

Celem projektu jest zbadanie wpływu bioaugmentacji z wykorzystaniem wybranych szczepów referencyjnych na proces wydłużania łańcucha węglowego do średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz charakteryzacja mikrobiomu bakteryjnego w procesie fermentacji kultur mieszanych. Fermentacja z wykorzystaniem kultur mieszanych jest to proces beztlenowy oparty o platformę karboksylową, w której węgiel i energia pochodzące ze strumieni odpadowych są odzyskiwane w procesach biologicznych. Reakcje przeprowadzane są przez naturalnie występujące konsorcja mikroorganizmów, tzw. mikrobiom reaktorowy, a produktami reakcji są lotne kwasy tłuszczowe. Proces ten może być kształtowany w kierunku wydłużania łańcucha węglowego do średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych, które są korzystniejsze od lotnych kwasów tłuszczowych z energetycznego punktu widzenia i mogą służyć jako prekursorzy do produkcji biopaliw. Ze względu na kompleksowość zachodzących procesów pomiędzy poszczególnymi grupami mikroorganizmów wiedza na temat fermentacji kultur mieszanych w kierunku produkcji kwasów tłuszczowych o dłuższych łańcuchach karboksylowych jest wciąż niewystarczająca, co utrudnia wydajne sterowanie procesem i osiągnięcie maksymalnej produktywności. Aktualne podejścia opierają się o sterowanie czynnikami operacyjnymi takimi jak pH, temperatura, hydrauliczny czas zatrzymania, zmiana substratu itp. Dla pożądanego ukierunkowania procesu alternatywą może być bioaugmentacja, czyli wprowadzenie do systemu aktywnego szczepu bakteryjnego, zdolnego do przeprowadzenia określonych reakcji biochemicznych w celu poprawy wydajności procesu.

W celu wyjaśnienia zjawisk leżących u podstaw wydłużania łańcucha węglowego oraz wpływu bioaugmentacji na wydajność procesu fermentacji, w niniejszym projekcie zostaną przeprowadzone fermentacje kultur mieszanych z zastosowaniem bioaugmentacji. Substratami reakcji będą syntetyczne odpowiedniki związków organicznych, które naturalnie występują w strumieniach odpadowych, takie jak glukoza, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, kwas mlekowy, laktoza, glicerol, skrobia, celuloza. Kultura mieszana zostanie wyodrębniona z wcześniej prowadzonego procesu fermentacyjnego. Na potrzeby projektu do bioaugmentacji wybrane zostały szczepy posiadające aparat metaboliczny niezbędny do wydłużania łańcucha węglowego. Należy zauważyć, że skuteczne stosowanie bioaugmentacji jest często ograniczone przez brak solidnych i prostych metod monitorowania przeżywalności i aktywności wprowadzanych szczepów oraz innych subpopulacji drobnoustrojów uczestniczących w procesie, a większość mikroorganizmów jest niehodowalna lub techniki hodowli nie są jeszcze poznane. Ostatnie postępy w dziedzinie biologii molekularnej pozwalają na analizę mikroorganizmów bez potrzeby ich dodatkowej hodowli co pozwala na sprostanie tym ograniczeniom. W niniejszym projekcie hodowle będą prowadzone i analizowane z wykorzystaniem możliwości nowoczesnej aparatury badawczej w oparciu o metody analityczne i mikrobiologiczne. Metody analityczne prowadzone na każdym etapie badań pozwolą ocenić wpływ bioaugmentacji na powstające spektrum produktów oraz proces wydłużania łańcucha węglowego. Po wprowadzeniu szczepu próby będą analizowane w oparciu o zaawansowane metody mikrobiologiczne, m.in. cytometrię przepływową z sortowaniem komórek bakteryjnych, czy sekwencjonowanie metagenomowe. Kombinacja metod pozwoli nie tylko na monitorowanie wprowadzanego szczepu i ocenę wpływu bioaugmentacji na formowanie produktów, ale także na wieloparametryczną ocenę całej populacji mikrobiomu, identyfikację kluczowych grup mikroorganizmów biorących udział w procesie oraz ich wzajemne interakcje.

Kultury mieszane są szeroko badane pod kątem możliwości ich wykorzystania w procesach biotechnologicznych. Jednakże powiązanie pomiędzy strukturą mikrobiomu i jego funkcjonalnością wynikającą z wzajemnych interakcji pomiędzy poszczególnymi grupami bakterii pozostają nadal niewyjaśnione. Do tej pory niewiele wiadomo na temat funkcji poszczególnych gatunków jak również wpływu poszczególnych grup i szczepów na mechanizmy reakcji wydłużania łańcucha węglowego do średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Niewystarczająca wiedza na ten temat utrudnia skuteczną kontrolę procesu, a tym samym osiągnięcie maksymalnej wydajności. Jako, że funkcjonowanie i stabilność procesu fermentacji kultur mieszanych w dużej mierze zależy od struktury i aktywności mikrobiomu coraz częściej mówi się o potrzebie opracowania nowej strategii opartej o czynnik biologiczny dla osiągnięcia celu. Bioaugmentacja jest wschodzącą techniką w tej dziedzinie, a dotychczasowa wiedza i zrozumienie wpływu bioaugmentacji na proces fermentacji kultur mieszanych nie zostały do tej pory głęboko zbadane. Rezultaty projektu wprowadzą nową wiedzę w dyscyplinie inżynierii środowiska na temat stosowania bioaugmentacji w fermentacji kultur mieszanych do generacji średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych, co jest ważne z punktu widzenia odzyskiwania zasobów z bioodpadów.