



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 5. ceturksnī (01.04.2022. – 30.06.2022)

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

Šajā pētniecības posmā tika veikti apkopojošie laboratoriskie eksperimentu notekūdeņu dūņu hidrolīzes tehniku pārbaudē pielāgotās laboratorijas iekārtās.

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

Pētījumu periodā tika veikti eksperimenti ar liekajām sekundārajām notekūdeņu dūņām, lai pārbaudītu termo ķīmisko, ķīmisko- mikroviļņu, kavitācijas un ultraskaņas, efektivitāti, kā hidrolīzes ķīmisko aģentu izmantojot koncentrētu sārmu vai bāzi. Pēc iegūtajiem rezultātiem tika izvērtēta hidrodinamiskās iekārtas un citu eksperimentālo iekārtu dizains, lai nodrošinātu maksimālu dūņu apstrādes un proteīnu ekstrahēšanas efektivitāti.

No pētījumiem tika secināts ka vis efektīvākā proteīnu ekstrakcija no otreizējo dūņu masas norisinās izmantojot sārmu hidrolīzes un fizikālās apstrādes metodes:

1. Sārma/skābes termo hidrolīze: Ķīmiskā apstrāde veikta, izmantojot koncentrētu skābi H₂SO₄ un NaOH bāzi, un reakcijai to atšķaida attiecīgi līdz 3 M un 2,8 M ar dūņu paraugu. Pēc sajaukšanas ar reagentu nogulsnes tika tālāk apstrādātas 80 oC temperatūrā 2 – 3 stundas atkarībā no eksperimenta iestatīšanas, un tādā veidā, izmantojot sārmu apstrādi, izdevās iegūt proteīna koncentrāciju 15 375 mg/L ad 3 254, izmantojot mg /L izmantojot skābes apstrādi
2. Ultraskaņas apstrāde - Dūņas tika apstrādātas ultraskaņas vannā - 79 W jaudu un 40 kHz ultraskaņas frekvenci ultraskaņas apstrāde tika veikta ultraskaņas vannā PS-10A. Notekūdeņu aktivētajām paletēm pievienoja skābi vai bāzi, lai iegūtu 3M H₂SO₄ vai 2,8 NaOH koncentrāciju, un pēc tam maisījumu ievietoja ultraskaņas vannā ar atbilstošu maisīšanu ar ātrumu 150 apgr./min divas stundas. Reakcijas masas temperatūra pati paaugstinājās līdz maksimāli 30 līdz 40 °C . Izmantojot šo apstrādes metodi, bija iespējams iegūt olbaltumvielu koncentrāciju attiecīgi līdz 13 917 mg/L un 20 078 mg/l apstrādē ar sārmu un skābi.

3. Mikroviļņu radiācija - Izmantojot 650 W starojuma jaudu, notekūdeņu dūņas tika apstrādātas rūpnieciskajā mikroviļņu krāsnī ar nosaukumu EMS 200. 600 g WAS apstrādāja cepeškrāsnī 15 minūtes līdz 95 oC. Pēc tam, kad tā tika pakļauta mikroviļņu iedarbībai, karstā masa tika apstrādāta ar skābi vai bāzi tādā pašā koncentrācijā kā ultraskaņas apstrādei 30 minūtes, maisot, līdz masa atdziest līdz istabas temperatūrai. Izmantojot ultraskaņas skābi vai sārmu, bija iespējams iegūt līdz 23 046 mg/L un 5 960 mg/l attiecīgi sārmu un skābes apstrādei.
4. Kavitācijas efekts - Ar laboratorijas tipa rotora-statora homogenizatoru Fluco FA25D (jauda 500W), kas ir aprīkots ar taisnu rotējošu lāpstiņu, kavitācijas apstrāde tika veikta šādi: Dūņu paraugs tika apstrādāts ar sārmu vai skābi, lai sasniegtu tādu pašu koncentrāciju kā iepriekšējos eksperimentos un pēc tam 30 minūtes maisīja pie 22000 apgr./min. Reakcijas masas temperatūra pati par sevi paaugstinājās līdz 80 oC. Izmantojot kavitācijas skābi vai sārmu, bija iespējams iegūt līdz 15 178 mg/L un 2 084 mg/L attiecīgi sārmu un skābes apstrādei.

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

Šajā pētniecības periodā tika strādāts pie jau iepriekš atlasītās proteīnu koncentrācijas noteikšanas metodes ar izmantojot modificētu Lowrija metodi paraugus papildus apstrādājot ar dažādām izsāļošanas metodēm izmantojot šķīdinātāju ekstrakciju ar 99% metanolu un Acetonu kā arī ar amonija sulfātu.

Eksperimentālajā procesā atklājās, ka izmantojot augstāk minētās ekstakcijas metodes pati metode neatstāj negatīvu ietekmi uz modificētu proteīnu noteikšanas metod izmantojot modificētu Lowrija metodi.

Lai iegūtu vairāk informācijas par masas pāreju un ekstrakciju izmantojot dažādas apstraes metodes bija nepieciešams izvērtētēt arī kopējā slāpekļa pāreju starp hidrolīzes masas fāzēm. Litereatūras apskates rezultātātā tika secināts, ka Kjeldāla slāpekļis tiek uzskatīt par vienu ko efektīvākajām metodēm, lai noteiktu kā kopējā tā arī proteīnu slāpekļa koncentrāciju daždos produktos kā arī dūņās. Tāpēc lai noteiktu kopējā un kopējā proteīnu slāpekļa pāreja starpfāzēm tika izmantota ISO 11261:1995 metode. Tabulā 1. attēlots slāpekļa procentuālā ekstrakcija.

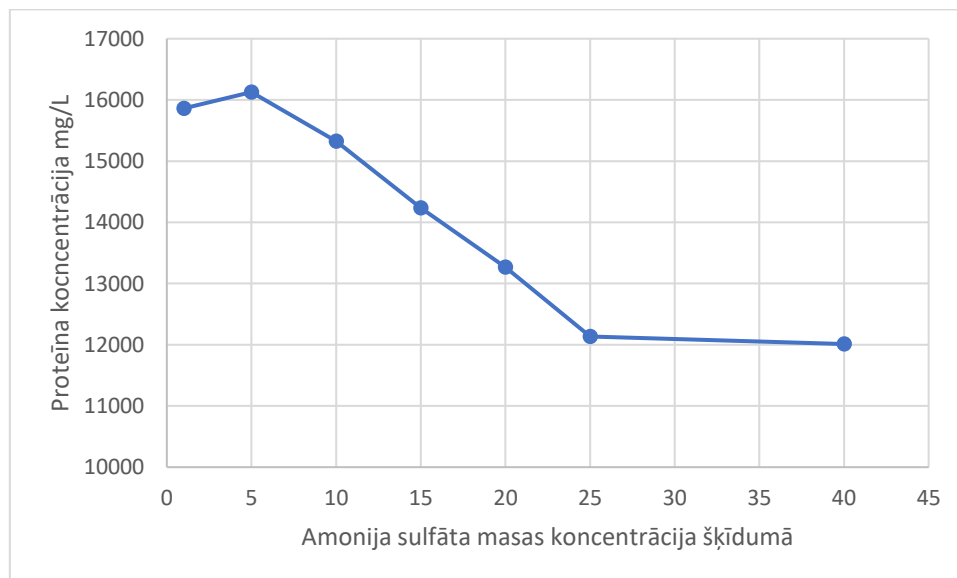
Tabula 1. Slāpekļa pāreja pēc dažādām dūņu apstrādes tehnikām.

Izmantotā apstrādes metode	Hidrolīzes ķīmiskā vide	
	Sārms	Skābe
Termiski ķīmiskā apstrāde	95.3	50.1
Ultraskaņa	77.3	48.6
Kavitācija	82.3	64.6
Mikroviļņu apstrāde	81.4	48.6

Darbība 2.1. “Proteīnu izdalīšana no aktīvo dūņu hidrolizāta ar membrānu tehnoloģijām un fizikāli ķīmiskajām metodēm”, Rūpnieciskais pētījums

Šajā pētniecības periodā tika atkārtoti izmēģināta izsāļošanas tehnika ar Amonija sulfātu, tomēr jāatzīst, ka tas atkārtoti nizevēs. Skatīt grafiku 1, kurā attēlota proteīnu koncentrācijas izmaiņa pēc modificētas Lovrija metodes fugātā pēc dažādas amonija sulfāta koncentrācijas pievienošanas.

Grafiks 1. Proteīna koncentrācija fugātā pēc dažādu koncentrāciju Amonija sulfāta pievienošanas.



Proteīnu izsāļošanas rezultātā ar šķīdinātājiem, no reakcijas masas izdevēs iegūt nogulsnes, tomēr tās nav iespējams izšķīdināt atpakaļ ūdenī, lai varētu veikt proteīnu koncentrācijas analīzes.

Paralēli proteīnu iekonzentrēšanai izmantojot dažādās ķīmiskās metodes tika pielietota arī keramisko membrānu filtrācijas tehnika, kur tika veikti eksperimenti ar membrānām kuru poras izmērs 60 – 5 nanometri. Tika secināts ka iespējams iekonzentrēt proteīnu masu līdz 10 reizēm izmantojot 5 nanometru membrānu.

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

Atskaites periodā tika analizēti iespējamie tehniskie risinājumi NAID HDI pilot iekārtas izveidei. HDI ir jānodrošina dūņu biomasas hidrolīze kavitācijas efekta rezultātā pie optimālas temperatūras. 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⁻¹ līdz 5000 min⁻¹. Kavitācijas ģenerators ir izveidots kā vairāku disku rotējošs bloks, ar katrā diskā izveidotām regulārām negatīvā spiediena virsmām. HDI testa iekārta ir redzama 1. attēlā. Piedziņas mezgls tiks saglabāts, arī projektētajā HD pilot iekārtā. Eksperimentiem uz šīs iekārtas galvenais uzdevums bija izprast tās tehniskās, konceptuālās problēmas, kas būtu jārisina HD pilot iekārtas līmenī. Šīs iekārtas tehniskais izpildījums ļāva novērtēt HDI radīto kavitācijas efektu NAID dūņās. Tika novērtēts NAID putošanās faktors apstrādes procesa laikā, kas ir jāņem vērā konstruējot pilot iekārta. Tika gūtas atziņas par dūņu koncentrācijas ietekmi uz kavitācijas efektivitāti. Eksperimentiem tika izmantotas NAID ar sausnas koncentrāciju 1,2 %. Pie šādas dūņu koncentrācijas darba viela, pēc saviem fizikālajiem

parametriem, ir pielīdzināma ūdenim. Turpmākajos pētniecības periodos tiks izvērtēti arī iespējamie ieguvumi no NAID iebiezināšanas pirms apstrādes HDI iekārtā. Tas nozīmē, ka darba vielas fizikālie parametri būtiski atšķirsies no ūdens fizikāliem parametriem. Tas noteikti izvirzīs jaunas prasības HD pilot iekārtas kavitācijas ģenerators izpildījumam. Par absolūtiem NAID hidrolīzes rezultātiem šīs aktivitātes iepriekšējā periodā nav pamata runāt, jo testa iekārtas tehniskais izpildījums neļauj īstenot kombinēto - fizikāli ķīmisko NAID apstrādi, kas, balstoties uz aktivitātē 1.2. iegūtajiem rezultātiem, ir visefektīvākā. Eksperimentu rezultātā tika gūtas atziņas par optimāliem pilot iekārtas darba parametriem: ražība, sistēmas tilpums, prasības pielietojamiem materiāliem, arī citiem tehnoloģiskiem robežnosacījumiem.

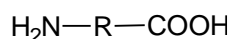


Ilustrācija 1. Izvīdētā HDI iekārta..

Darbība 5.1. “Jauna produkta sintēze no NAID hidrolizētajiem proteīniem. Sintēzes produkta hidrofilā lipofilā balansa (HLB) vērtību un kritisko micellu koncentrācijas (CMC) analīze un optimizācija”, Eksperimentālā izstrāde

Šajā pētniecības periodā tika izveidoti dažādas VAV sintēze metodikas un pārbaudītas šo tehniku iespējas priekšeksperimentos.

Olbaltumvielu (peptīdu) molekulai ūdens šķīdumos piemīt hidrofilas īpašības. To var uzskatīt par sarežģītu aminoskābi ar N- un C-galiem.



1. vienādojums 1vienādojums 2vienādojums

Pamatojoties uz šo reakcijas mehānismu, tika veiktas 2 dažādas eksperimentālas procedūras, lai novērtētu sintēzes iespējas. Sākotnēji brīvo skābju grupu daudzums aktīvo dūņu hidrolizātā tika noteikts ar Sorensa formālās titrēšanas metodi.

ERAF projekts Nr. 1.1.1.1/20/A/041 “Tehnoloģiju izstrāde notekūdeņu dūņu pārstrādei sekundārās izejvielās.”

Ekspērimētālās procedūras:

1. Sākotnējo hidrolizātu paskābina ar skābes šķīdumu līdz pH ~ 2 un ūdeni vakuumā destilē, līdz tas ir sauss. Sausajam atlikumam pievieno PEG-400 10 reizes vairāk. Reakcijas masu karsē vakuumā 80 ÷ 90 °C temperatūrā un notur 6 stundas. Pēc atdzesēšanas reakcijas masu atšķaida ar dihlormetānu un filtrē. Uz filtra brūnā viela slikti šķīst ūdenī. Pēc dihlormetāna destilācijas atlikums ir biezs šķidrums, pēc svara vairāk nekā ņemtais PEG.

2. Atkārtojiet 1. eksperimentu, izmantojot PEG-1000. Pēc reakcijas maisījuma atšķaidīšanas ar dihlormetānu to filtrē. Uz filtra ir neliels daudzums melnas vielas. Galvenā sākotnējā hidrolizāta daļa nonāca organiskajā šķīdumā. Pēc dihlormetāna destilācijas atlikums ir vaskveida viela, pēc svara vairāk nekā ņemtais PEG.

- Pamatojoties uz veiktajiem eksperimentiem, var izdarīt šādus secinājumus:
- Peptīdu esteru veidošanās notiek salīdzinoši viegli.
- Ēterus nebija iespējams izolēt tīrā veidā. Iegūtais ētera maisījums netiek atdalīts no sākotnējā PEG.

Sagatavoja:

Ēriks Skripsts (vadošais pētnieks)