

**BIOKRAFTSTOFFE AUS ALGEN:
PHOTOBIOLOGISCHE WASSERSTOFFPRODUKTION UND CO₂-FIXIERUNG**

Thomas Happe und Katrin Müllner

AG Photobiotechnologie, Lehrstuhl Biochemie der Pflanzen, Ruhr-Universität Bochum

1. CO₂-Problematik, erneuerbare Energien und Wasserstoff als Energieträger der Zukunft

Immer mehr verstärkt sich die Vermutung, dass sich unser Klima durch die Eingriffe des Menschen verändert. Vor allem der Verwendung fossiler Energieträger kommt in diesem Zusammenhang eine große Bedeutung zu, denn etwa 90 % des Weltenergieverbrauches basiert auf fossilen Energieträgern wie Kohle, Gas und Öl. Bei der Verwendung dieser Energieträger wird CO₂ frei, ein Treibhausgas, das in den klimatischen Haushalt unserer Erde eingreift. Im Jahr 2003 stiegen die CO₂-Emissionen Deutschlands auf 837 Millionen Tonnen pro Jahr an. Diese Entwicklung widerspricht den Bemühungen, klimarelevante Emissionen zu verringern. Auch weltweit wird versucht, den klimatischen Haushalt unserer Erde zu schützen, was sich auch an dem für Deutschland international vereinbarten Ziel, die Emission von Treibhausgasen bis 2008/2012 um 21 Prozent zu senken, deutlich zeigt. Die Reduktion klimaschädlicher Gase ist deshalb eine der großen Herausforderungen in der Energietechnik. Zusätzlich dazu sind fossile Energieträger endlich und die zur Verfügung stehenden Energieressourcen werden von immer mehr Menschen in Anspruch genommen. Da eine gesicherte Energieversorgung der Schlüssel für Weltfrieden, sowie für wirtschaftliche und kulturelle Entfaltung der einzelnen Länder ist, müssen Konzepte erarbeitet werden, wie Energie möglichst langfristig, nachhaltig und CO₂-neutral erzeugt werden kann.

Regenerative Energien scheinen der Ausweg aus dieser schwierigen Situation zu sein, da das Energieangebot der Sonne praktisch unendlich ist und damit in größeren Mengen zur Verfügung steht, als die gesamte Weltbevölkerung verbrauchen kann. Alle Formen der erneuerbaren Energien lassen sich auf das Energieangebot der Sonne zurückführen, wie zum Beispiel Wind durch unterschiedlich erwärmte Luftschichten, Wasser durch den Verdunstungs-Regen-Zyklus und Biomasse, da Pflanzen nur mit Hilfe von Sonnenlicht wachsen können. Seit einigen Jahren gilt nun auch die Erzeugung von Strom mit Hilfe von Windkraftanlagen und Photovoltaik als etabliert und wird von der Politik gefördert. Die Industrie hat aber auch neue Konzepte entwickelt, um die durch Pflanzen produzierte Biomasse auszunutzen. Besonders die Automobilindustrie ist daran interessiert, Verfahren zu finden, die neuartige „Bio“-Kraftstoffe CO₂-neutral aus pflanzlichen Rohstoffen herstellen.

Auf der anderen Seite wird nach neuen umweltfreundlichen Energieträgern gesucht. Wasserstoff spielt in den Überlegungen eine entscheidende Rolle und wird deshalb als der Energie-

träger der Zukunft gehandelt. Bei seiner Verbrennung entsteht lediglich Wasser und Energie und nahezu keine Stickoxide oder andere „Umweltgifte“. Weitere Vorteile von Wasserstoff sind seine gute Speicherbarkeit und seine vielseitige Verwendbarkeit; er kann z.B. zur Hausenergieversorgung, als Energieträger in Kraftwerken und für den Bereich der Mobilität (Auto, Flugzeug) verwendet werden. Zusätzlich dazu ist er energiereich (33,33 kWh/kg) und ungiftig. Tatsächlich wird Wasserstoff heute schon in vielen Industriezweigen verwendet. Grundproblem ist jedoch, dass Wasserstoff in reiner Form als natürliche Ressource nicht vorkommt und folglich über technische Prozesse hergestellt werden muss.

Die Gewinnung von Wasserstoff erfolgt heute überwiegend aus fossilen Energieträgern. Zum Einsatz kommen bewährte Reformierungs- und Vergasungsverfahren, die jedoch – da die Prozesse bei hohen Temperaturen und in der Regel bei hohen Drücken ablaufen – einen hohen technischen und apparativen Aufwand erfordern. Zudem entsteht bei der Umsetzung der fossilen Brennstoffe zwangsläufig das Treibhausgas Kohlendioxid (CO₂).

Eine weitere Möglichkeit zur Wasserstoffgewinnung bildet die Wasserelektrolyse mittels konventionell oder regenerativ erzeugter elektrischer Energie. Die Wasserstoffherzeugung mittels konventionell bereitgestellter Elektrizität ist wiederum mit CO₂-Emissionen behaftet.

Wasserstoff kann aber nur dann als sauberer Energieträger bezeichnet werden, wenn er regenerativ erzeugt wird, das bedeutet, dass bei seiner Gewinnung keine klimaschädlichen Emissionen entstehen.

Eine alternative, kostengünstige und CO₂-neutrale Methode zur Wasserstoffgewinnung stellt die photobiologische Wasserstoffherzeugung durch Mikroalgen dar. Bei dieser Form der regenerativen Energieerzeugung produzieren photosynthetisch aktive Mikroorganismen (Abb. 1) aus den in der Natur am meisten vorkommenden Reserven, nämlich Sonnenlicht und Wasser, reines Wasserstoffgas.

2. Photobiologische Wasserstoffherzeugung

Der Ansatz der photobiologischen Wasserstoffgewinnung bietet gegenüber den bisher üblichen Herstellungstechniken von Wasserstoff vielfältige Vorteile: Die Prozesse laufen bei Umgebungstemperatur und Umgebungsdruck ab, woraus eine einfache Apparatechnik und geringe Anlagenkosten resultieren. Das Substrat (hauptsächlich H₂O) ist sehr billig und kann regeneriert werden, denn das verwendete Substrat kann bei der Biomasseverwertung abgetrennt werden und die Umsetzung von Wasserstoff erfolgt zu Wasser. Als Energiequelle steht Sonnenlicht fast unbegrenzt zur Verfügung. Es wird Wasserstoff erzeugt, der gegenüber dem Wasserstoff aus Vergasungsverfahren deutlich weniger Begleitstoffe wie z.B. H₂S, Alkalien oder Staub enthält. Zwar wurde eine Gasanalyse zur Reinheit des photobiologisch produzierten Wasserstoffs bislang nicht durchgeführt. Es ist jedoch davon auszugehen, dass allein

durch das schwefelarme Milieu, in dem Wasserstoff durch die Mikroorganismen produziert wird, Schwefel als einer der wesentlichen Störparameter im Hinblick auf die energetische Nutzung des Produktgases in Brennstoffzellensystemen allenfalls in Spuren darin vorhanden ist.

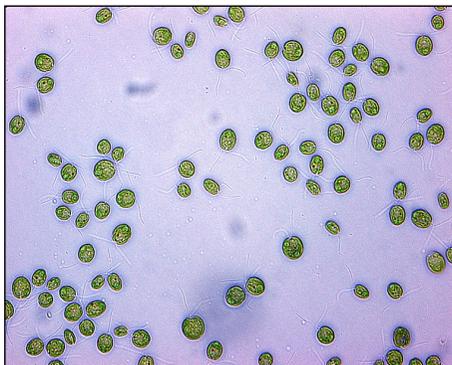


Abb. 1: Die einzellige Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii*

Je nachdem welche Qualität der photobiologisch hergestellte Wasserstoff letztlich besitzt, sind neben der energetischen Nutzung auch andere Verwertungsoptionen zu prüfen, die ggf. die Realisierung höherer Erlöse und die Erschließung neuer Marktpotenziale eröffnen. Das bemerkenswerte an der photobiologischen Wasserstoffherzeugung ist jedoch, dass der gesamte erzeugte Wasserstoff CO_2 -frei erstellt wird. Die Menge an CO_2 , die beim Wachstum der Algen fixiert wird, wird bei der Verwertung der Biomasse in Form von Vergärung oder Verbrennung wieder frei. Unabhängig von diesem Kreislauf wird Wasserstoff produziert.

3. Wasserstoffmetabolismus bei einzelligen Grünalgen – lange be- und verkannt

Bereits vor 60 Jahren entdeckte der deutsche Pflanzenphysiologe Hans Gaffron, dass Grünalgen unter bestimmten Bedingungen in der Lage sind, sowohl oxygene Photosynthese durchzuführen als auch Wasserstoff herzustellen, womit sie bisher einzigartig unter den eukaryontischen Lebewesen sind (Gaffron, 1939). In den 70er Jahren wiesen Kessler und Kollegen den Wasserstoff Metabolismus in verschiedenen Algenstämmen nach, in den 80er Jahren charakterisierten Gibbs und Kollegen den fermentativen Metabolismus in *Chlamydomonas reinhardtii*. Knapp 10 Jahre später isolierten Naber und Happe das für die Wasserstoffbildung verantwortliche Protein, die Hydrogenase; damit konnten die biochemischen und molekularbiologischen Grundlagen der Wasserstoffbildung in Chlorophyceen aufgeklärt werden (Happe und Naber, 1993; Happe und Kaminski, 2002). Erst kürzlich wurde in der Arbeitsgruppe von Professor Happe das für die Wasserstoffherstellung in Algen verantwortliche Gen *hydA* weltweit erstmals isoliert und das dazugehörige Enzym, die Hydrogenase HydA, charakteri-

siert; für letzteres konnte eine Verbindung zur photosynthetischen Elektronentransportkette gezeigt werden (Melis und Happe, 2001; Florin et al., 2001; Winkler et al., 2002a).

Die Wasserstoffbildungsaktivität der Grünalgen konnte lange Zeit nur durch künstlich erschaffene anaerobe Bedingungen induziert werden. Erst in den letzten Jahren wurden Studien veröffentlicht, die einen Nutzen der Hydrogenasen für die Algenzellen unter natürlichen Bedingungen implizierten, und die gleichzeitig eine Möglichkeit der biotechnologischen Wasserstoffproduktion durch einzellige Grünalgen eröffneten (Happe et al., 2002). Melis und Mitarbeiter zeigten (Melis et al., 2000; Zhang et al., 2001), dass Algenkulturen in Abwesenheit des Nährstoffs Schwefel eine lang anhaltende Wasserstoffbildungsaktivität ausbilden.

Das Entziehen des Nährstoffes Schwefel bewirkt eine metabolische Anpassungsstrategie der Zellen, die in einer lichtabhängigen Produktion von nahezu reinem Wasserstoff resultiert (Happe und Hemschemeier, 2002). Wegen der extremen Sauerstofflabilität der Algen-Hydrogenasen ist die Senkung des Sauerstoffgehalts im Medium bzw. in den Zellen von besonderer Bedeutung für den Wasserstoff Metabolismus (Winkler et al., 2002b). Unter Schwefelmangel reduziert die Alge die photosynthetische Sauerstoffproduktion, erhält die respiratorische Sauerstoffaufnahme jedoch aufrecht. Dadurch wird mehr Sauerstoff konsumiert als erzeugt, so dass die Sauerstoffkonzentration in der Kultur sinkt, sie wird anaerob. Dies ist die Voraussetzung für die Bildung aktiver Hydrogenasen (Forestier et al. 2003). Nachdem der Sauerstoffgehalt der Grünalgenkultur stark zurückgegangen ist, kann eine nahezu linear ansteigende Wasserstoffbildungsaktivität beobachtet werden, die für mindestens 10-14 Tage anhält.

4. Die Bedeutung der Hydrogenasen

Die Natur hat enzymatische Reaktionen hervorgebracht, welche die Photolyse des Wassers im Rahmen der oxygenen Photosynthese katalysieren, und andere, in denen spezielle Enzyme, sogenannte Hydrogenasen, die Bildung von molekularem Wasserstoff bewirken.

Hydrogenasen werden anhand ihrer Stoffwechselfunktion oder analog nach der Richtung der Reaktionsgleichung $\text{H}_2 \leftrightarrow 2\text{H}^+ + \text{e}^-$ eingeteilt; sie können entweder Wasserstoff aufnehmen oder abgeben. Eine weitere Unterscheidung erfolgt nach den Metallen im aktiven Zentrum: es gibt Eisen- ([Fe]-Hydrogenase) oder Nickel-Eisen-Hydrogenasen ([NiFe]-Hydrogenase). [NiFe]-Hydrogenasen findet man sehr häufig, allerdings nur in Bakterien. In Eukaryonten, wie z.B. Grünalgen oder tierischen Einzeller, wurden bisher nur [Fe]-Hydrogenasen entdeckt (Abb. 2). Diese sind etwa 100mal aktiver als [NiFe]-Hydrogenasen. [Fe]- sowie auch [NiFe]-Hydrogenasen sind empfindlich gegenüber Sauerstoff und deshalb nur am anaeroben bzw. mikroaeroben Stoffwechsel beteiligt.

Zwei Organismengruppen, die Cyanobakterien (Happe *et al.*, 2000) und einige einzellige Grünalgen (Chlorophyceae) (Horner *et al.*, 2002), vereinigen den Prozess der Photolyse des Wassers und die Bildung von molekularem Wasserstoff. Besonders die Grünalgen, die hoch effiziente Hydrogenasen besitzen, sind mögliche Kandidaten für die biotechnologische Wasserstoffherzeugung. Diese neuartigen Proteine haben extrem hohe Umsatzraten: 1 Molekül Hydrogenase produziert 5.000 Moleküle Wasserstoff pro Sekunde.

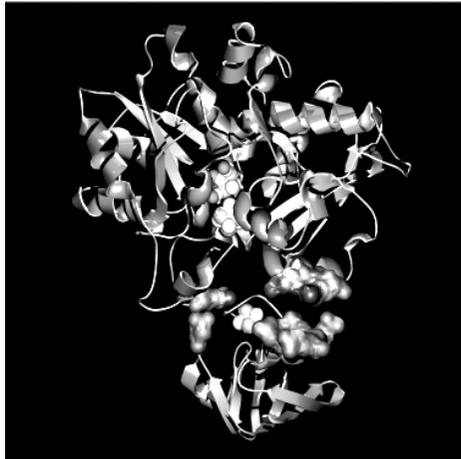


Abb. 2: Strukturmodell der [Fe]-Hydrogenase aus Grünalgen

Biologische Wasserstoffproduktion durch einzellige Grünalgen lässt sich in zwei Teilbereiche gliedern, die Wasserstoffentwicklung im zellulären System und die Wasserstoffproduktion durch isolierte Enzyme im zellfreien System.

5. Wasserstoffproduktion im zellulären System

Bisher wurde die Wasserstoffproduktion durch Algen unter Schwefelmangel nur im Labormaßstab (bis zu 10 l Algenkultur) etabliert. Dabei konnte eine Produktionsrate von ca. 1 l H₂ pro Tag und 4 Liter Algenkultur erzielt werden. Dieses System ist jedoch nicht ohne weiteres auf großtechnischen Maßstab (Hunderte von m³ Algenkultur) auszuweiten.

Da Grünalgen unter Schwefelmangelbedingungen kontinuierlicher und auch größere Mengen an Wasserstoff als mit anderen Systemen (z.B. Anaerobiose) erzeugen, erfolgt die photobiologische Wasserstoffherzeugung im zellulären System zumeist in zwei Phasen (Verfahrensschaubild siehe Abb. 3): Phase 1 ist die Wachstumsphase der Grünalgen, darauf folgt der Entzug von Schwefel aus dem System und Phase 2 ist die Wasserstoffproduktionsphase.

Der Entzug des Schwefels aus dem System stellt eine besondere Herausforderung bei der Hochskalierung der photobiologischen Wasserstoffherzeugung dar. Die Wachstums- wie auch die Wasserstoffproduktionsphase muss unter sterilen Bedingungen stattfinden. Im Labormaßstab wurde der Schwefel mittels Zentrifugation aus dem System entfernt, was mit zunehmendem Kulturvolumen kaum mehr durchführbar ist. In der Wachstumsphase nehmen Algen eine gewisse Menge an Schwefel auf. Als Alternative zur Zentrifugation wurde ein System etabliert, bei dem den Algen zu Beginn der Wachstumsphase lediglich die Menge an Schwefel ins Medium gegeben wird, die von den Algen verbraucht wird. Sobald der Schwefel komplett verbraucht ist, beenden die Algen ihr Wachstum und beginnen mit der Wasserstoffproduktion. Die Menge des anfänglich zugegebenen Schwefels bestimmt somit die Konzentration der Algen in der Wasserstoff produzierenden Phase. Dieses System ermöglicht den Entzug von Schwefel beliebig großer Kulturvolumina und überwindet damit eine der größten Hürden bei der biotechnologischen Anwendung Wasserstoff erzeugender Grünalgen.

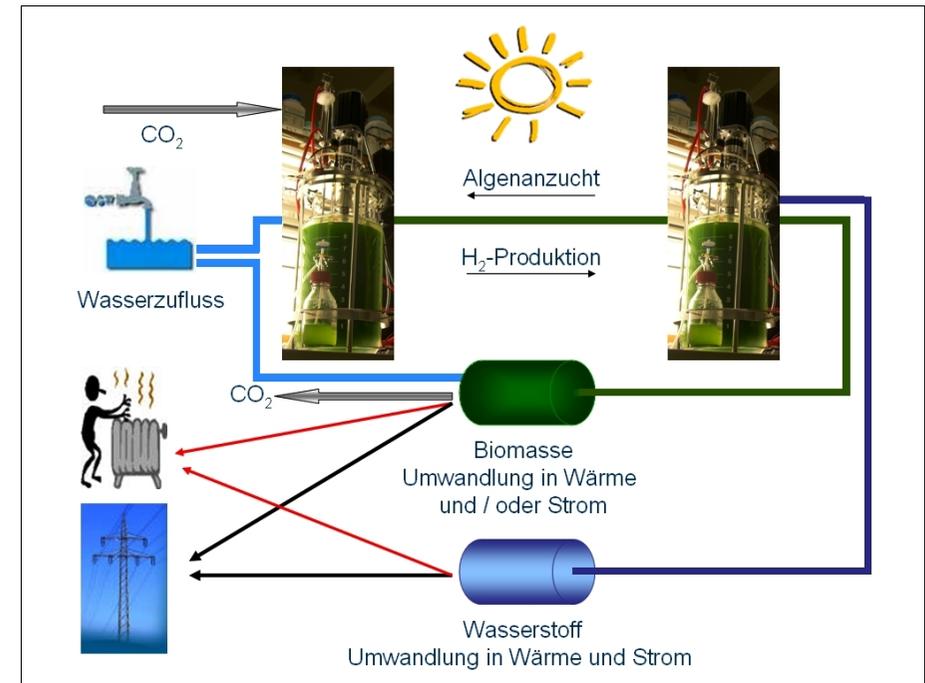


Abb. 3: Verfahrensschaubild zur photobiologischen Wasserstoffproduktion im zellulären System

Nicht zu vernachlässigen ist die aus dem System der Selbstentschwefelung resultierende Kostenersparnis. Im Gegensatz zur Entfernung des Schwefels mittels Zentrifugation kann nun für die Wachstums- und die Produktionsphase das gleiche Substrat verwendet werden, wodurch sich die Kosten für das Medium der Algen mindestens halbieren.

Zusätzlich zur Etablierung der Selbstentschwefelung wurden Versuche gemacht, welchen Einfluss die Zugabe bestimmter Bestandteile des verwendeten Mediums in der Wasserstoff produzierenden Phase auf die Produktion von Wasserstoff hat. Durch eine Kombination des Systems der Selbstentschwefelung mit der Zugabe von Mediumbestandteilen ergab sich eine Steigerung der Wasserstoffproduktion um bis zu 30% verglichen mit dem System der Zentrifugation.

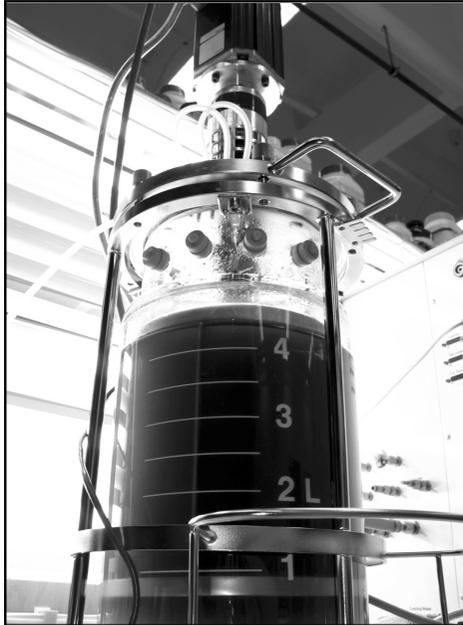


Abb. 4: Anzuchtreaktor einer Grünalgenkultur

Um eine kontinuierliche und über einen längeren Zeitraum gleichbleibende Wasserstoffproduktion zu erreichen, ist es auch bei der Verwendung des Systems der Selbstentschwefelung notwendig, zwei Bioreaktoren zu verwenden. In Bioreaktor I erfolgt die Anzucht und in Bioreaktor II die Wasserstoffproduktion. Nach einem empirisch ermittelten Zeitintervall wird eine definierte Menge an Algen aus dem Anzucht- in den Wasserstoffproduktionsreaktor umgepumpt. Gleichzeitig werden die dadurch überflüssigen Algen aus dem Reaktor II entfernt und Reaktor I wird mit frischem Medium aufgefüllt. Das verwendete Zeitintervall muss den Algen im Anzuchtreaktor genug Zeit geben, damit sie wieder die optimale Dichte zur Wasserstoffproduktion erreichen und damit schwefelfrei sind. Da die Algen aufgrund ihrer hohen Verdopplungszeit schneller die optimale Dichte erreichen als sie umgepumpt werden müssen, um eine kontinuierlich hohe Wasserstoffproduktion zu gewährleisten, kann der Anzuchtreaktor (Abb. 4) viel kleiner als der Wasserstoffproduktionsreaktor dimensioniert werden.

Der optimalen Beleuchtung wird erhebliches Optimierungspotential des gesamten Systems zugeschrieben. Deshalb wird der Einfluss verschiedener Lichtqualitäten und -Farben auf die Wasserstoffproduktion untersucht. Für diese Versuche stehen neuartige Leuchtdioden (Abb. 5) des Lehrstuhls Biochemie der Pflanzen zur Verfügung. Diese ermöglichen die Belichtung mit einer klar definierten Wellenlänge und lassen dadurch Rückschlüsse auf bevorzugte oder eventuell sogar schädliche Wellenlängen zu. Aufgrund dieser Ergebnisse können die für die Wasserstoffproduktion förderlichen Wellenlängen verstärkt und die als schädlich klassifizierten Wellenlängen ausgefiltert werden. Beispielsweise konnte bei der Beleuchtung mit blauem und rotem Licht während der Wasserstoffproduktionsphase eine erhöhte Enzymaktivität festgestellt werden.

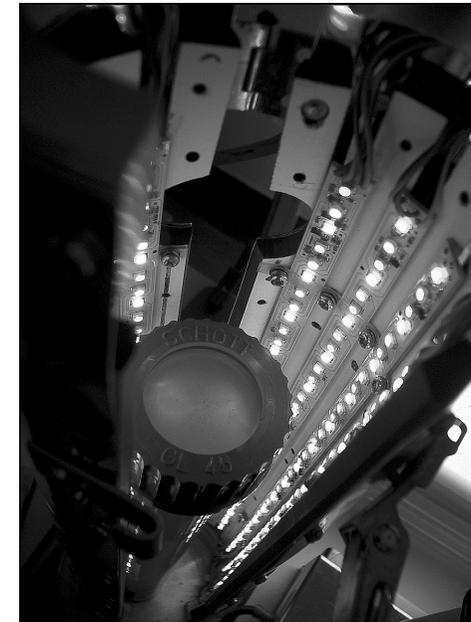


Abb. 5: Leuchtdiodenmantel

Prinzipiell gibt es zwei mögliche Konzepte zur Beleuchtung bei der photobiologischen Wasserstoffherzeugung, die Nutzung des natürlichen Tageslichtes oder eine artifizielle Beleuchtung. Beide Möglichkeiten weisen ihre Vor- und Nachteile auf.

Der große Vorteil bei der Nutzung des natürlichen Tageslichtes besteht darin, dass keinerlei Energie für die Beleuchtung aufgewendet werden muss, denn das Sonnenlicht steht kostenlos und fast unbegrenzt zur Verfügung. Auch brauchen die verwendeten Grünalgen nicht zwangsläufig direkte Sonnenstrahlung, sondern sie können auch diffuse Strahlung, sowie

auch geringere Lichtintensitäten verarbeiten. Das ermöglicht die Wasserstoffproduktion auch an bewölkten und regnerischen Tagen. Schwankungen in der Wasserstoffproduktion lassen sich bei der Beleuchtung mit natürlichem Sonnenlicht allerdings nicht vermeiden. Das Lichtangebot ist direkt bedingt durch die Tages- und Jahreszeiten und lässt sich nicht an die optimale Versorgung der Grünalgen mit Licht anpassen.

Artifizielle Beleuchtung kann demgegenüber beliebig verändert werden, sie ist steuer- und regelbar und sie besticht durch stetig reproduzierbare Gegebenheiten; allerdings muss zu ihrer Bereitstellung Energie aufgewendet werden.

Die Versuche bezüglich des Einflusses verschiedener Lichtqualitäten und -Farben sind nicht nur deshalb von großer Bedeutung, dass der Wirkungsgrad der photobiologischen Wasserstoffproduktion bei optimaler Beleuchtung verbessert werden kann, sondern die Ergebnisse stellen auch die Basis für spätere kommerzielle Anwendungen dar. Werden Module mit Wasserstoff erzeugenden Grünalgen z.B. als Doppelfassade oder zur Wärmedämmung von Gebäuden verwendet, könnte man Module unterschiedlicher Farbe anbieten, was die Akzeptanz und Einsatzmöglichkeiten dieses Systems drastisch erhöhen würde.

In diesem Zusammenhang sollte auch die Verwendung von Lichtleitern diskutiert werden. Lichtleiter könnten bei Systemen mit Tageslichtbeleuchtung eine räumliche Entkoppelung der beleuchteten Fläche mit dem Bioreaktor ergeben. Für die Hausenergieversorgung ergäbe sich dadurch die Möglichkeit, Sonnenstrahlung einzufangen und in einen Bioreaktor, der z.B. im Keller steht, einzubringen. Vorstellbar wäre auch die Unterstützung artifizieller Beleuchtung mit Tageslicht. Allgemein kann mit Hilfe von Lichtleitern der Lichteintrag in den Bioreaktor erhöht werden.

6. Abschätzung der Wasserstoffproduktion der Grünalgen im zellulären System

Die mittlere Wasserstoffbildungsrate der Grünalgen liegt bei 5 bis 10 ml Wasserstoff je Stunde und Liter Algenkultur. Der Energieinhalt von Wasserstoff geht mit 33,33 kWh/kg und die Dichte von Wasserstoff mit 0,0899 g/l in die folgende Berechnung ein. Unter der Annahme, dass die Algensuspension 12 Stunden am Tag beleuchtet wird und Wasserstoff lediglich während der Lichtphase erzeugt wird, werden 65,6 kWh bis 131,2 kWh Wasserstoff je m³ Kultur und Jahr erzeugt. Der Strombedarf eines 3 bis 4 Personen Haushaltes wird im folgenden Beispiel mit 4.500 kWh/Jahr angenommen. Um den Strombedarf dieses Haushaltes komplett aus photobiologischem Wasserstoff mit einem Umwandlungswirkungsgrad von 40 % zu decken, beträgt das benötigte Volumen der Algensuspension 85 bis 170 m³.

Es gibt aber bereits Algen, die 5mal mehr Wasserstoff produzieren können; dadurch würde sich der Volumenbedarf auf 17 bis 34 m³ reduzieren. Es kann aber darüber hinaus noch davon

ausgegangen werden, dass Algen langfristig gesehen und unter Optimierung des natürlichen Systems ca. 10-mal mehr Wasserstoff produzieren können.

Diese Optimierung kann grundsätzlich auf drei verschiedenen Wegen erfolgen: Die Erforschung des zugrunde liegenden Metabolismus und der optimalen Betriebsparameter ermöglicht die optimierte Gestaltung von Bioreaktoren, die Erforschung des genetischen Hintergrundes erleichtert die gentechnische Veränderung der Grünalge, und das Suchen und Testen weiterer Spezies lässt auf noch aktivere und leichter kultivierbare Organismen hoffen.

7. Verwertung der Biomasse bei zellulären Systemen

Einzellige Grünalgen verfügen über eine sehr hohe Verdopplungsrate von 8 bis 10 Stunden; damit erzeugen sie etwa 10-mal mehr Biomasse als das als Energiepflanze bekannte Schilfgras *Miscanthus*. In Kooperation mit der NEED Technology GmbH erfolgte erstmalig eine Heizwertbestimmung der verwendeten Grünalgen. Mit weit über unseren Erwartungen liegenden 24.000 kJ/kg bezogen auf die Trockenmasse liegt der Energieinhalt damit zwischen Braunkohlebriketts und Steinkohle. Da das Substrat in dem die Grünzellen wachsen hauptsächlich aus Wasser besteht, kann die eigentliche Biomasse in Form von Algen beispielsweise mittels Filter abgetrennt und das verwendete Substrat aufbereitet und wiederverwertet werden.

8. Wasserstoffproduktion im zellfreien System

Im Gegensatz zum zellulären System kann im zellfreien System die Wasserstoffproduktion direkt an der Hydrogenase katalysiert werden (Abb. 6), ohne den zumeist die Reaktion hemmenden Einfluss der verschiedenen an der Gesamtreaktion der Zelle beteiligten Stoffwechselwege. So besitzt das Enzym, unabhängig von lebenden Zellstrukturen unter optimierter Versorgung mit Elektronen und Protonen in einem artifiziellen System das beste Nutzungspotential. Hierzu muss allerdings das aktive Enzym in großen Mengen aufgereinigt zur Verfügung stehen.

Im Moment ist es noch schwierig, die Hydrogenase in größeren Mengen direkt aus Grünalgen zu separieren. Aber verstärkte, sowie erfolgreiche Forschungsschwerpunkte liegen auf der Etablierung einer heterologen Expression der Grünalgen-Hydrogenasen. Eine heterologe Expression eines Enzyms bedeutet die Synthese dieses Enzyms in einem anderen Wirt, wie z.B. in einem bestimmten Bakterium. Eine erfolgreiche Etablierung der heterologen Expression der Hydrogenase ermöglicht eine umgehende Herstellung des gewünschten Enzyms in größeren Mengen, was Strukturanalysen, elektrophysische Studien und die Aufklärung des genauen Katalysemechanismus ermöglicht. Auch der Grundstein zur Nutzung der hoch aktiven Hydrogenase zur photobiotechnologischen Wasserstoffproduktion in einem zellfreien System ist damit gegeben.

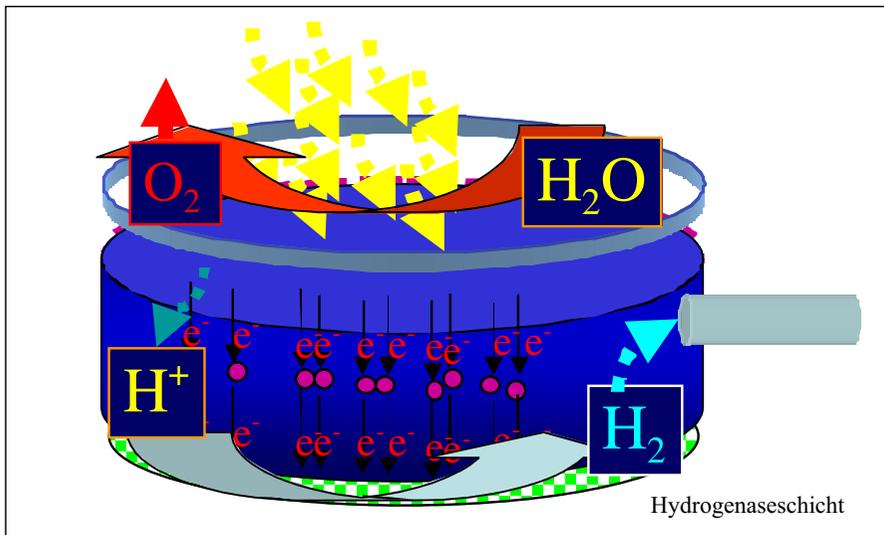


Abb. 6: Verfahrensschaubild zur photobiologischen Wasserstoffproduktion im zellfreien System

Das aufgereinigte Enzym könnte integriert in bioanalogen Membranen in verschiedenen artifiziellen oder semi-artifiziellen nanobiotechnologischen Systemen zur Wasserstoffproduktion Verwendung finden, deren Vor- und Nachteile durch eingehendere Untersuchungen noch auszuloten sind. Weitergehend können molekulare Einheiten entwickelt werden, mit denen sich Wasserstoff effizient, umweltschonend und kostengünstig mit minimaler Ausstattung produzieren lässt. Die Energie für die modularen „Units“ kommt dabei aus dem Sonnenlicht. Der Wasserstoff dieser Biokatalysatoren soll für mobile Brennstoffzellen genutzt werden, die Strom vor allem für transportable Geräte erzeugen. Mögliche Anwendungsfelder für derartige Stromerzeugereinheiten wären z.B. Ladegeräte für Akkumulatoren von Mobiltelefonen, Laptops oder „Mobile Office“-Systemen.

Wie bereits erwähnt kann 1 Molekül Hydrogenase 5.000 Moleküle Wasserstoff pro Sekunde umsetzen, was auf ein beeindruckendes Potential zur biotechnologischen Nutzung dieses Enzyms schließen lässt. Um das Potential zu verdeutlichen: 1 mol Enzym produziert genug Wasserstoff, um ein Luftschiff in 10 Sekunden oder das Space Shuttle in 2 Stunden mit Wasserstoff zu befüllen.

9. Zusammenfassung und Ausblick

Im zellulären System mit einzelligen Grünalgen als Wasserstoffproduzenten können schon jetzt große Mengen an Wasserstoff CO₂-neutral produziert werden. Verschiedene Versuche

des Scale-Up waren bereits erfolgreich (von 1 auf 10 Liter), weitere werden getestet. Durch die Etablierung des Systems der Selbstentschwefelung konnte eine große Hürde für die Anwendung des Schwefelmangelsystems bei großen Kulturvolumina überwunden werden. Die Umsetzung der kontinuierlichen Wasserstoffproduktion ermöglicht eine nahezu konstant hohe Wasserstoffproduktion. Grundlegende Parameterstudien bzgl. der Betriebsgrößen, wie z.B. der Beleuchtung, ermöglichen die Auslegung von Reaktormodulen für die photobiologische Wasserstoffproduktion. Die Verwertung der Grünalgen in Form von Biomasse wird vor allem mit zunehmendem Kulturvolumen immer bedeutender.

Das zellfreie System bietet aufgrund der enorm hohen Enzymaktivität erhebliches Potential für die biotechnologische Nutzung. Das System befindet sich aber im Moment noch im Rahmen der Grundlagenforschung.

Mit Hilfe von gentechnisch veränderten Organismen bzw. anderen Spezies könnte die Wasserstoffausbeute im zellulären, wie auch im zellfreien System noch deutlich gesteigert werden.

Literatur

- Florin L, Tsokoglou A, Happe T (2001) A novel type of iron hydrogenase in the green alga *Scenedesmus obliquus* is linked to the photosynthetic electron transport chain. *J Biol Chem* 276: 6125-6132
- Forestier M, King P, Zhang L, Posewitz M, Schwarzer S, Happe T, Ghirardi ML, Seibert M (2003) Expression of two [Fe]-Hydrogenases in *Chlamydomonas reinhardtii* under anaerobic conditions. *Eur J Biochem* 270: 2750-2758
- Gaffron H. (1939) Reduction of CO₂ with molecular hydrogen in green algae. *Nature* 143: 204-205
- Melis A., Zhang L., Forestier M., Ghirardi M.L. und Seibert M. (2000) Sustained photobiological hydrogen gas production upon reversible inactivation of oxygen evolution in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 122: 127-135
- Melis A, Happe T (2001) Hydrogen Production. Green algae as a source of energy. *Plant Physiol* 179: 740-748
- Melis A, Happe T (2003) Trails of green alga H₂-production research. *Photosyn Res*, in press
- Happe T. und Naber J.D. (1993) Isolation, characterization and N-terminal amino acid sequence of hydrogenase from the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eur. J. Biochem.* 21: 475-481
- Happe T., Mosler B. und Naber J.D. (1994) Induction, localization and metal content of hydrogenase in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eur. J. Biochem.* 22: 769-775
- Happe T., Schütz K. und Böhme H. (2000) Transcriptional and mutational analysis of the uptake hydrogenase of the filamentous cyanobacterium *Anabaena variabilis* ATCC 29413. *J. Bacteriol.* 182: 1624-1631
- Happe T, Kaminski A (2002) Differential regulation of the [Fe]-hydrogenase during anaerobic adaptation in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eur J Biochem* 269: 1022-1032
- Happe T, Winkler M, Hemschemeier A, Kaminski A (2002) Hydrogenases in green algae: Do they save the algae's life and solve our energy problems? *Trends Plant Sci* 7: 246-250
- Horner D, Heil B, Happe T, Embley M (2002) Iron hydrogenases, ancient enzymes in modern eukaryotes. *Trends Biochem Sci* 27: 148-153
- Happe, T, Hemschemeier A (2002) Grünalgen geben Gas - Photobiologische Wasserstoffproduktion durch Mikroorganismen. *H₂-Tec* 10: 12-16

- Winkler M, Heil B, Heil B, Happe T (2002a) Isolation and molecular characterization of the [Fe]-hydrogenase from the unicellular green alga *Chlorella fusca*. *Biochim Biophys Acta* 1576: 330-334
- Winkler M, Hemschemeier A, Gotor C, Melis A, Happe T (2002b) [Fe]-hydrogenases in green algae: Photo-fermentation and hydrogen evolution under sulfur deprivation. *Int J Hydrogen Energy* 27: 1431-1439
- Zhang L, Happe T, Melis A (2001) Biochemical and morphological characterization of sulfur-deprived and H₂-producing *Chlamydomonas reinhardtii* (green alga). *Planta* 214: 552-561