

Phenol aus dem Bioreaktor

Ein Team von Bayer Technology Services brachte Bakterien dazu, aus Glucose Phenol herzustellen. Damit könnten pflanzliche Abfälle die Basis für eine nachhaltige Synthese wichtiger Polymere wie Polycarbonat sein, die auf Phenol basieren

Die Welt retten? Na klar, das geht. Und genau das hatte sich Dr. Jørgen Magnus schon vorgenommen, als er noch ein Schüler war. Schließlich hatte er gerade „Die neuen Grenzen des Wachstums“ gelesen. Ein Buch über die begrenzten Ressourcen. Den klimaschädigenden Einfluss der steigenden CO₂-Emissionen kannte er da bereits – von einer Ausstellung im Norsk Teknisk Museum in Oslo. Und noch etwas war Magnus schon damals klar: Die Welt retten – das geht nicht ohne Biotechnologie.

Inzwischen sind fast 25 Jahre vergangen. Und wenn man so will, dann arbeitet Magnus heute tatsächlich an der Rettung der Welt. So ein bisschen jedenfalls. Er hat Biochemie und Verfahrenstechnik studiert, hat promoviert – und ist Biotechnologe geworden. Bei Bayer Technology Services forscht er nun unter anderem an Wegen, wie er fossile Ressourcen schonen und damit auch Treibhausgas-Emissionen vermeiden kann. Schließlich interessieren sich immer mehr Kunden für nachhaltige Produktionswege.

Und es gibt Erfolge: In einem Projekt konnte Magnus innerhalb von nur einem Jahr Bakterien beibringen, Phenol herzustellen. Von diesem wichtigen Rohstoff benötigt die chemische Industrie weltweit jährlich rund neun Millionen Tonnen. Der größte Teil davon wandert in Polymere wie Polycarbonat oder Epoxidharze, ein kleinerer aber auch in die Synthese von Wirkstoffen wie den von Aspirin: Acetylsalicylsäure. Bis dato wird Phenol ausschließlich aus Erdöl gewonnen.

Die bakterielle Phenolsynthese ist aber nicht nur deshalb von großer Bedeutung. Auch in rein technischer Hinsicht hat Magnus mit ihr etwas ganz Besonderes geschafft. Schließlich existiert in der gesamten Natur kein Lebewesen, das im Rahmen seines Stoffwechsels nennenswerte Mengen Phenol herstellt. „Es gab also keine natürliche Synthesevorlage, für die man die entsprechenden Gene einfach hätte auf Bakterien übertragen können“, so Magnus.

Trotzdem hat der Norweger einen Weg gefunden, die Zellen genau dazu zu bringen. Wenn er Laien anschaulich vermitteln

will, was er dabei gemacht hat, dann nimmt er sie schon mal mit in eine Welt, die sie kennen: die der Autos. „Unter dem Strich haben wir eine bestehende Autobahn an ein neues Ziel angeschlossen, haben dann die Anzahl der Fahrspuren erhöht, bestimmte Ausfahrten blockiert und außerdem Baustellen und andere Nadelöhre beseitigt.“ Alles Maßnahmen also, damit möglichst viel Verkehr zu dem neuen Ziel gelangt. Oder anders gesagt: damit möglichst viel Phenolmoleküle entstehen.

Konkret hieß das: „Am Anfang haben wir nach Bakterien gesucht, in deren Stoffwechsel eine Substanz vorkommt, aus der man potenziell Phenol herleiten könnte“, so Magnus. Das war quasi die Suche nach einer Autobahn, die dem gewünschten neuen Ziel bereits recht nahe kam. Fündig wurde das Team in





Der Rohstoff Glucose ließe sich auch aus Holzabfällen (o.) gewinnen. Die Zellen, die daraus Phenol herstellen, müssen aber erst präpariert – und dann vermehrt – werden (u.)





„Zellen sind sehr vielseitige Reaktoren. Die können Tausende verschiedene Moleküle herstellen. Das schafft kein Chemiker. Ich sehe unendliche Möglichkeiten für die Biotechnologie“

Dr. Jörgen Magnus, Process Design & Optimization, Bayer Technology Services

bestimmten Escherichia-coli-Stämmen, in einer Bakterienart also, von der es auch im menschlichen Darm Vertreter gibt.

Wenn diese Kolibakterien einfache Glucosemoleküle verstoffwecheln, dann führt die Umwandlungskette irgendwann zu Chorismat. Genau diese Substanz schien Magnus ein guter Ansatzpunkt zu sein: „Aus Chorismat lässt sich in nur zwei Schritten Phenol synthetisieren.“ Der erste Schritt führt zu einer Substanz namens 4-Hydroxybenzoesäure, der zweite zum Phenol. Alles, was den Bakterien für diese Schritte fehlte, waren zwei Enzyme, die die jeweiligen Reaktionen bewirken. Zwei Enzyme, die man zum Glück in anderen Kolistämmen findet. Die Gene für diese Enzyme waren also bekannt. Magnus und sein Team mussten diese Gene also lediglich aus anderen Bakterien herauschneiden und in das Genom der Bakterien mit dem Chorismat einschleusen. Der Autobahnneubau zum Phenol wäre damit geschafft.

Um die Ausbeute zu steigern, wollte Magnus dafür sorgen, dass die Bakterienzellen aus Glucose mehr Chorismat produzieren als üblich. Viel mehr. „Wir haben daher die Gene für drei Enzyme vervielfältigt, die an der Chorismat-Bildung beteiligt sind.“ Das war sozusagen das Anlegen neuer Fahrbahnen für die Autobahn.

Leider gab es noch einen Störfaktor: Natürlicherweise verarbeiten die Bakterien das Chorismat weiter zu zwei für sie wichtigen Aminosäuren. Da dies die Phenol-Ausbeute beeinträchtigt hätte, wollte Magnus das verhindern. „Dazu mussten wir zwei Gene für die entsprechenden Enzyme herauschneiden“, so Magnus. Es war, als ob man eine Autobahnausfahrt oder -abzweigung sperrt, über die sonst zu viele Fahrzeuge verloren würden.

Und dann fehlte nur noch ein Kniff: In den Zellen gibt es nämlich einen Rückkopplungsmechanismus, der unter bestimmten Bedingungen die Produktion einer Chorismat-Vorstufe bremst – und damit auch die Chorismat-Synthese selbst. Hier genügte es, das Gen für das entsprechende Enzym an einer Stelle zu verändern, und die Rückkopplung war außer Kraft ge-



Klar nachgewiesen: In dieser trüben Reaktorlösung wird tatsächlich fleißig Phenol synthetisiert

Die Natur nutzen

Die Natur kann viel. Und genau das macht sich zunehmend auch die weiße Biotechnologie zunutze. In Abgrenzung zu biotechnologischen Anwendungen in Pharmazie und Medizin (rote Biotechnologie) oder im Bereich der Landwirtschaft (grüne Biotechnologie) geht es dabei darum, den Werkzeugkasten der Natur für die Industrie zu nutzen. Beispielfähig ist etwa die Ethanol-Gewinnung aus Biomasse (Bioethanol) oder die biotechnologische Herstellung von Enzymen für Waschmittel. Zunehmend interessant wird die weiße Biotechnologie aber auch, um wichtige Basischemikalien aus nachwachsenden Rohstoffen oder sogar aus deren Abfällen zu synthetisieren. Also als Erdölalternative.

Metabolic Engineering ist ein Spezialgebiet der weißen Biotechnologie beziehungsweise eine der genutzten Methoden. Dabei werden bestehende Organismen, in der Regel Einzeller wie Bakterien, so modifiziert, dass sie etwas industriell Gewünschtes tun. Das Ziel kann sein, eine ohne-

hin im Rahmen des Stoffwechsels produzierte Substanz in höherer Ausbeute zu liefern. Es kann aber auch darum gehen, den Stoffwechsel so umzuprogrammieren, dass die Organismen etwas für sie völlig Neues synthetisieren. So wie im Fall des im Haupttext beschriebenen Beispiels der Phenolsynthese durch Kolibakterien.

Optimisten sehen bereits eine weitgehend biobasierte Industrie, in der nachwachsende Rohstoffe die klassischen, fossilen möglichst vollständig ersetzen. Noch ist es nicht so weit. Aber immer mehr Unternehmen und Wissenschaftler forschen daran. So wie Bayer.



„Mit seiner Biotech-Kompetenz hat uns Bayer Technology Services einen neuen Weg aufgezeigt, wie man nachwachsende Rohstoffe erfolgreich einsetzen kann“

Dr. Tony Van Osselaer, Leiter Industrial Operations und Mitglied des Executive Committee von Bayer MaterialScience

setzt. Magnus vergleicht dies mit dem Aufheben einer Baustelle, an der sich zuvor der Verkehr staut.

Schließlich kam der Tag, an dem Magnus alle genetischen Veränderungen in Kolizellen einschleuste und diese vermehrte. Für den Nachweis, ob das Prinzip in der Praxis funktioniert, genügte ein Schüttelkolben. Darin: eine Brühe aus vermehrten Kolibakterien, etwas Nährlösung – und natürlich Zucker. Nach einiger Zeit schaute Magnus, ob sich in der Brühe Phenol gebildet hatte. Doch das Chromatogramm des Extraktes, den er untersuchte, blieb eine flache Linie. Kein Peak – also kein Phenol. Ein Schock.

Woran konnte das liegen? War etwas am Nährmedium falsch? Doch dann keimte in Magnus ein anderer Verdacht. Hatte er möglicherweise beim Vermehren der veränderten Zellen einen Fehler gemacht? Hier kommt nämlich ein Trick zum Tragen, damit sich etwaige Kolibakterien mit unverändertem Genom nicht mitvermehren. Dazu wird das modifizierte Genom noch mit einer Resistenz gegen ein bestimmtes Antibiotikum ausgestattet. Anschließend wird den Zellen dieses Antibiotikum zugesetzt. Die Folge: Nur die Bakterienzellen mit dem veränderten Genom (und der Resistenz) vermehren sich, alle anderen sterben ab. Hatte Magnus zu wenig Antibiotikum verwendet? In seinem zweiten Anlauf erhöhte er die Menge.

Dann der 13. Juni 2012, ein Mittwoch. Es ist etwa 18 Uhr, Magnus ist der Letzte im Labor, als er die neue Probe aus dem Schüttelkolben in den Flüssigchromatographen spritzt. Nach etwa 20 Minuten registriert der UV-Detektor tatsächlich eine Substanz, ein Peak zeichnet sich ab. Magnus weiß, welche Substanz an dieser Stelle im Chromatogramm auftaucht: Phenol. In seiner norwegischen Heimat ist gerade die Zeit, in der es auch nachts kaum noch dunkel wird, und die Mittsommernachtpartys steigen. Magnus ist in seinem Leverkusener Labor zwar weit davon entfernt. Doch auch er ist nun in Partystimmung.

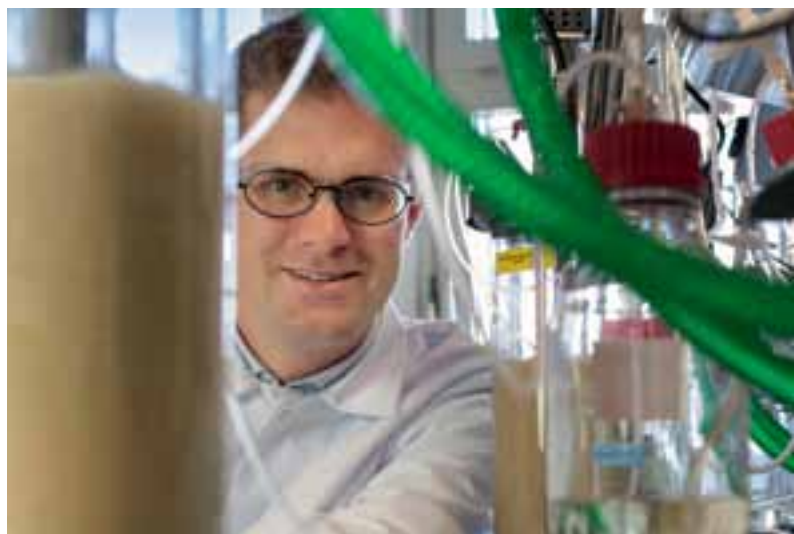
Später wiederholt er den Versuch noch in einem Ein-Liter-Bioreaktor. Dort ist der Phenol-Peak sogar noch größer, die Ausbeute höher. Trotz dieser sensationellen Erfolge bleibt Magnus vorsichtig. Denn er weiß: „Bisher haben wir lediglich das Funktionsprinzip bestätigt. Um dies in einen Produktionsmaßstab sinnvoller Dimension zu überführen, ist noch einiges zu tun.“ Vermutlich ist sogar ein anderer Bakterienstamm nötig. „Für den bisher verwendeten Kolistamm ist Phenol ab einer gewissen Konzentration toxisch“, räumt Magnus ein. Eine Frage in diesem Zusammenhang wäre auch, wie man dem Bioreaktor das fertige Produkt möglichst kontinuierlich entziehen könnte, damit es sich gar nicht erst anreichert.

Klar ist dagegen, woher der benötigte Ausgangsstoff Glucose stammen könnte. Einschlägige Zuckerpflanzen wären eine

mögliche Quelle. Infrage käme aber auch Cellulose, die man aus pflanzlichen Abfällen gewinnen könne, betont Magnus.

Keine Zweifel hat Magnus bei der Frage, ob kleine Bakterien überhaupt in der Lage sind, das Industrieprodukt im Millionen-Tonnen-Maßstab zu produzieren. „Es gibt ja auch Anlagen, in denen Hefen bis zu einer Million Tonnen Bioethanol im Jahr produzieren“, gibt er sich zuversichtlich, dass in einer Biophenol-Anlage ähnliche Größenordnungen wie in der Chemie erreichbar wären.

Ganz sicher ist sich der Norweger über die künftige Bedeutung der Biotechnologie für die Chemie. „Eine Zelle ist ein



Mit Biotechnologie ist vieles möglich, nicht nur im Labormaßstab. Davon ist Dr. Jørgen Magnus überzeugt

sehr vielseitiger Reaktor“, sagt er knapp und nennt die Acker-schmalwand, eine eher unscheinbare Schaumkressenart. „Aus genetischer Sicht eine sehr einfache Pflanze, doch ihre Zellen können Tausende verschiedene Moleküle herstellen“, so Magnus. „Das kann kein Chemiker.“ Der Norweger spricht von „unendlichen Möglichkeiten“. Schon bei seinem Vorstellungsgespräch bei Bayer im Jahr 2006 war er kühn genug, in einem Nebensatz vorzuschlagen, doch auch Aspirin biotechnologisch herzustellen.

Er sieht die Biotechnologie derzeit in einem Stadium, in dem die Informationstechnologie war, als Bill Gates noch zur Schule ging. Wenn es nach Magnus geht, wird da noch viel kommen. Wenn es gut läuft, werden auch manche Antworten auf die aufkommende Rohstoffverknappung dabei sein. Und vielleicht wird damit letztlich sogar die Welt gerettet.