

Kan enzymer bekæmpe en enorm plastikplage?

Produktionen af plastik fra fossile råstoffer er eksploderet i de sidste årtier, og stigende drivhusgasemissioner fra plastikproduktionen truer EU's netto nulemissionsmål inden 2050. Derfor er jagten gået ind på alternative metoder til at genanvende plastik.

Af Malene Billeskov Keller, Kay S. Schaller og Peter Westh, Danmarks Tekniske Universitet

Plastik er blevet uundværligt for det moderne samfund, hvilket tydeligt afspejles i vores enorme forbrug. Det estimeres, at der årligt produceres omkring 350-400 millioner tons plastik. Størstedelen er lavet af fossile råstoffer, og det anslås, at omkring 8 procent af den samlede globale produktion af fossile råstoffer bruges til plastikfremstilling, enten til råmaterialer eller som energikilde til produktionen [1]. Efterspørgslen af plastik er stigende, og i 2050 forventes tallet at være steget til hele 20 procent [2].

På et globalt plan bliver mindre end 10 procent af al plastik, der produceres, genanvendt [1]. På traditionelle genanvendelsesanlæg bliver plastaffald typisk rensat for urenheder og sorteret efter

polymertype og farve. Efter sortering bliver plastikken findelt, ekstruderet og pelletteret eller granuleret, hvorefter det er klart til at indgå i nye produkter. Desværre forringes kvaliteten af plastikken ofte som følge af urenheder som tilsætningsstoffer og fordi polymerkæderne spaltes, hvorved plastikken mister sin elasticitet. Slutmaterialet af genanvendelsesprocessen har derfor en lavere værdi end startmaterialet, og dette beskrives ofte som *down-cycling*. Det er et stort problem, da det giver lavere incitament for at genbruge plastik, samtidig med at det fastholder vores afhængighed af fossile råstoffer til syntese af ny plastik.

En alternativ løsning kan være biokatalytisk genanvendelse af plastik med enzymer. Ideen er ikke helt fjern, da mange typer af plastik kemisk set ligner naturlige polymerer, som planter producerer. Faktisk har flere enzymer,

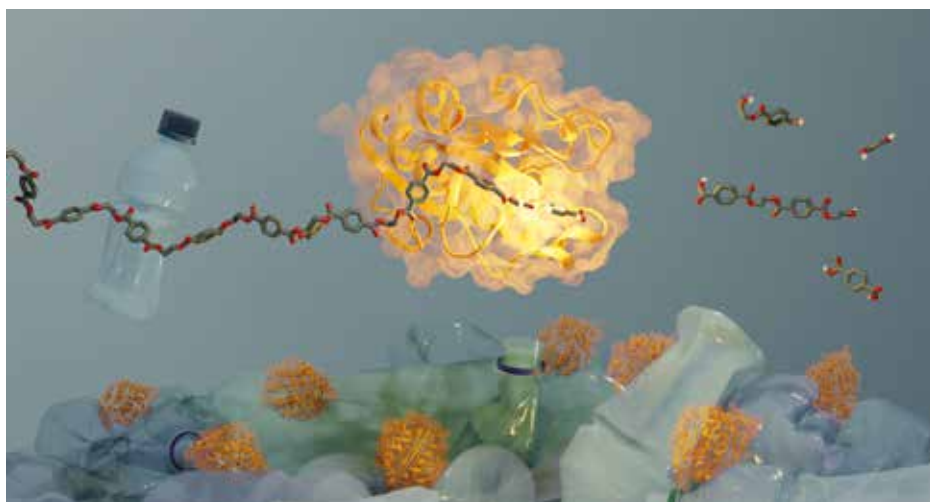
der nedbryder plantebiomasse, også en aktivitet (omend lav) på nogle syntetiske plastikpolymerer.

Fra nedbrydning af naturlige polymerer til nedbrydning af plastik

Planter har i millioner af år konverteret kuldioxid og vand til biomasse og ilt ved hjælp af fotosyntesen. En stor del af den biomasse, planterne producerer, er svært-nedbrydelige polymerer, som giver planterne den mekaniske styrke, vi kender fra træ og strå, beskytter dem mod fysiske og kemiske skader og minimerer vandtab fra cellerne. Polymererne er primært opbygget af kulbrinter og polysakkarider og inkluderer blandt andet lignin, cellulose og cutin (figur 2, side 8).

På trods af at polymererne er svært-nedbrydelige, har en række mikroorganismer, som svampe og bakterier, udviklet enzymer, der gør dem i stand til at nedbryde biomassen. Nedbrydningen forsyner organismene med energi og kemiske byggeklodser. Intens forskning på området har gjort, at vi i dag har kortlagt et enormt antal enzymer, som nedbryder biomasse. Mange af disse enzymer bliver brugt i industrien til blandt andet papirproduktion, tekstilforarbejdning, vaske-midler, foder- og fødevarerfremstilling samt produktion af biobrændsel. Nu håber forskere på, at enzymerne inden længe også kan bevæge sig ind i plastikgenanvendelsesindustrien.

Ligesom de plantebaserede polymerer er syntetiske plastikpolymerer makromolekyler, som er svært-nedbrydelige og uopløselige i vand. Betegnelsen plastik dækker over en lang række polymerer,



Figur 1. 3D-struktur af enzymer (orange), der nedbryder plastikpolymeren poly(ethylenterephthalat) (PET) (grå, rød og hvid) til mindre oligomerer og monomerer, der kan genanvendes til syntese af ny plastik.

DISCOVER the RHEOMETER with the Sensitivity • Ease-of-use • Versatility



**WHETHER FOR PROCESSING APPLICATION
OR R&D OR QC OR END USE PERFORMANCE**



Suitable For Products From Liquids To Solids



tainstruments.com

hvoraf polyurethan (PUR), polyethylen (PE), poly(ethylterephthalat) (PET), polystyren (PS), poly(vinylchlorid) (PVC) og polypropylen (PP) er nogle af de mest anvendte.

De kemiske bindinger bestemmer (bio) nedbrydeligheden

Mange typer af plastikpolymerer har udelukkende C-C bindinger i kæderne (for eksempel PP, PS, PE og PVC) (figur 2). Dette gør dem svære at nedbryde biokatalytisk. Nogle enzymer, der nedbryder C-C bindingerne i lignin i naturen, har dog vist sig også at have en vis grad af aktivitet på C-C bindingerne i visse typer af plastik.

Disse enzymer inkluderer laccaser, mangan peroxidaser og lignin peroxidaser og kan samlet betegnes som oxidoreduktaser. Oxidoreduktaser er enzymer, der bruger co-faktorer såsom metalioner til at katalysere redoxreakti-

tivitet på PET, mens andre enzymer som proteaser har vist aktivitet på PUR.

Fælles for de enzymer er, at de er hydrolaser. Hydrolaser er særligt egnede i industrien, da de giver en ensartet produktprofil. Nedbrydningsprodukterne, som i dette tilfælde vil være plastikmono- eller oligomerer, kan derefter genbruges til fremstilling af ny plastik med samme kvalitet som startmaterialet eller *up-cycles* til produkter af højere værdi.

Fremtidens enzymer designs i laboratorier

På trods af at flere plastiknedbrydende enzymer nu er identificeret, er der stadig et stykke vej til, at de er klar til at blive implementeret i industrielle processer. Enzymerne har gennem evolutionen tilpasset sig til netop det materiale, de nedbryder og de omgivelser, de befinder sig i. Det betyder, at en cutinase, som er optimeret til at nedbryde cutin, ofte har

der fører til de ønskede egenskaber blandt det astronomiske antal af mulige ændringer.

I et samarbejde mellem Novozymes og Danmarks Tekniske Universitet, støttet af Innovationsfonden, arbejder en række forskere på at udvikle hydrolytiske enzymer, der nedbryder PET. I første omgang handler det om at karakterisere enzymerne grundigt for at forstå flaskehalsen, altså hvad enzymerens aktivitet på det syntetiske substrat begrænses af.

I et nyere studie undersøgte enzymerens binding til PET-partikler [3]. Da enzymerne ikke naturligt er udviklet til at nedbryde PET, er en nærliggende tanke, at enzymerens evne til at binde til den syntetiske polymer er begrænset. Ved hjælp af karakterisering med blandt andet bindingsisoterm (figur 3) har det dog, lidt overraskende, vist sig, at mange af enzymerne har høj affinitet til PET.

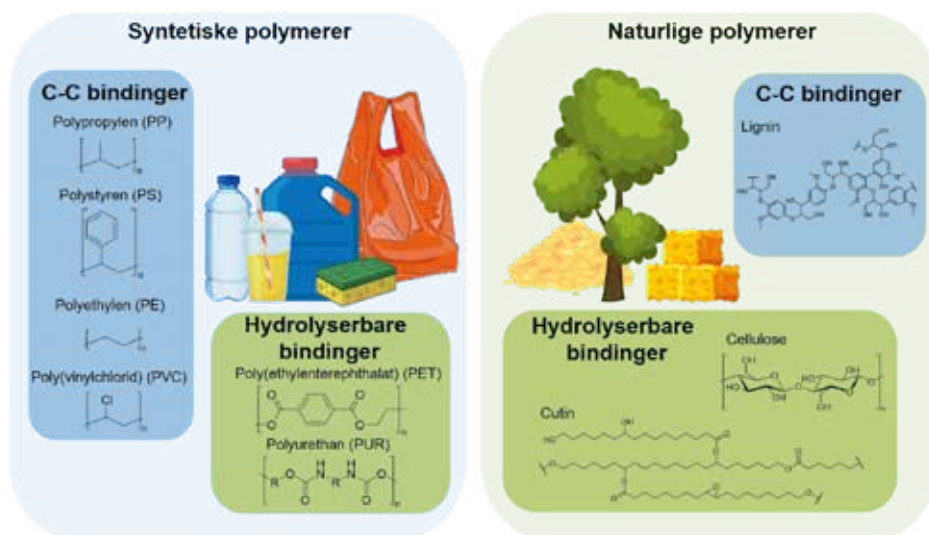
Ved at måle, hvor meget enzym der kunne bindes til PET-partikler, og sammenholde det med PET-partiklernes overfladeareal og enzymerens størrelse, kunne det fastslås, at plastikkens overflade blev dækket af et monolag af enzym allerede ved lave enzymkoncentrationer.

Desværre udløste den høje affinitet dog ikke høj aktivitet, og meget tyder på, at enzymerne i mange tilfælde binder uproduktivt til PET-partiklerne. Det vil sige, at de er bundet uden at katalysere en reaktion. Det står i kontrast til, hvad man normalt ser for enzymer, der arbejder på det materiale, de naturligt er tilpasset til, og det tyder på, at fremtidigt enzymdesign i laboratorierne bør fokusere på at få enzymerne til at binde mere specifikt. Nu ligger der en masse arbejde forude i at forstå, hvordan enzymerne skal modificeres for netop at opnå en bedre specifik interaktion med PET-polymerer.

Et felt i fremdrift

Forskningsaktiviteten inden for biokatalytisk PET-nedbrydning har været høj i de senere år, hvilket har været afgørende for udviklingen af verdens første enzymbaserede PET-genanvendelsesfabrik, som forventes at stå klar allerede i 2025.

Det er et stort skridt i den rigtige retning, og nu begynder interessen for at udbrede teknologien til nedbrydning af andre typer af plastik for alvor at vise sig. Et helt nyt samarbejde, støttet af Novo Nordisk Fonden, mellem Aarhus Universitet, Danmarks Tekniske Universitet, Teknologisk Institut og University of Porto, med start i efteråret 2022, skal



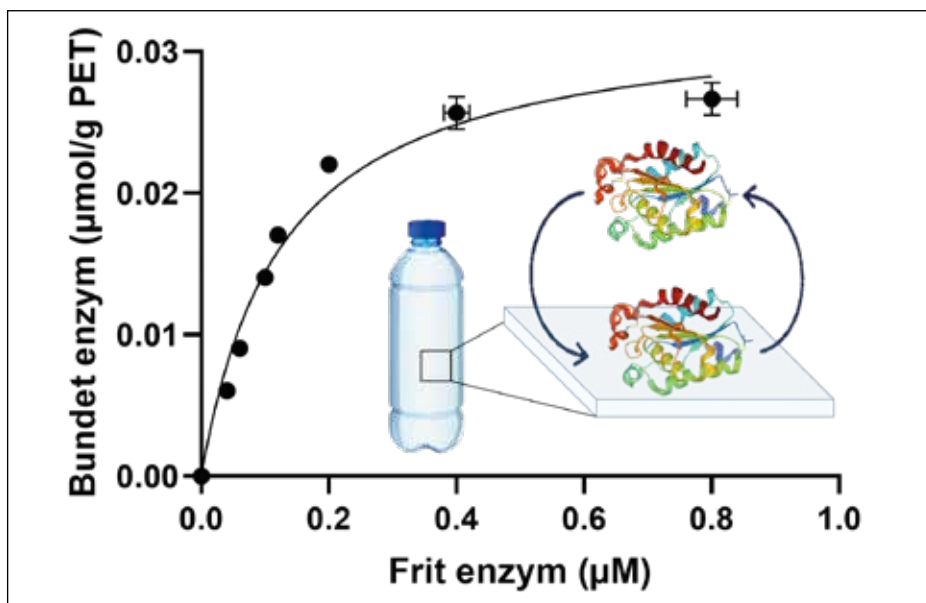
Figur 2. Overblik over syntetiske plastikpolymerer samt naturlige polymerer.

oner ved hjælp af en elektronacceptor og en elektrondonor.

Da redoxpotentialen, der kræves for at nedbryde C-C bindingerne i lignin, er betydeligt lavere end for C-C-bindingerne i for eksempel PE, er væsentlig nedbrydning normalt ikke muligt med enzymer alene. Derudover giver de enzymerkatalyserede redoxreaktioner en bred vifte af produkter, der er svære at arbejde videre med i industrien.

Til forskel kan de typer af plastik, der indeholder heteroatomer (typisk O og/eller N) i kæderne (som PET og PUR), reagere spontant med vand (figur 2). Sådanne hydrolytiske reaktioner forløber ekstremt langsomt uden katalysatorer. Imidlertid har en række enzymer, som for eksempel cutinaser, der i naturen nedbryder cutin, vist sig også at have ak-

lav aktivitet på PET. Derudover ønsker man meget stabile enzymer i industrien, som kan klare væsentligt højere temperaturer, end enzymerne normalt er tilpasset. Derfor arbejder mange forskere på at lave nye tilpassede enzymer, der er stabile og har høj aktivitet på den syntetiske polymer. På engelsk kaldes den type arbejde *enzyme engineering*, og det inkluderer en række discipliner som molekylærbiologi, bioinformatik, biofysik og kemi. Grundlæggende består *enzyme engineering* i at ændre lidt i sekvensen af de få hundrede aminosyrer, enzymet er opbygget af. Denne fremgangsmåde minder en smule om enzymerens naturlige evolution, og selv små modifikationer i sekvensen kan føre til væsentlige ændringer af enzyms egenskaber. Den store udfordring er at finde sekvenser,



Figur 3. Bindingsisoterm for et enzym på PET-partikler. I reaktionerne inkuberes varierende koncentrationer af enzym sammen med en fast mængde PET-partikler. Når der har indstillet sig en ligevægt, bestemmes koncentrationen af enzym i væskefasen. Ved at sammenholde med koncentrationen af tilsat enzym, kan man bestemme, hvor meget enzym der er bundet til PET-partiklerne.

undersøge enzymatisk nedbrydning af hærdeplast som blandt andet PUR (figur 2). Hærdeplast er en fællesbetegnelse

for plasttyper, der ikke kan smeltes efter formgivning og hærdning. De er særligt interessante, fordi de er meget svære at

erstatte med andre materialer, og fordi der ikke findes effektive genanvendelsesmetoder. Projektet vil kombinere flere discipliner som mikrobiologi, molekylærbiologi, biofysisk- og organisk kemi samt computersimuleringer til at få en grundlæggende forståelse af, hvordan enzymer kan bruges til at nedbryde plastikken. Hvis det lykkes, er vi måske inden længe endnu et skridt nærmere en grønnere fremtid med cirkulær økonomi, der mindsker både plastikforurening og vores afhængighed af fossile råstoffer.

E-mail:

Malene Billeskov Keller: mbike@dtu.dk

Kay S. Schaller: kaysc@dtu.dk

Peter Westh: petwe@dtu.dk

Referencer

1. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (2022), Global Plastics Outlook: Economic Drivers, Environmental Impacts and Policy Options.
2. Center for International Environmental Law (CIEL) (2017), Fueling Plastics: Fossils, Plastics, and Petrochemical Feedstocks.
3. Badino, S.F., et al. Adsorption of Enzymes with Hydrolytic Activity on Polyethylene Terephthalate. *Enzyme Microb. Technol.* (2021), 152, 109937.

LabDays 2022

- trade fair for laboratory technology

FREE TO ATTEND

- Trade fair
- Seminars
- Networking
- Annual meeting

Central in Copenhagen

labdays.dk



COPENHAGEN

7-8 SEPTEMBER