



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

Progresā pārskats par 6. ceturkšņa periodu 01.07.-30.09.2021.

### Trichoderma spp. ieguve šķidrums virsmas kultivācijas procesā

Turpināta eksperimentu sērija, kuras ietvaros bioreaktora apstākļos paredzēts novērtēt šķidrā *Trichoderma* preparāta iegūvi, realizējot *Trichoderma* kultivāciju uz šķidrums virsmas. Pārskata periodā realizēti 3 kultivācijas eksperimenti barotnē ar cukuru, iesala ekstraktu un zirņu novārījumu. Novērtēja zem sēnes virsmas šķidrums apmaisīšanas un temperatūras ietekmi uz šķidrā preparāta antifungālo ietekmi pret *Cladosporium herbarum* LMKK 276. Novērota šķidrums maisīšanas un temperatūras ietekme uz antifungālo aktivitāti. Šķidrums paraugiem dinamikā analizēta antifungāla aktivitāte un novērtēta sporu koncentrācija.

### Trichoderma spp. ieguve dziļuma kultivācijas procesā

Turpināta eksperimentu sērija, lai novērtētu *Trichoderma* sp. un *Bacillus* ssp. dziļuma ko-kultivāciju 7 dažādās barotnēs, procesu veicot kratītāja kolbās istabas temperatūrā. Kopā veiktas 6 eksperimentu sērijas, novērtējot antifungālo izpausmi laikā, biomasas pieaugumu, KVV. Balstoties uz iegūtajiem rezultātiem, izvēlētas divas piemērotākās barotnes (1. cukurs, iesala ekstrakts, zirņu novārījums; 2. melase, rauga ekstrakts, kukurūzas milti) un kopā veikti 4 ko-kultivācijas procesi 5 L bioreaktorā ar kontrolējamiem kultivācijas vides parametriem – temperatūra, apmaisīšanas ātrums, gaisa padeve. Vienā no veiktajiem eksperimentiem konstatēta izteikta antifungāla aktivitāte, bet pārējos novērojama patogēna augšanas kavēšana. Kolbu eksperimentos novērtēta virsmaktīvās vielas Tween 40 (0,2-2 %) ietekme uz *Trichoderma* biomasas veidošanos un sēnes mikromorfoloģiskām īpašībām. Uzsākts gatavot zinātnisku publikāciju par dziļumkultivācijā iegūtas un dažādos veidos apstrādātas sēnes dzīvotspējas un antagonistiskās aktivitātes saglabāšanos saistībā ar iegūtas biomasas fizioloģisko stāvokli.

### Trichoderma spp. ieguve virsmas (cietfāzes) kultivācijas procesā

Izstrādāts un pieņemts ekspluatācijā cietfāzes kultivācijas pilotreaktors un veikta pilotiekārtas palaišana ekspluatācijā. Izvērtētas kafijas klijas *Trichoderma* spp. ieguvei uz cietās virsmas, izmantojot statistisku cietfāzes bioreaktoru ar piespiedu piesātināta gaisa plūsmu caur substrātu ar ātrumu 2.82 g/l min<sup>-1</sup> ar kopējo substrāta sauso masu 594 g, iegūstot kumulatīvo CO<sub>2</sub> izdalīšanos 5.35 mmol/g<sub>sauss substr.</sub>, un noteikti fizikālie parametri (ūdens saturs Wt%, maks. ūdens absorbcija Wt<sub>abs</sub>) kviešu klijām (Wt%=8.15%, Wt<sub>abs</sub>=3.07g/g) un kafijas pupiņu klijām (Wt%=11.73%, Wt<sub>abs</sub>=8.15g/g). Turpmāk plānota eksperimentu sērija cietfāzes pilotreaktorā, izmantojot kviešu un zirņu klijas, tiks izvērtētas procesa mērogošanas iespējas, izmantojot lielāku substrāta daudzumu vienlaicīgi un pilotreaktora



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

prototipa darbības principa pielietojums cietfāzes procesa mērogošanai, kā arī kritisko procesa parametru diapazona noteikšana.

*Bacillus* spp. ieguve dziļumkultivācijas procesā

Tiek veiktas eksperimentu sērijas kolbās par optimālas un ekonomiski izdevīgas barotnes sastāva iegūšanu, kas piemērots kultivācijas procesiem ar augstu sporulācijas iznākumu. Barotnei, kurai iepriekšējos eksperimentos tika noteikts labākais oglekļa un slāpekļa avots, tiek pievienots rauga ekstrakts dažādās koncentrācijās. Eksperimentālie rezultāti tiek analizēti, uzkrājot datus par optiskā blīvuma izmaiņām laikā, kolonijas veidojošo vienību skaitu, t.sk. veģetatīvās šūnas un sporas, u.c. metodēm. Tiek veikts aprēķins par papildus komponentu izmaksām pret sporu iznākumu, kā arī ir uzsākts darbs pie zinātniskā raksta manuskripta par iegūtajiem rezultātiem.

Bioreaktorā iegūtā koncentrētā *Bacillus subtilis* preparāta paraugi, kas sastāvēja no endosporām, tiek glabāti istabas temperatūrā un 4 °C dzīvotspējas saglabāšanās dinamikas noteikšanai vismaz gada laikā. Pirmā eksperimenta rezultāti: dzīvotspēja saglabājas nemainīga ( $9 \times 10^9$  kvv/ml) vismaz 12 mēnešus, neatkarīgi no uzglabāšanas temperatūras.

Tika realizēta eksperimentu sērija 5 L laboratorijas mēroga bioreaktorā saskaņā ar Posada-Uribe *et al.* (10.1007/s00449-015-1428-1) piedāvāto kultivācijas protokolu un analizēta *B. subtilis* šūnu biomasas un sporu uzkrāšanās dinamika. Kultivācijas procesa 50. stundā tika sasniegts augsts šūnu biomasas rezultāts –  $2,79 \times 10^{10}$  KVV/ml. Minētajos kultivācijas procesos tika pielietoti arī vides duļķainības un dielektriskās spektroskopijas tiešsaistes sensori, kuri sniedz detalizētāku informāciju par šūnu augšanu un sporu veidošanos. Kultivācijas procesos iegūtie dati par šūnu biomasas augšanas un sporu veidošanās dinamiku, maisītāja ātruma optimālo diapazonu un aerāciju tiks izmantoti turpmāko eksperimentu realizācijā un procesu modelēšanā.

Apkopota zinātniskā literatūra par mehānistisku *B. subtilis* biomasas uzkrāšanās modelēšanu. Turpmāk nepieciešams novērtēt biomasas iznākuma rādītājus no glikozes un saharozes substrātiem.