



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0420

Biotechnologická príprava bioplastov na báze PHA s programovaným uvoľňovaním biopolyméru a možnosti jeho využitia

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Martin Danko, PhD.**

Príjemca **Ústav polymérov SAV, v. v. i.**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Ústav polymérov SAV, v.v.i.
Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

žiadne

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

Patentová prihláška v SR: Zmes na prípravu biodegradovateľného polymérneho materiálu, biodegradovateľný polymérny materiál a použitie, autori Ivan Chodák, Hamed Peidayesh, Zdenko Špitálsky; prihláška č.: 50062-2023; podaná dňa 28.7.2023.

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

1. CHMELOVÁ, D., LEGERSKÁ, B., ONDREJOVIČ, M.: Recombinant DNA technology as a tool for improving production of polyhydroxyalkanoates by the natural producers. In Nova Biotechnologica et Chimica, 2020, 19(2), s. 124-137 (ADM)
2. OPÁLKOVÁ ŠIŠKOVÁ, A.; FRAJOVÁ, J.; NOSKO, M. Recycling of poly(ethylene terephthalate) by electrospinning to enhanced the filtration efficiency. In Materials Letters, 2020, vol. 278, art. no. 128426, [3] p. (2019: 3.204 - IF, Q2 - JCR, 0.753 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 0167-577X. (ADC)
3. MOSNÁČKOVÁ, K.; OPÁLKOVÁ ŠIŠKOVÁ, A.; KLEINOVÁ, A.; DANKO, M.; MOSNÁČEK, J. Properties and Degradation of Novel Fully Biodegradable PLA/PHB Blends Filled with Keratin. In International Journal of Molecular Science, 2020, vol. 21, art.no. 9678, [15] p. (2019: 4.556 – IF, Q1 – JCR). (ADC)
4. PEIDAYESH, Hamed - HEYDARI, Abolfazl - MOSNÁČKOVÁ, Katarína - CHODÁK, Ivan. In situ dual crosslinking strategy to improve the physico-chemical properties of thermoplastic starch. In Carbohydrate Polymers, 2021, vol. 269, art. no. 118250, [8] p. (2020: 9.381 - IF, Q1 - JCR, 1.639 - SJR, Q1 - SJR, karentované - CCC). (2021 - Current Contents). ISSN 0144-8617. Dostupné na: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118250> Typ: ADCA
5. DANKO, Martin** - MOSNÁČKOVÁ, Katarína - VYKYDALOVÁ, Anna - KLEINOVÁ, Angela - PUŠKÁROVÁ, Andrea - PANGALLO, Domenico - BUJDOŠ, Marek - MOSNÁČEK, Jaroslav. Properties and degradation performances of biodegradable poly(lactic acid)/poly(3-hydroxybutyrate) blends and keratin composites. In Polymers: Open Access

- Polymer Science Journal, 2021, vol. 13, art. no. 2693, [18] p. (2020: 4.329 - IF, Q1 - JCR, 0.770 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 2073-4360. (ADCA).
6. OPÁLKOVÁ ŠÍŠKOVÁ, Alena - BUČKOVÁ, Mária - KRONEKOVÁ, Zuzana - KLEINOVÁ, Angela - NAGY, Štefan - RYDZ, Joanna - OPÁLEK, Andrej - SLÁVIKOVÁ, Monika - ECKSTEIN ANDICSOVÁ, Anita. The drug-loaded electrospun poly(epsilon-caprolactone) mats for therapeutic application. In Nanomaterials-Basel, 2021, vol. 11, art. no. 922, [19] p. (2020: 5.076 - IF, Q1 - JCR, 0.919 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 2079-4991. (ADCA)
7. OPÁLKOVÁ ŠÍŠKOVÁ, Alena - MOSNÁČKOVÁ, Katarína - HRŮZA, Jakub - FRAJOVÁ, Jaroslava - OPÁLEK, Andrej - BUČKOVÁ, Mária - KOZICS, Katarína - PEER, Petra - ECKSTEIN ANDICSOVÁ, Anita. Electrospun poly(ethylene terephthalate)/silk fibroin composite for filtration application. In Polymers: Open Access Polymer Science Journal, 2021, vol. 13, art. no. 2499, [23] p. (2020: 4.329 - IF, Q1 - JCR, 0.770 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 2073-4360. (ADCA)
8. RONDOŠOVÁ, S., LEGERSKÁ, B., CHMELOVÁ, D., ONDREJOVIČ, M., MIERTUŠ, S.: Optimization of growth conditions to enhance PHA production by *Cupriavidus necator*. In Fermentation. 2022, 8(9), 451.
9. CHMELOVÁ, D., LEGERSKÁ, B., ONDREJOVIČ, M., MIERTUŠ, S.: Optimization of propagation medium for enhanced polyhydroxyalkanoate production by *Pseudomonas oleovorans*. In Fermentation. 2022, 8(1), 16.
10. RUSKOVÁ, Magdaléna - OPÁLKOVÁ ŠÍŠKOVÁ, Alena - MOSNÁČKOVÁ, Katarína - GAGO, Custódia - GUERREIRO, Adriana - BUČKOVÁ, Mária - PUŠKÁROVÁ, Andrea - PANGALLO, Domenico - ANTUNES, Maria Dulce. Biodegradable active packaging enriched with essential oils for enhancing the shelf life of strawberries. In Antioxidants, 2023, vol. 12, art. no. 755, [16] p. (2022: 1.084 - SJR, Q1 - SJR). ISSN 2076-3921. (ADEA)

Uplatnenie výsledkov projektu

Výsledky produkcie PHB baktériami druhu *Cupriavidus necator* naznačujú, že vypracovaný fermentačný postup je vhodný pre udržateľnú výrobu polyméru v semikontinuálnom režime, čo ho klasifikuje ako kandidáta vhodného pre následné scale-up procesy a následné uplatnenie v priemyselnom meradle.

Zároveň sme vo výskume a v publikovaných prácach predstavili niekoľko možných aplikácií použitia PHB v zmesi s inými (bio)degradovateľnými plastami. Najviac preskúmanou zmesou bola zmes PLA/PHB/ATBC v zložení 85/15/15. Následne sa niektoré zmesi a kompozity použili a skúmali ako potenciálne mulčovacie fólie s prídavkom Keratínu alebo zvláknovaním pripravované netkané filtračné vrstvy pre tvárové masky alebo aktívne fólie s prídavkom esenciálnych olejov vhodné pre balenie potravín.

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

Pri skríningu potenciálnych producentov PHA tak z pohľadu molekulárnej biológie ako aj z pohľadu nárokov na výživu, výťažnosť a štruktúru produkovaných PHA sme zistili, že vhodnými kandidátmi pre produkciu PHA sú *Cupriavidus necator*, *Pseudomonas oleovorans* a *Halomonas halophila*. I keď sú všetky tieto organizmy vhodnými kandidátmi v zmysle vyššie uvedených kritérií, každý z nich má svoje špecifické vlastnosti, pre ktoré je vhodnejší spomedzi ostatných v prípade konkrétnych aplikácií (utilizácia špecifických substrátov, špecifické využitie výsledného polyméru). Na základe molekulárno-biologickej analýzy sa najvhodnejší kandidátom na rekombinantnú úpravu prejavil *Cupriavidus necator*. Pre tento organizmus boli vytypované vhodné lytické enzýmy a ich gény boli syntetizované na základe informácií z databáz a predchádzajúcich prác riešiteľského kolektívu. Takto pripravené gény boli použité na vytvorenie rekombinantných kmeňov pre produkciu PHA. Nároky vybraných organizmov na zloženie kultivačného média a podmienok kultivácie boli optimalizované pomocou RSM metódy a získané výsledky sa stali podkladom pre prípravu publikácií v indexovaných časopisoch. Získané optimálne podmienky produkcie PHA boli použité pre nepretržitú pilotnú laboratórnu produkciu PHA trvajúcu 3 mesiace. Získané vzorky PHA boli podrobené bližšej chemickej a fyzikálnej charakterizácii na Úpo SAV, v.v.i.. Okrem čistoty produktov sme optimalizovali na začiatku projektu GPC metodológiu stanovovania mólových hmotností a uskutočnili sme termálne a mechanické analýzy PHA vzoriek. Paralelne s tým sme vyvíjali metodiky kompatibilizácie PHA s inými (bio)degradovateľnými plastami ako sú PLA, termoplastický škrob s cieľom zníženia ceny a zlepšenia výsledných vlastností

materiálov. Niektoré formulácie aj s vhodnými plnivami sme aplikovali v zvláknených netkaných obalových vrstvách a mulčovacích fóliach.

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

When screening potential PHA producers both from the point of view of molecular biology and from the point of view of nutritional requirements, yield and structure of produced PHA, we found that suitable candidates for PHA production are *Cupriavidus necator*, *Pseudomonas oleovorans* and *Halomonas halophila*. Although all these organisms are suitable candidates in terms of the above criteria, each of them has its own specific properties for which it is more suitable than the others in the case of specific applications (use of specific substrates, specific use of the resulting polymer). Based on the molecular-biological analysis, *Cupriavidus necator* proved to be the most suitable candidate for recombinant treatment. Suitable lytic enzymes were selected for this organism and their genes were synthesized on the basis of information from databases and previous works of the research team. Thus the prepared genes were used to create recombinant strains for PHA production. The requirements of the selected organisms for the composition of the cultivation medium and cultivation conditions were optimized using the RSM method, and the obtained results became the basis for the preparation of publications in indexed journals. The obtained optimal conditions of PHA production were used for continuous pilot laboratory production of PHA lasting 3 months. The obtained PHA samples were subjected to closer chemical and physical characterization at PI SAS. In addition to the purity of the products, we optimized the GPC methodology for determining molar masses at the beginning of the project and performed thermal and mechanical analyzes of the PHA samples. In parallel, we developed methodologies for the compatibility of PHA with other (bio)degradable plastics such as PLA, thermoplastic starch with the aim of reducing the price and improving the resulting properties of the materials. We applied some formulations with suitable fillers in spun non-woven packaging layers and mulch films.