

Die Revolution aus dem Bioreaktor

Die Weiße Biotechnologie verändert die chemische Industrie. Mikroorganismen werkeln für Waschmittel und Geschmacksverstärker. TUM-Forscher arbeiten an der Zukunft. Ihr Ziel: Chemikalien billiger und umweltschonender herzustellen

Link

www.mw.tum.de/biovt

Fotos: Naeser



Kathrin Hölsch sucht in Mikroalgen nach neuen Enzymen zur Herstellung von Feinchemikalien. Sie ist Doktorandin bei Prof. Weuster-Botz und züchtet hierzu diese speziellen Mikroorganismen in großen Photobioreaktoren, die künstlich mit Licht versorgt werden

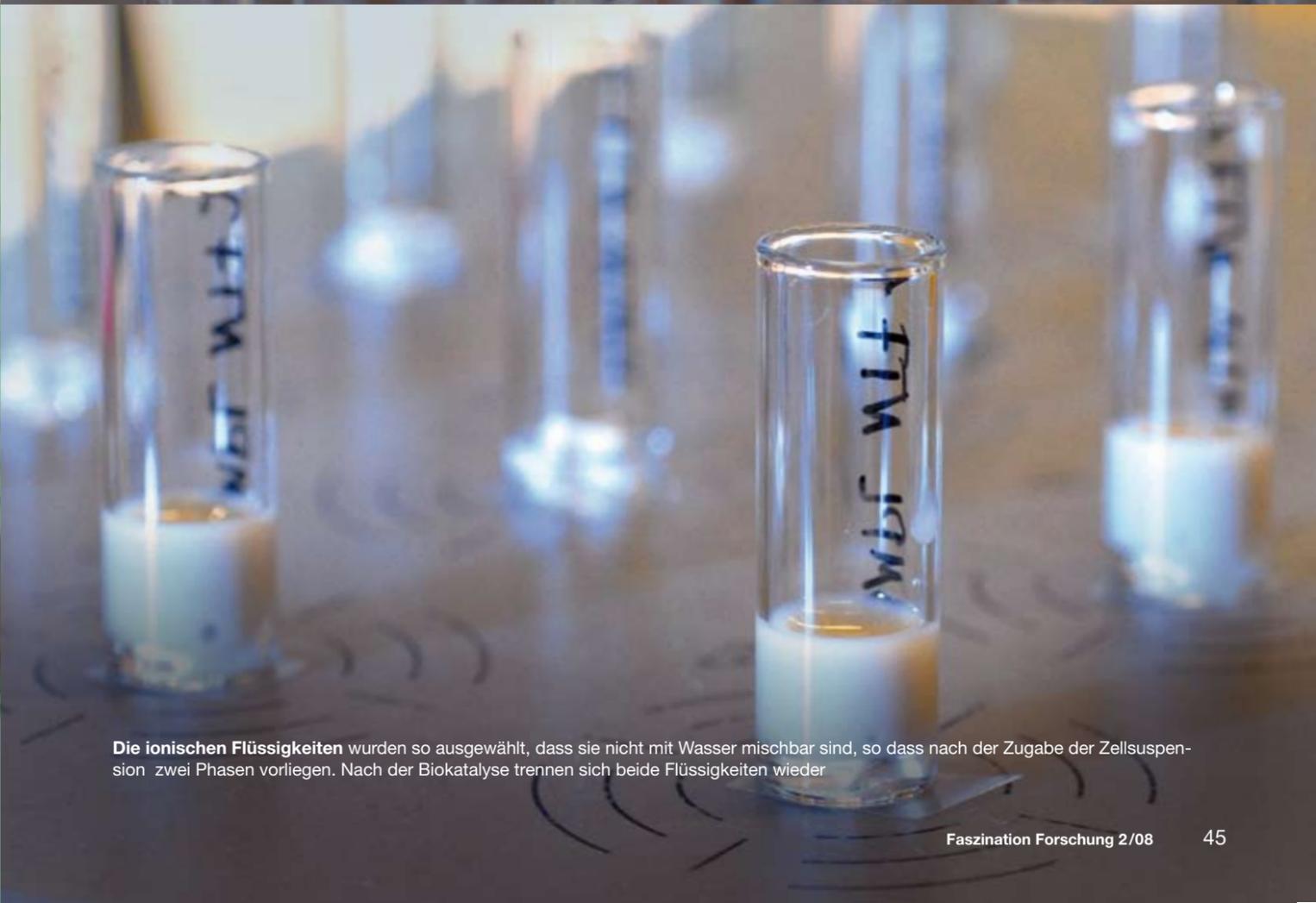


Bestimmte ionische Flüssigkeiten sind ideal für die Herstellung von Feinchemikalien einsetzbar. Nach der biokatalytischen Umsetzung muss lediglich die gebildete Feinchemikalie aus dieser Flüssigkeit abgetrennt werden. Stefan Bräutigam destilliert hierzu das wertvolle Produkt ab.

Fotos: Naeser



Minireaktoren für die Biokatalyse: Die ionischen Flüssigkeiten enthalten schon das Substrat für die biokatalytische Umsetzung in hoher Konzentration. Doktorand Stefan Bräutigam gibt die Zellsuspension mit den Ganzzellbiokatalysatoren mit einer Pipette zu



Die **ionischen Flüssigkeiten** wurden so ausgewählt, dass sie nicht mit Wasser mischbar sind, so dass nach der Zugabe der Zellsuspension zwei Phasen vorliegen. Nach der Biokatalyse trennen sich beide Flüssigkeiten wieder

Der Eberhard-von-Kuenheim-Bau ist ein weißes, lichtdurchflutetes Gebäude auf dem Campus des Garchinger Forschungszentrums der TUM. Rund eintausend Studenten beginnen hier jedes Semester an der Fakultät für Maschinenwesen ihr Studium. Bayerns einzige Fakultät dieser Art ist berühmt für ihre herausragende Forschung und Lehre.

Hier ist auch der Ort, an dem die zukunftssträngige Biotechnologie weiterentwickelt wird. In einem Seitenflügel, über Hörsäle und Laboren, hat im 3. Stock Professor Dirk Weuster-Botz sein Büro. Er ist Inhaber des Lehrstuhls für Bioverfahrenstechnik und befasst sich mit allen Aspekten der technischen Nutzung biologischer Stoffumwandlungen – bekannt als Weiße Biotechnologie. Weuster-Botz erklärt: „Die Weiße oder industrielle Biotechnologie bedient sich der Werkzeuge der Natur zur Herstellung von chemischen Produkten. Ihre wichtigsten Methoden sind die Fermentation und die Biokatalyse. Dabei nutzt man den Stoffwechsel von Mikroorganismen oder deren Bestandteilen, zum Beispiel Enzymen, für chemische Reaktionen.“

Mit seinen wissenschaftlichen Mitarbeitern treibt Weuster-Botz eine Technik voran, deren Möglichkeiten schier grenzenlos scheinen, bedenkt man die Vielfalt der Synthesemöglichkeiten in der Natur. Nur eine Zahl zum Vergleich: Vermutlich existieren in dem uns Menschen zugänglichen Kosmos mehr als zwei Milliarden verschiedene Spezies von Mikroorganismen. Davon sind bisher erst weniger als ein Prozent bekannt. Auch von den geschätzten 10 000 natürlich vorkommenden

Enzymen kennen die Wissenschaftler bisher nur einen Bruchteil. Doch Enzyme beeinflussen und steuern fast alle chemischen Reaktionen in lebenden Zellen, auch sämtliche Stoffwechselfvorgänge und den Aufbau aller Zellbestandteile. Sie wirken dabei als so genannte Biokatalysatoren. Das heißt, sie helfen bei der chemischen Umwandlung von Ausgangsstoffen in andere Produkte, ohne sich dabei selbst zu verändern. „Das Gute ist“, sagt Weuster-Botz, „neue Enzyme müssen nicht erst erfunden werden. Denn die natürlichen Mikroorganismen produzieren Millionen von Enzymvarianten, die es zu entdecken und deren Eigenschaften es zu nutzen gilt.“

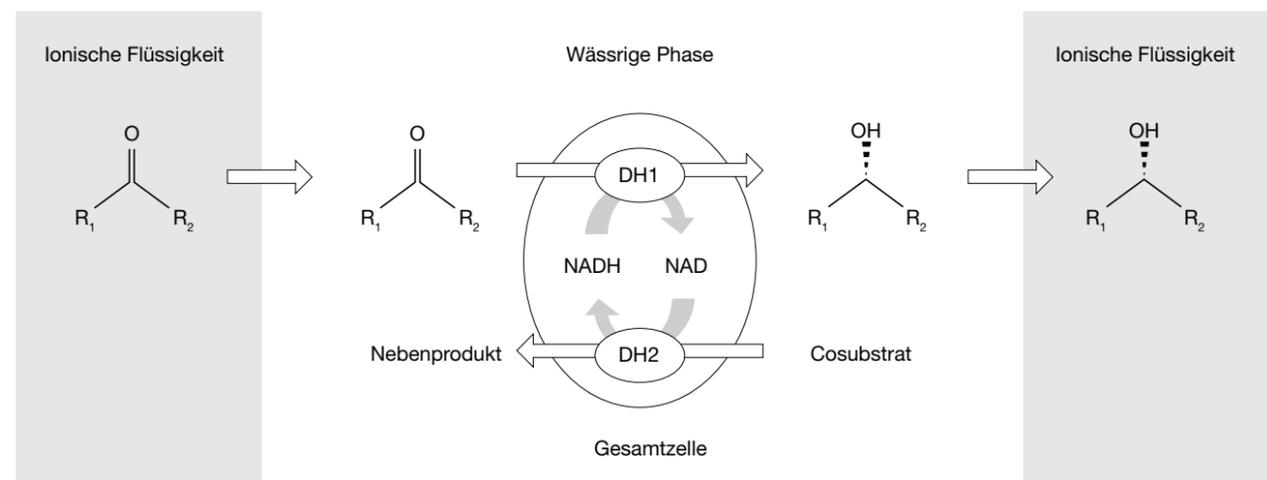
Natürlich besser – was Weiße Biotechnologie kann

In der Pharma- und Lebensmittelindustrie wird die Weiße Biotechnologie an einigen Stellen bereits erfolgreich eingesetzt, so etwa bei der Herstellung von wichtigen Antibiotika wie Penicillin oder Geschmacksverstärkern. Auch in der chemischen Industrie wird sie zunehmend angewandt, da sie mehrere sonst übliche chemische Verfahrensschritte durch einen mit Enzymen und Fermentation ersetzen kann. Ihre ökologischen, ökonomischen und funktionellen Vorteile liegen auf der Hand: Bei Biokatalysen entstehen weniger Abfall- und Nebenprodukte. Die Produktion ist unter milderen Bedingungen möglich – bei Raumtemperatur, ohne den Einsatz aggressiver Lösungsmittel. Das senkt im Vergleich zu konventionellen chemischen Verfahren den Energie- und Rohstoffbedarf erheblich. Außerdem sind die Stoffumwandlungen sehr erfolgreich und bringen eine



Bioreaktoren sind wie Intensivstationen in der Klinik – die Arbeitsbedingungen für die Zellen müssen optimal kontrolliert werden, damit die Biokatalysatoren auch viel Produkt erzeugen können. Zusammen mit Hannes Link, Doktorand am Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik, diskutiert Dirk Weuster-Botz technische Veränderungen am 200-L Bioreaktor im Biotechnikum

Schema einer mehrphasigen Biokatalyse mit Ganzzellbiokatalysatoren für asymmetrische Synthesen



Grafik: edlundsepp nach Vorgaben Prof. Dr.-Ing. Dirk Weuster-Botz

höhere Wertschöpfung. Weltweit werden derzeit zum Beispiel schon über eine Million Tonnen Zitronensäure für Wasch- und Lebensmittel jährlich mit Mikroorganismen hergestellt. Der Anteil biotechnologischer Verfah-

Chirale Verbindungen – was sie sind und was sie können

Viele chemische Substanzen für Medikamente oder Pflanzenschutzmittel kommen in zwei Formen vor, die einander spiegelbildlich gleichen. Das Problem dabei: Bild und Spiegelbild, die so genannten „Enantiomere“, können völlig unterschiedliche Wirkungen haben. So wird die eine Form der Aminosäure Asparagin als Süßkraftverstärker eingesetzt, während die andere bitter schmeckt. Und auch im tragischen alle des als Schlafmittels verkauften Contergan handelte es sich um eine spiegelbildliche Fehlwirkung. Unter chiralen Verbindungen versteht man im einfachsten Fall eine der beiden spiegelbildlichen Formen eines Moleküls. Chiralika sind wichtige Ausgangsstoffe für Medikamente, Agrochemikalien, Flüssigkristalle und Feinchemikalien. Besonders bei der Gewinnung von Bausteinen für Medikamente ist eine hohe Enantiomerenreinheit wichtig. Industriell lassen sich chirale Verbindungen mit physikalischen, chemischen und biokatalytischen Methoden herstellen. Beim Vergleich erweisen sich Biokatalysatoren jedoch mittlerweile vielfach als überlegen.

ren am Umsatz der chemischen Industrie liegt zurzeit bei etwa fünf Prozent. In wenigen Jahren soll er auf 15 bis 20 Prozent steigen. Bei dieser Entwicklung spielen vor allem Feinchemikalien eine wichtige Rolle. Das sind Substanzen mit einem hohen Funktionalisierungsgrad, von denen jeweils weltweit weniger als 10 000 Tonnen pro Jahr benötigt werden.

Ein Beispiel für solche Spezialitäten sind die so genannten enantiomerenreinen Chemikalien, mit denen sich eines der Projekte von Weuster-Botz befasst. Worum handelt es sich dabei? In chemischen Reaktionen werden häufig so genannte Enantiomere gebildet. Das sind Moleküle mit gleicher chemischer Struktur, die sich aber wie Bild und Spiegelbild in ihrer räumlichen Anordnung voneinander unterscheiden. Die Forscher sprechen in diesem Zusammenhang auch von „chiralen Verbindungen“. Das Problem: In ihrer biologischen Aktivität weichen diese spiegelbildlichen Moleküle manchmal stark voneinander ab. Das musste die Menschheit Anfang der 1960er-Jahre im Contergan-Skandal schmerzlich erfahren, als die unerwartete Wirkung eines Schlafmittels für Schwangere zu Missbildungen ihrer Kinder führte. Heute ist daher die Enantiomerenreinheit ein



Im Biotechnikum erfolgt die Maßstabsvergrößerung, um zu zeigen, dass die neu entwickelten Verfahren auch technisch durchführbar sind. Dirk Weuster-Botz kontrolliert zusammen mit seinem Assistenten Markus Amann die Messdaten aus dem 200-L Bioreaktor

wichtiges Kriterium bei der Herstellung von Pharmazeutika. Das Team von Weuster-Botz hat nun in bestimmten Bakterien und Algenarten Enzyme entdeckt, die in der Lage sind, aus nicht-chiralen Ausgangsstoffen nur eine enantiomere Form von bisher nicht in reiner Form zugänglichen Molekülen zu bilden. Weuster-Botz: „Wir isolieren diese Enzyme aus den Mikroalgen, identifizieren ihre Gensequenz und bringen sie in ganze Zellen, zum Beispiel das Bakterium Escherichia coli.“ Der Effekt: Die Bakterienzellen arbeiten dann wie kleine Reaktoren und brüten die gewünschten Stoffe aus – als Bioreaktoren im Nanolitermaßstab.

Des Rätsels Lösung: Ionische Flüssigkeiten

Damit solche Biokatalysatoren, die mit ganzen Zellen arbeiten, im technischen Prozess leistungsfähig eingesetzt werden können, sollten sie möglichst lange verwendbar sein. Die Schwierigkeit dabei ist, die Zelle intakt und damit produktionsfähig zu halten. Das funktionierte bisher nur unbefriedigend, da viele organische Lösungsmittel Zellmembranen zerstören. Doch das Team um Weuster-Botz fand eine neue Lösung: „Wir haben einen neuartigen technischen Ansatz entwickelt, der auf ionischen

Glossar: Die wichtigsten Begriffe, die Sie brauchen, um die	Vorgänge in der Weißen Biotechnologie zu verstehen
<p>Biokatalyse: Die Biokatalyse verwendet Enzyme zur Beschleunigung von chemischen Reaktionen. Diese laufen häufig bei milden Bedingungen, das bedeutet in Wasser und bei Temperaturen zwischen 20 und 40 Grad Celsius. Als Biokatalysatoren werden sowohl isolierte Enzyme als auch ganze Zellen verwendet.</p>	<p>Desoxyribonukleinsäure (DNS/DNA): Die DNA dient als genetischer Informationsspeicher. Sie ist ein doppelsträngiges Makromolekül, das aus Zucker- und Phosphorsäureestern und damit verknüpften (Nuclein-) Basen besteht. Die DNA befindet sich im Zellkern von Zellen.</p>
<p>Biotechnologie: Biotechnologie ist die gezielte Nutzbarmachung von Organismen, Zellen oder isolierten Zellbestandteilen, um damit Produkte herzustellen oder Dienstleistungen anzubieten.</p>	<p>Enzym: Enzyme sind Proteine, die biologische Vorgänge als Katalysatoren ermöglichen oder beschleunigen, ohne dabei selbst verändert zu werden. Der Name vieler Enzyme endet auf „-ase“ wie z. B. Phytase.</p>
<p>Chiralität: Mit Chiralität bezeichnet man die Eigenschaft eines Objektes, sich von seinem Spiegelbild zu unterscheiden. Chirale Moleküle haben zwar eine identische Zusammensetzung, unterscheiden sich jedoch in der räumlichen Anordnung, so dass sie nicht zur Deckung gebracht werden können - wie linke und rechte Hand.</p>	<p>Eukaryoten: Als Eukaryoten werden alle Lebewesen bezeichnet, deren Zellen einen Zellkern und Organellen besitzen.</p>
<p>Chromosom: Chromosomen sind die Träger der Erbinformationen beliebiger Zellen. Sie bestehen aus DNA und diese umlagernden Proteinen.</p>	<p>Extraktionsmittel: Als Extraktionsmittel wird in der Chemie eine Substanz bezeichnet, mit der aus einem Gemisch eine Komponente herausgelöst wird. Das Verfahren selbst nennt man Extraktion.</p>
<p>Cofaktor: Als Cofaktor bezeichnet man eine niedermolekulare Substanz, die zum Ablauf einer biochemischen Reaktion notwendig ist. Cofaktoren dienen in der Regel zur Übertragung von Elektronen oder Molekülgruppen.</p>	<p>Feinchemikalien: Feinchemikalien oder Spezialchemikalien weisen einen hohen Funktionalisierungsgrad auf. Weltweit werden davon jährlich weniger als 10 000 Tonnen hergestellt.</p>
<p>Cosubstrat: Cosubstrate nehmen wie ein weiteres Substrat an der enzymatischen Reaktion teil.</p>	<p>Fermentation: In der Biotechnologie bezeichnet Fermentation alle biologischen Stoffumwandlungen, bei denen Mikroorganismen oder Zellen in Bioreaktoren zur Wertstoffproduktion eingesetzt werden.</p>
	<p>Bioreaktor: Behälter oder Apparate zur Durchführung von biochemischen Reaktionen mit Mikroorganismen, Zellen oder Enzymen. In der Regel sind Bioreaktoren geschlossene Gefäße aus Edelstahl, in denen möglichst optimale Bedingungen beispielsweise zur Kul-</p>
	<p>tivierung von Mikroorganismen in einer Nährlösung eingestellt werden.</p>
	<p>Gen: Ein bestimmter Abschnitt auf der DNA, der Zellen die Informationen für die Herstellung eines Proteins liefert.</p>
	<p>Gensequenz: In der Genetik ist die Sequenz der genomischen DNA, kurz DNA-Sequenz oder Nukleotid-Sequenz, die Abfolge der DNA-Bausteine (Nukleotide), wie sie aus der DNA-Sequenzierung entziffert werden kann.</p>
	<p>Gentechnik: Die Gentechnik ist eine Disziplin der Biotechnologie. Mit molekularbiologischen, chemischen und physikalischen Methoden können Gene identifiziert, untersucht und im Labor neu kombiniert werden.</p>
	<p>Katalysator: Ein Katalysator ist ein Stoff, der eine (chemische) Reaktion beschleunigt, ohne dabei selbst verbraucht zu werden.</p>
	<p>Proteine: Proteine, auch Eiweiße genannt, sind Makromoleküle, die hauptsächlich aus Aminosäuren bestehen. Die Aminosäuren sind dabei durch Peptidbindungen zu Ketten verbunden.</p>
	<p>Rekombination: Vorgang, bei dem DNA neu kombiniert wird. Als natürlicher Prozess findet Rekombination bei der Verschmelzung von Ei- und Samenzelle statt. Bei der sogenannten In-vitro-Rekombination (d. h. außerhalb des Körpers) werden mit Hilfe molekulargenetischer Methoden DNA-Abschnitte unterschiedlicher Herkunft miteinander verknüpft.</p>

Flüssigkeiten basiert“, sagt der Forscher. „Das sind bei Raumtemperatur flüssige Salze, deren Eigenschaften durch gezielte Veränderungen in der Struktur variiert werden können. Wir haben entdeckt, dass bestimmte ionische Flüssigkeiten die Bakterienzellen nicht schädigen. Entgegen der bisherigen Lehrmeinung sind sie also biokompatibel.“

Den Garchingern ist damit eine ungeheure Effizienzsteigerung gelungen: Mithilfe von zwei Bearbeitungsphasen, bestehend aus der ionischen Flüssigkeit, die das Ausgangssubstrat in hoher Konzentration enthält, und einer Wasserphase mit den Biokatalysatoren, können nun die Forscher in einfachen Rührkesselreaktoren Synthesen durchführen. Nach der Reaktion enthält die ionische Flüssigkeit das gesamte gewünschte Produkt in hoher Konzentration. Weuster-Botz ist stolz auf diesen Erfolg: „Wir konnten zeigen, dass sich mit ionischen Flüssigkeiten die Ausbeuten teilweise um mehr als eine Zehnerpotenz steigern lassen.“

Der Blick über den Tellerrand bringt den Erfolg

Solche Forschungsfortschritte erfordern neben klugen Köpfen auch beste Voraussetzungen im Universitäts-

Umfeld. „Man kann nicht alles selbst machen“, sagt der Wissenschaftler beim Rundgang durch die Arbeitsräume. Zwischen Inkubatoren, komplizierten Analysegeräten und Bioreaktoren unterschiedlichster Form und Größe analysieren Mitarbeiter seines Teams geschäftig Reaktionen, die sich in grünen, gelben und grauen Flüssigkeiten abspielen. „Unsere Forschung ist interdisziplinär“, fährt er fort. „Bei uns arbeiten Biotechnologen und Ingenieure in einem Team zusammen und kooperieren mit nationalen und internationalen Partnern aus der Pharma- und Chemieindustrie, aber auch aus dem Geräte- und Anlagenbau.“

In drei Jahren vom Labor zur Großtechnik

Der Erfolg kommt also nicht von ungefähr. Neben vielen fähigen Kollegen greift das Forscherteam für die Weiße Biotechnologie auch auf eine solide Ausstattung zurück. Der Lehrstuhl für Bioverfahrenstechnik an der TUM verfügt zum Beispiel über ein neu eingerichtetes Biotechnikum und die dazu gehörigen Labore mit kompletter Infrastruktur zur Kultivierung und Analyse von Mikroorganismen und Zellen vom 1 Milliliter- bis 200 Liter-Maßstab. Deshalb sind hier auch Übertragungen des Maß-

stabs der Herstellung um mehrere Größenordnungen vom miniaturisierten Labortest bis zum technischen Produktionsprozess möglich.

Allerdings: Vor einem Einsatz der in Garching entwickelten Methode im großen Stil gilt es noch ein paar Probleme zu lösen. Zum Beispiel die Tatsache, dass ionische Flüssigkeiten teuer sind. Deshalb sollten auch sie für die wirtschaftliche Anwendung der Biotransformationen möglichst lange wieder verwendbar sein. „Wir wissen noch nicht, mit welchen Flüssigkeiten das wie oft geht. 10mal, 50mal oder mehr?“, sagt Weuster-Botz. „Aber das erforschen wir gerade!“

Solche Informationen brauchen die potenziellen Nutzer aus der Industrie, damit sie kalkulieren können. Auch über die Umweltverträglichkeit ionischer Flüssigkeiten. Sie muss geklärt werden, da auch bei einer Restlöslichkeit von weniger als einem Prozent in Wasser immer Bruchteile im Abwasser landen können. Der Forscher ist optimistisch: „Wir sind schon sehr weit. In etwa drei Jahren könnte unser Ansatz mit ganzen Zellen für Biokatalysen kommerziell angewendet werden: Zum Beispiel bei der Herstellung von Medikamenten.“

Karsten Werth

Foto: Naeßer