

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.: „Doskonalenie procesu biosyntezy kwasu fumarowego przez grzyby z rodzaju *Rhizopus*”

Produkcja kwasu fumarowego na drodze mikrobiologicznej syntezy z wykorzystaniem grzybów należących do rodzaju *Rhizopus* stanowi alternatywę dla metod opartych na przemianach chemicznych. Badania przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej miały na celu udoskonalenia metody hodowli wspomnianych grzybów zarówno pod kątem poprawy produktywności i wydajności, jak również obniżenia kosztów prowadzenia procesu biosyntezy poprzez wykorzystanie tanich substratów, w tym produktów ubocznych z innych technologii, m.in. przemysłu spożywczego oraz petrochemicznego.

Celem pracy było opracowanie optymalnych warunków hodowli wyselekcjonowanego szczepu grzyba z rodzaju *Rhizopus* z wykorzystaniem alternatywnych źródeł węgla, w tym glicerolu oraz źródeł azotu dla intensyfikacji biosyntezy kwasu fumarowego.

Założony cel został osiągnięty poprzez realizację następujących celów szczegółowych:

1. Identyfikacja taksonomiczna pozyskanych izolatów grzybów oraz określenie ich chemotypu.
2. Określenie zdolności wybranych szczepów – producentów kwasu fumarowego do wykorzystywania glicerolu jako źródła węgla w postaci gliceryny odpadowej.
3. Wyselekcjonowanie szczepów dzikich o naturalnej predyspozycji do produkowania zwiększonej ilości kwasu fumarowego w podłożach zawierających m.in. glicerol odpadowy różnego pochodzenia.
4. Wykorzystanie alternatywnych źródeł węgla i azotu w podłożach do hodowli grzybów z rodzaju *Rhizopus* sp.
5. Opracowanie uproszczonej procedury prowadzenia hodowli w bioreaktorze z pominięciem etapu właściwej prehodowli.
6. Przeprowadzenie hodowli bioreaktorowych w powiększonej skali procesu z wykorzystaniem wyselekcjonowanego szczepu grzyba *R. oryzae* charakteryzującego się najwyższą produktywnością w odniesieniu do kwasu fumarowego.

Rozprawa traktuje o znanych rozwiązaniach w mikrobiologicznej produkcji kwasu fumarowego w połączeniu z nowym podejściem opartym na strategii koutylizacji glicerolu stanowiącego produkt uboczny w produkcji biodiesla z węglowodanami, których zastosowanie dałoby możliwość podniesienia wydajności i obniżenia kosztów procesu, a tym samym kosztów produkcji kwasu fumarowego. Ponadto ważnym elementem przeprowadzonych badań było skrócenie czasu trwania hodowli, uzyskiwanie odpowiedniej formy biomasy grzybowej oraz ograniczenie ilości przeszczepień stanowiących niebezpieczeństwo zakażeń hodowli, co może mieć kluczowe znaczenie dla aplikacyjności opracowywanej technologii kwasu na drodze fermentacji mikrobiologicznej z wykorzystaniem grzybów z rodzaju *Rhizopus*.

Podstawą opracowanej strategii był podział procesu na dwie fazy: wzrostu biomasy oraz fazę produkcyjną, bez konieczności prowadzenia typowej prehodowli. Innowacyjnym elementem proponowanej metodyki hodowli było wykorzystanie glicerolu odpadowego jako źródła węgla do namnożenia biomasy grzybowej wyselekcjonowanego szczepu *R. oryzae* R-45, dzięki czemu wzrost strzępek został spowolniony, co pozwoliło uzyskać odpowiednią formę biomasy. Dzięki suplementacji podłoża hodowlanego siarczanem amonu uzyskano wysoką produktywność, z kolei niewielki dodatek azotanu potasu (0,2 g/l) podczas zasilania hodowli sacharydami utrzymywał żywotność biomasy nawet do 400h (hodowla okresowa z zasilaniem). W wyniku zastosowania zaproponowanej w niniejszej pracy strategii hodowlanej, uzyskano stężenie kwasu fumarowego w podłożu hodowlanym wynoszące 93,31 g/l. Proces charakteryzował się umiarkowaną produktywnością końcową (0,39 g/lxh), jednakże produktywność cząstkowa po sekwencyjnym wprowadzaniu syropu glukozowo-fruktozowego jako kosubstratu sięgała 0,77 g/lxh. Pozostałe doświadczenia prowadzone w ramach niniejszej pracy pozwoliły m.in. na zaobserwowanie pozytywnego wpływu wzrostu temperatury hodowli (z optymalnej 30°C do 35°C) na zdolność utylizacji glicerolu w grupie badanych izolatów należących do gatunku *Rhizopus stolonifer*, które również produkowały kwas fumarowy, jednakże w mniejszych ilościach w porównaniu do przedstawicieli gatunku *R. oryzae*.

Źródłem finansowania przeprowadzonych badań był projekt PO IG 01.01.02-00-074/09 „Biotechnologiczna konwersja glicerolu do polioli i kwasów dikarboksyłowych” pozyskany w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka, 2007-2013.