



ERAF projekts Nr. 1.1.1.1/20/A/041

“Tehnoloģiju izstrāde notekūdeņu dūņu pārstrādei sekundārās izejvielās”,  
ko realizē Rīgas Tehniskā Universitāte un sadarbības partneris SIA “Bio RE”

### **Galvenie zinātniskie rezultāti**

Projekta 1. ceturksnī (01.04.2021. – 30.06.2021.)

#### **Darbība 1. Notekūdeņu attīrīšanas iekārtu dūņu (NAID) dezintegrācijas /priekšapstrādes un vai hidrolīzes tehnoloģisko aspektu izpēte un efektivitātes novērtējums, Rūpnieciskais pētījums**

##### **Darbība 1.1. “Proteīnu sadalīšana: hidrodinamiskas, hidroakustiskās un fizikāli ķīmiskās metodes, šūnu dezintegrācijas un/vai hidrolīzes procesa kinētikas novērtēšanas algoritma izstrāde”, Rūpnieciskais pētījums**

Pētniecības periodā tika veikti dažādi eksperimenti, lai nodrošinātu dūņās esošo proteīnu atbrīvošanu un sadalīšanu mazākās peptīdu virknēs. Pēc literatūras apskatā apkopotās informācijas tika secināts, ka ir nepieciešams pārbaudīt gan skābes, gan sārma hidrolīzi. Lai izvērtētu visefektīvāko no apstrādes veidiem šīs metodes savstarpēji salīdzināja.

###### **a. NAID dūņu fizikāli ķīmiskā apstrāde, veicot skābes hidrolīzi**

Skābo NAID hidrolīzi veica, izmantojot sālsskābi (HCl), jo, vadoties pēc literatūrā pieejamās informācijas, kā arī apskatot tālākās proteīnu izdalīšanas metodes, tika secināts, ka HCl nodrošina visefektīvāko hidrolīzes procesu. Skābā hidrolīze tika veikta vairākās temperatūrās, skābes koncentrācijās un reakcijas laikos. Izvērtējot iegūtos rezultātus, tika secināts, ka visefektīvākā NAID hidrolīze norisinās, nodrošinot sekojošus hidrolīzes apstākļus: +50 °C temperatūrā, 5% HCL koncentrācijā izturot reakcijas masu līdz 6 h. Pēc hidrolīzes beigām reakcijas masa tika filtrēta caur papīra filtru un iegūtais filtrāts titrēts ar vāju bāzes šķīdumu, lai konstatētu tajā esošo proteīnu izoelektrisko punktu. Analīzēs tika noskaidrots, ka šķīdumā esošo hidrolizēto peptīdu lādiņi ir izdalīti trīs klāstos un hidrolizācijas masā ir atrodami 3 izoelektriskie punkti - pie pH 2.5, pH 6.5 un pH 10.3. Nākamajās projekta attīstības stadijās šī informācija tiks izmantota, lai precīzāk spētu izdalīt proteīnus no hidrolizācijas masas.

###### **b. NAID dūņu fizikāli ķīmiskā apstrāde, veicot sārma hidrolīzi**

Paralēli skābes hidrolīzes eksperimentiem, tika izmantotas arī dažādas hidrolīzes metodes sārma, lai iespējami optimizētu hidrolīzes procesu. Vadoties pēc literatūras datiem un pašu pieredzes, dūņu hidrolīzei tika izmantots NaOH ūdens šķīdums, kas arī nodrošina visefektīvāko šūnapvalku noārdīšanu. Līdzīgi kā skābes hidrolīzes gadījumā arī sārmainā hidrolīzei tika izmantotas dažādas tā koncentrācijas, reakcijas izturēšanas laiks un temperatūra. Salīdzinot dažādu hidrolīžu gaitu, tika secināts, ka visefektīvākais hidrolīzes režīms ir sekojošs : 10 % NaOH šķ, 23 h , 100 °C temperatūra. Šo reakcijas masu filtrēja, no tur palikušajām nogulsnēm un veica potencionmetrisko titrēšanu ar vieglu skābes šķīdumu, lai noteiktu izšķīdušo proteīnu izoelektrisko punktu.

Pēc rezultātu apkopošanas tika secināts, ka hidrolīzē sārmā pie augstākas temperatūras tiek iegūti citi reakcijas produkti, jo ir mainījušies reakcijas produktu izoelektriskie punkti. Šajā hidrolīzē tie ir pie pH 2.5, pH 4.5 un ir redzams, ka arī neizteikti, bet tomēr vērā ņemams pie pH 10.7.

Ar šobrīd pieejamajiem paņēmieniem ir iespējams apstrādāt reakcijas masu, kurā dūņu sausas saturs nepārsniedz 12 %. Nākamajā plānošanas periodā tiks veidotas ķīmiski fizikālās apstrādes tehnikas, kas potenciāli atļaus palielināt biomasas koncentrāciju reakcijā.

### c. **Ultraskaņas ietekme uz aktīvo dūņu dezintegrāciju un hidrolīzi**

Viens no projekta sasniedzamajiem mērķiem ir pārbaudīt, kādu ietekmi uz dūņu dezintegrāciju spēj atstāt dažādi hidrodinamiskie un hidroakustiskie procesi. Šajā pētniecības periodā tika veikti eksperimenti, lai pārbaudītu, kādu ietekmi uz hidrolīzes procesu atstāj apstrāde ar ultraskaņu. Pēc literatūras apskata tika secināts, ka ultraskaņa ir plaši pielietota, lai paātrinātu dažādu reakciju mehānisku norisi tanī skaitā arī sārma un bāzes hidrolīzes ātrumu.

Ultraskaņas apstrāde tika veikta kā skābes tā arī bāzes hidrolīzei, izmantojot vienu ultraskaņas frekvenci 40 kHz. Apstrāde tika veikta istabas temperatūrā. Eksperimentos tika konstatēts, ka ultraskaņa pie 40 kHz vispozitīvāko ietekmi spēj atstāt uz skābes hidrolīzi pie 4 h apstrādes ilguma tādā veidā organiskās matērijas pārnese šķīdumā norisinās par 9 % efektīvāk, salīdzinājumā ar sārmaino hidrolīzi līdzīgos apstākļos.

Līdzīgi eksperimenti tika veidoti arī izmantojot virsmaktīvās vielas (trimetilacetilamonija bromīda šķīdums ūdenī). Tika konstatēts, ka 40 kHz frekvencē hidrolīzes efektivitāte pieauga par 2 % salīdzinājumā ar hidrolīzi bez ultraskaņas apstrādes.

Nākamajā plānošanas periodā ir paredzēts izveidot ultraskaņas iekārtu ar kuras palīdzību būtu iespējams mainīt ultraskaņas frekvenci lielākā amplitūdā nodrošinot arī citādus hidrolīzes apstākļus – kā piemēram papildus sildīšanu.

## **Darbība 1.2. “NAID hidrolizēta proteīna kvantitatīvā novērtējuma metodes izstrāde un masas bilances, bioķīmiskā sastāva novērtējums hidrolizētajām NAI dūņām”, Rūpnieciskais pētījums**

Šajā plānošanas periodā tika veikta padziļināta literatūras izpēte proteīnu koncentrācijas noteikšanas metožu pielietojumā aktīvo dūņu hidrolizātā. Svarīgs aspekts metodes izvēlē ir traucējošu jonu un vielu klātbūtne hidrolizātā. Ir jānosaka kopējā proteīna daudzums NAID un jāiegūst informācija par izšķīdušā un pieejamā proteīna daudzumu un veidiem, kas tiek iegūti dūņas dažādi apstrādājot.

Pēc metožu apskates un literatūras pētījumiem tika secināts, ka, lai kvalitatīvi turpinātu eksperimentus, ir neieciešams izmēģināt Biureta, modificēto Lovrija un BSA proteīna noteikšanas metodes. Lovrija un BSA proteīnu notikšanas metodes ir atvasinātas no Bioreta reakcijas, taču tajās ir iekļauti ļoti būtiski tālākie indikatīvo reakciju mehānismi, lai izslēgtu iespējamās metodes traucējumus.

Eksperimentos tika secināts, ka ar Bioreta reakciju iespējams kvalitatīvi pārbaudīt vai hidrolīzes produkti ir Proteīni - reakcijas laikā ir novērojama krāsu maiņa. Tas liecina, ka arī ar atvasinātajām kvantitatīvās noteikšanas metodēm būs iespējams izmērīt proteīna koncentrāciju paraugos.

Tika novērtos, ka pozitīvus rezultātus var iegūt gan ar izsāļošanas metodi izmantojot  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , gan ar šķīdinātāju izgulsnēšanas metodēm izmantojot Acetonu. Tika secināts, ka tehnoloģiski efektīvāka ir proteīna izsāļošana ar šķīdinātājiem, taču laboratorijas apstākļos ērtāk ir izmantot  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

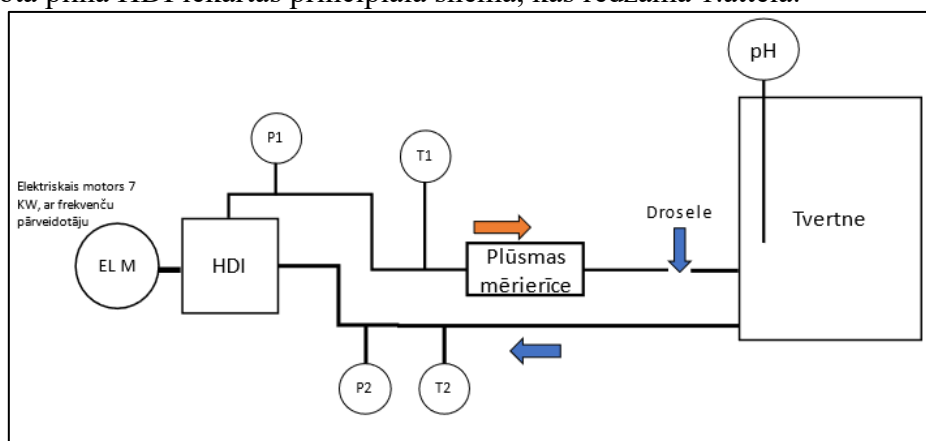
Lai noteiktu hidrolīzes produktu izmaiņu, mainot hidrolīzes mehānismu, tika pielāgota plānslāņa hromatogrāfijas metode, izmantojot celulozi kā stacionāro fāzi.

Tika veikti izmēģinājumi, lai noteiktu visefektīvāko šķīdinātāju sistēmu. Pašlaik kā labākā ir atzīta sistēma, kas sastāv no izopropilspirta, amonija ūdens un destilēta ūdens. Proteīnu atpazīšanai un iekrāsošanai tiek izmantots ninhidrīna šķīdums acetonā. Izveidotā metode ir salīdzinoši ātrs veids kā iegūt vispārēju informāciju par hidrolīzes produktiem, mainot dažādus hidrolīzes apstākļus.

Nākamajos plānošanas periodos paredzēts pielāgot proteīnu kvantitatīvās noteikšanas metodes kā arī izvērst pētījumus padziļinātā dūņu hidrolīzes produktu noteikšanas metožu izstrādē.

### Darbība 3. “Pilota iekārtas izstrāde NAID dezintegrācijas un/vai hidrolīzes un proteīnu izdalīšanai”, Rūpnieciskais pētījums

Atskaites periodā tika analizēti iespējamie tehniskie risinājumi NAID HDI izveidei. HDI ir jānodrošina gan dūņu biomasas hidrolīze kavitācijas efekta rezultātā, paralēli panākot arī būtisku temperatūras paaugstināšanos. Šos divus efektus var nodrošināt ar HDI tehnisko risinājumu. Pašlaik ir izveidota HDI testa iekārta, kuras sastāvā ir pats kavitācijas ģenerators un piedziņas mezgls, kas sevī ietver 7 KW divu polu elektromotoru ar frekvenču pārveidotāju. Tādā veidā ir iespējams mainīt kavitācijas ģenerators vārpstas rotācijas frekvenci robežās no 2000 min<sup>-1</sup> līdz 5000 min<sup>-1</sup>. Ir izveidota pilna HDI iekārtas principiālā shēma, kas redzama 1.attēlā.



1.attēls HDI principiālā shēma.

Tātad HDI iekārta tiks aprīkota ar temperatūras un spiediena sensoriem pirms un pēc kavitācijas ģenerators, tiks mērīta šķidruma plūsma un tiks sekots līdzī pH izmaiņām.

Nākamajos pētniecības periodos tiks veikti eksperimenti uz HDI testa iekārtas un tiks veikti darbi, lai izbūvētu HDI iekārtu pilnā apmērā. Īpaša vērība tiks veltīta kavitācijas ģenerators konstrukcijas pilnveidošanai, lai panāktu iepriekš minēto mērķu sasniegšanu.

Sagatavoja:

Ēriks Skripsts (vadošais pētnieks)