



I E G U L D Ī J U M S T A V Ā N Ā K O T N Ē

ERAF projekta Nr. 1.1.1.1/16/A/113 “Jaunas pieejas izstrādāšana vienlaicīgai bioetanola, furfurola un citu vērtīgu produktu bezatlikumu iegūšanai no vietējiem zemkopības pārpalikumiem”

Atskaite par veiktajām darbībām 9. periodā 01.04.2019-30.06.2019.

1. Furfurola, lipīdu un etanola iegūšana no hemicelulozes C5- cukuriem

1.1.1. Aktivitāte: Rapšu salmu priekšapstrādes pētījumi

Projekta 9. periodā darba mērķis bija: Rapšu salmu hemiceluložu polisaharīdu hidrolīze un pentožu monosaharīdu dehidratācijas produktu iznākuma izmaiņu izpēte atkarībā no priekšapstrādes procesa tehnoloģiskiem parametriem.

Aktivitātes “Rapšu salmu priekšapstrādes pētījumi” īstenošanai veica rapšu salmu katalītisko hidrolīzi, izmantojot unikālo eksperimentālo pilotiekārtu, ar kuras palīdzību iespējams izmainīt biomasas šūnapvalka mehānisko un ķīmisko struktūru, un padarīt to vieglāk pārstrādājamu ogļhidrātu monomēros.

Mērķa īstenošanai 9. periodā bija paredzēts izpētīt rapšu salmu lignocelulozes ķīmiskā sastāva un iznākuma izmaiņas atkarībā no pentožu dehidratācijas procesa parametriem:

- 1) lignocelulozes iznākuma izmaiņas;
- 2) lignocelulozes sastāva izmaiņas.

Rezultātā ir izpētīta lignocelulozes ķīmiskā sastāva un iznākuma izmaiņas atkarībā no katalizatora koncentrācijas un katalizatora daudzuma izmaiņām, kā arī no temperatūras izmaiņām un atkarībā no procesa ilguma. Turpinās eksperimentālais darbs pie celulozes satura izmaiņas izpētes lignocelulozes paraugos un celulozes depolimerizācijas pakāpes izmaiņām atkarībā no priekšapstrādes procesa parametriem.

Eksperimentāli iegūtie lignocelulozes un ksilozes šķīduma paraugi ir nodoti LU kolēģiem mikrobioloģiskiem pētījumiem.

Rezultātu publiskai pieejamības nodrošināšanai turpinās darbs pie publikācijas: “Optimization of furfural production from industrial crops through hydrothermal salt hydrolysis”, jo tiek veikti papildinājumi pēc recenzentu norādījumiem, lai pieņemtu publicēšanu žurnālā: “Industrial Crops and Products”

Ir sagatavoti un iesniegti 2 abstrakti dalībai konferencē: “The 10th Conference on Green Chemistry and Nanotechnologies in Polymeric Materials (GCNPM 2019)”

1.2. Hemicelulozes C5-cukuru pielietojums lipīdu mikrobioloģiskai iegūšanai

Darba gaitā tika turpināti pētījumi ar sešiem lipīdsintezējošo raugu celmiem no ģintīm *Naganishia*, *Vanrija* un *Buckleyzyma*. Raugi tika audzēti uz sintētiskas barotnes ar palielinātu C5 cukura (ksilozes) saturu, ar biomasas pieauguma un atlikušo cukuru koncentrācijas noteikšanu dinamikā un rapšu salmu hidrolizātā. Sasniedzot stacionāro augšanas fāzi, raugi tika dehidrēti. Pēc lipīdu ekstrakcijas no natīvām un dehidratētām raugu šūnām ar taukskābju metilēšanas palīdzību tika veikta plānslāņu un gāzu hromatogrāfijas, lai salīdzinātu un noteiktu neitrālo lipīdu vai fosfolipīdu un taukskābju saturu, attiecīgi.

1.3. Hemicelulozes C5-cukuru pielietojums bioetanola iegūšanā ar ģenētiski konstruētu raugu celmu(-iem)

Tika turpināti eksperimenti ar ģenētiski modificētu natīvo un dehidratēto raugu *Ogataea polymorpha* celmiem, kas spēj veidot etanolu no C5-ogļhidrātiem (ksilozes un C5-hidrolizātiem) fermentācijas laikā. Šajā etapā tika turpināti eksperimenti ar hidrolizātu sākotnējo detoksikāciju, izmantojot dažādas fizikālās, ķīmiskās un mikrobioloģiskās metodes.

2. Bioetanola iegūšana no hemicelulozes C6-cukuriem un lignocelulozes un etanola raugu atlikumu pielietojums.

2.1. Bioetanola iegūšana no hemicelulozes C6-cukuriem un lignocelulozes

Turpināta apjomīga eksperimentu sērija ar mērķi noskaidrot rapšu salmu hidrolizāta izmantošanas efektivitāti bioetanola iegūšanas procesā. Raugi *Saccharomyces cerevisiae* tika fermentēti pie atšķirīga stundu skaita (16, 20 un 24 stundas). Kā fermentācijas vide izmantots hidrolizāts, kuram pievienoti ķīmiskie savienojumi radot noteiktu fermentācijas vidi, kā arī atšķirīgi vides pH. Līdztekus fermentācija veikta pie atšķirīgām temperatūrām – 30°C un 37°C un atšķirīga aerācijas līmeņa - limitēta skābekļa apstākļos nekustīgi termostatā vai arī nodrošinot aerāciju kratītājā (80 apgr/min vai 100 apgr/min).



I E G U L D Ī J U M S T A V Ā N Ā K O T N Ē

ERAF projekta Nr. 1.1.1.1/16/A/113 “Jaunas pieejas izstrādāšana vienlaicīgai bioetanola, furfurola un citu vērtīgu produktu bezatlikumu iegūšanai no vietējiem zemkopības pārpalikumiem”

Eksperimentos izmantots gan natīvs gan dehidratēts raugs. Eksperimentu rezultāti parādīja, ka dehidratēts raugs uzrāda augstāku etanola iznākumu salīdzinot ar natīvu raugu. Tāpat turpināti eksperimenti ar raugu imobilizāciju. Imobilizācija veikta uz dažādiem nesējiem – šamots, hidroksilapatīts un salmi. Pēc imobilizācijas pārbaudīta raugu fermentācijas spēja vairākos ciklos. Eksperimentos pārbaudīta fermentācijas vide ar un bez urīnvielas pievienošanu, kā arī tika izpētīts maksimālais ciklu skaits ko iespējams veikt ar imobilizētiem raugu paraugiem.

2.2. Etanola rauga atlikumu pielietojums

Turpinot pētījumus par rauga biomasas pielietošanu vides biotehnoloģiskajos procesos, tika izvirzīta hipotēze, ka, pievienojot rauga biomasu aktīvajām dūņām, mainīsies aktīvo dūņu mikrobiotas fizioloģiskais stāvoklis, t.sk. elpošanas intensitāte, enzīmu aktivitāte, biodegradācijas efektivitāte un izturība pret toksiskajiem savienojumiem. Pētījuma iesākumā tika izmantota svaiga rauga biomasa, nevis atstrādāta, lai noskaidrotu *S.cerevisiae* 14 potenciālu procesā. Pētījuma mērķis bija izvērtēt rauga *Saccharomyces cerevisiae* 14 ietekmi uz aktīvo dūņu baktēriju kopienas sastāvu un to aktivitāti benzalkonija hlorīda (BAC) klātbūtnē. Eksperimentos ar aktīvajām dūņām un notekūdeņiem no ķīmiskās rūpnīcas, kā arī ar sintētiskajiem notekūdeņiem, tika pierādīta rauga *S.cerevisiae* 14 stimulējošā iedarbība uz aktīvo dūņu mikroorganismu fizioloģiskajiem procesiem, t.sk., uz elpošanu. Tika pierādīta pievienotā rauga *S.cerevisiae* 14 izdzīvošana aktīvajās dūņās 12 dienu eksperimentā, toties 30 mg/L BAC klātbūtnē kultivējamā rauga skaits ir samazinājies dūņās no 10(6) līdz 10(4) KVV/mL.

Veikti arī eksperimenti ar etanola sintezējošā rauga *S. cerevisiae* 77 karstuma šoka proteīnu Hsp70 noteikšanu, pēc to izmantošanas fermentācijai rapšu salmu hidrolizātos.

3. Lignīna izmantošana medicīnisko sēņu kultivēšanas uzlabošanai un lakāzi saturoša enzīmu kompleksa sintēzei.

Turpinās pētījumi par *G.lucidum* 9621 sēņu micēlija ārpusšūnulinolītisko fermentu kompleksa aktivitātes izmaiņām, audzējot šķidrās barotnēs ar rapšu salmulignīna piedevu. *G. lucidum* 9621 lakāzes aktivitātes maksimums novērots audzējot +25°C dziļumkultūrās 7. līdz 10. inkubācijas dienai. Barotnēs bez lignīnalakāzes aktivitātes līmenis ir nemainīgi zems visā inkubācijas laikā.

Noteikta un salīdzināta dažādu glabāšanas apstākļu ietekme uz sēņu lakāzes fermentu kompleksa aktivitātes izmaiņām. Tiek turpināti eksperimenti *L. edodes* 3565 un *G. lucidum* 9621 polisaharīdus un polifenolus saturoša ekstrakta ietekmes novērtēšanai *D. melanogaster* organismā inducētās imūnās atbildes un oksidatīvā stresa gadījumā.

5. Pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana.

Iegūtie rezultāti no projekta 3. aktivitātes tika apkopoti un prezentēti LU 77. konferencē ar stenda referātiem (Mikrobioloģijas sekcija) un tēzēm žurnālā *Environmental and Experimental Biology* (2019) 17: 59-60 <https://doi.org/10.22364/eeb.17.06>. Kā arī projekta rezultāti prezentēti starptautiskajā konferencē „Microbial biotechnologies: fundamental and applied aspects”, kas norisinājās Minskā, Baltkrievijā 03.06. – 06.06.2019), kā arī „6th Ukrainian Congress for Cell Biology”, kas norisinājās Jaremčē, Ukrainā (18.06.-21.06.2019).