

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
16. Juli 2009 (16.07.2009)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2009/086811 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
C12P 5/00 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2008/075016

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. Dezember 2008 (23.12.2008)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2008 003 805.9 10. Januar 2008 (10.01.2008) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **Schmack Biogas AG** [DE/DE]; Am Bayernwerk 8,
92421 Schwandorf (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **REUTER, Monika**
[DE/DE]; Carl-Orff-Straße 32, 84503 Altötting (DE).
DUCHOW, Vera [DE/DE]; Fröbelstraße 17, 92421
Schwandorf (DE). **VATER, Daniel** [DE/DE]; Bautzener
Straße 57, 02953 Bad Muskau (DE).

(74) Anwalt: **ZIPSE HABERSACK KRITZENBERGER**;
Hermann-Köhl-Str. 2a, 93049 Regensburg (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ,
LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK,
MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM,
ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,
TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu
beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii)

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts
— mit dem Sequenzprotokollteil der Beschreibung in elektro-
nischer Form getrennt veröffentlicht; auf Antrag vom In-
ternationalen Büro erhältlich

(54) Title: PAENIBACILLUS MACERANS FOR THE GENERATION OF BIOGAS

(54) Bezeichnung: PAENIBACILLUS MACERANS ZUR ERZEUGUNG VON BIOGAS

(57) Abstract: A method is disclosed for generating biogas from biomass in a fermentation reactor, wherein the biomass is treated with a microorganism of the type Paenibacillus macerans.

(57) Zusammenfassung: Beschrieben wird ein Verfahren zur Erzeugung von Biogas aus Biomasse in einem Fermentierungsreaktor, wobei der Biomasse ein Mikroorganismus der Art Paenibacillus macerans zugesetzt wird.



WO 2009/086811 A2

***Paenibacillus macerans* zur Erzeugung von Biogas**

5

Technisches Gebiet

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Erzeugung von Biogas aus Biomasse unter Verwendung eines Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans*.

10

Stand der Technik

15 Biogasanlagen erzeugen Methan durch einen mikrobiellen Abbauprozess von organischen Substanzen. Das Biogas entsteht dabei in einem mehrstufigen Prozess der Vergärung oder Faulung durch die Aktivität von anaeroben Mikroorganismen, d.h. unter Ausschluss von Luft.

20 Das als Gärsubstrat verwendete organische Material besitzt aus chemischer Sicht einen hochmolekularen Aufbau, der in den einzelnen Verfahrensschritten einer Biogasanlage durch Stoffwechseltätigkeit der Mikroorganismen zu niedermolekularen Bausteinen abgebaut wird. Die bei der Fermentierung des organischen Gärsubstrats aktiven Populationen von Mikroorganismen sind bislang
25 aber nur unzureichend charakterisiert.

Nach heutigem Kenntnisstand können vier nacheinander, aber auch parallel ablaufende und ineinander greifende biochemische Einzelprozesse unterschieden werden, die den Abbau von organischen Gärsubstraten zu den Endprodukten
30 Methan und Kohlendioxid ermöglichen: Hydrolyse, Acidogenese, Acetogenese und Methanogenese.

In der Hydrolyse werden hochmolekulare, oft partikulär vorliegende, organische Verbindungen durch Exoenzyme (z.B. Cellulasen, Amylasen, Proteasen, Lipasen)

fermentativer Bakterien in lösliche Spaltprodukte überführt. Dabei werden beispielsweise Fette in Fettsäuren, Kohlenhydrate, wie z.B. Polysaccharide, in Oligo- und Monosaccharide sowie Proteine in Oligopeptide beziehungsweise Aminosäuren zerlegt. Die daneben gebildeten gasförmigen Produkte bestehen
5 überwiegend aus Kohlendioxid.

Fakultativ und obligat anaerob lebende Bakterien, oftmals identisch mit den hydrolysierenden Bakterien, verstoffwechseln in der Acidogenese die Hydrolyseprodukte (z.B. Mono-, Disaccharide, Di-, Oligopeptide, Aminosäuren,
10 Glycerin, langkettige Fettsäuren) intrazellulär zu kurzkettigen Fett- oder Carbonsäuren, wie beispielsweise Butter-, Propion- und Essigsäure, zu kurzkettigen Alkoholen wie zum Beispiel Ethanol und zu den gasförmigen Produkten Wasserstoff und Kohlendioxid.

15 In der sich anschließenden Acetogenese werden die in der Acidogenese gebildeten kurzkettigen Fett- und Carbonsäuren sowie die kurzkettigen Alkohole von acetogenen Bakterien aufgenommen und nach β -Oxidation als Essigsäure wieder ausgeschieden. Nebenprodukte der Acetogenese sind CO_2 und molekularer Wasserstoff (H_2).

20

Die Produkte der Acetogenese wie Essigsäure aber auch andere Substrate wie Methanol und Formiat werden durch Methan-bildende Organismen in der obligat anaerob verlaufenden Methanogenese zu Methan und CO_2 umgesetzt. Das hier entstehende CO_2 und auch das während der übrigen Prozessschritte, wie z.B. der
25 Hydrolyse, gebildete CO_2 kann wiederum durch Mikroorganismen mit dem angefallenen H_2 ebenfalls zu Methan umgesetzt werden.

Die Erhöhung der Ausbeute an Endprodukten aus einer gegebenen Menge an Edukten stellt wie bei jeder chemischen Umsetzung auch im Fall der Herstellung
30 von Biogas ein vordringliches Ziel der Prozessführung dar. Für die Erzeugung von Biogas aus Biomasse bedeutet dies, dass aus einer gegebenen Menge an organischem Gärsubstrat eine möglichst große Menge an Methan gebildet werden soll.

Daneben soll eine möglichst hohe Raumbelastung der Fermenter erreicht werden. Unter der Raumbelastung eines Fermenters versteht man die Menge an dem Fermenter zugeführten Substrat, die in Kilogramm organischer Trockensubstanz pro Kubikmeter Fermentervolumen und pro Tag angegeben wird. Die Menge an erzeugtem Biogas hängt stark von der Raumbelastung des Fermenters ab, wobei mit steigender Raumbelastung eine zunehmend größere Menge an Biogas erzeugt wird. Eine hohe Raumbelastung macht den Prozess der Biogaserzeugung also zunehmend ökonomisch rentabler, führt andererseits aber zu einer zunehmenden Destabilisierung der biologischen Prozesse der Fermentierung.

Es besteht daher weiterhin ein Bedarf an Verfahren zur Erzeugung von Biogas, die eine gegenüber dem Stand der Technik erhöhte Raumbelastung ermöglichen.

Darstellung der Erfindung

Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, ein Verfahren zur Erzeugung von Biogas bereitzustellen, das eine gegenüber dem Stand der Technik erhöhte Raumbelastung des Fermentierungsreaktors ermöglicht.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch das Verfahren zur Erzeugung von Biogas gemäß Anspruch 1 gelöst. Weitere vorteilhafte Details, Aspekte und Ausgestaltungen der vorliegenden Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen, der Beschreibung und den Beispielen.

Die vorliegende Erfindung stellt ein Verfahren zur Erzeugung von Biogas aus Biomasse in einem Fermentierungsreaktor zur Verfügung. Der Biomasse wird ein Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zugesetzt.

Überraschenderweise hat sich gezeigt, dass durch die Zugabe von Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* zum Gärsubstrat sowohl die Raumbelastung des Fermenters gesteigert werden kann als auch die Menge an gebildetem Biogas deutlich erhöht wird. Wie in experimentellen Untersuchungen

gezeigt werden konnte, bewirkt die Zugabe eines Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* eine Steigerung der Raumbelastung eines Fermenters um mehr als 50%, ohne dass eine Instabilität des Fermentationsprozesses eintreten würde. Parallel zu der erhöhten Raumbelastung wird die Menge an gebildetem Biogas mehr als verdoppelt. Zudem steigt die spezifische Ausbeute an Biogas an, da deutlich mehr der organischen Trockensubstanz abgebaut wird als bei fehlender Zugabe von Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans*. Durch den erhöhten Abbaugrad kann eine deutlich erhöhte spezifische Gasausbeute bei einer verbesserten Substratausnutzung erzielt werden. Durch die Zugabe von Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* kann die Verweilzeit des Gärsubstrats im Fermenter bei konstanter Gasausbeute deutlich verkürzt werden, wodurch die Erhöhung der Raumbelastung möglich wird. Der Einsatz von Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* führt daher zu einer dramatischen Verbesserung von Effizienz und Wirkungsgrad von Biogasanlagen.

15 Fermentierung im Sinne der vorliegenden Erfindung umfasst sowohl anaerobe, wie auch aerobe Stoffumwandlungen durch die Einwirkung von Mikroorganismen, die zur Erzeugung von Biogas führen. Diese Erläuterung des Begriffs „Fermentierung“ ist unter dem Stichwort „Fermentation“ im Römpp-Chemielexikon in der 9., erweiterten Auflage, erschienen im Georg Thieme Verlag auf der Seite 1306, angegeben, auf das hiermit vollinhaltlich Bezug genommen wird.

Die spezifische Ausbeute an erzeugtem Biogas berechnet sich aus der Menge an erzeugtem Biogas dividiert durch die Menge an organischer Trockensubstanz. Die Frage, ob die Erzeugung von Biogas in einem bestimmten Fermenter unter bestimmten Bedingungen in einer befriedigenden Güte abläuft, lässt sich nicht alleine anhand der Menge an erzeugtem Biogas beurteilen. Selbstverständlich hängt die Menge an erzeugtem Biogas stark von der Menge an zugeführtem Substrat ab, also von der Menge an organischer Trockensubstanz, die in Kilogramm organischer Trockensubstanz angegeben wird. Treten Instabilitäten des Fermentierungsprozesses auf, so nimmt die spezifische Gasausbeute ab. Bei erfindungsgemäßigem Zusatz von Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* kann die Raumbelastung sogar über das übliche Maß hinaus erhöht werden, wodurch eine deutlich gesteigerte Gasmenge erzeugt wird. Durch den erhöhten

Abbaugrad kann eine deutlich erhöhte spezifische Gasausbeute bei einer verbesserten Substratausnutzung erzielt werden.

5 Unter der Bezeichnung „Art von Mikroorganismen“ wird im Rahmen der vorliegenden Erfindung die entsprechende grundlegende Kategorie der biologischen Taxonomie verstanden. Arten von Mikroorganismen werden anhand ihrer DNA-Sequenzen identifiziert und unterschieden. Unter eine bestimmte Art fallen dabei nicht nur Mikroorganismen mit einer ganz bestimmten DNA-Sequenz, sondern auch bis zu einem gewissen Umfang deren genetische Varianten. Dem einschlägigen
10 Fachmann ist bekannt, welche Stämme von Mikroorganismen unter den Begriff „Art *Paenibacillus macerans*“ fallen. Im Zusammenhang mit der Herstellung von Biogas durch Fermentation organischer Substrate sind Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* nicht bekannt.

15 Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird ein Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in Form einer Kultur von Mikroorganismen zugesetzt, die überwiegend aus einem Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* besteht. In Gärsubstraten von Biogasanlagen konnten Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* nur in geringsten Spuren von
20 weniger als $10^{-4}\%$ Anteil an der gesamten Anzahl von anwesenden Mikroorganismen nachgewiesen werden. Da für die Zugabe der Mikroorganismen die Menge an aus ihrem natürlichen Vorkommen isolierten Mikroorganismen nicht ausreicht, wird üblicherweise eine Vermehrung in Form einer Kultur vorgenommen. In der Praxis zeigt sich, dass die Zugabe der Mikroorganismen zu dem Gärsubstrat
25 eines Fermenters am einfachsten direkt in Form einer Kultur von Mikroorganismen vorgenommen wird.

Die Zugabe der Kultur von *Paenibacillus macerans* kann in Form einer Kultursuspension, in Form trockener, gefriergetrockneter oder feuchter Zellpellets
30 oder auch in Form von Sporensuspensionen, Sporenpräparaten oder trockener, gefriergetrockneter oder feuchter Sporenpellets vorgenommen werden.

Da die bereits angesprochenen verschiedenen positiven Effekte auf den Gärprozess mit der Mikroorganismenart *Paenibacillus macerans* verbunden sind, sollte diese Art

von Mikroorganismen in der zugegebenen Kultur in einer das natürliche Vorkommen übersteigenden Menge anwesend sein. Selbstverständlich können Mischkulturen in beliebiger Zusammensetzung für die Zugabe verwendet werden. Voraussetzung ist lediglich, dass die Art *Paenibacillus macerans* in einer gegenüber dem natürlichen

5 Vorkommen angereicherten Menge anwesend ist.

Die Bestimmung der Anteile verschiedener Arten von Mikroorganismen in Mischkulturen stellt für den Fachmann kein Problem dar. So kann beispielsweise mit Hilfe von Fluoreszenz-markierten Oligosonden spezifisch der Anteil von

10 Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* in einer Mischung identifiziert werden. Wie bereits erwähnt, werden Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* bevorzugt in Form von Kulturen von Mikroorganismen dem Gärsubstrat zugesetzt, wobei die Kulturen von Mikroorganismen überwiegend aus Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* bestehen. Wird neben der

15 Bestimmung der Anzahl an Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* auch die Gesamtzahl an Mikroorganismen bestimmt, so kann der Anteil an Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* in der Kultur in Prozent angegeben werden. Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* sind in einer Mischkultur dann die überwiegend anwesende Art von Mikroorganismen, wenn sie

20 den höchsten prozentualen Anteil der verschiedenen in der Mischkultur anwesenden Arten von Mikroorganismen aufweisen.

Gemäß bevorzugten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung macht der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest $10^{-4}\%$ der Gesamtzahl an in

25 der zu dem Gärsubstrat zugegebenen Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus. Besonders bevorzugt macht der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest $10^{-2}\%$ der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus und insbesondere bevorzugt macht der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 1% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen

30 Mikroorganismen aus.

Gemäß weiteren bevorzugten Ausführungsformen macht der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 10% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus, besonders bevorzugt macht der

Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 50% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus und insbesondere bevorzugt macht der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 90% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus.

5

Gemäß einer ganz besonders bevorzugten Ausführungsformen wird eine Reinkultur eines Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zugesetzt. Die Reinkultur eines Mikroorganismus umfasst die Nachkommenschaft einer einzelnen Zelle, die durch einen mehrschrittigen Prozess aus einem Gemisch verschiedener Mikroorganismen isoliert wird. Dieser mehrschrittige Mechanismus beginnt mit der Abtrennung einer einzelnen Zelle aus einer Zellpopulation und erfordert, dass auch die aus der Zelle durch Wachstum und Zellteilung hervorgehende Kolonie von anderen Einzelzellen oder Kolonien getrennt bleibt. Durch eine sorgfältige Abtrennung einer Kolonie, erneutes Suspendieren in Flüssigkeit und wiederholtes Ausstreichen können gezielt Reinkulturen von Mikroorganismen gewonnen werden.

Die Isolierung einer Reinkultur kann jedoch auch in flüssigen Nährmedien erfolgen, sofern der gewünschte Organismus im Ausgangsmaterial zahlenmäßig überwiegt. Durch serienmäßige Verdünnung der Suspension in der Nährlösung lässt es sich schließlich erreichen, dass sich in der letzten Verdünnungsstufe nur noch eine Zelle befindet. Diese Zelle stellt dann die Basis für eine Reinkultur dar. Diese Erläuterung des Begriffs „Reinkultur“ und mögliche Verfahren zur Erzeugung dieser Reinkultur sind unter dem Stichwort „Reinkultur“ im Werk „Allgemeine Mikrobiologie“ von Hans G. Schlegel in der 7. überarbeiteten Auflage von 1992, erschienen im Georg Thieme Verlag auf der Seite 205 aufgeführt, auf das hiermit vollinhaltlich Bezug genommen wird.

Die so erhaltene Reinkultur ist darüber hinaus auch biochemisch durch spezifische Stoffwechselprozesse und -aktivitäten, sowie durch spezielle Wachstumsbedingungen gekennzeichnet. Aufgrund der spezifischen Stoffwechselprozesse und -aktivitäten kann die Zugabe einer Reinkultur eines fermentativen Mikroorganismus in besonderem Maße zu einer verbesserten Kontrolle des komplexen Biogaserzeugungsprozesses beitragen.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird ein Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* als Bestandteil zumindest einer immobilisierten Kultur von Mikroorganismen zugesetzt. Da für die Zugabe der Mikroorganismen die Menge an aus ihrem natürlichen Vorkommen isolierten Mikroorganismen nicht ausreicht, wird üblicherweise eine Vermehrung in Form einer Kultur vorgenommen. In der Praxis zeigt sich, dass die Zugabe der Mikroorganismen zu dem Gärsubstrat eines Fermenters am einfachsten in Form einer immobilisierten Kultur von Mikroorganismen vorgenommen wird.

- 5
10
15
- Da die bereits angesprochenen verschiedenen positiven Effekte auf den Gärprozess mit der Mikroorganismenart *Paenibacillus macerans* verbunden sind, sollte diese Art von Mikroorganismen in der zugegebenen immobilisierten Kultur in einer im Vergleich zum natürlichen Vorkommen angereicherten Menge anwesend sein. Selbstverständlich können immobilisierte Mischkulturen in beliebiger Zusammensetzung für die Zugabe verwendet werden. Voraussetzung ist lediglich, dass Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* in einer Menge enthalten sind, die deren natürliches Vorkommen übersteigt.

- 20
25
- Gemäß bevorzugten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung macht der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest $10^{-4}\%$ der Gesamtzahl an in der zu dem Gärsubstrat zugegebenen immobilisierten Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus. Besonders bevorzugt macht der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest $10^{-2}\%$ der Gesamtzahl an in der immobilisierten Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus und insbesondere bevorzugt macht der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest 1% der Gesamtzahl an in der immobilisierten Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus.

- 30
- Gemäß weiteren bevorzugten Ausführungsformen macht der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest 10% der Gesamtzahl an in der immobilisierten Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus, besonders bevorzugt macht der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest 50% der Gesamtzahl an in der immobilisierten Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus und insbesondere bevorzugt macht der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus*

macerans zumindest 90% der Gesamtzahl an in der immobilisierten Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus.

Gemäß einer ganz besonders bevorzugten Ausführungsformen wird zumindest eine
5 immobilisierte Reinkultur eines Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zugesetzt.

Als Trägermaterialien, auf denen der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* immobilisiert wird, können natürliche oder synthetische Polymere eingesetzt
10 werden. Bevorzugt werden gelbildende Polymere verwendet. Diese haben den Vorteil, dass Bakterien innerhalb der Gelstruktur aufgenommen bzw. eingelagert werden können. Bevorzugt werden solche Materialien eingesetzt, die sich in Wasser langsam auflösen bzw. abgebaut werden, so dass die Freisetzung des Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* über einen längeren Zeitraum hinweg
15 erfolgt.

Beispiele für geeignete Polymere sind Polyanillin, Polypyrrol, Polyvinylpyrrolidon, Polystyrol, Polyvinylchlorid, Polyvinylalkohol, Polyethylen, Polypropylen, Epoxidharze, Polyethylenimine, Polysaccharide wie Agarose, Alginat oder Cellulose,
20 Ethylcellulose, Methylcellulose, Carboxymethylethylcellulose, Celluloseacetate, Alkali-Cellulosesulfat, Copolymere aus Polystyrol und Maleinsäureanhydrid, Copolymere aus Styrol und Methylmethacrylat, Polystyrolsulfonat, Polyacrylate und Polymethacrylate, Polycarbonate, Polyester, Silikone, Cellulosephthalat, Proteine wie Gelatine, Gummi arabicum, Albumin oder Fibrinogen, Gemische aus Gelatine
25 und Wasserglas, Gelatine und Polyphosphat, Gelatine und Copolymere aus Maleinsäureanhydrid und Methylvinylether, Celluloseacetatbutyrat, Chitosan, Polydialkyldimethylammonium-chlorid, Mischungen aus Polyacrylsäuren und Polydiallyldimethylammoniumchlorid sowie deren Gemische. Das Polymermaterial kann auch mit Hilfe üblicher Vernetzer wie Glutaraldehyd,
30 Harnstoff/Formaldehydharzen oder Taninverbindungen vernetzt werden.

Alginate als Immobilisate erweisen sich als besonders vorteilhaft, da sie zum einen keinen negativen Einfluss auf die Aktivität des Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* nehmen und da sie zum anderen durch Mikroorganismen langsam

abgebaut werden. Durch den langsamen Abbau der Alginat-Immobilisate werden nach und nach die eingeschlossenen Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* freigesetzt.

- 5 Für die Immobilisation werden die Mikroorganismen mit einem Polymergel vermengt und dann in einer geeigneten Härterlösung gehärtet. Dazu werden sie zunächst mit einer Gellösung vermischt und anschließend in eine Härterlösung aus geeigneter Höhe getropft. Die genauen Vorgehensweisen zur Immobilisation sind dem Fachmann bekannt.

10

- Gemäß einer weiteren Ausführungsform wird zeitnah zur Zugabe eines Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zusätzliche Biomasse in den Fermentierungsreaktor gegeben. Dabei bezieht sich „zeitnah“ auf die Zeitspanne, die zwischen einer sich an die Zugabe der Mikroorganismen anschließende Zugabe von neuem Substrat vergeht. Diese Zeitspanne soll möglichst kurz gehalten werden, weshalb der Begriff „zeitnah“ auch eine parallele Zugabe des Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* und des neuen Substrats umfasst.
- 15

- Die genannte Zeitspanne kann sich jedoch auch auf mehrere Stunden bis hin zu einem oder mehreren Tagen ausdehnen. Dabei kann die Raumbelastung im Fermentationsreaktor durch kontinuierliche Zugabe von neuem Substrat kontinuierlich gesteigert oder in etwa konstant gehalten werden, wobei die Fermentierung bei allen Raumbelastungen, bevorzugt bei einer Raumbelastung von ≥ 0.5 kg organischer Trockensubstanz pro m^3 und Tag [$\text{kg oTS}/\text{m}^3\text{d}$], weiter bevorzugt bei einer Raumbelastung von ≥ 4.0 $\text{kg oTS}/\text{m}^3\text{d}$ und besonders bevorzugt bei einer Raumbelastung von ≥ 8.0 $\text{kg oTS}/\text{m}^3\text{d}$ durchgeführt werden kann, was im Vergleich zum gegenwärtigen Stand der Technik einer Erhöhung der Raumbelastung um mehr als das Doppelte entspricht.
- 20
- 25

- 30 Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird daher die Raumbelastung im Fermentierungsreaktor durch kontinuierliche Zugabe von Biomasse kontinuierlich gesteigert. Besonders bevorzugt erfolgt die Erzeugung von Biogas aus Biomasse bei einer Raumbelastung von ≥ 0.5 $\text{kg oTS}/\text{m}^3\text{d}$,

insbesondere bevorzugt $\geq 4,0 \text{ kg oTS/m}^3\text{d}$ und ganz besonders bevorzugt $\geq 8,0 \text{ kg oTS/m}^3\text{d}$.

Das verwendete Gärsubstrat kann insbesondere auch einen hohen Anteil an festen Bestandteilen aufweisen. Durch die Zugabe eines hydrolytisch aktiven, fermentativen Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* werden diese festen Bestandteile zumindest teilweise verflüssigt. Durch die erzielte Verflüssigung des Gärsubstrats aufgrund der Zugabe des Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* kann einem Eindicken des Fermentermaterials vorgebeugt und gezielt entgegengewirkt werden. Ein weiterer Flüssigkeitseintrag in das Gärsubstrat in Form von Wasser oder Gülle während der Fermentierung kann vermieden werden. Somit besteht ein weiterer Vorteil in der Schonung der Ressource Süßwasser. Ebenfalls von Vorteil ist der so erzielte Erhalt der Rühr- und Pumpfähigkeit des Substrats. Dadurch werden Rührwerke und Pumpen geschont und für den Rührvorgang ist deutlich weniger Energie erforderlich.

Gemäß einer weiteren Ausführungsform erfolgt die Erzeugung von Biogas aus Biomasse unter konstanter Durchmischung des Gärsubstrats. Durch die konstante Durchmischung des Gärsubstrats können die Kulturen von *Paenibacillus macerans* besser im Gärsubstrat verteilt werden. Außerdem kann das gebildete Biogas besser aus dem Fermentationsprozess abgeführt werden.

Die konstante Durchmischung des Gärsubstrats führt zudem zu einer gleichmäßigen Wärmeverteilung im Fermentationsreaktor. Messungen der Temperatur im Fermentationsreaktor, die in periodischen Abständen, aber auch kontinuierlich durchgeführt wurden, ergaben, dass das Gärsubstrat in einem Temperaturbereich von 20°C bis 80°C , bevorzugt bei etwa 40°C bis 50°C effizient fermentiert wird. Diese Temperaturbereiche werden im Rahmen der vorliegenden Erfindung daher bevorzugt. Neben der Hydrolyse erfolgt insbesondere die letzte Stufe des Fermentationsprozesses, nämlich die Bildung von Methan durch methanogene Mikroorganismen, besonders effizient bei erhöhten Temperaturen.

Bevorzugt erfolgt daher die Erzeugung von Biogas aus Biomasse bei einer Temperatur von 20°C bis 80°C und besonders bevorzugt bei einer Temperatur von 40°C bis 50°C.

- 5 Sämtliche Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung sind selbstverständlich nicht auf einstufige Verfahren zur Herstellung von Biogas beschränkt. Der Einsatz von Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* kann auch in zwei- oder mehrstufigen Verfahren erfolgen.
- 10 Gemäß einer weiteren Ausführungsform werden Gärsubstrat und ein Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* kontinuierlich zugegeben. Der kontinuierliche Betrieb eines Fermentationsreaktors soll bei einer stabilen mikrobiellen Biozönose zu einer kontinuierlichen Produktion von Biogas führen, wobei das Aussetzen der Substratzugabe zur Fermentation infolge einer
- 15 Prozessstörung vermindert werden soll.

- Ebenfalls ist die Ausführung dieses Fermentationsverfahrens und der damit zusammenhängenden Prozesse auch in einem diskontinuierlichen Betrieb, beispielsweise „Batch“-Fermentierung denkbar. So kann dem Gärsubstrat gemäß
- 20 einer weiteren Ausführungsform während der Fermentierung der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* beispielsweise in regelmäßigen Abständen zugegeben werden. Die Zugabe des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in regelmäßigen Abständen führt zu einer Steigerung der Lebendzellzahl und somit zu einem verbesserten Ablauf der fermentativen Prozesse, beispielsweise
- 25 der Hydrolyse bei einer gleichzeitig verbesserten Ausnutzung des Gärsubstrats für die Fermentierung.

- Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in einer Menge zu dem
- 30 Gärsubstrat zugegeben, so dass nach Zugabe der Anteil des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zwischen 10⁻⁸% und 50% der Gesamtzahl an in dem Gärsubstrat anwesenden Mikroorganismen ausmacht. Insbesondere in Abhängigkeit von der Fermentergröße und damit in Abhängigkeit von der Menge an

Gärsubstrat kann zur Erzielung der gewünschten Wirkung eine Zugabe von sehr stark unterschiedlichen Mengen an Mikroorganismen notwendig werden.

- Sowohl die Bestimmung der Gesamtzahl von Mikroorganismen in dem Gärsubstrat wie auch die Bestimmung der Anteile verschiedener Arten von Mikroorganismen im Gärsubstrat stellt für den Fachmann kein Problem dar. So kann beispielsweise mit Hilfe von Fluoreszenz-markierten Oligosonden spezifisch der Anteil verschiedener Mikroorganismen in dem Gärsubstrat identifiziert werden
- 10 Besonders bevorzugt wird ein Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in einer Menge zu dem Gärsubstrat zugegeben, dass nach Zugabe der Anteil des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zwischen $10^{-6}\%$ und 25% der Gesamtzahl an in dem Gärsubstrat anwesenden Mikroorganismen ausmacht. Insbesondere bevorzugt wird der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans*
- 15 in einer Menge zu dem Gärsubstrat zugegeben, dass nach Zugabe der Anteil des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zwischen $10^{-4}\%$ und 10% der Gesamtzahl an in dem Gärsubstrat anwesenden Mikroorganismen ausmacht. Ganz besonders bevorzugt wird der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in einer Menge zu dem Gärsubstrat zugegeben, dass nach Zugabe der Anteil des
- 20 Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zwischen $10^{-3}\%$ und 1% der Gesamtzahl an in dem Gärsubstrat anwesenden Mikroorganismen ausmacht.

- Es soll nochmals darauf hingewiesen werden, dass der Zusatz von Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* zu jedem beliebigen Zeitpunkt des Fermentationsprozesses erfolgen kann, insbesondere können Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* auch zum Animpfen von Gärsubstrat bei der erstmaligen Inbetriebnahme oder einer Wiederinbetriebnahme eines Fermenters verwendet werden.

- 30 Ebenso ist es möglich Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* bei Störungen des Fermentationsprozesses zur Stabilisierung der Fermentation zuzugeben. Solche Störungen können durch Überwachung bestimmter charakteristischer Parameter der Fermentierung frühzeitig erkannt werden. Charakteristische Parameter geben Auskunft über die Qualität eines ablaufenden

Fermentierungsprozesses zur Herstellung von Biogas. Solche charakteristischen Parameter sind nicht nur die Menge an erzeugtem Biogas und der Methangehalt des erzeugten Biogases sondern beispielsweise auch der Wasserstoffgehalt des erzeugten Biogases, der pH-Wert des Gärsubstrats, das Redoxpotential des Gärsubstrats, der Carbonsäuregehalt des Gärsubstrats, die Anteile verschiedener Carbonsäuren im Gärsubstrat, der Wasserstoffgehalt des Gärsubstrats, der Anteil der Trockensubstanz am Gärsubstrat, der Anteil der organischen Trockensubstanz am Gärsubstrat, die Viskosität des Gärsubstrats und die Raumbelastung des Fermentierungsreaktors.

10

Die vorliegende Erfindung umfasst auch die Verwendung eines Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse.

15 Bakterien der Art *Paenibacillus macerans* können mit Hilfe von dem Fachmann bekannten Methoden aus dem Gärsubstrat eines Fermenters isoliert werden. Dabei wird ein geeignetes Substrat aus einem Fermenter in ein Selektionsmedium eingebracht, über längere Zeit kultiviert und schließlich einzelne Kolonien von Mikroorganismen aus dem Selektionsmedium isoliert. Nach Vervielfältigung der
20 daraus erhaltenen mikrobiellen DNA mittels PCR können auf der Basis der DNA Mikroorganismen der Art *Paenibacillus macerans* ausgewählt werden.

Bakterien *Paenibacillus macerans* SBG2 wurden aus dem Gärsubstrat eines Nachgärers isoliert. Dazu wurde durch ein flüssiges Selektionsmedium Stickstoff und Kohlendioxid durchgeleitet, anschließend Na₂S zu dem Selektionsmedium
25 zugegeben und autoklaviert (20 Min. bei 121°C). Dann wurde die aus dem Nachgärer gewonnene Biomasse in das Selektionsmedium eingebracht und für zumindest eine Woche bei einer Temperatur von mindestens 30°C kultiviert. Eine aus dem flüssigen Selektionsmedium gewonnen Probe wurde auf ein festes
30 Selektionsmedium aufgebracht und nachfolgend die auf dem festen Selektionsmedium gewachsenen Kolonien von Mikroorganismen ausgewählt. Nach Vervielfältigung der erhaltenen mikrobiellen DNA mittels PCR konnte ein Vergleich mit bekannten DNA-Sequenz durchgeführt werden.

- Nachdem die Bakterien *Paenibacillus macerans* SBG2 erfolgreich aus dem Gärsubstrat des Nachgärers isoliert worden waren, wurden diese Mikroorganismen einer Sequenzanalyse unterzogen. Die DNA-Sequenz SEQ ID Nr. 1 umfasst 1476 Nukleotide. Als nächster Verwandter wurde *Paenibacillus* sp. H10-05 identifiziert.
- 5 Ein Vergleich der Sequenzen ergibt, dass insgesamt 32 Austausche von Nukleotiden oder Lücken vorliegen. Bei einer Länge der Sequenz von *Paenibacillus macerans* SBG2 von 1476 Nukleotiden errechnet sich mit Hilfe des FASTA-Algorithmus eine Übereinstimmung von 97%.
- 10 Die vorliegende Erfindung umfasst auch Mikroorganismen mit einer Nukleinsäure, die eine Nukleotidsequenz aufweist, die einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 97% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist. Besonders bevorzugt enthält die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich, der mehr als 97,1% oder mehr als 97,2% oder mehr als 97,3% oder mehr als 97,4% oder mehr als
- 15 97,5% oder mehr als 97,6% oder mehr als 97,7% oder mehr als 97,8% oder mehr als 97,9% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist und insbesondere bevorzugt enthält die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich, der mehr als 98% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 20 Gemäß weiteren bevorzugten Ausführungsformen weist der Mikroorganismus eine Nukleotidsequenz auf, die einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 98,5% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist und besonders bevorzugt enthält die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich, der mehr als 99% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 25 Gemäß einer ganz besonders bevorzugten Ausführungsform enthält die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich, der der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 entspricht.
- 30 Die vorliegende Erfindung umfasst also auch alle Mikroorganismen mit einer Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 lediglich an einer Position einen Nukleotidaustausch aufweist. Ebenso umfasst sind alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, der gegenüber der

Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 lediglich an fünf Positionen einen Nukleotidaustausch aufweist. Daneben sind alle Mikroorganismen umfasst, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 lediglich an zehn Positionen einen

5 Nukleotidaustausch aufweist.

Außerdem umfasst die vorliegende Erfindung auch alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 Nukleotidaustausche an 15 Positionen aufweist.

10 Ebenso umfasst sind alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 an 20 Positionen Nukleotidaustausche aufweist. Daneben sind alle Mikroorganismen umfasst, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 an 25 Positionen

15 Nukleotidaustausche aufweist.

Daneben umfasst die vorliegende Erfindung auch alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 Nukleotidaustausche an 30 Positionen aufweist.

20 Ebenso umfasst sind alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 an 31 Positionen Nukleotidaustausche aufweist.

Es versteht sich von selbst, dass die Austausche der Nukleotide an beliebigen

25 Position der DNA-Sequenz vorliegen können. Insbesondere können die Austausche an beliebig weit voneinander entfernten Positionen vorliegen. Sind im Vergleich zur Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 beispielsweise sechs Nukleotide ausgetauscht, so können diese sechs ausgetauschten Nukleotide benachbart zueinander vorliegen. In diesem Fall wäre ein sechs Nukleotide langes Teilstück der Nukleotidsequenz

30 SEQ ID Nr. 1 verändert. Ebenso können die sechs ausgetauschten Nukleotide aber beispielsweise jeweils 100 Nukleotide weit voneinander entfernt sein. Die Austausche können also in beliebigen Kombinationen vorliegen.

Ebenso können die genannten Austausche auch in Form von Lücken vorliegen. Die vorliegende Erfindung umfasst also auch alle Mikroorganismen mit einer Nukleinsäure, deren Nukleotidsequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, in der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 lediglich an einer Position ein

5 Nukleotid fehlt. Ebenso umfasst sind alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, in der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 lediglich an fünf Positionen Nukleotide fehlen. Daneben sind alle Mikroorganismen umfasst, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, in der gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 lediglich an zehn

10 Positionen Nukleotide fehlen.

Außerdem umfasst die vorliegende Erfindung auch alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, in dem gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 Nukleotide an 15 Positionen fehlen. Ebenso

15 umfasst sind alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, in dem im Vergleich zu der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 an 20 Positionen Nukleotide fehlen. Daneben sind alle Mikroorganismen umfasst, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, in dem gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 an 25 Positionen Nukleotide fehlen.

20 Daneben umfasst die vorliegende Erfindung auch alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen Sequenzbereich aufweist, in dem gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 Nukleotide an 30 Positionen fehlen. Ebenso umfasst sind alle Mikroorganismen, deren DNA-Sequenz zumindest einen

25 Sequenzbereich aufweist, in dem gegenüber der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 an 31 Positionen Nukleotide fehlen.

Es versteht sich von selbst, dass die Nukleotide an beliebigen Position der DNA-Sequenz fehlen können. Insbesondere können die Lücken an beliebig weit

30 voneinander entfernten Positionen vorliegen. Fehlen im Vergleich zur Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 beispielsweise sechs Nukleotide, so können diese sechs fehlenden Nukleotide in der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 benachbart zueinander vorliegen. In diesem Fall würde ein sechs Nukleotide langes Teilstück der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 fehlen. Ebenso können die sechs fehlenden

Nukleotide in der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aber beispielsweise jeweils 100 Nukleotide weit voneinander entfernt sein. Die Lücken können also in beliebigen Kombinationen vorliegen.

- 5 Die vorliegende Erfindung umfasst auch eine Kultur von Mikroorganismen geeignet zum Einsatz in einem Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse, wobei in der Kultur von Mikroorganismen ein Mikroorganismus anwesend ist, der eine Nukleotidsequenz aufweist, die einen Sequenzbereich enthält, der zumindest 97% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr.
- 10 1 aufweist, wobei der Mikroorganismus zumindest 10^{-4} % der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.

- Bevorzugt ist in der zum Einsatz in einem Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse geeigneten Kultur von Mikroorganismen ein
- 15 Mikroorganismus anwesend, der eine Nukleotidsequenz mit einem Sequenzbereich besitzt, der mehr als 97,1% oder mehr als 97,2% oder mehr als 97,3% oder mehr als 97,4% oder mehr als 97,5% oder mehr als 97,6% oder mehr als 97,7% oder mehr als 97,8% oder mehr als 97,9% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist. Insbesondere bevorzugt enthält die Nukleotidsequenz einen
- 20 Sequenzbereich, der mehr als 98% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.

- Gemäß weiteren bevorzugten Ausführungsformen ist in der zum Einsatz in einem Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse geeigneten
- 25 Kultur von Mikroorganismen ein Mikroorganismus anwesend, der eine Nukleotidsequenz mit einem Sequenzbereich besitzt, der mehr als 98,5% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist. Ganz besonders bevorzugt enthält die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich, der mehr als 99% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.

30

Gemäß einer ganz besonders bevorzugten Ausführungsform ist in der zum Einsatz in einem Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse geeigneten Kultur von Mikroorganismen ein Mikroorganismus anwesend, der eine

Nukleotidsequenz aufweist, die einen Sequenzbereich enthält, der der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 entspricht.

- 5 Gemäß weiteren bevorzugten Ausführungsformen macht der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 10⁻²%, bevorzugt zumindest 1% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen aus. Besonders bevorzugt macht der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 10%, insbesondere bevorzugt zumindest 25% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
- 10 Ganz besonders bevorzugt macht der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 50%, insbesondere zumindest 75% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
- 15 Ebenfalls bevorzugt sind Ausführungsformen, gemäß denen der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 90% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht. Besonders bevorzugt handelt es sich um eine Reinkultur von Mikroorganismen geeignet zum Einsatz in einem Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse, wobei es sich um eine
- 20 Reinkultur des Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* SBG2 wie er oben in Bezug auf seine Nukleotidsequenz charakterisiert wurde, handelt.

Besonders bevorzugt handelt es sich in den oben beschriebenen Fällen um eine immobilisierte Kultur von Mikroorganismen.

- 25 Die vorliegende Erfindung umfasst auch eine immobilisierte Kultur von Mikroorganismen geeignet zum Einsatz in einem Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse, wobei in der immobilisierten Kultur von Mikroorganismen ein Mikroorganismus anwesend ist, der eine Nukleotidsequenz
- 30 aufweist, die einen Sequenzbereich enthält, der zumindest 97% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.

Bevorzugt ist in der zum Einsatz in einem Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse geeigneten immobilisierten Kultur von Mikroorganismen

ein Mikroorganismus anwesend, der eine Nukleotidsequenz mit einem Sequenzbereich besitzt, der mehr als 97,1% oder mehr als 97,2% oder mehr als 97,3% oder mehr als 97,4% oder mehr als 97,5% oder mehr als 97,6% oder mehr als 97,7% oder mehr als 97,8% oder mehr als 97,9% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist. Insbesondere bevorzugt enthält die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich, der mehr als 98% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.

Gemäß weiteren bevorzugten Ausführungsformen ist in der zum Einsatz in einem
10 Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse geeigneten
immobilisierten Kultur von Mikroorganismen ein Mikroorganismus anwesend, der
eine Nukleotidsequenz die einen Sequenzbereich besitzt, der mehr als 98,5%
Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist. Ganz besonders
bevorzugt enthält die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich, der mehr als 99%
15 Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.

Gemäß einer ganz besonders bevorzugten Ausführungsform ist in der zum Einsatz in einem Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse geeigneten immobilisierten Kultur von Mikroorganismen ein Mikroorganismus anwesend, der eine Nukleotidsequenz aufweist, die einen Sequenzbereich enthält, der der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 entspricht.

Wege zur Ausführung der Erfindung

Bakterien der Art *Paenibacillus macerans* SBG2 wurden erfolgreich aus dem Gärsubstrat eines Nachgärers isoliert. Die Isolation der Mikroorganismen erfolgte mithilfe eines Selektionsmediums, das Carboxymethylcellulose als einzige Kohlenstoffquelle beinhaltet. Carboxymethylcellulose besitzt sehr große Ähnlichkeit mit der in Gärsubstraten von Biogasanlagen enthaltenen Cellulose und weist zudem durch die Verknüpfung der Hydroxylgruppen mit Carboxymethylgruppen (-CH₂-COOH-) eine verbesserte Löslichkeit in wässrigem Medium auf. Das zur Selektion von *Paenibacillus macerans* SBG2 eingesetzte Medium wurde mit N₂ und CO₂

begast, damit die Selektion unter anaeroben Bedingungen erfolgen konnte. Enthaltener Restsauerstoff wurde anschließend mit Hilfe von 0,5 g/l Na₂S reduziert.

Das Selektionsmedium wurde anschließend mit dem Überstand von Material aus
5 einem Nachgärer beimpft. Nach einer einwöchigen Kultivierung bei 40°C zeigten
sich bei mikroskopischer Analyse einzelne Stäbchen. Eine weitere Selektion der
Flüssigkulturen erfolgte durch den Ausstrich auf anaeroben Carboxymethylcellulose-
Platten. Das Zellmaterial der gewachsenen Kolonien diente zur Vervielfältigung der
mikrobiellen DNA mittels der Colony-PCR Methode nach einem Standard-
10 Programm. Nach der Sequenzanalyse der Kolonien erbrachte der phylogenetische
Vergleich der daraus generierten Sequenzdaten mittels BLAST-Programm (basic
local alignment search tool) der Datenbank www.ncbi.nlm.nih.gov, dass die
erhaltene Sequenz dem Organismus *Paenibacillus macerans* als nächstem
Verwandten zugeordnet werden kann.

15 Versuche mit einer Reinkultur des hydrolytisch aktiven, fermentativen
Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* SBG2 zeigten, dass der Zusatz zum stark
zähflüssigen, viskosen Carboxymethylcellulose-haltigen Selektionsmedium zu einer
sukzessiven Verflüssigung des Mediums führt.

20 Während eines Fermentationsprozesses in einem Versuchsfermenter mit einem
Volumen von 150 l unter realistischen Anlagenbedingungen wurden über einen
Zeitraum von mehreren Monaten der zeitliche Verlauf der Raumbelastung des
Fermenters in Kilogramm organischer Trockensubstanz je Kubikmeter je Tag (kg
oTS/m³d) und der zeitliche Verlauf des gesamten erzeugten Biogases in Normliter
25 (Gasvolumen bei 273,15 K und 1013 mbar) je Tag (NI/d) bestimmt. Daneben wurde
der zeitliche Verlauf der theoretischen Gasproduktion in [NI/d] berechnet.

Das Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft (KTBL) aber auch
30 die Landesanstalt für Landwirtschaft haben Richtwerte herausgegeben, die in etwa
angeben, welche Mengen an Biogas in Abhängigkeit vom eingesetzten Substrat bei
einer stabilen Fermentierung zu erwarten sind. Diese theoretischen Richtwerte
können somit die Menge an theoretisch erzeugbarem Biogas widerspiegeln.
Alternativ können auch von anderen Instituten in anderen Ländern herausgegebene

Richtwerte verwendet werden. Der zeitliche Verlauf der theoretischen Gasproduktion in [Nl/d] wurde nach solchen Richtwerten berechnet.

5 Der Fermentationsprozess lief unter ansonsten identischen Bedingungen einmal ohne die Zugabe von Mikroorganismen ab und einmal unter mehrfacher Zugabe von Mikroorganismen *Paenibacillus macerans* SBG2.

10 Ohne Zugabe von Mikroorganismen *Paenibacillus macerans* SBG2 läuft über mehrere Wochen ein kontinuierlicher und stabiler Fermentationsprozess ab, der durch einen Anstieg der Raumbelastung auf etwa 6,5 kg oTS/m³d sowie durch eine mit der Raumbelastung kontinuierliche zunehmende Bildung von Biogas gekennzeichnet ist. Wegen einer unkontrolliert hohen Säurekonzentration im Gärsubstrat wurde die Raumbelastung durch ein Aussetzen der Steigerung der Substratzufuhr ab einem bestimmten Zeitpunkt für mehrere Tage nicht weiter
15 gesteigert. Da die Säurekonzentrationen jedoch weiterhin unkontrollierbar blieben, wurde anschließend die Substratzufuhr vollständig ausgesetzt. Es zeigte sich, dass eine maximale Raumbelastung von 5,5 kg oTS/m³d erreicht werden konnte. Bei einer höheren Raumbelastung ist aufgrund des Zusammenbruchs des Fermentationsprozesses kein stabiler Betrieb mehr möglich.

20

Der oben beschriebene Fermentationsprozess wurde unter ansonsten identischen Bedingungen unter Zugabe des Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zum Gärsubstrat durchgeführt. Zugegeben wurde zunächst die Zellmasse aus 1l einer Vorkultur von *Paenibacillus macerans* SBG2, die 5 Tage bei einer Temperatur von
25 etwa 40°C inkubiert worden war. Die Zellzahl dieser Vorkultur besaß eine Zelldichte von ca. $2,0 \times 10^8$ Zellen/ml mit einem Anteil lebender Zellen von über 90%. Während die Zugabe zunächst im 1l-Maßstab zweimal wöchentlich erfolgte, wurde die Zugabemenge zu einem späteren Zeitpunkt verdoppelt, sodass zweimal wöchentlich eine Zugabe der Zellmasse aus 2l einer Vorkultur von *Paenibacillus*
30 *macerans* SBG2 erfolgte. Schließlich wurde dreimal wöchentlich Zellmasse aus 2l einer Vorkultur von *Paenibacillus macerans* SBG2 zugegeben. Zudem wurde die Inkubationsdauer der Vorkultur auf mindestens 7 Tage ausgedehnt, wodurch die Zelldichte auf durchschnittlich 1×10^9 Zellen/ml anstieg.

Durch die Zugabe der Reinkulturen von *Paenibacillus macerans* SBG2 konnte die Raumbelastung bis auf einen Maximalwert von etwa 8,5 kg oTS/m³d gesteigert werden.

- 5 Parallel zur steigenden Raumbelastung konnte eine Steigerung des Biogasertrages beobachtet werden. Dabei war eine Übereinstimmung der erzeugten Biogasmenge in Normliter/Tag [NI/d] mit der theoretischen Gasproduktion in Normliter/Tag [NI/d] zu beobachten.
- 10 Zum Zeitpunkt der ersten Zugabe einer Reinkultur von *Paenibacillus macerans* SBG2 wurde der Fermenter mit einer Raumbelastung von etwa 4.5 kg organischer Trockensubstanz/m³ und Tag betrieben. Die Raumbelastung der Anlage konnte infolge der Zugabe von *Paenibacillus macerans* SBG2 weiter gesteigert werden. Dabei blieb der prozentuale Gehalt an Trockensubstanz beziehungsweise
- 15 organischer Trockensubstanz nahezu konstant. Diese Beobachtung legt nahe, dass während der Fermentierung des Gärsubstrats keine Anhäufung von nicht-fermentierter organischer Trockensubstanz erfolgt. Die Zugabe von Reinkulturen von *Paenibacillus macerans* SBG2 trägt also zu einer kontinuierlichen Umsetzung der enthaltenen Trockenmasse im Gärsubstrat bei, welche wiederum zu einer
- 20 kontinuierlichen Fermentierung führt, indem die Anhäufung von Trockensubstanz vermindert wird.

- In Phasen, in denen die Biogasanlage bei konstanter Raumbelastung betrieben wird, ist sogar eine Abnahme der Trockensubstanz zu beobachten, was darauf
- 25 schließen lässt, dass die *Paenibacillus macerans* SBG2-Mikroorganismen mit ihrer hydrolytischen Stoffwechselaktivität nicht nur die Anhäufung von Trockensubstanz im Fermenter vermindern, sondern auch die hydrolytische Umsetzung dieser Trockensubstanz verbessern.

- 30 In dem beschriebenen Ausführungsbeispiel wurde eine Reinkultur von *Paenibacillus macerans* eingesetzt. Ebenso können aber auch Mischkulturen mit einem Anteil an *Paenibacillus macerans* verwendet werden. Insbesondere können Mischkulturen aus zwei oder drei Arten von Mikroorganismen ausgewählt aus der Gruppe

bestehend aus *Paenibacillus macerans*, *Clostridium sartagoformum* und *Clostridium sporosphaeroides* zugegeben werden.

Die Zugabe des hydrolytisch aktiven, fermentativen Mikroorganismus *Paenibacillus*
5 *macerans* SBG2 zeigt einen positiven Effekt auf die Hydrolyse organischer
Trockensubstanz. Durch die Zugabe von Mikroorganismen der Art *Paenibacillus*
macerans kann die Raumbelastung eines Fermenters unter ansonsten identischen
Bedingungen von etwa 5,5 kg oTS/m³d auf rund 8,5 kg oTS/m³d, also um mehr als
50% gesteigert werden, ohne dass sich eine Instabilität des
10 Fermentationsprozesses auch nur andeuten würde. Parallel zu der erhöhten
Raumbelastung wird die Menge an gebildetem Biogas mehr als verdoppelt. Zudem
steigt die spezifische Ausbeute an Biogas an, da deutlich mehr der organischen
Trockensubstanz abgebaut wird als bei fehlender Zugabe von Mikroorganismen der
Art *Paenibacillus macerans*. Der Einsatz von Mikroorganismen der Art *Paenibacillus*
15 *macerans* führt zu einer dramatischen Verbesserung von Effizienz und
Wirkungsgrad von Biogasanlagen.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Erzeugung von Biogas aus Biomasse in einem Fermentierungsreaktor, dadurch gekennzeichnet, dass der Biomasse ein Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zugesetzt wird.
5
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in Form einer Kultur von Mikroorganismen zugesetzt wird, wobei der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest $10^{-4}\%$ der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
10
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass in der Kultur von Mikroorganismen der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest $10^{-2}\%$ der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
15
4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass in der Kultur von Mikroorganismen der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest 1% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
20
5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass in der Kultur von Mikroorganismen der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest 10% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
25
6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass in der Kultur von Mikroorganismen der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest 50% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
30
7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass in der Kultur von Mikroorganismen der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans*

zumindest 75% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.

- 5 8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass in der Kultur von Mikroorganismen der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zumindest 90% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
- 10 9. Verfahren nach zumindest einem der Ansprüche 2 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass eine Reinkultur des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zugesetzt wird.
- 15 10. Verfahren nach zumindest einem der Ansprüche 2 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* der Biomasse als Bestandteil zumindest einer immobilisierten Kultur von Mikroorganismen zugesetzt wird.
- 20 11. Verfahren nach zumindest einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass zeitnah zur Zugabe des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zusätzliche Biomasse in den Fermentierungsreaktor gegeben wird.
- 25 12. Verfahren nach zumindest einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Raumbelastung im Fermentierungsreaktor durch kontinuierliche Zugabe von Biomasse kontinuierlich gesteigert wird.
- 30 13. Verfahren nach zumindest einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Erzeugung von Biogas aus Biomasse bei einer Raumbelastung von $\geq 0,5 \text{ kg oTS/m}^3\text{d}$, bevorzugt $\geq 4,0 \text{ kg oTS/m}^3\text{d}$, besonders bevorzugt $\geq 8,0 \text{ kg oTS/m}^3\text{d}$, durchgeführt wird.
14. Verfahren nach zumindest einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Erzeugung von Biogas aus Biomasse unter konstanter Durchmischung des Gärsubstrats erfolgt.

15. Verfahren nach zumindest einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Erzeugung von Biogas aus Biomasse bei einer Temperatur von 20°C bis 80°C, bevorzugt bei einer Temperatur von 40°C bis 50°C durchgeführt wird.
16. Verfahren nach zumindest einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Zugabe von Gärsubstrat und die Zugabe des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* kontinuierlich erfolgen.
17. Verfahren nach zumindest einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in einer Menge zu dem Gärsubstrat zugegeben wird, dass nach Zugabe der Anteil des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zwischen $10^{-8}\%$ und 50% der Gesamtzahl an in dem Gärsubstrat anwesenden Mikroorganismen ausmacht.
18. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in einer Menge zu dem Gärsubstrat zugegeben wird, dass nach Zugabe der Anteil des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zwischen $10^{-6}\%$ und 25% der Gesamtzahl an in dem Gärsubstrat anwesenden Mikroorganismen ausmacht.
19. Verfahren nach Anspruch 18, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in einer Menge zu dem Gärsubstrat zugegeben wird, dass nach Zugabe der Anteil des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zwischen $10^{-4}\%$ und 10% der Gesamtzahl an in dem Gärsubstrat anwesenden Mikroorganismen ausmacht.
20. Verfahren nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* in einer Menge zu dem Gärsubstrat zugegeben wird, dass nach Zugabe der Anteil des Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zwischen $10^{-3}\%$ und 1% der Gesamtzahl an in dem Gärsubstrat anwesenden Mikroorganismen ausmacht.

21. Verwendung eines Mikroorganismus der Art *Paenibacillus macerans* zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse.
- 5 22. Mikroorganismus mit einer Nukleinsäure, die eine Nukleotidsequenz aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 97% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 10 23. Mikroorganismus nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 97,2% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 15 24. Mikroorganismus nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 97,4% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 20 25. Mikroorganismus nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 97,5% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 25 26. Mikroorganismus nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 97,6% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 30 27. Mikroorganismus nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 97,8% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 30 28. Mikroorganismus nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 98% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.

29. Mikroorganismus nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 99% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 5 30. Mikroorganismus nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der mehr als 99,5% Sequenzidentität mit der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 aufweist.
- 10 31. Mikroorganismus nach Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, dass die Nukleotidsequenz einen Sequenzbereich enthält, der der Nukleotidsequenz SEQ ID Nr. 1 entspricht.
- 15 32. Kultur von Mikroorganismen geeignet zum Einsatz in einem Verfahren zur fermentativen Erzeugung von Biogas aus Biomasse, dadurch gekennzeichnet, dass in der Kultur von Mikroorganismen ein Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* gemäß den Ansprüchen 22 bis 31 anwesend ist, wobei der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest $10^{-4}\%$ der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
- 20 33. Kultur von Mikroorganismen nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest $10^{-2}\%$ der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
- 25 34. Kultur von Mikroorganismen nach Anspruch 33, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 1% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
- 30 35. Kultur von Mikroorganismen nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 10% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
36. Kultur von Mikroorganismen nach Anspruch 35, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 25% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.

37. Kultur von Mikroorganismen nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 50% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
- 5
38. Kultur von Mikroorganismen nach Anspruch 37, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 75% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
- 10
39. Kultur von Mikroorganismen nach Anspruch 38, dadurch gekennzeichnet, dass der Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* zumindest 90% der Gesamtzahl an in der Kultur vorhandenen Mikroorganismen ausmacht.
40. Kultur von Mikroorganismen nach Anspruch 39, dadurch gekennzeichnet, dass
- 15 es sich um eine Reinkultur des Mikroorganismus *Paenibacillus macerans* handelt.
41. Kultur von Mikroorganismen nach zumindest einem der Ansprüche 32 bis 40, dadurch gekennzeichnet, dass es sich um eine immobilisierte Kultur von
- 20 Mikroorganismen handelt.