



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-17-0281

Biotransformácia ako účinný nástroj rastlinných enzýmov na prípravu prírodných aromatických látok

Zodpovedný riešiteľ **Ing. Vladimír Sitkey, PhD.**

Príjemca **Axxence Slovakia s.r.o.**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Axxence Slovakia s.r.o., Mickiewiczova 9, 811 07 Bratislava - žiadateľ
NPPC-VÚRV Piešťany, Bratislavská - spoluriešiteľ

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Na riešení projektu sa nepodieľalo zahraničné pracovisko.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Zatiaľ neboli podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Trajčíková, E., Kurin, E., Slobodníková, L., Straka, M., Lichváriková, A., Dokupilová, S., Čičová, I., Nagy, M., Mučaji, P., Fialová, S. Antimicrobial and Antioxidant Properties of Four Lycopodium Taxa and an Interaction Study of Their Major Compounds. Molecules - Basel [online]. 25(6) 2020, art. no.1422 [1-18]. ISSN 1420-3049
2. Dočolomanský, P., Sitkey, V., Čičová, I. The use of enzyme systems of the genus Prunus for the production of benzaldehyde. Eur Pharm J ISSN: 2453-6725. (accepted for publication).
3. Čičová, I., Mendel, L., Sitkey, V., Dočolomanský, P. Borago officinalis L. as an important source of natural aromatic compounds. Bulgarian Journal of Crop Science, 59(6), 2022, 67-73. ISSN 0568-465X
4. Sitkey, V., Dočolomanský, P., Bokros Jeriga, N., Čičová, I. Preparation of decadienal and decatrienal through biotransformation. Int. Sci. Publ.: Agric. Food, Volume 8, 2020, 162-168. ISSN 1314-8591.
5. Čičová, I., Bittner-Fialová, S.: Variability of the genus Thymus L. in gene bank of Slovak republic. In: Vaprosy biologickej, medicinskej i farmaceutickej chémie (ВОПРОСЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ, МЕДИЦИНСКОЙ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ), 22(7), 2019, 42-51. ISSN 1560-9596.
6. Čičová, I., Kaffková, K.: Kolekcia liečivých a aromatických rastlín v Génovej banke Slovenskej republiky, 2019, In: Liečivé rastliny 55(4), 142-146, 2019. ISSN 1335-9878.
7. Čičová, I., Sitkey, V. Netradičná plodina perila krovitá. Naše pole, 26(2), 2022, 48-50.

ISBN 1335-2466.

8. Čičová, I., Sitkey, V. Netradičná plodina černuška siata *Nigella sativa*. Naše pole, 26(10), 2022, 61-63. ISBN 1335-2466.

9. Čičová, I., Sitkey, V. Agrotechnika boráku lekárskeho *Borago officinalis* L. Naše pole, 25(11)2021, 51-53. ISSN 1335-2466.

10. Čičová, I. Zaujímavé rastliny v kolekcii liečivých rastlín In: Genofond : odborný časopis pre ochranu a využitie genetických zdrojov rastlín. - ISSN 1335-5848. - Roč.24, č.2 (2020), s.33-34 .

11. Čičová, I., Mendel, L. Kolekcia pohánky (*Fagopyrum* L.) v Génovej banke Slovenskej republiky In: Genofond : odborný časopis pre ochranu a využitie genetických zdrojov rastlín. 24(1) 2020, 34-37. ISSN 1335-5848.

12. Mendelová, A., Čičová, I., Mendel, L. Analýza nutričnej kvality plodov genetických zdrojov rakytníka rešetliakového In: Genofond : odborný časopis pre ochranu a využitie genetických zdrojov rastlín. 24(1) 2020, 11-13. ISSN 1335-5848.

13. Mendelová, A., Mendel, L., Durec, J. Dopady spracovania rajčiaka jedlého na obsah významných fytochemikálií vo finálnom produkte, Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre 2019, 99 s. (monografia). ISBN 978-80-552-1980-6.

14. Čičová, I., Sitkey, V. Dočolomanský, P. Borák lekárskeho (*Borago officinalis* L.) - významný zdroj prírodných aromatických látok (monografia). rec. Milan Macák, Pavol Múdry. 1.vyd. Piešťany : NPPC-VÚRV, 2021. - 59 s. [4.2 AH].

ISBN 978-80-89162-72-7.

Uplatnenie výsledkov projektu

Spoločnosť Axxence Slovakia, s.r.o. ako žiadateľ a súčasne budúci odberateľ výsledkov projektu bude realizovať nové postupy a produkty vo svojich prevádzkach v Plavnici a v Bratislave.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Základným cieľom projektu po celé obdobie riešenia bola aplikácia komplexného prístupu k vývoju čistej a trvalo udržateľnej technológie kombinujúcej fyzikálne, chemické a biologické procesy na premenu agrosurovín na chemické produkty - biochemurgia. Hlavným zámerom bolo štúdium a optimalizácia metód biokatalytickej prípravy prírodných aróm (oxylipínov) s vysokou pridanou hodnotou pomocou reakcií katalyzovaných rastlinnými lipoxigenázami a hydroperoxid lyázami, s užším zameraním hlavne na C6 až C10 aldehydy a alkoholy. Počas riešenia sa realizovali nasledovné okruhy experimentov:

1.Skríning a charakterizácia vybraných rastlinných druhov z hľadiska fenologického, morfológických a hospodárskych vlastností podľa deskriptorov, vrátane vypracovania plodinových metodík a metodických kariet. Uvedené zdroje prírodných látok a enzýmov potrebných na prípravu prírodných aróm boli introdukované do špeciálnej rastlinnej produkcie a overené vo veľkoplošných experimentoch (*Borago officinalis*, *Plantago lanceolata*, *Perilla frutescens*)

V rámci zberových expedícií bolo pozberaných 248 vzoriek genetických zdrojov liečivých rastlín, krmovín, tráv, zelenín, krajových odrôd a divo rastúcich druhov rastlín. Do Génovej Banky pribudlo 90 genetických zdrojov liečivých rastlín. Výskum pestovateľských technológií bol zameraný na detailný výskum 14 rastlinných druhov. Prebehlo aj hodnotenie vybraných odrôd papriky ročnej a 13 odrôd rajčiaka jedlého a 24 odrôd mrkvy podľa deskriptorov.

Paralelne prebiehal aj výskum rezistencie rastlín voči biotickým faktorom prostredia.

2. Charakterizácia enzýmov izolovaných z rastlinných materiálov a ich aplikácia pri príprave prírodných aróm. Boli odskúšané biokatalytické postupy na laboratórnej a poloprevádzkovej úrovni, pričom boli optimalizované základné procesné parametre. Enzymové aktivity lipoxigenáz a hydroperoxid lyáz boli študované v rôznych častiach rastlinných materiálov ako sú: listy (36 rastlinných druhov), korene (mrkva, ligurček, archangelika, petržlen), hľuzy (zemiaky, zeler), plody (baklažán, šampiňóny, sója, uhorky). Počas projektu bolo testovaných 46 druhov rastlín, v celkovom počte 79 odrôd.

3.Vývoj postupov izolácie a purifikácie prírodných aróm s vysokou pridanou hodnotou z reakčného prostredia a z rastlinných materiálov pomocou separačných postupov (vákuová destilácia/rektifikácia, hydrodestilácia (trans-2-hexenál, 1-oktén-3-ol, benzaldehyd, karvón,

1-pentén-3-ol), extrakcia organickými rozpúšťadlami ako sú n-hexán, etylacetát, izoamylalkohol a butyl acetát (nonadiénál, makrolaktóny), destilácia na tenkofilmovej odparke (nonadiénál), superkritická extrakcia s oxidom uhličitým (angelika aldehyd, makrolaktóny, perilaldehyd), adsorpcia na tuhej fáze (purifikácia 1-fenyletanolu) a aplikácia membránových technológií: (2E,4E)-dekadiénál, (2E,4E,7Z)-dekatriénál.

Výsledkom riešenia projektu sú 2 overené technológie veľkoplošného pestovania (borák lekársky a perila krovitá), 6 technológií prípravy prírodných aróm (1-fenyletanol, 1-fenyletyl acetát, 1-oktén-3-ol, dekadiénál, dekatriéneál a benzaldehyd) a 3 nové prírodné produkty (nonadiénál, dekadiénál, benzaldehyd).

Výsledky riešenia projektu boli prezentované v 35 publikáciách. Do riešenia projektu bolo zapojených aj 5 diplomantov a 2 PhD. študenti. Riešiteľský kolektív zorganizoval 3 výstavy a 1 vedeckú konferenciu.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The basic goal of the project throughout the solution period was the application of a comprehensive approach to the development of clean and sustainable technology combining physical, chemical and biological processes for the transformation of agro-raw materials into chemical products - biotechnology. The main aim was the study and optimization of methods of biocatalytic preparation of natural aromas (oxylipins) having high added value, using reactions catalyzed by plant lipoxygenases and hydroperoxide lyases, with a narrower focus mainly on C6 to C10 aldehydes and alcohols. During the solution, the following circuits of experiments were implemented:

1. Screening and characterization of selected plant species in terms of phenological, morphological and economic properties according to descriptors, including the development of crop methodologies and methodological cards. The listed sources of natural substances and enzymes necessary for the preparation of natural aromas were introduced into special plant production and verified in large-scale experiments (*Borago officinalis*, *Plantago lanceolata*, *Perilla frutescens*)

As part of the collecting expeditions, 248 samples of genetic resources of medicinal plants, fodder, grasses, vegetables, regional varieties and wild plant species were collected. 90 genetic resources of medicinal plants have been added to the Gene Bank. Research in the area of cultivation technologies was focused on detailed research of 14 plant species. An evaluation of selected varieties of annual pepper and 13 varieties of edible tomato and 24 varieties of carrot was also carried out according to descriptors. In parallel, research on the resistance of plants to environmental biotic factors was carried out.

2. Characterization of enzymes isolated from plant materials and their application in the preparation of natural aromas. Biocatalytic procedures were tested at the laboratory and in semi-operational level, while the basic process parameters were optimized. Enzyme activities of lipoxygenases and hydroperoxide lyases were studied in different parts of plant materials such as: leaves (36 plant species), roots (carrot, lovage, angelica, parsley), tubers (potatoes, celery), fruits (eggplant, mushrooms, soybeans, cucumbers). During the project, 46 plant species were tested, a total of 79 varieties.

3. Development of procedures for the isolation and purification of natural aromas having high added value from the reaction environment and from plant materials using separation procedures (vacuum) distillation/rectification, hydrodistillation (trans-2-hexenal, 1-octen-3-ol, benzaldehyde, carvone, 1-penten-3-ol), extraction with organic solvents such as n-hexane, ethyl acetate, isoamyl alcohol and butyl acetate (nonadiénál, makrolaktóny), distillation on a thin film evaporator (nonadiénál), supercritical extraction with carbon dioxide (angelika aldehyd, makrolaktóny, perilaldehyd), adsorption on a solid phase (purification of 1-phenylethanol) and application of membrane technologies: (2E,4E)-dekadiénál, (2E,4E,7Z)-dekatriénál.

The output of the project are 2 proven technologies for large-scale plant cultivation (*borago* and *perilla*), 6 technologies for the preparation of natural aromas (1-phenylethanol, 1-phenylethyl acetate, 1-octen-3-ol, dekadiénál, dekatriéneál and benzaldehyd) and 3 new natural products (nonadiénál, dekadiénál, benzaldehyd).

The results of the project were presented in 35 publications. 5 diploma and 2 PhD students were also involved in the solution of the project. The research team organized 3 exhibitions and 1 scientific conference.

