

**Projekta “Bezatlikuma tehnoloģija bioetanola un citu vērtīgu produkta ieguvei no  
lapkoku koksnes” partnera „Rīgas Tehniskā universitāte  
atskaite par 4. periodu (01.12.2011 - 30.04.2012)**

Periodā tika veikti pētījumi šīs aktivitātes ietvaros:

**1.2. Bioetanola iegūšanas pētījumi (veiks RTU un LU):**

**1.2.5. Pētījumi par imobilizētā rauga izmantošanas efektivitāti iegūstot etanolu:**

- spirta raugu imobilizācijas iespējas uz dažādiem substrātiem;
- substrāta virsmas funkcionalizācijas metode;
- substrāta virsmas analīze;
- imobilizēto spirta raugu preparātu izmantošanas ietekme uz rūgšanas procesa efektivitāti.

Projekta BINI grupa:

Aleksejs Kataševs, Genādijs Sagalovičs, Vineta Zemīte.

## **1. Iss darbības apraksts**

Pārskata periodā aktivitātes 1.2 ietvaros apakšaktivitātes 1.2.5. Pētījumi par imobilizētā rauga izmantošanas efektivitāti iegūstot etanolu ievāros tika uzsākti pētījumi alternatīvo imobilizācijas nesēju izvēlei.

Uzsākta eksperimentu sērija par komerciāla šamota izmatošanas iesējam raugu imobilizācijai. Kā modeļmateriālu tika izmantots šamota kieģelis ŠA-6. Kieģelis tika sagriezts uz plāksnītēm 5x5x2.5 mm. Paraugiem, pēc analogijas ar HAP paraugiem, tika veikta EM apstrāde EM laukā lai manītu tablešu virsma lādiņu. Ka apstrādes parametri tika mainīts EM apstrādes ilgums, kas sastādīja 6 min, pie fiksētas EM starotāja jaudas (700 W).

Virsmas lādiņa izmaiņas apstrādes rezultātā tika novērtēti, izmantojot fotoemisijas spektroskopiju: tika reģistrēta paraugu fotoelektronu emisija vakuumā, izmantojot stimulējošo starojumu ar viļņu garumu diapazonā 200 – 270 nm. Pēc iegūtiem spektriem tika aprēķināts paraugu fotoelektriskais izejdarbs pirms un pēc apstrādes starpība tika ņemta kā virsmas potenciāla izmaiņas mērs.

Apstrādātie paraugi tika izmantoti, lai veiktu raugu šūnu imobilizāciju. Raugu biomasa tika audzināta 72 st. aerobos apstākļos pie  $t = 30\text{ C}$ , un glikozes koncentrācijas 100 g/l). Raugu šūnas tika atdalītas no barotnes centrifūgā pie 4000 apg/min. Imobilizācija tika veikta, stundas laikā inkubējot grupas pa 20 tabletēm 5 ml raugu suspensijā maisītajā pie 110 apg/min. Suspensijas blīvums bijis 0.007 g/ml. Pēc ikubācijas tabletes tika žāvētas termostatā,  $t = 30\text{ C}$  20 stundās, skaloti ūdenī 5 min. pie 50 apg/min un žāvēti gaisā.

Imobilizēto raugu daudzums tika novērtēts, katrai grupai mērot atlikuša rauga masu inkubācijas šķīdumā un skalošanas šķīdumā. Kā imobilizācijas efektivitātes mērs tika ņemta vidējā raugu masa uz vienu tabletī grupā. Iegūtie rezultāti rāda, ka šamota EM apstrāde neietekme raugu imobilizācijas spēju.

Eksperiments ar šamota EM apstrādi tika atkārtots, veidojot 5 grupas, kurās EM apstrādes laika sasniedza, attiecīgi 0, 3, 6, 9, 12 un 15 min. Pēc apstrādes tika veikts imobilizācijas eksperiments. Rezultāti rāda ruga imobiizācijas spējas neatkarību no EM apstrādes. Lai novērtēt, vai efekta neesamība ir saistīta ar laiku pēc EM apstrādes, eksperiments tika atkārtots, apstrādājot šamotu EM laukā 3 min, laika 15 stundas pirms imobilizācijas un p10 min pirms imobilizācijas. EM apstrādes efekts atkal netika novērots.

Pārskata periodā tika uzsākta literatūras analīze par imobilizācijas substrātiem. Pārskatīta literatūra dotā sarakstā:

1. Inama, L., Diré, S., Carturan, G., & Cavazza, A. (1993). Entrapment of viable microorganisms by SiO<sub>2</sub> sol-gel layers on glass surfaces: Trapping, catalytic performance and immobilization durability of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology*, 30(2), 197-210.
2. Kourkoutas, Y., Bekatorou, A., Banat, I. M., Marchant, R., & Koutinas, A. A. (2004). Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review. *Food Microbiology*, 21(4), 377-397.
3. Peinado, R. A., Moreno, J. J., Villalba, J. M., González-Reyes, J. A., Ortega, J. M., & Mauricio, J. C. (2006). Yeast biocapsules: A new immobilization method and their applications. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(1), 79-84.
4. Rodríguez Couto, S., Sanromán, M. A., Hofer, D., & Gübitz, G. M. (2004). Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes. *Bioresource Technology*, 95(1), 67-72.
5. Das, D., Gaidhani, N. R., Murari, K., & Gupta, P. S. (1993). Ethanol production by whole cell immobilization using lignocellulosic materials as solid matrix. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 75(2), 132-137.
6. D'Souza, S. F., & Melo, J. S. (2001). Immobilization of bakers yeast on jute fabric through adhesion using polyethylenimine: application in an annular column reactor for the inversion of sucrose. *Process Biochemistry*, 36(7), 677-681.
7. Fujii, N., Sakurai, A., Onjoh, K., & Sakakibara, M. (1999). Influence of surface characteristics of cellulose carriers on ethanol production by immobilized yeast cells. *Process Biochemistry*, 34(2), 147-152
8. Hideno, A., Ogbonna, J. C., Aoyagi, H., & Tanaka, H. (2007). Acetylation of loofa (*Luffa cylindrica*) sponge as immobilization carrier for bioprocesses involving cellulase. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 103(4), 311-317.
9. Ogbonna, J. C., Liu, Y.-C., Liu, Y.-K., & Tanaka, H. (1994). Loofa (*Luffa cylindrica*) sponge as a carrier for microbial cell immobilization. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 78(6), 437-442.

10. Phisalaphong, M., Budiraharjo, R., Bangrak, P., Mongolkajit, J., & Limtong, S. (2007). Alginate-loofa as carrier matrix for ethanol production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 104(3), 214-217.
11. Kumakura, M., Yoshida, M., & Asano, M. (1992). Preparation of Immobilized yeast cells with porous substrates. *Process Biochemistry*, 27(4), 225-229.
12. Li, G.-yin, Zhou, Z.-de, Li, Y.-jian, Huang, K.-long, & Zhong, M. (2010). Surface functionalization of chitosan-coated magnetic nanoparticles for covalent immobilization of yeast alcohol dehydrogenase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 322(24), 3862-3868.
13. Orzua, M. C., Mussatto, S. I., Contreras-Esquivel, J. C., Rodriguez, R., de la Garza, H., Teixeira, J. A., & Aguilar, C. N. (2009). Exploitation of agro industrial wastes as immobilization carrier for solid-state fermentation. *Industrial Crops and Products*, 30(1), 24-27.
14. Yu, J., Yue, G., Zhong, J., Zhang, X., & Tan, T. (2010). Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* to modified bagasse for ethanol production. *Renewable Energy*, 35(6), 1130-1134.
15. Yu, J., Zhang, X., & Tan, T. (2007). An novel immobilization method of *Saccharomyces cerevisiae* to sorghum bagasse for ethanol production. *Journal of Biotechnology*, 129(3), 415-420.
16. Wendhausen Jr., R., Moran, P. J. S., Joekes, I., & Rodrigues, J. A. R. (1998). Continuous process for large-scale preparation of chiral alcohols with baker's yeast immobilized on chrysotile fibers. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 5(1–4), 69-73.
17. Yao, W., Wu, X., Zhu, J., Sun, B., Zhang, Y. Y., & Miller, C. (2011). Bacterial cellulose membrane – A new support carrier for yeast immobilization for ethanol fermentation. *Process Biochemistry*, 46(10), 2054-2058.

Pārskata periodā grupas kridalībniece A. Bystrova piedalījās ar stenda referātu „Hydroxyapatite OH-Channels for Proton Transferring Aimed to Surface Charging” konferencē „Functional material and nanotechnologies”, 18 – 20 .04.2012, Rīgā.

Pārskata periodā komandējumu un iepirkumu RTU grupā nebija

RTU darba grupas vadītājs

A. Kataševs