



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

## **Jaunas pieejas izstrādāšana vienlaicīgi bioetanola, furfurola un citu vērtīgu produktu bezatlikuma iegūšanai no vietējiem zemkopības pārpalikumiem**

Eiropas Reģionālās attīstības fonda projekts (Nr. 1.1.1.1/16/A/113)

Darbības programma „Pētniecība, tehnoloģiju attīstība un inovācijas”

Aktivitāte 1.1.1.1. „Praktiskas ievirzes pētījumi, 1. kārtā”

### **Atskaite par veiktajām darbībām pārskata periodā 01.03.2017.-31.05.2017.**

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

##### **1.1. Aktivitāte: Rapšu salmu priekšapstrādes pētījumi**

Projekta 1. perioda darba mērķis bija: kvantitatīvi noteikt rapšu salmu ķīmisko sastāvu (1. 1. aktivitāte), kā arī izvēlēties rapšu salmu priekšapstrādes procesa sākotnējos tehnoloģiskos procesa parametrus lignocelulozes parauga iegūšanai, lai varētu sākt realizēt 1.aktivitāti mikrobioloģijas pētījumiem.

**Aktivitātes „Rapšu salmu priekšapstrādes pētījumi”** īstenošanai veica rapšu salmu ķīmiskā sastāva analīzi un, lai iegūtu priekšstatu par izejvielu un par priekšapstrādes procesa sākotnējo tehnoloģisko parametru izvēli, sagatavojot lignocelulozes paraugu tālākiem mikrobioloģiskajiem pētījumiem.

Mērķa īstenošanai tika izvirzīti 2 uzdevumi:

- 1) noteikt rapšu salmu ķīmisko sastāvu;
- 2) iegūt lignocelulozes paraugu, tālākiem mikrobioloģiskajiem pētījumiem.

**Rezultātā** ir noteikts ķīmiskais sastāvs rapšu salmiem, kas ir kā atlikums no zemkopības bioproduktu ražošanas posmiem. Iegūtie rezultāti norāda, ka rapšu salmu kopējais polisaharīdu saturs ir 68,34% no absolūti sausiem rapšu salmiem (a.s.r.s.), no kuriem 26,7% ir hemicelulozes, 42,07% celuloze, 17,51% Klasona lignīns, 7,32% pelni un 1,61% ekstraktvielu. Furfurola teorētiskais iznākums ir 13,09% no a.s.r.s. Iegūtie rezultāti tika salīdzināti ar literatūras datiem un visumā tiem atbilst (1.tabula). Rapšu salmu ķīmiskais sastāvs norāda, ka šo izejvielu var izmantot kā izejmateriālu furfurola, lipīdu un bioetanola

iegūšanai no hemicelulozes C-5 cukuriem. Viena no galvenajām un mazāk izpētītām procesa stadijām, augstāk uzrādīto vielu iegūšanai no augu valsts biomasas, ir priekšapstrādes process. Tas ir nepieciešams, lai izmainītu biomasas šūnāpvalka mehānisko un ķīmisko struktūru un padarītu to vieglāk pārstrādājamu ogļhidrātu monomēros. Šādu efektu var iegūt ar katalītiskās hidrolīzes paņēmieni, ko mēs varam veikt uz unikālas eksperimentālās stenda pilotiekārtas. Ar šo metodi, saglabājot celulozi un lignīnu, no biomasas var atšķelt un dehidratēt hemiceluložu pentozes furfurolā, kas ir perspektīva izejviela ķīmiskajā rūpniecībā. Eksperimentālais lignocelulozes paraugs iegūts no rapšu salmiem, apstrādājot tos uz šīs pilotiekārtas. Nepieciešamos priekšapstrādes procesa parametrus izvēlējamies ņemot vērā iepriekšējo pieredzi, strādājot uz šīs iekārtas un izmantojot kā izejmateriālu kviešu salmus. Rapšu salmus sasmalcināja līdz daļiņu izmēram 0,6 mm, samaisīja ar katalizatora šķīdumu speciāli konstruētā lāpstveida maisītājā. Kā katalizatoru izmantojām alumīnija sulfātu ( $Al_2(SO_4)_3$ ) ar koncentrāciju 16% un daudzumu 3% no absolūti sasusas rapšu salmu masas. Iegūto materiālu apstrādāja ar nepārtrauktu ūdens tvaika plūsmu reaktorā 40 min pie temperatūras 170°C. Pēc apstrādes ar tvaika plūsmu iegūtā lignoceluloze ekstrahēta trīs reizes pa 10 min ar destilētu ūdeni pie temperatūras 120°C. Eksperimentāli iegūtais lignocelulozes paraugs un ekstrakts nodoti LU kolēģiem mikrobioloģiskiem pētījumiem.

## **1.2. Aktivitāte: Hemicelulozes C5-cukuru pielietojums lipīdu mikrobioloģiskai iegūšanai**

Darba gaitā tika atlasīti ražīgākie raugu celmi starp sešiem lipīdsintezējošo raugu celmiem no ģintīm *Rodotorula* un *Yarrowia*, kas iegūti no Latvijas Universitātes mikroorganismu kolekcijas. Raugu biomasa tika audzēta uz sintētiskās fermentatīvās barotnes ar dažādu cukuru un cukura saturu un augšanas līknes katram celmam noteikta dinamikā. Tika izpētīta lipīdsintezējošo raugu spēja raudzēt rapša hemicelulozes hidrolizātu, kas optimizēts ar sulfāta amonija un rauga ekstrakta pievienošanu, kā slāpekļa un organisku slāpekļa saturošu savienojumu avots, par cik zināms, ka lignocelulozes hidrolizātā ir šo savienojumu deficīts. Lipīdu sintēze tika pārbaudīta un analizēta ar mikroskopisko lipīdu noteikšanas metodi, izmantojot krāsvielu NileRed.

Komponenti	Iznākums, %	Literatūras dati [1]
Ekstraktvielas		
Acetonā šķīstošās	n.n.	...
Etanola-benzolā šķīstošās	1.61 ± 0.04	...
Karstā ūdenī šķīstošās	n.n.	...
Ogļhidrāti:		
Ramnoze	...	...
Ksiloze	20.45 ± 0.15	18.37 ± 0.47
Arabinoze	1.68 ± 0.00	1.44 ± 0.08
Mannoze	0.00 ± 0.00	1.76 ± 0.04
Glikoze	46.75 ± 0.10	36.59 ± 0.10
Galaktoze	0.00 ± 0.00	2.54 ± 0.84
Celuloze	42.07	...
Hemicelulozes	26.27	...
Holoceluloze ( <i>L.E. Wise</i> )	...	...
Lignīns		
Klasona lignīns (AIL)	17.51 ± 0.10	15.55 ± 0.44
Skābē-šķīstošais lignīns (ASL)	n.n.	1.58 ± 0.14
Pelni	7.32 ± 0.05	5.73 ± 0.38
Furfurola teorētiskais iznākums	13.09 ± 0.13	12.70 ± 0.47
Acetilgrupas	2.84 ± 0.22	3.65 ± 0.55
Acetāta grupas	3.85 ± 0.10	

n.n. – nav noteikts

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

3.1. Aktivitāte: Kultivēšanas efektivitātes salīdzinājums dažādiem medicīnisko sēņu *Lentinula edodes* celmiem izmantojot cietās un šķidrās barotnes ar lignīnu.

3. 3. Aktivitāte: Optimālu kultivēšanas apstākļu izstrāde medicīnisko sēņu micēlija kultivēšanai.

3. 4. Aktivitāte: Lignīnu degradējošo enzīmu aktivitātes izpēte kultivēšanas vidē medicīnisko sēņu *Lentinula edodes* un *Ganoderma lucidum* augšanas laikā

Lai salīdzinātu iegūstamo efektu no lignīna pievienošanas barotnei, tika izvirzīts mērķis atlasīt atbilstošākos *L. edodes* celmus.

Vairākiem celmiem tika pētīti optimālie kultivēšanas apstākļi – novērtēta micēliju diametrālā augšana un veikta lignīnu degradējoša enzīma – lakāzes – aktivitātes kvalitatīva un kvantitatīva noteikšana.

Uzsākti eksperimenti doto apstākļu izvērtēšanai:

- Kultivēšanas vides sastāvs
- Inkubācijas temperatūra
- Vides pH
- Kultivēšanas režīms

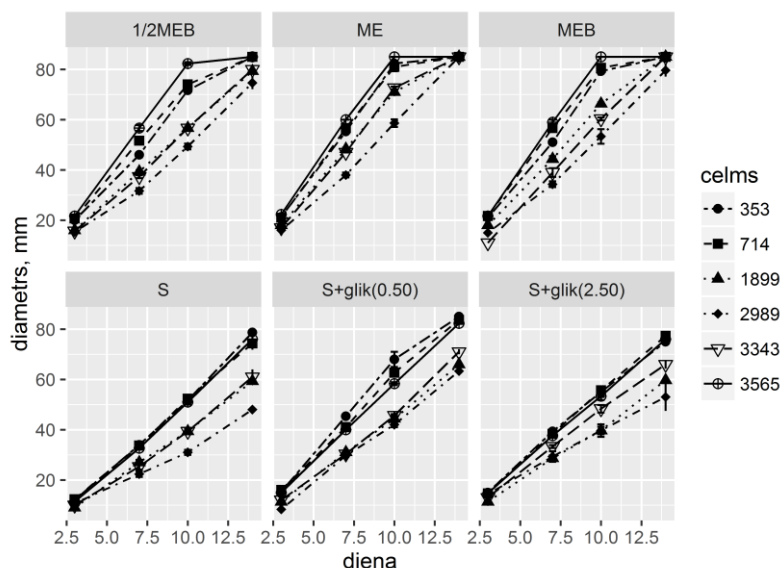
#### **Rezultāti par micēlija augšanas optimizāciju un lignīnu degradējošo enzīmu aktivitāti:**

Pēc rezultātu izvērtēšanas, labākie diametrālās augšanas un lakāzes aktivitātes rādītāji iegūti sekojošiem *L. edodes* celmiem: DSM3565, 353, 714.

Iesala ekstraktu saturošā vidē visiem celmiem novērojams straujāks micēlija diametra pieaugums nekā sintētiskās barotnēs (1. attēls). Lakāzes aktivitātes gadījumā novērota pretēja sakarība – sintētiskās agarizētās barotnēs iegūta augstāka lakāzes aktivitāte nekā iesala ekstrakta barotnēs.

Inkubēšanas temperatūrai 22°C un 25°C novērota *L. edodes* micēlija diametrālo augšanu veicinošāka ietekme nekā 30°C.

Kultivēšanas vides pH paaugstināšana līdz pH 7.0 neizraisīja būtiskas izmaiņas micēlija diametrālajā augšanā, salīdzinot ar pH 5.6. Celmiem 353 un 3565 (515) pie pH 7 novērota mazliet straujāka diametrālā augšana nekā pie pH 5.6, tomēr šobrīd iegūtās atšķirības nav statistiski būtiskas.

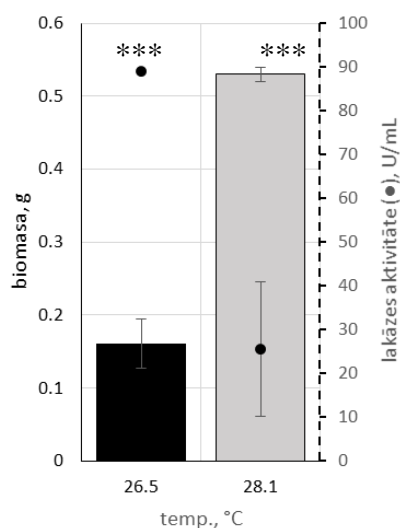


1. attēls. *L. edodes* micēliju diametri uz dažādām agarizētām barotnēm. Apzīmējumi: “1/2MEB, ME, MEB” iesala ekstrakta barotnes; “S” sintētiskā barotne; “glik(0.50)” glikozes piedeva 0.50% (w/v).

*L. edodes* 3565 iegūta statistiski būtiska ( $p < 0.05$ ) negatīva korelācija starp inkubācijas temperatūru (26.5°C, 28.1°C) un izdalītās lakāzes aktivitāti (U/mL) (2. attēls).

Inkubācijas režīmam šobrīd nav novērota statistiski būtiska iedarbība uz *L. edodes* 3565 lakāzes aktivitāti un biomasas iznākumu šķidrās bezpiedevu iesala ekstrakta barotnēs.

Turpmākajos eksperimentos nepieciešams papildināt iegūto datu kopu un uzsākt optimālu apstākļu izveidi micēlija kultivēšanai lignocelulozi saturošā vidē.



2. attēls. *L. edodes* 3565 micēlija biomasas (g/100mL) un lakāzes aktivitāte (●, U/mL) iesala ekstrakta (1/2 MEB) barotnēs (140rpm) pie dažādām inkubācijas temperatūrām.

Apzīmējumi: “\*\*\*” p-vērtība  $< 0.01$

## Literatūra

- [1] M. J. Díaz, C. Cara, E. Ruiz, I. Romero, M. Moya, and E. Castro, “Hydrothermal pre-treatment of rapeseed straw,” *Bioresour. Technol.*, vol. 101, no. 7, pp. 2428–2435, 2010.