

Svampen på toiletbrættet

– en videnskabelig succes

En ukendt lille svamp, der havde forvildet sig ind på et toiletbræt, kan blive til en vigtig ingrediens i fremtidens bioraffinaderi.

Svampen producerer nemlig enzymer, der effektivt kan nedbryde plantemateriale.

Af Annette Sørensen, Mette Lübeck, Peter S. Lübeck og Birgitte K. Ahring

■ Små sorte eller grønne prikker og plamager på badeværelset vil ofte vise sig at være skimmelsvamp, og det er vi jo normalt ikke så glade for! Men er man udstyret med den rette nysgerrighed, kan der være spændende opdagelser at gøre i de uønskede plamager. Det beviste en flittig studerende Philip J. Teller, da hans opmærksomhed blev fanget af én lille sort og én lille grøn prik på toiletbrættet i sit badeværelse. Med to vatpinde skrabe han svampene af brættet, kom dem i hver sin lille plastikpose og tog dem med til laboratoriet på universitetet. Her viste det sig, at den sorte prik var en ny art af en skimmelsvamp, som nu har fået navnet *Aspergillus saccharolyticus*, og den er blevet grundlaget for en hel ph.d.-afhandling. Det viser sig nemlig, at denne skimmelsvamp er god til at producere enzymer, der kan nedbryde plantemateriale

– en opdagelse, som kan have stor værdi i fremtidens bioraffinaderier.

Fra olie til biomasse

I takt med at verdens oliedepoter udtømmes, er der stigende behov for, at alternative, bæredygtige ressourcer tages i brug. En bæredygtig ressource er plantebiomasse, som i et bioraffinaderi kan omdannes til en lang række produkter, som i dag produceres i olieraffinaderier. Olie er både råstof til flydende brændstof og til produktion af plastik, kemikalier, lægemidler og en række andre produkter. I princippet kan de samme produkter laves ved mikrobiel omdannelse af suktermolekyler i plantebiomasse. Metoderne findes allerede, men der er endnu for store omkostninger forbundet med brugen af biomasse til de fleste formål.

Hidtil har man især interesseret sig for produktion af bioet-

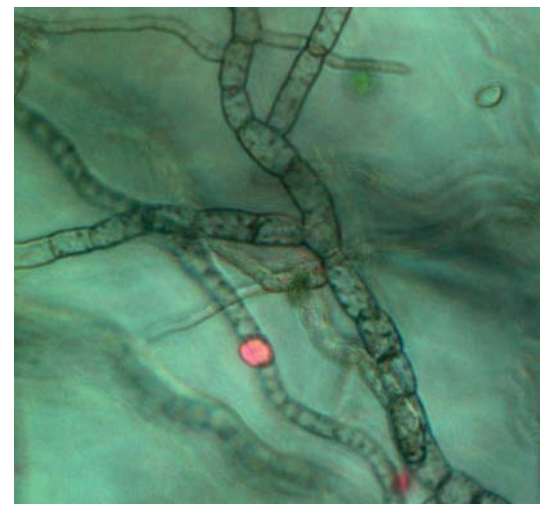
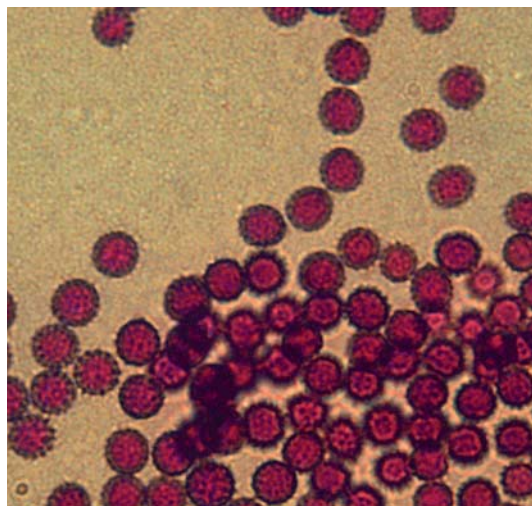
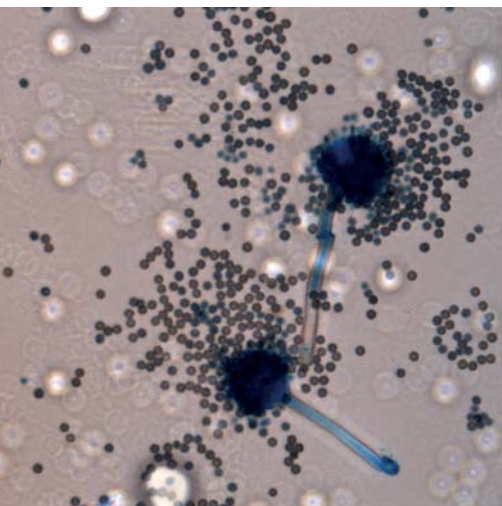
hanol til privatbiler. Fremtidens biobrændstof vil fokusere på skibs-, fly- og industriel transport. Samtidig forventes produktionen af andre bioprodukter og biokemikalier at vinde frem, såfremt bioraffinaderier bliver rentable.

Bioraffinaderiet

Tanken bag et bioraffinaderi er at maksimere værdien af plantebiomasse. Det er kun en mindre del af planterne på vores landbrugsarealer, der bruges til foder og fødevarer. Resten som f.eks. halm, majsstængler og lignende udnyttes i dag ikke optimalt. I et bioraffinaderi benyttes netop de ikke-spiselige dele af planten (lignocel-

lulosen). Biomassen udsættes først for en forbehandling, hvor de makroskopiske strukturer af biomassen nedbrydes, og cellulosen og hemicellulosen gøres tilgængelige for efterfølgende enzymatisk nedbrydning. Enzymer er katalysatorer, der accelererer naturlige processer, og de er nødvendige til nedbrydning af biomasse til glukose (boks 1). Den enzymatiske proces foregår ved, at bestemte kemiske bindinger i biomassen nedbrydes, hvorved der frigives glukose. Glukosen kan dernæst af mikroorganismer omdannes til biobrændstoffer og byggesten, som kan



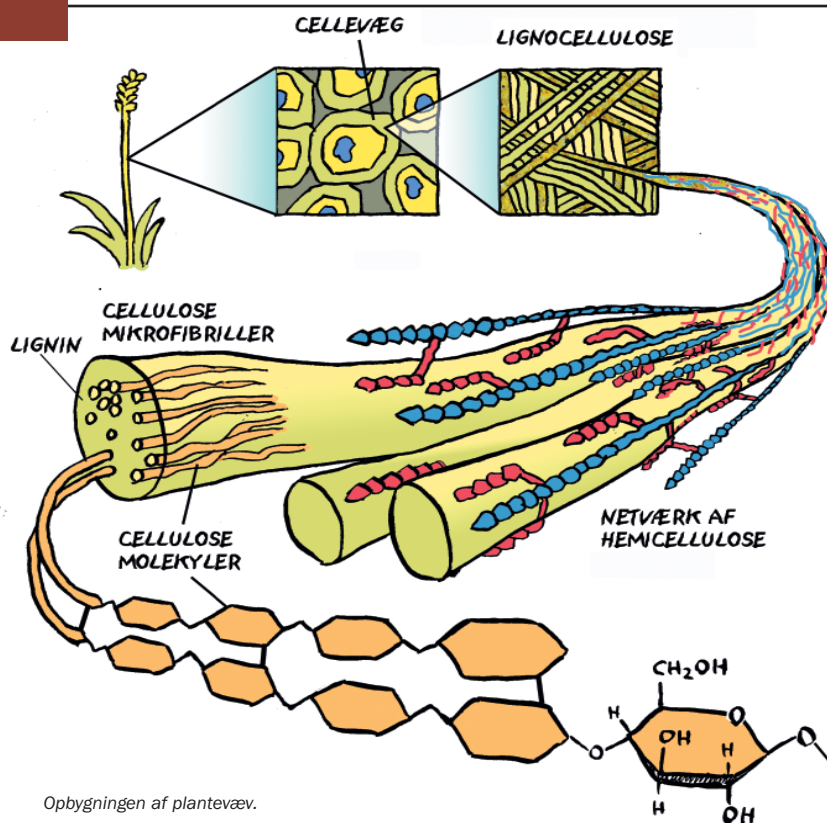


Øverst: Den nye svamp, *Aspergillus saccharolyticus*, dyrket i laboratoriet. Svampen er her vokset i hhv. 3 og 7 dage på et næringsrigt agar-medie. *Aspergillus saccharolyticus* producerer fine sorte sporer, som nærmest minder om pulver på overfladen af agar-mediet. Nederst: *Aspergillus saccharolyticus* under mikroskopet, hvor svampen forstørres op mod 100 gange. Her afsløres det komplekse netværk af hyfer i agaren samt de fine runde sporer. Billederne af sporerne er farvet for bedre at kunne se strukturerne.

Fra biomasse til glukose (boks 1)

Plantebiomasse indeholder en række nyttige bestanddele. Hvis vi ser på majsplanten som eksempel, består selve majs-kornene primært af stivelse. Stivelse er lange kæder af glukose bundet sammen med alfa-glykosyl-bindinger, der let omdannes ved hjælp af amylase-enzymet til glukose. Denne metode benyttes til fremstilling af 1. generations bioethanol, men brugen af fødevarer til brændstofproduktion giver selvsagt etiske overvejelser i en verden, hvor mange mennesker sultar. I stedet bør vi fremadrettet anvende de ikke-spiselige dele af planten og omdanne netop disse til biobrændstof og andre bioprodukter.

Majsplantens indre kolbe samt resten af plantens blade og stængler består af lignocellulose, der er en blanding af cellulose, hemicellulose og lignin. Cellulose, som er den største bestanddel af lignocellulosen, er ligesom stivelse lange kæder af glukosemolekyler, men i cellulose er glukosemolekylerne bundet sammen af beta-glykosyl-bindinger. Cellulose nedbrydes til glukose gennem samspil af enzymene endoglukanase, cellobiohydrolase, og beta-glukosidase (se figur 1 på sidste side). Effektiv nedbrydning af cellulose fra biomasse sker, når alle tre enzymkomponenter er til stede i passende mængder.



Tegning: Ebbe Sloth Andersen

Bioraffinaderiet

Biomasse

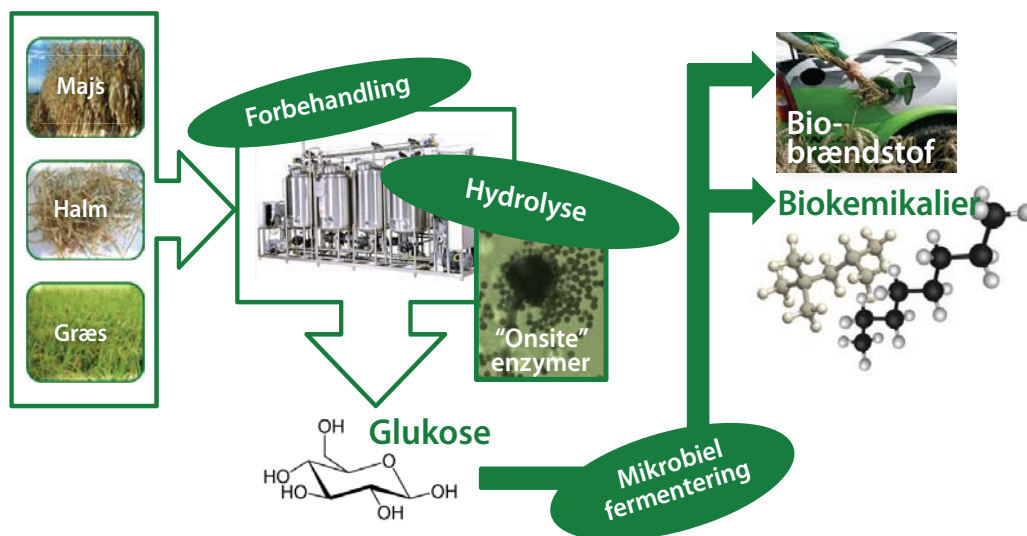


Illustration af konceptet i et bioraffinaderi.

bruges til at syntetisere kemikaler og polymere materialer.

Enzymerne er således helt afgørende for effektiviteten i et bioraffinaderi, og de er også nøglen til at gøre bioraffinaderier rentable. Eksisterende kommercielle enzymer er ret dyre, og der er derfor brug for alternativer, hvis bioraffinaderier for alvor skal blive økonomisk interessante.

Et af alternativerne er at producere enzymerne "on-site" som en integreret del af processerne i et bioraffinaderi. Svampen fra toiletbrættet - *Aspergillus saccharolyticus* – er netop et eksempel på en svamp, der har stort potentiale for on-site enzymproduktion.

Jagt på bedre enzymer

Der er en række krav til enzymer, der skal anvendes til nedbrydning af plantebiomasse. De skal arbejde hurtigt, de skal være stabile ved de anvendte procesforhold (f. eks. pH og temperatur), og de skal kunne fuldende nedbrydningen af biomassen uden at blive hæmmet af de dannede produkter.

En effektiv enzymproducerende mikroorganisme skal producere det ønskede enzym i store mængder til en billig pris.

Mere effektive enzymer kan fremskaffes enten ved, at man opdager helt nye enzymer gennem forskellige screeningsstrategier, eller at man forbedrer kendte enzymer primært ved forskellige gensplejnings-teknikker. Svampe er kendt som vigtige enzymproducenter (Boks 2), og vi forsøger at opdage nye enzymer med bedre egenskaber ved at screene indsamlede svampe for enzymaktivitet.

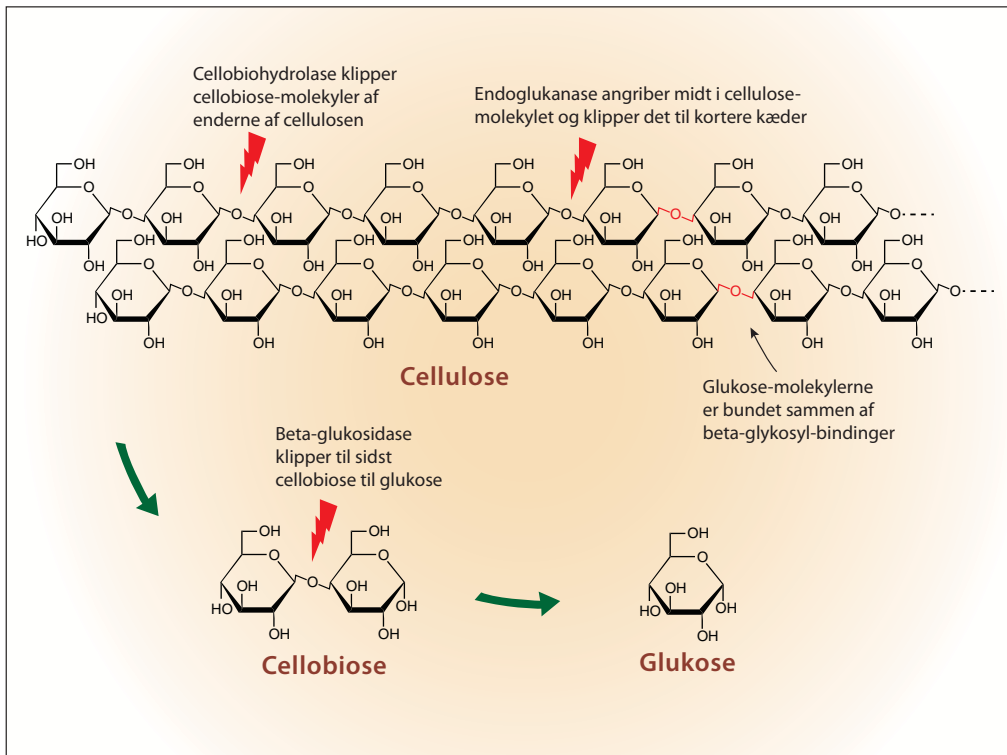
Vores fokusområde er enzymer kaldet beta-glukosidaser. I samspil med andre enzymer nedbryder (hydrolyserer) beta-glukosidaser cellulose til glukose (figur 1). Vi har udført screening for beta-glukosidase-aktivitet hos et bredt spektrum af forskellige indsamlede svampe ved brug af hvedeklid som næringskilde for svampene. Hvedeklid er et næringsrigt lignocelluloseholdigt produkt fra hvede-

Foto: CDC/Dr. Lucille K. Georg (PHIL #3964), 1965.



Svampe er vigtige enzymproducenter

BOKS 2: Svampe findes overalt i vores omgivelser. De lever af organisk materiale og spiller derigennem en vigtig rolle for omsætningen af dødt plantemateriale. Svampe producerer enzymer, der gør det muligt at nedbryde plantematerialet. Disse enzymer er kun delvist udforskede, og der findes uden tvivl mange ikke-opdagede enzymer med industrielt potentiale. Til industriel enzymproduktion anvendes især skimmelsvampe, som oprindeligt er fundet i naturen og derefter tilpasset produktionsforhold, så de kan leve i tanke og producere enzymer i store mængder. Til produktion af biomassenedbrydende enzymer er de hyppigst anvendte svampe *Aspergillus niger* og *Trichoderma reesei*. *Aspergillus niger* (se foto) har været anvendt siden 1960'erne til produktion af en bred vifte af industrielle enzymer og er især kendt for at producere beta-glukosidaser, mens *Trichoderma reesei* producerer endoglukanaser og cellobiohydrolaser. Produkterne fra disse to svampe supplerer derfor hinanden godt til nedbrydning af biomasse. *Trichoderma reesei* blev oprindeligt isoleret under anden verdenskrig, hvor svampen havde nedbrudt soldaternes telte og andet militært udstyr af bomuld. Fibrene i bomuld består netop af cellulose, som svampens enzymer kunne nedbryde og derved frigive glukose til svampens metabolisme og overlevelse. Den danske enzymgigant Novozymes A/S er den største producent af disse enzymer på verdensplan.



Figur 1. Cellulose nedbrydes til glukose gennem et samspil af enzymerne endoglukanase, cellobiohydrolase, og beta-glukosidase.

ner, som svampe generelt vokser godt på. Hypotesen er, at lignocellulosen får svampene til at producere enzymer, herunder beta-glukosidaser, netop til at nedbryde lignocellulose-komponenterne.

Vi opdagede den nye svamp *Aspergillus saccharolyticus* i forbindelse med dette screeningsforsøg, da den viste betydeligt større beta-glukosidase-aktivitet end alle andre testede svampe.

Svampen fra toiletbrættet

Det interessante ved opdagelsen af den nye svamp er, at vi ikke fandt svampen ude i naturen, men på et toiletbræt i en lejlighed. Hvor svampen ellers normalt lever ved vi ikke, fordi der indtil videre kun er fundet det ene eksemplar. Vi gav den navnet *Aspergillus saccharolyticus* baseret på dens evne til at nedbryde sukre (latin: saccharolytic).

Når man beskriver svampes egenskaber og slægtskabsforhold foregår det ud fra forskellige kriterier. For det første sammenligner man svampens genetiske sammensætning med andre svampe. For det andet beskri-

ver man svampenes udseende, når de vokser på forskellige næringskilder. Og for det tredje kigger man på de kemiske stoffer, svampene kan producere. Vi fandt, at *Aspergillus saccharolyticus* adskiller sig fra andre arter af sorte aspergilli inden for alle tre kategorier.

Billigere og bedre

“Vores” nye svamp kan benyttes til at gøre nedbrydning af biomasse i et bioraffinaderi billigere. Restprodukter fra processerne i bioraffinaderier kan gendannes til enzymproduktion, dvs. at man ud fra restproduktet

i bioraffinaderiet kan få svampen til at producere de enzymer, der skal bruges i bioraffinaderiet. Det kan derfor være et attraktivt alternativ til at købe dyre kommercielle enzymer. Vi har vist, at enzymproduktet fra *Aspergillus saccharolyticus* kan anvendes til at nedbryde forbehandlet halm. Enzymproduktet fungerer endda bedre end tilsvarende eksisterende kommercielle beta-glukosidaseprodukter.

Således kan en lille ukendt svamp, der havde forvildet sig ind på et toiletbræt, vise vejen for billig produktion af nye bioprodukter. ■

Om forskningen

Forskningen beskrevet i denne artikel er udført som del af Annette Sørensens ph.d.-studie ved Sektion for Bæredygtig Bioteknologi, Aalborg Universitet København. Omdrejningspunktet for forskningen ved sektionen er udvikling af bioraffinaderier, lige fra mikrobiel diversitet og avanceret molekylærbiologi til procesorienteret bioteknologi. En vigtig del af forskningen er identifikation og udvikling af biokatalysatorer (mikroorganismer og enzymer) til forskellige bioteknologiske formål. Derudover underviser vi bachelor- og masterstuderende i vores nye uddannelse i bæredygtig bioteknologi.

Om forfatterne



Annette Sørensen er postdoc
aso@bio.aau.dk



Mette Lübeck er lektor
mel@bio.aau.dk



Peter S. Lübeck er lektor
psl@bio.aau.dk



Birgitte K. Ahring er professor
bka@bio.aau.dk

Alle ved Sektion for Bæredygtig Bioteknologi, Institut for Kemi og Bioteknologi, Aalborg Universitet København
Tlf.: 9940 2595
www.sustainablebiotechnology.aau.dk

Tak til Philip J. Teller, som opdagede og isolerede svampen, *Aspergillus saccharolyticus*, på toiletbrættet og derved muliggjorde forskningen beskrevet i denne artikel.

Videre læsning:

Sørensen A, Lübeck PS, Lübeck M, Nielsen KF, Ahring BK, Teller PJ et al. *Aspergillus saccharolyticus* sp. nov., a new black *Aspergillus* species isolated in Denmark. *Int J Syst Evol Microbiol* Published online 2011.

Sørensen A, Lübeck PS, Lübeck M, Teller PJ, Ahring BK. *beta-Glucosidases from a new Aspergillus species can substitute commercial beta-glucosidases for saccharification of lignocellulosic biomass. Can J Microbiol* 2011;8:638-50.

Fra halm til alkohol. *Aktuel Naturvidenskab* nr. 3/2005.