



Projekta numurs: 23-00-U2021401-000001

Projekta nosaukums: “No fotobioreaktora sistēmā pavairotām (*Nannochloropsis sp.*) mikroaļģēm iegūta lipīdu jēlekstrakta bagātināšanas un frakcionēšanas metodoloģijas izstrāde, novērtējot tā izmantošanas potenciālu”

Projekta partneri:

- AS “SISTĒMU INOVĀCIJAS”;
- Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas institūts (LVKĶI).

Pārskata periods: 31.03.2025. g. – 30.09.2025.g.

Pārskata periodā veiktās darbības un rezultāti:

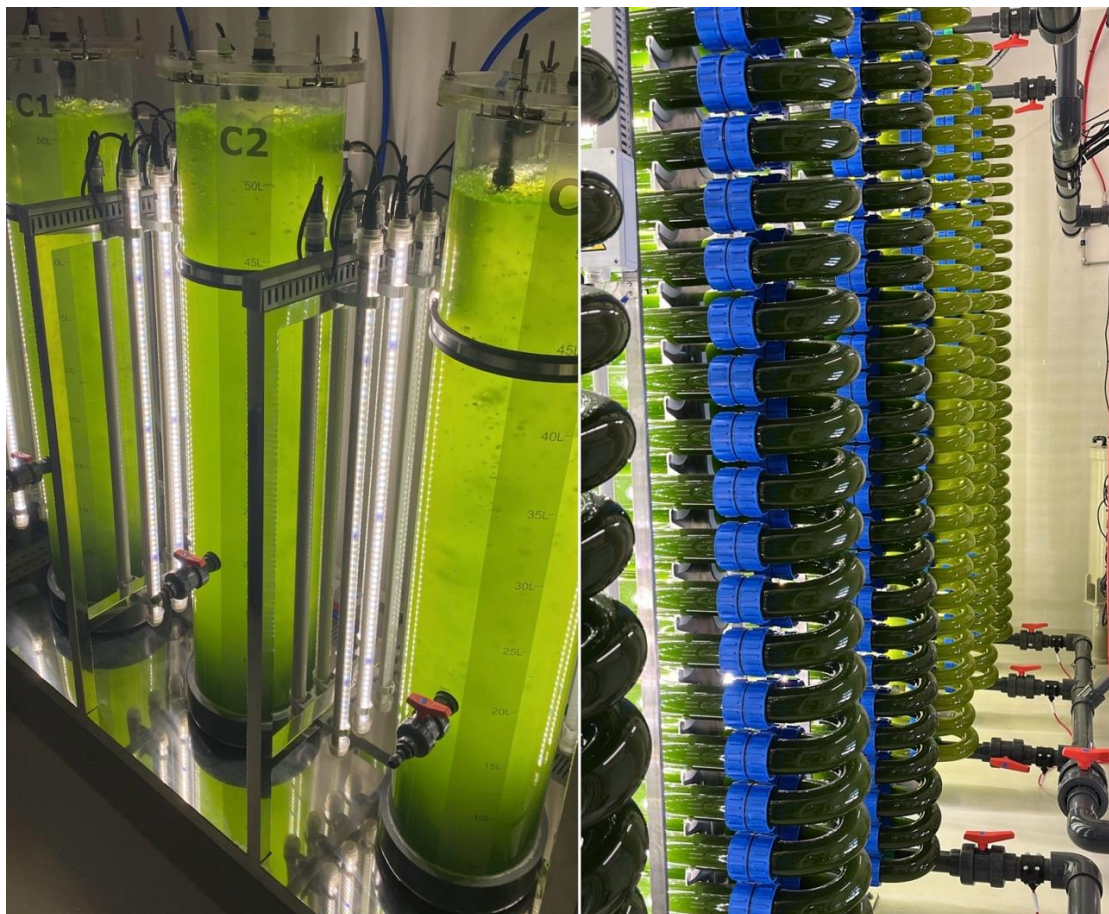
Pārskata periodā tika turpināta *Nannochloropsis sp.* biomasas pavairošana tubulārajā fotobioreaktorā. Notika tās ievākšana un sagatavošana ekstrakcijai, kā arī lipīdu jēlekstrakta ieguve ar superkritisko CO₂ (scCO₂) ekstrakciju. Iegūtie jēlekstrakti tika nodoti LVKĶI tālākai apstrādei – jēlekstrakta frakciju vienpakāpes un secīgai attīrīšanai, izmantojot dažādas polaritātes bināros šķīdumus, un attiecīgās metodikas efektivitātes izvērtēšanai. Darbības mērķis bija iegūt ar eikozapentaēnskābes (EPS) bagātinātas jēlekstrakta frakcijas, un novērtēt vienpakāpes un secīgas attīrīšanas efektivitāti.

Darbība: “*Nannochloropsis sp.* biomasas pavairošana un sagatavošana ekstrakcijai.”

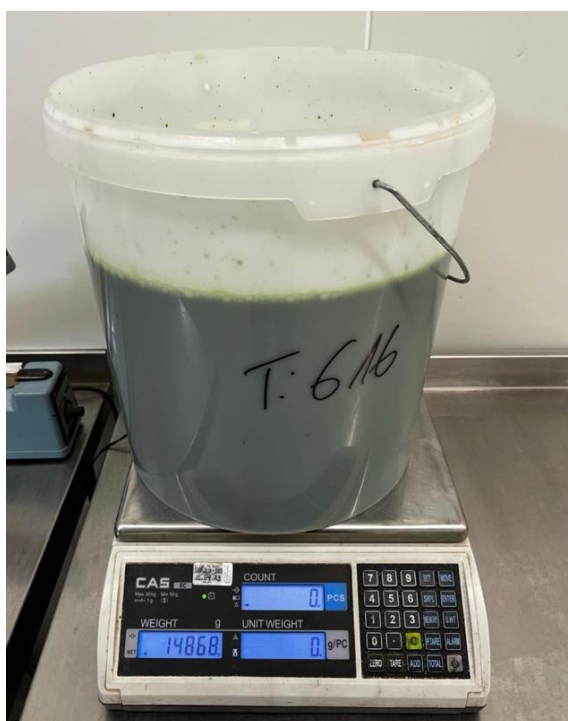
Darbības mērķis: nodrošināt mikroaļģu biomasas ieguvi tālākai ekstraktu izveidei.

Rezultāts: No saudzētas 49'118 kg (~49'280 L) mikroaļģu biomasas tika sakoncentrēti 962,98 kg (attiecība > 1:50) slapjās masas. Pēc aukstuma kaltēšanas tika iegūti 62,77 kg sausās *Nannochloropsis sp.* masas (skatīt pārskata 3. sadaļu). Fotobioreaktoros mikroaļģes tika kultivētas optimālā (1,2 g/L) koncentrācijā.

Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests



1. attēls. *Nannochloropsis* sp. biomasas audzēšana un pavairošana fotobioreaktoros.



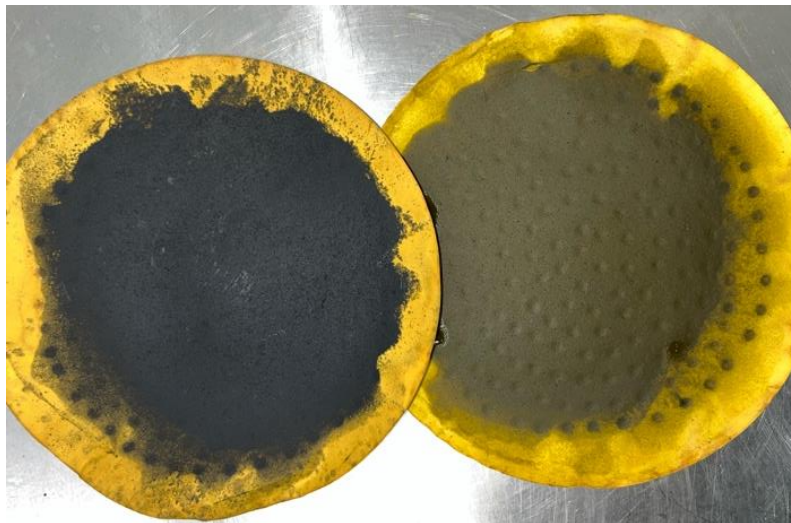


2. attēls. *Nannochloropsis sp.* biomasas un biomasas koncentrāta daudzuma noteikšana.

Darbība: “*Nannochloropsis sp.* lipīdu jēlekstrakta turpmākā attīrīšana”

Darbības apraksts: iegūtā *Nannochloropsis sp.* biomasa pēc liofilizēšanas tika ekstrahēta, izmantojot scCO₂ ekstrakciju. Iepriekš tika noskaidrots, ka ekstrahēšanas laikā iegūtās frakcijas S0 (pie +50°C) un S1 (pie +40°C) sniedz visaugstāko EPA koncentrāciju, tāpēc tās tika izmantotas turpmākajam attīrīšanas procesam.

Rezultāti: attīrīšanas procesā abām frakcijām tika konstatētas gan iegūtā daudzuma, gan krāsas, gan konsistences atšķirības: S0 frakcija daudzuma ziņā no ekstraktora tika iegūta vairāk, tās konsistence bija nevienmērīga ar lielāku vizuāli redzamo daļiņu izmēru, krāsa gaišāka. S1 frakcijai: galaprodukts tika iegūts vidēji par 80% mazāk, tā konsistence bija vienmērīga, krāsa ļoti tumša (3. attēls un 4. attēls). Filtrēšanas process S0 frakcijai bija vienkāršāks un ātrāks, salīdzinot ar S1 frakciju.



3. attēls. Attīrīšanas process. Pa labi – S0 frakcija, pa kreisi – S1 frakcija.



Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests



4. attēls. Iegūtie vaski. Gaišākie S0 frakcijai, tumšākie - S1 frakcijai.

Darbība: “*Nannochloropsis* sp. biomasas ķīmiskā sastāva noteikšana atkarībā no pirmsapstrādes veida”

Darbības apraksts: eksperimentālos nolūkos iegūtā *Nannochloropsis* sp. biomasa tika apstrādāta divos dažādos veidos:

1. liofilizēta pēc AS “SISTĒMU INOVĀCIJAS” tehnoloģijas;
2. liofilizēta un granulēta pēc KKI tehnoloģijas.

Granulēšanai tika piemeklēti optimālie apstākļi: granulējamā materiāla mitrums 15%, granulēšanas temperatūra +40–48°C, matrica 1:4, granulēšanas diametrs 6 mm, rotācijas ātrums 200 rpm.

Rezultāti: mikroaļģu biomasas ķīmiskais sastāvs pirms ekstrakcijas tika novērtēts, analizējot lipīdu koncentrāciju katrā paraugā ar gāzu hromatogrāfijas (GC) metodi. Paraugu lipīdu sastāva dati ir 1. tabulā. Redzams, ka ar granulēšanas metodi ir izdevies iegūt lielāku EPA koncentrāciju, kā arī lielāku kopējo lipīdu iznākumu.

1. tabula. Mikroaļģu biomasas sastāvs pirms ekstrakcijas atkarībā no apstrādes veida.

Lipīdi, kopēji (mg/g)	Liofilizēta	Granulēta
<i>Mystric acid</i>	38.9	52.4



Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests

<i>Palmitoleic acid (omega-7)</i>	286.6	593.7
<i>Palmitic acid</i>	128.9	209.9
<i>Linoleic acid (omega-6)</i>	24.4	74.5
<i>Oleic acid</i>	33.7	141.6
<i>Steraic acid</i>	2.9	2.8
<i>Eicosapentaeoic acid (Omega-3)</i>	359.8	465.7
<i>Arachidonic acid</i>	293.9	199.2
Kopēji (mg/g)	1179.0	1751.2

Darbība: “Jēlekstrakta frakciju attīrīšana izmantojot dažādas polaritātes bināros šķīdumus (vienpakāpes attīrīšana un secīgā).”

Pārskata periodā tiek turpināta EPS saturošā produkta frakcionēšana pie istabas temperatūras un pazeminātas temperatūras ($4\pm 1^\circ\text{C}$), izmantojot *Sephabeads* sorbentu, kā arī XDA-1 sorbentu, aromatisko savienojumu atdalīšanai.

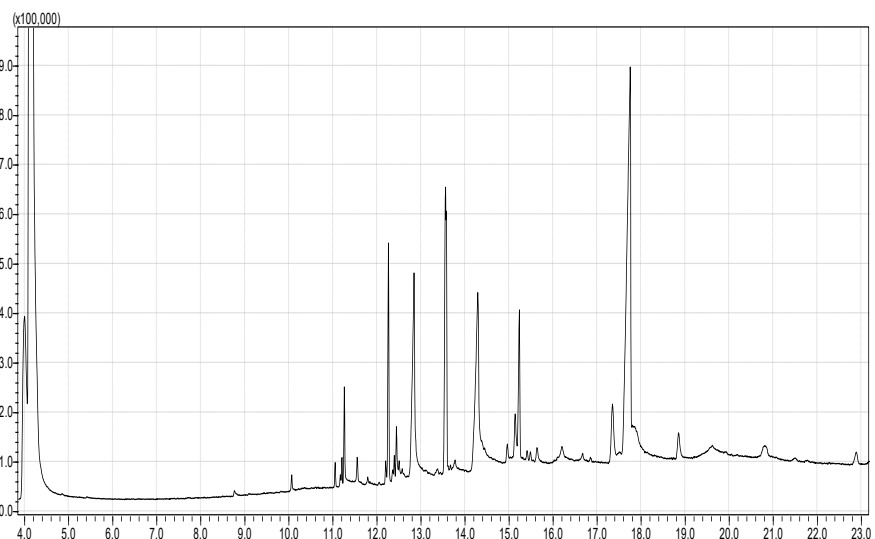
Pēc frakcionēšanas, etanols tika ietvaicēts pie temperatūras ($< +40^\circ\text{C}$), kam sekoja liofilā žāvēšana un analizējamo šķīdumu sagatavošana GC analīzei.

Darbība: “Attīrīšanas efektivitātes novērtējums pēc EPS koncentrācijas paraugā izmantojot GC analīzi”

Atskaites periodā GC analīze veikta izmantojot *Shimadzu GC/MS/FID-QP ULTRA 2010* iekārtu, kolonnu Rtx1701(02-XII-2024), 60 m × 0.25 mm × 0.25 μm. Savienojumu identifikācija veikta izmantojot GC-MS *spectral Library* MS NIST 11 un NIST 11s programmu.



Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests



5. attēls. GC/MS hromatogramma izejas frakcijai.

Relatīvais savienojumu saturs ir parādīts 2. tabulā, veikta savienojumu identifikācija (2. tabula) izejas frakcijai. Kopējais savienojumu saturs tiek ņemts par 100%, bet ūdens un etanols netiek ņemti relatīvo procentu aprēķinos.

2. tabula. Analītiskās pirolīzes dati, identificēto savienojumu relatīvais saturs izejas frakcijā, relatīvie %

Peak		33
Area total, mLn		12.51
MW : Name	RT, min	relative %
18 : Water	3.997	...
46 : Ethanol	4.146	...
188 : Pentanoic acid, 4-methyl-, trimethylsilyl ester	8.763	0.16
244 : Decanoic acid, trimethylsilyl ester	10.064	0.36
144 : Hexanoic acid, ethyl ester	11.049	0.53
182 : 4-Tridecene, (Z)-	11.170	0.31
184 : Tridecane	11.204	0.49
216 : Octanoic acid, trimethylsilyl ester	11.259	2.19
242 : Pentadecanoic acid	11.553	0.73
212 : Tridecane, 4,8-dimethyl-	11.792	0.13
268 : Octadecanal	12.200	0.42



Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests

242 : Tridecanoic acid ethyl ester	12.260	5.96
266 : 9-Octadecenal	12.357	0.38
184 : Undecane, 3,7-dimethyl-	12.393	0.45
300 : Tetradecanoic acid, trimethylsilyl ester	12.442	1.23
non iden.	12.504	0.21
228 : Tetradecanoic acid (Myristic acid)	12.841	9.49
non iden.	13.376	0.17
312 : Pentadecanoic acid, 2,6,10,14-tetramethyl-, methyl ester	13.556	14.21
280 : 9-Octadecynoic acid	13.667	0.11
296 : 10-Undecenoic acid, octyl ester	13.774	0.47
256 : n-Hexadecanoic acid	14.290	12.70
156 : 2-Nonen-1-ol, 2-methyl-	14.960	0.57
254 : 9-Hexadecenoic acid	15.137	1.50
222 : 7-Hexadecyne	15.232	4.61
278 : 9,12,15-Octadecatienoic acid, (Z,Z,Z)- (Linolenic acid)	15.409	0.24
non iden.	15.484	0.24
non iden.	15.636	0.62
280 : 9-Octadecynoic acid (Stearolic acid)	16.200	0.68
260 : Z,Z,Z-1,4,6,9-Nonadecatetraene	16.672	0.35
220 : 4-Hexadecen-6-yne, (E)-	17.349	3.52
303 : EPA (Eicosapentaenoic Acid)	17.751	33.55
324 : Z-4-Nonadecen-1-ol acetate	18.850	1.53
non iden.	20.826	1.22
222 : 7-Hexadecyne	22.885	0.67
		100.00

Identifikācija visām frakcijām turpinās.

Aļģu analītiskā pirolīze ar gaistošo produktu GC analīzi.

Pārskata periodā veikta analītiskās pirolīzes datu interpretācija.

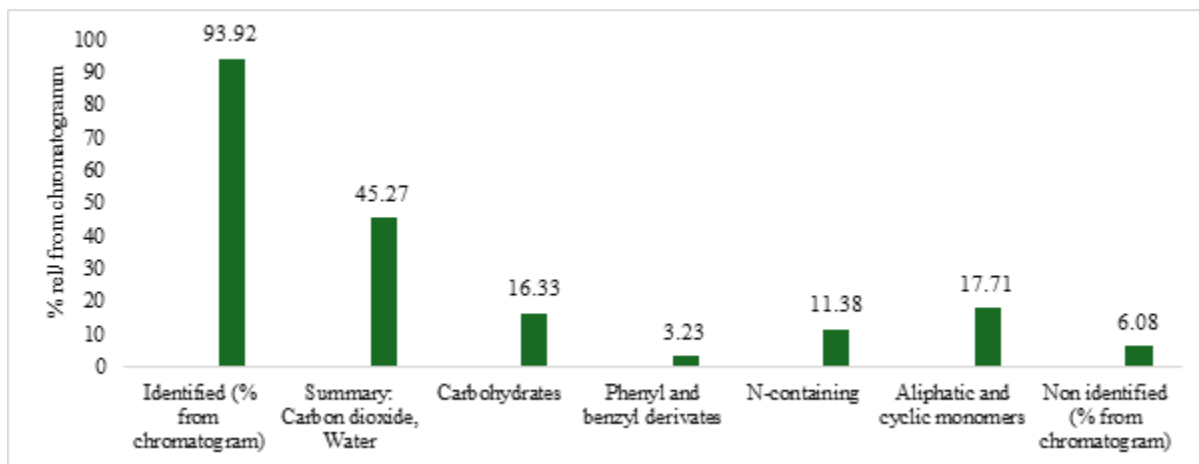
Iepriekšējā pārskata periodā tika veikta mikroaļģu biomasas analītiskā pirolīze, kas balstas uz ātrās pirolīzes procesu, kurā aļģu paraugs tiek uzkarstēts ar ātrumu +500°C/sec. Analītiskā pirolīze tika veikta izmantojot *Fontier Lab Micro Doble shot* Pirolīzes ierīci (Py- 2020iD, Japana).



Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests

Pēc analītiskās pirolīzes rezultātiem var raksturot aļģu biomasas kompleksu sastavu, kas ietver: lipīdus (t.sk. taukskābes), oghidrātus, fenolus un aromātiskos savienojumus, aminoskābju atvasinājumus. Liels CO₂ un ūdens (dekarboksilācijas un dehidratācijas reakciju produkti) īpatsvars 45% rel/DM, norāda uz augstu skābekli saturošo biomolekulu saturu, piemēram polisaharīdiem (celulozei līdzīgiem), organiskām skābēm un lipīdiem (6. attēls).

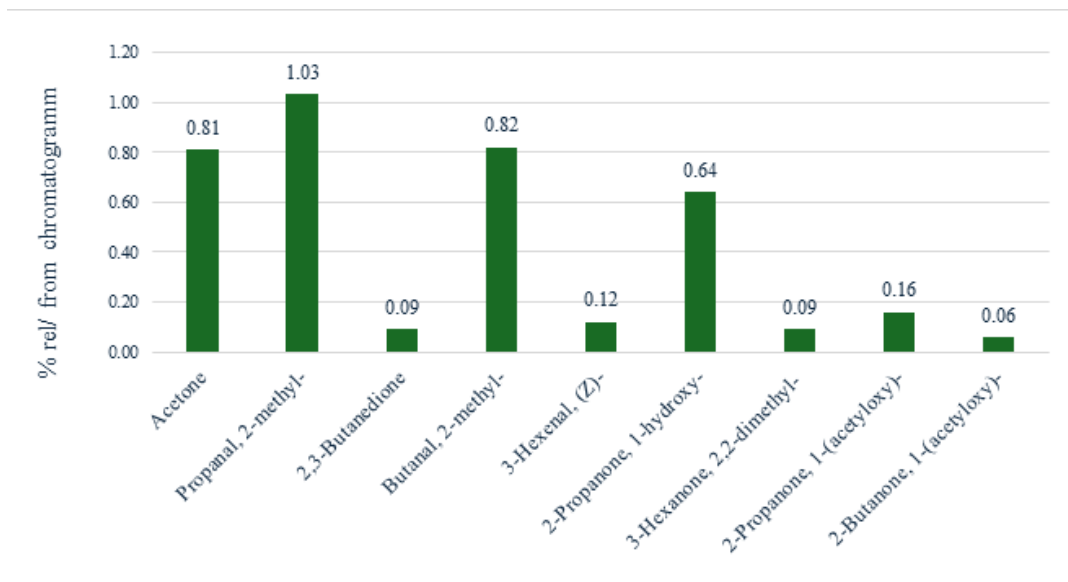
Oghidrātu saturs 16% rel/DM norāda uz polisaharīdiem, monosaharīdiem un to atvasinājumiem (piemēram, furāniem, furanooniem u.c.). Aromātisko vielu klātbūtne liecina par sekundāro metabolītu esamību un iespējamo bioloģisko aktivitāti, piemēram antimikrobiālo aktivitāti. Slāpekli saturošie savienojumi rodas no olbaltumvielu (proteīnu) un aminoskābju pirolīzes. Pie alifātiskiem un cikliskiem monomēriem ir pieskaitāmi ketoni, aldehīdi, alkāni, alkēni u.c., kas veidojas galvenokārt no lipīdu, vaska, un taukskābju degradācijas. Šo savienojumu saturs liecina par lipīdu frakciju (piemēram par polinepiesātinātajām taukskābēm).



6.attēls. Aļģu biomasas analītiskās pirolīzes dati



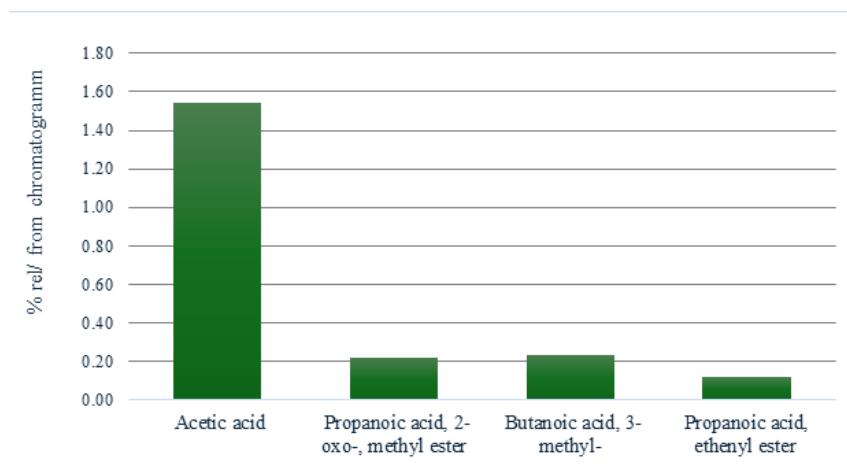
Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests



7. attēls. Aldehīdu un ketonu relatīvais saturs alģu biomasas sastāvā

Mikroalģes satur daudzveidīgas organiskās vielas: ketoni, aldehīdi, piemēram acetons, propanāls, butanāls, 3-heksenāls u.c. (7. attēls) norāda uz lipīdu un ogļhidrātu degradācijas produktiem. Šie savienojumi liecina par lipīdu (t.sk. taukskābju) klātbūtni biomasā.

Taukskābju termiskās degradācijas produkti: īsas ķēdes karbonskābes (etiķskābe, propionskābe, sviestskābe) liecina par piesātināto un nepiesātināto taukskābju sadalīšanos (8. attēls). Lai arī EPA netiek identificētas tieši, šāda profila parādīšanās netieši norāda, ka biomasā ir glicerīdu/taukskābju frakcijas.

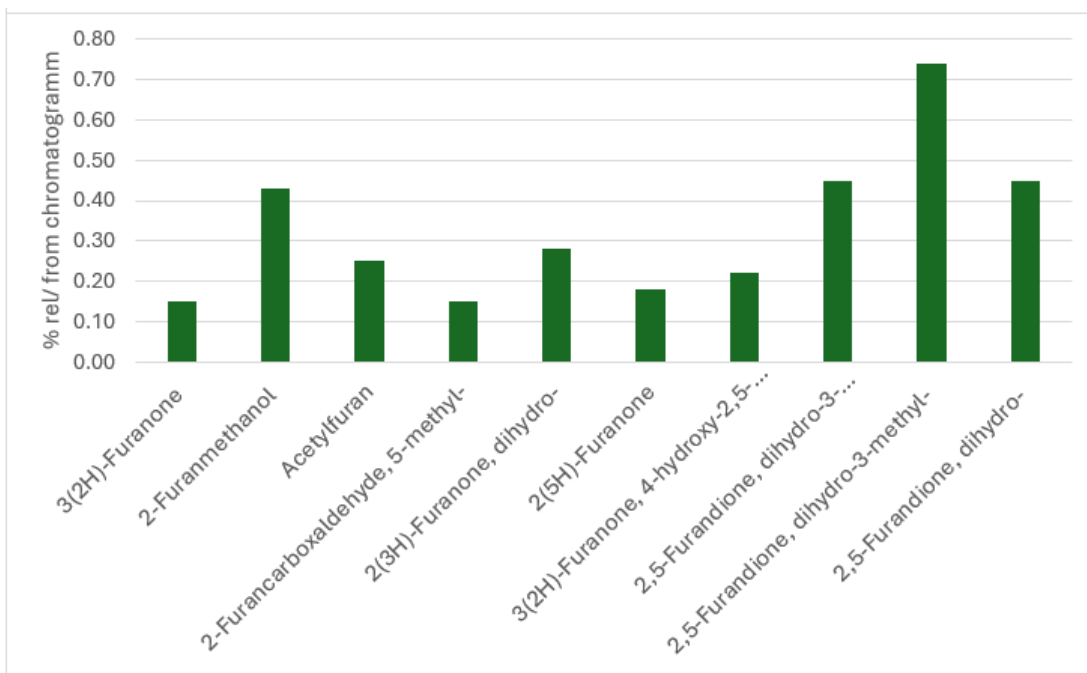


8.attēls. Karbonskābju relatīvais saturs alģu biomasas sastāvā.



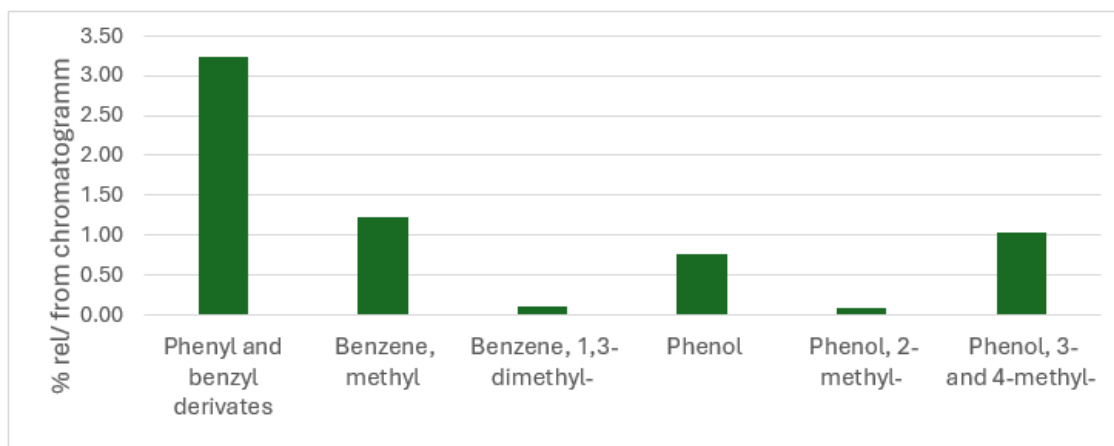
Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests

Furānu savienojumu klātbūtne, piemēram, 2-furankarboksilaldehīds, furanons, rodas no ogļhidrātu un hemicelulozes sadalīšanās, piemēram polisaharīdiem (piemēram mannose, glikoze). Šie dati norāda uz polisaharīdu saturu biomasā (9. att.)



9.attēls. Furānu relatīvais saturs aļģu biomasas sastāvā.

Aromātisko savienojumu klātbūtne (benzols, fenols, 2-metoksifenols, benzilgrupas). Šie savienojumi norāda uz aminoskābju, proteīnu vai fenolisko metabolītu klātbūtni. Tas parāda, ka aģēs ar arī proteīni un antioksidanti, piemēram fenoliskās vielas (10. attēls).



10. attēls. Aromātisko savienojumu relatīvais saturs aģu biomasas sastāvā.

NACIONĀLAIS
ATTĪSTĪBAS
PLĀNS 2020



EIROPAS SAVIENĪBA
EIROPA INVESTĒ LAUKU APVIDOS
Eiropas Lauksaimniecības fonds
lauku attīstībai

Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests