

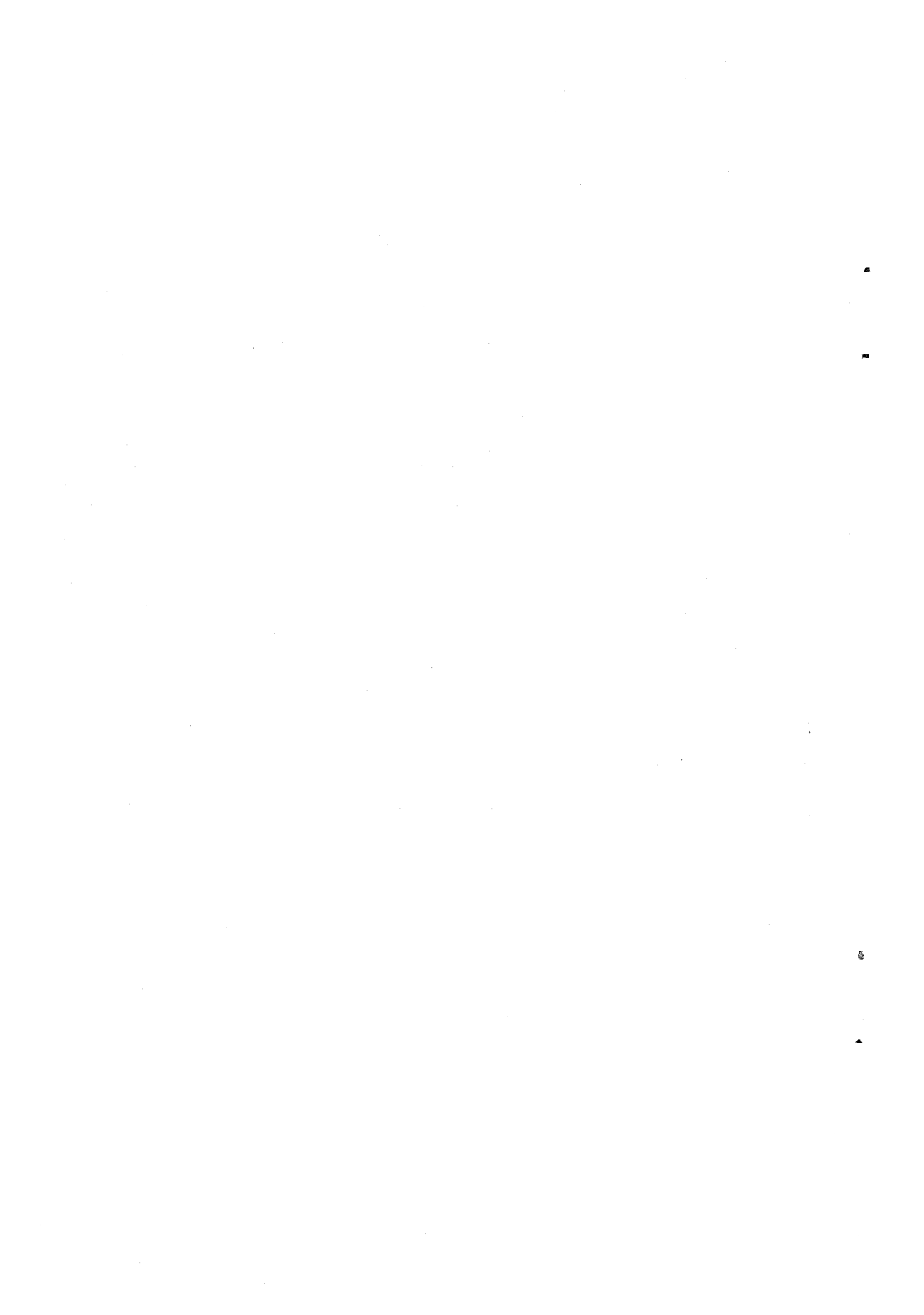
Biotechnologie

**Eine Studie über Forschung und Entwicklung
– Möglichkeiten, Aufgaben und Schwerpunkte der Förderung –**

**ausgearbeitet im Auftrag des Bundesministers für Forschung und Technologie
von Mitgliedern des Arbeitsausschusses Technische Biochemie der DECHEMA,
Deutsche Gesellschaft für chemisches Apparatewesen e.V., Frankfurt/Main,
und weiteren Fachleuten aus Industrie und Wissenschaft**

Dritte, überarbeitete Auflage .

März 1976



Die Studie

"Biotechnologie"

wurde im Auftrag des Bundesministeriums für Forschung und Technologie in der Zeit vom März 1972 bis Dezember 1973 ausgearbeitet. Die Federführung lag bei Herrn Professor Dr. H.J. Rehm, Münster i. Westf., als Vorsitzendem des Arbeitsausschusses "Technische Biochemie" der DECHEMA.

An der Erstellung der Studie und der Formulierung von Empfehlungen und Schwerpunkten wirkten Mitglieder der Unterausschüsse "Verfahrenstechnik biochemischer Prozesse" sowie "Kinetik und Mechanismen biochemischer Reaktionen" und weitere Wissenschaftler aus Forschung und Technik mit.

Sie wurden beraten und unterstützt durch Referenten des Bundesministeriums für Forschung und Technologie. Spezielle Abschnitte wurden von einzelnen Fachleuten beigetragen. Eine namentliche Liste ist als Anhang der Studie beigefügt.

Die DECHEMA dankt allen Mitarbeitern an der Studie für die sorgfältige, während vieler Diskussionssitzungen erarbeitete Darstellung und für ihre Kooperationsbereitschaft. Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H.J. Rehm für die Konzeption und Federführung sowie Herrn Dr. K. Buchholz, Frankfurt/M., für die redaktionelle Bearbeitung der Studie.

Die erste Auflage, die im Januar 1974 vorgelegt wurde, hat eine starke Resonanz im In- und Ausland gefunden, die einen schnellen Nachdruck erforderlich machte. Die vorliegende dritte Auflage wurde überarbeitet, um der neueren Entwicklung

Rechnung zu tragen. Dabei wurden mit den Kapiteln Stamm-
entwicklung, 1.1.3, Stickstoffixierung, 4.5.3 und Cellulose-
Abbau, 4.5.4, teilweise neue, erfolgversprechende Ansätze
aufgegriffen und mit einem Schwerpunkt (Nr. 11) die enge
Verbindung mit dem Rohstoffsicherungsprogramm herausgestellt.

Frankfurt/Main, März 1976

D E C H E M A

Deutsche Gesellschaft für chemisches Apparatewesen e.V.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. <u>Einführung und Allgemeines</u>	VII
Definition der Biotechnologie	VII
Allgemeines über den Stand und die volkswirtschaftliche Bedeutung der Biotechnologie	VII
Biotechnologie und Umwelt	XI
Biotechnologie als interdisziplinäres Forschungsgebiet	XIII
Fachliche Schwerpunkte für eine Förderung	XV
Empfehlungen zur Förderung	XX
Kostenschätzung	XXIV
II. <u>Spezieller Teil</u>	
1. Biologische Grundlagen	1
1.1. Mikroorganismen	1
1.1.1. Screening	2
1.1.2. Stammhaltung	3
1.1.3. Stammentwicklung	8
1.2. Pflanzliche Zell- und Gewebekulturen	14
1.2.1. Stammhaltung	15
1.2.2. Züchtung von Hochleistungs-Stämmen	16
1.2.3. Kultur-Methoden	17
1.3. Tierische Zell- und Gewebekulturen	20
1.3.1. Stammhaltung	21
1.3.2. Züchtung von Hochleistungs-Stämmen	21
1.3.3. Kultur-Methoden	22
2. <u>Reaktionstechnik, Verfahrenstechnik, Meß- und Regeltechnik</u>	24
2.1. Reaktionstechnische Grundlagen	26
2.2. Bioreaktoren	28
2.2.1. Stoff-, Impuls- und Energietransport im Reaktor	28
2.2.2. Reaktortypen	29
2.2.3. Besondere Vorrichtungen und Ausstattung	32

	Seite
2.3. Grundoperationen (unit operations)	33
2.3.1. Rohstoffbehandlung	33
2.3.2. Sterilisation	34
2.3.3. Produktisolierung	34
2.3.4. Besondere Techniken	35
2.4. Meß- und Regeltechnik	36
3. <u>Biologische Verfahren</u>	39
3.1. Verfahren mit Mikroorganismen	39
3.1.1. Mikrobielle Biomasse	39
3.1.2. Hochmolekulare Zellprodukte	49
3.1.2.1. Zellpartikel	49
3.1.2.2. Proteine (vorwiegend Enzyme)	50
3.1.2.3. Nukleinsäuren	51
3.1.2.4. Polysaccharide	51
3.1.3. Niedermolekulare Zellprodukte	52
3.1.3.1. Primäre Stoffwechselprodukte	52
3.1.3.2. Sekundäre Stoffwechsel- produkte	58
3.1.4. Mikrobiologische Stoffumwandlungen	65
3.2. Verfahren mit Zell- und Gewebekulturen	73
3.2.1. Verfahren mit pflanzlichen Zell- und Gewebekulturen	73
3.2.2. Verfahren mit tierischen Zell- und Gewebekulturen	75
3.3. Verfahren mit Enzymen	79
3.3.1. Präparative Herstellung von Enzymen	81
3.3.2. Reaktionen mit gelösten Enzymen	85
3.3.3. Reaktionen mit immobilisierten Enzymen	88
3.3.4. Enzymatische Analytik	91
4. <u>Spezielle Verfahren</u>	97
4.1. Technologie in der Lebensmittel- industrie mit Mikroorganismen	97
4.1.1. Verfahren mit Hefen	97
4.1.2. Verfahren mit Bakterien und Pilzen (ohne Hefen)	100

	Seite
4.1.3. Spezielle Fermentationsverfahren bei der Herstellung von Genußmitteln	107
4.2. Enzymverfahren in der Lebensmittelindustrie	109
4.3. Silage zur Futtermittelherstellung	111
4.4. Mikrobiologische und enzymatische Abbauprozesse	113
4.4.1. Abwasserreinigung	113
4.4.2. Kompostierung sowie Beseitigung landwirtschaftlicher Produkte	118
4.4.3. Biologische Abluftreinigung	121
4.5. Sonstige Verfahren	123
4.5.1. Biotechnologie hydrometallurgischer Prozesse	123
4.5.2. Verhinderung von Korrosionen und Baustoffverwitterungen durch Mikroorganismen	126
4.5.3. Biologische Stickstoffixierung	127
4.5.4. Biotechnologische Nutzung von cellulosehaltigen Substraten	130
4.5.5. Mikroorganismen bei der Lederherstellung	134
4.5.6. Mikroorganismen bei der Flachsröste	135
4.5.7. Mikroorganismen in Aerosolen	135
4.5.8. Mikrobiologische Energiegewinnung	135
4.5.9. Mikrobiologische Umwandlung von Substraten in energiereiche Verbindungen	136
4.5.10. Mikrobielle Herstellung radioaktiver Substanzen	138
5. <u>Beseitigung von Rückständen aus biotechnologischen Prozessen</u>	140
5.1. Rückstände aus Fermentationen und Aufarbeitungen	140
5.2. Rückstände aus Prozessen der Lebensmittelindustrie	142
5.3. Klärschlamm	143

VI

	Seite
6. <u>Ausbildung</u>	145
6.1. Ausbildung von Biotechnologen an den Universitäten	146
6.1.1. Zusatzausbildung mit Grundausbildung Mikrobiologie	146
6.1.2. Zusatzausbildung mit Grundausbildung Biochemie/Chemie	148
6.1.3. Zusatzausbildung mit Grundausbildung Verfahrenstechnik und Technische Chemie	150
6.2. Fortbildungskurse für Biotechnologie	151
6.3. Zu erwartende Kosten für die Durchführung der Ausbildung in Biotechnologie	154
Verzeichnis der Mitarbeiter	157

Einführung und Allgemeines
=====

Definition der Biotechnologie

Die Biotechnologie behandelt den Einsatz biologischer Prozesse im Rahmen technischer Verfahren und industrieller Produktionen. Sie ist also eine anwendungsorientierte Wissenschaft der Mikrobiologie und Biochemie in enger Verbindung mit der Technischen Chemie und der Verfahrenstechnik. Sie behandelt Reaktionen biologischer Art, die entweder mit lebenden Zellen (Mikroorganismenzellen, pflanzlichen und tierischen Zellen bzw. Geweben) oder mit Enzymen aus Zellen durchgeführt werden. Hierin ist die Gewinnung von Biomasse aus den genannten Organismen oder Organismenteilen eingeschlossen.

Nicht berücksichtigt wird in dieser Studie das Gebiet der medizinischen Technik (gelegentlich auch als Biotechnologie oder Biotechnik bezeichnet), das sich mit der Herstellung von Apparaturen für biologische Zwecke, besonders im medizinischen Bereich (z.B. Herz-Lungen-Maschinen) befaßt.

Allgemeines über den Stand und die volkswirtschaftliche Bedeutung der Biotechnologie

Biologische Prozesse haben in der Lebensmittelindustrie bereits seit Jahrhunderten eine zentrale Bedeutung, während sie in der chemischen Technik erst in den letzten 80 Jahren mehr und mehr angewandt worden sind.

Inzwischen hat sich die Biotechnologie zu einem Industriezweig von sehr großer wirtschaftlicher Bedeutung entwickelt. Diese wirtschaftliche Bedeutung wird in den nächsten Jahrzehnten voraussichtlich noch um ein Vielfaches zunehmen. Ein wesentlicher Anstoß für diese Entwicklung liegt auch in der zunehmenden Verknappung wichtiger Rohstoffe der Chemischen

VIII

Technik und in der Preispolitik vieler Rohstoffexportländer. Biotechnologische Verfahren gehen vielfach von leicht zugänglichen Rohstoffen aus, es können häufig auch minderwertige Substrate oder z.B. Abfallprodukte, Abwässer etc. verwendet werden. Die volkswirtschaftlichen Vorteile einer Nutzung dieser Reserven, zu der die Biotechnologie wesentlich beitragen kann, sind offensichtlich. Einige Beispiele für biotechnologische Verfahren seien im folgenden angeführt:

Bier ist ein Fermentationsprodukt mit sehr alter Tradition. Die jährliche Weltproduktion beträgt etwa 550 Mio hl mit einem Wert von mehr als 55 Mrd. DM. An Wein werden jährlich ca. 300 Mio hl mit einem Wert von mehr als 30 Mrd. DM hergestellt.

Backhefe wird biotechnologisch zu etwa 600.000 t jährlich mit einem Wert von 500 Mio DM erzeugt.

Von besonderer Bedeutung vor allem in der Zukunft ist die biotechnologisch erzeugte Eiweißhefe, deren Weltproduktion gegenwärtig jährlich bei etwa 800.000 t mit einem Wert von 800 Mio DM liegt. In der Bundesrepublik werden jährlich 12.000 t mit einem Wert von 12 Mio DM erzeugt. Eiweißhefe wird voraussichtlich in den nächsten Jahren bereits zur Deckung des Eiweißbedarfes vieler Teile der Weltbevölkerung herangezogen werden müssen. Dabei sind Hefen aus unkonventionellen Kohlenstoffquellen besonders bedeutungsvoll. Der Eiweißbedarf der Erdbevölkerung ist mit konventionellen tierischen und pflanzlichen Eiweißquellen nach dem gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse in absehbarer Zeit nicht mehr zu decken. Aus diesen Gründen sind in vielen Ländern (z.B. Japan, Frankreich, England, UDSSR, Rumänien) größere Anlagen zur Proteinerzeugung aus nichtkonventionellen Kohlenstoffquellen im Bau oder geplant.

Die mikrobiologisch/biologische Fixierung des atmosphärischen Stickstoffs wird gegenwärtig in vielen Ländern sehr intensiv unter Aspekten der Anwendung in biotechnologischen Verfahren bearbeitet. In ferner Zukunft wird eine Ergänzung oder ein

Ersatz chemischer Verfahren besonders auf dem Gebiet der Düngemittelherstellung angestrebt.

Citronensäure könnte als Zusatz zu Waschmitteln anstelle eines Teiles der weniger erwünschten Phosphate in Zukunft eine sehr große Bedeutung gewinnen. Die gegenwärtige Weltproduktion liegt bei 290.000 t mit einem Markwert als "bulk-Ware" von 670 Mio DM. Die jährliche Steigerungsrate liegt bei 15-18 %.

Nahezu sämtliche Antibiotika werden biotechnologisch hergestellt. Die Weltproduktion liegt bei etwa 8000 t mit einem Wert von mehr als 3 Mrd. DM. Erst durch die Herstellung von Antibiotika ist es möglich geworden, den größten Teil der bakteriellen und fungalen Infektionskrankheiten sicher zu bekämpfen. Neue Antibiotika und neue Substanzen mit spezifischen Wirkungen z.B. gegen Insekten (als Ersatz für die bekannten Insektizide) werden gegenwärtig in vielen Industrieländern der Erde entwickelt.

Glutaminsäure wird weltweit (im wesentlichen in Japan) mit etwa 100.000 t und einem Wert von ca. 600 Mio DM hergestellt. Auch das nur jeweils in sehr geringen Konzentrationen in der Medizin angewandte Vitamin B₁₂ wird insgesamt zu etwa 3 t ausschließlich mit Mikroorganismen produziert.

Der größte Teil der Corticosteroide durchläuft zumindest einen biotechnologischen Syntheseschritt bei der Herstellung; ihr Jahresmarktwert beträgt ca. 650 Mio. DM.

Es gibt darüber hinaus eine große Anzahl von Substanzen, die nur mit biotechnologischen Verfahren gewonnen werden können, insbesondere stereospezifische Verbindungen und Enzyme für Waschmittel, für medizinische Zwecke und möglicherweise zur Abwasserreinigung. Den biotechnologischen Verfahren für den Umweltschutz kommt besondere Bedeutung zu, sie sind in einem eigenen Abschnitt dargestellt (s.u.).

Von nicht geringer Bedeutung kann in Zukunft eine wesentliche Verbesserung der biotechnologisch wichtigen Mikroorganismen durch Anwendung genetischer Techniken werden. Es ist zu erwarten, daß zum Beispiel durch eine Ergänzung des genetischen Materials von Bakterien durch Plasmide Hochleistungsstämme erzeugt werden, die ein Mehrfaches ihrer gegenwärtigen Produktionsleistungen erbringen.

Im ausführlichen Textteil der Studie werden viele weitere Gebiete der Biotechnologie in ihrem gegenwärtigen Stand und in der zu erwartenden Entwicklung geschildert. Für all diese biologischen Prozesse müssen geeignete Apparaturen entwickelt werden. Wenn auch ein Teil der Apparate aus bereits vorhandenen chemisch-technischen Anlagen übernommen werden kann, so müssen sie in den meisten Fällen doch für biologische Prozesse modifiziert werden, da diese oft schwieriger durchzuführen, zu steuern und zu überwachen sind als rein chemische Prozesse.

Es gibt eine nicht geringe Anzahl biologischer Reaktionen, die nur deshalb nicht technisch durchgeführt werden können, weil die geeigneten Apparaturen fehlen.

Die biotechnologische Entwicklung zeichnet sich also nicht nur durch die Herstellung von Biomasse oder Produkten aus, sondern auch durch die Konstruktion von neuen Apparaturen und Anlagen. Diese stellen einen erheblichen Faktor in der Exportwirtschaft dar. So werden bereits heute von manchen Ländern in beträchtlichem Ausmaß biotechnologische Anlagen exportiert.

Einfache biotechnologische Anlagen sind hervorragend dazu geeignet, in Entwicklungsländern eingesetzt zu werden, um dort ein technisches "know how" aufzubauen. Algenzüchtungs- oder Futterhefeanlagen sind z.B. auch für Nichttechniker leicht überschaubar und ermöglichen das Erlernen technischer Fertigkeiten in Entwicklungsländern.

Wie kaum eine andere angewandte Wissenschaft hat die Biotech-

nologie soziale Aufgaben zum Gegenstand. Sie muß - schon jetzt, und ganz besonders in der Zukunft - die Versorgung der Bevölkerung mit Proteinen, mit anderen Nahrungsmitteln und mit Arzneimitteln sichern und Substanzen, die für die Wirtschaft wichtig sind, zur Verfügung stellen. Sie hat weiterhin die Aufgabe, anfallende Abfallprodukte umweltfreundlich zu beseitigen und, wenn möglich, zu verwerten.

In der Bundesrepublik ist die Biotechnologie lange Zeit völlig unterbewertet worden, besonders im Vergleich zu Japan, den USA und Großbritannien, aber auch zu kleineren Ländern, wie z.B. der Tschechoslowakei. (In Japan ist der Anteil der biotechnologischen Industrie am Bruttosozialprodukt von 1,4 % 1962 auf 4 % 1972 angestiegen.) Wegen seiner großen wirtschaftlichen Bedeutung bedarf dieses Gebiet unbedingt einer langfristigen und nachhaltigen Förderung. Nur so kann auch hier der für eine Industrienation notwendige wirtschaftliche und technische Status erreicht werden, der die Voraussetzung für eine künftige Weiterentwicklung und Nutzung moderner biologischer Methoden ist.

Seit einigen Jahren hat die Biotechnologie besonders durch das Bundesministerium für Forschung und Technologie der Bundesrepublik Deutschland eine begrenzte Förderung erfahren, die sowohl bei bestehenden Projekten als auch für Innovationen auf diesem Gebiet günstige Ausgangsbedingungen geschaffen hat. Neben der Einrichtung einer Großforschungsanstalt für Biotechnologie in Stöckheim sind durch diese Förderung an namhaften Instituten neue biotechnologische Forschungs- und Entwicklungsgruppen gebildet worden, die oft eng mit der Industrie zusammenarbeiten.

Biotechnologie und Umwelt

Biotechnologische Industrien verwenden in bevorzugtem Maße umweltfreundliche Verfahren. Sie benötigen im allgemeinen wenig Energie (Reaktionen werden zumeist bei niederen Temperaturen und ohne wesentlichen Ueberdruck durchgeführt), sie hin-

terlassen oft nur geringe Mengen von Abfallprodukten, und sie können in vielen Fällen zur Verwertung von anderweitigen Abfallprodukten herangezogen werden.

Darüber hinaus sind sehr viele Gebiete der Biotechnologie eng mit dem Umweltschutz verflochten, und viele biotechnologische Arbeiten behandeln zentrale Probleme des Umweltschutzes.

Die Abwasserreinigung geht in immer größerem Ausmaße zu biologischen Reinigungsstufen über, da hier eine besonders umweltfreundliche Reinigung erzielt werden kann, sie werden z.T. schon vor dem Einleiten von Substanzen in das Abwasser durchgeführt. Sämtliche biologischen Reinigungsverfahren in der Abwasserklärung sind Teilgebiete der Biotechnologie.

Ein besonders wichtiges und intensiv behandeltes Umweltproblem ist die Verwertung von Müll, Abwasserschlämmen und von Abfallstoffen aus der tierischen Produktion mit Hilfe von Mikroorganismen. In der Bundesrepublik Deutschland kann man derzeit jährlich mit rund 100 Mio m³ Hausmüll und hausmüllähnlichen Gewerbeabfällen, über 50 Mio m³ Frischschlämmen aus der kommunalen sowie industriellen und gewerblichen Abwasserklärung und über 200 Mio t tierischen Abfällen, davon 2 Mio t Kot aus Massentierhaltungen, rechnen. Die Beseitigung dieser Abfälle verursacht nicht nur hohe Kosten bzw. beeinträchtigt die Wirtschaftlichkeit, sondern viele dieser Abfälle beeinträchtigen die Umwelt durch üblen Geruch in wilden Kotdeponien, durch Abwasserbelastung sowie Boden- und Wasserverseuchung. Das Ziel biotechnologischer Forschung bei der Beseitigung dieser Abfälle ist eine möglichst weitgehende mikrobielle Umsetzung zu wiederverwendbaren Stoffen wie Kompost und Futtermitteln. Für diese sogenannten Recycling-Systeme müssen biotechnologische Anlagen entwickelt werden.

In der Bundesrepublik fallen jährlich große Überschüsse an Stroh an. Sie werden in einer Studie (ERNO Raumfahrttechnik) für 1975 auf 7 Mio t, für 1980 auf 8 Mio t geschätzt. Diese

Strohüberschüsse sind nicht unmittelbar in der Landwirtschaft einsetzbar und müssen daher anderweitig verwendet bzw. beseitigt werden.

Stroh stellt also einen langfristig zur Verfügung stehenden Rohstoff für mikrobielle Prozesse dar. Es könnte, nach bakterieller Umsetzung, als eiweißreiches Kraftfutter für Wiederkäuer eingesetzt, oder nach Verzuckerung als Substrat für mikrobielle Prozesse verwendet werden, etwa zur Gewinnung von Einzellerprotein, Alkoholen, Säuren u.a. In der Studie werden experimentelle Forschungsarbeiten zu diesen Prozessen empfohlen.

In den Fällen, wo größere Mengen an Abfallprodukten bei biotechnologischen Prozessen entstehen, sind die Aussichten, diese mit anderen biologischen Verfahren zu beseitigen, besonders günstig.

Es ist zu erwarten, daß umweltfeindliche Substanzen, wie z.B. Insektizide, Herbizide u.a., langfristig durch neue, weniger gefährliche, biotechnologisch erzeugte Stoffgruppen ersetzt werden können.

Biotechnologie als interdisziplinäres Forschungsgebiet

Biotechnologie ist ein Arbeitsgebiet im Brennpunkt von drei großen Teilgebieten:

1. Mikrobiologie (einschließlich mikrobieller Genetik)
2. Biochemie, Physikalische Chemie und Technische Chemie
3. Verfahrenstechnik und Apparatebau.

Zwischen diesen drei Teilgebieten stellt die Biotechnologie außerordentlich enge Verflechtungen her und wird die interdisziplinäre Zusammenarbeit sehr stark stimulieren.

Eine sinnvolle Entwicklung des Gesamtgebietes der Biotechno-

logie wird ihrerseits nur dann möglich sein, wenn man eine fruchtbare Zusammenarbeit zwischen diesen drei Gruppen der Wissenschaft organisiert. Ein Beispiel: Mikrobiologen isolieren und untersuchen Organismen, die wichtige Substanzen bilden, Biochemiker und Chemiker arbeiten diese Substanzen aus Mikroorganismen auf und charakterisieren sie, angewandte Genetiker züchten die Organismen zur Produktionsreife um, Verfahrenstechniker und technische Chemiker entwickeln und optimieren die geeigneten technischen Verfahren.

Die Biotechnologie bedarf jedoch trotz ihrer starken Anwendungsorientierung noch intensiver Grundlagenforschung. Aus diesem Grunde ist eine Durchführung vieler Entwicklungsarbeiten mit sehr hohen Kosten und - wegen der schwierigen Abschätzung von Erfolgsaussichten hinsichtlich einer praktischen Anwendung - auch mit großen Risiken verbunden. Dieses Risiko kann in vielen Fällen nicht mehr allein von der Industrie getragen werden. Um neue Substanzen oder neue Verfahren zu entwickeln, muß zunächst sehr viel anwendungsorientierte Grundlagenforschung getrieben werden. Die Ergebnisse müssen dann von Instituten angewandter Arbeitsrichtung für die wirtschaftliche Nutzung weiterentwickelt werden. Dieser Zusammenhang zeigt, daß Biotechnologie nur dann erfolgreich entwickelt werden kann, wenn auch eine interdisziplinäre Zusammenarbeit zwischen Grundlagenforschung und technischer Anwendung zustande kommt.

Ganz besonders in Japan ist eine solche interdisziplinäre Forschung zwischen Grundlagenwissenschaft, angewandter Forschung und Industrie z.T. durch den Staat organisiert worden und hat zu außerordentlichen Erfolgen sowohl für die Forschung als auch für die Wirtschaft geführt.

Zusammenfassend sei festgehalten:

Die Biotechnologie ist eine aktuelle wissenschaftliche und technische Disziplin mit großen Zukunftsaussichten, ihre Ver-

fahren sind selbst umweltfreundlich und tragen hervorragend dazu bei, Umweltprobleme zu lösen. Die zukünftige Ernährung der Weltbevölkerung, besonders mit Proteinen, die Versorgung mit Arzneimitteln und anderen Wirkstoffen sind weitgehend von ihr abhängig, auch die Möglichkeiten zur Beschränkung der Weltbevölkerung (über die Herstellung von Ovulationshemmern). Die Biotechnologie verbindet einerseits öffentliche Aufgaben mit wirtschaftlichen Fortschritten und andererseits Grundlagenforschung und auf Anwendung gerichtete Forschung mit industrieller Nutzung. Sie ist ein neuer Zweig der biologischen Praxis, der in der Lage ist, Erkenntnisse und Ergebnisse der Mikrobiologie, der molekularen Genetik, der Biochemie, der Chemie und der Verfahrenstechnik in die Praxis umzusetzen.

Im Textteil der Studie sind den einzelnen größeren Kapiteln zum besseren Verständnis nochmals spezielle inhaltliche Zusammenfassungen vorangestellt worden.

Im folgenden sind besonders förderungswürdige Schwerpunkte aufgeführt, die von den Bearbeitern der Studie herausgestellt wurden. Sie gliedern sich in

1. fachliche Schwerpunkte und
2. Empfehlungen zu ihrer Verwirklichung.

Daran schließt sich eine Kostenschätzung an.

1) Fachliche Schwerpunkte für eine Förderung der Biotechnologie in der Bundesrepublik Deutschland

Im anschliessenden Textteil der Studie sind nahezu sämtliche Einzelgebiete der Biotechnologie in ihrem gegenwärtigen Stand und ihrer wünschenswerten Entwicklung von den Mitarbeitern an der Studie dargestellt und beurteilt worden. Bei dieser Beurteilung wurden einige besondere Schwerpunkte herausgestellt, deren Bearbeitung in der Bundesrepublik besonders förderungswürdig erscheint.

Besonders bei beschränkten Mitteln ist eine solche Förderung effektiver als eine Förderung nach dem Gießkannenprinzip. Die Schwerpunkte konzentrieren sich auf neue oder besonders aktuelle Arbeitsrichtungen, die noch nicht im erwünschten Ausmaß gefördert werden und in absehbarer Zeit große Fortschritte erwarten lassen.

Bei anderen Gebieten, die hier nicht hervorgehoben worden sind, sollte dann eine intensive Förderung angestrebt werden, wenn sich vielversprechende Ansatzpunkte für eine Weiterbearbeitung ergeben.

Schließlich kann sich bei manchen Gebieten die Situation außerordentlich schnell ändern, etwa dadurch, daß eine biotechnologisch hergestellte Arzneimittelgruppe, deren Weiterentwicklung stark gefördert wird, durch eine ganz andersartige neue Therapie ihre Bedeutung verliert. Hier sollte dann die Förderung eingestellt werden. Der umgekehrte Fall tritt ein, wenn z.B. biotechnologisch hergestellte Substanzen mit völlig neuen therapeutischen Mechanismen einen erheblichen Bedarf erwarten lassen. Hier sollte dann - möglichst unkompliziert - eine schnelle Förderung einsetzen, um den internationalen Anschluß nicht zu verlieren bzw. zu erreichen.

Es sollte also in diesem in schneller Entwicklung begriffenen Gebiet eine ständige Überprüfung der aktuell zu fördernden Teilgebiete vorgenommen werden, ohne die Kontinuität einer intensiven Entwicklung der Biotechnologie in der Bundesrepublik Deutschland zu stören.

Die Kriterien zur Auswahl der Schwerpunkte wurden schon erwähnt, sie seien an dieser Stelle nochmals aufgezählt:

- Aufgaben von besonderem öffentlichen Interesse:
Umweltrelevante Verfahren, Versorgung mit Medikamenten,
langfristige Sicherung der Ernährung, Recycling verwertbarer Abfallstoffe,

- Verbesserung des Leistungsstandes der beteiligten Industrie und Anschluß an den internationalen Standard: Entwicklung fortgeschrittener und zukunftsträchtiger Verfahren und Apparate, Gewinnung des entsprechenden "know how",
- Nutzung von Erkenntnissen und Ergebnissen der breiten biologischen Grundlagenforschung in interdisziplinärer Entwicklungsarbeit und
- anwendungsorientierte Ausbildung von Fachkräften an neuartigen, hochentwickelten biologischen Verfahren.

Die fachlichen Schwerpunkte sind:

1. Verfahrenstechnische Untersuchungen in Standard-Rührkesselreaktoren und anderen Reaktorarten als Basis für eine vergleichbare Prozeßkontrolle

Es existieren gegenwärtig mehrere Bioreaktoren verschiedener Bauart und auch viele Arbeiten über die in den Fermentern stattfindenden biologisch-biochemisch-physikalischen Prozesse. In den meisten Fällen sind die Ergebnisse wegen der unterschiedlichen Bauweise der Bioreaktoren nicht oder nur schlecht miteinander vergleichbar. Dieses Problem sollte zur Beherrschung der immer wichtiger werdenden Prozeßkontrolle in der Biotechnologie unbedingt gelöst werden. (vgl. Dechema-Betreibernorm)
Textteil 2.2.

2. Neue fermentativ gewonnene Substanzen mit Aussicht auf eine praktische Verwertung (einschließlich der Entwicklung von Testmethoden)

In der Biotechnologie geht es um die Herstellung bestimmter Substanzen. Deshalb ist die Suche (das gerichtete Screening) nach neuen, praktisch verwertbaren Substanzen erstes Gebot. Neue Ideen für Wirkungsweisen und neue Testmethoden zur Suche nach bisher unbekanntem mikrobiellen Substanzgruppen sind zu entwickeln.
Textteil 3.1.2; 3.1.3.

3. Zwischensynthesen für wirtschaftliche Zwecke

Chemische Synthesen für wichtige Substanzen enthalten sehr häufig einen oder mehrere Schritte, die sehr zeitraubend oder oft sehr kostenaufwendig sind. Diese Schritte können z.T. durch Mikroorganismen, Gewebe oder Enzyme aus diesen durchgeführt werden. In praxi sind solche Methoden bereits z.B. bei der Herstellung von Cortison/Cortisol, Ovula-

tionshemmern (Antibabypille), Vitamin C u.v.a. bewährt. Eine Förderung solcher mikrobiologisch-biochemischer Zwischensynthesen kann zur technischen Herstellung vieler neuer, sicherlich bedeutungsvoller Substanzen führen. Textteil 3.1.4; 3.2.1; 3.2.2.

4. Züchtung von Human-, Tier- oder Pflanzenzellen zur Gewinnung praktisch verwendbarer Produkte

Dieses Gebiet befindet sich mitten in einer aktuellen Entwicklung und wird von vielen ausländischen und einigen inländischen Forschungsinstituten und Industrien bearbeitet. Es lassen sich vor allem pharmazeutisch bedeutsame Substanzen erwarten, wenn es gelingt, Zellen in beliebiger Menge zu züchten. Zur Massenkultur sind viel Grundlagenforschung und sehr aufwendige Entwicklungsarbeiten notwendig, die von der Industrie allein nicht erbracht werden können. Zu den wirtschaftlichen Möglichkeiten, die in diesem Gebiet liegen, vgl. Textteil 1.2; 1.3; 3.2.1; 3.2.2.

5. Entwicklung von technisch anwendbaren Prozeßführungen mit trägergebundenen Enzymen

Wenn auch gegenwärtig nur vereinzelt technische Verfahren mit trägergebundenen Enzymen existieren, so ist auf diesem Gebiet eine außerordentlich rege Entwicklung im Gange, die erwarten läßt, daß ein Durchbruch zur technischen Anwendung in absehbarer Zeit kommen wird. Mit den vorhandenen Grundlagen in Forschung und Industrie hat die Bundesrepublik Deutschland bei geeigneter Förderung reale Chancen, an diesem Durchbruch zur technischen Anwendung trägergebundener Enzyme, Zellteile oder Zellen beteiligt zu sein. Textteil 3.3.3.

6. Mikrobiologische Verfahren zur Abwasserreinigung

Eine möglichst weitgehende Reinigung der anfallenden Abwässer, die oft nur durch biotechnologische Verfahren erfolgen kann, ist ein vorrangiges Problem im Umweltschutz. Die Möglichkeiten, bekannte biotechnologische Verfahren auf die Abwasserreinigung zu übertragen, sind ebenso wie die Chancen zur Entwicklung neuer Verfahren sehr groß und sollten unbedingt gefördert werden. Textteil 4.4.1; 5.3.

An einer Förderung sollten sämtliche Ministerien und Organisationen, die sich mit der Abwasserreinigung befassen, beteiligt werden.

7. Mikrobiologische Verwertung von Rückständen aus der Massentierhaltung

Verfahren zur Verwertung der genannten Rückstände müssen in erster Linie der Beseitigung des Abfalles aus der Massentierhaltung dienen; denn diese Abfälle stellen ein immenses Umweltproblem dar. Da diese Abfälle langfristig in

ziemlich gleichen Mengen zur Verfügung stehen, können sie auch ein neues Substrat darstellen, auf dessen Grundlage sich mikrobiologisch-technische Verfahren aufbauen lassen. Textteil 4.4.2.

Dieser Komplex ist eng mit der Landwirtschaft verflochten und sollte daher besonders dem Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten zur Förderung empfohlen werden.

8. Beseitigung und Verwertung von Fermentationsrückständen

Bei manchen Produkten, besonders solchen, die mit Hilfe von mycelbildenden Pilzen erzeugt werden, wird eine Fermentation immer mehr abhängig von der Rückstandseseitigung. Für die Fermentationsindustrie ist dieses Umweltproblem sehr bedeutungsvoll und läßt sich wahrscheinlich durch gerichtete Förderung mit biotechnologischen Methoden lösen.

Textteil 5.1.

9. Genetische Methoden zur Entwicklung von Mikroorganismenstämmen

In der Genetik von Mikroorganismen, speziell von Bakterien wurde in jüngster Zeit eine Reihe von fruchtbaeren Ansätzen entwickelt, die in der Biotechnologie direkt zur Stammoptimierung verwandt werden können. Im einzelnen handelt es sich um eine Stammverbesserung nach der Plasmidmethode (1.1.3.2). Hierbei sollten vor allem Experimente unterstützt werden, die die neue Technik des "genetic engineering" mit einschließen. Darüber hinaus sollten Untersuchungen bevorzugt gefördert werden, die die Analyse vorhandener, oder die Konstruktion neuer genetischer Austauschsysteme bei biotechnologisch interessanten Mikroorganismen zum Ziele haben.

Die hier angegebenen Probleme sind zu einem großen Teil Grundlagenforschung. Sie sollten daher besonders auch von der DFG gefördert werden.

Textteil 1.1.3.

10. Biologische Stickstoffixierung

Organismen, die molekularen Stickstoff binden können, finden sich ausschließlich bei Bakterien und Blaualgen. Die Biochemie der betreffenden Enzyme (Nitrogenase) und ihrer Regulation zur anwendungsorientierten Optimierung sollten schwerpunktmäßig gefördert werden. In diesem Zusammenhang sind die genetische Untersuchung der Nitrogenasegene, ihre Transferierbarkeit und ihre Manipulation von besonderer Bedeutung (1.1.3.1 - 1.1.3.2 - 4.5.3).

Besonders aussichtsreich für die biotechnologische Anwendung sind bakterielle pflanzliche Symbiosen zur Stickstoffixierung. Die Förderung sollte eingesetzt werden zur Untersuchung der genetischen, biochemischen und serologischen Grundlagen dieser Symbiosen mit dem Ziel, die Wirtsspezifität der bakteriellen Symbionten zu erweitern und neue land-

wirtschaftlich nutzbare Symbiosen zu konstruieren. Die Probleme in diesem Schwerpunkt sind grundlagen- und anwendungsorientiert. Sie sind z.T. eng mit Zielen der Landwirtschaft verbunden. Eine Förderung wird hier der DFG, dem Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten und dem Bundesministerium für Forschung und Technologie empfohlen.
Textteil 4.5.3.

11. Biotechnologische Verfahren, die zur Rohstoffsicherung beitragen

Hierzu gehören u.a. verschiedene Verfahren, die bereits in anderen Schwerpunkten genannt sind, z.B. biologische Stickstofffixierung als Grundlage zur chemischen Nutzung des Luftstickstoffs, biotechnologische Verwertung von Rückständen und Klärschlämmen, aber auch mikrobielles Leaching zur Restmetallgewinnung aus Halden und Aufbereitung von armen Erzen, Entwicklung biotechnologischer Verfahren zur Anreicherung wertvoller Metalle, biotechnologische Verfahren zur Cellulose- und Ligninverwertung.
Die genannten Themen sind im einzelnen im Rohstoffsicherungsprogramm der Bundesregierung (FE-ChT, Dechema, 15. Oktober 1975) enthalten.

Wenn auch in dieser Aufstellung von Schwerpunkten die bereits in der Bundesrepublik Deutschland geförderten Sachgebiete nicht mit aufgezählt wurden, so soll die Herstellung von Protein aus Mikroorganismen (Single Cell Protein = SCP) hier wegen ihrer zukünftigen Bedeutung zusätzlich erwähnt werden. Die Verteuerung und Verknappung von tierischen und pflanzlichen Futterproteinen wird möglicherweise eine weiter verstärkte Förderung für Herstellungsverfahren von SCP notwendig machen. Hier kann bereits auf Ergebnissen aufgebaut werden, die in den laufenden Förderungsprogrammen des BMFT auf diesem Gebiet erhalten wurden.

Textteil 3.1.1.

2) Empfehlungen zur Förderung der Biotechnologie in der Bundesrepublik Deutschland

Zur Durchführung der Förderung wird neben den fachlichen Schwerpunkten eine Reihe von Empfehlungen gegeben, von denen sowohl Impulse für die Entwicklung der Biotechnologie als

auch Kriterien für die Förderung durch Sachmittel hervorgehen sollen. Die Empfehlungen zielen besonders darauf ab, die Entwicklung auf dem Gebiet der Biotechnologie aufzuzeigen, zukunftssträchtige Projekte herauszustellen und Denkanstöße zu geben. Die Überlegungen berücksichtigen auch die Tatsache, daß die Grundlagenforschung im Bereich der Biotechnologie eine noch bedeutendere Rolle spielt als beispielsweise auf den Gebieten der physikalischen oder chemischen Technologie. Die biologisch-biochemischen Wissenschaften sind noch relativ jung und größtenteils erst vor kurzem aus dem beschreibenden in das experimentelle und theoretische Stadium getreten. Überspitzt ausgedrückt läßt sich der zur Entwicklung eines neuen technischen Verfahrens notwendige Arbeitsaufwand wie folgt gegenüberstellen.

In den physikalischen und chemischen Technologien wurden in jahrzehntelanger Forschung und Entwicklung Erkenntnisse und Daten gesammelt, eine Vielzahl von Verfahrenstechniken und Apparaten erarbeitet. Die Ergebnisse sind in der Literatur dargestellt und dokumentiert. Neue Arbeiten können darauf zurückgreifen und aufbauen.

In der Biotechnologie ist ein vergleichbarer Fundus zugriffsbereiter Daten und Techniken nicht vorhanden, viele Erfahrungen und Grundlagen müssen jeweils erarbeitet, Hilfsmittel entwickelt werden.

Damit wird deutlich, daß Projektforschung und praxisorientierte Forschung auf dem Gebiet der Biotechnologie anders konzipiert werden müssen als in der chemischen und physikalischen Technologie.

Die Empfehlungen lauten im einzelnen:

1. Eine sinnvolle Förderung der Biotechnologie sollte auf eine Zusammenarbeit von angewandter Forschung und Industrie gerichtet sein.

Wie bereits dargestellt, beruht die Entwicklung der Biotechnologie zu einem großen Teil auf Grundlagenforschung. Daher muß in vielen Fällen auch eine enge Verbindung zur reinen Grundlagenforschung geschaffen werden (vgl. 2. Empfehlung).

2. Bei einer Förderung der Biotechnologie sollten interdisziplinäre Arbeiten zwischen verschiedenen Fachrichtungen, die zu den grundlegenden Fachgebieten, aber auch zu den Randgebieten der Biotechnologie gehören, durch gemeinsame Forschungsprojekte gefördert werden.

Es hat sich gezeigt, daß wesentliche Stimulantien für die Biotechnologie aus gemeinsamen oder koordinierten Arbeiten zwischen Mikrobiologie, Genetik, Ökologie, Biochemie, Enzymologie, Physikalischer Chemie, Technischer Chemie, Verfahrenstechnik und Apparatebau zu erwarten sind. Hier sind hervorragende Ansatzpunkte für interdisziplinäre Forschungsprojekte gegeben. Ein Beispiel hierfür sind die Ergebnisse des Dechema-Symposiums "Technische Biochemie" in Tutzing 1972.

Mittelvergebende Stellen sollten versuchen, durch Bildung von Schwerpunkten, Verbindung von angewandten Forschungsprojekten mit Sonderforschungsbereichen der DFG, Koordination von Forschungsprojekten verschiedener Ministerien untereinander und mit geeigneten Universitäts-Forschungsgruppen etc. eine Kooperation auf breiter Basis einzuleiten.

3. Ein Teil der in dieser Studie konzipierten Forschungs- und Entwicklungsrichtungen sollte später im Rahmen des z.Z. vorbereiteten F+E-Programms "Forschung und Entwicklung zur Sicherung der Rohstoffversorgung" des BMFT gefördert werden.

Einige biotechnologische Verfahren, wie z.B. das bakterielle Leaching, die mikrobielle Stickstofffixierung, die Verwertung von Cellulose und von stärkehaltigen Abwässern, lassen einen beachtlichen Beitrag zur Erhöhung der Versorgungssicherheit mit Rohstoffen erwarten. Andererseits erfordern diese Arbeiten ein hohes Maß an interdisziplinärer Zusammenarbeit und an neu zu entwickelnden Folgetechnologien (z.B. metallurgische Verfahren zur Aufarbeitung von Leaching-Lösungen), so daß die Integration dieser speziellen Themen in das Rohstoffsicherungsprogramm fachlich und organisatorisch als sinnvoll erscheint.

4. Die Vergabe von Forschungsmitteln für das Gebiet der Biotechnologie sollte nicht nur das Ziel haben, Forschungsergebnisse zu gewinnen, sondern auch der weiteren Ausbildung von Wissenschaftlern zu Biotechnologen dienen.

Bereits ausgebildete Wissenschaftler sollten durch die Forschungsprojekte an den internationalen Stand biotechnologischer Probleme herangeführt werden. Derartig ausgebildete Wissenschaftler wären in der Lage, die Entwicklung der Biotechnologie in Forschung und Industrie entscheidend und qualifiziert voranzutreiben.

5. Die Infrastruktur der technischen Mikrobiologie sollte wesentlich verbessert werden. An mikrobiologischen Instituten sollte das Fachgebiet technische Mikrobiologie mehr als bisher gepflegt werden und in der Lage sein, Biochemikern, Chemikern und Verfahrenstechnikern eine Ausbildung in den Grundlagen der technischen Mikrobiologie anzubieten.
6. Die Infrastruktur weiterer Fächer, in denen auch biotechnologische Aufgaben bearbeitet werden, z.B. Verfahrenstechnik, Technische Chemie, Biochemie, sollte wenigstens an einigen Hochschulen auf biotechnologische Erfordernisse ausgerichtet werden.

In diesem Zusammenhang (auch im Zusammenhang mit Empfehlung 4) sei darauf hingewiesen, daß die Zahl der Wissenschaftler, die in der biotechnologischen Forschung und Entwicklung arbeiten, in Japan etwa um den Faktor 10 höher als in der Bundesrepublik liegt.

7. Die molekulare Genetik sollte wesentlich mehr dafür interessiert werden, biotechnologische Fragen, z.B. hinsichtlich genetischer Austauschvorgänge der Mutantenherstellung und Regulation von Stoffwechselfvorgängen zu bearbeiten.
Es gibt in der Bundesrepublik Deutschland ausreichend Forschungs- und Lehrstätten für Genetik, die sich mit reiner Grundlagenforschung befassen. Wenn angewandte Institutionen, besonders die Industrie, jetzt zögernd dazu übergehen - in Japan ist dies seit langem die Regel - Genetiker für ihre Stammoptimierung einzustellen, so fehlen Wissenschaftler, die in der angewandten Genetik ausgebildet sind und auch gewillt sind, sich hiermit zu beschäftigen.
8. Das Bundesministerium für wirtschaftliche Zusammenarbeit sollte sich der Frage annehmen, inwieweit biotechnologische Verfahren für die Ausbildung von technischen Kräften und die allgemeine technische Entwicklung geeignet sind. Verschiedene biotechnologische Verfahren, z.B. Algenzuchtanlagen, biologische Abwasserreinigungen, Großanlagen zur Hefeherstellung u.a. sind hervorragend zur Gewinnung

eines "know how" über biotechnologische Prozesse für Entwicklungsländer geeignet und könnten die Einführung komplizierterer biotechnologischer Anlagen ausgezeichnet vorbereiten.

Kostenschätzung für eine Förderung der Biotechnologie 1975-1980

Auf Grund der Ergebnisse der Studie sind die Kosten abgeschätzt worden, die notwendig sind, um der Entwicklung der Biotechnologie in der Bundesrepublik Deutschland zu neuen Impulsen zu verhelfen.

Dabei sind die Bearbeiter der Studie davon ausgegangen, daß sowohl in der Industrie als auch in Forschungsinstituten bereits Forschungs- und Entwicklungsarbeit geleistet wird. Die geschätzten notwendigen Kosten bedeuten also eine zusätzliche Versorgung dieser Institutionen mit Mitteln.

Bei der Kostenabschätzung für eine Förderung des Gebietes der Biotechnologie ergaben sich ganz besonders die folgenden Schwierigkeiten:

- Das Gebiet ist sehr heterogen und umfaßt viele Bereiche.
- Es müssen außerordentlich viele Forschungsergebnisse in technische Prozesse umgesetzt werden. Diese Übertragung birgt viele unbekannte und daher schwer berechenbare Faktoren in sich.
- Das Gebiet befindet sich in sehr schneller Entwicklung, es muß daher auf manchen Teilgebieten schon in Jahresfristen mit neuen Erkenntnissen gerechnet werden.

Aus diesen und anderen Gründen dürfen die im folgenden angegebenen Kostenschätzungen keine Präjudizierungen darstellen. Sie sollten möglichst jährlich, mindestens aber zweijährlich von den Bearbeitern der Studie oder einem anderen kompetenten Gremium überprüft werden. Diese Überprüfungen werden voraussichtlich nur geringe Änderungen im Gesamtvolumen, dagegen

größere Verschiebungen innerhalb der einzelnen Förderungsbereiche, die in der Studie angeführt sind, zur Folge haben.

Als Basis für die Kostenermittlung galten die folgenden Kriterien:

- Die im Textteil unter "Wünschenswerte Entwicklung" angeführten Zukunftserwartungen
- Besondere Förderung neuer Gebiete
- Besondere Förderung der Schwerpunkte
- Kostenermittlung für die in der Anlage zur ersten Auflage angeführten Projekte bzw. Projektgruppen
- Ausgewogenheit der Entwicklung des Gesamtgebietes
- Nur Förderungsbereiche des BMFT. (Förderungsbereiche anderer Ministerien und Institutionen sind nicht erfaßt.)

Eine Grundlage für die Kostenermittlungen bildeten sogenannte "Wissenschaftliche Arbeitseinheiten". Eine solche wissenschaftliche Arbeitseinheit wurde mit den Kosten für jeweils einen Wissenschaftler, einschließlich technischem Personal, Betrieb eines Laboratoriums und laufendem Laboratoriumsbedarf auf DM 300.000.-- angesetzt. Dies entspricht einer Mittelung aus den Industriebedürfnissen mit DM 400.000.-- und den Bedürfnissen reiner Forschungsinstitute mit DM 200.000.--.

Da nur ein Teil der in der Studie von 1974 vorgeschlagenen Projekte zur Förderung gekommen ist, wurde bei der Kostenberechnung erneut von dem Ansatz hinsichtlich der "Wissenschaftlichen Arbeitseinheiten" ausgegangen. Es wird dabei zugrunde gelegt, daß die bereits durch Fördermittel zur Verfügung gestellten Ausrüstungen eine gewisse Basis darstellen, die den jetzt absolut verminderten Ansatz bei den Kosten ermöglichen.

Die Investitionskosten sind für 1977 mit einem Viertel der Personal- und Laboratoriumskosten eines Jahres angesetzt wor-

den. Dieser Wert ist dann realistisch, wenn er sich auf apparative Ausrüstungen bezieht. In Fällen mit besonderem apparativem Aufwand, z.B. bei Fermentationseinrichtungen (2.2.), liegen die Investitionskosten naturgemäß höher.

Nicht einbezogen in die Kostenberechnung sind bauliche oder andere Investitionen.

Ab 1978 wurde durch die zu erwartenden Gerätemodernisierungen ein 10%iger Aufschlag auf die Investitionskosten berechnet. Für die Personal- und Laboratoriumskosten wurden 7% wegen der Gehalts- und Preissteigerungen eingesetzt.

Die bereits geförderten Projekte und Institute sind in den Tabellen nicht besonders aufgeführt worden. Sie sind sicherlich zu einem Teil eingeschlossen, wenn man z.B. an die Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH., Stöckheim, und andere Institute denkt, in denen Biomassegewinnung und Stoffbildung bereits mit zusätzlichen Mitteln des BMFT durchgeführt werden.

Die Tabelle 1 (S.XXVII) zeigt die zu erwartenden Kosten zur Förderung der Biotechnologie. In dieser Auflage sind neu eingeführte Themen gesondert genannt.

Man rechnet in der Regel mit einer dreijährigen Anlaufzeit neuer Projekte. Nach dieser Zeit kann entschieden werden, ob und wie lange eine weitere Förderung sinnvoll ist.

Die 255 Stellen für Wissenschaftler, denen etwa die doppelte Anzahl an technischem Personal hinzuzurechnen ist, können - falls eine Förderung in dem genannten Volumen realisiert wird - einen wesentlichen Impuls für die Ausbildung von Biotechnologen geben. Sie können gleichzeitig eine reale Abschätzung für den zukünftigen Bedarf an Biotechnologen bis etwa 1980 ermöglichen und sollten je nach Planung der Förderung den Ministerien und Gremien, die sich mit der Ausbildungsplanung befassen, zugänglich gemacht werden.

Tab. 1 Kostenschätzung einer Förderung der Biotechnologie

	1977 Wissen- schafts- einheiten	Kosten pro		Jahr (in Mio DM)		1979		1980		1981	
		Personal u.Labor- kosten	Investi- tions- kosten	Personal u.Labor- kosten	Investi- tions- kosten	Personal u.Labor- kosten	Investi- tions- kosten	Personal u.Labor- kosten	Investi- tions- kosten	Personal u.Labor- kosten	Investi- tions- kosten
1. Biologische Grundlagen											
1.1 Mikroorganismen - liegt gesondert vor (1.1.2) oder ist in anderen Projekten eingeschlossen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1.1.3 Stammentwicklung	6	1,8	0,45	1,93	0,50	2,06	0,54	2,21	0,60	2,36	0,66
1.2 mit 3.2.1 Pflanzliche Zell- und Gewebekulturen	18	5,4	1,35	5,78	1,49	6,18	1,63	6,62	1,80	7,08	1,98
1.3 mit 3.2.2 Tierische Zell- und Gewebekulturen	10	3,0	0,75	3,21	0,83	3,43	0,91	3,68	1,00	3,93	1,10
Zwischensumme zu 1	34	10,2	2,55	10,92	2,82	11,67	3,08	12,51	3,40	13,37	3,74
2. Reaktionstechnik, Verfahrenstechnik, Meß- und Regeltechnik											
2.1 Reaktionstechnische Grundlagen	7	2,1	0,52	2,25	0,57	2,40	0,63	2,57	0,69	2,75	0,76
2.2 Reaktortypen und Standardbioreaktor	10	3,0	0,75	3,21	0,83	3,43	0,91	3,68	1,00	3,93	1,10
2.2 Reaktortypen - Sonstiges	5	1,5	0,37	1,61	0,41	1,72	0,45	1,84	0,49	1,97	0,54
2.3 Grundoperationen - wird größtenteils von anderen Gruppen (Industrie) finanziert	5	1,5	0,37	1,61	0,41	1,72	0,45	1,84	0,49	1,97	0,54
2.4 Meß- und Regeltechnik - wird fast ausschließlich von anderen Gruppen (Industrie) finanziert	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Zwischensumme zu 2	27	8,1	2,01	8,68	2,22	9,27	2,44	9,93	2,67	10,62	2,94
3. Biologische Verfahren											
3.1.1 Mikrobielle Biomasse	20	6,0	1,5	6,42	1,65	6,87	1,82	7,35	2,00	7,86	2,20
3.1.2 Zellprodukte	66	19,8	4,95	21,19	5,45	22,67	5,99	24,26	6,59	25,95	7,25
3.1.3											
3.1.4 Mikrobiologische Stoffumwandlungen	12	3,6	0,9	3,85	0,99	4,12	1,09	4,41	1,20	4,72	1,32
3.2 vgl. unter 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3.3 Verfahren mit Enzymen	20	6,0	1,5	6,42	1,65	6,87	1,82	7,35	2,00	7,86	2,20
Zwischensumme zu 3	118	35,4	8,85	37,88	9,74	40,53	10,72	43,37	11,79	46,39	12,97

Tab. 1 Fortsetzung

	1977 Wissen- schafts- einheiten	Kosten pro 1977		Jahr (in Mio DM) 1978		1979		1980		1981		
		Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	Personal Investi- u.Labor- tions- kosten	
<u>4. Spezielle Verfahren</u>												
4.1	Technologie in der Lebensmittelindustrie mit Mikroorganismen - Hauptförderung durch andere Gruppen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4.2	Enzymverfahren i.d.Lebensmittelindustrie, zusammen mit											
4.3	Silage zur Futtermittelherstellung - wesentliche Förderung auch durch andere Gruppen	13	3,9	0,97	4,17	1,07	4,47	1,17	4,78	1,29	5,11	1,42
4.4	Mikrobiologische und enzymatische Abbauprozesse	30	9,0	2,25	9,63	2,48	10,30	2,72	11,03	2,99	11,80	3,29
4.5	Sonstige Verfahren	5	1,5	0,37	1,16	0,41	1,72	0,45	1,84	0,49	1,97	0,54
4.5.3	Stickstoffixierung	6	1,8	0,9	1,93	0,50	2,06	0,54	2,21	0,60	2,36	0,66
4.5.4	Cellulose	4	1,2	0,3	1,28	0,33	1,37	0,36	1,47	0,40	1,57	0,44
4.5.9	Energereiche Verbindungen	4	1,2	0,3	1,28	0,33	1,37	0,36	1,47	0,40	1,57	0,44
	Zwischensumme zu 4	62	18,6	5,09	19,45	5,12	21,29	5,60	22,80	6,17	24,38	6,79
<u>5. Beseitigung von Rückständen aus biotechnologischen Prozessen</u>												
5.1	Rückstände aus Fermentationen und Aufarbeitungen	14	4,2	1,05	4,50	1,16	4,81	1,28	5,15	1,40	5,51	1,54
5.2	Rückstände aus stärkehaltigen Rohstoffen, Obst und Abläufen	2	0,6	0,15	0,64	0,17	0,69	0,18	0,74	0,20	0,79	0,22
5.3	Klärschlamm - Hauptförderung durch andere Gruppen	4	1,2	0,3	1,28	0,33	1,37	0,36	1,47	0,40	1,57	0,44
	Zwischensumme zu 5	20	6,0	1,50	6,42	1,66	6,87	1,82	7,36	2,00	7,87	2,20
Gesamtsumme:		261	78,3	20,00	83,35	21,56	89,63	23,66	95,97	26,03	102,63	28,64

1. Biologische Grundlagen

=====

1.1 Mikroorganismen

Allgemeines: Der zunehmende Einsatz von Mikroorganismen in Grundlagenforschung, in Produktionsprozessen und in Verfahren der Rückstandbeseitigung ist mit dem breiten Spektrum biosynthetischer und abbauender Leistungen dieser Organismengruppe eng verbunden. Die beachtliche Variabilität dieser Leistungen erfordert eine sorgfältige Auslese solcher Arten und Stämme von Mikroorganismen, die für die jeweiligen Forschungsprojekte oder für wirtschaftliche Verfahren optimal geeignet sind.

Die Methoden zur Auswahl geeigneter Mikroorganismen aus Boden, Wasser oder anderen Standorten werden unter der Bezeichnung "Screening" (=Sieben) zusammengefaßt.

Zur sicheren Erhaltung der Lebensfähigkeit der für die jeweiligen Aufgabenstellung ausgewählten Mikroorganismen sind spezielle Verfahren entwickelt worden, deren Grundprinzipien - Trocknung und Lagerung unter Vakuum oder Tieftemperaturlagerung - fast universell angewendet werden können. Eine befriedigende Konservierung erfordert jedoch die sorgfältige Anpassung der Verfahren an die jeweils in Betracht kommenden Mikroorganismen-Arten.

Für industrielle Produktions- und Transformationsprozesse sind die von ihrem natürlichen Standort (Boden, Wasser) isolierten Mikroorganismen zunächst an die Wachstumsbedingungen im Labor, speziell in Gefäßen zur Submerskultur (Fermentern), anzupassen. Durch Auslese und spezielle Manipulation sind Stämme zu züchten, die für den jeweiligen Prozess optimal geeignet sind.

Screening, Stammhaltung und Stammoptimierung sind die Grundlagen für sämtliche biotechnologischen Verfahren. Sie sind

einerseits eng mit der Grundlagenforschung verknüpft, andererseits müssen sie fast immer mit den speziellen Produktionsverfahren im Zusammenhang gesehen werden.

1.1.1 Screening

Gegenwärtiger Stand: Die biotechnologische Industrie, die über eine eigene Entwicklung verfügt, führt ein produkt- oder leistungsbezogenes Screening durch. Hierbei erfolgt die Auswahl geeigneter Mikroorganismen, meist unabhängig von ihrer systematischen Zugehörigkeit, über die Erfassung der gewünschten Leistungen. Screening-Verfahren beinhalten einfache Nachweise bis hin zu einer automatisierten Analytik.

Geeignete Screening-Verfahren sind immer Voraussetzung für eine optimale Isolierung von Mikroorganismen mit bestimmten Eigenschaften. Neue Screening-Methoden müssen deshalb als bedeutsame Grundlage für biotechnologische Forschungs- und Entwicklungsvorhaben gewertet werden.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Entwicklung und Durchführung von Screening-Programmen sollten im Rahmen des Biotechnologieprogrammes nur dann gefördert werden, wenn sie zur Erreichung der unter Punkt a) bis e) S. 5 dieser Studie aufgeführten und für förderungswürdig ausgewiesenen Ziele notwendig sind. In diesem Rahmen wird es erforderlich sein, u.a. folgende Probleme zu lösen:

Screening nach Mikroorganismen mit bestimmten Leistungen (Ausscheidung, Umwandlung und Entfernung von Stoffen; Biomasseproduktion).

Entwicklung selektiver Isolierungsmethoden für bestimmte Mikroorganismen, die wegen spezifischer Leistungen benötigt werden.

Entwicklung von Screening-Verfahren für Metabolit- und En-

zym-produzierende Mikroorganismen auf unkonventionellen Rohstoffen.

Entwicklung spezifischer Nachweisverfahren für bestimmte Produktklassen.

Entwicklung von Nachweisverfahren mit abgestufter Empfindlichkeit.

Entwicklung rationeller Arbeitsmethoden einschließlich Automation.

Förderungswürdig sind daneben Untersuchungen zur Wachstumsphysiologie wenig bekannter Mikroorganismen, deren Leistungen einen erfolgversprechenden Einsatz in der Biotechnologie erwarten lassen.

Projekte: Die notwendigen Screeningprogramme sind mit den unter a) bis e) S. 5 aufgeführten Verfahren gekoppelt. Zeitplan und Kosten sind deshalb in die dort vorgesehenen Projekte aufzunehmen.

1.1.2 Stammhaltung

Gegenwärtiger Stand: Dem Einsatz von Mikroorganismen in der mikrobiologisch orientierten Forschung und Produktion gehen in der Regel erhebliche Anstrengungen voraus, um aus einer mehr oder weniger großen Zahl von Mikroorganismen - Reinkulturen die für das spezielle Vorhaben bestgeeigneten auszuwählen. Die Lebenderhaltung dieser Mikroorganismen über lange Zeiträume und die Erhaltung ihrer spezifischen Eigenschaften sind unabdingbare Voraussetzungen für einen erforderlichen Einsatz von Mikroorganismen in allen Bereichen der mikrobiologischen Forschung und Produktion.

Arbeitsgruppen und Institute halten in kleinen Spezialsammlungen ihre Organismen für den ungestörten Ablauf ihrer je-

weiligen Forschungsprogramme bereit. Diese auf die aktuelle Arbeit abgestellten Sammlungen werden bei einer Verlagerung des Forschungsschwerpunktes nur in sehr eingeschränktem Maß weitergeführt, meistens aber auch ganz aufgegeben. Entsprechend der geänderten oder erweiterten Fragestellung rücken andere, für den neuen Zweck besser geeignete Mikroorganismen in den Mittelpunkt des Interesses. So kommt es meist zu einem Verlust von wichtigen Mikroorganismen-Reinkulturen. Eine effiziente mikrobiologische Forschung muß jedoch auch noch nach Jahren Mikroorganismen einsetzen können, die aufgrund früherer wissenschaftlicher Untersuchungen bei der Lösung aktueller Probleme von Bedeutung sein könnten.

Verschiedene Länder mit langer mikrobiologischer Tradition haben deshalb schon vor Jahrzehnten sog. Service-Sammlungen für Mikroorganismen eingerichtet. Es sind Institutionen, die sich der Haltung, Kontrolle, der Langzeitkonservierung und der Weitergabe wissenschaftlich und technologisch wichtiger Mikroorganismen speziell angenommen haben. Durch diesen Service-Charakter haben die Sammlungen eine zentrale Stellung in der mikrobiologisch orientierten Forschung und Industrie eingenommen: erfolgreiche mikrobiologische Forschungs- und Entwicklungsarbeit erfordert ein reichhaltiges, zuverlässiges Material an sachgemäß konservierten und kurzfristig verfügbaren Mikroorganismen. Die starke Zunahme mikrobiologischer Forschung und Anwendung hat jedoch sehr schnell dazu geführt, daß die wenigen großen Sammlungen für Mikroorganismen ihre Service-Aufgaben nur noch in beschränktem Umfang erfüllen können.

In der Bundesrepublik ist unter diesen Gesichtspunkten der Aufbau einer Mikroorganismensammlung im Jahre 1969 durch die Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung (GSF) und mit besonderer Unterstützung des damaligen Bundesministeriums für Bildung und Wissenschaft eingeleitet worden. Im Förderungsprogramm Biologie und Technik, das Förderungsmaßnahmen des Bundesministeriums für Forschung und Technologie bis 1974

erläutert, wird dem Aufbau und dem Betrieb einer Einrichtung zur Sammlung technologisch wichtiger Mikroorganismen besondere Bedeutung zugesprochen.

Zur Durchführung der erforderlichen Maßnahmen hat die GSF eine Abteilung "Deutsche Sammlung von Mikroorganismen" (DSMZ) gegründet, die in Zusammenarbeit mit den vom BMFT projektgeförderten Teilsammlungen (Projektträger ist die GSF) folgende Aufgaben durchzuführen hat:

- a) eine Sammlung von Mikroorganismen in der Bundesrepublik aufzubauen und zu erhalten;
- b) einen Katalog der vorhandenen Mikroorganismen zu erstellen und fortlaufend zu ergänzen;
- c) neu beschriebene, technologisch und wissenschaftlich wichtige Mikroorganismen, soweit sie dem Aufgabenbereich der DSMZ zugehören, in die Sammlung aufzunehmen;
- d) eine Hinterlegungsstelle für Patentstämme einzurichten;
- e) die in der Sammlung vorhandenen Mikroorganismen uneingeschränkt an Interessenten abzugeben, sofern nicht andere Regelungen einer allgemeinen Nutzung entgegenstehen;
- f) Forschung und Industrie in Fragen der Isolierung, Kultivierung, Konservierung und Identifizierung von Mikroorganismen zu beraten, einen eigenen Identifizierungsdienst aufzubauen und durch Einrichtung von Gastarbeitsplätzen interessierte Wissenschaftler bei der Identifizierung von Mikroorganismen zu unterstützen;
- g) Forschungsvorhaben zu Problemen der Isolierung, Kultivierung, Konservierung von Mikroorganismen und zur Taxonomie der in der DSMZ vorhandenen Mikroorganismengruppen durchzuführen;
- h) die internationale Zusammenarbeit mit den Sammlungen anderer Länder zu fördern.

Die Zusammenarbeit der Teilsammlungen wird durch eine Projekt-

ordnung geregelt, die Entwicklung des Projektes DSM von einem Sachverständigenkreis des BMFT beobachtet und begutachtet.

Die DSM hat 1974 ihren Bestand an Mikroorganismen in einem Katalog veröffentlicht, der durch eine Ergänzungsliste 1975 erweitert wurde.

Für die Hinterlegung von Patentstämmen wurde eine "Regelung für die Hinterlegung von Mikroorganismen bei der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen (DSM), Göttingen, der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH München (GSF)" fertiggestellt.

Im Gesamtprojekt "Deutsche Sammlung von Mikroorganismen" arbeiten gegenwärtig:

Abteilung "Deutsche Sammlung von Mikroorganismen" der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung:

Göttingen: Zentrale der DSM, Projektleitung;
Teilsammlung für autotrophe Bakterien und
sporenbildende Bakterien. 4 Wissenschaftler,
5 technische Angestellte, 1 Schreibkraft.

München: Teilsammlung für Gram-positive,
nichtsporenbildende Bakterien. 3 Wissenschaftler,
3 technische Angestellte, 1 Schreibkraft.

Projektgeförderte Teilsammlungen:

DSM-Teilsammlung Bayreuth: Pseudomonaden.
1,5 Wissenschaftler, 1 techn. Angestellte, 0,5 Schreibkraft (in Verbindung mit Lehrstuhl für Mikrobiologie, Universität Bayreuth).

DSM-Teilsammlung Berlin: Hefen. 2 Wissenschaftler,
2 technische Angestellte (in Verbindung mit Versuchs- und Lehranstalt für Spiritusfabrikation und Fermentations-technologie, Berlin).

DSM-Teilsammlung Darmstadt: Actinomycetales.

3,5 Wissenschaftler, 2 technische Angestellte (in Verbindung mit Institut für Mikrobiologie, T.H. Darmstadt).

DSM-Teilsammlung Weihenstephan: Enterobakterien.

2,5 Wissenschaftler, 2 technische Angestellte (in Verbindung mit dem Bakteriologischen Institut, Südd. Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft Weihenstephan).

DSM-Teilsammlung Berlin I: Phytopathogene Bakterien und Pilze (Biologische Bundesanstalt; Förderung läuft 1976 aus).

DSM-Teilsammlung Braunschweig: Pflanzenviren und Seren (Biologische Bundesanstalt; Projektförderung läuft 1976 aus).

Von anderen Spezialsammlungen mit Service-Charakter sind in der Bundesrepublik die "Sammlung von Algenkulturen" (Botanische Anstalten der Universität Göttingen und die Streptokokkenzentrale am Institut für Milchhygiene, Bundesanstalt für Milchwissenschaft Kiel) zu nennen.

Wünschenswerte Entwicklung: Die DSM - Teilsammlungen sollen sich 1976 verstärkt um den weiteren Aufbau der DSM unter biotechnologischen Gesichtspunkten einsetzen.

Die Projektförderung der Teilsammlung für phytopathogene Bakterien und Pilze und der Teilsammlung Pflanzenviren wird 1976 beendet. Für den weiteren Ausbau der Sammlung biotechnologisch wichtiger Pilze und für die Betreuung von Pilzen, die als Patentstämme in der DSM hinterlegt werden, ist die Einstellung eines Mykologen bei der DSM-Zentrale vorgesehen.

Projekte: Die Serviceaufgaben und Forschungsvorhaben der DSM-Teilsammlungen entsprechen den vereinbarten Aufgabestellungen. Sie werden in einem DSM-Projektplan ausführlich erläutert. Die im Rahmen des Förderungsprogrammes Biotechnologie auftretenden Probleme der Stammhaltung bestimmter Mikroorganismen sollten in die Anträge zu den jeweiligen Projekten aufgenommen und ggf.

in Verbindung mit den Teilsammlungen der DSM bearbeitet und gelöst werden.

1.1.3 Stammentwicklung (Züchtung von Hochleistungsstämmen)

Allgemeines: Die in der Biotechnologie verwendeten Mikroorganismen können durch genetische Methoden meist noch wesentlich in ihrem Ertrag gesteigert werden. Neben der bewährten Methode zur Züchtung von Hochleistungsstämmen durch Mutagenese wurden in letzter Zeit weitere genetische Techniken entwickelt, die bei einer Stammverbesserung eingesetzt werden können. Hierbei handelt es sich um eine Ergänzung des genetischen Materials von Bakterien durch Plasmide, die extrachromosomal in der Zelle vorliegen.

1.1.3.1 Stammentwicklung durch Mutagenese

Gegenwärtiger Stand: Die Methode der Mutagenese umfaßt eine Mutationsauslösung durch ein mutagenes Mittel (UV oder ionisierende Strahlung, alkylierende Agenzien z.B. NTG oder sonstige mutagene Substanzen wie Nitrit, Hydroxylamin, Acridinorange etc.) und eine anschließende Selektion nach der Mutante mit dem gewünschten Merkmal. Da es sich bei diesem Merkmal in der Biotechnologie meist um eine gesteigerte Produktionsleistung handelt, ist ein umfangreiches "Screening" von vielen Einzelkolonien unumgänglich. Nach Auffinden der gewünschten Mutante muß noch geprüft werden, ob sie eine genügende genetische Stabilität besitzt und ob sie sich durch keine sonstigen gravierenden Veränderungen vom Ausgangsstamm unterscheidet.

Wünschenswerte Entwicklung: In Zukunft sollte stets Wert darauf gelegt werden, eine einmal isolierte Hochleistungsmutante genetisch und biochemisch zu charakterisieren. Falls ein ge-

netisches Austauschsystem (Konjugation, Transduktion oder Transformation) zur Verfügung steht, sollte eine solche genetische Analyse zusätzlich die Kartierung des Mutationsorts auf dem Chromosom des Mikroorganismus mit einschließen. Nach Anwendung dieses Verfahrens auf eine größere Anzahl von Mutanten erhält man dabei einen Überblick über die chromosomalen Regionen, die Einfluß auf das gewünschte Merkmal nehmen.

Mit Hilfe eines solchen genetischen Austauschsystems könnten weiterhin einzelne Mutationen von Hochleistungsstämmen gezielt in einem neuen Stamm vereinigt und dadurch noch effektivere Produktionsstämme entwickelt werden. Da für fast alle biotechnologisch genutzten Mikroorganismen kein genetisches Austauschsystem vorhanden ist, sollte auf diesem Gebiet eine anwendungsorientierte Grundlagenforschung einsetzen, die primär nach Konjugationssystemen bei biotechnologisch interessanten Mikroorganismen sucht. Eine solche Suche könnte auch eine genetische Konstruktion von Konjugationssystemen mit einschließen.

Die Entwicklung von Hochleistungsmutanten gestaltet sich wesentlich einfacher, wenn bereits Information über die entsprechenden Biosynthesewege und deren Regulation vorliegt. In einem solchen Fall kann z.B. nach konstitutiven Regulationsmutanten bei katabolisch oder anabolisch auftretenden Enzymen oder nach Enzymen mit veränderter allosterischer Regulation gesucht werden. Für die einzelnen biotechnologisch relevanten Projekte ergibt sich daraus eine intensive Grundlagenforschung, die eine gezielte Suche nach Mutanten zur Stammverbesserung wesentlich erleichtern sollte.

Andererseits können unübliche Verfahren bei der Stammentwicklung durch Mutagenese noch Erfolge bringen. Erinnerung soll z.B. an Revertanten von Aminosäuremutanten, die in einigen Fällen eine gesteigerte Ausbeute zeigen.

1.1.3.2 Stammentwicklung mit Hilfe von bakteriellen Plasmiden

Allgemeines: Bakterienzellen können neben dem Chromosom noch extrachromosomale genetische Elemente (Plasmide) besitzen, die synchron mit dem Chromosom auf Nachkommen vererbt werden. Tragen solche Plasmide noch Transfereinheiten, so können sie sich durch Konjugation innerhalb einer Bakterienpopulation ausbreiten. Das bekannteste Beispiel für solche Plasmide stellen bakterielle Resistenzfaktoren dar. Plasmide können nun im Rahmen der Biotechnologie, speziell bei der Stammentwicklung, in Zukunft eine bedeutende Rolle spielen. Liegt nämlich die biotechnologisch zu nutzende Information auf einem solchen bakteriellen Plasmid, so kann sie bequem analysiert, durch Mutation verbessert und zusätzlich auf beliebig andere Bakterienstämme übertragen werden.

Gegenwärtiger Stand: Das Grundproblem der Plasmidmethode liegt in der Schwierigkeit, ein geeignetes extrachromosomales Element mit der biotechnologisch zu nutzenden Information zu isolieren. Gelöst ist dieses Problem, wenn eine solche Information in gewissen Bakterienstämmen plasmidcodiert vorliegt. Im Falle einer chromosomal codierten Information kommt man dagegen erst nach Anwendung einiger genetischer Manipulationen zum Ziel.

Die Grundlagen zur Konstruktion von Plasmiden mit ursprünglich chromosomal codierter Information wurden bis ins Detail bei *Escherichia coli* entwickelt. Bei Verwendung von Hfr-Donorstämmen und recA-Rezipienten gelingt es, jeden beliebigen Teil des *E.coli*-Chromosoms auf den Fertilitätsfaktor zu verlegen. Mit einigen Abwandlungen läßt sich diese Technik auch auf biotechnologische Projekte anwenden. Als Beispiel kann die Isolierung des RP4-nif-Plasmids (nif von nitrogen fixation) dienen, die im Labor von J.Postgate, Brighton, England, durchgeführt wurde. Die Information für freilebende N₂-Fixierung, die chromosomal codiert in *Klebsiella pneumoniae* vorliegt, wurde mit Hilfe des Resistenzfaktors R144 als Transfervehikel nach

Escherichia coli gebracht und dort ins Chromosom integriert. Damit existieren N_2 -fixierende E.coli-Stämme. Mit der oben beschriebenen Technik gelang es anschließend, die Information für N_2 -Fixierung auf den F-Faktor und von da aus mittels einer weiteren genetischen Manipulation auf den Resistenzfaktor RP^4 zu verlegen. Da der RP^4 -Faktor einen Wirtsbereich besitzt, der praktisch alle gram-negativen Bakterien umfaßt, kann die Information für N_2 -Fixierung der gesamten Klasse der gram-negativen Bakterien zugänglich gemacht werden. Das geschilderte Beispiel soll demonstrieren, mit welchem Erfolg heute schon Kenntnisse der genetischen Grundlagenforschung auf angewandte Probleme übertragen werden.

Wünschenswerte Entwicklung: In Zukunft sollte die Anwendung von genetischem Grundwissen zur Lösung biotechnologischer Probleme noch stark intensiviert werden. Speziell auf dem Plasmidsektor kann die Technik des "Plasmidengineering" bei der Stammentwicklung eingesetzt werden. Unter "Plasmidengineering" versteht man die "in vitro"-Integration von ausgesuchten Fremdgenen - in unserem Fall von biotechnologisch zu nutzender Information - in ein Trägerplasmid, das nach Rückverpflanzung in die Bakterienzelle seine biologische Aktivität wiedererlangt. Die zugrunde liegende genetische Technik beruht auf der Verwendung von speziellen Restriktionsenzymen, die doppelsträngige DNA an bestimmten Nukleotidsequenzen schneiden und dabei DNA-Fragmente mit einsträngigen Enden erzeugen. Ein Trägerplasmid ist dadurch gekennzeichnet, daß es von einem solchen Restriktionsenzym nur einmal geschnitten wird, ohne daß dabei ein für das Plasmid notwendiges Gen zerstört wird. Zum Einfügen der ausgesuchten Fremdgene werden diese mit demselben Restriktionsenzym behandelt. Die dabei produzierten DNA-Fragmente mit den einsträngigen Enden können sich dann über Basenhomologie mit dem geöffneten DNA-Ring verbinden. Die noch bestehenden Einstrangbrüche werden anschließend mit einer Ligase geschlossen. Zur Rückverpflanzung eines solchen manipulierten Plasmids in die Bakterienzelle wurde bei E.coli eine spezielle Ca^{++} -Schockmethode entwickelt.

Wie sich die Wahl eines bestimmten Trägerplasmids auf das Experiment auswirken kann, soll im folgenden kurz dargestellt werden. Das bekannteste Trägerplasmid pSC101 kann auf Grund seiner Größe (2,9 μm) leicht zu einem Transformationsexperiment bei E.coli verwendet werden. Da pSC101 seiner Wirtszelle Resistenz gegen Tetracyclin verleiht, erweist sich die Isolierung von pSC101-tragenden Transformanten als sehr einfach. Der ColE1-Faktor kann ebenfalls als Trägerplasmid dienen. Er ist 2,2 μm lang, trägt allerdings kein Gen für Antibiotikaresistenz. Andererseits existiert er in der E.coli-Zelle in einer größeren Kopienzahl und sorgt so für eine Genamplifikation des eingefügten Fremdgens. Als weiteres mögliches Trägerplasmid soll der RP4-Faktor genannt werden. Er trägt drei Antibiotikaresistenzen, ist auf Grund seiner Größe (19,1 μm) allerdings für ein Transformationsexperiment nicht so geeignet. Ein Vorteil ergibt sich aus seiner Transfereinheit, die es gestattet, eingefügte Fremdgene im Bereich der gram-negativen Bakterien auszutesten.

Die oben skizzierte Methode des "Plasmidengineering" ist auf dem Prokaryontengebiet schon so gut ausgearbeitet, daß sie für anwendungsorientierte Probleme eingesetzt werden kann. Man könnte sich in diesem Zusammenhang z.B. vorstellen, die Information für Methanolverwertung auf ein Plasmid zu verlegen, um so einer großen Anzahl von Bakterien das Wachstum auf Methanol zu ermöglichen. Damit könnte das für die Proteingewinnung geeignetste Bakterium ausgesucht werden. Eine andere Anwendungsmöglichkeit besteht in der Konstruktion von Plasmiden, die die genetische Information zum Bau von therapeutisch wichtigen Substanzen (z.B. Antibiotika) tragen. Solche Plasmide, die u.U. in der Bakterienzelle in einer größeren Kopienzahl existieren, würden eine enorme Ertragssteigerung bringen. Vor Experimenten mit Eukaryonten-DNA, z.B. der Verlegung der Insulinproduktion nach Bakterien, muß momentan noch gewarnt werden. Die Prokaryontenzelle erkennt anscheinend die Organisation der Eukaryonten-DNA nicht und produziert so sinnlose Proteine. Hier müssen zuerst noch grundle-

gende Fragen geklärt werden, bevor Manipulationsexperimente mit Eukaryonten-DNA in Angriff genommen werden können.

Das "Plasmidengineering" eröffnet ein weites Anwendungsgebiet. Bei solchen Versuchen sollte man sich aber stets vor Augen halten, daß es sich hierbei um einen relativ jungen Zweig der Molekularen Genetik handelt und daß man deshalb heute noch nicht in der Lage ist, alle Konsequenzen abzusehen, die sich sowohl im Positiven als auch im Negativen aus solchen Versuchen ergeben (siehe dazu auch Aufruf von 11 Mitgliedern der National Academy of Sciences: Science 185, 303 (1974)).

Da es sich bei einem großen Teil der wünschenswerten Untersuchungen auf diesem Gebiet um Grundlagenforschungen handelt, muß hier eine Mittelverteilung in enger Zusammenarbeit mit der DFG vorgenommen werden.

1.2. Pflanzliche Zell- und Gewebekulturen

Allgemeines: In den letzten 20 Jahren ist es in vielen Fällen gelungen, pflanzliche Zellen und Gewebe in vitro zu züchten, d.h. unabhängig von der Pflanze zu ernähren und zu vermehren. Es scheint prinzipiell möglich zu sein, Gewebe beliebiger Pflanzen in Kultur zu nehmen. Die weitere Handhabung entspricht weitgehend der bei Mikroorganismen üblichen.

Die Züchtung pflanzlicher Zell- und Gewebekulturen in technischen Dimensionen mit den Möglichkeiten der modernen Biotechnologie wird neue Naturstoffe zugänglich machen und lässt neue Verfahren erwarten, auf die in Abschnitt 3 (biologische Verfahren) näher eingegangen wird. Voraussetzung für die rationelle Entwicklung biotechnologischer Verfahren ist die Bearbeitung wichtiger Grundlagen.

Um die langfristige Lebens- und Leistungsfähigkeit zu sichern, müssen die Kenntnisse über die Konservierung der Stämme von pflanzlichen Zellkulturen planmässig erweitert werden. Eine zentrale Sammlung sollte in der Lage sein, alle interessanten Stämme aufzunehmen, zu betreuen und insbesondere damit zusammenhängende Forschungsarbeiten über Konservierung, Stabilität, Veränderung von Eigenschaften usw. zu übernehmen.

Es ist in den letzten Jahren möglich geworden, Pflanzengewebe zu züchten, das nur den halben Chromosomensatz der normalen Pflanze besitzt. Solche haploiden Zell- und Gewebekulturen sind ein genetisch einheitliches Material, das besonders gut zur Erzeugung von Mutanten geeignet ist. Mutationstechniken und Methoden zur Auslese damit verbesserter Stämme bedürfen einer planmässigen Bearbeitung. Völlig neue Aspekte ergeben sich durch die Möglichkeit, aus haploiden Zellen Protoplasten freizusetzen und solche Protoplasten zum Verschmelzen zu bringen; dadurch können Pflanzen und Gewebe mit neuen Eigenschaften entstehen, wie sie auf anderen Wegen nicht zu erhalten sind.

Stammhaltung und Züchtung solcher Hochleistungs-Stämme können auch eine Basis für die Züchtung verbesserter und im Pflanzenbau nutzbarer Pflanzen sein.

Die Begriffe Zellkultur und Gewebekultur sind hier nebeneinander verwendet, da für die Nutzung Suspensionen von Einzelzellen, von größeren oder kleineren Zellverbänden oder von organisierten Gewebeteilen - wie Wurzelstücken - in Frage kommen.

1.2.1 Stammhaltung

1.2.1.1 Stamm-Konservierung

Gegenwärtiger Stand: Über die Stamm-Konservierung ist relativ wenig bekannt. Die Konservierung bei tiefer Temperatur und unter Verwendung von z.B. Dimethylsulfoxid scheint prinzipiell möglich zu sein.

Wünschenswerte Entwicklung: Das Gebiet sollte systematisch bearbeitet werden, um eine zuverlässige, langfristige Aufbewahrung der Stämme zu ermöglichen.

1.2.1.2 Stamm-Sammlung

Gegenwärtiger Stand: Kulturen werden ausschließlich bei den damit arbeitenden Forschungsgruppen gehalten. Die schnell zunehmende Zahl wichtiger Kulturen lässt sich in dieser Weise nicht mehr beherrschen, so dass sie verloren gehen können.

Wünschenswerte Entwicklung: Aufbau einer zentralen Sammlung, die zweckmässig einer vorhandenen Forschungseinrichtung mikrobiologischer oder botanischer Arbeitsrichtung anzugliedern ist. Eng mit der Stammhaltung verbundene methodische Arbeiten (Konservierung, Isolierung, analytische Kontrollen) und die Anlegung neuer Kulturen sollen dabei möglich sein. Der Betrieb einer Sammlung ist für alle Arbeiten auf dem Ge-

biet der pflanzlichen Zell- und Gewebekultur von grosser Bedeutung; auch im Interesse der biotechnologischen Projekte auf diesem Gebiet ist ihre Einrichtung notwendig. Daher sollte eventuell ein angemessener Anteil finanziert werden; der Schwerpunkt muss aber ausserhalb des Biotechnologie-Programms liegen.

1.2.2 Züchtung von Hochleistungs-Stämmen

1.2.2.1 Haploiden-Kultur (Gewinnung von Haploiden-Kulturen, Freisetzen und Fusion von Protoplasten aus haploiden Zellen, genetische Stabilität von Zellkulturen)

Gegenwärtiger Stand: Haploide Kulturen werden bereits gezüchtet. Die Isolierung von Protoplasten und deren Verschmelzung zu isogenen diploiden Zellen ist gelungen.

Wünschenswerte Entwicklung: Intensive Bearbeitung, um haploide Kulturen methodisch allgemein zugänglich zu machen und sie einer planmässigen genetischen Bearbeitung zuführen zu können. Weiterentwicklung der Technik der Kernverschmelzung.

1.2.2.2 Mutationstechnik (vgl. auch 1.1.3)

Gegenwärtiger Stand: Die Methoden der Mutagenese sind in Ansätzen bekannt und zugänglich. Ihr Einsatz auf dem Gebiet der Gewebekultur ist noch in den Anfängen.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Beherrschung und Weiterentwicklung der Mutationstechniken sollte angestrebt werden. Diese sind auf haploide Kulturen anzuwenden, um daraus genetisch heterogenes Material zu erhalten, das einem Screening zugeführt werden kann.

1.2.2.3 Screening-Technik

Gegenwärtiger Stand: Die Grundzüge der Screening-Technik sind bekannt. Plattierungs- und Replica-Technik sind möglicherweise auch bei Gewebekulturen anwendbar.

Wünschenswerte Entwicklung: Erarbeitung von Screening-Methoden und -Programmen. Die Auswahl von Mutanten mit erwünschten Eigenschaften aus grossen Populationen von Einzelzellen ist zu bearbeiten. Nachweismethoden für diese Eigenschaften, z.B. in ausplattierten Kulturen und mikrophotometrische Nachweise in einzelnen Zellen sollten entwickelt werden. Als Modelle sind z.B. Arzneipflanzen geeignet, bei denen qualitative oder quantitative Unterschiede im Gehalt spezieller Inhaltsstoffe angestrebt werden. Durch Einbau genetischer Blocker kann in Biosynthesen eingegriffen werden.

1.2.2.4 Regeneration ganzer Pflanzen

Gegenwärtiger Stand: Aus Kallus-Geweben können ganze Pflanzen regeneriert werden.

Wünschenswerte Entwicklung: Nutzung der theoretisch gegebenen Möglichkeit: Mutation haploider Einzelzellen - Kernverschmelzung oder Colchizinierung zu diploiden Kallus-Geweben - diploide Pflanzen mit neuen Eigenschaften, aus denen Zellmaterial für biotechnologische Zwecke isoliert werden kann.

1.2.3 Kultur-Methoden

1.2.3.1 Isolierung, Weiterführung und Prüfung

Gegenwärtiger Stand: Es gibt eine Anzahl bereits gut bekannter Methoden.

Wünschenswerte Entwicklung: Weiter- und Neuentwicklung von Züchtungsmethoden, wobei die Ziele z.Z. mit denen des Abschnitts 1.2.2 identisch sind. Erfassung physiologischer Unterschiede von Stämmen, die von einer Pflanze gewonnen wurden. Prüfung der Stoffbildung auf Konstanz und auf Möglichkeiten zum Eingriff in Biosynthesen.

Wichtige phytopathologische Aspekte ergeben sich durch die Möglichkeit zur Isolierung pilz- und virusfreier Gewebe.

1.2.3.2 Kallus-Zerfall

Gegenwärtiger Stand: Kallus-Gewebe ist vielfach nicht leicht zum Zerfall zu Zellen bzw. kleinen Zellaggregaten zu bringen. Andererseits ist es möglich, daß bestimmte Stoffsynthesen nur in größeren, klumpen-artigen Aggregaten erfolgen.

Wünschenswerte Entwicklung: Ein sicherer Zerfall der Kallen als Grundlage für Zell-Suspensionen für Submers-Züchtung oder Plattierung sollte angestrebt werden. Es ist zu untersuchen, ob zur Bildung bestimmter Produkte größere Zellaggregate oder Differenzierungen in diesen notwendig sind. Versuch einer Zell-Vereinzelung mit chemisch-enzymatischen Methoden.

1.2.3.3 Submerskultur

Gegenwärtiger Stand: Neben der statischen Kultur auf gallertigen Medien ist die Submerskultur als Schüttelkultur, Rollerkultur oder belüftete Suspensionskultur zunehmend in Anwendung.

Wünschenswerte Entwicklung: Verbesserung der Submerskultur-Technik, Entwicklung der Methoden zur kontinuierlichen Kultur von Zellen.

1.2.3.4 Medien für die Gewebekultur

Gegenwärtiger Stand: Verschiedene Nährlösungen, die kompliziert aufgebaut sind oder komplexe Substrate enthalten, werden verwendet.

Wünschenswerte Entwicklung: Systematische Bearbeitung von Medien bzw. der Ernährungsansprüche von Kulturen, um zu einfachen und möglichst gut definierten Nährlösungen zu kommen. Substitution komplexer Komponenten wie Cocosmilch, industrielle Herstellung wichtiger Nährsubstrate.

1.3 Tierische Zell- und Gewebekulturen

Allgemeines: Die Züchtung humaner und tierischer Zellen hat in den letzten 20 Jahren starke Verbreitung gefunden, besonders für die Virus-Diagnostik und die Virus-Züchtung zur Impfstoff-Herstellung. Wenn es gelingt, tierische und menschliche Zellkulturen in die technische Massenkultur zu überführen und mit ihnen biotechnologische Produktionsprozesse aufzubauen, dürften damit neue Naturstoffe von erheblicher pharmazeutischer Bedeutung zugänglich werden. Die Entwicklung solcher Verfahren setzt die Bearbeitung der Grundlagen voraus.

Der Aufbau einer zentralen Sammlung für tierische Zell- und Gewebekulturen ist im Interesse der Grundlagenforschung und der Versorgung von Forschungs- und Klinik-Labors sowie biotechnologischen Arbeitsgruppen mit Zellkulturen dringend notwendig.

Man kann bereits tierische Zellkulturen als Submerskultur in halbtechnischen Dimensionen züchten. Allerdings beschränkt sich diese Möglichkeit auf sogenannte permanente Zell-Stämme, die entweder Krebs-Stämme oder solchen sehr ähnlich sind. Die wesentlich interessanteren diploiden Zellen entsprechen mehr einer normalen Zelle, lassen sich aber bisher nur als Oberflächenkulturen - z.B. in Rollflaschen - züchten. Die Entwicklung von Züchtungsmethoden, welche die Submerskultur diploider Zellkulturen ermöglichen und ausserdem einer Degeneration entgegenwirken, ist eine wichtige Voraussetzung für die industrielle Nutzung tierischer Zellen. Umfassende ernährungsphysiologische Grundlagenarbeiten dürften dabei eine wesentliche Rolle spielen. Allgemein ist der Ausbau der Methoden zur Isolierung und Züchtung sowie zur Erhaltung der Wachstums- und Leistungsfähigkeit von Zellkulturen sehr wichtig. Ferner kommt der Züchtung von Hochleistungs-Stämmen grosse Bedeutung zu. Gezielte genetische Veränderungen und die Methoden zur Aufzucht so verbesserter Zellen (Screening-Technik) sind für die spätere biotechnologische Nutzung besonders interessant.

1.3.1 Stammhaltung

1.3.1.1 Stamm-Konservierung

Gegenwärtiger Stand: Die Aufbewahrung von Kulturen bei tiefen Temperaturen ist möglich.

Wünschenswerte Entwicklung: Systematische Bearbeitung der Konservierung von Stämmen unter Erhaltung der physiologischen Eigenschaften und Leistungen. Die Methoden der Tiefkühlung unter Anwendung von Schutzstoffen (Dimethylsulfoxid, Glycerin u.a.) sind bis zum risikolosen Routine-Verfahren auszuarbeiten.

1.3.1.2 Stamm-Sammlung

Gegenwärtiger Stand: Kulturen sind nur aus Sammlungen im Ausland erhältlich. In Deutschland gibt es keine Sammlung, die Kulturen vertreibt und/oder zur Erhaltung aufnimmt.

Wünschenswerte Entwicklung: Aufbau einer Sammlung für permanente und diploide Zellstämme. Diese Aufgaben sind zweckmäßig in Verbindung mit den in den folgenden Abschnitten genannten Aufgaben durchzuführen (vgl. auch Studie von Prof. Lehmann-Grube, Hamburg).

Der Betrieb einer Sammlung ist für alle Arbeiten auf dem Gebiet der tierischen und menschlichen Zell- und Gewebekultur von großer Bedeutung; auch im Interesse der biotechnologischen Projekte auf diesem Gebiet ist ihre Einrichtung notwendig. Daher sollte eventuell ein angemessener Anteil finanziert werden; der Schwerpunkt muß aber ausserhalb des Biotechnologie-Programms liegen.

1.3.2 Züchtung von Hochleistungs-Stämmen

1.3.2.1 Genetische Bearbeitung

Wünschenswerte Entwicklung: Systematische Bearbeitung der Mu-

tagenese. Hybridisierung tierischer und humaner Zellen zum Zweck verbesserter Produktion von Naturstoffen. Anwendung genetischer Methoden vgl. 1.1.3.

1.3.2.2 Screening-Technik

Wünschenswerte Entwicklung: Entwicklung von Methoden, beispielsweise für Screening auf Interferon-Induktoren ohne toxische Nebenwirkung.

1.3.3 Kultur-Methoden

1.3.3.1 Isolierung und Züchtung von Zell- und Gewebekulturen

Gegenwärtiger Stand: Die bekannten Methoden sind nur auf bestimmte Zell-Typen anwendbar.

Wünschenswerte Entwicklung: Erarbeitung der bisher nicht möglichen Züchtung primärer Zellen unter Erhaltung ihrer Funktionen. Ermittlung geeigneter Ernährungs- und Aussenbedingungen für solche Kulturen.

1.3.3.2 Submerskultur

Gegenwärtiger Stand: Nur permanente Stämme sind in Submerskultur züchtbar, sie sind als Modell geeignet. Diploide und primäre Zellen sind nur als Aufwuchskulturen z.B. in Rollflaschen oder Vieloberflächengefäßen zu züchten, teilweise auch auf Mikroträgern.

Wünschenswerte Entwicklung: Submerskultur primärer, permanenter und diploider Zellstämme, evtl. unter Verwendung von Trägerpartikeln (Mikroträger, Carrier) oder anderer Strukturen in den Nährlösungen.

1.3.3.3 Kontroll-Methoden für Gewebe-Kulturen

Wünschenswerte Entwicklung: Weiterentwicklung der Methoden zum Auffinden von Fremd-Zellen (Infektionen), z.B. durch immunologische und cytologische Methoden, und zur Identifizierung von Zellen unbekannter oder fraglicher Provenienz. Entwicklung von Methoden zur Züchtung reiner Zellstämme, die frei von kontaminierenden Viren oder Mycoplasmen sind.

1.3.3.4 Medien für die Gewebekultur

Gegenwärtiger Stand: Fertig-Medien sind nur aus dem Ausland zu beziehen; das Angebot ist groß, die Qualität teilweise nicht befriedigend.

Wünschenswerte Entwicklung: Systematische Bearbeitung der Medien bzw. der Ansprüche der Kulturen, um zu möglichst einfachen und definierten Medien zu kommen. Substitution von Seren. Herstellung, Prüfung und Verteilung von Medien.

2. Reaktionstechnik, Verfahrenstechnik, Mess- und Regeltechnik

=====

Allgemeines: Die Grundlagen aller biotechnologischen Prozesse sind die sich ständig vertiefenden Erkenntnisse der biologischen und biochemischen Forschung. Aufgabe der Biotechnologie ist die Umsetzung solcher Erkenntnisse in volkswirtschaftlich nützliche Produktionsverfahren.

Die wichtigste Voraussetzung jeder Technologie ist das Vorliegen wissenschaftlich fundierter, allgemeingültiger Regeln zum technischen Handeln. Diese Voraussetzung ist bei der Biotechnologie zur Zeit noch nicht in ausreichendem Mass gegeben; die biologische Verfahrenstechnik geht vielmehr noch weitgehend empirisch vor.

Das rührt einerseits daher, daß die biologischen und biochemischen Aspekte dieses Grenzgebietes meist isoliert, ohne Berücksichtigung der ebenso wichtigen ingenieurwissenschaftlichen Aspekte untersucht werden und andererseits sich die breiter angelegten, alle drei Aspekte umfassenden Entwicklungsarbeiten in der Regel auf jeweils ein spezifisches Produkt konzentrieren. Da aber bei den einzelnen biotechnologischen Prozessen die Substrate, Organismen, Produkte, Reaktionsbedingungen und Reaktoren unterschiedlich sind, resultieren aus diesen Forschungen nur selten allgemeingültige, d.h. auch auf andere biotechnologische Prozesse übertragbare Erkenntnisse.

Für die weitere Entwicklung dieses Fachgebietes wird es von grosser Bedeutung sein, neben der produktorientierten Forschung auch eine breite, allgemein verfahrenstechnische Forschung zu betreiben. Diese hat zum Ziel, vergleichbare Grunddaten des physikalisch-chemischen Verhaltens und der Reaktionskinetik der verschiedenen biologischen Zellen sowie des Verhaltens der verschiedenen Bioreaktoren zu gewinnen. Von grundlegender Bedeutung ist in diesem Zusammenhang die Kenntnis der Wechselwirkungen zwischen den Reaktions- bzw. Stoff-

wechselabläufen in der Zelle und den Reaktionsbedingungen im Fermenter. Reaktions- und verfahrenstechnische Forschungen sollten es ermöglichen, für einen biotechnologischen Prozess den geeigneten Reaktortyp auf Grund von objektiven Daten auswählen zu können und nicht - wie bisher - empirisch ermitteln zu müssen. Zur Zeit bedingt jede Überführung eines neuen Verfahrens vom Labormaßstab in den Produktionsmaßstab und jede Übertragung eines Produktionsverfahrens auf andere Reaktortypen infolge fehlender verfahrenstechnischer Grunddaten ausserordentlich hohe Kosten und Zeitverluste.

2.1 Reaktions- und Verfahrenstechnische Grundlagen

Gegenwärtiger Stand: Im Rahmen der biologischen und biochemischen Grundlagenforschung für die Biotechnologie werden bisher zahlreiche Einfluß- und Reaktionsgrößen vernachlässigt, weil sie entweder bei den im Laboratorium üblichen Kleinansätzen als nicht wichtig angesehen werden oder messtechnisch schwierig zu erfassen und zu kontrollieren sind. Es handelt sich dabei insbesondere um thermodynamische Größen, physikalische Stoffwerte von Zellsuspensionen sowie um Daten über den Einfluß verschiedener physikalisch-chemischer Parameter auf die Zellen und ihre Reaktionskinetik.

Bei jeder Übertragung von Forschungsergebnissen in den produktionstechnischen Maßstab erweist sich das Fehlen solcher Grunddaten als ausserordentlich hinderlich. Fehlplanungen beim Bau biotechnologischer Anlagen und kostspielige nachträgliche Änderungen sind häufig die Folge.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Kenntnisse über die komplexen Wechselwirkungen der Transportphänomene mit den StoffwechsellLeistungen der Mikroorganismen, pflanzlichen und tierischen Zellen sind entscheidende Voraussetzung für ein besseres Verständnis der Prozeßführung im technischen Produktionsmaßstab. Es erscheint daher dringend erforderlich, umfangreiche verfahrenstechnische Untersuchungen über die Problemstellungen des Stoff-, Impuls- und Energietransportes, gekoppelt mit der Reaktionskinetik, an derartigen Systemen vorzunehmen.

Wesentliche Voraussetzungen für eine erfolgreiche Bearbeitung dieser Probleme ist aber zunächst eine möglichst genaue Charakterisierung der stofflichen Eigenschaften der beteiligten Fluide (Viskosität, Diffusions- und Wärmeleitkoeffizienten, spez. Wärmekapazität, Dichte, Oberflächenspannung, Absorptionskoeffizienten usw.). Darüber hinaus ist es erforderlich, die besonderen Probleme des Einflusses von mechanischen Kräften auf die Morphologie der Organismen bzw. deren mögliche Schädigungen zu untersuchen.

Wichtig für die technische Prozeßführung ist des weiteren die Erstellung von reaktionskinetischen Ansätzen bzw. Modellen, die insbesondere auch diejenigen Parameter beinhalten sollten, die extern etwa durch verschiedene Betriebsbedingungen beeinflußt werden können.

Wünschenswert sind ferner Untersuchungen an Systemen mit definierten Phasengrenzen. Dies würde zu einem besseren Verständnis der Mechanismen der unterschiedlichen Stofftransportvorgänge und ihrer Beeinflußbarkeit durch die Anwesenheit von Mikroorganismen beitragen. Damit könnte aber die Übertragbarkeit von bereits bekannten Problemlösungen bei chemischen Mehrphasenreaktoren auf die biologischen Reaktoren entscheidend vorangetrieben werden. Von ebenso grosser Bedeutung erscheint die Förderung von Forschungsarbeiten über den Einfluß einiger bisher vernachlässigter physikalisch-chemischer Faktoren auf den Stoffwechsel biotechnologisch wichtiger Zellen. Bei einigen Fermentationsprozessen ist z.B. bekannt, daß der in der Zellsuspension vorherrschende O_2 - und CO_2 -Partialdruck sowie das Redoxpotential und die Anwesenheit unlöslicher Inertstoffpartikel oder obenflächenaktiver Stoffe einen wichtigen Einfluß auf den prozessbestimmenden Stoffwechsel der Zellen ausüben. Die Grenzbedingungen - in vielen Fällen auch die Art der Primärwirkung - sind jedoch meist unbekannt.

Schließlich wäre es noch wünschenswert, daß die bisher noch sehr problemreichen reaktionstechnischen und reaktionskinetischen Grundlagen der kontinuierlichen Kultur von biologischen Zellen und der Synchronkultur weiter vertieft werden. Dieses Gebiet wird zwar vielerorts bearbeitet, jedoch kaum in der Bundesrepublik Deutschland.

2.2. Bioreaktoren

Allgemeines: Als "Bioreaktoren" werden Gefäße oder Anlagen bezeichnet, die optimale Bedingungen für jeweils spezielle biologische Prozesse gewährleisten sollen. Abhängig von der Art der Organismen und Reaktionen sind die Ansprüche an apparative Ausrüstungen verschieden, z.B. bei Bioreaktoren für Mikroorganismen anders als bei Bioreaktoren für Algenkulturen. Im allgemeinen sind Bioreaktoren besonders wegen der umfangreichen mess- und regeltechnischen Ausrüstung sowie wegen der geringen Stückzahlen sehr kostenaufwendig. Hier könnten Weiterentwicklungen erhebliche Kostenvorteile bringen.

2.2.1 Stoff- Impuls- und Energietransport im Reaktor

Wünschenswerte Entwicklung: Grundlegende Untersuchungen über diese wichtigen verfahrenstechnischen Einflußgrößen sind in gleicher Weise wichtig für die Anpassung bereits existierender Reaktoren an neue Prozesse wie für die Entwicklung und konstruktive Auslegung von neuartigen Reaktoren. Neben den bereits erörterten notwendigen Arbeiten über die stoffliche Charakterisierung der beteiligten Fluide stehen hier vor allen Dingen die reaktor- und systemspezifischen konvektiven Transportvorgänge im Vordergrund des Interesses. In dieses Gebiet fallen insbesondere notwendige Untersuchungen über die Abhängigkeit der verschiedenen Stofftransportschritte, des Gasgehaltes, der Blasengrößenverteilungen sowie des Verweilzeitverhaltens der beteiligten Phasen als Funktion der Betriebsbedingungen im Reaktor.

Darüber hinaus ist es notwendig, Kenntnisse über die Schubspannungsverteilung im Reaktor zu gewinnen, um unerwünschte Zellschädigungen u.U. auch Zellagglomerationen im Reaktionsraum zu vermeiden. Weiterhin wäre es wünschenswert, mit Hilfe der stofflichen Charakterisierung zu brauchbaren Modellfluiden zu kommen, um einen Teil der umfangreichen Untersuchungen

auch in Systemen ohne Mikroorganismen durchführen zu können.

Ziel dieser Untersuchungen sollte die Aufstellung von Schlüsselparametern möglichst in Form von physikalisch sinnvollen dimensionslosen Kenngrößen sein. Diese werden sowohl zur Lösung aller mit der Maßstabsveränderung verbundenen Probleme als auch zur Übertragbarkeit von Ergebnissen zwischen verschiedenen biologischen Systemen benötigt.

Schließlich sollten in Verbindung mit der Kinetik Aussagen über die optimale Prozeßführung und zur gezielten konstruktiven Veränderung des Reaktors möglich werden.

2.2.2 Reaktortypen

Gegenwärtiger Stand: Für die Produktion werden im Rahmen biotechnologischer Prozesse eine große Anzahl verschiedener Reaktortypen eingesetzt. Diese Vielzahl ist einerseits bedingt durch die auf spezielle Reaktionen und Organismen abgestellten Umweltbedingungen der einzelnen Reaktortypen, andererseits ist sie aber auch auf eine unterschiedliche Entwicklung in den einzelnen Verfahren zurückzuführen. Vielfach fehlen bei den einzelnen Reaktortypen unterschiedlicher Ausstattung Vergleichsmöglichkeiten mit anderen Reaktoren. Dies ist besonders wichtig bei dem Übergang von diskontinuierlichem zu kontinuierlichem Betrieb; hier besteht bei einzelnen Verfahren apparativ ein gleitender Übergang, jedoch sind in den meisten Fällen erweiterte Kenntnisse der Verfahrensbedingungen und eine erweiterte Messtechnik Voraussetzung.

2.2.2.1 Oberflächenreaktoren

Gegenwärtiger Stand: Oberflächenreaktoren werden technisch eingesetzt als Gärshalen, Tropfkörper, Essiggeneratoren, Dünnenschichtreaktoren usw. Sie werden z.B. benutzt bei der Ge-

winnung von Enzymen auf festen Substraten und bei der Gewinnung von manchen organischen Säuren, z.B. Essigsäure, Zitronensäure. Weiterhin werden sie bei der Herstellung von Impfstoffen und bei Verfahren, bei denen eine Störung der Zellverbände vermieden werden muss, eingesetzt.

Wünschenswerte Entwicklung: Für Impfstoffe und Verfahren, bei denen eine Störung der Zellverbände verhindert werden soll, kann auf Oberflächenreaktoren nicht verzichtet werden; hier sind, z.B. bei der Weiterentwicklung von Dünnschichtreaktoren, noch Verbesserungen möglich. Bei der Gewinnung organischer Säuren ist ein Vergleich der Wirtschaftlichkeit bei Oberflächen- und Submersverfahren angebracht.

2.2.2.2 Submersreaktoren (Gärbottiche, Rührreaktoren, Blasen-säulenreaktoren, Belebtschlammanlagen usw.)

Gegenwärtiger Stand: Hinsichtlich ihrer Bedeutung für industrielle Fermentationen nehmen die - zumeist unter vollständigem Ausschluß mikrobieller Fremdinfectionen betriebenen - Submersreaktoren den wichtigsten Platz ein. Bevorzugt sind "begaste Rührreaktoren" (Fermenter); sie werden bei der Produktion von hochwertigen Stoffen (z.B. Antibiotika, Enzymen, Steroiden, Aminosäuren, Proteinen usw.) eingesetzt.

Bisher sind die Submersreaktoren je nach Verfahren und Firma unterschiedlich in Größe, Reaktorgeometrie, Material und Ausrüstung. Das erschwert die Übertragung von Verfahren und den Vergleich von Ergebnissen und Effektivität der Anlagen. Die Uneinheitlichkeit von Reaktorgrößen und -ausrüstung führt zu erhöhten Kosten des Apparatebaus und bedingt weiterhin Zeitverluste bei der Umstellung und Neuentwicklung von Fermentationsverfahren.

Wünschenswerte Entwicklung: Wegen der ökonomischen Dominanz der Submersreaktoren sollten hier die Untersuchungen über die Transportphänomene (siehe 2.2.1) möglichst intensiv einsetzen.

Dabei werden folgende Schwerpunkte vorgeschlagen:

- 1) Untersuchungen in Standardrührkesselreaktoren. Diese Arbeiten sind deshalb wünschenswert, damit möglichst rasch Lösungen von aktuellen Problemen bei den derzeit in der Produktion vorwiegend eingesetzten Reaktoren herbeigeführt werden können.
Sowohl aus Gründen der Wirtschaftlichkeit als auch wegen einer Rationalisierung des Apparatebaus sollte eine Vereinheitlichung der Reaktortypen und eine verbesserte Meßtechnik angestrebt werden. Besonders sollte zur Ermittlung von Basiswerten für einzelne Verfahren eine Normierung erarbeitet werden, die als Grundlage für einen Vergleich der Effizienz einzelner Bioreaktoren dienen kann. Hierzu liegt eine Betreibernorm für 42, 300 und 3000 Liter Gesamtvolumen vor (DECHEMA).
- 2) Untersuchungen verschiedener Reaktorarten zur gezielten Anpassung an und Auslegung für verschiedene Bioreaktionen unter Minimierung des Energieeintrags. Hierbei sollte vor allen Dingen nach verfahrenstechnischen Möglichkeiten für eine wirtschaftliche und organismengerechte Erzeugung großer spezifischer Phasengrenzen, sowie eine möglichst gleichmäßige Verteilung aller Komponenten im Reaktionsraum gesucht werden. Darüber hinaus sollte bei der Reaktorentwicklung von Beginn an das Problem der Erarbeitung gesicherter Scale-up Methoden mit berücksichtigt werden.

Die Untersuchungen in beiden Schwerpunktkreisen sollten bei verschiedenen Prozessen durchgeführt werden, die hinsichtlich ihrer verfahrenstechnischen Problemstellungen möglichst repräsentativ für das Spektrum der Fermentationsprozesse sind.

Die Fragestellung nach den geeigneten Prozessen sollte bei besserer Kenntnis der stofflichen Eigenschaften der Systeme besser als bisher gelöst werden können. Eine Standardisierung dieser Modellprozesse sollte aber zu einem möglichst frühen Zeitpunkt erfolgen.

2.2.2.3 Sondertypen (Dialysereaktoren, Fest- und Fließbettreaktoren, Trommelreaktoren, Photoreaktoren, Hochdruckreaktoren usw.)

Gegenwärtiger Stand: Für Sondergebiete, z.B. zur Züchtung besonderer Mikroorganismen, von pflanzlichen und von tierischen Zell- und Gewebekulturen, sind bisher nur in Einzelfällen spezielle Reaktoren entwickelt worden, soweit eine Züchtung nicht in den in der technischen Mikrobiologie gebräuchlichen Bioreaktoren möglich war.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Entwicklung von Sondertypen für spezielle Verfahren sollte fortgesetzt werden. So könnten Bioreaktoren mit Dialysevorrichtungen zu einer Vereinfachung von Produktisolierungen (in besonderen Verfahren) führen. Photoreaktoren, in denen der Einfluss von qualitativ und quantitativ definierter Belichtung auf die Kultur ermittelt werden kann, sind auch unter dem Gesichtspunkt der Wirtschaftlichkeit (Energiekosten) zu betrachten. Die Entwicklung von Bioreaktoren für empfindliche tierische Zell- und Gewebekulturen sollte unter Berücksichtigung einer langen Kulturdauer (1 - 3 Wochen) und der dadurch besonderen Sterilhaltungsprobleme durchgeführt werden. Eine Wertung der Dringlichkeit zur Weiterentwicklung von Sondertypen ist bei der Differenziertheit der Problemstellungen jeweils von Fall zu Fall zu treffen.

2.2.3 Besondere Vorrichtungen und Ausstattung

Gegenwärtiger Stand: Armaturen, Wellendichtungen und Pumpen genügen nicht immer den besonderen Bedingungen der Sterilhaltung. Hier sind noch Verbesserungen notwendig.

Wünschenswerte Entwicklung: Verbesserungen von Armaturen, Wellendurchführungen usw. sollten im Zusammenhang mit der Entwicklung des Standard-Bioreaktors erfolgen. Dazu gehört auch die Schaummeßelektrode und die Erprobung mechanischer

Schaumabscheider bei verschiedenen Nährmedien und Reaktionen. Weiterhin eine Entwicklung von einwandfrei sterilisierbaren Armaturen und eines Bypass am Fermenter für Meß- und Kühleinrichtungen (vgl. 2.4).

2.3 Grundoperationen (unit operations)

Allgemeines: Viele Prozeßschritte und Apparate der Biotechnologie sind unspezifisch und in Funktion sowie Form identisch mit entsprechenden Teilprozessen und Apparaten der chemischen Verfahrenstechnik und Lebensmitteltechnik. Das gilt besonders für die Grundoperationen (Fördertechnik, Trenntechnik, Trocknungstechnik usw.). Bei bestimmten Verfahrensschritten innerhalb von Grundoperationen stellen jedoch biotechnologische Prozesse spezifische Anforderungen. Die wichtigsten Probleme sind in den folgenden Abschnitten 2.3.1 bis 2.3.4 dargestellt.

2.3.1 Rohstoffbehandlung

Gegenwärtiger Stand: Bestimmte, komplex zusammengesetzte, unreine Rohstoffe für biotechnologische Prozesse müssen vor ihrer Verwendung vorgereinigt werden, um schädliche Verunreinigungen zu entfernen. Ein bekanntes Beispiel dafür ist die Klärung von Melasse vor ihrer Verwendung für die Zitronensäurefermentation oder die Backhefeherzeugung. In letzter Zeit machen sich bei diesen Rohstoffen zusätzliche Verunreinigungen durch fermentationshemmende Rückstände bemerkbar, die im Rahmen der üblichen Klärmethoden nicht entfernt werden.

Wünschenswerte Entwicklung: Es gilt hier, neue Rohstoffbehandlungsmethoden zur Entfernung der Hemmstoffe und Prüfmethode auf Eignung der Rohstoffe zu entwickeln. Suche nach anderen billigen Rohstoffen, die eine Nachbehandlung nicht erfordern, sollte fortgesetzt werden.

2.3.2 Sterilisation

Gegenwärtiger Stand: Bei der konventionellen Hitzesterilisation von wässrigen Substratlösungen bilden sich häufig zellschädigende Erhitzungsprodukte, und es tritt eine partielle Zerstörung von Nähr- und Wuchsstoffen auf; feststoffhaltige Substratsuspensionen neigen dabei ausserdem zur Verkrustung der Wärmeaustauscherflächen. Die bisher bekannten alternativen Verfahren, bei deren Anwendung diese Nachteile nicht oder nicht in gleichem Masse auftreten, sind jedoch derzeit noch apparativ bzw. verfahrenstechnisch unvollkommen (Ultrakurz-Hocherhitzung, chemische Sterilisation).

Wünschenswerte Entwicklung: Schonende Sterilisation von feststoffhaltigen Nährmedien im Durchflussverfahren.

2.3.3 Produktisolierung

Gegenwärtiger Stand: Die Isolierung von biotechnologisch erzeugten Produkten setzt in der Regel eine Abtrennung der biologischen Zellen voraus. Für Zellen höherer Organismen und Pilze, einschliesslich Hefen, stehen leistungsfähige und wirtschaftlich vertretbare Abtrennmethoden in Form von Drehfiltern und Hefeseparatoren zur Verfügung. Für Bakterien sind zwar ebenfalls geeignete Hochleistungsseparatoren verfügbar, ihr Kraftbedarf ist jedoch ausserordentlich gross, so dass die Wirtschaftlichkeit mancher Fermentationsprozesse dadurch in Frage gestellt wird. Grundsätzlich ist die wesentlich billigere Möglichkeit der Ausflockung oder Ausfällung von Bakterien und Abscheidung mit Hilfe einfacher Drehfilter zwar bekannt, die verfahrenstechnischen Optimalbedingungen sind jedoch bisher noch nicht in ausreichendem Maße ermittelt worden.

Wünschenswerte Entwicklung: Verbesserung von Filtrations-, Ausflockungs- oder Ausfällungsverfahren. Verfahren zur Anreicherung und Reinigung von Produkten durch Extraktion und Ad-

sorption sind weiter zu verbessern (vgl. 3.1.1.1).

2.3.4 Besondere Techniken

Wünschenswerte Entwicklung: Für eine wirtschaftliche Isolierung von Zellinhaltsstoffen unter Vermeidung einer Proteindenaturierung ist der Energieaufwand wichtig. Im Rahmen der Bemühungen um die Herstellung von essbarem Reineiweiss aus "single cell - Material" spielt dieses Problem eine sehr grosse, vielleicht entscheidende Rolle. Das Problem ist auch für die Technologie der Isolierung von intrazellulären Enzymen von grosser Bedeutung. Forschungs- und Entwicklungsarbeiten auf diesem Sektor sollten bevorzugt gefördert werden.

Bedeutungsvoll ist weiterhin das Problem der Zelltrocknung unter Erhaltung der Enzymaktivität. Enzymatisch aktive Trockenzellen von Organismen stellen die billigste Form von trägergebundenen Enzymen dar. Die bisher überwiegend benutzten Methoden der Gefriertrocknung und, in bestimmten Fällen, der Lösungsmitteltrocknung sind sehr aufwendig, sie sollten weiter verbessert werden. Neuere Methoden der Ultrafiltration und Revers-Osmose sind in einigen Prozessen bereits mit Erfolg eingesetzt, die Weiterentwicklung sollte gefördert werden.

2.4. Meß- und Regeltechnik

Gegenwärtiger Stand: Bei der Ermittlung von Optimalbedingungen für biologische Stoffumsetzungen und der Einhaltung dieser Bedingungen im technischen Produktionsbetrieb spielt die automatische Meß- und Regeltechnik eine steigende Rolle. Dies hängt unter anderem damit zusammen, dass aus wirtschaftlichen Gründen ständig Maximalausbeuten angestrebt werden müssen, was nur bei Einhaltung sehr enger Optimalbedingungen möglich ist. Ausserdem bemüht sich die Industrie bei vielen biotechnologischen Prozessen, ebenfalls aus wirtschaftlichen Gründen, immer grössere Bioreaktoren einzusetzen. Der Wert einer Charge steigt proportional und muss durch eine angemessene meß- und regeltechnische Ausstattung gesichert werden.

Grundsätzlich sind die Prinzipien der Messung, Regelung und Steuerung bei biotechnischen Prozessen nicht anders als bei Prozessen der technischen Chemie oder der Lebensmitteltechnik. Die Kontrolle der Stoffumsetzungen in Bioreaktoren weist jedoch hinsichtlich der Forderungen, die an die Meß- und Regeltechnik zu stellen sind, einige Besonderheiten auf. Die Zahl der beeinflussenden und sich verändernden Prozessgrössen ist in der Biotechnologie ungewöhnlich gross. Viele dieser Parameter bleiben zur Zeit noch mangels Erkenntnissen über ihre kausalen Zusammenhänge oder mangels praktizierbarer Meßmethoden unberücksichtigt. Dazu zählen zum Beispiel die Konzentrationsveränderung bestimmter Substratbestandteile oder intermediärer Metabolite; bei vielen Fermentationsverfahren auch die Konzentrationsveränderungen des gelösten Sauerstoffs und des Kohlendioxids sowie die Veränderungen des Redoxpotentials. Üblicherweise werden in Bioreaktoren folgende Prozessgrössen meß- und regeltechnisch erfasst: Temperatur, pH-Wert, Luftdurchsatz, Schaumhöhe, Druck. Einige zusätzliche Grössen werden meist periodisch, in entnommenen Proben, - selten automatisch im Bioreaktor - kontrolliert (Substratkonzentration, Endproduktkonzentration).

Besondere Ansprüche werden auch an die Qualität und Stabilität der im Bioreaktor installierten Meßfühler gestellt. Bei vielen biotechnischen Prozessen ist ein sorgfältiger Schutz vor Infektionen durch Fremdkörper erforderlich; in der Regel wird dies durch Hitzesterilisation der Reaktoren vor Beginn des Chargenprozesses erreicht. Alle installierten Meßfühler müssen dabei mitsterilisiert werden ($120 - 135^{\circ}\text{C}$); sie müssen jedoch andererseits nach dem Abkühlen und Anlaufen des Prozesses bei der Arbeitstemperatur ($25 - 38^{\circ}\text{C}$) noch mit ausreichender Genauigkeit und Langzeitstabilität funktionieren. Bei den Fühlern für Temperatur, pH-Wert, Luftdurchsatz, Schaumhöhe und Druck werden die geforderten Voraussetzungen weitgehend erfüllt. Auch einige kommerziell hergestellte pO_2 -Elektroden genügen seit kurzem den Anforderungen.

Wünschenswerte Entwicklung: Auf Grund der zahlreichen Parameter biologischer Reaktionen, die sich bei den überwiegend üblichen Chargenprozessen zeitlich un stetig ändern und als Störgrößen auf eine gemeinsame Regelstrecke, nämlich den Prozess im Bioreaktor einwirken, ist in den meisten Fällen eine Prozessoptimierung nur durch Einsatz von Programmregelungen bzw. -steuerungen möglich. Hierzu ist normalerweise die Erarbeitung von Prozessmodellen mit Hilfe mathematischer Methoden erforderlich. Im Zusammenhang mit der Automatisierung sollte der Prozessrechner zur Meßwerterfassung und Prozessanalyse sowie für spezielle Regelungsaufgaben stärker als bisher eingesetzt werden.

Weitere Möglichkeiten zur Prozessoptimierung bieten Regelungs- und Steuerungssysteme, bei denen eine oder mehrere Schlüsselgrößen des Prozesses direkt oder indirekt als Leitgrößen für die automatische Veränderung der Stellgröße der anderen Parameter dienen. Die vielfältigen Möglichkeiten des Aufbaus solcher Systeme für biotechnische Prozesse sind derzeit noch wenig erforscht. Vorhaben mit diesem Ziel sollten angeregt und gefördert werden.

Bei den Meßfählern fehlt eine hitzesterilisierbare pCO_2 -Elek-

trode; nichtsterilisierbare Elektroden sind seit kurzem kommerziell erhältlich. Es fehlt ferner ein brauchbarer Fühler zur laufenden Registrierung der Zellkonzentration, der zum unmittelbaren Einbau in den Bioreaktor geeignet ist.

Die Entwicklung von konzentrisch angeordneten Lichtleitkabeln in stabförmiger Einbauform zur Messung der Zellkonzentration über eine Lichtreflektionsmessung bietet sich an. Zum Anschluß der verschiedenartigen kommerziell erhältlichen Analysenautomaten für die laufende Kontrolle von Substratbestandteilen und Stoffwechselprodukten fehlt derzeit noch eine brauchbare Zellabtrennvorrichtung, mit deren Hilfe über eine möglichst lange Zeit ein kontinuierlicher zellfreier Probestrom dem Bioreaktor entnommen und unmittelbar dem Analysenautomaten zugeführt werden kann.

Für die Korrelationsprobleme der verschiedenen Meßwerte zwecks Prozessoptimierung und -kontrolle werden Forschungs- und Entwicklungsarbeiten in den wissenschaftlichen Einrichtungen der biotechnologisch orientierten Industrie und in Forschungsinstituten erforderlich sein.

Im Zusammenhang mit den besonderen Meßproblemen der verfahrenstechnischen Grundlagenuntersuchungen sind sicherlich auch manche neuartigen Meßverfahren zu entwickeln.

3. Biologische Verfahren =====

3.1. Verfahren mit Mikroorganismen

Allgemeines: Hier werden die einzelnen Verfahren, die mit Mikroorganismen sowohl zur Herstellung von Biomasse als auch zur Herstellung von speziellen Produkten durchgeführt werden, dargestellt. Weiterhin sind mikrobielle Stoffumwandlungen in Einzelverfahren geschildert (3.1.4).

Der Durchführung jedes einzelnen Verfahrens geht ein Screening nach den geeigneten Mikroorganismen (vgl. 1.1.1) sowie eine Stammoptimierung (vgl. 1.1.3) voraus. Weiterhin muss der geeignete Bioreaktor für das Verfahren vorhanden sein bzw. entwickelt werden (vgl. 2.2). Grundlagen für die Verfahrenstechnik, Meß-, Regelungs- und Steuerungstechnik müssen ebenfalls erarbeitet sein (vgl. 2.1, 2.3 und 2.4). Die verwendeten Stämme müssen bei jedem Verfahren, häufig nach speziellen Methoden, konserviert werden (vgl. 1.1.2).

3.1.1 Mikrobielle Biomasse

Allgemeines, gegenwärtiger Stand: Die Herstellung mikrobieller Biomasse wird weltweit, besonders in den Industrienationen, intensiv bearbeitet, sowohl innerhalb als auch ausserhalb der Industrie. Dabei ist - abgesehen von den klassischen Verfahren wie z.B. Verhefung von Sulfitablaugen, Bäckerhefeherstellung - die Wirtschaftlichkeit dieser Verfahren, vor allem für die Gewinnung von ernährungsphysiologisch wertvollem Eiweiß noch offen. Die Frage der Wirtschaftlichkeit kann sich grundsätzlich jedoch ändern, wenn zur Herstellung von Biomasse ein anderweitig schwierig zu beseitigendes Abfallprodukt verwertet wird (vgl. 3.1.1.2).

Die Eiweißherstellung mit Mikroorganismen ist im Begriff, in

manchen Fällen aus dem Forschungsstadium in die großtechnische Produktion überzugehen. In anderen Fällen liegen bereits wissenschaftliche und technische Erfahrungen vor.

In der Bundesrepublik ist ein Forschungsvorhaben "Mikrobielle Proteingewinnung" mit Förderung des BMFT erfolgreich begonnen worden, in dem eine Versuchsanlage erstellt und betrieben werden soll. Von dieser Anlage aus soll dann der Schritt zur Großproduktion erfolgen.

Schwierigkeiten bei der Herstellung mikrobieller Biomasse ergeben sich

- a) aus der z.T. mangelnden Vollwertigkeit des Eiweisses,
- b) aus Schwierigkeiten bei der Abtrennung der Organismen aus den Kulturbrühen (bes. bei Bakterien und Algen),
- c) bei der Applikation und Abtrennung einzelner Substrate (z.B. der Paraffine),
- d) aus der Abtrennung unerwünschter Inhaltsstoffe (z.B. Purine und Toxine).

In den in der BRD bereits laufenden Forschungsprojekten wird die Berücksichtigung der angeführten Probleme angestrebt.

Vor einer Förderung neuer Vorhaben müssen die Ergebnisse der gegenwärtig in der BRD bereits vom BMFT geförderten Projekte abgewartet werden.

Wünschenswerte Entwicklung: Die intensive Tierproduktion (Kälber, Schweine, Hühner) ist nicht nur in der BRD, sondern auch in vielen anderen Ländern von einer billigen und zuverlässigen Fischmehllieferung abhängig. Die Weltmarktlage für Fischmehl ist z.Zt. durch eine Verknappung des Angebots gekennzeichnet. Im Augenblick sind die konventionellen Eiweißquellen noch zugänglich, lassen sich jedoch nicht beliebig vermehren. Es ist zu erwarten, daß in spätestens ein bis zwei Jahrzehnten eine Bedarfslücke in der Eiweißversorgung mit konventionellen Eiweißquellen besteht. Das Problem stellt einen wichtigen Ge-

sichtspunkt innerhalb des Rohstoffsicherungsprogramms dar.

Mikroorganismeneiweiss könnte Soja, Fischmehl u.a. konventionelle Eiweißquellen ersetzen und damit für die Tierproduktion eine erhebliche Bedeutung erlangen. Großinvestitionen lohnen sich darum voraussichtlich am ehesten für die Anwendungsgebiete in der Tierernährung, evtl. auch für menschliche Ernährung. Die gegenwärtige Situation erfordert also die Gewinnung von "know how" und die Entwicklung von Herstellungsverfahren, um die sich abzeichnende Bedarfslücke an konventionellen Eiweissquellen zu schliessen.

Daneben besteht das Problem der Verwertung anderweitig schwierig zu beseitigender Abfallprodukte. In jedem Fall sind dabei umfangreiche toxikologische und ernährungsphysiologische Untersuchungen notwendig. Dabei sollte nicht nur die Toxikologie der Mikroorganismen, sondern auch die Wirkung der mit den Substraten in das Protein gelangenden Substanzen berücksichtigt werden.

3.1.1.1 Organismen

a) Bakterien

Gegenwärtiger Stand: Das Bakterieneiweiß ist häufig vollwertiger für die tierische und menschliche Ernährung als das Eiweiß anderer Mikroorganismen, besonders das der Hefen. Methoden zur Massenzüchtung von Bakterien sind größtenteils bekannt, auch wenn diese in der Mehrzahl sehr kostenaufwendig sind.

Die Wirtschaftlichkeit einer Biomassegewinnung unter Anwendung von Bakterienkulturen hängt unmittelbar von der notwendigen Energie- und Kohlenstoffquelle ab. Wegen der Abhängigkeit von Lichtenergie ist der Einsatz photosynthetischer Bakterien gegenwärtig aus Kostengründen nicht rentabel, es kommen also nur chemoorganotrophe oder chemolithotrophe Organismen in Frage.

Ein besonderes Problem ist die noch nicht oder nur teilweise vorgenommene toxikologische Prüfung von Bakterien. Diese Fragestellung ist wegen toxischer Inhaltstoffe, die in Arten vieler Familien von Bakterien bekannt sind, sehr bedeutungsvoll.

Welchen Einfluß der hohe Anteil an Nucleinsäuren bei Bakterien auf den Körper der Warmblüter hat, muß noch weiter untersucht werden. Es bestehen wohlfundierte Aussichten, daß eine relativ einfache Nachbehandlung (Hitzebehandlung) der Bakterien den Nucleinsäuregehalt der Zellen stark herabsetzen kann.

Weitere Probleme ergeben sich aus der sehr kostenaufwendigen Abtrennung von Bakterien aus den Kulturbrühen und dem teuren Zellaufschluß.

Viele Bakterien werden nicht nur Verwendung als Proteinquelle, sondern wegen besonderer anderer Eigenschaften gezüchtet. Beispiele hierfür sind *Bacillus thuringiensis* als insektenpathogenes Bakterium, *Rhizobium*-Arten und andere N_2 -Fixierer zur Stickstoffbindung (vgl. 4.5.3). Die Züchtungstechniken solcher Bakterien sind zumeist bekannt.

Wünschenswerte Entwicklung: Voraussetzung für sämtliche Arbeiten über die Biomassegewinnung mit Bakterien müssen Untersuchungen über die toxikologische Unbedenklichkeit der betreffenden Arten sein. Weiterhin sind Arbeiten über die technische Abtrennung aus Kulturbrühen und den Zellaufschluß von Interesse. Z.B. wären verbesserte Filtrationssysteme, Fällungs- und Ausflockungssysteme oder Zentrifugen, die für Bakterien geeignet sind, zu entwickeln.

Arbeiten über die Proteinabtrennung aus Bakterien und über die Verarbeitung der Proteine sind, gleichzeitig mit Analysen über die Eiweißzusammensetzung, durchzuführen. Schließlich sollten Möglichkeiten zur Herabsetzung des Nucleinsäuregehaltes der Bakterienzellen, z.B. eine kontinuierlich und automatisch arbeitende Anlage zur Hitzebehandlung der Bakterienzellen, entwickelt werden.

Da es bei Bakterien relativ einfach ist, Mutanten zu gewinnen, sollte die Züchtung von Bakterien mit ernährungsphysiologisch hochwertigem Eiweiß und mit möglichst wenig unverdaulichen Inhaltsstoffen versucht werden.

Zur Züchtungstechnik ist die Entwicklung eines zuverlässigen automatischen Systems zur Erfassung wichtiger Daten wachsender Kulturen, gekoppelt mit der Datenerfassung, sehr wünschenswert (vgl. 2.4).

Bakterien mit besonderen Eigenschaften sind in Zukunft sehr bedeutungsvoll. Eine Entwicklung läßt sich gegenwärtig nur unvollständig absehen, da hier vorwiegend Grundlagenforschung notwendig ist (vgl.a.4.5.3).

b) Hefen

Gegenwärtiger Stand: Für die technische Herstellung von Hefebiomassen liegen sehr viele Erfahrungen vor, sowohl für konventionelle Kohlenstoffquellen als auch für nichtkonventionelle Kohlenstoffquellen. Hefezellen sind ein Lebensmittel, so daß zumindest bei den Arten, die sich von *Saccharomyces cerevisiae* ableiten, nach dem gegenwärtigen Stand der Kenntnisse keine toxikologischen Untersuchungen notwendig sind. Inwieweit die bereits technisch verwendeten Arten von *Candida* und *Torula* toxikologisch unbedenklich sind, ist nicht vollständig geklärt.

Der hohe Nucleinsäuregehalt und die vom tierischen Protein z.T. unterschiedliche Aminosäurezusammensetzung des Hefeproteins begrenzen vorläufig noch die Anwendbarkeit von Hefeprotein als vollen Ersatz für tierisches Protein, z.T. sind Supplementierungen notwendig, um ein vollwertiges Proteinfutter zu erhalten.

Backhefe wird überwiegend noch im Chargenprozeß erzeugt, Kon-

tinuierliche Verfahren setzen sich vor allem aus wirtschaftlichen Gründen nur zögernd durch.

Wünschenswerte Entwicklung: Es sollte versucht werden, Heferasen mit einer günstigen Proteinzusammensetzung hinsichtlich der Eiweißqualität und einem geringen Nucleinsäuregehalt zu züchten. Weiterhin sind Heferassen von Interesse, die in der Lage sind, nicht nur geradkettige, sondern auch verzweigte Alkane vollständig zu verwerten.

Für die Züchtungstechnik sind sicherlich Fragen der Aufnahme von unkonventionellen Kohlenstoffquellen durch die Hefezellen, sowie damit verbundene Fragen zur rationellen Sauerstoffzufuhr und -aufnahme und zu den energetischen Verhältnissen bei der Hefezüchtung bedeutungsvoll.

Für die Züchtung von Backhefen ist die Optimierung kontinuierlicher Züchtungsverfahren interessant.

c) Fruchtkörper bildende Pilze (z.B. Basidiomyceten)

Gegenwärtiger Stand: Von myzelbildenden Pilzen werden bisher nur die Fruchtkörper in "gärtnerischen Verfahren" in wirtschaftlich bedeutendem Ausmaß produziert (vgl. 4.1.2.4). Es ist bisher noch nicht gelungen, diese Speisepilze in Fermentern anzuziehen, da in Submerskulturen keine Fruchtkörper entstehen. Hinzu kommt noch, daß nicht systematisch untersucht wurde, ob die Aromastoffe, welche die Speisepilze zu einem begehrten Genußmittel machen, auch von den Myzelien ausgebildet werden können.

Zwar liegen vage Anhaltspunkte vor, daß man in Submerskulturen (z.B. bei Morchella) manchmal stromartige Gebilde erhält. Es ist jedoch völlig ungewiß, ob dies Fruchtkörperanlagen oder nur "Artefakte" sind, deren Entstehung durch das Kulturverfahren bedingt ist.

Es kommt noch hinzu, daß einige der Speisepilze (z.B. Tuber) Mykorrhizapilze sind, deren Myzelien zwar in vitro kultiviert werden können, aber so langsam wachsen (etwa 5 mm/Woche), daß weder "Myzelmasse" produziert wird noch jemals Fruchtkörper gefunden wurden.

Wünschenswerte Entwicklung:

- 1) Screening von Wildstämmen im Hinblick auf Wachsrates, Myzelproduktion und Aromastoffe;
- 2) genetische Bearbeitung von geeigneten Stämmen im Sinne einer konzertierten Züchtung, d.h. nicht nur Anwendung von Mutation und Selektion zur Ertragssteigerung verwenden, sondern auch Rekombination unter Einbeziehung des sexuellen oder bei imperfekten Formen des parasexuellen Zyklus. Nur auf diese Weise kann man durch gezielte Neukombination zu guten und auch stabilen Produzenten gelangen.
- 3) Alterungserscheinungen (Seneszenz), die zu Produktionsschwächen und letztlich zum Absterben der Myzelien nach längerer vegetativer Vermehrung führen, können nur behoben werden, wenn man das Material "genetisch in der Hand" hat.
- 4) Ausarbeitung geeigneter technischer Verfahren zur Züchtung der o.g. Pilze.

d) Algen

Gegenwärtiger Stand: Neben den USA, Japan, Israel, Bulgarien, der CSSR, Frankreich und Italien gehört die Bundesrepublik Deutschland zu den Ländern, die augenblicklich auf dem Gebiet der angewandten Algenforschung tätig sind. Viele Arbeiten werden hier in der Kohlenstoffbiologischen Forschungsstation, Dortmund, durchgeführt.

Mit der technischen Herstellung mikrobieller Biomasse aus Algen werden 3 Ziele verfolgt:

- 1) Gewinnung eines proteinreichen menschlichen Nahrungsmittels.
- 2) Mikroalgen bei der Abwasserreinigung (vgl. 4.4). Algenkulturen können in Abwasseranlagen dem bereits gereinigten Abwasser im Vorfluter störende Phosphat- und Stickstoffmengen entziehen, so daß eine Eutrophierung der nachfolgenden Gewässer verhindert wird. Der Entwicklungsstand technischer Anlagen ist z.B. in den USA und Israel bereits sehr hoch.
- 3) Herstellung von Naturstoffen.
Aus Algenzellen lassen sich verschiedene wertvolle Stoffwechselprodukte gewinnen, die aus anderen Mikroorganismen oder Organismen nicht erhalten werden können. In anderen Ländern wird aus diesen Gründen Algenbiomasse erzeugt (z.B. Japan und Taiwan).

Wünschenswerte Entwicklung: Der hohe Preis des Algenproteins ist im wesentlichen durch die hohen Baukosten bei der Herstellung von Algenzuchtbecken und durch die aufwendige Verarbeitung der Algenmasse bedingt. Eine Entwicklung billiger Anlagen und billiger Aufbereitungsverfahren der Algenbiomasse ist anzustreben.

Weiterhin ist zu prüfen, ob sich Abwasserverfahren zur Beseitigung von Phosphaten und Stickstoff und zur gleichzeitigen Mikroalgen-Massenproduktion für die BRD eignen.

Mixotrophe Systeme im sog. Recycling-System mit Algenzellen sollten zur Ausnutzung und Beseitigung von Abfällen aus der tierischen Massenproduktion entwickelt werden. Wünschenswert ist auch die Entwicklung von neuen Produkten aus Algen.

e) Proteingewinnung aus mycelbildenden Pilzen

Gegenwärtiger Stand: Es werden besonders Moniliales-Mycelien

zur Extraktion von Rohproteinen verwendet. Die Ausbeute liegt bei 45 bis 50% Rohprotein aus getrocknetem Mycel. Der RNS-Gehalt ist mit 8% noch sehr hoch. Es ist jedoch möglich, eine RNS-Reduktion vorzunehmen. Die Pilze werden mit Stärke, Zucker und industriellen Abläufen gezüchtet. Das Protein ist anscheinend nicht toxisch und soll dem Magermilchprotein entsprechen. Bisher wird in England und den USA an diesen Fragestellungen gearbeitet. Die Anwendung der Verfahren wird bereits diskutiert.

Wünschenswerte Entwicklung: In kleinen Gruppen sollte das "know how" für derartige Verfahren gewonnen werden. Bedeutungsvoll sind evtl. Verfahren, bei denen eine Proteingewinnung aus Abfallmycelien, z.B. aus der Antibiotikaproduktion möglich ist. Die toxikologische Frage wird bisher offenbar sehr optimistisch eingeschätzt, so daß auch hier Grundlagenuntersuchungen nötig sind.

3.1.1.2 Energiequellen

a) Autotroph und chemoorganotroph

Gegenwärtiger Stand: Aus der Gruppe der chemoorganotroph wachsenden Bakterien sind solche Arten zur Biomassegewinnung aussichtsreich, die Methan, Methanol, Äthanol, Essigsäure oder Abfallprodukte als Kohlenstoff- oder Energiequelle verwerten können.

Knallgasbakterien verwenden Sauerstoff und Wasserstoff zur Energiegewinnung und CO_2 als alleinige Kohlenstoffquelle. Die Züchtung der Mikroorganismen in einem Gemisch der drei genannten Gase gibt wegen deren Explosivität viele Probleme auf. Trotzdem hat diese Züchtungsmethode einige Vorteile, u.a. Unabhängigkeit von organischen Verbindungen, die toxikologische Unbedenklichkeit der Ausgangsmaterialien und das relativ schnelle Wachstum der Zellen (Generationszeit von ca. 150 Minuten). Bei Knallgasfermentationen muss eine billige H_2 -Quelle

le vorhanden sein. In der Raumfahrt z.B. bieten sich solche speziellen Systeme an.

Ob eine CO₂-Entfernung aus Abluft in naher oder ferner Zukunft zur Abwendung der CO₂-Anreicherung in der Atmosphäre notwendig wird, kann noch nicht entschieden werden (vgl. auch Algen).

An mehreren Stellen der Erde wird über die genannten Probleme gearbeitet, ganz besonders über Probleme der Biomassegewinnung aus Methan, Methanol, Essigsäure etc.

Wünschenswerte Entwicklung: Da Biomassegewinnung aus Methan, Methanol und aus Knallgas bereits vom BMFT gefördert wird, ist hier ein Akzent gesetzt. Die Biomassegewinnung aus Industrieabfällen sollte einen Vorrang haben, da damit das später (4.4) dargestellte Problem der Beseitigung von Abfallstoffen gelöst wird.

b) Mixotroph (einschliesslich Cooxidation)

Gegenwärtiger Stand: Mixotrophe Systeme sind gegenwärtig, abgesehen von Startersystemen, nur für Algenkulturen in Betrieb. Sie sind einmal besonders für Abwasserprobleme geeignet, zum anderen für sog. Recycling-Systeme.

Algensysteme werden allgemein in unseren Breiten weniger als autotrophe, sondern vielmehr als mixotrophe oder heterotrophe Systeme Verwendung finden.

An verschiedenen Stellen der BRD wird über mixotrophe Algenkulturen gearbeitet.

Wünschenswerte Entwicklung: Mixotrophe Systeme zur Abwasserklärung sind ebenso wie Recycling-Systeme von einer gegenwärtig noch nicht abzusehenden, wahrscheinlich ausserordentlich grossen Bedeutung.

c) Heterotroph

Wünschenswerte Entwicklung: Da der gegenwärtige Stand bereits unter der allgemeinen Biomasseherstellung ausführlich dargestellt wurde, ist hier nur die wünschenswerte Entwicklung hinsichtlich der C-Quellen darzustellen. Konventionelle C-Quellen sind nur sinnvoll anzuwenden, wenn Massen billigst anfallen. Sobald sich ein anderer Verwendungszweck ergibt, ist eine Biomasseherstellung ohne Interesse.

Verfahren, die zur Herstellung von Biomasse anderweitig nicht wegzuschaffende Substrate verwenden, die damit also Abfallprobleme lösen, sind äusserst wichtig. Hierzu gehören Verfahren zur Herstellung von Biomasse aus Zellulose und zur Beseitigung von Dung aus der Massenviehzucht (bes. Schweine- und Hühnerzucht).

Auch Verfahren zur Proteingewinnung aus vorhandener Biomasse (Abwasserschlamm und Faulschlamm, evtl. auch Fermentationsabfälle) sind zu fördern.

Nach gegenwärtigen Informationen ist die Verwendung von Alkanen zur Biomassegewinnung noch in Diskussion. Dabei ist ein besonderes Augenmerk auf die Vermeidung einer Anreicherung toxischer und cancerogener Substanzen zu richten. Toxikologische Untersuchungen müßten hier im Vordergrund stehen.

3.1.2. Hochmolekulare Zellprodukte

3.1.2.1. Zellpartikel

Gegenwärtiger Stand: Hinsichtlich von Zellpartikeln bzw. abgetöteten Zellen kommen *Bacillus thuringiensis* und *B. popilliae* in Frage. Über Bakterienzellwände ist eine praktische Anwendung kaum vorauszusehen (vgl. 3.1.1.1).

Wünschenswerte Entwicklung: Abgesehen von *Bacillus thuringien-*

sis und *B. popillae* (vgl. Insektizide) ist keine große Entwicklungsmöglichkeit vor auszusehen.

3.1.2.2 Proteine

a) Technische Enzyme (vgl. 3.3)

Gegenwärtiger Stand: Die Herstellung vieler technischer Enzyme wird bereits praktiziert. Dies gilt besonders für Amylasen, Amyloglukosidasen, Proteasen, Pektinasen, Invertasen, Katalasen, Glukoseoxidasen u.a. Wegen ihrer Umweltfreundlichkeit werden Enzyme in Zukunft zur Reinigung und Beseitigung von Abfallstoffen jeder Art verwendet werden können.

Wünschenswerte Entwicklung: Die billige Herstellung von solchen Enzymen, die gegenwärtig nur mit hohem Kostenaufwand produziert werden können, z.B. Cellulasen, Glucoamylasen, ist anzustreben. Weiterhin werden von Fall zu Fall technische Enzyme entwickelt werden müssen, wenn sich ein Bedarf herausstellt. Daneben sind Arbeiten über den enzymatischen Abbau von Abfallstoffen, z.T. auch in Abwasseranlagen, wünschenswert.

b) Pharmazeutisch verwendete Enzyme

Gegenwärtiger Stand: Verdauungsenzyme werden z.Zt. überwiegend aus Tieren und Pflanzen gewonnen. Mit diesen Enzymen ist eine Vollsubstitution möglich. Die Entdeckung der Antilymphomwirkung der Asparaginase hat evtl. ein neues Feld der Krebstherapie eröffnet. Die Auffindung von fibrinolytischen Enzymen ermöglicht den Abbau von Blutgerinnseln im Kreislauf.

Wünschenswerte Entwicklung: Für beide oben genannten Indikationen wären Enzyme mit spezifischer Wirkung und möglichst geringen Nebenwirkungen erwünscht.

Bei Asparaginase sind Entwicklungen mit Mikrokapseln im Gange, bei fibrinolytischen Enzymen werden Kinasen gesucht, die

keine unspezifische proteolytische Wirkung zeigen.

c) Analytische Enzyme (vgl. 3.3.4)

d) Enzyminhibitoren.

Gegenwärtiger Stand: In tierischen und pflanzlichen Organen und auch in Mikroorganismen kommen Proteine vor, die Hydrolasen und auch eine Oxidoreduktase mehr oder weniger spezifisch zu hemmen vermögen. Am besten untersucht ist die Gruppe der Protease-Inhibitoren, daneben liegen einige Arbeiten über Glucosidasen und Lipasen vor. Einige Protease-Inhibitoren haben eine gewisse medizinisch-therapeutische Bedeutung.

Wünschenswerte Entwicklung: Es ist denkbar, daß solche natürlich vorkommenden Inhibitoren-Proteine zur Steuerung enzymatischer Vorgänge, z.B. bei lebensmitteltechnischen oder biotechnischen Prozessen, verwendet werden können. Zur Zeit sind aber mögliche Entwicklungen schwer abschätzbar.

3.1.2.3 Nucleinsäuren

Im Moment vorwiegend wissenschaftliches Interesse ohne praktische Anwendung (Doppelstrang-RNS als Interferoninduktor).

3.1.2.4 Polysaccharide

a) Technische Verwendung:

Gegenwärtiger Stand: Abgesehen von Alginaten werden die meisten Rohstoffe für Dickungsmittel aus nichtmikrobiellen Pflanzen gewonnen. Mikrobielle Herstellungsverfahren werden in Japan, Kanada und den USA mit Anfangserfolgen versucht. Bei diesen Verfahren handelt es sich einerseits um Züchtung verschiedener, bisher nicht als Mikroorganismen angesehener Algenarten mit mikrobiellen Methoden und andererseits um Züchtung einer

großen Anzahl von Mikroorganismen zur Polysaccharidgewinnung. Die Polysaccharide haben zum Teil sehr unterschiedliche Eigenschaften.

Wünschenswerte Entwicklung: Es ist nicht absehbar, ob eine wirtschaftliche Züchtung dieser "Makroalgen" mit mikrobiologischen Methoden gelingt. Ein Markt ist für Dickungsmittel vorhanden, auch für Produkte mit neuen Eigenschaften. Die Verwendung anderer mikrobieller Polysaccharide für diese Zwecke kann von Interesse sein, wenn es gelingt, in technischem Ausmaß wirtschaftlich zu arbeiten. Die toxikologischen Fragen sollten geklärt werden.

b) Pharmazeutische Verwendung:

Gegenwärtiger Stand: Bisher haben in der Pharmazie nur Dextrane als Plasmaersatzstoffe eine Verwendung gefunden. Die Entwicklung von Herstellungsverfahren mit *Leuconostoc*-Arten aus Saccharose sind seit langem bekannt und gut ausgearbeitet. Ebenso ist es mit Verfahren, die Enzymsysteme aus diesen Bakterien verwenden (vgl. Mikroalgen).

Wünschenswerte Entwicklung: Weitere Arbeiten für die Dextranherstellung sind nur dann sinnvoll, wenn grundsätzlich neue Verfahrenstechniken angestrebt werden. Ob weitere Polysaccharide für andere medizinische Zwecke verwendbar sind (z.B. als pyrogene Substanzen) muß in Grundlagenforschung, evtl. mit anwendungstechnischer Ausrüstung geklärt werden.

3.1.3 Niedermolekulare Zellprodukte

(in der Regel klar definierte Produkte)

3.1.3.1 Primäre Stoffwechselprodukte

Allgemeines: Die biologische Herstellung primärer Stoffwechselprodukte steht in Konkurrenz zu chemischen Produktionsverfahren bzw. zur Isolierung aus natürlichen Rohstoffen. Bei

primären Stoffwechselprodukten, die keine oder nur ein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthalten, besteht die Möglichkeit einer Konkurrenz der chemischen Synthese. Häufig sind mikrobiologische Verfahren auch deshalb wenig sinnvoll, weil aus anderen Substanzen, die bereits mikrobiologisch hergestellt werden, das betreffende Produkt chemisch gewonnen werden kann (z.B. Oxalsäure, Itaconsäure, Aconitsäure aus Zitronensäure).

Neue Verfahrensentwicklungen sind dann sinnvoll, wenn sie von völlig neuen Voraussetzungen ausgehen (z.B. Verwendung neuer C-Quellen, die eine Wirtschaftlichkeit erwarten lassen, vgl. 4.5.9.2).

a) Aliphatische Alkohole, Ketone und organische Säuren

Gegenwärtiger Stand: Neben der billigen chemischen Herstellung existieren vielfach mikrobiologische Verfahren, die sich oft nur aus volkswirtschaftlichen oder historischen Gründen erhalten haben. In einer Reihe anderer Fälle sind mikrobiologische Herstellungsverfahren entwickelt worden, deren Wirtschaftlichkeit mehr oder weniger wechselnd ist. Dies gilt u.a. für Äthanol, Butanol, Aceton, Essigsäure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Fumarsäure.

Die Konkurrenzsituation zwischen chemischer Synthese und Fermentation hat sich inzwischen auf Grund der sprunghaft gestiegenen Erdölpreise stark verändert. Infolgedessen ist die fermentationstechnische Herstellung für eine ganze Reihe der Alkohole, Ketone und Säuren wieder interessant, in verschiedenen Fällen sogar billiger als die Synthese. Dies gilt besonders dann, wenn für die Fermentationen preisgünstige Rückstände oder Abläufe verwendet werden können, die bei der Verarbeitung landwirtschaftlicher Produkte anfallen.

Es bestehen z.T. Pläne, die vor ca. 25 Jahren wegen des Preisdrucks der Syntheseindustrie aufgegebenen fermentationstechnische Herstellung von Butanol/Aceton mit großen Produktionska-

kapazitäten wieder aufzunehmen. Kleinere Butanol/Aceton-Anlagen sind auch bisher schon in der Sowjetunion und Polen weiterbetrieben worden, eine Neuanlage wurde von 12 Jahren in Ägypten errichtet.

Als durchaus realistisch müssen auch Pläne angesehen werden, Gärungs-Äthanol in großtechnischem Maßstab auf chemischem Weg zu Äthylen zu reduzieren, um auf diese Weise eine neue und eventuell billigere Möglichkeit für die Produktion dieses wichtigen Chemierohstoffs zu eröffnen.

Von der Kostenseite her verspricht jetzt der während des letzten Weltkrieges in den USA entwickelte Prozess zur fermentations-technischen Gewinnung von 2,3-Butandiol und anschließender chemischer Reduktion dieses Produkts zu Butadien wieder interessant zu werden.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Bearbeitung der mikrobiologischen Herstellung vieler dieser Produkte ist durch Institute gesichert. Häufig bestehen sogar große Kapazitäten (Lebensmittel vgl. 4.1).

Die weitere Entwicklung dieses Gebiets sollte für die Bundesrepublik Deutschland vor allem unter zwei wichtigen Gesichtspunkten betrachtet werden: 1) Einfluß auf die Sicherung der einheimischen Versorgung mit Chemierohstoffen. 2) Möglichkeiten einer weltweiten Beteiligung der deutschen Apparatebauindustrie an der Planung und am Bau neuer Fermentations- und Weiterverarbeitungsanlagen (vgl. bes. 4.5.9.2 und 4.5.9.3).

Mikrobiologische Herstellungsverfahren für Glycerin werden in den USA gegenwärtig mit osmophilen Hefen praktiziert. Ältere Verfahren (z.B. Sulfitverfahren) haben in wirtschaftlicher Hinsicht - ausser in Kriegszeiten - bisher keine Anwendungschance.

Wegen der gegenwärtig starken Überproduktion von Fetten und

der schwierigen Aufarbeitungsverfahren für mikrobiologisch gewonnenes Glycerin kann die Herstellung dieses Produkts mit osmophiler Hefe in der Bundesrepublik nur sehr geringe Ausichten auf Wirtschaftlichkeit, also auf praktische Anwendung haben.

Für 2,3-Butylenglykol ist die Entwicklung nicht abzusehen. Ähnliches gilt für eine Erzeugung von Mannit, Erythrit u.a. Polyalkohole mit osmophilen Hefen. Gluconsäure wird mit sicheren mikrobiologischen und chemischen Verfahren hergestellt. Zitronensäure wird in Oberflächen- und Submersverfahren mit *Aspergillus niger* hergestellt. Eine Herstellung aus Alkanen und Methanol mit *Candida*-Arten wird an vielen Stellen bearbeitet. Verfahren mit Hefen und anderen Mikroorganismen sowie mit unkonventionellen C-Quellen sind aussichtsreich. Wegen des großen und steigenden Marktes sind Entwicklungen sehr interessant.

Weitere Alkohole und organische Säuren sind potentiell mit bekannten mikrobiologischen Verfahren herstellbar. Eine Förderung wäre nur bei entsprechendem Markt zu empfehlen.

b) Aminosäuren, Nucleotide, Nucleoside und Nucleotidbasen

Die mikrobiologische Herstellung der genannten Substanzen ist - wenn sie sich nicht chemisch herstellen lassen - nahezu ausschließlich durch japanische Entwicklungen so weit getrieben, dass die Ausarbeitung neuer Verfahren nur in speziellen Fällen sinnvoll erscheint. Z.T. fehlt auch der Markt in Mitteleuropa.

c) Lipide und langkettige Fettsäuren

Gegenwärtiger Stand: Verschiedene Mikroorganismen, besonders Hefen und Pilze sind zur Lipidbildung befähigt. *Lipomyces* und *Rhodotorula* können Lipidgehalte zwischen 40 und 74% der Zelltrockengewichte aufweisen. Die Fettsäurezusammensetzung der Triglyceride entspricht in vielen Fällen der der pflanzlichen

Fette. Besonders in Notzeiten ist ein beachtliches "know how" auf diesem Gebiet angesammelt worden. Gegenwärtig arbeiten nur wenige Gruppen in England und den USA über die Herstellung lipidreicher Mikroorganismen aus konventionellen Kohlenstoffquellen.

An vielen Stellen in Japan, den USA, Frankreich, England und der Bundesrepublik Deutschland werden Lipide von Mikroorganismen, die auf Alkanen gewachsen sind, untersucht. Eine praktische Verwertung ist hier gegenwärtig nicht zu erwarten.

Die mikrobiologische Gewinnung langkettiger Fettsäuren, besonders aus Paraffinen, wird an vielen Stellen versucht, da zwischen den Kettenlängen der eingesetzten Paraffine und den daraus durch Mikroorganismen gebildeten Fettsäuren dann eine enge Korrelation besteht, wenn eine terminale mikrobielle Oxidation durchgeführt wird. Die Ausbeuten sind wegen der Weiteroxidation durch die Mikroorganismen zumeist sehr gering, eingesetzte Paraffine in Reinsubstanzen sehr teuer.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Herstellung von Lipiden ist wegen des großen Fettüberschusses gegenwärtig nicht von Interesse. Forschungsarbeiten auf diesem Gebiet sind wünschenswert.

Die Herstellung von langkettigen Fettsäuren hat z.B. bei C₁₈-, C₁₂- und C₈- bis C₁₁-Säuren mehr oder weniger großes Interesse. Die genannten Fettsäuren können gegenwärtig aber leicht aus anderen Substraten (z.B. Tallöl, Kokosöl, Talg u.a.) hergestellt werden, so daß eine mikrobielle Herstellung im Augenblick in industriellem Maßstab nicht interessant ist.

Grundlagenforschungen auf diesem Gebiet sind sehr wünschenswert.

d) Vitamine und Provitamine

Gegenwärtiger Stand: Vitamin B₁₂ wird ausschließlich mikrobiologisch

logisch hergestellt. Die Verfahren sind voll entwickelt. Für Riboflavine liegen chemische und mikrobiologische Synthesen vor. Für B₆ und Biotin werden chemische Synthesen angewandt. Mikrobiologische Herstellungsverfahren sind vorgeschlagen. Der Markt ist begrenzt.

Die einfachen Carotinoide werden chemisch rentabel hergestellt. Viele mikrobiologische Verfahren sind ohne wirtschaftlichen Erfolg beschrieben.

Dagegen sind hydroxylierte Carotinoide chemisch schwer zugänglich und haben z.B. als Lebensmittelfarbstoffe und Futtermittelzusatzstoffe einen Markt.

Verfahren zur vollbiosynthetischen Herstellung von Vitamin C sind bisher unökonomisch. An vielen Stellen wird an solchen Verfahren gearbeitet. Der Preis der halbsynthetischen Ascorbinsäure ist jedenfalls so niedrig, daß die Ausarbeitung eines voll mikrobiologischen Verfahrens sich kaum lohnt.

Wünschenswerte Entwicklung: Von Interesse sind halbsynthetische B₁₂-antagonistische Substanzen. Derartige Arbeiten sind nur dann wirtschaftlich bedeutungsvoll, wenn die Wirkungen pharmakologisch ausgetestet werden.

Für hydroxylierte Carotinoide sind mikrobiologische Verfahren aussichtsreich und sollten wegen des großen Marktes gefördert werden. Nicht interessant ist die mikrobiologische Herstellung sämtlicher anderer Vitamine, sofern nicht völlig neue und billige Herstellungsverfahren entwickelt werden. Dies gilt auch für Vitamin C, das als Antioxidans einen sehr großen Markt besitzt und hier möglicherweise am ehesten in Frage käme. Grundlagenuntersuchungen über diese Fragestellungen sind sicherlich sehr wertvoll.

e) Wuchsstoffe

Gegenwärtiger Stand: Unter den pflanzlichen Wuchsstoffen nehmen die Gibberelline (ca. 25 Derivate sind bekannt) eine grosse Bedeutung ein. Diese als Pflanzenhormone wirkende Substanzen rufen während der Keimung vieler Samen eine starke Aktivitäts-

zunahme amylolytischer und proteolytischer Enzyme hervor, so daß die Keimruhe aufgehoben und eine Keimungsförderung erzielt wird. Sie werden in verschiedenen Industrien, z.B. in der Mälzerei, auch im Obst- und Gemüsebau u.a. angewandt. Eine weitere Steigerung der Gibberellinsäureherstellung hängt von der Erschließung neuer Anwendungsgebiete ab.

Wünschenswerte Entwicklung: Erforschung weiterer Anwendungsgebiete der Gibberellinsäure. Dies ist eine Aufgabe des BML.

Da das technische know how für die Herstellung geringer Mengen Gibberellinsäure im Ausland vorliegt, wäre in Deutschland nur eine Forschungsstelle mit kleintechnischer Ausrüstung zur Isolierung guter Gibberellinsäurebildner interessant. Evtl. könnte eine solche Stelle auch den inländischen Bedarf decken. Interessant wäre sicherlich auch die Suche nach weiteren Wuchsstoffen aus Mikroorganismen mit ähnlichen oder abgewandelten Wirkungen.

3.1.3.2 Sekundäre Stoffwechselprodukte

- a) Antibakterielle Metabolite
- . für Zwecke der Medizin

Gegenwärtiger Stand: Auf diesem klassischen Gebiet der Antibiotikaforschung ist gegenwärtig bereits ein hoher Stand erreicht worden. Besondere Probleme stellen die häufig auftretenden polyresistenten Enterobacteriaceen, Pseudomonadaceae und Staphylococcen wegen episomaler Multiresistenz dar. Es handelt sich hierbei um die sogenannten Problemkeime.

Wünschenswerte Entwicklung: Als wünschenswert ist hier die Entwicklung neuer Wirkstoffe resp. chemisch modifizierter bereits bekannter antibakterieller Substanzen anzusehen. Die pharmazeutische Industrie schenkte diesen Problemen die notwendige Aufmerksamkeit.

-. für den Pflanzenschutz

Gegenwärtiger Stand und wünschenswerte Entwicklung: Pflanzenpathogene Bakterien spielen heute eine große und zunehmende Rolle. Es existieren noch keine Antibiotika zu ihrer Bekämpfung, die nicht bereits in der Humanmedizin angewandt werden. Ein Beispiel ist *Erwinia amylovora*. Das hiergegen in anderen Ländern verwendete Streptomycin gibt zu grossen Bedenken Anlass (Allergie, Resistenz). Es muss unbedingt eine andere Substanz gefunden werden. Dies ist aber schwierig, da *Erwinia* nahe dem *E.coli* und Salmonellen verwandt ist.

-. für die Veterinärmedizin

Wünschenswerte Entwicklung: Da in der Veterinärmedizin in zunehmendem Maße Antibiotika für therapeutische und eventuell prophylaktische Zwecke eingesetzt werden und eine Kontrolle sehr schwierig ist, wäre es wünschenswert, wenn hier besondere Antibiotika, die in der Humanmedizin nicht verwendet werden und auch keine Kreuzresistenz zu Antibiotica der Humanmedizin oder R-Faktorenübertragung aufweisen, zur Verfügung ständen.

-. für die Tierernährung

Gegenwärtiger Stand: Im Hinblick auf das Proteindefizit in der Welterernährung kann auf nutritive Wirkstoffe in der Tierfütterung nicht verzichtet werden. Heute werden in sehr großem Maße Tetracyclin, Penicillin, Bacitrazin, Macrolide, Streptomycinverwandte Wirkstoffe, Flavomycin eingesetzt. Mit Ausnahme von Flavomycin sind dies alles Stoffe, die selbst oder deren Derivate in der Medizin angewandt werden. Am häufigsten werden Tetracycline verwendet, die zur Selektion multiresistenter Enterobacteriaceen führen. Viele Firmen (z.B. in den Niederlanden und Japan) befassen sich mit der Herstellung nutritiver Wirkstoffe.

Wünschenswerte Entwicklung: Nutritive Wirkstoffe zur Tierfütterung sind dringend erwünscht. Sie müssen den folgenden Anforderungen genügen:

1. Gute nutritive Wirkung bei geringer Toxizität.
2. Keine Hemmwirkung von gramnegativen Keimen und damit keine Selektion multiresistenter Enterobacteriaceen.
3. Keine Verwendung (auch nicht von Derivaten) in der Humanmedizin.

In der Annahme, daß die Hemmung von Clostridien für den nutritiven Effekt verantwortlich sei, liegt ein Ansatz zu gezielter Suche.

-. in der Lebensmittelindustrie

Gegenwärtiger Stand: Verschiedene Antibiotica, z.B. Tetracycline, werden zur Unterstützung der konservierenden Wirkung besonders bei Kältelagerung und Beeisung angewandt. Auch hier gilt das oben Gesagte hinsichtlich der Resistenzausbildung und der Bildung von Kreuzresistenz gegen pathogene Mikroorganismen.

Wünschenswerte Entwicklung: Eine wünschenswerte Entwicklung besteht in der Suche nach Substanzen, die zur Fischbeeisung (Zusatz zum Eis, in das die Fische eingelagert werden), zur möglichen Verhinderung von Salmonellenentwicklungen in gefrorenem Geflügel und zur Verhinderung von toxinbildenden Bakterien auf Lebensmitteln, z.B. auf Käse, geeignet sind.

b) Antifungale Metabolite

-. für Zwecke der Humanmedizin

Gegenwärtiger Stand: Für lokale Anwendung stehen mehrere Antibiotica und auch Synthetica zur Verfügung. Für die orale Anwendung gegen Dermatophyten erfüllt das Griseofulvin viele Wünsche, resistente Keime sind bisher kaum aufgetreten und

und auch nicht rasch zu erwarten. Die Grenze der Griseofulvinanwendung ist vielfach die Lebertoxizität.

Wünschenswerte Entwicklung: Ein Ersatzantibioticum für Griseofulvin wäre wünschenswert. Eine weitere Lücke besteht für die Behandlung generalisierter Mykosen (z.B. Candida, Aspergillus, Histoplasma). Die Zahl der Fälle ist nicht so groß, daß eine intensive Suche durch die Pharmaindustrie erfolgt. Zumeist wird parallel zum Screening für andere Substanzen auch nach fungistatischen Verbindungen gesucht. Bisher steht man den geschilderten Krankheitsfällen noch recht hilflos gegenüber.

-. für den Pflanzenschutz

Gegenwärtiger Stand: Die Zahl der bekannten mikrobiellen Metabolite mit antifungischer Wirkung ist sehr groß. Einige erfüllen auch die Ansprüche der Praxis, eingeführt sind: Kasugamycin, Polyoine, Validamycin, Blastocidin. Das Gebiet wird in Japan mit grosser Intensität bearbeitet durch verschiedene Industrie- und Hochschulgruppen. Weitere Aktivitäten, auch für den europäischen Raum, wären aus ökologischen Gründen sehr erwünscht. Der steigende Nahrungsmittelbedarf ist nur durch Erhöhung der Flächenerträge und nicht mehr durch Ausdehnung der Anbauflächen zu decken, dies bringt dem Pflanzenschutz eine neue Dimension und rechtfertigt auch etwas teurere Präparate.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Antibiotica sind in bezug auf antifungische Stoffe für den Pflanzenschutz noch nicht so gut durchgearbeitet wie für medizinisch verwendbare Stoffe. Die Erprobung von Methoden zum Einsatz von Antibiotica auf diesem Gebiet sowie die Entwicklung neuer Substanzen für dieses Gebiet wären wünschenswert.

-. für die Lebensmittelindustrie

Gegenwärtiger Stand: In der Lebensmittelindustrie spielen Toxine aus Pilzen (z.B. Aflatoxine) eine immer größere Rolle.

In vielen Lebensmittelindustrien wird es notwendig sein, technologische Maßnahmen zur Verhinderung des Wachstums von toxinbildenden Pilzen zu ergreifen. In einigen Ländern sind bereits pilzhemmende Metabolite zugelassen, z.B. Pimaricin in den Niederlanden.

Wünschenswerte Entwicklung: Pilzhemmende Substanzen zur Unterdrückung von toxinbildenden Pilzen sollten besonders für die Käseindustrie, aber auch für viele andere Teile der Lebensmittelindustrie, die mit Pilzverderb zu kämpfen haben, entwickelt und erprobt werden. Dabei muß besonderes Augenmerk auf toxikologische Fragen gelegt werden. Für einige polyene Antibiotika ist z.B. teratogene Wirkung nachgewiesen worden.

c) Metabolite mit Antitumorwirkung

Gegenwärtiger Stand: Für sehr viele Antibiotika ist eine Antitumoraktivität im Tierversuch nachgewiesen worden. Es handelt sich um Stoffe, die entweder mit Nucleisäuren reagieren, resp. in eine Wechselwirkung treten oder die Biosynthese von Nucleinsäuren resp. ihrer Bausteine hemmen. Einige Substanzen wurden in die Therapie eingeführt (Actinomycin, Daunomycin, Bleomycin, Chromomycin, Olivomycin), wobei die Resultate aber noch wenig befriedigen. Das Gebiet wurde in den USA und Japan ganz intensiv bearbeitet. Von weiteren Chemotherapeutica auf der oben genannten Basis verspricht man sich heute wenig.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Suche nach Substanzen mit Antitumorwirkung sollte fortgesetzt werden, wobei es unter anderem an der Testkapazität mangelt. Prüfkapazität bietet das National Institute of Health, USA, an.

d) Metabolite mit Antivirusswirkung

Bisherige Erfolge auf diesem Gebiet sind sehr gering, sowohl in Richtung Medizin als auch in Richtung Pflanzenschutz. Eine weitere Arbeit nach den bisherigen Konzepten verspricht wenig Erfolg.

e) Mikrobielle Metabolite mit insektizider, nematozider, akarizider Wirkung

Gegenwärtiger Stand: Aus Gründen der Ökologie müssen in den nächsten Jahren die meisten Insektizide (chlorierte Kohlenwasserstoffe, Phosphorsäureester, Carbamate) ersetzt werden. Ob rein biologische Kontrollmaßnahmen (sterilisierte Männchen, Nützlinge, insektenpathogene Bakterien, Viren oder Pilze) je ausreichen werden, ist ungewiss, sicher nicht in naher Zukunft. Für mehrere Metabolite aus Mikroorganismen ist eine insektizide Wirkung nachgewiesen (Antimycine, Asprochrocin, Destruxine, Piericidine, Polyene, Pyrrolnitrin), doch erfüllt noch keine dieser Verbindungen die Ansprüche der Praxis. Intensiv bearbeitet wird dieses Gebiet durch die Gruppe von S. Tamura, Universität Tokyo. In Deutschland gibt es ausser einem Projekt (Institut für Phytopathologie, Giessen, Lehrstuhl für Mikrobiologie, Tübingen) keine Aktivität auf diesem Gebiet. Mikrobielle Metabolite mit akarizider Wirkung und/oder nematozider Wirkung sind bekannt.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Suche nach Stoffen mit derartigen Wirkungen steht am Anfang, so dass Aktivitäten auf diesem Gebiet zu empfehlen sind.

f) Mikrobielle Metabolite mit herbizider Wirkung

Gegenwärtiger Stand: Auf diesem Gebiet wird die Entwicklung zunächst in der auf Anwendung gerichteten Grundlagenforschung liegen müssen.

g) Enzyminhibitoren

Gegenwärtiger Stand: Durch die Arbeiten der Gruppe um Umezawas konnte gezeigt werden, dass in Mikroorganismen spezielle Inhibitoren verschiedener Enzyme zu finden sind. Damit wurde grundsätzlich ein neuer Bereich für Sekundärstoffe gefunden. Das Problem für die Suche stellt sich von der Anwendungsseite.

Wünschenswerte Entwicklung: Sobald irgendwelche Krankheiten auf überschüssige Enzymreaktionen zurückgeführt werden können oder vom Krankheitsgeschehen her Enzymwirkungen unterbunden werden sollen, ist die Suche nach spezifischen Inhibitoren angezeigt.

Beispiele sind u.a. die Verwendung von Proteaseinhibitoren zur Fischkonservierung.

1. Die Anwendung von Pepstatin zur Ulcusbehandlung.
2. Die Verwendung von Inhibitoren zur Hochdruckbekämpfung.

h) Substanzen mit besonderer pharmakologischer Wirkung
(z.B. Psychopharmaka, Alkaloide etc.)

Gegenwärtiger Stand: Die Auffindung weiterer Sekundärstoffwechselprodukte mit unterschiedlichen pharmakologischen Wirkungen, z.B. Psychopharmaka (Psilocybin), Östrogene (Zearalanon), ist abhängig vom Aufbau entsprechend einfacher Modelle zur Aktivitätsprüfung.

Weiterhin werden z.B. Desferri-Sideramine in der Humanmedizin zur Behandlung von Eisenspeicherkrankheiten verwendet. Die Verwendung von Sideraminen als Eisenspeicherpräparate bzw. als Eisenlieferanten in der Humanmedizin ist noch nicht geklärt, ebenso die Verwendung dieser Substanzen im Pflanzenbau zur Behandlung von Chlorosen, besonders auf kalkhaltigen Böden, sowie als Futterzusatz zur Wachstumsförderung von Tieren.

Wünschenswerte Entwicklung: Bei Psychopharmaka liegt eine Zukunft in der Gewinnung von Substanzen aus Hutpilzen, deren Züchtungsmethoden ausgearbeitet werden müssen.

Die Ergotalkaloide werden von mehreren Gruppen bearbeitet. Der Markt ist begrenzt.

Eine sorgfältige Untersuchung verschiedener Sideramine auf ihre Eignung als Eisenlieferanten für Warmblüter sollte durchgeführt werden. Weiterhin sollte eine billige Fermentations-technik entwickelt werden, um diese Produkte einer breiteren Anwendung zu erschliessen.

i) **Substanzen mit Aromawirkung**

Gegenwärtiger Stand: Der Bedarf der Lebensmittel an Aromastoffen wird seit geraumer Zeit nicht mehr aus natürlichen Quellen gedeckt. Aus diesem Grunde werden in steigendem Maße synthetische Aromastoffe verwendet. Die in den USA entwickelten sogenannten Identaromen auf synthetischer Basis sind für europäische Begriffe zum Teil wenig ansprechend. Nach Ergebnissen von J. Palmer (Boston MIT) bilden Mikroorganismen bei entsprechender Zusammensetzung des Substrates sehr unterschiedliche Aromenoten. Mikroorganismen sind offenbar in der Lage, auf einfache Art in guter Ausbeute und darüber hinaus in differenzierter und steuerbarer Art und Weise Aromen zu produzieren. Inwieweit diese Ergebnisse industriell bereits ausgewertet werden, ist unbekannt.

Wünschenswerte Entwicklung: Die bereits beschriebenen Wege über die Biosynthese von Aromastoffen sind weiter zu untersuchen. Es sollte versucht werden, mit diesen oder neuen Möglichkeiten eine Ausgangsbasis für die technische Verwertung zu schaffen.

3.1.4 Mikrobiologische Stoffumwandlungen

Allgemeines: Chemische Verbindungen können durch enzymatische Reaktionen gezielt verändert werden. Derartige Umwandlungen bestehen häufig aus einer Reaktionsstufe entsprechender Oxygenasen, Hydroxydehydrogenasen, Reductasen, Ligasen, Hydrolasen usw., umfassen aber mitunter auch mehrere Schritte durch sequentielle Einwirkung unterschiedlicher Enzyme.

Traditionelle Anwendungsbeispiele im technischen Maßstab sind u.a.

Hydroxylierung von Steroiden (Corticoidsynthesen),
Dehydrierung von Steroiden (Corticoidsynthesen),
Oxidation von Sorbit im chemischen Syntheseweg von Vitamin C,

Stereoselektive Reduktion zur Herstellung von Testosteron, Acyloinbildung als Zwischenstufe der Ephedrinsynthese, Spaltung von Penicillin zu 6-APS zur Herstellung semisynthetischer Penicilline.

Umsatzzahlen sind nur für wenige spezielle Verfahren zugänglich, liegen jedoch sogar bei den sehr teuren Steroidsubstraten allein in Deutschland im Bereich mehrerer Monatstonnen, was die Größenordnung hinreichend veranschaulicht.

Gegenwärtiger Stand: (Wegen der Vielzahl der Reaktionen wurde eine stichwortartige Darstellung gewählt)

1) Hydroxylierungen (Oxygenierung)

Steroide: 11 α - und 16 α -Hydroxylierung weitgehend gelöst, 11 β - und 12 β -Hydroxylierung nur für Spezialfälle ausreichend geklärt, 17 α - und 21-Hydroxylierung bisher unbefriedigend entwickelt, aber chemisch gut ausgearbeitet. Grundsätzlich sind für jede andere Steroidposition bereits hydroxylierende Mikroorganismen bekannt, deren Reaktionsprodukte jedoch keine besondere Bedeutung erhielten.

Terpene, Alkaloide und verschiedene Naturstoffe: Unterschiedliche Hydroxylierungen an tertiären, sekundären und primären Positionen bekannt, aber bisher von geringem Interesse.

Alkane und verwandte Strukturen: Herstellung spezieller höheren Alkohole oder der Folgeoxydationsprodukte (Ketone, Säuren) als Kunststoffkomponenten oder als Ausgangsstoffe für spezielle technische Chemikalien bisher unökonomisch.

Mono- und Polycyclische Aromaten: Anwendung bei Herstellung hydroxylierter aromatischer Aminosäuren (z.B. DOPA, 5-Hydroxytryptophan). Sonst meist nur als Primärreaktion bei weiterer Metabolisierung aufgeklärt.

Unterschiedliche synthetische Verbindungen: Begrenzte Anwendung bei speziellen Pharmaka.

Gesättigte Mono- und Polycyclische Modellsubstanzen: Die Grundlagenforschung zur Klärung der sterischen Bedingungen unterschiedlicher Substratstrukturen beschränkt sich auf einen Pilzstamm.

2) Weitere Oxydationsreaktionen

a) Selektive Oxydation einer von mehreren Hydroxylgruppen

Steroide: Selektive Oxydation der 3β -Hydroxylgruppe technisch gut durchführbar, der 17β - und 20β -Hydroxylgruppe für Laborsynthesen ebenfalls gelöst.

Saccharide: Klassisches Beispiel: Sorbit-Sorbose-Oxydation abgeschlossen. Herstellung weiterer unterschiedlicher Ketozucker möglich, aber bisher wenig interessant. Oxydation von Glycerin zu Dihydroxyaceton technisch gelöst.

Unterschiedliche Substrate: Häufig als Folgereaktion primär erfolgter Hydroxylierungen, ohne Bedeutung.

b) Oxydation von Methylgruppen zu Carboxylfunktionen

Alkane: Herstellung von höheren Carbonsäuren oder Dicarbonsäuren bisher ohne technischen Eingang.

Alkylaromaten: Herstellung von Benzol- oder Naphthalinmono- oder Dicarbonsäuren teilweise großtechnisch durchführbar.

c) Oxydative Verkürzung von aliphatischen Ketten

Steroide: Seitenkettenabbau von Sterinen ist großtechnisch durchführbar zu geeigneten Ausgangsmaterialien für unterschiedliche Steroidsynthesen.

Arylalkane: Bisher nur im Rahmen des mikrobiellen Abbaus von Detergentien von Interesse.

Alkane: Im Zusammenhang mit Umwandlungsversuchen von Kohlenwasserstoffen bisher nur von theoretischer Bedeutung.

d) Oxydative Öffnung aromatischer Ringe

Naphthalin: Technische Anwendung zur mikrobiellen Herstellung von Salicylsäure aus Naphthalin konkurriert angeblich mit chemischem Weg.

Weitere Aromaten: Weitere analoge O-Hydroxysäuren herstellbar, aber ohne Bedeutung. Ebenso weiterer Abbau von Aromaten zu Muconsäurestrukturen ohne Anwendungsziel.

e) Einführung von Doppelbindungen

Steroide: Produktion von 1-Dehydrosteroiden gut bewährt.

Unterschiedliche Substrate: Bisher meist als Raritäten bei besonderen Strukturen bekannt, ohne Anwendung

f) Oxydation von Heteroatomen

Schwefelverbindungen: Weg zur Herstellung optisch aktiver Sulfoxidverbindungen oder Sulfonen, bisher ohne Anwendung.

Stickstoffverbindungen: Oxydation von Aminoverbindungen zu Nitrostrukturen grundsätzlich möglich.

3) Reduktionen

a) Stereospezifische Reduktion von Ketogruppen

Steroide: Reduktion der 17-Ketogruppe befriedigend gelöst. Stereospezifische Reduktion eines 14,17-Secodions als essentieller Teil einer Steroidtotalsynthese in Produktion. Stereoselektive Reduktionen der 3- oder 20-Ketogruppe bei manchen Synthesewegen notwendig und in Laborpraxis in Anwendung.

Verschiedene aliphatische und aromatische Ketone: Als Labormethode teilweise gut bewährt, doch ohne technische Bedeutung.

b) Hydrierung von Mehrfachbindungen

Steroide: Hydrierung der 4,5-Doppelbindung bei speziellen Synthesewegen im Labormaßstab erwünscht und erfüllbar.

Weitere Substrate: Verschiedene Beispiele bekannt, ohne industrielle Verwendung.

4) Glycosidierungen

a) Ribosidierung

Pyrimidine und Purine: Herstellung von Nucleosiden (Maßstab nicht bekannt) einschliesslich artifiziieller Strukturen. (Durch Phosphoribosidierung werden analog unterschiedliche Nucleotide teilweise im Produktionsmaßstab erhalten)

b) Glucosidierung

Steroide: Bisher nur in 3- und 16 α -Stellung mit geringen Ausbeuten möglich.

Andere Substrate: Wenige Beispiele bekannt. Bisher keine Anwendung, da häufig chemischer Weg gleichwertig

Saccharide: Darstellung von Polysacchariden.

c) Verknüpfung mit selteneren Zuckern

Nur im Rahmen von Biosynthesen Beispiele bekannt.

5) Biosynthetische Reaktionen

Antibiotica: Beeinflussung der Biosynthese durch Zusatz von nativen oder artifiziellen Precursoren (Beispiele: Penicilline, Novobiocine, Hybrimicine). Teilweise auch Endstufe der Biosynthese-Verknüpfung mit synthetischem Baustein als besondere Reaktion möglich (6 APA + Amine)

Aminosäuren: Herstellung von DOPA oder 5-Hydroxytryptophan aus Serin o.a. und der aromatischen Komponente.

Nucleotide: Siehe Ribosidierung und Phosphoribosidierung.

6) Hydrolytische Reaktionen

a) Selektive Verseifung von Estern

Steroide und andere Naturstoffe: Bisher geringe und nur labormässige Anwendung bei empfindlichen Strukturen

b) Selektive Verseifung von Acylamiden

Aminosäuren: Als technische Methode für die Racemat-trennung von synthetischen Aminosäuren bekannt.

Antibiotica: Herstellung von 6 APA aus Penicillin

c) Ätherspaltung

Polysaccharide: Spaltung von Stärke und anderen gluco-sehaltigen Polysacchariden zur Herstellung von Glu-cose.

d) Spaltung von Phosphatbindungen

Polynucleotide: Technisches Verfahren zur Herstellung von Mononucleotiden bekannt, jedoch gezielte Biosyn- these der Verbindungen vorteilhafter.

(Bemerkung: Diese Gruppe hydrolytischer Reaktionen zeich- net sich von allen anderen enzymatischen Reaktionstypen

durch den Fortfall eines Coenzym-Bedarfs aus und bietet dadurch den ersten Einstieg für einen Einsatz trägerföhrter Enzyme anstatt intakter Zellkulturen.)

7) Sonstige Reaktionen

a) Isomerisierung

Steroide: Isomerisierung der Δ^5 -Doppelbindung in Verbindung mit der Oxydation der 3β -Hydroxylgruppe zum 3 -Keto- Δ^4 -System im Produktionsmaßstab.

Monosaccharide: Isomerisierung von Glucose zu Fructose.

b) Acyloinkondensation

Aliphatische und aromatische Aldehyde: Ausser der Herstellung von Acetoin zur Ephedrinsynthese keine praktischen Beispiele.

c) Verschiedene Aminosäurestellungen, z.B.

3-Indolyl-pyruvat	—————→	Tryptophan)
Anthranilsäure	—————→	Tryptophan)
5-(4-aminobutyl)hydantoin	—————→	Lysin) nur zum Teil in
Leucin, Isoleucin	—————→	Glutaminsäure) Produk- tion
Aminobuttersäure	—————→	Glutaminsäure)
Methylmercaptobuttersäure	—————→	Methionin)

Wünschenswerte Entwicklung: Wie die mikrobielle Biosynthese einfacher Verbindungen stoßen mikrobiologische Einstufen-Reaktionen häufig auf die Konkurrenz entsprechender chemischer Verfahren.

Eine Überlegenheit mikrobiologischer Transformationen ist abhängig vom Vorliegen folgender Vorteile:

- Angriff von Molekülstellen, die wegen mangelnder Aktivierung chemisch nicht reagieren oder deren Veränderung mehrstufige Hilfssynthesen bedingt.
- Stereospezifische Einführung oder Veränderung von Sauerstoff-Funktionen oder anderen Substituenten unter möglicher Ausbildung optisch aktiver Zentren.

- c) Kopplung mehrerer Reaktionen unter möglichem Einschluß biosynthetischer Schritte oder oxydativen Abbaustufen zu einem Einstufenverfahren.
- d) Schonende Reaktionsbedingungen für die Umwandlung von temperatur-, säure- und basenempfindlichen Substanzen.

Unter Berücksichtigung dieser Voraussetzung und nach Kenntnis bisher realisierbarer Möglichkeiten erscheinen allgemein folgende mikrobiologische Reaktionstypen vorteilhaft:

- 1) Hydroxylierungen
- 2) Weitere Oxydationsreaktionen
- 3) Reduktionen
- 4) Glycosidierungen in speziellen Fällen
- 5) Biosynthetische Reaktionen
- 6) Hydrolytische Reaktionen
- 7) Sonstige Reaktionen

Grundsätzlich fehlt auf dem Gebiet der mikrobiologischen Stoffumwandlungen, wie bei der mikrobiellen Biosynthese, eine Kenntnis über die Verteilung enzymatischer Fähigkeiten innerhalb der Systematik der Mikroorganismen.

Daneben sind bisher nur wenige Anhaltspunkte über die Struktur der einwirkenden Enzyme und ihre Differenzierung innerhalb einer Reaktionsgruppe bekannt.

Da auch über die Reaktionsmechanismen nur vereinzelt gewisse Theorien vorliegen, ist bisher nur in Anfängen eine Vorstellung über geeignete und ungeeignete Substratstrukturen möglich.

Die bisher angewandte Arbeitsmethodik auf diesem Gebiet beschränkte sich bezüglich der Auswahl geeigneter Mikroorganismen weitgehend auf empirisches Vorgehen, und Prognosen über erzielbare Umwandlungen bei einem gegebenen Stamm waren mangels Kenntnis von Substratstrukturspezifität auf Vermutungen begrenzt.

Systematische Untersuchungen einer größeren Anzahl von Mikroorganismen mit einer Reihe von Modells substraten wären hier notwendig als Ausgangsbasis

- a) für einen Überblick über die unterschiedlichen Enzymleistungen innerhalb der Vielzahl von Mikroorganismen
- b) für eine Aufklärung von Mechanismen und den begrenzenden Faktoren wesentlicher Reaktionen
- c) für eine erforderliche Kenntnis der Substratstrukturspezifitäten bei besonders geeigneten Mikroorganismen bzw. wichtigen Enzymen
- d) für die mögliche Auffindung neuer mikrobieller Reaktionen, wozu ein Einsatz entsprechend weit variiertes Substratmodellstrukturen notwendig wäre.

(Ohne besonderen analytischen Aufwand könnten in diesem Rahmen bei der Untersuchung von neu isolierten Stämmen zusätzlich Inhaltsstoffe bzw. eigene Stoffwechselprodukte gefunden werden, die bei entsprechenden Strukturen möglicherweise für unterschiedliche Anwendungen interessant wären.)

3.2 Verfahren mit Zell- und Gewebekulturen

3.2.1 Verfahren mit pflanzlichen Zell- und Gewebekulturen

Allgemeines: Pflanzliche Zellen und Gewebe können unabhängig von der Pflanze gezüchtet und unbegrenzt in Kultur gehalten werden. Für solche pflanzlichen Zellkulturen ergeben sich interessante Möglichkeiten zur Gewinnung neuer Naturstoffe für pharmazeutische und andere Anwendungsbereiche.

Die pflanzliche Zellkultur würde die Versorgung mit pharmazeutisch wichtigen Stoffen (z.B. Herzglycosiden, Alkaloiden) unabhängig machen von Beschaffungsschwierigkeiten, Mißernten, Qualitätsunterschieden und Preisschwankungen. Durch die Kultur in vitro ergibt sich weiterhin eine völlig neue Möglichkeit, die Synthese der erwarteten Naturstoffe in der Pflanzenzelle gezielt zu beeinflussen. Das kann z.B. durch Abfangen von Zwischenprodukten aus dem Syntheseweg eines Naturstoffes geschehen, wodurch Stoffe isolierbar werden, die in der Pflanze sonst nicht faßbar sind. Man kann aber auch der Zellkultur Substanzen zusetzen, die einen ähnlichen Aufbau wie Teile des Naturstoffmoleküls haben (Precursor-Substanzen, "Bausteine") und die Zelle zur Synthese neuer, dem Naturstoff analoger Verbindungen veranlassen. Schließlich ist daran zu denken, daß viele Pflanzenstoffe in zu geringen Konzentrationen in der Pflanze vorliegen, um wirtschaftlich verwertet zu werden, und andere noch unbekannt sind. Solche Stoffe dürften in Kulturen pflanzlicher Zellen in größeren Mengen gebildet und damit erfaßbar werden.

Auch enzymatische Leistungen der Pflanzenzellen sind von Interesse für spezielle Reaktionen in chemischen Synthesewegen. Die Unzahl bekannter Pflanzenstoffe läßt die Vielfalt der biosynthetischen Potenzen der Pflanze erkennen, die die der Mikroorganismen gut ergänzt.

Im Gegensatz zu Mikroorganismen und Tieren weiss man bei Pflanz-

zen sehr wenig über deren Fähigkeit zum Abbau endogener oder fremder organischer Verbindungen. Zellkulturen werden ein wichtiges Hilfsmittel bei der Aufklärung pflanzlicher kataboler Stoffwechselwege besonders auch von Umweltchemikalien (z.B. Herbiziden, Pesticiden etc.) sein. Mikroorganismenfreie Anzucht, sehr gute Substrataufnahme und -verwertung sowie eine übersichtliche Versuchstechnik sind hierbei die hervortretenden Merkmale pflanzlicher Zellkulturen.

Wie bei Mikroorganismen ist auch bei Gewebekulturen zu betonen, daß damit umweltfreundliche Synthesemethoden eingesetzt werden, bei denen die Stoffbildung ohne die Verwendung umweltbelastender Chemikalien erfolgt.

Die Grundlagen für den praktischen Einsatz der Zell- und Gewebekulturen sind zwar noch schmal, aber richtungweisend. Es bedarf daher einer systematischen Bearbeitung der in Abschnitt 1.2 genannten Probleme, um optimal ausgewählte Zellkulturen für Produktionsprozesse bereitzustellen und damit solche Prozesse zu entwickeln. Trotzdem ist es möglich und sinnvoll, mit Modellobjekten die Entwicklung von Verfahren anzugehen. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sind später mit den von den Grundlagen her erarbeiteten Fakten zu kombinieren, um schließlich wirtschaftlich interessante biosynthetische Produktionsverfahren neuer Stoffe aufzubauen.

Gegenwärtiger Stand: Die Züchtbarkeit pflanzlicher Zellen bzw. Gewebe als Submerskultur ist auch in halbtechnischen Dimensionen mehrfach gezeigt worden. Das betrifft sowohl undifferenzierte als auch differenzierte Gewebe (z.B. Wurzeln). Von einer großen Anzahl von Pflanzenstoffen konnte nachgewiesen werden, daß sie auch in Gewebekulturen gebildet werden. Ebenso sind Stoff-Umwandlungen bekannt.

Wünschenswerte Entwicklung: Als Basis für Produktionen ist anzustreben, Zellmaterial oder darin gebildete Produkte zu ge-

winnen:

- mit reproduzierbarer Qualität,
- in möglichst kurzer Zeit,
- mit möglichst hohen Ausbeuten,
- mit leicht beschaffbaren und billigen Materialien,
- in Apparaturen, die der Technischen Mikrobiologie bereits zur Verfügung stehen oder daraus zu entwickeln sind.

Für eine Stoff-Produktion gibt es vier Möglichkeiten, deren biotechnologische Nutzung erarbeitet werden sollte:

- 1) Produktion bekannter Pflanzenstoffe in wesentlich höheren Konzentrationen als in der Pflanze.
- 2) Produktion neu zugänglicher Pflanzenstoffe, die in Gewebekulturen aus dem Biosyntheseweg bekannter Substanzen abgezweigt werden, z.B. Zwischenprodukte bekannter Pflanzenstoffe.
- 3) Produktion neuer Substanzen, die Analoge oder Derivate natürlicher Pflanzenstoffe sind, durch Einführen von Precursor-Substanzen in die Biosynthese.
- 4) Ausnutzung spezieller enzymatischer Leistungen für Stoff-Umwandlungen; das betrifft besonders Leistungen, die bei Mikroorganismen nicht zugänglich sind.

Bekannte Pflanzenstoffe, wie Alkaloide oder Herzglycoside, sind für die Bearbeitung der Grundlagen, Methoden und Technologien gut geeignet. Ein Katalog bekannter Pflanzenstoffe kann aber keinesfalls die Zielsetzung umreißen. Vor allem sind die neuen mit modernen biotechnologischen Methoden zugänglichen Stoffe interessant. Allgemein handelt es sich um Verfahren zur Gewinnung von Naturstoffen, z.B. für pharmazeutische Verwendung. Auch phytopathologische Aspekte, wie die Gewinnung von Resistenzfaktoren, könnten interessant werden.

3.2.2 Verfahren mit tierischen Zell- und Gewebekulturen

Allgemeines: Die Züchtung tierischer Zellen in vitro hat in der Labordimension weite Verbreitung gefunden und wird z.B. in der Virus-Diagnostik eingesetzt. Auch die Produktion von Impfstoffen gegen Viren basiert auf tierischen Zellkulturen; aller-

dings sind die dabei eingesetzten Methoden (Wachstum von Zellrasen in Rollflaschen oder Vieloberflächen-Gefäßen) aufwendige, vergrößerte Labormethoden und nicht dem beliebigen scale up zugänglich.

Bei der Züchtung von Viren und der Herstellung von Impfstoffen ist bereits eine Gruppe von Produkten angesprochen, für die eine Massenzüchtung von Zellen in technischen Dimensionen Voraussetzung ist. Weitere Produkte aus Zellkulturen können z.B. Hormone, Interferone, Antikörper, Enzyme und andere spezielle Eiweißstoffe sein. Die tierische Zellkultur wird bekannte und neue physiologisch wirksame Stoffe zugänglich machen. Wenn solche Zellkulturen in vitro beherrscht werden, wird man - wie bei Mikroorganismen oder pflanzlichen Zellkulturen - durch Eingriffe in den Biosyntheseweg z.B. Zwischenprodukte isolieren und als neue Produkte zugänglich machen können. Durch Vorgabe bestimmter "Bausteine" (Precursor-Substanzen) kann deren Einbau in ein Naturstoffmolekül bewirkt und so die Synthese von Naturstoff-Analogen ermöglicht werden. Schließlich sind auch bei der tierischen Zellkultur die Möglichkeiten zur Nutzung enzymatischer Leistungen vorhanden (Stoff-Umwandlungen).

Die tierische Zellkultur kann Substanzen zugänglich machen, die anderweitig nicht zu erhalten sind, z.B. aus Kulturen humaner Zellen Substanzen, die nur in Geweben des menschlichen Körpers vorkommen. Submerskulturen tierischer Zellen sind bereits verwirklicht, allerdings nur mit permanenten Zellen, d.h. Krebs- oder krebsartigen Zellen. Dauerzüchtung der besonders wichtigen diploiden Zellen in Submerskultur ist noch nicht möglich; sie erfordert die eingehende Bearbeitung der zellphysiologischen Grundlagen.

Als wesentliche Basis für die Entwicklung von Produktionsverfahren mit humanen und tierischen Zellen müssen diese Grundlagen bearbeitet werden. Daneben sollte bereits mit Modellsystemen - auch mit permanenten Stämmen - die Methodik und Technologie der Zellzüchtung unter technischen Bedingungen bearbeitet werden. Die daraus resultierenden Erfahrungen sind, zusammen

mit den von den Grundlagenarbeiten zu erwartenden Erkenntnissen, die Basis für die Gewinnung interessanter Naturstoffe für den pharmazeutischen Einsatz durch neue biosynthetische Produktionsverfahren.

Gegenwärtiger Stand: Produkte aus Zellkulturen beschränken sich auf Impfstoffe gegen Viren, z.B. Maul- u. Klauenseuche, Poliomyelitis. Die Züchtung der Kulturen erfolgt nach Aufwuchstechniken im Oberflächen-Verfahren; Submerskulturen werden nicht verwendet. Die prinzipielle Eignung des Submers-Verfahrens zur Züchtung wurde bisher nur mit permanenten Zell-Stämmen bestätigt.

Wünschenswerte Entwicklung: Als Grundlage für Produktionen ist anzustreben, beliebige Mengen Zellmaterial oder daraus isolierbare Produkte zu gewinnen:

- von reproduzierbarer Qualität,
- in möglichst kurzer Zeit,
- mit möglichst hohen Ausbeuten,
- mit leicht beschaffbaren und erschwinglichen Materialien.

Die Entwicklung in technische Dimensionen übertragbarer Züchtungsmethoden und geeigneter Apparaturen dafür ist vordringlich.

Neben der Zugänglichkeit von Zellmaterial für verschiedene Zwecke (z.B. Virus-Züchtungen) sind für die biologische Produktbildung vier Möglichkeiten abzusehen:

- 1) Produktion von Zell-Produkten in wesentlich höheren Konzentrationen als im Tier.
- 2) Neu zugängliche Stoffe durch gezielte Eingriffe in den Biosyntheseweg, z.B. Zwischenprodukte bekannter Zellprodukte.
- 3) Produktion neuer Substanzen, die Analoge oder Derivate natürlicher Zellprodukte sind, durch Einführung von Precursor-Substanzen in die Biosynthese. Außerdem sind unter dem Einfluß veränderter Ernährungs- und Außenbedingungen der Kulturen auch sonst nicht nachweisbare Substanzen zu erwarten.

Ein Stoffkatalog von den in Gewebekulturen nachgewiesenen oder aus tierischen Geweben gewonnenen Stoffen könnte nur

Beispiele geben, aber keinesfalls die Zielsetzung umreißen. Interessant sind vor allem die nur mit modernen biotechnologischen Methoden zugänglichen Stoffe. Bevorzugt ist mit Substanzen zu rechnen, die für therapeutische, prophylaktische und diagnostische Zwecke eingesetzt werden können.

- 4) Ausnutzung spezieller enzymatischer Leistungen für Stoff-Umwandlungen, z.B. in Synthesen pharmazeutisch wichtiger Stoffe. Dabei ist nur die Nutzung solcher Leistungen interessant, die nicht einfacher z.B. von Mikroorganismen verfügbar sind.

Wünschenswerte Entwicklung im Einzelnen:

Zellmasse (einschl. darauf vermehrter Viren o.dgl.):

Züchtung funktionsfähiger Zellen für therapeutische Zwecke, die z.B. hormonale Funktionen ausüben können und sich evtl. im Körper ansiedeln.

Massenkultur von Viren.

Herstellung viraler Antigene.

Hochmolekulare Zellprodukte (einschl. Zellpartikel):

Erzeugung von Hormonen, Interferonen, Antikörpern, Enzymen, speziellen Eiweißstoffen u.a.

Niedermolekulare Zellprodukte:

Erzeugung von Hormonen, niedermolekularen human- und tierspezifischen Wirkstoffen.

Stoff-Umwandlungen:

Nutzbarmachung spezifischer enzymatischer Reaktionen, die in der Synthese z.B. von Arzneistoffen eingesetzt werden können.

3.3 Verfahren mit Enzymen

Allgemeines: Alle biochemischen Reaktionen werden durch Enzyme katalysiert. Die synthetischen (aufbauenden) und katabolischen (abbauenden) Leistungen der Zelle, welche die Basis der in den vorangegangenen Abschnitten beschriebenen Verfahren mit Mikroorganismen (3.1) und Verfahren mit Zell- und Gewebekulturen (3.2) darstellen, werden mit Hilfe von Enzymen erbracht.

Der Einsatz von Enzymen hat erhebliche Bedeutung in der Lebensmittel- und pharmazeutischen Industrie erlangt, weitere Fortschritte sind noch zu erwarten. Neue Enzymtechnologien könnten längerfristig für den Umweltschutz (Abbau von Öl und Kunststoffen zu wiederverwendbaren Rohstoffen) und für die Gewinnung von Nahrungsmitteln aus Cellulose und Erdöl entstehen. Bedeutende Fortschritte sind möglich für die Analytik und Prozeßsteuerung in der Biotechnologie.

Dem Biochemiker ist es in den letzten 40 Jahren gelungen, eine große Anzahl dieser Biokatalysatoren (in mehr oder weniger reiner und stabiler Form) aus der belebten Natur zu isolieren. In den vergangenen 20 Jahren sind enorme Fortschritte bei der chemischen und physikalisch-chemischen Charakterisierung dieser Substanzen zu verzeichnen, so daß in vielen Fällen heute recht exakte Vorstellungen über den biochemischen Wirkmechanismus existieren. Wenn auch gelegentlich sensationelle Nachrichten über die chemische Synthese von Protein-ähnlichen Substanzen mit enzymatischer Aktivität im Laboratorium publiziert werden, so ist es keine Frage, daß noch für sehr lange Zeit die lebende Zelle das ausschließliche Ausgangsmaterial für die Gewinnung von Enzymen sein wird.

Es ist ein Wesensmerkmal der biochemischen Reaktion in der Zelle, daß sie in einer Vielzahl von Einzelschritten abläuft, ohne daß normalerweise die Zwischenprodukte in beträchtlichen Mengen in Erscheinung treten. In der Regel wird jeder einzelne Schritt von einem anderen Enzym katalysiert. Durch die Komparti-

mentierung der Zelle und durch die häufig anzutreffende Vergesellschaftung der Einzelaktivitäten in sog. Multienzymkomplexen ist die Voraussetzung für die außerordentlich hohen StoffwechsellLeistungen der lebenden Zelle gegeben.

In diesem Abschnitt sollen jedoch Reaktionen behandelt werden, die in vitro mit Hilfe mehr oder weniger rein isolierter Enzyme ausgeführt werden. Es handelt sich nach Lage der Dinge also meistens um Einschrittreaktionen, wobei es nicht gelingt, in vitro sämtliche Reaktionen nachzuahmen, die der Zelle möglich sind. Es ist bisher bei weitem nicht möglich, alle enzymatischen Aktivitäten der Zelle zu solubilisieren, was normalerweise eine Voraussetzung für die Isolierung und Reinigung von Enzymen ist.

Entsprechend der Zielsetzung dieser Studie sind hier vorwiegend die präparativen Möglichkeiten enzymatischer Reaktionen interessant, was eine Einschränkung der Anwendungsmöglichkeiten bedeutet. Im Gegensatz zu den in der Chemie sonst gebräuchlichen Katalysatoren haben die Enzyme nämlich die Eigenschaft der sog. Substratspezifität, d.h., sie katalysieren meistens einen ganz bestimmten Reaktionsschritt an nur einem ganz bestimmten Substrat. Häufig geht noch eine weitere Substanz in die Reaktion ein (das sog. Coenzym), welche im Gegensatz zum Enzym bei der Reaktion verändert (verbraucht) wird. Für eine präparative Reaktion ist es also erforderlich, daß dieses Coenzym in zum Substrat äquimolaren Mengen zugefügt wird, oder daß es mit Hilfe eines speziellen Prozesses immer wieder regeneriert werden kann. Es ist wohl kein Zufall, daß sich in der Technologie bisher lediglich die Anwendung von solchen Enzymen durchgesetzt hat, welche kein spezielles Coenzym brauchen.

Die technischen Verfahren mit Enzymen stehen etwa zwischen den Verfahren mit Mikroorganismen bzw. Zell- und Gewebekulturen und den Verfahren der organischen Chemie, soweit Stoffumwandlungen betroffen sind. Vorteile enzymatischer Prozesse liegen in der verhältnismässig einfachen Reaktionsführung. Kostspielige Aufarbeitungsprozesse können eingespart werden, da enzymatische

Reaktionen ohne Nebenreaktionen, insbesondere ohne Stoffwechselprozesse ablaufen. Für die mit intakten Zellen arbeitenden Verfahren liegt ein weiterer wesentlicher Nachteil im Anfall erheblicher Biomasse, die in diesem Fall als unerwünschtes Nebenprodukt angesehen werden muß, sowie in dem erforderlichen großen Arbeitsvolumen. Andererseits können mit intakten Zellen komplexe Reaktionsfolgen realisiert werden. In der organischen Chemie benötigt man in der Regel hohe Temperaturen und hohe Drucke sowie oft ein wasserfreies Milieu. All dies führt zu beträchtlichen Umweltbelastungen (Geräusch, Abwärme, Abgas, Abwasser usw.). Enzymatische Verfahren haben diese Nachteile nicht, vor allem dann, wenn es gelingt, den Katalysator vielfach für die gleiche Reaktion zu verwenden. Enzymatische Reaktionen verlaufen normalerweise im wäßrigen Milieu bei sehr mäßigen Temperaturen und bei pH-Werten um den Neutralpunkt.

3.3.1 Präparative Herstellung von Enzymen

Gegenwärtiger Stand: Für die Herstellung von Enzympräparaten aus biologischem Material wurden eine Reihe von Standard-Techniken entwickelt, die bei praktisch allen Verfahren in wechselnder Aufeinanderfolge verwendet werden. Die einzelnen Stufen der Enzym-Herstellung sind die folgenden:

a) Aufschluß des Rohmaterials.

Für Mikroorganismen und tierische Gewebe werden mechanische, chemische, enzymatische (z.B. Autolyse) und thermische Verfahren angewendet, wobei der mechanische Aufschluß die meistverwendete Methode ist. Dies gilt bei Einsatz von Frischgeweben. Trockengewebe werden vor dem Aufschluß als wasserfreie Präparate durch Lösungsmittelbehandlung oder Gefriertrocknung hergestellt. Auch zum Aufschluß pflanzlicher Gewebe werden die bereits beschriebenen Verfahren verwendet; wichtig sind hier wegen des oft hohen Gehalts an Stützsubstanz - die Methoden zur Zerkleinerung der Pflanzengewebe.

b) Klärung und Konzentrierung von Rohextrakten.

Vor der weiteren Bearbeitung werden die unlöslichen Anteile des Aufschlusses entfernt. Hierzu werden folgende Methoden verwendet: Zentrifugieren im diskontinuierlichen und kontinuierlichen Betrieb. Filtrieren mit und ohne Druck, mit und ohne Filter- bzw. Flockungshilfsmittel. Anschliessend wird im allgemeinen ein Konzentrierungsschritt eingeschaltet. Es werden angewendet: Eindampfen (meist unter vermindertem Druck), Fällungsverfahren, Ultrafiltration (umgekehrte Osmose).

c) Anreicherungsverfahren.

Die Anreicherung des Enzymproteins aus dem vorbereiteten Rohextrakt erfolgt mit folgenden Methoden: Fällung durch pH-Verschiebung, mit Salzen oder mit Lösungsmitteln, Adsorption an Geloberflächen oder Austauschern, Dialyse oder Ultrafiltration. Die Entfernung von Fremdproteinen und anderen Verunreinigungen kann mit den folgenden Verfahren erfolgen: Hitze-Denaturierung von Fremdproteinen, ebenfalls Ausfällung bzw. negative Adsorption.

d) Reinigung des Enzymproteins.

Nachdem ein bestimmter Grad der Anreicherung des Enzyms im Extrakt erfolgt ist, können subtilere Reinigungsschritte angewendet werden. Diese erbringen im allgemeinen die höchste Reinheitssteigerung (Steigerung der spezifischen Aktivität) während des Isolierungsprozesses. Es werden folgende Verfahren angewendet: Fraktionierte Fällung vor allem mit Ammoniumsulfat, Adsorptionschromatographie und Austauscherchromatographie; die Trennung der Enzymproteine bei der Elution kann durch Gradienten (Ionenstärke, pH etc.) oder durch Substrat-elution verbessert werden. Gelchromatographie bewirkt eine Trennung nach der Molekülgröße.

e) Feinreinigung.

Bei der Herstellung weitergereinigter Enzympräparate, wie sie z.B. für einige pharmazeutische, für diagnostische sowie wissenschaftliche Zwecke benötigt werden, schließt sich an den Reinigungsprozess eine Feinreinigung an. Die hierbei verwendete

ten Verfahren werden meist nur im kleineren Maßstab (bis zu einigen Gramm) angewendet: Affinitätschromatographie (biospezifische Adsorption); Elektrophorese in folgenden Varianten; in Gelen, als Disc-Elektrophorese, als trägerfreie Elektrophorese, als Elektrofocussierung, als Isotachophorese; Ultrazentrifugation mit und ohne Gradienten; in seltenen Fällen fraktionierte Kristallisation.

f) Überführung in den Trockenzustand.

Im allgemeinen werden die Enzyme nach der Reinigung in den Trockenzustand überführt, sofern nicht andere Anwendungsformen benötigt werden. Es werden folgende Verfahren verwendet: Entwässerung mit Lösungsmitteln, Kristallisation, Vakuumtrocknung, Gefriertrocknung, Sprühtrocknung.

g) Entkeimung.

Da das Rohmaterial, aus dem die Enzyme hergestellt werden, von wenigen Ausnahmen abgesehen, unsteril ist, müssen die Enzympräparate bei Bedarf entkeimt werden. Dies ist bei Präparaten für die Pharmazie und die Lebensmittelindustrie sowie bei einigen weiteren Anwendungen notwendig. Es können folgende Verfahren angewendet werden: Sterilfiltration, Begasung, Bestrahlung, Konservierung durch Zusätze.

h) Anwendungsformen.

Je nach Einsatz werden die Enzympräparate in verschiedene Anwendungsformen überführt. Festprodukte: ohne Zusätze; mit Stabilisatoren; überzogene Präparate (Lackierung, Einkapsulierung); Tabletten, Pellets; trägergebundene Festprodukte. Lösungen: wäßrig mit Stabilisatoren und/oder Konservierungsmitteln, Ammoniumsulfat-Suspensionen, Polyol-Lösungen bzw. -Suspensionen.

Wünschenswerte Entwicklung: Die (im vorstehend beschriebenen Stand der Technik) aufgeführten Methoden der Enzymherstellung sind in unterschiedlichem Maße ausgearbeitet und perfektioniert. Folgende Prozesse erfordern eine Weiterentwicklung bzw. Neubearbeitung:

a) Aufschlußverfahren.

Methoden und Geräte zum schonenden mechanischen Aufschluß von Bakterien und Pilzen im Fabrikationsmaßstab ohne Schädigung von Enzymen (Hitze, Druck, Scherkräfte). Methoden zum chemischen Aufschluß von Mikroorganismen. Enzymatische Aufschlußmethoden für Mikroorganismen, vor allem von Hefen, bei denen häufig - infolge der hohen Flexibilität der Hefezellwand - die mechanischen Methoden versagen. Chemische bzw. enzymatische Methoden zum Aufschluß tierischer Gewebe zur Freisetzung katalytisch aktiver partikelgebundener Enzyme bzw. Enzymkomplexe.

b) Fällungsverfahren.

Methoden und Geräte zur raschen und vollständigen Abtrennung von Protein-Niederschlägen im technischen Maßstab.

c) Dialyse.

Entwicklung bzw. Verbesserung technisch einsetzbarer Dialysatoren speziell für kontinuierlichen Betrieb; z.B. ausgehend von den neuen Entwicklungen für das Laboratorium oder der Hämodialyse. Lösung des Problems der Funktionssicherheit und Prozeßüberwachung.

d) Enzymreinigung.

Entwicklung von Adsorbentien und Techniken (Apparaturen) zur Reinigung von Enzymen mittels Affinitätschromatographie (trägergebundene Coenzyme, Substrate, Aktivatoren, Inhibitoren). Dabei muß vom Träger gefordert werden, daß er neben physikalischer, chemischer und biologischer Beständigkeit keine unspezifische Affinität zu Proteinen zeigt. Das Affinitäts-Adsorbens muß so verbilligt werden, daß eine Verwendung in frühen Stadien der Enzymaufarbeitung wirtschaftlich tragbar sein wird.

Weiterentwicklung von Apparaten und Techniken zur präparativen Trennung von Enzymen aufgrund ihrer Ladung z.B. mit elektro-phoretischen Methoden (trägerfrei, kontinuierliche Verfahren, Elektrofocussierung etc.).

e) Kombinierte Herstellungsverfahren.

Methoden zur kombinierten Isolierung verschiedener Enzyme aus einem Rohstoff.

f) Enzym-Festpräparate.

Technologie zur Herstellung fester, technisch verwendbarer Enzympräparate (staubfrei, dosierbar etc.) durch Granulation, Pelletierung, Tablettierung, Einkapsulierung etc. Methoden zur Entkeimung von Enzympräparaten in festem Zustand ohne Schädigung der Enzyme.

g) Haltbarkeit.

Methoden zur Erhöhung der Haltbarkeit fester und flüssiger Enzym-Präparationen: stabilisierende Zusätze; reversible Inaktivierung; chemische Modifizierung des Enzymproteins.

3.2.2 Reaktionen mit gelösten Enzymen

Gegenwärtiger Stand: Wie bereits in der Einleitung angedeutet wurde, bestehen für den Einsatz gelöster Enzyme bei technischen Prozessen trotz ihrer Vorteile bedeutende Einschränkungen; vor allem die Tatsache, daß in der Regel das gelöste Enzym nur einmal als Katalysator verwendet werden kann und dann meist unter Verlust der katalytischen Aktivität aus dem Reaktionsansatz entfernt werden muß oder auch einfach in dem Reaktionsprodukt verbleibt, verursacht je nach Enzymquelle und notwendigem Reinheitsgrad erhebliche Kosten. Aus den ebenfalls weiter oben angeführten biochemischen Gründen (Coenzym-Abhängigkeit) finden im wesentlichen Hydrolasen, die nur Wasser brauchen, Oxidasen, die den Luftsauerstoff verwenden können, und einige Synthetasen eine breite Verwendung.

Trotz all dieser Einschränkungen werden erhebliche Mengen von meist Rohenzymen produziert. So soll sich der Wert der 1972 in den USA produzierten Enzyme auf 75 Mio Dollar belaufen. Ange-

sichts der wachsenden Vormachtstellung Japans auf diesem Gebiet müsste demnach der Weltmarkt bei 150 bis 200 Mio Dollar liegen. In den Tabellen 2 bis 4 (am Ende dieses Kapitels) sind die technischen Prozesse angeführt, welche derzeit mit Hilfe von Enzympräparaten durchgeführt werden. Dort ist auch ein Versuch zur Abschätzung der jeweiligen wirtschaftlichen Bedeutung gemacht.

Der Hauptabnehmer ist wohl die Lebensmittelindustrie, weil es die Enzyme erlauben, unter milden Bedingungen Lebensmittel zu verändern und zu verbessern, und weil gerade hier die besonders günstigen hydrolytischen Aktivitäten gefragt sind. Dies gilt sowohl für Getränke als auch für feste Nahrungsmittel. Im Abschnitt 4.2 dieser Studie sind einige Beispiele besonders beleuchtet. Wegen ihrer Herkunft aus "natürlichen" Rohstoffquellen (meist Mikroorganismen) und wegen der praktisch vollständigen Denaturierung bei der intestinalen Passage ist eine Abtrennung der Enzymproteine aus dem Nahrungsmittel meist nicht erforderlich.

Dass Enzyme trotzdem schädliche Nebenwirkungen haben können, zeigt das Beispiel der Waschmittelindustrie, wo in grossem Umfang vor allem Proteasen (als "Biokraft") eingesetzt wurden, welche in manchen Fällen Kontaktallergien hervorriefen.

Zur gezielten Reaktion mit niedermolekularen Substraten werden gelöste Enzyme verhältnismässig selten eingesetzt. Aus der Pharmaindustrie sind einige wenige Beispiele bekannt geworden, wo es sich entweder darum handelt, sehr empfindliche Naturstoffe hydrolytisch zu verändern (z.B. Penicillinacylase) oder die Stereospezifität enzymatischer Hydrolyse-Reaktionen zur Darstellung von optisch-reinen Antipoden auszunutzen. Der überwiegende Teil der in der Pharmaindustrie verwendeten Enzyme sind sog. Verdauungsenzyme zur Zubereitung pharmazeutischer Spezialitäten, die ihre Wirkung im Intestinaltrakt entfalten sollen. Es werden hierfür nicht nur tierische Verdauungsenzyme, sondern auch Mikroorganismen verwendet, die als mehr oder weni-

ger rohe Enzympräparate zur Anwendung kommen.

Wünschenswerte Entwicklung: Man kann wohl davon ausgehen, daß der Trend der letzten Jahre, immer mehr Enzyme aus Mikroorganismen herzustellen, anhält. Daher muß der Schwerpunkt der zukünftigen Arbeit auf dem Gebiet der Selektion geeigneter Stämme und der Induktion spezifischer Enzymaktivitäten liegen. Dies beinhaltet sowohl ein Screening geeigneter, natürlich vorkommender Stämme als auch die Selektion geeigneter Mutanten mit bestimmten Regulationsdefekten (z.B. konstitutive Mutanten), also den Einsatz genetischer Methoden. Da es sich in den vergangenen Jahren gezeigt hat, daß man - den notwendigen großen Aufwand vorausgesetzt - für beinahe jede geeignete und gewünschte Reaktion den Biokatalysator auf mikrobiellem Wege erzeugen kann, kommt es im wesentlichen auf die Auswahl der zu katalysierenden Reaktionen an.

Dabei haben grundsätzlich solche Reaktionen eine Chance, bei denen die naturgegebene Empfindlichkeit des Enzymproteins gegen Wärme, pH-Änderung, Lösungsmittel, Salzkonzentration eine geringe Rolle spielt. Der Anwendungsbereich enzymatischer Reaktionen in der Technik liesse sich wesentlich erweitern, wenn es gelänge, durch Veränderungen am Enzym die notwendige Stabilisierung zu erreichen. Diese Veränderungen kann man entweder nachträglich am isolierten Protein versuchen, oder man muß bereits die Mikroorganismen-Quelle, z.B. thermo- oder halophile Organismen, so wählen, daß man auch vom isolierten Protein die gewünschten Eigenschaften erwarten kann.

Ganz allgemein haben solche Reaktionen eine besondere Bedeutung, bei denen mit Hilfe der Enzymkatalyse Asymetriezentren gebildet werden (asymetrische Synthese, Racemattrennung), da dies auf chemischem bzw. physikalisch-chemischem Weg oft mit erheblichem Aufwand verbunden ist.

Die häufig anzutreffende sehr ausgeprägte Substratspezifität von Enzymen sollte für spezielle Anwendungsfälle entweder

erhöht oder erniedrigt werden können. Häufig ist es ein Nachteil, wenn in analogen Systemen für jede einzelne Reaktion ein anderer Katalysator verwendet werden muß. Andererseits ist eine besonders hohe Spezifität dann wünschenswert, wenn ein bestimmtes Substrat aus einem Stoffgemisch heraus reagieren soll.

Weiterhin harrt das Coenzym-Problem noch der Lösung. Es wäre eine große Zahl von präparativen Reaktionen denkbar mit Enzymen, die z.B. Wasserstoff auf NAD übertragen, wenn wirtschaftliche regenerierende Systeme Verwendung finden könnten.

In den Tabellen 2 bis 4 sind die bei den jeweiligen technischen Reaktionen besonders vordringlich erscheinenden Probleme in der letzten Spalte angeführt.

3.3.3 Reaktionen mit immobilisierten Enzymen

Gegenwärtiger Stand der Technik: Grundsätzlich hat der unlösliche Biokatalysator dem gelösten gegenüber den großen Vorteil, daß er leicht und vollständig aus dem Reaktionsansatz entfernt und wieder verwendet werden kann.

Es ist heute möglich, sehr viele Enzyme mit mehr oder weniger guter Ausbeute in eine unlösliche, dabei aber enzymatisch wirksame Form zu überführen. Es existiert jetzt eine umfangreiche Literatur mit Vorschlägen über die Bindung von Enzymen und deren theoretischen Verwendungsmöglichkeiten. Eine Flut weiterer Forschungen und eine immer noch eskalierende erfinderrische Tätigkeit hat auch in den zwei Jahren seit der ersten Auflage dieser Studie nur sehr begrenzten Niederschlag in der praktischen Anwendung immobilisierter Katalysatoren gefunden. In der präparativen Technologie profiliert sich ein Verfahren, bei dem Glucose-Konzentrate mit immobilisierter Glucose-Isomerase zu einem Glucose/Fructose-Sirup hoher Süßkraft isomeri-

siert wird. 1974 sollen in USA bereits $8 \cdot 10^5$ t dieses Sirups ("Isomerase") produziert worden sein. Die Firma Novo/Dänemark hat hierfür einen Katalysator entwickelt, dem viel Beachtung geschenkt wird. Demgegenüber scheinen sich die Erwartungen, die man in der Technologie von L-Aminosäuren und 6-Aminopenicillansäure (Zwischenprodukt für synthetische Penicilline) beim Einsatz immobilisierter Enzyme hegt, noch nicht erfüllt zu haben.

Bei der Hydrolyse von Makromolekülen scheinen sich immobilisierte Enzyme gegenüber den etablierten Verfahren mit löslichen, technischen Enzymen (Anwendung hauptsächlich in der Lebensmittelindustrie) nicht durchsetzen zu können. Die Forschung wendet sich daher zunehmend komplexeren, enzymkatalysierten Reaktionen zu. Die enzymatische Synthese chiraler Moleküle (z.B. Herstellung von L-Aminosäuren) oder die selektive Oxidation von Aromaten und Steroiden sind hier Zielobjekte. Die Stabilisierung der hier aktiven Enzymsysteme scheint jedoch von einer Lösung noch ziemlich weit entfernt zu sein.

Eine andere Entwicklung versucht, durch Immobilisierung von Zellen oder Zellkompartimenten die stabilisierenden Eigenschaften der Biomembran in die Matrix aufzunehmen. Auf diese Weise "granulierbare Biomassen" könnten auch in der Abwassertechnologie zur Beseitigung von z.B. phenolischen Rückständen sehr bedeutungsvoll werden.

Neben dem Einsatz immobilisierter Enzyme für präparative Zwecke zeigt jetzt auch die Entwicklungstechnik bei analytischen Geräten zunehmend Interesse an immobilisierten Enzymen. Hier werden neben Enzymgranulaten besonders an (Nylon-)Schläuche immobilisierte Enzyme verwendet.

Die automatisierte Glucose-Bestimmung mit immobilisierter GOD für diagnostische Zwecke und zur Fermentationskontrolle hat einen hohen Entwicklungsstand erreicht.

Wünschenswerte Entwicklungen:

a) Matrix- und Bindungstechnik.

Die kaum noch überschaubare Zahl von Matrices und Bindungsmethoden (weltweit derzeit bereits 500 Anmeldungen und Patente) ist ein Hinweis, daß es hier keine generell befriedigende Lösung geben kann.

Wünschenswert scheinen allgemein akzeptierbare Kriterien, die es gestatten, Qualität und Anwendbarkeit der unterschiedlichsten Katalysatoren zu vergleichen, um die erfinderische Tätigkeit auf richtige Wege zu lenken. Dazu gehört z.B. die Entwicklung zweischichtiger, körniger Katalysatoren mit inerten Kernen, bei denen die enzymatische Aktivität weitgehend an der Oberfläche lokalisiert ist. Die meisten der bisher bekannten Immobilisierungsverfahren scheinen immer noch keine ausreichende Bindungsausbeute bzw. -Stabilität im Dauerbetrieb ("operation stability") zu bringen. Hier müßten neue Wege beschritten werden. Vielleicht werden sie über die Fixierung an lösliche Makromoleküle gefunden werden. Besonders wünschenswert scheinen schließlich weitere Entwicklungen auf dem Gebiet der Immobilisierung zellulär kompartimentierter Enzymsysteme bis hin zur Immobilisierung von Mikroorganismen, vorzugsweise, wenn es sich um Redoxreaktionen handelt. Besonderer Wert sollte hierbei auf gute Durchflußraten und nicht zuletzt auf umweltfreundliche Matrixmaterialien gelegt werden.

b) Enzymologie.

Die Suche nach neuen Wegen zur Bindung und Stabilisierung von Enzymproteinen (Hydrophobisierung? Quervernetzung?) hat eine tiefe Kenntnis der Proteinstruktur zur Voraussetzung. Die Immobilisierung coenzym-abhängiger Enzyme wird von einer genaueren Kenntnis des Mechanismus und der Kinetik der katalysierten Reaktion ausgehen müssen. So ist die wünschenswerte Entwicklung immobilisierter Redox-Enzyme mit auch ein Problem einer raschen Regenerierung der reduzierten Form des löslichen (Pyridin-) bzw. proteingebundenen (Flavin-) Coenzym.

c) Reaktionsführung und Reaktortechnik.

Eine breitgefächerte Untersuchung der Mikro- und Makrokinetik hat in den letzten Jahren wesentliche Einblicke in die Katalyse mit immobilisierten Enzymen gebracht und mehrere Reaktorsysteme beschrieben. Insbesondere Festbett-, Fließbett-, Schlauch- und Rührkesselreaktoren scheinen zur Reaktionsführung mit immobilisierten Enzymen geeignet zu sein, abhängig davon, welche Reaktionsschritte geschwindigkeitsbestimmend sind. Der Membranreaktor führt das System wieder auf die Homogenkatalyse mit ihrer hohen Effizienz zurück, indem er lösliche Enzyme anwendet. Die "Wiederverwendbarkeit" des Katalysators wird durch Begrenzung des Reaktionsraumes in einem sonst kontinuierlichen System erzielt. Die Stabilisierung des Enzyms in löslicher Form (vielleicht durch Bindung an lösliche Makromoleküle) und die Untersuchung von Multienzymreaktionen in diesem System sind wünschenswerte Entwicklungen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Entwicklung immobilisierter Enzyme im Augenblick nicht durch das Problemangebot der Industrie, sondern durch die Möglichkeiten der Grundlagenforschung motiviert wird. Eine Förderung dieser Aktivitäten ist jedoch wünschenswert, um vielleicht auf diesem Wege wirtschaftliche Anwendungsmöglichkeiten von immobilisierten Enzymen zu erschließen.

3.3.4 Enzymatische Analytik

Gegenwärtiger Stand: Unter enzymatischer Analyse versteht man einerseits die Bestimmung von Substraten durch hochspezifische, rasch ablaufende und leicht zu messende, von Enzymen katalysierte Reaktionen und andererseits natürlich die Messung bestimmter Enzymaktivitäten in biologischem Material durch kinetische Verfolgung des Substratumsatzes. Für die beiden Gruppen von Analyseverfahren besteht in der Biotechnologie ein erheblicher Bedarf. Sie haben auch bereits hier Eingang gefun-

den; eine aktuelle Diskussion dieser Gebiete findet sich in H.U. Bergmeyer, Methoden der Enzymatischen Analyse, 2. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim, 1971, auf Seite 75 (J. Schormüller, Lebensmittelchemie), S. 87 (E. Latzko, Botanik und Agrikulturchemie) und S. 93 (G. Holz, Mikrobiologie).

Wünschenswerte Entwicklung: Die enzymatische Analyse hat auf dem Gebiet der heute für die moderne Diagnostik unerläßlichen klinischen Chemie ihren Siegeszug dadurch angetreten, daß einerseits Reagentien und Methoden standardisiert werden und andererseits mechanisierte Analysensysteme für große Reihenuntersuchungen bereitgestellt werden. Beides fehlt möglicherweise noch auf dem Gebiet der Biotechnologie.

Eine konsequente Analytik der Metabolite und Enzymaktivitäten bei der Züchtung von Mikroorganismen würde eine kontinuierliche oder quasi kontinuierliche Verlaufskontrolle erlauben. Das gleiche gilt für die Kontrolle von Gärungsvorgängen. Ziel müßte hier bei bestimmten Großverfahren eine Weiterentwicklung der Prozeßsteuerung sein.

Auch bei der Isolierung von Enzymen aus biologischem Material wäre eine laufende Prozeßkontrolle denkbar, wenn Computer-gesteuerte Isolierungsprozesse, die durch schnelle Analyse und Feedback eine Prozeßoptimierung während des Laufens individueller Aufarbeitungsprozesse ermöglichen, zur Verfügung stünden.

Für die Kontrolle der Umweltbelastung durch chemische und biologische Produktionsverfahren liessen sich Routinetests mit Hilfe biochemischer Methoden entwickeln, zumal auch hier auf die langjährigen Erfahrungen der klinischen Chemie zurückgegriffen werden könnte.

Tabelle 2. Anwendung von Proteasen in der Technik

Anwendungsgebiete	Verwendete Enzyme	Wirtschaftliche Bedeutung	Probleme
<u>Lederherstellung</u> Beize, Weiche Entwollung Enthaarung	Pankreasproteasen mikrobiologische Proteasen Papain	große Bedeutung für die Lösung von Abwasserfragen Europa + Entwicklungs- länder	spezifisch wirkende Enzyme
<u>Reinigung</u> Waschmittel Spülmittel Abwasserbehandlung	mikrobiologische Proteasen	Zukunft in Waschmitteln nur bedingt für Spezial- zwecke Abwasser?	besondere Anwendungs- formen
<u>Lebensmittelindustrie</u>			
Bierstabilisierung	Papain mikrobiologische Proteasen	sehr grosses Gebiet im Wachsen	Reinheitsgebot Trägerenzyme
Wein, Fruchtsaft	Pilzproteasen	begrenzt	
Mehlbehandlung Brotherstellung Keksherstellung	Pilzproteasen mikrobiol. Proteasen pflanzl. Proteasen	 wachsender Markt	
Futtermittel (Fischeiweiß)	mikrobiol. Proteasen pflanzl. Proteasen	wachsende Bedeutung	Nutzung v. Eiweißquellen
Milchindustrie	Lab, tierisch und mikrobiologisch	wachsende Bedeutung	Ersatz von tierischem Lab

Tabelle 3. Anwendung von polysaccharidspaltenden Enzymen in der Lebensmittelindustrie

Anwendungsgebiete	Verwendete Enzyme	Wirtschaftliche Bedeutung	Probleme
Bierherstellung	Malz mikrobiol.Amylasen	wachsende Bedeutung in Entwicklungsländern	Spezifität
Brennerei	Malz mikrobiol.Amylasen Bakterienamylase Pilzamylase Amyloglucosidase		
Dextrose- und Fruktoseherstellung	Bakterienamylase) Amyloglucosidase) Glucoseisomerase)	großer Markt	Preis trägergebundener Enzyme
Stärkesirup	alle Amylasetypen	großer Markt	
Mehlbehandlung (Brotindustrie)	Malzamylase mikrobiol.Amylasen Pentosanase	wachsende Bedeutung	
Obstsafterstellung + Citrussäfte	Pectinglycosidasen Pectinesterase Pectatlyasen	große Bedeutung vor allem Entwicklungsländer	Substratforschung
Gemüsehydrolyse			
Babykost Fertignahrung	spezifische Pectinasen und Cellulasen		

Tabelle 3. (Fortsetzung)

Anwendungsgebiete	Verwendete Enzyme	Wirtschaftliche Bedeutung	Probleme
Weinherstellung	Pectinasen	wachsende Bedeutung	
Celluloseabbau (vgl. 4.5.4) (Abwasserprobleme d.Celluloseindu- strie, d.Haushalts)	Cellulasen Hemicellulasen	große Bedeutung	Produzenten mit aus- reichender Aktivität
Glycosidhydrolyse Entbitterung von Citrusfrüchten	Naringinase		
Milchindustrie	Lactosespaltung	wichtig in Entwicklungs- ländern Lactosurie	
Obstbrennerei	Pectinspaltende Enzyme	steigend	
Zucker, Konfitüren	Invertase Melibiase	große Bedeutung Erhöhung der Saccharose- Ausbeutung in der Zucker- industrie	

Tabelle 4. Enzymatische Fettspaltung

Anwendungsgebiete	Verwendete Enzyme	Wirtschaftliche Bedeutung	Probleme
Käseherstellung	Lipasen	groß	
Käsereifung	(Proteasen)		
Medizin (Verdauungssubstitution)	Lipasen (Proteasen, Amylasen)	groß	Austausch von Pankreas- enzymen gegen mikrobiologische Lipasen
Mehlbehandlung	Lipoxidase		

4. Spezielle Verfahren =====

4.1 Technologie in der Lebensmittelindustrie mit Mikroorganismen

Allgemeines: Das große Gebiet der Biotechnologie in der Lebensmittelindustrie ist hier der Vollständigkeit halber aufgenommen worden. Es ist offensichtlich ein wichtiges Gebiet der Biotechnologie, das gegenwärtig bereits technologisch sehr gut durchgearbeitet ist und seine Förderungen aus einer großen Anzahl von fest etablierten Institutionen, wie z.B. brauerei- und brennerei-technischen Fakultäten, Verbänden und dem Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (BML) erfährt.

Aus diesem Grunde sind auch wünschenswerte Entwicklungen mit einigen Projekten dargestellt, diese aber nicht in die Projektierung für das BMFT aufgenommen worden. Trotzdem sollten in Einzelfällen Förderungen durch das BMFT vorgenommen werden.

4.1.1 Verfahren mit Hefen (alkoholische Gärprodukte, Backhefen)

Allgemeines und gegenwärtiger Stand: Mikroorganismen spielen bei der Herstellung zahlreicher Nahrungs- und Genußmittel im industriellen Maßstab eine große Rolle (Bier, Spirituosen, Wein, Sekt, Essig, Käse, Backwaren, Hefe, Kaffee, Tee, Kakao, Tabakwaren usw.). Obwohl die einzelnen Technologien einen hohen Entwicklungsstand erreicht haben, ist nicht zu übersehen, daß im Gegensatz zu anderen Industriezweigen (z.B. Chemie, Automobilindustrie, Maschinenbau) Automation und kontinuierliche Prozesse die Ausnahme sind. Der diskontinuierliche Chargebetrieb ist die Regel. Das gilt auch in besonderem Maße für Verfahren unter Einsatz von Mikroorganismen, die unter dem Oberbegriff "Kontinuierliche Gärungen" zusammengefaßt werden können.

Obwohl in allen Industrien kontinuierliche Arbeitsweisen immer mehr in den Vordergrund treten, ist der Stand der kontinuierlichen Gärung in der deutschen Gärungsindustrie (Brauerei-, Brennerei-, Wein- und Hefetechnologie) derzeit gleich Null, wenn man vielleicht von der Ausnahme "Essigindustrie" einmal absieht, in der schon seit längerer Zeit vollautomatisch arbeitende Essiggeneratoren eingeführt sind.

Eine brauereitechnologische Versuchsanlage, die 1971 installiert wurde, und die einen kurzfristigen, kontinuierlichen Betrieb ermöglicht hätte, wurde stillgelegt. Demgegenüber gibt es in Großbritannien mindestens zwei Brauereien, die seit Jahren wenigstens teilweise kontinuierlich gären. Im Ostblock (DDR, CSSR, UdSSR und Polen) werden in zunehmendem Masse solche Anlagen in Betrieb genommen.

In der Weintechnologie werden kontinuierliche Gärverfahren seit etwa 1955 in Italien, Frankreich und der Sowjetunion, dagegen nicht in Deutschland betrieben. Auch bei der industriellen Backhefezüchtung hat sich bisher im Gegensatz zur Futterhefezüchtung kein kontinuierliches Verfahren durchsetzen können.

Im Ausland wird die Entwicklung kontinuierlicher Verfahren in der Gärungsindustrie durch mehrere Faktoren begünstigt: So ist z.B. die Konkurrenzlage der Betriebe des Ostblocks untereinander nicht mit der der Länder freier Marktwirtschaften zu vergleichen, wodurch sich ein niedrigeres Betriebsrisiko ergibt. Zum anderen werden in vielen Ländern meist geringere Qualitätsanforderungen gestellt. Gerade in Deutschland stellt der Qualitätsgesichtspunkt bei Gärerzeugnissen mit das größte Hindernis für die Einführung kontinuierlicher Gärverfahren dar. Vorteile der kontinuierlichen Gärverfahren sind: Geringer Platzbedarf, rascherer Stoffdurchfluß, besserer und gleichmäßigerer Wärmeaustausch, kürzere Produktionszeiten, Automation und damit Einsparung von Arbeitskräften.

Im Hinblick auf die in naher Zukunft weniger zur Verfügung stehende Melasse, dem wichtigsten Rohstoff für die gesamte Citronensäure- und Backhefeproduktion, werden sich die Produzenten von Backhefe und Citronensäure auf neue Rohstoffe umstellen müssen.

Der Trend zum Konsum ausländischer Lebensmittel, die unter Mitwirkung von Mikroorganismen hergestellt werden (z.B. Sojassossen), nimmt immer mehr zu. Derartige Produkte werden importiert, obwohl bei uns durchaus die technologischen Möglichkeiten und mikrobiologischen Voraussetzungen zu ihrer Herstellung gegeben wären. Was fehlt, ist das "know how".

Wünschenswerte Entwicklung (vgl. Allgemeines zu 4.1): Neben der apparativen und technologischen Entwicklung kontinuierlicher Gärverfahren in der Lebensmittelindustrie wäre besonders die gründliche Untersuchung aller Parameter wichtig, die die Qualität der Produkte hierbei beeinflussen könnten (z.B. Hefegabe, Sauerstoffdosierung, Fermentationstemperatur, Zusammensetzung der Gärsubstrate). Weitere Hauptaufgaben in diesem Zusammenhang sind die Aromakomponentenforschung (aliphatische und aromatische Alkohole, organische Säuren, Diketone, Acetale, Schwefelverbindungen etc.), die Reduzierung der Abwassermenge bzw. die Verbesserung des anfallenden Abwassers sowie die Sterilhaltung kontinuierlicher Prozesse.

Von den im Jahre 1990 auf dem Lebensmittelmarkt befindlichen Produkten dürften heute höchstens 20% bekannt sein, ein beträchtlicher Teil davon wird unter Verwendung von Mikroorganismen hergestellt werden. Die biotechnologische Produktentwicklung in der Lebensmittelindustrie sollte mit den folgenden Zielen gefördert werden: Erschließung neuer Rohstoffe, Veredelung von Abfallstoffen (vgl. 4.4), Herstellung bisher im Ausland gefertigter mikrobieller Produkte, Erschließung neuer Rohstoffquellen (z.B. anstelle von Melasse, Verwendung von Körnermaissilage) und nicht zuletzt Verhinderung der Bildung giftiger Substanzen bei Fermentationen.

4.1.2 Verfahren mit Bakterien und Pilzen (ohne Hefen)

4.1.2.1 Konservierungsverfahren durch Milchsäuregärung

Gegenwärtiger Stand: Die Konservierung von Lebensmitteln durch Milchsäuregärung wird derzeit in der BRD in größerem Umfang nur bei einigen speziellen Gemüseprodukten wie Sauerkraut und Früchten, z.B. Oliven, betrieben. Wie die Erfahrungen bei der Silagebereitung von wirtschaftseigenen Futtermitteln zeigen, wären dazu jedoch eine weit größere Zahl von Lebensmitteln prinzipiell geeignet. (Viele Gemüsearten, Steinfrüchte, rohe und gedämpfte Kartoffeln, junge Maiskolben und generell alle Cellulose-armen Nahrungsmittel). Wesentliche biologische Voraussetzungen für den ordnungsgemässen Gärverlauf unter Ausschluß von Butter- und Essigsäurefehlgärung bei Nahrungsmitteln sind:

- a) Ausreichender Gehalt an einfachen und zusammengesetzten Zuckern, die von homofermentativen Laktobazillen leicht vergoren werden (einschließlich Polyfruktosane)
- b) geringe Pufferkapazität des Konservierungsgutes, d.h. das Zucker/Eiweißverhältnis sollte möglichst hoch liegen
- c) der osmotische Wert des Konservierungsgutes sollte besonders hoch sein oder sich durch Zugabe osmotisch wirksamer Zusätze (Kochsalz) leicht erhöhen lassen
- d) die Anwesenheit besonders gärraktiver Laktobazillen, die eine möglichst reine und verlustfreie Gärung und risikolose Konservierung durch schnelle pH-Absenkung ermöglichen, muß gesichert sein.

Der Einfluß einzelner Faktoren, die eine erwünschte Entwicklung und Umschichtung der vorherrschenden MS-Bakterienflora fördern oder hemmen (pO_2 , pH-Limit für Clostridien und andere proteolytische Gärschädlinge, Hemmung durch organische Säuren, Osmotoleranz, Manganophilie) ist in den letzten Jahren insbesondere aus Untersuchungen bei der Futtermittelsi-

lierung bekannt geworden. In ihren Ursachen noch wenig bekannt sind die weitergehenden enzymatischen Aktivitäten ausgereifter Gärprodukte und die gelegentlich auftretende geringe Lagerstabilität solcher Konserven.

Die Gärfutter-technischen Fragen wie Zerkleinerung des Konservierungsgutes, Maßnahmen des ausreichenden Luftabschlusses bzw. Entweichen der Gärgase und Saftabfluß sind weitgehend als gelöst zu betrachten. Der förderliche Temperaturbereich für verschiedenes Siliergut ist offensichtlich jeweils etwas unterschiedlich.

Wünschenswerte Entwicklung (vgl. Allgemeines 4.1): Eine verstärkte Einsatzmöglichkeit der Milchsäuregärung zur Lebensmittelkonservierung in der Zukunft wird voraussichtlich davon abhängen, ob es gelingt

- a) die Konservierung völlig risikofrei zu gestalten und unerwünschte sogenannte "Nachgärvorgänge" auszuschalten;
- b) qualitativ hochwertige und aromatische Lebensmittelkonserven, die dem Geschmack des Konsumenten entsprechen, zu gewinnen.

Zu a) Risikofreie Lebensmittelherstellung wird wahrscheinlich nur bei Einsatz von Gärhilfsmitteln mit selektiv bakterio-statischer Wirkung möglich werden (Unterdrückung coliformer Keime von Mikrokokken und Clostridien sowie Hefen). Dafür sprechen die Erfahrungen bei der Grünfutterkonservierung. Wichtigste Forderung ist dabei entweder physiologische Unbedenklichkeit der eingesetzten Präparate (z.B. Propionate) oder die Gewähr eines völligen Abbaues solcher Verbindungen während des Gärvorganges. Bei der Grünfüttererzeugung werden solche Silierhilfsmittel mit Nitrit und anderen schnell abbaubaren Verbindungen neuerdings verstärkt eingesetzt. Für die Zwecke der Lebensmittelkonservierung sind in dieser Richtung noch eingehende Untersuchungen mit entsprechenden Rückstandsanalysen notwendig. Eine reine oder auch nur teil-

weise chemische Konservierung von Lebensmitteln ist auszuschließen.

Zu b): Die Bildung erwünschter Aromastoffe und biologisch hochwertiger Lebensmittelkonserven setzt das Vorherrschen entsprechender Mikrobenarten im Gärprodukt voraus. Impfkulturen solcher ausgesuchter Spezialisten haben bei Gärfutter unter bestimmten Voraussetzungen zu sehr gutem Erfolg geführt. Für die Lebensmittelkonservierung bemühen sich größere Firmen (Sauerkraut) schon seit einiger Zeit, Aromabildner zu züchten und einzusetzen. Die Möglichkeit der Herstellung gefriergetrockneter Massenkulturen dürfte in Zukunft für die Anwendung solcher Impfkulturen, ähnlich wie bei der Herstellung von Milchprodukten, sehr förderlich sein. Die derzeitigen Grundlagen-Kenntnisse sind noch vergleichsweise bescheiden.

4.1.2.2 Herstellung von Milchprodukten

Gegenwärtiger Stand: Ausser verschiedenen Formen der Rohmilch (einschließlich pasteurisierter und sterilisierter Milch) wird Milch zu Rahm bei der Butterherstellung, zu Sauermilchprodukten (z.T. mit geringen alkoholischen Gärungen), sowie zu Käseprodukten verarbeitet. An diesen Verarbeitungsprozessen sind Mikroorganismen zum großen Teil hervorragend beteiligt.

Der gegenwärtige Stand sämtlicher Technologien ist in verschiedenen Ländern sehr unterschiedlich, in hochindustrialisierten Ländern bereits ausserordentlich fortgeschritten. Trotzdem werden häufig neue Produkte hergestellt. So wird z.B. in Japan ein Joghurt produziert, der in mehrtägigen Gärungen erhalten wird und sehr hohe Konzentrationen der *Lactobacillus bulgaricus*-Stämme enthält. Ähnlich ist die Käseindustrie darauf bedacht, neue Käsesorten mit neuen Geschmacksrichtungen zu produzieren.

Der Trend geht zur Verwendung von Mikroorganismenreinkulturen bei sämtlichen Produktionsschritten, an denen Mikroorganismen beteiligt sind.

Wünschenswerte Entwicklung (vgl. Allgemeines zu 4.1): Es sollten Reinkulturen für viele Produktionsgänge entwickelt werden, die als Starterkulturen dienen können. Hierbei ist besonders auf Toxinfreiheit, gute technologische Eigenschaften, besonders gute Aromabildung zu züchten.

Weiterhin sind Arbeiten über die biochemische Bildung der Produkte einschließlich der Aromastoffe zu fördern. Schließlich sollte die möglichst rationelle Herstellung von Produkten angestrebt werden.

Die Reinkulturen, die als Starterkulturen dienen sollen, müßten in Stammsammlungen (vgl. 1.1.2) konserviert werden.

4.1.2.3 Sauerteig

Gegenwärtiger Stand: Die Herstellung des Roggen- und Roggenmischbrottes erfordert eine Versäuerung des Teiges. Seit alters her wird hierzu der Sauerteig verwendet. Von seinen Eigenschaften und der durch ihn bewirkten Säuerung hängen weitgehend der Charakter und die Qualität des Brotes ab.

Die Sauerteiggärung zählt zu den ältesten Verfahren der technischen Mikrobiologie. Es ist mit den bekannten Wegen möglich, den Sauerteig den Erfordernissen entsprechend einzusetzen. Die Technologie des Sauerteiges und die Möglichkeiten der Beeinflussung der Sauerteiggärung, mit den daraus resultierenden Auswirkungen auf die Eigenschaften des Brotes, beruhen weitgehend auf empirischen Erfahrungen. Zwar hat die Sauerteiggärung vielfach eine wissenschaftliche Bearbeitung erfahren, jedoch sind die mikrobiologischen Aspekte weitgehend unberücksichtigt

geblieben. Bis in die jüngste Zeit bestehen weder ein vollständiges Bild der an der Sauerteiggärung beteiligten Mikroorganismen, noch Klarheit über die auftretenden Wirkungen und Wechselwirkungen.

Wünschenswerte Entwicklung: Der Übergang von der handwerklichen Fertigung zur industriellen Herstellung des Brotes sowie die Einrichtung kontinuierlicher Prozesse zur Bereitung und Verarbeitung des Sauerteigs erfordern eine eingehende Kenntnis der biologischen Gegebenheiten des Sauerteiges und der Steuerbarkeit der mikrobiellen Vorgänge.

Folgende Forschungen sind von Interesse:

- a) Arbeiten über die Biocoenose und die Gesetzmässigkeiten der Verteilung der Mikroflora des Sauerteiges bzw. auftretender Sukzessionen von Mikroorganismen während der Reifung und Sauerteiggärung;
- b) Arbeiten über das Verhalten der verschiedenen Arten der Sauerteigbakterien unter dem Einfluß des Rohstoffes und der äußeren Faktoren (Zeit, Temperatur, Vermehrungshöhe, Teigfestigkeit, NaCl-Gehalt) und über die resultierenden Auswirkungen auf die Eigenschaften des Sauerteiges;
- c) Untersuchungen über oekologische Beziehungen zwischen Sauerteigbakterien einerseits und Mischkulturen von Sauerteigbakterien und Hefen andererseits und über die Einflüsse auf die Sauerteiggärung.

Es wird dann auch möglich werden,

- geeignete Verfahren zur Vorratshaltung von Sauerteigen und Sauerteigbakterien als Starterkultur in diskontinuierlicher und kontinuierlicher Führung zu entwickeln;
- Grundlagen zu erarbeiten für die Technologie einer kontinuierlichen Sauerteigführung, insbesondere unter Berücksichtigung des Einsatzes von Reinkulturen.

4.1.2.4 Champignons und andere höhere Pilze (ausgeschlossen Submersverfahren)

Gegenwärtiger Stand: Unter den landwirtschaftlichen Spezialkulturen gewinnt die Zucht von Speisepilzen zunehmend an Bedeutung. Viele Versuche, wertvolle Speisepilze auf künstlichen Nährsubstraten anzusiedeln, erschöpfen sich in langwieriger Empirie und zeigen nur dort bescheidene Erfolge, wo es sich um Saprophyten handelt. Dagegen entzieht sich die Mehrzahl der Mykorrhizapilze, zu denen beispielsweise der Steinpilz, *Boletus edulis*, und der Pfifferling, *Cantharellus cibarius*, gehören, jeder Methodik.

Zu den wenigen Pilzen, deren Kultivierung geglückt ist, zählt der Champignon, *Agaricus bisporus*. Unter Anknüpfung an die seit mehr als hundert Jahren auf Pferdemitkompost betriebene Hügelbeetkultur ist es in den vergangenen zwei Jahrzehnten gelungen, eine Technologie zu entwickeln, die in verschiedenen europäischen Ländern, in Nordamerika und Kanada die Dimension einer industriellen Nahrungsmittelproduktion erreicht hat.

Während die Mechanisierung von Teilprozessen problemlos jeder Betriebsgröße angepasst werden kann, fehlt bislang die automatische Steuerung der komplizierten mikrobiellen Umsetzungen. Hier entscheidet vor allem das hohe fachliche Können des Züchters.

In einem der Champignonzucht entlehnten Verfahren wird in einem allerdings kaum nennenswerten Umfang der Austernseitling, *Pleurotus ostreatus*, gewerblich angebaut. Er gehört wie der Champignon zu den holz- und kompostverwertenden Pilzen, sein Genußwert ist umstritten, dennoch dürfte seine Kultivierung in den kommenden Jahren an Bedeutung gewinnen.

In fernöstlichen Ländern wird eine Reihe weiterer Pilze gezüchtet. Von besonderer wirtschaftlicher Bedeutung ist der Shiitake-Pilz, *Lentinus edodes*, der in Halbkultur auf Eichenknüppeln

gezogen wird und dessen Produktion die des Champignons übertrifft; ferner der Scheidling, *Volvariella volvacea*, der auf Reisstroh wächst. Erwähnenswert ist auch die Kultivierung von *Auricularia-Pholiota-* und *Pleurotus*-Arten auf Holzunterlagen.

Wünschenswerte Entwicklung: Der derzeitige Stand der Kompostiertechnik bietet vielfältige Möglichkeiten, Abfallstoffe, wie z.B. Schwemmstoffe aus der Massentierhaltung, Borke und Sägemehl aus der Holzverarbeitenden Industrie sowie aufbereitete Siedlungsabfälle in die Substratbereitung einzubeziehen. Die Biotechnologie der Aufbereitung von Abfallstoffen für die Kultivierung von höheren Pilzen sollte bevorzugtes Forschungsobjekt sein.

Als Ergänzung wären Untersuchungen über Züchtungsmöglichkeiten weiterer Pilzarten notwendig. Diese dürften vor allem unter den Saprophyten zu suchen sein. Zur engeren Wahl gehören bereits jetzt *Pleurotus ostreatus*, *Pholiota mutabilis*, *Lentinus edodes*, *Lepiota procera*, *Tricholoma*-Species und *Volvaria*-Arten. Bei den Mykorrhizapilzen wäre durch die Grundlagenforschung noch umfangreiche methodische Vorarbeit zu leisten.

Grundsätzlich spricht eine Reihe von Gründen für die Intensivierung der Forschung auf dem Gebiet der höheren Pilze:

- a) Die Erweiterung der Kenntnisse über StoffwechsellLeistungen und Produkte des Sekundärstoffwechsels führt mit hoher Wahrscheinlichkeit zur Entdeckung wichtiger Substanzen, für deren Gewinnung neue Technologien zu entwickeln wären.
- b) Basidiomyceten eignen sich besonders für den Ab- und Umbau fester, schwer zersetzbarer organischer Substanz auf dem Abfallsektor. Die Hygienisierung und Beseitigung dieser Stoffe lässt sich mit einer kostendeckenden Wertschöpfung verknüpfen.
- c) Die Zucht höherer Pilze erschließt für landwirtschaftliche Betriebe neue günstige Erwerbsquellen in der Nahrungs- und

Futtermittelproduktion, möglicherweise auch in der Erzeugung von Rohstoffen für die weiterverarbeitende Industrie.

4.1.3 Spezielle Fermentationsverfahren bei der Herstellung von Genußmitteln

4.1.3.1 Mikrobiologische Verfahren bei der Herstellung von Kaffee, Kakao und Tee

Gegenwärtiger Stand: Bevor Kaffeebohnen verarbeitet werden können, muß eine sehr feuchte Mesokarpschicht, die etwa 20% der Gesamtf Frucht ausmacht, und in welche die eigentlichen Kaffeebohnen eingebettet sind, durch pektinabbauende Bakterien entfernt werden. Dies geschieht in den Herstellungsländern.

Kakaobohnen müssen ebenfalls einem Fermentationsprozeß unterzogen werden. Dabei wird der Embryo abgetötet, eine Autolyse der Kotyledonen verursacht, phenolische Substanzen der Bohnen freigesetzt, der bittere, herbe Geschmack beseitigt und das charakteristische Aroma gebildet. Derartige Fermentationen werden in den Ursprungsländern durchgeführt.

Eine Teefermentation wird zu einem geringen Teil in den Ursprungsländern besonders zur Bildung des Aromas durchgeführt.

Wünschenswerte Entwicklung: Da sämtliche Verfahren in den Ursprungsländern durchgeführt werden, sind sie im Rahmen einer biotechnologischen Entwicklung in der BRD nicht förderungswürdig. Wissenschaftliche Untersuchungen über die Gärung im Rahmen anderer Ministerien (z.B. Entwicklungshilfe, DFG-Grundlagenforschung) sind sicherlich von allgemeinem Interesse.

4.1.3.2 Tabakfermentation

Gegenwärtiger Stand: Die mikrobiologische Tabakfermentation

ist heute fast ausschließlich noch eine Naturfermentation, bei der ein Eiweiß- und Nikotinabbau sowie eine Geruchs- und Geschmacksstoffbildung stattfindet. Nach zunächst enzymatischen Abbauvorgängen finden mikrobiologische Vorgänge statt, die aus der epiphytischen Mikroflora auf den Blättern resultieren. Am Schluß sind chemisch ablaufende Reaktionen, z.B. Bindungsreaktionen zu beobachten.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Naturfermentation sollte gezielter durchgeführt werden, besonders um zu einer Arbeitsrationalisierung zu gelangen. Hierfür sind umfangreiche physikalische und chemische Untersuchungen der mikrobiellen und chemischen Abbauvorgänge (einschließlich der enzymatischen Umsetzungen) notwendig. Weiterhin müßte die Mikrobiologie der Fermentationsvorgänge eingehend studiert werden.

4.2. Enzymverfahren in der Lebensmittelindustrie

Gegenwärtiger Stand: Im Laufe der letzten Jahre hat die Produktion mikrobieller Enzympräparate eine große Aufwärtsentwicklung erlebt. Ihre Verwendung in der Lebensmittelindustrie nimmt immer mehr zu. Industriell angewendete mikrobielle Enzympräparate sind vornehmlich Bakterien- α -Amylase, Schimmelpilz- α -Amylase, pektolytisch wirkende Schimmelpilzpräparate, Schimmelpilz-Glucoamylase, Schimmelpilz-Cellulase sowie Proteinasen aus Bakterien, Pilzen oder Pankreas. Die für industrielle Zwecke eingesetzten Präparate enthalten im allgemeinen eine oder mehrere Nebenaktivitäten, was sich oft vorteilhaft auswirkt.

Bakterien- und Pilzamy lasen enthalten häufig proteolytische Enzyme, was dann von Vorteil ist, wenn ausser Stärke auch Protein hydrolysiert werden soll (z.B. bei alkoholischer Gärung). Ebenfalls kommt als Nebenzym auch β -Glucanase vor, die Hemicellulose von β -Glucancharakter abbaut. Dadurch wird die Viskosität erniedrigt und die Filtrierbarkeit z.B. von Bierwürzen erhöht. Cellulasepräparate enthalten zahlreiche Nebenaktivitäten mit Pektinmethylesterase, Xylanase, Galaktomannase usw. Diese erleichtern z.B. den Abbau von cellulose- und hemicellulosehaltigem Pflanzenmaterial. Auch in Pektin-Enzympräparaten kommen in der Regel mehrere Enzyme vor, wie Polygalacturonasen, Polymethylgalacturonasen, Pektinmethylesterase, deren Zusammenwirken anwendungstechnisch nicht von Nachteil ist.

Folgende Enzyme werden u.a. technisch angewandt:

- Bakterien- α -Amylase, Schimmelpilz- α -Amylase

Diese stärkeverflüssigenden Enzyme sind aus Bakterien sehr hitzestabil, aus Schimmelpilzen hitzeempfindlich.

- Bakterien- α -Amylase + Glucoamylase

Dieses Kombinationspräparat bewirkt eine rasche Stärkeverflüssigung (Dextrinierung).

- Pectolytisch wirkende Enzympräparate

Die Präparate stammen zumeist aus Schimmelpilzen und werden zur Klärung von Fruchtsäften als sog. Filtrationsenzyme, zur Viskositätsverminderung und zum Aufschluß von Obst- und Traubenmaischen verwendet.

- Proteolytisch wirkende Enzympräparate

Weniger hitzeempfindliche Präparate aus Bakterien sind in der Waschmittelindustrie und Molkereiwirtschaft bedeutungsvoll.

- Cellulasen

Verschiedene aus Pilzen, aber auch aus Bakterien hergestellte Cellulasen sind im Handel. Hier fehlen billige Präparate mit hoher Aktivität. Im Ausland wird sehr intensiv über Cellulasen gearbeitet (vgl. a. 4.5.4.2).

Der Wissensstand und die Herstellungstechnik von Amylasen, Glucosidasen, pectolytisch und proteolytisch wirkenden Enzymen sind bereits sehr hoch. Bei Cellulasen fehlt ein einfaches technisches Verfahren.

Das Ausland hat hinsichtlich der Herstellung einen großen technischen Vorsprung. Die meisten Enzyme müssen in Lizenz hergestellt werden.

Wünschenswerte Entwicklung: Wegen der zu erwartenden großen Aufnahmemöglichkeit des Marktes für verschiedenste Enzympräparate scheint auch eine Entwicklung bei der enzymherstellenden Industrie notwendig zu sein. Besondere Bedeutung hat die Herstellung von Enzymprodukten zum Einsatz bei der Abwassertechnologie.

Enzyme, besonders pectolytische Enzyme könnten zur Freisetzung von Aromastoffen aus Lebensmitteln geeignet sein. Ob es sinnvoll ist, Malzersatzpräparate herzustellen, muß noch ausführlich geprüft werden.

4.3. Silage zur Futtermittelherstellung

Gegenwärtiger Stand: Die Erzeugung von Silage für die Fütterung bleibt dort ein beherrschender Faktor, wo

- feuchtes Klima die Trocknung erschwert,
- Mais zur überwiegenden Futterpflanze wird,
- Zuckerrübenblatt auch mit den zusätzlichen Kosten der Sickersaftbeseitigung noch konkurrenzfähig ist.

Daneben spielt die luftdichte Lagerung von Vorwelksilagen, insbesondere beim Grünfutter eine wichtige Rolle. Es ist jedoch schwierig, der Vorwelksilage neue technische und gärbiologisch bessere Verfahren zuzuordnen. Gute, wiederkäuergerechte Gärqualitäten sind dann zu erzielen, wenn das zu silierende Material zwischen 30 und 45% Trockensubstanz aufweist. Da diese Werte häufig nicht erreicht werden, ist der Einsatz von Zusatzmitteln vielfach gerechtfertigt. Dadurch wird eine gewünschte Reduzierung der Umsatzvorgänge erreicht und ein Nachgärrisiko vermieden.

Silage ist heute in der Regel ein unentbehrlicher Bestandteil einer jeden Futtermischung sowohl für das Milchvieh als auch für Maststiere und Mastbullen (während beim Milchvieh Silage überwiegend im Winter oder bei ganzjähriger Stallhaltung eingesetzt wird, ist z.B. die Maissilage für die Rindermast stets ganzjährig erforderlich).

Wünschenswerte Entwicklung: Besonders wichtig ist es, bei der Silagebereitung die Verluste an Nähr- und Inhaltsstoffen niedrig zu halten. Es muß deshalb Aufgabe der Forschung sein, biologische Kenndaten als Grundlage für ökonomische Überlegungen zu erarbeiten. Die Einsatzmöglichkeit fungizid wirkender organischer Säuren muß weiter geprüft werden, um insbesondere Nachgärungen - die stets mit großen Verlusten verbunden sind - zu vermeiden bzw. zu reduzieren. In jüngster Zeit hat sich auf dem Gebiet der Körnerkonservierung eine Wandlung dahingehend vollzogen, dass Futtergetreide (einschließlich Mais) nicht mehr ge-

trocknet, sondern siliert wird. Dieses Feuchtgetreide kann pumpfähig gemacht werden und wird besonders für große Schweinehaltungen beträchtliche wirtschaftliche Vorteile bringen. Ferner wird die Silierung in festen Behältern ergänzt werden durch Foliensilos verschiedener Arten.

4.4 Mikrobiologische und enzymatische Abbauprozesse

Allgemeines: Abbauprozesse werden an festen, flüssigen oder fest-flüssigen Abfällen aus Haushalt, Gewerbe und Industrie (Müll, Abwasser, tierische Abfälle, Schlämme) durchgeführt.

Die Prozesse arbeiten in offenen Anlagen mit sich ansiedelnden Organismen-populationen (Mischkulturen); nur in Einzelfällen erfolgt eine Selektion in Form natürlicher Reinzucht. Erschwerend für die Prozessführung wirkt sich der nach Art und Menge zeitlich wechselnde Anfall der Abfälle aus.

4.4.1 Abwasserreinigung

Gegenwärtiger Stand: Drei kontinuierlich betriebene Verfahren werden mit verschiedenen Abwandlungen angewendet:

- a) Verrieselung über Tropfkörper
- b) Belüftung mit belebtem Schlamm
- c) Methangärung (Faulung).

Über die biologischen Grundlagen dieser technischen Verfahren bestehen im wesentlichen nur summarische Vorstellungen; Detailkenntnisse sind nur in geringem Masse vorhanden. Dem hieraus resultierendem Dilemma wurde auf dem Europäischen Symposium über Abwasser- und Abfallbeseitigung in München (1972) Ausdruck gegeben.

Bei einer Überprüfung von 50 Kläranlagen in der Schweiz wurden zwar ausreichende Reinigungsleistungen festgestellt; diese korrelieren jedoch in keiner Weise mit den Parametern, die man als wichtigste Einflußgrößen auf die Reinigungsleistung ansah. Dies gilt auch heute noch.

Der Grund für dieses mangelhafte Verständnis ist darin zu sehen,

daß Art und Menge der an dem Abbauprozess beteiligten Organismen (Bakterien, Pilze, Protozoen, niedere Metazoen) nicht erfaßt werden können - die Organismen können nicht einmal sicher vom Unbelebten quantitativ abgetrennt werden. Bisher bestehen lediglich erste theoretische Ansätze zur Wachstums- bzw. Abbaukinetik derartiger gemischter Populationen, die jedoch in der Praxis noch nicht allgemein anwendbar sind. Folglich sind die für eine optimale Steuerung der Verfahren relevanten biologischen Meßgrößen noch nicht hinreichend erkannt.

Wünschenswerte Entwicklung: In der beigefügten Tabelle werden sechs Forschungsgebiete (I bis VI) aufgezeigt, deren Bearbeitung zum besseren Verständnis und zu einer besseren technischen Handhabung dieser biologischen Verfahren beitragen kann.

Teile dieser Gebiete sind selbstverständlich auch in anderem Zusammenhang relevant und bereits bearbeitet worden. Hier wird allein auf die Verhältnisse der Abwasserreinigung Bezug genommen. Ferner ist eine Bewertung der entsprechenden Forschungsrichtungen bezüglich der Intensität der Bearbeitung, soweit sie in direkter Beziehung zum Abwasser stehen, versucht worden. Diese generalisierende Beurteilung kann sicher nicht jeder Bemühung auf diesen Gebieten gerecht werden, doch kann sie allgemeine Tendenzen aufzeigen, auf die im folgenden kurz eingegangen wird unter Hinweis auf die Systematik der Tabelle. Die bisherige unterschiedliche Bearbeitungsintensität der beteiligten Forschungsrichtungen wurde mit ein bis drei Kreuzen gekennzeichnet:

- x = ungenügend oder nicht bearbeitet
- xx = bearbeitet
- xxx = stark bearbeitet
- = ohne Relevanz

Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, die durch das Zeichen x gekennzeichneten Arbeitsrichtungen vordringlich zu bearbeiten.

Tabelle 5. Forschungsgebiete der biologischen Abwasserreinigung und geschätzte Intensität der Bearbeitung (siehe Text)

	Tropf- körper a	Belebt- schlamm b	Methan- gärung c
I. Das Abwasser			
1. Inhaltsstoffe und deren Konzentrationen	xx	xx	xx
2. Abwassermengen	xxx	xxx	xxx
3. Periodische Wechsel von Inhaltsstoffen, Konzentrationen und Wassermengen	xx	xx	xx
4. Allgemeine Abwassereigenschaften	xx	xx	xx
5. Hemmstoffe	xx	xx	xx
II. Biologie der Organismenarten			
1. Taxonomie	x	x	x
2. Ökologie der Arten	x	x	x
3. Ernährung und Baustoffwechsel der Arten	x	x	x
4. Abbauleistung u. Energiestoffwechsel der Arten	x		x
5. Wachstumskinetik der Arten (mit Anpassung, Diauxie etc.)	x	x	x
6. Abbaukinetik	x	x	x
III. Beziehung zwischen den Organismenarten			
1. Metabiose	x	x	x
2. Symbiose	x	x	x
3. Antagonismus	x	x	x
4. Populationsdynamik	x	x	x
IV. Abwasserreinigung als kontinuierlicher Fermentationsprozess			
1. Wachstumskinetik der Mischungspopulation	x	x	x
2. Abbaukinetik durch die Mischungspopulation	x	x	x
3. Anteil einzelner Arten am Geschehen	x	x	x
4. Flockungsverhalten	-	x	x
5. Einfluß von Prozessparametern (z.B. Mischen, Belüften, Absetzen)	xx	xx	x

Tabelle 5 (Fortsetzung)

	Tropf- körper a	Belebt- schlamm b	Methan- gärung c
V. Meßgrößen zur Prozeß-Überwachung und -Steuerung			
1. Biomassen-Bestimmung	x	x	x
2. Aktivitäts-Bestimmungen	x	xx	x
3. Nährstoff-Bestimmungen	x	x	x
4. Abbaugrad-Bestimmungen	xx	xx	x
5. Toxizitäts-Bestimmungen	x	x	x
VI. Zusätzliche biologische und biochemische Verfahren			
1. Bioschlamm-Verwertung	-	x	x
2. Entkeimungs-Verfahren	x	xx	xx
3. Denitrifizierung	x	xxx	x
4. Entphosphatierung	x	xx	x
5. Variationen für spezielle Industrieabwässer	xx	xx	xx
6. Gezielte Impfung	x	x	x

Zu den in der Tabelle aufgezeigten, mehr oder weniger stark bearbeiteten Forschungsgebieten sind im einzelnen nachstehende Anmerkungen zu machen, die Hinweise über die wünschenswerte Entwicklung auf dem Gebiete der Abwasserreinigung geben:

Forschungsgebiet I: Zur optimalen Wirkungsweise von Kläranlagen sollten Untersuchungen über den Einfluß organ.-chemischer Einzelkomponenten und deren Mischungen auf Wachstum und Abbaufähigkeit von bzw. durch Mikroorganismen durchgeführt werden.

Forschungsgebiete II a bis IV a: Für Tropfkörper liegen taxonomische und ökologische Erkenntnisse bei Pilzen (England) vor. Alle anderen in Frage kommenden Organismen wurden bisher weitgehend vernachlässigt. Da die Organismen die Füllkörper als Film überziehen, fehlen differenzierende Betrachtungen (II 3 bis II 6 und III) und integrierende Erkenntnisse (IV), die erworben werden müssen.

Forschungsgebiete II b bis IV b: Die Protozoen des Belebtschlammes sind taxonomisch und ökologisch sehr gut bekannt (Deutschland, England), auch Zoogloea ramigera als Leitbakterium für "gesunden" und Sphaerotilus natans als Leitform für "kranken" Belebtschlamm haben ökologisch und taxonomisch Beachtung gefunden, ferner jedoch fast nur noch spezielle Faekalkeime. Ansätze gibt es hinsichtlich der Populationsdynamik nitrifizierender Bakterien und des dynamischen Verhaltens von Protozoen-Bakterien-Mischpopulationen. Es erscheint notwendig, Methoden zu entwickeln, die sehr komplexen Populationen taxonomisch und biochemisch zu erfassen, um damit die Grundlage für ein gezieltes Eingreifen (Gebiet V) zu erarbeiten.

Mehr Beachtung hat dagegen die Gesamtkinetik (IV) des Belebtschlammes in den USA gefunden; doch sind weitere Untersuchungen erforderlich.

Forschungsgebiete II c bis IV c: Die Methangärung hat vor allem in den USA und England, aber auch in Deutschland, lebhaftes wissenschaftliches Interesse ausgelöst, so daß hier globale Kenntnisse vorliegen. Allerdings haben die Schwierigkeiten der Anzucht reiner Stämme auch auf diesem Gebiet die Lösung vieler Fragen bisher verhindert. Aus Gründen der möglichen Energiegewinnung (siehe Abschnitt 4.5.8) bedarf dieses Gebiet dringend der Bearbeitung.

Forschungsgebiet V: Biologisch relevante Messungen zur Überwachung und Steuerung der Verfahren sind nur in Ansätzen erkennbar. Derartige Meßmethoden können nur auf der Basis von Grundlagenkenntnissen erwachsen und müssen den besonders schweren Anforderungen unter den Bedingungen der Abwasserreinigungsprozesse gerecht werden. Untersuchungen hierüber müssen Priorität haben.

Forschungsgebiet VI: Für einzelne Spezialfälle ist eine Reihe von Verfahren in Abänderung und Ergänzung der Grundverfahren

untersucht worden. Hierzu rechnen insbesondere Verfahren zum Abbau spezieller Industrieprodukte (Phenole, Cyanide, Rhodanide, NH_3 , Öle, Monomere der Kunststoffsynthese), die mit selektionierten Populationen arbeiten und teilweise relativ gut untersucht sind. Hier müssen vermehrt Methoden angewendet werden, die bei Fermentationen mit reinen Stämmen üblich sind. Da, wie es heute scheint, verschiedene Abbauleistungen episodisch gesteuert werden, zeichnet sich z.B. die Möglichkeit ab, gefundene oder durch genetische Manipulationen erzielte Abbauleistungen durch Fixierung in Bakterienstämme, die sich in Kläranlagen halten, in technischem Umfang zu nutzen. Hinsichtlich der Verfahrenstechnik gelten ebenfalls die Ausführungen in Kapitel 2.

4.4.2 Kompostierung (z.B. Müll, Klärschlamm, Faulschlamm, Stroh) sowie Beseitigung landwirtschaftlicher Produkte

Gegenwärtiger Stand (vgl. 4.1.2.4): In der Bundesrepublik fielen 1970 etwa 18 Mio t Hausmüll, 18 Mio t Klärschlamm und 205 Mio t tierische Abfälle an. Nach Schätzungen wird 1980 allein mit 31 Mio t Hausmüll und 38 Mio t Klärschlamm zu rechnen sein.

Die Kompostierung von Hausmüll schafft die Voraussetzung für die Rückführung eines großen Teils der Abfälle in den natürlichen Stoffkreislauf (recycling). Sie bietet gleichzeitig die Möglichkeit, Klärschlamm schadlos unterzubringen. Die gemeinsame Kompostierung von Hausmüll und Rohschlamm schafft die Voraussetzung für die Einstellung eines angemessenen Feuchtigkeitsgehaltes und die Verbesserung des Kohlenstoff-Stickstoffverhältnisses sowie die gleichzeitige Desinfektion des hygienisch bedenklichen Rohschlammes. Andere organische Abfälle, insbesondere aus der Lebensmittelbranche, können einbezogen oder allein kompostiert werden. Abfälle mit Mangel an Stickstoff, Phosphaten oder anderen Nährstoffen, z.B. Stroh, Holzabfälle, bedürfen einer entsprechenden Ergänzung, Holzabfälle z.T. auch einer Eliminierung von Hemmstoffen.

Klärschlamm enthält als Abwasserkonzentrat auch dessen Krankheitserreger in großen Mengen, die nicht nur für den Menschen, sondern auch für landwirtschaftliche Nutztiere hochpathogen sind. Vor seiner Anwendung in der Landwirtschaft als Düngemittel oder Bodenverbesserungsmittel muß er deswegen entseucht werden. Natürlich getrockneter Klärschlamm kann durch Zusatz von Kompostierungshilfsmitteln auf Mieten kompostiert werden, wobei allerdings die Gefahr der Bildung anaerober Zonen (Gestank) und die Entwicklung ungenügend hoher Temperaturen besteht. Dieses Verfahren kann mit Erfolg nur im Sommer praktiziert werden. Ab etwa Oktober sollte Klärschlamm im Freien nicht mehr kompostiert werden. Da nicht aller anfallende Klärschlamm mit Müll kompostiert werden kann, müssen andere Verfahren zu seiner hygienischen Vorbehandlung vor Abgabe an die Landwirtschaft durchgeführt werden. Eines davon ist die Pasteurisierung bei 70° in 30 min. Empfehlenswerter ist die Kompostierung von entwässertem Frischschlamm in sogenannten Bio-Reaktoren, die jetzt in verschiedenen Ausführungen angeboten werden. Seit neuestem werden Bestrahlungsquellen (Elektronenbeschleuniger oder Kobalt-60-Strahler) zur Entseuchung von Klärschlamm experimentell eingesetzt, die jetzt bereits bis zur Praxisreife entwickelt worden sind.

Ca. 86% der anfallenden tierischen Abfälle entstammen der Rinderhaltung, 10% der Schweinehaltung und 4% der Geflügelhaltung. In den beiden letztgenannten Bereichen wurde die nutzflächenunabhängige Produktion in großen Tierbeständen entwickelt, deren ökonomischer Erfolg durch die Kosten für die Beseitigung der Exkremeunte als Abfall beeinträchtigt wird. Behelfslösungen führten zu wilden Kotdeponien, die den Nutzwert des Bodens mindern, das Wasser verderben und die Luft verpesten. Ein Teil der Exkremeunte enthält Seuchenerreger. Die meisten Exkremeunte liegen heute in flüssiger Form vor, so daß eine mikrobiell bedingte Selbsterhitzung als Element der Entseuchung ausscheidet. Ein biologischer Kotabbau ist zwar demonstriert, eine praxisgerechte Lösung aber noch nicht gefunden worden.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Ausarbeitung neuer Technologien zur Kompostherstellung wäre von großem Wert. Die optimalen Bedingungen einer schnellen Kompostierung unter Berücksichtigung von Zerkleinerungsgrad, Feuchtigkeit, Temperatur, Sauerstoffversorgung und möglichen anderen Faktoren sind noch nicht erarbeitet. Voraussichtlich werden die Bedingungen zeitlich geändert werden müssen, um sie für die jeweils metabolisierenden Organismen der aufeinanderfolgenden Populationen optimal zu gestalten. Spezialanpassungen an besondere Abfälle sind bisher kaum geläufig. Es fehlt auch an Möglichkeiten zur quantitativen Analyse einzelner Abfallkomponenten. Insgesamt ist der biologische Kompostierungsprozess mindestens so schwer zu analysieren wie die Abwasserreinigungsprozesse.

Um eine Verwendung des Komposts sicherzustellen, muß eine praxisgerechte Endform des erhaltenen Produkts, eine Standardisierung und Methoden zur Prüfung auf optimale Förderung des Pflanzenwachstums gefunden werden. Hierfür liegen noch keine befriedigenden Methoden und Lösungen vor. Von großer Bedeutung wäre auch die Unterstützung von Forschungsobjekten, die sich mit folgenden Fragen beschäftigen: Abbau von Kunststoffen durch Mikroorganismen, Desinfektion des Komposts durch Selbsterhitzung und antagonistische mikrobielle Wirkungen, Feststellung und langfristige Wirkung von Kompostgaben auf Boden und Pflanzen, Behebung der Geruchsbelästigung und Wirkung bestimmter Stoffkumulationen auf die Nahrungskette.

Die Kompostierung von Klärschlamm allein unter Erreichung genügend hoher Temperaturen für eine Entseuchung unter Vermeidung der Anaerobie bzw. die Verarbeitung von Klärschlamm zusammen mit Müll oder anderen Abfallstoffen harrt immer noch einer optimalen Lösung. In diesem Zusammenhang ist zu überprüfen, ob sich nicht durch Zuschlagstoffe (Pilzmycele, Industrieabfälle, tierische Abfälle) eine bessere Kompostierung erreichen läßt.

Es ist weiterhin die Möglichkeit zu prüfen, Müll, der feste

organische Substanzen (Cellulose) enthält,

- a) nach Zerkleinern in Faulschlammräume einzuspeisen und in Methangas überzuführen,
- b) durch spezielle Deponieverfahren zu Methangas umsetzen zu lassen (vgl. a. 4.5.9.1).

Bei der Pasteurisierung von Klärschlamm wäre im Interesse der Energieeinsparung die Anwendung möglichst niedriger Temperaturen günstig. Es wäre zu ermitteln, bei welchen Temperaturen die nichtpathogenen Mikroorganismen, die einen positiven Einfluß auf die Bodenmikroflora ausüben, möglichst wenig geschädigt werden und was über die Pflanzenverträglichkeit des pasteurisierten Schlammes ausgesagt werden könnte. Gleichfalls sind Untersuchungen über den Einfluß einer Klärschlammbestrahlung auf pathogene und nicht pathogene Keime notwendig.

In Bezug auf die in großer Menge anfallenden tierischen Abfälle sind neue mikrobiologische Verfahren zur Entseuchung und zum Abbau der organischen Substanz vor Abgabe der flüssigen Phase an den Vorfluter zu suchen bzw. zu entwickeln, hier wären vor allen Dingen auch Untersuchungen über den Einfluß der Abläufe von Tierhaltungsbetrieben auf den biologischen Teil von Kläranlagen von großem Wert. Die Probleme auf dem Sektor "Geruchsminderung oder -beseitigung" harren ebenfalls noch weitgehend einer Lösung. Ebenfalls fehlen ausreichende Unterlagen über die Wirkung von Desinfektionsmitteln auf die Mikroflora der flüssigen tierischen Abfälle.

4.4.3 Biologische Abluftreinigung

Gegenwärtiger Stand: Es sind sogenannte Biofilter mit Bakterienmischkulturen, die eine Abluftreinigung durch Metabolisierung der Geruchssubstanzen vornehmen sollen, in Entwicklung. Auch in der BRD wird an solchen Verfahren gearbeitet. Abluft-

filter sind für Massentierhaltungen, besonders Schweinezuchtgüter, geeignet. Eine Entwicklung wird sicherlich noch mehrere Jahre dauern. Ob mikrobiologische Abluftfilter physikalisch-chemischen Filtern überlegen sein werden, ist nicht abzusehen.

Wünschenswerte Entwicklung: Grundlagenforschungen in Verbindung mit Anwendungsbetrieben sind hier angebracht.

4.5 Sonstige Verfahren

4.5.1 Biotechnologie hydrometallurgischer Prozesse

4.5.1.1 Mikrobielles Leaching

Gegenwärtiger Stand: Die zunehmende Verknappung an Rohstoffen hat dazu geführt, nach neuen Technologien und Möglichkeiten zu suchen, um Erze mit Metallgehalten unterhalb der heute gültigen Grenzen der Abbauwürdigkeit noch wirtschaftlich nutzbar zu machen. Mikrobiologische Leachingverfahren haben vor allem in Kanada und den USA, in der UdSSR und einigen Ostblockstaaten beachtliche Erfolge gebracht. Entsprechende Methoden werden bereits zur großtechnischen Aufbereitung von sulfidischen Kupfererzen und von Uranerzen angewendet.

Folgende Projekte werden gegenwärtig in der Bundesrepublik bearbeitet:

Bakterielle Laugung von Kupferschiefer, von Nickel-, Uran-, Blei- und Zinkerzen, sowie die Laugung von metallhaltigen industriellen Rückständen.

- Die Untersuchungen beschränken sich im allgemeinen noch auf Labormaßstäbe, in einigen Fällen wird der Übergang zu halbertechnischen Verfahren erprobt.

Zur Anwendung kommt im wesentlichen das Perkolator-Leaching, das als Modell für eine Halden-, Haufen- oder unter Tage-in situ-Laugung aufgelassener Bergwerke angesehen werden kann.

Der Einsatz von Submersverfahren, die in Flüssigmedium mit feinkörnigem Material arbeiten, brachte bei Erzkonzentraten nahezu 100%ige Metallausbeuten. Die Anwendung des Suspensionsleachings zur Aufbereitung von Armerzen ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Thiobacillen können bisher erfolgreich nur im sauren Bereich

zur Laugung von Schwermetallen eingesetzt werden. Bei alkalischen Laugungsbedingungen wird der Einsatz heterotropher Mikroorganismen in Erwägung gezogen, um Wertmetalle mit Hilfe organischer Säuren oder Komplexbildner, die als Stoffwechselmetabolite ins Medium abgeschieden werden, in Lösung zu bringen.

Die Anwendung mikrobiologischer Laugungsverfahren in Kombination mit erhöhtem Druck, schwachen elektrischen Strömen oder nach chemischer Vorbehandlung wird ebenfalls untersucht.

Mikrobielles Leaching kann u.U. einen bedeutenden Platz bei der Sicherung von Rohstoffen einnehmen (vgl. Rohstoffsicherungsprogramm).

Wünschenswerte Entwicklung: Die mikrobiologischen Laugungsverfahren sollten hinsichtlich der wissenschaftlichen und biotechnologischen Grundlagen so weit entwickelt werden, daß sie als eigenständige Aufbereitungsprozesse oder in Verbindung mit anderen Aufarbeitungsmethoden wirtschaftlich angewendet werden können.

Dabei kommt der Isolierung leistungsfähiger, schwermetall-toleranter oder besonders anpassungsfähiger Thiobacillen besondere Bedeutung zu. Die Suche nach alkali-toleranten Thiobacillen und heterotrophen Mikroorganismen zur Laugung karbonatreicher, oxidischer oder lateritischer Erze sollte intensiviert werden, der Einsatz thermophiler Thiobacillen geprüft werden.

Die Massenkultur geeigneter Thiobacillen bedarf noch einer eingehenden verfahrenstechnischen Entwicklung.

Der Einsatz von Submersverfahren zur Laugung von Armerzen sollte verstärkt untersucht werden. Suspensionsleaching könnte ferner angewendet werden, um feinkörnige metallhaltige industrielle Rückstände wie Filteraschen, Flugaschen, Flotationskiese und Kieseabbrände nutzbringend aufzuarbeiten. Bereits in dieser

Richtung begonnene Versuche sollten vorangetrieben werden, zumal sie auch für den Umweltschutz Bedeutung erlangen werden. Bei alten bestehenden Deponien sollten die Metallgehalte der Sickerwässer zum einen auf ihre Verwertbarkeit zum anderen auf ihre Kontaminationsgefahren für Grund- und Trinkwasser untersucht werden.

Hydrometallurgischen Prozessen sollte unter dem Aspekt des Umweltschutzes besondere Beachtung geschenkt werden. Sie gelten gegenüber den herkömmlichen Verhüttungsprozessen als ausgesprochen umweltfreundlich. Für Entwicklungsländer bieten sich die billigen mikrobiellen Perkolationsverfahren zum Aufbau eigener Industrien an.

4.5.1.2 Anreicherung und Eliminierung von Schwermetallen

Gegenwärtiger Stand: Die Fähigkeit von Mikroorganismen, Schwermetalle in ihrem Zellinneren anzureichen, erschließt neue Möglichkeiten zur Nutzung nur in Spuren vorkommender Wertmetalle. So wird der Einsatz von Algenkulturen zur Anreicherung von Uran aus Meerwasser bereits versucht. Weiterhin können evtl. umweltbelastende Schwermetalle aus industriellen Rückständen (z.B. Rotschlamm) und Abwässern mit Hilfe von Mikroorganismen eliminiert und als Rohstoffe erneut genutzt werden. Über die Selektivität der intrazellulären Akkumulation von Metallen ist noch wenig bekannt.

Möglich ist auch die Abtrennung von Schwermetallen mit Hilfe komplexbildender Stoffwechselmetabolite, die u.a. von Pilzen ins Medium abgeschieden werden.

Wünschenswerte Entwicklung: Die Anreicherung von Metallen mit Hilfe von Mikroorganismen sollte hinsichtlich der wissenschaftlichen Grundlagen und der verfahrenstechnischen Möglichkeiten eingehend untersucht werden.

Es wird eine Zusammenarbeit mit dem neuen Bundesamt für Umweltschutz empfohlen, da hierdurch günstige Voraussetzungen zur Bearbeitung des Problems der umweltbelastenden schwermetallhaltigen Abwässer mit Hilfe noch zu entwickelnder biotechnologischer Methoden geschaffen werden. Besondere Bedeutung wird einer Eliminierung von Quecksilber beigemessen. Ein Teil der Untersuchungen ist Grundlagenforschung und sollte auch von der DFG unterstützt werden.

4.5.2 Verhinderung von Korrosionen und Baustoff-Verwitterungen durch Mikroorganismen

Gegenwärtiger Stand: Bei Zerstörungen von Holz, Gummi, Leder, Farbanstrichen und Isolierungen sind Mikroorganismen, besonders heterotrophe Arten, erheblich beteiligt. Aus Bohr- und Kühltölen sind zahlreiche Bakterien und Pilze isoliert worden, die durch organische Säurebildung Korrosion auslösen oder durch ihr Wachstum zu Verstopfungen von Sieben, Filtern und Düsen zu Materialzerstörungen führen können. Mikroorganismen verursachen weiterhin Schäden in Öl- und Kraftstofftanks, die sog. Salpeterblüte an feuchten Bauwerken (Nitrosomonas- und Nitrobacter-Arten), saure Sickerwässer in Bergwerken mit Bildung von Schwefelsäure (Thiobacillus-Arten); Verwerfungen durch Sulfatbildung im Baugrund, Schäden durch Mangan- und Eisenablagerungen in Trink- und Brauchwasseranlagen u.v.m.

Wünschenswerte Entwicklung: Mikrobiologen sollten angeregt werden, diesen Zweig der angewandten Wissenschaft intensiver zu erforschen. Dabei sollten Schwerpunkte innerhalb des Arbeitskreises Korrosion und Verwitterung abgesteckt werden. Eine Kooperation mit den Ingenieurwissenschaften muß angestrebt werden. Mit bereits bestehenden ausländischen Instituten (USA, England) sollten Erfahrungen ausgetauscht werden. Ein Teil der Arbeiten wird sicher durch die DFG gefördert werden müssen.

4.5.3 Biologische Stickstofffixierung

Allgemeines: Der Eiweißstickstoff aller Lebewesen dieser Erde stammt zum größten Teil aus der biologischen Stickstofffixierung. N_2 - und CO_2 -Fixierung bauen die organische Substanz auf. Gebundener Stickstoff ist, außer Wasser, begrenzender Faktor des Wachstums, es gibt kaum Areale dieser Erde, in denen nicht durch Stickstoffdüngung das Pflanzenwachstum gefördert werden könnte. Stickstoffbindung gibt es nur im Reich der Prokaryonten, also der Bakterien und Blaualgen. Die auf der Erde pro Jahr festgelegte Menge an gebundenem Stickstoff wird geschätzt auf:

- 1) Industriell 1974, durch Haber-Bosch 40×10^6 to
- 2) Physikalisch, durch atomosphärische Vorgänge 45×10^6 to
- 3) Biologisch, durch das Enzymsystem Nitrogenase 200×10^6 to

Die industrielle Stickstoffreduktion ist unökonomisch teuer, und chemisch hergestellter Stickstoffdünger bedeutet eine ernste Gefahr für die Umwelt. Die physikalische N_2 -Fixierung bleibt konstant. Die biologischen Systeme werden enorme biotechnologische Bedeutung gewinnen, wenn ihre biophysikalische, biochemische und genetische Erforschung erfolgreich weitergetrieben wird. Ziel dieser Arbeiten ist es, Gene der Stickstofffixierung funktionsfähig einzubauen in die wichtigsten landwirtschaftlichen Nutzpflanzen, entweder durch direkten Einbau in das entsprechende Pflanzengenom (z.B. bei Weizen, Mais oder Reis) oder indirekt durch bakterielle Symbiosen nach dem Modell der Leguminosen-Rhizobium-Symbiose. An diesen Programmen wird bereits in USA, Australien, Kanada, England, Frankreich, Spanien und Brasilien mit hoher Priorität und großem Einsatz gearbeitet.

Gegenwärtiger Stand:

a) Struktur und Funktion der Nitrogenase.

Der Enzymkomplex ist bei allen N_2 bindenden Organismen fast identisch mit sehr geringen Abweichungen. Er besteht aus 2 Be-

standteilen, dem Molybdän-Eisen-Protein und dem Eisen-Protein. Beide Bestandteile sowie der Elektronentransfer zum N_2 sind chemisch und physikalisch gründlich untersucht. Der Energiebedarf für die Aktivität des Enzyms ist hoch, 4 ATP-Moleküle sind erforderlich für den Transfer eines Elektronenpaares. Die beiden Proteine sind in vielen Nitrogenasekomplexen verschiedener Organismen gegenseitig austauschbar. Nitrogenase ist sehr unspezifisch, sie kann als Reduktase für H_3O^+ und für 3fach-Bindungen, gebildet durch NN, NO, NC und CC angesehen werden. Aufgrund dieser geringen Substratspezifität wird der gaschromatographische Nachweis der Reduktion von Acetylen, $HC \equiv CH$ zum Äthylen, $H_2C = CH_2$ als Enzymnachweis verwendet. Dort, wo die Regulation des Enzyms untersucht wurde, spielt die Glutaminsynthetase eine entscheidende Rolle. Man nimmt an, daß dieses Enzym die *nif*-Gene aktiviert, während das Produkt der Nitrogenase, NH_4^+ , die Glutaminsynthetase reguliert. Das Ammoniumion schaltet auf diese Weise indirekt die Nitrogenasesynthese ab, wenn es selbst nicht mehr in die Aminosäuresynthese abfließen kann.

b) Genetik der Nitrogenase.

Nitrogenasegene (*nif*) sind im genetischen System der Enterobakterien gut untersucht. Die Lokalisation der Strukturgene wurde kartiert und *nif* sowohl zwischen *Klebsiella* Stämmen als auch von *Klebsiella* auf *Escherichia coli* übertragen. Es wurden Sex-Faktor-*nif* Plasmide konstruiert, mit deren Hilfe die Nitrogenasegene auch auf nicht N_2 -fixierende Bakterien übertragen werden können. Es wurden also in den letzten Jahren leistungsfähige genetische Methoden zur Übertragung von *nif* entwickelt. Das viel schwierigere Problem liegt jedoch darin, diese Gene in genetisch fremder Umgebung zur Funktion, d.h. zur Produktion aktiver Nitrogenase zu veranlassen. Aus diesem Grunde konzentriert sich das Interesse auf Symbiosen zwischen *nif* tragenden Bakterien und Pflanzen. In diesen Systemen bleiben die *nif*-Gene funktionsfähig in der Bakterienzelle in ihrer natürlichen genetischen Umgebung, während ihr Nitrogenaseprodukt, gebundener Stickstoff, in den Wirt, die Pflanze abgeführt

wird. Die wirksamste natürliche Symbiose ist die zwischen Rhizobien und Leguminosen. Die Aufgabe besteht darin, neue Symbiosensysteme zwischen N_2 -fixierenden Bakterien und landwirtschaftlichen Nutzpflanzen experimentell zu schaffen.

c) Genetik der Rhizobien und ihrer Symbiose.

Der bakterielle Partner der Leguminosensymbiose, die Rhizobien, besitzen die gesamte genetische Information zur N_2 -Fixierung. Der pflanzliche Partner reguliert auf bisher unbekannt Weise die Funktion dieser nif Gene so, daß sie während des gesamten vegetativen Wachstums der Pflanze aktiv sind. Genetische Studien waren bisher lediglich bei Laborstämmen von *Rhizobium lupini* von Erfolg. Das Konjugationssystem dieser Bakterien wurde aufgeklärt, die Analyse der nif Gene in diesem System erscheint prinzipiell möglich. Zur Infektion der Pflanzenwurzeln durch Symbionten besitzen diese spezifische Antigenstrukturen. Ihre exakte Kenntnis, auch die ihrer Genetik, steht noch aus. Die Spezifität der Rhizobien scheint sich nach neuesten Beobachtungen nicht strikt auf Leguminosen zu beschränken. Kürzlich wurden effektive Rhizobiumknöllchen an Wurzeln von *Trema*, einer Ulmaceae beschrieben. Dieses natürliche Modell könnte vielleicht Hinweise zur experimentellen Durchbrechung der Wirtsspezifität der Rhizobien geben. Ein neues Symbiosensystem wurde kürzlich in Brasilien entdeckt: Bakterieller Partner ist *Spirillum lipoferum*, pflanzlicher Wirt sind tropische Gräser. Die Effektivität dieser Symbiose ist vielversprechend, ihre Ausweitung auf landwirtschaftliche Gramineen ist bisher nicht gelungen.

Wünschenswerte Entwicklung: Ziel aller Forschungsarbeit im Bereich der biologischen Stickstofffixierung ist es, chemischen Stickstoffdünger nicht nur zu ersetzen, sondern darüber hinaus die landwirtschaftliche Produktion weltweit zu erhöhen durch Nutzbarmachung der Nitrogenase-Enzyme für die wichtigsten Nutzpflanzen. Das kann geschehen durch direkten Einbau bakterieller Nitrogenasegene mit Hilfe genetischer Manipulation in die entsprechenden Pflanzengenome oder durch den experimentel-

len Aufbau von Symbiosen zwischen N_2 fixierenden Bakterien und Nutzpflanzen. Zu beiden Wegen gibt es vielversprechende Möglichkeiten im gegenwärtigen Stand der Forschung, der zweite Weg erscheint leichter realisierbar, jedoch sollten beide Arbeitsrichtungen weiter verfolgt werden, da sie sich gegenseitig ergänzen. Folgende Punkte sind für die weitere Entwicklung anzustreben:

- a) Verständnis des Nitrogenase-Enzymsystems und seiner Regulation.
- b) Verbesserung der genetischen Manipulierbarkeit der Gene, die diese Enzyme und ihre Regulation kodieren.
- c) Aufklärung der Infektionsspezifität der Rhizobien und Ausweitung auf Nichtleguminosen. Hierzu ist noch umfangreiche Arbeit an der Rhizobiumgenetik erforderlich.
- d) Konstruktion neuer Symbiosen, z.B. durch Transfer von nif Genen auf pflanzenpathogene Bakterien und Infektion entsprechender Wirtspflanzen mit diesen Bakterien nach Abschwächung ihrer Pathogenität.

Zu allen diesen Punkten gibt es solide Grundlagen beim derzeitigen Stand der Forschung. Es sollten sowohl die Grundlagenforschung auf diesem Gebiet (besonders durch die DFG) als auch die auf Anwendung ausgerichteten Arbeiten gefördert werden. Förderungsinstanzen für die letztgenannten Arbeiten sind neben dem BMFT das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten.

4.5.4 Biotechnologische Nutzung von cellulosehaltigen Substraten

Allgemeines: Cellulose und verwandte Materialien als neue Energiequellen und unkonventionelle Fermentationssubstrate gewinnen in zunehmendem Maße an Bedeutung. Diese beruht erstens darauf, daß die Beseitigung industrieller, landwirtschaftlicher und häuslicher Abfälle, die zu einem großen Teil

aus Cellulose und Lignocellulosen bestehen, ein wichtiges umwelttechnisches Problem darstellt. Zweitens können die riesigen Mengen an Cellulose, die jährlich durch Photosynthese erneuert werden ($7-10 \cdot 10^{10}$ t) als potentielle Nahrungsquelle für den Menschen betrachtet werden, d.h. als Substrat für die mikrobielle Synthese von Proteinen. Auch für die Gewinnung weiterer nützlicher Fermentationsprodukte stellt Cellulose ein potentielles Substrat dar.

4.5.4.1 Umwandlungen von Cellulose und Lignocellulosen mit Mikroorganismen

Allgemeines: Für eine biotechnische Verwertung dieser Materialien kommen u.a. folgende Mikroorganismen in Betracht: Schimmelpilze, aerobe Bodenbakterien, anaerobe Pansenbakterien, anaerobe Abwasserbakterien, Actinomyceten aus Kompost und holzersetzenende Basidiomyceten. Neben der Verfügbarkeit geeigneter Cellulolyten sind folgende weitere Maßnahmen bei der Fermentation von Cellulosesubstraten erforderlich: mechanische oder chemische "Entkristallisierung" der Cellulose (Mahlen, Natronlaugebehandlung), Aufhebung der durch Cellulose-Lactone bewirkten Substrathemmung (Natronlaugebehandlung, Amidierung), Beseitigung der durch Cellobiose bewirkten Produkthemmung (Mischfermentation, Abführen von Spaltprodukten), Lösung der Cellulose-Ligninbindungen bei Lignocellulosen (Mahlen, Gamma-Bestrahlung, Natronlaugebehandlung, Persäurebehandlung, Behandlung mit flüssigem Ammoniak).

Gegenwärtiger Stand: Auf dem Gebiet der mikrobiellen Proteinsynthese aus Cellulose sind die Arbeiten in den USA bisher am weitesten fortgeschritten. Durch Mischfermentation von natronlaugevorbehandelten cellulosehaltigen Abfällen wurde Biomasse mit 50-60% Protein von physiologisch günstiger Zusammensetzung erhalten. Eine Wirtschaftlichkeitsrechnung für einen Betrieb mit 10 000 t Jahresproduktion ergab einen Preis für Proteinkraftfutter aus cellulosereichen Zuckerrohrabfällen von etwa

15 \$/100 kg, wobei 57 000 t Bagasse verarbeitet werden müssen. Das Verfahren ist bereits so weit ausgearbeitet, daß bis Ende 1978 eine großtechnische Anlage erstellt werden soll. Mit Pilzen durchgeführte Versuche über mikrobielle Proteinsynthese auf Cellulosebasis erbrachten in den USA u.a. das Ergebnis, daß der biologische Wert der Biomasse von *Trichoderma viride* etwa dem des Caseins entspricht. In der Bundesrepublik (Karlsruhe) laufen Arbeiten über die Proteinsynthese aus cellulosehaltigen Abfällen der Lebensmittelindustrie, u.a. auch unter Verwendung thermophiler cellulolytischer Bakterien als Fermentationsorganismen.

Untersuchungen über die Bildung niedermolekularer Substanzen bei der Fermentation von Cellulosesubstraten befinden sich noch völlig im Anfangsstadium. Auf diesem Gebiet sind jedoch potentielle Möglichkeiten vorhanden.

Wünschenswerte Entwicklung: Ein für die Gewinnung proteinreicher Nahrungsmittel auf Cellulosebasis besonders wichtiges Problem ist die Entwicklung von Verfahren zur Trennung der gebildeten Biomasse von unangegriffener Cellulose. Auch die Verminderung des hohen Nucleinsäuregehaltes der Bakterien ist in diesem Zusammenhang von Bedeutung. Durch Verwendung eines schwerspaltbaren Substrates mit verzögerter Glucosefreisetzung, wie es Cellulose darstellt, könnten besonders solche sekundäre Metabolite gebildet werden, deren Anhäufung katabolisch gehemmt oder reprimiert wird. Durch Mischfermentationen mit Produzenten interessanter Produkte und "verträglichen" Cellulolyten sowie Abführen von Fermentationsprodukten mit Membrantechniken sind ebenfalls Fortschritte zu erwarten.

4.5.4.2 Enzymatische Hydrolyse der Cellulose

Gegenwärtiger Stand: Obwohl die direkte mikrobielle Umwandlung der Cellulose in mikrobielles Protein oder andere nützliche

Produkte beträchtliche Zukunftsaussichten hat, dürfte ebenfalls ein Potential in der enzymatischen Hydrolyse von Abfallcellulose, z.B. Papier, zu Glucose liegen. Letztere kann entweder isoliert oder als Fermentationssubstrat eingesetzt werden.

Wesentliche Fortschritte auf diesem Gebiet wurden in den U.S. Army Natick Laboratories und in Japan erzielt. Unter Verwendung des cellulolytischen Exo-Enzymsystems aus *Trichoderma viride* konnte durch Mahlen aufgeschlossene Pülpe-Cellulose zu mindestens 50% verzuckert werden, wobei bis zu 30 proz. Glucoselösungen erhalten wurden. Ferner konnte die Hydrolyse in einem kontinuierlichen System, bestehend aus einem Bio-Reaktor und einer Ultrafiltrierzelle, unter Abführen der gebildeten Glucose, durchgeführt werden. Eine in den USA vorgenommene Kostenberechnung für den Einsatz von *Trichoderma-Cellulase* zur Gewinnung von Glucose aus Abfallpapier hat zu dem Ergebnis geführt, daß ein Betrieb mit einer Tagesproduktion von 100t rentabel sein könnte. In der BRD (Hohenheim) laufen Arbeiten über die Gewinnung hochaktiver *Trichoderma-Cellulase* unter Verwendung modifizierter Abfall- und Lignocellulosen als Fermentationssubstrate.

Wünschenswerte Entwicklung: Da die enzymatische Cellulosehydrolyse aus technischer Sicht noch zu langsam verläuft und die Herstellung der *Trichoderma-Cellulase* bisher zu kostspielig ist, sind Untersuchungen über die Aktivierung des cellulolytischen Systems (Induktion des C_1 -Faktors!) sowie die Verwendung und Vorbehandlung billigster Substrate (Abfallpapier, Stroh, Holz) für die Cellulase-Fermentation von großer Bedeutung.

4.5.4.3 Vorbehandlung von Lignocellulosen

Gegenwärtiger Stand: Da Cellulose in den Abfällen der Landwirtschaft (z.B. Stroh, Maiskolben, Holz) und der Lebensmittelindustrie meist von Lignin eingeschlossen ist, kommt der

physikalischen, chemischen und enzymatischen Vorbehandlung von Lignocellulosen besondere Bedeutung zu.

Die bisher für diesen Zweck erprobten Verfahren sind: Mahlen, Gamma-Bestrahlung, Natronlaugebehandlung, Persäurebehandlung, Behandlung mit flüssigem Ammoniak. Aus Gründen der Effektivität und Kosten kommt technisch derzeit nur die umweltbelastende (!) Natronlaugebehandlung in Frage. (Natronlauge verseift Uronsäureester-Bindungen in Lignocellulosen, hydrolysiert hemmende Cellulose-Lactone und verringert die Cellulose-Kristallinität durch Lösung von Wasserstoffbindungen.)

Wünschenswerte Entwicklung: Der enzymatische Abbau des Lignins ist für eine zukünftige biotechnische Verwertung von Stroh, Holz und ähnlichen Lignocellulosen von besonderer Bedeutung. Durch ausgedehnte, grundlegende Untersuchungen über die Enzymsysteme Lignin oxidierender Basidiomyceten sollten die dafür erforderlichen Voraussetzungen geschaffen werden.

Ein nicht geringer Teil der Arbeiten über die biotechnologische Nutzung von cellulosehaltigen Substraten ist Grundlagenforschung und sollte von der DFG gefördert werden, während die anwendungsorientierten Arbeiten in den Förderungsbereich des BMFT und BML fallen.

4.5.5 Mikroorganismen bei der Lederherstellung

Es gibt Verfahren, bei denen die proteolytische Eigenschaft von Mikroorganismen in sogenannten Schwitzkammern zur Enthaarung von Fellen ausgenutzt wird. Durch proteolytische Enzyme lassen sich diese Verfahren besser als mit Mikroorganismen steuern. Die Verfahren sind relativ sicher, so daß von biotechnologischer Seite keine wesentlichen neuen Entwicklungen zu erwarten sind.

4.5.6 Mikroorganismen bei der Flachsrröste

Gegenwärtiger Stand: Bei der Faserherstellung aus Flachs und Hanf wird durch Mikroorganismen das Bindematerial zwischen den einzelnen Faserbündeln gelöst bzw. zersetzt. Man arbeitet im wesentlichen in verschiedenen Verfahren mit natürlichen Mikrofloren, die nur z.T. bekannt sind.

Wünschenswerte Entwicklung: Da die Zusammensetzung der Mikrofloren bei solchen Verfahren nur unzureichend bekannt sind, wäre zur weiteren Verfahrensentwicklung zunächst Grundlagenforschung nötig. Erst dann könnte über die Ausarbeitung neuer biotechnologischer Verfahren entschieden werden.

4.5.7 Mikroorganismen in Aerosolen

Gegenwärtiger Stand: Es gibt eine große Anzahl von Arbeiten über die Verbreitung von Mikroorganismen in Aerosolen, z.B. zum Zwecke der Bodenbeimpfung, der Verbreitung von Impfstämmen etc.

Wünschenswerte Entwicklung: Eine Förderung der Mikrobiologie von Aerosolen zur Verbreitung nützlicher Mikroorganismen ist wünschenswert. Sie müßte sich einmal auf kleinere Bereiche, z.B. zur Immunisierung in Tierställen, zum anderen - zunächst mehr als Grundlagenforschung - auf die Immunisierung größerer Bevölkerungsgruppen richten.

4.5.8 Mikrobiologische Gewinnung elektrischer Energie

Gegenwärtiger Stand: An verschiedenen Stellen der USA, Englands und z.T. auch der Sowjetunion beschäftigt man sich damit, durch Potentialveränderung (Verbrauch energiereicher Substrate durch Mikroorganismen) biochemisch-biologische

Energiezellen zu entwickeln. Dieses Gebiet wird in der BRD gegenwärtig nicht bearbeitet. Es ist augenblicklich nicht abzusehen, ob solche biologischen Energiezellen in naher Zukunft eine praktische Bedeutung haben.

Wünschenswerte Entwicklung: Auf diesem Gebiet ist vor allem Grundlagenforschung notwendig. Es wäre wünschenswert, wenn sich eine oder mehrere wissenschaftliche Arbeitsgruppen mit diesem Problem befassen würden.

4.5.9 Mikrobiologische Umwandlung von Substraten in energiereiche Verbindungen

Allgemeines: Die biotechnologische Umwandlung von Abfällen hat, besonders seit der Mineralölkrise, eine neue Bedeutung erlangt. Eine besondere Rolle spielen dabei pflanzliche, zellulosehaltige Stoffe (siehe Abschn. 4.5.4), die nicht der menschlichen und tierischen Ernährung direkt zugeführt werden können und vielfach auf den Feldern verbrannt oder der Verrottung überlassen werden.

Die Methangärung, die im Rahmen der Abwassertechnologie und Schlammbehandlung (siehe Abschn. 4.4.1 und 4.4.2) bedeutungsvoll ist, gewinnt dabei zusätzliches Interesse. Auch die Aceton-Butanol-Gärung wird aufgrund der Verteuerung der Mineralölbasis für die chemische Synthese dieser Substanzen wieder interessant (siehe Abschn. 3.1.3.1).

4.5.9.1 Methangärung

Gegenwärtiger Stand: Die Methangärung dient der Schlammbehandlung und der Aufbereitung konzentrierter Abläufe in der Abwasserreinigungstechnik. Methan wird als Nebenprodukt genutzt. Es kann auf größeren Kläranlagen nicht nur den Eigenenergiebedarf

decken, sondern sogar Überschüsse abgeben und so zur Kostendeckung beitragen.

Folgende Faulgasmengen (ca. 2/3 Methan, 1/3 CO₂; ca. 21.000 kJ/m³) können aus Abfällen, bezogen auf Trockensubstanz gewonnen werden:

Klärschlamm	0,35 m ³ /kg	Gras	0,45 m ³ /kg
Schlachthofabfall	0,90 "	Laub	0,25 "
Hausmüll	0,40 "	Unkraut	0,20 "
Stallmist	0,25 "	Papier	0,25 "
Stroh	0,35 "		

Unter Nutzung der Abfälle ihres Einzugsgebietes könnten z.B. Gemeinden unter 30.000 Einwohnern täglich etwa 10.000 m³ Faulgas gewinnen und so ihre Bevölkerung mit Gas versorgen.

Wünschenswerte Entwicklungen: Die durch unterschiedliche Mikroorganismen erfolgenden Teilprozesse der Faulgärung - Hydrolyse der Makromoleküle, Bildung niedermolekularer Spaltprodukte - sind einzeln und in ihrer gegenseitigen Abhängigkeit zu untersuchen. Taxonomische, physiologische und biochemische Arbeiten im Hinblick auf den Einfluß der Mikroorganismen auf den Gärungsprozess sind wünschenswert. Die z.Z. noch verbleibenden organischen Reststoffe im Faulschlamm müssen möglichst vollständig zur Methanbildung genutzt werden, neue Substrate für die Methan Gewinnung müssen erschlossen und möglichst hohe Ausbeuten erreicht werden. Hierzu können prinzipiell neue anaerobe Verfahrensvarianten hinsichtlich Temperatur, kontinuierlicher Versorgung mit Impfmateriäl, Vorbehandlung des Substrates, Trennung in verschiedene Prozess-Stufen usw. dienlich sein.

4.5.9.2 Butanol-Aceton-Gärung (vgl. 3.1.3.1)

Wünschenswerte Entwicklung: Der Gärprozeß ist an neue pflanzliche Substrate einschließlich Abfallprodukte anzupassen, um

eine billige Produktionsbasis zu erhalten. Die Anzucht möglichst stabiler Hochleistungsstämme ist unter Anwendung moderner genetischer Methoden vorzunehmen. Einem know how-Transfer, z.B. im Rahmen der Entwicklungshilfe, ist dabei Rechnung zu tragen.

4.5.9.3 Weitere Gärungsprodukte

Gegenwärtiger Stand: vgl. 3.1.3.1

Wünschenswerte Entwicklung: Eine Anpassung der z.T. schon bestehenden Prozesse an diese Substratgegebenheiten unter dem Aspekt der Abfallbeseitigung ist sicher gesamtwirtschaftlich lohnend.

Vielleicht kann man die Produktion energiereicher Stoffe auch auf andere Stoffe ausdehnen, die bis jetzt mikrobiologisch nicht gewonnen werden können.

4.5.10 Mikrobielle Herstellung radioaktiver Substanzen

Gegenwärtiger Stand: Anwendung und Bedarf radioaktiv markierter Verbindungen sind in stetigem Wachstum begriffen, eine Marktabsättigung ist noch nicht abzusehen. Die Darstellung komplexer, biologisch aktiver Moleküle mit hohen spezifischen Aktivitäten ist auf chemisch-synthetischem Wege in den meisten Fällen kaum möglich. Hier bieten sich mikrobielle Herstellungen, z.B. unter Verwendung des billigen $^{14}\text{CO}_2$ oder des billigen markierten Acetats an. Ebenso gelingt es, Mikrobenmetabolite mit anderen markierten Elementen (z.B. phosphor-, schwefel-, wasserstoff- und halogenhaltige Verbindungen) herzustellen.

Im Vordergrund steht die Herstellung von Aminosäuren, Zucker, Nucleosiden und Nucleotiden, Coenzymen, Antibiotica, Steroiden, aliphatischen und aromatischen Säuren u.a. Enzymatische Methoden werden vermehrt eingesetzt.

Wünschenswerte Entwicklung: Es wäre sehr wünschenswert, wenn in der Bundesrepublik Deutschland der Versuch gemacht würde, isotopenmarkierte Naturstoffe mit Hilfe von Mikroorganismen herzustellen und durch eine bewegliche Verkaufsorganisation hier einen interessanten Markt zu erschliessen. In der ersten Phase eines solchen Planes müßte eine Kooperation zwischen Universitätsinstituten, Bundesinstituten und der Industrie organisiert werden, die auch zur theoretischen und praktischen Verbreitung neuer Methoden zur Herstellung dieser Verbindungen führt.

5. Beseitigung von Rückständen aus biologischen Prozessen
(einschließlich Faulschlamm und Belebtschlamm)

=====

Allgemeines: Mit der Bedeutung biotechnologischer Prozesse zur Gewinnung hochwertiger Produkte durch Fermentationsverfahren und mit der Mengenzunahme von Schlempen aus der Rohstoffgewinnung und Obstverarbeitung kommt auch der Beseitigung der Rückstände aus diesen Prozessen eine wachsende Bedeutung zu.

Den Rückständen aus biotechnologischen Prozessen ist gemeinsam:

- a) ihr relativ hoher Wassergehalt
- b) ihr Gehalt an organischen Stoffen
- c) ihre leichte Verderblichkeit.

Dies macht eine jeweils schnelle Beseitigung, Verwertung oder Konservierung notwendig, um z.B. Geruchsbelästigungen zu vermeiden.

Bei dem Klärschlamm aus Abwasseranlagen ergeben sich darüberhinaus zusätzliche Probleme durch Anreicherung pathogener Mikroorganismen.

5.1. Rückstände aus Fermentationen und Aufarbeitungen

Gegenwärtiger Stand: Bei Fermentationsprozessen zur Gewinnung hochwertiger Produkte fallen Rückstände z.B. als Filterkuchen, Schlämme und Abläufe an. Diese Rückstände betragen in der Regel ein Vielfaches der gewonnenen Produkte. Sie enthalten meistens Eiweiße, Aminosäuren und Mineralstoffe. Gegenüber den Klärschlämmen aus biologischen Abwasseraufbereitungsanlagen haben sie den Vorteil einer weitgehend gleichmässigen Zusammensetzung.

Wegen des hohen Wassergehalts ist auf die Dauer ein Trocknen oder Verbrennen in herkömmlicher Weise keine wirtschaftliche Lösung. Eine Ablagerung in Deponien ist nur beschränkt möglich, da ihre Zahl begrenzt und ein weiterer Ausbau kostspielig ist.

Wünschenswerte Entwicklung: Für die Herstellung hochveredelter Produkte mit spezifischer Konfiguration werden biotechnologische Prozesse immer weitere Anwendung finden. Eine Ausweitung der Biotechnologie wird aber entscheidend beeinflusst durch die Möglichkeiten und die Kosten für eine Beseitigung der Rückstände.

Wünschenswert und notwendig ist also die Entwicklung von Verfahren zur kostensparenden, wirtschaftlichen Beseitigung oder Verwertung der Rückstände, wobei auch ein Einsatz als Nährstoff oder zur Bodenverbesserung oder Kompostierung eingeschlossen ist.

Besonders vordringlich bearbeitet werden sollten (als Schwerpunkte):

Themenkreis I: Mikrobiologie von Klärschlämmen und Fermentationsrückständen

- a) Mikrobiologie anaerober Faulvorgänge, speziell im Hinblick auf die Optimierung der Methanausbeute (evtl. Literaturstudie als erster Schritt; vgl. 4.5.9)
- b) Abbaudynamik von Monokulturen bei Schlämmen und konzentrierten Abläufen
- c) Mikrobielle Zusammensetzung von Belebtschlamm und deren Beeinflussbarkeit im Hinblick auf optimale Abbauleistung; Beschreibung von Biozönosen
- d) Einfluß der Substratzusammensetzung auf die Beschaffenheit des Belebtschlammes
- e) Einfluß der Prozeßparameter bei der biologischen Reinigung auf die anfallende Schlammmenge.
- f) Untersuchungen über den Einsatz von Enzymen zur Vorbehandlung bestimmter Produktionsabwässer.

Themenkreis II: Behandlung und Deponie biologischer Schlämme und Fermentationsrückstände

- g) Abbauverhalten von Fermentationsrückständen bei der Deponierung
- h) Biologische Stabilisierung von Klärschlämmen und Fermentationsrückständen
 - Anaerobe Kontaktfaulung
 - Aerob-thermophile Stabilisation
 - Kompostierung
- i) Biologische Behandlung von Sickerwässern aus Deponien

Themenkreis III: Verwertung von biologischen Schlämmen, Fermentationsrückständen und konzentrierten Abläufen

- j) Züchtung von Sekundärkulturen auf Schlamhydrolysaten mit dem Ziel der Anreicherung von Zellsubstanzen, z.B. Aminosäuren, Proteinen, Fettstoffen oder der Vergärung zu organischen Grundstoffen (Aceton, Butanol etc.); Möglichkeiten der Reaktionslenkung, z.B. durch gezielte Beimpfung.

5.2. Rückstände aus Prozessen der Lebensmittelindustrie

Gegenwärtiger Stand: In der Bundesrepublik fallen jährlich ca. 2 Millionen m³ Schlempe aus stärkehaltigen Rohstoffen (Getreide, Kartoffeln) an, die mit ca. 25 000 mg O₂/l einen sehr hohen BSB 5 - Wert (biochemischer Sauerstoffbedarf) aufweisen. Die einzige Verwertung der nicht lagerfähigen Schlempe ist zur Zeit ihre Verfütterung, da sie reich an Eiweiß, wertvollen Aminosäuren, Wuchsstoffen und Mineralien sind.

Eine Trocknung der Schlempe ist aus energiewirtschaftlichen Gründen bei den in der Bundesrepublik vorherrschenden Betriebsgrößen unwirtschaftlich; von Großbetrieben (z.B. in USA) werden sie z.T. als Trockenschlempe (sog. "Solubles") z.B. für spezielle Nährböden für Mikroorganismen angeboten.

Besondere Probleme bereiten Obstschlempen, die weder verfüttert noch anderweitig verwendet werden können.

Wünschenswerte Entwicklung: Da Schlempen in der Bundesrepublik in steigenden Mengen anfallen, ist die Bearbeitung folgender Punkte dringlich:

- a) Haltbarmachung von Schlempen durch Konzentrierung unter Berücksichtigung optimaler Verfahrensbedingungen
- b) Möglichkeiten zur Rückführung von Schlempen oder Schlempenfraktionen in einen zu entwickelnden Kreisprozess (z.B. bei der Alkoholproduktion)
- c) Verwertung und Aufbereitung von Obst- und Melasseschlempen (vgl.a. 5.1)

5.3 Klärschlamm

Über die Beseitigung von Klärschlamm ist eine Rechtsverordnung aufgrund des § 15 des Bundesabfallbeseitigungsgesetzes für die Anwendung von Klärschlamm in der Landwirtschaft in Vorbereitung. Es fehlt an zufriedenstellenden Verfahren zur schadlosen Beseitigung von Klärschlamm, an Modellanlagen und an ausreichenden statistischen Unterlagen. Die unsachgemäße Beseitigung des Klärschlammes bringt jedoch auch erhebliche Gefahren für die menschliche Gesundheit und erhebliche Belästigungen mit sich. Dies läßt sich weitgehend abstellen, wenn

- a) die Technik der Vorbehandlung und Entwicklung verbessert wird,
- b) Versuchs- und Modellanlagen errichtet werden.

Gegenwärtig wird das Abwasser von 38% der Bevölkerung mechanisch und biologisch gereinigt, wobei 14,5 Mio m³ pro Jahr anfallen. Die Abwässer von 21% der Bevölkerung werden nur

mechanisch gereinigt, wobei weitere 3,3 Mio m³ Klärschlamm entstehen, zusammen etwa 18 Mio m³ pro Jahr. 1985/90 sollen etwa 90% der Bevölkerung an Kläranlagen angeschlossen sein, so daß dann etwa 38 Mio m³ Klärschlamm im Jahr anfallen.

Klärschlamm wird gegenwärtig auf folgende Arten beseitigt:

1. Ablagerung (allein oder zusammen mit Hausmüll)
2. Landwirtschaftliche Verwertung
3. Kompostierung (allein oder zusammen mit Hausmüll o.ä.)
4. Verbrennung (allein oder zusammen mit Hausmüll)
5. Verklappung in das Meer

Da Klärschlamm das Konzentrat aller im Abwasser vorkommenden pathogenen Mikroorganismen (Bakterien, Viren, Parasiten) ist, ist jede der oben angeführten Beseitigungsarten seuchenhygienisch ausserordentlich bedenklich, mit Ausnahme der Verbrennung, wenn die Verbrennungsöfen nicht überlastet sind und der Durchsatz nicht zu schnell erfolgt. Für die landwirtschaftliche Verwertung sowie die Kompostierung spielt auch der Gehalt des Klärschlammes an pflanzenschädlichen Stoffen wie Cyanide, Rhodanide, Phenole, teerartige Bestandteile, Arsen sowie an Schwermetallverbindungen von Chrom, Cadmium, Nickel, Zink, Blei und Kupfer eine beachtliche Rolle.

Wünschenswerte Entwicklung: Wegen der besonderen seuchenhygienischen Gefahren, die von Klärschlamm ausgehen, sind Einrichtungen zur Entseuchung (z.B. Kompostierung mit Hausmüll in Kompostwerken, Anlagen zur Pasteurisierung oder Bestrahlung) zu fördern. Die Analysen sind auf gesundheitsschädigende organoleptische und chemisch toxische Substanzen zu erweitern. Es muß erforscht werden, inwieweit eine biologische Übertragungsmöglichkeit physiologisch bedenklicher Substanzen durch die Nahrungskette gegeben ist. Die Abbaumöglichkeiten schädlicher Substanzen im Klärschlamm müssen erforscht werden.

6. Ausbildung

=====

Allgemeines: Der Arbeitsausschuß "Technische Biochemie" der DEHEMA hat sich in der Studie Biotechnologie sowie in einer Reihe weiterer Besprechungen und Sitzungen, besonders am 28.6.1974, mit der Ausbildung von Biotechnologen in der Bundesrepublik befaßt.

Aus diesen Beratungen, denen auch u.a. die "Recommendations on Education in Biochemical Engineering" der IUPAC für die anfängliche Diskussion zugrunde gelegt wurden, sind die folgenden Überlegungen zur Ausbildung von Biotechnologen entwickelt worden.

Für ein spezielles integriertes Studium der Biotechnologie besteht in Berlin im Institut für Gärungsgewerbe und Biotechnologie eine Möglichkeit. Der Studiengang für diese Ausbildung ist dort bereits festgeschrieben worden. Er wird im Rahmen dieser Schrift nicht diskutiert. Da - soweit gegenwärtig feststellbar ist - im Augenblick in der Bundesrepublik Deutschland keine weitere Vollausbildung für Biotechnologen zur Diskussion steht, ist in der vorliegenden Schrift ein anderer vollständiger Ausbildungsgang für das Fach Biotechnologie nicht bearbeitet worden.

Es wird also im folgenden die allgemein angestrebte Möglichkeit behandelt, ausgehend von den Studiengängen für 1) Mikrobiologie, 2) Biochemie/Chemie und 3) Verfahrenstechnik/Technische Chemie, eine spezielle Ausbildung im Fach Biotechnologie als Ergänzung anzubieten. Diese zusätzliche Ausbildung könnte in einigen Fällen evtl. schon während des vierjährigen Studiums möglich sein und dann im Hauptstudium durchgeführt werden. In der Mehrzahl der Fälle wird eine Spezialisierung auf Biotechnologie aber erst während der Zeit der Dissertation möglich sein. Da für die meisten der genannten Fachrichtungen eine Dissertation zur Berufsausbildung unbedingt notwendig ist,

wird durch die zusätzliche Biotechnologieausbildung keine wesentliche zusätzliche Ausbildungszeit notwendig sein. Das Schwergewicht muß immer auf dem entsprechenden Studiengang liegen. Das Ausbildungsziel sollte den betreffenden Biotechnologen befähigen, von seiner Ausgangsdisziplin ausgehend mit den anderen Fachrichtungen interdisziplinär zusammenzuarbeiten. Die Durchführung sowohl der zusätzlichen Ausbildung in Biotechnologie an den Universitäten als auch die der Fortbildungskurse ist nur auf interdisziplinärer Grundlage möglich und soll gleichzeitig die Zusammenarbeit der verschiedenen Fachgebiete fördern. Die entsprechenden an den Universitäten und TU's oft unterschiedlichen Fachstudiengänge werden durch die Vorschläge nicht berührt.

Es sollen weiterhin Vorschläge für die Durchführung von Fortbildungskursen in Biotechnologie gemacht werden und eine Schätzung über notwendige Einrichtungen zur Realisierung der Vorschläge vorgenommen werden.

6.1 Ausbildung von Biotechnologen an den Universitäten im Rahmen des Normalstudiums

6.1.1 Zusatzausbildung mit Grundausbildung Mikrobiologie

Die Grundausbildung Mikrobiologie schließt zunächst mit der Ausbildung als Diplom-Mikrobiologe oder Diplom-Biologe mit dem Hauptfach Mikrobiologie ab. Es wird eine Diplomarbeit angefertigt. In mehr als 90% der Fälle folgt dieser Ausbildung die Promotion (mindestens 2-jährige experimentelle Tätigkeit). Nebenfächer des Diploms sollten für Biotechnologen in der Regel Biochemie, Chemie oder physikalische Chemie sein.

Allgemeines Studium

Allgemeine Ausbildung in Mikrobiologie, die sich in Grundstudium (bis zum Vordiplom) und Hauptstudium differenziert. In dieser Ausbildung sollte u.a. enthalten sein:
Biochemische Grundlagen und Methoden, vertiefte Kenntnisse

über die Biochemie der Mikroorganismen; vertiefte Kenntnisse (einschl. methodischer Kenntnisse) über allgemeine Genetik, Genetik der Mikroorganismen sowie Molekularbiologie.

Technische Mikrobiologie I (Wachstumskinetik, Sterilisation, Energie- und C-Quellen, Züchtungsparameter, Übersicht über wichtige technische Verfahren).

Zusätzliche Spezialausbildung in Biotechnologie

	Vorlesungen	Praktika ^{*)}
Technische Mikrobiologie II	2	4 (10 Tage Blockprakt.)
Technische Chemie	3	4 (10 Tage Blockprakt.)
Angewandte Genetik	2	2 (5 Tage Blockprakt.)

*) Bei Blockpraktika sind immer Arbeitstage gemeint, d.h. 5 Tage = 1 Woche, ansonsten sind Wochenstunden angegeben.

Anhang zu 6.1.1: Lernziele der Spezialausbildung

Technische Chemie

Allgemeine Grundlagen der Physikalischen Chemie, soweit sie zum Verständnis der Kinetik und Thermodynamik notwendig sind. Kenntnisse über Transportvorgänge, Stoffübergänge, bes. im Hinblick auf biologische Verhältnisse, z.B. auch Übergänge an Membranen, grenzflächenaktive Substanzen. Kopplung von Transport und Reaktion, Spezielle Grundoperationen (z.B. Zellaufschluß, Fällungen, Zentrifugation, Filtration, Extraktion, Trocknung, chromatographische Verfahren, Dialyse), Rühren (einschl. Leistungsbedarf, Viskositätseinfluß etc.), Meß- und Regeltechnik, Reaktortypen und entsprechende Bilanzen.

Technische Mikrobiologie II

Verständnis der Arbeitsweise wichtiger Bioreaktoren. Kenntnis der Probleme des scaling up. Beherrschung der Arbeitsweise einer Pilot Plant-Anlage, Technik der Herstellung von Biomasse

sowie primärer und sekundärer Stoffwechselprodukte. Übersicht über derartige Verfahren einschl. der biologischen Behandlung von Abwässern. Arbeit mit technischen Enzymen. Immobilisierte Enzyme.

Angewandte Genetik

Anwendung der Grundlagen der Molekularbiologie mit Regulationen bes. auf Bakterien-Genetik. Wirkungsmechanismus von Mutagenen. Herstellung von Mutanten unter industriellen Aspekten. Übersicht über bekannte Erkennungsmöglichkeiten von Mutanten und deren praktische Auswertung. Angewandte Hefe-Genetik in Grundlagen mit Beispielen. Genetik mycelbildender Pilze. Züchtungstechnik hinsichtlich genetischer Veränderungen bei mycelbildenden Pilzen mit und ohne sexuelle Fruktifikation (z.B. Anastomosen).

6.1.2 Zusatzausbildung mit Grundausbildung Biochemie/Chemie

Die Grundausbildung Biochemie/Chemie schließt zunächst mit der Ausbildung als Diplomchemiker ab. Es wird eine Diplomarbeit angefertigt. In mehr als 90% der Fälle folgt dieser Ausbildung die Promotion (mindestens zweijährige experimentelle Tätigkeit). Als Wahlpflichtfach sollte Biochemie gewählt werden.

Die Ausbildung in Biotechnologie gibt möglicherweise Gelegenheit zu einer Schwerpunktbildung, wie sie in den Vorschlägen zum Chemiestudium der GDCh, der Deutschen Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie und der DECHEMA vom Oktober 1971 vorgesehen ist.

Für Pharmazeuten und Lebensmittelchemiker sollte eine experimentelle Promotion unbedingt die Regel sein, da keine Diplomarbeit angefertigt wird.

Allgemeines Studium

Allgemeine Ausbildung in Chemie (bzw. pharmazeutische Chemie

oder Lebensmittelchemie), die sich in Grundstudium (bis zum Vordiplom) und Hauptstudium differenziert.

In dieser Ausbildung sollte u.a. enthalten sein:

Übersicht über das Gebiet der Physikalischen Chemie;
Einblick in die Chemie der Naturstoffe (einschl. Analytik),
enzymatische Katalyse, physikalisch-chemischen Eigenschaften
biologischer Substanzen (auch in Lösungen);
Trennmethoden.

Zusätzliche Spezialausbildung in Biotechnologie

	Vorlesungen	Praktika
Technische Chemie	3	4 (10 Tage Blockprakt.)
Einführung in die Mikrobiologie	3	4 (10 Tage Blockprakt.)
Technische Mikrobiologie I	2	2 (5 Tage Blockprakt.)
Technische Mikrobiologie II (?)	2	2 (5 Tage Blockprakt.)
Grundlagen der allgemeinen Genetik und Genetik der Mikroorganismen	2	-

Anhang zu 6.1.2: Lernziele der Spezialausbildung

Technische Chemie vgl. Lernziele in Anhang zu 6.1.1

Einführung in die Mikrobiologie

Grundlagen mikrobiologischer Methoden;

Grundlagen über die Zelle von Pro- und Eukaryonten;

Übersicht über das Reich der Mikroorganismen (Viren, Bakterien, Pilze mit Hinblick auf industriell interessante Organismen);

Entwicklungsbedingungen der Mikroorganismen;

Grundstoffwechsel.

Im Praktikum: Wichtige Züchtungsmethoden, Impftechniken, Färbetechniken, Wachstumskinetiken, einfache qualitative und

quantitative Diagnostik, Anreicherungen, Stammhaltung.

Technische Mikrobiologie I

Sterilisation, Wachstumskinetik, mikrobielle Substrate, batch- und kontinuierliche Kultur, Züchtungsparameter, Übersicht über wichtige technische Verfahren zur Biomasse- und Produktherstellung, Mikroorganismen in der Lebensmittelherstellung.

Evtl. Technische Mikrobiologie II vgl. Anhang zu 6.1.1

6.1.3 Zusatzausbildung mit der Grundausbildung Verfahrenstechnik und Technische Chemie

Die Grundausbildung Verfahrenstechnik schließt zunächst mit der Ausbildung als Diplomingenieur mit Spezialisierung in Verfahrenstechnik ab. Es wird eine Diplomarbeit angefertigt. Ein Teil der Verfahrenstechniker promoviert.

Erwünschte Nebenfächer: Technische Chemie, Biochemie.

Die Grundausbildung in Technischer Chemie schließt zunächst mit der Ausbildung als Diplomchemiker mit dem Wahlpflichtfach Technische Chemie ab. Es wird eine Diplomarbeit angefertigt. In mehr als 90% der Fälle folgt dieser Ausbildung die Promotion (mindestens zweijährige experimentelle Tätigkeit).

Erwünschte Nebenfächer: Biochemie, Physikalische Chemie.

Allgemeines Studium

Allgemeine Ausbildung in Verfahrenstechnik oder Chemie mit Technischer Chemie, die sich in Grundstudium (bis zum Vor-diplom) und Hauptstudium differenziert.

In dieser Ausbildung sollen u.a. enthalten sein:

Grundlagen der Verfahrenstechnik bei technischen Chemikern (bes. Grundlagen des Impuls-, Energie- und Stofftransports,

Kopplung von Transport und Reaktion, Grundlagen der Reaktions-
technik). Technische Chemie.

Zusätzliche Spezialausbildung in Biotechnologie

	Vorlesung	Praktika
Einführung in die Mikrobiologie	3	4
Einführung in die Biochemie	3	4
Technische Mikrobiologie I und II (soweit nicht bereits bekannt)	3	3

Anhang zu 6.1.3: Lernziele der Spezialausbildung

Einführung in die Mikrobiologie vgl. Anhang zu 6.1.2

Einführung in die Biochemie

Grundlagen der Biochemie, Chemie und Reaktionen wichtiger Na-
turstoffe, enzymatische Katalyse, physikalische Chemie biolo-
gischer Substanzen (einschl. in Lösungen),
biochemische Trennmethoden.

Technische Mikrobiologie I und II vgl. sinngemäß Anhang zu

6.1.1 und 6.1.2. Hier sollte bes. der biologische Teil behan-
delt werden, auch die Kopplung biologischer Reaktionen im Re-
aktor mit Transportvorgängen, Scale up, Dimensionierung, dazu
bes. Meß- und Regeltechnik biologischer Vorgänge, Technik der
Sterilhaltung, Spezielle Grundoperationen (Zellaufschluß, chro-
matographische Verfahren).

6.2 Fortbildungskurse für Biotechnologie

Da die Ausbildung im Fach Biotechnologie bisher an den Uni-
versitäten nicht oder nur unvollständig durchgeführt worden
ist, ist es mittelfristig notwendig, Fortbildungskurse zu or-
ganisieren, die die Wissenschaftler aus den drei Gebieten
Mikrobiologie, Biochemie/Chemie, Technische Chemie oder Ver-

fahrenstechnik in die Lage versetzen, das Gebiet der Biotechnologie in Zusammenarbeit erfolgreich zu bearbeiten.

Diese Kurse sollten nach bewährtem Muster von der DECHEMA in Zusammenarbeit mit der GDCh und der DGHM organisiert werden.

Die Fortbildungskurse müssen in drei Stufen aufgebaut werden:

- In einer ersten Stufe müssen Grundlagenkurse absolviert werden. In diesen Kursen sollen Kenntnisse vermittelt werden, die Wissenschaftler aus den o.g. drei Fachgebieten in die Lage versetzen, einen biotechnologischen Grundkurs zu absolvieren.
- In einer zweiten Stufe soll in einem biotechnologischen Grundkurs die Möglichkeit geschaffen werden, einfache biotechnologische Arbeiten durchzuführen. Weiterhin soll eine Grundlage für die Absolvierung von Spezialkursen geschaffen werden.
- In einer dritten Stufe sollen dann je nach Bedarf Spezialkurse angeboten werden, die die Absolventen befähigen, spezielle Gebiete der Biotechnologie intensiv zu bearbeiten.

Die folgende Tabelle zeigt eine Übersicht über einen solchen Plan für Fortbildungskurse auf dem Gebiet der Biotechnologie. Die Stufenfolge muß in bestimmten Fällen natürlich nicht immer eingehalten werden.

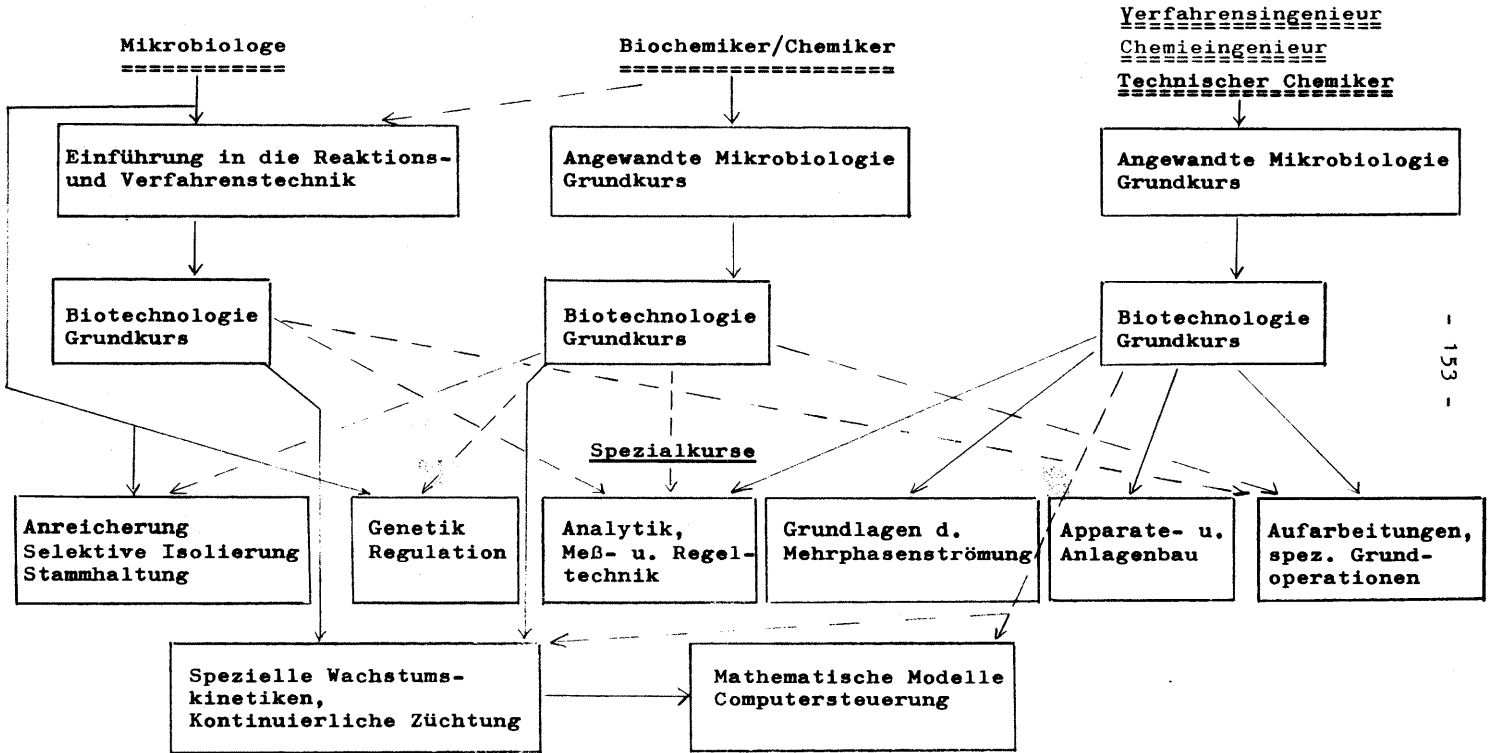
Die dargestellten Kurse stellen einen Vorschlag dar, der als Diskussionsgrundlage vorgelegt wird. Die folgenden Fragen sollen mit Hilfe dieses Schemas geklärt werden:

1. Welche Teilnehmer werden für welchen Kurs erwartet?
2. Welches Lernziel ist in jedem Kurs anzustreben?
3. Wer ist in der Lage, einen solchen Kurs durchzuführen?

Die genannten Kurse sollten im Rahmen der DECHEMA-Kurse (ca. 1 Woche, 5 ganze Arbeitstage) stattfinden. Die Durchführung einzelner Kurse wird derzeit vorbereitet.

Fortbildungskurse Biotechnologie

=====



6.3. Zu erwartende Kosten für die Durchführung der Ausbildung in Biotechnologie

Die im vorhergehenden angeführten zusätzlichen Lehrveranstaltungen zur Ausbildung von Biotechnologen erfordern bestimmte Einrichtungen. Diese lassen sich im wesentlichen von den vorgeschlagenen Lehrveranstaltungen ausgehend abschätzen.

Es werden die folgenden notwendigen Personalstellen und Kosten geschätzt:

6.3.1 Einführung in die Mikrobiologie

Diese Veranstaltung wird von den bereits an den betreffenden Universitäten vorhandenen Lehrstühlen für Mikrobiologie übernommen werden können, wenn Personal, Sachmittel und in einigen Fällen auch Räume zur Verfügung stehen. Die Vorlesung wird in vielen Fällen bereits gelesen, so daß die Teilnahme von zusätzlich zu erwartenden Studenten von der Kapazität der Hörsäle abhängt.

Für das Praktikum von ca. 20 Studenten/Jahr ist zu veranschlagen:

1 Wissenschaftlicher Assistent	
1 Wissenschaftliche Hilfskraft	
1 Technische Assistentin	
Einmalige Einrichtungsmittel*)	ca. 100.000.-- DM
Laufende Mittel	20.000.-- DM/Jahr

6.3.2 Einführung in die Biochemie

Für diese Veranstaltung gilt entsprechendes wie für die Einführung in die Mikrobiologie, vorausgesetzt, daß ein Lehrstuhl für Biochemie an der betr. Universität vorhanden ist.

*) Die einmaligen Einrichtungsmittel für ein Praktikum sind nur dann in der angegebenen geringen Höhe möglich, wenn bereits Grundausrüstungen für Ausbildungsplätze, z.B. Mikroskope etc. am betr. Lehrstuhl bestehen. Andernfalls gelten als einmalige Einrichtungsmittel 400.000.-- DM.

Zusätzliche Ausrüstung:

1 Wissenschaftlicher Assistent	
1 Wissenschaftliche Hilfskraft	
1 Technische Assistentin	
Einmalige Einrichtungsmittel*)	ca. 100.000.-- DM
Laufende Mittel	20.000.-- DM/Jahr

6.3.3 Technische Chemie

Diese Lehrveranstaltungen müßten einem Institut für Physikalische Chemie oder Technische Chemie angegliedert und in sehr enger Verbindung mit den unter 6.3.4 und 6.3.5 angegebenen Stellen für Technische Mikrobiologie und Angewandte Genetik durchgeführt werden, da die Grundausrüstung der 3 Institutionen gemeinsam genutzt werden sollte.

Notwendige Einrichtungen zur Abhaltung der Lehrveranstaltungen:

1 Wissenschaftlicher Rat u. Professor	
1 Wissenschaftlicher Assistent	
1 Wissenschaftliche Hilfskraft	
1 Technische Assistentin	
Einmalige Einrichtungsmittel	400.000.-- DM
Laufende Mittel	20.000.-- DM

In dieser Abteilung sollte in Verbindung mit der Abteilung Technische Mikrobiologie gemeinsame Forschung auf dem Gebiet der Biotechnologie getrieben werden.

6.3.4 Technische Mikrobiologie

Enge - möglichst räumliche - Verbindung mit der Technischen Chemie. Diese Abteilung sollte aber am Lehrstuhl für Mikrobiologie lokalisiert werden.

Notwendige Einrichtungen zur Abhaltung der Lehrveranstaltungen:

1 Wissenschaftlicher Rat und Professor

*) s.S. 154

1 Wissenschaftlicher Assistent
1 Wissenschaftliche Hilfskraft
1 Technische Assistentin

Einmalige Einrichtungsmittel 400.000.-- DM
Laufende Mittel 20.000.-- DM

In dieser Abteilung sollte in enger Verbindung mit Technischer Chemie und Angewandter Genetik biotechnologische Forschung getrieben werden.

6.3.4 Angewandte Genetik

Notwendige Einrichtungen zur Abhaltung der Lehrveranstaltungen:

1 Wissenschaftlicher Rat und Professor oder
1 Akademischer Rat oder 1 wiss. Assistent
1 Wissenschaftliche Hilfskraft
1 Technische Assistentin

Einmalige Einrichtungsmittel^{+))} 100.000.-- DM
Laufende Mittel 20.000.-- DM

Je nach Vorhandensein eines mikrobiologischen oder genetischen Lehrstuhls müßte hier eine Angliederung stattfinden. Dabei muß unbedingt verhindert werden, daß bei einer evtl. Neueinrichtung einer Stelle - gleichgültig, ob diese mit einem Akademischen Rat und einem Wissenschaftlichen Rat oder einem Assistenten besetzt wird - eine Verfremdung des Sachgebietes erfolgt und die genannten neuen Stellen im allgemeinen Institutsbetrieb aufgehen.

Die Gruppe sollte eng an die Abteilungen Technische Chemie und Technische Mikrobiologie angegliedert werden, um für Folgearbeiten mit Mutanten Arbeitsmöglichkeiten zu besitzen.

+) Die einmaligen Einrichtungsmittel für ein Praktikum sind nur dann in der angegebenen geringen Höhe möglich, wenn bereits Grundausrüstungen für Ausbildungsplätze, z.B. Mikroskope etc. am betr. Lehrstuhl bestehen. Andernfalls gelten als einmalige Einrichtungsmittel 400.000.-- DM.

Verzeichnis der Mitarbeiter

=====

An der Erstellung der Studie und der Formulierung von Empfehlungen und Schwerpunkten haben mitgewirkt:

Name	Kapitel-Nr.
D. Behrens, DECHEMA, Frankfurt	Einführung
N. Binder, BMFT, Bonn	
W. Bronn, Institut für Gärungsgewerbe, Berlin	2
K. Buchholz, DECHEMA, Frankfurt	
D. Claus, GSF, Göttingen	1.1
H. Determann, Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica Werk, Tutzing	3.3
W. Frommer, Bayer AG, Wuppertal	3
E. Jürgens, Farbwerke Hoechst AG, Ffm.-Höchst	2
K. Kieslich, Schering AG, Berlin	3, 3.1, 3.1 c
H. Metz, E. Merck AG, Darmstadt	1.2, 1.3, 3.2
A. Oppermann, Farbwerke Hoechst AG, Ffm.-Höchst	2, 5
H.-J. Pieper, Uni Hohenheim, Stuttgart	4, 5.2
H.-J. Rehm, Uni Münster	Einführung, 3, 6 Schriftführer
H.G. Schlegel, Uni Göttingen	1, 6
F. Wagner, Gesellschaft für Molekularbiolo- gische Forschung, Stöckheim	3.1.1

Einzelne Beiträge wurden von folgenden Herren beige-steuert:

Name	Kapitel-Nr.
W. Barz, Uni Münster	3.2.1
Th. Beck, Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur, München	4.3
H.-D. Belitz, TU München	3.1.3.2 g
K. Bosecker, Bundesanstalt für Geowissen- schaften und Rohstoffe, Hannover	4.5.1
E.-E. Bruchmann, Uni Hohenheim, Stuttgart	4.5.4
H. Diekmann, Uni Tübingen	3.1.3.2 h
F. Drawert, TU München, Freising-Weihestephan	3.1.3.2 i

H.G. Ebner, Uni Dortmund	4.5.1
K. Esser, Uni Bochum	1.1.3
K. Grabbe, FAL, Braunschweig	4.1.2.4
H. Heine, Farbwerke Hoechst AG, Ffm.-Höchst	2
W. Heumann, Uni Erlangen	4.5.3
G. Kreysa, DECHEMA, Frankfurt	Einleitung
R.M. Lafferty, Uni Göttingen	3.1.1.1 a
H. Lang, E. Merck AG, Darmstadt	3.3.1
F. Lehmann-Grube, Uni Hamburg	1.3, 3.2.2
A. Lembke, Bundesforschungsanstalt für Milch- wirtschaft, Kiel	4.1.2.2
R. Mauler, Behringwerke AG, Marburg	1.3, 3.2.2
G. Michal, Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica Werk, Tutzing	3.3.4
M. Nelböck-Hochstetter, Boehringer Mannheim GmbH Biochemica Werk, Tutzing	3.3.3
G. Nesemann, Farbwerke Hoechst AG, Ffm.-Höchst	3.1.3.1 e
H. Pönitz, Uni Hohenheim, Stuttgart	4.3
A. Pühler, Uni Erlangen	1.1.3
E. Reinhard, Uni Tübingen	1.2, 3.2.1
M. Reuss, Gesellschaft für Molekularbiolo- gische Forschung, Stöckheim	2
Schindler, Henkel u. Cie, Düsseldorf	3.1.3.1 c
J.A. Schmidt, Landesanstalt für Tabakbau, Forchheim	4.1.3.2
G. Schmidt-Kastner, Bayer AG, Wuppertal	3.3
W. Schönborn, Battelle-Institut e.V., Frankfurt	4.4, 5.3, 4.5.9
W. Schwartz, Gesellschaft für Molekularbiolo- gische Forschung, Stöckheim	4.5.1
C.J. Soeder, Kohlenstoffbiologische Forschungs- station, Dortmund	3.1.1.1 d
G. Spicher, Bundesforschungsanstalt für Getrei- deverarbeitung, Detmold	4.1.2.4
D. Strauch, Uni Hohenheim, Stuttgart	4.4.2, 5.3
H. Uhlig, Röhm GmbH, Darmstadt	3.3.2
H. Zähler, Uni Tübingen	6
M.H. Zenk, Uni Bochum	1.2, 3.2.1, 4.10