

Abstractul tezei de doctorat:

Obținerea acidului succinic din glicerină prin fermentare dirijată folosind tulpini modificate de *Escherichia coli*

Succinic acid production from glycerol by directed fermentation using modified *Escherichia coli* strains

elaborată de **ing. Andrea FAZAKAS**

Multe produse chimice pot fi produse din surse regenerabile de energie prin utilizarea de microorganisme ca biocatalizatori. Unul dintre acestea, care poate fi utilizate în continuare pentru diferite aplicații și pentru producerea diferitelor produse, este acidul succinic. Fiind un agent chimic valoros și special, iar pe de altă parte un precursor pentru multe substanțe chimice speciale în industria alimentară, industria farmaceutică, utilizat în solvenți "verzi" și materiale plastice biodegradabile, producția acidului succinic are o de importanță ridicată. Obiectivul producerii economice și eficiente a acidului succinic bio este utilizarea unei surse de carbon cât mai ieftine, precum și glicerol. Deoarece în timpul fermentației se produce un amestec de acizi, purificarea acidului succinic din suc de fermentare crește prețul cu 60-70% al costului total al procesului. Proiectarea unei tulpini care produce mai puține produse secundare în timpul fermentației ar putea reduce costurile de purificare și ar putea crește randamentul de acid succinic. Obiectivul principal al tezei este de a crea o tulpină *Escherichia coli* modificată genetic, care produce acidul succinic în cantități mari, folosind în condiții anaerobe de fermentație ca sursă de carbon glicerolul, o sursă de energie regenerabilă și ieftină. În cursul cercetărilor mele am izolat o colecție bacteriană *Escherichia coli*, din această colecție am selectat o tulpină, care este capabilă să utilizeze glicerolul ca sursă de carbon în condiții atât aerobe cât și anaerobe și produce acid succinic în mod natural. Această tulpină selectată, *Escherichia coli* Ter8/1, am modificat genetic cu ajutorul sistemului de recombinare lambda-Red și am inactivat trei gene: piruvat formiat liaza, lactat dehidrogenaza și alcool dehidrogenaza. Astfel, am creat o tulpină *Escherichia coli* mutantă triplă (*Escherichia coli* Ter8/1 $\Delta pflB\Delta ldhA\Delta adhE$), care produce acid succinic în cantități mai mari, decât tipul sălbatic. Tulpina triplu mutantă $\Delta pflB\Delta ldhA\Delta adhE$ al tulpinei *E. coli* Ter8/1 nou izolate este capabilă de producerea unei cantități de acid succinic de 11 ori mai ridicate decât tulpina sălbatică, producând acidul succinic într-o concentrație de 12,9 mM. Iar în cazul tulpinei *E. coli* MG1655, tulpina cu trei mutații a produs de 4 ori mai mult acid succinic, într-o concentrație de 13,5 mM.

Many chemicals can be produced from renewable energy sources by the use of microorganisms as biocatalysts. One of these, which can be further used for various applications and for the production of various products, is succinic acid. Being a useful and special chemical agent on the one hand and on the other hand functioning as a precursor to many special chemicals in the food industry, the pharmaceutical industry, and for solvents used in "green" and biodegradable plastics, the production of succinic is of high importance. The objective of economical and efficient production of succinic acid is the utilization of an inexpensive carbon source, such as glycerol. Due to the fact, that during the fermentation process a mixture of acids is produced, the succinic acid purification process increases the final price by 60-70% of the total cost of the process. The development of a strain that produces fewer byproducts during the process of fermentation could reduce cleaning costs and could increase the yield of succinic acid. The main objective of this thesis is to create a genetically modified strain of *Escherichia coli* that produces large quantities of succinic acid using anaerobic fermentation and as a carbon source glycerol, which is a renewable and cheap energy source. During my research I have isolated a collection of *E. coli* bacteria and have selected a strain from this collection that is able to utilize glycerol as a carbon source in both aerobic and anaerobic conditions, and produces succinic acid naturally. The selected strain, *Escherichia coli* Ter8/1, was genetically modified using lambda-Red recombination system and I have inactivated three of its genes: pyruvate formate lyase, lactate dehydrogenase and alcohol dehydrogenase. Thus, I have created a triple mutant strain of *Escherichia coli* (*E. coli* Ter8/1 $\Delta pflB\Delta ldhA\Delta adhE$) that produce succinic acid in larger quantities than its wild type bacteria. The triple mutant $\Delta pflB\Delta ldhA\Delta adhE$ of the *E. coli* Ter8/1 newly isolated strain is able to produce a succinic acid amount 11 times higher than the wild-type strain, producing succinic acid at a concentration of 12,9 mM. While in the case of *E. coli* MG1655 strain, the genetically modified strain with three mutations produced 4 times as much succinic acid in a concentration of 13,5 mM.