

# Lignozellulose – Lokale Aspekte eines globalen Rohmaterials für Mehrwertprodukte durch biotechnologische Prozesse

## Lignocellulose – Local Dimension of a Global Raw Material for Value-Added Products from Biotechnological Processes

Patricia Bubner, Vera Novy, Bernd Nidetzky



Vera Novy hat Biotechnologie in Innsbruck, Dundee (Schottland) und Graz studiert und an der TU Graz ihr Studium abgeschlossen. In ihrer Masterarbeit beschäftigte sie sich mit der Produktion von Bioethanol aus Lignozellulose Hydrolysaten. Im Rahmen ihrer Dissertation setzt sie ihre Forschungen in diesem Gebiet fort.

Vera Novy studied biotechnology in Innsbruck, Dundee (Scotland), and Graz where she received her university degree. Her master thesis project was bioethanol production from lignocellulose hydrolyzates. She now continues research in this field in her doctoral thesis.

Abb. 1: Verwendung von Rohstoffen aus Lignozellulose für die biotechnologische Produktion von Treibstoffen und Basischemikalien.

Fig. 1: Utilization of lignocellulosic feedstocks for biotechnological production of fuels and bulk chemicals.

**Lignozellulose ist ein weltweit im Überfluss vorhandenes, erneuerbares Biomaterial und eine Quelle an gebundenem Kohlenstoff und Energie. Eine auf Lignozellulose als Energieträger basierende Bioökonomie brächte gewaltige Vorteile: geringere Rohölabhängigkeit, Reduktion der CO<sub>2</sub>-Emissionen und produktive Verwertung von Abfällen aus Land- und Forstwirtschaft. An der TU Graz wird Forschung in diesem Bereich stark interdisziplinär betrieben.**

Lignozellulose, das strukturelle Gerüst der Pflanzenzellwände, setzt sich aus den Kohlehydratpolymeren Zellulose und Hemizellulose, die eng mit dem polyphenolischen Polymer Lignin verflochten sind (Abb. 1), zusammen. Zellulose besteht aus linearen Polyglukoseketten, die sich zu kristallinen Mikrofibrillen (~ 4 nm dick) zusammenfügen. Mehrere dieser Mikrofibrillen organisieren sich zu einer Makrofibrille (Faser). Diese ist an ihren äußeren Mikrofibrillen eng mit Hemizellulose und Lignin verknüpft. Hemizellulose bezeichnet verschiedenste Heteropolysaccharide, die aus diversen Zuckern zusammengesetzt sein können; oft mit Xylose als Hauptbestandteil. Lignin ist ein quervernetztes Nichtkohlehydratpolymer, das kovalent an Hemizellulose gebunden ist. Die komplexe Struktur von Lignozellulose verleiht ihr sehr gute Stabilität gegenüber mechanischem und chemischem Abbau. Lignozellulose wird ständig durch Photosynthese neu produziert und ist daher eine global vorhandene Ressource. Typische lignozellulolytische Rohstoffe sind Holz und Holzabfälle, Energiepflanzen, landwirtschaftliche Reste (z. B. Stroh) und Altpapier. In Österreich sind 47 Prozent der Fläche als Wald klassifiziert – Tendenz steigend. Auch die Holzproduktion in Kurzumtriebsplantagen und Energiepflanzenanbau nimmt zu. Eine weitere Quelle an heimischer Lignozellulose sind Stroh (1,8 Millionen Tonnen pro Jahr) und gesammeltes

*Lignocellulose is the most abundant renewable biomaterial on earth and a reservoir of fixed carbon and energy. A bioeconomy built on lignocellulose utilisation offers compelling advantages, including reduced dependence on crude oil, decreased CO<sub>2</sub> emission, and productive use of waste products from agriculture and forestry. Challenges of bioconversion of lignocellulose are addressed by joining forces in our university.*

Lignocellulose is the structural scaffold of the plant cell wall. Chemically, it is composed of the carbohydrate polymers cellulose and hemicellulose, which are intertwined with the polyphenolic polymer lignin (Fig. 1). Cellulose is made of linear polyglucose chains which self-assemble into crystalline micro-fibrils (~ 4 nm thick). Several micro-fibrils then associate into a macro-fibril (fiber). This fiber is heavily interlaced with hemicelluloses and lignin at its outer micro-fibrils. Hemicellulose is a collective term for different heteropolysaccharides composed of various sugars, with xylose often being the main constituent. Lignin is a heavily cross-linked non-carbohydrate macromolecule and bound covalently to hemicellulose. This complex structural organization imparts lignocellulose with a pronounced resistance to mechanical and chemical degradation.

Lignocellulose is constantly being produced by photosynthesis and therefore a global resource. Typical lignocellulosic feedstocks are wood and wood residues, energy crops, agricultural residues (e.g. straw), and municipal paper waste. In Austria, 47 % of the country's area is classified as forest. An increase in the actual production area is anticipated. Short-rotation forestry and energy crop cultivation is also of growing interest. Additionally, 1.8 million tons of straw are produced and about 0.6 million tons of waste paper are collected per year. Generally, wood usage in Austria

# Lignocellulose

For biotechnological production of fuels and platform chemicals

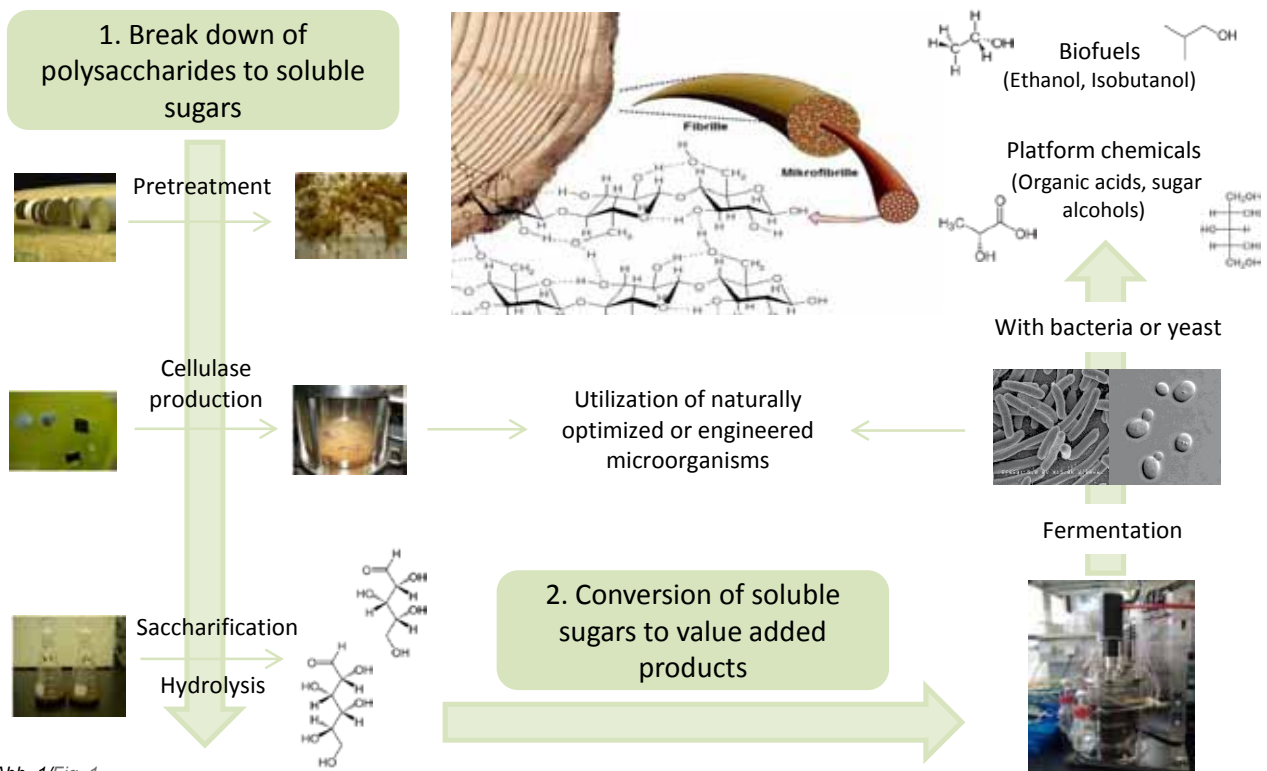


Abb. 1/ Fig. 1

© TU Graz/Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik sowie <http://en.wikipedia.org/wiki>

Altpapier (0,6 Millionen Tonnen pro Jahr). Der Holzverbrauch erreicht den jährlichen Zuwachs in Österreich übrigens nicht – daher ist Holz hierzulande ein lukrativer und wirklich erneuerbarer Rohstoff.

Lignozellulose und Produkte daraus werden schon seit Menschengedenken für die Energiegewinnung (z. B. Feuerholz, Pellets) und multifunktionelle Materialien (z. B. Bauholz, Fasern, Papier) verwendet. Verbrennung ist nicht die einzige und keineswegs die effizienteste Art, um aus Lignozellulose Energie zu gewinnen: Man kann Treibstoffe durch thermochemische oder biotechnologische Umsetzung erhalten. Bei derart gewonnenen Treibstoffen gibt es auch keine Bedenken im Sinne der „Food versus Fuel“-Debatte, da Lignozellulose nicht als Nahrung dient. Weiters stellt Lignozellulose ein vielversprechendes Rohmaterial für die nachhaltige Produktion von Gebrauchskemikalien wie zum Beispiel Zuckeralkoholen und organischen Säuren dar. Auch als Quelle für wertvolle und funktionelle Materialien ist sie von Bedeutung.

Die Biotechnologie ist eine Schlüsseltechnologie bei der Verwendung von Lignozellulose in integrierten Bi Raffineriekonzepten. Zellulose und Hemicellulose werden in zwei Schritten in Treibstoffe und Chemikalien umgewandelt: Zunächst werden

does not keep up with annual increase in production even now. This makes wood a lucrative and truly renewable feedstock in Austria.

Lignocellulose and its products have been used by humankind since time immemorial for energy production (e.g. firewood, pellets) and multipurpose materials (e.g. timber, fibers, paper). Burning lignocellulose, however, is not the only and probably not the most efficient way to gain energy from lignocellulose. Production of fuels through thermo-chemical or biotechnological conversion of lignocellulose is expected to reduce our dependence on crude oil and decrease the CO<sub>2</sub> emission. It also eliminates “food versus fuel” concerns due to use of an inedible raw material. Furthermore, it is a promising raw material for sustainable bio-production of commodity chemicals, such as sugar alcohols and organic acids, as well as a source of valuable and functional materials.

Biotechnology has traditionally played a key role in developing strategies for lignocellulose utilization within integrated biorefinery concepts. Cellulose and hemicellulose are converted into fuels and chemicals through processes in two steps: first, production of soluble sugars from polysaccharides, and second, conversion of the sugars

*Patricia Bubner hat Technische Chemie an der TU Graz und an der Montclair State University in den USA studiert. Sie promovierte 2011 an der TU Graz und forscht derzeit am Institut für Biotechnologie und Bioprozesstechnik an strukturellen und mechanistischen Problemen des enzymatischen Abbaus von Zellulose.*

*Patricia Bubner studied technical chemistry at Graz University of Technology and Montclair State University (NJ, USA). In 2011, she received a PhD in biotechnology from Graz University of Technology and since 2012, she has been working as a post-doctoral fellow at the Institute of Biotechnology and Biochemical Engineering investigating enzymatic degradation of cellulose on a structural and mechanistic level.*



*Bernd Nidetzky ist Professor für Biotechnologie an der TU Graz und leitet das Institut für Biotechnologie und Bioproszess-technik. Sein Forschungsgebiet sind Enzyme und Zucker, wobei die Nutzung von Lignozellulose ein wesentliches Interessengebiet darstellt.*

*Bernd Nidetzky is professor of biotechnology at Graz University of Technology and currently serves as Head of the Institute of Biotechnology and Biochemical Engineering. His research focuses on enzymes and sugars, whereby utilization of lignocellulosic materials presents a main field of interest.*

die Polysaccharide in lösliche Zucker abgebaut, die daraufhin zu Mehrwertprodukten verarbeitet werden. In den letzten Jahren sind einige biotechnologische Prozesse entwickelt worden, die Lignozellulosehydrolysate in Treibstoffe (z. B. Ethanol, Isobutanol) und Gebrauchskemikalien (z. B. Zuckeralkohole) umsetzen – mithilfe von optimierten Mikroorganismen. Viele dieser Prozesse sind derzeit im Begriff, in der kommerziellen Produktion genutzt zu werden. Trotzdem ist der Abbau von Lignozellulose immer noch schwierig und verlangt eine prozesstechnisch komplexe Abfolge von Schritten: zunächst thermo-mechanische oder chemische Vorbehandlung, gefolgt von der Verzuckerung durch spezielle Enzyme (Zellulasen). Trotz jahrzehntelanger Forschung in diesem Bereich sind zurzeit erhältliche Technologien unökonomisch und nicht hinreichend ausgereift. Aufgrund hochkomplexer Zusammenhänge der individuellen Prozessschritte ist eine Optimierung schwierig. Das mechanistische Verständnis der limitierenden Faktoren in der Zellulosekonversion durch Zellulasen ist nicht weit genug fortgeschritten, um ein rationales Design des Biokonversionsprozesses zu unterstützen. Daher sind vereinte Anstrengungen der biochemischen und prozesstechnischen Wissenschaften essenziell, um diesen Herausforderungen zu begegnen. Die Analyse der Prozesskosten und der Nachhaltigkeit müssen die erfolgreiche Prozessentwicklung komplementieren. Entstehende Prozesse müssen robust und skalierbar sein. Die TU Graz bietet die erforderlichen Expertisen, um die Herausforderung der effizienten Biokonversion von lokalen Lignozelluloseressourcen mithilfe intensiver Zusammenarbeit zu meistern.

into value-added products. In recent years there has been a lot of progress in the development of bioconversion processes for lignocellulose hydrolyzates to produce biofuels (e.g. ethanol, isobutanol) and platform chemicals (e.g. sugar alcohols). Optimized microorganisms are applied in these processes, of which many are currently being advanced to a commercial production scale. However, release of the soluble sugars from lignocellulose remains a critical problem. It requires a technically complex and expensive series of processing steps, typically involving thermo-mechanical or chemical pretreatment of the raw material followed by saccharification with enzymes (cellulases). Despite decades of research in the field, current technologies are not mature and economically not viable. Optimization is made especially difficult due to the complex interrelationship of the individual process steps with each other. A mechanistic understanding of the factors limiting the efficiency of cellulose conversion by cellulases is not well enough advanced to support rational design of the bioconversion process for improved efficacy. Integrated approaches of process development therefore require joint efforts from the biochemical and process engineering sciences. In order to define a suitable window of process operation, it is necessary to also perform analysis of process economics and to address sustainability issues. Resulting processes must be robust and scalable. Graz University of Technology is providing the requisite expertise to address the challenge of efficient bioconversion of locally available lignocellulose resources in a strongly collaborative approach.