

## Streszczenie

Mikrobiologiczne ogniwa paliwowe (MFC) to układy bioelektrochemiczne, w których mikroorganizmy przekształcają związki organiczne w energię elektryczną. W literaturze naukowej dominowały dotychczas publikacje koncentrujące się przede wszystkim na oczyszczaniu ścieków oraz wytwarzaniu energii elektrycznej. Zastosowanie MFC w biodegradacji złożonych, hydrofobowych zanieczyszczeń oraz w biosyntezie związków powierzchniowo czynnych pozostaje natomiast stosunkowo słabo zbadane. Pomimo rosnącego zainteresowania układami bioelektrochemicznymi, niewiele prac skupiało się na zależności między degradacją węglowodorów, aktywnością elektrochemiczną a syntezą biosurfaktantów w MFC. Niniejsza praca ma na celu wypełnienie tej luki poprzez kompleksową, interdyscyplinarną analizę procesów zachodzących w MFC, łącząc metody elektrochemiczne, mikrobiologiczne, metabolomiczne i metagenomiczne.

Celem niniejszej rozprawy było określenie struktury oraz funkcjonalności anodowych społeczności mikroorganizmów rozwijających się w MFC, zdolnych do biodegradacji związków ropopochodnych, produkcji biosurfaktantów oraz generowania energii elektrycznej w zróżnicowanych warunkach eksperymentalnych.

Na początkowym etapie pracy oceniono możliwość wykorzystania technologii MFC do biodegradacji benzenu jako modelowego związku aromatycznego. W tym celu zastosowano strategię inokulacji opartą na czystych szczepach, a następnie ich wzbogacanie osadem czynnym. Dodatkowo przeprowadzono analizę wpływu glukozy jako kosubstratu, co pozwoliło na ukształtowanie funkcjonalnych społeczności anodowych i uzyskanie rekordowych wartości gęstości mocy. Kompleksowa charakterystyka elektrochemiczna, mikrobiologiczna (16S rRNA) oraz metabolomiczna (NMR) wykazała wysoką efektywność bioelektrochemiczną układów, należącą do najwyższych dotychczas raportowanych w literaturze. Benzen pełnił rolę czynnika selekcyjnego, sprzyjając rozwojowi mikroorganizmów zdolnych do jego degradacji oraz transferu elektronów, w tym m.in. *Citrobacter freundii*, *Comamonas testosteroni*, *Arcobacter faecis*, *Myroides odoratus* oraz *Dysgonomonas sp.*

W kolejnym etapie pracy przeanalizowano wpływ przyłożonego potencjału do anody na strukturę i bioróżnorodność społeczności mikroorganizmów anodowych rozwijających się w układach MFC zasilanych olejem napędowym. Wykazano, że ujemna polaryzacja anody (-0,3 V) sprzyjała formowaniu się bardziej złożonych i funkcjonalnie wyspecjalizowanych biofilmów anodowych, co było związane z uzyskaniem najwyższej gęstości mocy. Społeczności rozwijające się przy tym potencjale charakteryzowały się wyższą bioróżnorodnością oraz zwiększonym udziałem taksonów zdolnych do bezpośredniego transferu elektronów i degradacji węglowodorów, w tym przedstawicieli rodzajów *Comamonas*, *Gordonia*, *Pseudomonas*, *Geobacter* oraz *Rhodococcus*. Uzyskane wyniki wykazały, że potencjał anody pełni kluczową rolę selekcyjną w kształtowaniu funkcjonalności mikrobiomu anodowego i efektywności elektrochemicznej układów MFC w procesie biodegradacji ropopochodnych.

Następnie oceniono zdolność do biodegradacji ropy naftowej oraz potencjał elektrochemiczny dziewięciu inokulów pochodzących ze zróżnicowanych nisz ekologicznych. Wykazano, że

zastosowanie strategii kosubstratowej opartej na suplementacji octanem sodu pozwoliło na blisko 4-krotny wzrost średniej gęstości mocy, osiągając rekordową wartość 18,3 W/m<sup>3</sup> dla mikroflory wzbogaconej z separatora związków ropopochodnych. Wysoka wydajność energetyczna była powiązana ze spadkiem napięcia powierzchniowego anolitów, co dowodzi aktywnej biosyntezy biosurfaktantów wspomagających biodostępność węglowodorów. W ramach pracy, po raz pierwszy określono występowanie genów funkcjonalnych zaangażowanych w degradację związków ropopochodnych w MFC (m.in. *nahB*, *tmoF*, *ladA* i *ahyA*). Wykazanie ich obecności w warunkach bioelektrodegradacji rzuca nowe światło na molekularne mechanizmy sprzężenia degradacji węglowodorów z zewnątrzkomórkowym transferem elektronów.

W dalszej części pracy podjęto próbę skalowania układów MFC oraz oceniono ich stabilność podczas długotrwałej eksploatacji. Do badań wyselekcjonowano trzy najbardziej efektywne konsorcja mikroorganizmów wzbogacone w układach MFC we wcześniejszym etapie. Wraz z trzykrotnym zwiększeniem powierzchni anody oraz czterokrotnym wzrostem objętości roboczej reaktora, odnotowano wzrost maksymalnej gęstości mocy o 42 %: z poziomu 18,3 W/m<sup>3</sup> do 26 W/m<sup>3</sup>. Wynik ten jest ponad 4-krotnie wyższy od dotychczasowych doniesień literaturowych dla systemów zasilanych ropą naftową, zintegrowanych z produkcją biosurfaktantów. Wykorzystanie techniki LC-MS/MS umożliwiło identyfikację profilu biosurfaktantów produkowanych *in situ*, natomiast analiza metagenomiczna potwierdziła synergistyczne współistnienie taksonów egzoelektrogennych (*Geobacter anodireducens*, *Arcobacter faecis*) z gatunkami odpowiedzialnymi za biodegradację węglowodorów i biosyntezę związków powierzchniowo czynnych (*Pseudomonas stutzeri*, *Gordonia terrae*).

Ostatni etap pracy dotyczył eksperymentu związanego z wykorzystaniem oleju posmażalniczego jako substratu do syntezy biosurfaktantów w MFC. W pierwszej kolejności opracowano protokół analizy LC-MS/MS do identyfikacji ramnolipidów w próbkach anolitów. Na jego podstawie przeprowadzono analizy, które wykazały obecność jedenastu biosurfaktantów należących do grupy mono- oraz diramnolipidów. Przeprowadzone profilowanie taksonomiczne wykazało, że w społeczności anodowej dominował *Pseudomonas aeruginosa*, znany ze zdolności do zewnątrzkomórkowego transferu elektronów, produkcji mediatorów (np. piocyjaniny) oraz syntezy ramnolipidów. Obserwowana różnorodność ramnolipidów była większa niż w układach z frakcjami ropopochodnymi. Wynik ten wskazuje na możliwość wykorzystania oleju posmażalniczego jako substratu do produkcji biosurfaktantów w układach MFC.

Wyniki niniejszej dysertacji wskazują, że mikrobiologiczne ogniwa paliwowe stanowią efektywną platformę do jednoczesnej biodegradacji zanieczyszczeń hydrofobowych, produkcji biosurfaktantów i wytwarzania energii elektrycznej. Rodzaj inokulum, potencjał anody oraz charakter substratu determinują zarówno aktywność egzoelektrogenną, jak i strukturę społeczności mikroorganizmów a także jej zdolność do biosyntezy surfaktantów. Uzyskane wyniki wnoszą istotny wkład w poznanie mechanizmów funkcjonowania społeczności mikroorganizmów w obecności złożonych węglowodorów oraz potwierdzają wysokie możliwości aplikacyjne technologii MFC w procesach bioremediacji oraz rozwoju zrównoważonych technologii energetycznych.