

PET2More

Biotechnologisches Upcycling von PET-Sekundärrohstoffen zur Reduktion der fossilen Ressourcenabhängigkeit

Programm / Ausschreibung	Energie- u. Umwelttechnologien, Energie- u. Umwelttechnologien, Kreislaufwirtschaft - Energie- und Umwelttechnologie Ausschreibung 2022	Status	laufend
Projektstart	01.01.2023	Projektende	30.08.2025
Zeitraum	2023 - 2025	Projektaufzeit	32 Monate
Keywords	Kunststoffabfall; Plastik Upcycling; PET; Decarboxylase; Enzymsuche, Enzymentwicklung; Enzymcharakterisierung; Sekundärrohstoffe		

Projektbeschreibung

Im Jahr 2019 wurden über 400 Millionen Tonnen Kunststoff produziert, aber nur 18 % davon wurden recycelt. Der Verlust der verbleibenden 82 % durch Deponierung oder Versickerung in Meeresökosystemen ist eine Bedrohung für die Umwelt und eine Verschwendungen der Ressourcen, aus denen Kunststoff hergestellt wird. Der Lebenszyklus der meisten Kunststoffe ist derzeit linear, wobei die Produkte für den einmaligen Gebrauch und die Entsorgung konzipiert sind. Kunststoff verliert nach einmaliger Verwendung im Durchschnitt 95 % seines Wertes, was der Weltwirtschaft jährlich 110 Milliarden Dollar kostet, wenn man den Wert dieser Polymeren um durchschnittlich 95 % reduziert. In diesem Sinne würde der Übergang zu einem Kreislaufwirtschaftsmodell, bei dem Abfallströme als Rohstoff für die Herstellung von Mehrwertprodukten behandelt werden, sowohl die Umweltauswirkungen von Kunststoffen verringern als auch Einnahmen für die Wirtschaft generieren.

Der enzymatische Kunststoffabbau ist ein Forschungsgebiet mit stark steigendem Interesse und großem Potential. Jedoch konzentriert sich im Moment die Forschung und Förderung auf den enzymatischen Abbau von PET. Enzyme, genannt PET-Hydrolasen spalten das Polymere PET in die entsprechenden Monomerbausteine (Sekundärrohstoff), welche aber bis dato chemisch schwer als Rohstoff nutzbar ist. Für eine nachhaltige ökologische, wie auch ökonomische Lösung bzw. Nutzung der Kunststoffmonomere fehlen die notwendigen Initiativen. Aus diesem Grund und um die Machbarkeit zu demonstrieren hat der Projektpartner University of Edinburgh kürzlich eine neuartige Enzymkaskade im Wirtsorganismus *Escherichia coli* (*E. coli*) entwickelt und publiziert, um das PET-Monomer Terephthalsäure, als Erdöl unabhängigen Rohstoff, in hochwertiges und im Tonnen Maßstab benötigtes Vanillin up-zu-cyclen (zu verstoffwechseln). Dies beweist, dass erst durch die Bereitstellung der bis dato fehlenden Verwertungsmöglichkeiten von anfallenden Monomeren ein nachhaltiger Recycling-Kreislaufwirtschaft für PET und andere Polyethylen-basierte Abfälle etabliert werden kann. Wir als Innophore mit unserem akademischen Partner University of Edinburgh sehen uns hier in der Pflicht, mit unserer CatalophoreTM Such- und Engineeringtechnologie einen entscheidenden Beitrag zu leisten um PET und andere Polyethylen-basierte Kunststoffe wirklich nachhaltig durch einen neuartigen biotechnologischen Prozess einen geschlossenen Stoffkreislauf einzubinden.

Das übergeordnete Ziel des Projekts „PET2More“ der Innophore GmbH und der University of Edinburgh ist die neuartige, nachhaltige biotechnologische Herstellung der Plattformchemikalien Benzoesäure und Furan-2-carbonsäure (Sekundärrohstoffe) aus PET (Polyethylenterephthalat), respektive PEF (Polyethylenfuranoat) Kunststoffabfällen. Das

chemische Analogon PEF wird als Polyester der Zukunft gehandelt, da dieses eine echte 100% biobasierte Alternative zu erdölbasiertem PET darstellt. Die genannten Produkte werden derzeit aus Erdöl basierendem Toluol oder Furfural als Ausgangsrohstoff hergestellt und weisen einen geschätzten Marktwert von 300 Mio. \$ auf. Um dies zu ermöglichen, wird ein Biokatalysator namens Decarboxylase benötigt, der in der Lage ist, die Monomerbausteine Terephthalsäure und 2,5-Furandicarbonsäure, welche bei einem enzymatischen Abbau von PET bzw. PEF als entsprechende Produkte anfallen, umzusetzen. Bis dato sind keine Enzymkatalysatoren berichtet, die in der Lage sind Terephthalsäure zu Benzoesäure umzusetzen und selektiv eine der beiden Carbonsäuregruppen zu entfernen. Benzoesäure, Furan-2-carbonsäure sowie deren Derivate sind wichtige chemische Verbindungen, die bei der Herstellung von Arzneimitteln, Farbstoff-Zwischenprodukten, Weichmachern, Gewürzen, Lebensmittelkonservierungsmitteln usw. in signifikanten Mengen eingesetzt werden. Die chemische Decarboxylierung von Terephthalsäure und 2,5-Furandicarbonsäure wird unselektiv bei harschen Bedingungen durchgeführt und führt zur Produktion von Benzol bzw. Furan und CO₂ als Produkte. Um hierfür effiziente und selektive Enzyme zu finden, die bei milden Bedingungen eingesetzt werden können, wird die patentierte Catalophore™ Technologie des Antragstellers Innophore genutzt. Diese vermag in-silico, d.h. computerunterstützt, aus Millionen von Enzymsequenzen und -strukturen geeignete Decarboxylasen zu identifizieren, welche dann als mögliche Enzymkatalysatoren für den vorgestellten biotechnologischen Prozess eingesetzt werden können.

Abstract

In 2019, over 400 million tons of plastic were produced, but only 18% of that was recycled. The loss of the remaining 82% to landfill or seepage into marine ecosystems is a threat to the environment and a waste of the resources from which plastic is made. The life cycle of most plastics is currently linear, with products designed for single use and disposal. Plastic loses an average of 95% of its value after single use, costing the global economy \$110 billion annually if the value of these polymers is reduced by an average of 95%. In this sense, moving to a circular economy model where waste streams are treated as raw materials for the production of value-added products would both reduce the environmental impact of plastics and generate revenue for the economy.

Enzymatic plastic degradation is a research area with rapidly increasing interest and great potential. However, at the moment, research and funding is focused on the enzymatic degradation of PET. Enzymes, called PET hydrolases, hydrolyze the polymer PET into the corresponding monomer building blocks, which, however, are difficult to use chemically as a raw material. The necessary initiatives for a sustainable ecological as well as economical solution or utilization of the plastic monomers are still missing. To demonstrate the feasibility, the project partner University of Edinburgh has recently developed and published a novel enzyme cascade in the host organism *Escherichia coli* (*E. coli*) to up-cycle (metabolize) the PET monomer terephthalic acid, as a petroleum-independent raw material, into high-quality vanillin needed on a ton scale. This demonstrates that a sustainable recycling loop for PET and other polyethylene-based waste can be established by providing the hitherto missing recycling options for accumulating monomers. We at Innophore, together with our academic partner University of Edinburgh, can make an important contribution with our Catalophore™ search and engineering technology in order to integrate PET and other polyethylene-based plastics into a closed material cycle in a truly sustainable manner by means of a novel biotechnological process.

The overall objective of the "PET2More" project of Innophore GmbH and the University of Edinburgh is the novel, sustainable biotechnological production of the platform chemicals benzoic acid and furan-2-carboxylic acid from PET (polyethylene terephthalate) and PEF (polyethylene furanoate) plastic waste, respectively. The chemical analogue PEF is being traded as the polyester of the future, as this represents a genuine 100% bio-based alternative to petroleum-based PET. The aforementioned products are currently produced using petroleum-based toluene or furfural as feedstock and have an

estimated market value of >300 million. To make this possible, a biocatalyst called decarboxylase is needed that is capable of converting the monomer building blocks terephthalic acid and 2,5-furandicarboxylic acid, which are the corresponding products of the enzymatic degradation of PET and PEF, respectively. To date, no enzyme catalyst has been reported that is capable of converting terephthalic acid to benzoic acid and selectively removing one of the two carboxylic acid groups. Benzoic acid, furan-2-carboxylic acid as well as their derivatives are important chemical compounds used in significant quantities in the production of pharmaceuticals, dye intermediates, plasticizers, spices, food preservatives and so on. The chemical decarboxylation of terephthalic acid and 2,5-furan dicarboxylic acid is carried out unselectively under harsh conditions, leading to the production of benzene and furan, respectively, and CO₂ as products. To find efficient and selective enzymes for this purpose that can be used at mild conditions, the patented Catalophore™ technology of the applicant Innophore is used. This technology is capable of identifying suitable decarboxylases from millions of enzyme sequences and structures in silico, i.e. with computer support, which can then be used as possible enzyme catalysts for the biotechnological process presented.

Endberichtkurzfassung

Das Projekt PET2More hat einen wichtigen Schritt hin zu einem nachhaltigen biotechnologischen Upcycling-Prozess für PET- und PEF-Kunststoffabfälle erfolgreich umgesetzt. Gemeinsam mit der Arbeitsgruppe von Dr. Joanna Sadler von der Universität Edinburgh konnten wir mittels der patentierten Catalophore™-Technologie zahlreiche vielversprechende Decarboxylase-Kandidaten identifizieren. Für 2,5-Furandicarbonsäure wurde eine aktive Decarboxylase nachgewiesen, während für Terephthalsäure bisher nur eine neuartige Coenzym-A-abhängige Ligase- sowie geringe Decarboxylaseaktivität beobachtet wurde. Diese Ergebnisse stellen einen wertvollen Einstiegspunkt für zukünftige biotechnologische Stoffwechselwege dar und eröffnen neue Perspektiven für die Umwandlung von Kunststoffabfällen in hochwertige Plattformchemikalien.?

Die identifizierte Ligase zeigte eine verbesserte katalytische Aktivität im Vergleich zu etablierten Referenzenzymen. Durch gezielte Enzymoptimierung konnten Varianten mit potenziell erhöhter Stabilität und Expression entwickelt werden. Die bisher identifizierte Decarboxylaseaktivität ist noch gering, aber die gewonnenen Erkenntnisse bilden eine solide Grundlage für weitere Optimierungsstrategien, um die Effizienz und Selektivität der Enzyme zu steigern.?

Diese Fortschritte sind ein bedeutender Beitrag zur Entwicklung eines selektiven und effizienten Upcycling-Prozesses unter milden Bedingungen. Die gewonnenen Erkenntnisse eröffnen neue Wege für die biotechnologische Umwandlung von Kunststoffabfällen und tragen wesentlich zur Erschließung innovativer Enzymkandidaten bei. Trotz der bestehenden Herausforderungen bleibt das übergeordnete Ziel, einen vollständigen enzymatischen Transformationsweg zu etablieren, wissenschaftlich hoch relevant und strategisch wichtig. Die im Projekt erzielten Ergebnisse unterstreichen das große Potenzial der Catalophore™-Technologie für die Entwicklung nachhaltiger Biokatalysatoren im Bereich des Kunststoff-Recyclings

Projektkoordinator

- Innophore GmbH

Projektpartner

- The University Court of The University of Edinburgh