



Mērogošanas pētījums mikrobioloģisko mēslošanas un augu aizsardzības līdzekļu ieguvei dziļuma un virsmas kultivācijas procesos, nr. 1.1.1.1/19/A/150

Progresa pārskats par 5. ceturkšņa periodu 01.04.-30.06.2021.

Trichoderma spp. ieguve šķidrums virsmas kultivācijas procesā

Tika uzsākta eksperimentu sērija, kuras ietvaros bioreaktora apstākļos paredzēts novērtēt šķidrā *Trichoderma* preparāta ieguvi, realizējot *Trichoderma* kultivāciju uz šķidrums virsmas. Eksperimentu sērijas ietvaros paredzēta dažādu (3-4) barotņu un aerācijas režīmu pārbaude, saglabājot “šķidrums virsma”/ “šķidrums tilpums” attiecību, kas ir tuva attiecībai kolbu kultivācijās. Pārskata periodā realizēti 2 kultivācijas eksperimenti divās dažādās barotnēs, katrai barotnei pārbaudot divus aerācijas režīmus. Novērota aerācijas ietekme uz šķidrums virsmas veidotā sēnes slāņa biezumu. Paraugiem analizēta antifungālā aktivitāte, koloniju veidojošo vienību vai sporu skaits.

Trichoderma spp. ieguve dziļuma kultivācijas procesā

Uzsākta eksperimentu sērija, kuras ietvaros plānots pārbaudīt *Trichoderma* un *Bacillus* ko-kultivācijas ietekmi kolbu procesā ar kratīšanu. Eksperimentu sērijā pārbaudīs dažādās iepriekš piemeklētās barotnes. Pirmajā eksperimentā konstatēta anti-fungālā aktivitāte vienā no izraudzītajām kultivācijas barotnēm. Veikti pirmie kolbu eksperimenti, lai novērtētu virsmaktīvo vielu Tween 80 un Tween 40 (0,2-2 %) ietekmi uz *Trichoderma* biomasas veidošanos un sēnes mikromorfoloģiskām īpašībām. Iegūtā biomasa – pasta – apstrādāta ar vairākām ķīmikālijām (sālsskābi, vara sulfātu un cieti) un to kombinācijām, kopskaitā veidojot 12 variantus, un novērtēta sēnes dzīvotspējas un antifungālās aktivitātes saglabāšanās pret fitopatogēno sēni *Fusarium graminearum* pastas uzglabāšanas laikā istabas temperatūrā. Par šo tēmu M.T. Dzierkale izstrādāja un teicami aizstāvēja kursa darbu LU Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas katedrā. Pētījumu rezultāti par *Trichoderma* biomasas producēšanu dažādos dziļumkultivācijas apstākļos prezentēti “World Microbe Forum, 20-24 June, 2021. Online worldwide. An ASM & FEMS collaboration”.

Trichoderma spp. ieguve virsmas (cietfāzes) kultivācijas procesā

Veikta cietfāzes kultivācijas pilotiekārtas principiālās shēmas pilnveidošana un pilotiekārtas projekta izstrādes darbi, veikti atbilstības vērtējumi pielietojamajiem sensoriem un darbības atbilstības vērtējums izvēlētajam procesam. Kopā ar izgatavotāju apstiprināti prototipa konstrukcijas risinājumi un to atbilstība veicamajiem eksperimentiem. Turpmākā ceturkšņa ietvaros paredzēti *Trichoderma spp.* cietfāzes kultivācijas eksperimenti uz kafijas pupiņu kliļām, kas ir pārtikas rūpniecības blakusprodukts (atkritumi). Turpmāk plānoti fizikālo parametru noteikšana kafijas pupiņu kliļām un to ietekme uz kultivācijas procesiem statistiskā cietfāzes sistēmā ar kviešu kliļām.



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

Bacillus spp. ieguve dziļumkultivācijas procesā

Tiek veiktas eksperimentu sērijas kolbās par optimālas barotnes sastāva iegūšanu, kas piemērots kultivācijas procesiem laboratorijas un pilota mēroga bioreaktoros. Barotnes sastāvā tiek izmantoti industriāli reaģenti, piemēram, pupu, zirņu un sojas milti, kas tiek papildināti ar dažādiem cukura avotiem produktivitātes paaugstināšanai, piemēram, melase, pārtikas rūpniecībā izmantojams cukurs un glikoze. Barotnes sastāva kombinācija ar augstāko iznākumu un/vai labāko ekonomisko aprēķinu tiek izmantotas turpmākiem eksperimentiem, optimālā barotnes sastāva iegūšanai. Eksperimentālie rezultāti tiek analizēti, uzkrājot datus par optiskā blīvuma izmaiņām laikā, kolonijas veidojošo vienību skaitu, t.sk. veģetatīvās šūnas un sporas, u.c. metodēm.

Tika realizēta eksperimentu sērija 5L laboratorijas mēroga bioreaktorā saskaņā ar Chen *et al.* (10.1007/s00253-009-2162-x) piedāvāto kultivācijas protokolu un analizēta *B. subtilis* šūnu biomasas un sporu uzkrāšanās dinamika. Kultivācijas procesa 24. stundā tika sasniegts augsts šūnu biomasas rezultāts – $1,78 \cdot 10^9$ KVV/ml un $1,34 \cdot 10^9$ sporas/ml. Tika veikti arī trīs kultivācijas procesi 100L pilota mēroga bioreaktorā, pārbaudot iepriekš kolbu eksperimentos noskaidrotās attiecīgās optimālā sastāva barotnes piemērotību industriāla mēroga kultivācijas procesos. Eksperimentā ar papildus substrāta piebarošanu, tika sasniegta biomasas koncentrācija $7,15 \cdot 10^9$ KVV/ml, taču salīdzinoši zema frakcija šūnu veidoja sporas – $4,95 \cdot 10^8$ sporas/ml (7%). Kultivācijas procesos iegūtie dati par šūnu biomasas augšanas un sporu veidošanās dinamiku, maisītāja ātruma diapazonu un aerāciju tiks izmantoti turpmāko eksperimentu realizācijā.