten Co-Kultur aus *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in Kombination mit den biologischen Abbauprozessen einer Biogasanlage für eine flexible Biogas- und Wasserstoffherzeugung in einem mathematischen Prozessmodell betrachtet. Hierzu sollte eine Elektrodenregelung für unterschiedliche Anodenpotentiale und damit eine Steuerung der Biogas- und Wasserstoffproduktion etabliert werden. Der anfallende Wasserstoff und das Kohlendioxid könnten anschließend in Plattformchemikalien überführt werden, wofür ein autotrophes Prozessmodell entworfen wurde. Die beteiligten Prozesse MEZ, Biogaserzeugung und autotrophe Produktion wurden in drei separaten Prozessmodellen betrachtet, validiert und in einem Gesamtmodell demonstriert. Zusätzlich sollte untersucht werden, ob Urin als Substratquelle in einer MEZ mit einer definierten Co-Kultur verwendet werden kann.

3.1 Energetische und stoffliche Nutzung einer flexiblen Biogasproduktion

In diesem Abschnitt wird der Prozess einer flexiblen Biogasproduktion aus Rübensilage zur energetischen und stofflichen Nutzung in einem mathematischen Prozessmodell betrachtet. Durch die Integration einer MEZ in den Biogasprozess soll dieser stabilisiert werden und eine Steuerung des Elektronenflusses je nach Bedarf hin zur Wasserstoffproduktion oder zur Biogaserzeugung ermöglichen. Die entstehenden Gase der anaeroben Gärung und des MEZ-Prozesses können dann in einem autotrophen Prozess in eine Wertchemikalie überführt werden. Dazu wurden die einzelnen Prozesse in drei separaten Prozessmodellen validiert und im Anschluss in einem Gesamtmodell dargestellt, wie in Abbildung 13 gezeigt wird.

Zu Beginn wurde das mathematische Prozessmodell der MEZ entworfen und die Steuerung des Elektronenflusses untersucht. Darauf folgend wurde das Modell der Biogaserzeugung auf Basis von Rübensilage betrachtet und validiert. Es wurde danach die Produktion von Plattformchemikalien sowohl heterotroph als auch autotroph in verschiedenen Prozessmodellen simuliert. Abschließend wurde die Kombination der MEZ mit dem Biogasprozess gezeigt und simuliert.

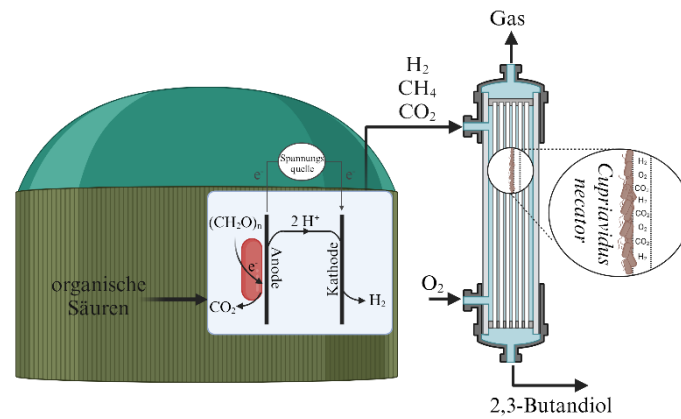


Abbildung 13: Darstellung des Prozesses einer flexiblen Biogasproduktion. Der Biogasprozess wird mit einer MEZ kombiniert, wodurch mithilfe einer Elektrodenregelung die Biogas- und Wasserstoffproduktion gesteuert werden können. Der entstehende Wasserstoff und das Kohlendioxid können im Anschluss in einem autotrophen Prozess mit einem angepassten Mikroorganismus in Plattformchemikalien umgewandelt werden. Erstellt mit BioRender.com.

3.1.1 Prozessmodell der mikrobiellen Elektrolysezelle

In einem 3-Elektroden-Drehscheiben-Reaktor, welcher in Abschnitt 2.3.3 beschrieben ist, wurden Versuche einer Co-Kultur aus *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* durchgeführt und als Grundlage zur Validierung des Prozessmodells der MEZ genommen (Abbildung 14). Zu Beginn wurde in einer linearen Sweep-Voltammetrie der Einfluss verschiedener angelegter Potentiale auf die Mikroorganismen und der damit verbundenen Stromdichte untersucht. Danach wurde die Robustheit des Systems getestet, indem der Elektronenfluss durch eine Variation des Potentials manipuliert wurde. Abschließend wurde mit dem entworfenen Prozessmodell eine zu erwartende Stromdichte bei einem bestimmten Potential vorhergesagt (Knoll *et al.* 2023).

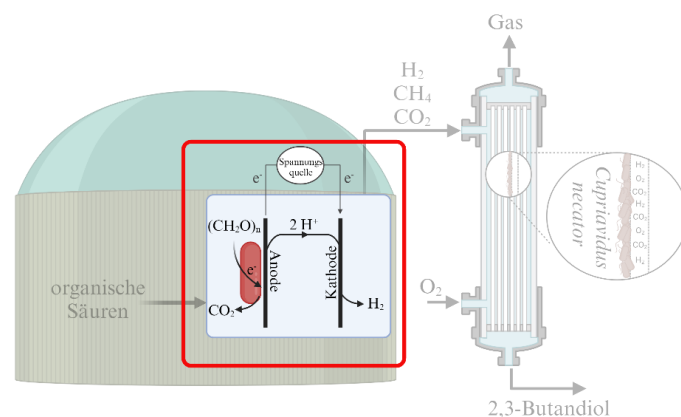


Abbildung 14: Betrachtung und Modellbildung der MEZ zur Entwicklung einer Elektrodenregelung in einem separaten Prozessmodell, welches für den Prozess einer flexiblen Biogaserzeugung eingesetzt werden kann. Erstellt mit BioRender.com.

Nach einer anfänglichen Wachstumsphase wurde eine lineare Sweep-Voltammetrie durchgeführt. Dabei wurde das angelegte Anodenpotential von 0,24 V gegen eine SHE in Schritten von $0,25 \text{ mV s}^{-1}$ auf $-0,26 \text{ V}$ gesenkt (Sweep down) und anschließend mit derselben Schrittweite erhöht (Sweep up) und dabei die Stromdichte gemessen, welche in Abbildung 15 dargestellt sind.

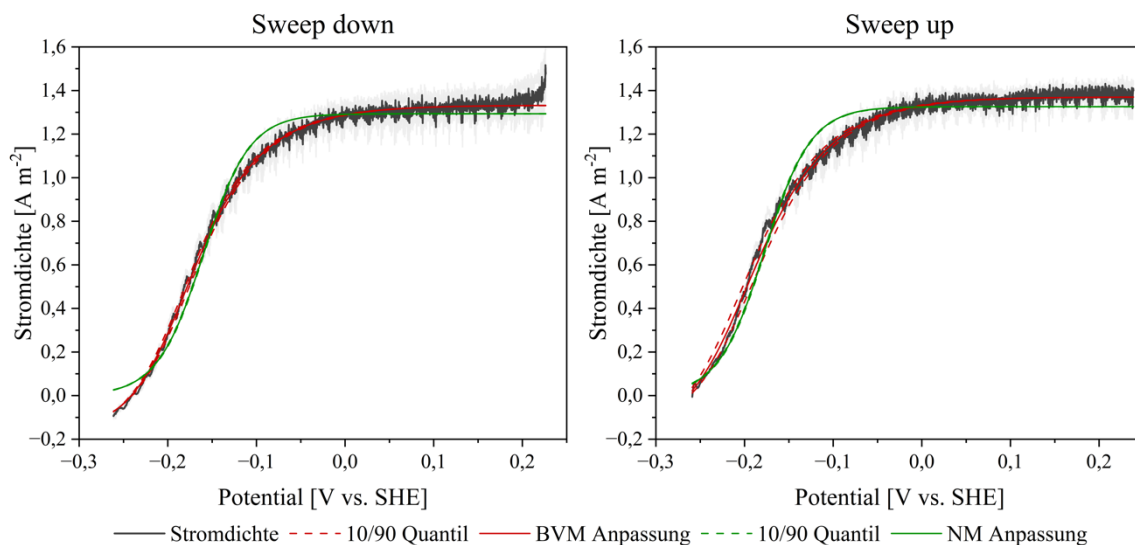


Abbildung 15: Die gemessene Stromdichte in Korrelation zu verschiedenen Anodenpotentialen bei der Durchführung einer linearen Sweep-Voltammetrie mit einer Schrittrate von $0,25 \text{ mV s}^{-1}$. Dazu sind die Modellanpassungen des Butler-Volmer-Monod (rot) und des Nernst-Monod-Modells (grün) zur Beschreibung der experimentellen Messwerte dargestellt (Knoll *et al.* 2023). Die gestrichelten Linien stellen die 10 % und 90 % Quantile der Simulation dar.

Bei der Verringerung des Potentials wurde bei einem Potential von $-0,24 \text{ V}$ eine Stromdichte von 0 A m^{-2} gemessen und folglich als ein Elektronenfluss von 0 % der Mikroorganismen zur Anode betrachtet. Beim linearen Sweep mit steigendem Potential wurde eine geringfügige Abweichung zu einem etwas negativeren Wert gemessen, welcher bei $-0,26 \text{ V}$ lag. Aus den resultierenden Messkurven der linearen Sweep-Voltammetrie wurde das BVM-Modell und das NM-Modell angewendet und angepasst. Beide Modelle sind in der Lage, die Messwerte der Stromdichten der Polarisationskurven für einen linearen Sweep mit steigendem oder sinkendem Potential passend zu beschreiben. Im direkten Vergleich zeigte das BVM-Modell insgesamt eine bessere Annäherung zur Berechnung der Stromdichten als das NM-Modell. Das Bestimmtheitsmaß für den Sweep down betrug für das NM-Modell 0,98 und für das BVM-Modell 0,99.

Im Anhang in Abbildung A4 ist die Anpassungsgüte der linearen Sweep-Voltammetrie zwischen simulierten Werten und Messwerten dargestellt. Die für die Modelle angepassten Parameter und erzielten Bestimmtheitsmaße sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Eine

Sensitivitätsanalyse der einzelnen Parameter auf das Ergebnis der simulierten Stromdichte im Bereich der Plateauphase zeigte eine hohe Sensitivität von 68,7 %-79,9 % der Parameter der maximalen Stromdichten in den Modellen. Im Vergleich dazu konnten alle weiteren Parameter bis auf α mit nur 3,5 %-3,8 % ebenfalls als sensitiv auf das Resultat der simulierten Stromdichte der Polarisationskurven eingestuft werden. Eine Übersicht der Werte der Sensitivitätsanalyse findet sich im Anhang in Tabelle A3.

Tabelle 14: Parameter der Anpassung der Messwerte der linearen Sweep-Voltammetrie mit dem BVM und dem NM-Modell (Knoll *et al.* 2023).

Anpassung	I_{\max} [A m ⁻²]	α	E_{SP} / E_{KA} [V]	K_1	K_2	R^2
<u>BVM</u>						
Sweep down	1,338	0,55	-0,241	2,13	7,98	0,99
Sweep up	1,376	0,55	-0,264	2,81	8,34	0,99
<u>NM</u>						
Sweep down	1,299	--	-0,160	--	--	0,98
Sweep up	1,332	--	-0,177	--	--	0,97

Die Stromdichten und der daraus resultierende Elektronenfluss der MEZ sind direkt mit dem angelegten Potential verbunden. Als Grundsatzbeweis wurden die Stromdichten auf 20 % und 50 % des zuvor bestimmten Elektronenflusses gesenkt, indem die zugehörigen Anodenpotentiale angelegt wurden, welche in Bezug zu einer stabilen Stromdichte von 1,2 A m⁻² bei 0,2 V als 100 % Elektronenfluss des Systems gestellt wurden. Die dazu angelegten Potentiale von -0,2 V und -0,17 V für 20 % und 50 % der Stromdichte wurden aus dem Datensatz der linearen Sweep-Voltammetrie entnommen und jeweils für Zeiträume von 2, 4 und 8 h angelegt und von einem 8 h Intervall bei 100 % des Elektronenflusses unterbrochen. Diese resultierenden Verläufe sind in Abbildung 16 dargestellt. Im Verlauf der Stromdichte bei 20 % des Elektronenflusses betrug die durchschnittliche Stromdichte 0,5 A m⁻². Dahingegen lag diese bei einem Elektronenfluss von 50 % bei 0,75 A m⁻². Außerdem dauerte es etwa 1,5 h, bis sich die gemessenen Stromdichten bei den reduzierten Anodenpotentialen stabilisierten, wohingegen eine stabile Stromdichte bei 100 % Elektronenfluss ohne Anpassungszeit beobachtet wurde. Die experimentellen Daten und Beobachtungen bezüglich des angelegten Potentials und die resultierenden Stromdichten wurden mit beiden Modellansätzen beschrieben und ausgewertet.

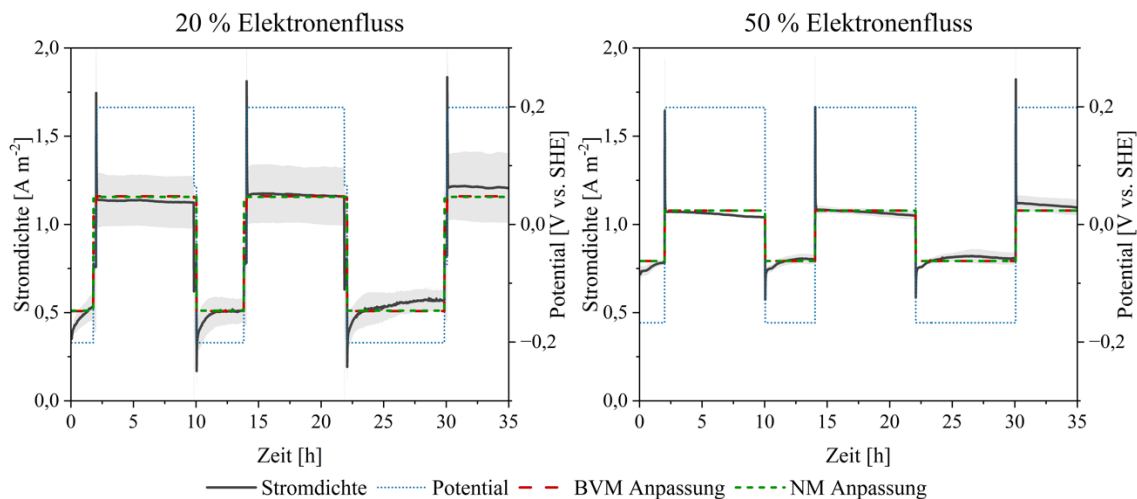


Abbildung 16: Einfluss von Potentialveränderungen auf die Leistung des Elektronenflusses bei 20 % und 50 % (Knoll *et al.* 2023). Die Anpassung der Stromdichten bei unterschiedlichen Potentialen erfolgte mit dem BVM (rot) und dem NM-Modell (grün). Die Potentiale für 20 % und 50 % Elektronenfluss wurden für 2, 4 und 8 h angelegt und mit einem 8 h Intervall bei 100 % Elektronenfluss getrennt. In Hellgrau ist die Standardabweichung der Stromdichten dargestellt.

Die Anwendung des BVM und des NM-Modells zeigte eine passende Annäherung und Beschreibung der experimentellen Daten bei niedrigen und höher angelegten Anodenpotentialen. Im BVM-Modell wurde eine Stromdichte von $0,50 \text{ A m}^{-2}$ für 20 % des Elektronenflusses und $1,16 \text{ A m}^{-2}$ für 100 % des Elektronenflusses simuliert. Dahingegen wurden im Verlauf bei 50 % und 100 % des Elektronenflusses Stromdichten von $0,79 \text{ A m}^{-2}$ und $1,08 \text{ A m}^{-2}$ berechnet. Mit dem NM-Modell konnte eine Stromdichte von $0,51 \text{ A m}^{-2}$ bei 20 % und $1,15 \text{ A m}^{-2}$ bei 100 % des Elektronenflusses simuliert werden. Im Verlauf wurden bei 50 % und 100 % des Elektronenflusses Stromdichten von $0,79 \text{ A m}^{-2}$ und $1,08 \text{ A m}^{-2}$ und damit vergleichbar zum BVM-Modell berechnet. Allerdings stellte sich in den Simulationen direkt nach einer Potentialänderung eine konstante Stromdichte ein und konnte die Anpassungsphase der Zellen bei reduzierten Potentialen nicht beschreiben. Im Anhang in Abbildung A4 ist die Anpassungsgüte der Potentialwechsel zwischen simulierten Werten und Messwerten dargestellt. Es zeigte sich, dass beide Modelle mit R^2 -Werten von 0,93-0,94 zur Bestimmung der Stromdichte bei Potentialänderungen geeignet sind. Bei der Parameteranpassung wurden durch eine individuelle Anpassung der Prozessmodelle an die einzelnen Messwertsätze unterschiedliche Werte für die Parameter bestimmt. Auffällig sind die in der Simulation mit steigendem Potential größer werdenden Terme der Substrataffinitätskonstanten (Tabelle 15). Eine Übersicht der angepassten Parameter der maximalen Stromdichte I_{max} , dem Transferkoeffizienten α , dem Redoxpotential von Acetat E_{SP} , dem Potential bei halb maximaler Stromdichte E_{KA} , den Konstanten K_1 und K_2 und der Substrataffinität K_M bzw. K_S der Simulationen sind ebenfalls in Tabelle 16 aufgelistet. Aus

einer Sensitivitätsanalyse der Parameter auf das Ergebnis der simulierten Stromdichten im Bereich des Elektronenflusses von 100 % ergab sich eine Sensitivität von 54,1 % -62 % der Parameter für die maximalen Stromdichten in den Modellgleichungen. Die weiteren Parameter wurden als nicht sensitiv auf das Ergebnis der Stromdichte bei den Potentialänderung eingestuft. Die Werte der Sensitivitätsanalyse sind im Anhang in Tabelle A3 zusammengefasst.

Tabelle 15: Parameter der Anpassung der Messwerte bei Potentialwechsel zu 20 % und 50 % Elektronenfluss mit dem BVM und dem NM-Modell.

Anpassung	I_{\max} [A m^{-2}]	α	$E_{\text{SP}}/E_{\text{KA}}$ [V]	K_1	K_2	K_M/K_S [mM]	R^2
<u>BVM</u>							
20 %	1,164	0,55	-0,282	3,00	8,45	0,08	0,94
50 %	1,084	0,45	-0,284	1,46	18,0	0,11	0,94
<u>NM</u>							
20 %	1,160	--	-0,197	--	--	0,08	0,93
50 %	1,083	--	-0,195	--	--	0,09	0,94

Die aus den Simulationen resultierenden Parameteranpassungen wurden genutzt, um die Stromdichte bei möglichen Änderungen der angelegten Potentiale zu bestimmen. Dazu wurde gemäß Abbildung 17 die Stromdichte bei einem Elektronenfluss von 35 % mit dem BVM-Modell bei Potentialen von -0,189 V und 0,2 V berechnet. Anschließend wurden die Simulationsergebnisse mit den experimentellen Messwerten der Stromdichten bei 20 % und 50 % Elektronenfluss verglichen.

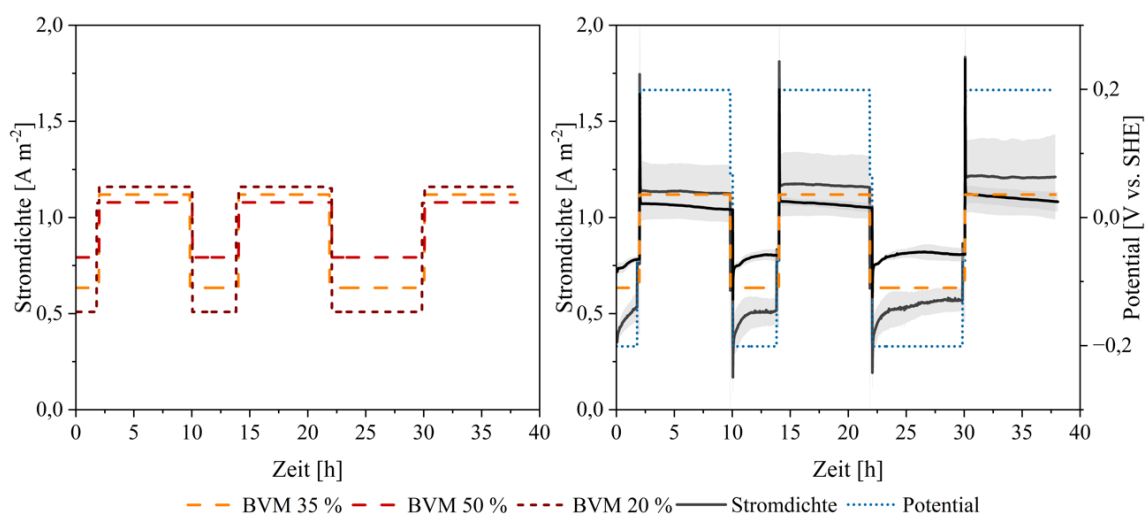


Abbildung 17: Simulation der Stromdichte bei 35 % Elektronenfluss unter Verwendung des BVM-Modells im Vergleich zu den simulierten Daten (links) und den experimentellen Messwerten (rechts) bei Potentialänderung zu 20 % und 50 % des Elektronenflusses (Knoll *et al.* 2023).

Die Stromdichte für 35 % Elektronenfluss betrug $0,63 \text{ A m}^{-2}$ und $1,12 \text{ A m}^{-2}$ für 100 % des Elektronenflusses. Damit entsprachen die Stromdichten annähernd den zu erwartenden Mittelwerten der Stromdichten zwischen den Messwerten bei 20 % und 50 % des Elektronenflusses. Außerdem wurden die berechneten Stromdichten mit den zuvor simulierten Stromdichten verglichen und zeigten ebenfalls eine mittige Einordnung. Die für die Simulation verwendeten Parameter wurden aus dem Durchschnitt der angepassten Parameter des BVM-Modells und des NM-Modells für 20 % und 50 % des Elektronenflusses berechnet und sind in Tabelle 16 aufgeführt.

Tabelle 16: Angepasste Parameter für das BVM-Modell anhand der simulierten Ergebnisse bei 20 % und 50 % des Elektronenflusses zur Bestimmung von Stromdichten bei Änderungen des Potentials.

Anpassung	$I_{\max} [\text{A m}^{-2}]$	α	$E_{SP} / E_{KA} [\text{V}]$	K_1	K_2	$K_M / K_S [\text{mM}]$
BVM	1,124	0,50	-0,283	2,23	13,2	0,096
NM	1,122	-	-0,196	-	-	0,090

3.1.2 Prozessmodell der Biogasproduktion

Um ein Prozessmodell einer flexiblen Biogasproduktion mit der Integration einer MEZ beschreiben zu können, muss zunächst der anaerobe Abbauprozess abgebildet werden (Abbildung 18). Zur Simulation und Beschreibung des anaeroben Abbauprozesses wurde das in Abschnitt 2.6.1 beschriebene massenbasierte ADM1 mit fester Stöchiometrie als mathematisches Prozessmodell verwendet.

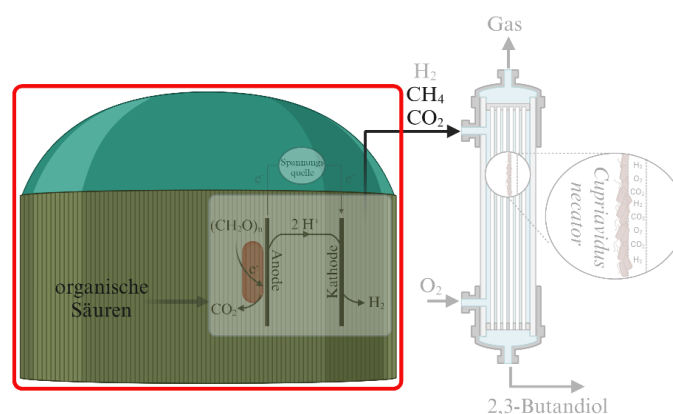


Abbildung 18: Simulation und Beschreibung der Biogaszeugung in einem separaten Prozessmodell auf Basis von Rübensilage. Das Biogasmodell diente als Grundlage für die Beschreibung des Gesamtmodells einer flexiblen Biogasproduktion mit einer integrierten MEZ. Erstellt mit BioRender.com.

Damit soll eine Simulation des erzeugten Biogases sowie der anfallenden organischen Säuren in den charakteristischen Abbaustufen des Biogasprozesses ermöglicht werden. Der dazu verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf

Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage. Die experimentellen Daten wurden zur Validierung und zur Parameteranpassung des Modells genutzt. Zusätzlich wurde das angepasste Modell mit der Simulation aus Standardparametern des ADM1 verglichen.

Zu Beginn wurden die fermentierbaren Nährstoffanteile, wie im Abschnitt 2.6.5 der Substratcharakterisierung beschrieben, bestimmt und zur Charakterisierung der Eingangsgrößen des Simulationsmodells verwendet. Für die Eingangsgrößen der Rübensilage wurden die entsprechenden Konzentrationen der einzelnen Säuren und zusätzliche Anionen und Kationen aus Referenzangaben übernommen. Die Zustandsgrößen der fermentierbaren partikulären Bestandteile für die nährstoffspezifischen Reaktionskonstanten wurden aus den zur Verfügung gestellten Daten und aus Referenzangaben wie in Abschnitt 2.6.5 beschrieben, bestimmt. Die Eingangsgrößen sind im Anhang in Tabelle A2 gelistet. Nach Berechnung der Substrateingangswerte wurde die Simulation des massenbasierten ADM1 mit vorgegebenen Modellparametern durchgeführt und mit den experimentellen Messwerten verglichen. In Abbildung 19 sind die Biogasproduktionsraten der Messwerte im Vergleich zu den simulierten Werten über einen Zeitraum von 130 Tagen dargestellt.

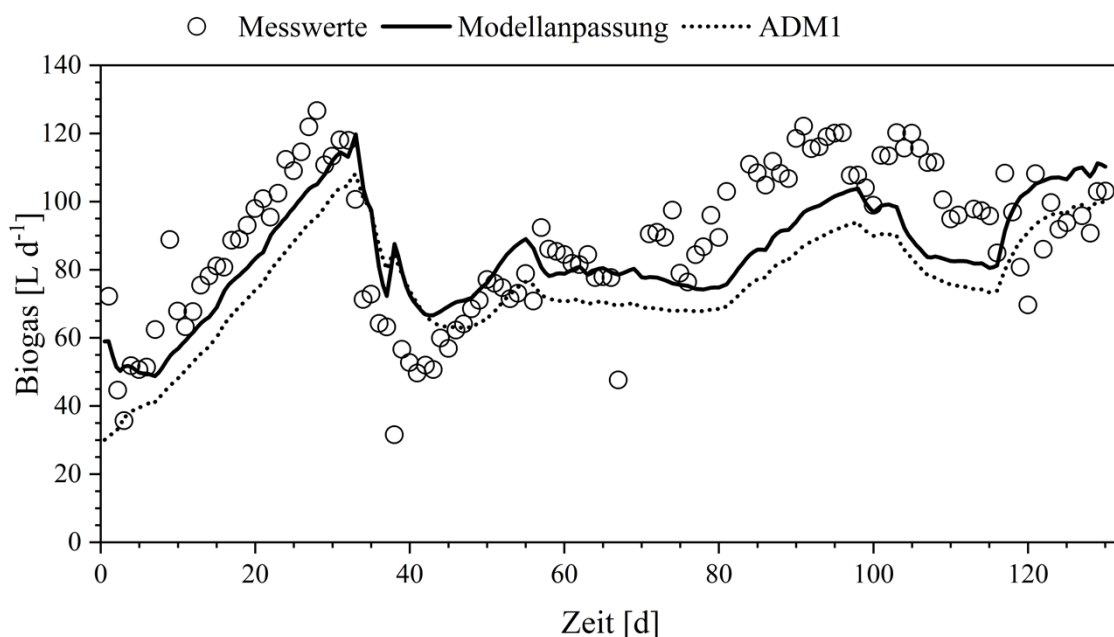


Abbildung 19: Vergleich der Biogasproduktionsrate anhand von Messwerten und der simulierten Werte aus dem massenbasierten ADM1 und dem Modell mit angepassten Parametern über einen Zeitraum von 130 Tagen. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.

Die Biogasproduktionsrate verlief ähnlich zur Raumbelastung des Systems, welche im Anhang in Abbildung A6 dargestellt ist. Mit steigender Fütterungsrate nahm auch die Biogasproduktion aus Abbildung 19 bis zu 30 Tagen zu. Bei Abnahme der Raumbelastung

unter Anhäufung von organischen Säuren und einer Abnahme des pH-Wertes sank die Biogasproduktionsrate, bis sich diese Werte wieder stabilisierten. Der Verlauf der Biogasproduktionsrate wurde bereits durch das massenbasierte ADM1 mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,31 annähernd beschrieben, bildet aber insgesamt ein zu geringes Biogasbildungspotential ab. Folglich wurde eine Parameteranpassung von 20 kinetischen Parametern des ADM1, darunter maximale Wachstumsraten, Halbsättigungskonstanten und Reaktionskonstanten, mithilfe des Datensatzes durchgeführt. Durch die Anpassung der Modellparameter wurde mit einem R^2 -Wert von 0,43 eine verbesserte Annäherung der Biogasproduktionsrate zu den Messwerten erhalten. Aus der Simulation der Modellanpassung wurde eine durchschnittliche Biogasproduktionsrate von $84,3 \text{ L d}^{-1}$ über den gesamten Zeitraum berechnet. Damit bildet die Simulation 95 % des Wertes aus den Messwerten ab, welche eine durchschnittliche Biogasproduktionsrate von $88,8 \text{ L d}^{-1}$ aufwies. Die Simulation des massenbasierten ADM1 ohne eine Parameteranpassung zeigte eine mittlere Biogasproduktionsrate von rund $75,7 \text{ L d}^{-1}$ und entspricht somit 82 % der Rate aus den Messwerten. Die mittleren Biogasproduktionsraten sind in Abbildung 20 dargestellt, um die Simulationsergebnisse mit den Messdaten vergleichen zu können.

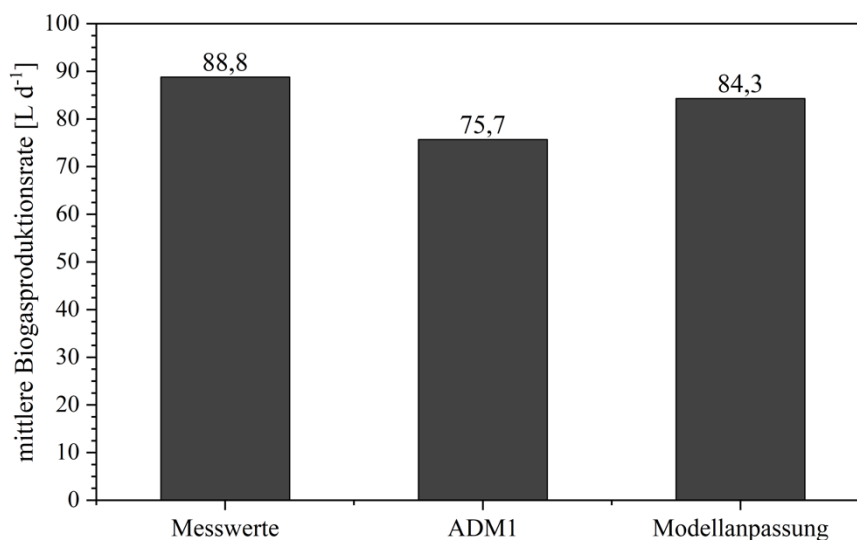


Abbildung 20: Vergleich der mittleren Biogasproduktionsraten der experimentellen Daten, des massenbasierten ADM1-Modells und der Modellanpassung über einen Zeitraum von 130 Tagen. Der experimentelle Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.

Des Weiteren wurden neben der Biogaszusammensetzung aus Methan und Kohlendioxid auch der pH-Wert und die produzierten organischen Säuren aus der Acidogenese und der Acetogenese über einen Zeitraum von 130 Tagen im Simulationsmodell modelliert und mit den zur Verfügung gestellten Messwerten in Abbildung 21 verglichen. Für das massenbasierte

ADM1 ohne Parameteranpassung zeigten sich insgesamt kaum Schwankungen in den Verläufen der Messgrößen.

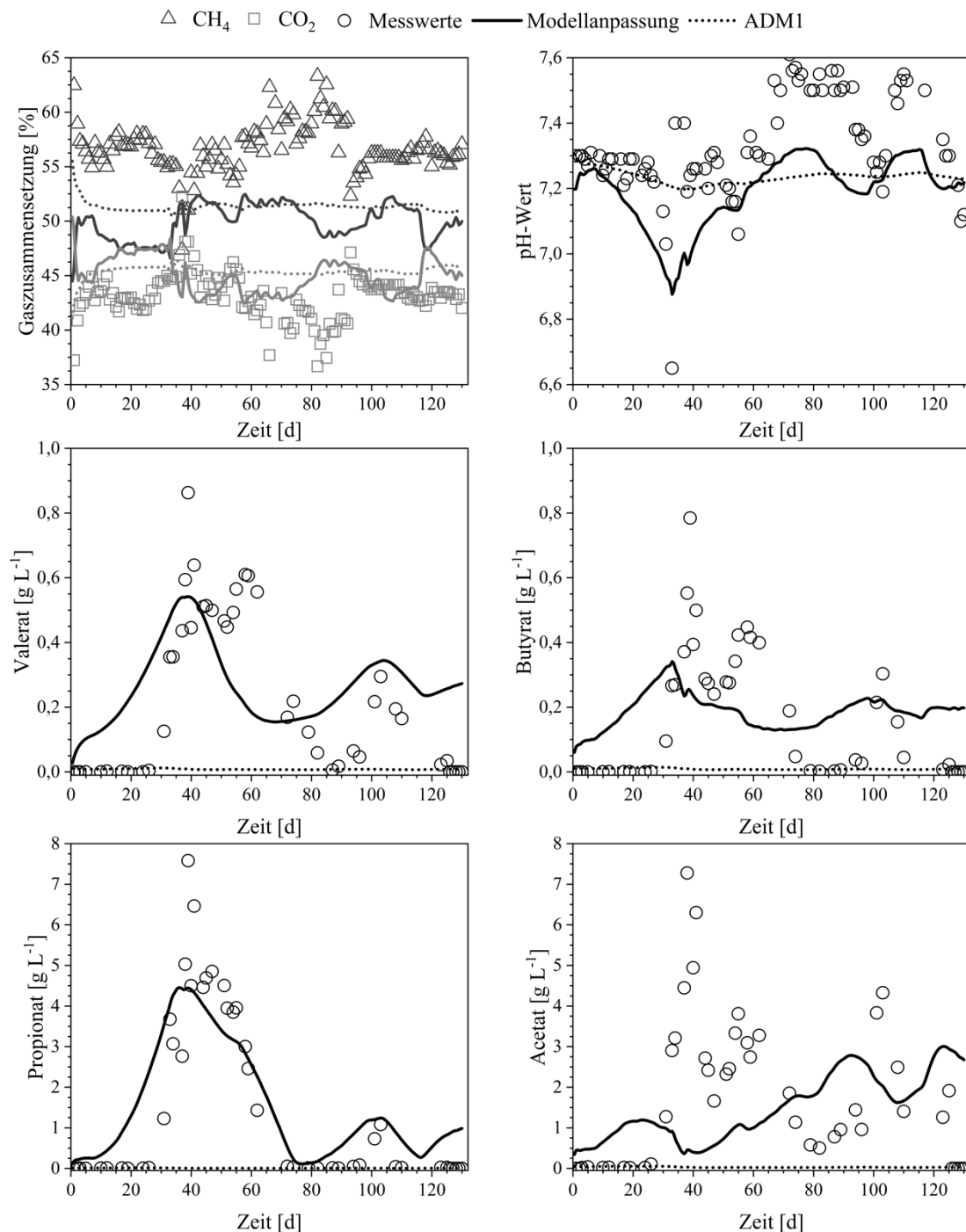


Abbildung 21: Vergleich der Simulationsergebnisse aus dem massenbasierten ADM1 und dem Modell mit an den Messwerten angepassten Parametern über einen Zeitraum von 130 Tagen. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.

Bei der Biogaszusammensetzung wurde in der Simulation ein höherer Anteil an Methan verglichen zu Kohlendioxid berechnet, wobei der Methananteil mit 51,5 % deutlich geringer

als die realen Messwerte mit 57 % waren. Verglichen dazu lag der Methananteil nach Anpassung der Parameter im Modell mit 50 % etwas niedriger. Jedoch konnten durch die Simulation mit angepassten Modellparametern dynamischere Konzentrationsverläufe für alle Messgrößen berechnet werden. Somit zeigte sich auch im Verlauf des pH-Wertes eine deutlichere Dynamik und Abnahme bei gleichzeitiger Zunahme der anfallenden organischen Säuren nach 20 Tagen. Die Schwankungen des pH-Wertes lagen allerdings nur in einem Bereich geringfügig unterhalb des neutralen Punktes.

Bei Betrachtung der Konzentrationsverläufe der organischen Säuren wurden mit dem massenbasierten ADM1 ohne Parameteranpassung sehr geringe Konzentrationen berechnet. Mit der Modellanpassung zeigten sich von Beginn an deutliche Zunahmen der organischen Säuren aus der Acidogenese für Valerat, Butyrat und Propionat. Diese Säuren wurden nach 40 Tagen langsam abgebaut. Aus der Modellanpassung gingen bessere Bestimmtheitsmaße zwischen den Messwerten und den simulierten Werten der organischen Säuren hervor. Für Valerat wurde eine Anpassungsgüte von 0,28 verglichen zu -1,19 im Modell ohne Parameteranpassung erzielt. Für Butyrat und Propionat wurde in der Modellanpassung ein R^2 von 0,06 und 0,75, verglichen mit einem R^2 von -0,91 und -0,73 erreicht. Im Verlauf der Acetatkonzentration zeigte sich nach 40 Tagen eine stetige Zunahme der Konzentration in der Simulation der Acetogenese bei gleichzeitiger Abnahme der Säuren aus der Acidogenese. Diese Zustandsgröße wurde in der Modellanpassung mit einem Bestimmtheitsmaß von -0,68 im Vergleich zur Simulation des ADM1 ohne Parameteranpassung mit einem R^2 von -1,26 bestimmt und konnte somit die Messwerte des Prozesses passender abbilden. Um zu versuchen, den Verlauf der Acetatkonzentration besser beschreiben zu können, wurden die Startwerte der Parameteranpassung und entsprechende Gewichtungsfaktoren in der Zielfunktion variiert. Es war jedoch nicht möglich, die Akkumulation von Acetat nach 30 Tagen mit dem Modell passend abzubilden.

Die Bestimmtheitsmaße aus den Simulationen des massenbasierten ADM1 und der Modellanpassung sind zur Übersicht in Tabelle 17 aufgelistet.

Tabelle 17: Vergleich der Bestimmtheitsmaße als R^2 der Simulationen des massenbasierten ADM1 und aus der Modellanpassung bezogen auf die Messwerte.

	Anpassungsgüte R^2				
	ADM1	Modellanpassung	ADM1	Modellanpassung	
Biogas	0,31	0,43	Valerat	-1,19	0,28
CH ₄	-5,23	-6,43	Butyrat	-0,91	0,06
CO ₂	-0,27	-0,83	Propionat	-0,73	0,75
pH	-0,23	-0,41	Acetat	-1,26	-0,68

Im direkten Vergleich zeigt sich, dass anhand der Modellanpassung eine passendere Abbildung der Messwerte wiedergegeben werden konnte. Von großer Bedeutung ist vor allem die Anpassungsgüte der Biogasproduktionsrate sowie der organischen Säuren, welche verbessert werden konnte.

Die angepassten Parameter aus dem Simulationsmodell sind zum Vergleich mit den Modellparametern des ADM1 in Tabelle 18 aufgelistet. Bei der Anpassung der Reaktionskonstanten wurden größere Hydrolyseraten der Kohlenhydrate und Proteine und eine niedrigere Hydrolyserate der Fette ermittelt, was mitunter vom verwendeten Substrat abhängt. Die Anpassung der maximalen Wachstumsraten zeigte für die acidogenen Säurebildner und für die säureabbauenden Mikroorganismen zum Teil deutlich geringere Werte. Da es sich um Anpassungsparameter des Modells handelt, sollten daraus keine Rückschlüsse auf den Metabolismus gezogen werden.

Tabelle 18: Vergleich der Modellparameter des massenbasierten ADM1 (Weinrich 2017) und der angepassten Parameter aus der Modellanpassung.

	Maximale Wachstumsraten [d ⁻¹]		Halbsättigungskonstanten [g L ⁻¹]		Reaktionskonstanten [d ⁻¹]			
	ADM1	Modell- anpassung	ADM1	Modell- anpassung	ADM1	Modell- anpassung		
$\mu_{m,su}$	3	0,64	$K_{S,su}$	0,47	0,20	k_{ch}	0,25	0,81
$\mu_{m,aa}$	4	0,27	$K_{S,aa}$	0,2	0,08	k_{pr}	0,2	0,37
$\mu_{m,fa}$	0,36	0,27	$K_{S,fa}$	0,14	0,06	k_{li}	0,1	0,06
$\mu_{m,va}$	1,2	0,23	$K_{S,va}$	0,10	0,05	k_{dec}	0,02	0,09
$\mu_{m,bu}$	1,2	0,50	$K_{S,bu}$	0,11	0,15			
$\mu_{m,pro}$	0,52	0,12	$K_{S,pro}$	0,07	0,05			
$\mu_{m,ac}$	0,4	0,29	$K_{S,ac}$	0,14	0,40			
$\mu_{m,h2}$	2,1	1,91	$K_{S,h2}$	$8,8 \cdot 10^{-7}$	$1,1 \cdot 10^{-7}$			

3.1.3 Prozessmodell der Produktion von Plattformchemikalien

Zur Simulation der Produktion der Plattformchemikalien Acetoin und 2,3-Butandiol wurde ein heterotrophes und ein autotrophes Prozessmodell entwickelt, die in Abschnitt 2.6.3 bereits beschrieben wurden. Dies erfolgte auf Grundlage von zur Verfügung gestellten experimentellen Daten des TMI der TUHH. In den Prozessmodellen wurde dementsprechend der heterotrophe Produktionsprozess auf Basis von Fruktose und der autotrophe Produktionsprozess zur stofflichen Nutzung von Wasserstoff und Kohlendioxid simuliert (Abbildung 22). Dazu wurden die Modellstrukturen individuell an die Prozessbeobachtungen

der jeweiligen Produktionsprozesse der gentechnisch veränderten *C. necator*-Stämme angepasst. Die bereitgestellten Versuchsdaten wurden für die Modellvalidierung genutzt.

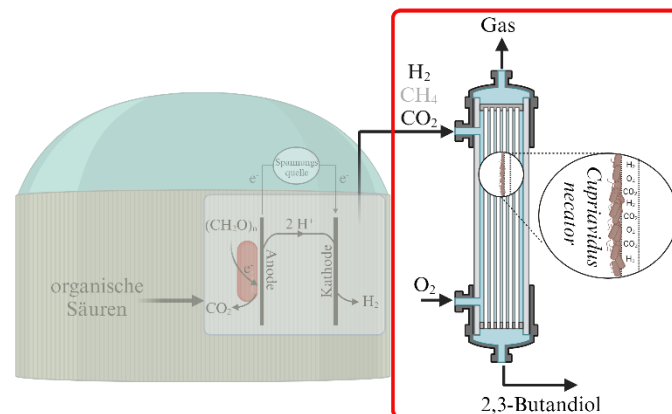


Abbildung 22: Modellentwicklung der autotrophen Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol. Das autotrophe Prozessmodell wurde zur stofflichen Nutzung von Wasserstoff und Kohlendioxid entwickelt. Erstellt mit BioRender.com.

Heterotropher Prozess

Die experimentellen Daten des heterotrophen Prozesses sind in Vergleich zu den Modellanpassungen der jeweiligen Messgrößen in Abbildung 23 dargestellt. Abgebildet sind Wachstumskurven und die Konzentrationen von Fruktose, Acetoin und 2,3-Butandiol der drei untersuchten *budC*-Varianten von *K. pneumoniae*, *K. aerogenes* und *E. cloacae* in *C. necator*. Die experimentellen Messwerte der heterotrophen Versuchsdurchführung zeigten ein Zellwachstum bei Verbrauch von Fruktose als Substrat. Zusätzlich wurde die Produktion von zwei Produkten Acetoin und 2,3-Butandiol nachgewiesen, die mit dem Zellwachstum und dem verbrauchten Substrat zusammenhing. Nach fast vollständigem Substratverbrauch konnte eine Abnahme der optischen Dichte und eine Rückreaktion von 2,3-Butandiol zu Acetoin gemessen werden. Insgesamt konnten mit dem heterotrophen Prozessmodell aus Abschnitt 2.6.3 die Kurvenverläufe der drei untersuchten Varianten passend beschrieben werden. Mit Abnahme des Substrats an Fruktose konnte das Modell eine Zunahme der optischen Dichte und der Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol berechnen. Sobald das Substrat nach rund 60 h aufgebraucht war, trat eine Abnahme der optischen Dichte in den Verläufen ein. Gleichzeitig wurde eine Rückreaktion von 2,3-Butandiol zu Acetoin durch das Prozessmodell abgebildet.

Solange Fruktose vorhanden war, zeigte *budC* (*K. pneumoniae*) bis 58 h die höchste Akkumulation von Acetoin mit $0,97 \text{ g L}^{-1}$ und *budC* (*E. cloacae*) die höchste Konzentration an 2,3-Butandiol mit $0,90 \text{ g L}^{-1}$. Mit den Verläufen der Modellanpassung für die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol konnte bei *budC* (*K. pneumoniae*) ein Bestimmtheitsmaß von

0,98 und 0,99 erzielt werden. Die simulierte Acetoinkonzentration betrug $0,99 \text{ g L}^{-1}$ nach 58 h. Im Vergleich dazu ergab sich die Simulation der *budC* (*E. cloacae*) Variante ein R^2 der Acetoinproduktion von 0,96 und für 2,3-Butandiol von 0,98.

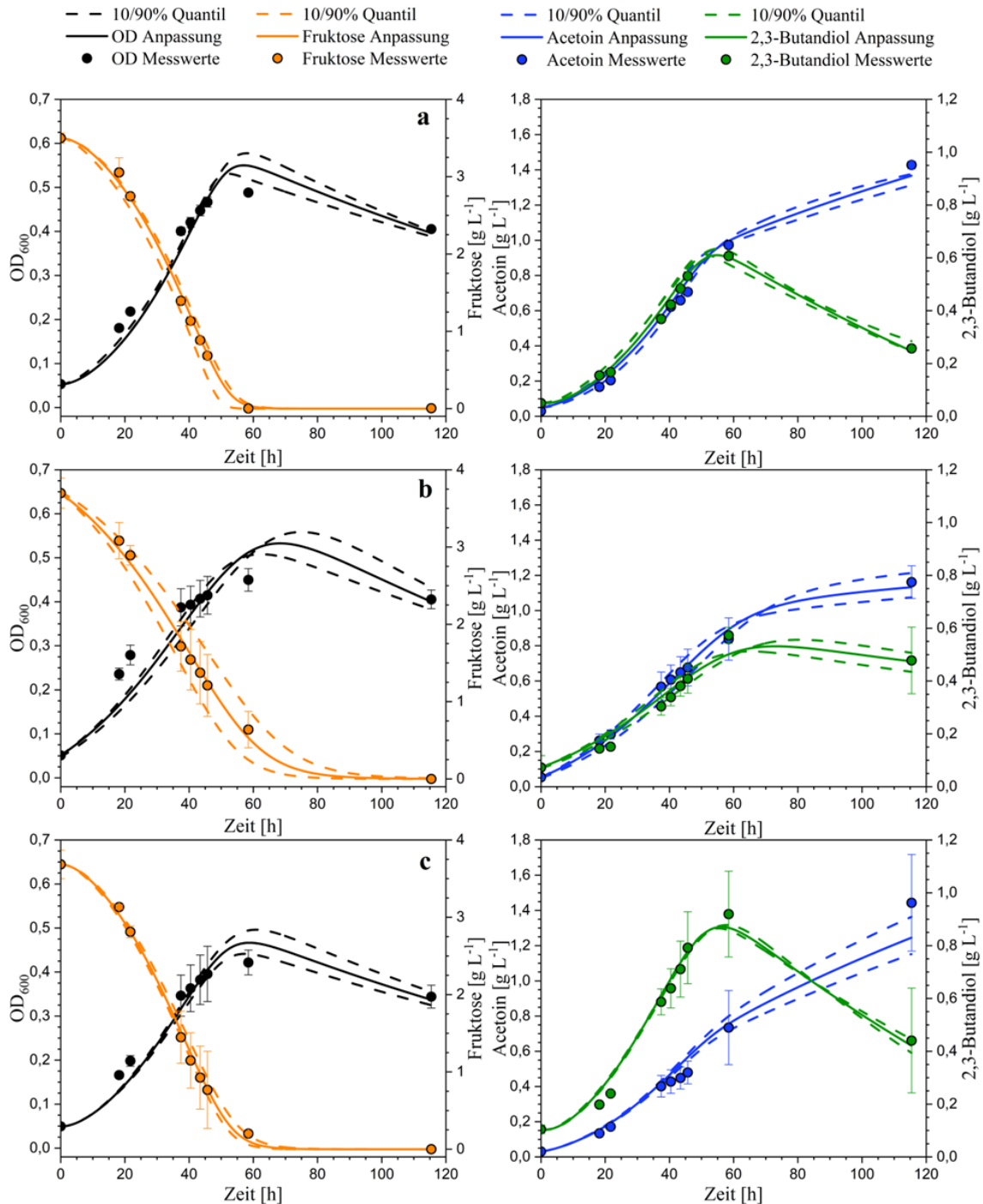


Abbildung 23: Vergleich der Simulationen der Prozessmodelle der *budC*-Varianten aus verschiedenen Organismen unter heterotrophen Bedingungen in *C. necator* Stämmen. Es sind die optischen Dichten und die Substratwerte sowie die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol für a) *pBBR1_budC* (*K. pneumoniae*) b) *pBBR1_budC* (*K. aerogenes*) und c) *pBBR1_budC* (*E. cloacae*) dargestellt. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt.

Die simulierte 2,3-Butandiolkonzentration betrug $0,90 \text{ g L}^{-1}$ nach 58 h. Für *budC* (*K. aerogenes*) zeigte die Simulation ein Bestimmtheitsmaß von 0,99 und 0,94 für jeweils Acetoin und 2,3-Butandiol. Im Anhang in Abbildung A7 sind zur Veranschaulichung ein Vergleich der simulierten Werte mit den Messwerten im heterotrophen Prozessmodell dargestellt. In Tabelle 19 sind zur Übersicht die Bestimmtheitsmaße zu den jeweiligen Messgrößen aus den Verläufen der drei Varianten aufgelistet.

Tabelle 19: Vergleich der Bestimmtheitsmaße der Simulationen des heterotrophen Prozessmodells anhand Messdaten verschieden modifizierter *C. necator* Stämme.

Bestimmtheitsmaß R^2	Stamm		
	pBBR1_ <i>budC</i> (<i>K. pneumoniae</i>)	pBBR1_ <i>budC</i> (<i>K. aerogenes</i>)	pBBR1_ <i>budC</i> (<i>E. cloacae</i>)
Optische Dichte	0,94	0,85	0,95
Fruktose	0,99	0,99	0,99
Acetoin	0,98	0,99	0,96
2,3-Butandiol	0,99	0,94	0,98

Des Weiteren wurden die Produktivitäten der unterschiedlichen Varianten berechnet und in Tabelle 20 zwischen den experimentellen Daten und den simulierten Ergebnissen verglichen. Es zeigte sich aus den experimentellen Daten die höchste Gesamtproduktivität bei *budC* (*E. cloacae*) mit einer vergleichsweise geringen Produktivität für Acetoin. Im Gegensatz dazu war die Gesamtproduktivität aus der Simulation für *budC* (*E. cloacae*) um 6 % geringer als bei der *budC* (*K. pneumoniae*) Variante. Dies zeigte sich auch bei den maximalen Gesamtproduktivitäten anhand der simulierten Ergebnisse. Bei der *budC* (*K. aerogenes*) Variante wurde die niedrigste Produktivität für 2,3-Butandiol berechnet. Diese betrug aus der Simulation nur etwa die Hälfte der 2,3-Butandiolproduktivität von *budC* (*E. cloacae*).

Zudem wurde eine Sensitivitätsanalyse der angepassten Modellparameter auf die Ergebnisse des Prozessmodells durchgeführt. Die Ergebnisse für jede *budC*-Variante sind im Anhang in den Tabellen A8-A10 dargestellt. Es zeigte sich, dass der Modellparameter der maximalen Wachstumsrate den größten Einfluss auf die Resultate der optischen Dichte und die Konzentrationen von Fruktose, Acetoin und 2,3-Butandiol hat. Auch die Ausbeutekoeffizienten des Substrats und der Produkte zeigten einen sensitiven Einfluss.

Tabelle 20: Maximale Produktivitäten von Acetoin und 2,3-Butandiol der verschiedenen Stämme mit unterschiedlichen *budC*-Varianten im heterotrophen Prozess. Gezeigt werden die Werte aus den experimentellen Daten und der Simulationsdaten zum gleichen Zeitpunkt. Zusätzlich sind die maximalen Produktivitäten aus der Simulation über den gesamten Verlauf genannt.

Stamm	Produktivität [mg L ⁻¹ h ⁻¹]						
	Experimentelle Daten			Simulationsdaten			
	Acetoin	2,3-Butandiol	Gesamt	Acetoin	2,3-Butandiol	Gesamt	
<i>budC</i> (<i>K. pneumoniae</i>)	15,93	10,76	26,69		16,17	10,65	26,82
				max.:	16,53	10,78	27,31
<i>budC</i> (<i>K. aerogenes</i>)	13,73	8,56	22,29		13,01	7,33	20,34
				max.:	14,39	7,51	21,9
<i>budC</i> (<i>E. cloacae</i>)	12,23	15,04	27,27		10,52	14,70	25,22
				max.:	12,41	14,75	27,16

Im heterotrophen Prozessmodell wurden 12 Parameter angepasst, welche in Tabelle 21 zu finden sind. Zum direkten Vergleich werden die angepassten Modellparameter der verschiedenen Stämme mit den unterschiedlichen *budC*-Varianten ebenfalls aufgeführt. Im Anhang sind in Tabelle A7 die Modellparameter der 10 % und 90 % Quantile abgebildet.

Tabelle 21: Angepasste Modellparameter des heterotrophen Prozessmodells der verschiedenen Stämme mit unterschiedlichen *budC*-Varianten.

Parameter	Stamm		
	pBBR1_ <i>budC</i> (<i>K. pneumoniae</i>)	pBBR1_ <i>budC</i> (<i>K. aerogenes</i>)	pBBR1_ <i>budC</i> (<i>E. cloacae</i>)
μ_{max} [h ⁻¹]	4,40·10 ⁻²	5,00·10 ⁻²	4,61·10 ⁻²
$\mu_{d,min}$ [h ⁻¹]	6,26·10 ⁻⁶	1,59·10 ⁻⁶	1,22·10 ⁻⁶
$\mu_{d,max}$ [h ⁻¹]	4,90·10 ⁻³	6,39·10 ⁻³	5,02·10 ⁻³
$Y_{X,F}$ [g _{zellen} g ⁻¹]	10,0·10 ⁻²	10,7·10 ⁻²	8,3·10 ⁻²
$Y_{X,A}$ [g _{zellen} g ⁻¹]	0,49	0,43	0,76
$Y_{X,B}$ [g _{zellen} g ⁻¹]	0,43	0,71	0,27
$Y_{A,B}$ [g g ⁻¹]	1,03	0,98	1,04
$K_{S,F}$ [g L ⁻¹]	0,55	1,68	0,90
$K_{P,B}$ [g L ⁻¹]	1,03·10 ⁻³	1,12	1,03·10 ⁻³
$q_{B,max}$ [g g _{zellen} ⁻¹ h ⁻¹]	1,68·10 ⁻²	1,63·10 ⁻²	2,49·10 ⁻²
t_{lag} [h]	6,00	2,43·10 ⁻⁵	6,00
$S_{F,min}$ [g L ⁻¹]	5,00·10 ⁻²	5,55·10 ⁻²	5,02·10 ⁻²

Autotropher Prozess

Von besonderem Interesse ist die Anwendung dieser Produktionsstämme unter autotrophen Bedingungen, da sie die stoffliche Nutzung von Gasen wie Wasserstoff und Kohlendioxid ermöglichen. Daher wurden die beiden leistungsfähigsten Varianten, *budC* (*K. pneumoniae*) und *budC* (*E. cloacae*) entsprechend den experimentellen Daten unter autotrophen

Bedingungen simuliert. Aufgrund von sehr niedrigen Biomasseproduktionsraten wurden die Versuche als Zellsuspension mit einer OD_{600} von 4 durchgeführt, was im Modell berücksichtigt wurde. Die experimentellen Daten des autotrophen Prozesses sind in Abbildung 24 im Vergleich zu den Modellanpassungen der jeweiligen Messgrößen dargestellt.

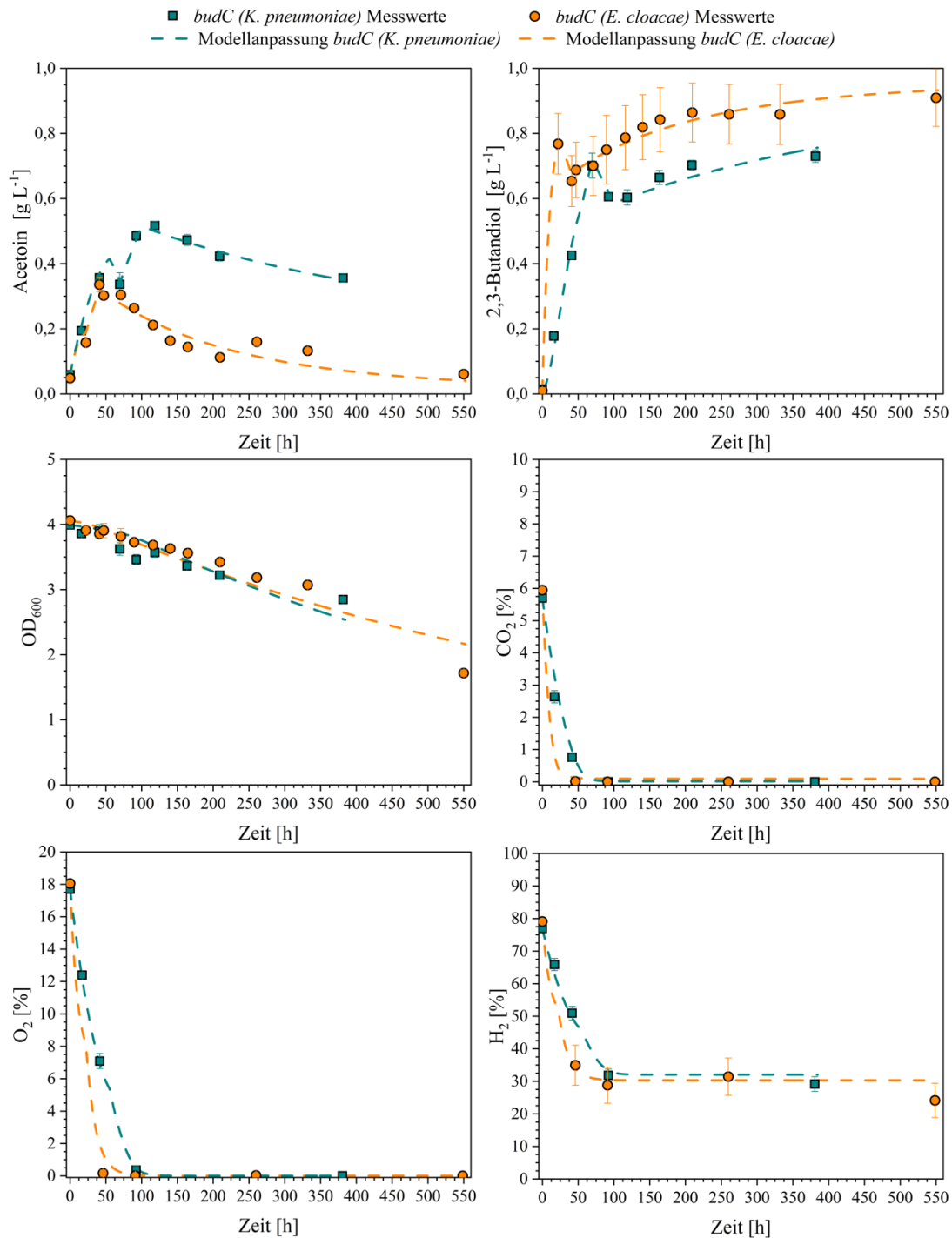


Abbildung 24: Vergleich der Simulationen der autotrophen Prozessmodelle mit verschiedenen *budC*-Varianten aus verschiedenen Organismen unter autotrophen Bedingungen in *C. necator* Stämmen. Es sind die optischen Dichten, die Gasmengen sowie die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol für pBBR1_*budC* (*K. pneumoniae*) und pBBR1_*budC* (*E. cloacae*) dargestellt. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt.

Zu sehen sind die Produktkonzentrationen von Acetoin und 2,3-Butandiol sowie die optischen Dichten über einen Zeitraum von bis zu 550 h. Außerdem sind die Verläufe der Gasanteile von CO₂ als Kohlenstoffquelle, O₂ als Elektronenakzeptor und H₂ als Elektronendonator abgebildet. Die experimentellen Messwerte der autotrophen Versuchsdurchführung zeigen eine Abnahme der optischen Dichte über den Versuchszeitraum. Es konnte ein Verbrauch der gasförmigen Substrate Wasserstoff, Sauerstoff und Kohlendioxid nachgewiesen werden, was zu einer Produktbildung von Acetoin und 2,3-Butandiol führte. Weiterhin wurde eine Rückreaktion von 2,3-Butandiol zu Acetoin beobachtet, sobald die Kohlenstoffquelle aufgebraucht war. Die Rückreaktion stoppte, nachdem der Elektronenakzeptor Sauerstoff verbraucht war. Nachdem sowohl CO₂ als auch O₂ limitierend waren, begann die Reaktion von Acetoin zu 2,3-Butandiol erneut. Diese Prozessbeobachtungen wurden bei der Modellierung berücksichtigt.

Insgesamt konnten mit dem entworfenen autotrophen Prozessmodell aus Abschnitt 2.6.3 die Kurvenverläufe der zwei untersuchten *budC*-Varianten passend beschrieben werden. Mit Abnahme der gasförmigen Substrate konnte das Modell einen Anstieg der Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol berechnen. In den Simulationen wurden innerhalb der ersten 50 h bis 100 h CO₂ und O₂ vollständig verbraucht. Infolgedessen blieb der Wasserstoffanteil in der Gasphase im Modell unverändert. Im direkten Vergleich zeigten die Simulationen mit *budC* (*E. cloacae*) nach 550 h eine maximale Konzentration von 0,91 g L⁻¹ mit einem Bestimmtheitsmaß von 0,99 für die Simulation mit 2,3-Butandiol und 0,90 für die der Acetoinkonzentrationen. Die Simulationen von *budC* (*K. pneumoniae*) ergaben für Acetoin ein Bestimmtheitsmaß von 0,99 und für 2,3-Butandiol von 0,99 mit einer maximalen Konzentration von 0,75 g L⁻¹ nach 380 h.

Außerdem wurden zwei weitere Varianten mit einer zusätzlich überexprimierten Carboanhydrase (*cag*) im autotrophen Prozess untersucht und simuliert. Im Anhang in Abbildung A10 sind die experimentellen Messgrößen im Vergleich zu den Simulationen der autotrophen Prozessmodelle der *cag*-Varianten in *C. necator*-Stämmen dargestellt. Es sind die optischen Dichten, die Gasanteile, sowie die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol für *cag* (*K. pneumoniae*) und *cag* (*E. cloacae*) abgebildet. Bei der *cag* (*E. cloacae*) Variante zeigten sich während des Prozesses ebenfalls zuvor beschriebene Hin- und Rückreaktionen zwischen Acetoin und 2,3-Butandiol. Dahingegen konnten für *cag* (*K. pneumoniae*) diese Prozesse nicht beobachtet werden. In Tabelle 22 sind die Bestimmtheitsmaße der Simulationen der unterschiedlichen Varianten aufgelistet. Es zeigt sich, dass bis auf die optischen Dichten von drei der Varianten die anderen Messgrößen passend beschrieben

werden konnten. Im Anhang sind in den Abbildungen A8 und A9 ein Vergleich der simulierten Werte mit den Messwerten im autotrophen Prozessmodell dargestellt.

Tabelle 22: Vergleich der Bestimmtheitsmaße der Simulationen des autotrophen Prozessmodells anhand Messdaten verschieden modifizierter *C. necator*-Stämme.

Bestimmtheitsmaß R^2	Stamm			
	pBBR1_budC (<i>E. cloacae</i>)	pBBR1_cag (<i>E. cloacae</i>)	pBBR1_budC (<i>K. pneumoniae</i>)	pBBR1_cag (<i>K. pneumoniae</i>)
Optische Dichte	0,91	0,76	0,73	0,57
Acetoin	0,90	0,97	0,99	0,90
2,3-Butandiol	0,99	0,99	0,99	0,88
CO _{2,g}	0,99	0,99	0,98	0,88
O _{2,g}	0,99	0,99	0,99	0,98
H _{2,g}	0,98	0,98	0,98	0,96

Des Weiteren wurden die Produktivitäten der unterschiedlichen Varianten berechnet und zwischen den experimentellen Daten sowie den simulierten Ergebnissen verglichen. Die Ergebnisse sind Tabelle 23 zu entnehmen.

Tabelle 23: Maximale Produktivitäten von Acetoin und 2,3-Butandiol der insgesamt vier *budC*- und *cag*-Varianten im autotrophen Prozess. Gezeigt werden die Werte aus den experimentellen Daten und den Simulationsdaten zum gleichen Zeitpunkt. Zusätzlich sind die maximalen Produktivitäten aus der Simulation der vier Stämme über den gesamten Verlauf gezeigt.

Stamm	Produktivität [mg L ⁻¹ h ⁻¹]					
	Experimentelle Daten			Simulationsergebnisse		
	Acetoin	2,3-Butandiol	Gesamt	Acetoin	2,3-Butandiol	Gesamt
<i>budC</i> (<i>K. pneumoniae</i>)	8,45	10,21	18,67	9,50	7,75	17,25
				max.: 10,79	10,82	21,61
<i>cag</i> (<i>K. pneumoniae</i>)	4,45	4,92	9,37	3,67	6,46	10,13
				max.: 4,09	7,19	11,28
<i>budC</i> (<i>E. cloacae</i>)	4,97	34,48	39,45	6,33	34,53	40,86
				max.: 14,44	78,78	93,22
<i>cag</i> (<i>E. cloacae</i>)	15,52	22,70	38,23	15,82	22,75	38,75
				max.: 26,25	37,74	63,99

Es zeigte sich, wie bereits bei den heterotrophen Daten, dass die höchste Gesamtproduktivität durch *budC* (*E. cloacae*) mit 39,45 mg L⁻¹ h⁻¹ erreicht wurde. Im Vergleich dazu war die Gesamtproduktivität aus der Simulation für *budC* (*E. cloacae*) um 58 % höher als bei der *budC* (*K. pneumoniae*) Variante. Die *cag* (*E. cloacae*) Variante zeigte ebenfalls eine hohe Gesamtproduktivität von 38,23 mg L⁻¹ h⁻¹, wobei mehr Acetoin und weniger 2,3-Butandiol im Vergleich zu *budC* (*E. cloacae*) produziert wurde. Dies zeigte sich auch bei den maximalen Gesamtproduktivitäten anhand der simulierten Ergebnisse. Hierbei wurden für die *E. cloacae*-Varianten die höchsten Produktivitäten berechnet.

Die für das autotrophe Prozessmodell angepassten Parameter sind in Tabelle 24 aufgelistet. Zum direkten Vergleich sind die angepassten Modellparameter der verschiedenen Varianten zu sehen. Für jede Variante wurde eine individuelle Modellstruktur abhängig von den Prozessbeobachtungen entworfen.

Tabelle 24: Angepasste Modellparameter des autotrophen Prozessmodells der verschiedenen Varianten.

Parameter	Stamm			
	pBBR1_budC (<i>E. cloacae</i>)	pBBR1_cag (<i>E. cloacae</i>)	pBBR1_budC (<i>K. pneumoniae</i>)	pBBR1_cag (<i>K. pneumoniae</i>)
μ_{max} [h ⁻¹]	6,13·10 ⁻²	1,18·10 ⁻³	1,15·10 ⁻³	7,48·10 ⁻³
$\mu_{d,min}$ [h ⁻¹]	2,69·10 ⁻⁴	5,48·10 ⁻⁴	3,48·10 ⁻⁴	9,72·10 ⁻⁴
$\mu_{d,max}$ [h ⁻¹]	7,83·10 ⁻³	1,78·10 ⁻³	1,00·10 ⁻³	7,96·10 ⁻²
k_{La} [h ⁻¹]	159	142	155	156
$Y_{X,A}$ [gzellen g ⁻¹]	2,32·10 ⁻²	3,07·10 ⁻²	0,62·10 ⁻²	8,54·10 ⁻²
$Y_{X,B}$ [gzellen g ⁻¹]	0,45·10 ⁻²	2,14·10 ⁻²	0,22·10 ⁻²	4,86·10 ⁻²
Y_{X,CO_2} [gzellen mol ⁻¹]	7,37·10 ⁻²	24,7·10 ⁻²	5,22·10 ⁻²	66,0·10 ⁻²
Y_{X,O_2} [gzellen mol ⁻¹]	4,29·10 ⁻²	26,0·10 ⁻²	2,37·10 ⁻²	20,9·10 ⁻²
Y_{X,H_2} [gzellen mol ⁻¹]	1,59·10 ⁻²	9,02·10 ⁻²	0,93·10 ⁻²	8,90·10 ⁻²
$Y_{r,A,B}$ [g g ⁻¹]	0,94	1,17	1,18	-
$Y_{f1,B,A}$ [g g ⁻¹]	-	1,13	1,15	-
$Y_{f2,B,A}$ [g g ⁻¹]	0,89	1,13	1,02	-
K_{CO_2} [mol L ⁻¹]	8,58·10 ⁻⁴	4,15·10 ⁻⁴	1,93·10 ⁻⁴	8,36·10 ⁻²
K_{O_2} [mol L ⁻¹]	4,92·10 ⁻²	3,85·10 ⁻⁴	1,21·10 ⁻⁵	1,01·10 ⁻⁵
K_{H_2} [mol L ⁻¹]	2,88·10 ⁻⁵	1,39·10 ⁻⁵	1,97·10 ⁻²	1,25·10 ⁻⁵
$K_{f1,A}$ [g L ⁻¹]	-	1,03	0,05	-
$K_{f2,A}$ [g L ⁻¹]	5,68	5,54	6,24	-
$K_{r,B}$ [g L ⁻¹]	0,73	0,65	0,59	-
$q_{f1,A,max}$ [g gzellen ⁻¹ h ⁻¹]	-	1,85·10 ⁻²	0,25·10 ⁻²	-
$q_{f2,A,max}$ [g gzellen ⁻¹ h ⁻¹]	1,59·10 ⁻²	0,42·10 ⁻²	0,44·10 ⁻²	-
$q_{r,B,max}$ [g gzellen ⁻¹ h ⁻¹]	0,54·10 ⁻²	0,61·10 ⁻²	0,35·10 ⁻²	-

3.1.4 Gesamtmodell der flexiblen Biogasproduktion

Für den Prozess einer flexiblen Biogasanlage, welcher in Abschnitt 1.8 beschrieben wurde, wurden die einzelnen Prozesse MEZ, anaerober Abbauprozess bzw. Anaerobic Digestion (AD) und autotrophe Produktion von Plattformchemikalien in separaten Prozessmodellen betrachtet und validiert. Für ein Gesamtmodell wurde der Prozess der Biogasproduktion mit der MEZ kombiniert und betrachtet. Ein wesentlicher Punkt dabei ist, dass die an der Anode

der MEZ übertragenen Elektronen nicht mehr für die Biogaszeugung zur Verfügung stehen, sondern der Wasserstoffherzeugung an der Kathode zur Verfügung gestellt werden. Diese Regelungstechnik und der gesteuerte Elektronenfluss für die Biogas- bzw. Wasserstoffproduktion sind im Prozessmodell abzubilden. Für die Simulation des AD-MEZ-Modells wurden die zuvor genannten, angepassten Modellparameter der AD genommen sowie die angepassten Modellparameter der NM-Gleichung aus dem MEZ-Modell.

In Abbildung 25 werden die Verläufe der Messwerte und der simulierten Werte der Modellanpassung aus Abschnitt 3.1.2 im Vergleich zu den Simulationsergebnissen des kombinierten AD-MEZ-Modells gezeigt. Hierbei wurde der Einfluss einer minimalen Acetatverbrauchsrate von $0,4 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, einer mittleren Verbrauchsrate von $1,2 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und einer maximalen Acetatverbrauchsrate von $2 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ untersucht. Diese Aufnahmeraten von Acetat für einen anodisch elektroaktiven Biofilm wurden anhand von Versuchs- und Simulationsdaten gewählt (Korth *et al.* 2020; Zarabadi *et al.* 2019; Zhu *et al.* 2013).

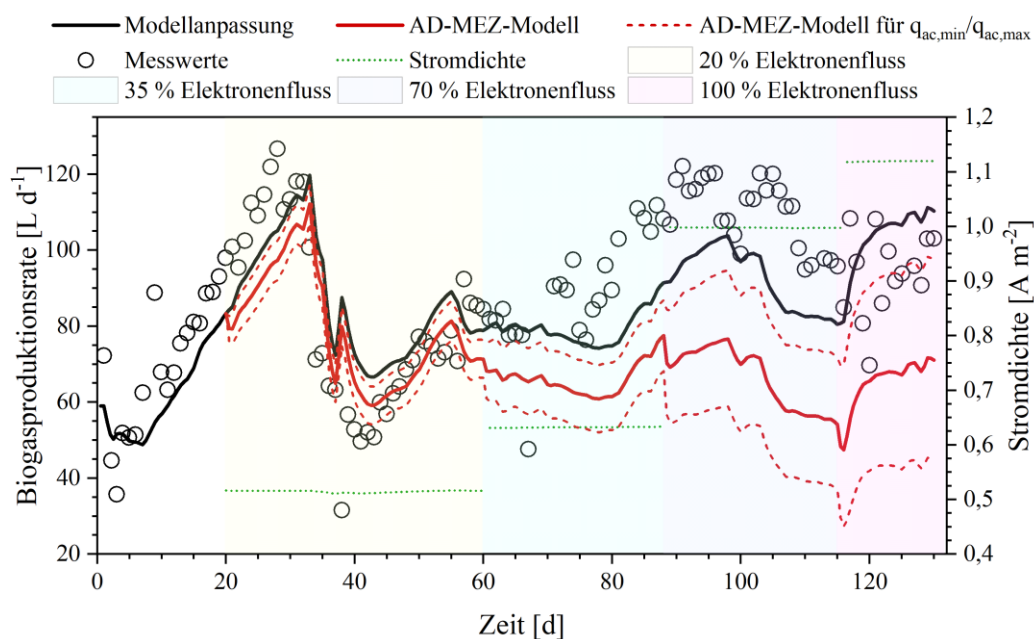


Abbildung 25: Verlauf und Vergleich der Biogasproduktionsraten anhand von Messwerten und der simulierten Werte aus der Modellanpassung und dem AD-MEZ-Modell über einen Zeitraum von 130 Tagen. Das AD-MEZ-Modell wurde für eine minimale, eine mittlere und eine maximale Acetatverbrauchsrate von $0,4$, $1,2$ und $2,0 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ dargestellt. Außerdem wurden verschiedene Anodenpotentiale angelegt, wodurch der Elektronenfluss beeinflusst wurde. Zusätzlich wurde die resultierende Stromdichte in Folge des Elektronenflusses abgebildet. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.

Über den gesamten Zeitraum wurden verschiedene Anodenpotentiale zur Steuerung des Elektronenflusses simuliert. So wurde in Abbildung 25 ab 20 Tagen ein Potential von $-0,2 \text{ V}$, nach 60 Tagen von $-0,189 \text{ V}$, nach 88 Tagen von $-0,14 \text{ V}$ und nach 115 Tagen ein Potential von $0,2 \text{ V}$ angelegt. Diese Anodenpotentiale stellten in angegebenen Zeitfenstern jeweils

Elektronenflüsse von 20 %, 35 %, 70 % und 100 % dar. Die daraus resultierenden Stromdichten wurden ebenfalls abgebildet. Zu Beginn verlief die Biogasproduktion im Biogasmodell und AD-MEZ-Modell gleich, bis nach 20 Tagen ein Elektronenfluss der MEZ von 20 % der maximalen Stromdichte eingestellt wurde. Durch den zusätzlichen Acetatverbrauch sank die Biogasproduktionsrate, wofür gleichzeitig eine Stromdichte von $0,51 \text{ A m}^{-2}$ entstand. Im weiteren Verlauf des Simulationsmodells wurde das Anodenpotential bis zu einem Maximum des Elektronenflusses von 100 % erhöht. Dadurch nahm die Biogasproduktionsrate im Vergleich zum Verlauf des Modells ohne MEZ in jeder Phase weiter ab. Dafür wurden jedoch Stromdichten von $0,63 \text{ A m}^{-2}$, $0,99 \text{ A m}^{-2}$ und $1,12 \text{ A m}^{-2}$ bei entsprechenden Elektronenflüssen von 35 %, 70 % und 100 % erreicht. Außerdem sind in Abbildung 25 deutliche Einflüsse im Verlauf der Biogasproduktionsraten durch unterschiedliche Acetatverbrauchsraten der MEZ zu erkennen. Je höher die Acetatverbrauchsrate, desto weniger Biogas wurde in der Simulation berechnet.

Im Simulationsmodell wurde bei einer minimalen Acetatverbrauchsrate eine durchschnittliche Biogasproduktionsrate von $79,3 \text{ L d}^{-1}$ erzielt. Zum direkten Vergleich ergaben sich bei einer mittleren und maximalen Acetatverbrauchsrate eine durchschnittliche Biogasproduktionsrate von $69,4 \text{ L d}^{-1}$ bzw. $59,6 \text{ L d}^{-1}$. In der Modellanpassung wurde eine mittlere Biogasproduktionsrate von $84,3 \text{ L d}^{-1}$ berechnet. In Abbildung 26 sind die mittleren Biogasproduktionsraten bei einer mittleren Acetatverbrauchsrate des AD-MEZ-Modells für die verschiedenen Elektronenflussphasen im Vergleich zur Simulation der Modellanpassung dargestellt.

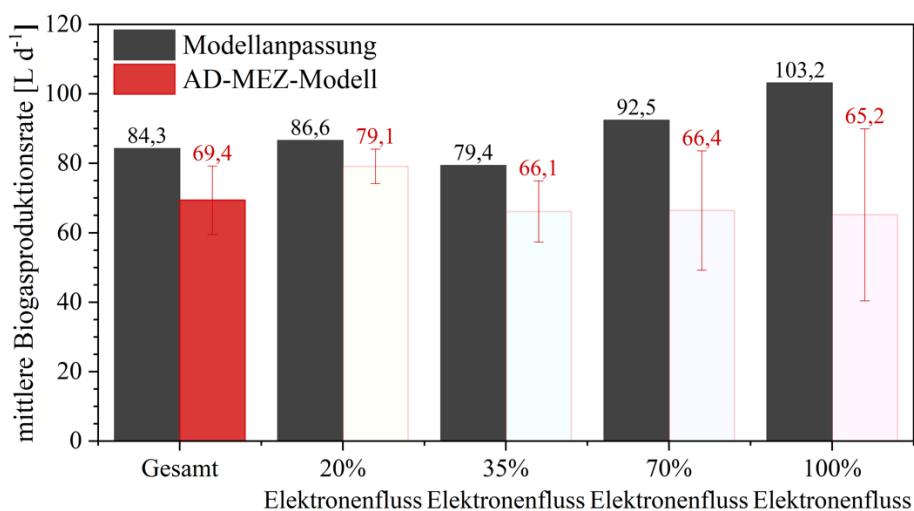


Abbildung 26: Vergleich der mittleren Biogasproduktionsraten der Modellanpassung und des AD-MEZ-Modells. Gezeigt werden die mittleren Raten über den gesamten Zeitraum von 130 Tagen und in den Zeiträumen bei einem Elektronenfluss von 20 %, 35 % 70 % und 100 %.

Insgesamt ist die mittlere Biogasproduktionsrate des AD-MEZ-Modells um 17,7 % geringer als aus der Modellanpassung des AD-Modells. In den Zeiträumen unterschiedlicher Elektronenflüsse zeigte sich eine zunehmende Verringerung der mittleren Biogasproduktionsraten. Hierbei sanken die Werte des AD-MEZ-Modells jeweils um 8,6 %, 16,7 %, 28,2 % und um 36,8 %, bei einem entsprechenden Elektronenfluss von 20 %, 35 %, 70 % und 100 % im Vergleich zur Modellanpassung des AD-Modells

In Abbildung 27 sind Wasserstoffproduktionsraten bei unterschiedlichen Elektronenflüssen des AD-MEZ-Modells dargestellt. Diese wurden aus den resultierenden Stromdichten des Modells berechnet. Daraus ergab sich bei einem Elektronenfluss von 20 % eine Wasserstoffproduktionsrate von $0,24 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Mit zunehmenden Stromdichten stieg jeweils die Wasserstoffproduktionsrate an. So wurde bei einem Elektronenfluss von 100 % eine maximale Wasserstoffproduktionsrate von $0,51 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ im Modell erreicht. Diese war wiederum bei einem Elektronenfluss von 35 % bzw. 70 % um 43,1 % bzw. 9,8 % geringer als die maximale Wasserstoffproduktionsrate. Zusätzlich sind in Abbildung 27 die produzierten Wasserstoffmengen in den Zeiträumen der verschiedenen Anodenpotentiale dargestellt. Diese resultieren direkt aus den Wasserstoffproduktionsraten. Somit wurden in 40 Tagen bei einem Elektronenfluss von 20 % theoretisch 115 L Wasserstoff produziert. Bei der maximalen Wasserstoffproduktionsrate ergab sich in einem Zeitraum von 15 Tagen eine Wasserstoffmenge von 92 L. Die theoretisch produzierte Wasserstoffmenge steigt somit bei höheren Wasserstoffproduktionsraten und längeren Zeiträumen.

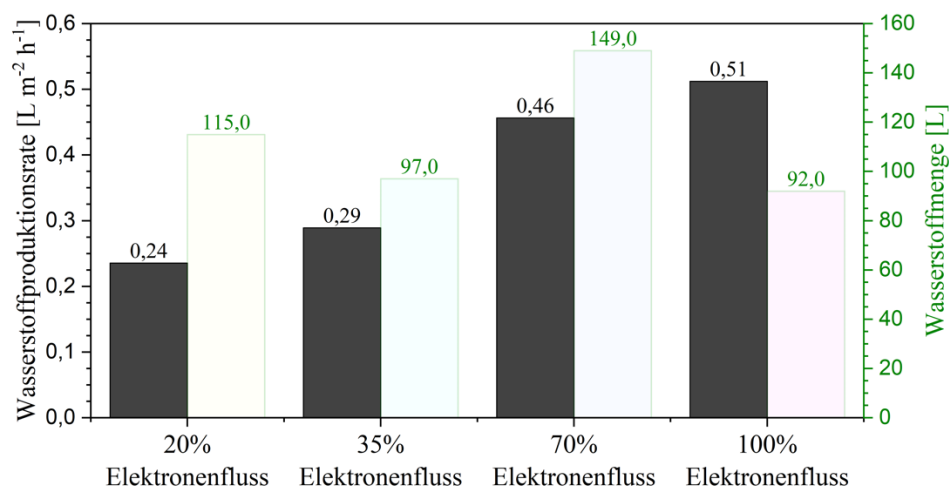


Abbildung 27: Vergleich der theoretischen Wasserstoffproduktionsraten aus der resultierenden Stromdichte bei unterschiedlichen Elektronenflüssen des AD-MEZ-Modells. Das Anodenpotential wurde entsprechend auf Elektronenflüsse von 20 %, 35 %, 70 % und 100 % gestellt. Aus den Wasserstoffproduktionsraten wurden die produzierten Wasserstoffmengen aus den jeweiligen Zeiträumen berechnet.

Der Einfluss des integrierten MEZ-Modells im AD-Modell wird auch bei Betrachtung der pH-Wert- und Acetatkonzentrationsverläufe in Abbildung 28 sichtbar. Dort sind die Verläufe der Messwerte, der simulierten Werte aus der Modellanpassung und die Werte aus der Simulation des AD-MEZ-Modells abgebildet. Es wurden ebenfalls die Verläufe bei unterschiedlichen Acetatverbrauchsrate dargestellt. Der pH-Wert stieg bei einem Elektronenfluss von 20 % ab 20 Tagen leicht an und zeigte höhere Werte im Vergleich zum Verlauf der Modellanpassung. Dahingegen ist im Verlauf nach 88 Tagen bei einem Elektronenfluss von 70 % und nach 115 Tagen bei einem Elektronenfluss von 100 % ein deutlicher Anstieg des pH-Wertes zu erkennen. Dieser Effekt ist wiederum abhängig von der Größe der Acetatverbrauchsrate und zeigt insgesamt eine Verschiebung des pH-Wertes in einen Bereich, der den Messwerten nahekommt. Bei der simulierten Acetatkonzentration konnten ähnliche Effekte festgestellt werden. So sinkt im AD-MEZ-Modell zunehmend die Acetatkonzentration mit steigendem eingestellten Elektronenfluss.

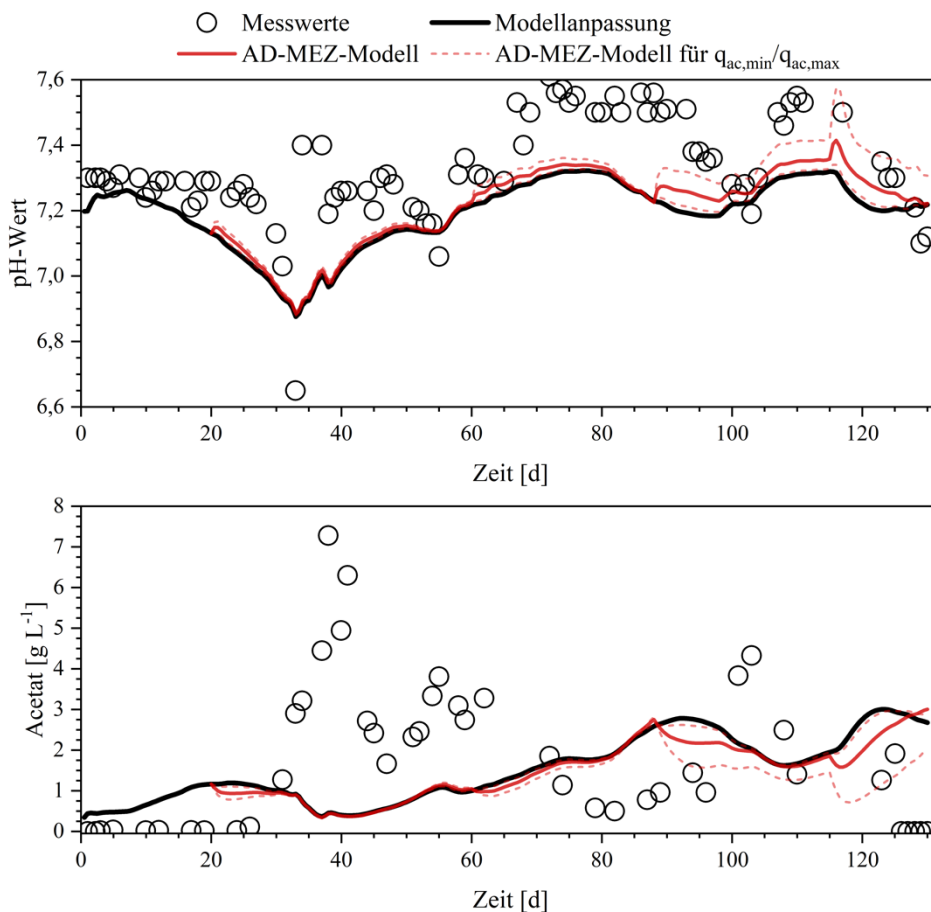


Abbildung 28: Verläufe des pH-Werts und der Acetatkonzentration, verglichen mit den experimentellen Messwerten, den simulierten Werten aus der Modellanpassung und der Simulation des AD-MEZ-Modells. Das AD-MEZ-Modell wurde für eine minimale, eine mittlere und eine maximale Acetatverbrauchsrate von 0,4, 1,2 und 2,0 g L⁻¹ d⁻¹ dargestellt. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.

Dies wurde besonders nach 88 Tagen bei einem Elektronenfluss von 70 % und 100 % deutlich. Die Abnahme der Acetatkonzentration ist abhängig von der Acetatverbrauchsrate und des eingestellten Elektronenflusses. Im Anhang sind in Abbildung A11 die Verläufe der simulierten Werte des AD-MEZ-Modells für die Konzentrationen von Valerat, Butyrat und Propionat sowie der Gaszusammensetzung dargestellt.

Ein Vergleich der reduzierten Acetatkonzentrationen und des Einflusses auf den pH-Wert im AD-MEZ-Modell sind in Abbildung 29 für verschiedene Elektronenflüsse und für den gesamten Zeitraum von 130 Tagen dargestellt. Hierbei zeigte sich, dass die gesamte mittlere Acetatkonzentration im AD-MEZ-Modell mit $1,33 \text{ g L}^{-1}$ im Vergleich zur Konzentration aus der Modellanpassung mit $1,55 \text{ g L}^{-1}$ verringert werden konnte. Anhand der Abbildung wird außerdem eine zunehmende Abnahme der Acetatkonzentration bei steigendem Elektronenfluss deutlich. Zusätzlich sind in Abbildung 29 die mittleren pH-Werte aus der Simulation des AD-Modells und des AD-MEZ-Modells gezeigt. Daraus wird ebenfalls über den gesamten Zeitraum eine durchschnittliche Erhöhung des pH-Wertes um 0,03 im AD-MEZ-Modell erkennbar.

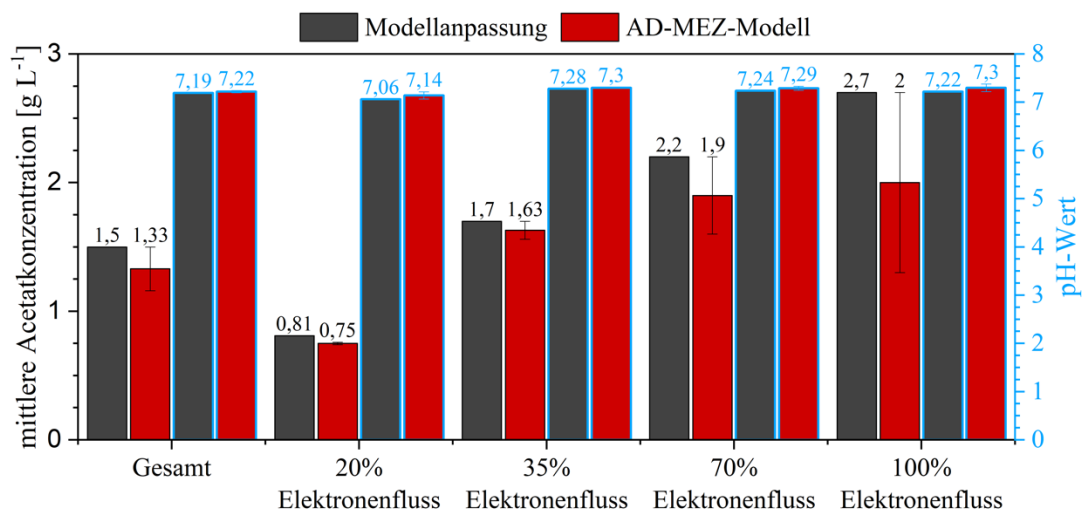


Abbildung 29: Vergleich der mittleren Acetatkonzentrationen zwischen den simulierten Werten der Modellanpassung und der Simulation des AD-MEZ-Modells. Zudem sind die mittleren pH-Werte zwischen den Simulationsmodellen dargestellt. Die Werte sind für den gesamten Zeitraum von 130 Tagen und den Zeiträumen der verschieden eingestellten Elektronenflüsse abgebildet.

Der anfallende Wasserstoff kann in einem autotrophen Prozess unter zusätzlicher Nutzung von Kohlendioxid mit Hilfe eines genetisch modifizierten *C. necator*-Stammes zu Acetoin und 2,3-Butandiol umgesetzt werden. Zuvor wurden Batchversuche mit 1 L Gesamtvolumen und einem Flüssigvolumen von 50 mL simuliert. Um das Prozessmodell zu erweitern und Gaslimitierungen zu vermeiden, wurde das autotrophe Prozessmodell mit einem konstanten Gasfluss von 1 mL min^{-1} simuliert. Dazu wurden die Modellparameter der *budC* (*E. cloacae*)

Variante genutzt und bei einem konstanten Gasfluss mit 12 % CO₂ und 22 % O₂ simuliert. Das Modell wurde bei verschiedenen Wasserstoffanteilen von 62 % und 4 % im Gasstrom durchgeführt.

In Abbildung 30 sind die simulierten Verläufe des autotrophen Prozessmodells unter den genannten Bedingungen über einen Zeitraum von 50 h dargestellt. Daraus geht hervor, dass bei einem niedrigen Wasserstoffanteil von 4 % in der Gasphase ein geringer Verbrauch an CO₂ und O₂ zu verzeichnen ist. Dies wiederum resultierte in einer geringen Produktion von insgesamt 0,3 g L⁻¹ 2,3-Butandiol und 0,1 g L⁻¹ Acetoin. Aus der Simulation mit einem volumetrischen Wasserstoffanteil von 62 % wurden durch das Modell Konzentrationen von 4,2 g L⁻¹ 2,3-Butandiol und von 0,86 g L⁻¹ Acetoin berechnet. Dadurch stieg auch der Verbrauch von CO₂ und O₂ an, wodurch der Anteil auf 8,6 % bzw. 18,4 % sank.

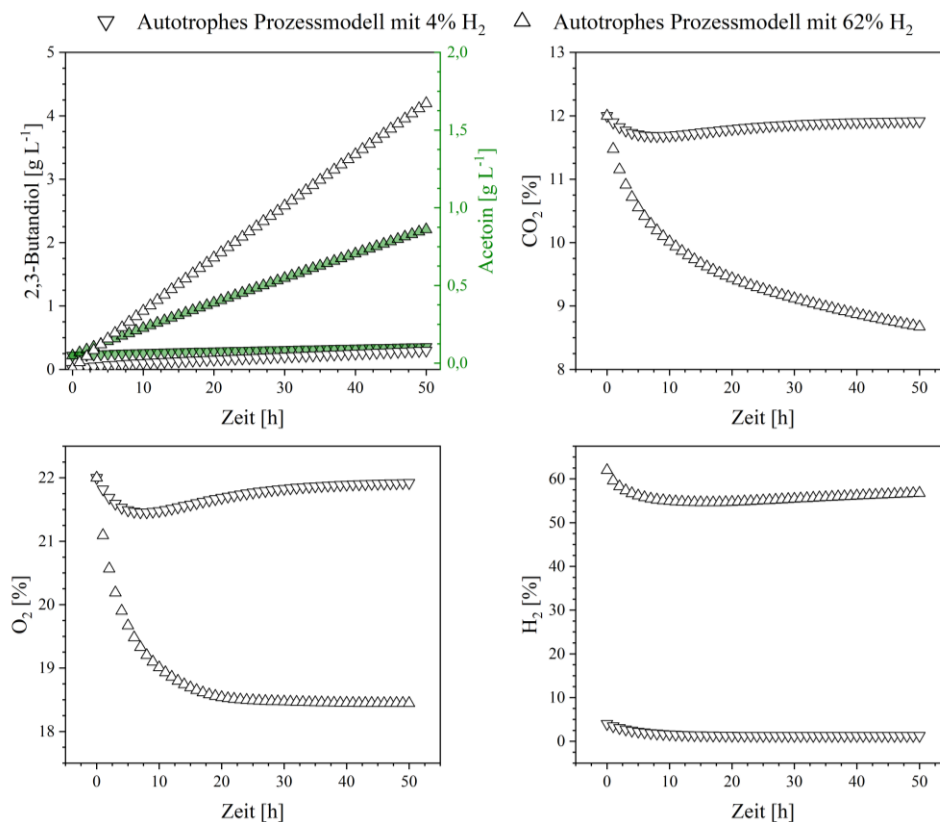


Abbildung 30: Simulierte Verläufe des autotrophen Prozessmodells der *budC* (*E. cloacae*) Variante bei einem konstanten Gasfluss von 1 mL min⁻¹ mit jeweils 4 % und 62 % H₂. Der Anteil von CO₂ und O₂ im Gasfluss betrug zu Beginn 12 % und 22 %. Als Volumen wurden die experimentellen Bedingungen von 1 L Gesamtvolumen und einem Flüssigvolumen von 50 mL gewählt.

3.2 Energetische Nutzung von Urin

Im folgenden Abschnitt wurde die Verwendung von Urin in einer MEZ experimentell untersucht. Zu Beginn wurden Wachstumsversuche der exoelektrogenen Modellorganismen in sterilem Urin durchgeführt und mit synthetischem Medium verglichen, um die Lebensfähigkeit und Wachstumscharakteristika der Organismen in Gegenwart von Urin zu testen. Anschließend wurden Versuche im BES durchgeführt, um die energetische Nutzung von Urin anhand gemessener Stromdichten und theoretischer Wasserstoffproduktionsraten durch die Organismen zu bewerten. Außerdem wurde der Einfluss von Urin auf die Anodengemeinschaft und auf das Biofilmwachstum untersucht.

3.2.1 Wachstum der exoelektrogenen Mikroorganismen in Gegenwart von Urin

Zu Beginn wurde untersucht, ob grundsätzlich ein Wachstum der Modellorganismen *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* mit sterilem Urin möglich ist. Dazu wurden Experimente mit verschiedenen Zusätzen an Mediumbestandteilen durchgeführt und die Wachstumsraten sowie die optischen Dichten bestimmt. In Abbildung 31 sind die Wachstumskurven der beiden Organismen in Gegenwart von Urin mit unterschiedlichen Zusätzen an Substanzen grafisch dargestellt und mit einem Kontrollversuch auf synthetischem Medium verglichen.

Bei den Wachstumsversuchen mit *S. oneidensis* wurden Proben über einen Zeitraum von bis zu 48 h gemessen. Es zeigte sich, dass die Plateauphase sowohl im Urin als auch im urinfreien synthetischen Medium bereits nach 20 h erreicht war, wobei im Letzteren eine maximale optische Dichte von 0,51 gemessen wurde. Im Vergleich dazu konnte im Urinversuch mit einer Komplementierlösung ein vergleichbares Zellwachstum bis zu einer OD_{600} von 0,5 gemessen werden. Die Komplementierlösung beinhaltet Hefeextrakt, Vitamine, Natriumascorbat und Calciumchlorid, wie bereits in Abschnitt 2.1.2 beschrieben wurde. Im Urin mit der Komplementierlösung wurde eine Wachstumsrate von $0,207 \text{ h}^{-1}$ bestimmt. Dieser Wert war damit nur etwas geringer als der des Kontrollversuchs mit $0,232 \text{ h}^{-1}$. Dagegen war das Wachstum der Zellen mit Urin und Zugabe einzelner Bestandteile der Komplementierlösung (Hefeextrakt, Vitaminlösung) oder nur mit Laktat deutlich geringer. Durch die Zugabe von Hefeextrakt wurde eine maximale OD_{600} von 0,32 gemessen, wohingegen das Wachstum mit Laktat eine OD_{600} von 0,17 erreichte. Im Versuch ohne Fumarat konnte ein sehr geringes Wachstum festgestellt werden.

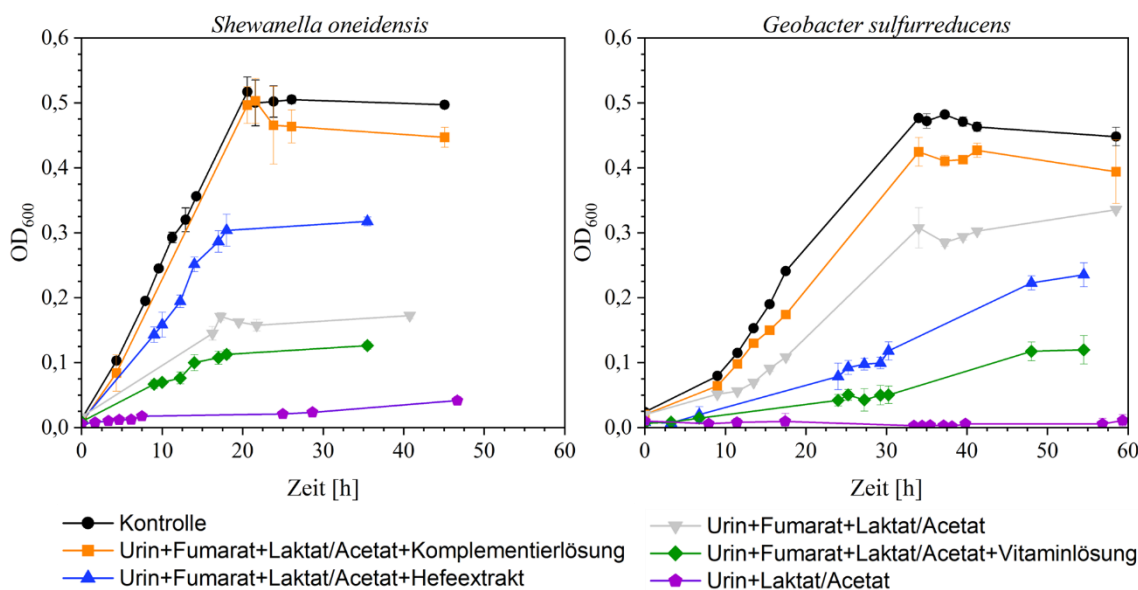


Abbildung 31: Wachstumsexperimente wurden mit *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in sterilem Urin durchgeführt und mit synthetischem Medium als Kontrollversuch verglichen. Es wurden unterschiedliche Komponenten des synthetischen Mediums zu den Urinversuchen dazugegeben und das Wachstum daraufhin untersucht.

Die Wachstumsversuche mit *G. sulfurreducens* wurden über einen Zeitraum von bis zu 60 h untersucht. Es zeigte sich eine verzögerte Wachstumskurve in den ersten 10 h, die dann in eine exponentielle Wachstumsphase überging, bis nach 35 h ein Plateau erreicht wurde. Hier zeigte der Kontrollversuch mit einer Wachstumsrate von $0,145 \text{ h}^{-1}$ und einer OD_{600} von 0,48 die höchsten Werte im Vergleich zu den anderen Experimenten. Bei Zugabe einer Komplementierlösung im Urin wurden vergleichbare Werte der maximalen Wachstumsrate von $0,141 \text{ h}^{-1}$ und einer maximalen OD_{600} mit 0,43 erzielt. Der Wachstumsversuch mit Hefeextrakt, bei dem eine OD_{600} von 0,23 erreicht wurde, verlief dagegen langsamer als nur mit Acetat als Elektronendonator. Hier wurde eine OD_{600} von 0,33 erreicht. Das Wachstum auf Urin mit einer Vitaminlösung war ebenfalls deutlich geringer, während ohne Fumarat kein Wachstum festgestellt wurde. Die maximalen Wachstumsraten und die maximal erreichten optischen Dichten sind in Tabelle 25 zusammengefasst.

Tabelle 25: Übersicht der maximalen Wachstumsraten und der maximal erreichten optischen Dichten von *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in sterilem Urin aus den Wachstumsversuchen verglichen mit synthetischem Medium. Die maximalen Wachstumsraten wurden für *S. oneidensis* zwischen 0-18 h bestimmt und für *G. sulfurreducens* zwischen 7-25 h.

	Kontrolle	Komplementiert	Hefeextrakt	Laktat/Acetat	Vitamine
<i>Shewanella oneidensis</i>					
μ_{\max} [1/h]	0,232	0,207	0,190	0,135	0,140
OD_{\max}	0,51	0,50	0,32	0,17	0,12
<i>Geobacter sulfurreducens</i>					
μ_{\max} [1/h]	0,145	0,141	0,082	0,110	0,066
OD_{\max}	0,48	0,43	0,23	0,33	0,12

3.2.2 Einfluss von Urin im bioelektrochemischen System

Die Möglichkeit der energetischen Nutzung sowie der Einfluss von Urin auf die Entwicklung der Anodengemeinschaft wurden zunächst in einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle untersucht, deren Aufbau in Abschnitt 2.3.1 erläutert wurde. Die Anodenoberfläche wurden mit den exoelektrogenen Mikroorganismen besiedelt und die im Versuchsablauf gemessenen Stromdichten in Gegenwart von sterilem Urin mit synthetischem Medium verglichen.

In der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle konnte mit Hilfe der exoelektrogenen Co-Kultur bei einer Abnahme der Laktatkonzentration von insgesamt 3,8 mM eine maximale Stromdichte von $156 \mu\text{A cm}^{-2}$ nach 80 h auf synthetischem Medium erreicht werden. Verglichen dazu wurde in Gegenwart von Urin eine maximale Stromdichte von bis zu $59 \mu\text{A cm}^{-2}$ nach 80 h gemessen. Dabei sank die Laktatkonzentration um 1,3 mM. Zusätzlich war ein schnellerer Anstieg der Stromdichte nach bereits 15 h im synthetischen Medium zu erkennen, welches nach 50 h in einer ersten Plateauphase mündete. Diese wies bereits eine Stromdichte von $104 \mu\text{A cm}^{-2}$ auf, nahm jedoch nach 60 h weiter zu. Verglichen dazu konnte dies im Urinversuch nicht beobachtet werden. Stattdessen konnte nach 50 h eine langsame, aber stetige Zunahme der Stromdichte gemessen werden. Die gemessenen Stromkurven sind in Abbildung 32 dargestellt. Bei Betrachtung der coulombschen Effizienz konnte mit synthetischem Medium eine Effizienz von 58 % und mit sterilem Urin von 77,4 % erzielt werden.

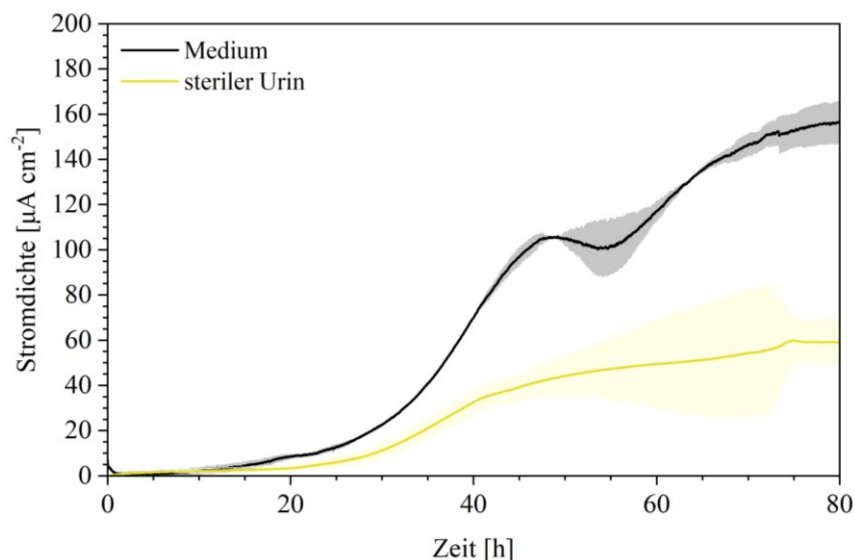


Abbildung 32: Vergleich der gemessenen Stromdichten der exoelektrogenen Co-Kultur mit synthetischem Medium zu sterilem Urin mit zusätzlichem Laktat über einen Zeitraum von 80 h in einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle. Der Aufbau des Systems ist in Abschnitt 2.3.1 beschrieben. Es konnte eine höhere Stromdichte von $156 \mu\text{A cm}^{-2}$ in synthetischem Medium als in Urin mit $59 \mu\text{A cm}^{-2}$ gemessen werden.

In Abbildung 33 sind die mittleren Stromdichten und die daraus resultierenden Wasserstoffproduktionsraten abgebildet. Über den beobachteten Zeitraum von 80 h wurde auf synthetischem Medium eine mittlere Stromdichte von bis zu $68,5 \mu\text{A cm}^{-2}$ ermittelt. Unter den Bedingungen mit sterilem Urin betrug die mittlere Stromdichte $28,4 \mu\text{A cm}^{-2}$ und war damit um 59 % geringer als in synthetischem Medium. Anhand der mittleren Stromdichten wurden jeweils die Wasserstoffproduktionsraten bestimmt. Daraus ergab sich eine höhere Wasserstoffproduktionsrate von $0,31 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ in synthetischem Medium als in Gegenwart von sterilem Urin mit $0,13 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Die Wasserstoffproduktionsraten wurden wie in Abschnitt 2.4 beschrieben ermittelt. Die um 59 % geringere Stromdichte im Urin kann mit den Wachstumsexperimenten im Urin mit Zugabe von Laktat in Verbindung gebracht werden. Daraus ging eine um 42 % geringere maximale OD_{600} und eine um 66,6 % geringere maximale Wachstumsrate von *S. oneidensis* im Vergleich zur Kontrolle hervor (Tabelle 25).

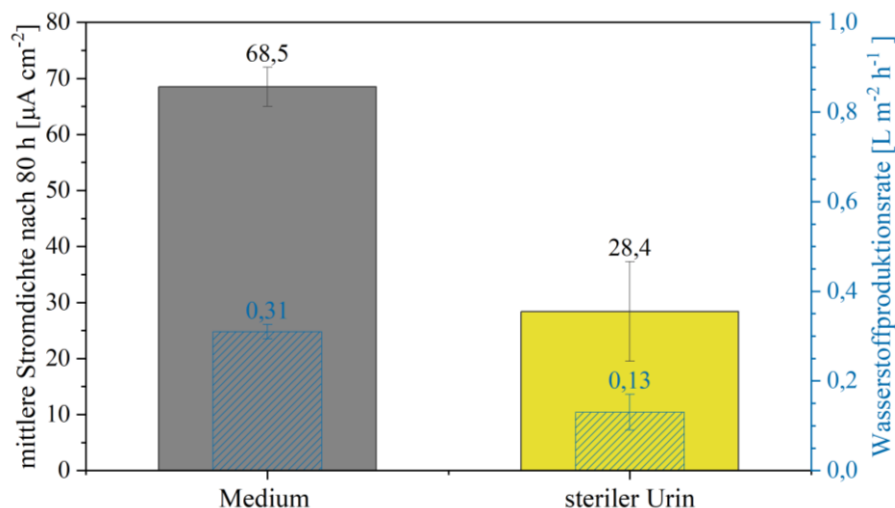


Abbildung 33: Darstellung der mittleren Stromdichten nach 80 h als schwarz umrandete Balken im Vergleich von synthetischem Medium zu sterilem Urin mit Laktat in einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle. In blau sind die theoretischen Wasserstoffproduktionsraten basierend auf der mittleren Stromdichte im Vergleich dargestellt. Es wurde eine höhere mittlere Stromdichte im synthetischen Medium sowie eine daraus resultierende Wasserstoffproduktionsrate ermittelt.

Die Entwicklungen der Anodengemeinschaften in synthetischem Medium sowie in Gegenwart von sterilem Urin sind in Abbildung 34 dargestellt. Eine Analyse des entwickelten Anodenbiofilms zeigte, dass im synthetischen Medium *G. sulfurreducens* mit 96,8 % nach 80 h dominierte. Gleichzeitig wurde unter Bedingungen mit sterilem Urin eine andere Verteilung festgestellt. Mit 45,8 % *S. oneidensis* und 54,2 % *G. sulfurreducens* zeigte sich ein vergleichbares Vorkommen der Mikroorganismen im Anodenbiofilm

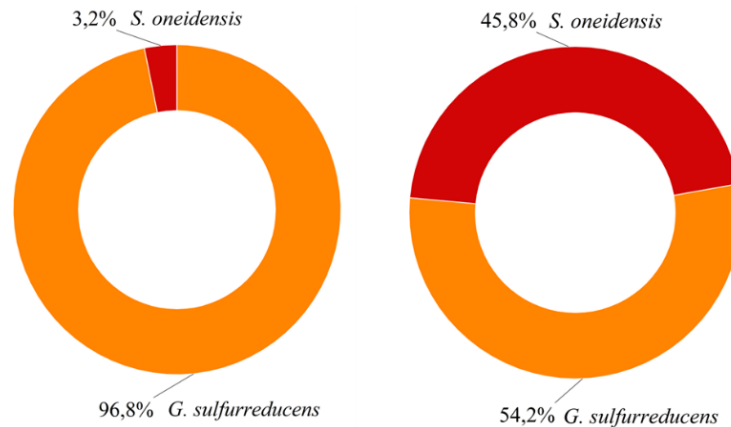


Abbildung 34: Darstellung der bioinformatischen Analyse der Anodengemeinschaft nach 80 h im synthetischen Medium (links) und im sterilen Urin mit Laktat (rechts) in einer mikrobiellen 3-Elektrodenzelle. Zu sehen ist die Abundanz der Organismen *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in der Biofilmgemeinschaft, wobei ein deutlicher Unterschied der Verteilung der Organismen zwischen den verwendeten Medien zu erkennen ist.

Weiterhin wurde die exoelektrogene Co-Kultur unter verbesserten hydrodynamischen Bedingungen bei einstellbaren Flussraten des Mediums in einer 3-Elektroden-Durchflusszelle untersucht, deren Aufbau in Abschnitt 2.3.2 beschrieben wurde. Zusätzlich wurde der Biofilmaufwuchs mithilfe der optischen Kohärenztomographie über 310 h überwacht und als Biovolumen zusammen mit der Stromdichte in Abbildung 35 dargestellt. Zu Beginn wurden die exoelektrogenen Mikroorganismen auf synthetischem Medium unter Zusatz von sterilem Urin von 1/5 des Gesamtvolumens angezogen. Innerhalb der ersten 100 h stieg die gemessene Stromdichte langsam an und ging danach in einen exponentiellen Anstieg über. Nach 150 h stellte sich langsam eine Plateauphase der gemessenen Stromdichte ein, wobei nach 193 h eine Stromdichte von rund $400 \mu\text{A cm}^{-2}$ erreicht wurde. Während der Anwuchsphase nahm die Laktatkonzentration bis 193 h um 8 mM ab.

Im Anschluss wurde das System auf unsterilen Urin umgestellt, indem das Medium komplett ausgetauscht wurde. Daraufhin sank die gemessene Stromdichte nach 216 h auf $75 \mu\text{A cm}^{-2}$. Allerdings konnte direkt nach dem Wechsel auf unsterilen Urin ein Anstieg der Stromdichte nach 200 h auf $108 \mu\text{A cm}^{-2}$ beobachtet werden. Zusätzlich wurde 18 mM Laktat als zusätzliche Kohlenstoffquelle nach 216,7 h hinzugegeben, wodurch eine sprunghafte Zunahme der Stromdichte auf bis zu $350 \mu\text{A cm}^{-2}$ gemessen werden konnte. Im weiteren Verlauf nahm diese stetig ab und erreichte bei 310 h schlussendlich einen Wert von $196 \mu\text{A cm}^{-2}$, wobei die Laktatkonzentration um 6,3 mM sank. Bei der Messung des Biofilms, dargestellt als Biovolumen, wurde während der ersten 125 h trotz der bereits hohen Stromdichte von $284 \mu\text{A cm}^{-2}$ nur ein geringes Wachstum gemessen.

Während der Plateauphase der Stromdichte ab 150 h und nach der Umstellung auf unsterilen Urin konnte bis 262 h ein stetiges Wachstum des Biofilms gemessen werden, der am Ende

eine Höhe von 116 μm und ein Biovolumen von 2,8 mm^3 erreichte. Im Anhang sind das Höhenprofil des Biofilms über den zeitlichen Verlauf des Experiments und eine Ansicht der Biofilmaufnahme durch OCT in den Abbildungen A2 und A3 dargestellt. Die coulombsche Effizienz in diesem Experiment betrug 78,4 % nach 193 h. Außerdem konnte im unsterilen Urin mittels einer HPLC-Analyse Zitronensäure gemessen werden, welche nach 216,5 h nicht mehr nachweisbar war, was auf einen Verbrauch der Zitronensäure innerhalb der vorangegangenen 23,5 h hindeutet.

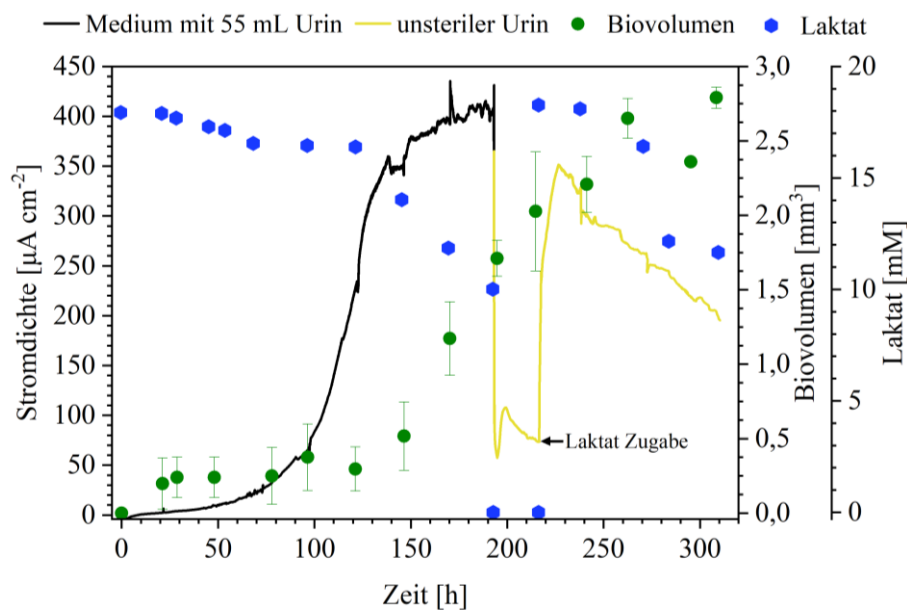


Abbildung 35: Verlauf der Stromdichte und des Biovolumens der exoelektrogenen Co-Kultur in synthetischem Medium mit sterilem Urin (1/5 Urin des Gesamtvolumens von 275 mL) und nach Austausch des Mediums auf unsterilen Urin in der 3-Elektroden-Durchflusszelle. Es wurde über einen Zeitraum von 310 h gemessen und nach 216,7 h 18 mM Laktat als zusätzliche Kohlenstoffquelle zum unsterilen Urin hinzugegeben. Die Flussrate im System wurde nach 146 h konstant bei 23 mL min^{-1} gehalten.

In Abbildung 36 sind die mittleren Stromdichten und die daraus resultierenden Wasserstoffproduktionsraten in Gegenwart von synthetischem Medium unter Zusatz von Urin nach dem Austausch des Mediums zu unsterilen Urin und mit Zugabe von Laktat dargestellt. Nach der Anwuchsphase der Co-Kultur wurde für eine Plateauphase ab 150 h eine mittlere Stromdichte von 395,9 $\mu\text{A cm}^{-2}$ im Medium mit sterilem Urin über einen Zeitraum von 43 h bestimmt. Anhand dieser Stromdichte wurde eine Wasserstoffproduktionsrate von 1,81 $\text{L m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ermittelt. Nach dem Wechsel des Mediums zu unsterilem Urin verringerte sich die mittlere Stromdichte um 78,5 % auf 84,9 $\mu\text{A cm}^{-2}$ innerhalb eines Zeitraums von 23 h. Nach der Zugabe von Laktat nahm diese wieder zu und erreichte über einen Zeitraum von 93 h einen Wert von 307 $\mu\text{A cm}^{-2}$ und verringerte sich damit um 22,5 % im Vergleich zur mittleren Stromdichte mit synthetischem Medium. Somit ergaben sich Wasserstoffproduktionsraten

unter den Bedingungen von unsterilem Urin ohne und mit Laktat von jeweils $0,39 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ bzw. $1,4 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

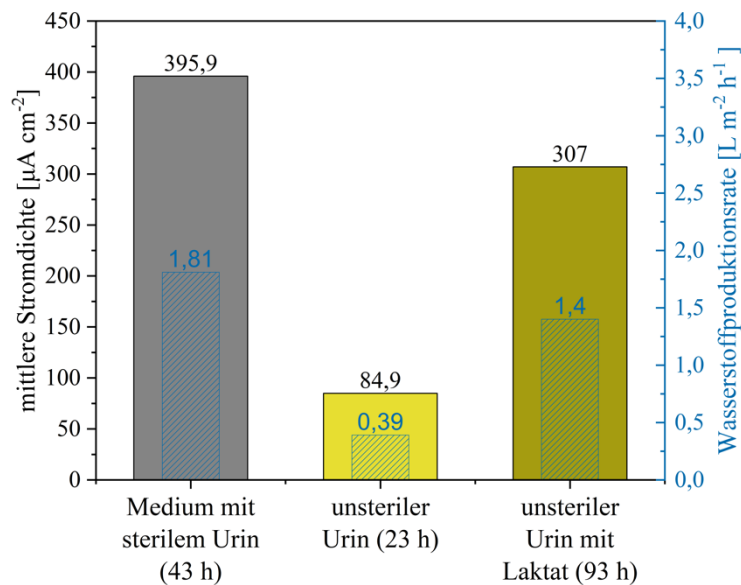


Abbildung 36: Darstellung der mittleren Stromdichten als schwarz umrandete Balken im Vergleich von synthetischem Medium mit sterilem Urin (1/5 des Gesamtvolumens von 275 mL) zu unsterilem Urin ohne und mit Laktat in der 3-Elektroden-Durchflusszelle. In blau sind die theoretischen Wasserstoffproduktionsraten basierend auf der mittleren Stromdichte dargestellt. Für die mittlere Stromdichte des Mediums wurde die Plateauphase ab 150-193 h für einen Zeitraum von 43 h betrachtet. Die mittleren Stromdichten für unsterilen Urin wurden jeweils über deren gesamten Verlauf bestimmt, da sich keine Plateauphase einstellte.

In Abbildung 37 sind im linken Diagramm die Porosität des Biofilms bei variierenden Flussraten und das gemessene Biovolumen im zuvor beschriebenen Versuch dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die Flussrate innerhalb der ersten 146 h alle 24 h von 1 mL min^{-1} auf 23 mL min^{-1} erhöht wurde. Während dieser Zeit konnte eine Abnahme der Porosität des Biofilms auf bis zu 57,4 % ermittelt werden und den Biofilm komprimierte. Die Porosität beschreibt die Kompaktheit des Biofilms und gibt an wie dicht bzw. wie löchrig dieser sein kann. Außerdem wurde innerhalb der Anwuchsphase bis 146 h nur eine geringe Zunahme des Biovolumens auf $0,51 \text{ mm}^3$ gemessen und von $2,8 \text{ mm}^3$ zum Ende des Versuchs, wobei die Stromdichte bereits auf $350 \mu\text{A cm}^{-2}$ anstieg. Danach wurde die Flussrate konstant auf 23 mL min^{-1} gehalten und es konnte eine weitere Abnahme der Porosität auf 26,4 % bestimmt werden. Währenddessen wuchs der Biofilm weiter an und erreichte schlussendlich ein Biovolumen von $2,8 \text{ mm}^3$. Auffällig war, dass bereits ab 214 h die Porosität des Biofilms bei 31 % lag und bis zum Ende des Versuchs innerhalb von 96 h nur um 5,4 % geringer wurde. Nach 310 h wurde eine Analyse der Anodengemeinschaft durchgeführt, welche in Abbildung 37 im rechten Diagramm abgebildet ist. Es zeigte sich, dass *G. sulfurreducens* mit 88 % die höchste Abundanz im Biofilm vorwies. Außerdem wurde neben *S. oneidensis* zusätzlich 2 % der Vertreter der *Enterococcaceae* in der Anodengemeinschaft nachgewiesen.

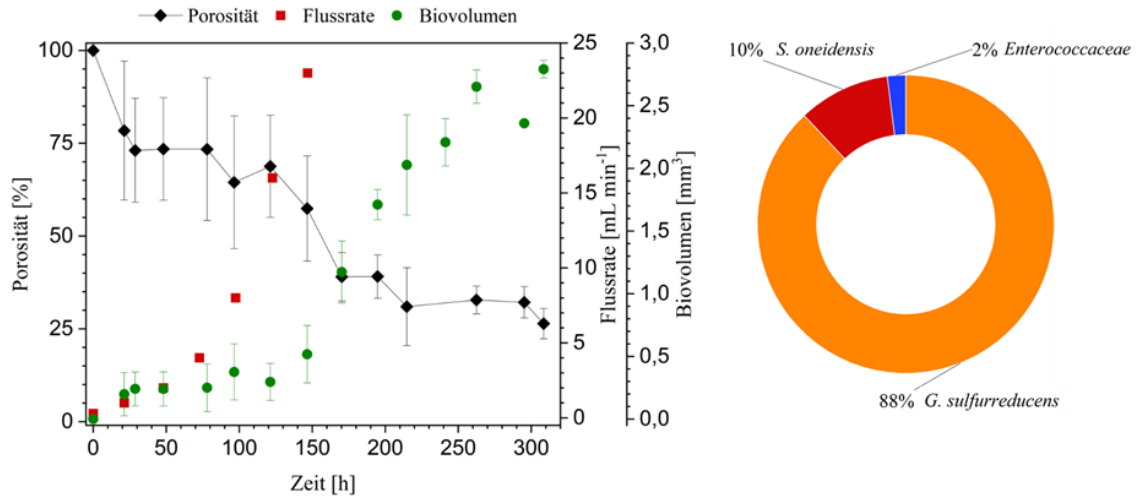


Abbildung 37: Verlauf der berechneten Porosität des Biofilms sowie der variierten Flussrate und des anwachsenden Biofilms als Biovolumen in der 3-Elektroden-Durchflusszelle (links). Die Flussrate wurde innerhalb der ersten 146 h alle 24 h variiert. Die Porosität zeigt die Kompaktheit des Biofilms und gibt an, wie dicht bzw. wie löchrig dieser sein kann. Die Darstellung der Analyse der Anodengemeinschaft nach 310 h ist im rechten Diagramm abgebildet.

4. Diskussion

Für eine nachhaltige Wirtschaftsweise müssen die vorhandenen Ressourcen effizienter genutzt werden. Ein Ansatz ist die Verwendung von biobasierten Abfallströmen, welche in einer MEZ in elektrische Energie umgewandelt werden können und eine effiziente Erzeugung von Wasserstoff als alternativem Energieträger ermöglichen.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Nutzung von biobasierten Abfällen wie Rübensilage und Urin anhand von zwei verschiedenen Prozessausführungen behandelt. Für den Prozess einer flexiblen Biogaserzeugung wurden die beteiligten Prozesse in separaten Prozessmodellen betrachtet und anschließend in einem Gesamtmodell dargestellt.

Zu Beginn wurde die Verwendung einer MEZ mit einer definierten Co-Kultur aus *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* bei verschiedenen Anodenpotentialen untersucht. Dazu wurde eine Elektrodenregelung in einem mathematischen Prozessmodell der MEZ entworfen, um den Elektronenfluss zu steuern. Anschließend wurde das Modell der Biogaserzeugung auf Basis von Rübensilage betrachtet und validiert. Es wurde danach die Produktion von Plattformchemikalien in verschiedenen Prozessmodellen simuliert. Abschließend wurde die Kombination der MEZ mit dem Biogasprozess abgebildet und eine Steuerung der Biogas- und Wasserstoffproduktion demonstriert.

Im zweiten Schwerpunkt dieser Arbeit wurde untersucht, ob Urin als alternative Substratquelle in einer MEZ mit einer definierten Co-Kultur verwendet werden kann. Dies hätte den Vorteil, dass kein Konflikt zwischen energetischer und stofflicher Nutzung entsteht.

4.1 Modellierung einer MEZ zur Steuerung der Stromproduktion

Es wurde eine definierte exoelektrogene Co-Kultur aus *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* im größeren volumetrischen Maßstab von 12,6 L in einem 3-Elektroden-Drehscheiben-Reaktor untersucht. In diesem System wurde das synthetische Medium im Batch-Betrieb im Kreis gepumpt, um bessere hydrodynamische Bedingungen zu schaffen. Hierbei sollte nach der Ausbildung eines leitfähigen Biofilms die Aktivität sowie die Robustheit der Co-Kultur bei verschiedenen Anodenpotentialen und somit die Steuerung und der Einfluss auf die Stromproduktion untersucht werden (Knoll *et al.* 2023). Dies wurde als Grundlage für die Validierung eines Prozessmodells zur Beschreibung der Co-Kultur und der Steuerung der erzeugten Stromdichte in einer MEZ genutzt.

In diesem System wurde der Elektronentransfer bzw. der Elektronenfluss des Biofilms der Co-Kultur zur Anode in einer linearen Sweep-Voltammetrie untersucht und durch das angelegte Anodenpotential im Bereich von -0,26 V-0,24 V variiert (Knoll *et al.* 2023). Es

zeigte sich ein sich einstellendes Plateau der gemessenen Stromdichte bei Potentialen ab 0 V und keine Stromproduktion bei -0,24 V. Daraus ging hervor, dass die Stromproduktion der Co-Kultur vom angelegten Potential abhängt, dass die Abgabe der Elektronen an die Anode begrenzt werden kann und im Prozessmodell als Funktion des Potentials beschrieben werden muss. Es wurde bereits in einer weiteren Arbeit die Stabilität eines Biofilms mit drei Organismen, darunter auch *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens*, bei Änderungen des Anodenpotentials in einem Batch-System im Labormaßstab untersucht, welche vergleichbare Ergebnisse zeigte (Prokhorova *et al.* 2017). Dieser beobachtete Effekt ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass die Elektronentransportkette auf der Zellmembran der Organismen aus Cytochromen vom Typ c unterschiedliche Redoxpotentiale aufweisen, weshalb angelegte Anodenpotentiale für einen optimalen Elektronentransfer nahe an den Standardpotentials des Membranredoxsystems sein sollten (Harnisch und Holtmann 2019; Paoli *et al.* 2002).

Daraufhin wurde die Steuerung des Elektronenflusses der Co-Kultur über einen längeren Zeitraum von 35 h bei Anodenpotentialen der maximalen Stromdichte und bei Anodenpotentialen einer geringeren Stromdichte untersucht. Es stellte sich heraus, dass eine plötzliche Senkung des Potentials über Zeiträume von 2-8 h wie erwartet zu niedrigeren Stromdichten führten, aber nach einer erneuten Erhöhung des Potentials keine negativen Auswirkungen auf die maximale Stromdichte hatten. Dies wurde sowohl für eine Senkung des Elektronenflusses auf 20 % sowie auf 50 % der maximalen Stromdichte beobachtet. Jedoch fiel dabei auf, dass bei geringeren Anodenpotentialen es bis zu 5 h dauerte, bis eine Plateauphase der Stromdichte erreicht wurde, wohingegen sich bei dem Potential der maximalen Stromdichte direkt ein Plateau einstellte. Offenbar benötigten die Organismen eine gewisse Anpassungszeit an die neuen Bedingungen bei niedrigen Potentialen, die nicht ihrem Optimum entsprachen. Dennoch konnte damit gezeigt werden, dass es möglich ist, den Elektronenfluss und die Aktivität einer mikrobiellen Co-Kultur über einen längeren Zeitraum zu steuern und zu beeinflussen, ohne die Gesamtleistung des Systems zu beeinträchtigen (Knoll *et al.* 2023).

Damit konnten die experimentellen Daten als Grundlage für ein Prozessmodell zur Beschreibung der MEZ verwendet werden. In diesem Modell wurde die Steuerung des Elektronenflusses als Funktion des Potentials beschrieben, wobei auch der Substratumsatz berücksichtigt werden musste. Dazu wurden die Butler-Volmer-Monod und die Nernst-Monod-Gleichung benutzt und miteinander verglichen, da theoretisch beide Kinetiken die Stromproduktion unter den genannten Abhängigkeiten beschreiben können (Marcus *et al.*

2007; Hamelers *et al.* 2011). Die Simulationen zeigten, dass mit dem BVM-Modell die Polarisationskurven aus der linearen Sweep-Voltammetrie im Vergleich zu dem NM-Modell genauer berechnet werden konnten. Diese Erkenntnis wurde bereits in einer anderen Arbeit in einem direkten Vergleich der beiden Modellansätze bestätigt (Hamelers *et al.* 2011). Ein möglicher Grund für die bessere Anpassungsgenauigkeit und Beschreibung der Polarisationskurven könnte sein, dass die BVM-Kinetik mehr Parameter als die NM-Kinetik enthält und zusätzliche bioelektrochemische Teilprozesse beschreibt, wodurch eine genauere Anpassung der Kinetik an den Datensatz möglich ist.

Dabei handelt es sich um die Parameter K_1 und K_2 , die zum einen das Verhältnis der bioelektrochemischen Reaktion zur elektrochemischen Reaktion angeben und zum anderen das Verhältnis von Vorwärts- zu Rückwärtsreaktionen der Redoxkomponenten beschreiben (Hamelers *et al.* 2011). Beispielsweise würde sich die Form der simulierten Polarisationskurve der Form des NM-Modells annähern, wenn der Wert von K_1 in der BVM-Anpassung klein ist und gegen Null geht. Die angepassten Werte von K_1 lagen zwischen 2-3, was bedeutet, dass eine bioelektrochemische Reaktion im Modell häufiger als eine elektrochemische Reaktion abläuft, was mit berichteten Daten übereinstimmt (Hamelers *et al.* 2011). Da in dem System das vorliegende Substrat von Mikroorganismen verbraucht wurde, sollte das Verhältnis einer Vorwärts- zu Rückwärtsreaktion der Redoxkomponente und somit der Parameter $K_2 > 1$ sein, was durch die Parameteranpassung bestätigt wurde.

Bei der Simulation der Potentialwechsel und den daraus resultierenden Stromdichten konnte gezeigt werden, dass sowohl das BVM als auch das NM-Modell die experimentellen Daten vergleichbar abbilden konnten. Es war möglich, mithilfe der Kinetiken die Steuerung des Elektronenflusses durch eine Veränderung des Anodenpotentials zu berechnen. Außerdem konnte gezeigt werden, dass mit den angepassten Modellparametern der Kinetiken eine Vorhersage der zu erwartenden Stromdichte eines ausgewählten Potentials möglich ist. Dafür eignen sich beide untersuchten Modellkinetiken, da durch einen Potentialwechsel in den Modellen eine Lösung berechnet wird, die zu einer resultierenden Stromdichte führt. Jedoch konnte in beiden Modellen das Anpassungsverhalten der Co-Kultur bei niedrigen Potentialen nicht abgebildet werden. In der Anwendung ist das NM-Modell dennoch leichter umzusetzen als das BVM-Modell, da es weniger Parameter enthält und die Stromdichten bei der Steuerung der Elektronenflüsse gut abbildet. Zusätzlich wurde für die Simulation angenommen, dass keine Substratlimitierung vorliegt, wobei der Monod-Term in dem NM-Modell bei geringen K_S -Werten und hohen Substratkonzentrationen gegen 1 tendiert und nur minimale Auswirkungen auf die Berechnung der Stromdichte hätte. Im Gegensatz dazu wird

in dem BVM-Modell der Substrataffinitätsterm in Abhängigkeit des Potentials formuliert, wodurch sich der Ansatz deutlich von dem NM-Modell unterscheidet. Daraus geht hervor, dass verschiedene Substrataffinitäten bei unterschiedlich angelegten Potentialen zu erwarten sind. Es wurde bereits von Werten der Substrataffinität von *G. sulfurreducens* zu Acetat von 0,28-0,42 mM berichtet (Korth *et al.* 2020). Die angepassten Werte in dieser Arbeit sind mit 0,08-0,11 mM etwas geringer, wobei es sich dabei um eine Co-Kultur handelte, in der wahrscheinlich *G. sulfurreducens* als dominierende Spezies im Anodenbiofilm vorkommt.

In diesem Prozessmodell wurde Acetat und nicht Laktat im Substratterm genutzt, da bereits gezeigt wurde, dass *G. sulfurreducens* langfristig die dominierende Spezies im Biofilm der Co-Kultur ist und zusätzlich bei einer Integration im Modell des Biogasprozesses das gebildete Acetat nutzen kann. Außerdem ist dieses Modell ein wichtiger Schritt in Richtung eines automatisierten Systems, das die Prozessbedingungen des Gesamtprozesses im stationären Betrieb je nach der Substratverfügbarkeit steuern kann. Mikrobielle Elektrolysezellen werden zur Erzeugung von Wasserstoff eingesetzt, wobei der erforderliche Energieeintrag in das System hauptsächlich vom Anodenpotential abhängt. Mithilfe dieses Modells wird es möglich sein, dynamisch auf Änderungen der Energieverfügbarkeit und der Energiepreise zu reagieren.

4.2 Anwendung des massenbasierten ADM1-Modells

Um den anaeroben Abbauprozess zum Beispiel in einer Biogasanlage mit einer Simulation abbilden zu können, wurde das massenbasierte ADM1 als mathematisches Prozessmodell genutzt, welches in Abschnitt 2.6.1 beschrieben wurde (Weinrich 2017). Damit war es möglich, auf der Basis von Rübensilage die Biogasproduktion sowie die anfallenden organischen Säuren aus den Prozessschritten der Acidogenese und Acetogenese zu modellieren, wie in Abschnitt 3.1.2 gezeigt wurde.

Zu Beginn wurden die Modelleingangsparameter durch eine Substratcharakterisierung der verwendeten Rübensilage bestimmt. Von Bedeutung sind dabei die Anteile der fermentierbaren Nährstoffanteile an Kohlenhydraten, Proteinen und Fetten, die im Modell mithilfe von Hydrolysekonstanten in Zucker, Amino- und Fettsäuren umgewandelt werden, welche als Ausgangsstoffe für die Biogasproduktion benötigt werden (Weinrich und Nelles 2021b; Weinrich *et al.* 2021). Hierbei lagen die berechneten Werte in vergleichbaren Bereichen zu berichteten Analysen, wobei der Proteinanteil geringfügig größer war. Dies lag vermutlich daran, dass die Eingangsparameter in den Anwendungen zuvor mit einem konstanten Gesamtfeststoffgehalt des Substrats berechnet wurden. In den zur Verfügung

gestellten Messdaten wurde dieser Wert jedoch täglich für das zugefütterte Substrat gemessen und variierte daher. Insgesamt war die berechnete Konzentration an fermentierbaren Kohlenhydraten um bis zu 26-fach größer als die der Proteine und Fette, wobei die Anteile der Nährstoffbestandteile maßgeblich von dem eingesetzten Substrat abhingen und sich unterschiedlich auf die Modellrechnung auswirken könnten. Grundsätzlich kann jedoch aus dem Abbau von Fetten das höchste Biogasbildungspotential von ca. 72 % Methan erwartet werden, wohingegen aus Proteinen ca. 60 % und aus Kohlenhydraten ca. 50 % Methan zu erwarten sind (Verein Deutscher Ingenieure 2016). In der Modellrechnung wurde ein durchschnittlicher Methangehalt von 50 % berechnet, wohingegen der Anteil aus den Messdaten bei 57 % lag. Dies ergibt durchaus Sinn, da der Gehalt an Kohlenhydraten im Modelleingang am größten war und die Berechnungen in der Modellstruktur innerhalb der vier Abbauschritte auf einer festen Stöchiometrie basieren. Zusätzlich kann bei der dynamischen Modellierung kontinuierlicher Prozesse das Biogasbildungspotential von dem Zerfall und der Verwertung abgestorbener Zellen beeinflusst werden, welche den Mikroorganismen wieder als Substrat zur Verfügung stehen. Bei einer Variation der Zelllyse-Rate der mikrobiellen Biomasse zeigte sich aus der Sensitivitätsanalyse in Tabelle A6 ein effektiver Einfluss auf die Bilanz der organischen Säuren mit 16 %-35 % und einen geringen Einfluss auf die Biogasproduktion von 0,8 %. Verglichen dazu zeigte eine Variation der Hydrolyserate des Kohlenhydratanteils einen Einfluss auf die Biogasproduktion von 1,4 %.

In dem Prozessmodell konnte nach einer Anpassung der Modellparameter eine bessere Abbildung der Messwerte im Vergleich zu einer Simulation mit Standardwerten erzielt werden, wobei eine Modellanpassung eine Rechenzeit von ca. 1 h benötigte und die Komplexität der Modellstruktur des Biogasprozesses verdeutlicht. In den Gleichungen des Modells existieren sehr viele Abhängigkeiten zwischen den berechneten Messgrößen, wodurch nicht alle Simulationsergebnisse durch eine Anpassung von 20 kinetischen Parametern zu einer positiven Anpassungsgüte geführt haben. Dennoch konnten dynamischere Verläufe berechnet werden, die den Messwerten besser entsprachen als in der Modellrechnung mit Standardparametern, wie die Abbildungen 19 und 21 zeigen. Im Fokus lag vor allem die Berechnung der Biogasproduktionsrate, welche nach 35 d aufgrund einer Senkung des pH-Wertes sowie einer Akkumulation organischer Säuren und einer reduzierten Fütterungsrate stark sank, was zu einer Inhibierung der acetoklastischen Methanogenese führte. Dieser Prozessschritt wurde im Modell bei einem pH-Bereich zwischen 6-7 und durch eine zu hohe Säurekonzentration gehemmt. Der pH-Wert lag überwiegend im leicht basischen Bereich über 7, zum Zeitpunkt der Inhibierung jedoch darunter. Der pH-Wert wurde in einer

Ionenbilanz bestimmt und zeigte beispielsweise in der Modellrechnung mit Standardwerten aufgrund des niedrigen Konzentrationsniveaus der organischen Säuren einen nahezu konstanten Verlauf.

Anhand der Messwerte zeigte sich im Verlauf eine teilweise sehr starke Akkumulation an organischen Säuren, beginnend nach 35 d, was auf eine Prozessstörung bzw. Prozesshemmung des anaeroben Abbaus hindeutet. In der Modellrechnung konnten diese Schwankungen nicht passend abgebildet werden, da die Änderungen der Messwerte teilweise zu extrem variierten. Zusätzlich begann in dem Prozessmodell die Zunahme der Säuren bereits deutlich vor Eintreten der Prozesshemmung, um die hohen Konzentrationen zu erreichen. Aber es konnte keine Erhöhung der Acetatkonzentration, wie im Verlauf der experimentellen Daten hervorgeht, zu diesem Zeitpunkt berechnet werden. Demgegenüber trat eine Akkumulation von Acetat nach dem Abbau der akkumulierten Säuren an Valerat, Butyrat und Propionat ein. Die resistenteren säurebildenden Mikroorganismen sind in der Lage, mehr Säuren zu tolerieren und zu produzieren, bevor eine Inhibierung eintritt, weshalb die organischen Säuren aus dem Schritt der Acedogenese zu Beginn weiter anstiegen (Stafford 1982). Dadurch trat eine Hemmung der säureabbauenden Acidogenese sowie der acetoklastischen Methanogenese ein. Zusätzlich gilt in der Praxis ein Anstieg an Propionat häufig als Indikator einer bevorstehenden Prozesshemmung, wobei ein Propionat-Acetat-Verhältnis von größer als 1,4 herangezogen wird, welches in der Modellrechnung bei 4 lag (Nielsen *et al.* 2007).

In dem Prozessmodell wird die Biogasbildung überwiegend aus der acetoklastischen und weniger aus der hydrogenotrophen Methanogenese berechnet. Jedoch zeigt sich anhand der Gaszusammensetzung nach 35 d, dass der CO₂-Anteil sinkt und vermutlich verstärkt in der hydrogenotrophen Methanbildung verbraucht wurde, da dieser Prozess im Modell erst ab einem pH-Wert unter 6 inhibiert wird. Zudem hängt die gute Löslichkeit von Kohlendioxid sowie das Dissoziationsgleichgewicht vom pH-Wert ab, womit die Gaszusammensetzung beeinflusst werden kann. Da sich in der Modellrechnung bei hohen pH-Werten das Dissoziationsgleichgewicht in Richtung Hydrogencarbonat verschiebt, wodurch nur eine geringere CO₂-Konzentration in der Flüssigphase vorliegt, sinkt folglich das CO₂ in der Gasphase und der Methangehalt steigt.

Das Prozessmodell wurde mit der Zielfunktion zur Minimierung der Summe der Fehlerquadrate durchgeführt, wobei die Messdaten einige Extremwerte aufwiesen, die möglicherweise in der Zielfunktion zur Anpassung der Modellrechnung überbewertet wurden. Die eingesetzte Zielfunktion eignet sich besser bei normalverteilten Messfehlern, ist aber

einfach in der Anwendung (Donoso-Bravo *et al.* 2011; Weinrich 2017). Der Einfluss von Extremwerten kann im Verlauf des pH-Wertes betrachtet werden, da dort nur ein Messpunkt bei 6,65 liegt und in der Modellrechnung versucht wurde, diesen Punkt abzubilden. Mit einem eingeführten bzw. zugewiesenen Gewichtungsfaktor der Messgrößen in der Zielfunktion kann dies jedoch teilweise bereinigt und die Modellanpassung somit verbessert werden (Donoso-Bravo *et al.* 2011). Dennoch war es nicht möglich, alle Messdaten mit diesem Ansatz genau abzubilden und bestmögliche Bestimmtheitsmaße zu erreichen. Möglicherweise kann durch alternative Herangehensweisen der Zielfunktion oder der Bestimmung des Bestimmtheitsmaßes durch absolute Differenzen eine geringere Modellabweichung unter Berücksichtigung der Extremwerte erzielt werden (Weinrich *et al.* 2021). Die angepassten Modellparameter ließen sich auf Grundlage von Modellanalysen und Literaturlauswertungen anhand einer Parameterverteilung einordnen, worin auch die Verteilung durch mögliche Ausreißer berücksichtigt wird, welche in Tabelle 26 aufgelistet sind (Weinrich 2017).

Tabelle 26: Einordnung der angepassten Modellparameter im Bereich der Parameterverteilung des massenbasierten ADM1. Angegeben sind Minimal-, Maximal- sowie Median-Werte der Parameterverteilung (Weinrich 2017).

	Min	Median	Max	Modellanpassung
Maximale Wachstumsraten [d⁻¹]				
$\mu_{m,su}$	1,25	5	37,5	0,64
$\mu_{m,aa}$	1,25	5	37,5	0,27
$\mu_{m,fa}$	0,08	0,44	0,89	0,27
$\mu_{m,bu}$	0,18	0,7	2,7	0,50
$\mu_{m,pro}$	0,12	0,28	1,2	0,12
$\mu_{m,ac}$	0,10	0,36	0,91	0,29
$\mu_{m,h2}$	0,38	1,97	4,2	1,91
$\mu_{m,va}$	0,18	0,7	2,7	0,23
Halbsättigungskonstanten [g L⁻¹]				
$K_{S,su}$	0,001	0,046	1,201	0,20
$K_{S,aa}$	0,001	0,046	1,201	0,08
$K_{S,fa}$	0,03	0,350	3,210	0,06
$K_{S,va}$	0,0007	0,030	0,231	0,05
$K_{S,bu}$	0,0007	0,030	0,231	0,15
$K_{S,pro}$	0,0007	0,040	0,331	0,05
$K_{S,ac}$	0,003	0,090	1,750	0,40
$K_{S,h2}$	$1,53 \cdot 10^{-8}$	$2,10 \cdot 10^{-6}$	$7,56 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-7}$
Reaktionskonstanten [d⁻¹]				
k_{ch}	0,02	0,47	2,88	0,81
k_{pr}	0,01	0,30	2,68	0,37
k_{li}	0,01	0,08	0,76	0,06
k_{dec}	0,001	0,03	1	0,09

Es geht daraus hervor, dass in dieser Arbeit in der Parameteranpassung des Modells geringere Wachstumsraten der Zucker- und Aminosäureabbauenden Mikroorganismen berechnet wurden, um die experimentellen Messdaten abbilden zu können. Dies hing vermutlich mit der Akkumulation der organischen Säuren in der Modellrechnung zusammen, da eine geringe Wachstumsrate in der Acidogenese eine langsamere Produktion von Valerat, Butyrat und Propionat bedeutet. Bis auf die zwei genannten Parameter befanden sich alle anderen Werte im Bereich der angegebenen Parameterverteilung.

Es konnte gezeigt werden, dass das massenbasierte ADM1 für eine Simulation zur Abbildung der Biogasproduktionsraten und charakteristischer Zwischenprodukte genutzt werden kann. Allerdings wird zuvor eine Substratcharakterisierung zur Bestimmung der Modelleingangswerte benötigt, da unterschiedliche Substratzusammensetzungen die Simulationsergebnisse maßgeblich beeinflussen können. Zusätzlich unterstützen Parameteranpassungen die Annäherung der Modellrechnung zur Abbildung von Messwerten. Je nach Datenverfügbarkeit und Anlagenkonzeption kann das Modell im Anlagenbetrieb für eine Prozesssteuerung oder Prozessüberwachung genutzt werden. Damit kann das validierte Biogasmodell als Grundlage zur Beschreibung des Gesamtmodells einer flexiblen Biogasproduktion mit einer integrierten MEZ eingesetzt werden. Der durch eine MEZ produzierte Wasserstoff sowie das Kohlendioxid aus dem Biogasprozess können in einem folgenden autotrophen Prozess stofflich genutzt und in Plattformchemikalien umgesetzt werden.

4.3 Modellierung der Produktion von Plattformchemikalien

Für einen nachfolgenden Prozess wurde ein heterotrophes und autotrophes Prozessmodell entwickelt, um die Produktion der Plattformchemikalien Acetoin und 2,3-Butandiol zu simulieren. In den Prozessmodellen wurde dementsprechend auf Basis von Fruktose, der heterotrophe und zur stofflichen Nutzung von Wasserstoff und Kohlendioxid der autotrophe Produktionsprozess simuliert. Dazu wurden Modellstrukturen individuell an die erhobenen experimentellen Prozessdaten der jeweiligen Produktionsprozesse durch gentechnisch veränderte *C. necator*-Stämme angepasst.

Auf Grundlage der zur Verfügung gestellten experimentellen Daten wurde zu Beginn ein heterotrophes Batch-Prozessmodell basierend auf Massenbilanzen in Form von Differentialgleichungen entwickelt. Anhand der Messdaten wurden Prozessbeobachtungen identifiziert, wie beispielsweise Rückreaktionen der Produkte oder Wachstumsinhibierungen. Dabei ist dieses Vorwissen essentiell für die Entwicklung einer geeigneten Modellstruktur, da

diese aus mechanistischen Verknüpfungen besteht und letztlich die Interaktionen und Prozesse der Kulturdynamik beschreiben soll (Möller *et al.* 2019). Dahingehen können nicht bekannte Größen der Modellparameter auf Grundlage der Messdaten angepasst und geschätzt werden, um die Messdaten mit dem Prozessmodell passend abbilden zu können. Mit dem entwickelten heterotrophen Prozessmodell war es möglich, die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol in Abhängigkeit des Fruktoseverbrauchs und des Biomassewachstums für drei getestete heterotrophe Stämme nachzubilden, wie in Abschnitt 3.1.3 gezeigt wurde. Das integrierte Modell und die vorgeschlagenen Ratenstrukturen basierten auf der Annahme eines limitierenden Substrats und wurde durch die Monod-Funktion beschrieben. Damit sind in dem Modell Zellwachstum und die Produktbildung von dem Substratverbrauch abhängig.

Die Simulationen für *budC* (*K. pneumoniae*), *budC* (*K. aerogenes*) und *budC* (*E. cloacae*) zeigten insgesamt eine passende Abbildung der Messdaten, welches anhand der berechneten Bestimmtheitsmaße gezeigt werden konnte. Jedoch wurden die Biomasseakkumulationen nach der exponentiellen Wachstumsphase in allen drei Varianten überschätzt, wodurch der Messpunkt im Übergang zur stationären Phase nicht abgebildet werden konnte. Dieser Effekt trat aufgrund von Zellyse ein, welche ab einer geringen Substratkonzentration in den Experimenten einsetzte und im Modell berücksichtigt wurde. Dadurch wurde eine höhere optische Dichte simuliert, um in der Modellrechnung den letzten Messpunkt abzubilden. Allerdings ist diese Prozessbeobachtung und Abbildung im Modell höchstwahrscheinlich nicht für zukünftige Anwendungen prozessrelevant, da eine Zellyse oder Substratlimitierung, die zu einer Produktlimitierung führt, unerwünscht wäre und der Prozess vorher gestoppt oder weiteres Substrat dazugegeben werden kann. Dennoch wurde ein Modell entwickelt, um den gesamten Verlauf der zur Verfügung gestellten Messdaten abzubilden. Zusätzlich kann eine Anpassung der Gewichtungsfaktoren in der Zielfunktion zu einem besseren Simulationsergebnis der optischen Dichte führen.

Die simulierten Acetoinwerte wurden im Vergleich zu den experimentellen Datenpunkten etwas niedriger vorhergesagt. Dies ist auf die beobachtete Rückreaktion von 2,3-Butandiol zu Acetoin zurückzuführen, die eintrat, sobald das Substrat fast aufgebraucht war. Durch die Rückreaktion kann für den Organismus die NAD(P)H-Konzentration reguliert werden, wobei sie zusätzlich für die Nutzung von Acetoin oder 2,3-Butandiol als Kohlenstoffquelle notwendig ist (Ji *et al.* 2011). Der Verbrauch von Acetoin durch *C. necator* wurde durch eine Deletion der *acoABC*-Gene verhindert. Die abnehmenden 2,3-Butandiol-Konzentrationen wurden mit einem angepassten Ausbeutekoeffizienten berechnet. Dabei wurde angenommen, dass aus einem Mol 2,3-Butandiol ein Mol Acetoin entsteht.

Aus den zur Verfügung gestellten experimentellen Messdaten wurde eine Wachstumskurve auf den hemmenden Effekt durch 2,3-Butandiol untersucht, woraus eine Hemmung ab $0,91 \text{ g L}^{-1}$ hervorging. In der Modellstruktur wurde ebenfalls eine Funktion der Produktinhibierung eingebaut, welche jedoch keinen Einfluss hatte, da die erreichten Produktkonzentrationen unterhalb dieses Grenzwertes blieben oder erst am Ende des Prozesses erreicht wurden und damit nicht prozessrelevant waren. Möglicherweise könnte dies ein zusätzlicher Grund für eine überschätzte Biomassesimulation sein, da der Einfluss der Hemmung bereits unterhalb dieses Grenzwertes eintrat, jedoch experimentell nicht getestet wurde. Es liegen keine Referenzdaten vor, außer für andere Organismen, die jedoch nicht vergleichbar sind. Beispielsweise wurde von einem kinetischen heterotrophen Modell zur Produktinhibierung und Produktion von 2,3-Butandiol berichtet, in dem eine hemmende Auswirkung ab einer Konzentration von 10 g L^{-1} auf das Wachstum ermittelt wurde, allerdings für einen anderen Mikroorganismus (Kim *et al.* 2016).

Von besonderem Interesse ist die Anwendung der Produktionsstämme unter autotrophen Bedingungen, da sie die stoffliche Nutzung von Gasen wie Wasserstoff und Kohlendioxid ermöglichen. Dazu wurden die beiden leistungsfähigsten Varianten, *budC* (*K. pneumoniae*) und *budC* (*E. cloacae*) sowie zusätzlich eingeführte Varianten einer Carbonanhydrase *cag* (*K. pneumoniae*) und *cag* (*E. cloacae*) unter autotrophen Bedingungen simuliert. Basierend auf Prozessbeobachtungen und anhand der Messdaten wurde, ähnlich zum heterotrophen Modell, eine autotrophe Modellstruktur entwickelt und mit einem Stofftransport der Gase erweitert. Für das Modell wurde ebenfalls die Annahme eines limitierenden Substrats angenommen, weshalb dies in der Modellstruktur mit der Monod-Kinetik beschrieben wurde und die Produktbildung ebenfalls aus dem Substratumsatz erfolgte. Als Substrat wurden die im Prozess beteiligten Gase Sauerstoff, Kohlendioxid und Wasserstoff herangezogen. Mit dem entwickelten autotrophen Modell war es möglich, die Aufnahme der Gase sowie die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol passend abzubilden, was anhand der berechneten Bestimmtheitsmaße verdeutlicht wurde. Allerdings wiesen die experimentellen Daten teilweise unterschiedliche Reaktionsprozesse der autotrophen Stämme auf, weshalb individuelle Anpassungen der Modellstrukturen erforderlich waren, um die beobachteten Prozesse der Rückreaktion von 2,3-Butandiol zu berücksichtigen. Ein Problem des Modells war, dass Produktionsstämme unter autotrophen Bedingungen nur eine sehr geringe Biomasseproduktion aufwiesen. Daher wurden die Experimente bei einer OD_{600} von 4 durchgeführt, was im Modell berücksichtigt werden musste. Allerdings wird die Monod-Kinetik meist für Wachstumsmodelle eingesetzt, wobei unter autotrophen Bedingungen nur

eine Zelllyse über einen langen Zeitraum beobachtet wurde. Aus diesem Grund wurden durch die Modellanpassungen geringe Wachstumsraten und hohe Ausbeutekoeffizienten berechnet, um die Messdaten in der Modellrechnung abbilden zu können.

Auch unter autotrophen Bedingungen konnten Reaktionen zwischen Acetoin und 2,3-Butandiol zu verschiedenen Prozessbedingungen beobachtet und in dem Modell berücksichtigt werden. Für die Variante *budC* (*K. pneumoniae*) wurde in der Modellstruktur eine Reaktion von Acetoin zu 2,3-Butandiol in Betracht gezogen, die auftrat, sobald CO₂ als Kohlenstoffquelle fast aufgebraucht war. Nachdem CO₂ aufgebraucht war, fand eine Rückreaktion von 2,3-Butandiol zu Acetoin statt, solange noch O₂ vorhanden war. Sobald beide Gase verbraucht waren, trat erneut eine Reaktion von Acetoin zu 2,3-Butandiol auf, was im Modell eingebracht wurde. Diese mathematisch beschriebenen Effekte wurden auch für die Variante *cag* (*E. cloacae*) integriert. Aus den Messdaten ging zusätzlich hervor, dass nachdem Kohlendioxid und Sauerstoff verbraucht waren, Wasserstoff nicht weiter verbraucht wurde. In dem Prozessmodell wurde dies berücksichtigt, indem nach dem Verbrauch eines Gases die Kinetik der Wachstumsrate umgestellt wurde, um eine weitere Abnahme der vorhandenen Gase beschreiben zu können. Andernfalls würden die Reaktionen in den Simulationen stoppen, da der Term des verbrauchten Gases und damit die verknüpfte Monod-Kinetik gegen Null tendieren würde. Die vorgeschlagenen spezifischen Aufnahmeraten zur Beschreibung der beobachteten kinetischen Reaktionen wurden mathematisch als Funktion der Substratkonzentration formuliert, welche je nach der auftretenden Reaktion Acetoin oder 2,3-Butandiol sein kann. Außerdem wurden diese in der Modellstruktur unabhängig von der Monod-Kinetik formuliert und mit Ausbeutekoeffizienten verknüpft. Dies ermöglicht eine einfach anwendbare Modellstruktur zur Abbildung der beobachteten Prozesse. In der Prozessanwendung wären die auftretenden Effekte vermutlich nicht prozessrelevant, da der Prozess nach dem Verbrauch der Kohlenstoffquelle gestoppt oder stetig Gase zugeführt werden würden und somit keine Limitierungen auftreten können.

Aus den Messdaten wurden Raum-Zeit-Ausbeuten zu Zeitpunkten bestimmt, als für die jeweilige Variante kein CO₂ mehr nachweisbar war. Für die Varianten *budC* (*E. cloacae*) und *cag* (*E. cloacae*) war dieser Zeitpunkt bereits bei dem zweiten Gasmesspunkt nach 48 h erreicht, weshalb eine zeitliche Auflösung innerhalb der 48 h unklar ist. Mithilfe des Prozessmodells war es möglich, die Verläufe der Gase zu simulieren, wodurch Raum-Zeit-Ausbeuten zu jedem Zeitpunkt auf Grundlage der Simulationsergebnisse berechnet werden konnten. Somit wurden die Raum-Zeit-Ausbeuten der Simulationsergebnisse zu den Probenahmezeitpunkten sowie die maximalen Raum-Zeit-Ausbeuten der Varianten über den

gesamten Prozessverlauf bestimmt. Die aus den Simulationsergebnissen berechneten Raum-Zeit-Ausbeuten waren bei den bestimmmbaren Messzeitpunkten vergleichbar mit den aus den experimentellen Daten bestimmten Raum-Zeit-Ausbeuten. Die höchsten Raum-Zeit-Ausbeuten wurden für die *E. cloacae*-Varianten am zweiten Probenahmezeitpunkt mit $40,86 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (*budC*) und $38,57 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (*cag*) im Vergleich zu den *K. pneumoniae*-Varianten mit $17,25 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (*budC*) und $10,13 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (*cag*) gezeigt. Bei der Berechnung der maximal möglichen Raum-Zeit-Ausbeuten aus den Simulationen der *E. cloacae*-Varianten zeigte sich, dass diese innerhalb der ersten 24 h fast doppelt so hoch waren wie die experimentell bestimmten. Folglich kann das Prozessmodell eine bessere Auflösung der Produktivitäten über den gesamten Zeitraum aufzeigen und somit potentielle Raumzeiterträge berechnen, die in langfristigen Produktionen ohne eine Substratlimitierung auftreten würden.

Damit kann das Prozessmodell eine stoffliche Nutzung und Umwandlung von Wasserstoff und Kohlendioxid in höherwertige Produkte wie Acetoin und 2,3-Butandiol akkurat beschreiben und simulieren. Weiterhin wäre es möglich, das Prozessmodell zu erweitern und einen zuführenden Gasstrom zu integrieren, um Kontrollstrategien und Einflüsse verschiedener Nährstoffbeschränkungen zu beschreiben.

4.4 Etablierung einer Elektrodenregelung für den Biogasprozess in einem Prozessmodell

Für den Prozess einer flexiblen Biogasanlage wurden die beteiligten Prozesse MEZ, Biogaserzeugung und autotrophe Produktion von Plattformchemikalien zuvor in separaten Prozessmodellen betrachtet und validiert. Für ein Gesamtmodell wurde der Prozess der Biogasproduktion mit der MEZ kombiniert, wobei die entstehenden Gase anschließend in dem Modell der autotrophen Produktion genutzt werden können. Hierfür wurde der Einfluss einer MEZ bei einer Regelung und Steuerung des Elektronenflusses aus dem Substratumsatz der im Biofilm eingeschlossenen Mikroorganismen durch verschieden angelegte Anodenpotentiale auf den Biogasprozess in Abschnitt 3.1.4 untersucht. Die Steuerung des Elektronenflusses einer MEZ konnte zuvor in einem separaten Prozessmodell in Abschnitt 3.1.1 gezeigt werden.

In dem kombinierten Prozessmodell wurde der Einfluss auf den Biogasprozess bereits bei einem niedrigen Anodenpotential mit einem geregelten Elektronenfluss von 20 %, ersichtlich. Ab dem Zeitpunkt des angelegten Potentials nahm die Biogasproduktionsrate ab und es stellte sich stattdessen eine Stromdichte durch die MEZ ein. Bei einer zunehmenden Erhöhung des

Potentials und einer dadurch höheren Aktivität des Anodenbiofilms zeigte sich eine weiter abnehmende Biogasproduktionsrate und eine dafür ansteigende Stromdichte ab 60, 88 und 115 Tagen. Die simulierte Stromdichte stieg jeweils nach einem Wechsel des Potentials auf ein neues Niveau an, wobei sich direkt eine Plateauphase einstellte, wie zuvor in dem Prozessmodell der MEZ in Abschnitt 3.1.1 beschrieben wurde. Zur Beschreibung dieses Prozesses wurde das NM-Modell verwendet, da diese bei Potentialwechseln die Stromdichte passend abbilden kann und aufgrund weniger Parameter leichter als das BVM-Modell anzuwenden ist (Knoll *et al.* 2023). Aufgrund des Substratumsatzes der exoelektrogenen Mikroorganismen des Anodenbiofilms der MEZ stand der acetoklastischen Methanogenese im Biogasprozess weniger Substrat und somit weniger Elektronen für die Biogaserzeugung zu Verfügung, weshalb diese in der Modellrechnung abnahm. Stattdessen wurden diese Elektronen durch den Substratumsatz des leitfähigen Biofilms auf die Anode übertragen, welche zur Kathode transportiert werden und dort Protonen zu Wasserstoff reduzieren.

In dem Modell wurde angenommen, dass wie bereits zuvor in den Versuchen der Co-Kultur langfristig *G. sulfurreducens* als dominierende Spezies im Biofilm auftritt. Aus diesem Grund wurde in der Acetat-Bilanz des Biogasmodells ein weiterer Acetatverbrauchsterm eingefügt, welcher die MEZ-Komponente repräsentiert, aber nicht die anderen organischen Säuren im Modell beeinflusst. Anhand von Literaturlauswertungen wurde die Auswirkung verschiedener Acetatverbrauchsrate eines *G. sulfurreducens* Biofilms in dem Modell untersucht (Korth *et al.* 2020; Zarabadi *et al.* 2019; Zhu *et al.* 2013). Dadurch konnte ein möglicher Bereich der zu erwartenden Biogasproduktion bei unterschiedlichen Potentialen gezeigt werden. Anhand der Ergebnisse in Abbildung 25 wurde bestätigt, dass geringere Biogasproduktionsrate in der Simulation berechnet wurden, je höher die Acetatverbrauchsrate war. Allerdings wurde keine Erhöhung der maximal erzeugten Stromdichte in dem Modell angenommen, da dieses Limit aus den Simulationsergebnissen des experimentell ermittelten Datensatzes der Co-Kulturversuche aus Abschnitt 3.1.1 übernommen wurde. Aus den Simulationsergebnissen ging eine um durchschnittlich 17,7 % verringerte Biogasproduktion bei einer mittleren Acetatverbrauchsrate im Vergleich zum Betrieb ohne eine MEZ hervor. Im Betrieb eines Elektronenflusses von 100 % würden in der Modellrechnung allerdings bis zu 36,8 % weniger Biogas produziert werden. Stattdessen kann in dem Modell eine maximale Wasserstoffproduktionsrate von $0,51 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ erreicht werden. Aus der im Modell durchgeführten Elektrodenregelung und Betriebsführung wurde insgesamt bis zu 453 L Wasserstoff produziert, was einem Energiegehalt von 1,36 kWh entspricht. Allerdings gibt es eine Reihe von Einflussfaktoren für einen optimalen MEZ-Prozess (Klein

et al. 2023). Ein Problem im Betrieb eines solchen Prozesses könnte sein, dass hydrogenotrophe Methanbildner die Kathodenoberfläche besetzen und den dort entstehenden Wasserstoff direkt nutzen und mit gelöstem Kohlendioxid zu Methan umwandeln, wodurch der produzierte Wasserstoff nicht mehr zur Verfügung stünde. Um diesem Problem entgegenzuwirken, müsste eine Trennung der Anoden- und Kathodenkammer durch eine Protonenaustauschmembran umgesetzt werden oder der Biofilm der Methanogenen an der Kathode regelmäßig abgetrennt werden. Außerdem sollte beim Reaktorentwurf der MEZ der Abstand zwischen der Anode und Kathode so minimal wie möglich gehalten werden, da bei hohen Elektrodenabständen häufig Überspannungen notwendig sind, die zu Prozesslimitierungen führen können (Krieg *et al.* 2014).

Die Auswirkung der Elektrodenregelung konnte auch anhand des Verlaufs der Acetatkonzentration und des pH-Wertes gezeigt werden. In der Betriebsführung der Modellrechnung konnte somit über den gesamten Prozessverlauf eine durchschnittliche Abnahme der Acetatkonzentration von $0,17 \text{ g L}^{-1}$ im Vergleich ohne eines MEZ-Systems erreicht werden. Dahingegen konnten im Modell in Betrieb eines Elektronenflusses von 100 % bis zu $0,7 \text{ g L}^{-1}$ an Acetat mit einer mittleren Acetatverbrauchsrate von $1,2 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ des anodischen Biofilms abgebaut werden. Dies hatte außerdem eine Zunahme des pH-Wertes zur Folge, welcher um bis 0,08 anstieg. Damit konnte gezeigt werden, dass eine Elektrodenregelung und die Integration einer MEZ in den Biogasprozess eine Akkumulation von Acetat vermindern kann und dazu beiträgt, den pH-Wert im leicht basischen Bereich zu halten. Ein Einfluss der MEZ auf den Abbau anderer organischer Säuren wurde nicht berücksichtigt. Außerdem ist bekannt, dass *G. sulfurreducens* zusätzlich zu Acetat auch Wasserstoff als Elektronendonator nutzen kann (Caccavo *et al.* 1994), was allerdings in diesem Prozessmodell nicht berücksichtigt wurde und bei einer möglichen Trennung der Elektrodenkammern wenig Bedeutung hätte. Allerdings könnte dies ebenso einen positiven Effekt auf den Biogasprozess in naher Umgebung der Anode haben, da somit der Wasserstoffpartialdruck zusätzlich gesenkt werden kann. Dadurch kann eine Hemmung der Acetogenese minimiert werden, da diese nur bei geringen Wasserstoffpartialdrücken exergon abläuft und ansonsten organische Säuren akkumulieren. Allerdings stünde dann weniger Wasserstoff der hydrogenotrophen Methanbildner zur Verfügung, was wiederum mit Hilfe der Elektrodenregelung gesteuert werden kann.

Weiterhin konnte gezeigt werden, dass der an der Kathode produzierte Wasserstoff sowie das Kohlendioxid aus dem Biogasprozess in einem autotrophen Prozess stofflich genutzt und mithilfe eines gentechnisch modifizierten *C. necator*-Stammes zu Acetoin und 2,3-Butandiol

umgesetzt werden können. Dazu wurde das zuvor entwickelte Batch-Prozessmodell mit einem konstanten Gasstrom erweitert, dessen Zusammensetzung variiert werden kann. Die gewünschte Gaszusammensetzung der Gaszufuhr des autotrophen Prozesses müsste aus den produzierten Gasen der MEZ und des Biogasprozesses eingestellt werden. In dem Modell wurde beispielhaft eine Gaszusammensetzung von 12:22:62:4 an $\text{CO}_2:\text{O}_2:\text{H}_2:\text{N}_2$ eingesetzt, wobei sich der Anteil der Gase unterschiedlich auf die Produktbildung auswirken können. Aus den Simulationsergebnissen ging mit der produktivsten Variante *budC* (*E. cloacae*) eine Produktion von 2,3-Butandiol von bis zu $4,2 \text{ g L}^{-1}$ in einem Zeitraum von 50 Stunden hervor. Allerdings wurde keine Produktinhibierung in der Modellrechnung berücksichtigt. Der dafür benötigte Parameter wurde in der Modellanpassung nicht berechnet, da in der Simulation aus Abschnitt 3.1.3 keine Produktinhibierung eintrat. Des Weiteren wurde durch einen konstanten Gasfluss einer Limitierung der vorliegenden Gase im Modell entgegengewirkt, wodurch keine unerwünschten Rückreaktionen auftraten. Bei einem zu niedrigen Wasserstoffanteil ist in dem Prozessmodell nur eine sehr geringe Produktion an 2,3-Butandiol aufgrund der schlechten Löslichkeit und Verfügbarkeit von Wasserstoff in der Flüssigphase zu erwarten. Es wäre jedoch eine Rückführung der unverbrauchten Gase im autotrophen Prozess denkbar, um die vorhandenen Ressourcen effizient zu nutzen. Zusätzlich sind die Modellparameter bereits auf die Bedingungen der zur Verfügung gestellten Messwerte bei einem hohen Wasserstoffanteil in der Gasphase angepasst. Bei einem Wasserstoffanteil von über 4 % müssten jedoch weitere Sicherheitsmaßnahmen der Prozessanlage getroffen werden, da dieser Wert der unteren Explosionsgrenze von Wasserstoff entspricht (Schröder *et al.* 2004). Die Produktion der Gase aus dem AD-MEZ-Modell wird einen direkten Einfluss auf den autotrophen Produktionsprozess in Abhängigkeit der Gasverfügbarkeit haben. So würde anhand der Ergebnisse aus Abschnitt 3.1.4 bei niedrig angelegten Potentialen weniger Wasserstoff zur Verfügung stehen und folglich weniger für den autotrophen Produktionsprozess. Für eine realitätsnahe Simulation des autotrophen Prozesses sind weitere experimentelle Daten bei verschiedenen Gaszusammensetzungen sowie Messdaten des Prozesses bei konstanten Gasflüssen notwendig. Das entwickelte autotrophe Modell kann somit zur Simulation der Produktion von Plattformchemikalien genutzt und mit weiteren Funktionen optimiert werden sowie anhand zusätzlicher Daten und Prozessbedingungen angepasst und verbessert werden. Es konnte in dem Prozessmodell einer flexiblen Biogasproduktion gezeigt werden, dass durch die Integration einer MEZ in den Biogasprozess mit Hilfe einer Elektrodenregelung die Steuerung der Biogas- und Wasserstoffproduktion möglich ist. Außerdem bietet diese Kombination die Möglichkeit, den pH-Wert sowie den Prozess durch einen zusätzlichen

Abbau organischer Säuren zu stabilisieren. Darüber hinaus kann dieser Prozess durch eine bioverfahrenstechnische Kaskade aufgewertet werden, indem in einem autotrophen Produktionsprozess Plattformchemikalien aus den anfallenden Gasen der flexiblen Biogasanlage genutzt werden können.

4.5 Urin als alternatives Medium

In Abschnitt 3.2.1 wurde untersucht, ob grundsätzlich ein Wachstum der exoelektrogenen Mikroorganismen *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* mit sterilem Urin möglich ist. Dazu wurden Bestandteile des synthetischen Mediums zu Urin hinzugegeben und das Wachstum in Urin mit synthetischem Medium verglichen. Mikroorganismen sind auf eine ausreichende Versorgung von unterschiedlichen Nährstoffen angewiesen, da ein Nährstoffmangel zu einem verringerten Wachstum führen kann (Gottschalk 1986). Urin besteht hauptsächlich aus Wasser und enthält in geringen Mengen Kohlenstoff, Stickstoff und Phosphat sowie Kat- und Anionen (durchschnittlich $9,2 \text{ g L}^{-1}$ Stickstoff, $0,74 \text{ g L}^{-1}$ Phosphat, $0,19 \text{ g L}^{-1}$ Calcium, $0,1 \text{ g L}^{-1}$ Magnesium, $2,2 \text{ g L}^{-1}$ Kalium, $2,6 \text{ g L}^{-1}$ Natrium, $3,8 \text{ g L}^{-1}$ Chlorid (Nazari *et al.* 2020)), die für die Bildung des Energieträgers ATP und zur Synthese von Enzymen benötigt werden (Gottschalk 1986).

Im Urin sind nur sehr geringe Mengen an verfügbaren organischen Substraten vorhanden, die als Energiequelle für *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* dienen können, weshalb in den Wachstumsversuchen jeweils Laktat oder Acetat als Kohlenstoffquelle dazugegeben wurde, um ein Wachstum zu gewährleisten. In einer Analyse des Urins auf vorhandene Amino- und Carbonsäuren konnten die fünf Aminosäuren Serin, Histidin, Glycin, Alanin und Phenylalanin sowie 77 mg L^{-1} Zitronensäure nachgewiesen werden, jedoch keine weiteren Kohlenhydrate. Kurzkettige organische Säuren wie Zitronensäure können von beiden Organismen genutzt werden (Koch und Harnisch 2016; Galushko und Schink 2000), wobei die enthaltene Menge für ein signifikantes Wachstum nicht genügt.

Unter anoxischen Bedingungen benötigen diese Mikroorganismen zum Wachstum einen Elektronenakzeptor wie Fumarat, wobei Fumarat zu Succinat reduziert wird (Klein *et al.* 2024). Ein Elektronenakzeptor ist aufgrund seines Redoxpotentials bei der Übertragung von Elektronen aus dem Stoffwechsel der Kohlenstoffquelle essentiell für den mikrobiellen Metabolismus. In den Wachstumsversuchen ohne Fumarat konnte kein bzw. nur ein sehr geringes Wachstum festgestellt werden. Dies lag offensichtlich am Fehlen eines terminalen Elektronenakzeptors in ausreichenden Mengen. Im Urin kommt Nitrat in geringen Mengen von $1,09 \text{ mM}$ vor und kann von *S. oneidensis*, nicht aber von *G. sulfurreducens* als

Elektronenakzeptor verwendet werden (Kaden *et al.* 2002; Saffarini *et al.* 2015; Rose *et al.* 2015). Allerdings ist diese Menge im Vergleich zu der zugegebenen Menge an Fumarat von 40 mM deutlich geringer. Zusätzlich kommen im Urin durchschnittlich 15,5 mM Sulfat vor, was ebenfalls ein Elektronenakzeptor ist, der jedoch weder von *S. oneidensis* noch von *G. sulfurreducens* genutzt werden kann (Caccavo *et al.* 1994; Saffarini *et al.* 2015; Udert *et al.* 2006). In allen weiteren Versuchen mit Fumarat konnte ein Wachstum beobachtet werden. Unter zusätzlicher Zugabe einer Vitaminlösung wurde das geringste Wachstum im Vergleich zum synthetischen Medium gemessen. Die Vitaminlösung schien damit keinen wachstumsfördernden Effekt auf die Mikroorganismen im Urin zu haben, da das Wachstum nur auf Laktat oder Acetat mit Fumarat höhere OD₆₀₀-Werte und maximale Wachstumsraten erbrachte, obwohl Vitamine in der Zelle wichtige katalytische Funktionen als Coenzyme erfüllen (Chmiel *et al.* 2018). Bei Zugabe von Hefeextrakt wurde mit *S. oneidensis* ein schnelleres Wachstum und eine maximale OD₆₀₀ von 0,32 im Vergleich zum Wachstum nur auf Laktat mit einer maximalen OD₆₀₀ von 0,17 erreicht. Dahingegen war das Wachstum für *G. sulfurreducens* mit zusätzlichem Hefeextrakt mit einer maximalen OD₆₀₀ von 0,23 geringer als mit Acetat, wo eine maximale OD₆₀₀ von 0,33 erreicht wurde. Typischerweise enthält Hefeextrakt eine Vielzahl an essentiellen Nährstoffen wie Proteinen, Vitaminen, Mineralstoffen und Aminosäuren, die das Wachstum von Mikroorganismen fördern (Tao *et al.* 2023). Für *G. sulfurreducens* wurde in dem Wachstumsversuch auf synthetischem Medium eine maximale Wachstumsrate von 0,145 h⁻¹ ermittelt und ist damit vergleichbar zu einer berichteten Wachstumsrate von 0,15 h⁻¹ in synthetischem Medium mit Fumarat und Acetat (Esteve-Núñez *et al.* 2005). Aus den Wachstumsexperimenten zeigte sich, dass *S. oneidensis* schneller als *G. sulfurreducens* wächst und bei Letzterem eine Lag-Phase von bis zu 10 h beobachtet wurde.

Aus den durchgeführten anoxischen Wachstumsexperimenten ergab sich für beide Organismen, dass bei Zusatz einer Komplementierlösung ähnliche Wachstumsraten und maximale OD₆₀₀-Werte wie mit synthetischem Medium erreicht werden konnten. In der Komplementierlösung sind Hefeextrakt, Vitamine, Natriumascorbat und Calciumchlorid enthalten, welche Teile des synthetischen Mediums sind. Es zeigte sich, dass die Kombination von Hefeextrakt und einer Vitaminlösung einen positiven Effekt auf das Wachstum im Vergleich zur einzelnen Zugabe hat. Zusätzlich wirkt Natriumascorbat als Antioxidationsmittel, reduziert oxidativen Stress und verringert das Oxidations-Reduktions-Potential in der Lösung, was wiederum für anoxisches Wachstum fördernd ist (Eddy und Ingram 1953). Des Weiteren trägt Calciumchlorid zur Aufrechterhaltung der Zellstruktur und

der Regulation zellulärer Prozesse bei (Fitzgerald *et al.* 2012). Die beiden Elemente Calcium und Chlorid sind auch in Urin enthalten.

Die zuvor genannten Komponenten sind alle im synthetischen Medium vorhanden, womit bessere Wachstumsbedingungen und eine stabile Nährstoffversorgung im Vergleich zu den Urinversuchen vorlag. Für ein anoxisches planktonisches Wachstum der Organismen im Urin ist eine Zugabe eines Elektronendonors wie Laktat oder Acetat sowie Fumarat als terminaler Elektronenakzeptor ausreichend. Mit Hinblick auf eine Verwertung des Urins in einer MEZ wurde kein Fumarat hinzugegeben, da dort die Anode als terminaler Elektronenakzeptor fungiert. Außerdem wurde bei der Co-Kultivierung nur Laktat hinzugegeben, um das Wachstum zu gewährleisten, da in einer realitätsnahen praktischen Anwendung die Zugabe weiterer Lösungen und Nährstoffe die Kosten und den Aufwand erhöhen würde. Zusätzlich wächst *S. oneidensis* schneller als *G. sulfurreducens* und kann somit zeitnah Laktat in Acetat umwandeln.

4.6 Leistung einer MEZ bei der Verwendung von Urin mit einer Co-Kultur

Im zweiten Fokusbereich der Arbeit wurde untersucht, ob Urin als alternative Substratquelle für eine MEZ geeignet sein könnte. Der Vorteil wäre, dass es hier keinen Konflikt zwischen der energetischen und stofflichen Nutzung geben dürfte. Die Versuche starteten mit der Verwertung von Urin in zwei MEZ-Ausführungen mittels einer definierten Co-Kultur und die Ergebnisse wurden mit der Verwendung von synthetischem Medium verglichen. Dazu wurde dem Urin Laktat als zusätzlicher Elektronendonator zugesetzt und die Stromproduktion gemessen. Die eingesetzten mikrobiellen Elektrolysezellen, eine mikrobielle 3-Elektrodenzelle sowie eine 3-Elektroden-Durchflusszelle wurden in den Abschnitten 2.3.1 und 2.3.2 beschrieben. Im Anschluss der Experimente wurde als Endpunktanalyse die Anodengemeinschaft analysiert.

Bei einer Anwendung der definierten Co-Kultur in der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle wurde festgestellt, dass in synthetischem Medium höhere Stromdichten als in sterilem Urin mit Laktat erreicht werden konnten (Abbildung 32). Mit sterilem Urin wurde nach 80 Stunden eine maximale Stromdichte von $59 \mu\text{A cm}^{-2}$ erreicht, die jedoch nur 37,8 % der maximalen Stromdichte auf synthetischem Medium von $156 \mu\text{A cm}^{-2}$ betrug. Ein ähnliches Bild ergab sich bei Betrachtung der mittleren Stromdichten, welche mit sterilem Urin um 59 % geringer waren (Abbildung 33). Demnach kann eine schlechtere Nährstoffversorgung des Urins im Vergleich zu den Bestandteilen des synthetischen Mediums eine Ursache für die geringere Stromproduktion sein, da die Stromproduktion mit der Substratverfügbarkeit und dessen

Umsatzrate zusammenhängt (Kadier *et al.* 2014). Im synthetischen Medium standen 20 mM Laktat als Substrat zur Verfügung, wovon 3,8 mM innerhalb von 80 Stunden verbraucht wurden. Bei der Durchführung mit sterilem Urin wurde die benötigte Menge von 3,8 mM Laktat zugegeben, wovon 1,3 mM verbraucht wurden. Demnach entsprach der Substratumsatz in Gegenwart von Urin 34 % der zugegebenen Laktatmenge und korreliert somit in etwa mit der niedriger gemessenen Stromdichte im Vergleich zur Kontrolle.

Bei der Berechnung der theoretischen Wasserstoffproduktion wurde angenommen, dass alle verfügbaren Elektronen des Stromflusses an der Kathode mit Protonen zu Wasserstoff reduziert werden. Damit steht die theoretische Wasserstoffproduktionsrate der MEZ in direkten Zusammenhang mit der gemessenen Stromdichte, weshalb im Urin mit einer Wasserstoffproduktionsrate von $0,13 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ eine um 58 % geringere Rate als im synthetischen Medium erzielt wurde (Abbildung 33). Es können jedoch Verluste der zur Kathode fließenden Elektronen auftreten, z.B. aufgrund von ohmschen Verlusten und Effizienzverlusten des Systems, weshalb die tatsächliche Wasserstoffproduktionsrate niedriger als die theoretische sein dürfte (Utesch und Zeng 2018). In diesem Zusammenhang wurde in einer Studie gezeigt, dass die gemessene tatsächliche Wasserstoffproduktionsrate 81,65 % der theoretisch berechneten betrug (Utesch und Zeng 2018). Effizienzverluste können durch Nebenreaktionen von Bestandteilen des Mediums an den Elektroden entstehen, sollten jedoch nur in geringem Umfang auftreten. Im Urin könnten das enthaltene Nitrat und Sulfat zu Stickstoff und Schwefel reduziert werden. Um Nebenreaktionen zu verhindern, können Anoden- und Kathodenraum durch eine Protonenaustauschmembran getrennt werden, was jedoch den Betriebsaufwand und die Kosten des Systems steigert (Krieg *et al.* 2014; Krieg *et al.* 2018).

Die niedrigere Stromdichte mit Urin kann auch durch eine Betrachtung der sich entwickelnden Anodengemeinschaft erklärt werden. Im Anodenbiofilm betrug der Anteil von *G. sulfurreducens* im synthetischen Medium rund 96,8 %, wohingegen dieser im sterilen Urin nur bei 54,2 % lag (Abbildung 34). Es ist bekannt, dass *G. sulfurreducens*-Kulturen dickere Biofilme und mehr Strom als *S. oneidensis*-Kulturen produzieren können (Engel *et al.* 2019). Ein Grund dafür ist, dass *G. sulfurreducens* leitfähige Pili produziert und somit in den oberen Schichten eines dicken Biofilms einen Kontakt zur Anode herstellen kann (Klein *et al.* 2024). Diese Pili bilden zusammen mit extrazellulären Cytochromen vom Typ c ein leitfähiges Netzwerk und einen leitfähigen Biofilm, wodurch Elektronen direkt auf die Elektrodenoberfläche übertragen werden können (Reguera 2018). Möglicherweise wurde aufgrund der veränderten Wachstumsbedingungen auf Urin zu wenig Acetat für ein

ausreichendes Wachstum von *G. sulfurreducens* produziert. In der Folge konnte sich vermutlich aufgrund eines geringeren Anteils des Organismus nur ein weniger leitfähiger Biofilm ausbilden, was zu einer Einschränkung des Elektronentransfers führte.

Im Vergleich dazu wurde von Co-Kulturversuchen mit synthetischem Medium berichtet, woraus eine ähnliche Zellverteilung von 91-95 % *G. sulfurreducens* und 5-9 % *S. oneidensis* der Anodengemeinschaft ermittelt wurde (Dolch *et al.* 2014; Prokhorova *et al.* 2017). Dies bekräftigt, dass *G. sulfurreducens* sich langfristig als dominierende Spezies im Biofilm der Co-Kultur durchsetzt und maßgeblich zur Stromproduktion beiträgt (Engel *et al.* 2019; Dolch *et al.* 2016).

Zusätzlich kann eine Diffusionslimitierung der Nährstoffversorgung in den unteren Biofilmschichten zu einer geringeren Stromproduktion geführt haben, die in der Durchflusszelle durch einstellbare Flussraten reduziert werden kann (Hackbarth *et al.* 2020). Mit höheren Flussraten kann der Stofftransport in den Biofilm verbessert werden, da Diffusionsgrenzschichten durch eine höhere Konvektion verringert werden (Stewart 2012). Dies trug wahrscheinlich dazu bei, dass in der Durchflusszelle mit synthetischem Medium mit Zusatz von sterilem Urin eine Stromdichte von $400 \mu\text{A cm}^{-2}$ erreicht werden konnte, die um den Faktor 2,5 höher als in der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle war (Abbildung 35). Weiterhin fiel auf, dass in der Durchflusszelle eine Plateauphase der Stromdichte nach 150 Stunden erreicht wurde, während diese in der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle mit synthetischem Medium bereits nach 80 Stunden erreicht war. Dies ist zum einen auf die hydrodynamischen Bedingungen in der Durchflusszelle zurückzuführen und zum anderen auf die Beschaffenheit des Anodenmaterials. In der Durchflusszelle wurde eine glatte Graphitplatte verwendet, während in der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle ein Graphitvlies verwendet wurde, das eine bessere 3D-Struktur für die Anheftung der Organismen bietet. Die freie Anodenoberfläche war in der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle um das 1,8-fache größer als in der Durchflusszelle, womit mehr Zellen die Möglichkeit haben im direkten Kontakt zur Anode zu stehen, um Elektronen abzugeben. Damit kann auch das Anodenmaterial einen Einfluss auf die Stromproduktion haben (Kipf *et al.* 2013). Dieses Ergebnis deutet daraufhin, dass nicht nur die verfügbare Fläche, sondern auch die Ausbildung eines leitfähigen Biofilms und die Reduzierung von Stofftransportlimitierungen für eine höhere Stromproduktion entscheidend sind.

Nach dem Wechsel des Mediums in der Durchflusszelle zu unsterilem Urin kam es zu einem starken Abfall der Stromdichte, was auf das Fehlen einer geeigneten Energiequelle, aber auch auf die veränderten Wachstumsbedingungen zurückzuführen ist (Abbildung 35). Dennoch lag

die mittlere gemessene Stromdichte mit unsterilen Urin ohne weitere Kohlenstoffquelle bei $84,9 \mu\text{A cm}^{-2}$ und war damit 3-mal höher als im Batch mit Urin. Mit einer Zugabe von Laktat konnte gezeigt werden, dass die Stromproduktion und die Aktivität des Anodenbiofilms der Co-Kultur nach 23 Stunden auf $350 \mu\text{A cm}^{-2}$ erhöht werden konnte. Danach nahm die Stromdichte stetig ab, was vermutlich auf eine weitere Zunahme des Biovolumens sowie eine Verdichtung und weniger poröse Biofilmstruktur zurückzuführen ist, da die Flussrate wahrscheinlich nicht ausreichte, um die Stofftransportlimitierungen zu reduzieren (Abbildung 37). Das gemessene Biovolumen stieg während der Anwuchsphase auf $1,75 \text{ mm}^3$ an bei einer Abnahme der Porosität auf 40 %. Nach dem Wechsel des Mediums zu unsterilem Urin wurde eine Zunahme des Biovolumens um das 1,6-fache auf $2,8 \text{ mm}^3$ nachgewiesen, wobei die Porosität weiter abnahm und der Biofilm somit dicker und kompakter wurde.

Bei der Analyse der Anodengemeinschaft im Durchflusssystem wurde *G. sulfurreducens* mit einem Anteil von 88 % als dominierende Spezies bestimmt. Dies deutet darauf hin, dass der Anwuchs auf synthetischem Medium auch bei Zugabe von Urin die Bildung eines leitfähigen Biofilms unterstützt und bei Wechsel des Mediums zu unsterilem Urin zur Aufrechterhaltung eines leitfähigen Biofilms beiträgt. Zusätzlich wurden 2 % Enterococcaceae nachgewiesen, wodurch die Anodengemeinschaft aufgrund des unsterilen Urins beeinflusst wurde. Enterokokken können unter Umständen in der Harnröhre vorkommen und Laktat produzieren, was wiederum für die Co-Kultur von Vorteil sein kann (Ramsey *et al.* 2014; Keogh *et al.* 2018). Mit Hinblick auf eine wahrscheinliche Veränderung der Anodengemeinschaft unter unsterilen Bedingungen besteht zusätzlich die Möglichkeit, zusätzliche Energie aus der Oxidation von Ammoniumionen durch dazu fähige Mikroorganismen zu erhalten (Zheng *et al.* 2020).

Bisher wurde keine Co-Kultur von *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* im Urin mit einer MEZ untersucht, weshalb kein direkter Vergleich der erzielten Stromdichten mit berichteten Werten möglich ist. Dahingegen bestand der Anodenbiofilm meist aus einer anoxisch elektroaktiven mikrobiellen Gemeinschaft aus Abwasserströmen (Barbosa *et al.* 2017; Prudente *et al.* 2021). Darunter wurden in kontinuierlich betriebenen MEZ-Ausführungen mit meist verdünntem Urin Stromdichten von $170\text{-}1464 \mu\text{A cm}^{-2}$ erreicht (Kuntke *et al.* 2014; Kuntke *et al.* 2016; Zamora *et al.* 2017). Die Ergebnisse des Durchflusssystems lassen sich dennoch in dem genannten Bereich der berichteten Werte einordnen.

Aus den Ergebnissen geht hervor, dass die Verwertung von Urin mit einer exoelektrogenen Co-Kultur zur Erzeugung von Wasserstoff möglich ist. Des Weiteren sollte vor dem Einsatz mit Urin oder einem Abfallstrom die Co-Kultur in synthetischem Medium angezogen werden,

um die Ausbildung eines leitfähigen Biofilms sicherzustellen, worin *G. sulfurreducens* als dominierende Spezies auftritt. Im Durchflusssystem konnte die Stromproduktion im Vergleich zum Batch-System der mikrobiellen 3-Elektrodenzelle um das 2,5-fache gesteigert werden. Außerdem konnte gezeigt werden, dass der Biofilm in der Durchflusszelle nach längerem Substratmangel wieder durch Zugabe von Laktat aktiviert werden konnte und die Stromdichte anstieg.

5. Fazit und Ausblick

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Prozessführung der flexiblen Biogaserzeugung in einem mathematischen Prozessmodell betrachtet. Dazu wurde die Verwendung einer MEZ mit einer definierten exoelektrogenen Co-Kultur mit den anaeroben Abbauprozessen einer Biogasanlage kombiniert. Mithilfe einer Elektrodenregelung der MEZ sollte eine Steuerung der Biogas- und Wasserstoffproduktion für verschiedene Anodenpotentiale demonstriert werden. Weiterhin wurde ein autotrophes Prozessmodell entwickelt, mit welchem die Produktion von Plattformchemikalien aus dem entstehenden Wasserstoff und Kohlendioxid durch mikrobielle Organismen abgebildet werden sollte. Die einzelnen Prozesse MEZ, Biogaserzeugung und autotrophe Produktion wurden in separaten mathematischen Prozessmodellen betrachtet und anschließend in einem Gesamtmodell veranschaulicht. Weiterhin wurde im Rahmen dieser Arbeit untersucht, ob Urin als Substratquelle in einer MEZ mit einer definierten Co-Kultur verwendet werden kann, wodurch kein Konflikt zwischen energetischer und stofflicher Nutzung entstehen sollte.

Für die Entwicklung einer Elektrodenregelung der MEZ wurde die Aktivität und Robustheit der exoelektrogenen Co-Kultur experimentell in einem 3-Elektroden-Drehscheiben-Reaktor bei verschiedenen Anodenpotentialen untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Kinetik des Elektronentransfers der exoelektrogenen Mikroorganismen über das eingestellte Anodenpotential und damit die Stromdichte gesteuert werden kann, was in einem Prozessmodell abgebildet wurde. Die erforderliche Energiezufuhr in das System hängt hauptsächlich vom Anodenpotential ab, sodass dieses Modell dynamisch auf Änderungen der Energieverfügbarkeit und des Energiepreises reagieren kann. Dadurch wurde das Grundprinzip der flexiblen Biogasanlage in einem Simulationsmodell erarbeitet und validiert. Auf Basis der gemessenen Stromdichten der MEZ wurden theoretische Wasserstoffproduktionsraten berechnet. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass diese aufgrund von ohmschen Verlusten in der Realität geringer als die theoretischen ausfallen. Hierbei würde eine Abgasanalytik zum Messen der tatsächlich produzierten Wasserstoffmenge aus dem Kathodenraum helfen, die Werte vergleichen zu können.

Zur Simulation des anaeroben Abbauprozesses auf Basis von Rübensilage wurde das massenbasierte ADM1 als Prozessmodell genutzt, mit dem das erzeugte Biogas sowie die im Biogasprozess entstehenden organischen Säuren berechnet werden konnten. Zusätzlich unterstützen Parameteranpassungen die Annäherung der Modellrechnung zur Abbildung von Messwerten. Dennoch war es nicht möglich, alle Messdaten wie der Acetatkonzentration passend abzubilden. Eine Möglichkeit wäre, das massenbasierte Modell mit variabler

Stöchiometrie zu verwenden, wodurch eine bessere Abbildung der Messdaten aufgrund anpassbarer Ausbeutekoeffizienten der anaeroben Abbauschritte erreicht werden könnte (Weinrich 2017; Weinrich und Nelles 2021b). Je nach Datenverfügbarkeit und Anlagenkonzeption kann das Modell im Anlagenbetrieb für eine Prozesssteuerung oder Prozessüberwachung genutzt werden. Das validierte Biogasmodell diene als Grundlage für die Beschreibung des Gesamtmodells einer flexiblen Biogasproduktion.

In einem Gesamtmodell der flexiblen Biogasproduktion wurde gezeigt, dass durch die Integration einer MEZ in den Biogasprozess mit Hilfe einer Elektrodenregelung eine Steuerung der Biogas- und Wasserstoffproduktion möglich ist. Dies wurde durch den Betrieb verschiedener Anodenpotentiale und verschiedener Acetatverbrauchsrate des Biofilms in einem Modell vorgestellt. Außerdem bietet diese Kombination die Möglichkeit, den pH-Wert und den Prozess durch einen zusätzlichen Acetatabbau zu stabilisieren. Damit konnte gezeigt werden, dass die Integration einer MEZ für den Biogasprozess von Vorteil sein kann, wodurch dieser beeinflussbar und steuerbar wird. Das Prozessmodell könnte um weitere Prozesse erweitert werden, um den Gesamtprozess zu optimieren. Es könnte beispielsweise die Auswirkung der Wasserstoffaufnahme durch *G. sulfurreducens* im Anodenbiofilm als weiterer Elektronendonator neben Acetat im Modell eingebunden werden. Damit könnte der lokale Einfluss auf den anaeroben Abbau durch eine Senkung des Wasserstoffpartialdrucks untersucht werden.

Weiterhin konnte in einem entwickelten autotrophen Prozessmodell die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol aus Wasserstoff und Kohlendioxid anhand experimenteller Messwerte simuliert werden. Die Verfügbarkeit der Gase wird einen direkten Einfluss auf den autotrophen Produktionsprozess haben. Das entwickelte Modell kann zur Simulation der Produktion von Plattformchemikalien genutzt und mit weiteren Funktionen optimiert werden und anhand zusätzlicher Daten und Prozessbedingungen angepasst und verbessert werden. Somit würde das Modell von weiteren experimentellen Datensätzen bei verschiedenen Gaszusammensetzungen sowie von Versuchen mit einem konstanten Gasfluss profitieren.

Bisher wurde der Einsatz der Co-Kultur zur Behandlung von Urin in einer MEZ nicht untersucht. Zu Beginn wurde das planktonische Wachstum von *S. oneidensis* und *G. sulfurreducens* in sterilem Urin untersucht. Aus den Ergebnissen ging hervor, dass ein Wachstum im Urin unter Zugabe eines geeigneten Elektronendonors und Elektronenakzeptors möglich ist. Im Anschluss daran wurde die Verwendung von Urin in zwei MEZ-Designs untersucht, mit synthetischem Medium verglichen und die Anodengemeinschaft analysiert. Im Batch-Betrieb wurde in sterilem Urin eine um 59 % geringere Stromdichte als im

synthetischen Medium gemessen. Dagegen konnte die Stromdichte in einem Durchflusssystem aufgrund besserer hydrodynamischer Bedingungen um das 2,5-fache gesteigert werden. Weiterhin kann es von Interesse sein, den gesamten Stickstoffgehalt im Urin erfassen. Eine Stickstoffentfernung bei der Behandlung von Urin in einer MEZ könnte zu einer potentiellen Entlastung von Kläranlagen führen, da dort hierfür weniger Energie benötigt werden würde. Eine Analyse der Anodengemeinschaft der MEZ zeigte, dass langfristig *G. sulfurreducens* als dominante Spezies auftrat und für die Ausbildung eines leitfähigen Biofilms wichtig ist, weshalb eine exoelektrogene Co-Kultur vor dem Einsatz mit Urin oder eines Abfallstroms in synthetischem Medium angezogen werden sollte.

Mit dem in dieser Arbeit entwickelten Prozessmodell der flexiblen Biogaserzeugung konnte gezeigt werden, dass mithilfe der Elektrodenregelung die Biogasproduktion zugunsten der wasserstoffbasierten Wertstoffproduktion reduziert werden kann. Dies könnte zu neuen Geschäftsmodellen für Landwirte führen, die zu Produzenten von Plattformchemikalien werden könnten. Außerdem besteht die Möglichkeit, bestehende Biogasanlagen mit einer MEZ und einem autotrophen Produktionsverfahren nachzurüsten. Bei einer Verwendung von Urin in einer MEZ kann Energie gewonnen werden, was perspektivisch die Abhängigkeit von fossilen Rohstoffen reduziert und einen Beitrag zu einer nachhaltigen Bioökonomie leisten kann.

6. Literaturverzeichnis

- Ahring BK (ed.) (2003) *Biomethanation I*. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Alagesan, S., Minton, N.P., and Malys, N. (2018) ¹³C-assisted metabolic flux analysis to investigate heterotrophic and mixotrophic metabolism in *Cupriavidus necator* H16. *Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society*, doi: 10.1007/s11306-017-1302-z.
- Arndt, L., Wiegmann, V., Kuchemüller, K.B., Baganz, F., Pörtner, R., and Möller, J. (2021) Model-based workflow for scale-up of process strategies developed in miniaturized bioreactor systems. *Biotechnology progress*, doi: 10.1002/btpr.3122.
- Asrul, M.A.M., Atan, M.F., Abdul Halim Yun, H., and Lai, J.C.H. (2021) Mathematical model of biohydrogen production in microbial electrolysis cell: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, doi: 10.1016/j.ijhydene.2021.09.021.
- Barbosa, S.G., Peixoto, L., Heijne, A. ter, Kuntke, P., Alves, M.M., and Pereira, M.A. (2017) Investigating bacterial community changes and organic substrate degradation in microbial fuel cells operating on real human urine. *Environmental Science: Water Research & Technology*, doi: 10.1039/C7EW00087A.
- Barbosa, S.G., Rodrigues, T., Peixoto, L., Kuntke, P., Alves, M.M., Pereira, M.A., and Ter Heijne, A. (2019) Anaerobic biological fermentation of urine as a strategy to enhance the performance of a microbial electrolysis cell (MEC). *Renewable Energy*, doi: 10.1016/j.renene.2019.02.120.
- Bard, A.J., and Faulkner, L.R. (2001) *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*: John Wiley & Sons.
- Batstone, D.J. (2006) Mathematical Modelling of Anaerobic Reactors Treating Domestic Wastewater: Rational Criteria for Model Use. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, doi: 10.1007/s11157-005-7191-z.
- Batstone, D.J., Keller, J., and Angelidaki, I. (2002) The IWA Anaerobic Digestion Model No 1. *Water Science and Technology*, **2002**.
- Bauer, A., Wagner, M., Saravia, F., Bartl, S., Hilgenfeldt, V., and Horn, H. (2019) In-situ monitoring and quantification of fouling development in membrane distillation by means of optical coherence tomography. *Journal of Membrane Science*, doi: 10.1016/j.memsci.2019.02.006.
- Bause, S., Decker, M., Neubauer, P., and Vonau, W. (2018) Optimization of the chemolithoautotrophic biofilm growth of *Cupriavidus necator* by means of electrochemical hydrogen synthesis. *Chemical Papers*, doi: 10.1007/s11696-018-0382-1.

- Beblawy, S., Bursac, T., Paquete, C., Louro, R., Clarke, T.A., and Gescher, J. (2018) Extracellular reduction of solid electron acceptors by *Shewanella oneidensis*. *Molecular microbiology*, doi: 10.1111/mmi.14067.
- Blumensaat, F., and Keller, J. (2005) Modelling of two-stage anaerobic digestion using the IWA Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1). *Water Research*, doi: 10.1016/j.watres.2004.07.024.
- Bommareddy, R.R., Wang, Y., Percy, N., Hayes, M., Lester, E., Minton, N.P., and Conradie, A.V. (2020) A Sustainable Chemicals Manufacturing Paradigm Using CO₂ and Renewable H₂. *iScience*, doi: 10.1016/j.isci.2020.101218.
- Bomtempo, J.-V., Chaves Alves, F., and Almeida Oroski, F. de (2017) Developing new platform chemicals: what is required for a new bio-based molecule to become a platform chemical in the bioeconomy? *Faraday discussions*, doi: 10.1039/c7fd00052a.
- Boy, C., Lesage, J., Alfenore, S., Guillouet, S.E., and Gorret, N. (2021) Investigation of the robustness of *Cupriavidus necator* engineered strains during fed-batch cultures. *AMB Express*, doi: 10.1186/s13568-021-01307-4.
- Bundesministerium für Bildung und Forschung (ed.) (2012) *Roadmap Bioraffinerien im Rahmen der Aktionspläne der Bundesregierung zur stofflichen und energetischen Nutzung nachwachsender Rohstoffe*: Berlin.
- Bundesministerium für Bildung und Forschung (ed.) (2022) *Bioökonomie in Deutschland - Chancen für eine biobasierte und nachhaltige Zukunft*. Berlin.
- Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (ed.) (2019) *Erneuerbare Energien in Zahlen - Nationale und internationale Entwicklung im Jahr 2018*. Berlin.
- Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (2020) Die Nationale Wasserstoffstrategie.
- Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz (2020) Herstellung von Wasserstoff nach Produktionsprozess in Deutschland im Jahr 2020. <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/1194793/umfrage/produktion-von-wasserstoff-nach-prozess/>.
- Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz (ed.) (2023) *Erneuerbare Energien in Zahlen - Nationale und internationale Entwicklung im Jahr 2022*. Berlin.
- Bursac, T., Gralnick, J.A., and Gescher, J. (2017) Acetoin production via unbalanced fermentation in *Shewanella oneidensis*. *Biotechnology and Bioengineering*, doi: 10.1002/bit.26243.
- Byrd, R.H., Gilbert, J.C., and Nocedal, J. (2000) A trust region method based on interior point techniques for nonlinear programming. *Mathematical programming*, **89**: 149–185.
- Byrd, R.H., Hribar, M.E., and Nocedal, J. (1999) An interior point algorithm for large-scale nonlinear programming. *SIAM Journal on Optimization*, **9**: 877–900.

- Caccavo, F., Lonergan, D.J., Lovley, D.R., Davis, M., Stolz, J.F., and McNerney, M.J. (1994) *Geobacter sulfurreducens* sp. nov., a hydrogen-and acetate-oxidizing dissimilatory metal-reducing microorganism. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**: 3752–3759.
- Cerrillo, M., Viñas, M., and Bonmatí, A. (2016) Removal of volatile fatty acids and ammonia recovery from unstable anaerobic digesters with a microbial electrolysis cell. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2016.07.103.
- Cerrillo, M., Viñas, M., and Bonmatí, A. (2018) Anaerobic digestion and electromethanogenic microbial electrolysis cell integrated system: Increased stability and recovery of ammonia and methane. *Renewable Energy*, doi: 10.1016/j.renene.2017.12.062.
- Chae, K.J., Jang, Yim, S.K., and Kim, I.S. (2008) The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology*, **99**: 1–6.
- Chmiel, H., Takors, R., and Weuster-Botz, D. (2018) *Bioprozesstechnik*: Springer Spektrum.
- Coleman, T.F., and Li, Y. (1994) On the convergence of interior-reflective Newton methods for nonlinear minimization subject to bounds. *Mathematical programming*, **67**: 189–224.
- Coleman, T.F., and Li, Y. (1996) An interior trust region approach for nonlinear minimization subject to bounds. *SIAM Journal on Optimization*, **6**: 418–445.
- Cord-Ruwisch, R., Seitz, H.-J., and Conrad, R. (1988) The capacity of hydrogenotrophic anaerobic bacteria to compete for traces of hydrogen depends on the redox potential of the terminal electron acceptor. *Archives of Microbiology*, doi: 10.1007/BF00411655.
- Cramm, R. (2009) Genomic view of energy metabolism in *Ralstonia eutropha* H16. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, doi: 10.1159/000142893.
- Cui, Z., Wang, Z., Zheng, M., and Chen, T. (2022) Advances in biological production of acetoin: A comprehensive overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, **42**: 1135–1156.
- Dolch, K., Danzer, J., Kabbeck, T., Bierer, B., Erben, J., and Förster, A.H., et al. (2014) Characterization of microbial current production as a function of microbe-electrode-interaction. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2014.01.112.
- Dolch, K., Wuske, J., and Gescher, J. (2016) Genomic Barcode-Based Analysis of Exoelectrogens in Wastewater Biofilms Grown on Anode Surfaces. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, doi: 10.4014/jmb.1510.10102.
- Donoso-Bravo, A., Mailier, J., Martin, C., Rodríguez, J., Aceves-Lara, C.A., and Vande Wouwer, A. (2011) Model selection, identification and validation in anaerobic digestion: a review. *Water Research*, doi: 10.1016/j.watres.2011.08.059.
- Doran, M.P. (2013) *Bioprocess Engineering Principles Second Edition*: Elsevier Science.
- Du, J., Shao, Z., and Zhao, H. (2011) Engineering microbial factories for synthesis of value-added products. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, doi: 10.1007/s10295-011-0970-3.

- Eddy, B., and Ingram (1953) Interactions between ascorbic acid and bacteria. *Bacteriological reviews*, **17**: 93–107.
- Edel, M., Horn, H., and Gescher, J. (2019) Biofilm systems as tools in biotechnological production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, doi: 10.1007/s00253-019-09869-x.
- Edel, M., Sturm, G., Sturm-Richter, K., Wagner, M., Ducassou, J.N., Couté, Y., Horn, H., and Gescher, J. (2021) Extracellular riboflavin induces anaerobic biofilm formation in *Shewanella oneidensis*. *Biotechnology for Biofuels*, doi: 10.1186/s13068-021-01981-3.
- Engel, C., Schattenberg, F., Dohnt, K., Schröder, U., Müller, S., and Krull, R. (2019) Long-term behavior of defined mixed cultures of *Geobacter sulfurreducens* and *Shewanella oneidensis* in bioelectrochemical systems. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, **7**: 60.
- Esteve-Núñez, A., Rothermich, M., Sharma, M., and Lovley, D. (2005) Growth of *Geobacter sulfurreducens* under nutrient-limiting conditions in continuous culture. *Environmental microbiology*, doi: 10.1111/j.1462-2920.2005.00731.x.
- Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (ed.) (2013) *Biogas*. Gülzow: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR).
- Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (ed.) (2016) *Leitfaden Biogas: Von der Gewinnung zur Nutzung*. Gülzow: Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e. V. (FNR).
- Fitzgerald, L.A., Petersen, E.R., Gross, B.J., Soto, C.M., Ringeisen, B.R., El-Naggar, M.Y., and Biffinger, J.C. (2012) Aggrandizing power output from *Shewanella oneidensis* MR-1 microbial fuel cells using calcium chloride. *Biosensors & bioelectronics*, doi: 10.1016/j.bios.2011.11.024.
- Flemming, H.-C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S.A., and Kjelleberg, S. (2016) Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature reviews. Microbiology*, doi: 10.1038/nrmicro.2016.94.
- Fritsche, O. (2016) *Mikrobiologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Gadkari, S., Gu, S., and Sadhukhan, J. (2018) Towards automated design of bioelectrochemical systems: A comprehensive review of mathematical models. *Chemical Engineering Journal*, doi: 10.1016/j.cej.2018.03.005.
- Galushko, A.S., and Schink, B. (2000) Oxidation of acetate through reactions of the citric acid cycle by *Geobacter sulfurreducens* in pure culture and in syntrophic coculture. *Archives of Microbiology*, doi: 10.1007/s002030000208.
- Gerardi, M.H. (2003) *The microbiology of anaerobic digesters*: John Wiley & Sons.
- Golitsch, F. (2016) Entwicklung bioelektrochemischer Systeme für die Untersuchung von elektrodenabhängigen Konversionsprozessen.
- Gottschalk, G. (1986) *Bacterial Metabolism*: Springer.

- Hackbarth, M., Gescher, J., Horn, H., and Reiner, J.E. (2023) A scalable, rotating disc bioelectrochemical reactor (RDBER) suitable for the cultivation of both cathodic and anodic biofilms. *Bioresource Technology Reports*, doi: 10.1016/j.biteb.2023.101357.
- Hackbarth, M., Jung, T., Reiner, J.E., Gescher, J., Horn, H., Hille-Reichel, A., and Wagner, M. (2020) Monitoring and quantification of bioelectrochemical *Kyrpidia spormannii* biofilm development in a novel flow cell setup. *Chemical Engineering Journal*, doi: 10.1016/j.cej.2020.124604.
- Hamann CH, Vielstich W (eds.) (2005) *Elektrochemie*. Weinheim: Wiley-VCH-Verlag GmbH & Co.
- Hamelers, H.V.M., Ter Heijne, A., Stein, N., Rozendal, R.A., and Buisman, C.J.N. (2011) Butler-Volmer-Monod model for describing bio-anode polarization curves. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2010.06.156.
- Hana Yi, Kelly P. Nevin, Byoung-Chan Kim, Ashely E. Franks, Anna Klimes, Leonard M. Tender, and Derek R. Lovley (2009) Selection of a variant of *Geobacter sulfurreducens* with enhanced capacity for current production in microbial fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, doi: 10.1016/j.bios.2009.05.004.
- Haranen, M., Pakkanen, P., Kariranta, R., and Salo, J. (2016) White, grey and black-box modelling in ship performance evaluation. In *1st Hull performance & insight conference (HullPIC)*, pp. 115–127.
- Harnisch, F., and Holtmann, D. (2019) *Bioelectrosynthesis*. Cham: Springer International Publishing.
- Harnisch, F., and Schröder, U. (2009) Selectivity versus mobility: Separation of anode and cathode in microbial bioelectrochemical systems. *ChemSusChem*, doi: 10.1002/cssc.200900111.
- Härrer, D., Windhorst, C., Böhner, N., Novion Ducassou, J., Couté, Y., and Gescher, J. (2021) Production of acetoin from renewable resources under heterotrophic and mixotrophic conditions. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2021.124866.
- Hass, V., and Pörtner, R. (2009) *Praxis der Bioprozesstechnik: mit virtuellem Praktikum*: Heidelberg Spektrum.
- Hau, H.H., and Gralnick, J.A. (2007) Ecology and biotechnology of the genus *Shewanella*. *Annual review of microbiology*, doi: 10.1146/annurev.micro.61.080706.093257.
- Herwig C, Pörtner R, Möller J (eds.) (2021) *Digital Twins. Applications to the Design and Optimization of Bioprocesses*. Cham: Springer International Publishing; Imprint Springer.
- Horvat, P., Vrana Špoljarić, I., Lopar, M., Atlić, A., Koller, M., and Braunegg, G. (2013) Mathematical modelling and process optimization of a continuous 5-stage bioreactor cascade for production of poly-(R)-3-hydroxybutyrate by *Cupriavidus necator*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, doi: 10.1007/s00449-012-0852-8.

- Ieropoulos, I., Greenman, J., and Melhuish, C. (2012) Urine utilisation by microbial fuel cells; energy fuel for the future. *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, doi: 10.1039/c1cp23213d.
- Ikeda, S., Takamatsu, Y., Tsuchiya, M., Suga, K., Tanaka, Y., Kouzuma, A., and Watanabe, K. (2021) *Shewanella oneidensis* MR-1 as a bacterial platform for electro-biotechnology. *Essays in Biochemistry*, **65**: 355–364.
- Isermann, R., and Münchhof, M. (2010) *Identification of Dynamic Systems. An Introduction with Applications*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Ji, X.-J., Huang, H., and Ouyang, P.-K. (2011) Microbial 2, 3-butanediol production: a state-of-the-art review. *Biotechnology Advances*, **29**: 351–364.
- Kaden, J., S. Galushko, A., and Schink, B. (2002) Cysteine-mediated electron transfer in syntrophic acetate oxidation by cocultures of *Geobacter sulfurreducens* and *Wolinella succinogenes*. *Archives of Microbiology*, doi: 10.1007/s00203-002-0425-3.
- Kadier, A., Kalil, M.S., Rai, P.K., Kumar, S.S., Abdeshahian, P., and Sivagurunathan, P., *et al.* (2019) Microbial electrolysis cells (MECs) a promising and green approach for bioenergy and biochemical production from waste resources. *Bioelectrochemical interface engineering*: 209–234.
- Kadier, A., Simayi, Y., Abdeshahian, P., Azman, N.F., Chandrasekhar, K., and Kalil, M.S. (2016) A comprehensive review of microbial electrolysis cells (MEC) reactor designs and configurations for sustainable hydrogen gas production. *Alexandria Engineering Journal*, doi: 10.1016/j.aej.2015.10.008.
- Kadier, A., Simayi, Y., Kalil, M.S., Abdeshahian, P., and Hamid, A.A. (2014) A review of the substrates used in microbial electrolysis cells (MECs) for producing sustainable and clean hydrogen gas. *Renewable Energy*, doi: 10.1016/j.renene.2014.05.052.
- Kaltschmitt M, Hartmann H, Hofbauer H (eds.) (2016) *Energie aus Biomasse. Grundlagen, Techniken und Verfahren*. Berlin, Heidelberg: Springer Vieweg.
- Kamm, B. (2007) Produktion von plattformchemikalien und synthese gas aus biomasse. *Angewandte Chemie*, **119**: 5146–5149.
- Keogh, D., Lam, L.N., Doyle, L.E., Matysik, A., Pavagadhi, S., and Umashankar, S., *et al.* (2018) Extracellular Electron Transfer Powers *Enterococcus faecalis* Biofilm Metabolism. *mBio*, doi: 10.1128/mBio.00626-17.
- Kern, S., Platas-Barradas, O., Pörtner, R., and Frahm, B. (2016) Model-based strategy for cell culture seed train layout verified at lab scale. *Cytotechnology*, doi: 10.1007/s10616-015-9858-9.
- Kim, D.-K., Park, J.M., Song, H., and Chang, Y.K. (2016) Kinetic modeling of substrate and product inhibition for 2,3-butanediol production by *Klebsiella oxytoca*. *Biochemical Engineering Journal*, doi: 10.1016/j.bej.2016.06.021.

- Kim, J.R., Cheng, S., Oh, S.-E., and Logan, B.E. (2007) Power generation using differentiation, anion, and ultrafiltration membranes in microbial fuel cells. *Environmental science & technology*, **41**: 1004–1009.
- Klein, E., Wurst, R., Rehnlund, D., and Gescher, J. (2024) Elucidating the development of cooperative anode-biofilm-structures. *Biofilm*, doi: 10.1016/j.biofilm.2024.100193.
- Klein, E.M., Knoll, M.T., and Gescher, J. (2023) Microbe–Anode Interactions: Comparing the impact of genetic and material engineering approaches to improve the performance of microbial electrochemical systems (MES). *Microbial biotechnology*.
- Knoll, M.T., Jürgensen, N., Weiler, J.R., and Gescher, J. (2023) Predictability and robustness of anode biofilm to changing potential in microbial electrolysis system. *Bioresource Technology Reports*, doi: 10.1016/j.biteb.2023.101640.
- Koch, C., and Harnisch, F. (2016) Is there a Specific Ecological Niche for Electroactive Microorganisms? *ChemElectroChem*, doi: 10.1002/celec.201600079.
- Korth, B., Kretzschmar, J., Bartz, M., Kuchenbuch, A., and Harnisch, F. (2020) Determining incremental coulombic efficiency and physiological parameters of early stage *Geobacter* spp. enrichment biofilms. *PloS one*, doi: 10.1371/journal.pone.0234077.
- Kotloski, N.J., and Gralnick, J.A. (2013) Flavin electron shuttles dominate extracellular electron transfer by *Shewanella oneidensis*. *mBio*, doi: 10.1128/mBio.00553-12.
- Krieg, T., Phan, L.M., Wood, J.A., Sydow, A., Vassilev, I., Krömer, J.O., Mangold, K.M., and Holtmann, D. (2018) Characterization of a membrane-separated and a membrane-less electrobioreactor for bioelectrochemical syntheses. *Biotechnology and Bioengineering*, doi: 10.1002/bit.26600.
- Krieg, T., Sydow, A., Schröder, U., Schrader, J., and Holtmann, D. (2014) Reactor concepts for bioelectrochemical syntheses and energy conversion. *Trends in Biotechnology*, doi: 10.1016/j.tibtech.2014.10.004.
- Kuntke, P., Sleutels, T., Saakes, M., and Buisman, C. (2014) Hydrogen production and ammonium recovery from urine by a Microbial Electrolysis Cell. *International Journal of Hydrogen Energy*, doi: 10.1016/j.ijhydene.2013.10.089.
- Kuntke, P., Zamora, P., Saakes, M., Buisman, C.J.N., and Hamelers, H.V.M. (2016) Gas-permeable hydrophobic tubular membranes for ammonia recovery in bio-electrochemical systems. *Environmental Science: Water Research & Technology*, doi: 10.1039/C5EW00299K.
- Lagarias, J.C., Reeds, J.A., Wright, M.H., and Wright, P.E. (1998) Convergence properties of the Nelder-Mead simplex method in low dimensions. *SIAM Journal on Optimization*, **9**: 112–147.
- Lahr, R.H., Goetsch, H.E., Haig, S.J., Noe-Hays, A., Love, N.G., and Aga, D.S., *et al.* (2016) Urine Bacterial Community Convergence through Fertilizer Production: Storage,

- Pasteurization, and Struvite Precipitation. *Environmental science & technology*, doi: 10.1021/acs.est.6b02094.
- Leang, C., Malvankar, N.S., Franks, A.E., Nevin, K.P., and Lovley, D.R. (2013) Engineering *Geobacter sulfurreducens* to produce a highly cohesive conductive matrix with enhanced capacity for current production. *Energy & Environmental Science*, doi: 10.1039/c3ee40441b.
- Ledezma, P., Kuntke, P., Buisman, C.J.N., Keller, J., and Freguia, S. (2015) Source-separated urine opens golden opportunities for microbial electrochemical technologies. *Trends in Biotechnology*, doi: 10.1016/j.tibtech.2015.01.007.
- Leonov, P.S., Flores-Alsina, X., Gernaey, K.V., and Sternberg, C. (2021) Microbial biofilms in biorefinery - Towards a sustainable production of low-value bulk chemicals and fuels. *Biotechnology Advances*, doi: 10.1016/j.biotechadv.2021.107766.
- Li, Z., Fu, Q., Su, H., Yang, W., Chen, H., Zhang, B., Hua, L., and Xu, Q. (2022) Model development of bioelectrochemical systems: A critical review from the perspective of physiochemical principles and mathematical methods. *Water Research*, doi: 10.1016/j.watres.2022.119311.
- Lin, W.C., Coppi, M.V., and Lovley, D.R. (2004) *Geobacter sulfurreducens* can grow with oxygen as a terminal electron acceptor. *Applied and Environmental Microbiology*, doi: 10.1128/AEM.70.4.2525-2528.2004.
- Liu, H., Grot, S., and Logan, B.E. (2005) Electrochemically assisted microbial production of hydrogen from acetate. *Environmental science & technology*, doi: 10.1021/es050244p.
- Logan, B.E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., and Freguia, S., *et al.* (2006) Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environmental science & technology*, doi: 10.1021/es0605016.
- Logan, B.E., Rossi, R., Ragab, A., and Saikaly, P.E. (2019) Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. *Nature reviews. Microbiology*, doi: 10.1038/s41579-019-0173-x.
- Lopar, M., Vrana Špoljarić, I., Atlić, A., Koller, M., Braunegg, G., and Horvat, P. (2013) Five-step continuous production of PHB analyzed by elementary flux, modes, yield space analysis and high structured metabolic model. *Biochemical Engineering Journal*, doi: 10.1016/j.bej.2013.07.003.
- Loucks, D.P., and van Beek, E. (2017) *Water Resource Systems Planning and Management. An Introduction to Methods, Models, and Applications*. Cham: Springer International Publishing; Imprint: Springer.
- Lovley, D.R. (2006) Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. *Nature reviews. Microbiology*, doi: 10.1038/nrmicro1442.

- Lovley, D.R. (2012) Electromicrobiology. *Annual review of microbiology*, doi: 10.1146/annurev-micro-092611-150104.
- Lovley, D.R., Ueki, T., Zhang, T., Malvankar, N.S., Shrestha, P.M., and Flanagan, K.A., et al. (2011) Geobacter: the microbe electric's physiology, ecology, and practical applications. *Advances in microbial physiology*, doi: 10.1016/B978-0-12-387661-4.00004-5.
- Luo, S., Sun, H., Ping, Q., Jin, R., and He, Z. (2016) A Review of Modeling Bioelectrochemical Systems: Engineering and Statistical Aspects. *Energies*, doi: 10.3390/en9020111.
- Marcus, A.K., Torres, C.I., and Rittmann, B.E. (2007) Conduction-based modeling of the biofilm anode of a microbial fuel cell. *Biotechnology and Bioengineering*, doi: 10.1002/bit.21533.
- Maurya, R., Das, R., Tripathi, A.K., and Neergat, M. (2022) Relationship between the electron-transfer coefficients of the oxygen reduction reaction estimated from the Gibbs free energy of activation and the Butler-Volmer equation. *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, doi: 10.1039/d2cp04331a.
- Möller, J., Kuchemüller, K.B., Steinmetz, T., Koopmann, K.S., and Pörtner, R. (2019) Model-assisted Design of Experiments as a concept for knowledge-based bioprocess development. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, doi: 10.1007/s00449-019-02089-7.
- Moser, A., Kuchemüller, K.B., Deppe, S., Hernández Rodríguez, T., Frahm, B., Pörtner, R., Hass, V.C., and Möller, J. (2021) Model-assisted DoE software: optimization of growth and biocatalysis in *Saccharomyces cerevisiae* bioprocesses. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, doi: 10.1007/s00449-020-02478-3.
- Mozumder, M.S.I., Garcia-Gonzalez, L., Wever, H. de, and Volcke, E.I. (2015) Poly(3-hydroxybutyrate) (PHB) production from CO₂: Model development and process optimization. *Biochemical Engineering Journal*, doi: 10.1016/j.bej.2015.02.031.
- Mozumder, M.S.I., Goormachtigh, L., Garcia-Gonzalez, L., Wever, H. de, and Voleke, E.I.P. (2014) Modeling pure culture heterotrophic production of polyhydroxybutyrate (PHB). *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2013.12.103.
- Muffler K, Ulber R (eds.) (2014) *Productive Biofilms*. Cham: Springer International Publishing; Imprint: Springer.
- Myers, C.R., and Nealson, K.H. (1988) Bacterial manganese reduction and growth with manganese oxide as the sole electron acceptor. *Science*, **240**: 1319–1321.
- Nash, J.E., and Sutcliffe, J.V. (1970) River flow forecasting through conceptual models part I—A discussion of principles. *Journal of hydrology*, **10**: 282–290.
- Nazari, S., Zinatizadeh, A.A., Mirghorayshi, M., and van Loosdrecht, M.C.M. (2020) Waste or Gold? Bioelectrochemical Resource Recovery in Source-Separated Urine. *Trends in Biotechnology*, doi: 10.1016/j.tibtech.2020.03.007.

- Nelder, J.A., and Mead, R. (1965) A simplex method for function minimization. *The computer journal*, **7**: 308–313.
- Nettmann, E., Bergmann, I., and Klocke, M. (2009) Methanogene Archaea in landwirtschaftlichen Biogasanlagen. *Internationale Wissenschaftstagung Biogas Science 2009 Band 2*: 303.
- Nielsen, H., Ahring, B., and Uellendahl, H. (2007) Regulation and optimization of the biogas process: Propionate as a key parameter. *Biomass and Bioenergy*, doi: 10.1016/j.biombioe.2007.04.004.
- Oliveira, V.B., Simões, M., Melo, L.F., and Pinto, A. (2013) Overview on the developments of microbial fuel cells. *Biochemical Engineering Journal*, doi: 10.1016/j.bej.2013.01.012.
- Ortiz-Martínez, V.M., Salar-García, M.J., los Ríos, A.P. de, Hernández-Fernández, F.J., Egea, J.A., and Lozano, L.J. (2015) Developments in microbial fuel cell modeling. *Chemical Engineering Journal*, doi: 10.1016/j.cej.2015.02.076.
- Panich, J., Fong, B., and Singer, S.W. (2021) Metabolic Engineering of *Cupriavidus necator* H16 for Sustainable Biofuels from CO₂. *Trends in Biotechnology*, doi: 10.1016/j.tibtech.2021.01.001.
- Pant, D., van Bogaert, G., Diels, L., and Vanbroekhoven, K. (2010) A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2009.10.017.
- Paoli, M., Marles-Wright, J., and Smith, A.N. (2002) Structure-function relationships in heme-proteins. *DNA and cell biology*, **21**: 271–280.
- Patel, A., Mungray, A.A., and Mungray, A.K. (2020) Technologies for the recovery of nutrients, water and energy from human urine: A review. *Chemosphere*, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127372.
- Picioreanu, C., Head, I.M., Katuri, K.P., van Loosdrecht, M.C.M., and Scott, K. (2007) A computational model for biofilm-based microbial fuel cells. *Water Research*, doi: 10.1016/j.watres.2007.04.009.
- Potter, M.C. (1911) Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. *Proceedings of the royal society of London. Series b, containing papers of a biological character*, **84**: 260–276.
- Prokhorova, A., Sturm-Richter, K., Doetsch, A., and Gescher, J. (2017) Resilience, Dynamics, and Interactions within a Model Multispecies Exoelectrogenic-Biofilm Community. *Applied and Environmental Microbiology*, doi: 10.1128/AEM.03033-16.
- Prudente, M., Massazza, D.A., Busalmen, J.P., and Romeo, H.E. (2021) Urine dilution with a synthetic wastewater (Syntho) boosts the electricity production in a bio-electrochemical system powered by un-pretreated human urine. *Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands)*, doi: 10.1016/j.bioelechem.2020.107639.

- Rabaey, K., Angenent, L., Schroder, U., and Keller, J. (2009) *Bioelectrochemical systems*: IWA publishing.
- Rabaey, K., and Verstraete, W. (2005) Microbial fuel cells: novel biotechnology for energy generation. *Trends in Biotechnology*, doi: 10.1016/j.tibtech.2005.04.008.
- Ramsey, M., Hartke, A., and Huycke, M. (2014) The physiology and metabolism of enterococci. *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [Internet]*.
- Randall, D.G., and Naidoo, V. (2018) Urine: The liquid gold of wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, doi: 10.1016/j.jece.2018.04.012.
- Reguera, G., McCarthy, K.D., Mehta, T., Nicoll, J.S., Tuominen, M.T., and Lovley, D.R. (2005) Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, doi: 10.1038/nature03661.
- Reguera, G., Nevin, K.P., Nicoll, J.S., Covalla, S.F., Woodard, T.L., and Lovley, D.R. (2006) Biofilm and nanowire production leads to increased current in *Geobacter sulfurreducens* fuel cells. *Applied and Environmental Microbiology*, doi: 10.1128/AEM.01444-06.
- Renslow, R.S., Majors, P.D., McLean, J.S., Fredrickson, J.K., Ahmed, B., and Beyenal, H. (2010) In situ effective diffusion coefficient profiles in live biofilms using pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance. *Biotechnology and Bioengineering*, **106**: 928–937.
- Rose, C., Parker, A., Jefferson, B., and Cartmell, E. (2015) The characterization of feces and urine: a review of the literature to inform advanced treatment technology. *Critical reviews in environmental science and technology*, **45**: 1827–1879.
- Rosen, C., and Jeppsson, U. (2005) Aspects on ADM1 Implementation within the BSM2 Framework. *TEIE*.
- Rosen, C., Vrecko, D., Gernaey, K.V., Pons, M.N., and Jeppsson, U. (2006) Implementing ADM1 for plant-wide benchmark simulations in Matlab/Simulink. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*, doi: 10.2166/wst.2006.521.
- Rozendal, R.A., Hamelers, H.V., and Buisman, C.J. (2006) Effects of membrane cation transport on pH and microbial fuel cell performance. *Environmental Science and Technology*, doi: 10.1021/es060387r.
- Saffarini D (ed.) (2015) *Bacteria-Metal Interactions*. Cham: Springer International Publishing; Imprint: Springer.
- Saffarini, D., Brockman, K., Beliaev, A., Bouhenni, R., and Shirodkar, S. (2015) *Shewanella oneidensis* and extracellular electron transfer to metal oxides. *Bacteria-metal interactions*: 21–40.
- Sahm H, Antranikian G, Stahmann K-P (eds.) (2013) *Industrielle Mikrobiologie*: SpringerSpektrum.

- Sahm, H. (1981) Biologie der Methan-Bildung. *Chemie Ingenieur Technik*, **53**: 854–863.
- Sander, R. (2023) Compilation of Henry's law constants (version 5.0.0) for water as solvent. *Atmospheric Chemistry and Physics*, doi: 10.5194/acp-23-10901-2023.
- Santoro, C., Garcia, M.J.S., Walter, X.A., You, J., Theodosiou, P., and Gajda, I., *et al.* (2020) Urine in Bioelectrochemical Systems: An Overall Review. *ChemElectroChem*, doi: 10.1002/celec.201901995.
- Sauer, K., Stoodley, P., Goeres, D.M., Hall-Stoodley, L., Burmølle, M., Stewart, P.S., and Bjarnsholt, T. (2022) The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature reviews. Microbiology*, doi: 10.1038/s41579-022-00767-0.
- Schröder, U. (2011) Discover the possibilities: microbial bioelectrochemical systems and the revival of a 100-year-old discovery. *Journal of Solid State Electrochemistry*, doi: 10.1007/s10008-011-1395-7.
- Schröder, U., Harnisch, F., and Angenent, L.T. (2015) Microbial electrochemistry and technology: terminology and classification. *Energy & Environmental Science*, doi: 10.1039/C4EE03359K.
- Schröder, V., Emonts, B., Janßen, H., and Schulze, H.-P. (2004) Explosion Limits of Hydrogen/Oxygen Mixtures at Initial Pressures up to 200 bar. *Chemical Engineering & Technology*, doi: 10.1002/ceat.200403174.
- Schügerl, K., and Bellgardt, K.-H. (2000) *Bioreaction engineering: modeling and control*: Springer.
- Schulze, A.-L., and Stahl, A. (2019) Aminosäuren-Analyse mittels HPLC-FLD nach OPA-Derivatisierung. M03.003 Version: 03. *Hamburg: Technische Universität Hamburg, Zentrallabor Chemische Analytik*.
- Schweizer, W. (2013) *MATLAB kompakt*. Munich, Germany: Oldenbourg Verlag.
- Scott, J.H., and Nealson, K.H. (1994) A biochemical study of the intermediary carbon metabolism of *Shewanella putrefaciens*. *Journal of Bacteriology*, **176**: 3408–3411.
- Shampine, L.F., and Reichelt, M.W. (1997) The MATLAB ODE Suite. *SIAM Journal on Scientific Computing*, doi: 10.1137/S1064827594276424.
- Siegrist, H., Vogt, D., Garcia-Heras, J.L., and Gujer, W. (2002) Mathematical model for meso- and thermophilic anaerobic sewage sludge digestion. *Environmental science & technology*, doi: 10.1021/es010139p.
- Song, C.W., Park, J.M., Chung, S.C., Lee, S.Y., and Song, H. (2019) Microbial production of 2,3-butanediol for industrial applications. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, doi: 10.1007/s10295-019-02231-0.
- Speers, A.M., and Reguera, G. (2012) Electron donors supporting growth and electroactivity of *Geobacter sulfurreducens* anode biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, doi: 10.1128/AEM.06782-11.

- Špoljarić, I.V., Lopar, M., Koller, M., Muhr, A., Salerno, A., and Reiterer, A., *et al.* (2013) Mathematical modeling of poly(R)-3-hydroxyalkanoate synthesis by *Cupriavidus necator* DSM 545 on substrates stemming from biodiesel production. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2013.01.126.
- Stafford, D.A. (1982) The effects of mixing and volatile fatty acid concentrations on anaerobic digester performance. *Biomass*, doi: 10.1016/0144-4565(82)90006-3.
- Stein, U. (2015) *Programmieren mit MATLAB. Programmiersprache, grafische Benutzeroberflächen, Anwendungen; mit 72 Aufgaben und zahlreichen Listings*. München: Hanser.
- Stewart, P.S. (2012) Mini-review: Convection around biofilms. *Biofouling*, doi: 10.1080/08927014.2012.662641.
- Syu, M.J. (2001) Biological production of 2,3-butanediol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, doi: 10.1007/s002530000486.
- Tao, Z., Yuan, H., Liu, M., Liu, Q., Zhang, S., and Liu, H., *et al.* (2023) Yeast Extract: Characteristics, Production, Applications and Future Perspectives. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, doi: 10.4014/jmb.2207.07057.
- Thamsiriroj, T., and Murphy, J.D. (2011) Modelling mono-digestion of grass silage in a 2-stage CSTR anaerobic digester using ADM1. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2010.09.051.
- Torres, C.I., Marcus, A.K., Parameswaran, P., and Rittmann, B.E. (2008) Kinetic experiments for evaluating the Nernst-Monod model for anode-respiring bacteria (ARB) in a biofilm anode. *Environmental science & technology*, doi: 10.1021/es800970w.
- Udert, K.M., Larsen, T.A., and Gujer, W. (2006) Fate of major compounds in source-separated urine. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*, doi: 10.2166/wst.2006.921.
- Umweltbundesamt (2016) Prognostizierter Wasserstoffbedarf in Deutschland nach Industrien in den Jahren von 2015 bis 2050. <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/750972/umfrage/prognose-wasserstoffbedarf-in-deutschland/>.
- Utesch, T., and Zeng, A.P. (2018) A novel All-in-One electrolysis electrode and bioreactor enable better study of electrochemical effects and electricity-aided bioprocesses. *Engineering in Life Sciences*, doi: 10.1002/elsc.201700198.
- Vagt, R., and Frerichs, H. (2021) Kohlenhydraten und organischen Säuren mittels Ionenausschlusschromatographie. M03.008 Version: 03. *Hamburg: Technische Universität Hamburg, Zentrallabor Chemische Analytik*.
- Venkateswaran, K., Moser, D.P., Dollhopf, M.E., Lies, D.P., Saffarini, D.A., and MacGregor, B.J., *et al.* (1999) Polyphasic taxonomy of the genus *Shewanella* and description of

- Shewanella oneidensis sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **49**: 705–724.
- Verein Deutscher Ingenieure (2016) Richtlinie 4630 - Vergärung organischer Substratcharakterisierung, Probenahme, Stoffdatenerhebung, Gärversuche; Verein deutscher Ingenieure (VDI). *VDI Handbuch Energietechnik*; Beuth Verlag GmbH: Berlin, Germany.
- Wagner, M., and Horn, H. (2017) Optical coherence tomography in biofilm research: A comprehensive review. *Biotechnology and Bioengineering*, doi: 10.1002/bit.26283.
- Wallace, J.S., and Ward, C.A. (1983) Hydrogen as a fuel. *International Journal of Hydrogen Energy*, doi: 10.1016/0360-3199(83)90136-2.
- Walters, F.H., Morgan, S.L., Parker, L.R., and Deming, S.N. (1991) Sequential Simplex Optimisation: : A Technique for Improving Quality and Productivity in Research, Development, and Manufacturing: CRC Press, Inc., Boca Raton.
- Weiler, J., Edel, M., and Gescher, J. (2024) Biofilms for Production of Chemicals and Energy. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering*, doi: 10.1146/annurev-chembioeng-100522-110939.
- Weinrich, S. (2017) Praxisnahe Modellierung von Biogasanlagen. *Dissertation, Universität Rostock*, **2017**.
- Weinrich, S., Mauky, E., Schmidt, T., Krebs, C., Liebetrau, J., and Nelles, M. (2021) Systematic simplification of the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1) - Laboratory experiments and model application. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125104.
- Weinrich, S., and Nelles, M. (2015) Critical comparison of different model structures for the applied simulation of the anaerobic digestion of agricultural energy crops. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2014.10.138.
- Weinrich, S., and Nelles, M. (2021a) *Basics of anaerobic digestion. Biochemical conversion and process modelling*. Leipzig: Deutsches Biomasseforschungszentrum gemeinnützige GmbH.
- Weinrich, S., and Nelles, M. (2021b) Systematic simplification of the Anaerobic Digestion Model No. 1 (ADM1) - Model development and stoichiometric analysis. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125124.
- Werpy, T., and Petersen, G. (2004) *Top value added chemicals from biomass: volume I-results of screening for potential candidates from sugars and synthesis gas*.
- Windhorst, C., and Gescher, J. (2019) Efficient biochemical production of acetoin from carbon dioxide using *Cupriavidus necator* H16. *Biotechnology for Biofuels*, doi: 10.1186/s13068-019-1512-x.

- Yamin, J.A.A., Gupta, H.N., Bansal, B.B., and Srivastava, O.N. (2000) Effect of combustion duration on the performance and emission characteristics of a spark ignition engine using hydrogen as a fuel. *International Journal of Hydrogen Energy*, **25**: 581–589.
- Yousuf, R.G., and Winterburn, J.B. (2016) Date seed characterisation, substrate extraction and process modelling for the production of polyhydroxybutyrate by *Cupriavidus necator*. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2016.09.107.
- Yu, Z., Leng, X., Zhao, S., Ji, J., Zhou, T., and Khan, A., *et al.* (2018) A review on the applications of microbial electrolysis cells in anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2018.02.003.
- Zamora, P., Georgieva, T., Heijne, A. ter, Sleutels, T.H., Jeremiasse, A.W., Saakes, M., Buisman, C.J., and Kuntke, P. (2017) Ammonia recovery from urine in a scaled-up Microbial Electrolysis Cell. *Journal of Power Sources*, doi: 10.1016/j.jpowsour.2017.02.089.
- Zarabadi, M.P., Couture, M., Charette, S.J., and Greener, J. (2019) A Generalized Kinetic Framework Applied to Whole-Cell Bioelectrocatalysis in Bioflow Reactors Clarifies Performance Enhancements for *Geobacter Sulfurreducens* Biofilms. *ChemElectroChem*, doi: 10.1002/celec.201900732.
- Zeng, K., and Zhang, D. (2010) Recent progress in alkaline water electrolysis for hydrogen production and applications. *Progress in Energy and Combustion Science*, doi: 10.1016/j.peccs.2009.11.002.
- Zhang, Y., and Angelidaki, I. (2014) Microbial electrolysis cells turning to be versatile technology: recent advances and future challenges. *Water Research*, doi: 10.1016/j.watres.2014.02.031.
- Zheng, D., Gu, W., Zhou, Q., Zhang, L., Wei, C., Yang, Q., and Li, D. (2020) Ammonia oxidation and denitrification in a bio-anode single-chambered microbial electrolysis cell. *Bioresource Technology*, doi: 10.1016/j.biortech.2020.123466.
- Zhu, X., Tokash, J.C., Hong, Y., and Logan, B.E. (2013) Controlling the occurrence of power overshoot by adapting microbial fuel cells to high anode potentials. *Bioelectrochemistry (Amsterdam, Netherlands)*, doi: 10.1016/j.bioelechem.2012.10.004.
- Zoulias, E., Varkaraki, E., Lymberopoulos, N., Christodoulou, C.N., and Karagiorgis, G.N. (2004) A review on water electrolysis. *Tcjst*.

7. Anhang

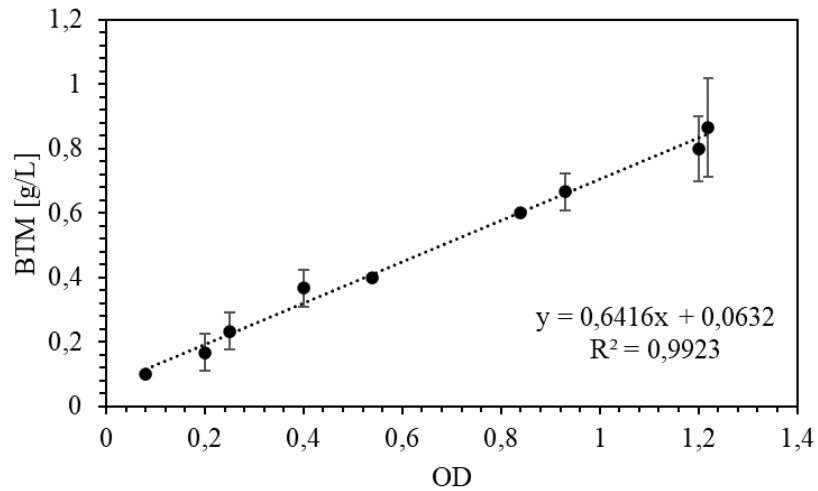
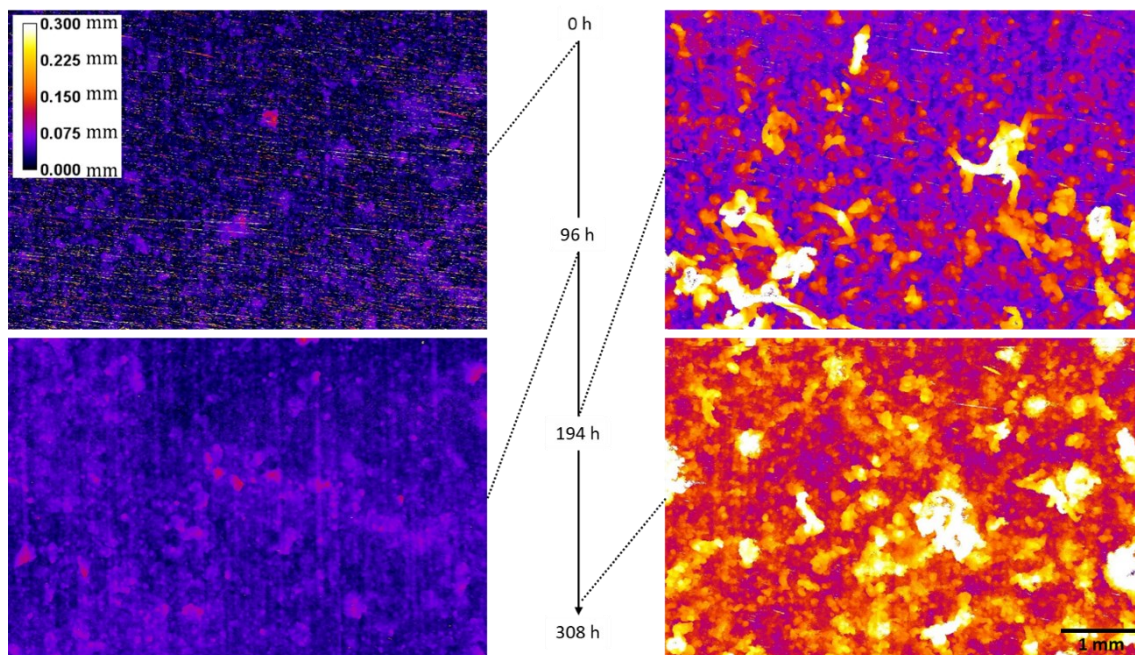
Abbildung A1: Korrelation der optischen Dichte und Biotrockenmasse von *Cupriavidus necator*.

Abbildung A2: Höhenprofile des Biofilms in der 3-Elektroden-Durchflusszelle mit dem OCT aufgenommen und in Fiji verarbeitet. Die Höhenprofile sind zu verschiedenen Zeitpunkten von Anfang bis Ende des Versuchs dargestellt und zeigen die Bedeckung der Arbeitselektrode.

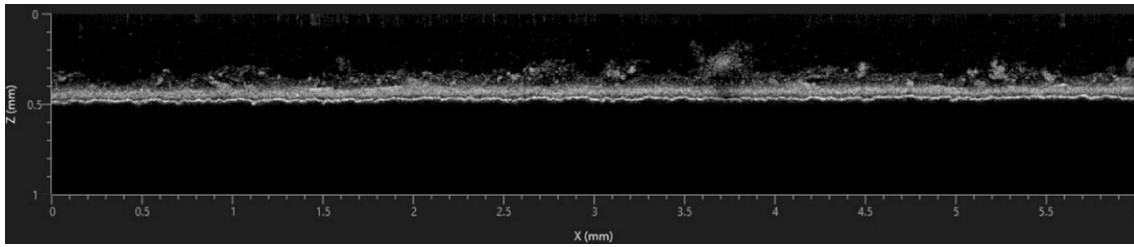


Abbildung A3: Aufnahme und Seitenansicht des Biofilms mit dem OCT auf der Arbeitslektrode. Biofilmaufwuchs ist als weisse Pixel dargestellt, wobei die erste untere Schicht die Anode darstellt.

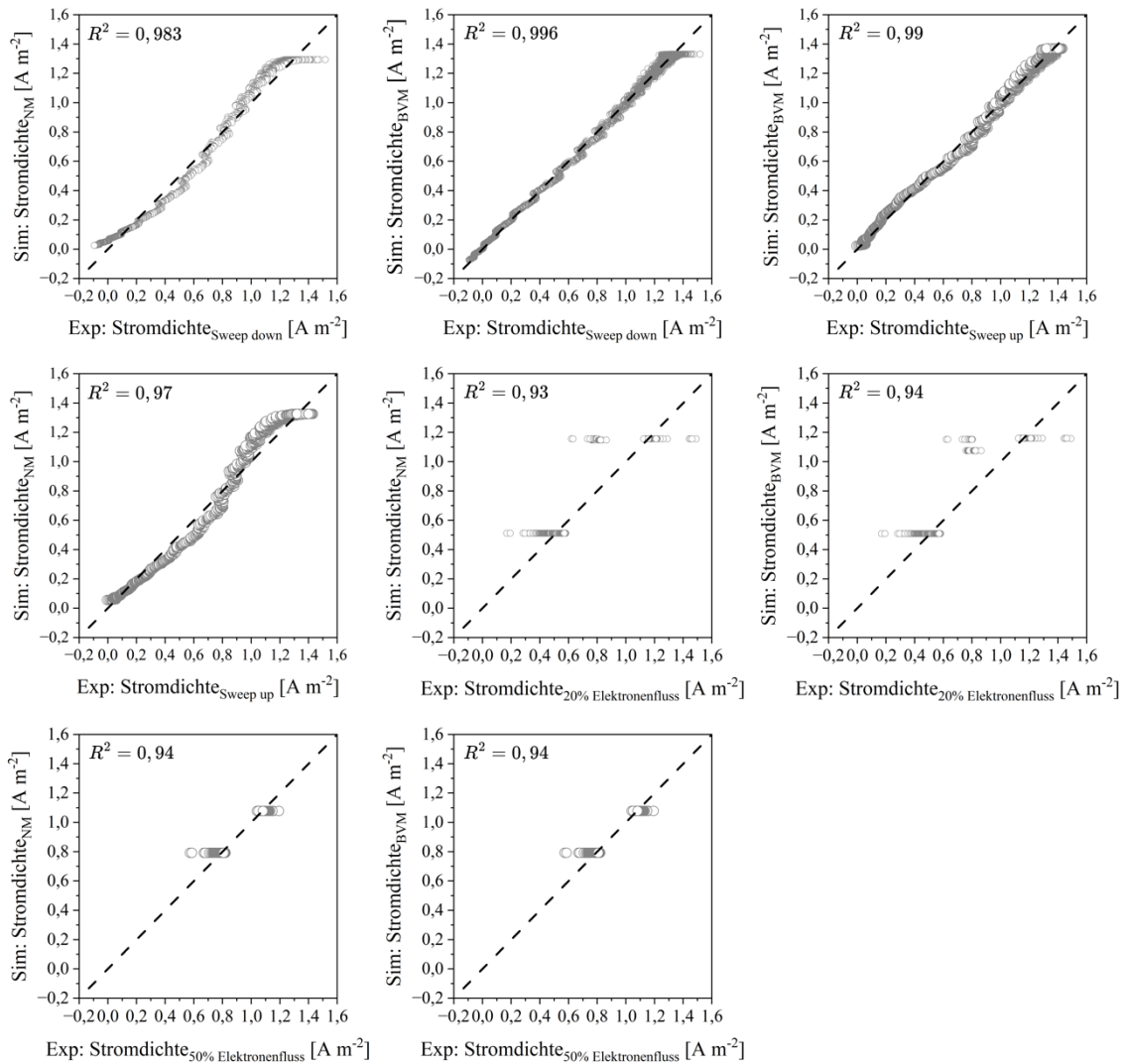


Abbildung A4: Vergleich der simulierten Werte der Stromdichten und der Messwerte in der mikrobiellen Elektrolysezelle bei der linearen Sweep-Voltammetrie und bei Potentialwechsel zu 20 % und 50 % Elektronenfluss. Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R^2 beschrieben.

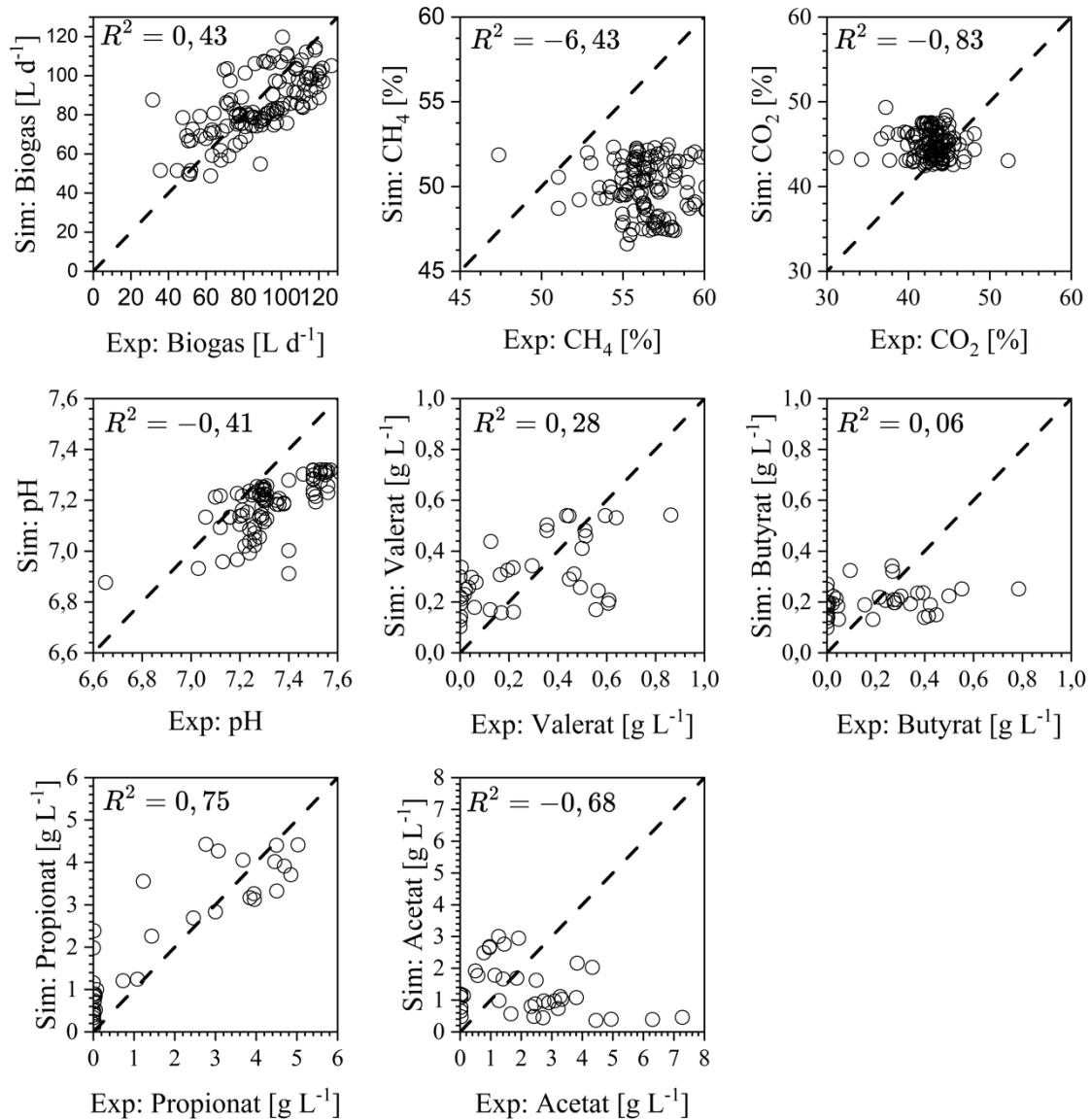


Abbildung A5: Vergleich der simulierten Werte aus der Modellanpassung mit den Messwerten im massenbasierten Prozessmodell der anaeroben Vergärung ADM1. Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R^2 beschrieben. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.

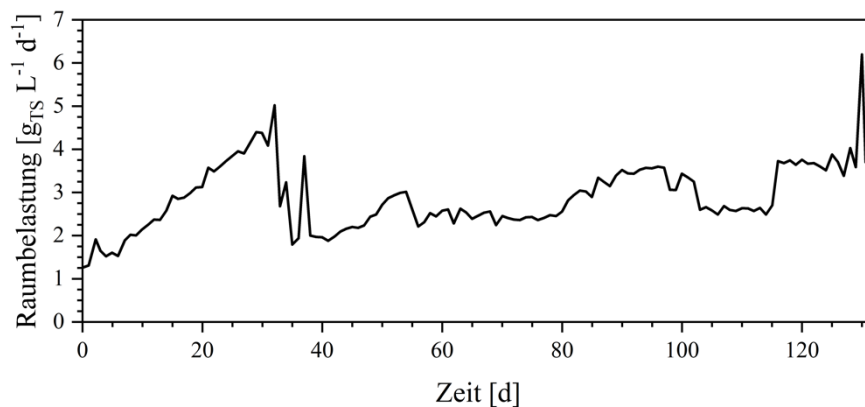


Abbildung A6: Raumbelastung durch Rübensilage über einen Zeitraum von 130 Tagen. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.

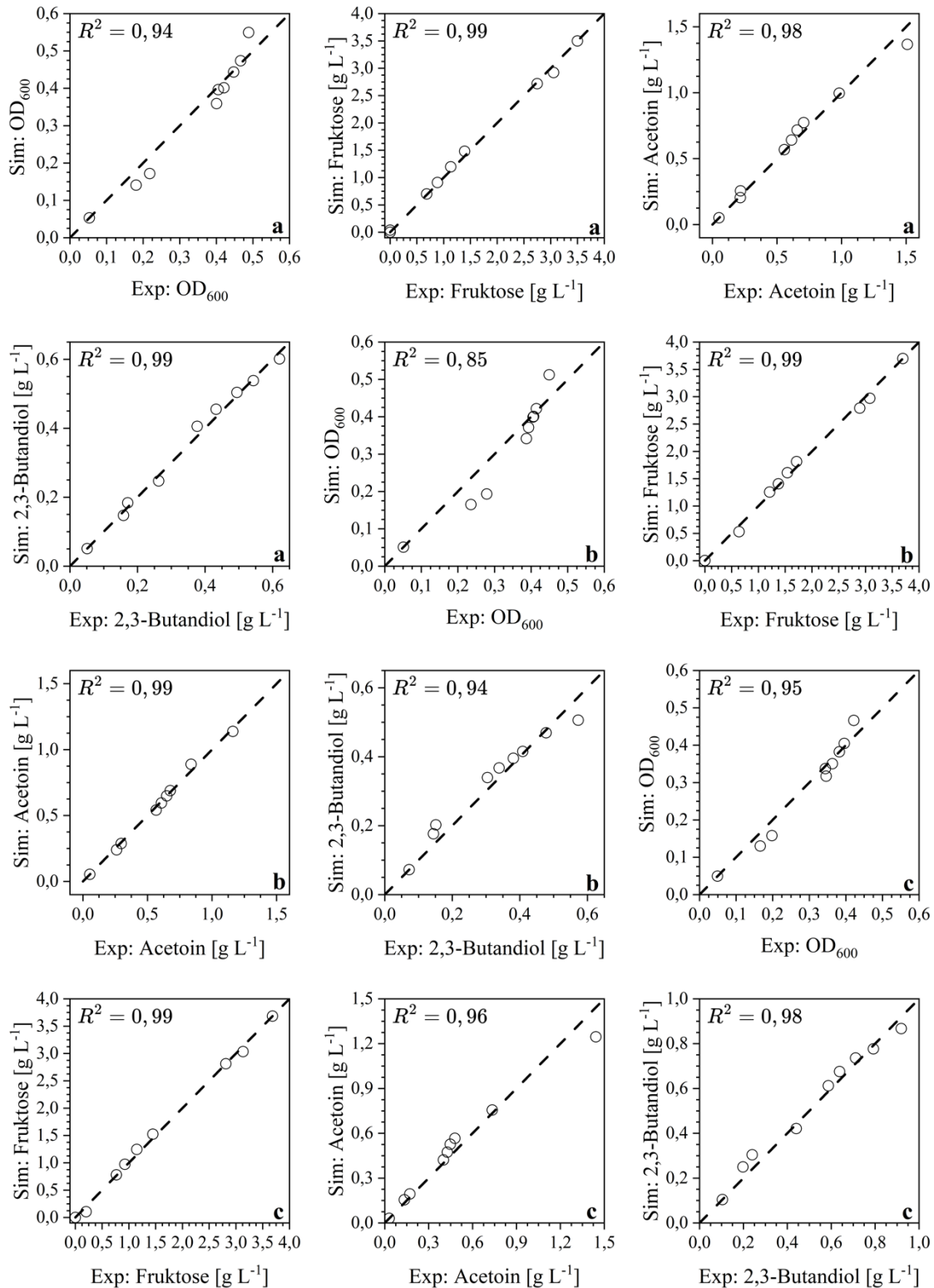


Abbildung A7: Vergleich der simulierten Werte mit den Messwerten im heterotropen Prozessmodell für a) pBBR1_budC (*K. pneumoniae*) b) pBBR1_budC (*K. aerogenes*) und c) pBBR1_budC (*E. cloacae*). Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R^2 beschrieben. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt.

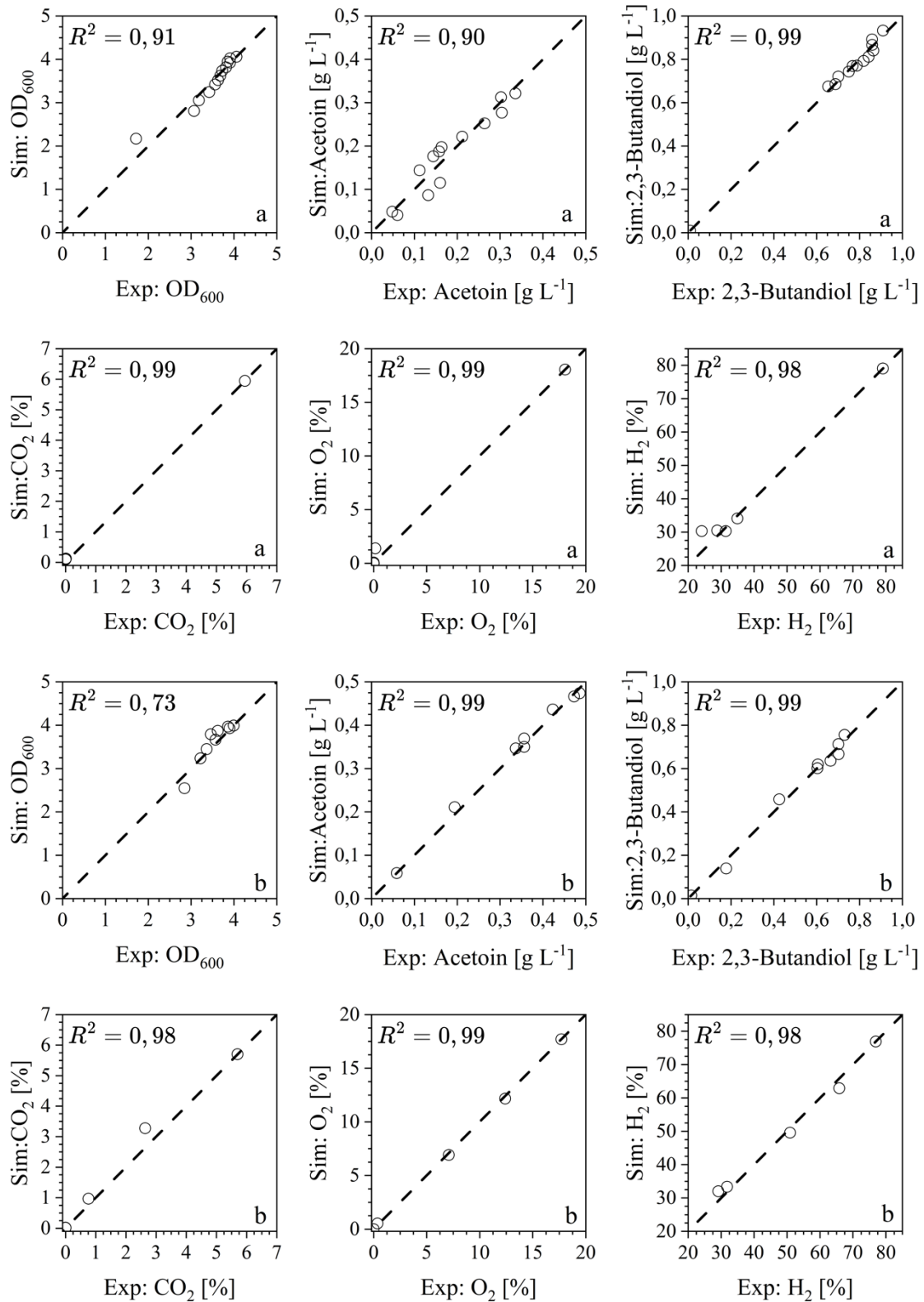


Abbildung A8: Vergleich der simulierten Werte mit den Messwerten im autotrophen Prozessmodell für a) pBBR1_budC (*E. cloacae*) und b) pBBR1_budC (*K. pneumoniae*). Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R^2 beschrieben. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt.

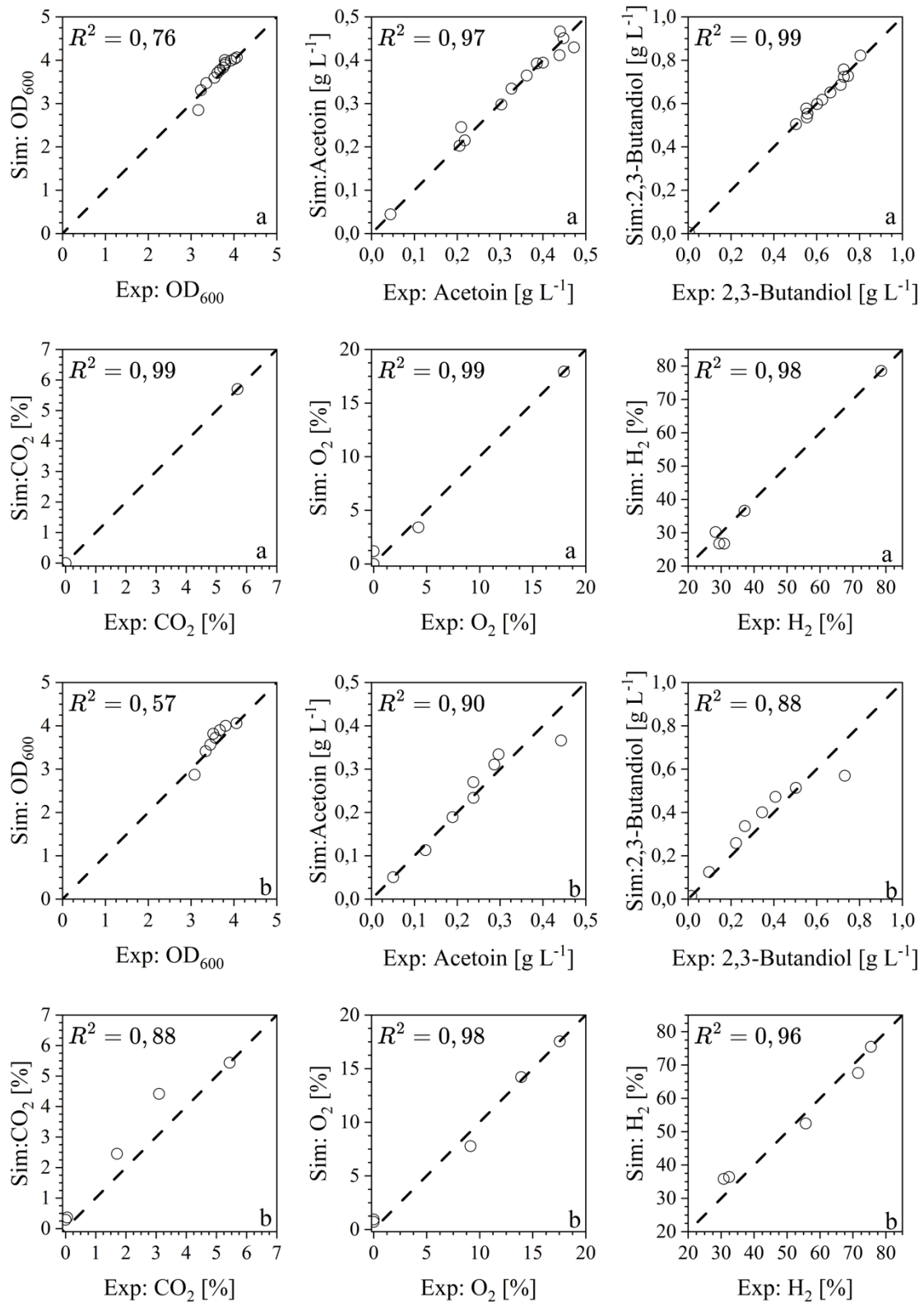


Abbildung A9: Vergleich der simulierten Werte mit den Messwerten im autotrophen Prozessmodell für a) pBBR1_cag (*E. cloacae*) und b) pBBR1_cag (*K. pneumoniae*). Die Anpassungsgüte wurde durch das Bestimmtheitsmaß R^2 beschrieben. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt.

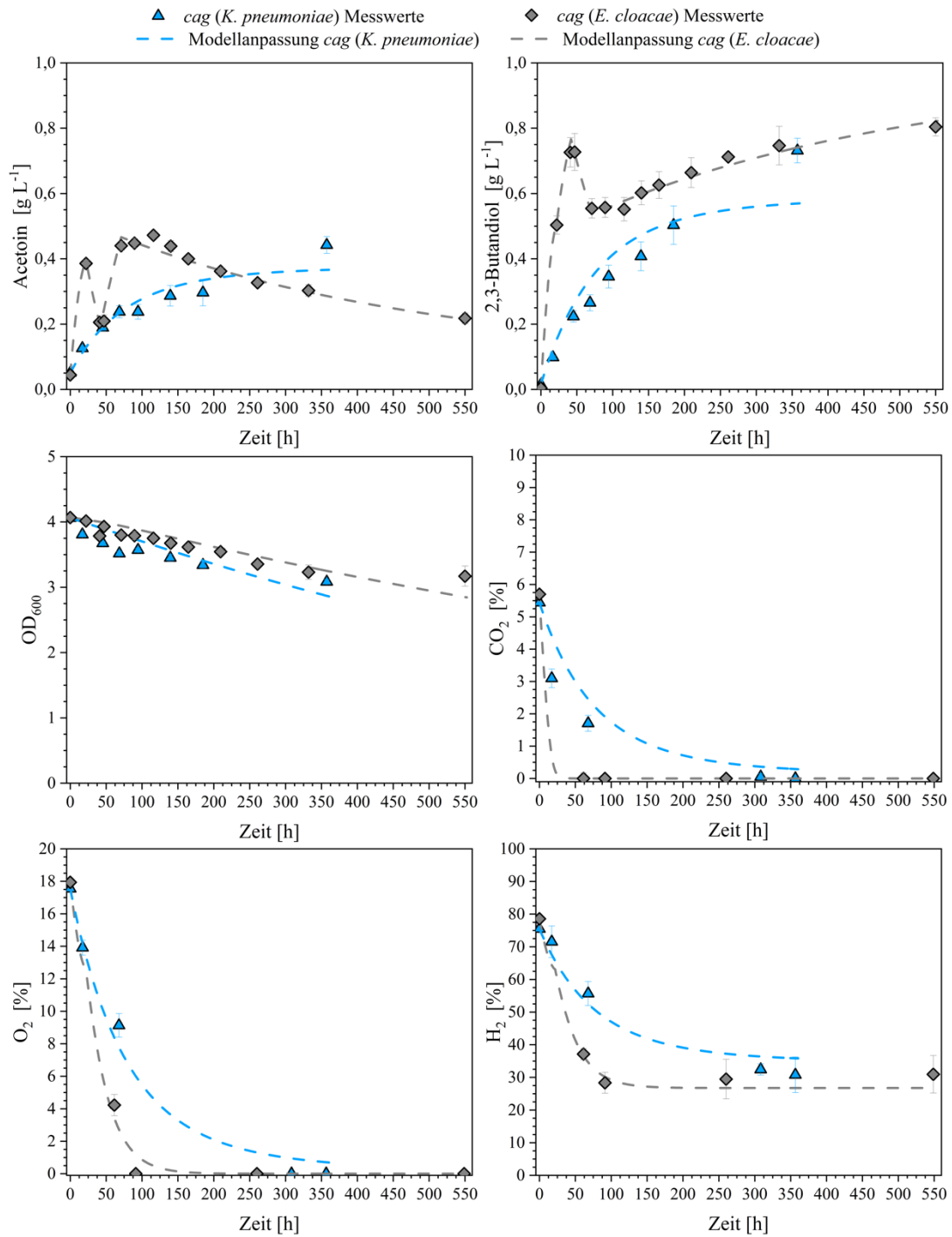


Abbildung A10: Vergleich der Simulationen der autotrophen Prozessmodelle der *cag*-Varianten aus verschiedenen Organismen unter autotrophen Bedingungen in *C. necator* Stämmen. Es sind die optischen Dichten, die Gasmengen, sowie die Produktion von Acetoin und 2,3-Butandiol für pBBR1_ *cag* (*K. pneumoniae*) und pBBR1_ *cag* (*E. cloacae*) dargestellt. Die experimentellen Daten wurden vom TMI zur Verfügung gestellt.

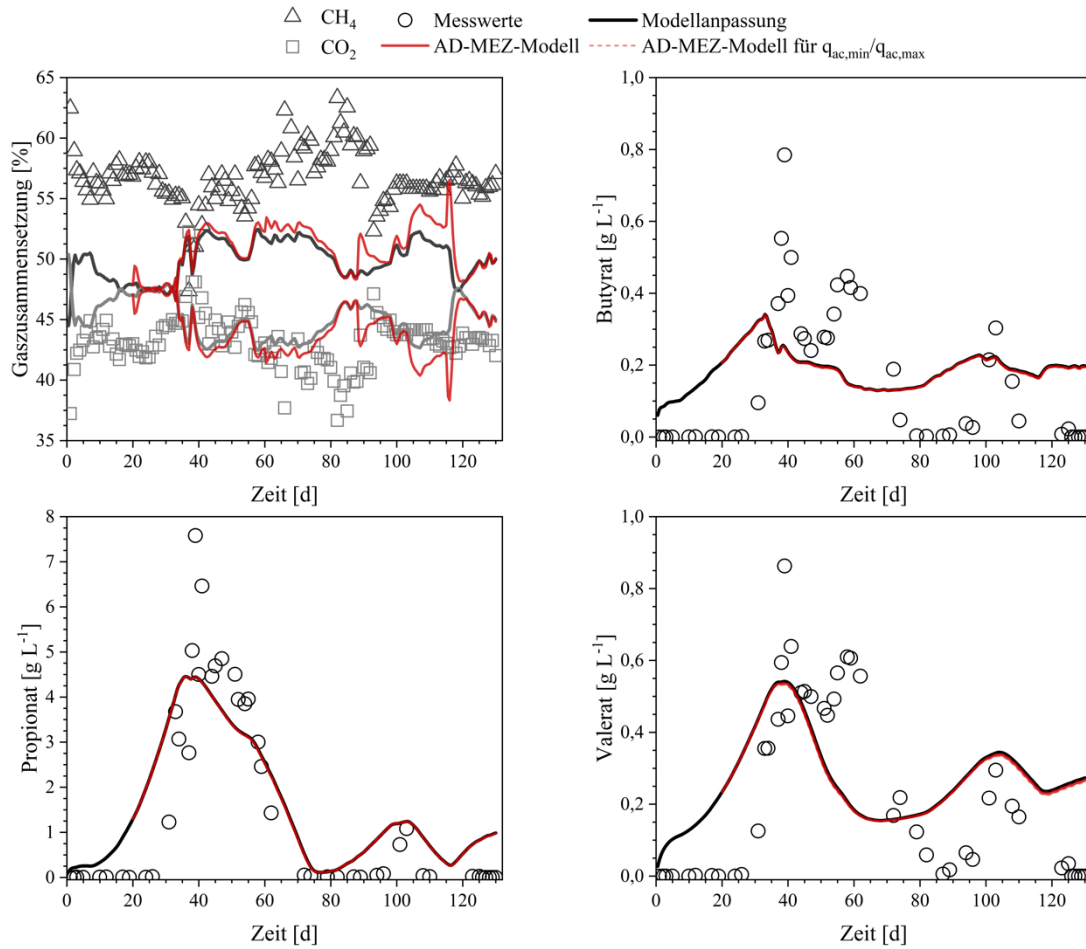


Abbildung A11: Vergleich der simulierten Werte aus der Modellanpassung des ADM1 mit dem kombinierten AD-MEZ-Modell und den entsprechenden Messwerten. Der hier verwendete Datensatz wurde vom DBFZ zur Verfügung gestellt und basiert auf Laborexperimenten unter Verwendung von Rübensilage.

Tabelle A1: Gemessene Aminosäuren und Carbonsäuren in sterilem Urin (Schulze und Stahl 2019; Vagt und Frerichs 2021)

Serin	Histidin	Glycin	Alanin	Phenylalanin	Zitronensäure
		[μmol/L]			[mg/L]
7,6	10	23	14	7,4	77

Tabelle A2: Substrateingangswerte des massenbasierten ADM1 auf Basis von Referenzangaben und der Substratcharakterisierung (Weinrich und Nelles 2015; Weinrich 2017; Weinrich *et al.* 2021).

Rübensilage	Referenzen	Berechnet
x_{ch} [g L ⁻¹]	177,8	127-182
x_{pr} [g L ⁻¹]	5,6	7-10
x_{li} [g L ⁻¹]	6,1	4,9-7,1
S_{IN} [g L ⁻¹]	1,378	
S_{ac} [g L ⁻¹]	4,290	
S_{pro} [g L ⁻¹]	1,056	
S_{bu} [g L ⁻¹]	0,924	
S_{va} [g L ⁻¹]	0,330	
S_{cat+} [mol L ⁻¹]	0,07	
S_{an-} [mol L ⁻¹]	0,02	

Tabelle A3: Sensitivität der Parameter des BVM- und des NM-Modells auf die Stromdichte bei der Simulation der verschiedenen Prozessausführungen. Die Änderung des Ausgabewertes wurde im stabilen Strombereich bei 100 % Elektronenfluss betrachtet.

	Sweep Down	Sweep Up	20 % Elektronenfluss	50 % Elektronenfluss
Ausgabe (Q) →	Stromdichte			
Parameter (p) ↓	[%]			
α	3,5	3,8	1,2	0,06
K_1	24,9	28,8	0,05	0
K_2	24,8	28,6	0	0
E_{SP}	25,2	29,0	0,3	0,03
E_{KA}	21,5	24,8	0	0
$J_{max,BVM}$	79,9	70,7	58,3	54,1
$J_{max,NM}$	70,7	68,7	62,0	54,4
K_m	23,2	28,8	0,2	0,3
K_S	23,8	24,9	0,2	0,2

Tabelle A4: Parameter aus der Modellanpassung der linearen Sweep-Voltammetrie für die 10 % und 90 % Quantile des NM- und des BVM-Modells.

Parameter	Sweep Down				Sweep Up			
	NM		BVM		NM		BVM	
	Q ₁₀	Q ₉₀	Q ₁₀	Q ₉₀	Q ₁₀	Q ₉₀	Q ₁₀	Q ₉₀
α			0,55	0,55			0,55	0,55
K_1			2,07	2,20			2,69	2,92
K_2			7,48	8,49			7,27	9,59
E_{SP} [V]			-0,242	-0,240			-0,266	-0,262
E_{KA} [V]	-0,161	-0,159			-0,178	-0,176		
$J_{max,BVM}$ [A m ⁻²]			1,337	1,339			1,375	1,378
$J_{max,NM}$ [A m ⁻²]	1,298	1,300			1,330	1,351		

Tabelle A5: Modellparameter des massenbasierten ADM1 mit fester Stöchiometrie (Weinrich 2017)

Maximale Wachstumsraten			Halbsättigungskonstanten			Reaktionskonstanten		
$\mu_{m,su}$	3	[d ⁻¹]	$K_{S,su}$	0,47	[g L ⁻¹]	k_{ch}	0,25	[d ⁻¹]
$\mu_{m,aa}$	4	[d ⁻¹]	$K_{S,aa}$	0,2	[g L ⁻¹]	k_{pr}	0,2	[d ⁻¹]
$\mu_{m,fa}$	0,36	[d ⁻¹]	$K_{S,fa}$	0,14	[g L ⁻¹]	k_{ii}	0,1	[d ⁻¹]
$\mu_{m,va}$	1,2	[d ⁻¹]	$K_{S,va}$	0,10	[g L ⁻¹]	k_{dec}	0,02	[d ⁻¹]
$\mu_{m,bu}$	1,2	[d ⁻¹]	$K_{S,bu}$	0,11	[g L ⁻¹]			
$\mu_{m,pro}$	0,52	[d ⁻¹]	$K_{S,pro}$	0,07	[g L ⁻¹]			
$\mu_{m,ac}$	0,4	[d ⁻¹]	$K_{S,ac}$	0,14	[g L ⁻¹]			
$\mu_{m,h2}$	2,1	[d ⁻¹]	$K_{S,h2}$	$8,8 \cdot 10^{-7}$	[g L ⁻¹]			
Inhibierungskonstanten			pH -Unter- und Obergrenzen					
$K_{S,IN}$	0,0017	[g L ⁻¹]	$pH_{LL,aa}$	4		$pH_{UL,aa}$	5,5	
$K_{I,h2,fa}$	$6,3 \cdot 10^{-7}$	[g L ⁻¹]	$pH_{LL,ac}$	6		$pH_{UL,ac}$	7	
$K_{I,h2,c4}$	$1,3 \cdot 10^{-6}$	[g L ⁻¹]	$pH_{LL,h2}$	5		$pH_{UL,h2}$	6	
$K_{I,h2,pro}$	$4,4 \cdot 10^{-7}$	[g L ⁻¹]						
$K_{I,nh3}$	0,0306	[g L ⁻¹]						
Dissoziationskonstanten								
$K_{a,va}$	$1 \cdot 10^{-4,86}$	[mol L ⁻¹]	$k_{AB,va}$	$1 \cdot 10^{-10}$	[L mol ⁻¹ d ⁻¹]	K_w	$1 \cdot 10^{-13,7}$	[mol L ⁻¹]
$K_{a,bu}$	$1 \cdot 10^{-4,82}$	[mol L ⁻¹]	$k_{AB,bu}$	$1 \cdot 10^{-10}$	[L mol ⁻¹ d ⁻¹]			
$K_{a,pro}$	$1 \cdot 10^{-4,88}$	[mol L ⁻¹]	$k_{AB,pro}$	$1 \cdot 10^{-10}$	[L mol ⁻¹ d ⁻¹]			
$K_{a,ac}$	$1 \cdot 10^{-4,76}$	[mol L ⁻¹]	$k_{AB,ac}$	$1 \cdot 10^{-10}$	[L mol ⁻¹ d ⁻¹]			
$K_{a,co2}$	$1 \cdot 10^{-6,29}$	[mol L ⁻¹]	$k_{AB,co2}$	$1 \cdot 10^{-10}$	[L mol ⁻¹ d ⁻¹]			
$K_{a,IN}$	$1 \cdot 10^{-8,87}$	[mol L ⁻¹]	$k_{AB,IN}$	$1 \cdot 10^{-10}$	[L mol ⁻¹ d ⁻¹]			
Phasenübergang								
k_{La}	200	[d ⁻¹]	$K_{H,ch4}$	0,0011	[mol L ⁻¹ bar ⁻¹]	p_{h20}	0,0657	[bar]
k_p	$5 \cdot 10^{-4}$	[L bar ⁻¹ d ⁻¹]	$K_{H,co2}$	0,025	[mol L ⁻¹ bar ⁻¹]	p_{atm}	1,0133	[bar]
R	0,08315	[bar L mol ⁻¹ K ⁻¹]	$K_{H,h2}$	0,00072	[mol L ⁻¹ bar ⁻¹]			

Tabelle A6: Sensitivität der Parameter im Prozessmodell der Biogaserzeugung auf das Ergebnis der Simulation bei 130 d. Die Sensitivität der Wachstumsraten, der Substrataffinitäten und der Zellyse wurden bei einer Parametervariation von 2,5 % berechnet.

Ausgabe (Q) → Parameter (p) ↓	Biogas	CH ₄	CO ₂	pH	Valerat	Butyrat	Propionat	Acetat
		[%]						
$\mu_{m,su}$	0,003	0,002	0,002	0,001	0,004	0,003	0,018	0,020
$\mu_{m,aa}$	0,039	0,013	0,014	0,007	0,210	0,110	0,0590	3,755
$\mu_{m,fa}$	0,007	0,003	0,003	0,001	0,002	0,001	0,001	0,015
$\mu_{m,bu}$	0,019	0,007	0,008	0,013	6,917	10,41	0,432	1,276
$\mu_{m,pro}$	1,033	0,575	0,517	0,907	1,972	1,224	99,06	65,03
$\mu_{m,ac}$	0,018	0,013	0,014	0,464	0,013	0,011	0,017	34,29
$\mu_{m,h2}$	0,028	0,014	0,015	0,005	0,049	0,059	0,671	0,487
$\mu_{m,va}$	0,027	0,008	0,009	0,027	17,76	10,39	1,378	2,501

Ausgabe (Q) → Parameter (p) ↓	Biogas	CH ₄	CO ₂	pH	Valerat	Butyrat	Propionat	Acetat
		[%]						
$K_{S,su}$	0,001	0,002	0,002	0,001	0,003	0,002	0,014	0,015
$K_{S,aa}$	0,002	0,001	0,001	0,001	0,006	0,003	0,005	0,225
$K_{S,fa}$	0,004	0,001	0,002	0,001	0,001	0,001	0,001	0,008
$K_{S,va}$	0,006	0,002	0,003	0,004	2,912	1,708	0,148	0,361
$K_{S,bu}$	0,008	0,004	0,004	0,006	3,201	4,765	0,181	0,568
$K_{S,pro}$	0,054	0,028	0,030	0,012	0,107	0,069	1,827	1,349
$K_{S,ac}$	0,019	0,014	0,015	0,064	0,003	0,002	0,002	4,685
$K_{S,h2}$	0,029	0,0143	0,0157	0,005	0,050	0,060	0,680	0,493
k_{ch}	1,379	0,070	0,073	0,033	0,862	0,372	1,640	7,813
k_{pr}	0,502	0,105	0,114	0,060	1,449	0,906	0,687	36,74
k_{li}	0,980	0,291	0,319	0,007	0,011	0,006	0,079	0,887
k_{dec}	0,849	0,403	0,443	0,617	20,15	16,40	34,81	25,18

Tabelle A7: Parameter aus der Modellanpassung für die 10 % und 90 % Quantile der verschiedenen *C. necator* Stämme im heterotrophen Prozessmodell.

Parameter	Stamm					
	pBBR1_budC (<i>K. pneumoniae</i>)		pBBR1_budC (<i>K. aerogenes</i>)		pBBR1_budC (<i>E. cloacae</i>)	
	Q _{0,1}	Q _{0,9}	Q _{0,1}	Q _{0,9}	Q _{0,1}	Q _{0,9}
μ_{max} [h ⁻¹]	3,73·10 ⁻²	4,53·10 ⁻²	4,92·10 ⁻²	4,99·10 ⁻²	4,11·10 ⁻²	4,99·10 ⁻²
$\mu_{d,min}$ [h ⁻¹]	1,33·10 ⁻⁶	4,93·10 ⁻⁴	1,96·10 ⁻⁶	3,88·10 ⁻⁴	2,01·10 ⁻⁶	8,83·10 ⁻⁵
$\mu_{d,max}$ [h ⁻¹]	4,16·10 ⁻³	5,12·10 ⁻³	5,16·10 ⁻³	7,10·10 ⁻³	4,51·10 ⁻³	5,48·10 ⁻³
$Y_{X,F}$ [g _{zellen} g ⁻¹]	9,19·10 ⁻²	10,8·10 ⁻²	9,56·10 ⁻²	12,14·10 ⁻²	7,59·10 ⁻²	9,17·10 ⁻²
$Y_{X,A}$ [g _{zellen} g ⁻¹]	0,46	0,50	0,42	0,45	0,72	0,80
$Y_{X,B}$ [g _{zellen} g ⁻¹]	0,42	0,46	0,65	0,73	0,26	0,28
$Y_{A,B}$ [g g ⁻¹]	1,01	1,05	1,00	1,08	1,01	1,07
$K_{S,F}$ [g L ⁻¹]	0,25	0,57	1,43	1,81	0,68	1,11
$K_{P,B}$ [g L ⁻¹]	1,00·10 ⁻³	0,83	1,08·10 ⁻³	1,25	1,00·10 ⁻³	1,21·10 ⁻³
$q_{B,max}$ [g g _{zellen} ⁻¹ h ⁻¹]	1,63·10 ⁻²	4,54·10 ⁻²	5,25·10 ⁻³	1,75·10 ⁻²	2,40·10 ⁻²	2,62·10 ⁻²
t_{lag} [h]	3,49	6,00	0,19·10 ⁻²	0,93	5,39	6,00
$S_{F,min}$ [g L ⁻¹]	4,98·10 ⁻²	5,00·10 ⁻²	4,84·10 ⁻²	5,16·10 ⁻²	4,97·10 ⁻²	5,03·10 ⁻²

Tabelle A8: Sensitivität der Parameter im heterotrophen Prozessmodell auf das Ergebnis der Simulation bei 58,5 h für *budC* (*K. pneumoniae*). Die Sensitivität der Parameter der Rückreaktion wurde auf das Endergebnis der Simulation bezogen.

Ausgabe (Q) → Parameter (p) ↓	OD	Fruktose	Acetoin	2,3-Butandiol
		[%]		
μ_{max}	14,4	156,8	37,3	31,1
$Y_{X,F}$	5,6	91,7	11,3	11,5
$Y_{X,A}$	0	0	30,5	0
$Y_{X,B}$	0	0	0	33,9
$Y_{A,B}$	0	0	29,8	29,8

Ausgabe (Q) → Parameter (p) ↓	OD	Fruktose [%]	Acetoin	2,3-Butandiol
$K_{S,F}$	4,3	41,3	9,6	8,6
$\mu_{d,min}$	0	0	0	0
$\mu_{d,max}$	5,6	2,6	4,1	4,1
$q_{B,max}$	0	0	31,0	31,0
$K_{P,B}$	0	0	0,1	0,1
$S_{F,min}$	0	0	0	0
t_{lag}	2,5	27,1	6,8	5,0

Tabelle A9: Sensitivität der Parameter im heterotrophen Prozessmodell auf das Ergebnis der Simulation bei 58,5 h für *budC* (*K. aerogenes*). Die Sensitivität der Parameter der Rückreaktion wurde auf das Endergebnis der Simulation bezogen.

Ausgabe (Q) → Parameter (p) ↓	OD	Fruktose [%]	Acetoin	2,3-Butandiol
μ_{max}	14,2	148,0	38,8	20,1
$Y_{X,F}$	4,7	80,7	10,7	6,0
$Y_{X,A}$	0	0	32,4	0
$Y_{X,B}$	0	0	0	18,2
$Y_{A,B}$	0	0	7,0	7,0
$K_{S,F}$	6,9	64,2	16,8	8,8
$\mu_{d,min}$	0	0	0	0
$\mu_{d,max}$	6,8	5,7	1,6	1,5
$q_{B,max}$	0	0	7	7
$K_{P,B}$	0	0	5,4	5,4
$S_{F,min}$	0	0	0	0
t_{lag}	0	0	0	0

Tabelle A10: Sensitivität der Parameter im heterotrophen Prozessmodell auf das Ergebnis der Simulation bei 58,5 h für *budC* (*E. cloacae*). Die Sensitivität der Parameter der Rückreaktion wurde auf das Endergebnis der Simulation bezogen.

Ausgabe (Q) → Parameter (p) ↓	OD	Fruktose [%]	Acetoin	2,3-Butandiol
μ_{max}	11,6	154,8	23,9	40,6
$Y_{X,F}$	5,7	91,8	8,1	18,6
$Y_{X,A}$	0	0	18,1	0
$Y_{X,B}$	0	0	0	47,5
$Y_{A,B}$	0	0	42,1	42,1
$K_{S,F}$	4,5	52,9	7,8	14,2
$\mu_{d,min}$	0	0	0	0
$\mu_{d,max}$	5,1	3,8	5,8	5,8
$q_{B,max}$	0	0	39,7	39,7
$K_{P,B}$	0	0	0,1	0,1
$S_{F,min}$	0	0	0	0
t_{lag}	1,8	23,8	4,1	5,8

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die maßgeblich zu dieser Arbeit beigetragen haben. Mein besonderer Dank gilt Prof. Johannes Gescher, der mir die Möglichkeit gab, in seinem Institut zu arbeiten und mich während der Promotionszeit mit seiner Expertise und Betreuung unterstützt hat. Besonders schätzte ich die regelmäßigen Mitarbeitergespräche und das jährliche Retreat, die mir stets wertvolle Impulse und Unterstützung gaben. Prof. Pörtner danke ich herzlich für die Zweitbegutachtung und die wertvollen Anregungen in den Simulationen sowie Prof. Anna-Lena Heins für die Übernahme des Vorsitzes meiner Prüfung und ihre Unterstützung am IBB.

Ein großes Dankeschön geht an das gesamte Team des Instituts für Technische Mikrobiologie für die hilfreichen Ratschläge und die Unterstützung in verschiedensten Phasen der Arbeit. Vor allem möchte ich meinen Bürokollegen Janek, Melanie und Lukas danken, ohne die ich es nicht so weit geschafft hätte. Eure Hilfe, die vielen Gespräche und Diskussionen haben mir unglaublich weitergeholfen. Melanie und Janek danke für eure Unterstützung zu Beginn im Labor als LabBuddys und eure aufbauende Unterstützung als Biber-Brüder. Lukas, dir danke ich besonders für dein offenes Ohr, deine Ratschläge und deine kritische Perspektive bei meinen Fragen.

Ein besonderer Dank geht auch an das Deutsche Biomasseforschungszentrum, insbesondere an Prof. Weinrich und Prof. Kretzschmar für die umfassende Unterstützung und die Bereitstellung wertvoller Daten zur Simulation des anaeroben Abbauprozesses, die zu dieser Arbeit beigetragen haben.

Ein weiterer Dank geht an die Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Bioprocess- und Biosystemtechnik, die mich in der Anfangsphase meiner Promotion unterstützt haben, bevor ich zum TMI wechselte. Besonders Lukas möchte ich danken, der mir bei Simulationsfragen in Matlab stets zur Seite stand und mit dem ich viele anregende Gespräche und Diskussionen führen konnte. Deine Unterstützung und dein offenes Ohr waren eine große Hilfe.

Mein tiefster Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, die mir in schwierigen Zeiten stets zur Seite standen und mich immer wieder motiviert haben, weiterzumachen, wenn ich mal nicht weiterwusste. Vor allem danke ich meiner Mutter und meiner Freundin Linh. Ihr beide habt meine Höhen und Tiefen am meisten mitbekommen und habt mir immer Mut zugesprochen, wenn es schwer wurde.

Ohne Euch alle wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Vielen Dank an alle, die mich während meiner Zeit an der TUHH begleitet und unterstützt haben.