Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu

Dorota Anna Samul

Wykorzystanie bakterii syntroficznych do eliminacji zanieczyszczeń w brzeczkach pofermentacyjnych, w mikrobiologicznej produkcji 1,3-propanodiolu

Praca doktorska
wykonana
w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności
Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu
pod kierunkiem
prof. dr. hab. Włodzimierza Grajka

Poznań 2018

STRESZCZENIE

Gliceryna odpadowa powstająca podczas produkcji biodiesla ma ograniczone zastosowanie ze względu na zanieczyszczenia wchodzące w jej skład. Jedną spośród propozycji przemysłowego wykorzystania gliceryny odpadowej jest produkcja chemikaliów na drodze mikrobiologicznej, w tym 1,3-propanodiolu (1,3-PD).

Celem podjętych badań było zweryfikowanie hipotezy roboczej zakładającej, że usunięcie zanieczyszczeń chemicznych obecnych w glicerynie odpadowej, przeznaczonej do mikrobiologicznej produkcji 1,3-PD, zwiększy wydajność procesu fermentacji, natomiast usunięcie metabolitów ubocznych z brzeczki pofermentacyjnej ułatwi proces oczyszczania 1,3-PD. W celu weryfikacji hipotezy roboczej podjęto dwa zadania badawcze: oczyszczanie odpadowej gliceryny i mikrobiologiczne oczyszczanie brzeczki pofermentacyjnej. W pierwszym etapie badań dokonano analizy składu chemicznego odpadowej gliceryny, z wykorzystaniem chromatografii gazowej sprzężonej z spektrometrią mas oraz atomowej spektrometrii absorpcyjnej. Następnie dokonano oczyszczania wstępnego odpadowych gliceryn poprzez zastosowanie dekantacji frakcji tłuszczowej, ekstrakcji przy wykorzystaniu niepolarnych rozpuszczalników - heksanu, n-oktanu, eteru naftowego oraz adsorpcji na węglu aktywnym, a także określono wpływ wybranych zanieczyszczeń gliceryny odpadowej na przebieg procesu fermentacji propanodiolowej, poprzez utworzenie modelu sieci neuronowej. W drugim etapie badań poszukiwano mikroorganizmów (pojedynczych szczepów oraz konsorcjów mikrobiologicznych) zdolnych do usuwania zanieczyszczeń obecnych w brzeczce pofermentacyjnej oraz dokonano identyfikacji rodzajowo-gatunkowej szczepów tworzących konsorcja drobnoustrojów. Następnie dokonano oceny zdolności metabolicznych izolatów uzyskanych z konsorcjów mikrobiologicznych, poprzez zastosowanie pożywek selekcyjnych z dodatkiem kwasu masłowego, mlekowego i octowego. Ostatnim zadaniem podjętym w ramach niniejszej pracy była hodowla dwuetapowa dwugatunkowej kultury bakterii i ocena jej zdolności do oczyszczania brzeczki poferemntacyjnej z kwasów organicznych.

Wyniki przeprowadzonych badań pokazują, że zastosowanie wstępnego oczyszczania surowca wpływa na poprawę efektywności procesu produkcji 1,3-PD. Wykazano, że zanieczyszczenia obecne w odpadowej glicerynie wpływają negatywnie na proces mikrobiologicznej produkcji 1,3-PD. Do najważniejszych inhibitorów produkcji 1,3-PD należą metanol, chlorki oraz wielonienasycone kwasy tłuszczowe. Utworzona sztuczna sieć neuronowa pozwala, w nauczonym zakresie stężeń, na przewidywanie wydajności procesu konwersji gliceryny odpadowej do 1,3-PD przez bakterie *Clostridium butyricum* w zależności

od stężenia zanieczyszczeń obecnych w odpadowej glicerynie wykorzystanej w procesie fermentacji.

Mikrobiologiczne oczyszczanie brzeczki pofermentacyjnej jest możliwe w określonym zakresie stężeń metabolitów ubocznych powstających w procesie produkcji 1,3-PD. Zbyt wysokie stężenia kwasów organicznych uniemożliwiają mikrobiologiczne oczyszczanie produktu. Wyizolowane z cieczy hodowlanej fermentacji metanowej konsorcja mikrobiologiczne wykazują zdolność selektywnego usuwania kwasów organicznych z brzeczki pofermentacyjnej po konwersji gliceryny odpadowej do 1,3-PD, bez metabolizowania 1,3-PD. Opracowana metoda oczyszczania 1,3-PD nie pozwala na otrzymanie czystego produktu, jednakże zwiększa jego selektywność o 16-26% w przypadku oczyszczania z wykorzystaniem konsorcjów mikrobiologicznych i o 24% w przypadku wykorzystania bakterii *Citrobacter freundii* D7, pozyskanej z badanego konsorcjum mikrobiologicznego.

01.08.2018 r. Dorota Samul