UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

CORSO DI LAUREA IN CHIMICA

Poliidrossialcanoati: sintesi e caratteristiche

Relatore: Prof. Edmondo Maria Benetti

Controrelatore:

Laureando: Marco Boscolo Bomba

ANNO ACCADEMICO 2024/2025

Abstract

I Poliidrossialcanoati (PHA) rappresentano un'importante classe di biopolimeri. Poliesteri di origine batterica, hanno in natura funzione di riserva di carbonio ed energia. A livello industriale costituiscono un valido candidato per la produzione di plastiche *biobased* in grado di concertare ottime versatilità e proprietà meccaniche, con un'elevata biodegradabilità e biocompatibilità.

All'interno di questo elaborato sono prese in analisi le caratteristiche di questa classe di biopolimeri, esaminandone diverse strategie di sintesi, relative potenzialità e criticità. Particolare attenzione sarà posta al poliidrossibutirrato (PHB), il capostipite per rilevanza, di questa classe di biopolimeri.

Infine, si focalizzerà l'attenzione verso il ruolo di queste bioplastiche all'interno della *"New Plastics Economy"*, discutendone utilizzi e prospettive future, nell'ottica di un'economia sostenibile

Indice

1. Introduzione 1

2. Poliidrossialcanoati: caratteristiche 3

2.1 Struttura generale 3

2.2 Classificazione: SCL, MCL, LCL 3

2.3 Poliidrossibutirrato 4

2.3 Copolimerizzazione 5

2.4 Miscele polimeriche e materiali compositi 7

3. Biosintesi 9

3.1 Fermentazione batterica 9

3.2 Meccanismo della fermentazione batterica 10

3.3 Limitazioni della fermentazione batterica 12

3.4 Strategie Alternative 13

4. Sintesi chemo-catalizzata 15

4.1 Meccanismi di polimerizzazione generali 15

4.2 Biosintesi e sintesi chemo-catalizzata: un confronto 16

4.3 Strategie di sintesi chemo-catalizzata 17

4.4 Policondensazione 18

4.5 Polimerizzazione ad apertura di anello (ROP) 18

4.5.1 ROP per la produzione di it-PHB 22

4.5.2 ROP per la produzione di st-PHB 23

4.5.3 ROP per la produzione di at-PHB 25

4.6 Polimerizzazione carbonilativa 26

4.7 Limitazioni delle vie chemo-catalizzate e sviluppi futuri 28

5. Biodegradabilità 29

6. Applicazioni 31

7. Conclusioni 33

Bibliografia 35

1. Introduzione

A partire dallo sviluppo del primo polimero sintetico, la bachelite (Baekeland L. H. 1907) la plastica è stata protagonista di uno sviluppo e diffusione straordinari, rivoluzionando il mondo contemporaneo. Tale successo, testimoniato dalla massiccia produzione annua superiore alle 460 milioni di tonnellate [1], si deve principalmente all'elevata economicità e versatilità.

Nonostante i numerosi benefici, l'attuale *"Economia della plastica"* presenta delle rilevanti criticità, prima fra tutte il notevole impatto ambientale. L'elevate durabilità e resistenza alla degradazione, combinate ad una visione della plastica come bene di consumo monouso, ne hanno comportato un rapido e persistente accumulo in tutti gli ambienti naturali.

Ogni anno vengono prodotte oltre 350 milioni di tonnellate di rifiuti di plastica, di cui il 23%, pari a 82 milioni di tonnellate, è smaltito in maniera inadeguata [1], con gravi conseguenze sulla salute degli ecosistemi e di tutti gli organismi viventi.

Appare chiara la necessità dello sviluppo di nuovi polimeri per la produzione di plastiche in grado di combinare alle qualità meccaniche e versatilità delle plastiche tradizionali, un minimo impatto ambientale durante tutto il ciclo di vita della plastica, dalla produzione allo smaltimento o riciclo, tenendo in considerazione anche un'eventuale dispersione nell'ambiente.

A questo scopo, la fervente ricerca degli ultimi decenni ha portato allo sviluppo di una vasta gamma di bioplastiche, suddivise in tre categorie fondamentali a seconda della fonte di provenienza e differente biodegradabilità: I. Da fonti rinnovabili (*bio-based*) e non biodegradabili; II. Da fonti fossili (*fossil-based*) e biodegradabili; III. *Bio-based* e biodegradabili [2].

A quest'ultima categoria appartiene una particolare classe di polimeri biodegradabili e provenienti da fonti rinnovabili, che ha saputo dimostrarsi particolarmente promettente, i poliidrossialcanoati (PHA).

2. Poliidrossialcanoati: caratteristiche

2.1 Struttura generale

I poliidrossialcanoati sono un'ampia classe di poliesteri di origine biologica particolarmente abbondanti in natura. I primi studi sulla composizione identificarono 90 differenti acidi idrossialcanoici come costituenti di PHA sintetizzati da numerose specie differenti di batteri [3], ad oggi ne sono noti oltre 150 [4]. All'interno dell'ampio spettro di polimeri e co-polimeri si distinguono, per presenza maggioritaria in natura e a livello industriale, i poli-3-idrossialcanoati, la cui generica struttura è riportata in figura 1.

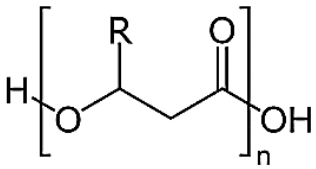

Figura 1. Struttura di un generico poli-3-idrossialcanoato

La presenza del legame estereo all'interno del backbone polimerico rende i PHA particolarmente suscettibili alla biodegradazione tramite idrolisi, motivazione del diffuso interesse verso questi poliesteri per lo sviluppo di plastiche a ridotto impatto ambientale.

2.2 Classificazione: SCL, MCL, LCL

I PHA sono ulteriormente distinti in funzione della lunghezza della catena.

Medium Chain Length (MCL), caratterizzati da unità monomeriche costituite da un numero di atomi di carbonio compreso tra sei e 14 atomi di carbonio e Short Chain Length (SCL) se il numero di atomi di carbonio è inferiore a sei.

I PHA a catena media si presentano in genere come solidi amorfi o semicristallini, la cui temperatura di transizione vetrosa (T_g) diminuisce all'aumentare della lunghezza della catena. PHA costituiti da monomeri a catena corta, sono in genere

cristallini o semicristallini. Alla categoria SCL appartiene il poli-3-idrossibutirrato (PHB) rappresentante per eccellenza di tutta la classe dei poliidrossialcanoati.

PHA a catena lunga (LCL), costituiti da monomeri aventi una catena con più di 14 atomi di carbonio, sono noti ma la loro presenza in natura e rilevanza a livello industriale e di ricerca è decisamente più limitata.

La maggioranza dei batteri sintetizza PHA a catena corta, contenenti principalmente unità di 3-idrossibutirrato, oppure PHA a catena media, costituiti da 3-idrossiottanoato (HO) e 3-idrossidecanoato (HD) come monomeri dominanti [5].

Si noti come, data la significativa rilevanza, venga comunemente utilizzata la sigla PHA invece di P3HA, omettendo la cifra "3", per indicare i poli-3-idrossialcanoati, nonostante siano noti polimeri costituiti da, ad esempio, 4-idrossialcanoati e 5-idrossialcanoati.

2.3 Poliidrossibutirrato

Il poli-3-idrossibutirrato o, più semplicemente, poliidrossibutirrato (PHB), è un poliestere alifatico termoplastico costituito da unità monomeriche di 3-idrossibutirrato. In natura è sintetizzato da oltre il 60% dei batteri e si presenta come (R)-PHB, totalmente isotattico, ovvero costituito da unità di R-3-idrossibutirrato con esclusiva configurazione (R) dello stereocentro in posizione 3 della catena carboniosa del monomero.

Il PHB isotattico (it-PHB) è caratterizzato da un alto grado di cristallinità (55-80%) e temperatura di fusione (T_m) di circa 175 °C. È insolubile in soluzione acquosa, presenta un'elevata rigidità meccanica, valutata attraverso il modulo di Young, buona resistenza alla trazione, alle radiazioni UV e considerevole permeabilità da parte dell'ossigeno [6].

In merito alla biodegradabilità, i PHA sono completamente biodegradabili e non tossici (si rimanda al capitolo 5 per una discussione più approfondita della biodegradabilità).

Nonostante il PHB presenti proprietà paragonabili a quelle del polipropilene isotattico (it-PP), la prossimità della temperatura di fusione a quella di decomposizione, fragilità e grado di cristallinità elevato, sono caratteristiche che ne limitano l'applicabilità in ambito industriale. Ulteriore complicazione è rappresentata dall'aumentare di rigidità e fragilità con il passare del tempo, a causa del continuo progredire della cristallizzazione [6].

Strategie quali copolimerizzazione, miscelazione, produzione di materiali compositi e aggiunta di plasticizzanti rappresentano soluzioni efficaci individuate dalla ricerca per ovviare a questi inconvenienti.

2.3 Copolimerizzazione

La copolimerizzazione è una tecnica impiegata per l'ottimizzazione di proprietà meccaniche, termiche e di degradabilità applicata già dalla prima commercializzazione del PHB nei primi anni '80 [7]. In genere l'incorporamento di opportune tipologie e quantità di altre unità monomeriche all'interno della struttura del PHB comporta un miglioramento delle proprietà quali: aumento dell'allungamento alla rottura e riduzione di cristallinità, rigidità e temperatura di fusione.

Per via biosintetica è possibile ottenere copolimeri fornendo ad appropriate colture batteriche, pure o miste, materie prime (feedstock) contenenti i precursori necessari per la biosintesi dei monomeri desiderati. Si sfruttano in questo modo le vie metaboliche dei batteri presenti in natura, oppure le si manipola con precisione in batteri geneticamente ingegnerizzati [8].

Nel caso del PHB sono comuni copolimeri di 3-idrossibutirrato con 4-idrossibutirrato (4HB) o con monomeri a catena più lunga, in genere 3-idrossivaleriato (3HV) e 3-idrossiesanoato (3HHx), rispettivamente cinque e sei atomi di carbonio nella catena. Proprietà termiche e meccaniche di vari polimeri PHB, PP, LDPE, HDPE e copolimeri di PHA sono sintetizzate in tabella 1.

Polimero	T_m (°C)	T_g (°C)	YM (MPa)	TS (Mpa)	EB (%)
P3HB	175	4	3500	40	5
PP	170	-10	1.500	38	400
LDPE	110	-110	200	10	600
HDPE	136	-135	860	21	160
P(3HB-co-5 mol% 3HV)	170	1.1	1465	28.7	2.3
P(3HB-co-18.1 mol% 3HV)	161	-3	286	28.7	121.1
P(3HB-co-5 mol% 4HB)	161	-5	800	0.9	22
P(3HB-co-38 mol% 4HB)	152	-10	600	2.9	48
P(3HB-co-12 mol% 3HHx)	110	-2.5	n.d.	n.d.	n.d.
P(3HB-co-0.75 mol% 3HV-co-1 mol% mcl-HA)	159	n.d.	75.8	2.7	25.7

Tabella 1. Proprietà di vari polimeri: PHB, PP, LDPE, HDPE e copolimeri di PHA. YM: modulo di Young, TS: resistenza alla trazione, EB: allungamento alla rottura [7, 8, 9]

2.4 Miscele polimeriche e materiali compositi

Le tecniche post-sintesi, come la produzione di miscele polimeriche o di materiali compositi, sono strategie alternative alla copolimerizzazione in grado di determinare miglioramenti nelle proprietà del polimero a costi ridotti e senza alterarne la struttura. Rispetto alle modificazioni chimiche, queste tecniche fisiche si dimostrano particolarmente vantaggiose, in quanto non necessitano di alterazioni del processo di sintesi o dell'utilizzo di prodotti chimici aggressivi o inquinanti.

Molteplici miscele sono ottenibili con numerosi polimeri sintetici e biodegradabili, oppure naturali, conservando le proprietà di biodegradabilità e non tossicità tipiche dei PHA. Inoltre, le proprietà del prodotto finale possono essere previste sulla base di quelle dei polimeri di partenza. Gli effetti si dimostrano particolarmente marcati se i due polimeri sono caratterizzati da un'opportuna miscibilità. In caso di immiscibilità, si possono comunque ottenere miglioramenti se la miscelazione comporta delle variazioni nel grado di cristallinità del poliidrossialcanoato [9].

I materiali compositi, costituiti da una matrice polimerica di PHA rinforzata con fibre naturali, permettono di ottenere come risultato un materiale dalle proprietà superiori rispetto ai singoli componenti. In particolare, i materiali compositi di PHA e fibre vegetali lignee e cellulosiche sono caratterizzati da maggiore elasticità e resistenza alla trazione rispetto al singolo polimero [9]. Esempi di materiali compositi, miscele polimeriche e relative caratteristiche sono riportati in tabella 2.

Miscela	Proprietà migliorate
PHA/poli acido lattico	Resistenza agli impatti, resistenza agli impatti con intaglio
PHA/acetato di cellulosa	Resistenza alla trazione
PHB/glicole polietilenico	Allungamento alla rottura
PHBV/poli acido lattico	Resistenza alla trazione
PHBV/gomma naturale	Resistenza agli impatti con intaglio, allungamento alla rottura, resistenza alla trazione
Matrice - rinforzo	**Proprietà migliorate**
PHA - farina di legno	Resistenza alla trazione, resistenza alla flessione
PHA - fibra di lino	Resistenza alla trazione
PHA - microfibre cellulosiche	Resistenza alla trazione, modulo di Young
PHBV - fibra di legno	Resistenza alla trazione
PHB - lolla di riso	Resistenza alla trazione, allungamento alla rottura, resistenza agli impatti

Tabella 2. Caratteristiche e proprietà di varie miscele polimeriche e materiali compositi di PHA [9]

3. Biosintesi

Come si è già discusso in precedenza, a fronte della maggiore rilevanza in ambito industriale e nel mondo naturale del PHB rispetto a tutti gli altri PHA, la trattazione delle strategie di sintesi interesserà in particolare il poliidrossibutirrato. Tuttavia, considerazioni e principi analoghi si applicano, in genere con minime variazioni, all'intera classe dei poliidrossialcanoati.

3.1 Fermentazione batterica

La sintesi ed accumulo di PHA, come riserva intracellulare di energia, carbonio e potere riducente, si verifica comunemente in numerose specie di batteri in risposta ad una carenza di nutrienti (quali zolfo, fosforo, azoto, ferro, magnesio, potassio) e un'abbondanza di fonti di carbonio [3]. L'energia chimica dei precursori dei PHA viene immagazzinata sotto forma di polimeri, come riserva disponibile al metabolismo della cellula. In merito al potere riducente, i PHA permettono di mantenere l'equilibrio redox della cellula, in quanto un'eccessiva presenza di substrati quali zuccheri e conseguente catabolismo produce un eccesso di specie riducenti, NADH e NADPH, determinando una condizione di stress riduttivo particolarmente dannoso per la cellula. Come si può osservare in figura 3, la produzione di PHA a partire da precursori quali Acetil-CoA, avviene mediante consumo di NADH o NADPH, a seconda del ceppo batterico, permettendo di ristabilire l'equilibrio redox della cellula. La degradazione e metabolizzazione del polimero, comporta invece la formazione di un equivalente di specie riducente, NADH o NADPH.

L'accumulo intracellulare di questi biopolimeri può raggiungere fino al 90% del peso secco della cellula [5] e si verifica sottoforma di granuli soprannominati carbonosomi. Al ristabilirsi della disponibilità dei nutrienti in difetto, i PHA ivi contenuti, possono subire degradazione da parte degli enzimi depolimerasi, permettendone una successiva metabolizzazione. Numero e dimensioni dei carbonosomi sono variabili in funzione del ceppo batterico, in genere il diametro è compreso tra 0.2 e 0.5 μm. All'interno dei granuli non sono presenti strutture, solo

acqua e PHA in forma amorfa, le proteine responsabili della sintesi e degradazione del polimero sono collocate sulla membrana lipidica esterna [10]. Le due immagini in figura 2. permettono di distinguere chiaramente i granuli, in bianco, all'interno del citoplasma della cellula batterica.

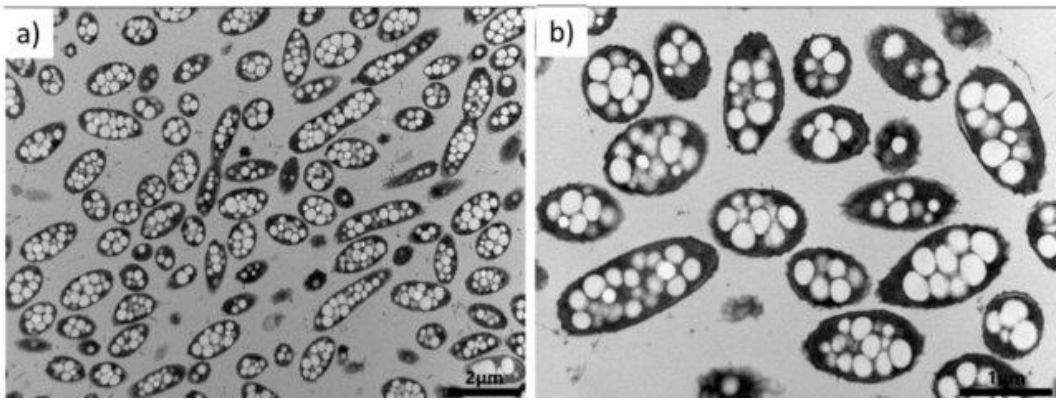

Figura 2. Morfologia dei granuli di PHA prodotti da *T. Taiwanensis,* immagini ottenute tramite spettroscopia TEM [11]

3.2 Meccanismo della fermentazione batterica

In *Alicagens Eutrophus*, batterio oggetto di numerosi studi in ragione della sua capacità di accumulare ingenti quantità di PHB, fino a 80% del peso secco della cellula, il processo di biosintesi ha inizio con la condensazione di due molecole di acetil-Coenzima A (acetil-CoA) per produrre acetoacetil-CoA, la reazione catalizzata dell'enzima β-Chetotiolasi (PhbA). Acetil-CoA, un tioestere prodotto dalla condensazione di un tiolo, il coenzima A, e l'acido acetico, rappresenta una biomolecola fondamentale per il metabolismo di tutti gli organismi viventi. La struttura è riportata in figura 4.

L'enzima (PhbB), una riduttasi NADPH dipendente, catalizza la successiva riduzione di acetoacetil-CoA a (R)-3-idrossibutirril-CoA. Il monomero così prodotto viene legato alla catena crescente di PHB, tramite l'azione della PHB-sintasi (PhbC) [12].

Via biosintetica principale per la produzione e via metabolica per la degradazione di PHB in *A. Eutrophus* sono illustrate in figura 3.

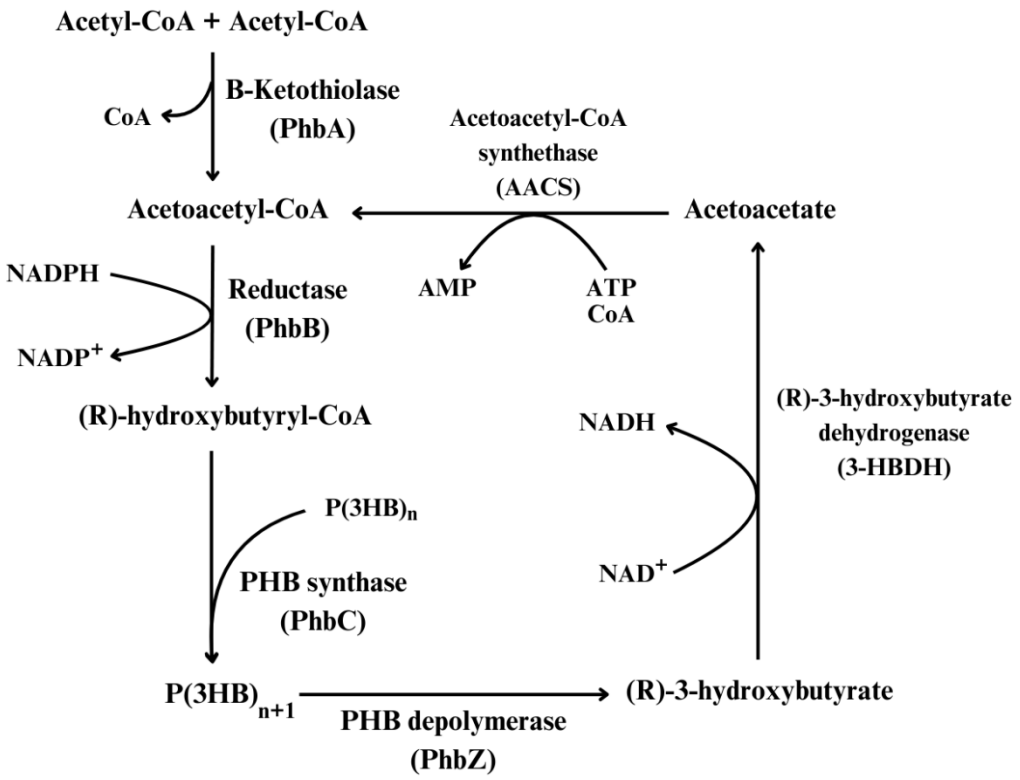

Figura 3. Via metabolica principale di sintesi e degradazione del PHB in *A. Eutrophus* [12]

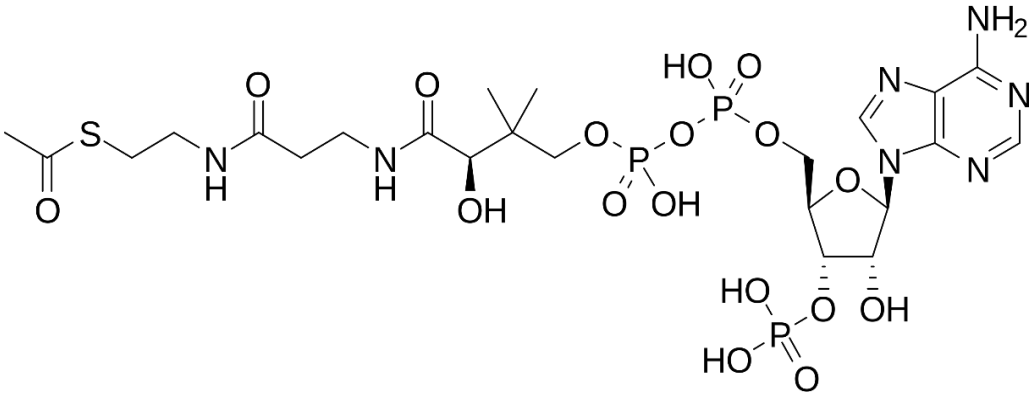

Figura 4. Struttura di acetil-CoA

3.3 Limitazioni della fermentazione batterica

La produzione di PHA mediante biosintesi a partire dagli zuccheri semplici costituenti i carboidrati è una pratica consolidata. A differenza dei meno comuni substrati quali trigliceridi e idrocarburi, l'utilizzo degli zuccheri è attualmente la norma per la produzione di queste bioplastiche a livello industriale [13]. Tuttavia, molteplici sono i fattori che tutt'ora ne limitano sviluppo e commercializzazione su larga scala.

Oltre ai costi relativi alla scelta della provenienza e del tipo di substrato, da cui dipende circa il 50% dei costi di produzione [13], un primo elemento da prendere in considerazione è la selezione della coltura batterica. Fattori quali: abilità della cellula di utilizzare substrati provenienti da fonti economiche, massima quantità di PHA accumulabile, tassi di crescita della coltura batterica e di sintesi del polimero dipendono direttamente dalla scelta del ceppo batterico, con notevoli effetti sui costi del prodotto finale.

Ulteriore fattore determinante nel far lievitare i costi di produzione è l'isolamento dalle cellule batteriche, recupero e purificazione dei polimeri. Differentemente dalla maggioranza dei prodotti di biosintesi, i PHA sono sintetizzati ed accumulati in strutture intracellulari, comportando una limitazione della quantità di prodotto a causa del ridotto spazio citoplasmatico e necessitando di ulteriori processi per ottenere un polimero privo di impurità. La prassi prevede una prima fase di pretrattamento, diversa a seconda del ceppo batterico, volta ad indebolire la membrana cellulare e permettere il successivo rilascio e recupero dei polimeri mediante tecniche quali: estrazione con solventi, disgregazione chimica, meccanica o enzimatica [4].

Presi in considerazione questi fattori, appare chiaro come gli elevati costi di produzione ostacolino la diffusione su larga scala di questi biopolimeri. Fino ai primi anni 2000, i costi per la produzione biosintetica dei PHA si attestavano sulle decine di dollari al chilogrammo, in particolare 16 $ impiegando *A. Eutrophus*. Tuttavia, la costante ricerca negli ultimi anni ha consentito di ridurre significativamente i costi, fino agli attuali 3-6 $ al kg, rendendo possibile la

commercializzazione [5]. Tra le innovazioni più rilevanti spicca l'introduzione dei batteri ricombinanti.

3.4 Strategie Alternative

Attraverso la tecnologia del DNA ricombinante è possibile introdurre materiale genetico all'interno di un host, come *E. Coli*, permettendo di ingegnerizzare batteri in grado di produrre notevoli quantità di PHA a costi ridotti o capaci di sfruttare anche substrati più economici, quali ad esempio gli scarti agricoli. L'introduzione di batteri ricombinanti ha consentito la sintesi di PHA da parte di batteri che non sono produttori naturali, come appunto *E. Coli,* ma caratterizzati da crescita rapida ed elevato flusso metabolico, garantendo una produzione massiccia ed efficiente [14].

Un'alternativa alla sintesi batterica per la produzione di PHA è rappresentata dalle piante geneticamente ingegnerizzate, il cui utilizzo è già applicato per la produzione di altri prodotti chimici su larga scala e a basso costo. Un loro impiego nella produzione di questi polimeri permetterebbe la sintesi di plastiche biodegradabili nell'ordine di milioni di tonnellate, rispetto alle migliaia di tonnellate ottenibili tramite fermentazione batterica. Una produzione pari a circa il 40% del peso secco della pianta si stima possa permettere di ridurre drasticamente i costi a 0.20-0.50 $ al kg [5]. I tentativi di ingegnerizzare le piante per deviare il flusso di acetil-CoA dalla produzione degli oli alla sintesi di PHA si sono dimostrati promettenti. Nel prossimo futuro si ipotizza che i costi di produzione di queste bioplastiche potranno essere competitivi con quello delle plastiche da fonti fossili, attualmente pari a circa un dollaro al kg [15].

4. Sintesi chemo-catalizzata

4.1 Meccanismi di polimerizzazione generali

Lo sviluppo di strategie di biosintesi dei PHA, tramite fermentazione batterica a partire da fonti rinnovabili, ha permesso l'ingresso di queste bioplastiche all'interno del mercato globale. Tuttavia, gli elevati costi rappresentano ancora un considerevole ostacolo al loro sviluppo e commercializzazione su larga scala.

Inoltre, il meccanismo di polimerizzazione a stadi, caratteristico delle vie biosintetiche, ne limita ulteriormente l'applicabilità a livello industriale. Il termine polimerizzazione a stadi si riferisce alla sintesi di polimeri a partire da uno o più tipi diversi di monomeri multifunzionali, attraverso reazioni tra due monomeri, oligomeri o polimeri. L'alternativa polimerizzazione a catena consiste nella sintesi di polimeri tramite la progressiva reazione tra un monomero e un centro reattivo, portando all'addizione di una unità monomerica alla catena e propagazione del centro reattivo. Il centro reattivo è prodotto tramite reazione con un iniziatore [16].

Per comprendere come la polimerizzazione a stadi costituisca un fattore limitante nella sintesi dei PHA è necessario analizzare l'andamento del grado di polimerizzazione rispetto al tasso di conversione percentuale per i due diversi tipi di polimerizzazione, come riportato in figura 5. Nel grafico si è operata una distinzione tra i due tipi di polimerizzazione a catena: polimerizzazione a catena (libera) e polimerizzazione vivente. Quest'ultima è caratterizzata dall'assenza di reazioni di trasferimento, terminazione di catena e dalla maggiore velocità di propagazione rispetto a quella di iniziazione delle catene [17]. Inoltre, è di particolare interesse industriale dato l'elevato controllo dei pesi molecolari delle catene polimeriche e la possibilità di sintetizzare copolimeri a blocchi.

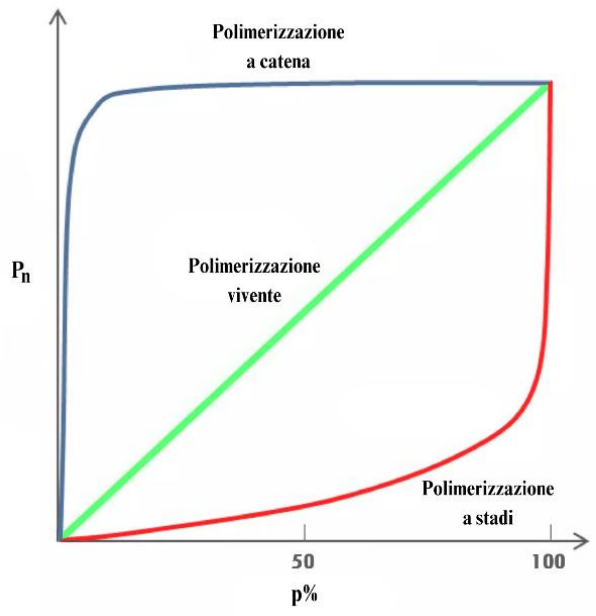

Figura 5. Andamenti del grado di polimerizzazione (P_n) sul tasso di conversione percentuale (p%) per polimerizzazione a stadi, polimerizzazione a catena e polimerizzazione vivente

4.2 Biosintesi e sintesi chemo-catalizzata: un confronto

I vantaggi delle vie chemo-catalizzate, ovvero della polimerizzazione a catena, specie se controllata, sono dovuti al differente meccanismo di polimerizzazione. Oltre ad una maggiore velocità di sintesi e scalabilità dei processi, tra i benefici si evidenzia una superiore precisione nella sintesi. Precisione che si traduce in un migliore controllo della struttura del polimero, quindi della sequenza dei monomeri e della lunghezza delle catene polimeriche, di cui sono indicatori il grado di polimerizzazione (P_n) e l'indice di dispersione (Đ). Valori di Đ prossimi ad uno sono desiderabili e sono associati ad una ridotta variabilità nelle diverse lunghezze delle catene.

Meccanismi di questo tipo permettono inoltre di sintetizzare polimeri altrimenti non accessibili per vie biosintetiche, oltre a garantire un certo controllo sulla struttura dei copolimeri e sulla tatticità del prodotto finale [18]. In figura 6. sono riassunte le

principali differenze e caratteristiche comuni alle due strategie di sintesi, biologica e chimica.

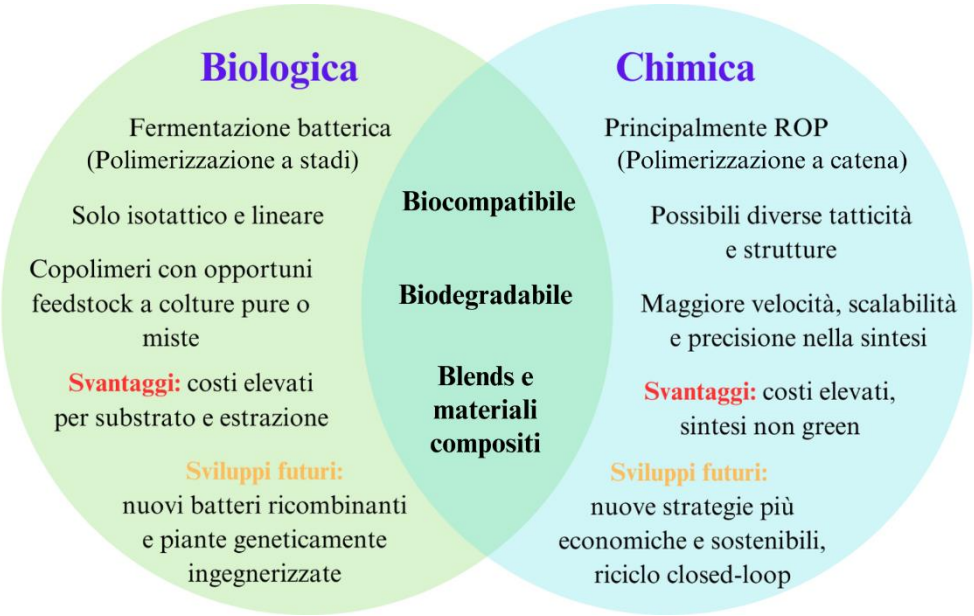

Figura 6. confronto fra le caratteristiche delle vie biologica e chimica

4.3 Strategie di sintesi chemo-catalizzata

Attualmente sono note quattro vie principali per la sintesi chimica dei PHA. Analogamente al capitolo precedente, l'attenzione sarà volta in particolare al caso del poliidrossibutirrato.

I. Policondensazione dell'acido (R)-3-idrossibutirrico, per produrre PHB isotattico.

II. Polimerizzazione ad apertura di anello (ROP) del β-butirlattone (β-BL).

III. ROP di $8DL^{Me}$ dilattone ciclico a 8 membri dimero dell'acido 3-idrossibutirrico.

IV. Polimerizzazione carbonilativa di metilossirano e monossido di carbonio [18].

4.4 Policondensazione

La via diretta mediante policondensazione consiste nella ripetuta reazione di condensazione tra due gruppi funzionali complementari, polimerizzazione a stadi, con formazione di sottoprodotti, i condensati, che devono essere rimossi dall'ambiente di reazione poiché la loro presenza può favorire la depolimerizzazione. Questa via sintetica è di ridotto interesse in quanto permette di ottenere gradi di polimerizzazione elevati solo a tassi di conversione pari o superiori al 99%, inoltre necessita di alte temperature e il prodotto finale è caratterizzato da elevati valori dell'indice di polidispersione [19].

Fattore determinante negli alti valori dell'indice Đ, è la presenza di frequenti reazioni di terminazione, dovute alla formazione di gruppi terminali crotonati, con conseguente produzione di PHB polidisperso e dal ridotto peso molecolare. La reazione di β-eliminazione avviene mediante formazione di un intermedio costituito da un anello a sei membri e successiva scissione, figura 7. Questo meccanismo è responsabile della sensibilità del PHB alla degradazione termica. A temperature prossime a T_m (160-180°C) si verifica un rapido calo dei pesi molecolari delle catene a causa delle rapide reazioni di β-eliminazione [20].

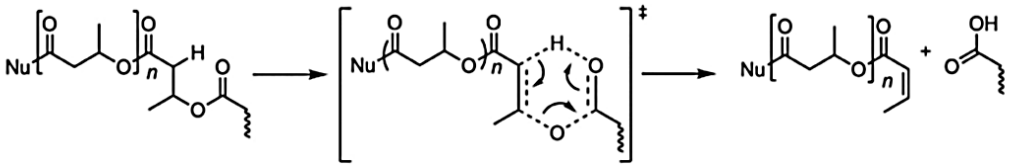

Figura 7. Meccanismo della reazione di terminazione per formazione del gruppo terminale crotonato [18]

4.5 Polimerizzazione ad apertura di anello (ROP)

La polimerizzazione ad apertura di anello è un particolare tipo di polimerizzazione a catena, caratterizzata dall'aggiunta di un monomero ciclico alla crescente catena polimerica attraverso l'apertura dell'anello del monomero, in seguito alla reazione con il centro reattivo della catena. Il tipo di monomero ciclico impiegato e la scelta di catalizzatore e iniziatore determina la natura del centro reattivo e quindi del

meccanismo di polimerizzazione. Il meccanismo generale è rappresentato in figura 8. [19].

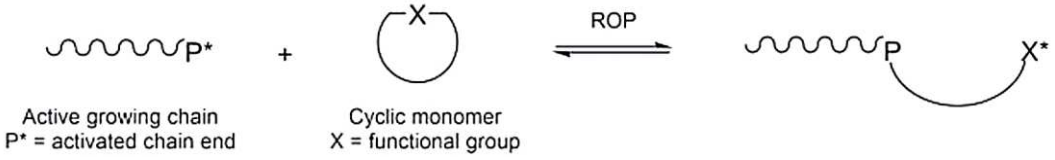

Figura 8. ROP – meccanismo generale [19]

La ROP è nota da tempo essere la via chimica più efficace per la sintesi di PHB dall'elevato peso molecolare, a partire dai lattoni β-BL e $8DL^{Me}$, attraverso meccanismi di polimerizzazione anionica (aROP), figura 10, o di coordinazione-inserzione (ciROP), figura 11. Step fondamentale del processo è l'apertura dell'anello, che può verificarsi secondo due meccanismi in competizione: scissione del legame carbonio-ossigeno acilico e scissione del legame carbonio-ossigeno alchilico. Nel caso del meccanismo ciROP si verifica esclusivamente la scissione acilica, in quanto favorita dalla coordinazione del centro metallico all'ossigeno acilico.

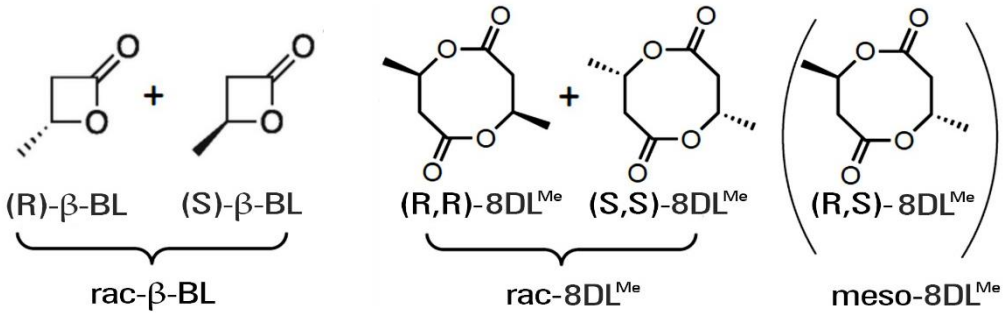

Figura 9. A sinistra: le due forme enantiomeriche del lattone β-BL. A destra: le due forme enantiomeriche del dilattone $8DL^{Me}$ e il diastereoisomero meso-$8DL^{Me}$

β-BL presenta un centro chirale, è quindi disponibile in forma enantiopura o come miscela racemica (rac-β-BL) dei due enantiomeri (R) e (S). $8DL^{Me}$ è caratterizzato da due centri chirali e può presentarsi come miscela racemica, rac-$8DL^{Me}$, dei due enantiomeri (R,R) e (S,S) oppure come meso-$8DL^{Me}$, diastereoisomero separato durante il processo di produzione di rac-$8DL^{Me}$ e caratterizzato dalla diversa chiralità dei due centri (R,S), ma complessivamente achirale, data la presenza di un centro di inversione.

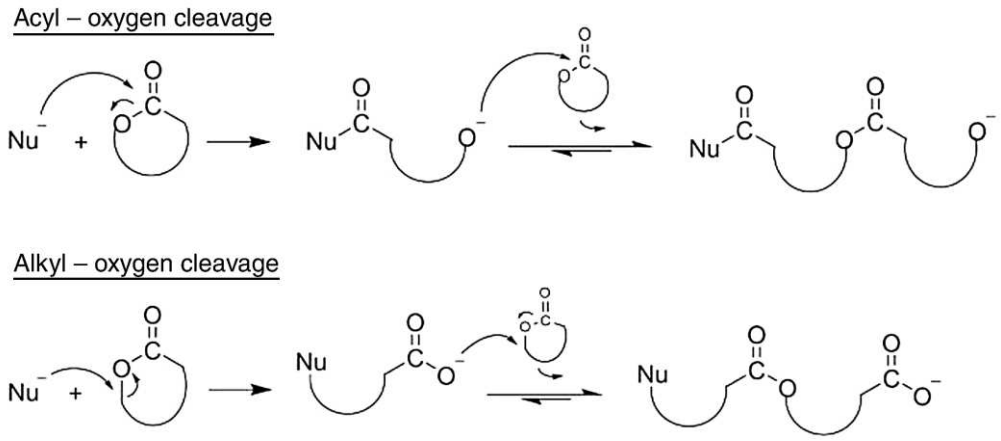

Figura 10. aROP meccanismo per un generico lattone – scissione acilica e scissione alchilica [19]

La polimerizzazione anionica prevede tre step fondamentali:

I. Iniziazione: attacco del nucleofilo, l'iniziatore, alla catena e apertura dell'anello.

II. Propagazione: la specie prodotta, carica negativamente, attacca un ulteriore monomero ciclico causandone l'apertura dell'anello e formazione di un nuovo centro reattivo carico negativamente.

III. Terminazione.

L'effetto delle due diverse scissioni è, nel caso di β-BL, la conservazione della chiralità del carbonio in posizione β se il meccanismo è a scissione acilica, inversione del centro chirale o racemizzazione nel caso di meccanismo a scissione alchilica [18].

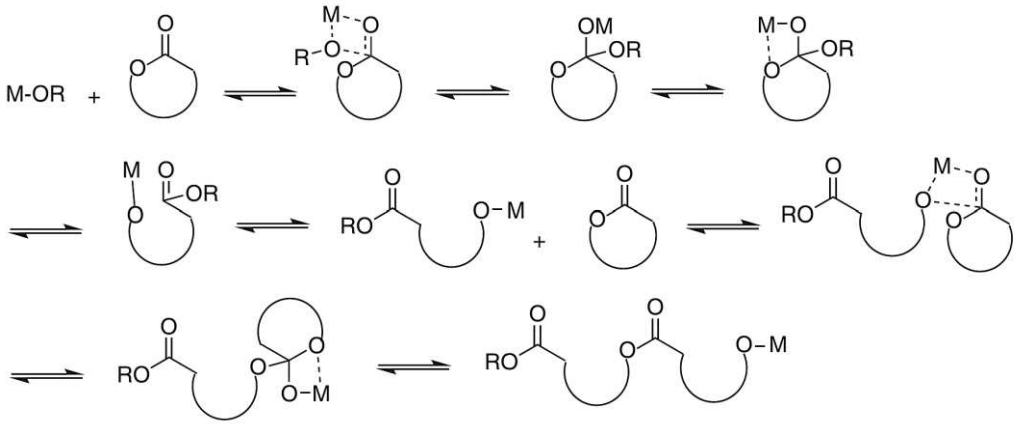

Figura 11. ciROP meccanismo per un generico lattone [19]

Il meccanismo per coordinazione-inserzione è caratterizzato dai seguenti step fondamentali:

I. Coordinazione del catalizzatore metallico al gruppo carbonilico del monomero ciclico.
II. Attacco nucleofilo del catalizzatore, formando un intermedio tetraedrico.
III. Apertura dell'anello attraverso formazione di un legame tra metallo e ossigeno acilico e scissione concertata del legame carbonio-ossigeno acilico, generazione della specie RO-[3HB]-O-[M] caratterizzata dal centro reattivo O-[M].
IV. Propagazione attraverso coordinazione del centro reattivo al gruppo carbonilico di un ulteriore monomero ciclico (e successivi step II. e III.) producendo un nuovo centro reattivo O-[M].
V. Terminazione [18, 19].

A seconda del monomero di partenza e tatticità del prodotto desiderata (isotattico, atattico o sindiotattico) le strategie, quindi i catalizzatori impiegati e i meccanismi coinvolti, sono differenti. Sono in seguito riportate strategie di sintesi particolarmente promettenti, suddivise per tatticità del prodotto e monomero di partenza.

4.5.1 ROP per la produzione di it-PHB

La produzione di PHB isotattico, analogo del PHB biosintetico, a partire da β-BL non è banale, a causa della competizione tra i due meccanismi di scissione. Inoltre, particolare attenzione merita la stereochimica del monomero iniziale. Utilizzando rac-β-BL è necessario polimerizzare selettivamente uno dei due enantiomeri (R) o (S). Utilizzando, invece, una forma enantiopura di β-BL, previa costosa risoluzione della miscela racemica, la sintesi risulta più semplice. La produzione di PHB dall'elevato grado di isotatticità: $P_m > 0.85$, definita dal valore di P_m ovvero la probabilità di legami meso tra le unità monomeriche, risulta tutt'ora complessa da realizzare [21].

Gradi di isotatticità elevati sono invece raggiungibili con maggiore facilità a partire dal dimero rac-8DL^{Me}, analogamente a come si è osservato per la produzione del poli acido lattico (PLA) a partire dal lattide, dimero ciclico dell'acido lattico.

Attraverso l'impiego come catalizzatore di un ammido-complesso di ittrio supportato da un legante Salen tetradentato (riportato in figura 12) in DCM e a temperatura ambiente, è stata possibile un'efficiente sintesi di PHB dalla perfetta isotatticità, $P_m > 0.99$, oltre ad elevate cristallinità, temperatura di fusione e peso molecolare. Motivo dell'efficacia di questo catalizzatore è l'esclusiva selettività catalizzatore/monomero: (R,R)-cat/(S,S)-8DL^{Me} e (S,S)-cat/(R,R)-8DL^{Me}. L'eccellente stereoselettività ha permesso la sintesi di (S)-PHB e (R)-PHB, dalle caratteristiche identiche a quello prodotto per fermentazione batterica, impiegando rispettivamente i catalizzatori (R,R)-cat e (S,S)-cat [21].

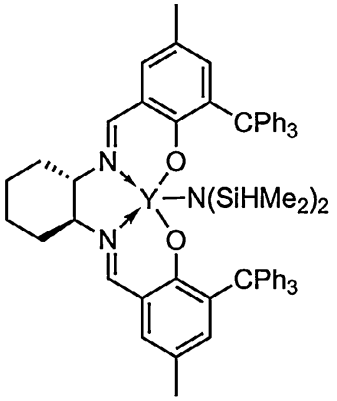

Figura 12. struttura del catalizzatore impiegato per la produzione di it-PHB [21]

Il catalizzatore, un complesso di ittrio-bis(dimetilsilil)ammide, supportato da leganti N,N'-bis(salicilidene)cicloesandiammina sostituiti in posizione 3- da gruppi trifenilmetile, deve essere utilizzato in combinazione con un alcol, l'alcol benzilico (BnOH) che agisce da iniziatore, sostituendo il legante sililammidico. La forma attivata del catalizzatore è in grado di coordinare il gruppo carbonilico del monomero e dare inizio al processo di polimerizzazione attraverso il meccanismo ciROP. In figura 13. è riportato lo schema del meccanismo di coordinazione-inserzione per la ciROP di (R,R)-8DL^{Me} con catalizzatore (S,S)-cat. Per la sintesi di (S,S)-8DL^{Me} il meccanismo è analogo.

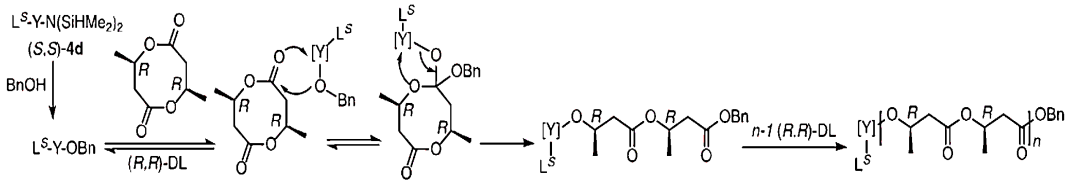

Figura 13. schema di reazione per la ciROP di (R,R)-8DL^{Me} con (S,S)-cat [21]

4.5.2 ROP per la produzione di st-PHB

Nonostante non sia presente in natura, il PHB sindiotattico rappresenta una delle opzioni rese possibili dalle sintesi chemo-catalizzate.

Una strategia che si è dimostrata particolarmente efficace è la ciROP di β-BL impiegando come catalizzatori complessi di ittrio con leganti bis(dimetilsilil)ammide e THF, supportati dal legante tetradentato amminobis(fenolato), figura 14. Si è così realizzata una polimerizzazione, a temperatura ambiente e in toluene, di 1000 equivalenti di monomero in cinque minuti, ottenendo un prodotto caratterizzato da notevole sindiotatticità, pari al 90%, oltre ad elevati pesi molecolari e ridotta semidispersione [22].

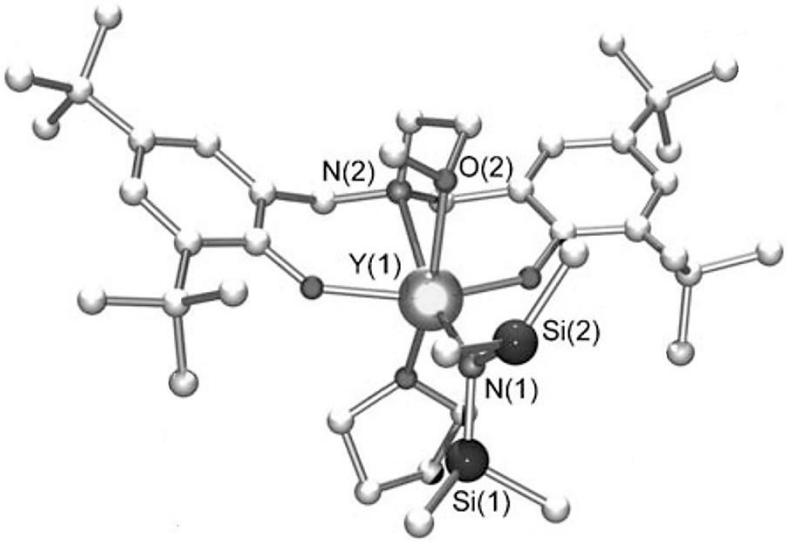

Figura 14. struttura del catalizzatore impiegato per la produzione di st-PHB [22]

Analogamente a quanto osservato per la produzione di it-PHB da $8DL^{Me}$, il monomero si coordina al gruppo alcossido del catalizzatore, dando inizio al processo di polimerizzazione con meccanismo di coordinazione-inserzione. Risulta quindi necessario far reagire il catalizzatore con alcol isopropilico per ottenere la forma attiva dell'iniziatore, figura 15.

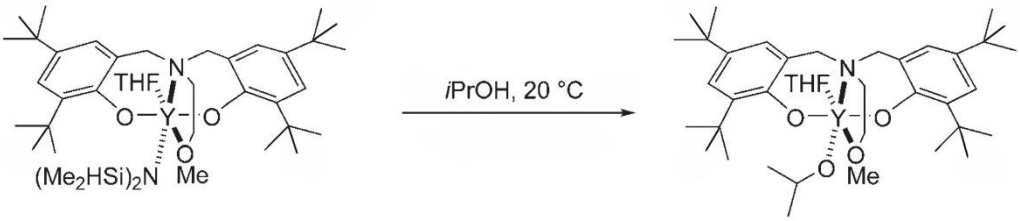

Figura 15. schema di reazione per la produzione della forma attiva dell'iniziatore [22]

Un'analisi dello spettro ^{1}H NMR ha dimostrato la presenza di gruppi $-OCH(CH_3)_2$ terminali, dato il caratteristico picco con δ = 5.00 ppm e l'assenza di gruppi terminali crotonati, confermando il meccanismo per coordinazione-inserzione proposto [22].

Una strategia alternativa, impiegante il monomero meso-8DL^{Me} e come catalizzatore un ammido-complesso di lantanio supportato da un legante Salen tetradentato (complesso dalla struttura analoga a quella del complesso di ittrio riportato in figura 12) ha dimostrato un'ottima attività e un prodotto caratterizzato da sindiotatticità elevata, $P_r = 0.92$. Con P_r definita come la probabilità di legami rac- tra le unità monomeriche. Come ci si aspetterebbe, data la stereoselettività delle due forme enantiomeriche del catalizzatore (capitolo 4.5.1), la scissione del legame C-O acilico avviene selettivamente al sito (S) con (R,R)-cat, mentre (S,S)-cat provoca selettivamente la scissione del legame C-O al sito (R), producendo in entrambi i casi st-PHB [18].

4.5.3 ROP per la produzione di at-PHB

A differenza delle altre tatticità, per la produzione del PHB atattico a partire da β-BL sono attualmente disponibili vie di sintesi che non necessitano l'utilizzo di catalizzatori metallici.

Ottimi risultati sono stati raggiunti mediante l'utilizzo di catalizzatori NHC (N-heterocyclic carbenes), in particolare TPT, riportato in figura 16.

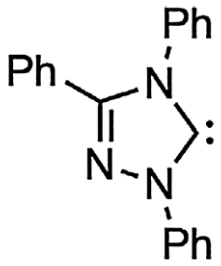

Figura 16. struttura del catalizzatore TPT

Impiegando come catalizzatore un sistema costituito da una miscela equimolare TPT/alcol primario o TPT/acido carbossilico, è stato possibile ottenere in t-BuOH anidro una ROP altamente controllata e dal carattere vivente, con conseguenti

elevate masse molecolari (32 kg/mol) e ridotta semidispersione. La presenza dell'alcol ter-butilico comporta un notevole aumento dell'attività, favorendo l'attacco nucleofilo dell'alcossido rispetto a reazioni indesiderate di deprotonazione o di eliminazione, come la formazione di gruppi crotonati, promosse dall'elevata basicità del catalizzatore [23].

In figura 17. è riportato il meccanismo di polimerizzazione nel caso del sistema TPT/alcol primario. Il meccanismo è di tipo anionico. L'iniziatore, un alcossido, prodotto in seguito alla reazione tra TPT e l'alcol primario, attacca il monomero provocandone una scissione acilica (i) o alchilica (ii).

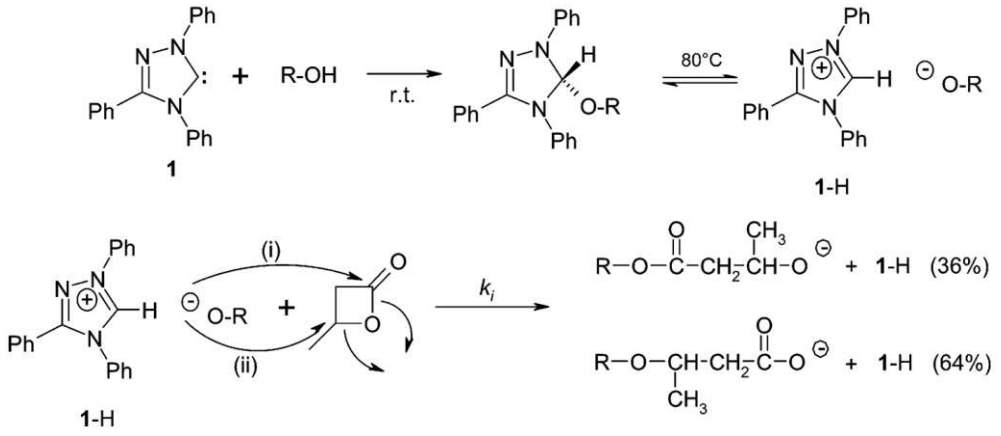

Figura 17. aROP impiegando un sistema TPT/alcol primario, formazione dell'iniziatore e attacco nucleofilo [23]

4.6 Polimerizzazione carbonilativa

L'utilizzo di epossidi per la produzione di PHB offre due diverse possibilità: I. Co-polimerizzazione diretta di metilossirano e monossido di carbonio, che difficilmente permette di raggiungere pesi molecolari elevati; II. Sintesi di β-BL attraverso reazione di carbonilazione, purificazione del lattone prodotto e successiva ROP.

Una via alternativa consiste in una catalisi tandem in un unico passaggio (one-pot), ovvero nell'impiego di una miscela di due catalizzatori: uno per la reazione di

carbonilazione e uno per la polimerizzazione ad apertura di anello. Prodotto dalla reazione di carbonilazione promossa dal primo catalizzatore, β-BL viene immediatamente polimerizzato a PHB in situ, grazie all'azione del secondo catalizzatore, eliminando così la necessità di purificare il monomero, noto per essere tossico e sospettato di essere cancerogeno. Le tre possibili vie per la sintesi di PHB a partire da ossido di propilene e monossido di carbonio sono schematizzate in figura 18.

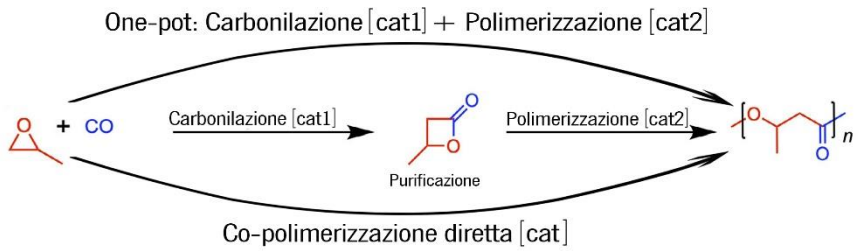

Figura 18. schema riassuntivo delle tre vie per la sintesi di PHB a partire da metilossirano e monossido di carbonio

Lo sviluppo di un sistema catalitico one-pot è particolarmente complesso in quanto, per garantire elevate attività e selettività, i due catalizzatori non soltanto devono essere compatibili tra loro, ma lo devono essere anche con solvente, substrati e sottoprodotti delle reazioni. La coppia formata dai due complessi: $[(ClTPP)Al(THF)_2]^+$ $[Co(CO)_4]^-$ per la carbonilazione e $(BDI)ZnO^iPr$ per la polimerizzazione (figura 19) ha permesso di ottenere at-PHB e, utilizzando la forma enantiopura dell'epossido, it-PHB. I polimeri ottenuti presentano una ridotta semidispersione ed elevati pesi molecolari, la cui crescita rispetto ai tassi di conversione è stata determinata essere lineare, suggerendo una polimerizzazione di tipo vivente [24].

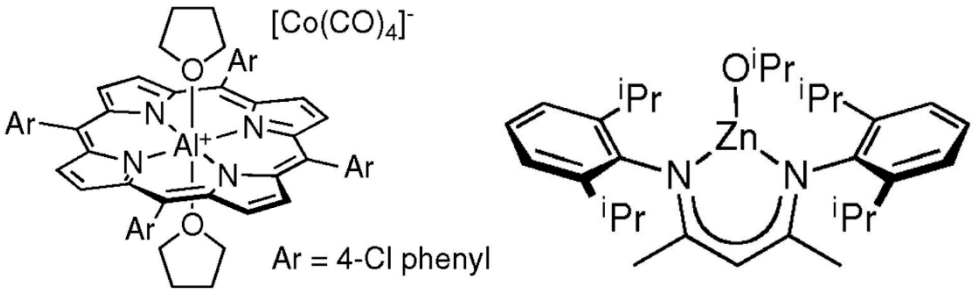

Figura 19. catalizzatori impiegati nella sintesi one-pot, carbonilazione a sinistra e ROP a destra [24]

Si osservi inoltre come la polimerizzazione carbonilativa permetta di sintetizzare, a partire dai corrispondenti epossidi, numerosi β-lattoni con sostituenti, ad esempio, fluorinati, per la sintesi di PHB atipici [25].

4.7 Limitazioni delle vie chemo-catalizzate e sviluppi futuri

Nonostante i numerosi vantaggi intrinsechi di una sintesi di tipo chimico derivanti dal maggiore controllo sulla sintesi, le vie biosintetiche risultano essere la norma per la sintesi di PHA a livello industriale. Nuovi studi dovrebbero essere rivolti verso lo sviluppo di strategie più economiche e green per la sintesi di monomeri e polimeri, verso catalizzatori organici o senza metalli rari, dunque più sostenibili, e catalizzatori caratterizzati da una maggiore attività e selettività, quindi più economici, perché efficienti anche in ridotte quantità.

Una prospettiva futura è lo sviluppo di efficaci strategie di depolimerizzazione, permettendo lo sviluppo di un closed-loop recycling, ovvero un riciclo monomero-polimero-monomero dei PHA, allo scopo di creare un'economia circolare per questi materiali con considerevoli benefici economici e ambientali [18].

5. Biodegradabilità

I microorganismi in grado di produrre PHA in condizioni quali la limitazione di nutrienti, possono metabolizzarli al termine dello stato di stress tramite l'azione delle depolimerasi intracellulari, figura 3. Tuttavia, la capacità di produrre ed immagazzinare PHA non garantisce l'abilità di degradare questi polimeri nell'ambiente. Già a partire dagli anni 90' numerosi microorganismi in grado di degradare i PHA, in particolare funghi e batteri, sono stati identificati in diversi ambienti quali: suolo, acqua di mare e di lago, fanghi attivati in condizioni aerobiche e anaerobiche. Un esempio dell'azione di questi microorganismi è riportato in figura 20. L'analisi con un microscopio a scansione elettronica di un film di PHB-co-PHBV seppellito in un suolo arricchito con residui del trattamento delle acque reflue, ha dimostrato, dopo 120 giorni chiari segni di degradazione quali numerose scanalature, cavità e ruvidità superficiali [26].

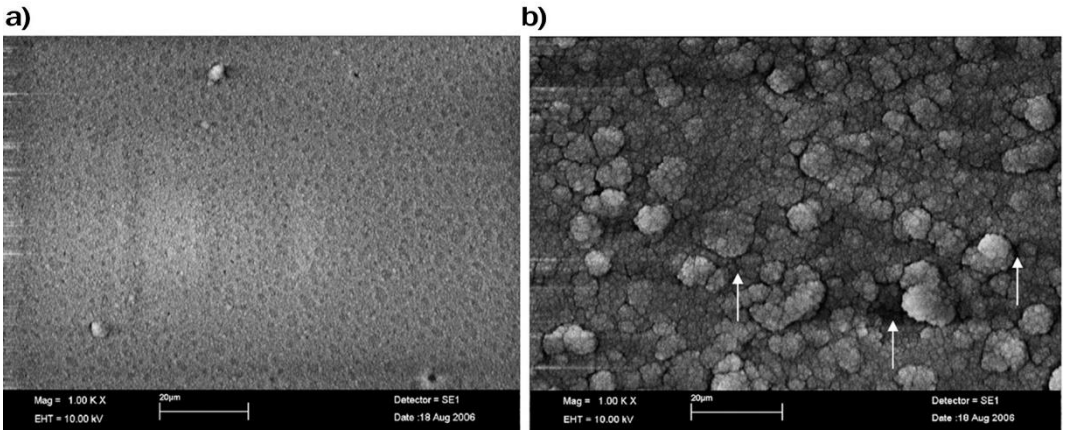

Figura 20. Micrografia SEM di un film PHB-co-PHBV, a) prima di essere seppellito nel suolo, b) dopo 120 giorni [26]

La biodegradazione dei PHA ha inizio con l'azione degli enzimi depolimerasi. Date le notevoli dimensioni delle catene, queste non possono essere trasportate attraverso la membrana cellulare, devono essere convertite nei rispettivi monomeri attraverso l'azione delle depolimerasi extracellulari secrete dai microorganismi. Questi enzimi sono delle idrolasi, provocano la scissione della catena polimerica catalizzando

reazioni di idrolisi, producendo idrossiacidi solubili in acqua e di dimensioni sufficientemente ridotte per diffondere passivamente attraverso la membrana. Nel caso del PHB il prodotto è l'acido (R)-3-idrossibutirrico. In condizioni aerobiche il metabolismo di questo idrossiacido all'interno della cellula prevede che venga prima convertito in 3-idrossibutirril-CoA e successivamente ad acetoacetil-CoA tramite reazione di β-ossidazione. Acetoacetil-CoA viene ulteriormente scisso in due molecole di Acetil-CoA mediante l'azione delle tiolasi. Ultimo step è l'ingresso dell'acetil-CoA nel ciclo dell'acido tricarbossilico (TCA), con produzione di energia, CO_2 e H_2O. Questo processo è talvolta definito con il termine mineralizzazione. In condizioni anaerobiche le vie metaboliche sono diverse e viene invece rilasciato CH_4. In entrambi i casi non si verifica la produzione di intermedi o sottoprodotti tossici [26].

Un aspetto di cruciale importanza nell'impiego di queste bioplastiche è che la biodegradazione può verificarsi solo in presenza di determinate condizioni di nutrienti come fosforo e azoto e di parametri come temperatura e umidità, tali da favorire la proliferazione dei microorganismi coinvolti. Tali condizioni si riscontrano comunemente in ambienti come suolo e compost, ma non durante il normale utilizzo. Di conseguenza la biodegradabilità non compromette l'applicabilità di questi polimeri [6].

6. Applicazioni

Globalmente, la plastica è percepita come un bene di consumo monouso. Questa dannosa convinzione è testimoniata da un dato impressionante: solo per quanto riguarda l'industria del packaging, il 95% del valore economico delle plastiche, corrispondente ad una cifra tra gli 80 e 120 miliardi di dollari, è perso dopo un solo utilizzo. Quella che viene definita come la *New Plastics Economy* si prefigge di sfidare questa concezione, proponendo una nuova visione di sviluppo sostenibile fondato sui principi dell'economia circolare, sintetizzati dalle tre '*R*': *Reduct*, *Reuse, Recycle.* L'obiettivo è che la plastica non diventi mai un rifiuto ma, al termine del suo ciclo di utilizzo, possa rientrare nell'economia sottoforma di chemicals o nutrienti biologici [27, 28].

A questo scopo, le bioplastiche e, in particolare, i PHA si dimostrano una preziosa risorsa. Sono materiali particolarmente utili nell'industria del packaging in quanto combinano, specie mediante blending o co-polimerizzazione, le ottime proprietà di barriera dei poliesteri con le performance nelle proprietà meccaniche delle plastiche petrol-based, come polietilene e polipropilene. L'eccellente biodegradabilità di questi polimeri li rende ottimi candidati in ambito agricolo per la produzione di sacchi e teli da coltivazione, sostituendo il non-biodegradabile LDPE, o coating per fertilizzanti a lento rilascio, in grado di distribuire i nutrienti in maniera efficiente, riducendo costi ed inquinamento ambientale. La perfetta biocompatibilità ne permette l'applicazione in medicina nell'ambito della drug delivery. Inoltre, questi biopolimeri trovano impiego nell'ingegneria tissutale, nella riparazione delle lesioni nervose e per la guarigione delle ferite, data la loro capacità di supportare la proliferazione e adesione cellulare. Infine, materiali compositi PHA-fibre naturali si dimostrano dei validi candidati nell'edilizia, per la produzione di schiume isolanti e altri materiali da costruzione dall'elevata biodegradabilità [28].

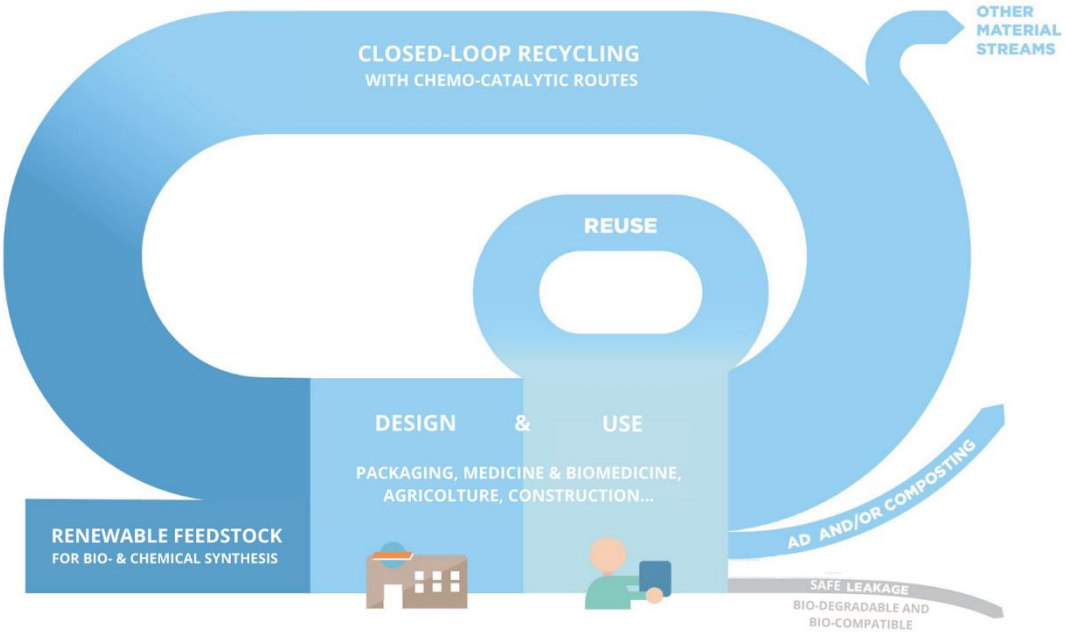

Figura 21. PHA - diagramma di un sistema economico circolare e sostenibile, AD: digestione anaerobica [27]

7. Conclusioni

Nonostante le attraenti caratteristiche dei PHA, che li rendono valide alternative sostenibili alle plastiche convenzionali *petrol-based* come polipropilene e polietilene, la loro produzione ed applicazione su larga scala è attualmente frenata dai costi elevati. Le prospettive future sono tuttavia incoraggianti, un'economia circolare dei PHA potrebbe essere più vicina di quanto pensiamo.

Dal punto di vista biosintetico, studi su nuovi ceppi batterici, caratterizzazione e clonazione dei geni interessati nella sintesi dei PHA, potranno dare grandi contributi nel ridurre ulteriormente i costi di produzione attraverso lo sviluppo di nuovi batteri ricombinanti e piante geneticamente ingegnerizzate.

In merito alla sintesi chimica, il maggiore controllo sulla struttura del polimero è un aspetto di cruciale importanza per garantire la versatilità di questi come risposta alle diverse necessità. La possibilità di un riciclo closed-loop è sicuramente una prospettiva interessante, vantaggiosa dal punto di vista economico e ambientale. Tuttavia, sono necessarie nuove strategie più efficienti e sostenibili per la sintesi di catalizzatori, monomeri e polimeri.

Un approccio multidisciplinare da parte di chimici, scienziati dei polimeri e dei materiali, botanici, microbiologi, biotecnologi, genetisti, ingegneri chimici, governi e tutto il resto della comunità scientifica costituisce la strategia vincente, non solo nel superare le sfide relative allo sviluppo e implementazione dei PHA ed altre bioplastiche, ma per poter raggiungere un vero sviluppo sostenibile, attraverso l'individuazione di soluzioni tecnicamente, ambientalmente, economicamente e socialmente valide.

Bibliografia

[1] https://ourworldindata.org/plastic-pollution?insight=around-05-of-plastic-waste-ends-up-in-the-ocean#key-insights; accesso in rete: 2024.12.14

[2] European Bioplastics (2023). Bioplastics – facts and figures

[3] Steinbuchel A. (1991). PHB and Other Polyhydroxyalkanoic Acids. *Biotechnology. Set (eds H.-.-J. Rehm and G. Reed),* 406-414

[4] Madkour M. H.; Heinrich D.; Alghamdi M. A.; Shabbaj I. I. and Steinbüchel A. (2013). PHA Recovery from Biomass. *Biomacromolecules*, 14 (9), 2964-2970.

[5] Reddy C. S. K.; Ghai R.; Rashmi; Kalia V. C. (2003) Polyhydroxyalkanoates: an overview. *Bioresource Technology*, Volume 87, Issue 2, 138-144.

[6] M. Winnacker, (2019). Polyhydroxyalkanoates: Recent Advances in Their Synthesis and Applications. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* (2019), 121, 1900101, 1-2

[7] Palmeiro-Sánchez T.; O'Flaherty V.; Lens P. N. L. (2022). Polyhydroxyalkanoate bio-production and its rise as biomaterial of the future. *Journal of Biotechnology,* 348, 14-20

[8] Turco R.; Santagata G.; Corrado I.; Pezzella C.; Di Serio M. (2021). In vivo and Post-synthesis Strategies to Enhance the Properties of PHB-Based Materials: A Review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 4-11

[9] Liang X.; Cha D. K.; Xie Q. (2024). Properties, production, and modification of polyhydroxyalkanoates. *Resources, Conservation & Recycling Advances*, Volume 21, 200206, 7

[10] Anderson A. J.; Dawes E. A. (1990). Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiol. Rev.* 54(4), 456

[11] Kouřilová X.; Pernicová I.; & Vidláková M.; Krejcirik R.; Mrazova K. Hrubanova K.; Krzyzanek V.; Nebesárová J.; Obruca S. (2021). Biotechnological Conversion of Grape Pomace to Poly(3-Hydroxybutyrate) by Moderately Thermophilic Bacterium Tepidimonas taiwanensis. *Bioengineering.* 8, 141. Available via license: CC BY 4.0 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

[12] Lee S.Y. (1996). Bacterial polyhydroxyalkanoates. *Biotechnol. Bioeng.* 49, 2-4

[13] Jiang G.; Hill D. J.; Kowalczuk M.; Johnston B.; Adamus G.; Irorere V.; Radecka I. (2016). Carbon Sources for Polyhydroxyalkanoates and an Integrated Biorefinery. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1157, 3-4

[14] Li R.; Zhang H.; Qi Q. (2007). The production of polyhydroxyalkanoates in recombinant Escherichia coli. *Bioresource Technology.* 98, 12, 2313-2317

[15] Aghaali Z.; Naghavi M. R. (2023). Biotechnological Approaches for Enhancing Polyhydroxyalkanoates (PHAs) Production: Current and Future Perspectives. *Curr Microbiol*. 80(11): 345, 3-9

[16] Chan C. H.; Chen J. T.; Farrell W. S.; Fellows C. M.; Keddie D. J.; Luscombe C. K.; Matson J. B.; Merna J.; Moad G.; Russell G. T. (2022). Reconsidering Terms for Mechanisms of Polymer Growth: The “Step-Growth” and “Chain-Growth” Dilemma. *Polym. Chem*. 13, 2262-2263

[17] 'living polymerization' in *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*, 3rd ed. International Union of Pure and Applied Chemistry. (2006). Online version 3.0.1, 2019.

[18] Westlie A. H.; Quinn E. C.; Parker C. R.; Chen E. Y. X. (2022). Synthetic biodegradable polyhydroxyalkanoates (PHAs): Recent advances and future challenges. *Progress in Polymer Science*. 134, 2-21

[19] Narmon A. S.; Jenisch L. M.; Pitet L. M.; Dusselier M. (2022). *Ring-Opening Polymerization Strategies for Degradable Polyesthers. Biodegradable Polymers in the Circular Plastics Economy.* 206-210

[20] Yeo J. C. C.; Muiruri J. K.; Thitsartarn W.; Li Z.; He C. (2018). Recent advances in the development of biodegradable PHB-based toughening materials: Approaches, advantages and applications. *Materials Science and Engineering: C*. 92, 1110-1111

[21] Tang X.; Chen E.Y. X.; Chemical synthesis of perfectly isotactic and high melting bacterial poly(3-hydroxybutyrate) from bio-sourced racemic cyclic diolide. *Nat Commun.* 9, 2345, 2-11

[22] Amgoune A.; Thomas C. M.; Ilinca S.; Roisnel T.; Carpentier J. F. (2006). Highly Active, Productive, and Syndiospecific Yttrium Initiators for the Polymerization of Racemic β-Butyrolactone. *Angewandte Chemie International Edition*. 45, 2782-2784

[23] Coulembier O.; Delva X.; Hedrick J. L.; Waymouth R. M.; Dubois P. (2007). Synthesis of Biomimetic Poly(hydroxybutyrate): Alkoxy- and Carboxytriazolines as Latent Ionic Initiator. *Macromolecules*. *40* (24), 8560-8564

[24] Dunn E. W.; Coates G. W. (2010). Carbonylative Polymerization of Propylene Oxide: A Multicatalytic Approach to the Synthesis of Poly(3-Hydroxybutyrate). *Journal of the American Chemical Society.* 132 (33), 11412-11413

[25] Kramer J. W.; Coates G. W. (2008) Fluorinated β-Lactones and Poly(β-hydroxyalkanoate)s: Synthesis via Epoxide Carbonylation and Ring-Opening Polymerization. *Tetrahedron*. 64 (29), 6973-6976

[26] Shah A. A.; Hasan F.; Hameed A.; Ahmed S. (2008) Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*. 26, 254-255

[27] World Economic Forum, Ellen MacArthur Foundation and McKinsey & Company. (2016). The New Plastics Economy: Rethinking the future of plastics. 26-31

[28] Aderemi T. A.; Chuks K. O.; Obieze C. E.; Oluwakemi O. B.; Osigbeminiyi O. O.; Emmanuel T. O.; Hitler L. (2020). Sustainable synthesis and applications of polyhydroxyalkanoates (PHAs) from biomass. *Process Biochemistry.* 96, 184-188