

# Analyse des Metatranskriptoms in Biogasanlagen



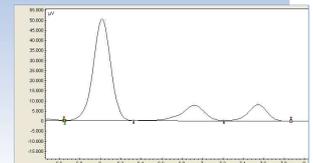
Lucy Stark & Röbbbe Wünschiers

In Kooperation mit der NAWARO BioEnergie AG, Leipzig

## Motivation

Bei der Bildung von Biogas sind eine Vielzahl an Bakterien beteiligt. Das Zusammenspiel der einzelnen Spezies innerhalb der Population ist störanfällig, da etliche der Mikroorganismen nur in einem engen thermodynamischen Fenster existieren können<sup>9</sup>. Störungen im Betrieb sind prinzipiell messtechnisch z.B. über das Fettsäurespektrum, den FOS/TAC oder die Gaszusammensetzung erfassbar<sup>1</sup>. Einen nahenden Prozesszusammensturz mit diesen Mitteln hervorzusagen bleibt jedoch schwierig<sup>9</sup>, da eine Veränderung der chemischen Parameter immer eine Folge von Störungen in der Mikrobiologie darstellt<sup>7</sup>.

Aus diesem Grund wird aktuell versucht über molekularbiologische Ansätze eine verbesserte Vorhersage des Prozesses zu ermöglichen<sup>8,3</sup>. Jedoch gab es bislang keinen Durchbruch in der Korrelation biologischer Daten mit dem Fermenterzustand<sup>5</sup>. Eine Betrachtung des biochemischen Hintergrundes soll einen tieferen Einblick in die Fermentation von nachwachsenden Rohstoffen liefern. Es sollen Schlüsselenzyme gefunden werden, die den Zustand des Systems zuverlässig vorhersagen und eine schnelle Reaktion des Betreibers auf Missstände innerhalb der Mikrobiologie ermöglichen.

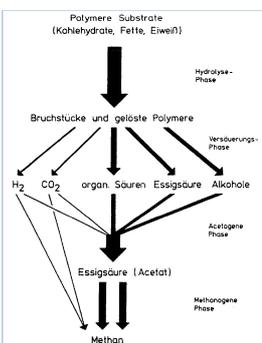


Chromatogramm eines Fettsäurespektrums



Mikroskopische Aufnahmen verschiedener methanogener Archaeen<sup>2</sup>

## Methodik



Um den metabolischen Ist-Zustand zur erfassen, ist deshalb die Analyse aller exprimierten Transkripte, das sogenannte Metatranskriptom, notwendig. Die bakterielle messenger RNA (mRNA) soll in Abhängigkeit der Umgebungsbedingungen einen Aufschluss über die aktiven Gene geben und damit ein Abbild über die aktiven Stoffwechselwege liefern. Dabei wird nicht nur auf die Phase der Methanbildung sondern auf die vorangehenden Phasen ein Augenmerk gelegt.

Die Proben aus den Fermentern der NAWARO BioEnergie AG werden zunächst von nicht abgebautem Pflanzenmaterial befreit. Danach erfolgt die Extraktion und Aufreinigung der Gesamt-RNA. Ist die Probe weitestgehend von allen Störstoffen (z.B. Huminsäuren) befreit, wird die rRNA entfernt, sodass die anteilmäßig in der Zelle geringer vorkommende mRNA untersucht werden kann. RNA ist generell sehr instabil und wird in stabilere komplementäre DNA (cDNA) mit Hilfe von Enzymen, den Reversen Transkriptasen, umgeschrieben.

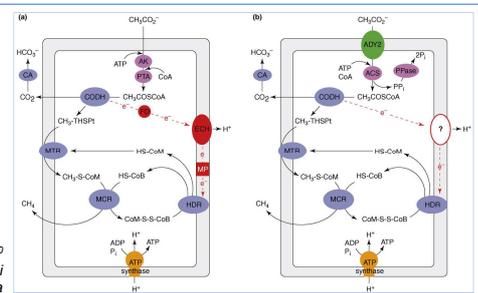
Nach der Sequenzierung der mRNA-Transkripte wird mit bioinformatischen Methoden auf die exprimierten Enzyme geschlossen. Diese Daten sollen weiterführend mit diversen chemischen und verfahrenstechnischen Parametern, die zeitgleich erfasst werden, korreliert.

Abbau organischer Substrate zu Biogas<sup>3</sup>

## Ziel des Projektes

Mithilfe der Studie zum Metatranskriptom in Biogasanlagen können die mikrobiellen Wechselwirkungen besser verstanden werden. Es sollen Engpässe im mikrobiellen Stoffwechsel erkennbar werden, um diese schnell durch geeignete Maßnahmen wie z.B. der Substratsteuerung, der Zugabe von Vitaminen, Spurenelementen oder gezielt ausgewählter Mikroorganismen zu beheben. Mithilfe einer optimierten Lenkung des Prozesses soll der Betrieb von Biogasanlagen vorhersagbarer werden und eine effizientere Ausnutzung der eingesetzten Rohstoffe ermöglichen.

Vorgeschlagener Stoffwechselweg für acetoclastische Methanbildende Archaeen<sup>10</sup>  
a) für *Methanosarcina mazei*  
b) für *Methanosaeta thermophilla*



## Literatur

- Ahring, B. K.; Sandberg, M.; Angelidaki, I. (1995): Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. In: *Appl Microbiol Biotechnol* 43 (3), S. 559–565.
- Bauer, C.; Leubhn, M.; Gronauer, A.: Mikrobiologische Prozesse in landwirtschaftlichen Biogasanlagen. LfL-Schriftenreihe Band 12/2009. Hg. v. Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL).
- Bischofsberger, W.; Dichtl, N.; Rosenwinkel, K.-H.; Seyfried, C. F. (Hg.) (2003): Anaerobtechnik. Handbuch der anaeroben Behandlung von Abwasser und Schlamm. 2. Aufl. Berlin: Springer.
- Gantner, Stephan; Andersson, Anders F.; Alonso-Sáez, Laura; Bertilsson, Stefan (2011): Novel primers for 16S rRNA-based archaeal community analyses in environmental samples. In: *Journal of Microbiological Methods* 84 (1), S. 12–18.
- Helmholtz Zentrum für Umweltforschung (UFZ); Deutsches BiomasseForschungszentrum (DBFZ) (Hg.) (2011): 1st International Conference on Biogas Microbiology. Abstract Book. Leipzig, 14. - 16.09. 1 Band. 1. Aufl.
- Illmer, P.; Schwarzenauer, T.; Malin, C.; Wagner, A.O; Miller, L.M; Gstraunthaler, G. (2009): Process parameters within a 750,000litre anaerobic digester during a year of disturbed fermenter performance. In: *Waste Management* 29 (6), S. 1838–1843.
- Krakat, N.; Schmidt, S.; Scherer, P. (2010): Mesophilic Fermentation of Renewable Biomass: Does Hydraulic Retention Time Regulate Methanogen Diversity? In: *Applied and Environmental Microbiology* 76 (18), S. 6322–6326.
- Nelson, Michael C.; Morrison, Mark; Yu, Zhongtang (2011): A meta-analysis of the microbial diversity observed in anaerobic digestors. In: *Bioresour Technol* 102 (4), S. 3730–3739.
- Schink, B. (2011): Energetic Limitations in Methane Production from Biogas. In: Helmholtz Zentrum für Umweltforschung (UFZ) und Deutsches BiomasseForschungszentrum (DBFZ) (Hg.): 1st International Conference on Biogas Microbiology. Abstract Book. Leipzig, 14. - 16.09. 1 Band. 1. Aufl., S. 14.
- Smith, Kerry S.; Ingram-Smith, Cheryl (2007): Methanosaeta, the forgotten methanogen? In: *Trends Microbiol* 15 (4), S. 150–155.