

## Streszczenie rozprawy doktorskiej

### "Opracowanie technologii produkcji 2-fenyletanolu przy użyciu drożdży"

Ostatnie lata pokazują, że istnieje ciągle rosnące zapotrzebowanie na naturalne aromaty, jako dodatki do żywności, kosmetyków czy perfum. Wzrost ten spowodowany jest coraz większą świadomością społeczeństwa i wrażliwością na aspekty środowiskowe. W dobie zdrowego stylu życia, modzie na bycie ekologicznym, konsumenci częściej sięgają po produkty oznaczone jako naturalne, niż te, które zawierają syntetyczne dodatki. By wyjść naprzeciw oczekiwaniom swoich klientów, producenci dostosowują i rozwijają nowe technologie w celu pozyskiwania niesyntetycznych substancji aromatyzujących.

2-Fenyletanol (2-PE) to alifatyczny alkohol, o różnym zapachu. Zaraz po wanilinie stanowi drugi, najczęściej wykorzystywany, aromat w przemyśle perfumeryjnym. Oprócz tego, z uwagi na stwierdzone właściwości antybakteryjne i przeciwgrzybicze, jest także szeroko wykorzystywany w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym. Mimo iż obecne zapotrzebowanie rynku pokrywane jest przez syntetyczny 2-PE, biotechnologiczna produkcja staje się coraz bardziej atrakcyjną alternatywą. Powszechnie wiadomo, że drożdże są zdolne do biosyntezy 2-PE, najefektywniej na drodze szlaku Ehrlicha z L-fenylalaniny (L-Phe) jako prekursora. Jak dotąd, nie istnieje mikrobiologiczna technologia produkcji 2-PE na skalę przemysłową, która mogłaby być konkurencyjna względem stosowanej syntezy chemicznej.

Ze względu na rosnące zapotrzebowanie rynku na naturalne aromaty, stworzenie takiej technologii jest wielce pożądane. W związku z powyższym, celem przedmiotowej rozprawy doktorskiej pt. „Opracowanie technologii produkcji 2-fenyletanolu przy użyciu drożdży” było zaprojektowanie kompletnej biotechnologicznej produkcji 2-PE.

Pierwszym etapem badań było poszukiwanie odpowiedniego szczepu produkcyjnego, który byłby zdolny do wydajnej produkcji 2-PE. Dla wybranego najlepszego szczepu drożdżowego udało się zaprojektować całkowitą technologię produkcji – zaczynając od etapu biotransformacji, poprzez wydzielanie i oczyszczanie, do uzyskania finalnego produktu. Końcowe stężenie 2-PE podczas 72 h hodowli okresowej szczepu *Saccharomyces cerevisiae* JM2014 w bioreaktorze laboratoryjnym o pojemności całkowitej 6,2 L osiągnęło wartość 3,6 g/L. Z literatury wiadomo, że stężenie 2-PE między 2 g/L a 4 g/L w pożywce hodowlanej

jest toksyczne dla drożdży, w związku z czym udało się w zwykłej hodowli okresowej osiągnąć praktycznie maksymalne stężenie. W związku z tym, aby zwiększyć wydajność produkcji, konieczne było zastosowanie techniki *in situ* usuwania produktu (ISPR). Przetestowano fermentację dwufazową i po raz pierwszy wykazano, że olej rzepakowy (jako ekstrahent) może być z powodzeniem wykorzystany w tym celu. Dodatkowo, jest on również doskonałym bioproduktem z potencjalnym zastosowaniem w przemyśle spożywczym lub kosmetycznym. Po zakończonym procesie uzyskuje się dwa produkty końcowe – czysty alkohol o różnym aromacie oraz olej rzepakowy o różnym zapachu.

W celu redukcji kosztów wytwarzania 2-PE, w kolejnej części badań analizowano możliwość wykorzystania odpadów z przemysłu rolno-spożywczego jako taniego surowca. Takie podejście miało dwie zalety: obniżenie ceny medium hodowlanego oraz lepsze zarządzanie szkodliwymi odpadami. W badaniach po raz pierwszy opisano obiecującą produkcję 2-PE w mediach opartych na organicznych pozostałościach po innych procesach przemysłowych. Wykorzystanie serwatki oraz odpadów z przetwórstwa buraków cukrowych umożliwiło uzyskanie w hodowli okresowej  $\sim 3,3$  g/L 2-PE, co pozwala na stwierdzenie, że te surowce z powodzeniem mogą stanowić alternatywne źródło składników odżywczych dla drożdży w bioprodukcji 2-PE.

Podsumowując, w ramach przedmiotowej rozprawy doktorskiej udało się zaprojektować pełną technologię produkcji naturalnego 2-PE w skali laboratoryjnej, co zostało opisane przez nas po raz pierwszy w literaturze. Ponadto, poprzez rozszerzenie technologii bazującej na zwykłej hodowli okresowej do układu dwufazowego, możliwe było prawie trzykrotne zwiększenie całkowitej wydajności procesu. Warty podkreślenia jest również fakt, że badania mają charakter aplikacyjny, a uzyskane produkty końcowe (czysty 2-PE oraz przefermentowany olej o różnym aromacie) zostały przebadane pod kątem możliwości zastosowania w kosmetyce i wykorzystane do produkcji naturalnych preparatów pielęgnujących.

**Słowa kluczowe:** 2-fenyletanol, naturalny aromat, biotransformacje, drożdże, serwatka, ekstrakcja *in situ*, olej rzepakowy

Karolina Ciepłonica