

Różnorodność mikroorganizmów na Ziemi jest wręcz nieograniczona. Podaje się, że istnieje  $6 \times 10^{30}$  bakterii,  $1,3 \times 10^{28}$  archeonów i  $3,1 \times 10^{29}$  eukariotów. Dzięki temu możliwe jest opracowywanie technologii fermentacji beztlenowych znajdujących zastosowanie w inżynierii środowiska oraz biotechnologii przemysłowej i środowiskowej. Mikroorganizmy są wszechobecne i odgrywają główną rolę w cyklach biochemicznych, dzięki którym istnieje życie na Ziemi, ale w produkcji wysokowartościowych związków chemicznych, antybiotyków, witamin, farmaceutyków, słodzików itp. na skalę przemysłową wykorzystuje się zaledwie około 150 rodzajów procesów mikrobiologicznych. W ostatnich latach zaczęto ponownie intensywnie badać nowe procesy fermentacji beztlenowych, w których wykorzystuje się mikroorganizmy z tzw. kultur mieszanych. Większość procesów wykorzystuje czyste kultury dostosowane do warunków w bioreaktorach lub mikroorganizmów genetycznie zmodyfikowanych przy użyciu narzędzi biologii syntetycznej. Procesy biotechnologiczne wykorzystujące fermentację z użyciem czystych kultur przeważają, ponieważ parametry procesu mogą być zoptymalizowane pod kątem konkretnych szczepów mikroorganizmów. Jednak fermentacja w czystej kulturze ma podstawową wadę - wymaga sterylnych warunków pracy i surowca o wysokiej jakości i czystości. Jednym z najczęściej stosowanych komercyjnie procesów wykorzystujących niezdefiniowane mieszane kultury jest fermentacja metanowa. Proces ten odgrywa kluczową rolę w systemach gospodarki odpadami i wytwarza energię odnawialną w postaci metanu. Proces fermentacji metanowej jest całkowicie zależny od złożonej aktywności syntroficznej mikroorganizmów należących do kilku grup funkcyjnych. Ogólnie proces ten można podzielić na hydrolizę, kwasogenezę, acetogenezę i metanogenezę, gdzie większość substancji organicznych (węglowodany, lipidy, białka), z wyjątkiem składników ligniny, ulega degradacji do metanu i dwutlenku węgla. Konwersja odpadów organicznych do biogazu jest ugruntowaną technologią, podczas gdy konwersja odpadów organicznych do biochemikaliów jest wciąż tylko w fazie badawczej. Lotne kwasy tłuszczowe, takie jak kwas octowy, propionowy, masłowy i walerianowy, które są produktami pośrednimi w fermentacji metanowej, można uznać za podstawę dla platformy karboksylowej. Materiałami, które mogą być wykorzystane jako substraty w fermentacji z użyciem kultur mieszanych są: frakcja organiczna odpadów komunalnych, gnojówki zwierzęce, odpady z przetwórstwa warzywno-owocowego, ścieki browarnicze, serwatka, osady ściekowe oraz inne ścieki i odpady z przemysłu rolno-spożywczego. Pozostałości po uprawach roślinnych (takie jak słoma pszeniczna lub łodygi kukurydzy) są również znaczące, ale wymagają obróbki wstępnej poprzedzającej fermentację. W ostatnich latach ponownie odkryto nową właściwość beztlenowych fermentacji z użyciem kultur mieszanych, tj. wydłużenie łańcucha karboksylowego w procesie odwróconej  $\beta$ -oksydacji.

Celem projektu jest poszerzenie wiedzy na temat procesu wydłużenia łańcucha karboksylowego podczas fermentacji beztlenowej z użyciem kultur mieszanych. W procesie tym, lotne kwasy tłuszczowe zostają wydłużone do średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych w szlaku odwróconej  $\beta$ -oksydacji. Aby reakcja zaszła, oprócz źródła węgla, należy zapewnić odpowiednie stężenie donora elektronów. Do tej pory zidentyfikowano dwa kluczowe związki pełniące tę rolę, tj. etanol i kwas mlekowy, a dotychczasowe badania koncentrowały się głównie na zewnętrznym dostarczaniu odpowiedniego stężenia jednego z nich. Celem projektu C-elong jest zrozumienie, w jaki sposób donor elektronów (etanol, kwas mlekowy lub inny jeszcze niezidentyfikowany) może być wytworzony bezpośrednio w trakcie procesu. Ponadto, celem jest odkrycie mikroorganizmów pełniących rolę kluczowych lub ośrodków centralnych w trakcie odwróconej  $\beta$ -oksydacji. W drugim etapie projektu zidentyfikowane mikroorganizmy zostaną bioaugmentowane do fermentacji beztlenowej w celu wzmocnienia procesu wydłużania łańcucha. Należy zaznaczyć, że system fermentacji beztlenowej nie będzie bioaugmentowany mikroorganizmami odpowiedzialnymi za produkty końcowe, ale kluczowymi lub pełniącymi centralną rolę i odpowiedzialnymi za kształtowanie i stabilizację struktury mikrobiomu reaktorowego. To nietypowe podejście może prowadzić do opracowania nowej metody kształtowania mikrobiomu reaktorowego o nieznanych dotąd jeszcze funkcjach. Procesy fermentacyjne będą monitorowane za pomocą zaawansowanych technik analitycznych i molekularnych.

W ostatnich latach narzędzia biologii molekularnej stały się dostępne dla inżynierów środowiskowych. Początkowo służyły one jedynie jako narzędzia do obserwacji społeczności mikroorganizmów, ale ostatnio stają się coraz bardziej popularne w monitorowaniu przebiegu procesu, a niedługo będą mogły być wykorzystane do kontroli procesów biotechnologicznych. W projekcie C-elong celem jest wykorzystanie tych narzędzi do zrozumienia struktury społeczności mikroorganizmów w trakcie procesu wydłużania łańcucha karboksylowego podczas beztlenowej fermentacji z użyciem kultur mieszanych. W dłuższej perspektywie wyniki projektu przyczynić się mogą do stworzenia metody projektowania mikrobiomów reaktorowych o nieznanych jeszcze funkcjach. Długoterminowo (15-20 lat) metoda ta może pomóc w stworzeniu nowej gałęzi przemysłu biotechnologicznego w celu przetwarzania odpadów i ścieków organicznych i odzysku surowców w postaci cennych związków chemicznych.