

Biotechnologische Herstellung von regenerativen Energieträgern aus nachwachsenden Rohstoffen mit Hilfe von Mikroorganismen.

Mikrobielle Treibstofffabriken für eine nachhaltige Zukunft

Die sich abzeichnende Erschöpfung fossiler Rohstoffe erfordert neue Verfahren zur Nutzung nachwachsender Rohstoffe und regenerativer Energien, um die Versorgung der chemischen Industrie mit Rohstoffen sicherzustellen und den Energiebedarf der Menschen zu befriedigen. Die Weiße Biotechnologie kann hier entscheidende Beiträge leisten. Auch Kraftstoffe können durch biotechnologische Prozesse erzeugt werden.

Die Biotechnologie ist eine der Schlüsseltechnologien dieses Jahrhunderts. Sie ist die integrative, anwendungsorientierte Schnittmenge verschiedener Disziplinen wie Mikrobiologie, Biochemie, Zellbiologie und Verfahrenstechnik mit dem Ziel, das Potenzial von Organismen, Geweben, Zellen und Zellbestandteilen für die nachhaltige Herstellung von Produkten der Chemie-, Pharma-, Lebensmittel- und Kosmetikindustrie sowie den Abbau von Schadstoffen zu erreichen. Biotechnologie ermöglicht umweltschonende und energiesparende Herstellungsverfahren und die Nutzung von nachwachsenden Rohstoffen für industrielle Prozesse, eine „sanfte Chemie“ unter Schonung unserer natürlichen Ressourcen.

Die moderne Biotechnologie ist vielseitig und „farbenfroh“ (Abbildung 1). Die Rote Biotechnologie beschäftigt sich mit der Entwicklung neuartiger Pharmazutika zur Heilung von Krankheiten oder genetisch bedingten Defekten und der Entwicklung von hochspezifischen Drug-Delivery-Systemen, Diagnostika und der Züchtung menschlicher Gewebe und Organe für Transplantationen. Die Grüne Biotechnologie dient der Veränderung von Pflanzen zur Verbesserung von deren Eigenschaften z. B. zur Ertragssteigerung oder zur Übertragung neuer Eigenschaften wie Resistenzen gegen Schädlinge, Krankheitserreger und Witterungsbedingungen oder zusätzlicher Syntheseleistungen. Mikroorga-

nismen und Enzyme sind die Arbeitstiere der Grauen und der Weißen Biotechnologie. Die Graue Biotechnologie ist dem nachsorgenden Umweltschutz gewidmet, der Entfernung und Detoxifizierung von Schadstoffen. Die Wurzeln der Weißen oder Industriellen Biotechnologie liegen schon mehrere Tausend Jahre zurück. Was damals in kleinem Maßstab mit der Herstellung von Wein, Bier, Essig und Joghurt begann, erlaubt heutzutage durch ausgereiftes technisches Know-how und wissenschaftlichen Fortschritt die großindustrielle Herstellung einer breiten Vielfalt von Produkten des täglichen Bedarfs. Sie umfassen Bulk- und Feinchemikalien, Lebensmittel sowie Lebens- und Futtermitteladditive, Enzyme, Pharmawirkstoffe, Hilfsstoffe für verarbeitende Industrien und Biokraftstoffe. Zu den großen Erfolgsgeschichten der Weißen Biotechnologie gehören Zitronensäure, Vitamine, Aminosäuren, Antibiotika, Waschmittelenzyme und Ethanol, Produkte die heute zum Teil im Maßstab von mehreren Millionen Tonnen pro Jahr mit Hilfe von Bakterien, Hefen und Pilzen hergestellt werden.

Die unausweichliche, sukzessive Erschöpfung unserer fossilen Energieträger hat in den letzten Jahren zu einem explosionsartigen Anstieg des Rohölpreises geführt. Zudem sind die Folgen der mit der Nutzung fossiler Energien verbundenen globalen Erderwärmung nicht mehr zu übersehen. Daher kommt aus dem Portfolio der Weißen Biotechnologie in jüngster Zeit den Bioenergien eine immer stärker werdende Bedeutung zu. Bioenergien werden aus nachwachsenden pflanzlichen Rohstoffen hergestellt. Sie können daher einen wichtigen Beitrag leisten zur nachhaltigen Sicherung unserer zukünftigen Energieversorgung und zur Reduzierung der Freisetzung des Treibhausgases CO₂, weil ihnen nahezu geschlossene Kohlenstoffkreisläufe zu Grunde liegen. Die Weiße Biotechnologie hat hier verschiedene Technologien anzubieten (Abbildung 2). Biogas entsteht durch ein Konsortium von anaeroben Mikroorganismen unter sauerstofffreien Bedingungen bei der Vergärung von nachwachsenden Rohstoffen, aber auch von organischen Abfallprodukten wie Klärschlamm, Gülle oder Grünabfall sowie von vorwiegend aus der Landwirtschaft und Lebensmittelherstellung stammenden Reststoffen. Der Energie tragende Bestandteil von Biogas ist Methan, das hauptsächlich zur Strom- und Wärmeherzeugung eingesetzt wird. Bioethanol wird ebenfalls durch anaerobe Fermentation mit Hefen aus Zuckerrohr, Getreide oder anderen stärkehaltigen Pflanzenprodukten (Kartoffeln, Zuckerrübe) hergestellt. Bioethanol wird besonders in Brasilien und den USA bereits in großem Umfang produziert und kann in beliebigen Mischungen normalem Benzin hinzugefügt werden. Deutschlandweit liegt der Ethanolanteil von Benzin erst bei etwa zwei Prozent, aber ein bis zu 25-prozentiger Ethanolkraftstoff kann mit nur geringfügigen Modifizierungen in normalen Benzinmotoren verwendet werden. Auch Wasserstoff (H₂), welcher in Brennstoffzellen zur Energieerzeugung genutzt werden kann, lässt sich mit Hilfe von Bakterien oder Grünalgen, die das Enzym Hydrogenase besitzen, synthetisieren. Im Gegensatz zur technischen H₂-Produktion spielen diese biotechnischen Verfahren aber noch keine bedeutende Rolle. Rein chemisch und ohne Beteiligung von

Mikroorganismen erfolgt bislang die Synthese von so genanntem Biomass-to-liquid- (BtL-) Kraftstoff und Biodiesel. Bei der Synthese von BtL-Kraftstoff wird feste Biomasse in einem sehr energieaufwändigen, mehrstufigen Verfahren in Dieselkraftstoff umgewandelt. Dahingegen erfolgt die Biodiesel-Herstellung ausgehend von flüssigen Pflanzenölen aus Soja, Palmöl und vorwiegend in Europa aus Raps. Der Hauptbestandteil des Pflanzenöls sind zähflüssige Triglyceride, die sich jedoch noch nicht direkt als Biokraftstoff eignen. In einem kosten- und energieaufwändigen Prozess müssen diese Triglyceride mit niedermolekularen Alkoholen wie Methanol mit einem chemischen Katalysator in so genannte Fettsäuremethylester (FAME) umgewandelt werden. Diese FAME sind der wesentliche Bestandteil von Biodiesel, der eine vollwertige Alternative zu fossilem Dieseltreibstoff darstellt. Biodiesel ist in Deutschland der derzeit mengenmäßig bedeutendste Biokraftstoff. Gegenüber anderen regenerativen Energien hat Biodiesel den Vorteil, dass keine neuen Fahrzeugtechnologien notwendig sind, sondern er kann ohne jegliche Modifizierung in konventionellen Dieselmotoren benutzt werden. Ist Biodiesel also der Schlüssel für eine stufenlose Umstellung auf regenerative Biokraftstoffe und die baldige Unabhängigkeit von fossilen Energieträgern? Leider nicht, denn Biodiesel hat auch schwerwiegende Nachteile und Limitierungen. Für die Biodieselerstellung werden riesige Ackerflächen für den Anbau von Ölpflanzen benötigt; diese landwirtschaftliche Nutzfläche steht dann nicht mehr für die Produktion von Lebensmitteln zur Verfügung. Angesichts der hungernden Bevölkerung in der Dritten Welt eine moralisch bedenkliche Vorgehensweise. Selbst bei maximaler



Abb. 1: Die Farben der Biotechnologie: rot, grün, grau und weiß und eine goldene Perspektive

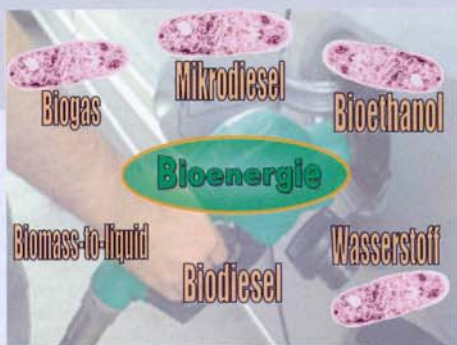


Abb. 2: Das Spektrum der Bioenergien: Mikroorganismen produzieren Biogas, Mikrodiesel, Bioethanol und Wasserstoff. Daneben gibt es dann noch das BtL-Verfahren und Verfahren zur Herstellung von Biodiesel aus nachwachsenden Rohstoffen.

Ausnutzung aller zur Verfügung stehender Agrarflächen ließe sich in Deutschland nur 10 bis 15 Prozent des Dieseltreibstoffbedarfs mit Biodiesel decken; zudem ist die Notwendigkeit der Fruchtfolge zu berücksichtigen. Und eine Abholzung beispielsweise von tropischen Regenwäldern, bloß um Agrarfläche für den Anbau von Palmöl für die Biodieselerstellung zu schaffen, führt den ökologischen Gedanken von regenerativen Energien ad absurdum. Zudem ist Biodiesel, obwohl das Präfix „Bio-“ dies vermuten lässt, kein hundertprozentiges Naturprodukt, weil das für die Synthese benötigte Methanol hauptsächlich aus Erdgas, also einer fossilen Ressource stammt. Biodiesel kann zukünftig nur dann zu einer stärkeren Substitution von fossilen Kraftstoffen beitragen, wenn es gelingt, die Synthese nicht nur aus Pflan-

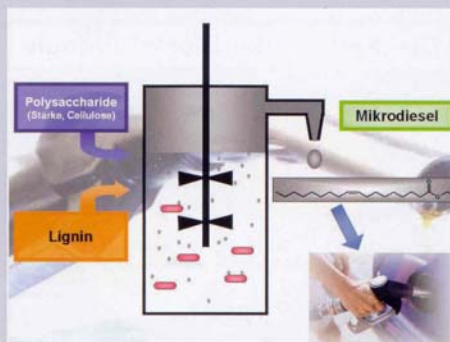


Abb. 3: Herstellung von Mikrodiesel in der Zukunft nach Erweiterung der Leistungen des jetzigen Stammes um weitere Stoffwechsel-Module.

zenölen, sondern ökologisch verträglich vollständig aus weit ertragreicheren pflanzlichen Rohstoffen wie Stärke und Cellulose zu ermöglichen.

Hier können gentechnisch veränderte Mikroorganismen in Zukunft möglicherweise die Lösung sein. In unserem Labor wurde die Erbinformation von Bakterien so modifiziert, dass diese große Mengen so genannter Fettsäureethylester (FAEE) produzieren können. Diese FAEE sind den FAME des Biodiesels nicht nur chemisch sehr ähnlich, sondern sie weisen praktisch auch dieselben Kraftstoffigenschaften auf. Das Besondere dabei ist, dass diese FAEE von Bakterien ausgehend von Fettsäuren und Glukose synthetisiert werden, also komplett aus pflanzlichen Rohstoffen und ganz ohne das toxische Methanol aus Erdgas. Doch wie funktioniert dieses „Mikrodiesel“ getaufte Verfahren genau? Grundlage ist ein neuartiges Enzym, WS/DGAT, aus *Acinetobacter baylyi*, welches in diesem Bakterium für die Fettspeicherung zuständig ist. WS/DGAT ist eine Acyltransferase, ein Enzym das Fettsäuren auf Verbindungen mit Hydroxylgruppen übertragen kann. Es hat sich herausgestellt, dass diese Acyltransferase bezüglich seiner Substrate nicht sehr wählerisch ist. Wir haben uns diese Unspezifität zu Nutze gemacht und nach dem Baukastenprinzip mit Hilfe moderner gentechnischer Methoden in dem Darmbakterium *Escherichia coli*, dem Haustier der Molekularbiologie, mit Genen aus zwei weiteren Bakterienarten einen Künstlichen Biosyntheseweg geschaffen, der so in der Natur nicht vor-

kommt. Hierzu wurden zunächst die beiden Gene Pyruvat-Decarboxylase und Alkohol-Dehydrogenase aus dem Alkohol produzierendem Bakterium *Zymomonas mobilis* kloniert, die *E. coli* in die Lage versetzen, Ethanol aus Glukose zu produzieren. Anschließend haben wir zu diesem Ethanol-Biosynthesebaustein die WS/DGAT aus *A. baylyi* hinzugefügt, die dann in *E. coli* das gebildete Ethanol mit Fettsäuren zu FAEE (= Mikrodiesel) umsetzt. Mit diesem Designer *E. coli* Stamm lässt sich bei Fer-

mentation in einem Bioreaktor bereits mehr als ein Gramm Mikrodiesel pro Liter produzieren.

Obwohl das Mikrodiesel-Verfahren also prinzipiell funktioniert, sind die derzeitigen Ausbeuten für eine wirtschaftliche Nutzung noch viel zu gering. Was muss also in Zukunft noch alles weiterentwickelt werden, um Mikrodiesel später einmal in einem rentablen industriellen Verfahren herstellen zu können? Momentan wird Mikrodiesel aus Glukose und Fettsäuren produziert. Zukünftig soll der jetzige *E. coli* Stamm um zusätzliche Stoffwechsel-Module erweitert werden,

die eine Nutzung der in großen Mengen vorkommenden Pflanzenpolymere Stärke, Cellulose und Lignin als Ausgangssubstrate erlauben (Abbildung 3). Somit könnten dann Materialien wie Stroh und Holz, aber auch Altpapier zur Mikrodiesel-Herstellung verwendet werden. Ferner soll ein Fettsäurebiosynthese-Modul hinzukommen, der die Zugabe von Fettsäuren zum Kultivierungsmedium überflüssig macht. Schließlich soll außerdem noch ein Ausschleusungs-Modul eingebaut werden, damit gebildeter Mikrodiesel von den Bakterienzellen nicht intrazellulär angehäuft, sondern ins Medium ausgeschieden wird. Damit kann dann eine kontinuierliche Produktion und Abschöpfung des Mikrodiesels stattfinden.

Es bleibt also noch viel Entwicklungsarbeit zu leisten, aber die Aussichten stehen nicht schlecht, dass es vielleicht bald einmal tatsächlich Mikrodiesel aus mikrobiellen Treibstoffabriken an unseren Tankstellen gibt. Die Energieversorgung der Zukunft wird sicherlich ein Cocktail aus verschiedenen Bio- und weiteren regenerativen Energien sein. Möglicherweise kann aus nachwachsenden Rohstoffen hergestellter Mikrodiesel hierzu einen Beitrag leisten.

Prof. Dr. Alexander Steinbüchel
Dr. Rainer Kalscheuer

DIE AUTOREN

Prof. Dr. Alexander Steinbüchel studierte Biologie an der Universität Göttingen. Nach der Promotion im Jahr 1983, einem Aufenthalt als PostDoc an der Rockefeller Universität in New York (1985) und der Habilitation für das Fach Mikrobiologie an der Universität Göttingen (1992), ist er seit 1994 Inhaber des Lehrstuhls für Mikrobiologie und Geschäftsführender Direktor des Instituts für Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie der Universität Münster. Forschungsschwerpunkte sind die biochemischen, physiologischen und molekularen Grundlagen des Stoffwechsels von technisch relevanten Polymeren und anderen biotechnologischen Produkten in Mikroorganismen sowie die Verbesserung und Ausarbeitung neuer biotechnologischer Verfahren.



Dr. Rainer Kalscheuer studierte Biologie an der Universität Münster und promovierte dort im Jahr 2003. Während seiner Doktorarbeit in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Steinbüchel zum Thema mikrobielle Speicherlipide entdeckte er eine neuartige bakterielle Acyltransferase. Die Charakterisierung dieses Enzyms mit seinen ungewöhnlichen Eigenschaften hat jetzt zur Entwicklung des Mikrodiesel-Verfahrens geführt. Nach seiner Zeit in Münster ist er seit 2005 als PostDoc am Albert Einstein College of Medicine in New York tätig und beschäftigt sich dort mit dem Erreger der Lungentuberkulose, *Mycobacterium tuberculosis*.

