

FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR GRENZFLÄCHEN- UND BIOVERFAHRENSTECHNIK IGB

# INDUSTRIELLE BIOTECHNOLOGIE DIE NATUR ALS CHEMISCHE FABRIK





## INDUSTRIELLE BIOTECHNOLOGIE – DIE NATUR ALS CHEMISCHE FABRIK

Fossile Ressourcen wie Erdöl, Kohle und Erdgas sind endlich und ihre Vorräte gehen zur Neige. Ihre Nutzung hat wesentlich zu einem Anstieg des atmosphärischen Kohlenstoffdioxids beigetragen. Den Klimawandel zu bewältigen und zugleich eine wachsende Weltbevölkerung mit Nahrungsmitteln, Rohstoffen und Energie zu versorgen, ist eine der größten Herausforderungen unserer Zeit.

#### Bioökonomie - Nachhaltiges Wirtschaften

Eine biobasierte Wirtschaft, kurz Bioökonomie, begreift diese Herausforderungen als Chance: Biomasse wird als einzige erneuerbare alternative Kohlenstoffquelle zu fossilen Rohstoffen eine neue Rohstoffbasis für die Chemie bilden. Ziel dabei ist es, Ökonomie und Ökologie in größtmöglichen Einklang zu bringen – das heißt, Prozesse gleichzeitig umweltverträglich zu entwickeln und deren Wirtschaftlichkeit so zu gestalten, dass sie schnellstmöglich großtechnisch eingesetzt werden. Damit kann auch ein erster Beitrag zu einer »Post-Wachstumsökonomie« geleistet werden. Diese geht nicht mehr von einer unendlich verfügbaren Energiemenge aus, sondern wird durch den solar verfügbaren Energieeintrag begrenzt. Am Fraunhofer IGB begreifen wir Bioökonomie insofern als direkte Umsetzung des Konzepts der Lebenswissenschaften in nachhaltige, umweltfreundliche Produkte und Prozesse – und das möglichst sozialverträglich.

Ein wirtschaftlich bedeutendes Feld innerhalb der Bioökonomie mit enormem Potenzial, aber noch großem Forschungsbedarf, ist die stoffliche Nutzung nachwachsender Rohstoffe. Werden nachwachsende Rohstoffe anstelle fossiler Kohlenstoffquellen für die Herstellung von Chemikalien eingesetzt, hilft dies, den Ausstoß von Treibhausgasen zu verringern und das Klima zu schonen.

#### Mit industrieller Biotechnologie zu Bioraffinerien

In diesem Kontext kommt der industriellen oder weißen Biotechnologie, bei der Chemikalien und chemische Grundstoffe mit biotechnologischen oder kombinierten Verfahren hergestellt werden, eine Schlüsselrolle zu. Biotechnologische Verfahren sind aufgrund hochspezifischer Katalysatoren in vielen Fällen energie- und stoffeffizienter – und damit gleichermaßen umweltverträglicher und wirtschaftlicher – als herkömmliche Verfahren, wie die Herstellung hochkomplexer Verbindungen wie Vitamine und Kosmetika oder Aminosäuren mithilfe von Mikroorganismen bereits heute zeigt.

Ein nachhaltiger Ansatz für die Herstellung chemischer Produkte, für die es keine vollständigen Synthesewege in der Natur gibt, ist die möglichst vollständige Verwertung von Biomasse nach dem Prinzip einer Raffinerie. Die Bioraffinerie wird in Analogie zur petrochemischen Raffinerie verstanden, bei der ein Rohstoff in verschiedene Fraktionen getrennt und mit unterschiedlichen, teilweise aufeinanderfolgenden Prozessschritten zu einer Vielzahl von Produkten unterschiedlicher Komplexität und Wertschöpfung aufbereitet wird. In einer Bioraffinerie entstehen demnach zunächst überwiegend Plattformchemikalien und Halbfabrikate, die über weitere Konversionsschritte zu Produkten höherer Wertschöpfung



umgesetzt werden. Typischerweise werden die Aufarbeitungsund Synthesewege nach den Hauptstoffgruppen biogener Rohstoffe unterteilt.

Am Fraunhofer IGB erarbeiten wir Nutzungswege für die Lignozellulose-Bioraffinerie, die auf Pflanzen mit einem mehr oder weniger großen Anteil an Lignozellulose mit den Stoffgruppen Zellulose/Zucker und Lignin basiert (Seite 14). Daneben ergreifen wir eine weitere Option mit der Nutzung von Mikroalgen: Sie stellen eine lignozellulosefreie Biomasse mit den Stoffgruppen Stärke, Lipide und Proteine bereit (Seite 18). Ebenso etablieren wir Prozesse für die Herstellung von Grundstoffen und Chemikalien aus Stärke und Pflanzenöl (Seite 12 und 8).

Um das gesamte Potenzial der stofflichen Vielfalt pflanzlicher Biomasse ausschöpfen zu können, werden biotechnische gegebenenfalls mit geeigneten chemischen Verfahren kombiniert. Unser Ziel ist es, die Konversion so zu gestalten, dass die resultierenden Verbindungen direkt als Plattformchemikalien für die Chemieindustrie zur Verfügung stehen und skalierbare Verfahren zu entwickeln, die eng mit bereits bestehenden Produktionsstrukturen vernetzt werden können. Ebenso ist die Integration der stofflichen und energetischen Nutzung von Biomasse – durch Koppelproduktion oder Kaskadennutzung – ein zentrales Anliegen.

- 1 Zerkleinertes Stroh in einer mit Enzymen angereicherten Lösung. Die Enzyme spalten Zellulose in dessen Grundbaustein Glukose. Auch auf dem Titelbild zu sehen.
- 2 Nachhaltige Wertschöpfung aus nachwachsenden Rohstoffen.

#### **BIOÖKONOMIE**

#### ÖKONOMIE UND ÖKOLOGIE VEREINEN

Nach der Definition der Europäischen Kommission, der sich der BioÖkonomieRat Deutschlands angeschlossen hat, fallen unter Bioökonomie alle industriellen und wirtschaftlichen Sektoren und dazugehörigen Dienstleistungen, die biologische Ressourcen (Pflanzen, Tiere, Mikroorganismen) produzieren, ver- und bearbeiten oder in irgendeiner Form nutzen. Dazu gehören die Land- und Forstwirtschaft, die Nahrungsmittelindustrie, die Fischerei und Aqua-Kulturen, aber auch Teile der Chemie-, Pharmazie-, Kosmetik-, Papier- und Textilindustrie sowie die Energiewirtschaft. Im Englischen wird häufig von den »vier F« gesprochen: Food, Feed, Fibre and Fuel.

#### **BIORAFFINERIE**

### NACHWACHSENDE ROHSTOFFE VOLLSTÄNDIG VERWERTEN

Ziel des integrativen Konzepts der Bioraffinerie ist es, biogene Rohstoffe möglichst vollständig zu verwerten – stofflich und energetisch. Der Rohstoff Biomasse wird dabei zunächst aufgeschlossen und durch fermentative Prozesse zu Basischemikalien und Zwischenprodukten umgesetzt, die über verknüpfte Produktstammbäume in aufeinanderfolgenden Verfahrensschritten zu Feinchemikalien oder Biopolymeren aufgearbeitet werden. Restliche, nicht weiter zu verarbeitende Biomasse wird energetisch genutzt – als Kraft- oder Brennstoff.



## VOM ROHSTOFF ZUM PRODUKT – UNSER FORSCHUNGS- UND ENTWICKLUNGSANGEBOT

Die als industrielle oder weiße Biotechnologie bekannten biotechnologischen Prozesse zur Herstellung verschiedener industrieller Produkte – Fein- und Plattformchemikalien, Enzyme, Wirkstoffe für Kosmetik und Pharmaindustrie, Nahrungsmittel- und Futtermittelzusatzstoffe sowie Energieträger – haben am Fraunhofer IGB eine lange Tradition. Biologen und Biotechnologen arbeiten mit Chemikern, Physikern und Verfahrenstechnikern Hand in Hand, um neue und effiziente Screening- und Expressionssysteme sowie wirtschaftliche Produktions- und Aufarbeitungsverfahren zu entwickeln.

Vielfach werden die gewünschten Umsetzungen erst durch die Kombination von biotechnologischen mit chemischen Prozessen möglich. Neue (chemo-)katalytische Prozesse entwickeln die IGB-Projektgruppe BioCat und das Fraunhofer-Institut für Chemische Technologie ICT in Pfinztal, mit dem wir hier eng zusammenarbeiten. Am Fraunhofer-Zentrum für Chemisch-Biotechnologische Prozesse CBP werden die Verfahren bis in produktionsrelevante Dimensionen skaliert.

#### **Biogene Rohstoffe**

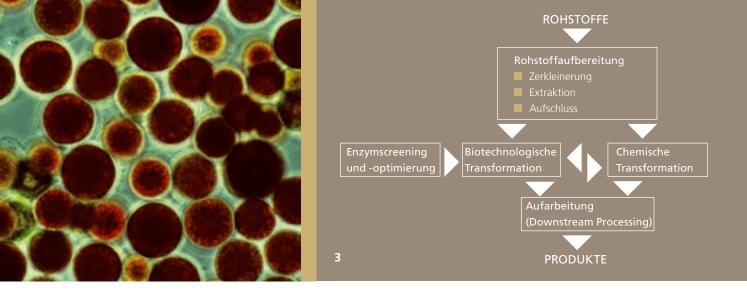
Einzige Alternative zu fossilen Ressourcen als Kohlenstoffquelle für chemische Produkte ist die Nutzung von Biomasse. Für die Herstellung von Biokraftstoffen werden nachwachsende Rohstoffe heute schon vielfach genutzt: ölhaltige Samen wie Raps für die Herstellung von Biodiesel, Zuckerrohr und Mais für die Produktion von Bioethanol zur Beimischung im Benzin. Die Nutzung landwirtschaftlicher Erzeugnisse für die Produktion von Biokraftstoffen ist jedoch umstritten.

#### Organische Rest- und Abfallstoffe nutzen

Mit dem Ziel der Nachhaltigkeit entwickeln wir am Fraunhofer IGB daher Verfahren, um gezielt land- und forstwirtschaftliche Reststoffe (Stroh, Holzabfälle) sowie organische Reststoffe der Lebensmittelindustrie (Molke, Krabbenschalen) als Rohstoffquelle zu erschließen. Mit integrierten Bioprozessen lässt sich die Abfallentsorgung mit der Wertstoffgewinnung verbinden. In aktuellen Projekten schließen wir Lignozellulose aus Strohauf, um verschiedene Zucker als Chemie- oder Fermentationsgrundstoff zu produzieren.

#### Aquatischer Rohstoff Mikroalgen

Ebenso setzen wir unseren Fokus auf Mikroalgen, die eine Vielfalt industriell nutzbarer Substanzen synthetisieren wie Pigmente, ungesättigte Fettsäuren, aber auch Stärke und energetisch nutzbare Lipide. Die im Süß- oder Meerwasser lebenden einzelligen Mikroalgen fixieren ebenso wie ihre Verwandten auf dem Land im Zuge der Photosynthese atmosphärisches Kohlenstoffdioxid, beanspruchen im Gegensatz zu Raps und Mais aber keine landwirtschaftliche Nutzfläche. Dabei wachsen sie um ein Vielfaches schneller und mit höherer Produktivität. Algenbiomasse ist frei von Lignozellulose und eignet sich – nach der Wertstoffgewinnung – daher gut für eine vollständige Verwertung, indem die Restbiomasse als Futtermittel genutzt oder zu Biogas vergoren wird.



#### **Aufbereitung (Upstream Processing)**

Um die Rohstoffbestandteile den Mikroorganismen bzw. Enzymen zugänglich zu machen, sind – je nach Art des Ausgangsstoffes – mehrere Aufbereitungsstufen zu durchlaufen. Dabei handelt es sich um mechanische, thermische oder chemische Prozesse, die auf die nachfolgende Biokonversion abgestimmt werden müssen.

#### Biotransformation: Bioprozessentwicklung, Fermentation

Das Fraunhofer IGB erarbeitet und optimiert Fermentationsverfahren vom Labor- bis zum Technikumsmaßstab für bakterielle Systeme und Pilze. Zum Einsatz kommen auch – gegebenenfalls kontinuierlich betriebene – Hochzelldichteprozesse mit Immobilisierung oder Zellrückführung über Filtration. Fermentations- und Aufarbeitungsverfahren wurden beispielsweise für die Milchsäure- und Itaconsäure-Herstellung, für Aminosäuren oder Proteine wie Thaumatin und Bacteriorhodopsin erfolgreich bearbeitet. Ausgehend von nachwachsenden Rohstoffen wie Rapsöl oder Algenlipiden wurden auch Herstellungswege für die biotechnologische Synthese von Grundstoffen für die Kunststoffherstellung aufgezeigt wie langkettige Dicarbonsäuren und Fettsäureepoxide.

#### **Aufarbeitung (Downstream Processing)**

Bei biotechnischen Prozessen liegt das zu gewinnende Produkt verdünnt in der Fermentationslösung vor und muss konzentriert, isoliert und von Bestandteilen des Fermentationsmediums, wie Nebenprodukten und Zellen, gereinigt werden. Das Fraunhofer IGB entwickelt schonende und effiziente Aufarbeitungsverfahren für Synthesebausteine, Lebensmittelzusatzstoffe oder pflanzliche Naturstoffe und plant entsprechende Anlagen. Da die Aufarbeitung ein entscheidender Schritt für die Wirtschaftlichkeit des Verfahrens ist, setzen wir für viele Aufgabenstellungen spezifische Membranverfahren – auch unter Verwendung molekular geprägter Nanopartikel – ein, die vielstufige Aufarbeitungsprozesse vereinfachen. Falls erforderlich, werden sie mit herkömmlichen Trennverfahren wie Zentrifugation und Extraktion oder chromatographischen Verfahren kombiniert. Proteine (Wirkstoffe, Enzyme) werden mit Ionenaustausch-, Gel- oder Reversed-Phase-Chromatographie aufgereinigt. Für wertvolle Inhaltsstoffe wie Algenlipide haben wir die Extraktion mit überkritischen Fluiden etabliert. Sie vereinen Eigenschaften von Gasen und Flüssigkeiten und haben ein hohes Lösungsvermögen. Die extrahierten Produkte sind frei von Lösemitteln.

- Im Multifermentersystem können unterschiedliche Prozessparameter gleichzeitig untersucht werden.
- 2 Nachhaltiger Rohstoff Mikroalgen.
- 3 Prozesskette zur integrierten Synthese von Grundstoffen für die chemische Industrie.



## BIOKATALYSATOREN: NEUE ENZYME UND STAMMOPTIMIERUNG

Das Fraunhofer IGB befasst sich seit mehr als zehn Jahren mit dem Screening nach neuen, industriell nutzbaren Enzymen, deren Optimierung und Herstellung und hat bereits zahlreiche Projekte mit Firmen der chemischen und pharmazeutischen Industrie erfolgreich bearbeitet. Wir verfügen über Erfahrungen beim Auffinden und der Veredelung von Enzymen wie Proteasen, Lipasen, Amylasen, Glykosidasen, Zellulasen, Phytasen, Oxygenasen, Halogenasen, Dehalogenasen, Chitinasen, Chitindeacetylasen, Formaldehyd-Dismutasen, Cyanidasen und Ethen-Monooxygenasen sowie deren Klonierung und rekombinante Expression. Mittels molekular-evolutiver Techniken optimieren wir Enzyme gezielt für verschiedenste Anwendungen. Diese können wir in heterologen Systemen vom Labor- bis zum 10-m³-Maßstab evaluieren und herstellen.

#### Screening nach neuen Enzymen

Am Fraunhofer IGB setzen wir einerseits konventionelle Methoden ein, indem wir Mikroorganismen mit dem Ziel, neue Enzyme zu identifizieren, anreichern und isolieren. Zum anderen spielen auch molekulare Methoden eine Rolle wie das Screening von Genen ganzer mikrobieller Gemeinschaften, beispielsweise über metagenomische Genbanken als Plattform für die schnelle Identifizierung und Optimierung neuer Enzyme im Kundenauftrag. Dabei greifen wir auf umfangreiche Erfahrungen in den Bereichen Hochdurchsatzscreening und Produktion rekombinanter Proteine in heterologen Systemen zurück. Die Identifizierung von Enzymen wird durch die systematische Nutzung von Genominformationen aus Sequenzierungsprojekten unterstützt.

#### Nicht-kultivierbare Mikroorganismen: Genbanken direkt aus Umweltproben

Mehr als 90 Prozent der in der Natur vorkommenden Mikroorganismen lassen sich im Labor nicht kultivieren. Um das Stoffwechselpotenzial auch dieser Organismen zu erschließen, haben wir eine Screening-Strategie etabliert, die diesen Engpass umgeht: Hierzu haben wir die DNA mikrobieller Gemeinschaften, das sogenannte Metagenom, verschiedener Habitate direkt isoliert und über optimierte Expressionsvektoren in Wirtsstämme eingebracht. Diese können nun direkt auf enzymatische Aktivitäten untersucht werden. Mit diesen metagenomischen Genbibliotheken bieten wir interessierten Partnern aus Chemie, Pharmazie, Lebensmitteltechnologie sowie Enzymherstellung Zugriff auf neue, bisher unbekannte Enzyme.

#### Wertstoffproduktion durch Stammoptimierung

In der industriellen Biotechnologie setzen wir Enzyme oder Mikroorganismen ein, um organische Grund- und Feinchemikalien herzustellen. Neue Produktionsstämme entwickeln wir mithilfe klassischer und gentechnischer Methoden. So können wir mittels molekularer Methoden das Genom isolierter Mikroorganismen (über Parallelsequenzierungsverfahren) und deren Proteine (über Proteomanalysen) vor Ort im Detail untersuchen, bei Bedarf optimieren und Hochleistungsexpressionsstämme erzeugen. Über *Metabolic Engineering* können wir Organismen mit neuen Enzymen ausstatten, die eine Umsetzung komplexer biogener Rohstoffe erst möglich machen.



#### Expressionssysteme für technische Enzyme und Herstellung im industriellen Maßstab

Im Verbund mit Partnern aus Forschung und Industrie entwickelt das Fraunhofer IGB derzeit weitere effiziente, rekombinante Expressionsverfahren zur Produktion technischer Enzyme (Hydrolasen, z. B. Phospholipase C, Oxidoreduktasen, Zellulasen, Xylanasen, Lipasen) im industriellen Maßstab. In einem ersten Schritt werden pro- und eukaryotische Expressionssysteme evaluiert und neue Expressionsstämme und Vektoren entwickelt. Für Varianten, die im Labormaßstab zu einer hohen Ausbeute führen, verfolgen wir die Verfahrensentwicklung und -optimierung bis in den Pilotmaßstab (10 m³).

Gegenwärtig fokussieren wir uns auf wildtypische und proteasedefiziente Stämme von *Kluyveromyces lactis* und *Pichia pastoris* als eukaryotische Expressionsstämme. *Kluyveromyces lactis*, eine nicht-methylotrophe Hefe, kann mit verschiedenen Zuckern wie Laktose aus Molkereststoffen kultiviert und induziert werden. Mit *Pichia pastoris* wird eine methylotrophe Hefe verwendet. Methanol ist preisgünstiger als viele konventionelle Nährmedien und Induktoren und der starke Promotor der Alkoholoxidase I erlaubt eine Produktausbeute an rekombinantem Enzym von bis zu 30 Prozent des Zellproteins. Die verwendeten Stämme eignen sich durch ihre effektiven Sekretionswege insbesondere zur Produktion von Enzymen, die ins Medium abgegeben werden. Sowohl die Produktionskontrolle als auch die Produktaufarbeitung der Enzyme werden hierdurch wesentlich vereinfacht.

#### **VORTEILE VON BIOKATALYSATOREN**

#### **UMWELTVERTRÄGLICH**

Die chemisch-katalytische Herstellung von Substanzen erfolgt meist mit hoher Raum-Zeit-Ausbeute, benötigt aber häufig hohe Drücke, hohe Temperaturen oder den Einsatz organischer Lösungsmittel. Dagegen finden substratspezifische Biosynthesen unter milden Bedingungen in wässriger Lösung statt – bei allerdings meist niedrigen Raum-Zeit-Ausbeuten. Die optimale Kombination chemischer und biotechnologischer Verfahren kommt im Vergleich zur rein katalytischen Chemie, wie beispielsweise bei der Herstellung von Vitamin B2, oft mit geringerem Verbrauch an Rohstoffen und Energie sowie geringeren Entsorgungskosten aus.

#### **HOCHSPEZIFISCH**

Im Mittelpunkt der industriellen Biotechnologie steht die Biokonversion, bei der entweder mit Mikroorganismen (Fermentation) oder Enzymen (Biokatalyse) Rohstoffe in verwertbare Produkte umgewandelt werden. Biokatalysatoren, insbesondere Enzympräparate, ermöglichen hochspezifische Umsetzungen und lassen sich auch zur Herstellung chemisch schwer zugänglicher Verbindungen einsetzen. Biokatalytisch hergestellte Produkte sind von hoher Reinheit, toxische Nebenprodukte und Katalysatorreste bleiben meist aus.

#### **NEUE EIGENSCHAFTEN**

Neben wirtschaftlichen und ökologischen Vorteilen bieten biokatalytische Prozesse auch Möglichkeiten für die Entwicklung neuer Produkte, beispielsweise bioabbaubarer Polymere.

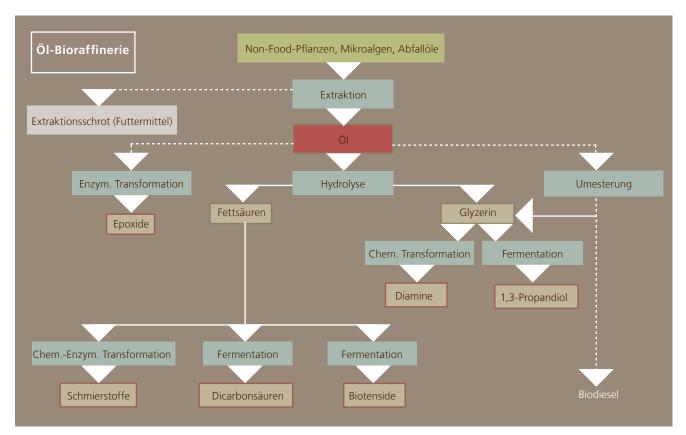
- 1 Automatisiertes Screening nach Dehalogenasen.
- 2 Automatisiertes Massenscreening nach neuen Enzymen.
- 3 Die DNA aus der Bodenprobe wird in Laborstämmen exprimiert.
- 4 Boden Quelle für neue Biokatalysatoren.



### BIOBASIERTE ROHSTOFFE – LIPIDE UND ÖLE

Pflanzliche Öle bestehen aus Triglyzeriden, Estern des Glyzerins, die sich durch die Zusammensetzung der enthaltenen Fettsäuren unterscheiden. Aufgrund der variablen Kettenverteilung ergeben sich bei den aus pflanzlichen Ölen gewonnenen Basisprodukten wie Fettsäuren, Fettalkoholen und Estern verschiedene physikalische Eigenschaften, die zu unterschiedlichen Anwendungsfeldern führen.

Fettalkohole werden beispielsweise als Rohstoffe für unterschiedliche Tenside, überwiegend Fettalkoholethoxylate und Fettalkoholsulfate, eingesetzt. Verzweigte Fettstoffe können durch eine Oligomerisierung ungesättigter Fettsäuren mit kurzkettigen Alkenen synthetisiert werden. Dabei entstehen Produkte, die im Vergleich zu den meist linearen Ausgangsstoffen eine höhere thermische Stabilität, einen niedrigeren Stockpunkt und eine relativ niedrige Viskosität aufweisen und sich dadurch gut für den Einsatz in Schmierstoffen eignen.





#### 1,3-Propandiol aus Rohglyzerin

Bei der Umesterung von Rapsöl zu Biodiesel entsteht Rohglyzerin als Nebenprodukt. Die 80-prozentige viskose Flüssigkeit hat einen pH-Wert von 11 und enthält noch Fettsäuren und Salze. 1,3-Propandiol ist ein chemischer Grundstoff, der u. a. zur Herstellung von Polyestern oder Lacken verwendet wird. Bislang wird er aus petrochemischen Rohstoffen synthetisiert. Eine Alternative bieten Mikroorganismen, die Glyzerin zu 1,3-Propandiol umsetzen können.

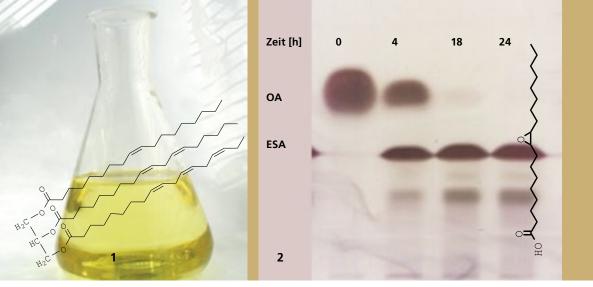
Für die biotechnologische Herstellung von 1,3-Propandiol wurde am Fraunhofer IGB ein Fermentationsverfahren entwickelt, bei dem der strikt anaerobe Sporenbildner Clostridium diolis Rohglyzerin wachstumsgekoppelt zu 1,3-Propandiol umsetzt. Für eine erfolgreiche Fermentation müssen die nach der Umesterung übrig gebliebenen Fettsäuren zunächst aus dem Rohglyzerin abgetrennt werden. Laborversuche zeigten, dass sowohl das Substrat Glyzerin als auch das Produkt 1,3-Propandiol bei höheren Konzentrationen das Wachstum der Bakterien hemmen. Erfolgreich erwies sich eine kontinuierliche Betriebsführung des Bioreaktors, da bei annäherndem Vollumsatz des Glyzerins dessen Hemmwirkung entfällt. Auf diese Weise konnten wir einen stabilen Prozess mit hohen Produktkonzentrationen von 42-60 g/l erzielen. Die Ausbeute an 1,3-Propandiol bezogen auf das eingesetzte Substrat liegt bei etwa 50 Prozent (w/w). Weitere Optimierungsmöglichkeiten ergaben sich durch Hochzelldichte-Fermentationen mit integrierter Biomasserückhaltung im Bioreaktor und durch die Verwendung speziell auf hohe Produktkonzentrationen selektionierter Mikroorganismen.

#### Dicarbonsäuren aus Rapsöl

Langkettige Dicarbonsäuren (C>12) sind chemisch aufwendig zu synthetisieren, stellen jedoch interessante Zwischenprodukte für die Synthese von Kunststoffen wie Polyamiden und Polyestern mit neuen Eigenschaften dar. In manchen Hefen wie Candida tropicalis oder Yarrowia lipolytica ist der Stoffwechselweg der  $\omega$ -Oxidation vorhanden. Bei diesem Stoffwechselweg werden Fettsäuren (Monocarbonsäuren) zu Dicarbonsäuren oxidiert. Am Fraunhofer IGB haben wir verschiedene Ansätze zur fermentativen Herstellung von Dicarbonsäuren aus pflanzlichen Ölen untersucht. Die Verfahrensentwicklung erfolgte am Beispiel von Rapsöl-Derivaten, gilt aber ebenso für Öle, die nicht als Lebensmittel verwendet werden.

Durch die Entwicklung unterschiedlicher Fed-Batch-Verfahren mit Organismen der Gattung Candida konnten wir Dicarbonsäurekonzentrationen von bis zu 100 g/l aus Ölsäure erreichen. Gegenwärtig untersuchen wir eine Reihe weiterer Organismen zur Bereitstellung neuer, einfacher handzuhabender Produktionsstämme, die eine möglichst hohe Dicarbonsäureausbeute ermöglichen. In einem zweiten Ansatz werden ausgewählte Stämme gentechnisch modifiziert. Die rekombinanten Stämme werden gegenwärtig auf ihre Eignung als Produktionsstämme untersucht.

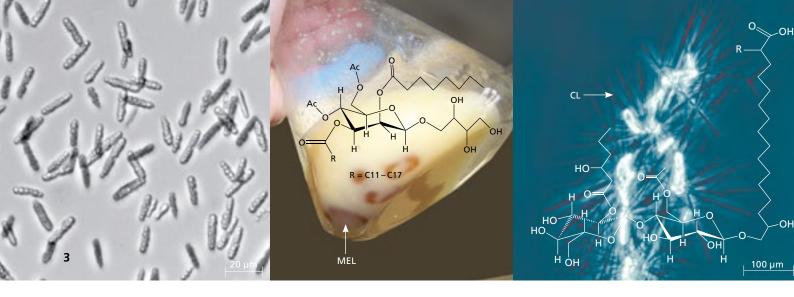
- 1 Bei der Herstellung von Biodiesel aus Rapsöl fällt Rohglyzerin als Nebenprodukt an.
- 2 Clostridium diolis setzt Rohglyzerin zu 1,3-Propandiol um.
- 3 Kultivierung von Hefestämmen im Laborbioreaktor.
- 4 Einige Hefen können aus Fettsäuren Dicarbonsäuren synthetisieren.



#### Epoxide aus pflanzlichen Ölen

Bei der Epoxidierung ungesättigter Fettsäuren und Triglyzeride entstehen polare Verbindungen mit hoher Reaktivität. Epoxide werden daher als PVC-Stabilisatoren, Weichmacher, Quervernetzer in Pulverbeschichtungen oder als Zusätze in Schmierölen und Epoxidharzen eingesetzt. Bisher werden sie aus petrochemischen Rohstoffen, neuerdings auch aus Sojaöl, hergestellt. In beiden Fällen erfolgt die Peroxidierung auf chemischen Weg (Prileshajev-Reaktion). Hierbei werden olefinische Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäuren durch Persäure zum Epoxid (Oxiran) oxidiert. Die Persäurebildung erfolgt in situ durch Reaktion von Wasserstoffperoxid mit Essig- oder Ameisensäure unter Verwendung starker Mineralsäuren oder Ionenaustauschharze als Katalysator.

Das Fraunhofer IGB hat die chemo-enzymatische Epoxidierung pflanzlicher Öle untersucht, bei der Lipasen die Persäurebildung aus Fettsäure und Wasserstoffperoxid katalysieren. Vorteile sind mildere Prozessbedingungen und eine höhere Selektivität der Umsetzung. Als Rohstoff kam das nicht als Lebensmittel verwendete Öl des einjährigen, krautigen Iberischen Drachenkopfs zum Einsatz. Den Umsatz unterschiedlicher Fettsäuren und Öle durch eine immobilisierte Lipase aus Candida antarctica (Novozym® 435) im Hinblick auf Substratkonzentration, Wasserstoffperoxidzugabe, Lipasemenge und Temperatur konnten wir so optimieren, dass die Substrate zu 100 Prozent zu den korrespondierenden Epoxiden umgesetzt wurden. Darüber hinaus haben wir in einem Screening neue, nicht kommerziell erhältliche Enzyme identifiziert, die eine Persäurebildung und somit in einem Folgeschritt die Epoxidierung ungesättigter Fettsäuren katalysieren. Die Enzyme werden derzeit charakterisiert und auf einen technischen Einsatz untersucht, um das Verfahren im technischen Maßstab umzusetzen.



#### Biotenside - Herstellung und Optimierung

Die meisten Tenside in Waschpulver, Spülmittel und Shampoos werden chemisch – aus Erdöl oder pflanzlichen Ölen – hergestellt, ihre Strukturvielfalt ist daher begrenzt. Mikroorganismen bilden eine Vielzahl oberflächenaktiver Substanzen, sogenannte Biotenside, die ein breites Spektrum chemischer Strukturen umfassen (Glykolipide, Lipopeptide, Lipoproteine und Heteropolysaccharide).

Das Fraunhofer IGB untersucht die Herstellung von Cellobioselipiden (CL) und Mannosylerythritollipiden (MEL), zweier für den industriellen Einsatz geeigneten Biotensidklassen, mithilfe von Brandpilzen der Gattungen *Pseudozyma* und *Ustilago*. Um die Raum-Zeit-Ausbeute an Biotensid zu erhöhen und die Produktionskosten zu senken, wird der Herstellungsprozess optimiert. Durch eine optimierte Kultivierung (Sauerstoffzufuhr, Temperatur, Nährlösung, Substratkonzentration) und Prozessführung werden gegenwärtig Produktkonzentrationen von 20–30 g/l für Cellobioselipide und 100 g/l für Mannosylerythritollipide erreicht.

Die Biotenside sind biologisch abbaubar und weniger umwelttoxisch als synthetische Tenside, ihre Eigenschaften in Bezug auf die Tensidwirkung vergleichbar oder überlegen. Zudem haben wir verschiedene Aufreinigungsmethoden etabliert und untersuchen die fermentativ hergestellten Biotenside derzeit auf ihre Anwendung. Die Tensidstruktur und damit die Tensideigenschaften können mit gentechnischen, enzymatischen oder bioprozesstechnischen Methoden modifiziert werden. Beispielsweise ist es gelungen, die Wasserlöslichkeit eines Biotensids zu erhöhen.

- 1 Pflanzliche Öle als nachwachsende Rohstoffe zur Herstellung von Epoxiden.
- 2 Dünnschichtchromatographische Analyse der Lipase-katalysierten Umsetzung von Ölsäure (OA) zu Epoxystearinsäure (ESA).
- 3 Zellen des Brandpilzes Ustilago maydis im haploiden, vegetativen Einzellstadium (links). Mannosylerythritollipide (MEL) setzen sich bei hohen Produktkonzentrationen als ölartige Perlen ab (Mitte), Cellobioselipide (CL) als nadelförmige Kristalle (rechts).



## BIOBASIERTE ROHSTOFFE – STÄRKE/ZUCKER

Stärke ist eine wichtige Speichersubstanz pflanzlicher Zellen und Hauptbestandteil von beispielsweise Mais, Getreide und Kartoffeln. Als Polysaccharid aus Glukose-Einheiten kann Stärke auch für biotechnologische Prozesse genutzt werden. Hierzu wird Stärke aufgeschlossen und zu Glukose hydrolysiert oder enzymatisch zu Glukose gespalten.

Glukose kann fermentativ zu einer Vielzahl von direkt in der chemischen Industrie nutzbaren Plattformchemikalien wie Milchsäure, Essigsäure, Propionsäure, Ethanol und Butanol umgesetzt werden. Milchsäure beispielsweise ist ein chemischer Grundstoff, der zu verschiedenen Endprodukten weiterverarbeitet werden kann, wie etwa zu Acrylsäure, zu 1,2-Propandiol oder biologisch abbaubaren Polymeren (Polylactid, PLA).

#### Milchsäureproduktion aus Stärke

Die fermentative Herstellung von Milchsäure aus Stärke wird technisch in zwei Schritten durchgeführt, der enzymatischen Spaltung der Stärke zu Glukose und der fermentativen Umsetzung der Glukose zu Milchsäure. Das Fraunhofer IGB hat alternativ einen Ein-Schritt-Prozess entwickelt, bei dem Stärke direkt von stärkespaltenden Mikroorganismen hydrolysiert und die resultierende Glukose in Milchsäure verstoffwechselt wird.

In einem Screening auf stärkespaltende milchsäureproduzierende Bakterien konnten wir einen *Lactobacillus-*Stamm finden, der komplexe Stärke wie Weizen- oder Maismehl mit einer hohen Ausbeute und Konzentration von bis zu 115 g/l homofermentativ zu Milchsäure umwandelt. Diese hohen Konzentrationen wurden vorzugsweise in einer Mischkultur mit einem weiteren Milchsäurebakterium erreicht, das aus Glukose Milchsäure bildet. Der stärkespaltende Organismus selbst war bei hohen Milchsäure-Konzentrationen nicht mehr in der Lage, Glukose umzusetzen.



Für die weitere Verwendung muss die Milchsäure aus der Fermentationsbrühe aufgereinigt werden, wobei ein Teil der Milchsäure als undissoziierte Säure vorliegen muss. Die Fermentation sollte demnach bei niedrigen pH-Werten gefahren werden. Da aber niedrige pH-Werte und hohe Anteile freier Milchsäure das Wachstum der Mikroorganismen hemmen, wurde ein zweiphasiges Fermentationsverfahren entwickelt, bei dem ein Teil der Milchsäure pH-geregelt bei einem für das Wachstum optimalem pH-Wert produziert wird. Erst in der zweiten Fermentationsphase wird der pH-Wert auf etwa pH 4 gesenkt, sodass sich insgesamt eine möglichst hohe Milchsäurekonzentration bei möglichst niedrigem pH-Wert ergibt.

#### Milchsäure aus Molke

Sauermolke fällt in großen Mengen bei der Herstellung von Milchprodukten als Reststoff an. Die Molke selbst ist durch ihren hohen CSB-Gehalt (chemischer Sauerstoffbedarf) nur unter hohem Kosteneinsatz zu entsorgen. Hauptkomponente der Molke ist Milchzucker (Laktose), der aufgrund seiner schwachen Süßkraft in der Lebensmittelindustrie nur geringe Bedeutung hat.

Laktose kann mit Hilfe von Milchsäurebakterien zu Milchsäure (Laktat) umgesetzt werden. Milchsäure findet Verwendung als Konservierungs- und Säuerungsmittel in der Lebensmittelherstellung und kann als Grundstoff in der chemischen Industrie – zum Beispiel für die Produktion von Polymilchsäure (Polylactiden, PLA), biologisch abbaubaren Kunststoffen – eingesetzt werden.

Am Fraunhofer IGB wurde ein integrierter Prozess entwickelt, bei dem durch Kopplung von Membran-Aufarbeitungsverfahren mit einem optimierten biologischen System (Organismus, Fermentation) Milchsäure wirtschaftlich produziert werden kann. In einem ersten Schritt wird hochwertiges Molkeprotein durch Ultrafiltration aus der Sauermolke abgetrennt. Laktose wird durch spezielle Milchsäurebakterien, die keine weiteren Zusatzstoffe benötigen, in einem anaerob betriebenen Bioreaktor in Laktat umgesetzt. Durch Zellrückführung über eine integrierte Mikrofiltrationseinheit erreichen wir hohe Biokatalysatorkonzentrationen im Fermenter und damit wirtschaftlich interessante Produktivitäten. Die Produktgewinnung erfolgt über eine Elektrodialyse mit bipolaren Membranen, bei der Laktat direkt in die freie Säure überführt wird.

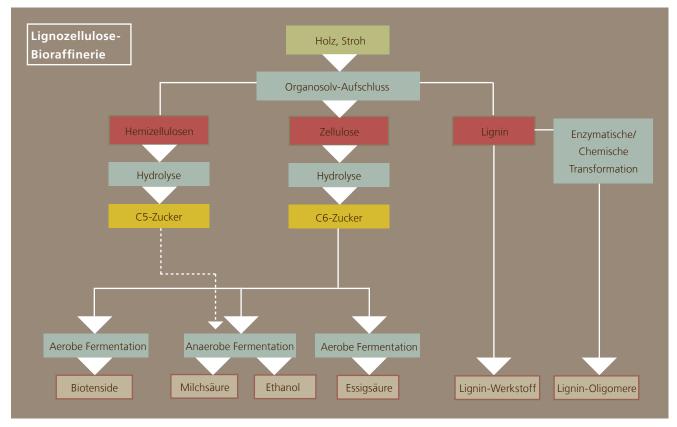
- 1 Stärke ist eine Speichersubstanz pflanzlicher Zellen.
- 2 Bei der K\u00e4seherstellung fallen gro\u00dfe Mengen Molke als Reststoff an.



## BIOBASIERTE ROHSTOFFE – LIGNOZELLULOSE

Lignozellulose, das Strukturmaterial in der Zellwand aller holzigen Pflanzen, ist der am häufigsten vorkommende nachwachsende Rohstoff. Sie ist Hauptbestandteil von Reststoffen wie Stroh oder Holz, die als Ausgangsmaterial für Chemiegrundstoffe nicht mit der Nahrungsmittelproduktion in Konflikt stehen. Lignozellulosehaltige Materialien bestehen im Wesentlichen aus polymeren C6- und C5-Zuckern (Zellulose, Hemizellulose) sowie dem Biopolymer Lignin. Somit stellt Lignozellulose eine nachwachsende Rohstoffquelle für zuckerbasierte und phenolbasierte Plattformchemikalien dar.

Lignozellulose ist gegenüber einem enzymatischen Angriff aufgrund ihrer kompakten Struktur und ihres Ligninanteils sehr beständig. Harsche physikalisch-chemische Aufschlussverfahren andererseits führen zum Verlust oder einer Qualitätsminderung einzelner Fraktionen. Daher sind eine Reihe neuer Methoden und Methodenkombinationen notwendig, um zu technisch verwertbaren Bausteinen für chemische Folgeprodukte zu gelangen.





#### Vollständige Verwertung von Lignozellulose

Nachdem die widerstandsfähige Struktur der Lignozellulose eine effiziente Spaltung der Biomasse verhindert, können die in der Lignozellulose gebundenen Zucker und das Lignin nicht direkt aus lignozellulosehaltigen Pflanzenmaterialien gewonnen werden. Aus diesem Grund muss das Pflanzenmaterial in aller Regel mit physikalischen, chemischen oder biologischen Verfahren vorbehandelt werden. Beim Aufschluss der Lignozellulose nach dem Organosolv-Verfahren entstehen drei Wertstoffströme: Zum einen die zellulosehaltige Faser, die durch zellulolytische Enzyme zu Glukose hydrolysiert werden kann. Und zum anderen die Aufschlusslösung, welche die gelösten Hemizellulose-Zucker sowie gelöstes Lignin enthält. Nach Ausfällung des Lignins und enzymatischer Spaltung der enthaltenen Zucker-Oligomere kann die Aufschlusslösung ebenfalls zur Fermentation von Mikroorganismen verwendet werden. Dabei kann die Fermentierbarkeit der Aufschlusslösung durch eine enzymatische Detoxifikation mit Laccase deutlich erhöht werden.

Innerhalb des vom BMEL geförderten Projekts »Lignocellulose-Bioraffinerie« haben Fraunhofer IGB und CBP mit Partnern aus Forschung und Wirtschaft die Prozessschritte bis zu einem Maßstab von 1 m³ skaliert, um das Konzept eines integrierten Prozessansatzes vom Rohstoff Lignozellulose bis zur Produktgewinnung im Sinne einer Bioraffinerie umzusetzen.

- Lignozellulosehaltige Rohstoffe für die chemische Industrie verfügbar zu machen, ist eine neue Herausforderung.
- 2 Stroh wird zunächst in einer Rührwerkskugelmühle aufgeschlossen, bevor seine Bestandteile weiter umgesetzt werden können.

#### **Gewinnung aromatischer Ligninmonomere**

Eine wesentliche Voraussetzung für die Nutzung biotechnologischer Verfahren zum effizienten Ligninaufschluss ist die Verfügbarkeit effizienter und stabiler Biokatalysatoren. In dem vom BMBF geförderten Verbundprojekt »Innozym« hat das Fraunhofer IGB ligninolytische Enzyme aus Weißfäulepilzen und Bakterien charakterisiert und identifiziert. Geeignete Stämme und Kombinationen von Stämmen (Kokulturen) wurden identifiziert und deren Expressionsleistung durch unterschiedliche Medienzusammensetzung und Induktoren optimiert. So können ligninspaltende Enzyme wie Etherasen oder Laccasen und Peroxidasen in hohen Mengen produziert werden. Sekretierte Enzyme werden mittels zweidimensionaler Gelelektrophorese gereinigt und massenspektrometrisch und biochemisch charakterisiert. Charakteristische Schlüsselenzyme werden gezielt in Submers- bzw. Emerskultursystemen produziert und zellfrei zum enzymatischen Ligninaufschluss eingesetzt.

Neben Weißfäulepilzen und Bohrmuscheln sind einige xylophage Insekten in der Lage, verholztes Pflanzenmaterial als Nahrungsquelle zu nutzen. Termiten und die Larven einiger Käfer- und Schmetterlingsarten sind aufgrund ihrer symbiontischen Lebensweise mit Bakterien und Pilzen in der Lage, Holz zu verwerten. Um das Spektrum der zur Verfügung stehenden Biokatalysatoren für den Ligninabbau zu erweitern, isolieren und charakterisieren wir symbiontische Organismen aus dem Verdauungstrakt von Larven xylophager Insekten. Zusätzlich setzen wir kulturunabhängige Verfahren (Metagenom-Screening, siehe Seite 6) ein, um ligninolytische Enzyme symbiontischen Ursprungs zu identifizieren. Darüber hinaus untersuchen wir kommerziell erhältliche Bakterienstämme auf ihre Eignung zur fermentativen Lignindegradation.



## BIOBASIERTE ROHSTOFFE – CHITIN

Chitin ist nach Zellulose das am häufigsten vorkommende Biopolymer auf der Erde. Das lineare, unlösliche Homopolymer aus beta-1,4-verknüpften N-Acetyl-Glukosamin-Einheiten (NAG) kommt in Krebstieren, Insekten und Pilzen vor. In der EU landen pro Jahr mehr als 750 000 Tonnen chitinhaltige Krabbenschalen auf dem Müll – ein Abfall, der sich auch verwerten ließe.

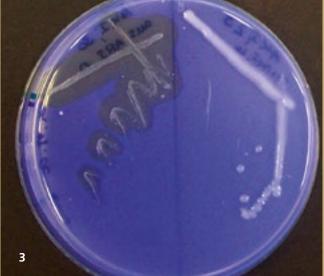
Chitin kann von vielen Bakterien durch Chitinasen abgebaut werden: Das Biopolymer wird dabei in Oligo- oder Monomere gespalten. In Asien wird aus Garnelenschalen das Polymer Chitosan hergestellt, welches als Basismaterial für Filter oder Folien, aber auch als Wundauflage Anwendung findet. Die Schalen der europäischen Krebstiere enthalten allerdings mehr Kalk, die Aufarbeitung zu Chitosan ist daher gegenwärtig nicht wirtschaftlich.

#### Mit Chitinasen zu monomeren Bausteinen

Ziel des Fraunhofer IGB ist, Chitin mit einem enzymatischen Verfahren zu Monomeren abzubauen, die ihrerseits zu Grundbausteinen der Polymerchemie umgesetzt werden. Mit einem Anreicherungsscreening haben wir nach Organismen mit neuen, patentrechtlich noch nicht geschützten Chitinasen gesucht. Laborversuche mit den Isolaten zeigten, dass die Produktion der Chitinasen wachstumsgekoppelt erfolgt und die Enzyme ins Nährmedium sekretiert werden. In einem zweistufigen Verfahren wurden zunächst die Enzyme produziert und diese nach Abtrennung der Biomasse für den Umsatz des Chitins eingesetzt. Auf diese Weise ist es uns gelungen, eine Chitin-Suspension vollständig zu NAG umzusetzen.

Um die Chitinasen auch auf molekularer Ebene beschreiben zu können und gleichzeitig die Voraussetzung zu schaffen, einen rekombinanten Produktionsstamm herzustellen, haben wir zudem Genbibliotheken aus den Isolaten in *E. coli* hergestellt. Mittels *Genomic Walking* und expressionsgestütztem Screening haben wir bereits mehrere neue Chitinasen identifiziert, die derzeit in *E. coli* eingebracht werden. Eine Chitinase wurde in *E. coli* funktionell exprimiert und ihr Produktspektrum untersucht.





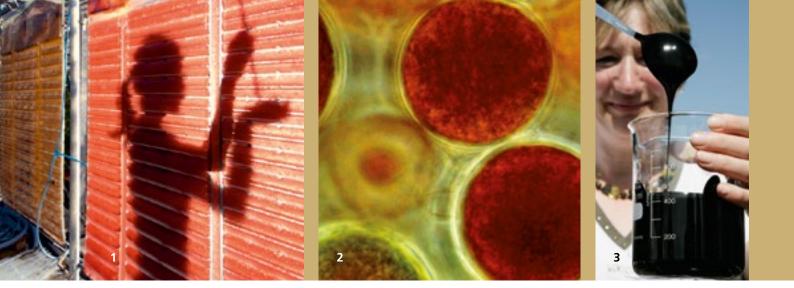
#### Krabbenschalen als Rohstoff für Chemikalien

In dem von der EU geförderten Projekt »ChiBio« führt das Fraunhofer IGB diese Aktivitäten fort. Unter Federführung der Straubinger Projektgruppe BioCat werden neue Verfahren entwickelt, um die als Abfall anfallenden Krabbenschalen auch hierzulande als Rohstoff für Chemikalien und neue Materialien zu erschließen. Das Konsortium mit Forschungsund Industriepartnern aus Norwegen, Österreich, Tschechien, Irland sowie Tunesien und Indonesien setzt dabei auf einen ganzheitlichen und umfassenden Ansatz. Nach Art einer Bioraffinerie sollen für den Abfall Krabbenschale verschiedene stoffliche und energetische Nutzungswege entwickelt und optimiert werden, um so den Reststoff möglichst effizient und vollständig zu verwerten.

Zunächst müssen die Reste des Krebsfleisches von den Schalen entfernt werden. Die Biomassereste, die aus Proteinen und Fetten bestehen, werden so abgetrennt, dass sie direkt vergoren und energetisch genutzt werden können. Das gereinigte

Chitin kann dann mit den oben beschriebenen Enzymen oder Mikroorganismen in seine monomeren Bausteine, den stickstoffhaltigen Zucker Glukosamin, gespalten werden. Eine zentrale Aufgabe ist es, Glukosamin zu Grundbausteinen mit mindestens zwei funktionellen Gruppen umzusetzen, damit diese zu neuen, biobasierten Polymeren verknüpft werden können. Hierzu werden chemische Schritte mit biotechnologischen Verfahren kombiniert. Alle in der Prozesskette anfallenden biobasierten Nebenprodukte sollen gemeinsam mit den anfänglich abgetrennten Proteinen und Fetten zu Biogas als Energieträger vergoren werden.

- 1 Strukturformel von Chitin.
- 2 Krabbenschalen liefern Chitin. © Biotech Surindo
- 3 Chitinolytische Bakerien auf chitinhaltiger Agarplatte.

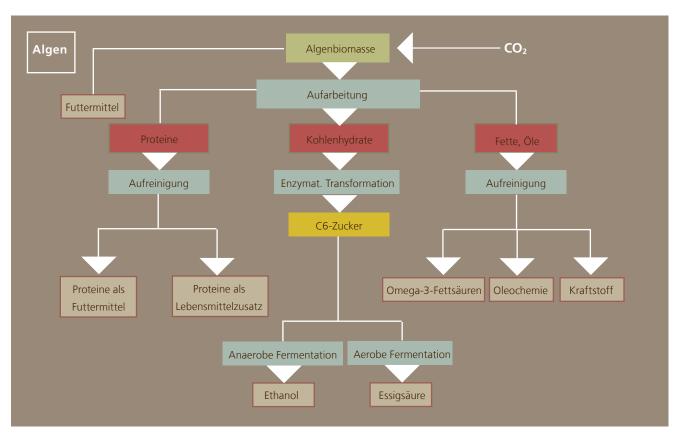


### MIKROALGEN – HOCHWERTPRODUKTE, LIPIDE UND LIGNOZELLULOSEFREIE BIOMASSE

Mikroalgen sind eine bislang wenig genutzte natürliche Rohstoffquelle. Sie produzieren eine Vielzahl chemischer Grundstoffe wie Vitamine, Fettsäuren und Carotinoide. Diese haben ein hohes Wertschöpfungspotenzial für die pharmazeutische, chemische und Nahrungsmittelindustrie.

Algen sind genügsam und brauchen – wie Pflanzen – nur Sonnenlicht, Kohlenstoffdioxid, Nitrat und Phosphat für ein schnelles Wachstum. Bei der Algenproduktion ist eine kontinuierliche

Ernte über das ganze Jahr hinweg möglich, landwirtschaftliche Nutzfläche wird nicht benötigt. Zudem ist die Zusammensetzung der Algenbiomasse – per se lignozellulosefrei und homogen – über gezielte Kultivierungsbedingungen steuerbar. Der Wasserbedarf für ihre Kultivierung ist, im Vergleich zu höheren Pflanzen, deutlich geringer; zudem kann das Wasser recycelt werden. Für die Kultivierung können sogar Abwasserströme aus der Abwasserreinigung genutzt werden, welche anorganische Nährstoffe wie Stickstoff und Phosphor enthalten.





#### Neuartiger Photobioreaktor

Die Produktion von Algenbiomasse in offenen Teichen ist langsam und ineffizient. Am IGB wurde daher für die Primärproduktion von wertstoffhaltiger Algenbiomasse ein preiswerter Plattenreaktor entwickelt, der nach dem Prinzip eines Airlift-Reaktors funktioniert. Im Gegensatz zu bisher entwickelten Reaktoren handelt es sich beim FPA-Reaktor (Flachplatten-Airlift-Reaktor) um einen voll durchmischten Reaktor, bei welchem durch eine geringe Schichtdicke und gezielte Strömungsführung im Reaktor über statische Mischer eine verbesserte Licht- und Substratversorgung aller Algenzellen erreicht wird. Dies führt zu einer hohen Konzentration von Zellen im Reaktor, was die Wirtschaftlichkeit des Produktionsprozesses erhöht.

Der Reaktor selbst wird preisgünstig mittels Tiefziehtechnik aus Kunststofffolie in Form von zwei Halbschalen inklusive der statischen Mischer hergestellt. Im Scale-up wurde das Reaktorvolumen der FPA-Reaktoren von 5 Liter auf zunächst 30 Liter und dann, durch die Subitec GmbH, einem Spin-off des Fraunhofer IGB, auf 180 Liter erhöht. In drei Pilotanlagen in Hamburg, Senftenberg und Reutlingen mit jeweils 1,3 bis 4 m³ Reaktorvolumen werden diese Reaktormodule unter Freilandbedingungen und mit Abgas aus Blockheizkraftwerken als CO<sub>2</sub>-Quelle zur Herstellung von Algenbiomasse eingesetzt.

- Einzelne FPA-Reaktoren werden miteinander gekoppelt und so Algenbiomasse im Kilogramm-Maßstab erzeugt.
- 2 Die Mikroalge Haematococcus pluvialis produziert den roten Farbstoff Astaxanthin.

#### **Produkte eines integrierten Prozesses**

Produktionsverfahren für Substanzen, die als Nahrungsergänzungsmittel, Futtermittel oder Kosmetikzusatz Verwendung finden, wurden am Fraunhofer IGB erfolgreich entwickelt und für die Produktion unter Freilandbedingungen optimiert.

Die Mikroalge Haematococcus pluvialis beispielsweise produziert Astaxanthin, einen roten Farbstoff mit antioxidativen und gesundheitsfördernden Eigenschaften. Der »rote Lachsfarbstoff« findet außer in der Aquakultur auch in der Kosmetikindustrie Verwendung. Die Alge Phaeodactylum tricornutum stellt die für den Menschen essenzielle, mehrfach ungesättigte langkettige Omega-3-Fettsäure EPA (Eicosapentaensäure) her. Manche Algen bilden unter bestimmten Bedingungen Speicherlipide. Diese sind auch als Kraftstoff interessant (siehe nächste Seite).

Der vom Fraunhofer IGB verfolgte Ansatz sieht vor, zunächst die Wertstoffe aus den Algen zu gewinnen und anschließend die Restbiomasse in einer Biogasanlage zu vergären. Nach der Erzeugung von Strom und Wärme aus dem Biogas im Blockheizkraftwerk kann das entstandene CO<sub>2</sub> wieder in den Kreislaufprozess zur Algenbiomasseproduktion zurückgeführt werden.

- 3 Biomasse lipidhaltiger Algen nach der Ernte. © EnBW
- 4 FPA-Reaktoren in einer Pilotanlage der Subitec GmbH, die mit Abgas-CO<sub>2</sub> versorgt wird. © Thomas Ernsting





### ENERGIETRÄGER AUS REGENERATIVEN ROHSTOFFEN

Wenn die Nutzung nachwachsender Rohstoffe Kriterien der Nachhaltigkeit erfüllen soll, müssen die Prozesse als Ganzes betrachtet werden. Vorteilhaft sind Verfahren, die nicht in Konkurrenz zur Nahrungsmittelproduktion stehen, keine Wälder zerstören, nicht zu viel Wasser benötigen und eine möglichst vollständige Verwertung der Rohstoffe im Sinne der Bioraffinerie zum Ziel haben.

entsprechend kultiviert, könnte die Herstellung von Öl oder Biodiesel aus Algenlipiden eine Alternative zur Nutzung pflanzlicher Öle als Energieträger darstellen. In einem aktuellen vom BMBF geförderten Projekt zur Bioenergieerzeugung erforschen wir zusammen mit FairEnergie, Reutlingen, und Subitec die Gewinnung von Öl aus Algen, welches in einem mit Pflanzenöl betriebenen Blockheizkraftwerk eingesetzt wird.

#### Biokraftstoffe aus Holz und Stroh

Eine nachhaltige Lösung bietet die Nutzung von Holz- und Strohabfällen. Wie zuvor beschrieben, müssen hier neue Methoden erarbeitet werden, um die beständigen Biopolymere Hemizellulose, Lignozellulose und Lignin in technisch verwertbare Monomere umzusetzen. Hieran arbeiten wir am Fraunhofer IGB. Die gewonnenen Zucker können nicht nur als Basischemikalien dienen, sondern nach fermentativer Umsetzung auch Biokraftstoffe wie Bioethanol oder Biobutanol liefern.

#### Öl oder Biodiesel aus lipidreichen Algen

Die Produktion von Lipiden als Kohlenstoff- und Energiespeicher ist unter Mikroalgen weit verbreitet. Nach einer Reduktion der Wachstumsrate infolge Nährstoffmangels bilden viele Algenarten Speicherlipide in Form von Öl. Dabei ist die Lipidproduktion stark abhängig vom für die Algen verfügbaren Licht und findet nur statt, wenn das Licht- wie auch das Kohlenstoffdioxidangebot ausreichend hoch bleiben. Werden solche Algen spezifisch auf den Ölgehalt selektioniert und

#### Methan - Endprodukt der Biomasse-Raffinerie

Nachwachsende Rohstoffe wie Mikroalgen oder Kulturpflanzen enthalten die bei der Photosynthese fixierte Sonnenenergie in Form organischer Kohlenstoffverbindungen. Sie sind damit nicht nur C-Lieferanten, sondern auch Energiespeicher. Nach der Gewinnung chemischer Produkte kann die Restbiomasse kohlenstoffdioxidneutral zur Energiegewinnung genutzt werden. Stofflich-energetisches Endprodukt der Biomasse-Raffinerie ist Methan als Bestandteil von Biogas (Biomethan). Es entsteht bei der anaeroben Vergärung organischer Abfälle wie Biomüll, Klärschlamm oder Resten nachwachsender Rohstoffe. Im Blockheizkraftwerk liefert Biogas Wärme und Strom. Alternativ kann es nach einer entsprechenden Aufreinigung mit Membranen als Kraftstoff für mit Erdgas betriebene Fahrzeuge dienen. Dies demonstriert das Fraunhofer IGB an zwei Pilotstandorten: In einer Anlage in Stuttgart werden Großmarktabfälle und Algenbiomasse vergoren und in Brasilien das bei der Schlammfaulung auf einer Kläranlage entstehende Biogas als Kraftstoff genutzt.

- 1 Bei der Vergärung von Restbiomasse entsteht Biogas.
- 2 EtaMax-Anlage in Stuttgart-Gaisburg.

### LEISTUNGEN IM ÜBERBLICK

- Markt- und Technologieanalysen
- Screening der im Fraunhofer IGB vorhandenen Genbibliotheken auf gewünschte Genaktivitäten
- Maßgeschneiderte Herstellung neuer Genbibliotheken für spezielle Anforderungen
- Entwicklung neuer hochdurchsatztauglicher Enzymassays
- Subklonierung, Sequenzierung, Expression und Charakterisierung der neu identifizierten Enzyme
- Enzymoptimierung, Weiterentwicklung der gefundenen Enzyme in evolutivem Ansatz, In-vitro-Enzymengineering
- Metabolic Engineering von Produktionsstämmen
- Enzymhochreinigung im Pilotmaßstab
- Stamm- und Parameterscreening in Multifermentersystemen
- Entwicklung und Optimierung von Fermentationsverfahren vom Labor- bis zum Technikumsmaßstab für bakterielle Systeme und Pilze
- Kombination von biologischen und chemischen Prozessen
- Screening und Entwicklung von photoautotrophen Prozessen vom Labor- bis zum Technikumsmaßstab für Mikroalgen und Cyanobakterien in Flat-Panel-Airlift-Reaktoren, Übertragung auf Produktionsbedingungen im Freiland
- Hochzelldichte-Prozesse, auch kontinuierlich betrieben, durch Zellrückhaltung über Filtration oder Immobilisierung
- Entwicklung von Verfahren für die Produktion, Isolierung, Trennung und Aufreinigung von biotechnischen Produkten und Naturstoffen (Kohlenhydrate, organische Säuren, Fettsäuren, Proteine, Enzyme usw.)
- Aufarbeitungsmethoden wie Zellaufschlussmethoden, Filtration (mikro-, ultra-, nano-), Elektrodialyse und andere Membranverfahren, Extraktion (Flüssig-Flüssig-, Hochdruck-Extraktion), Chromatographische Trennverfahren (Ionenaustausch-, Gelfiltration, Reversed-Phase-Chromatographie)
- Integration der stofflichen und energetischen Nutzung von Biomasse durch Koppel- und Kaskadennutzung
- Scale-up von biotechnischen Prozessen und Aufarbeitungsverfahren
- Fermentation bis 10 m<sup>3</sup>



### **KONTAKT**

FuE-Lösungen zur Nutzung nachwachsender Rohstoffe und im Themengebiet der industriellen Biotechnologie werden am Fraunhofer IGB vielfach gemeinsam bearbeitet. Ergänzt werden die Kompetenzen am Standort Stuttgart durch die des Straubinger Institutsteils BioCat BioCat. Am Fraunhofer IGB entwickelte Prozesse werden am Fraunhofer CBP in den technischen oder industriellen Maßstab skaliert.

Dr.-Ing. Susanne Zibek
Bioprozessentwicklung
Telefon +49 711 970-4167
susanne.zibek@igb.fraunhofer.de

Dr. Ulrike Schmid-Staiger Algentechnologie Telefon +49 711 970-4111 ulrike.schmid-staiger@igb.fraunhofer.de

Dr.-Ing. Katja Patzsch Industrielle Biotechnologie Telefon +49 3461 43-9104 katja.patzsch@igb.fraunhofer.de



#### SPITZENCLUSTER BIOECONOMY

Das Fraunhofer CBP gehört zum Spitzencluster BioEconomy des BMBF. Ziel des Clusters ist die nachhaltige Wertschöpfung aus Non-Food-Biomasse wie Holz zur Herstellung von Werkstoffen, Chemieprodukten und Energie. www.bioeconomy.de

### Fraunhofer-Zentrum für Chemisch-Biotechnologische Prozesse CBP, Leuna

Das Fraunhofer CBP schließt die Lücke zwischen Labor und industrieller Umsetzung: Durch die Bereitstellung von Infrastruktur und Technikums-/Miniplant-Anlagen ermöglicht das Fraunhofer CBP Kooperationspartnern aus Forschung und Industrie die Entwicklung und Skalierung von biotechnologischen und chemischen Prozessen zur Nutzung nachwachsender Rohstoffe bis in produktrelevante Dimensionen. Im Fokus stehen die Nutzung pflanzlicher Öle, der Aufschluss von Lignozellulose und die Produktion technischer Enzyme. Das Zentrum mit mehr als 2000 m² Fläche am Chemiestandort Leuna bietet Prozesskapazitäten bis 10 m³ und verschiedenste Aufbereitungs- und Aufarbeitungstechniken.

Dipl.-Chem. (FH) Gerd Unkelbach Leiter Standort Leuna Telefon +49 3461 43-9101 gerd.unkelbach@cbp.fraunhofer.de www.cbp.fraunhofer.de

#### Institutsteil BioCat, Straubing

BioCat entwickelt neue Katalysatoren und etabliert katalytische Prozesse, die eine umfassendere Nutzung pflanzlicher Biomasse in der chemischen Industrie ermöglichen. Dafür werden vor allem chemische und biotechnologische Methoden geeignet kombiniert. Die Katalysatoren sollen zur Umwandlung beispielsweise von aus Pflanzen und Reststoffen der Holzverarbeitung gewonnenen Terpenen in Epoxide und Monomere für die Polymerindustrie eingesetzt werden.

Dr. Michael Hofer Leiter Standort Straubing Telefon + 49 172 278-3500 michael.hofer@igb.fraunhofer.de

#### Verwendete Abkürzungen

BMBF Bundesministerium für Bildung und ForschungBMEL Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft

EU Europäische Union

FuE Forschung und Entwicklung

#### Fraunhofer IGB

Das Fraunhofer IGB entwickelt und optimiert Verfahren, Produkte und Technologien für die Geschäftsfelder Gesundheit, Chemie und Prozessindustrie sowie Umwelt und Energie. Wir verbinden höchste wissenschaftliche Qualität mit professionellem Know-how in unseren Kompetenzfeldern – stets mit Blick auf Wirtschaftlichkeit und Nachhaltigkeit. Komplettlösungen vom Labor- bis zum Pilotmaßstab gehören dabei zu den Stärken des Instituts. Kunden profitieren auch vom interdisziplinären Austausch zwischen den fünf FuE-Abteilungen in Stuttgart und den Institutsteilen an den Standorten Leuna und Straubing. Das konstruktive Zusammenspiel der verschiedenen Disziplinen am Fraunhofer IGB eröffnet neue Ansätze in Bereichen wie Medizintechnik, Nanotechnologie, industrieller Biotechnologie oder Umwelttechnologie. Das Fraunhofer IGB ist eines von 69 Instituten und Forschungseinrichtungen der Fraunhofer-Gesellschaft, Europas führender Organisation für angewandte Forschung.

www.igb.fraunhofer.de

Bleiben Sie mit uns in Verbindung:









