



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 12. periodā 01.01.2020-29.02.2020.

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

1.1.Rapšu salmu priekšapstrādes pētījumi

Projekta 12. periodā darba mērķis bija: Rapšu salmu lignocelulozes ķīmiskā sastāva un 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 12. periodā bija paredzēts izpētīt celulozes depolimerizācijas procesa parametrum:

- 1) celulozes depolimerizācijas pakāpes izmaiņas;
- 2) pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana.

Rezultātā tika izpētīta celulozes depolimerizācijas pakāpes izmaiņas atkarībā no katalizatora koncentrācijas un katalizatora daudzuma izmaiņām, kā arī no temperatūras izmaiņām un atkarībā no procesa ilguma. Tika apkopoti visi iegūtie rezultāti.

1.2.Hemicelulozes C5-cukuru pielietojums lipīdu mikrobioloģiskai iegūšanai

Darba gaitā tika turpināti pētījumi ar lipīdsintezejošo raugu celmiem no ģints *Lipomyces*, kas aug uz ksilozes barotnes ar paaugstinātu ksiloses saturu. Eksperimentos tika izmantoti sausie raugi kā sējmateriāls lipīdu producēšanai. Eksperimentu gaitā tika veikta rauga šūnu taukskābju profila analīze ar gāzu hromatogrāfiju. Tika apkopoti visi iegūtie rezultāti.

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

Turpināts pētījums ar ģenētiski modificētu raugu *Hansenula polymorpha* celmu un to spēju fermentēt rapšu salmu lignocelulozes hidrolizātu, kas satur C5-ogļhidrātus. Substrātu rūgšanas process tika veikts, izmantojot sauso raugu kā sējmateriālu, lai izpētītu spēju uzturēt efektīvu bioetanola sintēzi. Tika apkopoti visi iegūtie rezultāti.

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

2.1. Bioetanola iegūšana no hemicelulozes C6-cukuriem un lignocelulozes

Turpināti eksperimenti, kas saistīti ar enzimatisko hidrolīzi glikozes iegūšanai no salmu hidrolizātiem. Tāpat veikti noslēdzošie eksperimenti ar dažādu nesēju izmantošanu ar mērķi padarīt efektīvāku etanola sintēzi izmantojot imobilizētos raugus, kas atļauj tos izmantot vairākos ciklos. Noteikts, ka vislabākos rezultātus sniedz rapšu salmu kā nesēja izmantošana. Papildus veikti eksperimenti par etanola sintēzi izmantojot brīvus natīvus un žāvētus raugus, kā arī atšķirīgas fermentācijas vides, temperatūras, aerācijas un laika ietekmi uz etanola sintēzes procesu. Tika apkopoti visi iegūtie rezultāti.

2.2. Etanola rauga atlikumu pielietojums

Eksperiments ar intaktu un dehidratētu *Saccharomyces cerevisiae* kultūru salīdzināja brūnās krāsas intensitātes samazinājumu melases notekūdeņos. Atsevišķos variantos šūnu dehidratācija samazināja notekūdeņu attīrīšanas efektivitāti. Tomēr, salīdzinot četras barotnes ar dažādu sastāvu, kurās kultivēja raugu pirms etanola fermentācijas, ir secināts, ka rauga iegūšanas tehnoloģija tā turpmākai izmantošanai etanola iegūšanai, ievērojami ietekmē “atstrādātās” rauga biomasas fizioloģisko stāvokli un aktivitāti biodegradācijas/sorbācijas procesos.

Veikti arī noslēguma eksperimenti karstuma šoka proteīnu Hsp70 noteikšanai. Iegūtie rezultāti parādīja Hsp70 proteīnu klātbūtni visos paraugos. Tāpat noteikts arī β -glikānu daudzums šūnās pēc fermentācijas. Pārbaudītas šūnas pēc fermentācijas dažādās fermentācijas vidēs, pie atšķirīgām temperatūrām, atšķirīgas aerācijas un atšķirīga

fermentācijas laika. Savā starpā salīdzināta biomasa pēc fermentācijas un pēc tās žāvēšanas. Tika apkopoti visi iegūtie rezultāti.

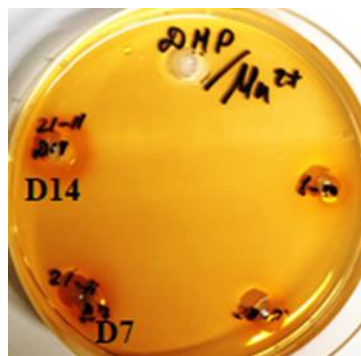
3. Lignīna izmantošana medicīnisko sēņu kultivēšanas uzlabošanai un lakāzi saturoša enzīmu kompleksa sintēzei

3.1. Lignīna izmantošana sēņu kultivēšanas uzlabošanai

Salīdzināti un apkopoti dati par sēņu kultūru *L. edodes* 3565 un *G. lucidum* 9621 biomasas daudzumu un lakāzes aktivitātes izmaiņām dažādos kultivēšanas apstākļos, izmantojot hidrolizētu rapšu salmu lignīnu. Kultivēšanas videi pievienotā 2% lignoceluloze palielina sēņu biomasas iznākumu un paaugstina lakāzes aktivitāti. Tika apkopoti visi iegūtie rezultāti.

3.2. Proteīnu un bioloģiski aktīvo komponentu daudzumu salīdzinājums sēņu biomasā to iegremdētās kultūras fermentācijas apstākļos

Mangānperoksidāzes (MnP) aktivitāte tika pārbaudīta Petrī traukos kā substrātu izmantojot 1,8% agaru, 20 mM DMP (2,6 dimetoksifenols), 5 mM MnSO₄ un 10 mM H₂O₂ un inkubējot 16h 30°C. Tika novērotas brūnas zonas kā Mn peroksidāzes aktivitātes indikators.



Att. *G.lucidum* 9621 mangāna peroksidāzes (MnP) pārbaude liofilizētā supernatantā

D7, D14 - audzēšanas dienās.

Ar aerāciju audzētajās *G. lucidum* kultūrās tika novērota zema MnP aktivitāte. Tāpēc vēlams MnP aktivitātes pētījumiem audzēt sēņu micēliju bez aerācijas. Šajā pētījumā *G.lucidum* MnP sasniedza maksimālo aktivitāti 14. dienā.

Mangāna peroksidāzes fermentatīvā aktivitāte tika noteikta pamatojoties arī uz oksidācijas fenola sarkano krāsu 30°C. Reakcijas kinētika tika novērtēta, pamatojoties uz absorbcijas mērīšanu pie 610 nm, izmantojot spektrofotometru. Tika apkopoti visi iegūtie rezultāti.

3.3.Lignīna izmantošana medicīnisko sēņu lakāzi saturoša enzīmu kompleksa sintēzei

Noteikta un salīdzināta liofilizācijas un sasaldēšanas ietekme uz *L. edodes* 3565 un *G. lucidum* 9621 lakāzes aktivitāti dažādos glabāšanas apstākļos. Salīdzinātas lakāzes aktivitātes izmaiņas supernatantos pie dažādiem kultivēšanas parametriem audzētiem sēņu micēlijiem. Lai labāk varētu salīdzināt lakāzes aktivitātes izmaiņas glabāšanas laikā, aktivitāte tika aprēķināta % no sākotnējās lakāzes aktivitātes vidējās vērtības. Konstatēts, ka sasaldētos un liofilizētos supernatantu paraugos 3 mēnešu laikā lakāzes aktivitāte samazinās aptuveni par 20% no sākotnējās vērtības, bet +4°C glabātie paraugi 3 mēnešu laikā zaudē 80% lakāzes aktivitātes. Rezultāti liecina, ka paraugu sasaldēšana un liofilizācija ir efektīvs veids kā uzglabāt fermentu preparātus tālākai izpētei. Tika apkopoti visi iegūtie rezultāti.

3.4. *Drosophila melanogaster* pielietojums kā modeļorganismu priekš bioloģiski aktīvu un iespējami genotoksisku efektu konstatēšanas sēņu biomasā un ekstraktos pēc to audzēšanas lignīnu saturošā barotnē

Kultivējot sēnes *L. edodes* 3565 un *G. lucidum* 9621 stacionāros apstākļos dziļumkultūrās ar lignīna piedevu, kultivēšanas beigās tehniski ir iespējams atdalīt micēliju no lignīna substrāta. Ekstrakti, kas iegūti no sēņu biomasām ar atdalītu lignīnu, *D. melanogaster* kāpuros uzrādīja līdzīgu aktivitāti kā ekstrakti, kas iegūti no micēlija un lignīna maisījuma. Tika apkopoti visi iegūtie rezultāti.

5. Pētniecības rezultātu publiskas pieejamības nodrošināšana

Iegūtie rezultāti tiek publicēti un atainoti LU portālā. Kā arī pētniecības rezultātu publiskai pieejamībai pārskata periodā tika saņemta recenzija par iesniegto publikāciju: “Differential Catalysis of Depolymerisation and Dehydration Reactions: Producing Furfural from Plant Biomass.”, žurnālā - “Journal of Renewable Materials”. Tika ieniestas atbildes recenzentiem. Papildus tam notikusi dalība Latvijas Universitātes 78. Zinātniskā konferencē, 2020 ar stenda referātiem:

- 1) L.edodes un G.lucidum lakāzes aktivitātes izmaiņas glabāšanas apstākļu ietekmē.
V.Balode, G.Makarenkova, D.Zaļā, E. Ažēna
- 2) Lentinula edodes ekstrakta ietekme uz Drosophila melanogaster kāpuru imūno atbildi.
Ažēna E., Mārtuža I. , Makarenkova G.