



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 11. ceturkšņa periodu 01.10.-31.12.2022.

Trichoderma spp. ieguve šķidrums virsmas kultivācijas procesā

Pārskata periodā 2. aktivitātes ietvaros realizēti pēdējie 3 kultivācijas eksperimenti (barotnē, kurā iepriekš sasniegti labākie rādītāji) statistiski novietotos ražošanas mēroga traukos. Eksperimentos novērtēja gaismas un sējmateriāla daudzuma ietekmi uz zaļās sēņu biomasas veidošanās ātrumu uz šķidrums virsmas. Novērtēts, ka sējmateriāla proporcija, kas tiek izmantota sējot 2 L kolbas, ir pietiekama paplātes tipa (~40 L) kultivācijas traukiem.

Trichoderma spp. ieguve virsmas (cietfāzes) kultivācijas procesā

Pārskata periodā veikti eksperimenti ar periodiski rotējošo cietfāzes fermentatoru (SSF), kuru ietvaros veica uzlabojumus, lai panāktu augstāku procesa sterilitāti. Izmantoja zirņu klijas ar gala mitrumu $W_{\text{abs}}=0,61 - 0,94\text{g/g}$, kas ir ticis pievadīts sausam substrātam veicot tiešā tvaika sterilizāciju atmosfēras spiedienā ar sterilizācijas laiku 120-180 minūtes; mitruma pievade ar tvaiku realizēta ar mērķi samazināt iespējamo infekcijas iekļūšanu reaktorā. Tika konstatēts, ka sterilizējot reaktoru un substrātu ar tvaika padevi reaktorā, varbūtība realizēties sterilam procesam pieaug.

Eksperimentālais plāns tika papildināts veicot fermentāciju ar pilngraudu rudziem un sterilizāciju 2 piegājienos, atdzesējot substrātu pa vidu starp procesiem un veidojot tvaika injekciju 120 minūtes. Procesi tika veikti ar gaisa mitrināšanu un plūsmas ātrumu caur substrātu 2 g/l min^{-1} dēļ pastiprinātas žūšanas, ja netiek papildus mitrināts gaiss, kas noveda pie mikrobioloģiskās aktivitātes krituma. Secināts, ka pilngraudu rudzu gadījumā, pēc sterilizācijas tie ir daudz sausāki un mazāk mitruma akumulējoši kā kviešu klijas. Attiecīgi dēļ krietni mazākas salipšanas, pilngraudu rudzu ganījumā tika nodrošināta ievērojami augstāka cietā substrāta virsma. Rezultātā, tika iegūts sterilāks process (baktērijām/raugiem nelabvēlīgāki nosacījumi) ar tendenci veidoties *Trihoderma* spp. hīfām sākot jau ar procesa 5 dienu.

Trichoderma spp. ieguve dziļuma kultivācijas procesā

Veikti piebarošanas eksperimenti, lai kultivācijas laikā ilgstošāk noturētu pO_2 koncentrāciju ap 30%. Ar piebarošanu izvirzītais mērķis tika panākts, tomēr neizdevās atrast atkārtojamas kultūras augšanas raksturlielnes. Lai gan visos eksperimenta variantos sējmateriāls tika sagatavots vienādi, iegūstot KVV skaitu 10^6 pakāpē, tomēr visticamāk tieši sējmateriāla fizioloģiskā kvalitāte nosaka kultūras raksturlielumus - pO_2 , maisītāja apgrieziena ātrums un pH, procesa laikā. Realizēti eksperimenti, kuros tika radīti pH stresa apstākļi kultivācijas 24 un 48 stundā, 30 minūtes novedot vides pH uz 4. Eksperimenta atkārtojumi apstiprina sakarību, ka šāda stresa radīšana traucē biomasas attīstību, tādējādi hīfu biomasas ražība salīdzinot ar kontroli ir mazāka. Vienā no 3 atkārtojumu



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

supernatantiem novērotas antifungālās īpašības. Ilglaicīga pH samazināšana līdz 4 pēc 48h līdz 72h neveicināja nedz biomasas pieaugumu nedz antifungālo īpašību veidošanos. Eksperimentēts ar trīs aerācijas režīmu (1,65, 2 un 3 st.L/min) ietekmi uz *Trichoderma* spp. kvalitāti. Netika novērotas būtiskas ($p < 0,5$) biomasas iznākuma atšķirības starp izvēlētajiem diviem režīmiem. Bet jo augstāka aerācija, jo grūtāk ilgstoši noturēt pO_2 koncentrāciju 30% robežās. Pie aerācijas 1,67 st.L/min pO_2 koncentrāciju var noturēt gandrīz visu kultivācijas laiku sākot no brīža, kad pO_2 samazinājies līdz 30%, līdz 72h. Pie 2 slpm pO_2 koncentrāciju var noturēt ne ilgāk kā 10h, bet pie 3 slpm pO_2 koncentrācija neregulējās.

Veikti kolbu eksperimenti ar kartupeļu cietes un cukura barotni, tomēr nedz 5, 10 vai 20 g/L kartupeļu cietes koncentrācijas neveicināja *Trichoderma* spp. attīstību. Turpināta eksperimentu sērija, kuras ietvaros tiek salīdzināts dziļum kultivācijā iegūtās biomasas uzglabāšanas kvalitāte iestrādājot to kūdras substrātā. Sākotnējie rezultāti liecina, ka kultivācijas barotnes izvēle ir būtiski svarīga, lai iegūtu labas kvalitātes sporu pulveri, bet ne tik svarīga tās iestrādei kūdrā.

Bacillus spp. ieguve dziļumkultivācijas procesā

Apkopoti 2. aktivitātes rezultāti iekļaušanai zinātniskajā publikācijā “Investigation of a broad-bean based low-cost medium for *Bacillus subtilis* spore obtainment”.

Realizēta eksperimentu sērija 100 L pilota mēroga bioreaktorā, izmantojot iepriekš izstrādāto sējmateriāla gatavošanas metodiku. Pētīta papildus melases substrāta piebarošanas ietekme uz veģetatīvo šūnu un sporu koncentrācijām, atkarībā no piebarotā substrāta daudzuma un izvēlēta piebarošanas laika profila. Veikti aprēķini, lai novērtētu aktivitātes ietvaros sasniegtā procesa produktivitātes uzlabojuma ekonomiskos rādītājus. Eksperimentāli noteiktas 100 L pilota mēroga bioreaktora skābekļa masas pārneses ātrumu raksturojošā parametra kLa vērtības pie dažādiem procesa parametriem. Kultivācijas 24 un 48 stundu (gala) paraugiem novērtēta antifungālā aktivitāte pret patogēno sēni *Cladosporium herbarum*. Konstatēts, ka produkta antifungālā aktivitāte saglabājas vismaz 6 mēnešus uzglabājot istabas temperatūrā 20 – 25 C.