

# Synthese und Katalyse nachhaltig

Mikrobiologen, Biotechnologen, Chemiker und Ingenieure des UFZ erforschen das Potenzial von Mikroorganismen, um sie gezielt für Biosynthesen und Biotransformationen einzusetzen. Sie wollen so neue Wege zu Wert- und Wirkstoffen erschließen. Beispielsweise entwickeln sie Methoden, Hefen genetisch so zu verändern, dass sie aus nachwachsenden Rohstoffen Bausteine für industrielle chemische Prozesse produzieren. Oder sie studieren die Thermodynamik biologischer Systeme, um das Verhalten von Biokatalysatoren besser vorhersagen zu können.

Amtierende Sprecherin des Forschungsthemas „Nachhaltige Synthese und Katalyse“:

Dr. Beate Strehlitz, wissenschaftliche Mitarbeiterin im Umwelt- und Biotechnologischen Zentrum (UBZ)

# talyse estalten



Aus Stroh Gold spinnen

S. 110

⇒ Was nicht passt, wird passend gemacht

S. 114

⇒ Aus Süß wird Sauer

S. 116



Beate Strehlitz und Doris Böhme

# Aus Stroh Gold spinnen

Wer kennt es nicht, das Märchen vom Rumpelstilzchen und der schönen Müllerstochter, der das Versprechen, Stroh zu Gold zu spinnen, beinahe zum Verhängnis wurde. Gold aus unedlem Metall herzustellen, hatte Johann Friedrich Böttger dem sächsischen König August dem Starken versprochen. Das gelang ihm natürlich nicht. Aber immerhin gilt er heute als Miterfinder des Porzellans, das auch als weißes Gold bezeichnet wird, denn dem Wert nach wurde es mit Silber und Gold gleichgesetzt. Die „Weiße Biotechnologie“ – ein Zweig der Umweltbiotechnologie – hat zwar nicht das Ziel, Gold herzustellen, aber mit ihren Methoden gelingt es, beispielsweise aus Abfällen bestimmte Feinchemikalien zu gewinnen, deren Preis den von Gold übertrifft. Die Werkzeuge dafür – so genannte Biokatalysatoren – bietet die Natur. Sie finden und verbessern, verstehen, wie sie funktionieren, Verfahren entwickeln, optimieren und steuern, um wichtige Produkte umweltfreundlich herzustellen – das haben sich Umweltbiotechnologen des UFZ vorgenommen.





Sowohl ökonomisch als auch ökologisch sind biotechnologische Verfahren interessante Alternativen zu chemisch-physikalischen und mechanischen Prozessen. Chemische Prozesse sind häufig mit hohen Drücken, hohen Temperaturen, umweltschädlichen Lösungsmitteln oder schwermetallhaltigen Katalysatoren und nicht unerheblichen Mengen an Abfällen verbunden, die teilweise toxisch sind. Biotechnologische Verfahren dagegen arbeiten mit hoch

selektiven und effizienten Biokatalysatoren. Das sind polymere Biomoleküle, ohne die das Leben undenkbar wäre, denn sie ermöglichen die lebensnotwendigen biochemischen Reaktionen und physiologischen Prozesse aller Lebewesen. Da sie selbst unverändert aus den Reaktionen hervorgehen, können sie immer wieder eingesetzt werden. Besteht ein Biokatalysator aus einer Kette von Aminosäuren, so gehört er zur Stoffklasse der Proteine und wird funktionell als Enzym bezeichnet.

Mikroorganismen und Enzyme arbeiten in der Regel unter Normalbedingungen und in wässrigen Medien und nutzen natürliche Rohstoffe oder sogar Abfälle als Substrate für katalytische Prozesse. Biokatalytische Verfahren brauchen meistens weniger Prozessschritte als die entsprechenden chemischen Verfahren. Aufarbeitungsschritte zur Gewinnung der reinen Produkte sind in den Prozess integrierbar. Das sind viele Vorteile, die Biotechnologen besser verstehen und nutzen wollen. 

## Eine saubere Sache

Noch liegt der Anteil von Chemieprodukten, die durch biotechnische Verfahren hergestellt werden, bei etwa fünf Prozent. In der McKinsey-Studie zum „Beitrag der Biotechnologie zur chemischen Industrie“ sind Experten zu dem Ergebnis gekommen, dass bis zum Jahr 2010 mit einer Erhöhung auf zehn bis zwanzig Prozent gerechnet werden kann – Tendenz weiter steigend. Die Bedeutung der Weißen Biotechnologie wächst auch mit dem rasant steigenden Ölpreis, denn sie kann helfen, viele chemische Verfahren, die auf Erdöl basieren, auf andere, beispielsweise nachwachsende Rohstoffe, umzustellen. Aber auch Industriezweige wie die Lebensmittel-, Textil-, Kosmetik- und Papierindustrie halten Ausschau nach neuen, konkurrenzfähigeren und umweltfreundlicheren Verfahren und Produkten. Allein der Einsatz von Enzymen in Waschpro-

zessen bei der Textilveredelung oder in Waschmitteln führt bei gleichem Ergebnis zur Reduktion des Energie- und Wasserverbrauchs um bis zu 50 Prozent.

Die Abwasserreinigung durch Bakterien oder der Einsatz von Rohstoffen aus erneuerbaren Quellen sind ebenfalls Anwendungsfelder der Biotechnologie. Produkte wie Biodiesel und Biokunststoff sind bereits bekannt und haben eine viel versprechende Karriere vor sich.

Auch die Wissenschaftler des UFZ haben das Ziel, Produkte und Verfahren zu entwickeln, die die Umwelt entlasten und wirtschaftlich mit bekannten Lösungen konkurrieren können. Dazu erforschen sie Phänomene und Details, die bei der Grundlagenforschung beginnen und bis zu Untersuchungen im technischen Maßstab reichen. Die notwendige technische Infrastruktur mit Bioreaktoren

unterschiedlicher Größe steht im Umwelt- und Biotechnologischen Zentrum (UBZ) des UFZ zur Verfügung.

So entwickeln und optimieren sie beispielsweise Verfahren zur Herstellung organischer Säuren wie Zitronensäure, Isozitronensäure oder Ketoglutaräure, Produkte für die Lebensmittelindustrie oder so genannte „building blocks“ – „Zwischenprodukte“ – für chemische Synthesen. Weitere für die Wirtschaft interessante Produkte sind Biopolymere und Protector Moleküle. Biopolymere haben ähnliche Eigenschaften wie die allseits bekannten chemisch hergestellten Polymere PVC oder Polyethylen, sind aber im Gegensatz zu ihren chemischen Verwandten biologisch abbaubar. Protector Moleküle sind Zucker, die auch in der Natur vorkommen und von Mikroorganismen produziert werden. Wie ihr Name sagt, haben Protector Moleküle eine Schutzfunktion. Sie stabi-



Im Biotechnikum des UFZ stehen Bioreaktoren unterschiedlicher Größe zur Verfügung.

lisieren lebende Materie wie Mikroorganismen. Deshalb versuchen die Wissenschaftler, diese Schutzmoleküle zu isolieren und zu verwerten.

### Die kleinen und die großen Helfer

Basis der biotechnologischen Verfahren sind zum einen nachwachsende Rohstoffe und landwirtschaftliche Reststoffe, die als Substrate – also Energie- oder Nahrungsquelle der Mikroorganismen – eingesetzt werden. Zum anderen werden leistungsfähige Biokatalysatoren gebraucht, die die Arbeit machen und das Substrat zu gewünschten Produkten umsetzen. Diese Leistung vollbringen z. B. extremophile Bakterien, die sich ihrer Umwelt entsprechend angepasst haben, oder „nichtkonventionelle“ Hefen. Da die Hefen von Haus aus nicht dazu in der Lage sind, werden sie von den UFZ-Mikrobiologen geno- und phänotypisch

optimiert. Sie pflanzen den Wildtypstämmen bestimmte Gene ein, die sie dazu befähigen sollen, die angebotenen Substrate zu verwerten.

Doch der Weg bis zum Produkt ist lang und oft nicht sehr effektiv. Eine weitere Aufgabe der Wissenschaftler ist es also herauszufinden, wo und warum der Prozess ins Stocken gerät und wie diese Engpässe aus dem Weg geräumt werden können. Mit den bisher kommerziell verfügbaren Möglichkeiten sind allerdings nicht alle Parameter direkt messbar. Deshalb entwickeln sie neue Methoden für die Prozesssteuerung und Optimierung, beispielsweise Biosensoren zur Online-Steuerung. Und da mikrobiologische Prozesse immer mit Wärme verbunden sind, messen die Wissenschaftler mithilfe so genannter kalorimetrischer Verfahren Temperaturveränderungen, die wiederum etwas über den Zuwachs der Mikroorganismen oder Umsatzgeschwindigkeiten

aussagen. Eine weitere Methode der modernen Biologie, die am UFZ eingesetzt wird, ist die Flow Cytometry. Mit ihr kann das Verhalten von Zellen charakterisiert werden.

Die Biotechnologie ist ein Paradebeispiel für interdisziplinäre Zusammenarbeit. Neue Erkenntnisse der Genomforschung und der Systembiologie führen zu einem tieferen Verständnis der physiologischen und regulatorischen Vorgänge von Mikroorganismen. Sie ermöglichen somit einen gezielten Einsatz biologischer Systeme in biotechnologischen Prozessen. Das setzt aber voraus, dass Chemiker, Molekularbiologen, Genetiker, Mikrobiologen, Informatiker und Verfahrenstechniker eng zusammen arbeiten. ■

*Dr. Beate Srehlitz ist Diplom-Ingenieurin und wissenschaftliche Mitarbeiterin des Umwelt- und Biotechnologischen Zentrums (UBZ).*

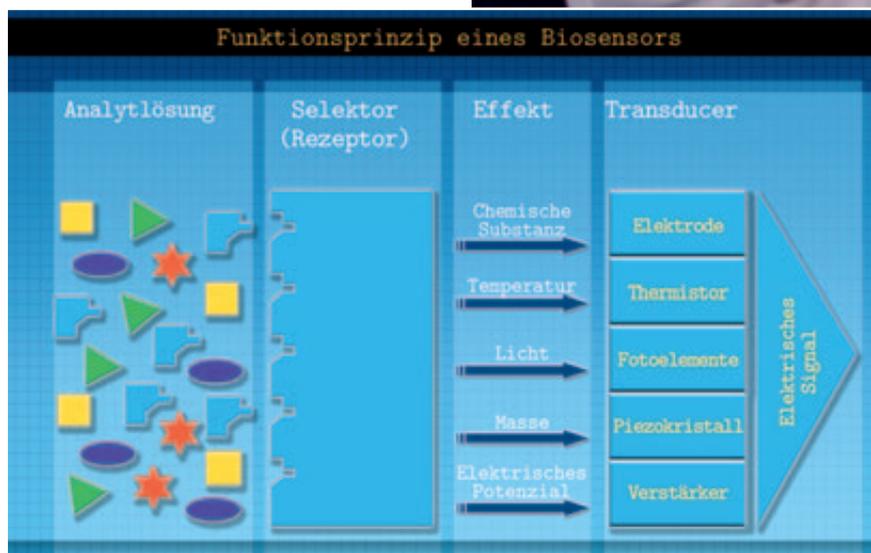


Wissenschaftler des UFZ wollen Produkte und Verfahren entwickeln, die die Umwelt entlasten.

Regina Stoltenburg, Beate Strehlitz und Doris Böhme

# Was nicht passt, wird passend

Wer in seiner Familie einen Diabetiker hat oder selbst einer ist, weiß sehr wahrscheinlich, was ein Blutzucker-Messgerät ist. Die Teststreifen, mit welchen die Zuckerkonzentration im Blut des Diabetikers gemessen wird, heißen im wissenschaftlichen Jargon Biosensoren. Sie basieren auf biologischen Rezeptoren. Das heißt, eine biologische Komponente – zum Beispiel ein Enzym oder Mikroorganismen – tritt in Wechselwirkung mit dem zu messenden Analyten. Dabei kommt es zu physikochemischen Veränderungen im Biosensor, die mittels eines Signalumwandlers – Transduktors – in ein messbares Signal übersetzt werden. Anschließend wird der Ausgangszustand des Messsystems wieder hergestellt. Biosensoren finden insbesondere dort Anwendung, wo man gesuchte Parameter mit herkömmlicher chemischer Analytik entweder nicht direkt oder nur mit großem Aufwand messen kann. Sie sind hoch



selektiv, sensitiv und mehrfach verwendbar, kommen im Gegensatz zu den meisten chemischen Analysemethoden ohne aufwändige Probenvorbereitung aus und erzeugen keine toxischen Abfälle. Da sie einfach zu handhaben sind, halten die Biosensoren in vielen Bereichen Einzug: Neben der klinischen Chemie oder Medizin in der Lebensmittel- und Umweltanalytik sowie der Prozesssteuerung in Pharmazie und Biotechnologie.

## Die Nadel im Heuhaufen

Für viele Parameter, die man gern schnell, einfach und möglichst vor Ort

# gemacht



Saftproduzenten müssen bei der Qualitätskontrolle das Problem der Milchsäurebildung beachten. Spezielle Biosensoren können den Produktions- und Lagerungsprozess effizienter und sicherer gestalten.

messen möchte, gibt es jedoch bisher keine für die Anwendung in Biosensoren geeigneten biologischen Rezeptoren. Deshalb entwickeln UFZ-Wissenschaftler so genannte DNS-Aptamere, die prinzipiell passend für jedes Molekül gefunden werden können. Das funktioniert etwa wie die Suche nach der Nadel im Heuhaufen. Aus einer künstlich hergestellten Bibliothek von zirka  $10^{15}$  verschiedenen Oligonukleotiden mit einer Länge von 50 bis 150 Basen werden die an das Zielmolekül passenden Strukturen „herausgesucht“.  $10^{15}$  verschiedene Oligonukleotide sind eine unvorstellbar

große Menge von 10 Millionen mal 100 Millionen. Das bedeutet, dass auch die Vielfalt der zur Verfügung stehenden Strukturen riesig ist und sich ganz sicher darunter einige Oligonukleotide befinden, die gut an das Zielmolekül passen. Doch wie findet man die geeigneten Aptamere? Mit dem SELEX-Verfahren (Systematic evolution of ligands by exponential enrichment), bei dem schrittweise die am besten passenden Moleküle, die eine bestimmte Affinität für das Zielmolekül haben – sich quasi zum Zielmolekül hingezogen fühlen – herausgesucht werden. Das Verfahren ist vom



**Multianalyt-Handmessgerät – Der Teststreifen ist nichts anderes als ein Biosensor, entwickelt von der Leipziger Firma Senslab.**

UFZ so modifiziert worden, dass es nun möglich ist, Aptamere je nach Notwendigkeit oder Wünschen von Anwendern zu entwickeln. Die UFZ-Wissenschaftler haben mit ihrem FluMag-SELEX beispielsweise Aptamere für Streptavidin und Ethanolamin entwickelt. Streptavidin ist für Testsysteme in der Immunologie und Molekular Diagnostik wichtig, da es eine starke Affinität zu Biotin hat. Deshalb wird es für Kopplungsvorgänge verwendet, um Moleküle auf Oberflächen zu fixieren. Biotin spielt eine wichtige Rolle beim Fett- und Zuckerstoffwechsel und ist auch als Vitamin H oder B7 bekannt. Ethanolamin ist eine Substanz, die sich im Körper – in der Milz oder Leber – anreichert und normalerweise abgebaut wird. Menschen, denen das dazu notwendige Enzym fehlt, leiden unter der seltenen Erbkrankheit Ethanolaminose, die als eine mögliche Ursache für den Kindstod diskutiert wird. Die UFZ-Forscher sind außerdem auf der Suche nach Aptameren für den Nachweis von Schimmelpilzen sowie neurodegenerativen Erkrankungen. Dabei arbeiten sie mit Partnern aus der Universität Leipzig und der Industrie zusammen. ■

*Dr. Beate Srehlitz ist Diplom-Ingenieurin und wissenschaftliche Mitarbeiterin des Umwelt- und Biotechnologischen Zentrums (UBZ).*

*Die Mikrobiologin Dr. Regina Stoltenburg ist wissenschaftliche Mitarbeiterin im UBZ.*

Lucie Moeller, Andreas Zehndorf, Andreas Aurich und Doris Böhme

# Aus Süß wird Sauer

**Z**itronensäure begegnet uns nahezu täglich. Sie ist als Stoffwechselprodukt in allen Organismen zu finden. Sie kommt in Äpfeln, Birnen, Himbeeren, in Nadelhölzern, Pilzen, im Wein und sogar in der Milch vor. Im Alltag begegnet sie uns als Bestandteil von Lutschbonbons, Getränken, Waschmitteln und Kalklösern oder als Zusatz in so genannten Weißmacher-Zahnpasten. In der pharmazeutischen Industrie wird sie als Mittel gegen Blutgerinnung bei Blutkonserven eingesetzt. Weltweit werden gegenwärtig etwa eine Million Tonnen Zitronensäure pro Jahr produziert; für die nächsten Jahre wird eine Zunahme des Marktvolumens von 3,5 bis 4 Prozent prognostiziert.

Die Zitronensäure wurde erstmals 1784 von Carl Wilhelm Scheele aus dem Saft der Zitrusfrucht – daher ihr Name – isoliert. Zitronensaft enthält fünf bis sieben Prozent Zitronensäure. Bis zirka 1920 wurde sie ausschließlich aus Zitronen hergestellt, obwohl bereits Anfang des 19. Jahrhunderts bekannt war, dass bestimmte Schimmelpilze Zitronensäure produzieren können. Das erste Patent, Zitronensäure aus zuckerhaltigen Abfällen wie Melasse durch den Schimmelpilz *Aspergillus niger* herzustellen, wurde 1913 in den USA beantragt.

Dieses effiziente biotechnologische Verfahren wird bis zum heutigen Tage genutzt. Der Nachteil: In dem aus vielen Schritten bestehenden Verfahren entstehen neben mit Schwermetallen belastetem Abwasser auch große Mengen an

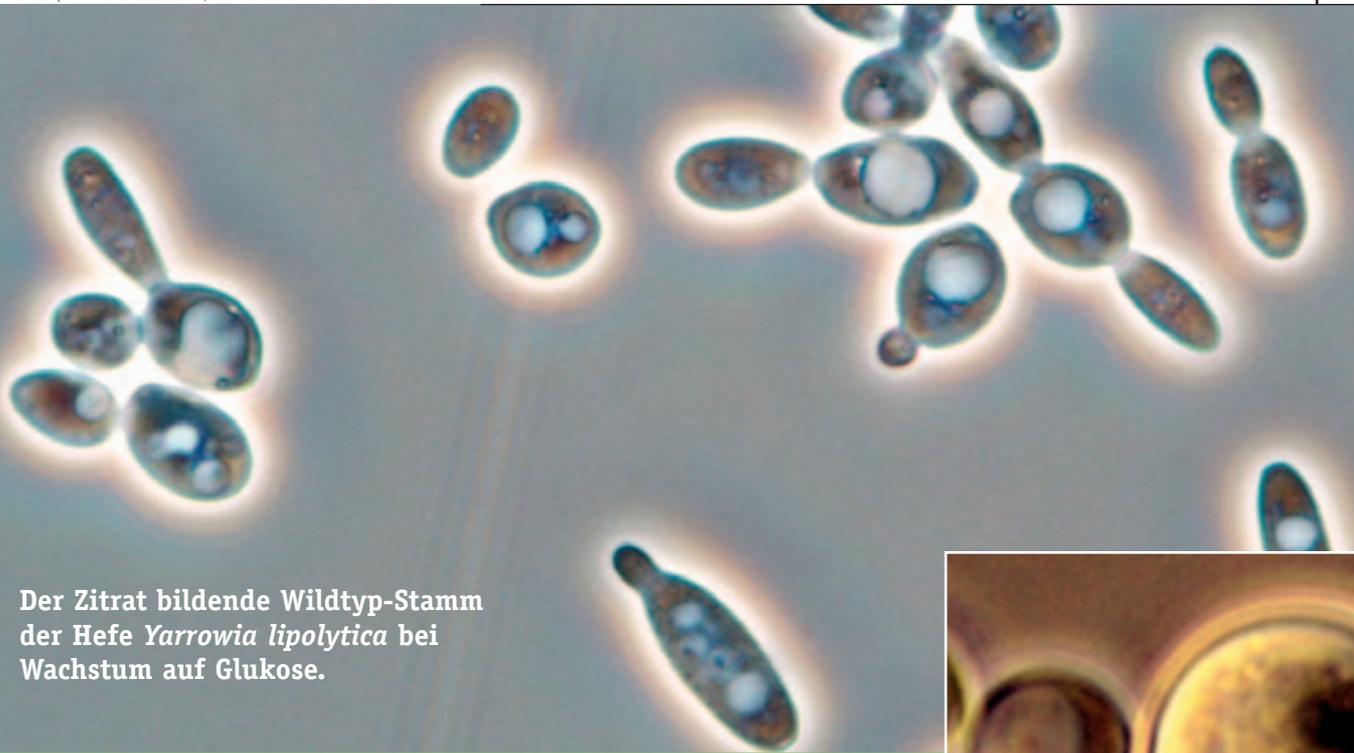


**Die Zitronensäure wurde erstmals 1784 von Carl Wilhelm Scheele aus dem Saft der Zitrusfrucht – daher ihr Name – isoliert.**

stark verschmutztem Gips, die nicht weiterverwertet werden und entsorgt werden müssen. Deshalb wird Zitronensäure in Deutschland derzeit nicht produziert und muss importiert werden.

## **Etwas freundlicher bitte!**

Umweltfreundlicher ist ein Verfahren mit der Hefe *Yarrowia lipolytica*, da durch den Einsatz sauberer Rohstoffe und geschlossene Prozesskreisläufe



Der Zitrat bildende Wildtyp-Stamm der Hefe *Yarrowia lipolytica* bei Wachstum auf Glukose.

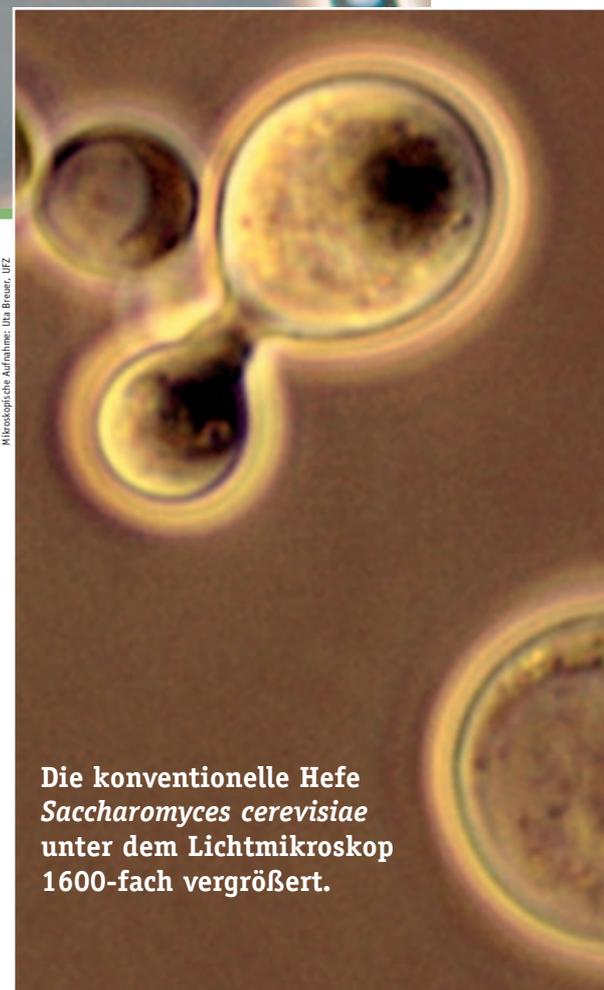
weniger Abwasser und kein Gips entstehen. Bereits in den 70er und 80er Jahren forschten Leipziger Wissenschaftler an der Zitronensäureproduktion mit *Y. lipolytica* aus n-Alkanen. Heute werden als Substrat für diesen Prozess nachwachsende Rohstoffe wie Pflanzenöle oder Traubenzucker eingesetzt. In Zusammenarbeit mit dem Institut für Mikrobiologie der Technischen Universität Dresden konzentrieren sich die UFZ-Wissenschaftler vor allem auf Stämme der Hefe *Y. lipolytica* mit den besten Eigenschaften, Zitronensäure zu bilden. Diese wurden gentechnisch so modifiziert, dass sie auch Saccharose – Kristallzucker – verwerten können. Nicht modifizierte Wildtyp-Stämme können das nicht, da ihnen das notwendige Enzym fehlt. Die UFZ-Wissenschaftler haben das Ziel, die Verfahrensführung zu optimieren, um die Qualität der Zitronensäure sowie die Effizienz des Prozesses zu erhöhen und um das Verfahren industriell anwendbar zu machen. Doch wie können Produktbildungs- und Substratabbauvorgänge zeitnah, schnell und kostengünstig überwacht werden? Zum Beispiel mit Biosensoren als quasi-online Messsysteme. Mithilfe eines biologischen Systems, bestehend aus Enzymen oder Zellen (siehe auch Beitrag Seite 114), können die Substrate, Zwischenprodukte und das Produkt identifiziert und quantifiziert werden.

An der Prozessoptimierung des *Yarrowia*-Verfahrens arbeitet ein interdisziplinäres Wissenschaftlerteam. Für die Modifizierung der Hefen sind Mikrobiologen zuständig, Biotechnologen und Ingenieure überwachen die Kultivierung und Prozessführung in den Bioreaktoren des Umwelt- und Biotechnologischen Zentrums (UBZ), Chemiker und Biologen stellen die notwendigen Messsysteme auf der Basis von Biosensoren zur Verfügung. Mikrobiologen und Chemiker wiederum untersuchen und analysieren Nebenprodukte, die bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen entstehen können.

In der Industrie ist ein Wechsel des Herstellungsverfahrens immer dann am einfachsten, wenn der Bedarf am Produkt die Kapazität vorhandener Anlagen übersteigt oder die bestehenden

### WISSENSWERTES

Traubenzucker ist der gebräuchliche Name für **Glucose**. Der einfache Zucker (Monosaccharid) hat die Summenformel  $C_6H_{12}O_6$ . **Saccharose** ist die Bezeichnung für den Kristall- oder Haushaltszucker. Der Zweifachzucker (Disaccharid) besteht aus je einem Molekül Glukose und Fruktose (Fruchtzucker) und hat die Summenformel  $C_{12}H_{22}O_{11}$ .



Die konventionelle Hefe *Saccharomyces cerevisiae* unter dem Lichtmikroskop 1600-fach vergrößert.

Anlagen erneuert werden müssen. Perspektivisch ist es denkbar, dass das etablierte, aber die Umwelt belastende *Aspergillus*-Verfahren schrittweise durch das umweltfreundliche *Yarrowia*-Verfahren ersetzt wird – und eine Rückkehr der Zitronensäureherstellung nach Deutschland ermöglicht. ■

Lucie Moeller ist Diplom-Ingenieurin und Doktorandin am UBZ.

Die Biotechnologen Dr. Andreas Zehndorf und Dr. Andreas Aurich sind wissenschaftliche Mitarbeiter des UBZ.