

SONDERDRUCK

aus

2 | 2022

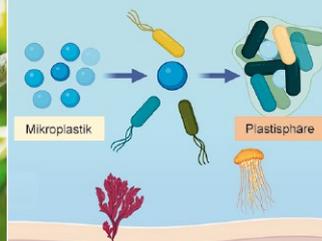
VBio

Verband | Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland



ZOOLOGIE

Monogamie bei
Springaffen



MIKROBIOLOGIE

Bakterien als
Plastikmüllabfuhr



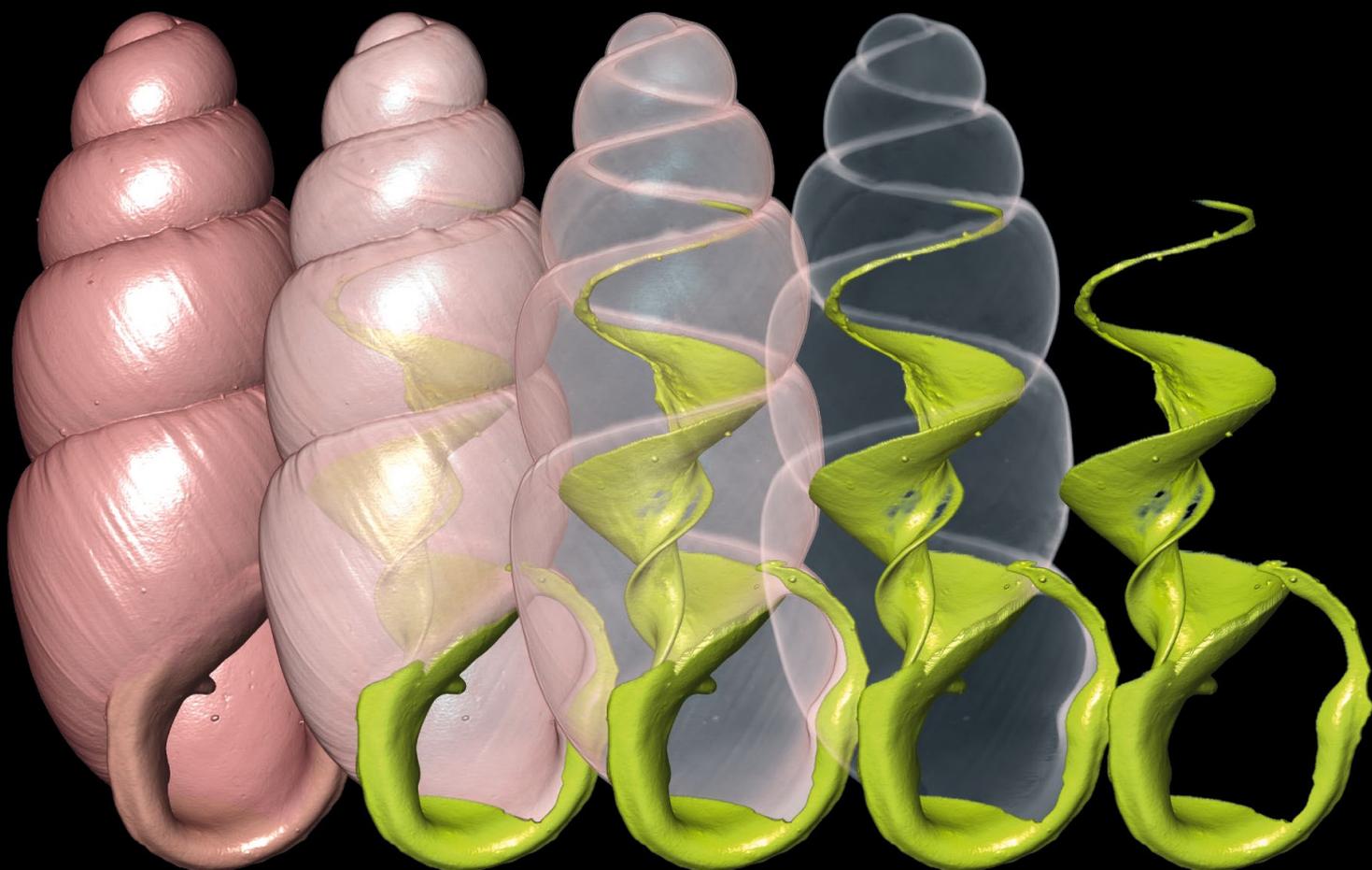
SCHULE

Die Immuno-Viren-
Show

BIOLOGIE

IN UNSERER ZEIT

**Mit Röntgen
in die dritte Dimension**





Können Mikroorganismen unser globales Plastikproblem lösen?

Bakterien als Plastikmüllabfuhr

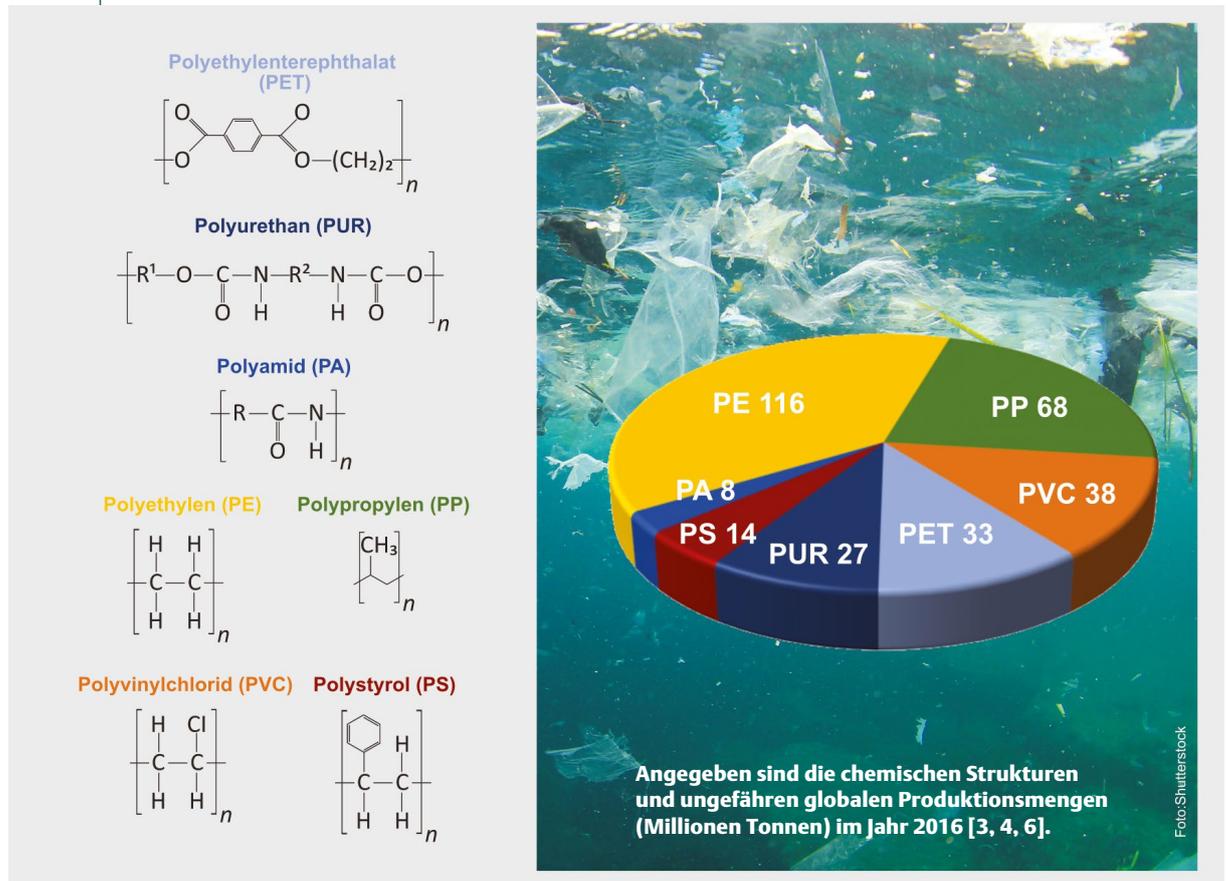
JENNIFER CHOW | LENA PREUSS | MARNO GURSCHKE | WOLFGANG STREIT

Plastikverschmutzung in der Umwelt stellt eine sehr bedeutende globale Herausforderung dar. Mittlerweile ist bekannt, dass es erste Mikroorganismen gibt, die in der Lage sind, einige der bekannten synthetischen Polymere abzubauen. Dazu nutzen sie mehr oder weniger zufällig sezernierte und promiskuitive Enzyme (Esterasen), die Esterbindungen, wie sie im Polyethylenterephthalat (PET) oder Polyurethan (PUR) vorkommen, spalten können. Diese Enzyme und die sie produzierenden Mikroorganismen haben ein großes Potenzial in der Biotechnologie, um ein besseres Recycling von Kunststoffen zu ermöglichen. Die Identifizierung solcher Enzyme macht zugleich Hoffnung, dass in der Natur zumindest einige synthetische Polymere über sehr lange Zeiträume abgebaut werden können.

Bakterien sind in der Lage, nahezu alle chemischen Verbindungen abzubauen. Aber können sie auch die sehr stabilen Kunststoffe zersetzen, die wir täglich verwenden und die mittlerweile die Umwelt in hohem Maße belasten? Ende der 30er Jahre des letzten Jahrhunderts wurden die ersten synthetischen Kunststoffe wie z. B. PET oder Nylon entwickelt und fanden rasch weltweit in vielen Bereichen eine breite Anwendung [1]. Die mittlerweile über 80 Jahre andauernde globale Nutzung von synthetischen Polymeren (Kunststoffen, Plastik) im Millionen-Tonnen-Maßstab und das Fehlen multinationaler Konzepte für Recycling und Kreislaufnutzung haben jedoch zu einer beispiellosen und scheinbar überwiegend irreversiblen Anhäufung von Plastik unterschiedlichster Größe in fast allen ökologischen Nischen geführt [2]. Dies geschieht zum einen dadurch, dass Kunststoffe, wie wir sie derzeit kennen, äußerst stabil und langlebig sind. Durch ihre Vielzahl an positiven Eigenschaften sind sie beispielsweise in der Medizin und Lebensmittelindustrie unverzichtbar geworden. Zum anderen werden sie in riesigen Mengen hergestellt und dies oft nur für eine einmalige Verwendung. Derzeit werden global etwa 360–450 Millionen Tonnen synthetischer Polymere pro Jahr produziert [3, 4].

Da es in den meisten Ländern keine Recyclingkonzepte gibt, landen weltweit mehr als 90 Prozent aller syntheti-

ABB. 1 | DIE WICHTIGSTEN SYNTHETISCHEN POLYMERE



schen Kunststoffe entweder auf Deponien oder sie werden direkt in die Umwelt entsorgt. Entsprechend finden wir heute selbst an den abgelegenen Orten sehr oft Plastikmüll in unterschiedlicher Größe und Form. Dabei entwickeln sich gerade die Weltmeere zu besonders großen Plastikmülldeponien. Denn hier landet besonders viel Plastik in unterschiedlicher Größe und Zusammensetzung [2–5]. Basierend auf diesen Schätzungen ist davon auszugehen, dass mittelfristig gerade kleinere Kunststoffpartikel (sogenanntes Mikroplastik mit einer Größe von <1 mm) in allen Nahrungsketten auftauchen und letztlich auch

Einfluss auf die Gesundheit und Ernährung des Menschen nehmen werden. Darüber hinaus ist ein Einfluss von Mikroplastik auf die globale Biodiversität zu erwarten [5].

Vor diesem Hintergrund – und um dieser globalen Herausforderung zu begegnen – ist es erforderlich, das Design und die Verwendung von Kunststoffen teilweise zu überdenken. Dabei gilt es, Konzepte zu entwickeln, die u. a. einen mikrobiellen Abbau und somit eine bessere zirkuläre Nutzung möglich machen. Hier kommen Bakterien und andere Mikroorganismen mit ihren vielfältigen Abbauebenen als sprichwörtliche Retter in der Not ins Spiel: Bekanntermaßen können Mikroorganismen nahezu alle chemischen Verbindungen und insbesondere sehr stabile natürliche Polymere wie Lignocellulose oder Algenpolymere (Cellulose, Hemicellulose, Alginat oder Agar) abbauen. Entsprechend ist die Frage berechtigt, ob sie auch die täglich genutzten Rohöl-basierten Kunststoffe abbauen können. Diese Frage ist jedoch nicht ganz einfach zu beantworten. Dies liegt zum Teil daran, dass unser Wissen über den mikrobiellen Kunststoffabbau eher spärlich ist, da der mikrobielle und enzymbasierte Kunststoffabbau erst seit wenigen Jahren untersucht wird. Mehrere Übersichtsartikel haben sich mit dem aktuellen Wissensstand zum enzymatischen Abbau beschäftigt [6, 7]. Die wichtigsten Aspekte daraus werden im Folgenden zusammenfasst.

IN KÜRZE

- Die Plastikvermüllung der Umwelt hat unvorstellbare Ausmaße angenommen. Während es für PET erste Abbauege und Enzyme gibt, sind für die meisten anderen **wichtigen Polymere keine Abbauenzyme** bekannt.
- PET wird durch sezernierte Enzyme aus der **Klasse der Esterasen** abgebaut und in seine Grundbausteine zerlegt.
- Diese PET-abbauenden Enzyme und Mikroorganismen, die am Abbau von Polymeren beteiligt sind, stellen eine wichtige Ressource für zukünftige Verfahren des **biotechnologischen Plastik-Re-Upcyclings** dar.

Welche Bindungen synthetischer Polymere müssen Mikroorganismen attackieren?

Zu den wichtigsten synthetischen Polymeren, die derzeit produziert werden und die von hoher ökonomischer Bedeutung sind, gehören: Polyurethane (PUR), Polyethylene (PE), Polyamide (PA), Polyethylenterephthalate (PET), Polystyrole (PS), Polyvinylchloride (PVC), Polymere auf Epoxidbasis (EP), Polypropylene (PP) und Reifengummi. Die wesentlichen synthetischen Polymere und ihre chemischen Bindungen sind in Abbildung 1 zusammen mit den globalen Produktionsmengen dargestellt. Diese Polymere werden mit Ausnahme des Reifengummis auf der Basis von Rohöl hergestellt und sind biologisch kaum oder gar nicht abbaubar. Während bei PET, PA und esterbasiertem PUR enzymatisch hydrolysierbare Esterbindungen vorliegen, können die Bindungen von PE, PS, EP, PP und etherbasiertem PUR wesentlich schwerer geknackt werden. So muss beispielsweise zunächst als möglicher Angriffspunkt eine Sauerstoffverbindung in die stabilen Kohlenstoffketten eingebaut werden, während PVC dechloriniert werden muss, bevor eine Biodegradation erfolgen kann.

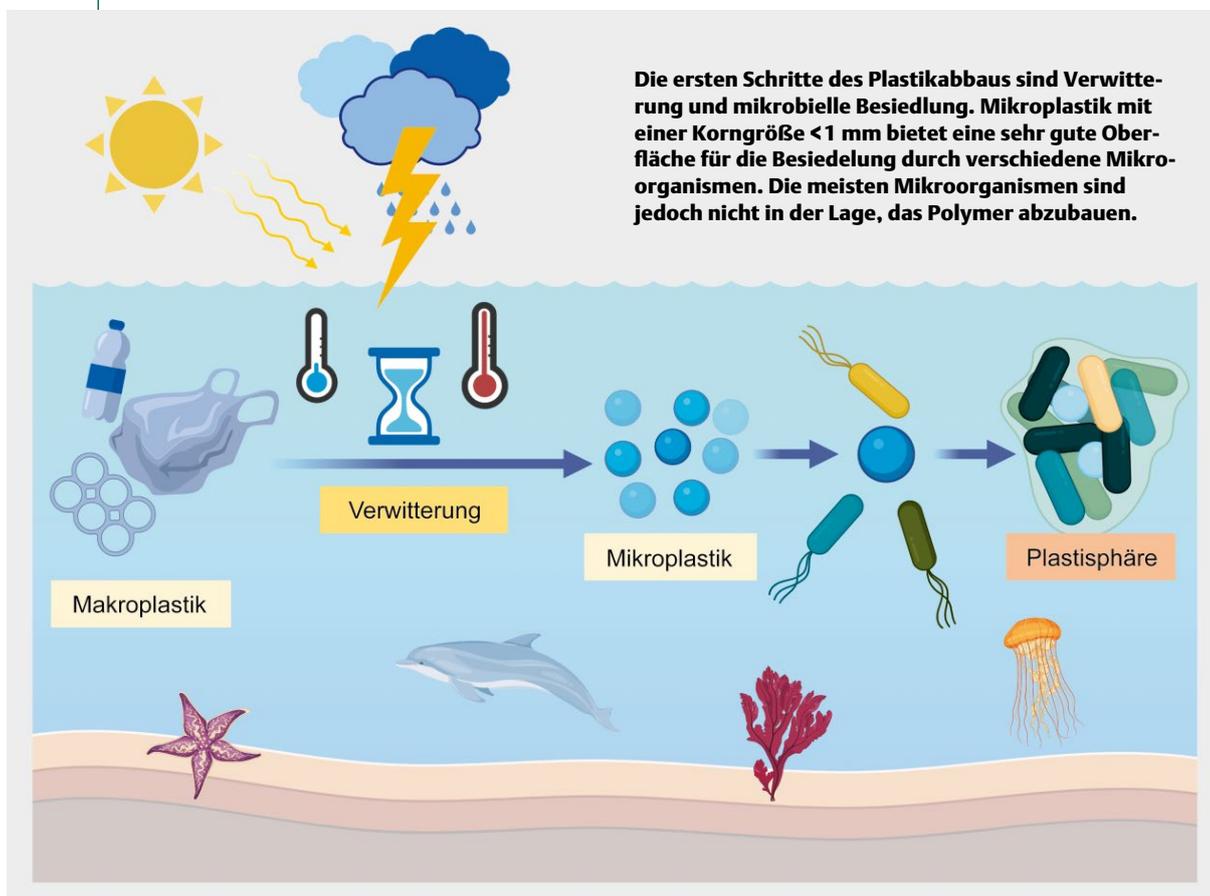
Der Hauptteil des Plastikmülls besteht entweder aus einzelnen der oben genannten synthetischen Polymere oder aus Misch-(Co-)Polymeren. Da letztere kaum sortenrein voneinander getrennt werden können, ist das Recyc-

ling von Mischpolymeren schwierig – eine Problematik, die ohne gesetzliche Vorgaben vermutlich nicht gelöst werden kann. Hinzu kommen variable Anteile an sogenannten Additiven, von denen es eine sehr große Vielzahl gibt, beispielsweise als Farb- und Füllstoffe, Licht- und Flammschutzmittel oder oberflächenaktive Zusatzmittel. Mit manchen Additiven (beispielsweise Weichmachern) können die Polymere flexibler und formbarer oder gar langlebiger gestaltet werden. Additive sind von ganz anderer chemischer Natur als das eigentliche Polymer und machen oft große Gewichtsanteile davon aus. So finden sich bei Reifen bis zu 40 Prozent Additive im eigentlichen Polymer. Meistens sind sie einfacher abbaubar als die eigentlichen Polymere.

Inwiefern trägt die abiotische Verwitterung zum biologischen Abbau bei?

Sobald Polymere in die Umwelt gelangen, beginnt eine erste Verwitterung, die nach langer Zeit (Monate bis Jahre) dazu führt, dass größere Plastikteile in kleinere Fragmente zerfallen (Abbildung 2). Niemand kann mit Sicherheit sagen, über welchen Zeitraum beispielsweise eine PET-Flasche in der Natur erodiert. Vermutlich ist eine grobe Schätzung von mindestens 10 bis zu einigen hundert Jahren ein realistischer Zeitraum. Die initiale Verwit-

ABB. 2 | ABBAU VON PLASTIK



Welche Bindungen synthetischer Polymere müssen Mikroorganismen attackieren?

Zu den wichtigsten synthetischen Polymeren, die derzeit produziert werden und die von hoher ökonomischer Bedeutung sind, gehören: Polyurethane (PUR), Polyethylene (PE), Polyamide (PA), Polyethylenterephthalate (PET), Polystyrole (PS), Polyvinylchloride (PVC), Polymere auf Epoxidbasis (EP), Polypropylene (PP) und Reifengummi. Die wesentlichen synthetischen Polymere und ihre chemischen Bindungen sind in Abbildung 1 zusammen mit den globalen Produktionsmengen dargestellt. Diese Polymere werden mit Ausnahme des Reifengummis auf der Basis von Rohöl hergestellt und sind biologisch kaum oder gar nicht abbaubar. Während bei PET, PA und esterbasiertem PUR enzymatisch hydrolysierbare Esterbindungen vorliegen, können die Bindungen von PE, PS, EP, PP und etherbasiertem PUR wesentlich schwerer geknackt werden. So muss beispielsweise zunächst als möglicher Angriffspunkt eine Sauerstoffverbindung in die stabilen Kohlenstoffketten eingebaut werden, während PVC dechloriniert werden muss, bevor eine Biodegradation erfolgen kann.

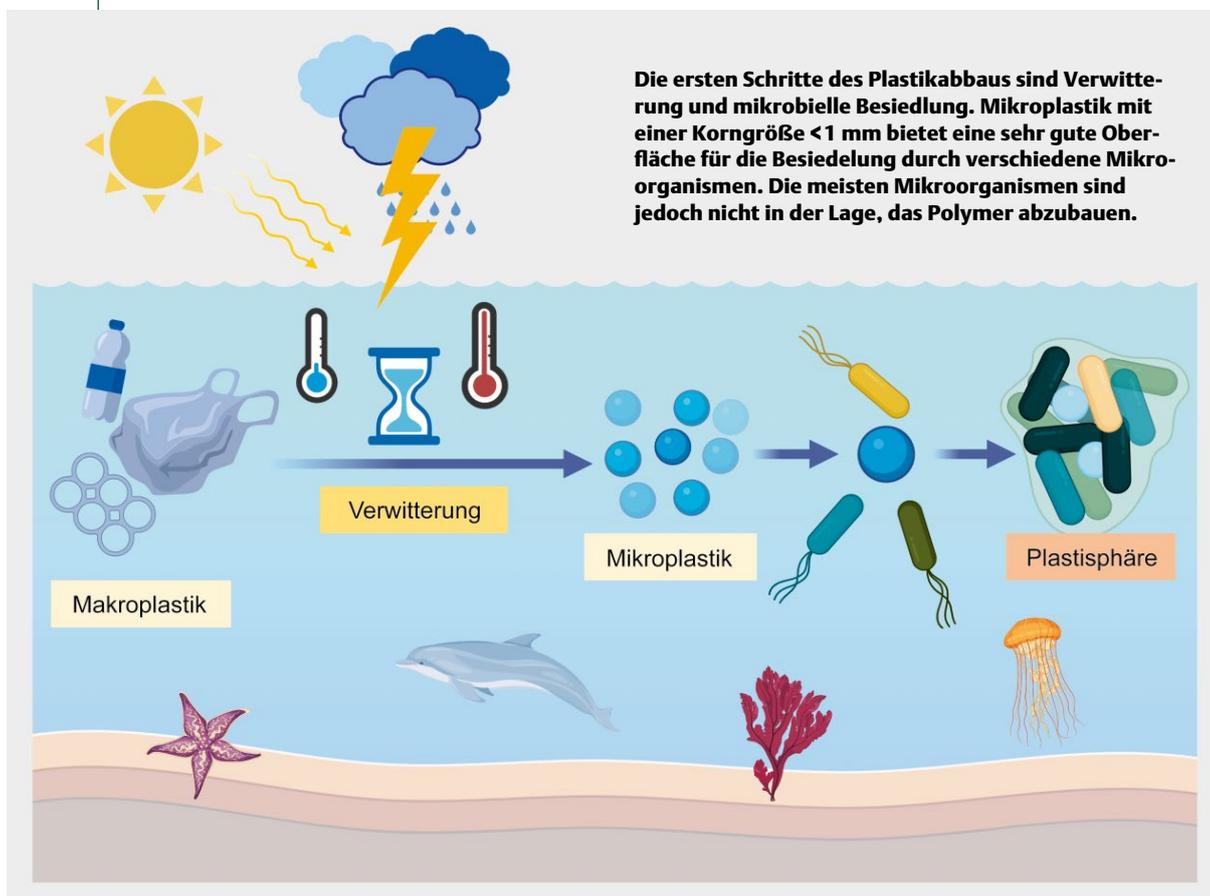
Der Hauptteil des Plastikmülls besteht entweder aus einzelnen der oben genannten synthetischen Polymere oder aus Misch-(Co-)Polymeren. Da letztere kaum sortenrein voneinander getrennt werden können, ist das Recyc-

ling von Mischpolymeren schwierig – eine Problematik, die ohne gesetzliche Vorgaben vermutlich nicht gelöst werden kann. Hinzu kommen variable Anteile an sogenannten Additiven, von denen es eine sehr große Vielzahl gibt, beispielsweise als Farb- und Füllstoffe, Licht- und Flammschutzmittel oder oberflächenaktive Zusatzmittel. Mit manchen Additiven (beispielsweise Weichmachern) können die Polymere flexibler und formbarer oder gar langlebiger gestaltet werden. Additive sind von ganz anderer chemischer Natur als das eigentliche Polymer und machen oft große Gewichtsanteile davon aus. So finden sich bei Reifen bis zu 40 Prozent Additive im eigentlichen Polymer. Meistens sind sie einfacher abbaubar als die eigentlichen Polymere.

Inwiefern trägt die abiotische Verwitterung zum biologischen Abbau bei?

Sobald Polymere in die Umwelt gelangen, beginnt eine erste Verwitterung, die nach langer Zeit (Monate bis Jahre) dazu führt, dass größere Plastikteile in kleinere Fragmente zerfallen (Abbildung 2). Niemand kann mit Sicherheit sagen, über welchen Zeitraum beispielsweise eine PET-Flasche in der Natur erodiert. Vermutlich ist eine grobe Schätzung von mindestens 10 bis zu einigen hundert Jahren ein realistischer Zeitraum. Die initiale Verwit-

ABB. 2 | ABBAU VON PLASTIK



terung kann dabei unterschiedlich vonstattengehen. Im Meer und am Strand wird beispielsweise die mechanische Bewegung der Wellen in Kombination mit Sand dazu führen, dass eine Plastikflasche in wenigen Monaten in kleinste Partikel zermahlen wird, ohne dass ein mikrobieller Abbau stattgefunden hat. Hinzu kommt, dass UV-Strahlung besonders solche Polymere angreift, die aromatische Verbindungen enthalten. Dies trifft gerade auf PET, aber auch auf viele Weichmacher zu. Die mechanische Verwitterung nimmt sicherlich auch Einfluss auf den Grad der Kristallinität der Polymere sowie deren Kettenlänge und letztendlich auch auf die Möglichkeit der Mikroorganismen, sich an die Polymere anzuheften und gegebenenfalls einzelne Fasern zu hydrolysieren. Als Folge der Verwitterung entsteht zunächst Mikroplastik (Durchmesser < 1 mm) und später Nanoplastik (Durchmesser < 1 µm). Durch die vergrößerte Oberfläche können sich Mikroorganismen besser anheften, die Partikel als Lebensraum erschließen und in Form eines Biofilms besiedeln [8].

Was versteht man unter Plastisphäre?

Da man davon ausgehen kann, dass sehr viele Mikroorganismen als komplexe Konsortien und Multispezies-Biofilme Plastikoberflächen besiedeln können, spricht man hier von der sogenannten „Plastisphäre“ [9, 10]. Die Besiedlung hängt mit hoher Wahrscheinlichkeit von den chemischen und physikalischen Eigenschaften des Polymers, den Oberflächeneigenschaften, der Ladung und den vorhandenen Additiven ab und ist keineswegs ein Zeichen für den enzymatischen Abbau der Polymere. Nur ein sehr kleiner Bruchteil der Mikroorganismen aus der Plastisphäre ist in der Lage, die Polymere enzymatisch abzubauen. Stattdessen bieten die Mikro- und Nanopartikel sehr gute Transportmöglichkeiten für Mikroorganismen, die sich auf den Partikeln in der Wassersäule halten und damit durch den Ozean schwimmen können. So gibt es erste Hinweise, dass sich auffällig häufig fisch- und humanpathogene Vibrionen auf den Partikeln ansammeln. Des Weiteren wurden im Rahmen verschiedener Studien mehrere Bakterienfamilien beschrieben, die auf einer Vielzahl von marinen Plastikproben an verschiedenen Standorten nachgewiesen werden konnten, darunter *Nannocystaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Planctomycetes*, *Saprospiraceae*, *Erythrobacteraceae*, *Hyphomonadaceae* und *Rhodobacteraceae* [9, 10].

Wie erfolgt der mikrobielle und enzymatische Abbau?

In der Literaturliteraturbank PubMed gibt es heute über 2.500 Einträge zu Studien, die zeigen, dass unterschiedliche Polymere mikrobiell abgebaut werden können. Die große Mehrzahl dieser Arbeiten hat jedoch den Gewichtsverlust als Indikator für mikrobiellen Abbau genutzt. Oft sind es aber die Additive, die abgebaut wurden, und nicht das eigentliche Polymer. Nur sehr wenige Studien haben tatsächlich den Abbau der Polymere gezeigt,

wobei es für die Mehrzahl der synthetischen und hochkristallinen Polymere keine beschriebenen mikrobiellen Abbauwege oder Enzyme gibt. Dazu zählen zum Beispiel PVC, PE, PS, etherbasierte PUR sowie PA. Ebenso gibt es keine mikrobiellen Enzyme, die den Abbau von vielverwendeten Epoxypolymeren ermöglichen. Für die meisten chemischen Bindungen – wie z. B. im PE – ist nicht klar, wie diese enzymatisch gespalten werden. Ob dabei oxidative Prozesse beteiligt sind, die an vielen Stellen im Polymer zufällig Oxygenierungen einführen, ähnlich wie beim Ligninabbau, muss erst noch gezeigt werden. Für Oligomere von PA ist hingegen ein Abbau ebenso beschrieben wie für die Monomere von PS. Recht gut untersucht ist der Abbau von PET; hier konnten bereits beteiligte Mikroorganismen und Enzyme identifiziert werden. Die Enzyme gehören alle zu den Cutinasen [EC (*enzyme category*) 3.1.1.74], Lipasen (EC 3.1.1.3) oder Carboxylesterasen (EC 3.1.1.1) und können nur amorphes und niedrigkristallines PET hydrolysieren. Dies geschieht jeweils vom Ende einer Faser her in einer Art Exospaltung. Die PET-aktiven Enzyme (PETasen) hydrolysieren die Esterbindung am Ende der Polymerkette, um entweder Bis-hydroxyethylterephthalat (BHET), Monohydroxyethylterephthalat (MHET) oder Terephthalsäure (TPA) und Ethylenglykol (EG) herzustellen. MHET kann anschließend durch eine spezifische MHETase gespalten werden, während die TPA-Monomere durch Spaltung der aromatischen Ringstruktur über bekannte Arylabbauwege abgebaut werden.

Erstmals wurde der Abbauweg für PET in dem Bakterium *Ideonella sakaiensis* beschrieben [11]. Mittlerweile ist er auch in anderen Bakterien entdeckt worden. Abbildung 3 fasst die wesentlichen Schritte des enzymatischen Abbaus bis hin zum TPA und EG zusammen. In diesem Zusammenhang ist es erwähnenswert, dass einige Organismen TPA aufnehmen und verstoffwechseln können. Hierzu gehören zum Beispiel *Burkholderia xenovorans* und *Comamonas testosteroni*. Diese Bakterien profitieren vermutlich davon, dass sich ein PET-aktiver Organismus in der Nähe aufhält. Für den TPA-Transport in die Zelle ist ein ABC-Transporter (bestehend aus TpiA, TpiB und TpiC) verantwortlich, dessen Expression unter der Kontrolle eines LysR-Regulators steht (TphR) [12].

Welche Mikroorganismen bauen PET in der Natur ab?

Bis heute sind nur wenige Organismen dafür bekannt, amorphes PET abzubauen zu können. Die meisten Bakterienisolate gehören zum Phylum der Gram-positiven Actinobacteria [13–15]. Dabei stammen die am besten charakterisierten Enzyme aus Mikroorganismen, die den Gattungen *Thermobifida* oder *Thermomonospora* zuzuordnen sind [16]. Auch die aus dem Metagenom eines Komposts gewonnene Cutinase LCC ist ein actinobakterielles Enzym und stellt derzeit eine der aktivsten und am besten charakterisierten PETasen dar [17].

Ein weiteres sehr bekanntes Beispiel ist das Gram-negative Betaproteobakterium *Ideonella sakaiensis* 201-F6. Es kann amorphes PET als Hauptenergie- und Kohlenstoffquelle nutzen. Der Organismus verfügt neben der PETase über ein zweites Enzym, das für den Abbau von Monohydroxyethylterephthalat wichtig ist, die sogenannte MHETase [18]. Daneben wurden eine Reihe anderer PETasen identifiziert, die ebenfalls den Proteobakterien zuzuordnen sind. Hier sind zum Beispiel die PET-aktiven Esterasen aus *Pseudomonas aestusnigri* [19] oder *Vibrio gazogenes* [20] zu nennen. Auch kennt man neuerdings Enzyme, die PET abbauen und aus den Bacteroidetes stammen [21].

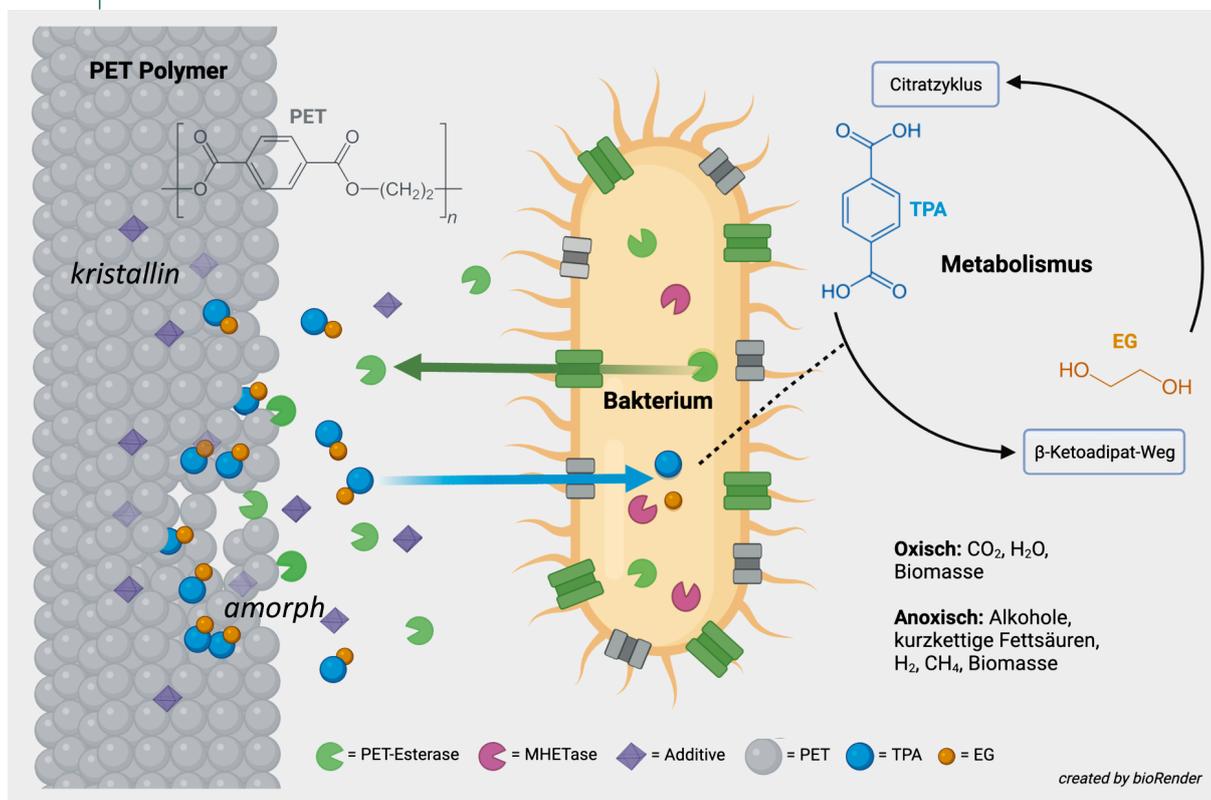
Allerdings fehlen uns bisher Daten, die zeigen, dass diese Enzyme in der Natur aktiv sind und tatsächlich Plastik im Meer oder im Boden abbauen. Da einige dieser Organismen jedoch global vorkommen, ist es durchaus wahrscheinlich, dass sezernierte Enzyme mit geringer Rate PET umsetzen und dabei einen Beitrag zur Reduktion der Plastikverschmutzung leisten. Man muss jedoch davon ausgehen, dass dies sehr langsame Prozesse sind. Abbildung 4 gibt einen Überblick über alle bisher bekannten Mikroorganismen, die PET abbauen können. Daneben gibt es auch Enzyme aus den Eukaryoten *Thermomyces (Humicola) insolens* und *Fusarium solani* [22].

Darüber hinaus gibt es mittlerweile einige Publikationen zum möglichen mikrobiellen Abbau von Polymeren durch die Mikrobiota verschiedener Insekten wie zum Beispiel der Wachsmotte (*Galleria melonella*) [23]. Leider fehlen weiterreichende analytische Daten, die tatsächlich zeigen, dass Polymere wie PS oder PE dadurch in signifikanten Mengen abgebaut werden. Wohl kann man davon ausgehen, dass Insekten mit ihren Mundwerkzeugen Polymere mechanisch zerkleinern und damit zur Verwitterung beitragen. So können Eukaryoten in der Lage sein, das Material für ein entsprechendes Mikrobiom vorzubereiten. Zukünftige Studien müssen nun zeigen, ob und in welcher Form Insekten bzw. deren Mikrobiota zum Abbau von synthetischen Polymeren beitragen.

Wie entstehen PET-abbauende Enzyme in der Natur?

Gewisse Enzyme sind im Laufe der Jahre evolviert und haben „gelernt“ PET umsetzen. Prinzipiell ist wohl davon auszugehen, dass es keine Ur-PET-Esterase im engeren Sinne gibt, die ausschließlich PET abbaut. Vielmehr sind Esterasen relativ promiskuitive Enzyme und setzen mehr als ein Substrat um. Es gibt Esterasen und Lipasen, die über 80 verschiedene Substrate angreifen [24]. Bei den PET-abbauenden Enzymen kann man davon ausgehen,

ABB. 3 | MIKROBIELLER ABBAU VON PET



Die Bakterien können nur in amorphen Regionen am Polymer angreifen. Sie sezernieren Exoenzyme, die das Polymer in MHET, BHET, TPA und EG spalten. Diese Verbindungen können von den Zellen aufgenommen und im Stoffwechsel verwendet werden.

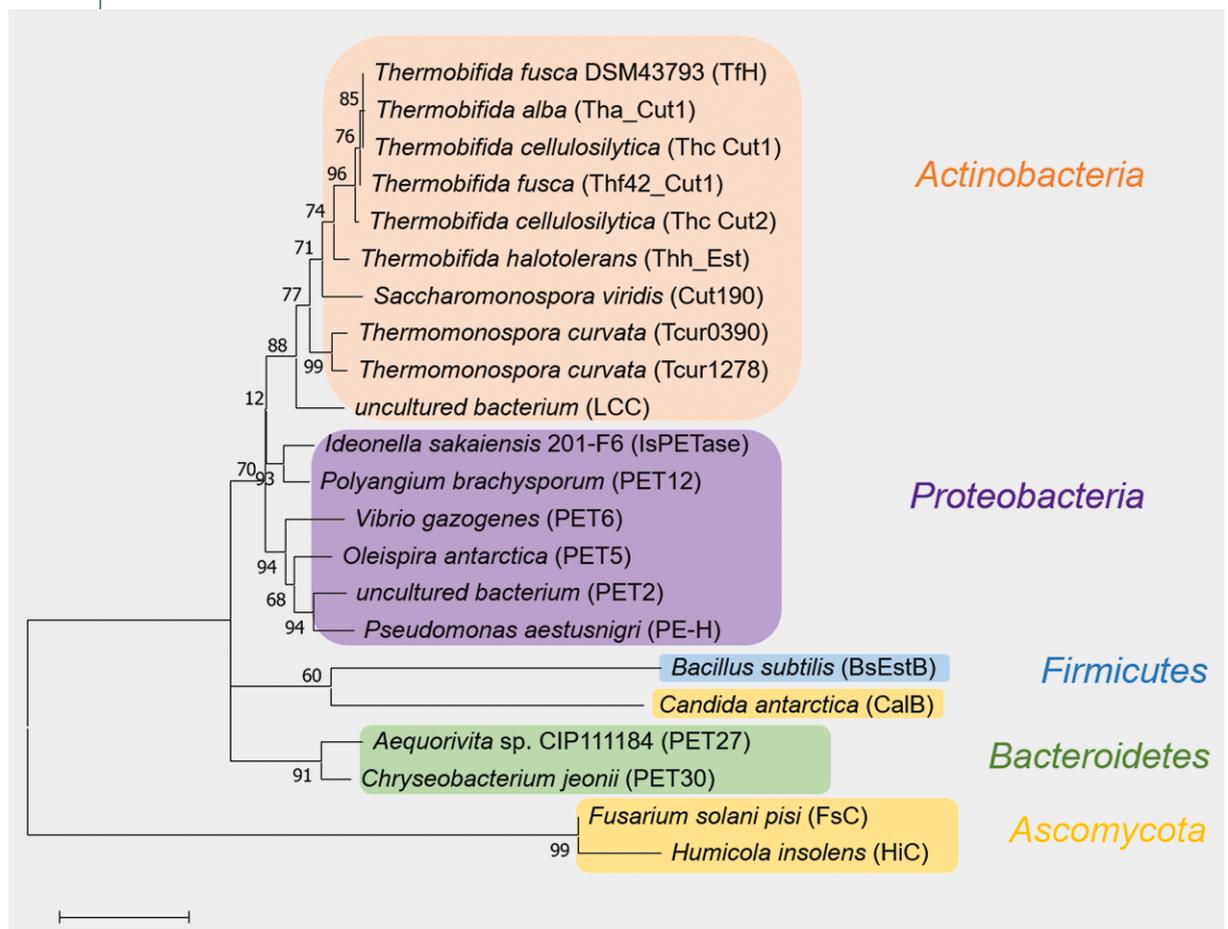
dass es sich um solche promiskuitiven Enzyme handelt, die ohnehin in den Organismen vorkommen und von denen über die Jahre Varianten selektiert wurden, die die vermehrt auftretenden Polymeren effektiver abbauen konnten. Von daher ist es wahrscheinlich, dass unter hohem Selektionsdruck ein Enzym, das PET initial mit geringerer Rate umsetzt, in der Natur über die Jahrzehnte zu einem effektiveren Plastik-abbauenden Enzym evolviert. Wichtig ist dabei, dass diese Enzyme von der Zelle in die Umgebung sezerniert werden und auf diese Weise an das Polymer gelangen. Es ist unwahrscheinlich, dass das Polymer die Sekretion der Enzyme induziert. Vielmehr sollten die heute bekannten PET-aktiven Enzyme entweder konstitutiv in der Zelle hergestellt und sezerniert werden oder andere Abbauprodukte induzieren ihre Biosynthese. Letztendlich können die Spaltprodukte des PET-Polymeren wie Mono- oder Bishydroxyethylterephthalat, Terephthalsäure und Ethylenglykol von Zellen aufgenommen werden. Da eine Bakterienart in der Natur nie allein anzutreffen ist, können auch andere Bakterienarten von den Ab-

bauprodukten profitieren. Dies kann in einem stabilen mikrobiellen Konsortium oder in einem Verbund mit anderen Organismen geschehen, wenn es langfristig zum Beispiel energetisch vorteilhaft ist. Klar ist aber, dass die Polymere nicht intrazellulär, sondern immer extrazellulär hydrolysiert werden müssen, um die Oligo- und Monomere nutzbar zu machen.

Wie läuft die Suche nach neuen plastikabbauenden Enzymen ab?

Für die Suche nach neuen Enzymen bieten sich unterschiedliche sequenz- oder funktionsbasierte Methoden an. Der funktionsbasierte Ansatz beinhaltet klassische Anreicherungs- und Kultivierungsstrategien. Anreicherungen mit Hilfe eines Substrats, das zersetzt werden soll, haben zwar bisher bereits zur Identifizierung einiger sehr effektiver Enzymkandidaten geführt. Sie haben aber den Nachteil, dass sie sehr zeitaufwändig sind. Hinzu kommt, dass man sehr oft Mikroorganismen anreichert, die die Additive und nicht das Polymer abbauen. Zudem wird man mit

ABB. 4 | PHYLOGENETISCHER STAMMBAUM DER PET-ESTERASEN



Zurzeit sind ca. 30 verifizierte Enzyme aus fünf Phyla bekannt. Der Stammbaum wurde auf Grundlage der Aminosäuresequenzen von der Mehrzahl der bekannten PET-Esterasen berechnet [21].

Hilfe klassischer Anreicherungen keinen Zugang zu der großen Mehrheit der nicht kultivierbaren Mikroorganismen bekommen – immerhin 99,8 Prozent aller Mikroorganismen wachsen nicht unter Laborbedingungen [25].

Am besten geeignet für die Suche nach plastikabbauenden Enzymen sind daher moderne Genom- und Metagenom-basierte Technologien, die bioinformatisch auf Sequenzebene angewendet werden. Darunter ist die sogenannte HMM-Motiv-Suche (HMM steht für *Hidden-Markov-Model*) in Metagenomdatensätzen eine der erfolgreichsten Methoden und liefert in relativ kurzer Zeit sehr viele potenzielle Kandidaten. Bei diesem Vorgehen werden die Sequenzen bereits bekannter plastikabbauender Enzyme übereinandergelegt, um konservierte Aminosäuremotive zu identifizieren. Diese Sequenzmotive fließen in das HMM ein, um mögliche homologe Enzymkandidaten aus globalen Proteindatenbanken zu identifizieren [26]. Dies bietet den Vorteil, dass in relativ kurzer Zeit große Datenmengen durchmustert werden können. Gefundene Kandidaten müssen anschließend experimentell verifiziert und strukturell sowie biochemisch charakterisiert werden. Sobald neue Enzyme gefunden wurden, die nachweislich Plastik abbauen können und gute Umsatzraten aufweisen, können diese mit Hilfe evolutiver Verfahren verbessert werden. Sogenannte *Directed-Evolution*-Ansätze sind sehr geeignet, um unter Einbeziehung der strukturellen Information gezielt Mutationen (Aminosäureaustausche) in den für die Katalyse und Substratbindung wichtigen Bereichen des Enzyms einzubringen. Darüber hinaus können Ansätze der synthetischen Biologie genutzt werden, um beispielsweise zusätzliche Substrat- und Polymerbindestellen einzufügen.

Wo liegen die Herausforderungen bei der Suche nach plastikabbauenden Enzymen?

PET ist derzeit das am besten untersuchte Polymer mit mehr als 30 bekannten Enzymen, die es spalten können. Dabei bestehen auch bei diesem Modellsystem noch große Wissenslücken über die molekularen Details des PET-Abbaus. Wir wissen im Grunde nicht, wie die Enzyme an die Fasern binden und wie die Enzyme die Kristallinität des Polymers beeinflussen. Neben den PET-abbauenden Enzymen sind mittlerweile erste Enzyme bekannt, die esterbasierendes PUR abbauen. Auch hier handelt es sich um Esterasen. Relativ gut charakterisierte Enzyme stammen aus Pseudomonaden [27, 28] und Actinobakterien [29]. Besonders dringend benötigen wir Enzyme für den Abbau von etherbasiertem PUR. Ebenfalls gibt es nur wenige Enzyme, die PA-Oligomere (Nylon-Oligomere) abbauen können [30–33]. Hier muss eine Amidbindung gespalten werden, wofür Amidohydrolasen (E.C. 3.1.5.xxx) benötigt werden. Insgesamt sind derzeit für die Mehrzahl der verwendeten Polymere noch gar keine Abbauenzyme bekannt. So fehlen Biokatalysatoren für kristallines PE, PVC, PP, PS, EP, PA und PUR auf Etherbasis [6, 7], die den Großteil aller synthetischen Polymere ausmachen. Daher ist die

Identifizierung neuer mikrobieller Enzyme und Reaktionswege eine wichtige und dringende Aufgabe.

Darüber hinaus ist die Entwicklung biotechnologischer Verfahren zum Abbau von Mischkunststoffen im industriellen Maßstab eine weitere Herausforderung, ebenso wie das Auffinden neuer plastikaktiver Mikroorganismen und die Entschlüsselung wichtiger Pfade beim Abbau von Mikro- und Nanoplastik in der Umwelt. Diese Aufgaben sollten nachdrücklich im Fokus aktueller Forschungsarbeit stehen. Sobald wir den molekularen und strukturellen Mechanismus des Polymerabbaus vollständig verstanden haben, lässt sich das Wissen für industrielle Prozesse im großen Maßstab nutzen. Möglicherweise können wir die Entwicklung und Synthese dieser Polymere so vorantreiben, dass sie biologisch leichter abgebaut werden können. Bereits seit längerem existierende biobasierte und biologisch abbaubare Kunststoffe wie beispielsweise Polyhydroxybuttersäure oder Polymilchsäure konnten sich nämlich bisher in vielen Anwendungsbereichen noch nicht gegen Plastiksarten aus fossilen Rohstoffen durchsetzen.

Welche biotechnologischen Verfahren sind bekannt, die beim PET-Upcycling helfen?

Beim mikrobiellen Abbau von Polymeren werden unterschiedliche biotechnologische Konzepte verfolgt, die letztendlich alle zum Ziel haben, den Lebenszyklus der Polymere (oder ihrer Bausteine) zu verlängern und somit die Nachhaltigkeit zu verbessern. Hierbei ist zu bedenken, dass nahezu die Hälfte aller Kunststoffe ohnehin nur einmal verwendet und dann entsorgt wird. Vor diesem Hintergrund werden derzeit verschiedene Ansätze verfolgt:

1. Enzymatischer Abbau von PET und anderen Plastiksor-ten in ihre Monomere und Verwertung dieser als Bau-steinen für neue Wertstoffe. So wurde kürzlich gezeigt, dass PET effizient zu Vanillin umgewandelt werden kann [34]. Besonders lohnend scheint es zu sein, TPA zu nutzen, um höherwertige Chemikalien daraus her-zustellen. Marktwirtschaftlich zahlt sich dies jedoch im Moment noch nicht aus.
2. Enzymatisches Recycling und Umbau der einmal ver-wendeten Polymere, um sie wieder als neue Polymere einzusetzen.
3. Reparatur und Glätten beschädigter Polymerfasern durch Enzyme in der Waschmittel- und Textilindus-trie.

Neben den biotechnologischen Prozessen ist auch die Ent-wicklung von Nachweisverfahren für Mikro- und Nano-plastik mit Hilfe biologischer Verfahren von großer Bedeu-tung. Dabei könnten Plastikbindeproteine eine wichtige Rolle spielen. Mit Hilfe dieser Ansätze könnte es langfrist-ig gelingen, das globale Plastikvermüllungsproblem durch die konsequente Weiterentwicklung mikrobieller und biotechnologischer Konzepte in den Griff zu bekommen. Während man bei den oben angesprochene Verfahren von

Upcycling spricht, sind viele der derzeit verfolgten Verwertungskonzepte im Bereich des Downcyclings angesiedelt, denn Recyclate haben meist nicht dieselbe hohe Qualität wie die Ausgangsmaterialien. Die derzeit bereits großtechnisch angewendeten alternativen Verfahren zum Upcycling sind vor allen Dingen das thermische Recycling, also das Verbrennen, um daraus Energie zu gewinnen, sowie die Verwertung als Füllstoff in Beton, Zement und Straßenbelägen. Generell trifft für alle Verfahren mit Ausnahme der thermischen Verwertung zu, dass sie zu einer Verlängerung der Lebensdauer der Polymere beitragen. Dies ist prinzipiell im Sinne der Nachhaltigkeit von Vorteil. Ob alle Verfahren jedoch nachhaltig sind, muss mit Hilfe komplexer Ökobilanzierungen ermittelt werden und wird eine der zukünftigen Herausforderungen sein, die wir bewerkstelligen müssen, um synthetische Polymere sinnvoll in einer nachhaltigen Bioökonomie zu nutzen.

Zusammenfassung

Trotz erster Erfolge beim mikrobiellen PET-Abbau gibt es für die meisten Plastiksorten keine bekannten mikrobiellen Abbaupfade. Mikrobieller Abbau von synthetischen Polymeren (Kunststoffen oder Plastik) ist ein wichtiges Forschungsfeld, das sich gerade erst entwickelt. Erste Erfolge zeigen, dass amorphes PET und auf Esterbindungen aufgebautes PUR durch Enzyme (Esterasen und Cutinasen) zumindest unter Laborbedingungen abbaubar sind. Das ist vielversprechend und liefert die Grundlage für erste biotechnologische Re- und Upcycling-Verfahren. Auch gibt es erste Hinweise darauf, dass PET in der Natur durch sezernierte Enzyme über sehr lange Zeiträume abgebaut werden kann. Für die große Mehrzahl (> 85%) der synthetischen und auf Rohöl basierenden Polymere gibt es jedoch zurzeit keine gesicherten Erkenntnisse über mögliche Abbaupfade und daran beteiligte Enzyme. Hier besteht weiterhin sehr großer Forschungsbedarf.

Summary

Bacteria as waste disposal service

Despite initial successes in microbial PET degradation, there are no known microbial degradation pathways for most types of plastic. Microbial degradation of synthetic polymers (synthetics or plastic) is an important research area that is just emerging. Initial successes show that amorphous PET and PUR based on ester bonds can be degraded by enzymes (esterases and cutinases), at least under laboratory conditions. This is promising and provides the basis for the first biotechnological recycling and upcycling processes. There are also first indications that PET can be degraded in nature by secreted enzymes over a very long period of time. Notably, for the vast majority (> 85%) of synthetic and crude oil-based polymers, however, there is still no reliable knowledge of possible degradation pathways and the microbial enzymes involved. Here in particular, there is still a great need for research.

Schlagworte:

Mikrobieller Plastikabbau, Plastikmüll, Enzyme, Mikroplastik, Esterasen, Cutinasen.

Literatur

- [1] American Chemical Society National Historic Chemical Landmarks. Foundations of Polymer Science: Wallace Carothers and the Development of Nylon. <http://www.acs.org/content/acs/en/education/whatischemistry/landmarks/carotherspolymers.html> (abgerufen am 12. Dezember 2021).
- [2] J. R. Jambeck et al. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347, 768–771.
- [3] PlasticsEurope (2018). *Plastics—The Facts 2018: An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data*.
- [4] Mac Arthur Foundation. 2017. *The New Plastics Economy*.
- [5] D. Hu et al. (2019). Microplastics and nanoplastics: would they affect global biodiversity change? *Environmental Science and Pollution Research* 26, 19997–20002.
- [6] D. Danso et al. (2019). Plastics: Microbial Degradation, Environmental and Biotechnological Perspectives. *Appl Environ Microbiol* <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>
- [7] R. Wei et al. (2017). Microbial enzymes for the recycling of recalcitrant petroleum-based plastics: how far are we? *Microbial biotechnology* 10, 1308–1322.
- [8] H.-C. Flemming et al. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology* 14, 563–575.
- [9] L. A. Amaral-Zettler et al. (2020). Ecology of the plastisphere. *Nature Reviews Microbiology* 18, 139–151.
- [10] I. V. Kirstein et al. (2019). The Plastisphere – Uncovering tightly attached plastic “specific” microorganisms. *PLOS ONE* 14, e0215859.
- [11] I. Taniguchi et al. (2019). Biodegradation of Pet: Current Status and Application Aspects. *ACS Catal* 9, 4089.
- [12] M. Hosaka et al. (2013). Novel tripartite aromatic acid transporter essential for terephthalate uptake in *Comamonas* sp. strain E6. *Applied and environmental microbiology* 79, 6148–6155.
- [13] K. Hegde, V. D. Veeranki (2013). Production optimization and characterization of recombinant cutinases from *Thermobifida fusca* sp. NRRL B-8184. *Appl Biochem Biotechnol* 170, 654–675.
- [14] D. Ribitsch et al. (2017). Small cause, large effect: Structural characterization of cutinases from *Thermobifida cellulositytica*. *Biotechnol Bioeng* 114, 2481–2488.
- [15] E. Herrero Acero et al. (2011). Enzymatic surface hydrolysis of PET: effect of structural diversity on kinetic properties of cutinases from *Thermobifida*. *Macromolecules* 44, 4632–4640.
- [16] R. Wei et al. (2019). Biocatalytic Degradation Efficiency of Post-consumer Polyethylene Terephthalate Packaging Determined by Their Polymer Microstructures. *Advanced science* (Weinheim, Baden-Württemberg, Germany) 6, 1900491–1900491.
- [17] S. Sulaiman et al. (2012). Isolation of a novel cutinase homolog with polyethylene terephthalate-degrading activity from leaf-branch compost by using a metagenomic approach. *Appl Environ Microbiol* 78, 1556–1562.
- [18] S. Yoshida et al. (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science* 351, 1196–1199.
- [19] A. Bollinger et al. (2018). The biotechnological potential of marine bacteria in the novel lineage of *Pseudomonas pertucinogena*. *Microb Biotechnol*, <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13288>
- [20] D. Danso et al. (2018). New Insights into the Function and Global Distribution of Polyethylene Terephthalate (PET)-Degrading Bacteria and Enzymes in Marine and Terrestrial Metagenomes. *Appl Environ Microbiol* 84, <https://doi.org/10.1128/AEM.02773-17>
- [21] H. Zhang et al. (2022). The Bacteroidetes *Aequorivita* sp. and *Kaistella jeonii* Produce Promiscuous Esterases with PET-Hydro-

- lyzing Activity. *Frontiers in Microbiology* 12, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.803896>
- [22] A. M. Ronkvist et al. (2009). Cutinase-Catalyzed Hydrolysis of Poly(ethylene terephthalate). *Macromolecules* 42:5128–5138.
- [23] P. Bombelli et al. (2017). Polyethylene bio-degradation by caterpillars of the wax moth *Galleria mellonella*. *Current Biology* 27, R292-R293.
- [24] M. Martinez-Martinez et al. (2018). Determinants and Prediction of Esterase Substrate Promiscuity Patterns. *ACS Chem Biol* 13, 225–234.
- [25] W. R. Streit, R. A. Schmitz (2004). Metagenomics – the key to the uncultured microbes. *Curr Opin Microbiol* 7, 492–498.
- [26] P. Pérez-García et al. (2021). Exploring the global metagenome for plastic-degrading enzymes. *Methods Enzymol* 648, 137–157.
- [27] G. T. Howard et al. (2001). Cloning, nucleotide sequencing and characterization of a polyurethanase gene (pueB) from *Pseudomonas chlororaphis*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 47, 141–149.
- [28] G. T. Howard et al. (2007). Effect of insertional mutations in the pueA and pueB genes encoding two polyurethanases in *Pseudomonas chlororaphis* contained within a gene cluster. *J Appl Microbiol* 103, 2074–2083.
- [29] J. Schmidt et al. (2017). Degradation of Polyester Polyurethane by Bacterial Polyester Hydrolases. *Polymers (Basel)* 9, 65.
- [30] S. Negoro et al. (2007). Nylon-oligomer Degrading Enzyme/ Substrate Complex: Catalytic Mechanism of 6-Aminohexanoate-dimer Hydrolase. *Journal of Molecular Biology* 370, 142–156.
- [31] K. Yasuhira et al. (2006). Crystallization and X-ray diffraction analysis of 6-aminohexanoate-cyclic-dimer hydrolase from *Arthrobacter* sp. KI72. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 62, 1209–1211.
- [32] T. Ohki et al. (2005). Crystallization and X-ray diffraction analysis of 6-aminohexanoate-dimer hydrolase from *Arthrobacter* sp. KI72. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 61, 928–930.
- [33] K. Nagai et al. (2013). Crystallization and X-ray diffraction analysis of nylon hydrolase (NylC) from *Arthrobacter* sp. KI72. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* 69, 1151–1154.
- [34] J. C. Sadler, S. Wallace (2021). Microbial synthesis of vanillin from waste poly(ethylene terephthalate). *Green Chemistry* 23:4665–4672.

Verfasst von:



Bild: UHH_Mentz

Dr. Jennifer Chow wurde 1982 geboren und studierte Biologie an der Universität Hamburg. Sie promovierte im Jahr 2012 und leitet seit 2020 eine Nachwuchsgruppe zum Thema mikrobieller Plastikabbau an der Universität Hamburg.



Bild: UHH_Preuß

Lena Preuß, wurde 1995 geboren und studierte Biologie mit dem Schwerpunkt Mikrobiologie an der Universität Hamburg. Sie arbeitet seit 2021 als Doktorandin in der Abteilung Mikrobiologie und Biotechnologie an der Universität Hamburg.



Bild: UHH_Gruscke

Marno Falk Gruscke wurde 1992 geboren und studierte Biologie an den Universitäten Hannover und Hamburg. Er arbeitet seit 2021 als Doktorand in der Abteilung Mikrobiologie und Biotechnologie an der Universität Hamburg.



Bild: UHH_Mentz

Wolfgang Streit wurde 1964 geboren und studierte 1984–1989 Biologie an der Phillips-Universität in Marburg. Im Anschluss an seine Promotion 1993 führte er mehrere Postdoc-Aufenthalte durch und hat sich im Fach Mikrobiologie an der Universität Göttingen habilitiert. Von 2004–2006 war er an der Universität Duisburg-Essen tätig und leitete dort die Abteilung für Molekulare Ezymtechnologie. Seit 2006 ist er Professor für Mikrobiologie und Biotechnologie an der Universität Hamburg.

Korrespondenz

Prof. Dr. Wolfgang Streit
Mikrobiologie und Biotechnologie
FB Biologie der Universität Hamburg
Ohnhorststr. 18
22609 Hamburg
E-Mail: wolfgang.streit@uni-hamburg.de