



Expanding the Industrial Use of Robust Oxidative Biocatalysts for the Conversion and Production of Alcohols

The **ROBOX** project has now been active for eighteen months and has been developing better chemical manufacturing processes by replacing conventional chemistry, chemical catalysts and solvents in the processes used by new biocatalysts that can be utilised in benign water based operations. A catalyst is a substance that speeds up a chemical reaction and without the catalyst a reaction might not work at all or be so inefficient that the process for making a chemical is not economically viable. An example of biocatalysts working in our body is digestion of food and energy production both relying on cascades of biocatalysts. Biocatalytic processes applied in the chemical and pharmaceutical industry involve different enzymes such as the so called alcohol dehydrogenases (ADH) and cytochrome P450s being used to oxidise substrates. These enzymes (or modified versions of these enzymes) are useful catalysts in the production of a large range of chemical compounds required by consumers including many used in pharmaceuticals, cosmetics and other healthcare products.

The **ROBOX** project is divided into several scientific subjects (called work-packages in European Union Commission language) and it is run by leading scientists in Europe collaborating in several areas across the whole technology supply chain which allows real progress to be made. This will enable **ROBOX** to deliver benefits to society of cleaner and safer manufacture of consumer products essential for healthy living.

The Science and Innovation in ROBOX

The first of these scientific subjects is enzyme (or biocatalyst) redesign led by scientists from Groningen, the Netherlands delivering robust enzymes by using state-of-the art IT computer design methodologies for predicting beneficial mutations, creating mutant libraries and developing effective screening methods to identify improved enzymes with the desired properties.

Next in the chain comes fermentation scientists led by experts from Graz, Austria who are developing methods to produce these enzymes in mild fermentation processes without using precious resources such as rare and expensive metals which is one problem with traditional chemical catalytic methods now used.

These catalysts are now designed into processes that are validated in small pilot scale studies of the biocatalytic reactions led by the team in Barcelona, Spain.

The demonstration of the bio-oxidation enzymes and biocatalytic oxidation reactions is then implemented by the company partners that include members from the Netherlands, Germany, Belgium, Switzerland and the Czech Republic testing these methods to make real commercial products.

Finally experts from Denmark lead the analysis and evaluation of the methods developed to demonstrate the advantages claimed are scientifically validated using best techniques for impacts such as carbon footprints and life cycle analysis. These will then be published for wider scrutiny by scientists and society. Coupled with the

countries mentioned experts from Italy and the United Kingdom complete the team and show this project is a truly European collaboration leading innovation progress in this industry.

The **ROBOX** project has already led to identification of new possible production routes and patent applications are currently being drawn up with more are under consideration.



Further information can be found on the projects public website www.h2020ROBOX.eu, where you can find more on the different work packages and newsletters.

“The ROBOX project has received funding from the European Union (EU) project ROBOX (grant agreement n° 635734) under EU’s Horizon 2020 Programme Research and Innovation actions H2020-LEIT- BIO-2014-1”.



Programme co-funded by the
EUROPEAN UNION

Disclaimer: This publication reflects the author's view and the Agency is not responsible for any use that may be made of the information it contains.



Ausbau der industriellen Nutzung robuster, oxidativer Biokatalysatoren für die Umsetzung und Produktion von Alkoholen

Das **ROBOX** Projekt läuft inzwischen seit 18 Monaten und zielt darauf ab Produktionsverfahren zu entwickeln, in denen konventionelle chemische Verfahren, chemische Katalysatoren, sowie Lösungsmittel durch neue Biokatalysatoren (Enzyme) ersetzt werden. Biokatalysatoren bieten den Vorteil, dass sie in wässriger Umgebung eingesetzt werden können und somit zu potentiell umweltfreundlicheren Prozessen führen. Ein Katalysator ist eine Substanz, die in der Lage ist eine chemische Reaktion zu beschleunigen. Ohne Katalysator würden diverse Reaktionen entweder gar nicht erst ablaufen oder so ineffizient sein, dass die Produktionsprozesse für bestimmte Chemikalien ökonomisch keinen Sinn ergeben. Ein Anwendungsbeispiel für die Funktion von Biokatalysatoren in unserem eigenen Körper ist die Nahrungsmittelverdauung bei gleichzeitiger Produktion von Energie. Für biokatalytische Prozesse werden in der chemischen und pharmazeutischen Industrie unterschiedliche Enzyme eingesetzt. Die sogenannten Alkoholdehydrogenase (ADH) und Cytochrom P450 Enzyme werden beispielsweise für Oxidationsprozesse verwendet. Diese Enzyme, oder modifizierte Varianten davon, sind nützliche Katalysatoren für die Herstellung einer Vielzahl an Inhaltsstoffen für die Arzneimittel- und Kosmetikindustrie.

Das **ROBOX** Projekt ist aufgeteilt in mehrere wissenschaftliche Fachgebiete (sogenannte „Arbeitspakete“ im Sprachgebrauch der EU Kommission) und wird durch führende Wissenschaftler aus Europa geleitet. Diese kooperieren miteinander in diversen Bereichen der gesamten technologischen Entwicklungskette, so dass die Chance auf bedeutsame Weiterentwicklungen maximiert wird. Auf dieser Grundlage soll **ROBOX** es ermöglichen Produkte, die essentiell für ein gesundes Leben sind, sauberer und sicherer herzustellen.

Wissenschaft und Innovation in ROBOX

Das erste Arbeitspaket umfasst die Optimierung von Enzymen. Es wird geleitet von Wissenschaftlern aus Groningen (Niederlande). Sie nutzen moderne Computermethoden, um vorteilhafte Mutationen am Biokatalysator vorher zu sagen und anschließend darauf basierende Enzybibibliotheken herzustellen. Darüber hinaus entwickeln sie effektive Screeningmethoden, um verbesserte, robuste Enzyme mit gewünschten Eigenschaften identifizieren zu können. Das zweite Arbeitspaket beschäftigt sich mit der Fermentation und wird von Experten aus Graz (Österreich) geleitet. Hierbei werden Verfahren entwickelt, die es ermöglichen Enzyme unter milden Fermentationsbedingungen zu produzieren, d.h. ohne dass kostenintensive Ressourcen wie beispielsweise seltene oder teure Metalle eingesetzt werden müssen. Um die produzierten Katalysatoren nun weiter zu charakterisieren, werden sie im kleinen Pilotmaßstab für verschiedene Zielreaktionen eingesetzt. Dieses Arbeitspaket wird von Wissenschaftlern aus Barcelona (Spanien) geleitet. Abschließend soll der Einsatz der entwickelten biooxidativen Enzyme zur Herstellung kommerzieller Produkte getestet und demonstriert werden. Hierfür sind diverse industrielle Partner aus Deutschland, den Niederlanden, Belgien, der Schweiz und Tschechien verantwortlich. In der Folge leiten Experten aus Dänemark die Analyse und Evaluation dieser Prozesse,

um einerseits genannte Vorteile wissenschaftlich zu bekräftigen und andererseits die entwickelten Prozesse mit bestehenden Verfahren zu vergleichen. Hierfür setzen sie angemessene Methoden ein, um wichtige Einflussfaktoren wie „Carbon Footprints“ und Ökobilanzen zu bestimmen.

Die erzielten Ergebnisse des Projekts sollen publiziert und der Gesellschaft frei zur Verfügung gestellt werden, so dass noch mehr Wissenschaftlern die Möglichkeit geboten wird, die Prozessentwicklung voran zu treiben. Das genannte Team wird durch Experten aus Italien und Großbritannien vervollständigt, weshalb man bei **ROBOX** von einer wahrhaft europäischen Kooperation sprechen kann, die es sich zum Ziel gemacht hat, neue Innovationen in der chemischen Industrie zu entwickeln und implementieren. So führte das **ROBOX** Projekt bereits zur Identifikation möglicher neuer Produktionsrouten und diverse Patentanfragen sind in Bearbeitung.

Weitere Informationen sind auf der öffentlichen Internetseite www.h2020ROBOX.eu zu finden, wo auch genauere Inhalte der verschiedenen Arbeitspakete und Newsletter hinterlegt sind.



“The ROBOX project has received funding from the European Union (EU) project ROBOX (grant agreement n° 635734) under EU’s Horizon 2020 Programme Research and Innovation actions H2020-LEIT- BIO-2014-1”.



Disclaimer: This publication reflects the author's view and the Agency is not responsible for any use that may be made of the information it contains.



Expanding the use of industrial robust oxidative biocatalysts for the conversion and production of alcohols

The ROBOX project has been active for eighteen months, and during this time, processes have been developed in which conventional chemistry, chemical catalysts and solvents have been replaced by new biocatalysts that can be used in predominantly aqueous media with the consequent reduction of environmental impact. A catalyst is a substance that increases the rate of a chemical reaction and without which, it either would not occur or would be so inefficient that the process would be economically unviable. In the human body, the digestion of food and the consequent production of energy is an example of a biocatalytic process in which a cascade of reactions catalyzed by various types of biological catalysts takes place. Chemical and pharmaceutical processes use different enzymes, such as alcohol dehydrogenase (ADH) or cytochrome P450s, used to oxidize compounds. These enzymes, or modified versions of them, are valuable catalysts for the production of a wide range of chemical compounds, many of which are used in pharmaceuticals, cosmetics or other products used for health care.

The ROBOX project is divided into different scientific blocks or work packages (denominated by the European Commission "work-packages") which are carried out by leading European scientists, who collaborate in all the stages of the development of the technology (from pure academic research to industrial production), to ensure real practical advances. This collaboration will allow the ROBOX project to provide society with the benefit of production processes of consumer products, which are cleaner and safer, an essential aspect for a healthier life.

Science and innovation in ROBOX

The first of the work packages of the project is led by scientists from Groningen (Holland) and focuses on the modification of enzymes (or of the biocatalysts). Researchers develop more robust enzymes applying computational design methodologies that allow them to predict which mutations are the most suitable for improving enzymes, creating in this way libraries of mutants. Subsequently, through the development and application of efficient selection methods, those enzymes that are mutated and present the desired properties are identified.

The next work package is led by researchers from Graz (Austria) specialized in bioprocesses, who work on the development of production methods for these enzymes in sustainable fermentation processes.

These biocatalysts are then used in the third work package, led by scientists from Barcelona (Spain), in laboratory and pilot scale processes to validate their use in the reactions catalyzed by the selected biocatalysts, which is the objective of the ROBOX project.

The demonstration of the catalyzed oxidative processes by the selected biocatalysts is carried out by industrial entities and SMEs participating from Holland, Germany, Belgium, Switzerland and the Czech Republic with the objective of validating their real implementation in the production of commercial products.

Finally, experts from Denmark lead the analysis and evaluation of the methods developed to demonstrate if the advantages described are scientifically validated by methods such as the analysis of the

huella de carbono o el análisis de ciclo de vida. Esta información se publicará para ser discutida tanto en foros científicos como sociales. Juntamente con los países mencionados, el equipo del proyecto cuenta con expertos de Italia y del Reino Unido, evidenciando que el proyecto es una colaboración real a nivel europeo para liderar la innovación industrial en el campo.

Actualmente, el proyecto ROBOX ha permitido ya la identificación de nuevas rutas de producción. Además, a día de hoy se están solicitando y valorando ya varias patentes.



Para más información visite la web pública www.h2020ROBOX.eu, donde podrá encontrar los boletines informativos y más información sobre los paquetes de trabajo.

“El proyecto ROBOX ha recibido financiación de la Unión Europea (UE) (acuerdo de concesión no 635734) en base a EU’s Horizon 2020 Programme Research and Innovation actions H2020-LEIT-BIO- 2014-1”.



Programme co-funded by the
EUROPEAN UNION

Disclaimer: This publication reflects the author's view and the Agency is not responsible for any use that may be made of the information it contains.



Expandint l'ús industrial de biocatalitzadors oxidatius robustos per a la conversió i producció d'alcohols

El projecte ROBOX porta ja divuit mesos en actiu i, en aquest temps, s'han estat desenvolupant processos en els quals s'ha reemplaçat la química convencional, els catalitzadors químics i els dissolvents, per nous biocatalitzadors que poden ser utilitzats en medis majoritàriament aquosos amb la conseqüent disminució de l'impacte ambiental. Un catalitzador és una substància que augmenta la velocitat d'una reacció química i sense el qual aquesta reacció, o bé no es produiria o seria tan ineficient que faria el procés inviable econòmicament. En el cos humà, la digestió dels aliments i la consegüent producció d'energia és un exemple d'un procés biocatalític, on tenen lloc una cascada de reaccions catalitzades per diferents tipus d'agents biològics. Els processos biocatalítics que s'apliquen a la indústria química i farmacèutica utilitzen diferents enzims, com els anomenats alcohol deshidrogenasa (ADH) o citocrom P450s, emprats per oxidar compostos. Aquests enzims, o versions modificades d'aquests, són catalitzadors valuosos en la producció d'un ampli espectre de compostos químics, incloent-ne molts dels emprats com a productes farmacèutics, cosmètics, o d'altres productes utilitzats en el camp de la salut.

El projecte ROBOX està constituït per diferents blocs científics o "paquets de treball" (anomenats "work-packages" per la Comissió de la Unió Europea) i són duts a terme per destacats científics europeus, que col·laboren en totes les etapes del desenvolupament tecnològic (des de la investigació més acadèmica fins a la producció en gran indústria), per tal d'assegurar avenços pràctics reals. Aquesta col·laboració permetrà que el projecte ROBOX proporcioni a la societat el benefici de processos d'obtenció de productes de consum més nets i segurs, el que és essencial per a una vida més saludable.

La ciència i la innovació al ROBOX

El primer dels paquets de treball del projecte està liderat per científics de Groningen (Holanda) i està enfocat a la modificació dels enzims (biocatalitzadors). Els investigadors desenvolupen enzims més robustos aplicant metodologies de disseny computacional que permeten predir quines mutacions són les més idònies per a millorar el seu comportament i propietats, construint-se d'aquesta manera llibreries de mutants. Posteriorment, mitjançant el desenvolupament i l'aplicació de mètodes eficients de selecció, se'n identifiquen aquells enzims mutats que presentin les propietats desitjades.

El següent paquet de treball està liderat per investigadors de Graz (Austria) especialitzats en bioprocessos, els quals treballen en el desenvolupament de mètodes de producció d'aquests enzims en processos sostenibles de fermentació.

Aquests biocatalitzadors són posteriorment utilitzats en el tercer paquet de treball, liderat per científics de Barcelona (Espanya), en processos a escala de laboratori i pilot per validar el seu ús en les reaccions biocatalítiques que són l'objectiu de ROBOX.

La demostració dels processos oxidatius catalitzats pels biocatalitzadors seleccionats és duta a terme per les entitats industrials i les PIMes participants d'Holanda, Alemanya, Bèlgica, Suïssa i República Txeca. D'aquesta manera es validarà la seva implementació real en l'obtenció de productes comercials.

Finalment, experts de Dinamarca lideren l'anàlisi i l'avaluació dels mètodes desenvolupats per demostrar si els avantatges descrits són científicament corroborats per mètodes com l'anàlisi de la petjada de carboni i l'anàlisi del cicle de vida. Aquesta informació es publicarà per a ser discutida en fòrums científics i socials. Juntament amb els països esmentats, l'equip del projecte compta amb experts d'Itàlia i del Regne Unit, evidenciant que el projecte és una col·laboració real a nivell europeu per liderar la innovació industrial en el camp. Actualment, el projecte ROBOX ja ha permès la identificació de noves rutes de producció possibles. A més, a dia d'avui ja s'estan sol·licitant i valorant diverses patents.



Per a més informació visiti la web pública www.h2020ROBOX.eu, on podrà trobar els fulletons informatius i més informació sobre els paquets de treball.

“El projecte ROBOX està finançat per la Unió Europea (UE) (acord de concessió de nº 635734) en base a EU's Horizon 2020 Programme Research and Innovation actions H2020-LEIT-BIO- 2014-1”.





Uitbreiding van het industriële gebruik van robuuste oxidatieve biokatalysatoren voor de omzetting en productie van alcoholen

Het **ROBOX** project loopt nu 18 maanden en heeft de doelstelling chemische productie processen te ontwikkelen door conventionele chemie, traditionele katalysatoren en oplosmiddelen, te vervangen door nieuwe biokatalysatoren die in water, dus milieuvriendelijker, kunnen worden toegepast. Een katalysator is een substantie die een reactie versnelt, en zonder die katalysator loopt de reactie mogelijk helemaal niet, of zo traag dat het economisch niet verantwoord is. Een voorbeeld van de werking van biokatalysatoren in ons eigen lichaam is de voedselvertering die door een cascade aan biokatalysatoren gerealiseerd wordt. Biokatalytische processen die in de chemische en farmaceutische industrie worden toegepast omvatten verschillende enzymen zoals de zogenaamde alcohol dehydrogenases (ADH) en cytochrome P450 enzymen die gebruikt worden om bepaalde chemische verbindingen (de substraten) te oxideren. Deze enzymen, of een gemodificeerde vorm daarvan, zijn zeer geschikte katalysatoren voor de productie van een grote reeks chemische verbindingen waaronder vele die in de geneesmiddelen- en cosmetische industrie gebruikt worden. Het **ROBOX** project omvat diverse wetenschappelijke sub-thema's (werkpakketten genoemd in de context van het EU spraakgebruik) die worden geleid door vooraanstaande Europese wetenschappers die in ROBOX samenwerken zodat de hele technologieketen ontwikkeld kan worden en de kans op werkelijke vooruitgang gemaximaliseerd. Dit moet het kader scheppen om middels het **ROBOX** project te komen tot schonere en veiliger productie processen zoals die essentieel zijn voor een gezonde leefomgeving.

Wetenschap en Innovatie in ROBOX

Een van de wetenschappelijke thema's betreft het optimaliseren (redesign) van een enzym (biokatalysator) geleid door de Universiteit van Groningen, waar het einddoel het leveren van stabiele enzymen is door het gebruik van moderne computer analyse om geschikte mutaties te voorspellen, het aanmaken van bibliotheken met enzym mutanten als ook het ontwikkelen van efficiënte screenings methoden om betere biokatalysatoren (in dit geval enzymen met de gewenste eigenschappen) te indentificeren.

Het tweede werkpakket wordt geleid door fermentatie experts van de Universiteit van Graz, die methoden ontwikkelen om enzymen te produceren zonder het gebruik van dure uitgangsstoffen zoals zeldzame en dure metalen hetgeen nu al een probleem is in the traditionele chemie.

Deze katalysatoren worden vervolgens omgezet in kleine schaal (pilot-schaal) test-productie processen door een team aan de Universiteit van Barcelona.

De feitelijke demonstratie van het gebruik van deze biokatalysatoren (enzym) met als doel commerciële producten te maken wordt vervolgens gedaan door de diverse bedrijven in het **ROBOX** consortium, en die zich in Nederland, België, Zwitserland en Tsjechië bevinden.

Tenslotte worden door experts uit Denemarken analyses uitgevoerd die ten doel hebben aan te tonen dat de geclaimde voordelen wetenschappelijk onderbouwd zijn, waarbij we hier met name ook verwijzen naar de zogenaamde carbon footprint en life-cycle analysis, oftewel hoe veel beter zijn deze voor de leefomgeving in vergelijking met bestaande processen. De resultaten zullen worden gepubliceerd zodat deze door een grotere groep wetenschappers onderzocht en becommentarieerd kunnen worden. Experts uit Italië en Groot-Brittanië complementeren het team dat hiermee een duidelijk Europa brede samenwerking is met het doel nieuwe innovaties in de chemische industrie te vinden en te implementeren.

Het **ROBOX** project heeft al geleid tot de indentificatie van mogelijk nieuwe productie routes, en inmiddels zijn diverse patentaanvragen in voorbereiding.

Meer information is te vinden op de openbare website www.h2020ROBOX.eu, waar ook de verschillende werkpakketen en nieuwsbrieven te vinden zijn.



“The ROBOX project has received funding from the European Union (EU) project ROBOX (grant agreement n° 635734) under EU’s Horizon 2020 Programme Research and Innovation actions H2020-LEIT- BIO-2014-1”.



Programme co-funded by the
EUROPEAN UNION

Disclaimer: This publication reflects the author's view and the Agency is not responsible for any use that may be made of the information it contains.