

Biokraftstoffe – Pflanzenabfälle für den Motor

Pentosen-vergärende Hefen zur Produktion von Biokraftstoffen aus lignozellulosischer Biomasse



Prof. Dr. Eckhard Boles (Arbeitsgruppenleiter), Institut für Molekulare Biowissenschaften, Goethe-Universität Frankfurt



Dr. Christian Weber (wissenschaftlicher Mitarbeiter), Institut für Molekulare Biowissenschaften, Goethe-Universität Frankfurt

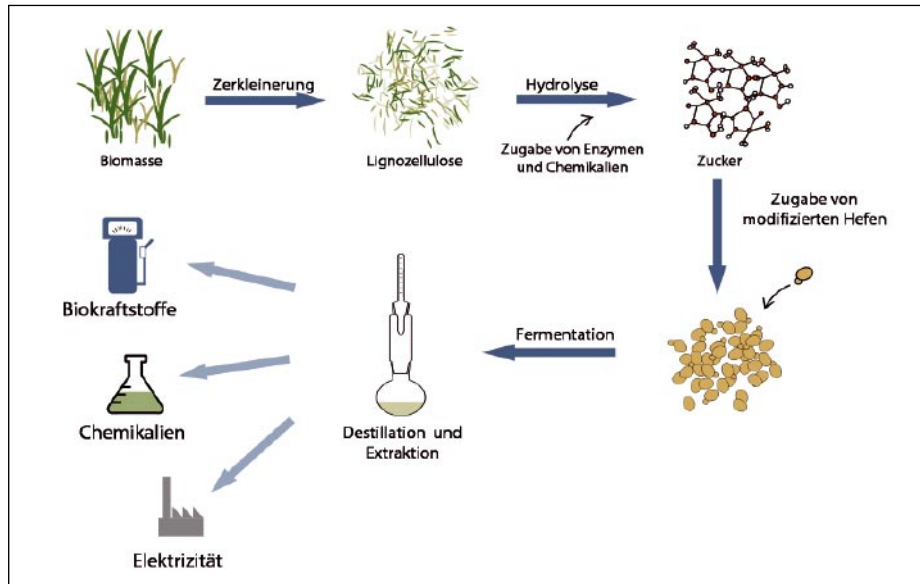


Abb. 1: Schematische Darstellung des Prozesses zur Herstellung von Kraftstoffen aus lignozellulosischer Biomasse

Keywords: Biokraftstoff, Lignozellulose, Butanol, Ethanol, Xylose, Arabinose

Biokraftstoffe aus pflanzlicher Biomasse - Biokraftstoffe der zweiten Generation - sind eine kostengünstige und umweltfreundliche Alternative zu den fossilen Kraftstoffen und stehen nicht in Konkurrenz zur Lebensmittelproduktion. Zur Verwertung der pflanzlichen Biomasse wurden in langjähriger Forschungsarbeit Hefen entwickelt, die auch die in großen Mengen in Pflanzenmaterial enthaltenen Pentosezucker zu Ethanol verstoffwechseln können. Damit gewinnt der Prozess deutlich an Wirtschaftlichkeit.

In Anbetracht des steigenden globalen Hungers nach Energie, der Verknappung fossiler Brennstoffe sowie der Auswirkung ihrer Verbrennung auf die Umwelt, gewinnen alternative Energiequellen immer mehr an Bedeutung. Für den Kraftfahrzeugsektor bieten sich hierbei insbesondere erneuerbare, flüssige Biokraftstoffe an, die durch die Vergärung von pflanzlichen Rohstoffen gewonnen werden können. Es wird prognostiziert, dass Biokraftstoffe in den nächsten 10–20 Jahren 10–15% der weltweiten Auto-Kraftstoffe ausmachen könnten.

Bereits heute wird Bioethanol mit Hilfe von Mikroorganismen - bevorzugt mit der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* - über Fermentation aus Saccharose (Zuckerrohr, Zuckerrüben) oder Stärkehaltigem Pflanzenmaterial (Getreide, Mais), welches zuvor enzymatisch in Zucker aufgespalten werden muss, gewonnen. Man spricht dabei von Biokraftstoffen der ersten Generation. Diese stehen jedoch aufgrund der begrenzten Anbauflächen in Konkurrenz zur Lebensmittelproduktion und stellen deshalb nur eine Übergangslösung dar.



Eine kostengünstige Alternative dazu sind die Biokraftstoffe der zweiten Generation, welche durch die Nutzung von pflanzlichen Reststoffen und Nebenprodukten der Lebensmittelindustrie wie Stroh, Holzresten sowie Energiepflanzen wie Miscanthus und Switchgras, gewonnen werden (Abb. 1). Da hierfür beliebige pflanzliche Biomasse für den Prozess verwendet wird, können Monokulturen vermieden und die Umwelt geschont werden. Daneben verbilligen sie die Produktionskosten.

Lignozellulose- ein Heteropolymer mit widerspenstigen Eigenschaften

Das Problem bei der Verwendung von Energiepflanzen und pflanzlichen Abfällen ist, dass die Zucker in Form von Lignozellulose vorliegen, die von vielen Ethanolproduzenten, darunter *S. cerevisiae* nicht direkt verwertet werden können. Lignozellulosen bestehen hauptsächlich aus Zellulose, Hemizellulose und Lignin (Abb. 2, Tabelle 1) und bilden zusammen die Zellwände der Pflanzen. Der wesentliche Bestandteil der Lignozellulose ist die Zellulose, welche ein Polymer aus β -1,4-glycosidisch verknüpften Glucose-Molekülen darstellt. Die Hemizellulose dagegen ist ein stark verzweigtes Heteropolymer, welches sich vornehmlich aus den Pentosen Xylose und Arabinose sowie den Hexosen Mannose, Galaktose und Glukose zusammensetzt. Sie bildet das Stützgerüst zwischen den Zellulosebündeln. Netzartig durchzogen werden diese Strukturen noch von dem nicht fermentierbaren Lignin (Holzstoff), der dem gesamten Komplex seine Festigkeit verleiht.

Um die Lignozellulose in Ethanol umsetzen zu können, muß diese zunächst durch Enzyme verzuckert, d.h. die einzelnen Polymere in ihre Zucker-Monomere zerlegt werden. Das Pflanzenmaterial muß dazu zunächst vorbehandelt werden, um die einzelnen Polymere zugänglich für die Enzyme zu machen. Dieses geschieht meist durch thermisch-mechanische (Dampfexplosion) oder chemische Verfahren. Bei einer sauren Hydrolyse werden die Pentosen bereits größtenteils freigesetzt, wohingegen die Zellulose erst durch später zugesetzte Enzyme z.B. Cellulasen hydrolysiert wird. Es entsteht ein Hydrolysat, welches anschließend durch geeignete Mikroorganismen zu Ethanol fermentiert wird.

Modifizierte Hefen zur Lignozellulose Ethanol Produktion

Die Herstellung von einem gegenüber herkömmlichen Treibstoffen wettbe-

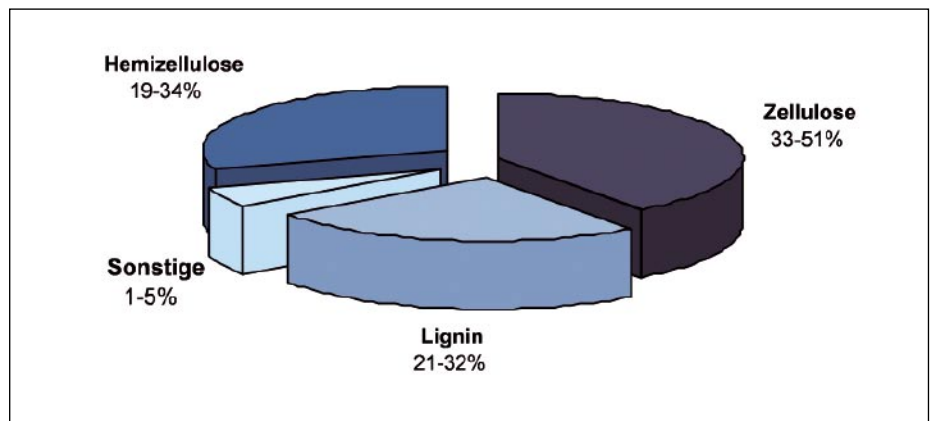


Abb.2.: Zusammensetzung von landwirtschaftlichen lignozellulosischen Rohstoffen.

Kohlenhydrate (%)	Maisstroh	Weizenstroh	Switchgras
Glucose	34,6	32,6	31,0
Mannose	0,4	0,3	0,2
Galactose	1,0	0,8	0,9
Xylose	19,3	19,2	0,4
Arabinose	2,5	2,4	2,8
Uronsäuren	3,2	2,2	1,2
Nicht-Kohlenhydrate (%)			
Lignin	17,7	16,9	17,6
Andere Rückstände	18,1	23,2	22,8

Tabelle 1.: Zusammensetzung von landwirtschaftlichen lignozellulosischen Rohstoffen

werbsfähigen Biokraftstoff erfordert eine schnelle und effiziente Umsetzung möglichst aller in den Hydrolysaten enthaltenen Zucker. Ein Mikroorganismus, der fast alle dafür notwendigen Anforderungen erfüllt, ist die Hefe *S. cerevisiae*. Jedoch kann diese Hefe natürlicherweise nicht die Pentosen Xylose und Arabinose vergären. Dieses Problem konnte nun jedoch mit Hilfe von genetischen Methoden behoben werden (Abb. 3).

In den Hefezellen wurden dazu Enzyme aus anderen Mikroorganismen exprimiert. Als die erfolgversprechendste Strategie für die Xylose-Vergärung erwies sich dabei die direkte Isomerisierung der Xylose in Xylulose, welches dann durch eine Hefe-eigene Xylulokinase in Xylulose-5-Phosphat, ein Intermediat des Hefestoffwechsels, umgewandelt wird. Das gebildete Xylulose-5-Phosphat kann dann über mehrere Schritte weiter zu Ethanol vergoren werden. Dazu konnte zum einen eine Xylose-Isomerase (XI) aus dem Pilz *Piromyces spec.* und zum anderen eine XI aus dem Bakterium *Clostridium phytofermentans* genutzt werden [1]. Die an der Goethe-Universität Frankfurt entdeckte bakterielle XI hatte dabei den grossen Vorteil, dass sie weniger durch Xylitol, ein Nebenprodukt des Hefestoffwechsels, gehemmt wird. Die Expression dieses Enzyms in Industriestämmen der Hefe und

eine mehrwöchige genetische Anpassung an ein Xylosemedium resultierte in Xylose-fermentierenden Industriehefen. Industriehefen unterscheiden sich von den normalerweise im Labor benutzten Hefen in ihrer Robustheit und Unempfindlichkeit gegenüber toxischen Substanzen, welche beim Aufschluss der Lignozellulose entstehen.

Auch im Falle der Arabinose Verwertung erwies sich das Einführen eines optimal auf die Hefe abgestimmten bakteriellen Stoffwechselweges als beste Strategie [2]. Dabei wird die Arabinose in drei enzymatischen Schritten ebenfalls zu Xylulose-5-Phosphat (Abb. 3) umgesetzt. Kürzlich konnten auch Hefen entwickelt werden, die sowohl den Stoffwechselweg für Xylose als auch den für Arabinose enthalten und beide Pentosen zusammen mit Glucose effektiv vergären. Dazu wurden die Hefen über mehrere Wochen in einer Art Zeitraffer-Evolution dazu gezwungen, sich optimal auf die Verwertung der Pentosen einzustellen [3].

Ausblick

Derzeit wird intensiv daran gearbeitet, die entwickelten Hefen weiter zu optimieren und für den industriellen Einsatz vorzubereiten. Darüberhinaus wird auch

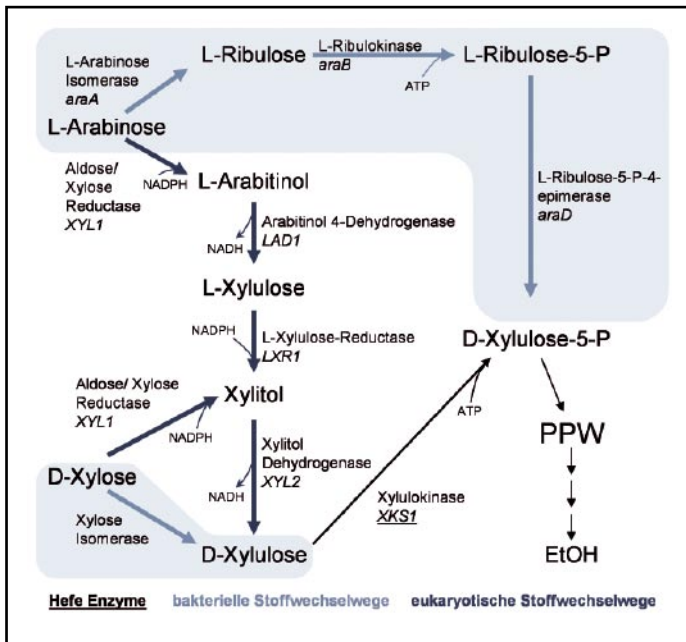


Abb.3.: Mikrobielle Abbauwege von Xylose und Arabinose. Die grau hinterlegten Wege stellten sich für die Konstruktion von Pentose-vergärenden Hefen als die am vielversprechendsten heraus.

Frankfurt wird derzeit in Kooperation mit der Schweizer Firma Butalco daran gearbeitet, die Isobutanol-Produktion der Hefe zu steigern und Hefen in Isobutanol-Produzenten umzuwandeln. Während jedoch die industrielle Herstellung von Bioethanol aus Pflanzenabfällen greifbar nahe ist, muss für die Produktion von Biobutanol aus Lignozellulose noch mit mehreren Jahren Entwicklungsarbeit gerechnet werden.

Literatur

- [1] Brat D. et al.: Appl. Environ. Microbiol. 75, 2304–11 (2009)
- [2] Wiedemann B. und Boles E.: Appl. Environ. Microbiol. 74, 2043–50 (2008)
- [3] Wisselink H.W. et al.: Appl. Environ. Microbiol. 75, 907–14 (2009)

Kontakt

Dr. Christian Weber

Prof. Dr. Eckhard Boles

Goethe-Universität Frankfurt am Main

Tel.: 069/798-29516

Fax.: 069/798-29527

christian.weber@bio.uni-frankfurt.de

e.boles@bio.uni-frankfurt.de

<http://cgi.server.uni-frankfurt.de/fb15/boles/start.html>

an der Produktion ganz neuer Biokraftstoffe der sogenannten dritten Generation geforscht. Als einer der zukunftsfähigsten Kraftstoffe gilt dabei das Biobutanol. Es hat gegenüber dem Ethanol bessere physikalisch-chemische Eigenschaften. Als wichtigste Eigenschaft gilt hierbei seine geringe Löslichkeit in

Wasser, die dazu führt, dass das Biobutanol nicht korrosiv ist und zu 100% bzw. in jeder beliebigen Mischung mit Benzin in Ottomotoren verbrannt werden kann. Interessanterweise produzieren gerade Hefen Biobutanol in Form von Isobutanol als einen bei Gärungsprozessen entstehenden Fuselalkohol. An der Universität