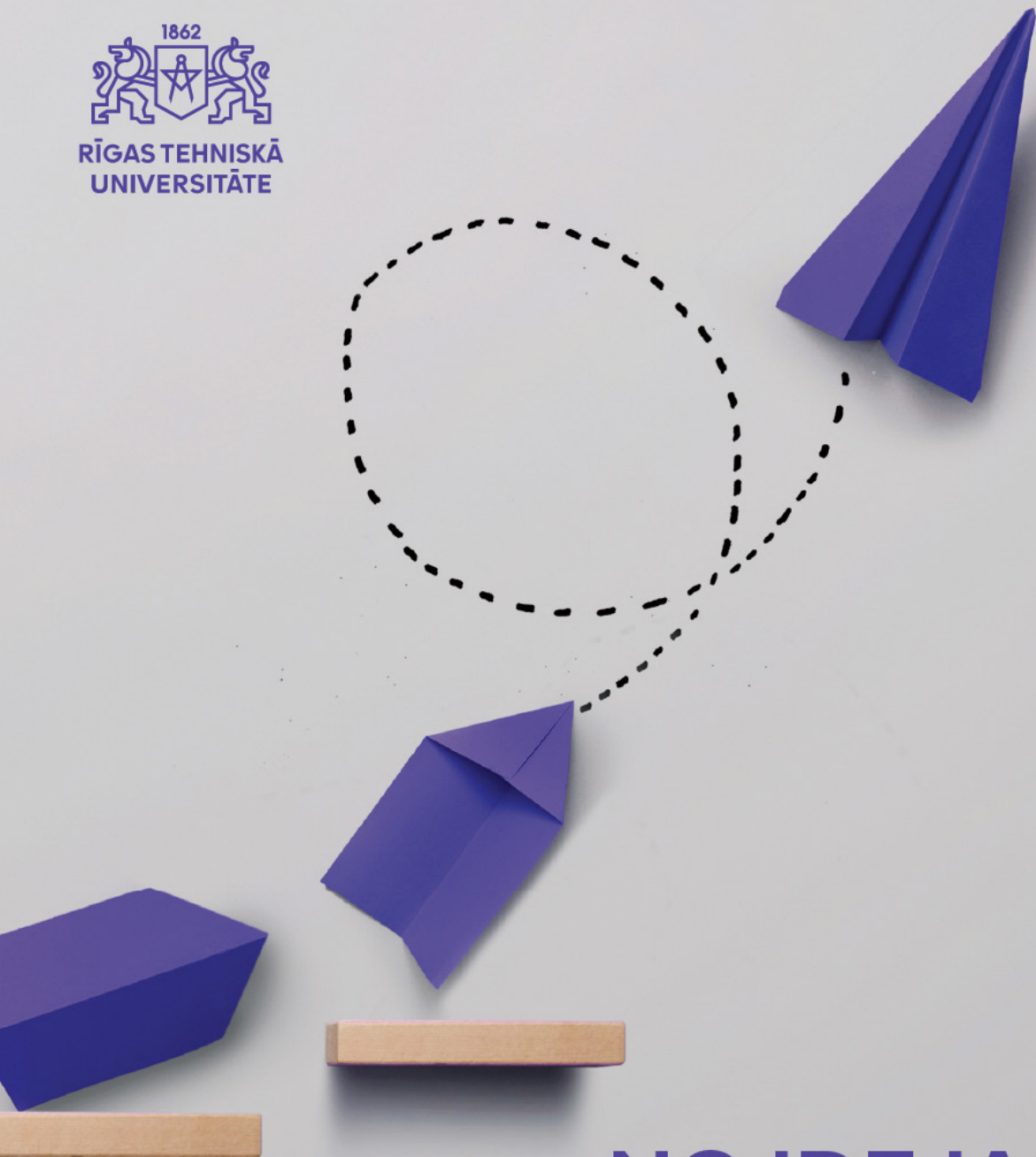




RĪGAS TEHNISKĀ  
UNIVERSITĀTE



# NO IDEJAS LĪDZ PRODUKTAM

-----  
Vienšūnu proteīnu piemērs



Rīgas Tehniskā universitāte  
Dabaszinātņu un tehnoloģiju fakultāte  
Vides aizsardzības un siltuma sistēmu institūts

# NO IDEJAS LĪDZ PRODUKTAM

Vienšūnu proteīnu piemērs

No idejas līdz produktam. Vienšūnu proteīnu piemērs. Zinātniskā monogrāfija.  
Rīga, RTU Izdevniecība, 2026. 200 lp.

### **Autori**

Zane Kušnere, Ilze Vamža, Jeļizaveta Paļčevska, Taras Mika, Megija Valtere,  
Valdis Vitoliņš, Edgars Vigants

### **Zinātniskā redaktore**

*Ph. D.* Zane Kušnere

### **Recenzenti**

*Dr. biol.* Viesturs Melecis

*Dr. sc. ing.* Ilze Beila

Zinātniskā monogrāfija veltīta ilgtspējīga produkta izstrādes procesam. Monogrāfijas autori, pārstāvēt dažādas specialitātes, ved lasītāju cauri produkta izstrādes procesam no idejas līdz praktiski izmantojamam risinājumam. Mūsdienīga produkta attīstība prasa ne vien tehnoloģisku izstrādi, bet arī vides, ekonomisko un citu tehnoloģiskā risinājuma ieviešanas aspektu novērtējumu. Grāmata parāda, kā, izmantojot zinātnē balstītu pieeju, iespējams radīt ilgtspējīgu un nozares vajadzībām atbilstošu produktu – vienšūnu proteīnu akvakultūru barībai. Grāmatā analizēts pilns izstrādes process – sākot no resursu un mikroorganismu izvēles, substrātu izvērtēšanas un fermentēšanas risinājumiem līdz procesa optimizācijai, mērogošanai un galaprodukta novērtējumam. Monogrāfijā iekļauta tehnoloģisko risinājumu izvērtēšana, ekonomiskā analīze, dzīves cikla analīze, risku pārvaldība un tiesiskie aspekti. Grāmatas noslēgumā autori piedāvā strukturētu ceļvedi “No idejas līdz produktam”, kurā apkopoti vispārīgi praktiski ieteikumi. Tādējādi šajā grāmatā, izmantojot vienu piemēru, parādīta darba gaita līdzīgu ideju īstenošanai praksē.

Monogrāfija paredzēta zinātniekiem, biotehnoloģiju, vides inženierzinātņu un akvakultūras nozares speciālistiem, kā arī studentiem, uzņēmējiem un politikas veidotājiem, kuri interesējas par alternatīvu produktu izstrādi, bioresursu augstvērtīgu izmantošanu un ilgtspējīgu bioekonomikas risinājumu attīstību. Tā var kalpot gan kā teorētisks un metodoloģisks avots, gan kā praktisks ceļvedis ilgtspējīgu produktu attīstībai.

Pētījums finansēts Latvijas Zinātnes padomes projektā “Herbicīdi kā rīks ar proteīniem bagātu mutantu selekcijā” (projekta Nr. lzp-2022/1-0126).

Zinātniskā monogrāfija apstiprināta ar RTU Zinātnes padomes 2026. gada 31. marta sēdē, protokols Nr. 04000-3-e/5.

Literārā redaktore Inga Gulbe

Maketētāja un vāka dizaina autore Baiba Lazdiņa

© Rīgas Tehniskā universitāte, 2026

© Zane Kušnere, Ilze Vamža, Jeļizaveta Paļčevska, Taras Mika,  
Megija Valtere, Valdis Vitoliņš, Edgars Vigants, 2026

<https://doi.org/10.7250/9789934372834>

ISBN 978-9934-37-283-4 (pdf)



From idea to product. An example of a single-cell protein. Scientific monograph. Riga, RTU Press, 2026. 200 p.

**Authors**

Zane Kušnere, Ilze Vamža, Jeļizaveta Paļčevska, Taras Mika, Megija Valtere, Valdis Vītolīņš, Edgars Vīgants

**Scientific Editor**

Ph. D. Zane Kušnere

**Reviewers**

Dr. biol. Viesturs Melecis

Dr. sc. ing. Ilze Beila

The scientific monograph is dedicated to the process of developing a sustainable product. The authors of the monograph, representing various specialities, guide the reader through the product development process from idea to practical solution. Modern product development requires not only technological development but also an assessment of environmental, economic and other aspects of implementing a technological solution. The book shows how, using a science-based approach, it is possible to create a sustainable and industry-relevant product – single-cell protein for aquaculture feed. The book analyses the full development process – from the selection of resources and microorganisms, substrate evaluation and fermentation solutions to process optimisation, scaling and final product evaluation. The monograph includes the evaluation of technological solutions, economic analysis, life cycle analysis, risk management and legal aspects. At the end of the book, the authors offer a structured guide, “From idea to product”, which summarises general recommendations for implementing an idea in practice. Thus, this book, using one example, provides a workflow for implementing similar ideas in practice.

The monograph is intended for scientists, specialists in biotechnology, environmental engineering and aquaculture, as well as students, entrepreneurs and policymakers who are interested in the development of alternative products, high-value use of bioresources and the development of sustainable bioeconomy solutions. It can serve as a theoretical and methodological source and as a practical guide for the development of sustainable products.

The research was funded by the Latvian Council of Science project “Herbicides as a tool in the breeding of protein-rich mutants” (project No. lzp-2022/1-0126).

The scientific monograph was approved for publication by the Scientific Board of RTU at the meeting on 31 March 2026, Minutes No. 04000-3-e/5.

Literary Editor Inga Gulbe

Layout and cover design Baiba Lazdiņa

© Riga Technical University, 2026

© Zane Kušnere, Ilze Vamža, Jeļizaveta Paļčevska, Taras Mika, Megija Valtere, Valdis Vītolīņš, Edgars Vīgants, 2026

<https://doi.org/10.7250/9789934372834>

ISBN 978-9934-37-283-4 (pdf)

## SATURS

levads	7
Vienšūnu proteīna potenciāls akvakultūras barībā	8

### **01 BLAKUSPRODUKTI KĀ RESURSI VIENŠŪNU PROTEĪNU RAŽOŠANAI** **12**

1.1. Lauksaimniecības blakusprodukti	14
1.1.1. Cukuriem bagāti substrāti (monosaharīdu un disaharīdu avoti)	14
1.1.2. Cieti saturoši substrāti	16
1.1.3. Ar lignocelulozi bagāti substrāti (šķiedrvielu avoti)	18
1.1.4. Olbaltumvielām un lipīdiem bagāti substrāti	22
1.2. Rūpnieciskie blakusprodukti	24
1.2.1. Ar polimēriem bagāti avoti	26
1.2.2. C1–C3 savienojumi	28
1.2.3. Fotosintētisko mikroorganismu substrāti	30
1.3. Rīcība ar blakusproduktu kā resursu datiem	30

### **02 LĒMUMU PIENĒMŠANA: RESURSU UN MIKROORGANISMU IZVĒLE** **32**

2.1. Substrātu izvēles kritēriji un piemērojamības novērtēšana	34
2.2. Daudzkritēriju lēmumu analīze un <i>TOPSIS</i> metodes lietojums	39
2.3. Dažādu substrātu efektivitātes salīdzinājums <i>SCP</i> ražošanai	41
2.4. Gadījuma izpēte – substrāta izvēle <i>SCP</i> ražošanai	44
2.5. Mikroorganisma un substrāta savstarpējā saderība	49
2.6. Gadījuma izpēte – mikroorganismu izvēle <i>SCP</i> ražošanai	53
2.7. Loģistikas un telpiskā izvietojuma plānošana	58

### **03 VIENŠŪNU PROTEĪNA RAŽOŠANAS TEHNOLOĢIJA** **62**

3.1. Priekšapstrādes metodes substrātu pieejamības uzlabošanai <i>SCP</i> ražošanā	64
3.1.1. Mehāniskās priekšapstrādes metodes	65
3.1.2. Ķīmiskās priekšapstrādes metodes	65
3.1.3. Bioloģiskās priekšapstrādes metodes	67
3.1.4. Fizikālās priekšapstrādes metodes	69
3.1.5. Priekšapstrādes metodes izvēles piemērs	71
3.2. Barotnes sastāvs	75
3.3. Inokulāts un mikroorganismu adaptācija	80
3.4. Fermentācijas procesa kontrole	81
3.4.1. Procesas temperatūra	82
3.4.2. pH kontrole	83
3.4.3. Aerācija	84
3.5. Fermentēšanas un barošanas stratēģijas	86
3.5.1. Kultivēšanas ilgums	86

3.5.2.	Fermentācijas režīma izvēle un barošanas stratēģijas	88
3.6.	Ražošanas procesa posmi un to norise	93

## **04 RAŽOŠANAS PROCESA OPTIMIZĀCIJA 96**

4.1.	Eksperimenta plānošana	97
4.2.	Atbilžu virsmas metodoloģija ( <i>RSM</i> )	97
4.3.	Mērogošana	102
4.4.	Modelēšana un simulēšana	103
4.5.	Mikroorganismu celmu uzlabošana proteīna sintēzes un neaizstājamo aminoskābju ievguves palielināšanai	104

## **05 SCP RAŽOŠANAS TEHNOLOĢIJAS NOVĒRTĒJUMS 108**

5.1.	Dzīves cikla novērtējums	109
5.1.1.	Mērķa un darbības jomas definīcija	109
5.1.2.	Dzīves cikla inventarizācija ( <i>LCI</i> )	109
5.1.3.	Dzīves cikla ietekmes novērtējums ( <i>LCIA</i> )	110
5.1.4.	Rezultātu interpretācija	110
5.2.	<i>LCA</i> gadījuma izpēte <i>SCP</i> ražošanā	111
5.2.1.	Bāzes scenārija rezultāti	113
5.2.2.	Uzlabotu scenāriju analīze	114
5.2.3.	Salīdzinājums ar tradicionālajiem proteīna avotiem	116
5.2.4.	Ilgtermiņa aspektu interpretācija un ieteikumi nākotnes procesiem	116
5.3.	Vienšūnu proteīna ražošanas tehniski ekonomiskā analīze	119
5.3.1.	Tehniski ekonomiskās izvērtēšanas nozīme un mērķi	119
5.3.2.	Galvenie rādītāji ( <i>CAPEX</i> , <i>OPEX</i> , <i>ROI</i> , <i>IRR</i> )	120
5.3.3.	Programmatūras apskats: <i>SuperPro Designer</i> , <i>Aspen Plus</i>	122
5.3.4.	Kapitālieguldījumu izdevumu aprēķins ( <i>CAPEX</i> )	124
5.3.5.	Ekspluatācijas izmaksu aprēķins ( <i>OPEX</i> )	125
5.3.6.	Izejvielu izmaksas	126
5.3.7.	Enerģijas patēriņš un izmaksas	126
5.3.8.	Darbaspēka izmaksas	128
5.3.9.	Ražošanas rentabilitātes novērtējums	129
5.3.10.	Jutīguma analīze	132
5.3.11.	Gadījuma izpēte – <i>SCP</i> pilotražošanas izmaksas	133
5.4.	Risku faktoru pārvaldība	134

## **06 CEĻVEDIS "NO IDEJAS LĪDZ PRODUKTAM" 138**

6.1.	<i>SCP</i> ražošanas koncepts	141
6.2.	Potenciālie resursi <i>SCP</i> ražošanai	143
6.3.	<i>SCP</i> ražošanas projekta izstrādes metodoloģiskais ietvars	144
6.4.	Substrātu un mikroorganismu izvēles ietvars	147
6.5.	Substrātu izvēles kritēriji	148
6.6.	Mikroorganismu izvēles kritēriji	149

6.7. Tehnoloģiskie posmi	151
6.8. Procesu optimizācija	155
6.9. Mērogošana	157
6.10. Risku pārvaldība	158
6.11. Tehniski ekonomiskā analīze	159
6.12. Dzīves cikla analīze	160
6.13. Tiesiskie aspekti	161
6.14. Politikas ieteikumi un ieviešanas scenāriji	163
Izmantotā literatūra	164
Summary	198

## levads

Akvakultūras nozare kļūst arvien nozīmīgāka augstvērtīga dzīvnieku izcelsmes proteīna nodrošināšanā, taču šīs nozares izaugsmi ierobežo barības izejvielu pieejamība un ietekme uz vidi. Tradicionālie barības komponenti – zivju milti un augu izcelsmes proteīni – ir pakļauti piegādes un cenu svārstībām. Tiem raksturīgs augsts zemes, ūdens un enerģijas patēriņš, turklāt tie bieži nespēj nodrošināt līdzsvarotu neaizstājamo aminoskābju profilu, tādēļ pieprasījums pēc alternatīviem ilgtspējīgiem barības proteīna avotiem ir ilgaicīgs, nevis pārejošs.

Vienšūnu proteīns (*SCP* – no angļu valodas *single cell protein*) šeit definēts kā ar proteīniem bagāta, žāvēta mikroorganismu biomasa (raugi, baktērijas, mikrosēnes, aļģes u. c.), kuras kvalitāti nosaka kopproteīna saturs, neaizstājamo aminoskābju profils un biopieejamība. *SCP* iegūst biotehnoloģiskajā fermentācijā: mikroorganismus audzē bioreaktorā kontrolētos apstākļos, tie no barotnes oglekļa un slāpekļa avotiem veido biomasu, ko pēc tam atdala un žāvē līdz stabilam produktam. Praksē tas nozīmē trīs soļus: izejvielu sagatavošanu, fermentāciju un biomasas atdalīšanu/žāvēšanu. Šie posmi bionoārdāmas izejvielas pārvērš proteīna produktā. Mikroorganismu spēja izmantot plašu oglekļa un slāpekļa avotu spektru ļauj pārorientēt proteīna ražošanu no pārtikas kvalitātes izejvielām uz lētiem, bionoārdāmiem agroindustriālajiem blakusproduktiem, mazinot atkarību no svārstīgām izejvielu plūsmām un spiedienu uz ekosistēmām. Konceptuāli *SCP* ražošana piedāvā vienlaikus uzturvērtības, loģistikas un ilgtspējas ieguvumus, tomēr tās konkurētspēju nosaka izmaksas un procesa efektivitāte.

*SCP* ražošana ir skaidri strukturēts ceļš ar trim pamatposmiem. Pirmkārt, notiek resursu atlase un, ja nepieciešams, priekšapstrāde: organiskie atlikumi tiek pārveidoti viendabīgā, fermentējamā barotnē, piemēram, ar enzimatisku hidrolīzi, vienlaikus mazinot augšanu kavējošos faktorus. Otrkārt, norit fermentācija – mērķa mikroorganismu audzēšana kontrolētos apstākļos, kur tie veido biomasu. Treškārt, seko pēcstrāde: atdalīšana, skalošana un žāvēšana līdz stabilam, drošam produktam; vajadzības gadījumā tiek uzlabota sagramojamība un samazināts nukleīnskābju saturs. Šo ķēdi var elastīgi pielāgot dažādām izejvielām, mikroorganismiem un tirgus prasībām, tostarp integrējot kopražošanu, piemēram, ražojot vienšūnu eļļu vai pigmentus, lai uzlabotu tehniski ekonomisko bilanci.

Atsevišķs, bet izšķirīgs posms ir mikroorganisma izvēle pirms ražošanas uzsākšanas. Izvēlētajam darba celmam jābūt drošam, ģenētiski stabilam un saderīgam ar pieejamajiem substrātiem un procesu. Tam jābūt ar labu neaizstājamo aminoskābju profilu, prognozējamu augšanu un pēcstrādi, mērenām skābekļa prasībām un pietiekamu toleranci pret inhibitoriem. Praktiski tas nozīmē



saskaņot paredzēto lietojumu (konkrētu sugu barība), izejvielu pieejamību un regulatīvās prasības ar darba celma fizioloģiju. Tālāk var sekot mērķtiecīga mikroorganisma uzlabošana un procesa optimizācija.

Neraugoties uz būtisku progresu, plaša mēroga ieviešanu joprojām ierobežo izmaksu un mērogošanas faktori. Lai SCP efektīvi aizstātu daļu zivju miltu un augu proteīnu akvakultūras barībā, nepieciešama turpmāka optimizācija: lētāku substrātu integrācija ar priekšapstrādi, mikroorganismu celmu uzlabošana neaizstājamo aminoskābju profila un biomasas sagremojamības virzienā, kā arī tehnoloģisko procesu projektēšana, kas samazina enerģijas patēriņu un atkritumus. Šīs monogrāfijas pamatā ir virzība „no idejas līdz produktam” (1. attēls): no resursu telpas un mikroorganisma izvēles līdz fermentācijas parametru noteikšanai, optimizācijai un produkta iegūšanai, parādot, kā SCP var kļūt par noturīgu akvakultūras barības sastāvdaļu gan uzturvērtības, gan ilgtspējas nozīmē. Nobeigumā ietverts arī šā procesa novērtējums. Īstenojot visus posmus, rezultātā iegūstams proteīns, ko var izmantot kā barības piedevu. Grāmatas beigās iekļauts ceļvedis, kā nonākt līdz šim produktam.

### Vienšūnu proteīna potenciāls akvakultūras barībā

Zivis, vēžveidīgie un ūdensaugi ir vērtīgs olbaltumvielu, nepiesātināto taukskābju, minerālvielu un vitamīnu avots, tādēļ to iekļaušana ikdienas uzturā ir vēlama veselības ieguvumu dēļ. Vēsturiski šo produktu galvenais avots bijusi savvaļas nozveja, taču kopš 20. gadsimta deviņdesmito gadu sākuma nozvejas apjomi vairs nepieaug, kamēr pasaules iedzīvotāju skaits šajā laikā palielinājies par vairāk nekā diviem miljardiem. Lai kompensētu un apmierinātu pieaugošo pieprasījumu pēc jūras velšu produkcijas, strauji attīstījusies akvakultūra<sup>1</sup>, kas kā pasaulē visstraujāk augošā pārtikas nozares daļa 2014. gadā pirmoreiz apsteidza savvaļas nozvejas apjomus (2. attēls) [1]. Mūsdienās lielākā daļa patērēto zivju un vēžveidīgo nāk no akvakultūras fermām, nevis no jūrām un okeāniem. Akvakultūra nodrošina prognozējamus un regulārus ražošanas apjomus un vienlaikus mazina spiedienu uz savvaļas populācijām un to biotopiem.

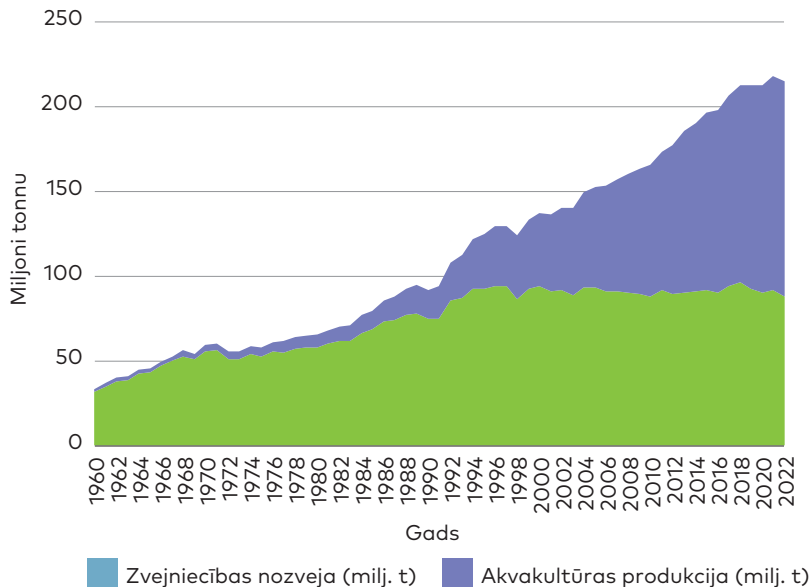
### 1. attēls.

No idejas līdz produktam.

<sup>1</sup> Ūdens organismu audzēšana, ieskaitot zivis, moluskus, vēžveidīgos un ūdensaugus. Savvaļas zvejniecības ražošana apzīmē visu komerciālo, rūpniecisko, rekreācijas un pašpatēriņam iegūto savvaļas zivju nozvejas apjomu.

## 2. attēls.

Jūras velšu produkcija: savvaļas zivju nozveja salīdzinājumā ar akvakultūru. Datu avots: ANO Pārtikas un lauksaimniecības organizācija (FAO), izmantojot Pasaules Bankas datus (2025) [2].



Tomēr akvakultūra joprojām ir daļēji atkarīga no savvaļas nozvejas, jo daudzu sugu barības sastāvā kā galvenās izejvielas izmanto zivju miltus un zivju eļļas, kas izgatavoti no savvaļas zivīm. Rezultātā veidojas paradoksāla situācija: savvaļas zivis tiek intensīvi nozvejotas, lai pabarotu nebrīvē audzētās. Pašreiz aptuveni 70 % no pasaulē saražotajiem zivju miltiem un zivju eļļām tiek novirzīti akvakultūras barībai, taču šo izejvielu ražošanu nav iespējams palielināt savvaļas nozvejas stagnācijas dēļ. Tas kopumā apdraud akvakultūras nozares turpmāko izaugsmi un pastiprina nepieciešamību pēc alternatīviem ilgtspējīgiem barības proteīna avotiem.

Akvakultūras barība parasti satur vairāku proteīnu avotu kombināciju, lai uzturētu mērķa dzīvniekam nepieciešamo aminoskābju līdzsvaru. Ja nepieciešams, var pievienot tīras aminoskābes [3]. Akvakultūras barībā izmanto zivju miltus, pākšaugus, eļļas augus, dzīvnieku blakusproduktus, vēžveidīgo miltus un aļģu miltus [4], [5]. Katram no šiem avotiem atsevišķi ir ierobežots neaizstājamo aminoskābju daudzums. Augu izcelsmes olbaltumvielās parasti ir mazāk metionīna, triptofāna, lizīna un cisteīna – mazāk nekā 30 % no vidējā zivīm vajadzīgā daudzuma. Dzīvnieku izcelsmes olbaltumvielās, izņemot zivju miltus, parasti ir ierobežots aminoskābju, piemēram, treonīna, metionīna, cisteīna, izoleicīna un tirozīna, daudzums [4], [5]. Aļģu olbaltumvielās ir viszemākā histidīna un metionīna koncentrācija [6]. Savukārt zivju milti uzskatāmi par sabalansētāku neaizstājamo aminoskābju avotu zivju barībā un par visvairāk uzturvielu saturošu un viegli sagremojamu proteīna avotu akvakultūras barībā [24], [29]–[31]. Zivju miltus ražo no mazām pelāģiskām barības zivīm, piemēram, skumbrijām, siļķēm,

sardīnēm, anšoviem, un tikai nelielu daļu miltu ražo no zivju blakusproduktiem un atkritumiem.

Zivju miltus sākotnēji izmantoja kā efektīvu un lētu proteīniem bagātu audzētu ūdensdzīvnieku barības sastāvdaļu. Tomēr zvejas ražīguma samazināšanās un pieprasījuma pēc zivju miltiem pieaugums izraisīja ievērojamas cenu izmaiņas [10]. Zivju miltu cena pēdējo 20 gadu laikā ir pieaugusi no 599 EUR/t 2013. gadā līdz 1673 EUR/t 2023. gadā, un paredzams, ka tā turpinās pieaugt [9], [11]. Vairāk nekā 80 % (86 % 2020. gadā) zivju miltu tiek izmantoti, lai ražotu barību augstas vērtības akvakultūras sugām, galvenokārt garneļu, lašu un jūras zivju, piemēram, akmeņasaru, audzēšanai [9]. Zivju milti ir zivju barības galvenā sastāvdaļa. Piemēram, varavīksnes foreļu barībā ir 30–68 % un Atlantijas lašu barībā 28,8–60,5 % zivju miltu sausnā atkarībā no dzīves posma [4], [12]. Akvakultūras nozares paplašināšanai ir jāizstrādā papildu ekonomiski un ekoloģiski dzīvotspējīgi risinājumi, lai apmierinātu pieaugošo pieprasījumu pēc barības un samazinātu atkarību no tradicionālajām lauksaimniecības un jūras produktiem. Tāpēc, lai nodrošinātu ilgtspējīgu akvakultūras saimniecību darbību, ir jāsamazina atkarība no zivju miltiem un jāaizstāj tie ar alternatīviem proteīna variantiem [9], [13], [14].

SCP ir daudzsoļa zivju miltu un augu izcelsmes proteīnu alternatīva [15], [16]. Tā ir žāvēta biomasa, ko ražo dažādi mikroorganismi, piemēram, aļģes, baktērijas, sēnes, raugs un protisti, kas spēj metabolizēt dažādus oglekļa un slāpekļa avotus [17], [18]. Šai tehnoloģijai ir daudz priekšrocību salīdzinājumā ar tradicionālajiem uztura proteīniem, jo tā ir videi draudzīgāka, patērē mazāk ūdens, tai vajadzīgas mazākas zemes platības, to neietekmē klimatiskie apstākļi un to var ražot no lauksaimniecības un rūpniecības blakusproduktiem [5]–[7]. Palielinot SCP izmantošanu, piemēram, lopbarībā, varētu samazināt nepieciešamību pēc intensīvas lauksaimniecības, vienlaikus saskaņojot to ar vides stratēģijām siltumnīcefekta gāzu emisiju samazināšanai [22], [23]. Mūsdienās SCP, jo īpaši *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis gaditana*, *Schizochyrium sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Spirulina maxima*, *Methylococcus capsulatus*, *Methylophilus methylotrophus* un *Methylobacterium extorquens*, veiksmīgi izmanto zivju barības ražošanā [3], [24].

Nesen veiktie eksperimentālie barošanas pētījumi liecina, ka rauga SCP var aizstāt 15–60 % zivju barības sastāvā esošo zivju miltu. Tas atbilst 345 g rauga uz kg barības [37], [41]–[43], turklāt efekts atkarīgs no sugas un izmantotā rauga. Piemēram, pētījuma [25] rezultāti liecina, ka *S. cerevisiae* var aizstāt līdz 40 % zivju miltu varavīksnes foreļu barībā, neietekmējot augšanas rādītājus, uzturvielu uzsūkšanos vai veselību. *W. anomalus* izmantošana varavīksnes foreļu barībā 20 % apmērā uzlaboja fosfora uzsūkšanos, vienlaikus

samazinot fosfora patēriņu [25]. Interesanti, ka barībā pievienojamais *S. cerevisiae* biomasas daudzums ir atkarīgs no zivju sugas. Tādējādi alus raugs var aizstāt 50 % zivju miltu proteīna akmeņsāriem, 20 % doradām un 15 % Nīlas tilapijām, negatīvi neietekmējot augšanu. Turklāt uzlabojas barības pārvēršana dzīvsvārā [16]. *SCP* var veiksmīgi izmantot arī zivju barošanai dzīves agrīnajās stadijās. Šajā periodā zivīm barībā ir nepieciešams vairāk proteīnu, jo strauji pieaug to ķermeņa svars [28], [29]. Citā pētījumā baktēriju *SCP* aizstāja 50 % zivju miltu barībā varavīksnes foreļu mazuliem un uzlaboja barības pārveidošanas dzīvsvārā koeficientu salīdzinājumā ar standarta barību [28].

Ierobežojumi, kas saistīti ar augstāku *SCP* īpatsvaru dzīvnieku barībā, ir mērena sagremojamība, paaugstināts nukleīnskābju saturs un barības granulu kvalitātes pasliktināšanās. Sagremojamību ietekmē biežais šūnapvalks, taču to var uzlabot, apstrādājot biomasu. Turklāt nav nepieciešama pilnīga šūnapvalka noņemšana, jo tajā ir bioaktīvas, imūnmodulējošas vielas [30]. Sagremojamība ir atkarīga no izmantotās sugas, apstrādes metodēm un mērķzivju metabolisma īpatnībām.

Proteīna saturs un aminoskābju profils mikroorganismos lielā mērā ir ģenētiski noteikts, taču *SCP* daudzumu un kvalitāti var uzlabot divējādi – izmantojot izvēlētā mikroorganismu celma biotehnoloģisko potenciālu, optimizējot fermentācijas procesu un uzlabojot proteīna sintēzes īpašības ar mutaģenēzi [31], [32]. Šāda pieeja ļauj *SCP* pakāpeniski kļūt par konkurētspējīgu, uzturvērtīgu un ilgtspējīgu akvakultūras barības sastāvdaļu.



# 01

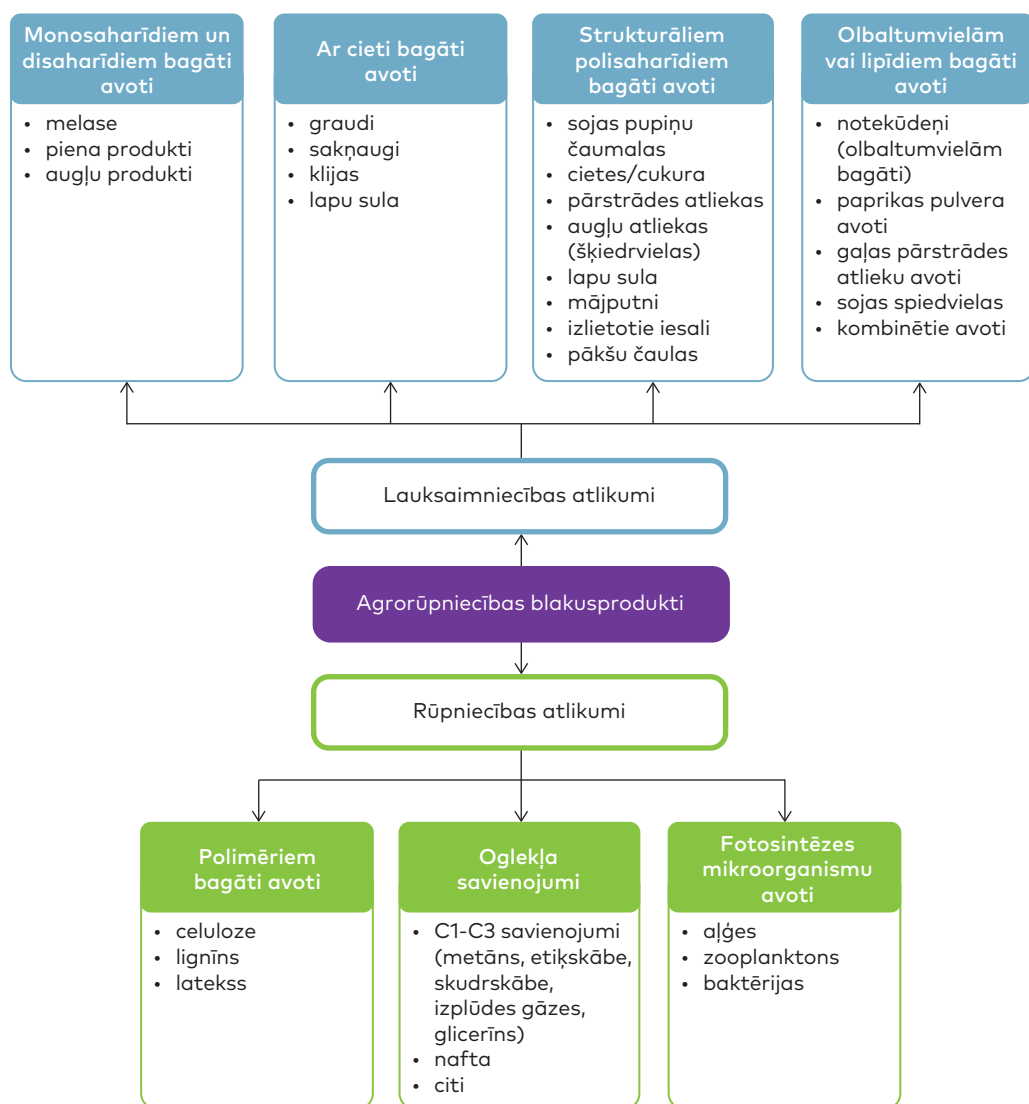
## BLAKUSPRODUKTI KĀ RESURSI VIENŠŪNU PROTEĪNU RAŽOŠANAI

levads	7	
Viensūnu proteīna potenciāls akvakultūras barībā	8	
<hr/>		
<b>01</b>	<b>BLAKUSPRODUKTI KĀ RESURSI VIENŠŪNU PROTEĪNU RAŽOŠANAI</b>	<b>12</b>
<hr/>		
1.1.	Lauksaimniecības blakusprodukti	14
1.1.1.	Cukuriem bagāti substrāti (monosaharīdu un disaharīdu avoti)	14
1.1.2.	Cieti saturoši substrāti	16
1.1.3.	Ar lignocelulozi bagāti substrāti (šķiedrvielu avoti)	18
1.1.4.	Olbaltumvielām un lipīdiem bagāti substrāti	22
1.2.	Rūpnieciskie blakusprodukti	24
1.2.1.	Ar polimēriem bagāti avoti	26
1.2.2.	C1–C3 savienojumi	28
1.2.3.	Fotosintētisko mikroorganismu substrāti	30
1.3.	Rīcība ar blakusproduktu kā resursu datiem	30
<hr/>		
<b>02</b>	Lēmumu pieņemšana: resursu un mikroorganismu izvēle	32
<b>03</b>	Viensūnu proteīna ražošanas tehnoloģija	62
<b>04</b>	Ražošanas procesa optimizācija	96
<b>05</b>	SCP ražošanas tehnoloģijas novērtējums	108
<b>06</b>	Ceļvedis "No idejas līdz produktam"	138
<hr/>		
	Izmantotā literatūra	164
	Summary	198

Salīdzinot ar tradicionālajiem proteīna avotiem, piemēram, sojas pupiņām vai lopkopības produktiem, *SCP* ražošanai ir vairākas priekšrocības ilgtspējas aspektā. *SCP* kultivēšanai nav nepieciešamas plašas lauksaimniecības zemes platības, ūdens resursu patēriņš ir salīdzinoši mazs, un procesa izraisītā ietekme uz klimata pārmaiņām un bioloģisko daudzveidību ir krietni mazāka nekā tradicionālajai lauksaimniecībai [33], [34]. Piemēram, iegūstot proteīnu no mikroorganismiem, neizdalās tik liels siltumnīcefekta gāzu apjoms un zeme netiek tik intensīvi izmantota kā gaļas vai piena produktu ražošanā [35].

### 1.1. attēls.

Agrorūpniecības blakusproduktu klasifikācija.



Viena no būtiskām *SCP* ražošanas priekšrocībām ir iespēja kā barotnes (substrātus) izmantot dažādus bioloģiski noārdāmus atkritumus un blakusproduktus. Mikroorganismu fermentācijas procesā iespējams lētas, plaši pieejamas izejvielas, piemēram, rūpnieciskos un lauksaimniecības atkritumus, pārvērst augstvērtīgā produktā ar augstu proteīna saturu [36]. Šāda pieeja vienlaikus risina divas problēmas: tā samazina atkritumu piesārņojošo ietekmi uz vidi (jo fermentācija noārda organiskās vielas un kaitīgos savienojumus) un nodrošina alternatīvu proteīna avotu, kas var aizstāt tradicionālo dzīvnieku barību vai pārtiku [37], [38]. Tieši substrāta izmaksas ir viens no svarīgākajiem faktoriem *SCP* produkcijas pašizmaksā, tādēļ lēti vai pat negatīvas vērtības izejmateriāli (atkritumi, kas citādi būtu jāutilizē) ievērojami paaugstina procesa ekonomisko izdevīgumu [36]. Šajā nodaļā aplūkoti galvenie izejmateriālu veidi, ko izmanto *SCP* ražošanai, īpašu uzsvāru liekot uz rūpnieciskajiem un lauksaimniecības atkritumiem un blakusproduktiem.

*SCP* ražošanā izmantojamais bioloģiski noārdāmos atkritumus var iedalīt vairākās kategorijās [39] pēc to galvenajām barības vielu sastāvdaļām (1.1. attēls).

*SCP* ieguvei īpaši piemēroti substrāti iedalāmi šādās grupās: monosaharīdus un disaharīdus saturoši atkritumi (cukuriem bagāti substrāti), cieti saturoši atkritumi, lignocelulozes (strukturālo polisaharīdu) atkritumi, olbaltumvielām vai lipīdiem bagāti atkritumi, kā arī dažādi citi rūpnieciskie blakusprodukti un nestandarta resursi (piemēram, glicerīns, notekūdeņi, rūpnieciskās gāzes) [36], [40]. Katrā no šīm grupām ietilpst vairāki konkrēti substrātu veidi, kurus raksturo atšķirīgs ķīmiskais sastāvs un kuriem varētu būt nepieciešamas specifiskas priekšapstrādes metodes pirms fermentācijas [39].

## 1.1. Lauksaimniecības blakusprodukti

### 1.1.1. Cukuriem bagāti substrāti (monosaharīdu un disaharīdu avoti)

Pie cukuriem bagātiem substrātiem pieder dažādi saldināti rūpnieciskie atkritumi un blakusprodukti, kuros dominē viegli fermentējami ogļhidrāti: monosaharīdi un disaharīdi. Tipiski piemēri ir melase, piena rūpniecības atkritumi (sūkalas), kā arī augļu un citu pārtikas pārstrādes atkritumi ar augstu cukura saturu. Šīs izejvielas mikroorganismi parasti spēj fermentēt tieši bez sarežģītas priekšapstrādes, kas ļauj ar salīdzinoši zemām izmaksām iegūt augstas *SCP* ražas. Minētā iemesla dēļ cukurainie substrāti tiek uzskatīti par ļoti efektīviem *SCP* ražošanā. To izmantošana ievērojami samazina procesa kopējās izmaksas, jo nav jātērē resursi polisaharīdu sašķelšanai [36].

**Melase** ir klasisks cukurrūpniecības blakusprodukts, kas veidojas cukura ražošanā no cukurbietēm vai cukurniedrēm, kā arī sojas proteīna koncentrāta ražošanā (sojas melase) [14]. Melase satur aptuveni 45–60 % fermentējamu cukuru, 10 % slāpekli saturošu savienojumu (brīvās aminoskābes, oligopeptīdi u. c.), līdz 20 % citu organisko vielu (tostarp dažus lipīdus) un 10 % minerālvielu [41], [42]. Šāds bagātīgs ogļhidrātu un uzturvielu sastāvs padara melasi par pievilcīgu substrātu dažādu raugu un citu mikroorganismu kultivēšanai bez tās priekšapstrādes [43], [44]. Literatūrā minēts, ka, piemēram, raugam *Kluyveromyces marxianus* augot uz barotnes, kas veidota uz melases bāzes, biomasa satur ap 50 % proteīnu (no sausas) [45]. Melases izmantošanu *SCP* ražošanā nosaka tās pieejamība, cena, ķīmiskais sastāvs, kā arī tas, vai tajā ir piemaisījumi, kas ir fermentāciju kavējošas vai toksiskas vielas un varētu no barotnes nonākt *SCP* galaproduktā [44], [46].

**Piena rūpniecības atkritumi** galvenokārt ir sūkalas, kas rodas siera un biezpiena ražošanā. Sūkalas ir vēl viens nozīmīgs cukuru saturošs substrāts. Pasaulē ik gadu rodas ap 139 miljoniem tonnu sūkalu [47], [48], [49], un aptuveni puse no tām netiek pilnvērtīgi izmantota, bet vienkārši novadīta notekūdeņos vai vidē, radot piesārņojumu [47], [49]. Sūkalas raksturo augsta bioloģiskā un ķīmiskā skābekļa patēriņa slodze, jo tajās ir liels organisko vielu saturs (galvenokārt laktoze), kā arī olbaltumvielas, tauki un minerālvielas [50], [51]. Atkarībā no piena pārstrādes tehnoloģijas sūkalu sastāvs var variēt, piemēram, saldo sūkalu (no fermentēta siera ražošanas) galvenais ogļhidrāts ir laktoze (disaharīds), savukārt skābās sūkalas (no biezpiena) satur vairāk olbaltumvielu. Augstais laktozes saturs padara sūkalas piemērotas *SCP* iegūšanai, izmantojot mikroorganismus, kas spēj fermentēt laktozi [51]. Literatūrā aprakstīti daudzi

### 1.1. tabula.

Monosaharīdiem un disaharīdiem bagāti avoti. Proteīna saturs (% no biomasas pēc fermentācijas), izmantojot monosaharīdu un disaharīdu bagātus atlikumus [36]

Monosaharīdu un disaharīdu avoti	Mikroorganismi	Proteīna saturs (%)
Melase	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	50,5
Sojas melase	<i>Candida tropicalis</i>	56,4
Cukurniedru sula	<i>Phaffia rhodozyma</i>	-
Sūkalas (bagātas ar laktozi)	<i>Penicillium cycloplum</i>	54
Siera sūkalas	<i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Candida krusei</i> (kefīra mikroorganismi)	43,4
Siera sūkalu filtrāts	<i>Trichoderma harzianum</i>	34,2
Banānu atkritumi	<i>Aspergillus niger</i>	18
Bojātie date palmu augļi	<i>Hanseniaspora uvarum</i> , <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	48,9

piemēri, kur sūkalas veiksmīgi izmantotas *SCP* ražošanai. Piemēram, *Kluyveromyces marxianus* rauga un *Candida krusei* maisītā kultūrā uz siera rūpnīcas sūkalām ieguva biomasu ar aptuveni 43 % proteīna [49], *Penicillium cyclopium* sūkalu barotnē – ap 54 % proteīna [52], bet kefīra mikroorganismu kultūrām sūkalu vidē – aptuveni 54 % proteīna (1.1. tabula) [53]. Sūkalu izmantošana *SCP* ražošanā vienlaikus risina arī vides problēmu, jo samazina piena nozares atkritumu slogu uz ūdensobjektiem.

**Augļu un dārzeņu pārstrādes atlikumi** var būt bagāti ar vienkāršajiem cukuriem, taču to sastāvs ir ļoti atkarīgs no izejvielas veida un augļa daļas, kas veido atkritumus. Piemēram, ja atkritumos pārsvarā nonāk bojāti vai nelietoti veseli augļi, tad substrātā būs augsta glikozes, fruktozes un saharozes koncentrācija. Piemēram, audzējot banānus, 5–30 % ražas tiek izmesti kā eksportam neatbilstoši, radot ievērojamu cukuru saturošu atkritumu plūsmu [54]. Arī vīgu, dateļu un citu saldu augļu realizācijas zudumi var pārvērsties barotnē ar augstu cukura saturu. Pētījumos konstatēts, ka, piemēram, uz bojātu dateļu substrāta audzētos raugos *Hanseniaspora uvarum* un *Zygosaccharomyces rouxii* biomasa saturēja aptuveni 49 % proteīna [55]. Savukārt, ja augļu pārstrādes atkritumus veido galvenokārt mizas, sēklas un izspaidas (kā tas ir, piemēram, sulu ražošanas blakusproduktiem), tad substrātā būs vairāk šķiedrvielu un mazāk cukuru [56], [57], [58]. Šādus šķiedrainos augļu atkritumus drīzāk var klasificēt nākamajā kategorijā – ar lignocelulozi bagātīe substrāti, un to izmantošanai vajadzīga cita pieeja.

### 1.1.2. Cieti saturoši substrāti

Ciete ir polisaharīds, kas ir nozīmīga daudzu lauksaimniecības atlikumu daļa, īpaši graudu un bumbuļu pārstrādes atkritumu, sastāvā. Pie cieti bagātiem saturošiem substrātiem pieder, piemēram, graudu pārstrādes blakusprodukti (ražošanas klijas, graudu putraimu vai miltu ražošanas atlikumi), alus un spirta rūgšanas graudu izspaidas, kartupeļu pārstrādes atkritumi (piemēram, kartupeļu mizas, biežumi) u. c. blakusprodukti. Kopumā liela daļa lauksaimniecības atkritumu masas nāk no cieti saturošiem materiāliem, jo graudi un bumbuļi tiek pārstrādāti lielā daudzumā visā pasaulē.

Lai mikroorganismi varētu uzņemt un metabolizēt cieti, parasti tā vispirms jāsašķel līdz vienkāršākiem cukuriem. Cietes hidrolīze var notikt fermentatīvi (ar amilāzēm) vai ķīmiski (piemēram, ar skābēm). Tas ievieš papildu procesa soli un var palielināt *SCP* ražošanas izmaksas. Viens risinājums ir izmantot mikroorganismus, kas paši spēj producēt amilolītiskus enzīmus un sašķelt cieti fermentatīvi. Piemēram, maisot vienā fermentācijas tvertnē amilolītiskos sēņu vai baktēriju celmus kopā ar *SCP* sintezējošiem mikroorganismiem,

## 1.2. tabula.

Ar cieti bagāti avoti. Proteīna saturs (% no biomasas pēc fermentācijas), izmantojot ar cieti bagātus atkritumus [36]

Ar cieti bagāti avoti	Mikroorganismi	Proteīna saturs (%)
Sorgo ( <i>Sorghum</i> ) hidrolizāts	<i>Candida krusei</i>	47,5
Kviešu klijas	<i>Rhodopseudomonas gelatinosa</i>	66,7
Rīsu klijas	<i>Aspergillus flavus</i>	11,5
Cietes hidrolizāts	<i>Fusarium graminearum</i>	-
Ciete	<i>Schwanniomyces alluvius</i>	52,8
	<i>Schwanniomyces occidentali</i>	-
Lapu sula	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	45,6
	<i>Torula utilis</i>	54,3
	<i>Candida lipolytica</i>	50,2

iespējams nodrošināt *in-situ* cietes pārstrādi uz fermentējamiem cukuriem. Šāda “asociatīvā fermentācija” var samazināt papildu enzīmu vai hidrolīzes posmu izmaksas [59], [60]. Piemēram, vienā pētījumā koku sēne *Schwanniomyces occidentalis* kombinācijā ar raugu *Schwanniomyces alluvius* spēja kopīgi sadalīt un patērēt cieti, ražojot biomasu ar 50 % proteīna (1.2. tabula) [59], [60]. Tomēr, ja šādas pieejas nav, cietes substrātu izmantošanai jāplāno atbilstoša priekšapstrāde, kas palielina procesa sarežģītību.

**Graudu klijas** ir nozīmīgs blakusprodukts, kas rodas graudu malšanas un pārstrādes procesā. Klijas satur ne tikai cieti, bet arī daudz šķiedrvielu un olbaltumvielu [61], [62]. Piemēram, kviešu, rīsu, auzu un citu graudu klijās ir kombinēti augsts cietes un šķiedrvielu saturs, kā arī proteīni un dažādi mikroelementi (dzelzs, B grupas vitamīni, antioksidanti) [63], [64]. Sastāva dēļ klijas bieži vien izmanto lopbarībā vai citu produktu ražošanā, un SCP ražošanai tās ekonomiski būtu jēgpilni izmantot tikai tad, ja nav izdevīgi tās realizēt citos veidos. Ja klijas tiek pakļautas eļļas ekstrakcijai (piemēram, rīsu kliju eļļas ieguvē), to sastāvs mainās, samazinās cietes un tauku saturs, palielinās relatīvā proteīnu un šķiedru daļa. Šādas attaukotas klijas vairs nav tik bagātas ar cieti, un to fermentācijā jau jāiesaista celulozi un hemicelulozi šķeļoši mikroorganismi. Piemēram, pētījumos ar attaukotām rīsu klijām *Aspergillus oryzae* pelējuma sēnes fermentācija deva biomasu ar 57 % proteīna [65], kas liecina par augstvērtīgu galaproduktu.

**Kartupeļu pārstrādes atkritumi**, piemēram, kartupeļu mizošanas un cietes ieguves atlikumi, satur ievērojamu daudzumu cietes, celulozes un arī nešķīstošo olbaltumvielu (kartupeļu proteīnu – patatīnu). Kartupeļu cietes rūpnīcu notekūdeņi un biežumi satur daudz celulozes un cietes. Eksperimentos konstatēts, ka *Bacillus licheniformis* baktērija spēj augt uz atlikumiem, kas bagāti ar kartupeļu celulozi, dodot 38 % proteīna biomasu [66]. Citā pētījumā

kombinētā fermentācijā, izmantojot *Bacillus pumilus*, raugu *Candida utilis* un pelējumu *Aspergillus niger* kartupeļu pārstrādes atlikumu barotnē, iegūta biomasa ar 46 % proteīna [67]. Šie piemēri ilustrē, ka arī cietes pārstrādes atkritumus var efektīvi pārveidot SCP, īpaši ja izmanto mikroorganismu kopienas, kas spēj noārdīt gan cieti, gan celulozi, gan izmantot izšķīdušos cukurus.

**Atproteinizēta lapu sula** ir augu proteīna ražošanas blakusprodukts, kas rodas, pārstrādājot lapu sulu. Šim atkritumproduktam raksturīgs augsts ķīmiskais un bioķīmiskais skābekļa patēriņš līmenis un zems pH, tādēļ lapu sulas novadīšana vidē bez iepriekšējas attīrīšanas var radīt būtisku kaitējumu videi [68], [69]. Šī iemesla dēļ ir vēlams veikt lapu sulu mikrobioloģisku priekšapstrādi, un, kombinējot to ar SCP ražošanu, iespējams panākt arī ekonomisku ieguvumu, jo līdzšinējie pētījumi liecina par augstiem SCP iznākumiem, izmantojot lapu sulas kā substrātu (1.2. tabula). Lapu sulu sastāvā esošais cietes un citu vielu daudzums lielākoties ir atkarīgs no izmantotās augu sugas un augu proteīna ražošanā lietotajām ekstrakcijas metodēm. Pākšaugu, zirņu un pupu (*Papilionoideae* dzimta) lapās cietes saturs ir augsts [69], bet kopumā lapu sulas satur arī citus oglekļa hidratus (gan monosaharīdus, gan polisaharīdus), aminoskābes, taukus, vitamīnus un minerālvielas [68], [69], [70].

### 1.1.3. Ar lignocelulozi bagāti substrāti (šķiedrvielu avoti)

Lignocelulozes atlikumi ir visplašāk pieejamais biomasas atkritumu veids pasaulē. Šajā kategorijā ietilpst lauksaimniecības atliekas (salmi, pelavas, vāļišu serdeņi, kukurūzas stiebi, rapša kūļi u. tml.), pārtikas rūpniecības šķiedrainie blakusprodukta (biešu mizas, augļu izspaidas ar lielu šķiedru saturu) u. c. atlikumi. Piemēram, graudaugu salmu apjoms bieži vien ir līdzvērtīgs vai pat pārsniedz iegūto graudu masu. Graudu salmu/stiebru un graudu attiecība var būt robežās 0,7–1,7 atkarībā no graudu kultūras [71], [72]. Salmu un stiebru atlikumu daudzums globāli mērāms miljardos tonnu gadā [36]. Tas skaidri norāda uz lignocelulozes atkritumu milzīgo potenciālu. Tie ir praktiski neizmējami substrātu resursi, kas pieejami teju visos lauksaimniecības reģionos. Šādu atlikumu izmantošana SCP ražošanā būtu vēlama gan ekonomisku, gan ekoloģisku iemeslu dēļ (atkritumu apjoma mazināšana). Tomēr lignocelulozes atkritumu izmantošana ir tehniski visizaicinošākā salīdzinājumā ar citiem substrātiem [36].

Lignoceluloze sastāv no cietām augu šūnapvalka sastāvdaļām: celulozes, hemicelulozes un lignīna. Tipisks salmu vai koksnes sastāvs varētu būt aptuveni 30–56 % celulozes, 10–24 %

## 1.3. tabula.

Strukturālo polisaharīdu avoti (lauksaimniecības atkritumi).  
Proteīna saturs (% no biomasas pēc fermentācijas), izmantojot ar  
strukturālajiem polisaharīdiem bagātus atkritumus [36]

Strukturālo polisaharīdu avoti	Mikroorganismi	Proteīna saturs (%)
Kukurūzas vāļītes	<i>Aspergillus niger</i>	30,2
Kukurūzas stublāji	<i>Aspergillus niger</i>	-
Kokvilnas stublāji	<i>Sporotrichum pulverulentum</i>	
Kviešu salmi	<i>Pleurotus florida</i>	62,8
Rīsu klijas (atdalītas eļļas)	<i>Aspergillus oryzae</i>	57
Sojas sēnālas	<i>Bacillus subtilis</i>	12,3
Kartupeļu cietes pārstrādes atlikumi (ar celulozi bagāti)	<i>Bacillus licheniformis</i>	38,2
	<i>Bacillus pumilus, Candida utilis, Aspergillus niger</i>	46,1
	<i>Pleurotus eryngii</i>	-
Cukurniedru izspaidas	<i>Candida tropicalis</i>	31,3
Biešu atlikumi	<i>Trichoderma reesei, Kluyveromyces marxianus</i>	54
Ābolu izspaidas	<i>Aspergillus niger</i>	20
Citrusaugļu izspaidas	<i>Trichoderma viride</i>	31,9
Citrusaugļu mizas	<i>Penicillium roquefort</i>	5,7
Mājputnu mēsli	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	59,1
Mājputnu pakaiši	<i>Candida utilis</i>	29
	<i>Debaryomyces hansenii</i>	31,8
Alus darītavas drabiņas	<i>Candida species</i>	70,4
Garneļu čaulu atkritumi	<i>Pichia kudriavzevii</i>	40

hemicelulozes, 3–30 % lignīna un tikai 3–7 % proteīna [73]. Lignīns ir kompleksa viela, kas padara lignocelulozi mehāniski un ķīmiski ļoti izturīgu pret noārdīšanu. Tā rezultātā ne fermentatīvā, ne dzīvnieku gremošanas sistēma lignocelulozi viegli nesašķel, tāpēc ar lignocelulozi bagātiem substrātiem ir zema barības vērtība tiešai izmantošanai lopbarībā [73]. SCP ražošanā tas nozīmē, ka pirms fermentācijas nepieciešama intensīva priekšapstrāde: mehāniska smalcināšana, ķīmiska apstrāde (ar skābēm, sārmjiem) vai enzīmiska hidrolīze, lai sašķeltu celulozi un hemicelulozi fermentējamās cukuros. Šie priekšapstrādes posmi būtiski palielina procesa sarežģītību un izmaksas.

Zinātniskie pētījumi ir pierādījuši, ka, neskatoties uz grūtībām, lignocelulozes atkritumus var pārvērst SCP, īpaši izmantojot dažādas mikroorganismu sugas. Viens no risinājumiem ir celulozītisko mikroorganismu izmantošana, kas spēj augt uz neapstrādātiem lignocelulozes substrātiem, vienlaikus delignificējot tos un patērējot iegūtos cukurus. Ir zināmi dažādi mikroorganismi, kas spēj noārdīt lignīnu un celulozi (1.3. tabula) [36].

**Sojas sēnalas** ir lauksaimniecības blakusprodukts, kas rodas, ekstrahējot sojas eļļu un ražojot sojas miltus [74]. Sēnalas veido apmēram 8–10 % no kopējās sojas masas [75], un, ņemot vērā, ka pasaulē ik gadu tiek novākts aptuveni 350 miljoni tonnu sojas, pieejamais sojas sēnalu daudzums ir ievērojams. Nelielos daudzumos sojas sēnalas izmanto, lai regulētu sojas milta proteīna saturu dzīvnieku barībā [75]. Sēnalas ir piemērotas un tiek izmantotas arī kā šķiedrvielu avots atgremotājiem, taču daudz dzīvnieku barībā neapstrādātu izejvielu nevar izmantot, jo tie nespēj sagremot celulozi un hemicelulozes savienojumus [74]. Vidēji sojas sēnalas satur aptuveni 36 % šķiedrvielu, 12 % proteīna un 3 % tauku [75]. Līdzšinējie sēnalu fermentācijas pētījumi ir sekmīgi palielinājuši vienkāršo cukuru un proteīna saturu, vienlaikus samazinot šķiedrvielu koncentrāciju galaproduktā, tomēr kopējais proteīna koncentrācijas pieaugums ir bijis salīdzinoši neliels [75].

**Cietes un cukura pārstrādes atkritumi.** Tāpat kā citi aprakstītie blakusprodukta, arī cietes un cukura ražošanas šķidrie atkritumi satur augstus COD un BOD rādītājus, kas nozīmē, ka, nonākot vidē, tie var būt kaitīgi [76], [77], [78]. Videi draudzīgu cietes un cukura pārstrādes rūpnīcu uzturēšana ir ļoti dārga, tāpēc šie procesi jāapvieno ar citu produktu ražošanu [66], [79], [80], [81]. Daudzos pētījumos ir aplūkota kartupeļu cietes pārstrādes atlieku izmantošana mikrobioloģiskai fermentācijai, lai iegūtu bioloģiski aktīvas vielas un dzīvnieku barību [66], [67], [82], [83]. Tāpat pētīta arī *SCP* ieguve no cukurniedru izspaidām un biešu mīkstuma [84], [85], [86]. Nelielos daudzumos cukurniedru izspaidas, biešu un kartupeļu mīkstumu var izmantot arī kā atgremotāju barības piedevu [83], [84]. Šajos atkritumos, lai gan tie rodas no cietes vai cukura pārstrādes, nav daudz cietes, cukuru un citu vienkāršo ogļhidrātu, bet tie ir bagāti ar enerģiju un šķiedrvielām. Tie satur daudz celulozes un hemicelulozes, līdzīgi kā graudaugu salmi, tāpēc, ražojot *SCP*, pirms fermentācijas šie substrāti jāapstrādā. Parasti to veic divos posmos: vispirms substrātu apstrādā ar celulozi noārdošiem mikroorganismiem, bet otrajā posmā izmanto *SCP* sintezējošos mikroorganismus [66], [67], [86]. Šāda pieeja ļauj iegūt labus proteīna iznākumus un vienlaikus mazināt piesārņojumu, ko rada cietes un cukura pārstrādes rūpniecība.

**Augļu pārstrādes atlikumi** (šķiedrvielām bagāti). Līdzīgi kā cukura un cietes pārstrādes atkritumus, arī augļu pārstrādes atlikumus var izmantot kā lopbarību liellopiem, taču tas bieži nav praktiski iespējams vai arī šo atlieku transportēšana ir pārāk dārga [56], [57], [58]. Rezultātā, lai samazinātu ražošanas izmaksas, augļu pārstrādes atlikumus visbiežāk vienkārši izmet [58], [87]. Visvairāk šķiedrvielām bagātu augļu pārstrādes atlikumu rodas, ražojot sulas un ēteriskās eļļas [39]. Izspaidas un sulas biežumi var veidot 25–65 % no kopējā augļu tilpuma, kas izmantots sulas

ražošanai [56], [57], [88]. Ņemot vērā, ka apmēram 25 % novākto augļu izmanto rūpnieciskai pārstrādei [37], pasaules mērogā gadā rodas aptuveni 15 miljoni tonnu ābolu un citrusaugļu izspaidu un sulas biežumu [89]. Uzturvērtības ziņā šie atkritumi nav piemēroti daudzu dzīvnieku barībai zemas sagremojamības un zema proteīna satura dēļ [37]. Tomēr, ņemot vērā šo atlieku lielo apjomu un ierobežotās izmantošanas iespējas, pētnieki ir meklējuši veidus, kā uzlabot šķiedrvielām bagāto augļu atkritumu uzturvērtību, izmantojot tos kā substrātu SCP ražošanai [44], [56], [57], [58].

**Mājputnu atkritumu** apsaimniekošana vienmēr ir bijusi problemātiska, jo to cena ir pārāk zema, lai tos izdevīgi izmantotu kā mēslojumu, savukārt tieša izmantošana bez patogēnu iznīcināšanas ir potenciāli bīstama sabiedrības veselībai [90], [91]. Šī iemesla dēļ SCP ražošana ir laba alternatīva mājputnu atkritumu pārstrādei, jo tajos ir salīdzinoši augsta mikroelementu un makroelementu koncentrācija, kā arī vairāk organisko savienojumu nekā citos dzīvnieku izcelsmes atkritumos [91], [92], [93], [94]. Kopumā mājputnu atkritumi satur daudz slāpekļa savienojumu (5–7 %, no kuriem 60–70 % ir urīnskābes slāpekļis, 10–15 % proteīna slāpekļis un ap 10 % amonjaka slāpekļis) [90], kā arī šķiedrvielas. Šiem atkritumiem pirms izmantošanas nepieciešama atbilstoša priekšapstrāde, kas hidrolizē polisaharīdus un iznīcina iespējamos patogēnus [91]. Mikroorganismi, piemēram, *Candida*, *Saccharomyces* un *Rhodotorula spp.*, ir piemēroti šādu ar slāpekli bagātu materiālu pārveidošanai SCP [91], [95].

**Alus darītavu drabiņu** sastāvs dažādās ražotnēs var ļoti atšķirties, un tas var mainīties pat vienas darītavas ietvaros atkarībā no tā, kāds dzēriens konkrētajā brīdī tiek brūvēts [96]. Šī iemesla dēļ pirms alus drabiņu izmantošanas mikroorganismu fermentācijā ir jānosaka vienkāršo cukuru, polisaharīdu un proteīnu koncentrācija, lai izvēlētos vispiemērotākās priekšapstrādes metodes un atbilstošos mikroorganismus. Parasti drabiņas satur daudz hemicelulozes, lignīna un proteīnu [96], kā arī var būt bagātas ar dažādiem minerāliem un vitamīniem [97], kas padara tās par potenciāli pilnvērtīgu barotni mikroorganismu audzēšanai. Hidrolizējot drabiņas, iespējams būtiski palielināt vienkāršo cukuru, piemēram, ksilozes un glikozes, koncentrāciju [96].

**Vēžveidīgo čaulu atkritumi.** Saskaņā ar FAO (*Food and Agriculture Organization*) datiem 2015. gadā vēžveidīgo produkcija no akvakultūras un savvaļas nozvejas sasniedza 13,9 miljonus tonnu, no kuriem 70–80 % veidoja pārstrādes atkritumi [45], [98], [99]. Līdz ar to vēžveidīgo pārstrādes atkritumu apjoms ir ļoti liels. Tos atlikumus, kurus nevar izmantot kā barību akvakultūrās vai lauksaimniecības dzīvniekiem, parasti vienkārši izmet okeānā, sadedzina vai noglabā atkritumu poligonos [98]. Šie risinājumi ir videi nedraudzīgi un ievērojami palielina kopējās ražošanas izmaksas, galvenokārt atkritumu transportēšanas dēļ [100]. Vēžveidīgo pārstrādes

atkritumos hitīna saturs svārstās no 13 % līdz 27 % no sausās masas [98], [101]. Hitīns ir strukturāls polisaharīds, glikozes atvasinājums. Augstais hitīna saturs vēžveidīgo atkritumos ierobežo to pārstrādes iespējas, jo jāievēro ekonomiski un videi draudzīgi darbības principi [98]. Tomēr, hidrolizējot hitīnu, iespējams iegūt ogļhidrātus, kurus var izmantot *SCP* sintezējošie mikroorganismi. Lai apstrādātu vēžveidīgo pārstrādes atkritumus, var pielāgot jau izstrādātās enzīmu lignocelulozes hidrolīzes tehnoloģijas [98]. Izmantojot hidrolizētus vēžveidīgo atkritumus kā barības vielu avotu *SCP* ražošanai, iespējams iegūt ļoti augstu proteīna koncentrāciju mikroorganismu biomasā [102].

Ar lignocelulozi bagātiem blakusproduktiem ir milzīgs resursu potenciāls, taču to izmantošanai *SCP* ražošanā nepieciešamas sarežģītākas tehnoloģijas. Iespējams, nepieciešamā vairāku soļu priekšapstrāde (mehāniska, termiska, ķīmiska, enzīmiska) ir faktors, kas bieži vien padara šo substrātu izmantošanu ekonomiski mazāk izdevīgu nekā cukuru vai cietes atkritumu izmantošana [36]. Tas varētu būt iemesls, kādēļ līdz šim komerciāli lignocelulozes fermentāciju proteīnam lieto reti, tomēr šajā jomā notiek intensīvi pētījumi un tehnoloģiju attīstība.

#### 1.1.4. Olbaltumvielām un lipīdiem bagāti substrāti

Šajā substrātu grupā ietilpst atkritumi un blakusprodukti, kas paši satur ievērojamu daudzumu proteīnu vai taukvielu. Šādu substrātu fermentācija var dot ļoti augstu proteīna koncentrāciju galaproduktā, jo mikroorganismi pārstrādā esošās sarežģītās organiskās vielas un var uzkrāt proteīnus savās šūnās līdz pat 60–70 % no sausnas (1.4. tabula). Tomēr lielākā daļa mikroorganismu nevar proteīnus un tauku polimērus izmantot tiešā veidā. Tie pirms asimilācijas ir jāsadala mazākās molekulās (aminoskābēs, taukskābēs), tāpēc proteīniem bagātu atkritumu fermentācijā bieži nepieciešami proteolītiskie enzīmi vai mikroorganismi, kas hidrolizē olbaltumvielas [103]. Ja hidrolīzi izdodas veikt efektīvi (piemēram, ar līdzfermentāciju piesaistot proteāzes producējošus mikrobus [104]), tad proteīniem bagāti substrāti var kļūt par vienu no ražīgākajiem *SCP* izejmateriāliem, jo, pateicoties augstam izejvielas slāpekļa saturam, var iegūt ļoti blīvu un proteīniem bagātu biomasu.

##### **Pārtikas rūpniecības ar proteīnu bagāti šķidrie atkritumi.**

Viens no blakusproduktiem, ko vērts atzīmēt, ir šķidrie atlikumi no zivju miltu ražošanas (*stickwater*) – blakusprodukts, kas rodas pēc vārīto zivju presēšanas [105]. Šis blakusprodukts satur daudz olbaltumvielu, kā arī daudz fosfora un kalcija [105]. Sojas pupiņu olbaltumvielu ražošanas apjoms, kur pārstrādes blakusprodukts ir sojas sūkalu notekūdeņi, ir pieaudzis vairāk nekā četras reizes [89], [106].

## 1.4. tabula.

Ar proteīniem vai lipīdiem bagāti avoti.  
Proteīnu saturs (% no biomasas pēc fermentācijas)  
ar proteīniem vai lipīdiem bagātos blakusproduktos [36]

Ar proteīniem vai lipīdiem bagāti avoti	Mikroorganismi	Proteīna saturs (%)
Šķidrie atlikumi ( <i>stickwater</i> ) no zivju miltu ražošanas	<i>Aspergillus niger</i>	48,7
Glutamīnskābes ražošanas šķidrums	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	68,4
Piparu pārstrādes atkritumi	<i>Aspergillus niger</i>	50,2
Kombinētie lauksaimniecības atkritumi	<i>Candida utilis</i>	48,2
Aunu ragi	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	38,5
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	33,7
Sojas milti	<i>Kefīra mikroorganismi</i>	23,6
	<i>Escherichia coli</i>	66
	<i>Bacillus cereus</i>	68
	<i>Bacillus subtilis</i>	71
	<i>Bacillus subtilis</i>	-

Nav bijis ekoloģiska vai ekonomiska spiediena meklēt risinājumus zivju miltu ražošanas šķidro atlikumu attīrīšanai, un to izmantošana SCP ražošanā pirmo reizi raksturota salīdzinoši nesen [105]. Šie atlikumi netika izmantoti SCP ražošanā un bija drīzāk vides slogs, taču daži pētījumi parādīja, ka, fermentējot šo šķidrumu ar sēnēm (*Aspergillus niger*) vai baktērijām (*Lactobacillus acidophilus*), var iegūt mikroorganismu biomasu ar 49–68 % proteīna [105].

Līdzīgi L-glutamīnskābes (mononātrija glutamāta) rūpnīcu notekūdeņi satur olbaltumvielām bagātus cietos atlikumus (~20 % proteīna) [107]. Pasaulē gadā saražo ap 1,5 milj. tonnu L-glutamīnskābes [108], radot ap 6 milj. tonnu notekūdeņu. Šos blakusproduktus mēģināts izmantot lopbarībā, taču lielos daudzumos tie var dzīvniekiem radīt vielmaiņas traucējumus. SCP ražošana kā alternatīva varētu vienlaicīgi attīrīt šos notekūdeņus un proteīnu padarīt dzīvniekiem pieejamāku un nekaitīgāku [39].

**Ar proteīnu bagāti lauksaimniecības blakusprodukti.** Vispirms jāmin augu valsts produktu pārstrādes blakusprodukti: atkritumi, kas paliek pēc eļļas izspiešanas no sēklām (sojas, rapša, saulespuķu u. c.). Piemēram, sojas rauši (sojas milti) satur ap 50 % proteīna un 30–35 % ogļhidrātu [109]. Sojas milti jau paši par sevi ir vērtīga lopbarība, bet to fermentēšana ar mikroorganismiem var uzlabot to uzturvērtību, pārveidot lielākas molekulas mazākās, vielas un paaugstināt proteīna pieejamību jeb uzsūkšanos dzīvniekiem [110]. Pētījumi rāda, ka sojas miltu bioloģiskā vērtība un dzīvnieku piebarojuma efektivitāte pieaug pēc fermentācijas ar, piemēram, *Bacillus subtilis*, jo tiek neutralizēti triptīna inhibitori un citi nevēlami savienojumi [110]. Arī rapša raušus un citus eļļas augu

atlikumus var fermentēt, lai uzlabotu to sastāvu, lai gan to proteīna saturs blakusproduktos jau sākotnēji ir augsts.

**Dzīvnieku izcelsmes proteīna atkritumi, piemēram, kaušanas blakusprodukti (ragi, nagī, spalvas, apmatojums).** Šie materiāli sastāv no grūti noārdāmām strukturālām olbaltumvielām (keratīna, kolagēna), taču tajos ir daudz slāpekļa [111], [112], [113]. Ar proteolītisko mikroorganismu palīdzību tos var hidrolizēt līdz aminoskābēm un tālāk pārstrādāt mikroorganismu biomasā. Piemēram, pētījumā aunu ragu hidrolizāts tika izmantots kā barotne *SCP* ražošanai. *Bacillus* un *E. coli* baktēriju kultūras spēja tajā augt un deva biomasu ar ļoti augstu proteīna saturu (66–71 % sausnas) [114]. Tas liecina, ka pat keratīnu saturoši kaušanas atkritumi var kalpot par ļoti perspektīvu izejvielu *SCP* ieguvei, vienlaikus risinot šo problemātisko atkritumu utilizācijas jautājumu. Jāpiebilst gan, ka dzīvnieku izcelsmes atkritumu fermentāciju pārtikas ķēdei reglamentē stingri noteikumi sanitārijas un sabiedrības veselības dēļ. Visbiežāk šādus produktus drīkst izmantot tikai noteiktu zvēru vai mājdzīvnieku barībā, nevis lauksaimniecības dzīvniekiem, kurus audzē pārtikai.

## 1.2. Rūpnieciskie blakusprodukti

Industriālie atkritumi ir jebkuri rūpniecībā radušies atlikumi, kas tālāk netiek izmantoti. Tie var rasties rūpnīcās, ražotnēs un arī izrakteņu ieguvē [115]. Lai gan industriālie atkritumi var ietvert, piemēram, ķīmiskos šķīdinātājus, pigmentus, krāsvielas, metālapstrādes atlikumus vai pat radioaktīvos atkritumus, mikrobiālajai fermentācijai piemēroti ir tikai bionoārdāmie rūpnieciskie atkritumi. Pie tiem pieskaitāmi dūņas, papīra ražošanas atlikumi, citi ražošanas pārpalikumi, specifiski rūpniecības un ķīmijas blakusprodukti, kā arī atkritumu gāzes [40].

**Polimēriem bagāti avoti (rūpnieciskie atkritumi).** Celuloze, lignīns, hemiceluloze, latekss un citi polimēri kā atkritumi uzkrājas no koksnes un kokvilnas pārstrādes, papīra, degvielas un lateksa ražošanas un citiem rūpnieciskiem procesiem [116]. Polimēri, īpaši lignocelulozes atkritumi, ir visplašāk pieejamie rūpnieciskie atkritumi. Tomēr polisaharīdiem un citiem sarežģītiem savienojumiem ir nepieciešama rūpīga mehāniska, ķīmiska vai enzīmu priekšapstrāde (vai kombinējot šīs metodes), pirms *SCP* ražojošie mikroorganismi tos var fermentēt. Līdz ar to polisaharīdu izmantošana var palielināt *SCP* ražošanas izmaksas. Notekūdeņi un organiskām nogulsnēm bagāti šķīdrie atkritumi var kalpot par barotni mikroaļģu, ciano-baktēriju un citu fotosintētisku vai heterotrofu mikroorganismu audzēšanai. Ideja ir vienlaikus attīrīt notekūdeņus no to piesārņojošajiem komponentiem (slāpekļa, fosfora savienojumiem, organiskajām vielām) un iegūt mikroorganismu masu, ko pēc tam var

## 1.5. tabula.

Rūpniecības blakusprodukti. Proteīnu saturs (% no biomasas pēc fermentācijas), izmantojot dažādus rūpniecības blakusproduktus [40]

Ar polimēriem bagāti avoti	Mikroorganismi	Proteīna saturs (%)
Papīra atkritumi	<i>Scytalidium acidophilum</i>	47
	<i>Paecilomyces variotii</i>	55
Sulfīta atkritumšķidrums	<i>Fusarium venenatum</i>	
	<i>Candida utilis</i>	-
Lignīna atkritumi	<i>Chrysonilia sitophila</i>	39,2
Lateksa atkritumi	<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	65
<b>Oglekļa savienojumi</b>		
Metāns	<i>Mehtylomonas sp.</i>	69,3
	Baktērijas, kas izolētas no augsnes	71
Metanols	<i>Methylophilus methylotrophus</i>	-
	<i>Pichia pastoris</i>	35
Etiķskābe	Baktērijas, kas izolētas no augsnes	71
Atkritumgāzes	<i>Methylococcus capsulatus</i>	-
	<i>Rhodobacter capsulatus</i>	-
	<i>Acinetobacter baylyi</i>	-
Glicerīns	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	-
	<i>Schizochytrium limacinum</i>	-
<b>Fotosintētisko mikroorganismu substrāti</b>		
Biogāzes ražotņu notekūdeņi	<i>Rhodopseudomonas capsulate</i>	69,4
	<i>Rhodopseudomonas spp.</i>	49–68
Sāļie sadzīves notekūdeņi	<i>Chlorella salina</i>	51
Notekūdeņu izplūdes	<i>Micractinium, Scenedesmus</i>	
	<i>Oocystis, Franceia</i>	40–60

izmanto kā barību (galvenokārt dzīvniekiem). Piemēram, pilsētu notekūdeņu attīrīšanas iekārtās nereti veidojas stabilizācijas dīķi vai aļģu baseini, kur dabiski savairojas aļģes, baktērijas un vienšūņi, kas asimilē ūdenī esošos nitrātus un fosfātus. Šādi notekūdeņos audzēti mikroorganismi var saturēt ievērojamu proteīna daudzumu un tikt novākti lopbarības vajadzībām. Ir ziņojumi, ka augstas SCP ražas iegūtas no dažādiem notekūdeņu veidiem: municipālajiem notekūdeņiem, biogāzes ražošanas digestāta, kā arī pārtikas rūpniecības notekūdeņiem [117], [118], [119]. Jāpiezīmē, ka šādos apstākļos izaudzētas biomasas izmantošanu barībā ierobežo smago metālu un citu piesārņotāju uzkrāšanās. Ja atkritumu ūdeņos ir toksiski elementi, mikroorganismi tos var bioloģiski akumulēt [120]. Ja nav garantijas par tīru sastāvu, drošības apsvērumu dēļ notekūdeņu aļģu SCP izmanto tehniskām barībām (piemēram, zivju dīķu mēslojumam) vai kā biogāzes. Tomēr rūpnieciskie notekūdeņi neapšaubāmi ir nozīmīgs potenciāls resurss. Tos jau šobrīd plaši izmanto mikroaļģu

audzēšanā, un, uzlabojot biomasas novākšanas un attīrīšanas tehnoloģijas, tie varētu dot ievērojamu ieguldījumu aprites ekonomikā, ražojot proteīnu no atkritumproduktiem.

### 1.2.1. Ar polimēriem bagāti avoti

**Celuloze** ir galvenā lauksaimniecības, koksnes un sadzīves atkritumu sastāvdaļa [121], [122]. Ar celulozi bagātus atkritumus rada arī koksnes apstrādes un papīra ražošanas nozares [123]. Visplašāk izmantotās priekšapstrādes metodes ar celulozi bagātiem atkritumiem ir celulozes process, izmantojot celulozītiskos mikroorganismus [124], [125], mehāniska termolīze ar tvaiku [121], [126], ķīmiska šķīdināšana, izmantojot skābes un sārmus [127], [128], vai bioķīmiska šķelšana ar enzīmiem [121]. Pēc vienas vai vairāku priekšapstrādes metožu lietošanas šos blakusproduktus ir iespējams tālāk fermentēt ar *SCP* ražojošiem mikroorganismiem.

**Papīra atkritumi.** Pašlaik attīstītajos reģionos, piemēram, Eiropā un Ziemeļamerikā, vidējais pārstrādātā papīra apjoms ir 60–70 % no kopējās produkcijas [129], [130]. Tomēr dažās attīstītajās un jaunattīstības valstīs papīra pārstrādes rādītāji ir daudz zemāki [125], [126]. Pieejamais papīra atkritumu daudzums ir ļoti liels un nākotnē, visticamāk, turpinās pieaugt. Papīra atkritumu galvenā sastāvdaļa ir celuloze. Hidrolizēti papīra atkritumi satur apmēram 60–70 % cukuru, no kuriem ap 70 % ir glikoze, 20 % ksilozes, 3 % mannozes, 3 % arabinozes, 1 % galaktozes, bet pārējie 30–40 % sastāv no aptuveni 20 % lignīna, 60 % māla minerāla kaolinīta un citiem atlikumiem [121]. *SCP* ražošanu no papīra atkritumiem parasti apgrūtina piesārņojums ar nevēlamiem mikroorganismiem. Šādu piesārņojumu kontrole palielina kopējās ražošanas izmaksas [131]. Lai izvairītos no šīm izmaksām, laba alternatīva ir ekstremofilu mikroorganismu (spēj augt un vairoties ļoti skarbos apstākļos, piemēram, augstā temperatūrā, sāļumā, skābumā vai spiedienā) izmantošana *SCP* ražošanā [121], jo tas ļauj uzturēt selektīvus mikroorganismu augšanas apstākļus bez piesārņojuma riska.

**Sulfīta atkritumšķīdums.** Izlietotais sulfīta šķīdums ir sulfīta izmantošanas procesa blakusprodukts, kurā no koksnes skaidām iegūst koksnes masu, izmantojot sērskābes sāļu šķīdumus, piemēram, kalcija, magnija vai nātrija sulfītus. Sulfīta šķīdumu var efektīvi izmantot mikroorganismu audzēšanā, un no tā iespējams iegūt etanolu [132], vanilīnu [133], vienšūnu proteīnu [123], [134] un citus produktus. Kopš 20. gadsimta trīsdesmitajiem gadiem sulfīta izmantošanas procesu pakāpeniski ir aizstājis "*Kraft*" process (cita ķīmiska metode celulozes iegūšanai no koksnes, kur lignīns tiek šķīdināts sārmainā vidē, izmantojot sērūdeņraža sāļus), kas ļauj pārstrādāt gandrīz visas koksnes masas iegūšanā izmantotās ķīmiskās

vielas [127]. Mūsdienās jau mazāk nekā 10 % ķīmiskās koksnes masas iegūst ar sulfīta izmantošanas procesu [135]. Tomēr vietās, kur sulfīta celulozes rūpnīcas vēl darbojas, sulfīta atkritumšķidruma kā substrāta izmantošana *SCP* ražošanai ir perspektīva, jo tas ir lēts un lokāli pieejams blakusprodukts. Sulfīta atkritumšķidruma fermentācija samazina arī bioloģisko skābekļa patēriņu, tādējādi ļaujot vienlaikus iegūt augstas pievienotās vērtības *SCP* [134] un mazināt kaitējumu apkārtējai videi [123]. Apmēram 10 % sulfīta atkritumšķidruma sausnas sastāv no lignosulfonātiem un hemicelulozes hidrolīzes blakusproduktiem. Hemicelulozes atlikumi satur ap 30 g/L heksožu un pentožu, kuras mikroorganismi var viegli izmantot fermentācijā [123].

**Lignīna atlikumi.** Lignīns, celuloze un hemiceluloze ir galvenās koksnes sastāvdaļas. Augos celulozes šķiedras ir apņemas ar lignīnu, pektīnu un hemicelulozi, kas palielina mehānisko stiprību un pasargā celulozi no mikroorganismu ietekmes [136], [137]. Lignīns ir viens no galvenajiem atkritumiem papīra ražošanas nozarē. Pēc atdalīšanas no celulozes to parasti sadedzina kā kurināmo, kas ir zemas pievienotās vērtības risinājums, tāpēc ekonomiski izdevīgāku lignīna lietojumu meklējumi ir ļoti aktuāli. Lignīna atlikumus var izmantot mikrobioloģiskajā fermentācijā, un vairāki mikroorganismi spēj noārdīt lignīnu un izmantot to fermentācijas procesos [136]. Tomēr salīdzinājumā ar citiem atkritumiem lignīna noārdīšanās ir lēnāka, un iegūtais *SCP* daudzums ir relatīvi neliels. Lignīna noārdīšana pārveido polisaharīdus šķiedrās, kas ir pieejamākas mikrobioloģiskajai fermentācijai. Kopumā lignīna noārdīšana ir aktuāla problēma papīra rūpniecībā, lauksaimniecības atkritumu pārstrādē, dažādu ķīmisko vielu ražošanā un piesārņojuma neitralizēšanā [136], [138], [139].

**Lateksa gumijas ražošanas notekūdeņi.** Latekss ir sarežģīts savienojumu maisījums, kas sastāv no proteīniem, saharīdiem, alkaloīdiem, eļļām, sveķiem, gumijām un tanīniem [140]. Mūsdienās lateksu galvenokārt iegūst no augiem (piemēram, *Hevea brasiliensis*, *Landolphia* ģints u. c.), un to izmanto lateksa gumijas ražošanā [141]. Gumijas lokšņu ražošana ir ļoti izplatīta tajos reģionos, kur tiek kultivēti lateksu saturoši augi [142], [143]. Lateksa gumijas ražošanas procesā rodas notekūdeņi, kas ir bagāti ar amonjaku, skudrskābi, nātrija metabisulfītu un nātrija sulfītu [142], [144], [145]. Šādi notekūdeņi ir videi bīstami, tāpēc pirms to novadīšanas dabiskajos ūdeņos tie jāattīra. Pašlaik notekūdeņu apstrādei izmanto lagūnas un oksidācijas baseinus, taču šīs sistēmas ir neefektīvas, jo tās pilnībā nenoārdā notekūdeņos esošās vielas. Šo vienkāršo attīrīšanas sistēmu izmantošana rada nepatīkamu smaku un izraisa siltumnīcefekta gāzu, piemēram, metāna un oglekļa dioksīda, emisijas [146]. Specializēta šo notekūdeņu fermentācija var būt laba alternatīva pašreizējām tehnoloģijām. Ir veikti pētījumi, ka lateksa gumijas lokšņu

ražošanas notekūdeņu izmantošana *SCP* ražošanā var nodrošināt augstu proteīna koncentrāciju mikroorganismu biomasā un būtiski samazināt ķīmiskā skābekļa patēriņa vērtības [142].

### 1.2.2. C1–C3 savienojumi

Metāns, metanols, etiķskābe un skudrskābe dabā sastopami diezgan bieži. Šos savienojumus galvenokārt rada organisko vielu noārdīšanās, kā arī bioķīmiskie procesi augos un dzīvniekos [147]. Industriālos apstākļos šīs vielas uzkrājas dažādu resursu un atkritumu uzglabāšanas vai pārstrādes laikā, tādēļ to efektīva izmantošana vai droša apstrāde un utilizācija ir būtiska.

**Metāns** kā lēts un plaši pieejams oglekļa avots vienšūnu proteīna ražošanai pētīts jau ilgu laiku [148], [149], [150]. Lai gan metāns ir viegli uzliesmojošs, slikti šķīst ūdenī un dabā sastopams ar dažādām piemaisījumu kombinācijām, tā priekšrocība *SCP* ražošanā ir selektivitāte, zema toksicitāte un gaistamība [150], [151]. Dabagāze, kurā metāna saturs ir 85–90 %, tiek uzskatīta par vienu no *SCP* ražošanai piemērotākajiem metāna avotiem [150]. Līdzšinējie pētījumi ar dabagāzes izmantošanu mikroorganismu audzēšanā uzrādījuši ļoti augstu *SCP* koncentrāciju biomasā [148], [150]. ASV Vides aizsardzības aģentūras dati [152] liecina, ka dabagāzes nozarē apzinātas gāzes izlaišanas atmosfērā, gāzes sadedzināšanas atklātā liesmā un noplūžu dēļ ik gadu ASV vien tiek izšķiesti vairāk nekā 16 miljardi kubikmetru dabagāzes [153]. Tas nozīmē ne tikai milzīgus ekonomiskos zaudējumus, bet arī ievērojamu metāna emisiju atmosfērā, kas ir spēcīga siltumnīcefekta gāze ar daudz augstāku globālās sasilšanas potenciālu nekā oglekļa dioksīdam [154].

**Etiķskābe.** Katru gadu tiek patērēti apmēram 6,5 miljoni tonnu etiķskābes [155]. To plaši izmanto polimēru, līmju, šķiedru un audumu ražošanā, kā arī pārtikas industrijā kā skābuma regulatoru un sadzīvē kā attīrīšanas līdzekli. No šīm nozarēm liels etiķskābes daudzums nonāk notekūdeņos, radot problēmas vietējām ekosistēmām [155]. Šobrīd daudzi pētījumi veltīti efektīvām un lētām metodēm etiķskābes atgūšanai no notekūdeņiem. Visbiežāk izmantotās metodes ir ķīmiskā vai fizikāli ķīmiskā etiķskābes saistīšana vai destilācija [155], [156], [157], [158]. Lai gan etiķskābes izmantošana mikroorganismu audzēšanā vēl ir maz aplūkota, ir pierādīts, ka, izmantojot etiķskābi kā oglekļa avotu, noteiktu mikroorganismu biomasa aug ļoti ātri [148]. Nākotnē būtu padziļināti jāpēta ar etiķskābi bagātu notekūdeņu izmantošana *SCP* ražojošu mikroorganismu kultivēšanā.

**Skudrskābe.** Liels skudrskābes daudzums rodas kā blakusprodukts citu ķīmisko vielu ražošanā [155]. Rezultātā daudz skudrskābes nonāk industriālajos notekūdeņos, tāpēc tie ir jāattīra.

Skudrskābi iespējams izmantot aktivēto dūņu procesā kā papildu oglekļa avotu, jo mikroorganismi to efektīvi metabolizē [155], [159], [148].

**Atkritumu gāzes** ir inovatīvs mikroorganismu barības vielu avots. Gāzes fermentējošie mikroorganismi spēj izmantot oglekļa monoksīdu, oglekļa dioksīdu un metānu. Šīs gāzes rodas tērauda un naftas pārstrādē, ogļu dedzināšanā, dabasgāzes un slānekļa gāzes ieguvē un sintēzes gāzes ražošanā. To izmantošana ļauj būtiski samazināt siltumnīcefekta gāzu emisijas un vienlaikus ražot pievienotās vērtības produktus, piemēram, ķimikālijas (etiķskābi) [160], [161], degvielu (biometānu) un arī uzturvielas (*SCP*) [160].

**Glicerīns.** Pateicoties saderībai ar esošo degvielas infrastruktūru, vienkāršajam ražošanas procesam, iespējai izmantot dažādus izejmateriālus un ievērojamām subsīdijām no vietējām valdībām, biodīzeļdegvielas ražošanas apjomi pēdējos 15 gados ir strauji pieauguši [162]. Globālais biodīzeļdegvielas ražošanas pieaugums veicina siltumnīcefekta gāzu emisiju samazināšanu [163], taču biodīzeļdegvielas ražošanas laikā no katras tonnas biodīzeļdegvielas rodas ap 100 kg jēlglicerīna [164]. Tas nozīmē, ka biodīzeļdegvielas nozare vien ik gadu saražo vairāk nekā divus miljonus tonnu glicerīna. Glicerīnu izmanto pārtikas un dzērienu ražošanā, ķīmijas, farmācijas, kosmētikas un citās nozarēs. Tomēr jau šobrīd saražotie glicerīna apjomi pārsniedz to, ko spēj patērēt tradicionālās industrijas [164]. Jēlglicerīns, kas rodas biodīzeļdegvielas ražošanā, satur piemaisījumus, piemēram, alkoholu, smagos metālus, ūdeni un dažādas sāļus, tādēļ tas pirms izmantošanas citās industrijās ir jāattīra [164], [165], [166]. Piemaisījumu, transporta izmaksu un zemo tirgus cenu dēļ biodīzeļdegvielas ražotājiem ir ierobežotas iespējas glicerīnu pārdot [164], tādēļ to bieži realizē kā kurināmo vai barības piedevu, kas ir zemas pievienotās vērtības risinājums.

Jaunas un inovatīvas tehnoloģijas, kā arī efektīvāka glicerīna komercializācija var veicināt visas biodīzeļdegvielas nozares attīstību. Glicerīna izmantošana *SCP* ražošanā ļautu radīt augstas pievienotās vērtības produktu un vienlaikus sniegtu biodīzeļdegvielas nozarei papildu ienākumus, izmantojot šo blakusproduktu ekonomiski efektīvāk. Daudzi pētījumi apliecina, ka glicerīns ir labs oglekļa avots dažādiem raugam, baktērijām un pat mikroskopiskām aļģēm. Piemēram, raugs *Candida utilis* un citi mikrobi spēj augt glicerīna vidē, dodot vairākus desmitus gramu biomasas no litra substrāta. Daži *Acinetobacter* ģints baktēriju celmi un daudzi raugi spēj akumulēt >50 % proteīna biomasā, augot uz glicerīna. Glicerīns var veicināt arī vienkāršu eļļas ražošanu ar mikroorganismiem. Glicerīna izmantošana mikroorganismu kultivēšanai, tostarp *SCP* ražošanai, aprakstīta vairākos zinātnieku pētījumos [167], [168], [169], [170], [171], [172].

**Naftas pārstrādes** procesā radušies ogļūdeņraži var kalpot kā alternatīva tradicionālajiem ogļhidrātiem. Atšķirībā no ogļhidrātiem ogļūdeņraži nesatur skābekli un praktiski nešķīst ūdenī [173]. Naftas pārpalikumu izmantošana *SCP* ražošanā sniedz iespēju mazināt naftas industrijas radīto vides slodzi, lai gan fermentācijas procesā kā substrāts tiek izmantota tikai neliela daļa no pieejamajiem ogļūdeņražiem [174]. Mikroorganismi, kas ražo *SCP*, spēj izmantot mazutu un citus n-parafīnus, kas ir naftas destilācijas produkti vai pārpalikumi [173], [174], [175].

### 1.2.3. Fotosintētisko mikroorganismu substrāti

Alģes, zooplanktons un baktērijas plaši izmanto notekūdeņu un citu šķīdros atkritumu attīrīšanā, kur mikroorganismus kultivē speciālās lagūnās vai baseinos [176], [177], [178], [179]. Šie mikroorganismi saista un izmanto atkritumos esošo neorganisko slāpekli un fosforu. Turklāt notekūdeņos audzētas alģes, baktērijas un zooplanktons ir labs proteīna avots, ko iespējams izmantot dzīvnieku barībā. Atkarībā no izvēlēta celma mikroorganismi var augt gan saldūdens, gan sālsūdens notekūdeņos [177]. Efektīva pieeja notekūdeņu attīrīšanai ir kombinētu kultūru izmantošana, kur organisko vielu oksidējošās baktērijas izdala  $CO_2$ , bet alģes to asimilē un dienas laikā ar fotosintēzes palīdzību atbrīvo skābekli. Ir ziņots, ka augsta *SCP* koncentrācija iegūta, izmantojot dažādus notekūdeņus, piemēram, sāļus un saldūdens sadzīves notekūdeņus, kā arī biogāzes ražotņu izplūdes ūdeņus [176], [177], [180].

## 1.3. Rīcība ar blakusproduktu kā resursu datiem

Dzīvnieku barības ilgtspējīgas izaugsmes galvenais ierobežojošais faktors ir proteīna bāze. Zivju miltu pieejamības un cenas svārstības, kā arī augu proteīnu uzturvērtības ierobežojumi mudina sistēmiski meklēt alternatīvas. *SCP* piedāvā loģisku risinājumu – lokāli pieejamu agroindustriālo blakusproduktu pārveide kontrolētas fermentācijas ceļā par proteīniem bagātu biomasu, vienlaikus mazinot notekūdeņu un atkritumu slogu. Tomēr tehnoloģijas konkurētspēju izšķir ne tikai substrāta cena, bet arī kvalitātes mainīgums, priekšapstrādes nepieciešamība, loģistikas izmaksas un galaprodukta drošums. Šajā nodaļā apkopots resursu pārskats – no cukuriem un cietes līdz lignocelulozei, proteīna/lipīdu plūsmām un C1–C3 savienojumiem. Tā rāda, ka potenciāls ir

plašs, bet izvēle ir jābalsta mērķa lietojumā, pieejamībā un procesa saderībā.

Nākamais solis ir disciplinēta lēmumu pieņemšanas kārtība. Vispirms jādefinē mērķtirgus un robežnosacījumi, tad jāveido substrātu saraksts, kas priekšizpētē jāsamazina atbilstoši substrātu pieejamībai un risku kritērijiem. Pēc tam jāpiemēro daudzkritēriju izvērtēšana ar lokālajiem svariem, lai substrātu sarindotu prioritārā secībā, un telpiskā jeb loģistikas optimizācija, lai noteiktu ieguves rādījumus un optimālo ražotnes vietu. Paralēli jāveic mikroorganismu un substrāta saskaņošana un pēc tam jānosaka fermentācijas process, iegūstot datus analīzei. Šāda darbību secība savieno resursu karti ar zināšanām par substrātu izvēles metodēm, mikroorganismu atlasu un procesa dizainu, lai *SCP* kļūtu par stabilu un uzturvērtīgu akvakultūras barības sastāvdaļu.



# 02

## LĒMUMU PIENĒMŠANA: RESURSU UN MIKROORGANISMU IZVĒLE

Ievads	7
Vienšūnu proteīna potenciāls akvakultūras barībā	8
<b>01</b> Blakusprodukti kā resursi vienšūnu proteīnu ražošanai	12
<hr/>	
<b>02 LĒMUMU PIENĒMŠANA: RESURSU UN MIKROORGANISMU IZVĒLE</b>	<b>32</b>
<hr/>	
2.1. Substrātu izvēles kritēriji un piemērojamības novērtēšana	34
2.2. Daudzkritēriju lēmumu analīze un <i>TOPSIS</i> metodes lietojums	39
2.3. Dažādu substrātu efektivitātes salīdzinājums <i>SCP</i> ražošanai	41
2.4. Gadījuma izpēte – substrāta izvēle <i>SCP</i> ražošanai	44
2.5. Mikroorganisma un substrāta savstarpējā saderība	49
2.6. Gadījuma izpēte – mikroorganismu izvēle <i>SCP</i> ražošanai	53
2.7. Loģistikas un telpiskā izvietojuma plānošana	58
<hr/>	
<b>03</b> Vienšūnu proteīna ražošanas tehnoloģija	62
<b>04</b> Ražošanas procesa optimizācija	96
<b>05</b> <i>SCP</i> ražošanas tehnoloģijas novērtējums	108
<b>06</b> Ceļvedis "No idejas līdz produktam"	138
Izmantotā literatūra	164
Summary	198

Vienšūnu proteīna un vienšūnu eļļu ražošanā viens no svarīgākajiem apsketiem ir substrāts, jo tās ir barības vielas, kas vajadzīgas mikroorganismu augšanai. Ņemot vērā minēto, izšķirīgi ir trīs faktori: substrāta cena, tā regulāra pieejamība nepārtrauktai ražošanai un vienmērīga kvalitāte. Jo lētāks, pieejamāks un stabilāks ir substrāts, jo konkurētspējīgāka būs proteīna ražošanas tehnoloģija un galaprodukts [1], [39].

Te lielu lomu spēlē agroindustriālie blakusprodukti un atkritumu biomasa. Tie bieži ir vietēji pieejami un maksā mazāk nekā pārtikas kvalitātes izejvielas, turklāt palīdz risināt vides problēmas. Šādās atkritumu plūsmās bieži ir daudz organisko vielu, kas neapstrādātas piesārņo, piemēram, ūdeņus. Novirzot šīs blakusproduktu plūsmas mikroorganismu fermentācijai, vienlaikus var ražot proteīnu un samazināt vides piesārņojumu. Pāreja no pārtikas izejvielām, piemēram, cukuriem vai eļļām bagātiem produktiem, kas konkurē ar cilvēku uzturu, uz biodnoārdāmiem blakusproduktiem mazina ietekmi uz lauksaimniecības zemi un savvaļas zivju krājumiem, kurus izmanto akvakultūrās kā barību. Šāda pieeja arī padara piegādes drošākas, jo vietējās atkritumu plūsmas parasti mazāk ietekmē globālā tirgus svārstības [1].

Pirms blakusproduktus izmanto proteīna ražošanā, ir jāņem vērā, ka to sastāvs var būt mainīgs, kā arī nereti tiem nepieciešama priekšapstrāde, piemēram, hidrolīze vai attīrīšana no inhibitoriem. Dažiem bionoārdāmiem blakusproduktiem var būt arī īss derīguma termiņš, kas būtiski ietekmē loģistikas rādītājus. Šo iemeslu dēļ līdzās cenai un pieejamībai jāplāno arī šo atlikumu savākšana, noliktavu sistēma, priekšapstrāde un kvalitātes kontrole, pretējā gadījumā ieguvumu no zemākas substrāta cenas var mazināt lielās loģistikas un apstrādes izmaksas [1], [39]. *SCP* ražošanas priekšrocība ir neatkarība no sezonālātes un klimata (atšķirībā no primārajiem kultūraugiem), augsta ražība uz vienību platības vienību un iespēja izvietot ražošanu pie industriālajiem avotiem vai resursu plūsmu mezgliem [181], [182]. Tas ļauj apvienot ekonomiku un vides mērķus, vienlaikus uzlabojot vietējo resursu izmantošanas efektivitāti.

Akvakultūras nozarē strauji augošais pieprasījums pēc zivju barības un omega-3 taukskābēm liek meklēt ilgtspējīgas alternatīvas tradicionālajiem zivju miltiem un zivju eļļai [1]. *SCP* un vienšūnu eļļa (*SCO*), ko iegūst no mikroorganismiem, tiek atzīti par vieniem no perspektīvākajiem zivju barības sastāvdaļu aizstājējiem akvakultūrās [21], [181]. Mikroorganismu radītajam produktam piemīt vairākas priekšrocības, piemēram, *SCO* satur ievērojami lielāku polinepiesātināto taukskābju (DHA, EPA) daļu nekā augu vai zivju eļļas [168], savukārt *SCP* var nodrošināt augstu olbaltumvielu saturu un labu aminoskābju profilu [183]. Turklāt šo produktu ražošana nav atkarīga no ģeogrāfiskās atrašanās vietas, klimata vai sezonas, kas ir būtiska priekšrocība

salīdzinājumā ar tradicionālajām lauksaimniecības izejvielām [36], [40]. *SCP* un *SCO* iegūšanai iespējams izmantot dažādus lētus biomasas atkritumus un blakusproduktus (piemēram, atkritumu glicerīnu, sūkalas, lignocelulozi saturošus atlikumus), tādējādi vienlaikus samazinot ražošanas izmaksas un dodot pievienoto vērtību lauksaimniecības un pārtikas rūpniecības pārpalikumiem [40]. Tomēr, lai šīs alternatīvas veiksmīgi izmantotu praksē, jārisina vairākas problēmas – jāizvēlas atbilstošākie substrāti (izejvielu blakusprodukti) un mikroorganismi, jāizstrādā piemērota tehnoloģija un audzēšanas apstākļi, kā arī jānodrošina stabila izejvielu piegāde un droša, ekonomiski pamatota ražošana. Šajā nodaļā aplūkotas lēmumu pieņemšanas metodes, kas palīdz izvērtēt un risināt minētos jautājumus: piemērotāko blakusproduktu atlase *SCP* ražošanai, daudzkritēriju lēmumu analīzes (*MCDA*) pieeju izmantošana, mikroorganismu un substrātu savstarpējās atbilstības aspekti, loģistikas un izvietojuma modelēšana, kā arī galveno riska faktoru pārvaldība šajā kontekstā.

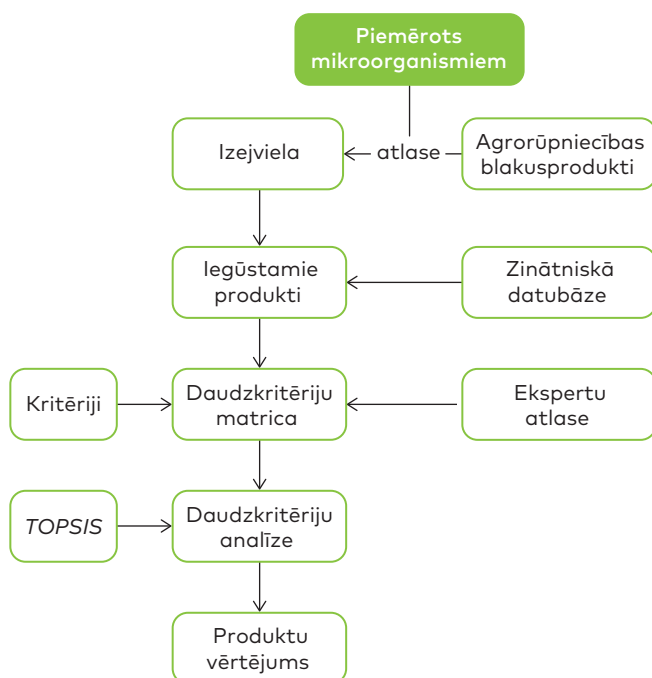
## 2.1. Substrātu izvēles kritēriji un piemērojamības novērtēšana

Blakusproduktu izvēle *SCP* ražošanai jābalsta vairāku kritēriju analīzē, lai konkrētajam mērķim atrastu vispiemērotāko izejvielu. Svarīgākie faktori ir izejvielas pieejamība (kopējais un lokālais apjoms, sezonālās svārstības), cena un ekonomiskie aspekti, kvalitāte un uzturvērtība (piemēram, uzturvielu saturs, aminoskābju profils), kā arī ietekme uz vidi un citi praktiski apsvērumi. Pieejamība nosaka, vai būs iespējams substrāta fermentācijas procesam nodrošināt pietiekamu un stabilu izvēlēto blakusprodukta daudzumu. Cena ietekmē projekta ekonomisko izdevīgumu, jo daži blakusprodukti var būt pieejami par simbolisku samaksu vai pat bez maksas, turpretī citiem var būt izveidoti komerciāli lietojumi, kas ceļ to cenu. Kvalitāte ietver, piemēram, barības vielu sastāvu un atbilstību mērķorganismu vajadzībām. Ja *SCP* tiek ražots akvakultūras vajadzībām, mikroorganismu biomasai jānodrošina konkrētajai zivju sugai atbilstošs neaizstājamo aminoskābju profils. Piemēram, daudzi augu valsts proteīna avoti ir nepilnvērtīgi, jo tiem trūkst tādu aminoskābju kā triptofāns un metionīns [183], tādēļ, izmantojot tikai augu izcelsmes barību, var pasliktināties zivju augšana un veselība. Izvēloties substrātu, jāņem vērā arī citi kvalitātes faktori: piemaisījumu un inhibējošo vielu klātbūtne, fizikālās īpašības (mitrums, daļiņu izmērs), garša un smarža (kas var ietekmēt barības pieņemšanu), kā arī stabilitāte uzglabāšanas laikā. Vides faktori aptver to, cik lielā mērā attiecīgā izejviela

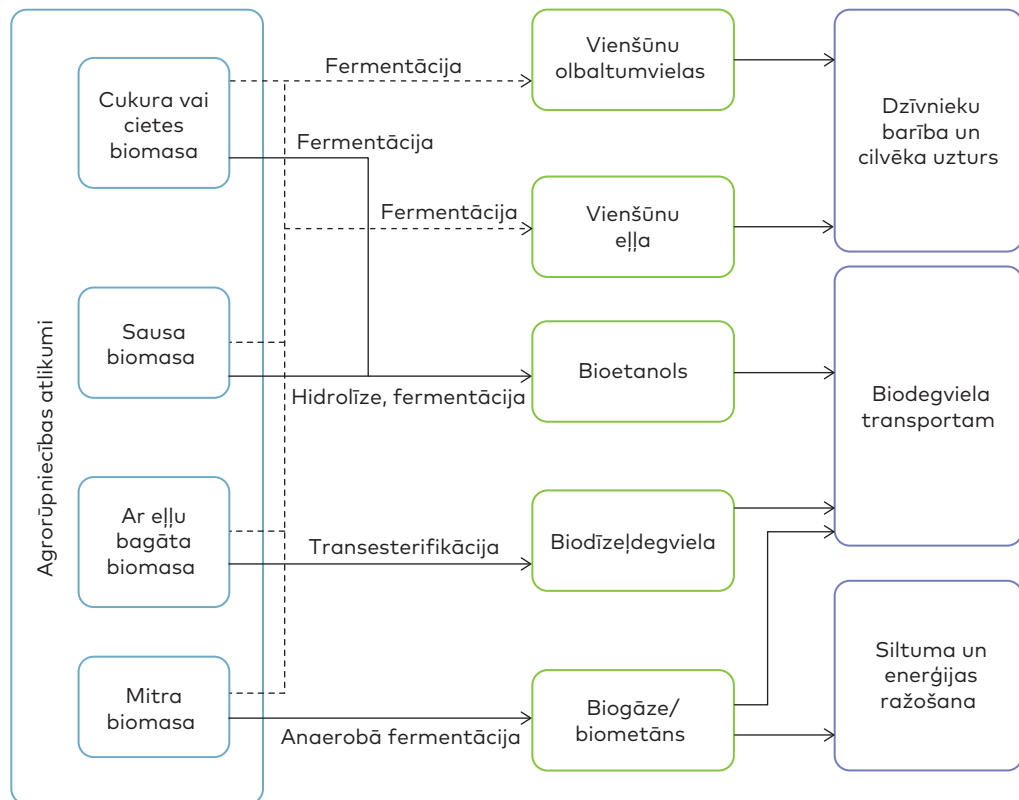
izmantojama kā videi draudzīgs risinājums, piemēram, atkritumu pārstrāde, samazinot piesārņojumu, un kādas būtu izmantošanas ietekmes, piemēram, transporta radītās emisijas, ja izejviela jāvāc no attālām vietām.

Reālos ražošanas apstākļos bieži vien nav viena substrāta, kas būtu vislabākais pēc visiem kritērijiem, piemēram, substrāts ar augstu uzturvērtību var būt dārgs vai pieejams tikai sezonāli, tāpēc tiek lietota daudzkritēriju atlase, kurā sistemātiski salīdzina alternatīvas pēc vairākiem rādītājiem. Literatūrā atrodami gadījumi, kad *SCP* ražošanai identificēti daudzsoļi atkritumprodukti, taču sākotnējie novērtējumi bijuši samērā virspusēji [39]. Piemēram, Spalviņa u. c. pētījumos sākotnēji apzināti dažādi bionoārdāmi atlikumi un secināts, ka to izmantošana *SCP* un *SCO* ražošanā var dot lielāku pievienoto vērtību nekā esošie lietojumi, tomēr ekonomiskā dzīvotspēja jāvērtē padziļināti, ņemot vērā izmaksas, pieejamību un loģistiku [36], [40], [181]. Vispiemērotākā substrāta noteikšanai var izmantot strukturētas metodes, piemēram, *MCDA*.

Aplūkosim piemēru, kā tiek vērtēta substrātu piemērotība dažādu iegūstamo produktu ražošanai no tiem (2.1. attēls). Šis algoritms ilustrē daudzkritēriju lēmumu pieņemšanas procesu, kas izmantots, lai novērtētu agrorūpniecības blakusproduktu piemērotību konkrētiem mikroorganismiem un produktu iegūšanai, izmantojot *TOPSIS* (*Technique for Order Preference by Similarity to*



**2.1. attēls.**  
Blakusproduktu  
lietojuma virzie-  
na vērtējuma  
algoritms.



*Ideal Solution*) metodi. Process sākas ar izejvielu atlasī, kur no pieejamajiem agrorūpniecības blakusproduktiem tiek izvēlēti tie, kas ir piemēroti konkrētiem mikroorganismiem. Tālāk tiek noteikti iegūstamie produkti, pamatojoties uz zinātniskajām datubāzēm, kurās apkopota informācija par iespējamām pārstrādes rezultātiem. Pēc tam tiek definēti vērtēšanas kritēriji, piemēram, pieejamība, izmaksas, uzturvērtība, vides ietekme utt., ko papildina ekspertu atlase. Eksperti nosaka svarus katram kritērijam.

Tālāk tiek viedota daudzkritēriju matrica, ko izmanto daudzkritēriju analizē, piemērojot *TOPSIS* metodi. Šī metode palīdz noteikt, kuri no produktiem ir visatbilstošākie, ņemot vērā visus kritērijus un to svarus. Rezultātā iegūst produktu vērtējumu, kas ļauj pieņemt pamatotu lēmumu par resursu izmantošanu biotehnoloģiskajā procesā. Rezultātā var redzēt, kādu blakusproduktu plūsmas tiek izvēlētas un kādas plūsmu alternatīvas apskatītas.

2.2. attēlā redzama agroindustriālo blakusproduktu pārstrādes shēma, kur parādīti gan plaši lietotie (ar pilnām līnijām), gan alternatīvie (ar pārtrauktām līnijām) biomasas izmantošanas ceļi. Pašreiz bieži vien tehnoloģiskajos procesos sauso biomasu izmanto bioetanola ražošanā, eļļaino biomasu izmanto biodīzeļdegvielai, bet

## 2.2. attēls.

Agrorūpniecisko blakusproduktu plūsmas: esošie un alternatīvie izmantošanas ceļi vienšūnu produktu un bioenerģijas ieguvē[39].

slapjo biomasu – biogāzes/biometāna ieguvei. Piedāvātie alternatīvie ceļi paredz fermentācijas metodes lietošanu ar cukuru un cieti bagātiem blakusproduktiem un sausās biomasas substrātiem *SCP* un *SCO* ražošanai, kas piemēroti dzīvnieku barībai un cilvēku uzturam. Šāds koncepts uzskatāmi parāda, kā tradicionālos biomasas izmantošanas virzienus var papildināt ar augstākas pievienotās vērtības produktiem, veicinot aprites bioekonomiku [39].

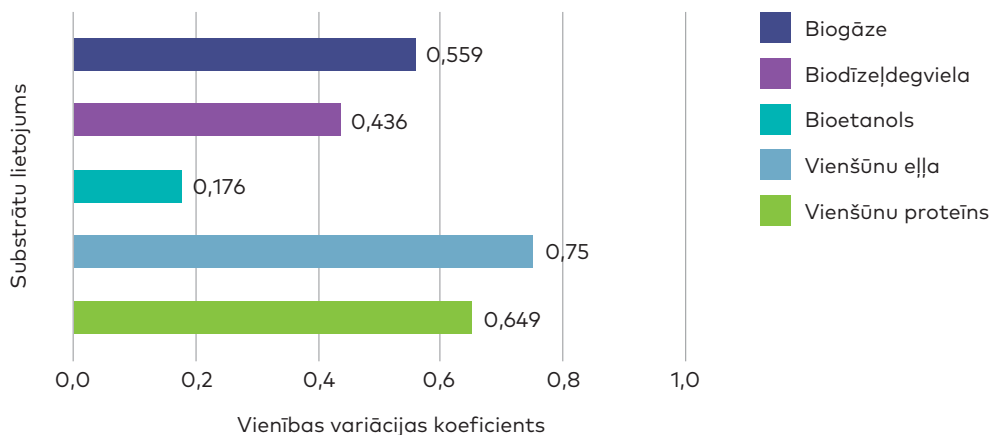
Šādu izmantošanas iespēju plūsmu izvērtēšana ir būtiska, lai identificētu optimālos veidus, kā agroindustriālos atlikumus pārvērst ilgtspējīgos un augstas pievienotās vērtības produktos, vienlaikus samazinot atkritumus un veicinot aprites ekonomikas principus. *SCP* ražošana šajā kontekstā piedāvā alternatīvu pārtikas un barības avotu, kas ne tikai papildina tradicionālās biodegvielu vai enerģijas ieguves plūsmas, bet arī nodrošina resursu efektīvāku izmantošanu, jo mikroorganismi spēj pārvērst lētus vai mazvērtīgus substrātus barības vielām bagātā biomasā, samazinot atkarību no tradicionālajiem proteīna avotiem.

Faktoru izvēle šajā gadījumā balstās vides, ekonomiskajos un inženiertehniskajos aspektos: produkta izstrādes stadija, potenciālais tirgus apjoms, izmantotais agroindustriālo resursu daudzums, procesa tehnoloģiskā sarežģītība, atkritumu un atlikumu apjoms ražošanas laikā, CO<sub>2</sub> emisijas ražošanas procesā, ietekme uz vidi un cilvēka veselību, ražošanas uzsākšanai nepieciešamās investīcijas, ražošanas procesā iegūstamie blakusprodukti un produkta atbilstība ekodizaina principiem.

### 2.1. tabula.

Daudzkritēriju analīzē izmantotie indikatori un svāri [39]

Kritēriji	Apakškritēriji	Ietekme
Inženiertehniskie rādītāji	Ražošanas procesa gatavības līmenis	0,07
	Resursu patēriņa apjoms	0,1
	Tehnoloģiskā procesa sarežģītība	0,1
Vides rādītāji	Ražošanas atkritumi un atlikumi	0,04
	Specifisko blakusproduktu daudzums	0,14
	CO <sub>2</sub> emisijas ražošanas procesā	0,03
	Produkta ietekme uz vidi	0,03
	Produkta ietekme uz cilvēka veselību	0,04
	Produkta atbilstība ekodizaina principiem	0,04
Ekonomiskie rādītāji	Uzsākšanas izmaksas	0,16
	Produkta tirgus	0,25
	Σ	1



Daudzfaktoru izvērtēšanas matrica izveidota, balstoties ekspertu novērtējumā par produktiem atbilstoši minētajiem rādītājiem. Izvēlētie eksperti ir speciālisti bioekonomikā, bioenerģētikā un mikrobioloģijā. Katrs eksperts sniedza individuālu vērtējumu, nekonsultējoties ar citiem, lai nodrošinātu neatkarīgu novērtējumu. Kritēriju svāri noteikti ar attiecīgās jomas ekspertu palīdzību un ir atspoguļoti 2.1. tabulā. Visaugstākais ietekmes novērtējums piešķirts ekonomiskajiem rādītājiem – produkta tirgum un sākotnējām izmaksām, kā arī inženiertehniskajiem rādītājiem – resursu patēriņa apjomam un tehnoloģiskā procesa sarežģītībai. No vides aspektiem lielākā ietekme tika piešķirta specifisko blakusproduktu apjomam.

Šajā piemērā pēc daudzkritēriju analīzes rezultātiem (2.3. attēls) vienšūnu eļļa ir visaugstākā prioritāte, bet bioetanols ir viszemākā. Vienšūnu proteīns uzrāda otru labāko rezultātu.

Vislabākais bioenerģijas avots ir biogāze, bet salīdzinājumā ar vienšūnu eļļu un vienšūnu proteīnu tā ir tikai trešā prioritāte agroindustriālo blakusproduktu potenciāla ziņā. Galvenais faktors, kas nosaka konkrētu produktu ražošanas prioritāti, ir produktu tirgus. Pieaug pieprasījums pēc dzīvnieku barības, īpaši zivju barības, pieaugot globālajai akvakultūras ražošanai, un pēc zivju eļļas, jo pieaug tās patēriņš cilvēku uzturā.

Daudzkritēriju pieejas praktisko lietderību apliecina pētījumu rezultāti šajā jomā. Jau minētajā piemērā salīdzinātas piecas agroindustriālo atlikumu izmantošanas alternatīvas: biogāze, bioetanols, biodīzelis (šie trīs ir tradicionāli enerģijas produkti), kā arī vienšūnu eļļa un vienšūnu proteīns (alternatīvi risinājumi). Izmantojot *TOPSIS* metodi ar 11 indikatoriem (ekonomiskajiem, vides un inženiertehniskajiem), secināts, ka prioritāri no atjaunīgiem atlikumiem ražojamie produkti ir tieši vienšūnu eļļa un vienšūnu proteīns, kas ieņēma pirmās divas vietas, apsteidzot bioenerģijas produktus [39].

### 2.3. attēls.

Daudzkritēriju lēmumu pieņemšanas analīzes rezultāti [39].

## 2.2. Daudzkritēriju lēmumu analīze un TOPSIS metodes lietojums

Daudzkritēriju lēmumu analīze (*MCD*A) ir pieeja, kas strukturē un formalizē lēmumu pieņemšanas procesu gadījumos, kad jāizvērtē vairākas alternatīvas pēc vairākiem savstarpēji konkurējošiem kritērijiem. *MCD*A ietver vairākus soļus: (1) problēmas un mērķa definēšanu, (2) alternatīvu identificēšanu, (3) izvēles kritēriju izvirzīšanu, (4) datu iegūšanu par alternatīvu sniegumu katrā kritērijā, (5) kritēriju svaru noteikšanu atbilstoši to nozīmīgumam un (6) matemātisku alternatīvu vērtēšanu un rangu aprēķinu. Rezultātā *MCD*A dod pārskatāmu argumentāciju, kura no alternatīvām ir vispiemērotākā, ņemot vērā visu kritēriju kopumu. Šādas metodes plaši izmanto dažādās jomās – no enerģētikas līdz vides pārvaldībai. Arī biotehnoloģijās tās noder, lai izvēlētos optimālos substrātus, produktus vai procesus.

Daudzkritēriju lēmumu pieņemšanas metožu pētījumā analizētas vairākas *MCD*A metodes atjaunojamās enerģijas tehnoloģiju izvēlē. Pētījumā secināts, ka *TOPSIS*, *VIKOR* un *PROMETHEE* metožu rezultāti bieži sakrīt vai ir līdzīgi, kamēr, piemēram, *MULTIMOORA* un *COPRAS* var dot atšķirīgus rangus [184]. Šī atziņa liek secināt, ka metodes izvēle var nedaudz ietekmēt lēmumu. *TOPSIS* priekšrocība ir tās vienkāršība un plašais lietojums – arī šajā grāmatā aplūkotajos piemēros (Latvijas kontekstā) tieši *TOPSIS* veiksmīgi izmantota gan substrātu, gan produktu izvērtējumos [39], [185].

Priekšrocību līdzības ideālajai situācijai (*TOPSIS*) metodi [186] var izmantot, lai atrastu optimālo risinājumu, kas ir visciešāk saistīts ar vēlamu izvēli. Šajā pieejā izmantojamas iepriekš noteiktas kritēriju skaitliskās vērtības. *TOPSIS* analīzi veido pieci secīgi procesi, kuru rezultātā tiek noietīts risinājums, kas ir vislīdzīgākais ideālajam risinājumam (2.4. attēls).

Sākotnējie soļi ietver vērtību matricas izveidi. Tai ir izvēlēts kritēriju kopums. Tiklīdz vērtību matrica ir iegūta, tiek izveidota normalizēta matrica, dalot katru vērtību ar visu attiecīgo kritēriju saistīto kvadrātsakņu summu. Tas tiek veikts, izmantojot 2.1. vienādojumu.

$$r_{ai} = \frac{x_{ai}}{\sqrt{\sum_{a=1}^n x_{ai}^2}}, \quad (2.1.)$$

kur

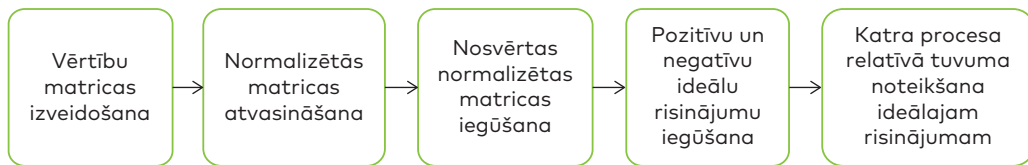
$r_{ai}$  – normalizētā vērtība;

$x_{ai}$  – indikatora vērtība;

$i$  – kritērijs;

$a$  – alternatīva.

Tālāk normalizētās matricas vērtības tiek izmantotas, konstruējot svērto normalizēto matricu. Lai iegūtu svērtās normalizētās matricas vērtības, katru normalizēto vērtību reizina ar svara vērtību,



iegūstot vēlamos rezultātus. Kopējai svēruma vērtībai noteikti jābūt konsekventai visos kritērijos. *TOPSIS* daudzkritēriju analīzes normalizēšanas pieejā katram kritērijam tiek piešķirts svars.

Kad normētā svērtā matrica iegūta, tiek noteikti risinājumi, kas tiek uzskatīti par ideāliem un pretēji ideāliem. Lai to paveiktu, no iepriekš iegūtajām normalizētajām svērtajām vērtībām tiek iegūtas maksimālās un minimālās vērtības. Vislielākā skaitliskā vērtība no svērtās normalizētās matricas uzskatāma par pozitīvo ideālo vērtību, minimālā skaitliskā vērtība – par negatīvo ideālo vērtību. Pamatojoties uz to, mazākā svērtā normētā vērtība tika uzskatīta par pozitīvo ideālo vērtību, savukārt maksimālā svērtā pozitīvā vērtība tika uzskatīta par negatīvo ideālo vērtību.

Pēc tam tiek aprēķināts attālums starp katras alternatīvas skaitlisko vērtību un ideālo risinājumu, kas ir pozitīvs, un ideālo risinājumu, kas ir negatīvs. Lai noteiktu attālumu līdz ideālajam risinājumam, kas ir pozitīvs, izmantots 2.2. vienādojums, savukārt, lai noteiktu attālumu līdz ideālajam risinājumam, kas ir negatīvs, izmantots 2.3. vienādojums.

$$d_a^+ = \sqrt{\sum (v_i^+ - v_{ai})^2}, \quad (2.2.)$$

$$d_a^- = \sqrt{\sum (v_i^- - v_{ai})^2}, \quad (2.3.)$$

kur

$d_a^+$  – attālums līdz pozitīvajam ideālajam risinājumam;

$d_a^-$  – attālums līdz negatīvajam ideālajam risinājumam;

$v_i^+$  – pozitīva ideālā vērtība;

$v_i^-$  – negatīva ideālā vērtība;

$v_{ai}$  – svērtā vērtība.

Lai aprēķinātu relatīvā tuvuma koeficientu, pamatojoties uz attālumiem, kas iegūti no pozitīvajām un negatīvajām vērtībām, izmantots 2.4. vienādojums.

$$C_a = \frac{d_a^-}{d_a^+ + d_a^-}, \quad (2.4.)$$

kur

$C_a$  – relatīvā tuvuma koeficients.

Relatīvā tuvuma koeficienta vērtība var būt no nulles līdz vienībai, un lielāka vērtība liecina par labvēlīgāku alternatīvu,

#### 2.4. attēls.

*TOPSIS* metodes darba gaita.

ko varētu uzskatīt par ilgtspējīgāku. Pēc tam iegūtās vērtības tiek izmantotas, lai noteiktu gan pozitīvās, gan negatīvās ideālās vērtības, kas pēc tam tiek piemērotas, lai iegūtu relatīvā tuvuma koeficientu. Šis process tiek atkārtots, līdz vērtības ir pilnībā raksturotas. Relatīvā tuvuma koeficienta ilustrācija sniegta grafika veidā, lai rezultātu pārbaudi padarītu vienkāršāku. Pēc tam rezultāti tiek salīdzināti, lai izlemtu, kura alternatīva ir videi draudzīgāka.

**Kritēriju svaru noteikšana** ir būtisks solis *MCDA* procesā. Svarus parasti piešķir eksperti vai lēmumu pieņēmēji, balstoties kritēriju relatīvajā nozīmīgumā konkrētajā situācijā. Piemēram, Žihares u. c. pētījumā par blakusproduktu izmantošanas virzieniem bioenerģētikas un mikrobioloģijas ekspertu grupa piešķīra vislielāko nozīmi ekonomiskajiem rādītājiem, tādiem kā produkta tirgus potenciāls un iekārtu starta izmaksas, kam sekoja vides aspekti (piemēram, atlieku daudzums, CO<sub>2</sub> emisijas) un inženiertehniskie aspekti (resursu patēriņš, procesa sarežģītība) [39]. Svaru summa parasti tiek normalizēta līdz 1, un katrs kritērijs iegūst daļu no šīs kopējās nozīmes. Ja kāds kritērijs tiek uzskatīts par divreiz svarīgāku nekā cits, tam piešķir attiecīgi lielāku svara koeficientu. Šāda pieeja ļauj *MCDA* modelim atspoguļot izpētes prioritātes, piemēram, ja izmaksas un tirgus pieprasījums ir kritiski faktori, tie dominēs galavērtējumā.

***TOPSIS* rezultātu interpretācija** ir vienkārša. Katrai alternatīvai aprēķinātais tuvuma indekss norāda tās relatīvo vērtību. Jo tuvāk 1 (100 %) ir indekss, jo alternatīva ir labāka kopējā vērtējumā. Būtiska ir arī starpība starp augstāko rādītāju un nākamajiem rādītājiem. Tā parāda, cik izteikts ir labākās alternatīvas pārsvars. Piemēram, ja vienai alternatīvai tuvums ideālam ir 0,8, bet pārējām 0,5–0,6 robežās, var droši apgalvot, ka pirmā ir izteikti labāka. Savukārt, ja divām alternatīvām indekss ir ļoti līdzīgs (piemēram, 0,80 un 0,78), tad praktiski tās ir līdzvērtīgas un lēmumu varētu ietekmēt citi apsvērumi vai nenoteiktība datos. *MCDA* metodēm ieteicams veikt arī jutīguma analīzi, mainot svarus vai kritēriju vērtības, lai pārlicinātos, ka ranga secība ir stabila.

### 2.3. Dažādu substrātu efektivitātes salīdzinājums *SCP* ražošanai

Novērtējot, cik efektīvs ir konkrētais substrāts vienšūnu proteīna ražošanai, jāņem vērā vairāki rādītāji. Starp svarīgākajiem kritērijiem ir:

- mikroorganismu biomasas iznākums (ražā) no noteikta substrāta daudzuma;

- proteīna saturs un kvalitāte iegūtajā biomasā;
- nepieciešamā priekšapstrāde un ar to saistītās izmaksas;
- maksimālā sasniedzamā šūnu koncentrācija fermentācijā un ražošanas ātrums;
- procesu inženiertehniskā sarežģītība (piemēram, nepieciešamība strādāt sterilos apstākļos, spiediena reaktoros, specifiskā aparātā).

Balstoties pieejamajā literatūrā un prakses datus, turpmāk sniegts dažādu substrātu salīdzinošs raksturojums.

**Cukuriem bagāti substrāti**, piemēram, melase, sūkalas, augļu atkritumi, ir vieni no visvērtīgākajiem blakusproduktiem. Šie substrāti parasti nodrošina augstu fermentācijas ražību, jo satur viegli pieejamus cukurus. Raugi un baktērijas uz melases vai sūkalu barotnēm var ātri sasniegt lielu biomasu blīvumu (>10–15 g sausnas/L) standarta fermentatoros [56], [59]. Biomasas proteīna saturs bieži ir 40–55 % atkarībā no mikroorganisma un procesa [39]. Piemēram, *K. marxianus* raugs uz melases dod ap 50 % proteīna [48], *C. krusei* uz sūkalām – ap 43 % [61]. Viena no cukuriem bagātu substrātu priekšrocībām ir tā, ka nav vajadzīga dārga priekšapstrāde, izņemot sterilizāciju, tādēļ to konversijas efektivitāte (g biomasas no g substrāta) ir augsta, bieži tuvojoties teorētiskajam mikroorganismu augšanas maksimumam. Ekonomiski cukuru substrāti rada viszemāko ražošanas pašizmaksu proteīnam, ja vien substrāta cena ir zema. Jāņem vērā, ka šie substrāti ne vienmēr ir “atkritumi” un tiem var būt citi vērtīgāki lietojuma veidi. Šāds substrāts ir, piemēram, melase. Turklāt arī to proteīna kvalitāte atkarīga no rauga mikroorganismu aminoskābju profila.

**Cietes substrāti.** Efektivitātes ziņā līdzīgi cukuriem, ja cieti pilnībā hidrolizē. Piemēram, hidrolizējot graudu cieti glikozē un fermentējot ar raugu mikroorganismiem, var iegūt līdzīgu iznākumu kā melases gadījumā [41], [127]. Literatūrā minēts, ka no cietes hidrolizātiem var iegūt rauga biomasu ar 50 % proteīnu saturu un labu ražību [59]. Tomēr cietes substrātu efektivitāti mazina priekšapstrādes izmaksas. Procesā jāpievieno enzīmi vai jātērē enerģija substrātu termiskai apstrādei, un tas pasliktina kopējo enerģijas bilanci. Labāka pieeja ir mikroorganismu kultūru sistēmas jeb kopienas, kas vienlaikus šķeļ un fermentē substrātu. Šādi var panākt, ka 1 kg cietes dod ap 0,5 kg sausas SCP biomasas, kas ir augsts rādītājs [117], [187], [188]. Cietes substrātu proteīna saturs mikroorganismu biomasā var būt ļoti augsts, ja pievieno slāpekļa sāļus. Piemēram, uz cietes barotnes *Rhodospseudomonas* baktērijas deva pat 67 % proteīnu biomasā [142], taču tas ir tikai viens piemērs. Lielākoties cietes atkritumos (graudu klijās, kartupeļu bumbuļu mizās) ir arī proteīni, tie nav tīri ogļhidrāti. Tas var palīdzēt mikroorganismiem sasniegt augstāku proteīna saturu galaproduktā. Cietes substrātus var uzskatīt par efektīviem, ja pieejama lēta hidrolīze.

**Lignocelulozes substrātu** efektivitāte ir zemāka nekā cukuru un cietes substrātiem, galvenokārt priekšapstrādes dēļ. Literatūrā minēts, ka no 1 kg lignocelulozes var iegūt 0,2–0,3 kg *SCP* biomasas [189]. Piemēram, *Pleurotus* sēnes spēj pārvērst salmus biomasā ar >60 % proteīna saturu [73], bet to ražība ir mērenāka un process lēnāks. Rūpnieciski efektīvāka var būt fermentācija, izmantojot hidrolizātus, kas nozīmē salmu sadalīšanu cukuros un fermentēšanu ar raugiem. Tad ražība būtu līdzīga kā cukura substrātos, bet jāatskaita lignīna zudumi un enzīmu izmaksas. Piemēram, no 1 tonnas salmu varbūt var iegūt līdz pat 300 kg rauga biomasas, kas satur 50 % jeb 150 kg proteīna [59]. Salīdzinājumam 1 tonna melases (kas satur ap 500 kg cukura) var dot līdz 250 kg rauga biomasas ar 50 % proteīna (aptuveni 125 kg proteīna) [41], [45]. Atšķirība nav milzīga, taču salmi paši nav viegli pārstrādājami, un nereti daudz substrāta nefermentējas pilnībā. Lignocelulozes fermentāciju bieži ierobežo arī substrāta koncentrācija – viskozais, cietās daļiņas saturošais materiāls nav piemērots darbam ar augstu sausnas koncentrāciju bioreaktoros, ierobežojot maksimālo šūnu blīvumu. Šī iemesla dēļ produkcijas koncentrācija var būt zema, un daudz enerģijas jāpatērē biomasas atdalīšanai no liela ūdens tilpuma. Kaut arī fermentācijas beigās biomasā var saturēt 40–60 % proteīna, iegūšanas grūtības ietekmē efektivitāti. Lignocelulozes substrātus var uzskatīt par vismazāk efektīvajiem no izmaksu un procesa ātruma viedokļa. Tie prasa vairāk laika, apstrādes un lielākas izmaksas, lai iegūtu vienu proteīna vienību [86], taču tie ir vispieejamākie blakusprodukti, kas motivē meklēt ražošanas tehnoloģiju uzlabojumus.

**Ar proteīnu bagāti substrāti** var dot visaugstāko proteīna iznākumu galaproduktā. Piemēram, fermentējot dzīvnieku ragu hidrolizātu, ir iespējams iegūt biomasu ar >65 % proteīna [114]. Arī zivju rūpniecības atkritumu fermentācija ir devusi 68 % proteīna iznākumu [190]. Tas nozīmē, ka mikroorganismu biomasas proteīna saturs var pat pārsniegt sākotnējā substrāta proteīna saturu, jo mikroorganismi integrē arī pievienotās barības vielas. Tomēr proteīna substrāti bieži satur daudz nefermentējamu komponentu, tāpēc atdeve var būt limitēta. Piemēram, no 1 kg spalvu iegūst 0,3 kg mikroorganismu biomasas un pārējais zūd neizmantots vai mineralizējas, bet iegūtajai biomasai būs ļoti augsts proteīna saturs. Tādējādi proteīna substrāti spēj dot visvairāk proteīna no masas vienības, ja vien spēj tos pilnībā hidrolizēt un izmantot. Procesā sarežģītība slēpjas fermentos, jo ir nepieciešamas specializētas proteāzes. Ja mikroorganismi tās spēj sintezēt paši fermentācijas gaitā, process būs lētāks. Piemēram, *Streptomyces* sugas aktinomicētes var noārdīt spalvas un vienlaikus augt [94]. Kopumā proteīnu substrātus var dēvēt par ļoti perspektīviem nišas lietojumiem, jo tie var dot produktu ar augstu proteīna koncentrāciju un mazināt specifisku atkritumu problēmu, bet tie nav tik plaši pieejami kā cukura

vai lignocelulozes substrāti un tiem jāpiemēro speciāli tehnoloģiski risinājumi.

**Glicerīns un gāzes** kā substrāti iezīmē modernās biotehnoloģijas virzienu, un to efektivitāti ir vērts skatīt atsevišķi no citiem blakusproduktiem. Glicerīns ir izšķīdināts substrāts, ko mikroorganismi izmanto ar augstu efektivitāti. Rezultāts var būt ap 0,5 g biomasas/g glicerīna, līdzīgi kā cukuriem bagātiem substrātiem [191]. Turklāt glicerīns satur trīs oglekļa atomus, un nav nepieciešama liela skābekļa patēriņa maiņa, tādēļ raugi uz glicerīna var dot augstu šūnu blīvumu. Tas padara glicerīna fermentāciju ļoti produktīvu. Līdz ar to glicerīnu var uzskatīt par ļoti efektīvu *SCP* substrātu, ja nodrošina piemaisījumu kontroli un saglabā procesu aerobi stabili (jo glicerīns mēdz veicināt viskozitāti). Metānu un metanolu – gāzveida un šķidrā C1 avotu – izmanto specifiskos bioreaktoros, piemēram, ar gāzesplūsmas bioreaktoriem. Metāna biomasas ražīgums industriālajos procesos ir vērā ņemams, jo no 1,0 kg metāna var iegūt aptuveni 0,6 kg *SCP* biomasas [192]. Metāna fermentācijā gan ir jāpievada skābeklis (metāna oksidācijai), kas padara procesu potenciāli sprādzienbīstamu, ja nav precīzas procesa kontroles, tādēļ tehnoloģijās izmanto vai nu ļoti atšķaidītas gāzes vai īpašas drošības sistēmas. Efektivitāte šobrīd nav tik augsta kā, piemēram, melases-rauga procesam, bet turpinās darbs, lai šo tehnoloģiju attīstītu.

Kā redzams, nav viena absolūti labākā substrāta – katram ir savi plusi un mīnusi, tādēļ substrāta izvēle *SCP* ražošanā parasti balstās kompromisā starp vietējo pieejamību, cenu un pārstrādes izmaksām. Izvēloties optimālo substrātu, jāņem vērā substrāta pieejamība konkrētajā reģionā, nepieciešamā priekšapstrāde un tās izmaksas, transportēšanas izmaksas, jo substrāti bieži ir lētāki tikai vietējā mērogā, iespējamā biomasas koncentrācija un ražība, ko uz šī substrāta var iegūt, proteīna koncentrācija un kvalitāte, fermentācijas procesa uzturēšanas izmaksas (enerģija, skābeklis, dzesēšana, ja vajag atbrīvoties no fermentācijas siltuma), biomasas atdalīšanas un attīrīšanas veidi, galprodukta drošība un tīrība. Piemēram, ja substrāts ir šķidrums atšķaidīts (kā notekūdeņi), izaicinājums būs liela apjoma apstrāde un biomasas filtrēšana. Ja substrāts ir gāze, jānodrošina ātra šķidrums-gāzes masas pārnese un drošība [193]. Tieši šīs inženiertehniskās detaļas nosaka reālo efektivitāti, kas var atšķirties no teorētiski noteiktās.

## 2.4. Gadījuma izpēte – substrāta izvēle *SCP* ražošanai

Substrāta izvēle *SCP* ražošanā balstās tā pieejamībā, uzturvērtībā, izmaksās un praktiskumā. Veiktajā gadījuma izpētē kā galvenie

substrāta izvērtēšanas kritēriji noteikti tehniskie, vides, kvalitātes un ekonomiskie parametri [185]. Novērtēti astoņi dažādi alternatīvi substrāti, kurus var izmantot kā oglekļa vai slāpekļa avotu: glicerīns (no biodegvielas ražošanas), salmu hidrolizāts (lauksaimniecības atkritumi), melase, kartupeļu ciete un biežumi, augļu, zivju atliekas un lietota cepamēļa (no pārtikas pārstrādes nozarēm).

Izvēlētie substrāti būtiski atšķiras sastāva, struktūras, tekstūras, sarežģītības un citu aspektu ziņā. Melase, augļu atkritumi un salmu hidrolizāts ir bagāti ar monosaharīdiem un disaharīdiem. Savukārt augļu atliekas, kas satur daudz šķiedrvielu, un kartupeļu pārpalikumi ir bagāti ar strukturālajiem polisaharīdiem [194]. Polisaharīdu avotus ir sarežģītāk iekļaut barotnēs nekā substrātus, kas bagāti ar vienkāršajiem cukuriem. Bieži vien nepieciešama šo substrātu priekšapstrāde vai arī mikroorganismam jābūt spējīgam tos hidrolizēt. Dažiem mikroorganismiem var būt grūti izmantot polisaharīdus kā barības avotu, ja tie nespēj producēt vajadzīgos enzīmus vai ja optimālie augšanas un enzīmu darbības apstākļi atšķiras, padarot neiespējamu šo darbību vienlaicīgu norisi [195]. Šajā pētījumā desmit kritēriju

## 2.2. tabula.

Agroindustriālo blakusproduktu rādītāji un aprēķinātie kritēriju svāri [185]

Kritēriji	Mērvienība	Ietekme
<b>Tehniskie</b>		
Sagaidāmā mikrobiālās biomasas raža	$g \cdot g^{-1}$	0,11
Sagaidāmais olbaltumvielu saturs mikrobiālajā biomasā	%	0,13
Vidējais mikrobiālās biomasas ražošanas ātrums	$g \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$	0,14
<b>Vides</b>		
Substrāta pieejamība	Milj. t gadā <sup>-1</sup>	0,06
pH līmeņa starpība, izteikta kā ūdeņraža jonu koncentrācijas izmaiņas	$\Delta[H^+]$	0,04
Klimata pēdas nospiedums	$kg \cdot CO_2e \cdot kg^{-1}$	0,03
Bioķīmiskais metāna potenciāls (BMP)	$mL \cdot CH_4 \cdot gVS^{-1}$	0,02
<b>Kvalitātes</b>		
Monosaharīdu un disaharīdu un polisaharīdu attiecība	$\% \cdot \%^{-1}$	0,13
Glicerīna un taukskābju saturs	%	0,13
Vitamīnu koncentrācija substrātā	%	0,04
<b>Ekonomiskie</b>		
Uzglabāšanas izmaksas	-	0,02
Substrāta priekšapstrādes izmaksas	EUR t <sup>-1</sup>	0,05
Substrāta cena	EUR t <sup>-1</sup>	0,09
$\Sigma$		1

vērtības, piemēram, paredzamais mikroorganismu biomasas daudzums, paredzamais olbaltumvielu saturs biomasā, vidējais biomasas ražošanas ātrums, substrāta pieejamība, klimata ietekmes rādītājs, bioķīmiskais metāna potenciāls (BMP), glicerīna un taukskābju saturs, vitamīnu koncentrācija substrātā, substrāta cena un priekšapstrādes izmaksas, tika iegūtas no zinātniskās literatūras (2.2. tabula) [185].

pH līmeņu atšķirības aprēķinātas, atņemot mikroorganismam un substrātam nepieciešamo pH līmeņu izteiktās vērtības jonu koncentrācijās. Šis faktors ir būtisks vairāku iemeslu dēļ, piemēram, enzīmu aktivitātei, kas ir kritiska bioķīmiskajām reakcijām, jo enzīmi darbojas noteiktā optimālā pH diapazonā. Novirzes no šī diapazona var samazināt enzīmu efektivitāti vai izraisīt to denaturāciju. Mikroorganismos pH ietekmē arī vielmaiņas ceļus un metabolītu sintēzi, tādēļ piemērota pH līmeņa noteikšana un uzturēšana ir būtiska, lai maksimizētu ražu un produktu kvalitāti fermentācijas un citos biotehnoloģiskajos procesos [191], [196].

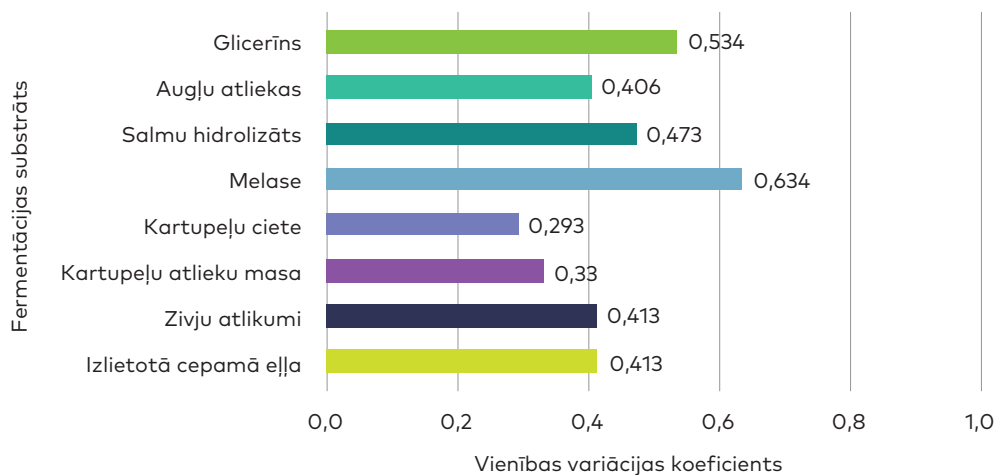
Klimata ietekmes rādītājs ( $\text{kg CO}_2$  ekv.  $\text{kg}^{-1}$ ) apzīmē kopējo siltumnīcefekta gāzu emisiju daudzumu, kas saistīts ar produkta vai procesa ražošanu, izmantošanu vai utilizāciju uz vienu kilograma vienību. Šī rādītāja izpratne ir būtiska, lai izvērtētu dažādu tehnoloģiju vai procesu ilgtspējību. Tas palīdz salīdzināt un izvēlēties videi draudzīgākas alternatīvas.

BMP ( $\text{mL CH}_4$  g  $\text{VS}^{-1}$ ) norāda metāna daudzumu, ko iespējams iegūt no konkrēta organisko atkritumu daudzuma. Tas raksturo, cik efektīvi konkrēto atkritumu materiālu var pārveidot metānā. Augstāks BMP nozīmē lielāku biogāzes ražošanas potenciālu, ko var izmantot enerģijas ieguvei, tādējādi samazinot fosilo kurināmo izmantošanu [197], [198].

Derīguma termiņš un enerģijas patēriņš uzglabāšanai novērtēti, ņemot vērā, vai substrātu iespējams uzglabāt istabas temperatūrā (1), aukstumkamerā (5) vai saldētavā (10). Šīs vērtības noteiktas, balstoties noliktavu nomas cenās un enerģijas izmaksās: uzglabāšana istabas temperatūrā ir aptuveni piecas reizes lētāka nekā aukstumkamerā, savukārt saldētavas izmantošana ir divas reizes dārgāka nekā uzglabāšana aukstumā [199].

Tā kā mikroorganismiem ir atšķirīgas spējas patērēt noteiktus substrātus, tehniskie faktori (paredzamā biomasas raža, paredzamais proteīna saturs biomasā un vidējais biomasas ražošanas ātrums), kā arī pH līmeņa atšķirības tika pielāgotas atbilstošajās tabulās, proti, tika izveidotas atsevišķas matricas sēnēm un baktērijām. MCDA rezultāti parādīti 2.5. un 2.6. attēlā.

Abos attēlos redzams, ka alternatīvu sarindojumā pirmās trīs un pēdējās divas alternatīvas saglabā identisku pozīciju. Savukārt raugiem un sēnēm, kas izmantoja lietotu cepamēļļu, zivju pārstrādes atkritumus un augļu atliekas, tika iegūti līdzīgi vienotie relatīvās novirzes rādītāji, taču baktēriju gadījumā secība bija atšķirīga,



### 2.5. attēls.

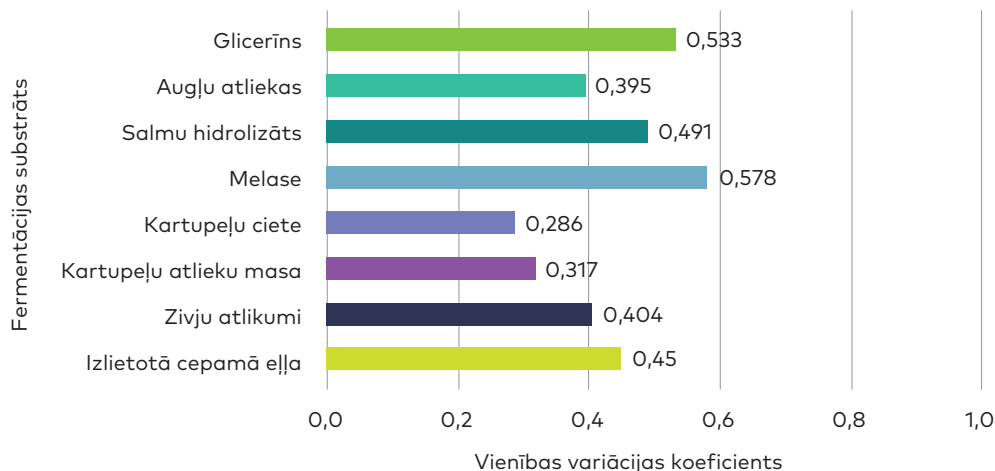
*TOPSIS* rezultāti par substrātu alternatīvām sēnēm [185].

norādot uz atšķirībām substrātu izmantošanas efektivitātē starp dažādiem mikroorganismu veidiem.

*TOPSIS* rezultāti abos attēlos parāda, ka melase ir vislabākā atkritumu izcelsmes substrāta alternatīva, ko varētu izmantot kā barības vielu *SCP* ražošanā. No praktiskā viedokļa, melasi ir viegli iestrādāt kultivēšanas vidē, pateicoties tās šķidrājai formai un šķīdībai. Tai nav nepieciešama priekšapstrāde [194]. Melase satur aptuveni 50 % saharozes un glikozes, ko mikroorganismi var viegli izmantot [200], [201], [202], tādējādi nodrošinot augstu biomasas pārveidošanās efektivitāti. Ir veikti pētījumi, kuros raugi, sēnes un baktērijas tika audzēti, izmantojot melasi kā substrātu dažādu produktu ražošanai [200], [201], [203], [204], [205], [206]. Fakts, ka no melases iespējams iegūt vairākus produktus ar pievienoto vērtību, var radīt konkurenci, tādēļ būtu jāizvērtē ekonomiskajā aspektā, kurš produkts būtu

### 2.6. attēls.

*TOPSIS* rezultāti par substrātu alternatīvām baktērijām [185].



vērtīgāks ražošanai. Problēmas var sagādāt uzglabāšana un transportēšana [200]. Lai gan substrāts nav jāsasaldē, tas jāuzglabā ledusskapī. Melase ieguva tik augstu vērtējumu, jo tās izmantošanas rezultātā tika panākta augsta biomasas ( $0,635 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) un proteīna (54,3 %) raža [206].

Glicerīnu bieži izmanto mikroorganismu kultivēšanai [202], [207], [208]. To ir viegli uzglabāt un izmantot mikrobu barotnēs. Neattīrītais glicerīns, kas paliek pāri biodīzeļdegvielas ražošanas procesā, varētu būt pievilcīga alternatīva attīrītajam glicerīnam [209]. MCDA rezultāts šim substrātam varētu būt zemāks nekā melasei, jo publicētie dati par augstu biomasas un proteīna ražu, izmantojot partijas fermentāciju, ir ierobežoti. Visaugstākā atrastā biomasas raža bija  $21,8 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  [210], lai gan ar optimizētu procesu būtu iespējams sasniegt augstākus rezultātus. Piemēram, Pan u. c. [211], izmantojot piebaroto (*fed-batch*) fermentāciju ar glicerīnu, ieguva  $173,3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$  biomasas, kas liecina par lielu šī atkritumprodukta izmantošanas potenciālu. Lai arī *Odriosolla dos Santos* u. c. (2012) pētījumā tika sasniegta zema biomasas raža, ražošanas efektivitāte bija augsta –  $0,73 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ , proteīna koncentrācija – 43 % [210]. Izmantojot glicerīnu baktēriju kultivēšanai, tehniskie kritēriji parādīja, ka glicerīnam ir visaugstākais vidējais biomasas ražošanas ātrums –  $0,49 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  [212], otrā labākā prognozētā biomasas raža –  $0,289 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$  [213], un zemākais prognozētais proteīna saturs biomasā – 39 % [214]. Līdzīgi kā raugam, arī šeit iespējama audzēšanas procesa optimizācija, lai sasniegtu augstākus rezultātus.

Lai gan salmu hidrolizātam ir līdzība ar melasi (augsts cukuru saturs, viskozitāte un laba šķīdība barotnē), tā priekšapstrādes izmaksas ir ļoti augstas [215]. Priekšapstrāde ir būtisks atkritumu substrātu izmantošanas posms [216]. Tādas izejvielas kā augļu, rapšu sēkļu un alus ražošanas pārpalikumi var priekšapstrādāt ar skābes, sārma vai enzīmu hidrolīzi [215], [217], [218], [219], savukārt salmu hidrolizāta iegūšanai iespējama arī tvaika sprādziena metode [220]. Pārtikas un alus rūpniecības atkritumu substrātu hidrolīzei sēņu izmantošana var būt arī videi draudzīga un ekonomiski izdevīga alternatīva [195], [221], [222].

Teorētiski kartupeļu ciete ir piemērots substrāts SCP ražošanai, taču tās fizikāli ķīmiskās īpašības, īpaši želatinizācija, padara to grūti izmantojamu mikroorganismu barotņu sagatavošanā [223]. Termiskās apstrādes laikā šķidrā vidē notiek želatinizācija, kā rezultātā cietes molekulas uzbriest un ievērojami palielinās vides viskozitāte [224], kas padara substrātu nepraktisku lietošanā. Želatinizācijas un augstās viskozitātes dēļ mikroorganismiem ir apgrūtināta substrāta sagremošana [225]. Lai procesu uzlabotu, nepieciešams vai nu mikroorganisms ar augstu amilāzes ražošanas spēju, vai arī cietes šķīduma enzīmiska hidrolīze [194], [226]. Tā kā ciete ir vērtīga pārtikas rūpniecības izejviela, tās cena ir augstāka, salīdzinot ar citiem substrātiem, tādējādi samazinot tās relatīvo izvēles vērtību. Salīdzinājumā ar cieti

kartupeļu izspaidu substrāts uzrādījis augstāku proteīna ražu, bet sliktākus rezultātus biomasas iznākumā un ražošanas ātrumā [227]. Šim substrātam ir sarežģītāka struktūra, tādēļ mikroorganismiem nepieciešams ilgāks laiks tā noārdīšanai. Tomēr, tā kā kartupeļu izspaidas nekonkurē ar pārtikas ķēdi, tā ir daudz lētāka izejviela, kas nodrošina būtisku priekšrocību pār citi.

Izmantota cepameļļa, zivju pārpalikumi un augļu atliekas saglabāja līdzīgu pozīciju rangū sarakstā, un to *TOPSIS* vērtējumi bija līdzīgi. Katram no šiem substrātiem piemīt savas priekšrocības un trūkumi. Zivju pārpalikumu un cepameļļas priekšrocība ir to lietošanas vienkāršība barotnes sastāvā. Salīdzinājumā ar citiem substrātiem šie ir salīdzinoši lēti, lai gan tiem pastāv konkurence ar citiem lietojuma veidiem, piemēram, biometāna ražošanu, ņemot vērā to augsto bioķīmisko metāna potenciālu [196]. *Bacillus spp.* kultivēšanā, izmantojot lietotu cepameļļu, tika iegūti nedaudz augstāki rezultāti sagaidāmajā biomasas ražā un vidējā biomasas ražošanas ātrumā salīdzinājumā ar zivju atliekām [228], [229]. Savukārt attiecībā uz proteīna ražu datu bija ļoti maz. Konkrēti baktēriju proteīna ražas aprēķiniem, kad par oglekļa avotu izmantota lietota cepameļļa, netika atrastas uzticamas publikācijas, kas norāda uz būtisku pētījumu trūkumu šajā jomā. Rauga kultivēšanā, izmantojot lietotu cepameļļu, konstatēts viens no zemākajiem proteīna satura rādītājiem – tikai 12,6 % [230]. Tomēr procesu optimizācija varētu veicināt proteīna biosintēzi mikroorganisma biomasā. Vienlaikus lietota cepameļļa var radīt problēmas, jo tās sastāvā bieži ir toksiski savienojumi, kas veidojas termiskās apstrādes laikā. Jāizvēlas tādi mikroorganismi, kas spēj vai nu uzkrāt, vai pārveidot šos toksīnus, padarot viensūnu proteīnu drošu izmantošanai dzīvnieku barībā [230].

## 2.5. Mikroorganisma un substrāta savstarpējā saderība

Kad substrāts ir izraudzīts, tikpat būtiski ir izvēlēties piemērotu mikroorganismu, kas spēj efektīvi šo substrātu pārveidot vēlamajā produktā. Mikroorganisma un substrāta saderība ietver vairākus aspektus. Būtiskākie no tiem ir:

- mikroorganisma metabolisma spektrs jeb spēja izmantot substrāta galvenās sastāvdaļas kā barības avotu;
- tolerance pret iespējamajiem inhibitoriem vai kaitīgām vielām, kas varētu būt substrātā;
- nepieciešamā oglekļa un slāpekļa attiecība (C:N attiecība) optimālai augšanai vai produktu sintēzei;
- mikroorganisma skābekļa patēriņš un prasības attiecībā uz aerāciju;

- iegūtās biomasas atdalīšanas un apstrādes vienkāršība pēc fermentācijas.

Pareiza mikroorganisma saderība ar substrātu ļauj paaugstināt galaprodukta ražības rādītājus un izvairīties no tehnoloģiskām problēmām ražošanas gaitā.

**Metabolisma spektrs.** Dažādi mikroorganismi spēj izmantot atšķirīgus oglekļa un enerģijas avotus, tādēļ substrāta izvēle tieši ierobežo mikroorganismu kandidātu loku. Piemēram, ja substrāts ir laktozi saturošas sūkalas, tad nepieciešams mikroorganisms, kas spēj šķelt un asimilēt laktozi. Ja substrāts ir bagāts ar cieti, piemēram, kartupeļu vai graudu pārstrādes atkritumi, mikroorganismam jāspēj izdalīt amilolītiskos enzīmus vai arī ciete jāpārstrādā cukuros pirms fermentācijas. Visizaicinošākie ir ar lignocelulozi bagātie substrāti, piemēram, koksnes, salmu pārpalikumi, jo celuloze un lignīns dabiskā veidā mikroorganismiem ir grūti pieejami. Šādos gadījumos parasti nepieciešama mehāniska, termiska vai enzimatiska priekšapstrāde, lai sarežģītākus polimērus sašķeltu vienkāršākos cukuros. Priekšapstrāde tomēr var būt dārga un resursietilpīga. Pētījumos minēts, ka lignocelulozes hidrolīzes efektivitāte pat modernās tehnoloģijās nepārsniedz 60 %, tātad mazāk nekā divas trešdaļas substrāta biomasas tiek pārvērstas fermentējamos cukuros [231]. Piemēram, bērza koksnes hidrolizāts nodrošināja labu *SCO* ražu oleagīnam mikroorganismam *Aurantiochytrium sp.* (11,24 g/L biomasa ar 5,9 g/L eļļas, no kuras 35,8 % dokozaheksaēnskābe (*DHA*)), tomēr, lai to panāktu, bija barotnei jāpievieno papildu slāpekļa avots un jāuztur optimāla oglekļa un slāpekļa attiecība [232]. Ja substrātam ir nepieciešama sarežģīta apstrāde (piemēram, koksnes šķelšana, neapstrādāta glicerīna attīrīšana no piemaisījumiem utt.), ir jāizvērtē, vai nav pieejams mikroorganisms, kas dabiski spēj šo substrātu izmantot ar minimālu sagatavošanu pirms fermentēšanas. Piemēram, daži *Schizochytrium* ģints pārstāvji spēj efektīvi augt uz neattīrīta glicerīna [233]. Šī suga izrādījās toleranta glicerīna piemaisījumiem (metanolam, sāļiem u. c.), jo ražas ziņā neatpalika no audzēšanas tīrā glikozē [233], [234]. Pretstatā tam, citi substrāti var saturēt inhibitorus, kas kavē mikrobu augšanu. Piemēram, lignocelulozes hidrolizātos bieži atrodami furāni, fenola savienojumi, organiskās skābes, kas rodas koksnes šķelšanas procesā. Ja plānots izmantot šādu substrātu, jāizraugās mikroorganisms, kam ir augsta tolerance pret minētajām vielām, vai arī jāiekļauj hidrolizāta attīrīšanas solis, kas gan var palielināt ražošanas procesa kopējās izmaksas. Tāpat jāņem vērā, ka daži rūpnieciskie blakusprodukti, piemēram, rūpnieciskie notekūdeņi, var saturēt smagos metālus vai dezinfekcijas līdzekļu atliekas. Mikroorganismi pret šādiem toksīniem var būt ļoti jutīgi, tādēļ substrāta kvalitātes monitorings un iepriekšēja attīrīšana ir daļa no *SCP* ražošanas procesa izstrādes.

**C:N attiecība.** Oglekļa un slāpekļa attiecība substrātā un barotnē būtiski ietekmē, vai mikroorganisms galvenokārt ražos olbaltumvielu bagātu biomasu vai uzkrās lipīdus. Parasti oleagīnie mikroorganismi (tie, kas spēj uzkrāt eļļu) efektīvāk sintēzē taukus, kad slāpekļis ir ierobežojošais faktors barotnē. Tāds veidojas, kad pieejams daudz oglekļa, piemēram, cukura, bet trūkst slāpekļa. Mikroorganismu šūnas pārtrauc dalīšanos un sāk uzkrāt rezerves oglekļa produktus, galvenokārt triglicerīdus. Tas ir iemesls, kāpēc VSE ražošanā bieži izmanto stratēģiju ar augstu C:N attiecību substrātā un barotnē. Ja mērķis ir iegūt galaproduktu, kas satur vairāk eļļas, tad barotnei jā satur lieks oglekļa daudzums attiecībā pret slāpekļa daudzumu. Tomēr pārlietu augsta C:N attiecība var samazināt kopējo biomasas iznākumu (šūnas neaug, tikai uzkrāj taukus), tāpēc praksē bieži tiek meklēts kompromiss vai divpakāpju process. Procesa sākumā audzē mikroorganismu biomasu pie mērenas C:N attiecības, tad ievada papildu oglekļa avotu, lai veidotos oglekļa pārsvars lipīdu akumulācijai. Savukārt SCP ražošanā mērķis ir maksimizēt šūnu augšanu un proteīna saturu, tāpēc jānodrošina optimāla vai nedaudz zemāka C:N attiecība, lai lieki neveicinātu taukskābju sintēzi. Tajā pašā laikā jāvēro, lai neveidotos slāpekļa pārpalikums barotnē, kas var radīt piesārņojumu. Ja izvēlētais substrāts pats nesatur pietiekami slāpekļa (piemēram, glicerīns vai celulozes hidrolizāts praktiski ir bez organiskā slāpekļa), barotnei jāpievieno amonija sāļi, urīnviela, rauga ekstrakts vai citi slāpekļa avoti, lai sasniegtu vajadzīgo C:N attiecību [201], [235]. Minētajā koksnes hidrolizāta piemērā, lai nodrošinātu pietiekamu slāpekļa līmeni *Aurantiochytrium* augšanai, tika pievienots rauga ekstrakts [236]. Plānojot procesu, inženieriem jāaprēķina un jāneregulē C:N attiecība atbilstoši izvēlētam mikroorganisma vajadzībām un produkta mērķim.

**Skābekļa vajadzības.** Lielākā daļa viensūnu proteīna un eļļas iegūšanai izmantoto mikroorganismu ir aerobi, un tiem ir nepieciešams skābeklis, lai efektīvi metabolizētu substrātu un sintezētu nepieciešamos produktus. Tas nozīmē, ka fermentācijas iekārtā jānodrošina adekvāta aerācija un maisīšana. Nepietiekamas skābekļa padeves gadījumā var samazināties augšanas ātrums un īpaši polinepiesātināto taukskābju (piemēram, *DHA*) īpatsvars eļļā, jo to enzimatiskajām reakcijām vajadzīgs skābeklis. Lielākā ražošanas mērogā nereti nākas izmantot jaudīgas maisīšanas un gaisa padeves sistēmas, pat tīra skābekļa ievadi bioreaktorā, kas palielina enerģijas patēriņu. Mikroorganismu skābekļa patēriņš dažādiem mikroorganismu veidiem atšķiras. Raugi un pelējumi parasti augstā substrāta koncentrācijā ļoti strauji iztērē izšķīdušo skābekli, tāpēc barotne intensīvi jāmaisā. Daži baktēriju procesi var notikt arī zemākā skābekļa līmenī, tomēr SCP/SCO kontekstā lielākoties izvēlētais sugas ir strauji augošas un tām vajadzīga laba aerācija. Tas jāņem vērā, plānojot fermentācijas tilpnes dizainu. Piemēram, bioreaktora tilpuma/

gaisa padeves attiecība un skābekļa padeves efektivitāte jānodrošina tāda, lai pat maksimālās respirācijas fāzēs skābeklis nekļūtu par limitējošo faktoru.

**Audzētās biomasas atdalīšanas vienkāršums.** Pēc fermentācijas procesa pabeigšanas parasti ir jāatdala mikroorganismu biomasas. Dažādu mikroorganismu morfoloģija un šūnu lielums var ievērojami atvieglot vai apgrūtināt šo soli. Piemēram, raugi (5–10 μm lielas šūnas) un baktērijas (1–5 μm) veido sīkas suspensijas, kuras bieži jācentrifugē lielā ātrumā vai jānogulsnē, pievienojot flokulantus, jo tās pašas par sevi slikti sedimentē. Turpretī daudzi pelējumu sēņu paveidi veido makroskopiskus micēlija pavedienus vai granulētas kopas, kuras var salīdzinoši viegli nofiltrēt vai nostādināt. Piemēram, *Fusarium venenatum* (pelējums, no kura ražo mikoproteīna produktu "Quorn") veido 0,5–1 mm granulas, kas ļauj nepārtrauktā procesā caur sietu atdalīt daļu biomasas un ievadīt barotni turpmākai augšanai [237]. Arī *Schizochytrium* kultūra var veidot salīpumus. Savukārt mikroaļģes, piemēram, vienšūnas hlorofīti, diatomijas, bieži ir ļoti sīkas un ar gludu virsmu, tās nedrīkst piesārņot barību, tāpēc to novākšana prasa energoietilpīgu centrifugēšanu vai filtrēšanu ar ļoti smalkiem filtriem. Ja mērķprodukts ir SCP dzīvnieku barībai, svarīgi, lai iegūto mikroorganismu biomasu varētu viegli un lēti atdalīt, žāvēt un apstrādāt. Te priekšrocības ir raugiem un sēnēm, kuras var atdalīt un žāvēt ar izsmidzināšanas vai cilindrisko žāvētāju metodēm, iegūstot proteīna miltus. Ja mērķis ir iegūt vienšūnu eļļu, tad biomasas pēc ražas novākšanas jāpakļauj ekstrakcijai, kas var būt mehāniska vai ar šķīdinātājiem. Eļļas ražošanas gadījumā ir svarīgi, lai mikroorganismu šūnu sienīgas nav pārāk izturīgas. Piemēram, raugu un mikroskopisko sēņu atlipināšanai izmanto preses vai ķīmiskus šķīdinātājus, bet, ja mikroorganismi ir grampozitīvas baktērijas ar ļoti izturīgām sienām, eļļas iegūšana var būt sarežģītāka. Plānojot procesu, šie faktori iepriekš jāizvērtē. Jāpiebilst, ka vienmēr pastāv kompromiss starp mikroorganisma ražības rādītājiem un apstrādes vienkāršību. Piemēram, mikroskopiskās aļģes var sintezēt ļoti daudz DHA, bet to novākšana un žāvēšana ir dārga. Pretstatā raugi dod nedaudz mazāku DHA saturu, toties tos vieglāk integrēt esošās rūpnieciskās ražošanas līnijās.

**Inhibitoru radīšanas risks un drošums.** Mikroorganisma izvēlē jāņem vērā arī potenciālie blakusprodukti, ko tas var sintezēt, un to ietekme uz galaprodukta drošumu. Piemēram, daži pelējumi noteiktos apstākļos var producēt mikotoksīnus, kas ir nevēlami dzīvnieku barībā. Šī iemesla dēļ rūpīgi jāizstrādā mikroorganismu audzēšanas apstākļi un jākontrolē, lai netiktu inducēta toksīnu biosintēze. Labs piemērs ir pētījums par *Paecilomyces variotii* un *Fusarium venenatum* audzēšanu uz biomasas atlikumiem. Tajā analīzes apliecināja, ka iegūtajā produktā nebija konstatējami bīstamie mikotoksīni [231]. Arī zivju piebarošanas eksperimenti nerādīja negatīvu ietekmi. Šie

rezultāti dod pārlicību, ka atbilstoši izvēlēts mikroorganisms un pareizi kontrolēts process var no blakusproduktiem radīt drošu un kvalitatīvu barību. Mikroorganismu drošumam svarīga arī ģenētiskā identitāte. Priekšroka parasti tiek dota sugas celmiem, kuri ir klasificēti kā *GRAS* (vispāratzīti kā droši pārtikā/barībā). Ja tiek apsvērta ģenētiski modificētu mikroorganismu izmantošana, jāņem vērā papildu regulatīvās prasības un sabiedrības uztvere [238], [239], [240].

## 2.6. Gadījuma izpēte – mikroorganismu izvēle SCP ražošanai

Mikroorganismu izvēle SCP ražošanai pamatā balstās vairākos tehniskos un kvalitātes kritērijos. Par svarīgākajiem uzskatāmi augšanas un ražīguma rādītāji, kopējā proteīna saturs un neaizstājamo aminoskābju saturs biomasā, kā arī mikroorganisma spēja izmantot dažādus barības substrātus.

Šajā gadījuma izpētē [185] mikroorganismu celmu izvērtēšanai tika izvēlētas divpadsmit alternatīvas, no kurām četras bija baktērijas (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus acidophilus*), četras – sēnes (*Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Paecilomyces variotii*, *Fusarium venenatum*) un četras – raugi (*Candida tropicalis*, *Candida utilis*, *Yarrowia lipolytica*, *Phaffia rhodozyma*). Celmu izvēle šajā pētījumā balstījās iepriekš veiktos pētījumos un pārskatos [235], [194], [226]. Šie celmi ir parādījuši spēju sintezēt ievērojamu biomasas daudzumu ar olbaltumvielu saturu līdz pat 71 % no sausnas [226]. Turklāt tie spēj kā barības avotu izmantot dažādus lētus substrātus, kas ir būtiska priekšrocība SCP ražošanā. Tā kā *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* un *Candida tropicalis* nav piešķirts *GRAS* (vispāratzīts kā drošs) statuss, šie trīs mikroorganismi tika izslēgti no alternatīvu saraksta, lai izvairītos no tāda mikroorganisma izvēles, kura izmantošana barībā varētu radīt problēmas un izaicinājumus saistībā ar drošuma pierādīšanu. Dažādie mikroorganismu celmi tika novērtēti pēc desmit kritērijiem (2.3. tabula).

Kritēriju datu vākšanai izmantoti periodiskās (*batch*) fermentācijas parametri, izslēdzot nepārtrauktās vai piebaroto (*fed-batch*) fermentācijas datus, lai palielinātu rezultātu salīdzināmību starp dažādām mikroorganismu sugām, jo daudziem no tiem šādi dati nebija pieejami. Izmantota tikai informācija par dabiskajiem (*wild-type*) celmiem, bet dati par mutantiem vai ģenētiski modificētiem organismiem netika iekļauti.

Lielākā daļa kvantitatīvo kritēriju vērtību iegūta no zinātniskās literatūras. Prognozētā olbaltumvielu koncentrācija biomasā

### 2.3. tabula.

Mikroorganismu izvēles kritēriju rādītāji un AHP aprēķinātie svari [185]

Kritēriji	Mērvienība	Ietekme
<b>Tehniskie</b>		
Olbaltumvielu saturs	% no kopējās biomasas	0,22
Ražas efektivitāte	g biomasas g barotnes <sup>-1</sup>	0,07
Olbaltumvielu ražošanas ātrums	g biomasas L barotnes <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	0,18
Aptuvenā mutagēnās rezistences pakāpe (EMS koncentrācija ar izdzīvošanas rādītāju no 10 % līdz 1 % un iedarbības laiku no 15 līdz 60 minūtēm)	M	0,02
<b>Kvalitātes</b>		
Neaizstājamo aminoskābju (EAA) saturs	% no kopējā olbaltumvielu daudzuma	0,16
Nukleīnskābju saturs	%	0,04
Sagremojamība	%	0,11
<b>Ekonomiskie</b>		
Ieņēmumi no metabolīta ražošanas, izmantojot 50 L reaktoru	EUR dienā <sup>-1</sup>	0,05
Enerģijas patēriņš 50 L reaktora sildīšanai	Wh	0,04
Potenciālie ieņēmumi no 50 L reaktora	EUR dienā <sup>-1</sup>	0,11
	Σ	1

(%) ir izteikta kā literatūrā norādītais olbaltumvielu daudzums sausnas biomasā; pārveides efektivitāte (g biomasas uz 1 g barotnes sausnas) – mikroorganisma spēja pārvērst barības vielas biomasā; olbaltumvielu produktivitāte (g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>) – produkta ražošanas ātrums; neaizstājamo aminoskābju (EAA) saturs izteikts kā procentuāla daļa no kopējā olbaltumvielu daudzuma, un tas ir būtisks rādītājs produkta kvalitātes noteikšanai (jo lielāka koncentrācija, jo augstāka kvalitāte). Nukleīnskābju saturs (%) – nukleīnskābju daudzums, izteikts kā sausnas masas procents. Kā minēts literatūrā, sagremojamība (%) norāda, cik labi olbaltumvielas var tikt sašķeltas, absorbētas un izmantotas dzīvnieku, galvenokārt zivju, organismā. Olbaltumvielu sagremojamība raksturo, cik efektīvi organisms var sadalīt olbaltumvielas atsevišķās aminoskābēs un uzsūkt tās caur gremošanas traktu. Jo augstāka sagremojamība, jo lielāka ir olbaltumvielu un citu uzturvielu izmantojamība augšanai, organisma uzturēšanai un vispārējai veselībai.

Aptuvenā mutagēnā rezistence izteikta kā EMS (etilmētānsulfonāta) koncentrācija (molāros), kas nodrošina 10 % līdz 1 % izdzīvošanas līmeni 15 līdz 60 minūšu ilgā iedarbībā. Tā ir mutagēna deva, kas nepieciešama, lai izraisītu izmaiņas celmā. Šī parametra noteikšana ir būtiska, uzsākot testus laboratorijā, jo dažādiem

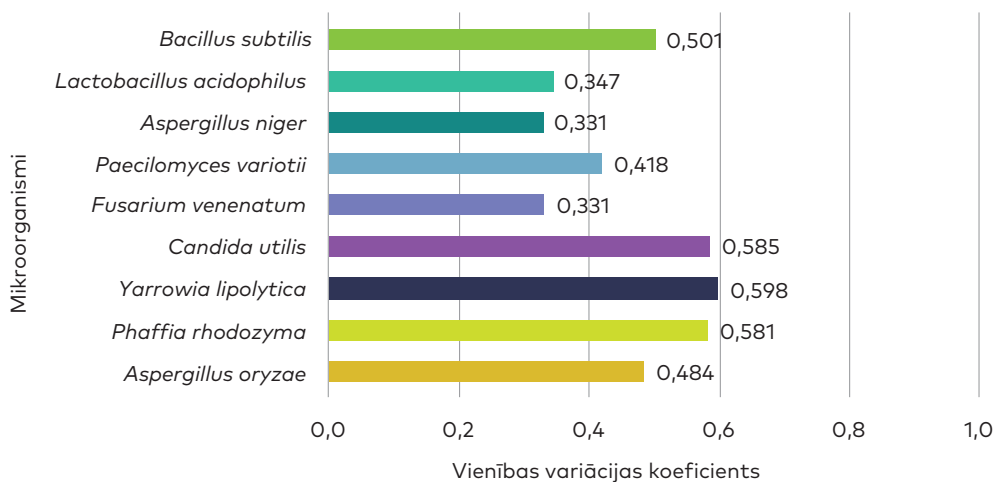
mikroorganismu celmiem ir atšķirīgs rezistences pret EMS līmenis. Zinot piemēroto koncentrāciju, pētnieki var pielāgot mutagēno apstrādi konkrētajam celmam, izvairoties no pārmērīgas vai nepieciešamas iedarbības.

Izvērtējot alternatīvas, ekonomiskie rādītāji aprēķināti ekonomiskie rādītāji. Aptuvenie ieņēmumi no rūpnieciskās kvalitātes metabolītu ražošanas, izmantojot 50 L bioreaktoru (EUR gadā), kā arī ieņēmumi no metabolītu ražošanas un potenciālie ienākumi tika aprēķināti, reizinot produkta iznākumu (ražā  $\text{g L}^{-1}$  un fermentācijas laiks stundās) ar tā tirgus cenu (EUR  $\text{g}^{-1}$ ). Pieņemts, ka reaktors darbojas 275 dienas gadā, lai noteiktu, cik daudz partiju var saražot gada laikā. Savukārt enerģijas patēriņš, kas nepieciešams 50 L reaktora uzsildīšanai (Wh), aprēķināts, ņemot temperatūras starpību starp vajadzīgo temperatūru un pieņemto krāna ūdens temperatūru ( $13\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), to reizinot ar ūdens siltumietilpību  $4,184\text{ J kg}^{-1}\text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$ . Rezultāti parādīti 2.7. attēlā

Visas trīs rauga sugas uzrādīja visaugstāko potenciālu SCP ražošanai, ierindojoties līdzīgi vērtējumā. No baktēriju sugām augstāku vienotās variācijas rādītāju ieguva *Bacillus subtilis*, bet no sēņu sugām – *Aspergillus oryzae*. Rauga sēnes, iespējams, ir SCP ražošanā visplašāk izmantotie mikroorganismi [202], [241], un lielākā daļa pētījumu šajā jomā ir veikti, tieši izmantojot rauga kultūras. Raugam parasti ir augstāks olbaltumvielu saturs ar labvēlīgāku neaizstājamo aminoskābju profilu un zemāks nukleīnskābju saturs, kas padara tos piemērotākus lietošanai nekā baktērijas [241]. Tāpat raugam parasti ir augstāki biomasas ražošanas ātrumi, it īpaši partiju (*batch*) fermentācijā, ļaujot rezultātā iegūt lielāku biomasu. Viens no rauga ierobežojošajiem faktoriem ir zema šūnapvalka sagremojamība [242].

### 2.7. attēls.

MCDCA rezultāti mikroorganismu izvēlei SCP ražošanā [185].



*Yarrowia lipolytica*, kas ieguva nedaudz augstāku novērtējumu nekā citas alternatīvas, ir labi pazīstama oleagīniskā rauga sēne, kas spēj noārdīt plašu hidrofobo substrātu klāstu, efektīvi ražojot daudzus produktus, tostarp olbaltumvielas un peptīdus, aminoskābes, mikroelementus, vitamīnus, ogļhidrātus vai vienšūnu eļļu [243]. Šai sugai ir piešķirts QPS statuss [244]. *Y. lipolytica* proteīnu sagremojamība bija augstāka nekā citiem raugveida mikroorganismiem – 72,3 % [243]. Šī rauga sēne arī uzrādīja vienu no zemākajiem nukleīnskābju daudzumiem biomasā – 0,4 % [245], kā arī augstu biomasas ražošanas ātrumu – 0,47 g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> [230]. Tā satur visas neaizstājamās un nosacīti neaizstājamās aminoskābes, kā arī spēj uzlabot dzīvnieku imūnreakciju pret patogēniem [246]. Lai gan šim mikroorganismam nav visaugstākā ražības efektivitāte, tas spēj izmantot tādus substrātus kā, piemēram, lietotu cepamēļļu un bioenerģētikas atkritumglicerīnu, kas var saturēt kaitīgas vielas, un tās degradēt [230], [245].

*C. utilis* ieguva otro vietu pēc olbaltumvielu satura un pirmo vietu pēc olbaltumvielu ražošanas ātruma – kritērijiem, kurus eksperti atzina par būtiskiem SCP ražošanai. *C. utilis* ir pētīts SCP iegūšanai, izmantojot dažādus atkritumu substrātus, piemēram, vīna biezumus, kartupeļu pārstrādes atlikumus, ananāsu konservu rūpnīcas notekūdeņus un salātu eļļas rūpnīcas notekūdeņus [247]. Periodiskās fermentācijas laikā *C. utilis* var sasniegt augšanas ātrumu 0,68 g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> un olbaltumvielu ražošanas ātrumu 0,51 g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> [248], savukārt nepārtrauktas fermentācijas apstākļos augšanas ātrums var sasniegt 1,62 g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>, bet olbaltumvielu ražošanas ātrums ir 0,63 g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> [249]. Šie rādītāji padara šo mikroorganismu par perspektīvu SCP ražošanai, jo augšanas un proteīnu sintēzes ātrumi ir būtiski veiksmīgai komerciālai ieviešanai. Jāatzīmē, ka dažādas *Candida* sugas ir iespējamie cilvēku patogēni, tostarp viena no novērtētajām alternatīvām – *C. tropicalis*, kurai iespējamo veselības risku dēļ nav piešķirts GRAS statuss [207]. Lai gan šāda patogenitāte nenozīmē tiešu aizliegumu mikroorganismu izmantot SCP ražošanā, tas ievērojami paaugstina pēcapstrādes izmaksas un var radīt piesardzību patērētājiem saistībā ar produkta drošumu. GRAS statuss ne tikai atvieglo komercializāciju, bet arī dokumentācijas sagatvošanu, jo jauniem pārtikas produktiem nepieciešama drošuma akreditācija. Izvēloties mikroorganismu, kas potenciāli var apdraudēt cilvēku veselību, var rasties problēmas sertifikācijas procesā. Vēl viens būtisks SCP parametrs ir olbaltumvielu sagremojamība. *C. utilis* proteīnu sagremojamība ir atkarīga no mērķorganisma: cūku sivēniem ar uzturu, kurā 40 % izejproteīna nāk no *C. utilis*, tā ir 80 % [250]; Atlantijas lasim (*Salmo salar*) ar uzturu, kurā 40 % biomasas veido *C. utilis*, – 88 % [251]; bet tilapijām (*Oreochromis mossambicus*) ar uzturu, kurā 35 % biomasas nāk no *C. utilis*, – 83,2 % [252].

*Phaffia rhodozyma* MCDA analizē ieguva trešo vietu, ierindojoties devītajā vietā pēc olbaltumvielu satura, devītajā vietā pēc olbaltumvielu ražošanas ātruma un pirmajā vietā starp tām sugām, kuras var papildināt augu izcelsmes uztura neaizstājamo aminoskābju trūkumus. Šis raugs spēj izmantot dažādus ar oglekli bagātus substrātus, piemēram, melasi, kūdras hidrolizātus, eikalipta hidrolizātus, cukurniedru sulu, kukurūzas mitrās pārstrādes blakusproduktus un kukurūzas cietes hidrolizātu [253], [254]. Vēl viens rādītājs, kurā *P. rhodozyma* ieguva visaugstāko vērtējumu, bija aptuvenie ieņēmumi no rūpnieciski iegūta metabolīta ražošanas, jo astaksantīns ir augstas pievienotās vērtības viela, kurai ir liels pieprasījums tirgū [255]. Lai gan lielākā daļa *P. rhodozyma* pētījumu fokusējās uz astaksantīna ražošanu [256], ir veiksmīgi mēģinājumi vienlaikus ražot gan biomasu, gan astaksantīnu [257]. Astaksantīna ražošana uzlaboša pārsvarā uzlabota ar mutagēnēzes metodēm [256], [258], un vienlaicīga selekcija pēc proteīna un astaksantīna ražošanas potenciāla varētu nodrošināt rūpnieciski lietojamus celmus. Periodiskās (*batch*) fermentācijas apstākļos *P. rhodozyma* var sasniegt augšanas ātrumu  $0,13 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  un olbaltumvielu ražošanas ātrumu  $0,06 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ , savukārt piebarošanas fermentācijā – attiecīgi  $0,38 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  un  $0,18 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  [259]. Līdzīgi kā *B. subtilis*, arī *P. rhodozyma* pārsvarā izmanto kā barības piedevu ar koncentrāciju zem 1 %, un šobrīd nav pieejami dati par šīs sugas sagremojamības testiem.

*Bacillus subtilis* ieguva trešo vietu pēc olbaltumvielu satura, piekto vietu pēc olbaltumvielu ražošanas ātruma un devīto vietu pēc kritērija par neaizstājamo aminoskābju trūkumu augu izcelsmes diētā. *B. subtilis* izdala dažādus enzīmus, kas spēj noārdīt plašu substrātu klāstu, tostarp zemesriekstu, valriekstu un, auna ragus un sojas čaulas [260] [242], [261]. Periodiskajā (*batch*) fermentācijā *B. subtilis* var sasniegt augšanas ātrumu  $0,15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  un olbaltumvielu ražošanas ātrumu  $0,11 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  [262]. Kā jau iepriekš norādīts, lai nodrošinātu dažādu mikroorganismu salīdzināmību, izmantoti tikai periodiskās (*batch*) fermentācijas dati, jo līdz šim dabiskajam celma *B. subtilis* nav izmantots nepārtrauktā fermentācijā SCP ražošanai. Tas norāda uz potenciālu pētniecības virzienu šajā jomā. Nozīmīgs ir arī fakts, ka literatūrā aprakstīta *B. subtilis* spēja pretoties un bioārdīt noteiktus herbicīdus, piemēram, nikosulfuronu [263], tribenuronmetilu [264] un glifosātu [265], kas darbojas kā aminoskābju sintēzes inhibitori. Šī rezistence var sarežģīt aminoskābju (AA) inhibitoru izmantošanu selekcijā, kur mērķis ir uzlabot AA saturu mikroorganismā.

Šobrīd *B. subtilis* galvenokārt izmanto kā barības piedevu, un tas darbojas kā probiotika. Lai gan ir maz datu par *B. subtilis* izmantošanu tieši kā SCP avotu dzīvnieku barībā, var pieņemt, ka tā rezultāti būtu līdzīgi kā citiem baktēriju avotiem. Piemēram, *Methylophilus*

*methylotraphus*, iekļauts 28 % koncentrācijā foreļu (*Oncorhynchus mykiss*) uzturā, sasniedza 84 % sagremojamību, bet maisījumi ar *Methylococcus*, *Alcaligenes* un *Bacillus* devuši sagremojamības rezultātus 85–88 % [266].

## 2.7. Loģistikas un telpiskā izvietojuma plānošana

Pēc tam, kad izvēlēts substrāts un mikroorganisms, jāpārliciecinās, ka praksē var nodrošināt nepārtrauktu un efektīvu izejvielu piegādi ražošanas procesam. Fermentācijas iekārta *SCP* ražotnē parasti darbojas nepārtraukti vai periodiski, bet ar īsiem cikliem, tāpēc tai ik dienu vai ik nedēļu nepieciešams noteikts svaiga substrāta daudzums. Loģistikas plānošanas galvenie uzdevumi ir [182]:

- noteikt optimālo savākšanas rādīsu – no cik liela apvidus un cik tālu ir ekonomiski izdevīgi atvest izejvielas;
- identificēt un iesaistīt pietiekamu izejvielu piegādātāju skaitu, lai visu gadu nodrošinātu fermentācijas jaudu;
- izstrādāt transportēšanas un uzglabāšanas sistēmu, kas nodrošina izejvielu plūsmu arī tad, ja atsevišķi piegādātāji atkrīt vai ja izejvielu rašanās nav vienmērīga laikā;
- izvēlēties ražotnes atrašanās vietu telpiski visizdevīgākajā punktā attiecībā pret izejvielu avotiem;
- aprēķināt nepieciešamo transporta vienību skaitu, uzglabāšanas jaudas un citus resursus efektīvai loģistikai.

Viens no pirmajiem aspektiem ir substrāta pieejamības periodiskums. Daži blakusprodukti rodas visu gadu vienmērīgi, citi ir pieejami tikai noteiktās sezonās. Piemēram, sūkalas piena pārstrādes uzņēmumos un alus darītavu graudu izspaidas veidojas nepārtraukti visa gada garumā, un to daudzums katru dienu ir aptuveni vienāds [267], [268]. Šādiem resursiem loģistika ir vienkāršāka, jo fermentācijas rūpnīcas jaudu var pielāgot vidējam dienas iznākamam un izejvielas nav ilgi jāuzglabā. Pretstatā tam lauksaimniecības atliekas, piemēram, salmi vai kukurūzas kāti, rodas īsā ražas novākšanas sezonā. Tad pāris nedēļu laikā savācams gada apjoms, un, lai nodrošinātu rūpnīcas darbību pārējā laikā, nepieciešama liela uzglabāšanas kapacitāte vai izejvielu konservēšana. Piemēram, graudaugu salmu pieejamību ietekmē klimatiskie apstākļi. Lietainās sezonās salmi var būt pārāk mitri, novākšana aizkavējas, rodas lielāki zudumi un papildu žāvēšanas izmaksas [72], [241]. Savukārt tādi resursi kā glicerīns vai melases ir blakusprodukti ar ilgu derīguma termiņu (tie mikrobioloģiski nebojājas), tādēļ tos var uzglabāt cisternās un piegādāt pēc vajadzības [164], [203]. Substrāta uzglabāšanas ilgums minēts arī kā viens no kritērijiem Latvijas pētījumā [182]. Piemēram, nefiltrēts alus raugs jau pēc divām dienām var inficēties ar svešiem mikroorganismiem [182], tāpēc tas jāizmanto vai

jāpārstrādā nekavējoties, citādi zūd izejvielas kvalitāte. Šādu iemeslu dēļ rūpnīcas, kas kā izejvielas izmanto ātrbojīgus atkritumus, parasti būvē šo avotu tiešā tuvumā, un transports tiek organizēts tā, lai materiāls no rašanās brīža maksimāli ātri nonāktu bioreaktorā. Ja attālums ir lielāks, var būt nepieciešami speciāli kravas konteineri ar dzesēšanu vai konservācijas līdzekļu pievienošanu, lai substrāts nebojātos pārvešanas laikā [269], [270]. Piemēram, pārvadājot sūkalas lielā attālumā, var būt jālieto izolētas cisternas vai pat jāpasterizē sūkalas uzreiz pēc rašanās, lai novērstu saskābšanu [271].

Savākšanas rādiusa un ražotnes novietojuma optimizēšana ir klasiska loģistikas problēma. Jānosaka, cik tālu ir ekonomiski izdevīgi transportēt substrātu, ņemot vērā degvielas izmaksas, autotransporta kapacitāti un ceļu infrastruktūru. Praksē to risina, veidojot optimizācijas modeļus, kuri minimizē transporta izmaksas vai kopējās piegādes izmaksas, mainot ražotnes atrašanās vietu un piegādātāju kombināciju [182], [269], [272]. Šādos modeļos ievada datus par katra piegādātāja nodrošināto apjomu, attālumu, substrāta īpašībām un piegādes grafika ierobežojumiem. Rezultātā var noteikt, piemēram, ka optimāli ir iekļaut piegādi no noteikta skaita tuvākajiem piegādātājiem 50 km rādiusā, bet tālākos neiekļaut, vai arī, ka izdevīgāk ir veidot divas mazākas ražotnes dažādos reģionos, nevis vienu lielu centrālo. Transporta plānošana ietver arī lēmumus par to, vai pārvadāšanai ir jāizmanto ārpakalpojums vai jāveido savs autoparks. Ja piegādātāju ir daudz un katrs dod nelielu izejvielu daudzumu, bieži vien veido savākšanas maršrutus, kur viens kravas auto secīgi apmeklē vairākas fermas un rūpnīcas un iekrauj substrātu. Šeit var noderēt maršruta optimizācijas algoritmi, līdzīgi kā izmanto piena savākšanai no zemniekiem [273]. Jāņem vērā arī iekraušanas un izkraušanas infrastruktūra: ja substrāts ir šķidr (sūkalas, bioetanolā ražošanas izplūdes utt.), nepieciešamas cisternas un sūkņi; ja ciets (salmi, koksnes skaidas), tad presēšanas, palešu vai konteineru sistēmas.

Kā *SCP* ražošanas piemēru varētu izvēlēties modeli, kurā ir vairāki piegādātāji un viena ražotne ar transporta un uzglabāšanas tīklu. Šādā modelī var novērtēt kopējos biomasas pieejamības scenārijus [182]. Šāds scenārijs *SCE* ražošanā ir būtiskākais, jo rūpnīca, visticamāk, apkalpos vairākus atkritumu ražotājus. Šajā līmenī modelējot, jāņem vērā papildu faktori, kā, piemēram, starpuzglabāšanas sistēmas izvēle: vai izejvielas glabāt izcelsmes vietā (piemēram, zemnieku saimniecības teritorijā), vai arī vest uz centralizētiem satelītnoliktavu punktiem tuvāk ražotnei. Izklidēta uzglabāšana (katrs piegādātājs glabā pie sevis) ir ērta ražotājiem, bet padara sarežģītāku transportētāju loģistiku, savukārt satelītnoliktavas samazina transporta reisu un uzlabo transporta līdzekļu noslodzi, bet prasa papildu piepūli un izmaksas no piegādātāju puses, vedot resursus līdz starppunktam. Pētījumi rāda, ka optimizējot

iespējams noteikt visizdevīgāko variantu. Piemēram, Ebadiana u. c. (2013) modeli satelītnoliktavu izmantošana izrādījās par aptuveni 8,2 % lētāka nekā pilnīgi decentralizēta uzglabāšana [269]. Vēl viens aspekts ir aprīkojuma koplietošana: ja izejvielu novākšanai nepieciešama tehnika, to var efektīvāk izmantot, ja vairāki piegādātāji to dala, nevis katrs iegādājas savu, bet darbina zemā noslodzē. Kooperācija var samazināt loģistikas fiksētās izmaksas un mazināt atsevišķu posmu kapacitātes ierobežojumus.

Ļoti nozīmīgs lēmums ir ražotnes ģeogrāfiskais novietojums. Ideālā gadījumā SCP rūpnīcu būvē tā, lai tuvākajā apkārtnē būtu vislielākais izejvielu blīvums. Tas minimizē savākšanas rādiusu, transportēšanas izmaksas un potenciālos piegādes pārtraukumus. Latvijas piemērā Spalviņš un Blumberga (2020) analizēja piena sūkalas kā resursu. Viņi apzināja visus Latvijas piena pārstrādes uzņēmumus un to saražoto sūkalu daudzumu 2019. gadā, kā arī modelēja optimālo SCP/SCO rūpnīcas novietojumu [182]. Pētījumā izstrādāts vienkāršs novietojuma optimizācijas rīks bez specifiskas programmatūras. Tie bija aprēķini, kas parāda, ka, novietojot ražotni ģeogrāfiski centrālā punktā attiecībā pret galvenajiem sūkalu avotiem, var samazināt transporta ceļus un izmaksas (2.8. un 2.9. attēls).

Modelis apstiprināja, ka iespējams no vairākiem avotiem nodrošināt nepārtrauktu resursa piegādi vienai ražotnei, ja ir rūpīgi sabalansēta loģistikas ķēde. Praktiski šāds rīks var būt vienkāršs algoritms vai karšu modelis, kas aprēķina, piemēram, transporta izmaksas atkarībā no ražotnes koordinātām. Latvijā, kur attālumi nav ļoti lieli, viena centrāla rūpnīca var apkalpot visu valsti, ja vien vest substrātu ir ekonomiski izdevīgi, taču citos gadījumos var būt nepieciešamas vairākas reģionālas rūpnīcas.

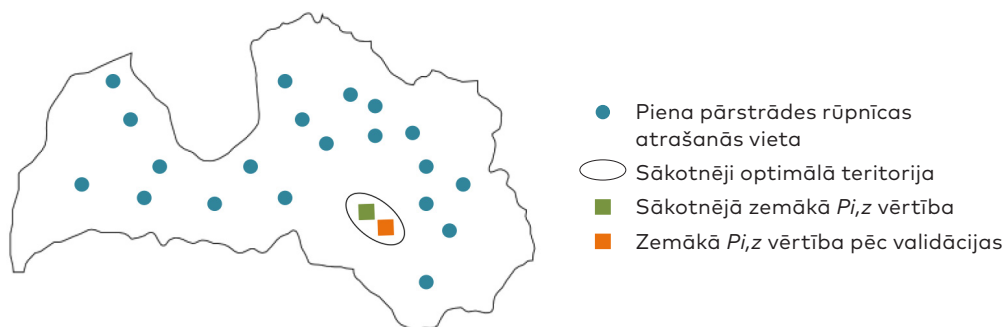
Telpiskā modelēšana ļauj arī simulēt dažādus scenārijus: ja viens lielais piegādātājs pēkšņi pārtrauc darbību, var paredzēt, vai pietiks resursu no citiem piegādātājiem; kā mainītos izmaksas, ja degvielas cenas dubultotos. Šāda informācija ir vērtīga stratēģisku lēmumu pieņemšanā un risku analīzē.



### 2.8. attēls.

Kopējie dati par sūkalu daudzumu, ko ražo Latvijas piena pārstrādes uzņēmumi. Apļu izmēri ir proporcionāli sūkalu daudzumam, ko ražo konkrētajā piena pārstrādes uzņēmumā ( $n = 22$ ) [182].

Lēmumu pieņemšanas metodes, sākot no kritēriju analīzes substrātu izvēlē, *TOPSIS* un citu *MCDA* rīku izmantošanas, līdz loģistikas optimizācijai un risku modelēšanai, ir būtisks zinātnisks pamats vienšūnu proteīna un citu produktu ražošanas projektu plānošanai. Šo metožu lietojums praksē parāda, ka iespējams identificēt dzīvotspējīgus risinājumus, kas vienlaikus veicina aprites ekonomiku, aizstāj dārgākus tradicionālos resursus un samazina vides slogu. Protams, katrs projekts ir atšķirīgs, un lēmumi jāpielāgo vietējiem apstākļiem: akvakultūras sugām un to uztura prasībām, pieejamo blakusproduktu veidiem un apjomiem, tirgus situācijai un tehnoloģijas gatavības līmenim. Akadēmisko pētījumu un praktisko eksperimentu sinerģija, izmantojot aprakstītās metodes, ļauj mazināt nenoteiktību un soli pa solim virzīties uz inovāciju ieviešanu rūpniecībā. Mērķis ir ekonomiski pamatota, droša un ilgtspējīga *SCP* ražošana, kas veicina gan barības nodrošinājumu, gan efektīvāku resursu izmantošanu nākotnes bioekonomikā.



### 2.9. attēls.

Ražotnes optimālās atrašanās vietas koordinātas atkarībā no sūkļu daudzuma, kas rodas piena pārstrādes uzņēmumos Latvijā. Sākotnējā optimālā teritorija tika noteikta, atzīmējot 20 koordinātas ar zemākajām  $P_{i,z}$  vērtībām. Zaļais kvadrāts – zemākā sākotnējā  $P_{i,z}$  vērtība. Zemākā apstiprinātā  $P_{i,z}$  vērtība (oranžais kvadrāts) tika noteikta, pārrēķinot attālumu no piena pārstrādes uzņēmumiem līdz potenciālajām ražotnes atrašanās vietām sākotnējā optimālajā teritorijā pa autoceļiem [182].



# VIENŠŪNU PROTEĪNA RAŽOŠANAS TEHNOLOĢIJA

## 03

Ievads	7
Vienšūnu proteīna potenciāls akvakultūras barībā	8
<b>01</b> Blakusprodukti kā resursi vienšūnu proteīnu ražošanai	12
<b>02</b> Lēmumu pieņemšana: resursu un mikroorganismu izvēle	32
<hr/>	
<b>03</b> <b>VIENŠŪNU PROTEĪNA RAŽOŠANAS TEHNOLOĢIJA</b>	<b>62</b>
<hr/>	
3.1.  Priekšapstrādes metodes substrātu pieejamības uzlabošanai <i>SCP</i> ražošanā	64
3.1.1.  Mehāniskās priekšapstrādes metodes	65
3.1.2.  Ķīmiskās priekšapstrādes metodes	65
3.1.3.  Bioloģiskās priekšapstrādes metodes	67
3.1.4.  Fizikālās priekšapstrādes metodes	69
3.1.5.  Priekšapstrādes metodes izvēles piemērs	71
3.2.  Barotnes sastāvs	75
3.3.  Inokulāts un mikroorganismu adaptācija	80
3.4.  Fermentācijas procesa kontrole	81
3.4.1.  Procesa temperatūra	82
3.4.2.  pH kontrole	83
3.4.3.  Aerācija	84
3.5.  Fermentēšanas un barošanas stratēģijas	86
3.5.1.  Kultivēšanas ilgums	86
3.5.2.  Fermentācijas režīma izvēle un barošanas stratēģijas	88
3.6.  Ražošanas procesa posmi un to norise	93
<hr/>	
<b>04</b> Ražošanas procesa optimizācija	96
<b>05</b> <i>SCP</i> ražošanas tehnoloģijas novērtējums	108
<b>06</b> Ceļvedis "No idejas līdz produktam"	138
Izmantotā literatūra	164
Summary	198

Vienšūnu proteīns ir mikroorganismu biomasa, ko izmanto kā alternatīvu olbaltumvielu avotu lopbarībā un pārtikā. *SCP* ražošanā kā izejvielas izmanto dažādus mikroorganismus, raugus, baktērijas, sēnes, aļģes, kuri spēj metabolizēt daudzveidīgus oglekļa un slāpekļa avotus. Vispārīgā ražošanas procesa ķēde ietver vairākus posmus. Pirmkārt, jāizvēlas piemērots substrāts – lēts, pieejams, bioloģiski noārdāms izejmateriāls, piemēram, lauksaimniecības un pārtikas rūpniecības atkritumi. Šāds substrāts bieži satur ogļhidrātus, olbaltumvielas un lipīdus un var kalpot par barības vielu avotu mikroorganismu kultivēšanai. Tomēr kompleksie substrāti pirms fermentācijas bieži prasa priekšapstrādi, lai sarežģītās biopolimēru molekulas (piemēram, ciete, celuloze) tiktu sašķeltas vienkāršākos cukuros vai citos viegli asimilējamos savienojumos. Šim nolūkam izmanto ķīmisko hidrolīzi, fermentu preparātus vai bioloģisko hidrolīzi ar pašiem mikroorganismiem (piemēram, sēnēm, kas izdala nepieciešamos enzīmus) [195].

Kad substrāts sagatavots, to ievada reaktorā – kontrolētā vidē, kur izvēlēta mikroorganismu kultūra tiek inokulēta un aug, pateicoties substrātā esošajām barības vielām. Fermentācijas procesam jānodrošina optimāli apstākļi mikroorganismu augšanai un proteīna biosintēzei: atbilstoša temperatūra, pH, aerācija, maisīšana un barošanas stratēģija [274]. Augšanas laikā mikroorganismi pārvērš substrāta oglekli biomasā un olbaltumvielās. Pēc noteikta laika, kad sasniegts maksimālais biomasas daudzums vai izlietots substrāts, biomasa tiek novākta. Parasti seko pēcāpstrāde: šūnu atdalīšana, koncentrēšana un biomasas žāvēšana, iegūstot ar proteīnu bagātu pulveri. Iegūto *SCP* var pievienot barībai kā proteīna piedevu vai izmantot citos produktos.

*SCP* tehnoloģijas priekšrocība ir iespēja ražot olbaltumvielas neatkarīgi no lauksaimniecības zemes vai klimata apstākļiem, izmantojot atjaunojamas izejvielas un atkritumus [226]. *SCP* ražošana ir ātra un efektīva salīdzinājumā ar tradicionālo lauksaimniecību, jo mikroorganismi vairojas eksponenciāli, dodot augstu ražu īsā laikā. Papildus proteīniem mikrobu biomasa satur arī vitamīnus, minerālvielas un citu uzturvielu spektru, kas padara to vērtīgu kā barības piedevu [235]. *SCP* var samazināt atkarību no zivju miltiem un sojas proteīna lopbarībā, tādējādi mazinot vides slodzi, kas saistīta ar šo tradicionālo proteīna avotu ražošanu [275]. Piemēram, akvakultūrā vienšūnu proteīns un eļļas minēti kā perspektīvākās zivju miltu/eļļu alternatīvas, taču to ražošanas izmaksas joprojām ir augstākas nekā tradicionālajiem produktiem, tāpēc izmaksu samazināšanai jāpāriet uz lētākiem substrātiem, piemēram, lauksaimniecības atliekām.

Kopumā *SCP* ražošanas process aptver ceļu “no substrāta līdz produktam”: izejvielu sagatavošanu, pašu fermentēšanas procesu un galaprodukta iegūvi. Nākamajās sadaļās sīkāk apskatīti galvenie šī procesa posmi un faktori.

### 3.1. Priekšapstrādes metodes substrātu pieejamības uzlabošanai SCP ražošanā

Vienšūnu proteīna ražošanā būtiska loma ir izmantotajiem substrātiem, uz kuriem aug mikroorganismi, veidojot biomasu ar augstu proteīna saturu. Kā substrātus bieži izmanto lētus, pieejamus organiskos atkritumus vai blakusproduktus, tomēr daudzus no tiem mikroorganismi tieši nespēj efektīvi pārstrādāt to komplekso struktūru dēļ. Piemēram, alus brūvēšanas graudu atlikumi (*BSG* – no angļu valodas *Brewers Spent Grain*) ir uzturvielām bagāti, taču šo izejvielu reti lieto biotehnoloģijās, jo to ir grūti bioloģiski noārdīt. Tādējādi *BSG* potenciāls dažādiem uztura lietojumiem ir ierobežots [276]. Tas nozīmē, ka, neskatoties uz augsto ogļhidrātu, olbaltumvielu un citu vērtīgo komponentu saturu, tāds substrāts kā, piemēram, *BSG*, bez priekšapstrādes nav pietiekami pieejams mikroorganismiem *SCP* ražošanā.

Lai komplekso biomasu padarītu pieejamu mikroorganismiem, nepieciešamas priekšapstrādes metodes, kas sašķeļ vai modificē substrāta struktūru. Priekšapstrāde var noārdīt lignocelulozes matricu vienkāršākos savienojumos vai palielināt substrāta virsmas laukumu un pieejamās saites enzīmu darbībai [277] [278]. Tādējādi tiek palielināta fermentējamā cukura atbrīvošanās, ko mikroorganismi var tālāk pārvērst *SCP* vai citos vērtīgos produktos. Bez piemērotas priekšapstrādes ievērojama daļa ogļhidrātu substrātos paliktu nepieejama, jo daudzi mikroorganismi nespēj tieši šķelt celulozi, cieti vai pektīnus neapstrādātā veidā [30] [279]. Piemēram, rūpnieciskajos pārtikas atkritumos pirms fermentācijas ciete un lignoceluloze bieži vien jāsadala, pakļaujot priekšapstrādei, lai substrāti ar cieti vai lignocelulozi būtu izmantojami kā oglekļa avots [195].

Efektīva atkritumu priekšapstrāde sniedz arī vides ieguvumus. Organisko atkritumu bioloģiska pārveide samazina to nonākšanu poligonos un līdz ar to negatīvo ietekmi uz vidi [280], [281]. Vienlaikus tiek veicināta aprites bioekonomika, jo no atkritumiem tiek ražoti vērtīgi produkti [282]. Inovatīvas biotehnoloģijas pieejas, tādas kā atkritumu biokonversija, saskan ar Eiropas Savienības ilgtspējīgas attīstības stratēģijām, jo ļauj efektīvāk izmantot resursus un samazināt atkarību no fosilajām izejvielām. Tādējādi priekšapstrādes metodes ir ne vien tehnisks risinājums substrāta sagatavošanai, bet arī svarīga saite ilgtspējīgas *SCP* ražošanas ķēdē.

Šajā nodaļā aplūkotas dažādas substrātu priekšapstrādes metodes, ko var iedalīt mehāniskajās, ķīmiskajās, bioloģiskajās un fizikālajās. Turpmāk aplūkoti konkrēti piemēri: *BSG* priekšapstrāde un sēņu mikroorganismu veikta hidrolīze pārtikas atkritumu valorizācijā.

### 3.1.1. Mehāniskās priekšapstrādes metodes

Mehāniskās priekšapstrādes mērķis ir fiziski sadalīt izejmateriālu, tādējādi palielinot biomasas relatīvo virsmas laukumu un padarot to pieejamāku turpmākai ķīmiskai vai enzimatiskai apstrādei [277]. Visizplatītākās mehāniskās metodes ir dažāda veida malšana un frakcionēšana, piemēram, smalcināšana, malšana dzirnavās vai bumbiņu dzirnavās. Šie procesi samazina daļiņu izmēru un palielina virsmas laukumu, kas veicina šķiedrvielu pieejamību un šķīdību [278].

Mehāniskās priekšapstrāde ir universāla, jo to var lietot gan drīz jebkurai sausai biomasai. Tā arī nerada substrātā ķīmiskus piemaisījumus. Tomēr mehāniskā apstrāde patērē enerģiju, īpaši, ja nepieciešama ļoti smalka malšana. Enerģijas izmaksas var būt ievērojamas, kas lielos apjomos samazina metodes rentabilitāti. Tāpat mehāniskā apstrāde pati par sevi parasti nesadalīs kompleksos ogļhidrātus līdz monomēriem, bet gan sagatavos substrātu nākamajiem apstrādes posmiem. Tādēļ rūpnieciskās *SCP* ražošanas shēmās mehānisko priekšapstrādi nereti kombinē ar citām metodēm. Mehāniski samaltu biomasu pēc tam pakļauj ķīmiskai vai enzimatiskai hidrolīzei, panākot lielāku kopējo efektu. Mehāniskā priekšapstrāde ir nepieciešams sākuma solis daudzu biomasu apstrādē, jo atver materiālu tālākai pārstrādei. Tā uzlabo substrāta pieejamību fermentiem un mikroorganismiem, taču reti nodrošina pilnīgu polisaharīdu pārveidi bez papildu soļiem. Tās īstenošana prasa rūpīgu enerģijas patēriņa un ieguvumu izvērtēšanu, īpaši, ja mērķis ir lēti un ilgtspējīgi *SCP* ražošanas procesi.

### 3.1.2. Ķīmiskās priekšapstrādes metodes

Ķīmiskās priekšapstrādes metodēs izmanto dažādas reaģentus, lai sašķeltu biomasas polimērus un padarītu substrāta ogļhidrātus pieejamus fermentācijai. Klasiski piemēri ir skābju hidrolīze un sārmainā apstrāde.

Priekšapstrāde ar skābēm parasti fokusējas uz hemicelulozes šķelšanu un daļēju celulozes hidrolīzi. Atšķaidītu minerālskābju iedarbībā lignocelulozes materiāls tiek depolimerizēts – hemiceluloze tiek hidrolizēta līdz cukuriem, lignīna struktūra daļēji tiek bojāta. Piemēram, apstrāde ar atšķaidītu sērskābi efektīvi pārvērš hemicelulozi fermentējamā ksilozē un atbrīvo celulozi tālākai enzīmu darbībai [283]. Skābes metodes priekšrocība ir relatīvi liels cukuru iznākums. Kombinējot atšķaidītu skābi ar palīgvielām, piemēram, virsmaktīvām vielām, iespējams iegūt >90 % no teorētiskā cukuru iznākuma [283]. Tomēr jāņem vērā, ka veidojas blakusprodukti. Skābes hidrolīzes gaitā cukuri var dehidrēties,

veidojot furfuroļu (pentozu dehidratācijas produktu), 5-HMF un citas vielas, kas inhibē fermentāciju. Pirms fermentācijas iegūtie hidrolizāti bieži jāneitralizē un jāattīra [283]. Turklāt skābju izmantošana rada korozīvu vidi, kas prasa izturētspējīgus iekārtu materiālus, un pēc apstrādes jānodrošina ķīmisko atkritumu utilizācija.

Priekšapstrāde ar sārmiem darbojas citādi. Tās mērķis parasti ir biomasas attīrīšana no lignīna. Spēcīgi bāziski reaģenti (NaOH, KOH, amonjaks u. c.) sarauj esteru saites starp hemicelulozi un lignīnu, izraisot lignīna saponifikāciju un uzbriešanu biomateriālā [283]. Rezultātā lignīns tiek daļēji izskalots, un palielinās celulozes un hemicelulozes pieejamība fermentatīvai hidrolīzei. Apstrādes ar sārmiem priekšrocība ir augsta lignīna atdalīšanas efektivitāte, zems inhibitoru daudzums hidrolizātā un darbība mērenā temperatūrā [284]. Piemēram, pētījumos konstatēts, ka 11 % amonjaka apstrāde 63 °C temperatūrā 26 stundas nodrošināja maksimālu celulozes pieejamības pieaugumu alus brūvēšanas graudu atlikumu (*BSG*) gadījumā [283]. Priekšapstrāde ar amonjaku ir efektīva un samērā lēta metode *BSG* valorizācijai lielā mērogā [285]. Sārmainās metodes tiek uzskatītas par perspektīvām, jo tās darbojas maigākos apstākļos, nerada tik daudz kaitīgu blakusproduktu un reaģentus nereti var atgūt un izmantot atkārtoti, samazinot izmaksas [285]. Trūkums var būt tas, ka pēc apstrādes bieži nepieciešama substrāta mazgāšana un neitralizēšana.

Papildus tradicionālajām skābēm un sārmiem, pēdējos gados attīstītas arī jaunas ķīmiskās metodes. Viena no tām ir jonu sāļu šķīdinātāju (*IL – ionic liquids*) izmantošana. Tie ir sāļi šķidrā agregātstāvoklī, kas spēj izšķīdināt lignocelulozi, pārraujot ūdenražā saites materiālā [286]. *IL* efektīvi šķīdina celulozi un hemicelulozi. Turklāt šos šķīdinātājus var atkārtoti reģenerēt un lietot, padarot metodi ekonomiski pievilcīgāku un videi draudzīgāku [287]. Tomēr *IL* bieži ir dārgi, un biomasu pēc apstrādes jāmazgā, lai atdalītu atlikušos šķīdinātājus. Alternatīva *IL* ir dziļie eutektiskie šķīdinātāji (*DES*). Tie veidojas, sajaucot noteiktas vielas, iegūstot šķīdumu, kuru kušanas temperatūra ir krietni zemāka par sastāvdaļu kušanas temperatūru [283].

Ķīmiskās priekšapstrādes metodes izceļas ar spēju ātri un efektīvi depolimerizēt substrātus, bieži panākot ļoti augstu ogļhidrātu iznākumu. Tās ir piemērotas lignocelulozes bagātiem atkritumiem, kur ir jāpārrauj lignīna slānis. Tomēr jāņem vērā, ka ir iespējama inhibitoru veidošanās, kas prasa papildu reaģentus to neitralizācijai vai izvadīšanai. Svarīgi arī atzīmēt vides un drošības aspektus, strādājot ar kodīgām vielām. Ļoti rūpīgi ir jāizvērtē priekšapstrādes metodes. Bieži tiek meklēts kompromiss, kombinējot ķīmiskās metodes ar citām, lai izmantotu katras priekšrocības un mazinātu trūkumus.

### 3.1.3. Bioloģiskās priekšapstrādes metodes

Bioloģiskās priekšapstrādes pamatā ir dzīvu organismu vai to enzīmu spēja sašķelt substrātu. Šajā kategorijā ietilpst enzimatiskā apstrāde un mikroorganismu fermentācija, kur paši mikroorganismi sintezē nepieciešamos enzīmus *in situ*. Bioloģiskās metodes tiek uzskatītas par videi draudzīgākajām, jo tās ir maigas, bez toksisku ķīmisku vielu lietošanas un nerada papildu inhibitorus [288], [289]. Bioloģiskā priekšapstrāde pēdējos gados piesaista arvien lielāku uzmanību kā ilgtspējīga alternatīva [290].

Enzimātiskajā priekšapstrādē izmanto rūpnieciski ražotus enzīmus, kurus pievieno substrātam, lai šķeltu attiecīgos polisaharīdus. Piemēram, celulāzes sašķel celulozi līdz glikozes monomēriem, amilāzes sašķel cieti līdz maltozei un glikozei utt. Enzīmu metode var dot ļoti augstu cukuru ražību, jo enzīmi darbojas specifiski un praktiski neveido blakusproduktus. Taču enzīmi mēdz būt dārgi, un to aktivitāti ietekmē tādi vides apstākļi kā pH, temperatūra, inhibitori. Liela mēroga procesos fermentu stabilitāte un izmaksas ir izaicinājums [291]. Nereti tiek apsvērta enzīmu reģenerācija vai atkārtota izmantošana, kā arī fermentācijas apstākļu optimizācija, jo komerciālo enzīmu aktivitātes maksimums bieži ir augstāks nekā fermentācijas organismu optimālā temperatūra [292], [293]. Procesu efektivitāti var palielināt kombinētas divpakāpju pieejas, kur pirmā stadija notiek augstākā temperatūrā ar enzīmiem, bet otrā notiek zemākā temperatūrā ar mikroorganismu fermentāciju [104].

Mikroorganismu veikto priekšapstrādi bieži dēvē par bioloģisko (sēņu, baktēriju) hidrolīzi. Tā paredz tieši inokulēt substrātu ar noteiktiem mikroorganismiem, kas izdala vajadzīgos enzīmus un pakāpeniski noārda substrātu. Šo procesu var īstenot cietajā substrātā (virsmas/šūnu kultūrās) vai iegremdētā fermentācijā. Piemēram, *Trichoderma reesei* sēnes ir klasiskas celulozi noārdošās sēnes, bet *Aspergillus oryzae* ir plaši zināma cietes un polisaharīdu šķelēja. Bioloģiskās hidrolīzes lielā priekšrocība ir zemās izmaksas, jo nav jāpērk dārgi enzīmi, mikroorganismus var audzēt uz lēta substrāta un tie paši sintezē enzīmus *in situ* [104]. Procesu var veikt bez stiprām ķīmiskām skābēm vai sārmēm, un neveidojas tādi inhibitori kā furfuols, *HMF* utt., kas traucētu nākamās fermentācijas posmus [289], [294]. Turklāt bieži pietiek ar mērenu temperatūru (30–50 °C) un atmosfēras spiedienu, kas ietaupa enerģiju, salīdzinot ar termiskām apstrādēm. Jāņem vērā, ka substrāta noārdīšanai var būt nepieciešamas vairākas diennaktis, salīdzinot ar dažu stundu vai pat minūšu laikā īstenojamām ķīmiskajām metodēm. Tāpat dzīviem organismiem konkurences apstākļos var rasties nevēlami piesārņojumi vai nepieciešamība nodrošināt sterilus apstākļus, ja process notiek kontrolēti. Tomēr praksē bieži pietiek ar dominējošās kultūras, piemēram, *Aspergillus* sēnes, ieviešanu, kas ātri kolonizē

**3.1. tabula.**

Glikozes ieguve pēc dažādu pārtikas ražošanas atkritumu sēņu hidrolīzes [283]

Atkritumu substrāts	Mikroorganisms	Glikozes iznākums, g/L	Glikozes atgūšana, %	Temperatūra, °C	pH	Laiks, h
Pārtikas atkritumi	<i>A. awamori</i> and <i>A. Oryzae</i>	195	83	55	4,0– 4,5	48
Maiznīcu atkritumi	<i>A. awamori</i> and <i>A. oryzae</i>	80	83	55	4,0– 4,5	48
Pārtikas atkritumi	<i>A. awamori</i> and <i>A. oryzae</i>	97	81	55	4,0– 4,5	48
Jaukti maiznīcu un pārtikas atkritumi	<i>A. awamori</i> and <i>A. oryzae</i>	100	84	55	4,0– 4,5	48
Notekūdeņi	<i>Aspergillus oryzae</i>	10,37	90	35	5,5	24
Kviešu atkritumi	<i>A. awamori</i> and <i>A. oryzae</i>	95,9		55		25
Kukurūzas stiebri	<i>Coprinus stercoreus</i>		41	28	5	720
Kukurūzas stiebri	<i>Cyathus pallidus</i>		46	28	5	720
Kukurūzas stiebri	<i>Cyathus stercoreus</i>		64	28	5	720
Kukurūzas stiebri	<i>Phlebia brevispora</i>		51	28	5	720
Kukurūzas stiebri	<i>Polyporus</i>		50	28	5	720
Kukurūzas stiebri	<i>Pycnoporus sanguineus</i>		57	28	5	720
Pārtikas atkritumi	<i>Fungal mash</i>	141	93	50		24
Aktīvās dūņas, pārtikas atkritumi	<i>Aspergillus awamori</i>	3,72		60	7,9	24
Aktīvās dūņas	<i>Aspergillus awamori</i>	1,17		60	7,9	24
Pārtikas atkritumi	<i>Aspergillus awamori</i>	3,96		60	7,9	24
Salmi	<i>Ischnoderma benzoinum</i>	23,9	79,8	28		72
Salmi	<i>Ph. Sordid</i>	9,8	57,7	28		72
Salmi	<i>Phlebia radiate Fr.</i>	13,2	54,8	28		72

substrātu un nomāc citus organismus. Sēņu hidrolīze var būt ļoti efektīvs veids, kā iegūt vairāk vienkāršos cukurus no saliktām molekulām. 3.1. tabulā apkopotie rezultāti parāda glikozes ieguves rādītājus no dažādiem atkritumproduktiem pēc sēņu hidrolīzes [195].

Bioloģiski viegli noārdāmu pārtikas un maizes atkritumu gadījumā sēņu hidrolīze (*Aspergillus awamori* un *A. oryzae* kopkultūrā)

nodrošināja aptuveni 80–100 g/L glikozes koncentrāciju hidrolizātā, kas atbilst 80–84 % no teorētiski maksimāli iespējamā glikozes daudzuma [195]. Turpretī lignocelulozes biomasas atkritumi sēņu hidrolizē tiek noārdīti ievērojami lēnāk un mazāk efektīvi. Piemēram, kukurūzas atlieku gadījumā pat pēc 30 dienu ilga procesa glikozes koncentrācija hidrolizātā bija tikai ap 40–46 g/L, kas atbilst līdz 30 % no teorētiskā maksimuma [195]. Kopumā šie rezultāti apliecina, ka bioloģiskās priekšapstrādes metodes, īpaši divpakāpju fermentācija ar sēņu hidrolīzi pirmajā posmā, spēj nodrošināt augstāku vienkāršo cukuru iznākumu nekā tradicionālā vienpakāpes fermentācija. Procesu temperatūras dēļ efektīvu biomasas audzēšanu un fermentu aktivitāti bieži nevar sasniegt vienā posmā. Izmantojot divpakāpju fermentācijas procesu, var optimizēt procesa efektivitāti, atdalot substrāta hidrolīzi un galaprodukta ražošanu. Iekļaujot sēņu hidrolīzi, ir iespējams aizstāt komerciālos fermentus, kas var palielināt šajos substrātos esošo cukuru izmantošanas rentabilitāti. Daudzsološa pieeja *SCP* ražošanas kontekstā ir divpakāpju fermentācija, kur pirmajā stadijā substrātu bioloģiski hidrolizē, bet otrajā stadijā cits organisms patērē iegūto hidrolizātu un producē galaproduktu. Šādu stratēģiju izmanto, ja viens mikroorganisms optimāli šķēļ substrātu, bet cits – ražo vēlamo produktu, un to optimālie augšanas apstākļi atšķiras. Šajā procesā parasti izmanto divu tvertņu sistēmu vai divus fermentatorus, kas darbojas secīgi [295]. Divpakāpju fermentācijā bieži vien pirmais organisms veic bioloģisko hidrolīzi, bet otrais ražo galaproduktu. Ja substrāta sadalīšanai izmanto sēnes, to var saukt par sēņu hidrolīzi. Dažiem pārtikas atkritumiem, kuru struktūra ir sarežģīta, šis pirmais posms ir ļoti svarīgs, lai uzlabotu biomasas fermentatīvo depolimerizāciju cukuros, kurus vēlāk var fermentēt augstas vērtības produktos [296]. Sēņu hidrolīzei vissvarīgākie parametri ir temperatūra, vidējais pH līmenis un inokulāta lielums [297].

### 3.1.4. Fizikālās priekšapstrādes metodes

Fizikālajās priekšapstrādes metodēs izmanto termisko vai citu fizikālu iedarbību, lai mainītu substrāta struktūru. Tās bieži pārklājas ar mehāniskajām un ķīmiskajām metodēm, taču raksturīgi, ka fizikālajās metodēs netiek pievienotas spēcīgas ķīmiskas vielas, bet gan izmantota temperatūra, spiediens, starojums u. tml. Izplatītākais piemērs ir tvaika apstrāde, kas ir lignocelulozes biomasas ekspozīcija piesātinātam tvaikam augstā spiedienā, kam seko strauja spiediena atbrīvošana (sprādzienvēda ekspansija). Šīs metodes rezultātā ūdens pēkšņi izplešas un šķēļ šķiedru struktūru, sašķeļot lignīna un hemicelulozes matricu un padarot celulozi pieejamāku. Tvaika apstrādes tipiskie apstākļi: temperatūra 160–240 °C (kas

atbilst 0,7–3,5 MPa spiedienam), ekspozīcija desmitiem sekunžu līdz pāris minūtēm, kam seko strauja dekompresija. Tā kā netiek lietotas minerālskābes, netiek ģenerēti papildu sulfāti vai citas sāļas atliekas, tad vienīgie blakusprodukti var būt pašu cukuru termiskās noārdīšanās produkti, īpaši, ja temperatūra vai ekspozīcijas laiks ir pārāk liels. Tomēr, optimāli izvēloties režīmu, tvaika apstrāde efektīvi atver materiālu tālākai enzīmu hidrolīzei. Šo metodi uzskata par vienu no labākajām liela mēroga lignocelulozes priekšapstrādei, jo tai nav nepieciešami papildu reaģenti, tiek izmantots tikai ūdens tvaiks, un to var īstenot nepārtrauktā režīmā. Pētījumi rāda, ka tvaika apstrāde var palielināt hemicelulozes konversiju un fermentācijas ražību, samazinot inhibitoru veidošanos, ja to kombinē, piemēram, ar maigas skābes impregnēšanu pirms apstrādes [277], [298].

Ļoti līdzīga ir amonjaka šķiedru ekspansija (*AFEX – Ammonia fibre expansion*). Šajā gadījumā kā darbināmo šķidrumu izmanto šķidro amonjaku, nevis ūdeni. Biomasu noteiktu laiku tur paaugstinātā spiedienā ar šķidro amonjaku (100–400 psi, 70–200 °C), pēc tam strauji atbrīvojot spiedienu [283]. Rezultāts ir līdzīgs tvaika eksplozijas metodei – amonjaks izplešoties “eksplozīvi saplosa” biomasas šūnu sienas un depolimerizē lignīnu. *AFEX* priekšrocība ir tas, ka amonjaks ķīmiski arī reaģē ar lignīnu, tādējādi apvienojot sārmainās priekšapstrādes efektu ar fizisko ekspansiju. Pēc procesa amonjaku var atgūt iztvaicējot un kondensējot un izmantot atkārtoti, padarot metodi ekonomisku un videi draudzīgāku [285]. *AFEX* dod augstu ogļhidrātu iznākumu, zemu inhibitoru un atkritumu veidošanos, līdz ar to šī metode ir perspektīva liela mēroga biomasas pārstrādei [283].

Citas fizikālas metodes ietver termālo apstrādi šķidrā ūdenī, ekstrūzijas metodes (mehāniski termiska graudu apstrāde caur ekstrūderiem), kā arī starojuma metodes. Piemēram, ultraskaņas apstrāde ar augstas intensitātes ultraskaņu biomasas suspensijā izraisa kavitācijas burbuļu veidošanos un imploziju, kas mehāniski sagrauj šūnu struktūru un veicina masas pārnesi [53]. Ar ultraskaņas palīdzību ekstrahēšana tiek veikta, izmantojot ultraskaņas homogenizatoru, kas biomasas šķidrumā ievada augstas jaudas, zemas frekvences ultraskaņas viļņus. Šie augstas jaudas ultraskaņas viļņi izplatās biomasas šķidrumā, radot augsta/zema spiediena ciklus, kas veido burbuļus šķidrumā. Akustiskā kavitācija ir burbuļu implozija uz cietās biomasas virsmas, kas izraisa biomasas šūnu sabrukumu. Vienlaikus šī kavitācijas burbuļu implozija izraisa makroturbulenci un mikrosajaukšanos, tādējādi palielinot masas pārnesi [299]. Ultraskaņa var saīsināt ekstrakcijas laiku un samazināt nepieciešamo šķīdinātāju daudzumu. Savukārt mikroviļņu apstarošana strauji uzkarsē polāru šķīdinātāju biomasā, radot spiedienu šūnu iekšienē. Tas paātrina hemicelulozes un cietes želatīnizāciju un hidrolīzi, saīsinot procesu no stundām uz minūtēm [300].

Lai uzlabotu efektu, mikroviļņu apstrādi bieži kombinē ar ķīmiskiem reaģentiem (piemēram, atšķaidītu skābi). Kopumā šīs metodes ļauj intensificēt priekšapstrādi un dažkārt panāk augstāku efektivitāti ar mazāku enerģijas patēriņu nekā tradicionālā termiskā apstrāde. Tomēr to lietojamība lielos apjomos vēl tiek pētīta, jo nepieciešamas specifiskas iekārtas un procesi, piemēram, rūpnieciskas ultraskaņas vannas vai liela mēroga mikroviļņu reaktori.

Ar fizikālajām metodēm galvenokārt veic substrāta struktūras termisko un mehānisko pārveidi. Tās var padarīt substrātu augsti pieejamu fermentācijai, nereti bez ķīmisku katalizatoru pievienošanas, taču prasa ievērojamu enerģijas ieguldījumu, piemēram, tvaika ģenerēšanu, spiediena uzturēšanu, mikroviļņu ģenerēšanu utt. Daudzas no šīm metodēm ir veiksmīgas, ja integrētas biorafinērijas procesā, piemēram, tvaika siltumu var rekuperēt, bet amonjaku atgūt. Fizikālās priekšapstrādes izvēle bieži atkarīga no konkrētā substrāta: augsta lignīna satura biomasas (koksne, salmi) labi reaģē uz tvaika apstrādi vai *AFEX*, ar cieti bagātus atkritumus (piemēram, pārtikas atkritumus, graudu pārstrādes blakusproduktus) var efektīvi hidrolizēt ar mikroviļņu vai fermentācijas metodēm kombinācijā ar mērenu termisko apstrādi.

### 3.1.5. Priekšapstrādes metodes izvēles piemērs

Lai ilustrētu priekšapstrādes metodes izvēli konkrētam substrātam, sniegts piemērs par alus ražošanas blakusprodukta – alus brūvēšanas graudu atlikumu (*BSG*) – sagatavošanu fermentācijai. Alus darītavas visā pasaulē rada ievērojamu daudzumu alus darīšanas blakusprodukta – *BSG*, kuru joprojām pārsvarā izmanto dzīvnieku barības ražošanā, neskatoties uz tā bagātīgo barības vielu sastāvu un plašo zinātnisko interesi par tā valorizāciju. *BSG* ir lignocelulozes struktūra, kas ierobežo mikroorganismu, piemēram, *Aspergillus oryzae*, piekļuvi substrāta barības vielām, tāpēc, lai uzlabotu substrāta izmantojamību fermentācijā, ir nepieciešama efektīva priekšapstrāde. Salīdzinātas sešas dažādas priekšapstrādes metodes, kas tika testētas uz diviem partiju paraugiem no “Aldaris” ražotnes Latvijā, ar *TOPSIS* daudzkritēriju analīzi novērtējot ogļhidrātu izdalīšanos, energoefektivitāti, izmaksas un partiju konsistenci.

*BSG* ir ar lignocelulozi bagāts blakusprodukts, kas satur ap 17–25 % celulozes, 20–28 % hemicelulozes un 14–28 % lignīna, kā arī ievērojamu daudzumu olbaltumvielu un citu uzturvielu. Kā minēts, to augstais šķiedrvielu un polifenolu saturs apgrūtinā tiešu izmantošanu. Uzsvars tiek likts uz videi draudzīgu un mērogojamu risinājumu izvēli, ņemot vērā gan substrāta ķīmisko sastāvu, gan pieejamo laboratorijas aprīkojumu. Visvairāk tika ņemts vērā, vai priekšapstrādes parametri un iekārtu prasības atbilst pieejamajiem

### 3.2. tabula.

BSG priekšapstrādei piemērotas metodes

Metode	Apstākļi	Procenti (w/w)		
		Glikoze	Ksiloze	Lignīns
Kombinēta atšķaidīta sērskābes un Tween 80 priekšapstrāde [301]	120 °C 90 min	93,01 ± 3,28	18,04 ± 0,70	72,89 ± 0,59
Amonjaka priekšapstrāde [302]	63 °C 26 h	69,4	95,2	-
Priekšapstrāde ar ūdens-etanola šķīdums [303]	180 °C 120 min	59,68 ± 2,07	-	67,4 ± 0,23
Mikrovilņu inducēta priekšapstrāde ar HCl [304]	160 °C 10 min	-	-	-
Zemas šķidrums slodzes ūdens amonjaka priekšapstrāde (LLAA) [305]	30 °C 4 nedēļas	86,5 %	-	55 %
Dimetilsulfoksīda priekšapstrāde ar dzelzs hlorīda katalizatoru [306]	120 °C, 45 min	91,9 ± 1,8	6,9 ± 0,6	29,8 ± 0,3

laboratorijas apstākļiem un iekārtām. Pētījumā prioritāte dota priekšapstrādes metodēm, kas selektīvi noņem lignīnu, saglabājot BSG celulozi un hemicelulozi, jo *Aspergillus oryzae* fermenti ir optimizēti polisaharīdu saharifikācijai, nevis lignīna noārdīšanai. Turpmāk aplūktajā piemērā [277] sistemātiski analizētas vairākas iespējamās metodes, izvēloties tās, kas selektīvi noārda lignīnu, bet saglabā fermentācijas procesam būtiskās polisaharīdu frakcijas. Tas nodrošina efektīvu fermentāciju ar *Aspergillus oryzae*, kura enzīmi ir piemēroti saharifikācijai, bet ne lignīna sašķelšanai. Izvēlētās priekšapstrādes metodes, optimālie apstrādes apstākļi un eksperimentālie rezultāti no minētajām zinātniskajām publikācijām ir parādīti 3.2. tabulā [283].

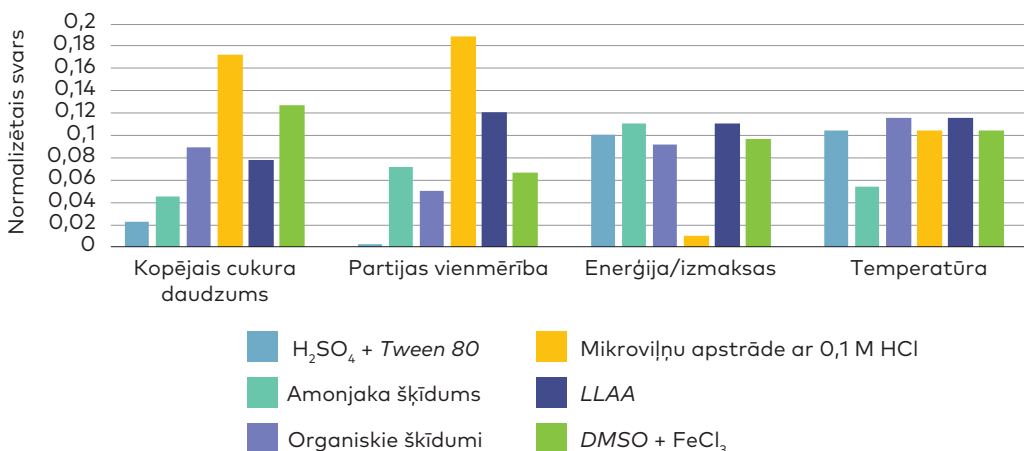
Salīdzinošā analīze (izmantojot TOPSIS daudzkritēriju novērtējumu) parādīja, ka, vienlaikus ievērtējot cukuru iznākumu, procesa norises apstākļus un izmaksu/enerģijas efektivitāti, visperspektīvākā ir amonjaka priekšapstrāde. Novērtējums atklāja, ka amonjaka priekšapstrāde ir vispiemērotākā metode BSG, kas paredzēta liela mēroga lietojumiem. Šī metode uzrādīja labāko veikspēju attiecībā uz darbināšanas temperatūru (<70 °C), enerģijas un izmaksu efektivitāti, kā arī pietiekamu cukuru iznākumu. Lai gan atbrīvoto ogļhidrātu absolūtais daudzums bija vidējs (120–180 mg cukuru uz g BSG), salīdzinot ar citām metodēm, amonjaka metode izcēlās ar procesa mērogojamību un ilgtspēju – zemu enerģijas patēriņu, nav nepieciešama augsta temperatūra vai spiediens, un amonjaku var atkārtoti izmantot. Turpretī, piemēram, atšķaidītas skābes + Tween 80 metode deva pat

augstāku cukuru iznākumu, taču tai vajadzīga 120 °C temperatūra un dārgas piedevas (*Tween 80*), kā arī tā rada vairāk inhibitoru. Šķīdināšana ar 50 % etanolu atdalīja 67 % lignīna, bet cukuru iznākums bija zemāks (60 % glikozes) un procesam vajadzīga 180 °C temperatūra. *DMSO* +  $\text{FeCl}_3$  katalizēta apstrāde gan atbrīvoja 92 % glikozes, tomēr *DMSO* izmantošana nav ekonomiska lielā mērogā, un  $\text{FeCl}_3$  var radīt vides piesārņojumu, ja nav efektīvas reģenerācijas.

Jāatzīmē, ka *TOPSIS* analizē, piešķirot vienādu nozīmi visiem kritērijiem, *DMSO* +  $\text{FeCl}_3$  metode ierindojās pirmajā vietā rezultātu ziņā, bet, kad lielāks svars tika likts uz praktiskumu (izmaksas, enerģija, mērogojamība), amonjaka metode izvirzījās kā optimālā. *Gamage* u. c. (2025) iesaka turpmāk kombinēt amonjaka priekšapstrādi ar vieglu skābo apstrādi divpakāpju procesā (pirmais hemicelulozes šķīdināšanai, otrs lignīna atdalīšanai), lai palielinātu cukuru iznākumu [283]. Šāda stratēģija teorētiski ļautu iegūt gan skābās metodes augsto hemicelulozes hidrolīzi, gan sārmainās metodes celulozes pieejamību, vienlaikus minimizējot inhibitoru (furfurola, *HMF*) veidošanos zemākas temperatūras dēļ. Praktiski to var īstenot, optimizējot katra posma parametrus (piemēram, skābes koncentrāciju, temperatūru, amonjaka koncentrāciju), plānojot statistiskos eksperimentus, un tad validēt laboratorijas un pilotmērogā. *BSG* piemērs uzskatāmi parāda, ka nav vienas ideālas metodes visiem mērķiem – jāņem vērā gan bioķīmiskais iznākums, gan tehniskā un ekonomiskā īstenošana. Šajā gadījumā amonjaka priekšapstrāde izrādījās optimāls kompromiss starp cukuru iznākumu un procesa izmaksām/ilgtspēju lielam mērogam, savukārt, lai maksimāli atgūtu ogļhidrātus, to vēlams uzlabot ar kombinētu pieeju.

Jutīguma analīze atklāja būtiskas atšķirības priekšapstrādes metožu efektivitātē atkarībā no prioritāriem kritērijiem, piemēram, fermentējamo ogļhidrātu iznākuma, partiju konsistences un energoefektivitātes. Mikroviļņu inducētas priekšapstrādes ar 0,1 M HCl

**3.1. attēls.**  
*BSG* apstrādes metožu *TOPSIS* analīzes rezultāti.



### 3.3. tabula.

Kopējais rangs, pamatojoties uz jutīguma analīzi [283]

Metode	Rangs, pamatojoties uz jutīgumu (1 – vissliktākais, 6 – vislabākais)				Kopā	Rangs
	Ogļhidrātu iznākums	Partijas viendabīgums	Enerģija un izmaksas	Temperatūra		
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + Tween 80	1	6	4	4	15	<b>3</b>
Amonjaka šķīdums	2	3	6	6	17	<b>1</b>
Organiskie šķīdinātāji	4	5	1	2	12	<b>5</b>
Mikrovilņi + 0,1 M HCl	6	1	3	3	13	<b>4</b>
LLAA	3	2	5	1	11	<b>6</b>
DMSO + FeCl <sub>3</sub>	5	4	2	5	16	<b>2</b>

metode bija visefektīvākā ogļhidrātu iznākuma ziņā, taču metode uzrādīja augstu jutīgumu pret svaru izmaiņām, kas var ierobežot tās lietojumu rūpnieciskā mērogā augsto izmaksu un enerģijas prasību dēļ. Savukārt *DMSO* + FeCl<sub>3</sub> metode ieguva otro labāko rezultātu ogļhidrātu iznākuma ziņā un izcēlās ar relatīvu stabilitāti dažādos svaru sadalījumos, padarot to perspektīvu mērogošanai, ja tiks risināti vides un drošības apsvērumi. Amonjaka un *LLAA* metodes uzrādīja mērenu ogļhidrātu atgūšanu, taču metodes bija stabilas visā svaru diapazonā (īpaši *LLAA*), norādot uz to potenciālu izmantošanai pilotprojektu līmenī (3.3. tabula).

Savukārt partiju konsistences analīzē vislabāk veicās H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> + Tween 80 metodei, kas gan uzrādīja augstu jutību pret svaru izmaiņām, padarot to mazāk uzticamu lielapjoma lietojumiem. Otrajā vietā ierindojās organisko šķīdinātāju metode, kas bija mēreni jutīga sākuma stadijā, bet stabilizējās pie lielākiem svāriem. *DMSO* + FeCl<sub>3</sub> un amonjaka metodes izcēlās ar stabilitāti pie augstākiem svāriem, kas norāda uz tām kā piemērotām lielāka mēroga lietojumiem, īpaši, ja partiju konsistence ir būtisks parametrs. *LLAA* metode arī šajā indikatorā saglabāja augstu stabilitāti, lai gan kopējā veikspēja bija zemāka. Temperatūras jutīguma analīzē amonjaka metode izcēlās ar visaugstāko veikspēju, kamēr pārējās metodes uzrādīja vāju noturību pret svaru svārstībām. Šis rādītājs gan var būt pārspīlēts, jo nav skaidri definētas robežtemperatūras inhibitoru veidošanai. Kā norāda *Li* un *Kim* (2011), *LLAA* metodi ir iespējams īstenot zemā temperatūrā (30 °C), ja tiek nodrošināts ilgstošs iedarbības laiks [305]. Tas norāda, ka šī metode varētu nākotnē lielapjoma lietojumos konkurēt ar amonjaka priekšapstrādi.

Rezultāti parādīja, ka amonjaka priekšapstrāde nodrošina vislabāko veikspēju lielapjoma lietojumos, piedāvājot zemas

temperatūras apstākļus, augstu energoefektivitāti un mērenu ogļhidrātu atgūšanu. Lai gan gan amonjaka, gan zemas šķidrumslodzes ūdens amonjaka priekšapstrādes (*LLAA*) metode nodrošināja tikai mērenu fermentējamo cukuru iegūvi (120–180 mg/g *BSG*), tiek ierosināts izmantot divpakāpju priekšapstrādes stratēģiju, apvienojot amonjaka un vieglas skābes apstrādes metodes. Pirmajā posmā ar atšķaidītu skābi tiek izšķīdināti hemicelulozes savienojumi, savukārt otrajā posmā amonjaks veicina lignīna noārdīšanu, kas kopumā uzlabo celulozes pieejamību fermentācijai. Šāda pieeja ļautu optimizēt priekšapstrādes procesu, vienlaikus samazinot inhibitoru veidošanos (piemēram, furfurola un *HMF*), kas var traucēt fermentācijas efektivitāti. Tomēr šī novatoriskā metode vēl ir eksperimentāli jāpārbauda laboratorijas apstākļos, optimizējot parametrus un veicot padziļinātu iegūto hidrolizātu analīzi.

### 3.2. Barotnes sastāvs

Tieši rauga mikroorganismu žāvēto biomasu bieži izmanto kā piedevu dzīvnieku barībā, jo tai ir salīdzinoši augsts olbaltumvielu, aminoskābju, enerģētiskais un mikroelementu saturs, salīdzinot ar graudu un eļļas augu izspaidu barību [307]. Raugam ir vairākas priekšrocības, tostarp lielāks šūnu izmērs, kas atvieglo novākšanu, un zemāks nukleīnskābju saturs, kas samazina nepieciešamību pēc pēcapstrādes un izmaksas [308]. Raugi spēj pārveidot lētus, neēdamus pārtikas pārstrādes un lauksaimniecības nozaru blakusproduktus augstas pievienotās vērtības olbaltumvielās, un tie nav atkarīgi no aramzemes un ūdens pieejamības vai mainīgiem klimatiskajiem apstākļiem [309], [310]. *SCP* ražošanai paredzētajam substrātam jābūt pieejamam, netoksiskam, bagātīgam, atjaunojamam, ar zemu cenu un spējīgam nodrošināt strauju mikroorganismu augšanu un vairošanos, iegūstot augstas kvalitātes biomasu [311], [312]. Visbiežākie substrātu avoti *SCP* ražošanai ir augļu atkritumi [313], melase [314], piena rūpniecības blakusprodukti [315], [316], rūpniecības notekūdeņi [317], [318], glicerīns [319], dabasgāze, etanols, metanols [15] u. c. blakusprodukti.

**Barotnes sastāvs** – oglekļa avoti, slāpekļa avoti, to savstarpējā attiecība un mikroelementu pieejamība – būtiski ietekmē *SCP* ražas un proteīna saturu biomasā. Mikroorganismi atkarībā no sugas spēj metabolizēt ļoti dažādus oglekļa avotus, tostarp monosaharīdus (piemēram, glikozi, fruktozi), polisaharīdus (cieti, celulozi pēc hidrolīzes), alkoholu (etanolu, metanolu, glicerīnu) vai pat gāzveida oglekli (metānu,  $\text{CO}_2$ ). *SCP* ražošanā svarīgi, lai substrāts būtu lēts, plaši pieejams un nekonkurētu ar pārtikas resursiem. Oglekļa avota veids ietekmē augšanas ātrumu un šūnu sastāvu. Piemēram, raugs

**3.4. tabula.**

Dažādi substrāti, kas izmantoti kā oglekļa avots, un SCP saturs dažādās rauga sugās

Rauga suga	Oglekļa substrāts	Audzēšanas apstākļi				
		Kultivēšanas laiks, h	T, °C	pH	DCW, g/L	SCP, %
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glicerīns	48	28	5,5	n/d	47,9
	Mango atliekas	30	30	4,0	15,28	79,1
<i>Candida utilis</i>	<i>Opuntia ficus-indica</i> hidrolizāts	50	35	5,0	12,2	14,0
	Kartupeļu notekūdeņi	48	28	5,0	5,65	48,9
<i>Candida tropicalis</i>	Sojas melase	30	30	5,5	10,83	56,4
	Cukurniedru izspaidu hidrolizāts	96	30	5,0	16,97	60,1
<i>Candida pararugosa</i>	Cukurbiešu izspaidas	10	30	4,5	16,21	47,8
	Olīveļļas ražošanas notekūdeņi	96	30	n/d	21,68	39,4
<i>Candida guilliermondii</i>	Cukurbiešu izspaidas	10	30	4,5	15,5	49,2
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Glicerīns	48	28	5,5	n/d	46,7
	Izmantotā eļļa / lietota cepamēļļa	120	28	n/d	57,37	12,6
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	Olīvu augļu atkritumi	n/d	30	5,0	14,40	71,0
	<i>Opuntia ficus-indica</i> hidrolizāts	50	40	5,0	11,1	10,0
<i>Rhodotorula glutinis</i>	Kartupeļu notekūdeņi un 5 % glicerīns	72	28	5,0	19,24	40,5
<i>Pichia stipitis</i>	Cukurbiešu izspaidas	10	30	4,5	19,54	45,6
<i>Pichia kudriavzevii</i>	Biogāzes substrāts	12–15	30	7,0	7,36	32,7
<i>Schwanniomyces etchellsii</i>	Olīveļļas ražošanas notekūdeņi	96	30	n/d	15,11	35,9
<i>Blastobotrys adenivorans</i>	Biogāzes substrāts	12–15	37	7,0	14,83	30,5
	Egļu cukuru hidrolizāts	28	30	5,0	27,62	42,5
<i>Wickerhamomyces anomalus</i>	Biogāzes substrāts	12–15	30	7,0	7,03	22,6
	Egļu cukuru hidrolizāts	24	30	5,0	29,78	41,2

**Piezīme:** DCW – sausās šūnu masas daudzums (grami litrā barotnes);

SCP – vienšūnu proteīna saturs (% no DCW); n/d – nav definēts.

*Yarrowia lipolytica* uz olīveļļas ražošanas atkritumiem spēj sintezēt biomasu ar ļoti augstu proteīna saturu (71 % no sausas) [320], turpretī uz atkritumeļļas augošam tam pašam rauga celmam proteīna saturs bija krietni zemāks (12,6 %), jo barotnes pārlietu augstais C:N attiecības līmenis veicināja lipīdu uzkrāšanos šūnās proteīna sintēzes dēļ [321]. Tādējādi oglekļa substrāta raksturs un sastāvs (piemēram, cukuru vai tauku īpatsvars) var būtiski mainīt iegūtās biomasas kvalitāti.

3.4. tabula sniedz salīdzinošu pārskatu par dažādiem substrātiem, kas izmantoti kā **oglekļa avoti** SCP ražošanai no dažādām rauga sugām, vienlaikus iekļaujot arī būtiskos kultivēšanas parametrus, piemēram, temperatūru, pH un kultivēšanas laiku. Tādējādi iespējams novērtēt saistību starp izmantoto substrātu veidu un SCP saturu, kā arī sausās šūnu masas (*DCW*) ražu. Dati arī parāda, ka visaugstākais SCP saturs (līdz pat 79,1 %) iegūts, kultivējot *Saccharomyces cerevisiae* uz mango atlieku substrāta, savukārt viszemākais – dažām sugām, piemēram, *Kluyveromyces marxianus*, audzējot uz *Opuntia ficus-indica* hidrolizāta. Šie dati ilustrē substrāta izvēles būtisko ietekmi uz proteīna sintēzi un efektīvu SCP ražošanu.

**Slāpekļa avoti** ir nepieciešami intensīvai proteīnu sintēzei, jo slāpekļis ietilpst aminoskābju un citu šūnu komponentu sastāvā [322]. Mikroorganismi izmanto dažādus slāpekļa avotus, piemēram, amonjaku, amonija sāļus, nitrātus, urīnvielu un organisko slāpekli, kas atrodams dažādos substrātos, piemēram, kartupeļu un cietes pārstrādes atkritumos, kā arī siera ražošanas sūkalās [311], [323], [324]. Raugi spēj izmantot plašu dažādu neorganisko un organisko slāpekļa avotu spektru, lai iekļautu tos šūnas struktūrās un funkcionālajos slāpekli saturošajos savienojumos, tostarp aminoskābēs, peptīdos, olbaltumvielās, poliamīnos, nukleīnskābēs un vitamīnos [325]. Lai gan raugam ir spēja izmantot dažādus slāpekli saturošus savienojumus kā vienīgo slāpekļa avotu, tie parāda hierarhisku priekšroku konkrētiem avotiem. Tādējādi rauga augšanas ātrums un sintezēto metabolītu veids ir atkarīgs no pieejamā metabolizējamā slāpekļa kvalitātes un daudzuma [326]. Lielākā daļa raugu dod priekšroku glutamīnam vai amonjakam, bet var izmantot arī citus slāpekļa avotus, lai gan ar pazeminātu augšanas ātrumu [326]. Tas ir tāpēc, ka raugam ir gēni, kas kodē visu aminoskābju biosintēzes enzīmus, tāpēc tie spēj izmantot amonija jonus kā vienīgo slāpekļa avotu. Amonija joni, kas tiek pievienoti kā barības viela vai iegūti, noārdot citus slāpekli saturošus savienojumus, var tikt tieši asimilēti un izmantoti kā aminoskābju sintēzes donori [325].

*Arous* u. c. pētījumā konstatēts, ka vispiemērotākais slāpekļa avots *S. etchellsii* un *C. pararugosa* kultivēšanai bija amonija sāļi (amonija hlorīds un amonija sulfāts), savukārt, izmantojot kālija nitrātu, sojas proteīnu un rauga ekstraktu, biomasa bija 3–8 reizes mazāka [317]. *Umesh* u. c. darbā visaugstākais biomasas un olbaltumvielu saturs tika iegūts, audzējot *S. cerevisiae* barotnē ar liellopu gaļas ekstraktu un rauga ekstraktu kā slāpekļa avotiem, pārspējot amonija nitrāta, amonija sulfāta, urīnvielas un nātrija nitrāta izmantošanu [323]. *C. utilis* gadījumā starp neorganiskajiem slāpekļa avotiem par vispiemērotākajiem olbaltumvielu sintēzei atzīti amonija sulfāts, urīnviela un amonija hlorīds, salīdzinot ar kālija un nātrija nitrātiem [327]. Zīmīgi, ka slāpekļa avota izvēle var būtiski ietekmēt arī ksilozes izmantošanas efektivitāti raugos. *Wu* u. c. [328] norāda,

ka urīnviela ievērojami uzlaboja *C. intermedia* ksilozes patēriņu kukurūzas vāļīšu un sudrabzāles salmu hidrolizātos, savukārt amonija nitrāts, amonija hlorīds un diamonija ūdeņraža fosfāts ksilozes izmantošanu kavēja [328]. Tātad slāpekļa avota izvēle var pārveidot metabolismu un optimizēt konkrētā substrāta, piemēram, lignocelulozes hidrolizāta, izmantošanu.

**Oglekļa un slāpekļa attiecība (C:N)** barotnē ir kritisks parametrs, kas ietekmē substrāta pārstrādes efektivitāti, biomasas ražu un tās proteīna saturu [317], [329], [330]. Mikroorganismu šūnu elementārais sastāvs aptuveni atbilst C:N attiecībai 10:1, tādēļ literatūrā optimāla sākotnējā C:N attiecība vienšūnu proteīna fermentācijās bieži minēta ap 10:1 [324]. Pārāk augsta oglekļa pārsvara gadījumā (C:N > 10) slāpekļis izsīkst, pirms viss ogleklis izlietots, kā rezultātā mikroorganismi pārtrauc augt, atstājot neizmantotu substrātu [326]. Savukārt, ja slāpekļa ir pārāk daudz (ļoti zema C:N, tuvu 1:1), tad slāpekļis netiek efektīvi asimilēts – liekais slāpekļis var pat kavēt augšanu, jo ogleklis kļūst par limitējošo faktoru un šūnas nespēj patērēt visu slāpekli [324]. Piemēram, *Candida utilis* gadījumā konstatēts, ka, pazeminot C:N attiecību no 5:1 uz 1:1, šūnu proteīna saturs samazinājās no 49 % līdz 18 % [330]. Tas nozīmē, ka pārmērīgs slāpekļis bez pietiekama oglekļa avota noved pie neefektīva metabolisma, kur šūnas sintezē mazāk olbaltumvielu. Dažiem raugiem (īpaši eļļu uzkrājošām sugām) novērota arī parādība, ka pie ļoti zema slāpekļa (augsta C:N) šūnas pāriet uz lipīdu sintēzi uzkrāšanai, nevis proteīnu veidošanu [330]. Tādēļ oleaginīlie raugi, kā *Y. lipolytica*, ierobežota slāpekļa daudzuma apstākļos uzkrāj eļļas, bet, tiklīdz slāpekļis atkal tiek pievienots, tie spēj patērēt uzkrātos lipīdus un sintezēt jaunus bezlipīdu šūnu komponentus (ieskaitot proteīnu) [331]. Citā darbā *Schwanniomyces etchellsii* un *C. pararugosa* kultivācijai uz olīveļļas ražošanas notekūdeņiem vislabākais rezultāts iegūts pie C:N 8–10:1 [317]. Arī *Y. lipolytica* uz atkritumeļļas barotnes sasniedza visaugstāko proteīna saturu pie C:N attiecības intervālā 5:1–10:1 [321]. Šie piemēri apliecina, ka ir nepieciešama līdzsvarota, ne pārlietu ekstrēma C:N attiecība, lai vienlaikus nodrošinātu labu augšanu un augstu proteīnu sintēzi.

Svarīga nozīme *SCP* ražošanā ir **mikroelementu pievienošanai** fermentācijas barotnei. Raugam optimālai augšanai, metabolismam un fermentācijas efektivitātei ir nepieciešami dažādi metāli. Metāla jonu nepieciešamība ievērojami atšķiras starp dažādām celmu sugām, tādēļ ir būtiski pielāgot barotnes sastāvu, lai izvairītos no mikroelementu inhibējošās ietekmes uz izvēlēto mikroorganismu augšanu [332]. Visbiežāk nepieciešamie elementi ir fosfāts, magnijs, kalcijs, kālijs, cinks un dzelzs [314], [322], [333], [334], [335]. Kad rauga šūnām trūkst fosfāta un sēra, tās pāriet miera stāvoklī, kurā glikozes fermentācija tiek nomākta un ārējā glikoze netiek patērēta [326]. *Daskalaki* u. c. [336] norāda, ka *Y. lipolytica* 48 stundu laikā pilnībā asimilē visu slāpekli no barotnes; tomēr, kad oglekļa daudzums barotnē ir izsmelts,

slāpekļa un magnija pievienošana izraisa proteīna satura palielināšanos biomasā [336]. Šo mehānismu skaidro *Dourou* u. c. [337] darbs, kur aprakstīts oleagīnisko mikroorganismu dzīves cikls. Pēc oglekļa avota izsīkšanas barotnē vai tā zemā uzņemšanas ātruma gadījumā, oleagīniskie mikroorganismi izmanto savus uzkrātos lipīdus kā enerģijas avotu vai kā iekšējo oglekļa avotu jaunu, bezlipīdu šūnu komponentu sintēzei, ja vien barotnē ir pieejami būtiski uzturvielu elementi [337]. Daži mikroelementi ir nepieciešami salīdzinoši lielākā daudzumā (piemēram, fosfors kā enerģijas vielmaiņas un nukleīnskābju komponents; magnijs – ribosomu stabilizēšanai un ATP metabolismam), un to trūkums var apturēt augšanu – rauga šūnas, kurām trūkst fosfātu vai sulfātu, ietiet miera stāvoklī un vairs nepārstrādā pat pieejamo glikozi. Līdz ar to barotnes minerālsastāvs ir rūpīgi jāpielāgo: jānodrošina pietiekams, bet ne toksisks metāljonu daudzums. Dažādu sugu optimālās vajadzības atšķiras, tāpēc rūpnieciski bieži lieto kompleksus minerālu piejaukumus vai pielāgo barotnes eksperimentāli [235]. Literatūrā ir piemēri, kur mikroelementu piedevas būtiski uzlabo *SCP* ražu. Piemēram,  $\text{Ca}_2^+$  pievienošana ( $\text{CaCl}_2$  0,05 g/L koncentrācijā) *Candida tropicalis* barotnei ar sojas melasi palielināja biomasas ražu un kopējo proteīna saturu, kamēr  $\text{Mg}_2^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Zn}_2^+$  līdzīgā koncentrācijā būtisku efektu nedeva [314]. Citā pētījumā, optimizējot *C. utilis* augšanu, konstatēts, ka  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$  un  $\text{KCl}$  nelielās devās (0,07–0,8 g/L diapazonā) ievērojami palielina biomasas sintēzi [332]. Interesants ir selēna pievienošanas piemērs. *Kieliszek* u. c. [338] optimizēja barotnes sastāvu, papildinot to ar 0,02 g/L selēna, kā rezultātā *S. cerevisiae* un *C. utilis* biomasā tika bagātināta attiecībā uz proteīnu un aminoskābju saturu. Abi rauga celmi, kas tika bagātināti ar selēnu, saturēja ievērojamu daudzumu glutamīnskābes, asparagīnskābes, lizīna, valīna, histidīna un leicīna. Aminoskābju sastāva analīze *C. utilis* biomasai ar selēna bagātinājumu uzrādīja, ka būtiskās aminoskābes lizīna koncentrācija bija augstāka (8,3 %) nekā biomasā bez šī elementa pievienošanas (5,6 %). Turklāt pēc kultivēšanas barotnē ar selēna papildinājumu kopējais aminoskābju saturs abiem celmiem – *C. utilis* un *S. cerevisiae* – bija lielāks, palielinoties attiecīgi par aptuveni 12 % un 5 %. Tomēr kopējais proteīna saturs biomasā nedaudz samazinājās, salīdzinot ar kontroli bez selēna pievienošanas: *S. cerevisiae* – no 48,4 % uz 42,6 %, bet *C. utilis* – no 42,1 % uz 37,0 % [338]. Iespējams, selēna stresa apstākļos šūnas uzkrāja citus komponentus (piemēram, aizsargreakcijas metabolītus), bet proteīna saturs nedaudz kritās, lai gan aminoskābju profils uzlabojās. Šis piemērs parāda, ka mikroelementu pievienošanai var būt kompleksa ietekme uz šūnu sastāvu – tā var uzlabot būtisko aminoskābju līmeni, bet jāuzmanās, lai tas nenotiktu uz kopējā proteīna rēķina.

Optimālai *SCP* ražošanas barotnei jānodrošina:

- piemērots oglekļa avots lielā daudzumā, vēlams lēts blakusprodukts;

- efektīvs slāpekļa avots pietiekamā daudzumā;
- sabalansēta C:N attiecība ap optimālo (5–10:1);
- visi nepieciešamie mikroelementi optimālās koncentrācijās.

Tikai nodrošinot visas šīs sastāvdaļas pareizās proporcijās, var sasniegt augstu biomasas ražu ar maksimālu proteīna saturu. Ja kāds no elementiem ir limitējošs vai disbalansā, fermentācijas iznākums būs suboptimāls, piemēram, slāpekļa deficīts radīs mazāku kopproteīna saturu, bet slāpekļa pārmērība – neizmantota resursa zudumu un potenciāli zemāku efektivitāti.

### 3.3. Inokulāts un mikroorganismu adaptācija

Līdztekus substrātam un fermentācijas barotnei, ļoti svarīga loma veiksmīgā fermentācijā ir inokulāta kvalitātei un daudzumam. Inokulāts ir sākotnējā mikroorganismu populācija, ko ievada bioreaktorā, lai uzsāktu fermentāciju. Parasti inokulātam izmanto atsevišķi izaudzētu kultūru, kas ir aktīvā augšanas fāzē un pietiekamā koncentrācijā.

Inokulāta lielums (% no barotnes tilpuma) ietekmē fermentācijas dinamiku: pārāk mazs inokulāts var radīt ilgu adaptācijas fāzi, līdz mikroorganismi sāk vairoties, savukārt pārlietu liels inokulāts var izraisīt strauju barības vielu izsīkumu un skābekļa deficītu kultūras sākumā [317], [327], [339]. Optimāls inokulāta apmērs ir jānosaka empīriski katrai sugai un procesam. Pētījumos ir minēti gadījumi, kur *SCP* raža pieaug līdz ar inokulāta palielināšanu līdz noteiktai robežai, piemēram, *Candida utilis* uz augļu atkritumu barotnes deva maksimālo proteīna produkciju pie 6 % (v/v) inokulāta. Tāpat ir fiksēts gadījums, kad, palielinot līdz 10 %, *SCP* raža pat samazinājās [327]. Autori skaidro, ka pie 6 % inokulāta skābekļa patēriņš un piegāde bija līdzsvarā, bet lielāks sākumblīvums iztērēja barības vielas un skābekli pārāk ātri, ierobežojot augšanu [327]. Līdzīgi *S. etchellsii* raugam, palielinot inokulātu no 2 % uz 5 %, biomasas raža pieauga, bet 10 % devā atkal kritās līdz 28 %, jo barotne tika strauji noplicināta [317]. Savukārt *Saccharomyces cerevisiae* optimālais inokulāts kādā pētījumā bija 8 %, pie kura uz mango atkritumu hidrolizāta tika sasniegts rekordaugsts proteīna saturs jeb 79 % no sausnas [339]. Pārsniedzot šo devu, atkal iestājās stagnācija. Šie piemēri rāda, ka pārdomāts inokulāta lielums nodrošina ātru fermentācijas startu un pilnvērtīgu resursu izmantošanu, savukārt pārāk liels vai pārāk mazs inokulāts var samazināt procesa efektivitāti.

Inokulāta sagatavošanā būtiski, lai mikroorganismi būtu aktīvā stāvoklī un pielāgoti gaidāmajiem apstākļiem. Bieži izmanto pakāpenisku kultivēšanu: sākotnēji uz neliela tilpuma šķidrās barotnes izaudzē mikroorganismu kultūru, tad to pārsēj lielākā traukā, pakāpeniski palielinot apjomu līdz ražošanas bioreaktoram. Šai

pakāpeniskajai pārsēšanas stratēģijai ir divas priekšrocības: tā nodrošina pietiekamu biomasas daudzumu inokulācijai, un mikroorganismi adaptējas augošajam mērogam un substrāta sastāvam. Nereti mikroorganismi adaptējas arī konkrētajam substrātam, piemēram, ja plānots fermentēt atkritumu hidrolizātu, inokulātu var secīgi pieradināt, audzējot to pieaugošās hidrolizāta koncentrācijās, lai attīstītu šūnās atbilstošus enzīmus un novērstu iespējamu šoka efektu galvenajā fermentācijas procesā. Adaptēšana ir īpaši noderīga, ja substrāts satur kādus toksiskus vai inhibējošus piemaisījumus. Pakāpeniski pieradinot mikroorganismus, var selekcionēt izturīgākas šūnas, kas ražo vajadzīgo proteīnu, neskatoties uz šiem faktoriem [317].

Labs piemērs adaptācijai ir raugu audzēšana uz lignocelulozes hidrolizātiem: šādi hidrolizāti satur ne tikai glikozi, bet arī furānus, fenolus un citas augu biomasas sadalīšanās blakusvielas, kas kavē raugu augšanu. Pētījumos pierādīts, ka, pakāpeniski palielinot toksisko hidrolizāta komponentu koncentrāciju barotnē, iespējams iegūt raugus, kas iemācās tos detoksificēt vai izturēt, tādējādi gala fermentācijā sasniedzot augstāku ražu nekā bez adaptācijas [309], [310]. Turklāt adaptācija var nozīmēt arī mikroorganismu fizioloģisku sagatavošanu. Ja fermentācija noritēs neparastā temperatūrā vai ar neparastu pH līmeni, inokulātu pirms tam audzē attiecīgos apstākļos, lai aktivizētu nepieciešamos stresa aizsardzības mehānismus. Arī barotnes maiņa no bagātīgas uz minimālu var radīt šūnām stresu, tāpēc bieži ražošanas inokulātu audzē jau tuvu ražošanas vides sastāvam [235].

Vēl viens aspekts ir inokulāta dzīvotspēja. Bioreaktorā jāievada veselas, nebojātas šūnas. Ja, piemēram, inokulāts tiek ilgstoši uzglabāts vai transportēts, šūnas var nonākt stacionārā fāzē vai daļa iet bojā, tādēļ lielās ražotnēs bieži tieši pirms inokulācijas sagatavo pār- audzētu sēklu kultūru, kas garantē svaigu, dzīvotspējīgu populāciju. Ja inokulātā ir liels procents bojātu šūnu, tās neaug un var izdalīt lizāta vielas, kas var traucēt augt pārējām šūnām.

Inokulāta kvalitāti var rezumēt trīs punktos: pareizs daudzums, aktīvs stāvoklis un pielāgotība apstākļiem. Tikai nodrošinot šos trīs aspektus, fermentācija noritēs ātri un vienmērīgi, sasniedzot augstu produktivitāti. Nepiemērots inokulāts var radīt fermentācijas procesa aizkavi vai nepilnīgu substrāta izmantošanu, rezultātā samazinot proteīna ražu.

### 3.4. Fermentācijas procesa kontrole

Fermentācijas procesa vadība aptver visu parametru un režīmu optimizēšanu, lai mikroorganismi maksimāli efektīvi pārvērstu substrātu proteīnā. Galvenie stratēģiskie lēmumi ietver fermentācijas

režīma izvēli (periodiska, piebarota vai nepārtraukta kultivēšana), barošanas taktiku, kā arī dinamisku parametru kontroli: pH, temperatūras, izšķīdušā skābekļa (*DO* – no angļu valodas *dissolved oxygen*) uzturēšanu optimālā līmenī, maisīšanas intensitāti, putošanas kontroli utt.

### 3.4.1. Procesa temperatūra

Neatkarīgi no režīma jānodrošina optimāla temperatūra un pH līmenis visas fermentācijas garumā. Lielākajai daļai *SCP* ražojošo mikroorganismu optimālā temperatūra ir mezofilā diapazonā (25–30 °C raugiem līdz 37 °C dažām baktērijām). Piemēram, visbiežāk *SCP* ražošanai minētajām raugu sugām (*Candida*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*) optimālais augšanas temps ir 28–30 °C temperatūrā [317], [319], [320], [321], [340]. Ir arī izņēmumi, piemēram, *Kluyveromyces marxianus* spēj augt arī 40 °C [341], kas var būt izdevīgi, ja substrāta hidrolīze notiek augstā temperatūrā un nav jādzesē. Tomēr pārāk augsta temperatūra var inaktivēt šūnu fermentus un sabojāt šūnu membrānas, savukārt pārāk zema temperatūra palēnina vielmaiņu un barības vielu transportēšanu [317]. Šī iemesla dēļ bioreaktorus, kuros noris fermentācijas process, aprīko ar temperatūras kontroles sistēmām (ūdens sildīšanas/dzesēšanas apvalkiem), lai vienmēr noturētu vēlamo temperatūru. Pētījumos minēts, ka, piemēram, *S. cerevisiae* dod visaugstāko proteīna ražu 25 °C, un raža būtiski kritās jau 15 °C vai 37 °C [104]. Attiecīgi precīza temperatūras kontrole var ietekmēt proteīna saturu. Literatūrā aprakstīti gadījumi, kad, kultivējot ilgāk, *Y. lipolytica* 30 °C temperatūrā sasniedza pat 69 % proteīna saturu, bet pārāk ilga inkubācija radīja proteīna satura kritumu, iespējams, šūnām novecojot un sākot utilizēt pašiem savus proteīnus [235]. Šī iemesla dēļ fermentāciju bieži noslēdz, tiklīdz sasniegts maksimālais proteīna līmenis, lai izvairītos no tā samazināšanās ilgstošā procesā.

Optimāla temperatūra nodrošina visātrāko augšanu un augstāko proteīna saturu. Novirzes no šīs temperatūras pat par 5–10 °C var būtiski ietekmēt rezultātu, tāpēc bioreaktori ir aprīkoti ar termoregulatoriem. *SCP* ražošanā bieži jāsabalansē arī tas, ka fermentācijā izdalās siltums no mikroorganismu vielmaiņas, īpaši intensīvās audzēšanās fāzēs. Lielos bioreaktorus var rasties ievērojams pārkaršanas risks. Ja atdzesēšanas jaudas nepietiek, temperatūra var pārsniegt optimālo, bojājot mikroorganismu kultūru, tādēļ rūpnīcās fermentācijas siltuma bilance tiek rūpīgi rēķināta un dzesēšanas sistēmas projektētas ar rezervi. Zema temperatūra (piemēram, naktī, ja atdziest vide) arī jānovērš, lai kultūra neiekristu “miega” stāvoklī.

Dažos procesos temperatūras maiņa kalpo kā instruments, piemēram, astaksantīna ražošanai ar *P. rhodozyma* otro fāzi veic

zemākā temperatūrā (20 °C) nekā pirmo (25–26 °C), jo atklāts, ka vēsāki apstākļi inducē pigmenta sintēzi [13], [135]. Optimālais temperatūras diapazons karotinoīdu ražošanai ievērojami atšķiras sarkanajiem raugiem, kuri dabiski producē  $\beta$ -karotīnu, torularhodīnu un torulīnu. Piemēram, pētījumā [342] ziņots, ka *Sporidiobolus pararoseus* labi aug temperatūrā 25–35 °C, savukārt optimālie apstākļi gan karotinoīdu, gan biomasas ieguvei bija pH 6 un 28 °C. Tajā pašā laikā šie kultivēšanas faktori neietekmēja karotinoīdu proporciju attiecību [342]. Citā pētījumā [343] trīs *Rhodotorula* raugu sugas sintezēja ievērojami lielāku kopējo karotinoīdu daudzumu temperatūrā 20 °C, salīdzinot ar kultivēšanu to biomasas optimālajā temperatūrā – 28 °C. Karotinoīdu koncentrācija biomasā pieauga attiecīgi par 19 %, 46 % un 57 % *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula mucilaginosa* un *Rhodotorula gracilis* gadījumā, kad tās tika kultivētas 20 °C. Turklāt tika novērots  $\beta$ -karotīna īpatsvara pieaugums un torulīna un torularhodīna samazinājums [343]. Tas nozīmē, ka, ja kopražošanas gadījumā, piemēram, ražojot gan proteīnu, gan karotinoīdu, jāizvēlas optimāli parametri, lai iegūtu lielu biomasas un karotinoīdu iznākumu, taču lielākoties vienšūnu proteīna ražošanā uztur konstantu temperatūru optimālajā punktā visas fermentācijas laikā.

### 3.4.2. pH kontrole

pH kontrole ir svarīga, jo mikroorganismu enzīmu aktivitāte un barības vielu šķīdība/pieejamība ir atkarīga no vides pH. Raugus *SCP* ražošanai parasti audzē viegli skābā vidē. Optimāls pH diapazons literatūrā norādīts no pH 4 līdz 7 [313], [339], [344], [345]. Daudzas sugas vislabāk proteīnu veido pH 5,0–5,5 robežās. Piemēram, *C. tropicalis* uz augļu atkritumu barotnes deva vislielāko proteīna saturu, ja pH 5,5 [314]. *C. utilis* pētījumā optimālais pH bija 6,0 [327]. Pārāk skāba vide (zem pH 3–4) vai pārāk sārmaina (virs pH 8) samazina fermentu aktivitāti un var bojāt šūnu sienīgas. Ekstrēmās pH apstākļos proteīna sintēze bremzējas [327]. Bioreaktora pH kontrolē, automātiski pievienojot skābi vai sārmu (piemēram,  $H_2SO_4$  vai NaOH), kad pH novirzās no iestatītā punkta. Tādējādi kultūra vienmēr atrodas optimālā pH, pat ja vielmaiņas procesi tiecas to mainīt, piemēram, raugi patērē amoniju, paaugstina pH, vai izdala organiskās skābes, pazemina pH. Atbilstoša pH kontrole nodrošina stabili augšanas ātrumu un augstu proteīna saturu. Piemēram, *Rhodotorula glutinis* raudzējot dažādā pH diapazonā (4–7), konstatēts, ka proteīna saturs mainījās tikai no 38,5 % līdz 41,3 %, kas norāda uz diezgan plašu pieļaujamo pH, bet maksimālais biomasas un proteīna daudzums tomēr tika iegūts, kad pH 5,0 [345]. Tātad pH 5 ir drošs optimāls punkts daudziem raugveida *SCP* ražotājiem. pH noturēšana optimālā diapazonā (parasti viegli skābā) ir svarīga gan augšanas

ātrumam, gan proteīna saturam. Vairāki pētījumi rāda, ka proteīna saturs šūnās var mainīties atkarībā no pH. Ekstrēmi pH var pat inaktivēt atsevišķas aminoskābju biosintēzes fermentu darbību, samazinot noteiktu neaizstājamo aminoskābju sintēzi, tāpēc pH parasti kontrolē ar deviaciju  $\pm 0,1$  robežās no iestatījuma. Drošības pēc ražošanā parasti izvēlas viduspunktu, kur fermentu aktivitāte ir stabili augsta un piesārņojuma risks zemāks (vairums baktēriju sliktāk aug  $\text{pH} < 5$ ). Skābās fermentācijas arī ļauj mazināt sterilizācijas slodzi. Ja process notiek  $\text{pH} 4,5$ , daudzi mikrobu piesārņotāji nespēs vairoties, pat ja kāda spora iekļūst. Līdzīgi kā ar temperatūru, arī izmainot pH vidi var veicināt citu produktu rašanos biomasā, piemēram, karotinoīdu producēšanu.

Temperatūra un vides pH ir pamatfaktori, kas ietekmē mikroorganismu karotinoīdu sintēzi. Saskaņā ar literatūras datiem optimālā temperatūra un pH karotinoīdu sintēzei vai nu atbilst optimālajiem biomasas augšanas apstākļiem, vai arī ir zemāki par tiem. Pēc tam, kad ir optimizēta vide un apstākļi konkrētajam celmam un karotinoīdu veidam, ir jāveic eksperimenti arī ar zemākām temperatūras un pH vērtībām [274].

### 3.4.3. Aerācija

**Izšķīdušā skābekļa (*DO*)** līmenis ir būtisks aerobajā fermentācijā, kas ietver *SCP* ražošanu no oglekļa avotiem (izņemot dažus anaerobus procesus, kur izmanto raugus uz etanola utt.). Augsta blīvuma kultūrās skābekļa patēriņš ir milzīgs. Lai uzturētu aerobus apstākļus, bioreaktori ir aprīkoti ar aerācijas sistēmām (sterilu gaisu ievada caur sprauslu) un mehāniskajiem maisītājiem intensīvai maisīšanai. Jau veicot pētījumus laboratorijā, pirms procesu mērogošanas jātestē kolbu maisīšanas un aerācijas ietekme uz proteīna iznākumu dažādām mikroorganismu sugām. Pietiekama fermentācijas barotnes aerācija ir būtiska aerobo mikroorganismu augšanai un dažādu produktu sintēzei [346], [347], [348], [349], [350]. Skābekli fermentācijas laikā var nodrošināt, sakratot kolbas uz orbitālā kratītāja un pielāgojot barotnes darba tilpumu kolbās, vai arī kombinējot skābekļa padevi ar barotnes maisīšanu bioreaktorā [347], [351]. Pētījumi liecina, ka vienādos iepriekš noteiktos fermentācijas apstākļos biomasas daudzums un arī karotinoīdu raža bioreaktorā bija ievērojami augstāka nekā kratāmajās kolbās [348], [351], [352], [353]. Piemēram, audzējot *Phaffia rhodozyma* 5 L bioreaktorā, biomasas un astaksantīna raža palielinājās attiecīgi par 18,9 % un 32,5 % salīdzinājumā ar fermentāciju kratāmajā kolbā [352].

Aerobajiem procesiem *DO* parasti uztur virs 20–30 % no piesātinājuma [348], [352], [353]. Ja *DO* krītas, tas ir pirmais signāls, ka skābekļa padeve netiek līdz patēriņam. *DO* kontrole tiek veikta

kaskādē ar maisīšanu un aerāciju. Pirmais regulācijas posms – maisītāju apgriezieni palielinās, ja  $DO$  krīt zem noteiktās vērtības. Ja ar to nepietiek, palielina gaisa plūsmas ātrumu, ja vēl nepietiek – var bagātināt gaisu ar skābekli. Rūpniecībā parasti cenšas izvairīties no tīra skābekļa lietošanas, tāpēc izmanto vairākus spēcīgus maisītājus un gaisa padevi vairākās vietās. Ja  $DO$  samazinās, mikroorganismiem sāk trūkt skābekļa un tie vai nu palēnina augšanu, vai pāriet uz neefektīvu anaerobo metabolismu un ražo blakusproduktus, nevis biomasu. Liela mēroga ( $10\text{ m}^3$  un lielāki) bioreaktoros vienmērīga skābekļa sadale ir liels izaicinājums: jo lielāks tilpums, jo grūtāk nodrošināt, ka katrā tvertnes punktā ir pietiekams skābekļa daudzums. Rūpnieciskā mērogā bieži rodas situācija, ka bioreaktora vidū un augšdaļā  $DO$  var kristies, radot skābekļa gradientus. Tas izraisa fizioloģisko stresu šūnās, kas vairs nesaņem vienādu aerāciju. Rezultātā samazinās biomasas ražība, metabolītu iznākums un procesa atkārtojamība starp partijām [235], [274]. Tāpēc, projektējot bioreaktorus, izmanto vairākus maisītājus, kas izvietoti reaktora vertikālajā asī, spēcīgas gaisa plūsmas un pat tīra skābekļa padevi, ja nepieciešams, lai saglabātu  $DO$  virs kritiskās robežas. *P. rhodozyma* rauga lielapjoma audzēšanā viens no galvenajiem izaicinājumiem ir skābekļa un masas pārneses uzturēšana vienmērīgi 1000–10000 L reaktoros.  $DO$  gradienti un maisīšanas efektivitāte būtiski ietekmē ražas atkārtojamību [235], [274]. Modernie bioreaktori aprīkoti arī ar  $DO$  sensoru atgriezenisko saiti. Ja  $DO$  sāk kristies, sistēma palielina maisītāja apgriezienus vai gaisa plūsmu.  $DO$  jāuztur virs kritiskā sliekšņa visā reaktorā. Liela mēroga akvakultūras barības *SCP* ražotnēs  $DO$  uzturēšanai nereti izmanto augstspiediena aerāciju (gaisu ievada paaugstinātā spiedienā, lai palielinātu skābekļa šķīdību) vai reaktoru kolonnu konfigurācijas, kas uzlabo dabisko konvekciju.

**Masas pārneses koeficients.** Parametrs  $kLa$  – tilpuma masas pārneses koeficients – raksturo, cik efektīvi skābeklis no gaisa burbuļiem nonāk šķīdumā. Augstam  $kLa$  jābūt, lai  $DO$  nekrītas zem kritiskās atzīmes, piemēram, 20–30 % no piesātinājuma daudzām raugu kultūrām [348], [352], [353]. Tas nav tieši kontrolējams parametrs, bet atkarīgs no aerācijas un maisīšanas iestatījumiem. Augstam  $kLa$  ir būtiska nozīme intensīvā fermentācijā. To ietekmē šķīduma viskozitāte (kas pie augsta šūnu blīvuma pieaug), sprauslas dizains (mazāki burbulīši dod lielāku skābekļa virsmu), maisītāju jauda ap 300–600 rpm [348], [352], [353]. Rūpnieciskajos bioreaktoros  $kLa$  var svārstīties plašā diapazonā. *SCP* fermentācijā bieži barotne ar atkritumu hidrolizātiem var būt viskoza, satur cietas daļiņas, ja nav pilnībā filtrēta, kas samazina  $kLa$ . Tādā gadījumā tas jākompensē ar spēcīgāku maisīšanu. Protams, mehāniskās enerģijas ievade nav bezgalīga – liels maisītāju ātrums var bojāt šūnas, īpaši sēnes un mikroskopiskās aļģes. Rauga un baktēriju šūnas parasti ir

izturīgas pret lielu griezes spēku, bet pārmērīga maisīšana var radīt putas un denaturēt daļu ekstracelulāro proteīnu, ja tādi izdalās. Tas ir ļoti rūpīgs darbs – uzturēt kLa tik augstu, cik nepieciešams, bet ne augstāku. Tādējādi intensīva aerācija un augsts kLa ir kritiski, lai vienšūnu proteīna fermentācija noritētu pilnvērtīgi.

### 3.5. Fermentēšanas un barošanas stratēģijas

Fermentācijas režīma un mēroga izvēle būtiski ietekmē kultivēšanas ilgumu un procesa iznākumu. Piemēram, periodiskās (*batch*) fermentācijas cikls parasti ir īsāks, jo procesu aptur, tiklīdz izsmelts substrāts vai iestājas augšanas ierobežojumi. Turpretī piebarotā (*fed-batch*) fermentācija ļauj ievērojami pagarināt kultivēšanas laiku, pakāpeniski pievienojot barotni un uzturot augšanu optimālos apstākļos [354]. Nepārtrauktās kultūras (*continuous*) teorētiski var uzturēt nedēļām ilgi [354], [355], taču praksē to lietošanu lielā mērogā ierobežo kontroles un stabilitātes problēmas. Ražošanas mērogs arī nosaka stratēģiju: rūpnieciskos apjomos parasti priekšroka tiek dota režīmiem, kas apvieno augstu produktivitāti ar drošu kontroli (bieži piebarotais režīms), savukārt laboratorijā var viegli izmēģināt gan īsus *batch*, gan specifiskus *fed-batch/continuous* variantus. Kopumā kultivēšanas laiks ir atkarīgs no izvēlētās stratēģijas un mēroga – optimālai *SCP* ražošanai jāizvēlas process, kas attiecīgajos apstākļos sniedz vislabāko līdzsvaru starp augšanas ātrumu, ražu un stabilitāti. Fermentācijas stratēģijas izvēle un kontrole ir integrēts uzdevums: jāizvēlas atbilstošā audzēšanas shēma un jānodrošina, ka kritiskie parametri tiek uzturēti optimāli visā kultivēšanas laikā. Laba stratēģija var ievērojami uzlabot proteīna ražību, piemēram, optimizējot režīmu un barošanas veidu. Tāpat stratēģiska pieeja ļauj apvienot vairākus mērķus, piemēram, vienlaikus ražot proteīnu un blakusproduktu divpakāpju fermentācijā, kas padara *SCP* ražošanu ekonomiski pievilcīgāku.

#### 3.5.1. Kultivēšanas ilgums

Kultūras inkubācijas laiks būtiski ietekmē iegūtās biomasas sastāvu un proteīna saturu. Augšanas kinētika un šūnu sastāvs ir savstarpēji saistīti: *Zakhartsev* u.c. apraksta, ka kultivēšanas temperatūra ietekmē mikroorganismu molekulāro procesu kinētiku un tādējādi specifisko augšanas ātrumu, savukārt augšanas ātrums nosaka šūnu makromolekulāro sastāvu [356]. Lēni augošās rauga *S. cerevisiae* kultūrās ( $\mu < 0,1 \text{ h}^{-1}$ ) ogļhidrātu īpatsvars var sasniegt 50 % un proteīni 40 % no sausas, kamēr straujas

augšanas gadījumā ( $\mu > 0,3 \text{ h}^{-1}$ ) ogļhidrāti kritas līdz 15 %, bet proteīni pieaug līdz 60 % [356]. Šī parādība izskaidro augstu proteīna saturu īsā kultivēšanas laikā – kā norāda *Patelski* u. c. un *Lapena* u. c., kuros pēc attiecīgi 10 un 12 stundu kultivēšanas tika iegūti 46–49 % *SCP C. tropicalis*, *P. stipites*, *C. guilliermondii* un 47–51 % *C. jadinii*, *W. anomalus*, *B. adenivorans* biomasā [344], [357].

Arī citi pētījumi apliecina, ka optimālais fermentācijas ilgums proteīna uzkrāšanai ir atkarīgs no mikroorganisma un substrāta. Viens no augstākajiem proteīna satura rādītājiem (69 %) tika iegūts *Rages* u. c. [320] pētījumā, kur *Y. lipolytica* tika kultivēta 96 stundas. Tomēr iegūtās biomasas daudzums nebija augsts – tikai 13,10 g litrā. Turpmākajās kultivēšanas dienās proteīna saturs samazinājās, un līdz astotajai inkubācijas dienai tas saruka līdz 45,63 %. Savukārt maksimālais biomasas daudzums tika sasniegts sestajā kultivēšanas dienā [320], kas norāda, ka ilgāka audzēšana palielināja biomasu, bet ne proteīna daļu. *Dharumadurai* u. c. [312] un *Rajendran* u. c. [340] pētījumos *S. cerevisiae* sasniedza augstāku biomasas daudzumu pēc 168 fermentācijas stundām, taču maksimālais proteīna saturs tika reģistrēts pēc 72 stundām, izmantojot 5 % ananāsu atkritumu hidrolizātu un papaijas un banānu sulu. Atšķirīgi rezultāti tika novēroti *Umesh* u. c. [323] darbā, kur aplūkota *S. cerevisiae* kultivēšana uz papaijas atkritumu hidrolizāta, – gan augstāks biomasas daudzums, gan lielāks proteīna saturs tika sasniegti pēc 120 stundām. Savukārt *Kurcz* u. c. [358] pētījumā tika novērots, ka *C. utilis* proteīna saturs sausajā biomasā bija augstāks pēc 48 stundām, izmantojot kartupeļu notekūdeņu barotni, bet pēc 72 stundām tas samazinājās no 43,5 % uz 41,7 %. Līdzīga tendence tika novērota arī tad, kad barotnei tika pievienots 5 % un 10 % glicerīns. Tomēr, kad glicerīna daudzums tika palielināts līdz 15–25 %, proteīna saturs 72. stundā bija augstāks, kas norāda, ka proteīna uzkrāšanās laiks ir atkarīgs no barotnes sastāva [358]. Šie piemēri rāda, ka optimālais ražas novākšanas brīdis var svārstīties no dažām stundām līdz vairākām dienām atkarībā no celma un barotnes sastāva.

Kultivācijas laika optimizācija nodrošina, ka biomasu tiek novākta brīdī, kad tajā ir maksimāls proteīna saturs. Novākt pārāk agri nozīmē neiegūt maksimālo biomasu; novākt par vēlu – šūnas var sākt noārdīt proteīnu vai uzkrāt vairāk ogļhidrātu, tādējādi proteīna daudzums samazinās. Ņemot vērā šīs atšķirības, raugu kultivēšanas ilgums jāizvēlas rūpīgi. Proteīna ražošanai būtiski ir eksperimentāli novērtēt substrāta daudzuma un kvalitātes ietekmi uz augšanas ātrumu un substrāta patēriņa tempu, lai noteiktu optimālo biomasas novākšanas brīdi. Ir svarīgs kompromiss starp kvantitāti un kvalitāti, tādēļ katram jaunam substrātam un organismam optimālais kultivēšanas laiks ir jānosaka empīriski, ņemot vērā gan proteīna saturu, gan biomasas pieaugumu.

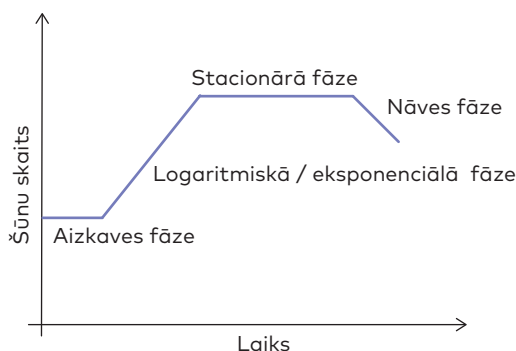
### 3.5.2. Fermentācijas režīma izvēle un barošanas stratēģijas

Fermentācijas režīms nosaka, kā tiek organizēts kultūras audzēšanas process, un tieši ietekmē ražošanas ilgumu, ražību un kontroles sarežģītību. Izšķir trīs pamatrežīmus: periodisko, piebaroto un nepārtraukto kultivēšanu. Katrai pieejai ir savas priekšrocības un trūkumi SCP ražošanā. Turpmāk aplūkoti minētie fermentācijas režīmi un barošanas stratēģijas, kā arī to nozīme proteīna ražībā.

**Periodiskā (batch) fermentācija** ir visvienkāršākais režīms. Tajā visas barības vielas iesākumā ievieto fermentorā, tad inokulē kultūru, un ļauj tai augt līdz resursu izsīkumam vai citu limita faktoru iestāšanās brīdim. Šim režīmam raksturīga tipiska augšanas fāžu secība: adaptācija, eksponenciālā augšana, stacionārā fāze (kad barības vielas iztērētas vai atkritumprodukti kavē augšanu) un deģenerācijas fāze (3.2. attēls).

Periodiskajā procesā vieglāk uzturēt sterilitāti, jo nav papildu ievades pēc starta. Ir arī vienkāršāk vadīt procesu, taču tam ir ierobežojumi. Substrāta koncentrāciju nevar ļoti paaugstināt, lai sākumā neradītu inhibīciju, tādēļ kopējā raža ir limitēta. Arī produktu un blakusproduktu uzkrāšanās vēlākajā fāzē var kavēt augšanu. Piemēram, ja substrāts satur daudz cukura, raugi periodiskajā režīmā var izjust osmospiedienu vai etanola veidošanos (*Crabtree efekts*), kas pasliktina proteīna sintēzi [359]. Šī iemesla dēļ periodiskajā procesā praktisku iemeslu dēļ bieži netiek izsmelts viss substrāts – jāatstāj droša rezerve zem inhibējošā līmeņa [360]. Rezultātā periodiskās fermentācijas ražība parasti ir zemāka nekā intensīvākos režīmos.

**Piebarotā (fed-batch) fermentācija** izstrādāta, lai novērstu periodiskā procesa trūkumus un palielinātu produktivitāti. Piebarotās fermentācijas stratēģijā substrātu neievada visu uzreiz, bet gan pievieno pakāpeniski fermentācijas gaitā. Tas ļauj uzturēt optimālu barības vielu līmeni – pietiekami augstu, lai mikroorganismi nebadotos, bet pietiekami zemu, lai nerastos substrāta inhibīcija vai



**3.2. attēls.**  
SCP producējošo mikroorganismu augšanas fāzes.

blakusmetabolītu veidošanās [361]. Piebarojot kultūru, iespējams panākt ļoti augstu šūnu blīvumu un ilgstošu eksponenciālās augšanas fāzi, jo mikroorganismiem vienmēr pieejamas svaigas barības vielas. Piemēram, ja rauga kultūrai glikozi pievieno visu laiku vai periodiski, nevis visu sākumā, var izvairīties no etanola uzkrāšanās, un vairāk oglekļa plūst biomasas (proteīna) sintēzē. Piebarošanas režīms mūsdienās ir dominējošais *SCP* rūpnieciskajā ražošanā, jo tā nodrošina augstāku produktivitāti (g biomasas stundā) un labāku procesa kontroli. To, piemēram, izmanto maizes rauga rūpnīcās un citu vienšūnu proteīna produktu iegūšanā [362]. Šāda režīma priekšrocības ir augstāka tilpuma produktivitāte un stabilāki apstākļi bioreaktorā. Ievadot barotni kontrolēti, var uzturēt optimālu pH, izšķīdušā skābekļa līmeni un citus parametrus. Barošanas stratēģija ir arī elastīga – padeves ātrumu un sastāvu var mainīt procesa laikā atbilstoši kultūras vajadzībām. Piemēram, modelējot *Phaffia rhodozyma* (raugs, kas ražo proteīnu un karotinoīdu astaksantīnu) kultivēšanu, secināts, ka mērķtiecīga glicerīna piebarošana 74.–89. stundā varētu paildināt aktīvo augšanas fāzi un palielināt kopējo proteīna ražu [363]. Piebarošanas stratēģija ļauj arī dinamiski regulēt C:N attiecību fermentācijas gaitā, piemēram, sākumā dot augstu slāpekļa devu straujai augšanai, bet vēlāk limitēt slāpekli, lai inducētu kādu metabolītu vai mainītu šūnu sastāvu. Šāda kontrolēta barības vielu dozēšana padara procesu elastīgu.

Piebarotās fermentācijas trūkumi ir lielāka sarežģītība, jo ir nepieciešama precīza padeves kontrole, bieži ar programmējamiem sūkņiem vai atgriezenisko saiti no sensoriem [364]. Tāpat ilgākas fermentācijas gaitā var uzkrāties blakusprodukti, un iekārtai jābūt aprīkotai ar uzticamu mērījumu un regulācijas sistēmu. Praksē piebarotās fermentācijas rūpnieciskā mērogā (piemēram, 30 m<sup>3</sup> bioreaktors) ilgst aptuveni 3–4 diennaktis, un to gaitā iespējams iegūt desmitiem tonnu svaigas rauga biomasas ar augstu proteīna saturu. Šādos procesos nepārtraukti monitorē *DO* un pH un regulē padevi – tiklīdz sasniegts vēlamais proteīna saturs biomasā, fermentāciju pārtrauc, lai novāktu ražu pirms proteīna satura krišanās ilgstošas inkubācijas dēļ.

**Nepārtrauktā (*continuous*) fermentācija** vēl vairāk palielina produktivitāti, teorētiski ļaujot nenoteikti ilgu kultūras uzturēšanu. Tajā svaigu barotni nepārtraukti (vai pa daļām) ievada fermentorā, un tikpat daudz kultūras izvada ārā, uzturot stacionāru stāvokli. Nepārtrauktajā režīmā var uzturēt šūnu specifisko augšanas ātrumu optimālā līmenī, neļaujot kultūrai ieiet nāves zonā. *SCP* rūpniecībā nepārtraukto audzēšanu lieto retāk, jo to ir tehniski sarežģītāk uzturēt sterilu ilgā periodā un grūtāk kontrolēt izskalojamo šūnu vecumu un stāvokli. Tomēr, ja tas izdodas, nepārtrauktā fermentācija dod visaugstāko tilpuma produktivitāti jeb biomasas daudzumu uz tilpuma vienību dienā [365], [366]. Piemēram, klasiskās rauga rūpnīcās,

piemēram, maizes rauga ražošanā, bieži izmanto nepārtrauktu procesu, kur kultūru ilgstoši uztur barojot un novācot, lai iegūtu maksimālu biomasas daudzumu īsā laikā.

Lai labāk izprastu dažādu fermentācijas režīmu piemērotību *SCP* ražošanai, ir lietderīgi salīdzināt to galvenās priekšrocības un trūkumus. 3.5. tabulā sniegts strukturēts šo režīmu kopsavilkums, ļaujot novērtēt to praktisko lietojumu dažādos apstākļos. Katrs no trim klasiskajiem režīmiem – periodiskais, piebarotais un nepārtrauktais – piedāvā atšķirīgu līdzsvaru starp procesa vienkāršību, ražību, kontroles sarežģītību un bioloģisko stabilitāti. Piebarotās fermentācijas režīms bieži nodrošina vislabāko kompromisu starp ražību un procesu vadāmību. Piemēram, komerciālajā rauga *SCP* ražošanā (lopbarības piedevas veidā) ierasta prakse ir piebarotā fermentācija 30 m<sup>3</sup> tvertnēs, kas ilgst 3–4 diennaktis un dod 50–60 t slapjas biomasas, ko pēc tam apstrādā. Šādos procesos rūpīgi seko *DO*, *pH*, veic atbilstošas barošanas korekcijas un aptur fermentāciju, tiklīdz sasniegts vēlamais proteīna saturs, lai neļautu tam kristies ilgākas inkubācijas dēļ.

### 3.5. tabula.

*SCP* ražošanas fermentācijas režīmu galveno iezīmju salīdzinošs kopsavilkums

Fermentācijas režīms	Priekšrocības	Trūkumi
<b>Periodiskā (<i>batch</i>)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vienkārša īstenošana un kontrole</li> <li>• Katrs cikls sākas ar tīru kultūru, mazāks piesārņojuma risks</li> <li>• Piemērots nestabiliem celmiem</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ierobežota raža, substrāts jāpievieno sākumā ierobežotā daudzumā</li> <li>• Neizmantots laiks starp cikliem (tvertnes mazgāšana, uzpilde)</li> <li>• Augšanas apstākļi mainās (barības vielas un <i>DO</i> sākumā vs. beigās atšķiras)</li> </ul>
<b>Piebarotā (<i>fed-batch</i>)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ļoti augsts šūnu blīvums un proteīna raža, substrātu pievieno optimāli</li> <li>• Stabīlāki apstākļi, novērš substrāta inhibīciju, uztur <i>DO</i></li> <li>• Elastīga stratēģija, var mainīt barošanas ātrumu, C:N dinamiski</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sarežģītāka kontrole, nepieciešama precīza barošanas shēma, sensori</li> <li>• Iespējama blakusproduktu uzkrāšanās ilgākas fermentācijas laikā</li> <li>• Vajadzīgs modernāks aprīkojums un automatizācija</li> </ul>
<b>Nepārtrauktā (<i>continuous</i>)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Visaugstākā tilpuma produktivitāte, stabils stāvoklis bez dīkstāves</li> <li>• Iespēja integrēt ar citiem procesiem, piemēram, nepārtrauktā substrāta padeve no blakusreakcijas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Augsts kontaminācijas un mutāciju risks ilgtermiņā</li> <li>• Sarežģīta sterilitātes uzturēšana, pastāvīgi atvērta sistēma</li> <li>• Grūtāk noturēt vienmērīgu apstākļus lielā mērogā (<i>O</i><sub>2</sub>, <i>pH</i> gradients)</li> <li>• Iespējama šūnu izskalošanās</li> <li>• Retāk izmantota proteīna ražošanā šo risku dēļ</li> </ul>

Režīma izvēli nereti ietekmē arī produkta stabilitāte un blakusproduktu uzkrāšanās. Piemēram, ja mikroorganismi ilgi atrodas bioreaktorā, kā tas ir nepārtrauktajā procesā, tiem var rasties spontānas mutācijas, kas samazina proteīna ražošanu. Periodiskās fermentācijas režīmā šādi riski mazāk, jo katru reizi sāk ar uzglabātu pamatkultūru. *Bacillus subtilis* gadījumā pētījumos minēts, ka vairākkārtējas kultūras pārnesšanas laikā (10 paaudzes) mutantu celmu proteīna ražība var saglabāties stabila, ja nav negatīvas selekcijas spiediena [367], [368], tomēr citi pētījumi rāda, ka dažas celmu uzlabotās īpašības var pavājināties atkārtotās kultūrās bez selektīviem apstākļiem [132], [133]. Ja ražošanā izmanto speciāli iegūtus mutantus ar uzlabotām īpašībām, bieži fermentāciju veic periodiskās fermentācijas vai piebarotās fermentācijas režīmā, bet ne nepārtrauktā fermentācijas režīmā bez selekcijas, lai izvairītos no revertantu uzkrāšanās.

Piebarotās fermentācijas režīms mūsdienās dominē *SCP* rūpniecībā kā optimālā pieeja, apvienojot lielu ražību ar samērā vienkāršu kontroli. Periodiskās fermentācijas režīmu lieto specializētos gadījumos vai mazākā mērogā, kur vienkāršība un drošība svarīgāka par maksimālu intensifikāciju. Nepārtrauktās fermentācijas režīms pamatā paliek akadēmisks vai specifiskiem produktiem piemērots, piemēram, atsevišķu enzīmu vai vienkāršu eļļas ražošanai, bet proteīna ražošanā retāk izmantots kontaminācijas un stabilitātes risku dēļ. Ražotājam, izvēloties režīmu, jāņem vērā arī ekonomiskie faktori. Piebarotās fermentācijas cikli var būt ilgāki un sarežģītāki, kam nepieciešama augstāka operatoru kvalifikācija un procesu automatizācija, taču tie dod vairāk produkta no vienas fermentācijas uzsākšanas reizes, kas bieži attaisno papildu izmaksas.

**Barošanas (substrāta pievienošanas) stratēģijas** jau daļēji apspriestas fermentēšanas režīmu kontekstā. Papildus substrātam fermentācijas gaitā var būt jāpievieno arī slāpekļa avoti vai mikroelementi, ja tie tiek izlietoti. Dažkārt izmanto tādu taktiku kā eksponenciālā barošana, kur substrātu pievieno ātrumā, kas atbilst kultūras augšanas ātrumam. Tādā veidā mikroorganismu kultūra turpina augt eksponenciāli bez barības vielu limita. Citkārt lieto pulsējošu barošanu – periodiski ievadot barotni, kas var izraisīt īslaicīgu strauju augšanu, kam seko izsīkums. Ja mērķis ir inducēt kādu metabolītu, var barošanu modulēt atbilstoši, piemēram, astaksantīna ražošanai *P. rhodozyma* rauga gadījumā – pirmajā fāzē bagātīgi barot ar slāpekli un oglekli proteīna sintēzei, otrajā fāzē pārtraukt slāpekļa ievadi un dot papildu oglekli, lai stimulētu karotinoīdu veidošanos [363], [369]. Divfāžu barošanas stratēģija ir ieteikta *P. rhodozyma* gadījumā: pirmajā fāzē optimāli apstākļi augšanai (augsts N, optimāla T = 20–22 °C un pH 5), otrajā fāzē – slāpekļa ierobežošana, pazemināta temperatūra un pH, pievienoti viegli oksidatīvi stresa faktori, kas inducē astaksantīna biosintēzi [363], [369]. Tādējādi ar

rūpīgu barības vielu un apstākļu pārslēgšanu vienā fermentācijā var iegūt gan proteīnu, gan vērtīgo pigmentu. Vairāku produktu sintēzes sabalansēšana ir fermentācijas stratēģijas jautājums. To pielāgo atkarībā no mērķa. Ja mērķis ir maksimāla biomasa, substrātu dozē tā, lai tas vienmēr ir nedaudz limitējošs, tad šūnas visus resursus iegulda augšanā. Ja mērķis ir arī kāds metabolīts, var ieviest 2. stadiju ar citu barošanas modeli. Barošanu var modulēt pēc dažādām taktikām: konstanta padeve (vienkāršs sūkņa ātrums – viegli, bet neoptimāli, jo kultūras vajadzības mainās), lineāra palielināšana (padeves ātrums aug lineāri ar laiku – aptuveni pielāgots eksponenciālai augšanai), eksponenciāla padeve (padeves ātrums aug eksponenciāli, sekojot šūnu augšanai precīzi – uztur kultūru eksponenciālā fāzē pēc modeļa). Piemēram, lai *C. utilis* uzturētu konstantu augšanas ātrumu  $\mu = 0,2 \text{ h}^{-1}$ , var aprēķināt glikozes padeves ātrumu. Protams, reālās situācijās parametri mainās, tāpēc izmanto parametru monitoringu. Ja *DO* sāk celties, tas nozīmē substrāts iztērēts un šūnas sāk smakt, jeb tās patērē mazāk skābekļa. Tas ir signāls padot vēl substrātu. Izmantojot šādas taktikas, padodot nepieciešamās barības vielas un skābekli, var vienmēr turēt kultūru augšanas viļņa maksimālajā punktā.

No procesu kontroles skatpunkta, mūsdienu rūpnieciskās fermentācijas bieži ir aprīkotas ar automātiskām kontroles un sensoru sistēmām, kas reāllaikā uzrauga pH, *DO*, putu līmeni un temperatūru. Tas ļauj precīzi ievērot tehnoloģisko režīmu. Piemēram, *DO* sensori kombinācijā ar frekvenču mainīgiem maisītājiem var uzturēt konstantu *DO*, bet pH sensoru devēji kontrolē sūkņus skābes/sārma pievienošanai. Reāllaika monitoringa ir īpaši svarīgs sarežģītās stratēģijās, piemēram, divfāžu fermentācijās, lai īstajā brīdī pārietu no augšanas fāzes producēšanas fāzē. Pārejas posmi jāīsteno gludi, piemēram, piebarotās fermentācijās var būt jāpievieno noteikts impulss (piemēram, kāds sāls vai induktors), lai aktivētu kādu metabolisma ceļu. Šo darbību precizitāte lielā mērā ietekmē rezultātu. Rūpnieciskā mērogā šādas izmaiņas grūtāk kontrolēt, jo sistēmas inerce ir lielāka, piemēram, lielam tilpumam mainās parametri lēni. Metabolo fāžu pārslēgšana lielā reaktorā prasa ļoti precīzu procesu kontroli un sensorizāciju, kas tehniski ir izaicinoši un ir nepieciešami pilotpētījumi optimālu algoritmu izstrādei [363].

Lai vienšūnu proteīna ražošana būtu optimāla, kultūra ir jānotur optimālos apstākļos: piemērotā temperatūrā, viegli skābā pH, ar pietiekamu  $\text{O}_2$  padevi un lēnu, bet stabilu barības vielu pieplūdi. Mūsdienu rūpnieciskie bioreaktori spēj nodrošināt šo smalko līdzsvaru, izmantojot automatizētās sistēmas. Jāatzīmē, ka fermentācijas procesa laikā šie parametri var būt savstarpēji saistīti, piemēram, ja barošana pēkšņi par daudz, *DO* krīt; ko novērš, palielinot maisīšanu, kas savukārt var paaugstināt temperatūru. To kompensē dzesēšana,

kas var ietekmēt pH (gāzu šķīdība mainās) utt. Tas uzskatāmi parāda, ka procesa kontrole ir integrēta – izmaiņas vienā parametra kontrollerī var atbalsoties citur. Tāpēc progresīvās sistēmās izmanto dažādus algoritmus, kas prognozē parametru mijiedarbību un labāk stabilizē procesu. Galarezultātā iegūstams stabils, optimizēts process. Tas nozīmē maksimālu proteīna ražību. Piemēram, *P. rhodozyma* optimizētā procesā izdevās sasniegt būtiski labāku proteīna produktivitāti un kvalitāti, saglabājot astaksantīna līdzražošanu, tieši pateicoties rūpīgai parametru kontrolei ar glicerīna barošanu un C:N vadību [183], [369]. Līdzīgi *B. subtilis* intensīvā kultivēšanā parametru līdzsvars, piemēram, aerācija, ļāva iegūt septiņas reizes vairāk biomasas un 1,5 reizes lielāku proteīna saturu, salīdzinot ar standarta apstākļiem, apliecinot optimizētas kontroles lielo efektu [367], [138].

### 3.6. Ražošanas procesa posmi un to norise

*SCP* ražošanas tehnoloģiju var sadalīt secīgos posmos, kas katrs ietekmē galaprodukta kvalitāti un iznākumu. Turpmāk uzskaitīti tipiski rūpnieciska *SCP* ražošanas procesa soļi [363].

- **Inokulāta materiāla sagatavošana.**

Izvēlētais mikroorganisms (raugs, baktērija u. c.) tiek uzturēts tīrkultūrā. Ražošanas ciklu uzsāk ar sēklas kultūras audzēšanu sterilā barotnē nelielā bioreaktorā vai kolbā. Mērķis ir iegūt dzīvotspējīgu, aktīvu augošu inokulātu noteiktā apjomā (parasti 5–10 % no ražošanas bioreaktora tilpuma). Sēklas kultūru audzē optimālos apstākļos līdz eksponenciālās augšanas fāzes vidum, lai pārsējas brīdī šūnas būtu metaboliskā aktīvākajā stāvoklī.

- **Fermentācija.**

Galvenajā bioreaktorā, kas aprīkots ar maisītāju, aerācijas sistēmu un kontroles sensoriem, notiek mikroorganismu masveida pavairošana uz izvēlētais barotnes. Bioreaktors tiek sterilizēts, papildīts ar barotni, un tajā tiek pievadīts inokulāts. Fermentācijas gaitā uztur konstantu temperatūru un pH (piemēram, automatizēti pievienojot skābi/bāzi), kā arī nodrošina aerāciju, lai uzturētu izšķīdušā skābekļa līmeni. Augšanas laikā var padot barības vielas (piebarošanas režīms), ja ir jāuztur optimāla substrāta koncentrācija bez inhibīcijas. Fermentācijas posms turpinās, līdz sasniegti procesam noteiktie kritēriji, piemēram, maksimāla biomasa vai substrāta iztērēšanās. Šajā posmā uzkrājas mikroorganismu biomasa, kas ir galvenais *SCP* produkts. Atkarībā no mikroorganisma vienas partijas fermentācijas ilgums parasti 1–4 diennaktis. Pētījumos ar *P. rhodozyma* redzams, ka 88 stundu laikā var sasniegt līdz 33,5 g/L biomasas koncentrāciju periodiskajā fermentācijā [363].



- **Biomassas atdalīšana.**

Kad fermentācija pabeigta, iegūtā mikroorganismu biomasa ir jāatdala no šķidrā barotnes atlikuma (fermentācijas barotnes). Parasti izmanto centrifugēšanu lielā ātrumā vai filtrāciju, lai nošķirtu šūnas. Rezultātā iegūst slapjas biomasas pastu un atkritumšķidrumu – šķidrumu, kas satur nevajadzīgos atlikumus. Efektīva atdalīšana un skalošana ir svarīga, lai notīrītu biomasu no fermentācijas barotnes komponentiem, piemēram, lai samazinātu rūgtumu, sāļu saturu utt., kas var traucēt turpmākajā izmantošanā.

- **Biomassas apstrāde un žāvēšana.**

Svaigi atdalītā biomasa parasti satur 70–80 % ūdens. Lai uzglabātu to ilgstoši un iekļautu barībā, biomasa jāpārvērš stabilā, sausā produktā. Lieto dažādas žāvēšanas metodes: žāvēšana smidzinot (biomasas suspensiju izsmidzina karstā gaisā, iegūstot sausas

### 3.3. attēls.

Galvenie SCP ražošanas posmi.

pulverveida daļiņas) vai žāvēšana uz sakarsētiem rotējošiem cilindriem. Žāvēšana jāveic pietiekami sauszīgi, lai nesabojātu proteīnu kvalitāti, bet arī pietiekami, lai mitrums nokristu pietiekamā līmenī (<10 %), novēršot bojāšanos [363]. Rezultāts ir vienšūnu proteīna milti, kas ir smalks pulveris ar augstu proteīna saturu, ko var ilgstoši uzglabāt.

- **Iesaiņošana un uzglabāšana.**

Gatavo *SCP* produktu atdzesē, homogenizē un iepakoj mitrumnecaurlaidīgos maisos vai konteineros. Uzglabā sausā, vēsā vietā, lai saglabātu barības vērtību. Pirms izmantošanas barības maisījumos *SCP* var vēl mehāniski apstrādāt, lai uzlabotu sagremojamību, daļēji sašķeļot rauga šūnapvalkus. Bieza šūnapvalka dēļ raugu sagremojamība var būt zemāka, tādēļ mehāniski, ķīmiski vai enzīmātiski šķeļ apvalku. Tas gan paaugstina procesa izmaksas, toties būtiski uzlabo uzturvielu pieejamību [363].

Visa procesa laikā tiek veikta kvalitāte kontrole – monitorēta mikrobioloģiskā tīrība (lai kultūrā neieviešas kontaminanti), proteīna saturs partijās, aminoskābju sastāvs, mitrums, nukleīnskābju daudzums u. c. parametri. Piemēram, nukleīnskābju saturs *SCP* produktā tiek rūpīgi uzraudzīts, jo pārāk liels RNS/DNS daudzums var izraisīt purīnu metabolisma traucējumus patērētājos. Ja nepieciešams, tiek veikti papildu posmi nukleīnskābju samazināšanai, lai produkts atbilstu drošas barības prasībām. 3.3. attēlā parādīti galvenie *SCP* ražošanas posmi.

Ražošana sākas ar substrātu sagatavošanu, ko pievieno fermentācijas barotnei. Tad sagatavotajā inokulātā tiek pievienoti izvēlētie mikroorganismi. Bioreaktorā notiek galvenais ražošanas process, un pēc tā seko biomasas atdalīšana un apstrāde, žāvēšana un uzglabāšana atbilstošos apstākļos.



## RAŽOŠANAS PROCESA OPTIMIZĀCIJA

# 04

Ievads	7
Vienšūņu proteīna potenciāls akvakultūras barībā	8
<b>01</b> Blakusprodukti kā resursi vienšūņu proteīnu ražošanai	12
<b>02</b> Lēmumu pieņemšana: resursu un mikroorganismu izvēle	32
<b>03</b> Vienšūņu proteīna ražošanas tehnoloģija	62
<hr/>	
<b>04 RAŽOŠANAS PROCESA OPTIMIZĀCIJA</b>	<b>96</b>
<hr/>	
4.1. Eksperimenta plānošana	97
4.2. Atbilžu virsmas metodoloģija ( <i>RSM</i> )	97
4.3. Mērogošana	102
4.4. Modelēšana un simulēšana	103
4.5. Mikroorganismu celmu uzlabošana proteīna sintēzes un neaizstājamo aminoskābju ieguves palielināšanai	104
<hr/>	
<b>05</b> <i>SCP</i> ražošanas tehnoloģijas novērtējums	108
<b>06</b> Ceļvedis "No idejas līdz produktam"	138
Izmantotā literatūra	164
Summary	198

Neskatoties uz *SCP* bioloģisko piemērotību akvakultūras barībai, viens no galvenajiem *SCP* tehnoloģiju izaicinājumiem ir ražošanas procesa ekonomiskā konkurētspēja – sarežģīti barotnes komponenti (piemēram, peptoni, rauga ekstrakts) padara vienšūnu biomasas audzēšanu dārgu [1], [369]. Šī iemesla dēļ ir jāoptimizē fermentācijas apstākļi un barotnes sastāvs, aizstājot dārgās sastāvdaļas ar lētākām alternatīvām, kas ir neorganiskie sāļi, agrorūpniecības blakusprodukti, neietekmējot proteīna ražību. Lai to sasniegtu, kritiski svarīga ir pārdomāta eksperimentu plānošana lietošana – sistematiska pieeja eksperimentu organizēšanai un rezultātu analīzei.

## 4.1. Eksperimenta plānošana

Eksperimentu plānošana (*Design of Experiments – DoE*) ir statistisku metožu kopums, kas ļauj strukturēt eksperimentus tā, lai ar minimālu mēģinājumu skaitu iegūtu maksimāli daudz informācijas par vairāku faktoru ietekmi. Pretstatā tradicionālajai pieejai “mainīt vienu faktoru vienā reizē” (*one-factor-at-a-time*), *DoE* ietvaros vienlaikus plānoti vairāku faktoru variāciju kopumi saskaņā ar noteiktu eksperimentālo matricu. Tas nodrošina datubāzi, kas ļauj kvantitatīvi noteikt ne tikai katra faktora individuālo efektu, bet arī faktoru mijiedarbības un nelineārus efektus, kas vienfaktora pieejā paliktu neatklāti. Fermentācijas procesu optimizācijā *DoE* pieeja parasti ietver:

- skrīninga eksperimentus galveno ietekmējošo mainīgo identificēšanai;
- optimizācijas eksperimentus, kuros detalizēti pēta nozīmīgāko faktoru optimālo kombināciju (nereti izmantojot *RSM* otrās kārtas modeļus).

Šāda sistemātiska plānošana ļauj efektīvi izzināt procesu ar mazāku eksperimentu skaitu un iegūt statistiski pamatotus secinājumus par optimālajiem apstākļiem.

## 4.2. Atbilžu virsmas metodoloģija (*RSM*)

*RSM* (*response surface methodology*) ir plaši lietota eksperimenta plānošanas pieeja, kas apvieno faktoriālo eksperimentu plānošanu ar matemātisku modelēšanu, lai noteiktu optimālās atbildes (rezultāta) virsmas vairāku faktoru telpā. Parasti *RSM* izmanto otrās pakāpes regresijas modeļus, kas iegūti no rūpīgi plānotiem eksperimentiem (piemēram, centrālā kompozītplāna vai Boksa–Benkena plāna), lai aprakstītu sistēmas uzvedību un prognozētu vēlamu reakciju pie dažādām faktoru kombinācijām. Šāda pieeja ļauj identificēt optimālu faktoru kombināciju, ņemot vērā gan faktoru individuālo

ietekmi, gan to mijiedarbību [10]. *RSM* īpaši noder, ja procesā vienlaikus jāoptimizē vairāki parametri un jāmeklē kompromiss starp tiem.

*RSM* ir labi izstrādāta statistiskas un matemātiskas pieeja, ko parasti izmanto, lai optimizētu fermentācijas vidi un kultivēšanas parametrus mikrobiālos bioprocesos, tostarp proteīnu, lipīdu, astaksantīna, bioetanola un fermentu ražošanā [370], [371], [372], [373], [374]. Literatūrā minētajos piemēros *RSM* veiksmīgi lietota dažādu mikroorganismu bioproduktu ražošanā – sākot no *SCP* un lipīdu iegūšanas līdz astaksantīna, bioetanola un enzīmu ražošanai, apliecinot tās daudzpusību bioprocesu optimizācijā. Tās lietojums ir īpaši nozīmīgs sistēmās, kurās kā fermentācijas substrāti tiek izmantoti lauksaimniecības un rūpniecības blakusprodukti, kur procesu optimizācija ir būtiska, lai uzlabotu ražību, samazinātu izmaksas un paaugstinātu kopējo procesu efektivitāti. *RSM* atvieglo eksperimentu plānošanu, modeļu izveidi un kvantitatīvo analīzi par vairāku mainīgo ietekmi uz vienu vai vairākiem atbildes faktoriem [375].

#### 4.1. tabula.

ANOVA modeļu izvērtēšanai

Atbildes mainīgie	Avots	SS	DF	MS	F vērtība	P vērtība
Biomasa	Modelis	74,14	5	14,83	1013,08	<0,0001
	Neatbilstība modelim	0,2797	18	0,0155	1,3	0,3947
	Kļūda	0,0715	6	0,0119	-	-
	Kopējā variācija	74,49	29	-	-	-
	$R^2$	0,9953				
Proteīna daudzums	Modelis	2391,99	5	478,4	312,68	<0,0001
	Neatbilstība modelim	17,87	17	1,05	0,3641	0,9529
	Kļūda	17,32	6	2,89	-	-
	Kopējā variācija	2427,18	28	-	-	-
	$R^2$	0,9855				
Astaksantīna daudzums	Modelis	0,0102	7	0,0015	405,23	<0,0001
	Neatbilstība modelim	0	16	2,621E-06	0,4267	0,9187
	Kļūda	0	6	6,143E-06	-	-
	Kopējā variācija	0,0102	29	-	-	-
	$R^2$	0,9923				

SS – kvadrātu summa; DF – brīvības pakāpe; MS – kvadrāta vidējais.

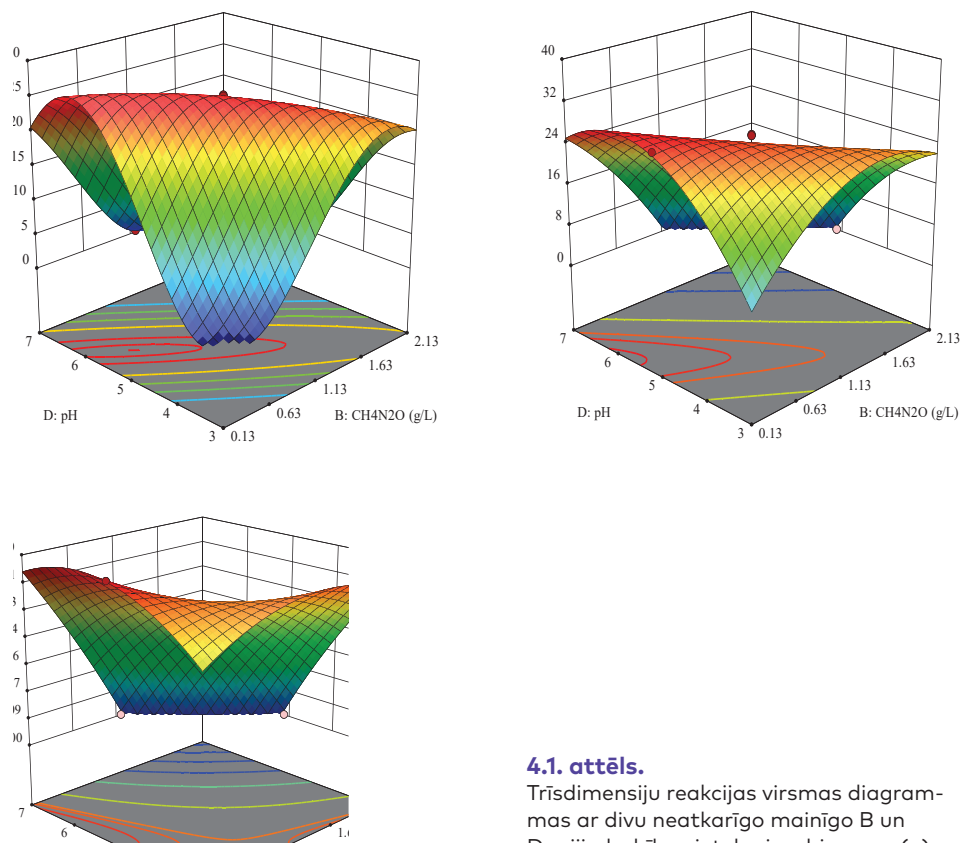
Kā piemēru var aplūkot barotnes optimizāciju *Phaffia rhodozyma* kultūrai SCP procesā, izmantojot RSM [369]. Pētījuma mērķis bija, izmantojot RSM ar centrālā kompozīta plānojumu, sistemātiski izprast un optimizēt *Phaffia rhodozyma* kultivācijas vidi, lai maksimizētu SCP ražu un proteīna saturu, vienlaikus novērtējot arī astaksantīna kā blakusprodukta veidošanos. RSM tika izmantota, jo šāda daudzfaktoru statistiskā pieeja ļauj atklāt ne tikai katra barotnes komponenta tiešo ietekmi, bet arī mijiedarbības un nelinearitātes, kas mikroorganismu metabolisma procesos bieži nosaka to, vai kultūra aug optimāli vai tiek inhibēta. Eksperimenta plāns iekļāva 31 kultivācijas variantu, kuros tika mainīta glicerola, urīnvielas, amonija sulfāta koncentrācija un sākotnējais pH līmenis, savukārt kā atbildes mainīgie analizēta biomasas, proteīna saturs, proteīna produktivitāte un astaksantīna koncentrācija. Modeļu izvērtēšanai izmantota ANOVA, tā gūstot apstiprinājumu, ka izstrādātie 2. kārtas polinomiālie modeļi ir statistiski ļoti nozīmīgi, tiem ir izcila datu atbilstība ( $R^2 > 0,98$ ), kas norāda uz augstu prognozēšanas precizitāti (4.1. tabula) [369].

Galīgās regresijas vienādojumi, kas izteikti kodēto faktoru izteiksmē (4.1. tabula), tika izmantoti, lai prognozētu biomasas ražas, proteīna satura un astaksantīna koncentrācijas atbildes vērtības kā izvēlēto fermentācijas parametru funkcijas. Kodētu modeļu izmantošana atvieglo katra faktora relatīvās ietekmes salīdzināšanu, standartizējot to skalas, un ļauj identificēt galvenos faktorus, kas ietekmē modelēto atbildi. No četriem sākotnēji pārbaudītajiem faktoriem tikai urīnviela (B) un pH (D) statistiski nozīmīgi ietekmēja gan biomasas ražu, gan proteīnu saturu. Turpretim amonija sulfāts (C) uzrādīja statistisku nozīmīgumu ( $p < 0,001$ ) tikai astaksantīna satura modelī, tādēļ tika izslēgts no samazinātajiem biomasas un proteīna ražas modeļiem. Līdzīgi arī glicerīns (A) neuzrādīja statistiski nozīmīgu ietekmi uz kādu no trim reakcijām testētajā koncentrāciju diapazonā un tika izslēgts no samazinātajiem prognozēšanas modeļiem. Urīnviela un pH uzrādīja izteiktu lineāru, mijiedarbības (BD) un kvadrātisku ietekmi, kam visām bija negatīvi koeficienti. Tas liecina, ka novirzes no to optimālā diapazona, gan zemākas, gan augstākas par optimālo, kaitīgi ietekmē gan biomasas uzkrāšanos, gan proteīnu sintēzi. Šie rezultāti apstiprina, ka eksperimenta plānošanā ir skaidri definēta optimālā zona, kurā mērēns urīnvielas līmenis un kontrolēts pH veicina mikroorganismu augšanu un proteīnu biosintēzi.

Trīsdimensiju reakcijas virsmas attēlu izveide bija būtisks solis *P. rhodozyma* barotnes optimizācijas procesā, jo šie modeļa vizualizācijas rīki ļāva ne tikai matemātiski, bet arī intuitīvi uztvert faktoru mijiedarbības un nelinearitātes ietekmi uz biomasas, proteīna un astaksantīna veidošanos. RSM balstītie virsmas grafiki atklāj, kā barotnes parametrus – konkrēti urīnvielas koncentrāciju un

pH – kultūra uztver vienlaikus, nevis atsevišķi. Tādējādi šie attēli palīdzēja identificēt ne tikai optimālos apstākļus, bet arī to robežas, kurās mikroorganismu augšana kļūst inhibēta vai mazāk produktīva. Šo vizualizāciju nozīme bija ne tikai ilustratīva – tās kalpoja kā galvenais instruments, lai saprastu metabolo darbību daudzdimensiju telpā un izveidotu ticamus, kvantitatīvus optimizācijas modeļus.

Biomases virsmas grafiks (4.1. (a) attēls) parādīja skaidru optimālo zonu – urīnviela 0,5–1,5 g/L un pH 4,0–6,5. Virsmas izliekums un straujā krituma zonas ārpus šī diapazona apstiprināja kvadrātisko un mijiedarbības efektu esamību, ko atklāja arī matemātiskais modelis. Tas pierāda, ka *P. rhodozyma* ir jutīga gan pret slāpekļa pārslogzi, gan trūkumu, un optimālā augšana notiek vidēji skābā vidē. Proteīna saturs virsma (4.1. (b) attēls) bija vēl šaurāka, norādot, ka proteīna biosintēze ir pat jutīgāka nekā kopējās biomasas veidošanās. Šī virsma palīdzēja identificēt precīzu zonas pāreju, kur nelielas pH vai urīnvielas svārstības izteikti samazina proteīna akumulāciju. Šī informācija bija kritiska, jo pētījuma mērķis bija maksimizēt tieši



#### 4.1. attēls.

Trīsdimensiju reakcijas virsmas diagrammas ar divu neatkarīgo mainīgo B un D mijiedarbības ietekmi uz biomasu (a), proteīnu saturu (b) un astaksantīna saturu (c).

proteīna ražu, nevis tikai kopējo biomasu. Virsmas analīze vizuāli apstiprināja metodes apgalvojumu, ka abu atbilžu optimālie reģioni pārklājas, kas būtiski vienkāršo procesa praktisko ieviešanu.

Astaksantīna virsmas attēls (4.1. (c) attēls) parādīja atšķirīgu topoloģiju. Sedlveida formas centrālā ieplaka liecina, ka pigmenta biosintēzi regulē fundamentāli atšķirīgi fizioloģiskie mehānismi. Atšķirībā no proteīna un biomasas veidošanās, kas maksimumu sasniedza vidējos urīnvielas un pH līmeņos, astaksantīna sintēze pastiprinājās stresa apstākļos, kad urīnvielas koncentrācija bija gan zema, gan augsta. Pārmērīgi skābs vai sārmains pH veicināja pigmenta uzkrāšanos. Tas ne tikai apstiprina *P. rhodozyma* kā tipisku karotinoīdu producentu, bet arī demonstrē, kā pigmenta un proteīna biodinamika var būt savstarpēji pretrunīga, kas jāņem vērā, ja procesu nākotnē vēlas optimizēt abu savienojumu kopražošanai.

Šie virsmas attēli bija jāģenerē, lai identificētu optimālo barotnes sastāvu pirms eksperimentālās verifikācijas. Izmantojot vēlamības funkciju, šie vizuālie modeļi ļāva aprēķināt trīs optimālas barotnes kombinācijas, kurās visi mērķi – augsts biomasas saturs, augsts proteīna saturs un stabila astaksantīna veidošanās – tika prognozēti ar maksimālo iespējamo atbilstības pakāpi ( $D = 1$ ). Šie modeļa risinājumi pēc tam pārbaudīti eksperimentāli, un iegūtie rezultāti labi sakrita ar prognozēm, apstiprinot virsmas modeļu un *RSM* pieejas uzticamību.

*RSM* rezultāti skaidri parādīja, ka viskritiskākie barotnes faktori gan biomasas, gan proteīna sintēzē ir urīnvielas daudzums un pH, un to efekti izrādījās ne tikai būtiski, bet arī nelineāri. Gan pārāk augsta, gan pārāk zema urīnvielas koncentrācija, kā arī pH novirzes no vidēji skābas vides, izraisīja strauju augšanas samazināšanos, kas liecina par šauru optimālo vidi *P. rhodozyma* fizioloģiskajai darbībai. Savukārt glicerola koncentrācija šī pētījuma robežās neierobežoja augšanu, un tā nozīme izpaudās galvenokārt kā stabils oglekļa avots, nevis limitējošs faktors. Interesanti, ka amonija sulfātam bija nozīmīga loma tikai astaksantīna sintēzē, bet ne proteīna vai biomasas veidošanās, kas atbilst redzējumam, ka pigmenta biosintēzei nepieciešama atšķirīga metabola regulācija nekā proteīna akumulācijai.

*RSM* analīze parādīja, ka optimālais barotnes sastāvs (70,5 g/L glicerīna, 4,98 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,13 g/L urīnvielas, pH 5,86) nodrošina 26,1 g/L sausnas biomasas ar 29,8 % proteīna saturu kolbu kultūrās. Validējot šo formulāciju 5 L maisītā bioreaktorā, tika iegūti vēl labāki rādītāji – maksimāli 33,5 g/L biomasas un 6,82 g/L kopējā proteīna pēc 88 h ilgas periodiskās fermentācijas. Šie rezultāti apliecināja *RSM* modeļa precizitāti un parādīja, ka, aizstājot 90 % dārgo organisko slāpekļa avotu ar lētiem neorganiskiem sāļiem, var saglabāt augstu *SCP* ražību. *P. rhodozyma* gadījumā optimizētā barotne ļāva efektīvi ražot proteīniem bagātu rauga biomasu un vienlaikus iegūt augstvērtīgu karotinoīdu astaksantīnu kā blakusproduktu

[369]. *DoE/RSM* pieeja ļauj vienlaikus uzlabot gan produkcijas apjomu, gan procesa ekonomiku [369].

Mērķtiecīgi lietojot *DoE* un *RSM*, iespējams noteikt optimālus fermentācijas apstākļus ar mazāku eksperimentu skaitu un lielāku pārlicību. Statistiski pamatots eksperimentālais plāns palīdz identificēt būtiskākos faktorus un to optimālās vērtības pirms dārgu piloteksperimentu veikšanas, tādējādi mazinot izmēģinājumu un kļūdu pieejas izmaksas. Šīs metodes kalpo par pamatu turpmākajai parametru optimizācijai.

### 4.3. Mērogošana

Pēc procesu optimizācijas laboratorijas mērogā nākamais solis ir šo rezultātu pārnese pilotmēroga un rūpnieciskā mēroga iekārtās. Mērogošanā inženiertehnisko ierobežojumu dēļ parametri, kas nodrošināja izcilu ražību nelielā tilpumā, ne vienmēr tieši replicējas daudz lielākos tilpumos. Skābekļa pieejamības, putošanās, sajaukšanas un siltuma novades problēmas kļūst daudz aktuālāka. Piemēram, lai nodrošinātu to pašu izšķīdušā skābekļa līmeni 100 m<sup>3</sup> reaktorā, kas bija viegli uzturams 1 L kolbā, var būt nepieciešama liela maisīšanas jauda un aerācijas intensitāte. Tas savukārt rada paaugstinātu enerģijas patēriņu un mehānisko stresu šūnām, jo veidojas spēcīgas turbulences plūsmas un bīdes spēki [376]. Lielos reaktoros pieaug arī fermentācijas eksotermijas izkļiedēšanai nepieciešamā jauda – dzesēšanas sistēmai jāspēj aizvadīt siltumu, lai kultūra nepārkarstu. Arī masas pārnese jeb barības vielu un skābekļa sadale lielā tilpumā ir lēnāka. Var veidoties gradienti, zonas ar zemāku O<sub>2</sub> vai substrātu koncentrāciju, kur šūnu augšana būs sliktāka [364]. Šo iemeslu dēļ bieži jāveic parametru atkārtota optimizācija pilotmērogā, jāpielāgo aparātu konstrukcija, piemēram, jāizmanto vairāki maisītāji dažādos līmeņos, jāpievieno putu separatori, jāizvēlas efektīvāka aerācijas metode. Mērogošanas procesā inženieri izmanto līdzības kritērijus, piemēram, cenšas saglabāt konstantu jaudas ievadi uz tilpuma vienību, konstantu gaisa plūsmas intensitāti (vvm), līdzīgu sajaukšanas laiku utt. Šī iemesla dēļ piloteksperimenti ir kritiski, lai empīriski pārbaudītu, kā laboratorijas optimizētie apstākļi strādā lielākā mērogā, un nepieciešamības gadījumā tos varētu koriģēt [377].

Mērogošanas izaicinājumu piemērs ir *P. rhodozyma* pilotprojekts. 110 L pilotreaktorā (88 L darba tilpums) *P. rhodozyma* ražoja tikai 2,67 kg sausnas *SCP* biomasas vienā 89 h periodiskajā ciklā, kas atbilst aptuveni 34 g/L gala koncentrācijai [378]. gada griezumā (78 periodiskie cikli gadā) tas veidoja vien 208 kg *SCP* izlaidi [378]. Šī produktivitāte atspoguļoja rauga bioloģiskās īpašības – lēnu augšanu un mērenu biomasas ražas koeficientu, kas padarīja to mazāk konkurētspējīgu, ja mērķis ir tikai proteīna biomasa. Turklāt tika

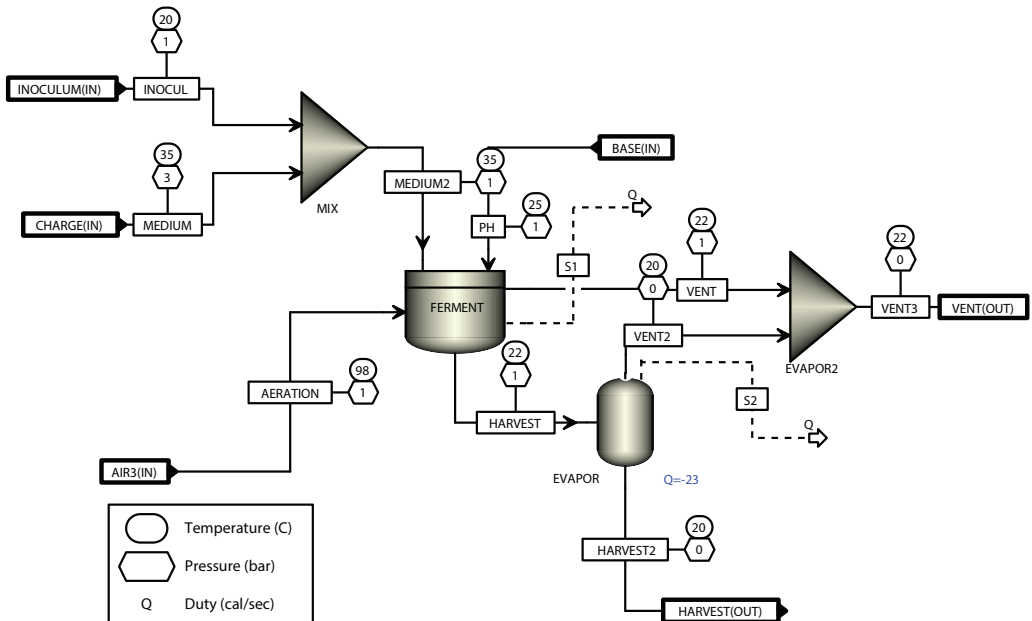
konstatēts, ka pilotprocesā fermentācija kļuva par energoietilpīgāko posmu. 89 stundu ilgā aerācija un maisīšana, kas bija nepieciešama, lai uzturētu augstu  $DO$ , patērēja vairāk enerģijas nekā visi sekojošie posmi, tostarp žāvēšana [378]. Rezultātā aprēķinātā vienas biomasas kilograma pašizmaksa pilotmērogā bija daudz augstāka nekā tradicionālajām proteīna barībām. Šie dati parādīja, ka *P. rhodozyma* *SCP* procesu ekonomika mazā mērogā ir neizdevīga, ja netiek vienlaikus iegūts augstvērtīgs blakusprodukts – pigments astaksantīns, tā ļaujot segt izmaksas [379]. Industriālai ieviešanai tika ieteiktas procesa intensifikācijas stratēģijas, piemēram, pāreja uz piebaroto vai nepārtrauktu kultivēšanu, kas ļautu uzturēt raugu augšanas režīmā ilgāk, palielinot gada izlaidi un samazinot vienas partijas izmaksas. Tāpat tika identificēti citi uzlabojumu ceļi, piemēram, energoefektīvākas žāvēšanas metodes un atjaunojamas enerģijas izmantošana, lai mazinātu procesa ekoloģisko pēdu [363].

## 4.4. Modelēšana un simulēšana

### 4.2. attēls.

*Aspen Plus* partijas fermentācijas plūsmas shēmas piemērs, izmantojot *BATCHOP* reaktora bloku.

Lai mazinātu mērogošanas riskus, arvien biežāk izmanto procesu modelēšanu un simulāciju. Piemēram, *P. rhodozyma* pilotprojekta izstrādē tika veidots detalizēts procesa modelis *Aspen Plus* programmatūrā, kas ļāva virtuāli izmēģināt dažādas konfigurācijas un darbības scenārijus pirms fiziska pilotiekārtas testa [378]. Modelējot bioreaktoru un saistītās operācijas, bija iespējams pārlicināties, ka 110 L reaktora darbība efektīvi atspoguļos laboratorijas mēroga



kinētiku, un vienlaikus modelis nodrošināja datus iekārtu dimensionēšanai, enerģijas un materiālu patēriņa aprēķiniem [380], [381]. 4.2. attēlā parādīts šāda procesa simulācijas piemērs – tipiska *Aspen Plus* plūsmas diagramma, kas ilustrē fermentācijas bloka, barotņu padeves, aerācijas, vielu pārneses un produktu atdalīšanas posmu savstarpējo sasaisti. Šāds modelis sniedz skaidru priekšstatu par procesa struktūru un palīdz agrīni identificēt potenciālos “pudeles kaklus”, pirms tiek veikti jebkādi praktiski eksperimentālie ieguldījumi. Šāda integrēta pieeja ar procesa simulāciju kopā ar tehniski ekonomisko analīzi un dzīves cikla novērtējumu palīdz identificēt potenciālos procesa posmus ar vislielāko ietekmi un vājās vietas jau plānošanas posmā [363].

Lai laboratorijas eksperimentu rezultāti būtu īstenojami rūpnieciskā mērogā, nepieciešama cieša sadarbība starp laboratorijas pētniekiem un procesu inženieriem. Jau optimizējot procesus nelielā mērogā, jāpatur prātā mērogošanas principi, piemēram, jāizvairās no tādiem apstākļiem, ko lielā reaktorā nevarētu nodrošināt. Pilotmēroga izmēģinājumi un/vai modelēšana, un simulācijas ir būtiski, lai validētu optimizētos parametrus rūpnieciskā vidē un vajadzības gadījumā tos koriģētu. Piemēram, ja laboratorijā optimāla *DO* uzturēšanai pietika ar aerāciju bez spiediena, tad rūpniecībā var nākties ieviest gaisa kompresorus vai tīra skābekļa padevi. Ja laboratorijā izmantots nestandarta maisīšanas ātrums, rūpniecībā var nākties mainīt maisītāja konstrukciju vai bioreaktora tipu. Tāpat jāņem vērā, ka nepārtraukta procesu darbība rūpnīcā prasa uzturēt sterilitāti ilgāku laiku – attiecīgi optimizētajam celmam jābūt pietiekami stabilam un izturīgam. Eksperimentālais dizains un optimizācija dod vislielāko piensumu tad, ja to rezultāti tiek sekmīgi ieviesti praksē. To panāk ar rūpīgu mērogošanas plānošanu, modelēšanu, pilotpētījumiem un inženiertehniskajiem uzlabojumiem, kas nodrošina, ka laboratorijas apstākļos panāktā *SCP* ražošanas efektivitāte maksimāli saglabājas arī rūpnieciskajā mērogā.

## 4.5. Mikroorganismu celmu uzlabošana proteīna sintēzes un neaizstājamo aminoskābju ievguves palielināšanai

Pat optimālos procesa apstākļos proteīna ražas var ierobežot paša mikroorganisma ģenētiskais potenciāls, tāpēc nozīmīga joma *SCP* tehnoloģijā ir ražīgu mikroorganismu celmu izveide jeb mikroorganismu celmu selekcija vai modificēšana, lai tie akumulētu vairāk proteīna un uzlabotu tā kvalitāti [3]. Tradicionāli mikroorganismu rūpniecisko celmu uzlabošanai izmantotas divas pieejas: mērķtiecīga ģenētiskā inženierija (ģēnu klonēšana, regulēšana) un nejauša

mutaģenēze un selekcija. *SCP* jomā līdz nesenam laikam pārsvarā dominēja pirmā pieeja fermentācijas parametru optimizācijai, izvēloties piemērotas savvaļas sugas/šķirnes ar augstu proteīna saturu [383]. Tomēr arvien vairāk uzmanības gūst nejaušās mutaģenēzes un adaptīvās evolūcijas metodes, ar kurām iespējams pārvarēt dabiskos ierobežojumus un izveidot produktīvākus proteīnu ražojošus mikroorganismus.

Nejaušā mutaģenēze – UV apstarošana vai ķīmisku mutagēnu lietošana – ir klasiska pieeja, lai radītu tūkstošiem nejaušu punktmutāciju mikroorganismu genomā [385], [386], [387], [388]. Šī metode pati par sevi nedefinē, kuras mutācijas organismi iegūs, un rodas milzīga mozaīka ar dažādām izmaiņām, no kurām dažas var palielināt proteīna saturu šūnās. Izaicinājums ir atlasīt no šīs milzīgās populācijas tieši tos mutantu klonus, kam proteīna sintēze ir uzlabojusies. Tradicionāli mutantus atlasa pēc viegli redzamiem fenotipiem, piemēram, augšanas uz selektīvas barotnes, taču proteīna satura pieaugums nav tieši redzams uz platēm. Vēsturiski mutaģenēzi aktīvi izmantoja metabolītu pārproducentu iegūšanai, piemēram, aminoskābju ražošanai (lizīna, glutamīnskābes rūpniecībā), antibiotikām, vitamīniem. Šādos gadījumos bija zināmas specifiskas selekcijas, piemēram, lizīna pārproducējošos korinebaktēriju mutantus atlasīja uz barotnēm ar analogiem [388], [389], [390], [391].

Pētnieki izmanto līdzīgu pieeju, domājot par proteīna ražotājiem – ja izdotos ieviest mērķtiecīgu selekcijas spiedienu, kas nodrošina priekšrocību šūnām ar paaugstinātu proteīna ražību vai labāku aminoskābju profilu. Tā kā proteīns sastāv no aminoskābēm, piemērota izvēle ir izmantot selekciju pēc neaizstājamo aminoskābju sintēzes. Te parādās ideja par aminoskābju inhibitoriem – vielām, kas bloķē noteiktu aminoskābju biosintēzes enzīmus. Daudzi šādi inhibitori ir zināmi lauksaimniecības herbicīdi [392], [393], [394]. Ja savvaļas celmu pakļauj šādam inhibitoram, tas neaug, jo inhibitora klātbūtnē nespēj sintezēt attiecīgo aminoskābi. Ja mutaģenēzes rezultātā kāda šūna ieguvusi tādu mutāciju, kas pastiprina attiecīgās aminoskābes sintēzi, tad tai var būt lielāka tolerance pret herbicīdu [383]. Tādējādi, inkubējot mutantus uz barotnes ar konkrētu herbicīdu jeb aminoskābju inhibitoru atbilstošā koncentrācijā, izdzīvos tikai tie, kuriem proteīna/aminoskābju sintēze jau ir uzlabota [395].

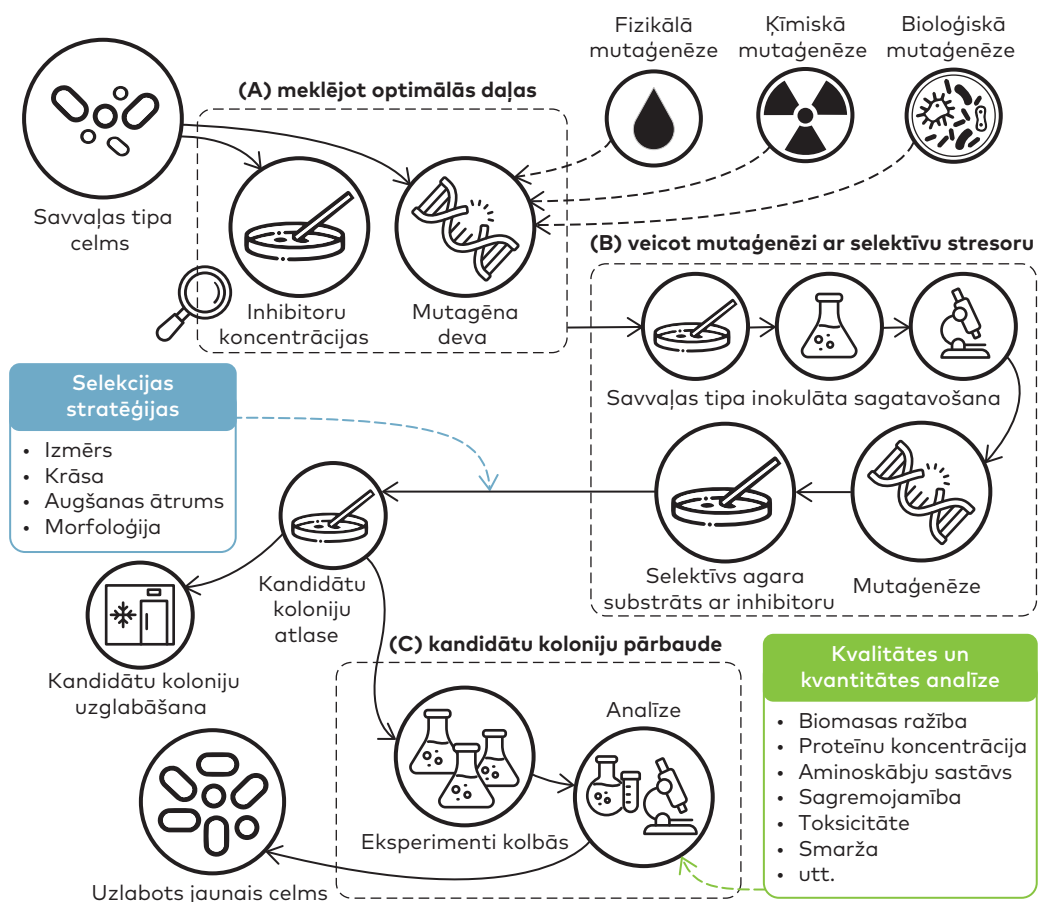
Mutaģenēze un herbicīdu selekcija notiek vairākos posmos [368]. Pirmkārt, jānosaka atbilstošā herbicīda deva un mutagēna deva. Herbicīda koncentrācijai jābūt tādai, kas pilnībā inhibē savvaļas celmu (100 % augšanas aizture), bet ļauj retam pārproducenta mutantam augt. Mutagēna (UV vai EMS) devai jābūt pietiekamai, lai nogalinātu 90 % šūnu, tā radot lielu mutāciju skaitu izdzīvojušajās. Pētījumi rāda, ka optimāls mutaģenēzes letalitātes līmenis var būt 50–90 % robežās [368]. Tā iegūst plašu mutantu klāstu, bet saglabā pietiekamu koloniju analīzei. Kad šie abi parametri kalibrēti,

veic pašu mutantu atlasi. Pēc mutagēzes apstrādātās šūnas sēj uz agara barotnēm, kas satur izvēlēto aminoskābju inhibitoru (4.3. attēls). Parasti izliek nelielu daudzumu šūnu un inkubē dažas dienas. Savvaļas šūnas neaugs, bet pārproducentu kandidāti veidos kolonijas. Šīs kolonijas pārnes vēlreiz uz tādas pašas barotnes, lai apstiprinātu stabilitāti un lai pārliecinātos par celma ģenētisko stabilitāti un novērstu jauktu populāciju klātbūtni. Atlasē var ņemt vērā koloniju izmēru un morfoloģiju – bieži pārproducenti veido lielākas vai citādākas kolonijas nekā vāji augošie. Pēc pāris rekultivācijām selektīvajā vidē kandidātus saglabā un testē tālāk šķidrās kultūrās [156], [132].

Nākamais posms ir laboratoriskā pārbaude, kad atlasītie mutanti tiek audzēti kolbās vai mazos bioreaktoros bez herbicīda, parastā barotnē un salīdzināti savā starpā un ar savvaļas celmu pēc kvantitatīviem rādītājiem: biomasa (g/L), proteīna saturs (% no sausnas), aminoskābju profils (īpaši EAA saturs), augšanas ātrums [368]. Par labākajiem atzīst tos mutantu celmus, kuri pārsniedz savvaļas celma

### 4.3. attēls.

Procesa shēma jauna mutanta celma izstrādei, izmantojot mutagēzi un AA inhibitorus [368].



rādītājus. Tiem var būt augstāks ražas koeficients, lielāks kopproteīna procents šūnās vai augstākas neaizstājamo aminoskābju koncentrācijas. Šādus celmus tad var izmantot par jauniem producējošiem celmiem, kas potenciāli piemēroti rūpniecībai.

Protams, pirms rūpnieciskās ieviešanas jāpārbauda arī celmu stabilitāte – vai tie saglabā uzlabotās īpašības pēc vairākām paaudzēm. Daži mutanti var pazaudēt pārprodukcijas fenotipu, ja vairs nav selektīvā spiediena [395]. Tāpēc ieteicams veikt 10 vai vairāk pārsējumus testus un pēc tam pārbaudīt, vai proteīna ražība nav kritusies. Piemēram, *B. subtilis* uzlabotiem mutantiem veiksmīgi pārbaudīja 10 pārsējumus: vidējais proteīna saturs mutantam pēc 10 pārsēšanas reizēm saglabājās 66,3 %, salīdzinot ar savvaļas 43 %. Arī statistiski nozīmīgu izmaiņu starp paaudzēm nebija [395]. Tas rāda, ka šis mutants bija ģenētiski stabils. Tomēr visiem jaunajiem celmiem stabilitāte jāpārbauda gadījumā, ja paaugstināta ražība rada papildu enerģētisko un biosintētisko slodzi, kas ilgtermiņā var likt populācijas ražībai samazināties. Lai uzlabotos celmus uzturētu, iesaka tos glabāt kriokolekcijās un laiku pa laikam atjaunot no oriģinālās ampulas, jo laika gaitā pat laboratorijas apstākļos var parādīties mutācijas, kas samazina produkcijas apjomu.

Mutaģenēzei tiek pētītas arī mērķētās iejaukšanās proteīna sintēzes ceļos, piemēram, gēnu inženierija. Tās ir sarežģītākas pieejas un bieži atkarīgas no sugas. Mutaģenēzes un selekcijas pieeja ir universālāka un vieglāk īstenojama, īpaši, ja strādā ar organismiem, kuriem nav pieejamas attīstītas ģenētiskās manipulācijas metodes, vai ja GMO izmantošana lopbarībā ir juridiski ierobežota [395].



# 05

## SCP RAŽOŠANAS TEHNOLOĢIJAS NOVĒRTĒJUMS

Ievads	7	
Vienšūnu proteīna potenciāls akvakultūras barībā	8	
<b>01</b>	Blakusprodukti kā resursi vienšūnu proteīnu ražošanai	12
<b>02</b>	Lēmumu pieņemšana: resursu un mikroorganismu izvēle	32
<b>03</b>	Vienšūnu proteīna ražošanas tehnoloģija	62
<b>04</b>	Ražošanas procesa optimizācija	96
<hr/>		
<b>05</b>	<b>SCP RAŽOŠANAS TEHNOLOĢIJAS NOVĒRTĒJUMS</b>	<b>108</b>
<hr/>		
5.1.	Dzīves cikla novērtējums	109
5.1.1.	Mērķa un darbības jomas definīcija	109
5.1.2.	Dzīves cikla inventarizācija (LCI)	109
5.1.3.	Dzīves cikla ietekmes novērtējums (LCIA)	110
5.1.4.	Rezultātu interpretācija	110
5.2.	LCA gadījuma izpēte SCP ražošanā	111
5.2.1.	Bāzes scenārija rezultāti	113
5.2.2.	Uzlabotu scenāriju analīze	114
5.2.3.	Salīdzinājums ar tradicionālajiem proteīna avotiem	116
5.2.4.	Ilgspējas aspektu interpretācija un ieteikumi nākotnes procesiem	116
5.3.	Vienšūnu proteīna ražošanas tehniski ekonomiskā analīze	119
5.3.1.	Tehniski ekonomiskās izvērtēšanas nozīme un mērķi	119
5.3.2.	Galvenie rādītāji (CAPEX, OPEX, ROI, IRR)	120
5.3.3.	Programmatūras apskats: <i>SuperPro Designer, Aspen Plus</i>	122
5.3.4.	Kapitālieguldījumu izdevumu aprēķins (CAPEX)	124
5.3.5.	Ekspluatācijas izmaksu aprēķins (OPEX)	125
5.3.6.	Izejvielu izmaksas	126
5.3.7.	Enerģijas patēriņš un izmaksas	126
5.3.8.	Darbspēka izmaksas	128
5.3.9.	Ražošanas rentabilitātes novērtējums	129
5.3.10.	Jutīguma analīze	132
5.3.11.	Gadījuma izpēte – SCP pilotražošanas izmaksas	133
5.4.	Risku faktoru pārvaldība	134
<hr/>		
<b>06</b>	Ceļvedis "No idejas līdz produktam"	138
<hr/>		
Izmantotā literatūra	164	
Summary	198	

## 5.1. Dzīves cikla novērtējums

Dzīves cikla novērtējums (*LCA – Life Cycle Assessment*) ir standartizēta metode produkta vai procesa vides ietekmju kvantificēšanai tā dzīves ciklā. *LCA* pamatprincipi un ietvars ir noteikti starptautiskajos standartos ISO 14040 un ISO 14044 [396]. *LCA* pieeja ļauj visaptveroši izvērtēt vides ilgtspēju, izvairoties no ietekmju pārlikšanas no vienas stadijas uz citu. Piemēram, uzlabojums ražošanas procesā var palielināt enerģijas patēriņu, kas savukārt vairo klimata ietekmi, – *LCA* palīdz to kvantitatīvi novērtēt un atrast optimālu risinājumu [363]. Tomēr *LCA* rezultāti ir atkarīgi no sistēmas robežu izvēles, datu kvalitātes un metodiskajiem pieņēmumiem. Lai nodrošinātu salīdzināmību un ticamību, jāievēro ISO standartu vadlīnijas un atklāti jāatskaitās par visiem pieņēmumiem. Saskaņā ar ISO 14040 definētas četras savstarpēji saistītas *LCA* posmu fāzes [396].

### 5.1.1. Mērķa un darbības jomas definīcija

Sākumā tiek noteikts *LCA* pētījuma mērķis un apjoms, tostarp produkta sistēmas apraksts, funkcionālā vienība un sistēmas robežas, kā arī pieņēmumi un ierobežojumi [4]. Funkcionālā vienība ir precīzi definēta, kvantificēta produkta vai pakalpojuma funkcija, uz kuru tiek attiecināti visi aprēķini (piemēram, 1 kg produkta, 1 MJ enerģijas u. tml.). Sistēmas robežas nosaka, kuras dzīves cikla stadijas un procesi tiek iekļauti pētījumā, piemēram, “no šūpuļa līdz vārtiem” (*cradle-to-gate*), “no šūpuļa līdz kapam” (*cradle-to-grave*) vai ierobežots “vārti–vārti” posms, kas aptver tikai ražošanas procesu. Mērķa un robežu definēšana ir būtiska, jo tā nosaka pētījuma fokusu un salīdzināmību.

### 5.1.2. Dzīves cikla inventarizācija (*LCI*)

Šajā posmā apkopota attiecīgās funkcionālās vienības visu ievaddatu un izvaddatu inventarizācija. Tas nozīmē datu vākšanu par resursu patēriņu, enerģijas izmantošanu, emisijām un atkritumiem visos iekļautajos procesos. Datus var iegūt no faktiskajiem mērījumiem ražošanā, literatūras avotiem vai specializētām datubāzēm. Būtiski ir nodrošināt datu kvalitāti un reprezentativitāti – jāņem vērā datu avots, reģionālā un tehnoloģiskā atbilstība, kā arī dati par nenoteiktību. Ja procesā ir blakusprodukti vai vairāki iznākumi, šajā posmā jāpiemēro alokācijas pieejas, piemēram, sadalot ietekmi pēc masas, enerģētiskās vērtības vai tirgus vērtības, vai jāizmanto sistēmu paplašināšana, lai nodalītu pamatprodukta ietekmes.

### 5.1.3. Dzīves cikla ietekmes novērtējums (LCIA)

Šajā posmā inventarizācijas dati pārtop vides ietekmēs, tos saistot ar konkrētām vides ietekmes kategorijām un aprēķinot katras kategorijas rādītājus. Tipiskas ietekmju kategorijas ietver, piemēram, globālās sasilšanas potenciālu (*Global Warming Potential, GWP*), ozona slāņa noārdīšanās potenciālu, eitrofikāciju, paskābināšanās potenciālu, fotoķīmisko ozona veidošanos, toksiskuma kategorijas un resursu patēriņu (fosilo resursu izsīkumu, ūdens patēriņu, zemes izmantojumu u. c.). Soļi ietver emisiju vai resursu patēriņa pārvēršanu vienotos ietekmes vienību ekvivalentos, izmantojot izvēlēto metodiku (piemēram, *ReCiPe, CML, TRACI* u. c.), lai noteiktu, piemēram, CO<sub>2</sub> ekvivalentus klimata pārmaiņu kategorijā. Rezultātā iegūst kvantitatīvus rādītājus par produkta vai procesa ietekmi katrā kategorijā.

### 5.1.4. Rezultātu interpretācija

Noslēdzošajā posmā analizē un interpretē *LCA* rezultātus, pārbaudot to ticamību un atbilstību sākotnēji definētajiem mērķiem. Šeit identificē “karstos punktus” – procesus vai ievaddatus, kas dod vislielāko ieguldījumu kopējā ietekmē. Tāpat tiek veikta jutīguma un nenoteiktības analīze, lai novērtētu, kā rezultātus ietekmē datu nenoteiktība vai pieņēmumi. Balstoties analīzē, tiek izdarīti secinājumi un sniegtas rekomendācijas, piemēram, par iespējamām uzlabošanas stratēģijām vai salīdzināmajām alternatīvām. Interpretācijas posmā svarīgi nodrošināt, ka secinājumus pamato iegūtie dati un tie saskan ar pētījuma mērķi, piemēram, sniegt ieteikumus lēmumu pieņēmējiem vai norādīt, kurās stadijās nepieciešami uzlabojumi.

Praktiski *LCA* pētījumu veikšanai izmanto specializētas programmatūras un datubāzes. Pieejami gan atvērtā koda rīki, piemēram, *OpenLCA*, gan komerciālas platformas kā *SimaPro*, *GaBi* u. c. Šīs programmatūras nodrošina produkta sistēmas modelēšanu, procesu tīkla veidošanu un automātisku inventarizācijas aprēķinu, sasaistot procesus ar datubāzu ierakstiem. Programmatūra ļauj arī piemērot izvēlētas *LCIA* metodes un iegūt normalizētus un svērtus rezultātus, kā arī veikt jutīguma analīzi. *OpenLCA* priekšrocība ir tās pieejamība un plašs lietotāju loks, savukārt *SimaPro* ilgstoši ir bijusi nozares standartriks ar plašām datubāzēm un atskaišu iespējām. Katrā ziņā metodoloģiskā konsekvence atbilstoši ISO prasībām ir jāievēro neatkarīgi no izvēlēta rīka, lai rezultāti būtu zinātniski pamatoti un uzticami [363].

## 5.2. LCA gadījuma izpēte SCP ražošanā

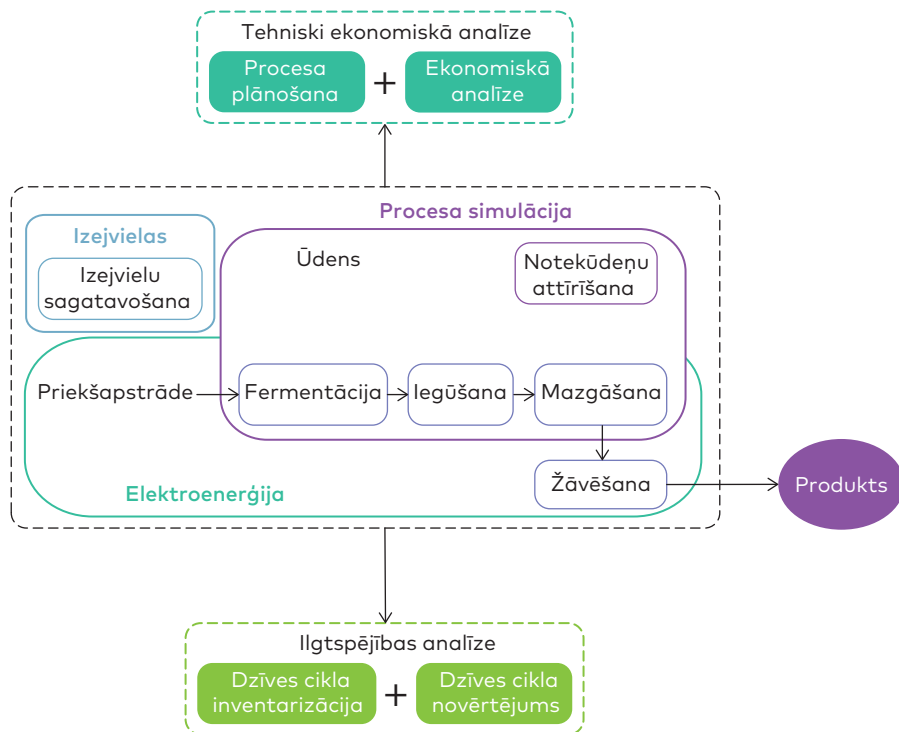
Šajā nodaļā aplūkots gadījuma pētījums – SCP ražošanas process, kur sarkano raugu *P. rhodozyma* audzē uz glicerīna barotnes [363]. *P. rhodozyma* rauga biomasa ir ne tikai olbaltumvielām bagāta (20 % no masas), bet satur arī vērtīgo karotinoīdu pigmentu astaksantīnu, kas dod pievienoto vērtību produktam [397]. Kā galveno oglekļa avotu barotnē izmanto glicerīnu. Tas ir blakusprodukts, piemēram, biodīzeļdegvielas ražošanā, un tā izmantošana barotnē veicina resursu atkārtotu izmantošanu. Ražošanas mērķis ir iegūt žāvētu rauga biomasu, ko potenciāli var izmantot kā proteīna avotu dzīvnieku barībā vai citur, vienlaikus ievācot astaksantīnu kā līdzproduktu.

Pētītais ražošanas process tika izstrādāts pilotmērogā (110 L fermentācijas iekārta) ar vairākiem secīgiem posmiem. Galvenie tehnoloģiskie soļi iekļāva:

- barotnes sagatavošanu un sterilizāciju;
- aerobu periodisko fermentāciju 110 L bioreaktorā 89 stundu garumā, kultivējot *P. rhodozyma*;
- cietās fāzes atdalīšanu pēc fermentācijas (centrifugēšana), lai atdalītu rauga biomasu no šķidrās fāzes;
- biomasas mazgāšanu, lai attīrītu to no atlikušā substrāta un sāļiem;
- biomasas žāvēšanu līdz stabilam galaproduktam – pētījumā apsvērti divi žāvēšanas varianti (liofilizācija un tradicionālā termiskā žāvēšana);
- procesa notekūdeņi tiek novadīti attīrīšanai (pieņemot, ka notekūdeņus apstrādā centralizētā attīrīšanas iekārtā).

Visos posmos ņemts vērā arī nepieciešamais enerģijas patēriņš, piemēram, siltums sterilizācijai, elektrība aerācijai un maisīšanai bioreaktorā, kā arī elektrība centrifūgām, sūkņiem, žāvētājam utt. 5.1. attēls sniedz shematisku ieskatu šajā procesā un tā soļos, kā arī parāda saikni starp procesu simulāciju, ekonomisko analīzi un LCA integrāciju šajā pētījumā.

Saskaņā ar pētījuma mērķi tika definēta funkcionālā vienība – 1 kg žāvētas *P. rhodozyma* biomasas (ar 5–10 % mitruma saturu) pie ražotnes “vārtiem” [363]. Šī vienība atbilst aptuveni vienam produkta kilogramam, ko potenciāli varētu lietot kā barības piedevu, un ietver proteīna saturu 20,36 % (no sausas) [369]. Pilotražotnes jauda ir maza – 0,208 t produkta gadā, tādēļ šis LCA atspoguļo neliela mēroga sistēmas efektivitāti. Sistēmas robežas tika noteiktas kā “gate-to-gate” jeb no izejvielu pieņemšanas līdz produkta izvadīšanai no rūpnīcas. Tas nozīmē, ka netika iekļauts izejvielu ieguves un ražošanas cikls ārpus rūpnīcas, iekārtu izgatavošana un infrastruktūra, kā arī produkta izplatīšana vai lietošana. Šie neiekļautie posmi



netika detalizēti analizēti, lai fokusētos uz paša ražošanas procesa ietekmēm. Visi ievaddati iegūti no procesa simulācijas un tehniski ekonomiskās analīzes rezultātiem *Aspen Plus* modelī un *Excel* aprēķiniem [363]. LCA inventarizācija balstījās faktiskajos masas un enerģijas bilances datos, kas iegūti, modelējot fermentāciju un citus posmus pilotmērogā. Tas nodrošina saskaņotību starp ekonomisko un vides novērtējumu.

Inventarizācijas dati tika papildināti ar nepieciešamo informāciju no datubāzēm. LCA modelēšana pētījumā veikta, izmantojot *SimaPro 10.2* programmatūru, savukārt ievaddatu komplekti ņemti galvenokārt no *Ecoinvent 3.10* datubāzes. Piemēram, elektrības patēriņam izmantoti Latvijas elektroenerģijas tīkla dati no *Ecoinvent*, jo pieņemts, ka ražotne darbojas Latvijā. Ūdens patēriņam pieņemts dejonizēts ūdens, jo tāds tiek izmantots tehnoloģiskajos procesos, bet notekūdeņu apstrādei – vidējais centralizēto notekūdeņu attīrīšanas process, jo specifiski šim bioprocenam dati nebija pieejami. Barotnes ķīmiskais sastāvs modelēts ar aizstājējiem, jo ne visi komponenti pieejami datubāzē. Piemēram, rauga ekstrakts un sojas peptons (kompleksie barotnes slāpekļa avoti) modelēti, balstoties literatūrā pieejamajos LCI datos – rauga ekstrakts pēc [398], bet sojas peptons pielīdzināts sojas hidrolizātam no kultivētās gaļas LCA pētījuma [399]. Visi šie pieņēmumi veikti, lai pēc

### 5.1. attēls.

*P. rhodozyma* SCP ražošanas procesa un pētījuma metodoloģijas blokshēma, integrējot procesu modelēšanu, tehniski ekonomisko analīzi un LCA novērtējumu.

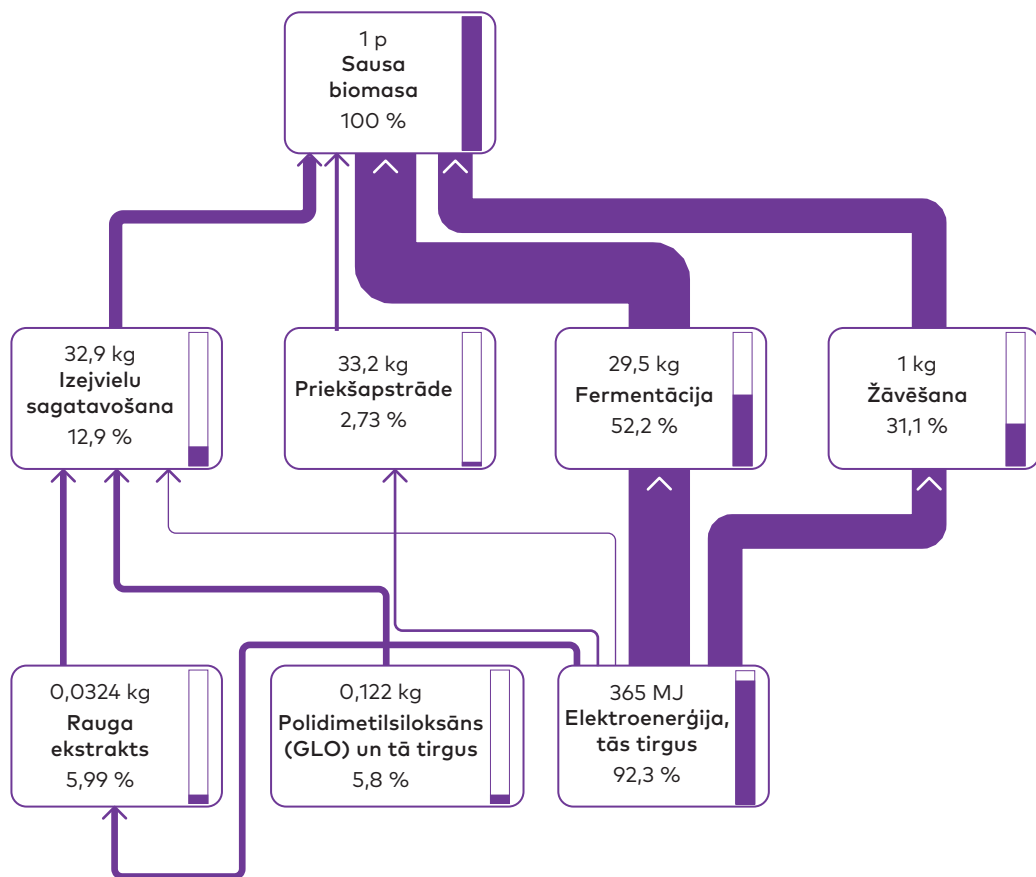
iespējas pilnīgāk atspoguļotu reālo procesu, neieviešot nesamērīgu nenoteiktību.

Par ietekmju novērtēšanas metodi tika izvēlēta *ReCiPe* 2016 (1.1) vidējā perspektīva (*Hierarchist*), jo tā plaši izmantota līdzīgos *LCA* pētījumos par vienšūnu proteīniem [400], [401], [402], [403], [404], [405]. *ReCiPe* metode aptver virkni ietekmes kategoriju (tostarp klimata pārmaiņas, paskābināšanu, eitrofikāciju, toksicitāti, resursu izsīkumu utt.), kas ļauj iegūt daudzpusīgu priekšstatu par procesa ietekmi. Netika veikta ietekmju alokācija starp proteīnu un astaksantīnu, jo šajā gadījumā astaksantīns netiek atsevišķi iegūts, bet gan paliek biomasā kā līdzprodukts. Tā vietā astaksantīna klātbūtne tiek uzskatīta par papildu labumu, kura vērtība vairāk atspoguļojas ekonomiskajā analizē nekā tiešā vides slodzē. *LCA* aprēķinos iekļauti divi scenāriji: bāzes scenārijs ar liofilizāciju un fosilās elektroenerģijas izmantošanu un alternatīvais scenārijs ar tradicionālo termisko žāvēšanu. Papildus tam veikta enerģijas avota jutīguma analīze – modelējot situācijas, kur visa procesā patērētā elektroenerģija nāk no atjaunojamiem avotiem. Šādi scenāriji ļauj novērtēt potenciālos uzlabojumus un jutību pret energoresursu izvēli.

### 5.2.1. Bāzes scenārija rezultāti

*LCA* rezultāti parādīja, ka pilotmēroga *SCP* ražošanas procesam ir augsta vides ietekme uz vienu produkta kilogramu. Piemēram, globālās sasilšanas potenciāls (*GWP*) bāzes scenārijā tika aprēķināts 42,5 kg CO<sub>2</sub> ekv. uz 1 kg žāvētas biomasas. Šis rādītājs pat pārsniedz literatūrā minēto amplitūdu līdzīgos pētījumos [401], [402], [406]. 5.2. attēls parāda detalizētu *GWP* ieguldījumu sadalījumu pa procesa posmiem bāzes scenārijā. Redzams, ka fermentācijas un žāvēšanas posmu ietekme dominē galvenokārt to augstā enerģijas patēriņa dēļ. Piemēram, tieši elektroenerģijas patēriņš (galvenokārt bioreaktora aerācijai/maisīšanai un liofilizatoram) veido 92,3 % no kopējā *GWP*. Šī tendence atbilst citu autoru atziņām, ka enerģijas patēriņš bieži ir lielākais "karstais punkts" *SCP* ražošanā [401], [402], [406]. Atlikušo ietekmes daļu veido izmantoto ķīmisko izejvielu (barotnes komponentu) ražošana un notekūdeņu apsaimniekošana, taču to devums ir nebūtisks salīdzinājumā ar elektrības radīto slodzi.

Detalizētāk analizējot, augstās ietekmes cēloņi meklējami procesa bioloģiskajās un tehnoloģiskajās īpatnībās. *P. rhodozyma* rauga audzēšanai nepieciešams gandrīz 90 stundu ilgs periodiskās kultivēšanas cikls, kas ir salīdzinoši ilgs [401]. Ilgā augšanas laika un vajadzīgās intensīvās aerācijas dēļ bioreaktors patērē daudz elektroenerģijas uz saražotās biomasas vienību. Turklāt liofilizācija bāzes scenārijā, lai gan nodrošina astaksantīna maksimālu saglabāšanu produktā, ir ļoti energoietilpīga saldēšanas un vakuuma uzturēšanas



dē]. Rezultātā pilotražotnes energoefektivitāte ir zema, un, kā parāda *LCA*, tas tiešā veidā pārvēršas lielā oglekļa pēdā. Interesanti, ka astaksantīna saturs iegūtajā produktā bija neliels, taču, ja salīdzina ar astaksantīna rūpnieciskās ražošanas emisijām, kas var sasniegt pat 378–87 000 kg CO<sub>2</sub> ekv./kg pigmenta [407], [408], tad šo nelielā daudzuma līdzproduktu var uzskatīt par videi draudzīgāku astaksantīna ieguves veidu integrētā procesā. Tomēr astaksantīns šeit nav atdalīts no biomasas, tāpēc tā vērtība izpaužas tikai kombinētajā produktā, piemēram, barībā dodot krāsojošo efektu zivīm.

### 5.2. attēls.

Globālās sasilšanas potenciāla sadalījums pa *P. rhodozyma SCP* ražošanas procesa posmiem bāzes scenārijā [363].

## 5.2.2. Uzlabotu scenāriju analīze

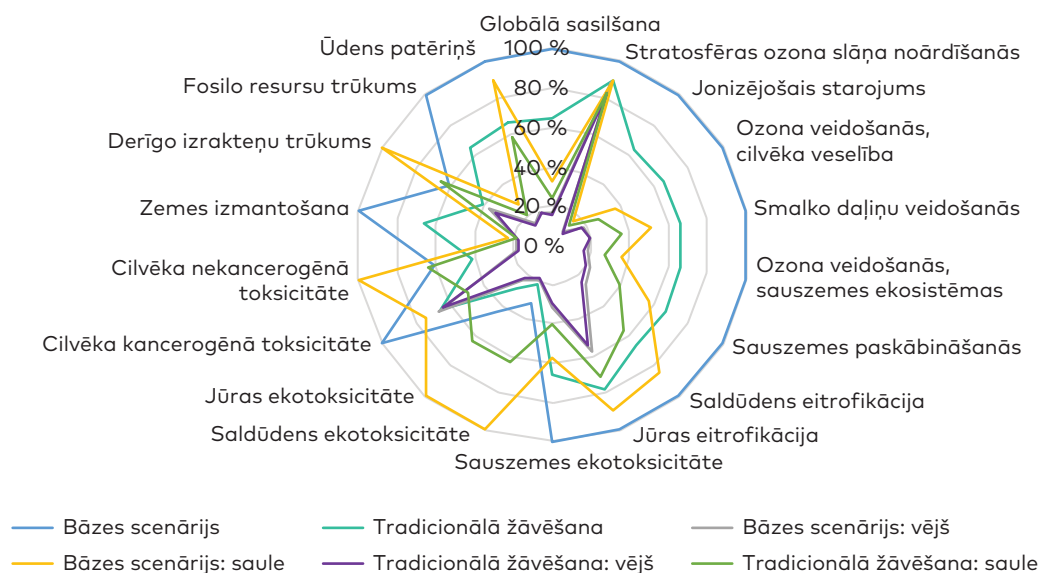
Ņemot vērā, ka vislielāko ietekmi rada žāvēšana un elektroenerģija, pētījumā modelēti tehnoloģiju uzlabojumi. Termiskās žāvēšanas scenārijā, aizstājot liofilizāciju ar, piemēram, smidzināšanas žāvētāju vai tuneļžāvētāju, kas darbināms ar tvaiku vai siltu gaisu, izdevās samazināt visu kategoriju ietekmes vidēji par 32 %, salīdzinot ar

bāzes variantu. *GWP* samazinājās no 42,5 kg CO<sub>2</sub> ekv./kg uz 27,8 kg CO<sub>2</sub> ekv./kg, kas jau ietilpst literatūrā norādītajā diapazonā un ir tuvs citu *SCP* pētījumu līmenim [400], [401], [402], [403], [406]. Nākamais solis bija pāriet uz atjaunojamo elektroenerģiju. Modelējot pilnībā atjaunīgas elektroapgādes scenārijus, rezultāti rāda ļoti būtisku ietekmju samazinājumu: saules enerģijas izmantošana deva 9–33 % kopējās ietekmes samazinājumu, savukārt vēja enerģijas scenāriji nodrošināja vidēji 65–67 % ietekmju samazinājumu. Kombinējot abus uzlabojumus, t. i., termisko žāvēšanu un vēja elektroenerģiju, *GWP* rādītājs samazinājās līdz aptuveni 6,5 kg CO<sub>2</sub> ekv./kg produkta. Arī citu kategoriju rezultāti optimistiskajā scenārijā ir krietni labāki. 5.3. attēls ilustrē dažādu scenāriju normalizētos rādītājus vairākās ietekmes kategorijās. Rezultāti parādīti kā attiecība pret sliktāko – 100 % – gadījumu katrā kategorijā. Redzams, ka bāzes scenārijs gandrīz visās kategorijās ir vissliktākais, savukārt vēja enerģijas scenāriji uzrāda viszemākās ietekmes lielākajā daļā kategoriju. Atsevišķās kategorijās, piemēram, toksicitātē, neliels izņēmums bija saules enerģijas scenāriji, taču kopumā atjaunīgā enerģija būtiski uzlabo vides rādītājus.

### 5.3. attēls.

Dažādu scenāriju salīdzinošs novērtējums vairākās vides ietekmes kategorijās, normalizēts, % pret sliktāko gadījumu.

Apkopojot gadījuma izpēti, var secināt, ka pilotmēroga *SCP* ražošanas *LCA* atklāja būtiskus vides ilgtspējas izaicinājumus. Bāzes scenārijā ietekmes bija augstas, dominējot elektroenerģijas patēriņam, kas liecina par nepieciešamību optimizēt procesa energoefektivitāti. Tajā pašā laikā identificētas uzlabošanas iespējas – relatīvi vienkārša tehniska modifikācija un pāreja uz zaļo enerģiju spēj samazināt ietekmi par desmitiem procentu [363]. Šī integrētā analīze skaidri



norāda, kuri aspekti ražošanā ir jāuzlabo, lai *SCP* ražošanu padarītu videi draudzīgāku.

### 5.2.3. Salīdzinājums ar tradicionālajiem proteīna avotiem

*SCP* vides ietekme šajā pētījumā salīdzināta ar diviem tradicionāliem proteīna avotiem – sojas un zivju miltiem –, lai novērtētu, vai jaunais produkts var konkurēt ilgtspējas ziņā. Literatūrā minēts, ka sojas miltu oglekļa pēda ir aptuveni 2,1 kg CO<sub>2</sub> ekv./kg [409], bet zivju miltu – aptuveni 1,3 kg CO<sub>2</sub> ekv./kg [410] galvenokārt degvielas patēriņa zvejā un žāvēšanā dēļ. Pretstatā tam *P. rhodozyma SCP* bāzes scenārijā sasniedza aptuveni 42,5 kg CO<sub>2</sub> ekv./kg, un ar uzlabotu energoapgādi (piemēram, vēja elektrību) tas saruka līdz pat aptuveni 6,5 kg CO<sub>2</sub> ekv./kg, tomēr vēl aizvien pārsniedzot tradicionālos proteīnus. Šo atšķirību nosaka pilotmēroga procesa energoietilpība un tas, ka pretstatā lauksaimniecībai *SCP* ražošana pilnībā balstās elektroenerģijā [363].

Neraugoties uz augstu klimata ietekmi, *SCP* ražošanai ir skaidras priekšrocības zemes izmantošanas ziņā, jo fermentāciju veic kompaktās, slēgtās sistēmās, kamēr sojas audzēšanai nepieciešamas ievērojamas lauksaimniecības zemes platības. *LCA* pētījumi bieži apstiprina, ka *SCP* pārspēj soju zemes izmantošanas kategorijā, lai gan citos aspektos, piemēram, *GWP*, tas ir nelabvēlīgāks [411], [412], [413], [414]. Līdzīga situācija vērojama arī citās kategorijās, *SCP* sistēmā eitrofikācija parasti ir zema, jo nav noplūžu vidē, bet toksicitātes un skābināšanās rādītāji var būt augstāki intensīvās enerģijas izmantošanas dēļ, ja enerģija nāk no fosilajiem avotiem. Tomēr scenāriji, kas balstās atjaunīgajā enerģijā, gandrīz visās kategorijās demonstrē būtiski zemākas ietekmes.

Šāda pilotmēroga *SCP* šobrīd vides ziņā vēl atpaliek no tradicionālajiem proteīna avotiem, īpaši klimata ietekmes un enerģijas patēriņa kategorijās, taču tam ir priekšrocības zemes izmantošanas jomā un ievērojams optimizācijas potenciāls. Pāreja uz atjaunīgu enerģiju un procesu efektivizācija var būtiski uzlabot *SCP* konkurētspēju nākotnē, īpaši, ja to analizē plašākā ilgtspējas kontekstā.

### 5.2.4. Ilgtspējas aspektu interpretācija un ieteikumi nākotnes procesiem

Veiktais *LCA* un salīdzinājums ar tradicionālajiem proteīniem sniedz vairākas svarīgas atziņas par aplūkotā *SCP* ražošanas procesa ilgtspēju. Pirmkārt, rezultāti skaidri parāda, ka enerģijas patēriņš (un tā avots) ir vissvarīgākais faktors, kas nosaka vides ietekmes.

Bāzes scenārijā >90 % no *GWP* radās tieši no elektroenerģijas patēriņa, tādēļ dekarbonizācija jeb pāreja uz atjaunīgajiem energoresursiem ir acīmredzama stratēģija ietekmju mazināšanai. Kā parādīja scenāriju analīze, atjaunīgā elektrība (īpaši vēja enerģija) var samazināt klimata ietekmi līdz pat 85 % [363]. Ieteikums nākotnes procesiem būtu integrēt atjaunīgos enerģijas avotus ražošanas infrastruktūrā, piemēram, izmantot vēja ģeneratorus vai saules paneļus ražotnes apgādei vai iepirkt “zaļo” elektrību no tīkla. Tāpat būtu vērts izvērtēt siltumenerģijas atgūšanu un izmantošanu. Fermentācijas procesā izdalās siltums, ko varētu rekuperēt, un arī žāvētāja darbībai var izmantot ražošanas procesā radušos atlikumsiltumu, ja tāds pieejams, tā samazinot pieprasījumu pēc papildu enerģijas.

Otrs liels izaicinājums ir procesa efektivitāte un mērogojamība. Vides aspektā, neliels ražošanas apjoms nozīmē, ka fona ietekmes, piemēram, iekārtu ražošana, telpu uzturēšana, uz vienu kg produkta ir augstas, tādēļ procesa mērogošana ir ne tikai ekonomikas, bet arī vides uzlabojumu atslēga. Lielākā rūpnīcā ar augstāku produkcijas caurlaidību uz vienu kg produkta būs mazāks relatīvais enerģijas patēriņš un efektīvāka resursu izmantošana. Ieteikums būtu virzīties uz piebaroto vai nepārtraukto fermentāciju un lielākas tilpības bioreaktoriem, lai paaugstinātu produktivitāti un samazinātu audzēšanas laiku uz biomasas vienību [361]. Pāreja uz piebaroto vai nepārtraukto procesu varētu ievērojami palielināt caurlaidību un mazināt vienības izmaksas un ietekmes, uzlabojot skalojamību [363]. Tādējādi nākotnes pilotprojektiem un komercializācijai jāapsver procesi, kuros raugs aug ātrāk vai efektīvāk.

Ar minēto saistīti ir bioloģiskie uzlabojumi, piemēram, rauga celma un barotnes optimizācija. *P. rhodozyma* konkrētais celms pilotpētījumā auga lēni. Nākotnē var izmantot selekciju vai bioinženieriju, lai izveidotu ātrāk augošus celmus vai tādus, kas efektīvāks pārvērš substrātu biomasā un astaksantīnā [257]. Piemēram, Raita u. c. pētījumā jau minēta *P. rhodozyma* mutantu selekcija ar herbicīdiem, lai paaugstinātu aminoskābju un proteīna sintēzi [368], [395]. Šādi celmi varētu dot lielāku ražu īsākā laikā, kas tieši samazinātu enerģijas patēriņu uz kg un līdz ar to arī *LCA* rādītājus. Tāpat barotnes sastāva optimizācija, piemēram, lētāku, vietējo vai mazāk apstrādātu barības vielu izmantošana (rūpnieciski atkritumi, lauksaimniecības pārpalikumi), var uzlabot gan procesa ekonomisko efektivitāti, gan mazināt ietekmi [235]. Jau šajā pētījumā barotnē tika izmantots atlikumprodukts glicerīns un siera sūkalas. Turpmāk *SCP* audzēšanai varētu meklēt vēl citus substrātus, piemēram, koksnes hidrolizātus, notekūdeņu dūņas, sintezētāo gāzi, lai vienlaikus atrisinātu atkritumu apsaimniekošanas problēmas un iegūtu proteīnu, tādējādi uzlabojot kopējo ilgtspēju aprites ekonomikas kontekstā.

Ļoti nozīmīga ir līdzprodukta astaksantīna valorizācija. Vides ziņā, astaksantīna līdzproduktu var uzskatīt par pozitīvu faktoru. Astaksantīnu iegūstot kā blakusproduktu, samazinās nepieciešamība to ražot citur (piemēram, no cianobaktērijām vai sintētiski), kur tam ir milzīga oglekļa pēda [407], [408], tāpēc ieteikums nākotnē ir integrēt astaksantīna iegūšanu un attīrīšanu *SCP* ražošanas ķēdē. Piemēram, pēc biomasas audzēšanas un žāvēšanas var izstrādāt procesu astaksantīna ekstrakcijai no biomasas, radot divus produktus: proteīna barības piedevu un tīru astaksantīna piedevu. Šāda biorafinēšana palielinātu resursu izmantošanas efektivitāti un dotu papildu ienākumus, kas var atsvērt daļu no vides izmaksām. Protams, ir rūpīgi jāizvērtē papildu enerģijas un emisiju izmaksas, taču astaksantīna augstā tirgus vērtība un augstā barotnes maksa, ja to ražo atsevišķi, liecina, ka integrēta pieeja var būt izdevīga [363].

No *LCA* interpretācijas skatupunkta, jāuzsver sistēmiskas domāšanas nozīme. Vienas stadijas optimizācija var pārcelt slodzi uz citu. Piemēram, astaksantīna saglabāšana produktā (izmantojot liofilizāciju) palielināja enerģijas patēriņu un *GWP*. Ja astaksantīns nebūtu būtisks, varētu lietot vienkāršāku žāvēšanu, iegūtot zemākas emisijas. Tas nozīmē, ka ļoti svarīga ir prioritāšu definēšana, lai saprastu, vai galvenais mērķis ir minimāls  $\text{CO}_2$ , vai maksimāla produkta vērtība. Ideālā gadījumā jācenšas līdzsvarot abi mērķi, bet tas prasa inovatīvus risinājumus, piemēram, jaunas žāvēšanas tehnoloģijas, kas saglabā pigmentu, patērējot mazāk enerģijas, vai arī pigmenta sintēzes pastiprināšana, lai mazāks daudzums dotu vajadzīgo efektu.

*LCA* parādīja, ka notekūdeņu centralizēta attīrīšana nebija galvenais ietekmju devēja. Tomēr ilgtspējas kontekstā ir jāoptimizē arī ūdens patēriņš. Fermentācijas procesi patērē daudz ūdens, piemēram, barotnes šķīdumā, mazgāšanā, iekārtu tīrīšanā [415]. Rūpēm par ilgtspēju vajadzētu veicināt ūdens slēgtās aprites risinājumus rūpnīcā, lai attīrītu un atkārtoti izmantotu procesā radīto ūdeni. Tāpat jāapsver arī blakusplūsmu valorizācija, piemēram, koncentrētās atlieku straumes no filtrācijas, kas satur sāļus, organiskas vielas, potenciāla izmantošana. Tā iespējams noderētu biogāzes ražošanai vai kā mēslojums, lai uzlabotu kopējo aprites ciklu. Šie aspekti tieši neparādās *GWP*, bet atspoguļojas citās kategorijās un ilgtermiņā ietekmē resursu izsīkumu un lokālo vides piesārņojumu.

*SCP* ražošanas ilgtspējas perspektīvas ir daudzsološas, ja tiek veiktas atbilstošas izmaiņas:

- enerģijas dekarbonizācija un efektivitāte – pāreja uz atjaunīgo enerģiju, energoefektīvas iekārtas, siltuma rekuperācija;
- procesa intensifikācija – īsāks kultivācijas laiks, nepārtraukta ražošana, lielāka mēroga bioreaktori, efektīvāka žāvēšana;

- blakusproduktu valorizācija – astaksantīna pilnvērtīga iegūšana un realizācija, kā arī citu atlieku kā izejvielu izmantošana citur;
- aprites ekonomikas pieeja – izmantot lētus, ilgtspējīgus substrātus un nodrošināt, ka pats *SCP* ražošanas process nerada grūti apsaimniekojamus atkritumus vai piesārņojumu.

Kombinējot šīs pieejas, *P. rhodozyma* vai citu *SCP* ražošana var virzīties no pilotprojekta uz industriāli dzīvotspējīgu un vienlaikus vidi saudzējošu risinājumu [363]. Šis gadījuma pētījums kalpo kā vērtīga mācība, izceļot gan izaicinājumus (augsts enerģijas patēriņš, liels oglekļa pēdas nospiedums mazā mērogā), gan iespējas (dzīvnieku barība ar augstu pievienoto vērtību, potenciāls 100 % atjaunīgs process nākotnē). Turpmākie pētījumi un inovācijas šajā jomā sekmēs, lai *SCP* kļūtu par reālu alternatīvu tradicionālajiem proteīniem, palīdzot risināt globālās pārtikas pieprasījuma un vides ilgtspējas problēmas vienlaikus.

### 5.3. Vienšūnu proteīna ražošanas tehniski ekonomiskā analīze

Pēc dažādu mikroorganismu un to īpašību apraksta var secināt, ka tiem ir nenoliedzams potenciāls rūpnieciskajā ražošanā, tāpēc papildus bioloģiskajām un vides priekšrocībām ir jāveic arī ekonomiskā analīze, kas var skaidri atspoguļot un novērtēt dažādus gadījumus. Turpmāk tiks aplūkota vienšūnu proteīna ražošanas tehniski ekonomiskā analīze un tās galvenie rādītāji.

#### 5.3.1. Tehniski ekonomiskās izvērtēšanas nozīme un mērķi

Ļoti nozīmīga ir tehniski ekonomiskā analīze, kas ļauj novērtēt tehnoloģijas no ekonomiskajā aspektā, kā arī izpētīt, vai ieguldījumi zinātniskajā izpētē ir pamatoti un vai tie būs rentabli [416]. Ekonomiskajā analīzē lielākoties tiek novērtētas projekta izmaksas un ieņēmumi, kā arī visi iespējamie projekta riski. Šīs analīzes mērķi ietver ražošanas iespējamību, izmantojot datus par ražošanas apjomiem, iegūtā produkta minimālo pārdošanas cenu un jutīgumu, lai iegūtu parametrus, kas var dažādi ietekmēt procesu [417]. Analīzes mērķis var būt arī novērtēt projekta ekonomisko un tehnisko dzīvotspēju [418]. Piemēram, pētījumā tika veikta tehniski ekonomiskā analīze, lai pamatotu biodeģvijas ražošanu Latvijā. Tajā pētīti un ņemti vērā tādi parametri kā kapitāla izmaksas, ieņēmumi un arī ražošanas rentabilitātes rādītāji [416].

### 5.3.2. Galvenie rādītāji (CAPEX, OPEX, ROI, IRR)

*CAPEX* (kapitālieguldījumi) ir kapitāla izdevumu rādītājs, kas ietver nepieciešamā aprīkojuma iegādes un uzstādīšanas izmaksas. Jo lielāka ir uzstādītās iekārtas jauda, jo lielāki ir kapitālieguldījumi [419]. Projekta izmaksas var atšķirties un ir atkarīgas no pētījuma apjoma un aprīkojuma izmaksām [420]. Pētījumā [419] *CAPEX* tika izmantots, lai palielinātu sistēmas jaudu, iepērkot adsorbētājus, sūkņus, siltummaiņus un kompresorus. Rezultātā rādītāja palielināšanās liecināja par būtisku iekārtas jaudas pieaugumu [419].

*CAPEX* var izmantot arī, lai novērtētu *SCP* ražošanu, novērtējot ražošanas iekārtas [421]. Pētījumā [421] galvenais aprīkojums bija fermentācijas reaktors, temperatūras kontroles sistēmas un sūkņu sistēmas. *CAPEX* ļauj samazināt ražošanas kapitāla izmaksas un arī optimizēt resursu izmantošanu. *CAPEX* aprēķina formulu var izteikt, kur *TCI* būs kopējie kapitālieguldījumi. Šajā gadījumā, lai iegūtu rezultātu, ir jāpieskaita *FCI* (fiksētie kapitālieguldījumi) un *WC* (apgrozāmais kapitāls, kas būs 5 % no *FCI* vērtības) [422]. Apgrozāmo kapitālu izmanto, lai atspoguļotu projekta finansiālo stāvokli, un tas var ietvert krājumus, īstermiņa parādus vai aizdevumus un skaidru naudu kasē [423].

Liela nozīme tehniski ekonomiskajā analizē ir arī *OPEX* (ekspluatācijas izmaksas). Darbības izmaksas ietver enerģijas izdevumus ražošanas laikā, kā arī iekārtu uzturēšanu un dažādu blakusproduktu apsaimniekošanu. Tāpat kā *CAPEX* gadījumā, ir jāatzīmē, ka *OPEX* pieaug, palielinoties sistēmas jaudai, jo, lai nodrošinātu pareizu iekārtu darbību, ir jāizmanto vairāk enerģijas [419]. *SCP* ražošanā darbības izmaksas var atšķirties atkarībā no izmantotā substrāta veida un barotnes komponentu sastāva, un faktoriem, kas var tieši ietekmēt sākotnējo procesu. Jāņem vērā izmantoto izejvielu izmaksas, jo tās var atšķirties.

*OPEX* ietekmē dažādi faktori, piemēram, enerģijas patēriņš dažādos fermentācijas posmos. Ievērojams enerģijas patēriņš var būt atkarīgs no bioreaktora maisīšanas un aerācijas [424]. Temperatūras maiņa bioreaktora iekšienē arī palielina enerģijas patēriņu un izmaksas [424]. Lai iekārtas darbotos pareizi, ir nepieciešama nepārtraukta izmantoto iekārtu apkope. Šis process ietver remontdarbus, ja iekārtas nedarbojas pareizi vai sabojājas. Iekārtu sastāvdaļu nomaiņa arī ir daļa no *OPEX* [425]. Arī atkritumu apglabāšana ir dārga, taču, ja kā substrātu izmanto lauksaimniecības vai organiskos atkritumus, izmaksas šajā sadaļā var samazināt līdz minimumam [426]. Iekārtu nepareizas darbības gadījumā ir nepieciešams iekārtu remonts, tomēr, ja remonts ir obligāts, vajadzētu remonta izmaksas un darbaspēka izmaksas attiecināt uz attiecīgo procesa posmu. Darbinieku skaits tieši ietekmē kļūdu labošanas ātrumu, bet palielina arī izmaksas [418].

*CAPEX* un *OPEX* ir galvenie rādītāji tehniski ekonomiskajā analizē, kurā novērtē tehnoloģiju efektivitāti. *CAPEX* ietver sākotnējos ieguldījumus projektēšanā, iekārtās un infrastruktūrā, kur palielināšana vai optimālu tehnoloģiju izvēle var samazināt vienības izmaksas. *OPEX* atspoguļo ekspluatācijas pastāvīgās izmaksas, tostarp enerģijas, uzturēšanas, materiālu nomaiņas un atkritumu apsaimniekošanas izmaksas. *CAPEX* un *OPEX* ir savstarpēji saistīti: augstas *CAPEX* var samazināt *OPEX*, ja tiek izmantotas efektīvākas tehnoloģijas, un otrādi [419], [420], [424], [427].

Nākamais rādītājs ir *ROI* (ieguldījumu atdeve), kas parāda ieguldījumu atmaksāšanās līmeni. Lai noteiktu šo rādītāju, jāzina parametri, no kuriem tas sastāv. *CF* ir parametrs, kas nozīmē kopējo naudas plūsmu visā pētījuma periodā. *TCI* raksturo kopējos kapitālizdevumus visā laikā un ietver visus aspektus un izmaksas. Lai noteiktu *CF* vērtību, ir jāatņem parametrs *I* (kopējie ienākumi) un *TOC* (operatīvie izdevumi) [428].

*ROI* ir nepieciešams, lai saprastu, kā ieguldījumi projektā laika gaitā var atmaksāties, kā arī lai noteiktu projekta rentabilitāti un naudas ieguvumus, ņemot vērā kapitālieguldījumus un operatīvos izdevumus. Jāņem vērā, ka *ROI* ir tikai projekta finansiālā puse un neatspoguļo vides vai sociālos ieguvumus [428].

Turpmāk ir aprakstīta *ROI* aprēķināšanas formula. *ROI* ir rādītājs, kas raksturo ieguldījuma efektivitāti procentos. To aprēķina, no kopējās naudas plūsmas (*CF*) *n* periodā atņemot kopējās kapitāla izmaksas (*TCI*), dalot starpību ar *TCI* un reizinot ar 100. *CF* apzīmē projekta kopējo naudas plūsmu, savukārt *TCI* raksturo visas sākotnējās investīcijas, piemēram, būvniecību, iekārtu iegādi un uzstādīšanu. Šī formula ļauj novērtēt, cik lielu atdevi rada ieguldītie līdzekļi salīdzinājumā ar to apjomu [429].

Pētījumā [417] *ROI* tiek uzskatīts par galveno rādītāju, kas raksturo biodegvielas ražošanas no sojas proteīna un lignīna ekonomisko efektivitāti, un to izmanto, lai novērtētu projekta rentabilitāti. *ROI* analīze ietvēra dažādus scenārijus, piemēram, ražošanas apjoma izmaiņas (no 10 tonnām līdz 50 tonnām partijā), izejvielu proporcijas un kapitāla izmaksas. Piemēram, bāzes scenārijā ar ražošanas jaudu 30 tonnas partijā *ROI* tika aprēķināts kā daļa no plašākas tīrās peļņas un atmaksāšanās perioda analīzes. Šie dati ļauj novērtēt rentabilitātes jutīgumu pret kapitāla un izejvielu izmaksu izmaiņām, kas ir svarīgi, pieņemot lēmumus par ieguldījumiem ražošanā [417].

Nākamais nozīmīgais analizējamais parametrs ir *IRR* (iekšējais atdeves koeficients), ko izmanto kā galveno projekta rentabilitātes rādītāju, un šim nolūkam šim parametram tiek noteikta maksimālā vērtība. Šis parametrs ir piemērots gadījumā, ja pozitīvo un negatīvo naudas plūsmu neto pašreizējā vērtība (*NPV*) būs līdzvērtīga nullei [430]. Lai projekts būtu konkurētspējīgs un rentabls, ir jāsasniedz *IRR* vērtība [431]. *IRR* izmantošana ir īpaši ieteicama, ja pašreizējās

vērtības likmes laika gaitā var mainīties. Ilgtermiņa projektu gadījumā var mainīties arī ekonomiskā situācija valstī, tostarp inflācijas līmenis un politiskie apstākļi, kad *IRR* ir piemērojams arī projekta rentabilitātes kontrolei [432].

### 5.3.3. Programmatūras apskats: *SuperPro Designer*, *Aspen Plus*

Tehniski ekonomisko analīzi var veikt bez speciālas programmatūras, tomēr, lai iegūtu precīzus un pārbaudītus datus, ir iespējams izmantot aprēķiniem paredzētas programmas. Lai atvieglotu informācijas apstrādi un iegūtu precīzus rezultātus, var izmantot specializētas programmas, piemēram, *SuperPro Designer*, *Aspen Plus*.

***SuperPro Designer*** nodrošina ievērojamas iespējas enerģijas bilances jomā. Tā var veikt arī ekonomiskos aprēķinus, noteikt izmantoto iekārtu izmaksas un atspoguļot ietekmi uz vidi [433]. Tā kā *SuperPro Designer* ir vairākas noderīgas funkcijas, to var izmantot arī tehniski ekonomiskajai analīzei. Procesu modelēšana ļauj izveidot tehniskās diagrammas t. s. "*flowsheet*", kas var sistematizēt un aprakstīt ražošanu saskaņā ar plānu, kas var ievērojami vienkāršot darbu. Procesu var vizualizēt un attēlot soli pa solim, kas var palīdzēt saskatīt plūsmas diagrammā papildu sakarības, kuras iepriekš nebija pamanītas [433].

Programmatūra izmanto materiālu bilances, lai sekotu līdzi procesa sastāvdaļām programmā, ļaujot kontrolēt sastāvdaļas no sākuma līdz beigām. Komponentu piemēri var būt dažādi, tostarp izmantotās izejvielas un arī atkritumprodukti. Savukārt enerģijas bilances tiek izmantotas, lai noteiktu enerģijas patēriņu un siltuma plūsmas procesos, kuriem nepieciešama ārēja enerģijas padeve [433]. Ja programmatūrā ir dati par materiālu bilancēm, tā var automātiski aprakstīt aprīkojuma prasības, tostarp izmērus, platību un tilpumu. Turklāt var aprēķināt visā projektā paredzamās izmaksas [433].

Lai ņemtu vērā dažādus procesa scenārijus, *SuperPro Designer* sniedz arī iespēju mainīt dažādu komponentu vērtības, piemēram, temperatūru fermentācijas laikā, vai mainīt citas daļas, rezultātā iegūstot dažādas sistēmas uzvedības variācijas [433]. Izmantojot programmatūru, var aprēķināt arī ekonomiskos rādītājus *CAPEX*, *OPEX*, *ROI*, *IRR*, *NPV*. Sistēmā ir iespējams integrēt ekonomiskos parametrus un izmēģināt dažādus attīstības scenārijus, kā arī savienot tos ar materiālu un enerģijas bilancēm [434].

Atzīmējot lietošanas ērtumu, jāpiebilst, ka programmatūru var izmantot gan laboratorijas mērogā, gan modelējot liela industriāla mēroga projektus [433]. Pētījumā *SuperPro Designer* tika izmantots ķīmiskajam eksperimentam, kurā pētīts anaerobās fermentācijas

process, un tika izstrādāta plūsmas diagramma, lai noskaidrotu visus procesus un modeļus [435].

Alternatīva programmatūra ir *Aspen Plus*. Tā ir modelēšanas programmatūra ķīmijas jomā, kas nodrošina arī daudzas citas funkcijas, tostarp ekonomisko analīzi. Šajā lietojumprogrammā var veikt dažādus aprēķinus, modelēt sistēmu, kā arī mainīt sistēmas parametrus un veikt jutīguma analīzi. Salīdzinot ar *SuperProDesigner*, arī šī programmatūra ir vērsta uz visu tehniskā procesa posmu izveidi, kā rezultātā ir iespējams iegūt detalizētus grafiskus ķīmiskos procesus, lai veiktu pilnīgu dažādu ražošanas veidu analīzi. Lietojumprogramma arī vienkāršo dažādu komponentu savstarpējās attiecības, lai padarītu situāciju skaidrāku [436]. *Aspen Plus* būs labi piemērota visam procesa dzīves ciklam, un papildus ķīmijas rūpniecībai programmatūru var izmantot arī vides, naftas ķīmijas un farmācijas nozares projektos. Termodinamiskajiem procesiem, tostarp neideālām sistēmām un kritiskiem apstākļiem sistēmā, tiek izmantoti aktivitātes koeficientu modeļi šķidrājam fāzei un stāvokļa vienādojumi tvaika fāzes aprakstam [437].

Papildus daudzajām *Aspen Plus* funkcijām ekonomisko analīzatoru (*APEA – Aspen Process Economic Analyzer*) var izmantot arī kapitāla un ekspluatācijas izmaksu tehniski ekonomiskajai analīzei, tostarp procesa plūsmas diagrammu optimizācijai. [436]. Turklāt ir iespējams paredzēt iekārtu komponentu vērtību izmaiņas (temperatūra, izmēri, materiālu uzvedība u. c.) Ņemot vērā, ka *SCP* ražošanas laikā notiek arī dažādi ķīmiskie procesi, *Aspen Plus* ir piemērots izmantošanai šajā jomā [75].

Turpmāk sīkāk aplūkoti *APEA* darbības posmi.

Sākumā tiek definēti ekonomiskie parametri, kas ietver izejvielu un produktu cenas, kas tiek izmantoti procesa operatīvo izmaksu (*OPEX*) un kopējās pašizmaksas aprēķinam. Cenas var atšķirties, bet vislabāk ir izmantot starptautiski pieņemtās cenas. Utilitāts tiks savienotas ar galvenās shēmas blokiem, lai ietekmētu to un reproducētu visus procesus [436].

Piemēram, *GLPSTEAM* utilītu izmanto kā tvaiku sildīšanas procesā, un to ievada sistēmā kā šķidrums. *LPSTEAM* ir zema spiediena tvaiks, kas paredzēts nepilnīgai (daļējai) šķidrums iztvaikošanai. *REFRIG4* ir aukstumaģents īpaši zemām temperatūrām dzesēšanas laikā un vielu pārejai no tvaika stāvokļa šķidrā vai cietā stāvoklī. *CWATER* utilīta apzīmē aukstu ūdeni dzesēšanas plūsmām. *AIR* apzīmē gaisa dzesēšanas sistēmu mērenai darba temperatūrai [437]. Ar *APEA* iegūtie rezultāti sniedz visus datus pārskatu veidā un parāda svarīgas sastāvdaļas (informāciju par izejvielām, komunālajiem pakalpojumiem) un visu veidu materiālu izmaksas [438].

*APEA* ir galvenie ekonomiskās rentabilitātes rādītāji un ražošanas nākotnes perspektīvas. *NPV* parāda starpību starp summu, kas tiks saņemta nākotnē, un summu, kas ieguldīta projekta sākumā. Attiecīgi

pozitīva vērtība atspoguļo projekta rentabilitāti, bet negatīva vērtība norāda uz zaudējumiem. Šis finanšu rādītājs ir nepieciešams, lai paredzētu naudas ieguvumu salīdzinājumā ar ieguldījumiem [438].

*IRR* ļauj novērtēt pašreizējo ieguldījumu un aprēķināt, vai var gūt peļņu vai strādāt bez zaudējumiem. Neraugoties uz šī rādītāja vienkāršību, ir svarīgi ņemt vērā, ka nauda mēdz zaudēt savu vērtību, un *IRR* ir svarīgs faktors, kas jāņem vērā. Diskonta likme un *IRR* var būt vienādi, kas nozīmē, ka projekts nav ne zaudējumu, ne peļņas, un, lai gūtu būtisku labumu, ir jāuzlabo daži aspekti. Jāatzīmē arī *PI*, kur  $PI > 1$  atspoguļo projekta rentabilitāti. *NPV* un *PI* ir līdzīga nozīme, un tie parāda sākotnējo ieguldījumu un to, kā tas var palielināties vai samazināties nākotnē [438]. Var aprēķināt arī *CAPEX* un *OPEX* rādītājus, kas nepieciešami tehniski ekonomiskajai analīzei [438].

Iespējams arī izmantot *Aspen Capital Cost Estimator*, lai novērtētu projekta īstenošanas laiku. Acīmredzami ieguvumi ir projekta ģeogrāfijas apskats ar iespēju modelēt izmaksu izmaiņas dažādos ģeogrāfiskos reģionos un pie dažādas ražošanas jaudas, optimizēt stratēģijas projekta veiksmīgai pabeigšanai, lai atrastu vislabākās pieejas. Šajā plānošanas posmā tiek izstrādātas projekta īstenošanas stratēģijas un ietvertas visas situācijas, kas var rasties projekta laikā. Cenas un aprīkojuma konfigurācijas laika gaitā var mainīties, tāpēc šis rīks ļauj mainīt ievaddatus vai tos kombinēt, lai precizētu rezultātus un nodrošinātu sistemātisku projekta parametru kontroli. *Aspen Capital Cost Estimator* novērtē būvniecības ilgumu, var noteikt sasniedzamos rezultātus un optimizēt būvniecības darba slodzi. Šis rīks atbalsta scenāriju analīzi, tostarp jaudas palielināšanu vai projekta pārvietošanu, un ietver varbūtējo riska analīzi, lai skaitliski noteiktu neskaidrības. *Aspen Capital Cost Estimator* automātiski pielāgo izmaksas, ja mainās specifikācijas, un nodrošina pārredzamu izmaiņu ietekmi uz projekta ekonomiku [438].

#### 5.3.4. Kapitālieguldījumu izdevumu aprēķins (CAPEX)

Kapitālieguldījumi (*CAPEX*) ir galvenais tehniski ekonomiskās analīzes rādītājs, kas ietelmē visus ražošanas laikā radušos izdevumus, tostarp iekārtu un rezerves daļu, kā arī uzstādīšanas un būvniecības izmaksas [428].

Pamatojoties uz pētījumu [422], formula:

$$CAPEX = \text{Aprīkojuma izmaksas} \cdot \text{Land factor}, \quad (5.1)$$

kur

*CAPEX* – kapitālieguldījumi;

*Lang factor* – empīrisks koeficients, ko izmanto, lai aptuveni aprēķinātu kopējos kapitālieguldījumus (*CAPEX*).

## 5.1. tabula.

SCP ražošanai nepieciešamās iekārtas un sistēmas

Kultūras sagatavošana	Sēkļu bioreaktors	Sākotnējo baktēriju kultūru sagatavošana pirms procesa [440]
Fermentācijas process	Aerācijas iekārta	Skābekļa piegāde barotnei [441]
	Bioreaktori	Kontrolētas mikrobu augšanas vides radīšana [442]
Filtrācija	Filtrācijas sistēma	Maisījuma komponentu atdalīšana [443]
	Centrifūga	
Žāvēšana	Žāvēšanas sistēmas	Kompresija un gaisa padeve [444]
Iepakošana	Iepakošanas sistēma	
Sistēmas uzturēšana	Gaisa kompresors	
Uzglabāšana	Ledusskapis	

**Lang faktors** ir empīrisks koeficients, ko izmanto, lai noteiktu kopējos kapitālieguldījumus (CAPEX) rūpnieciskajos projektos, kad detalizēti aprēķini vēl nav pieejami [422]. Tas ļauj, balstoties tikai iekārtu izmaksās, aptuveni novērtēt visus pārējos ieguldījumus, tostarp būvniecību, montāžu, inženiertehniskos tīklus un projektēšanu. *Lang* faktora vērtība atkarīga no nozares veida un projekta sarežģītības pakāpes. Piemēram, ķīmiskajā un biotehnoloģiskajā rūpniecībā šis faktors parasti ir no 4 līdz 6. Šajā darbā izmantotā *Lang* faktora vērtība ir 4,70, kas atbilst mēreni sarežģītai biotehnoloģiskai ražošanai.

Turpmāk kā piemērs apskatīta *TEA* metodikas izmantošana *Bacillus subtilis* SCP ražošanas projektā [439]. Sākumā tiks aplūkots provizorisks aprīkojums un tā loma SCP sistēmas radīšanā.

### 5.3.5. Eksploatācijas izmaksu aprēķins (OPEX)

*OPEX* aprēķini ietver tādus parametrus kā substrāti, darbaspēks, enerģija un maksājumi par iekārtu remontu un uzraudzību. Enerģijas izmaksas tiks aprēķinātas, pamatojoties uz pieejamajiem tarifiem un enerģijas cenām par vienas tonnas biomasas pārstrādi. Uzturēšanas izmaksas ir iekļautas CAPEX kā 5 %, kas var būt nepieciešami neparedzētiem gadījumiem. Darbaspēks šajā gadījumā tiek pieņemts darbā saskaņā ar vidējo algu analīzi un darbinieku nepieciešamību.

*OPEX* tiek sadalīts mainīgās un fiksētās izmaksās.

*OPEX* aprēķinam izmanto 5.2. formulu.

## 5.2. tabula.

Mainīgās un fiksētās izmaksas

Mainīgās izmaksas	Fiksētās izmaksas
Izejvielu izmaksas	Darbspēka algas un sociālie maksājumi
Elektroenerģijas izmaksas	Iekārtu uzturēšanas izmaksas (iekļauts CAPEX kā 5 %)

$$OPEX\ gadā = \sum(C_{izejvielas} + C_{enerģija} + C_{apkope} + C_{darbspēks}), \quad (5.2.)$$

kur

$C_{izejvielas}$  – izejvielu izmaksas, EUR;

$C_{enerģija}$  – enerģijas izmaksas, EUR;

$C_{apkope}$  – apkopes izmaksas, EUR;

$C_{darbspēks}$  – darbinieku algas, EUR.

### 5.3.6. Izejvielu izmaksas

Lai iegūtu informāciju par izejvielu izmaksām, ir svarīgi atzīmēt, ka populārākie substrāti ir agrorūpniecības atkritumi, piemēram, lapas un salmi. Šim sarakstam var pievienot arī augļu un dārzeņu mizas, kas nav piemērotas pārtikai, bet var tikt izmantotas kā substrāts. Jāatzīmē arī, ka substrātam ir piemērotas arī sūkulas, kas ir piena ražošanas blakusprodukts [1].

Agrorūpniecības atkritumi, piemēram, augļu un dārzeņu mizas, ir pieejami lielos daudzumos rūpnīcās, kurās ražo sulas un konservus. Arī lauksaimniecības darbos, piemēram, pēc ražas novākšanas, paliek daudz lapu, kukurūzas stieбри un dārzeņu mizu atlikumi, kurus var pārdot arī citiem mērķiem [1]. Lai izmantotu šāda veida atkritumus, ir jānosaka vidējās transportēšanas izmaksas un attiecīgi substrāta cenas.

Substrāta izmaksas šajā sadaļā nav galvenās, jo ir jāņem vērā arī barotnes izmaksas, kas ir daļa no OPEX. Šīs izmaksas aprēķinātas, balstoties zinātniskajā dokumentā [445]. Aplūkotajā gadījumā vispirms tiks noteikts barotnes sastāvs, daudzums un cena. Ņemot vērā 150 L bioreaktora izmantošanu, ir jāaprēķina, cik daudz katra komponenta nepieciešams, lai piepildītu vienu bioreaktoru, un cik tas izmaksās, un cik daudz tīra proteīna var iegūt no vienas darbības, ja bioreaktors tiks pilnībā piepildīts.

### 5.3.7. Enerģijas patēriņš un izmaksas

Turpmāk aplūkoti galvenie enerģiju patērējošie procesa posmi. Enerģijas patēriņš sākas jau ar izmantotā substrāta priekšapstrādi, kad ir jānodrošina enerģija produkta smalcināšanai un uzsildīšanai.

Pēc substrāta sagatavošanas sākas fermentācija, kur ievērojams enerģijas patēriņš ir nepieciešams bioreaktoram un gaisa padeves sistēmām (aerācijas sistēmām). Nākamajā posmā olbaltumvielu biomasa tiek novākta un notiek galīgā produkta sagatavošana, kam nepieciešamas centrifūgas un žāvētāji. Pēdējā posms ir iepakošana un uzglabāšana, kam nepieciešamas iepakšanas iekārtas [446].

Lai aprēķinātu enerģijas patēriņu, katras iekārtas rādītāji aprēķināti pēc formulas [447]:

$$E = P \cdot t / 1000, \quad (5.3.)$$

kur

$E$  – enerģija, kWh;

$P$  – jaudas vienības, W;

$t$  – laiks, kurā patērēta enerģija, h.

Nākamais nozīmīgais parametrs ir enerģijas patēriņš uz vienu tonnu biomasas. Turpmāk aplūkots bioreaktora aprēķina piemērs [448].

$$E_t = \frac{E}{M}, \quad (5.4.)$$

kur

$E_t$  – enerģijas patēriņš uz vienu biomasas tonnu, kWh/t;

$E$  – kopējais enerģijas patēriņš, kWh;

$M$  – biomasas svars, t.

Enerģija galvenokārt tiek patērēta aprīkojuma darbināšanai. Pieņemot, ka aprīkojums darbojas 2000 stundu gadā, astoņas stundas dienā (neskaitot nedēļas nogales un svētku dienas), iekārta darbojas 250 darba dienu gadā. Lai saprastu iespējamo patēriņu gadā, ir jānosaka arī katras ierīces jauda gadā. Iekārtu jauda ņemta vai nu no tehniskās dokumentācijas, vai arī pamatojoties uz aptuvenu informāciju no interneta resursiem. Formula gada jaudas noteikšanai ir šāda:

$$Jauda(W) \cdot \frac{Laiks, kurā tika patērēta enerģija (h)}{1000}, \quad (5.5.)$$

kur

$W$  – jauda, kW;

$h$  – laiks, kurā tika patērēta enerģija, h.

Turpmāk aprakstīts aptuvens bioreaktora lielums un tam nepieciešamais elektroenerģijas daudzums. Bioreaktors nodrošina mikrobu augšanai piemērotu vidi, un to izmanto fermentācijas īstenošanai [427].

Bioreaktori var būt dažāda tilpuma, bet šajā gadījumā tika izmantots bioreaktors "HyPerforma", kura kopējais tilpums ir 250 L. Jāatzīmē, ka minimālais darba tilpums sākas no 50 L un kopējais tilpums, ieskaitot gāzes fāzi, var sasniegt 316 L. Maisīšanas ātrumu var mainīt no 30 aprg./min līdz 150 aprg./min, un nominālais enerģijas

### 5.3. tabula.

Bioreaktora datu kopsavilkums

Parametrs	Vērtība	Piezīmes
Tilpums	250 L	Minimālais darba tilpums – 50 L
Motora jauda	400 W = 0,4 (kW)	
Temperatūra	18–40 °C	Kontrolēta temperatūra ±0,5 °C
Uzsildīšanas jauda	2,5 kW	Pilna tilpuma bioreaktoram (250 L) vajadzīgas 3,36 h, lai uzsildītu līdz 37 °C

patēriņš šajā procesā ir 20 W/m<sup>3</sup>. Motora jauda šajā bioreaktorā ir 400 W. Arī temperatūra sākas no 18 °C (istabas temperatūra) un paaugstinās līdz 40°C. Šajā gadījumā sistēma dzesēšanas un sildīšanas procesam tiek noslogota ar 2500 W [449].

Analizējot tirgu, var secināt, ka šāda bioreaktora vidējā cena ir ļoti atšķirīga – no aptuveni 30 000 EUR līdz 50 000 EUR atkarībā no aprīkojuma.

Vispirms tiek aprēķināts enerģijas patēriņš vienam motora ciklam. To aprēķina, reizinot motora jaudu (0,4 kW) ar tā darbības laiku (72 stundas). Rezultātā iegūst, ka enerģijas patēriņš vienā ciklā ir 28,8 kWh. Tālāk tiek aprēķināts enerģijas patēriņš uz 1 tonnu biomasas. Lai to izdarītu, iegūto enerģijas patēriņu vienā ciklā (28,8 kWh) reizina ar ciklu skaitu, kas nepieciešams 1 tonnas apstrādei (400 ciklu). Rezultātā iegūst 11,520 kWh uz 1 tonnu biomasas. Pēc tam, lai iegūtu enerģijas patēriņu uz 1 kilogramu biomasas, iepriekš iegūto skaitli (11,520 kWh) dala ar 1000 kilogramiem. Rezultāts ir 11,52 kWh uz 1 kilogramu biomasas. Tālāk tiek aprēķināts kopējais enerģijas patēriņš vienā ciklā, kas ietver gan motora darbību, gan papildu enerģijas patēriņu. To veic, saskaitot enerģijas patēriņu motora darbībai vienā ciklā (28,8 kWh) un papildu enerģijas patēriņu, kas ir 180 kWh. Rezultātā kopējais enerģijas patēriņš vienā ciklā ir 208,8 kWh. Visbeidzot, lai aprēķinātu kopējo enerģijas patēriņu uz 1 tonnu biomasas, tiek saskaitīts enerģijas patēriņš uz 1 tonnu (11,520 kWh) un papildu enerģijas patēriņš, kas ietver gan motora darbību, gan papildu enerģiju (180 kWh uz ciklu, kas reizināts ar 400 cikliem). Tas dod galīgo vērtību 83,520 kWh uz 1 tonnu biomasas.

#### 5.3.8. Darbaspēka izmaksas

Arī darbaspēka izmaksas ir *OPEX* sastāvdaļa, un tajās jāiekļauj darbinieku skaits, algas un darba devēja nodokļi. Aprakstītie dati ir vidējie rādītāji un tiks salīdzināti ar pašreizējo tirgus situāciju.

Pamatojoties uz avotu [450], vidējais darbinieku skaits, kas nepieciešams, lai nodrošinātu pienācīgu ražošanu, ir 17–20 darbinieki,

taču jāatzīmē, ka šie skaitļi var atšķirties atkarībā no rūpnīcas lieluma un ražošanas sarežģītības. Darbiniekus var iedalīt trīs grupās: administrācija, pētnieki un laboratorijas tehniķi, kā arī apkalpojošais personāls. Administrācijā ietilpst tādi darbinieki kā direktors, grāmatvedis, kvalitātes vadītājs. Pamatojoties uz datiem [450], ir vajadzīgi aptuveni četri pētnieki. Savukārt apkopei nepieciešami bioreaktoru operatori (četri cilvēki), tehniķi iekārtu remontam (trīs cilvēki) un divi apkopēji kārtības un tīrības uzturēšanai darba vietā.

Individuālo algu darbiniekam gadā aprēķina šādi:

$$\text{Gada alga} = \text{Mēnešalga} \cdot 12, \quad (5.6.)$$

kur

12 – mēnešu skaits gadā.

Lai aprēķinātu darbinieku algu izmaksas gadā, ir jāsaskaita visu darbinieku gada algas:

$$\text{Kopējā algu summa} = \sum(\text{Mēnešalga} \cdot 12) \quad (5.7.)$$

Papildus algai šajā sadaļā ir iekļauti arī nodokļi un papildu izdevumi darbiniekiem, piemēram, darba apģērbs, veselības apdrošināšana un sociālās apdrošināšanas maksājumi. Sociālās iemaksas valstij ir 23,59 % no katra darbinieka bruto algas, un šo summu maksā uzņēmums [451].

$$\text{Kopējās izmaksas} = \text{Bruto alga} \cdot 1,2359, \quad (5.8.)$$

kur

bruto alga – mēneša alga pirms nodokļu nomaksas, EUR;  
1,2359 – sociālā nodokļa likme.

Veselības apdrošināšana ir atkarīga arī no uzņēmuma specifikas, no tā, cik drošs tas ir darbiniekiem utt. Pamatojoties uz datiem [452], minimālā apdrošināšana katram darbiniekam var izmaksāt 180 EUR gadā uz vienu personu. Ja darbinieks būs apdrošināts, viņš varēs saņemt ikgadēju profilaktisko apskati pie ģimenes ārsta, vakcināciju, kā arī rehabilitācijas nodarbības un fizioterapiju vai masāžas terapiju veselības vai dzīves kvalitātes pasliktināšanās gadījumā [453]. Šajā jomā strādājošajiem jānodrošina arī speciāls darba apģērbs un individuālie aizsardzības līdzekļi, jo viņi strādā ar sarežģītām iekārtām un ķīmiskām vielām. Saskaņā ar uzņēmējdarbības plānu [454] operatīvajos izdevumos ietilpst arī individuālo aizsardzības līdzekļu iegāde.

### 5.3.9. Ražošanas rentabilitātes novērtējums

Nākamajā posmā ir jānovērtē ražošanas rentabilitāte, lai noteiktu peļņu un to, kurās projekta daļās ir jāsamazina vai jāpalielina finansējums, kā arī jānovērtē ražošanas efektivitāte [455]. Galvenais

darbības rādītājs ir *ROI*, kas parāda, cik lielā mērā ieguldījums atmaksāsies. Lai noteiktu šā rādītāja vērtību, ir jāzina kopējā naudas plūsma *n* laika periodā (*CF*) un arī iepriekš aprēķināmie kopējie kapitāla izdevumi (*TCI*).

$$ROI = \frac{CF - TCI}{TCI} \cdot 100, \quad (5.9.)$$

kur

*ROI* – ienākums no ieguldījumiem, %;

*CF* – kopējā naudas plūsma *n* laika periodā, EUR;

*TCI* – kopējās kapitāla izmaksas, EUR.

Lai ilustrētu formulas izmantošanu, tiks sniegts risinājuma piemērs. Ja *CF* ir 535 000 EUR un *TCI* nosacīti ir 400 000 EUR, tad, ievieojot vērtības formulā, iegūst 34 % [456].

Lai iegūtu precīzākus datus par ieguldījumu rentabilitāti, tiks aprēķināta arī *IRR*. Atbilde tiks iegūta, izmantojot *NPV* formulu, kur šis parametrs apzīmēts ar “*r*” [457].

$$NPV = -I_0 + \sum_{i=1}^N \frac{CF_i}{(1+r)^i}, \quad (5.10.)$$

kur

*I*<sub>0</sub> – sākotnējais ieguldījums, EUR;

*CF*<sub>*i*</sub> – naudas plūsma gadā, EUR;

*r* – diskonta likme, %;

*N* – projekta ekonomiskais ilgums, laiks.

*NPV* var aprēķināt ar *Excel*, izmantojot diskonta likmi un naudas plūsmas. Turpmāk aplūkots aprēķina piemērs. Šeit diskonta likme ir 10 %, sākotnējais ieguldījums – 200 000 EUR, un projekta naudas plūsma ik gadu 10 gadu laikā – 40 000 EUR. Plūsmas tika diskontētas, pēc tam visas vērtības summētas. No šīs summas tika atskaitīts sākotnējais ieguldījums. Galīgā *NPV* = 45 782 tūkstoši EUR, kas sniedz informāciju par projekta rentabilitāti [459].

*IRR* arī var iegūt ar izmantojot *Excel*, formulu *IRR* “= *IRR* (*Excel* šūnu diapazons, kas ietver dažādu periodu naudas plūsmas)”. Pirmā šūna ir sākotnējais ieguldījums projektā, kas tiks ierakstīts ar “-” zīmi. Aplūkotajā piemērā tas ir 500 000 EUR. Pēc tam formulā ir šūnas ar pozitīvām naudas plūsmām. *Excel* aprēķina diskonta likmi,

#### 5.4. tabula.

*NPV* skaidrojums [458]

<i>NPV</i> > 0	Plānotie projekta ienākumi pārsniedz izmaksas.
<i>NPV</i> = 0	Ieguldījumi nav nerentabli un var dot ienākumus, lai pilnībā atgūtu visu naudu.
<i>NPV</i> < 0	Neto zaudējumi, nav piemēroti peļņas gūšanai.

## 5.5. tabula.

IRR aprēķina piemērs

Gads	Projekta naudas plūsma
0	- 500 000 EUR
1	20 000 EUR
2	30 000 EUR
3	40 000 EUR
4	50 000 EUR
5	100 000 EUR
6	150 000 EUR
7	200 000 EUR
8	250 000 EUR
IRR	9 %

ja *NPV* ir 0. Rezultātu izsaka procentos, un, ja *IRR* ir lielāka par diskonta likmi, projekts ir rentabls, bet, ja diskonta likme ir lielāka par *IRR*, projekts nav rentabls [460].

No šī piemēra ir iespējams secināt, ka projekts būs rentabls. *BEP* (izlaušanās punkts) norāda punktu, kurā ieguldījums sāk dot peļņu un kurā tas vairs nerada zaudējumus. Šī analīze parāda neparedzētās izmaksas un arī, kādas cenas var noteikt pārdodamajiem produktiem [461]. No literatūras avotiem ir iespējams identificēt šā rādītāja formulu, tomēr formula šeit tika mainīta, ņemot vērā saražotā produkta specifiku [462]. *SCP* ražošanai tiks ņemtas fiksētās un mainīgās izmaksas uz 1 kg produkta (proteīna).

$$BEP = \frac{\text{Kopējās fiksētās izmaksas}}{\text{Pārdošanas cena par 1 kg} - \text{Mainīgās izmaksas par 1 kg}} \quad (5.11.)$$

Kopējās nemainīgās izmaksas ietver aprīkojuma cenu, telpu nomas maksu un personāla algas. Neatkarīgi no saražotā proteīna

## 6.6. tabula.

Atmaksāšanās perioda aprēķins

Gads	Naudas plūsma	Kumulatīvā summa
0	- 500 000 EUR	- 500 000 EUR
1	- 20 000 EUR	- 480 000 EUR
2	- 30 000 EUR	- 450 000 EUR
3	- 40 000 EUR	- 410 000 EUR
4	- 50 000 EUR	- 360 000 EUR
5	- 100 000 EUR	- 260 000 EUR
6	- 150 000 EUR	- 110 000 EUR
7	- 200 000 EUR	- 90 000 EUR

daudzuma šīs izmaksas nemainīsies. Produkta pārdošanas cena (EUR/kg) var mainīties atkarībā no izmaiņām tirgū. Ir arī izmaksas, kas mainās atkarībā no saražotā daudzuma, un tās var ietvert dažādas sastāvdaļas, piemēram, elektroenerģiju, izejvielas utt.

Atmaksāšanās perioda aprēķins var atšķirties atkarībā no tā, vai naudas plūsmas ir vienmērīgas vai nevienmērīgas [463]. Var izmantot formulu nevienmērīgām naudas plūsmām, jo ieguldījumi var būt atšķirīgi. Lai noteiktu atmaksāšanās periodu nevienmērīgu naudas plūsmu gadījumā, ir jāsummē naudas plūsmas, un, kad summa pārsniedz sākotnējo ieguldījumu, tad sākas peļņas gūšanas gads.

Atmaksāšanās periods šajā gadījumā būs septiņi gadi, par ko liecina 90 000 EUR peļņa. Lai iegūtu precīzāku rezultātu, var izmantot šādu formulu:

$$\text{Atmaksāšanās periods} = 6 + \frac{110,000}{200,000} = 6,55 \text{ gadi} \quad (5.12.)$$

### 5.3.10. Jūtīguma analīze

Jūtīguma analīzes mērķis tehniski ekonomiskajā analīzē ir izpētīt izmaiņas galvenajos mainīgajos lielumos, kas ietekmē peļņu. Ir iespējams identificēt faktorus, kuriem ir vislielākā ietekme uz ražošanas ekonomisko izdevīgumu [464]. Šīs analīzes metodoloģija ir balstīta principā “kas, ja” (no angļu valodas *what – if analysis*), kur mainās galvenie komponenti (materiāli, darbaspēka izmaksas). Galvenie analizētie rezultāti ir rentabilitātes parametri (*NPV*, *IRR*, atmaksāšanās periods utt.) Vispirms tiek identificēti mainīgie lielumi, no kuriem galīgie rezultāti var būtiski mainīties. Tie var ietvert materiālu izmaksas, elektroenerģijas tarifus un produktu cenu izmaiņas tirgū. Pēc tam ir jānosaka parametru maiņas vērtību diapazons. Teorētiski tas var būt no -10 % līdz +10 %, kas nodrošinās skaidru rezultātu. Pēc tam tiek variēti ekonomiskie parametri, un, lai saprastu, kā mainīsies rezultāts, tiek veikti atjaunināti rentabilitātes rādītāju aprēķini, kas parāda galīgo situāciju. Piemēram, ja samazinās *SCP* pārdošanas cena un palielinās substrāta izmaksas, samazināsies *NPV* un pagarināsies atmaksāšanās periods. Optimistiskajā scenārijā, ja pārdošanas cena palielināsies par 10 % un ražošanas izmaksas kļūs zemākas, *NPV* būs lielāka un atmaksāšanās periods būs īsāks [439].

*SCP* ražošanā jutīguma analīze palīdz noteikt, kuri mainīgie visvairāk ietekmē procesa ekonomiku, piemēram, galaprodukta cenu, substrāta un enerģijas izmaksas, mikroorganisma ražību un mērogu. Daļu no šiem faktoriem uzņēmums nekontrolē, bet citus var ietekmēt ar tehnoloģiskiem lēmumiem, tādēļ katram parametram nosaka pārbaudes intervālu (parasti ±10–20 %) un analīzē, kā tā izmaiņas

ietekmē *NPV*. Parametrus maina pa vienam, saglabājot pārējos nemainīgus, un rezultātus attēlo tornado vai zirnekļveida diagrammās, kas ļauj ātri identificēt kritiskos faktoros.

Pēc pārrēķinu veikšanas iespējams noteikt, kuri mainīgie rada vislielāko risku un kuri jāņem vērā projekta plānošanā. Piemēram, *B. subtilis* pilotprojektā kritiskākie izrādījās produkta pārdošanas cena un substrāta (melases) izmaksas: pesimistiskajā scenārijā zemāka produkta cena un dārgāka melase būtiski pasliktināja ekonomiskos rādītājus, savukārt optimistiskajā scenārijā ieņēmumu pieaugums un zemāki ražošanas izdevumi būtiski uzlaboja projekta dzīvotspēju [439].

Jutīguma analīzes rezultāti *SCP* projektos bieži rāda, ka viskritiskākie faktori ir produkta pārdošanas cena (tirgus pieprasījums un konkurence), izejvielu izmaksas (īpaši, ja substrāts ir dārgs) un ražošanas intensitāte/jauda (mēroga efekts). Piemēram, *P. rhodozyma* pilotprojekta tehniski ekonomiskā analīze (TEA) atklāja, ka pat optimistisku pieņēmumu gadījumā (bezmaksas substrāts, lēta elektrība) produkta pašizmaksa paliek augsta, ja saglabājas mazais mērogs un lēna augšana [363]. Tas liek domāt par citu parametru izmaiņām – pāreju uz nepārtrauktu procesu, mēroga palielināšanu.

### 5.3.11. Gadījuma izpēte – *SCP* pilotažošanas izmaksas

Gadījuma izpētes rezultāti rāda, ka *P. rhodozyma SCP* pilotažošanas izmaksas ir ļoti augstas galvenokārt procesa mazā mēroga dēļ [363]. Fiksētās kapitāla izmaksas (*FCI*) tika aprēķinātas 884 000 EUR, bet kopējās investīciju prasības, ieskaitot apgrozāmos līdzekļus un ražošanas uzsākšanas izmaksas, sasniedza apmēram 0,97 miljonus EUR. Šāds kapitāla apjoms, attiecinot uz nelielo gada ražošanas jaudu (aptuveni 208 kg *SCP*), nozīmē ļoti augstu kapitāla intensitāti. gadā aprēķinātās ekspluatācijas izmaksas (*OPEX*) sasniedza 329 000 EUR jeb aptuveni 1578 EUR uz kilogramu produkta, un tajās neviena kategorija neizcēlās kā dominējošā. Tā ir ierasta iezīme pilotmēroga procesiem, kuros izmaksas uz vienu produkta vienību ir neproporcionāli augstas.

Finanšu analīze apstiprina, ka process pilotmērogā nav ekonomiski dzīvotspējīgs. Lai segtu izmaksas un sasniegtu  $NPV = 0$  pie 8 % diskonta likmes, nepieciešamais minimālais pārdošanas cenu līmenis (*MSP*) būtu 2303 EUR/kg *SCP*, kas ir simtiem reižu augstāks par tradicionālo proteīnu cenām. Pat hipotētiska tirgus cena 40 EUR/kg radītu dziļi negatīvu *NPV* [465].

Tehniski ekonomiskajā aspektā *P. rhodozyma SCP* nav konkurētspējīgs, ja to ražo tikai kā proteīna avotu. Tomēr šis rauga

sugas spēja vienlaikus sintezēt astaksantīnu piedāvā daudz perspektīvāku attīstības virzienu, jo pigments ir augstas vērtības produkts, kas var daļēji vai pat pilnībā kompensēt fermentācijas izmaksas. Tas parāda līdzproduktu valorizācijas nozīmi mikrobiālajos bioprocesos. Turklāt paļaušanās uz periodisko fermentāciju ierobežo produktivitāti un kapitāla izmantošanas efektivitāti; pāreja uz piebaroto vai nepārtraukto procesu varētu palielināt caurlaidību un samazināt izmaksas uz vienību, padarot procesu mērogojamāku. Tas nozīmē, ka rūpnieciska mēroga perspektīvas iespējamas tikai optimizācijas un vērtības pievienošanas scenārijos, piemēram, ražojot astaksantīnu kā līdzproduktu, kas būtiski palielina potenciālos ieņēmumus.

## 5.4. Risku faktoru pārvaldība

SCP ražošanas projektu plānošanā pastāv vairāki riska faktori, kas jāapzinās un aktīvi jāvadā, lai nodrošinātu sekmīgu pāreju no teorētiskiem aprēķiniem un laboratorijas eksperimentiem uz pilot-ražošanu un komerciālu mērogu.

Tā kā ražošanas pamatā ir blakusprodukti un atkritumi, jārēķinās, ka to sastāvs un īpašības var mainīties no partijas uz partiju. Piemēram, pārtikas rūpniecības atkritumu ķīmiskais sastāvs var atšķirties atkarībā no izejvielu partijas, ražošanas procesa variācijām vai sezonas. Augļu pārstrādes atkritumi rudenī var saturēt vairāk cukura un pektīna nekā vasaras sākumā, mainoties nogatavojušos augļu īpatsvaram. Piena sūkalu sastāvs var nedaudz variēt starp piena kombinātiem un atkarībā no piena sezonālītātes. Šādas svārstības var ietekmēt fermentācijas procesu. Ja cukura koncentrācija substrātā ir zemāka, nekā paredzēts, mikroorganismu augšanas temps kritīsies vai arī būs jāpatērē vairāk substrāta, lai sasniegtu to pašu iznākumu. Lai pārvaldītu šo risku, svarīgi ieviest regulāru substrāta kvalitātes testēšanu un, ja nepieciešams, pielāgot barotnes sastāvu. Arī mitruma saturs ir kritisks, jo pārāk mitrs substrāts atšķaidīs fermentācijas barotni un palielinās sildīšanas/karsēšanas izmaksas, savukārt pārāk sauss substrāts var būt viskozs un grūti sūknējams. Dabā substrātu kvalitāti var ietekmēt klimats, jo lauksaimniecības atlikumiem lietainas ražas laikā mitrums var pārsniegt normu, kas var nozīmēt papildu žāvēšanu [466]. Riska mazināšanai var slēgt ilgtermiņa līgumus ar piegādātājiem, kuros noteikti kvalitātes parametri un pieņemamās svārstību robežas, kā arī paredzētas darbības neatbilstošas kvalitātes gadījumā. Tāpat var plānot substrātu sajaukšanu. Ja pieejami vairāki blakusprodukti, tos var sajaukt, lai izlīdzinātu sastāva variācijas.

Blakusprodukti reti ir sterili, tie bieži satur bagātīgu apkārtējās vides mikrofloru. Kad šāds substrāts nonāk bioreaktorā, pastāv risks, ka nevēlamie mikroorganismi sāks vairoties un konkurēt ar mērķa mikroorganismu kultūru, samazinot ražību vai pilnībā sabojājot ražošanas partiju. Piemēram, ja *SCP* raudzējamā vidē iekļūst *Clostridium* sugas baktērijas, tās var strauji patērēt cukurus un producēt blakusproduktus nevēlamā daudzumā, turklāt klostrīdiju klātbūtne barībā ir nepieļaujama drošības dēļ [218]. Līdzīgi vīna raugi vai pelējumi substrātā var producēt alkoholu vai organiskās skābes, kas traucē mērķa mikroorganismu augšanu [467]. Šo risku mazināšanai ir vairāki pasākumi: substrāta sanitizācija, antiseptisko piedevu lietošana (dažreiz barotnei, lai nomāktu baktērijas, pievieno vieglu skābi vai antibiotikas), aseptisku fermentācijas apstākļu nodrošināšana. Tomēr, strādājot ar liela apjoma substrātiem, pilnīga sterilizācija var būt dārga un energoietilpīga, tādēļ reizēm vērts izvēlēties mikroorganismu, kurš pats spēj nomākt konkurenci. Daži rūpnieciskie raugi aug, ja pH 3–4, un tādos apstākļos lielākā daļa baktēriju nevaisies. Raudzēšanu var veikt arī augstā temperatūrā (45–50 °C), izmantojot termofilus organismus, lai dabīgie piesārņotāji nespētu augt. Jebkurā gadījumā procesā jāievieš stingra kvalitātes kontrole gan substrāta pieņemšanā, gan fermentācijas gaitā. Piesārņojuma risks pastāv arī pēc fermentācijas, piemēram, svaigi novāktā *SCP* biomasa var tikt inficēta žāvēšanas vai iepakojšanas laikā, tādēļ galaprodukts jāpakļauj drošības pārbaudēm, lai tajā nebūtu patogēnu vai toksīnu. Plānojot *SCP* ražotni, noteikti jāparedz arī rezerves tilpnes vai procedūras gadījumiem, ja kāda fermentācijas partija kontaminējas. Šādā gadījumā piesārņotā partija jāpārstrādā biogāzē vai jāiznīcina atbilstoši normām, lai neietekmētu nākamās partijas.

Viena no kritiskākajām fāzēm jauna biotehnoloģiska procesa ieviešanā ir pāreja no laboratorijas kolbas (vai 5–10 L bioreaktora) uz pilotražotni (piemēram, 100–1000 L) un tad uz industrijas mērogu (>10 m<sup>3</sup>). Daudzas problēmas parādās tikai lielākā mērogā: mainās hidrodinamika (maisīšana lielā tvertnē nav tik viendabīga kā mazā; veidojas gradienti – apakšā vairāk substrāta, augšā mazāk skābekļa utt.), pasliktinās skābekļa padeves relatīvā efektivitāte, grūtāk precīzi kontrolēt temperatūru, pH un putošanu. Tāpat sterilitātes nodrošināšana lielos apjomos ir sarežģītāka – vairāk iekārtu elementu, savienojumu, garāki cauruļvadi nozīmē vairāk iespēju kontaminācijai, tādēļ pilotprojektos nereti sākumā novēro zemākas ražas vai neparedzētas grūtības. Šo risku mazināšanai projekta ieviešanu veic pa posmiem: sākumā testē, piemēram, 10 L mērogā, tad 100 L, pirms ķerties pie 1000 L. Katrā posmā vāc datus par mikroorganisma uzvedību – vai tas joprojām ražo tikpat daudz

elļas/proteīna, vai neparādās stresa pazīmes (piemēram, metabolīti, kuru nebija mazā mērogā). Bieži atkārtoti jāveic procesa optimizācija, piemēram, jāpārregulē aerācijas intensitāte, jo lielā tvertnē šķidruma sajaukšana aizņem ilgāku laiku. Inženiertehniski jārisina arī siltuma izkliede – intensīvi augoša kultūra var izdalīt daudz siltuma (metabolisma eksotermija), un lielā tilpumā var būt grūti šo siltumu aizvadīt, radot pārkaršanas risku. Tas var prasīt jaudīgākas dzesēšanas sistēmas vai lēnāku barības vielu pievienošanu, lai kontrolētu augšanas ātrumu. Pilotmērogā iespējams atklāt arī iekārtu nodiluma un korozijas jautājumus, kas nebija aktuāli mazā mērogā, piemēram, abrazīvi substrāti (graudu sēnālas, ja tās sūknē) var nolietot sūkņus vai vārstus. Risku pārvaldībā pilotprojektiem ir ļoti svarīga loma – tie dod iespēju identificēt “pudeles kaklus” un tehnoloģijas uzlabojumus pirms investīcijām lielos rūpnieciskos apjomos. Šajā posmā ir jāveic intensīva datu analīze un modeļu validācija, salīdzinot eksperimentālos datus ar laboratorijas modeļi, lai pārlicinātos, ka mērogošanas likumi strādā. Ja atklājas būtiskas novirzes, process var tikt pārprojektēts, mainot, piemēram, bioreaktora ģeometriju, ieviešot citādu barošanu (piebarotās fermentācijas vietā vietā periodisko vai otrādi).

Neatņemama risku vadības sastāvdaļa ir ekonomisko un tehnisko rādītāju jutīguma analīze. Tas nozīmē, ka modelī maina atsevišķus parametrus un skatās, kā tas ietekmē projekta iznākumu (piemēram, produkta pašizmaksu, iekšējo peļņas normu, atmaksāšanās laiku). Bioekonomikas projektos bieži liela nenoteiktība ir tieši substrāta pieejamībā un nākotnes cenā, kā arī galaprodukta tirgus cenā. Lai to prognozētu, simulē scenārijus: labvēlīgo (izejvielu daudz un lētas, produkts dārgs) un nelabvēlīgo (izejvielu maz un dārgākas, produkta cena krīt). Ja pat nelabvēlīgā scenārijā projekts ir rentabls, risks ir zems; ja projekts “izdzīvo” tikai ideālos apstākļos, pastāv liela nenoteiktība un jāparedz rezerves plāni. Jutīguma analīzi var veikt arī resursu pieejamības modelī, piemēram, *Welfle* u. c. *Biomass Resource Model (BRM)* spēj simulēt, kas notiks ar biomasas piedāvājumu, ja mainīsies atsevišķi piegādes sistēmas parametri vai politikas [272]. Šajā pētījumā secināts, ka atkritumbiomasa kopumā ir resurss, ko maz ietekmē ārēji faktori, salīdzinot, piemēram, ar enerģētisko koku platībām. Tas ir iepriecinoši *SCP* nozarei, jo paredzams, ka atkritumu pieejamība būs stabila, ja vien tiek īstenotas labas atkritumu apsaimniekošanas stratēģijas. Tomēr jutīguma analīze norādīja arī uz potenciālu konkurenci par resursiem nākotnē: ja bioenerģijas sektors un barības sektors sāks intensīvi izmantot atkritumus, var rasties resursu deficīts un savstarpējas konkurences spiediens. Tātad scenāriju analīze ļauj laikus identificēt šādus riskus un, piemēram,

stratēģiski izlemt diversificēt izejvielu bāzi (nepaļauties tikai uz vienu atkritumu veidu) vai nodrošināt ilgtermiņa līgumus, pirms to izdara citi tirgus dalībnieki.



# 06

## CEĻVEDIS "NO IDEJAS LĪDZ PRODUKTAM"

Ievads	7	
Vienšūnu proteīna potenciāls akvakultūras barībā	8	
<b>01</b>	Blakusprodukti kā resursi vienšūnu proteīnu ražošanai	12
<b>02</b>	Lēmumu pieņemšana: resursu un mikroorganismu izvēle	32
<b>03</b>	Vienšūnu proteīna ražošanas tehnoloģija	62
<b>04</b>	Ražošanas procesa optimizācija	96
<b>05</b>	SCP ražošanas tehnoloģijas novērtējums	108
<hr/>		
<b>06</b>	<b>CEĻVEDIS "NO IDEJAS LĪDZ PRODUKTAM"</b>	<b>138</b>
<hr/>		
6.1.	SCP ražošanas koncepts	141
6.2.	Potenciālie resursi SCP ražošanai	143
6.3.	SCP ražošanas projekta izstrādes metodoloģiskais ietvars	144
6.4.	Substrātu un mikroorganismu izvēles ietvars	147
6.5.	Substrātu izvēles kritēriji	148
6.6.	Mikroorganismu izvēles kritēriji	149
6.7.	Tehnoloģiskie posmi	151
6.8.	Procesu optimizācija	155
6.9.	Mērogošana	157
6.10.	Risku pārvaldība	158
6.11.	Tehniski ekonomiskā analīze	159
6.12.	Dzīves cikla analīze	160
6.13.	Tiesiskie aspekti	161
6.14.	Politikas ieteikumi un ieviešanas scenāriji	163
<hr/>		
Izmantotā literatūra	164	
Summary	198	

Pasaules iedzīvotāju skaits turpina pieaugt, un tiek lēsts, ka līdz 2050. gadam globālais pieprasījums pēc dzīvnieku izcelsmes olbaltumvielām sasnies 1250 miljonus tonnu. Šādu apjomu ar tradicionālajām lauksaimniecības metodēm nodrošināt būs ļoti sarežģīti, tāpēc pētnieki un industrija aktīvi meklē ilgtspējīgas alternatīvas proteīna avotus. Viens no daudzsolītiem risinājumiem ir viensūnu proteīns (*SCP*). Tas ir mikroorganismu biomasas veidā iegūts proteīns, ko var izmantot pārtikā un dzīvnieku barībā. *SCP* iegūst no raugiem, baktērijām, aļģēm vai mikroskopiskajām sēnēm, audzējot šos mikroorganismus uz dažādiem oglekli saturošiem substrātiem kontrolētās fermentācijas sistēmās [468]. Šādi iegūto biomasu var lietot, piemēram, kā olbaltumvielu piedevu dzīvnieku barībā. Praksē *SCP* tiek pētīts kā zivju miltu aizstājējs akvakultūrās, māļputnu barībā u. c. Pieaugot pētījumiem šajā jomā, aizvien skaidrāk iezīmējas *SCP* potenciāls mazināt slogu uz tradicionālajām proteīna ražošanas sistēmām un risināt globālās pārtikas nodrošinājuma problēmas [468].

*SCP* avotiem ir vairākas priekšrocības salīdzinājumā ar konventionālajiem proteīna avotiem. Mikroorganismu biomasai parasti ir augsts proteīna saturs (bieži 50–80 % sausas), sabalansēts aminoskābju sastāvs, zems tauku līmenis un augsta proteīna/ogļhidrātu attiecība [36], [40]. *SCP* var nodrošināt arī virkni vitamīnu un minerālvielu, un dažos gadījumos – bioloģiski aktīvus savienojumus (piemēram, pigmentus, antioksidantus) atkarībā no izmantotā organisma [274]. Vēsturiski kā *SCP* avoti pētīti gan autotrofi organismi, gan heterotrofi mikroorganismi, kas pārstrādā dažādus organiskos atkritumus olbaltumvielu masas ražošanai [468]. Tas nozīmē, ka *SCP* ražošanu var integrēta aprites ekonomikā – izmantojot lauksaimniecības un rūpniecības blakusproduktus kā izejvielas, *SCP* ieguve vienlaikus atrisina atkritumproduktu pārstrādes un papildu vērtības radīšanas uzdevumus.

Jāuzsver, ka *SCP* tehnoloģijas pieder pie t. s. šūnu lauksaimniecības koncepta, tomēr atšķiras no kultivētās gaļas pieejas. *SCP* gadījumā izmantotie organismi nav dzīvnieku izcelsmes, bet gan mikroorganismi, un galaprodukts parasti ir deaktivēta mikroorganismu biomasa ar augstu proteīna saturu. Dzīvnieku barībā šādu biomasu var izmantot tieši (piemēram, kaltētu rauga vai baktēriju miltu veidā), savukārt pārtikas vajadzībām nereti nepieciešama papildu apstrāde, piemēram, šūnu sienīņu noārdīšana, nukleīnskābju satura samazināšana, proteīna koncentrēšana, lai iegūtu sensori patīkamāku produktu [468].

Šajā ceļvedī sniegts visaptverošs ieskats *SCP* ražošanas procesā no idejas līdz gatavam produktam. Tiks aplūkots *SCP* ražošanas koncepts un tā vieta mūsdienu bioekonomikā, iespējamo izejvielu (substrātu) spektrs un to sagatavošana, piemērotāko substrātu un mikroorganismu izvērtēšanas pieejas, tehnoloģiskie posmi un to



### 6.1. attēls.

Ceļakarte: no idejas līdz produktam.

īstenošana (priekšapstrāde, fermentācija, biomasas apstrāde), procesa optimizācijas un mērogošanas stratēģijas, risku identificēšana un vadība, kā arī projekta tehniski ekonomiskā analīze (TEA) un dzīves cikla analīze (LCA) ilgtspējības novērtējumam. Tāpat apskatīti normatīvā regulējuma aspekti Eiropas Savienībā un Latvijā, kas attiecas uz SCP produkcijas ražošanu un ieviešanu tirgū. Noslēgumā sniegti politikas ieteikumi un potenciālie SCP ieviešanas scenāriji, kas var kalpot kā ceļvedis lēmumu pieņēmējiem, investoriem un citiem ieinteresētajiem. Ceļvedis veidots, balstoties sistēmiskā pieejā un aktuālos šīs jomas pētījumos, un tas būs noderīgs gan studentiem un inženieriem, kuri apgūst biotehnoloģiju un aprites bioekonomiku, gan zinātniekiem un uzņēmējiem, kas attīsta jaunas SCP ražošanas iniciatīvas, gan arī politikas veidotājiem, kuri plāno atbalsta mehānismus šādu inovatīvu tehnoloģiju ieviešanai.

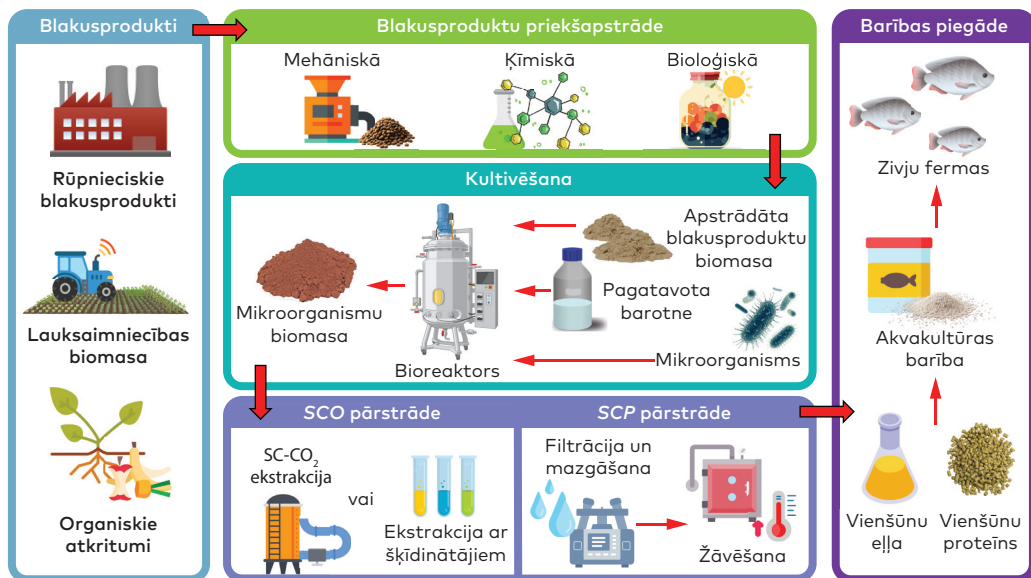
## 6.1. SCP ražošanas koncepts

SCP ražošanas pamatkoncepts balstās mikroorganismu spējā ātri vairoties un veidot proteīniem bagātu biomasu, izmantojot dažādus lētus oglekļa avotus. Tipiska SCP ražošanas ķēde (6.1. attēls) ietver substrāta (oglekli saturoša izejvielas) sagatavošanu, fermentācijas procesu, kurā izvēlētais mikroorganisms aug un pārveido substrātu biomasā, un iegūtās biomasas novākšanu un apstrādi līdz galaproduktam – ar proteīna bagātai barībai.

SCP ražošanas sistēmas var būt ļoti dažādas atkarībā no mikroorganisma veida un izmantotā substrāta. Izmanto gan iegremdētās (šķidrās) fermentācijas bioreaktorus raugu, baktēriju un daudzū sēņu audzēšanai, gan cietā substrāta fermentācijas reaktorus (piemēram, sēņu micēlija audzēšanai uz mitra substrāta bez brīva šķidrums fāzes), gan arī fotobioreaktorus vai atklātus diķi mikroaļģu kultivēšanai. Visos gadījumos mērķis ir efektīvi pārvērst lētas izejvielas mikroorganismu biomasā, kas satur augstu proteīna daudzumu, vienlaikus minimizējot patērētos resursus (zemes platības, ūdeni, enerģiju) un radītās blakusproduktu plūsmas.

6.2. attēlā parādīts process, kurā lauksaimniecības vai rūpnieciskie blakusprodukti tiek izmantoti kā substrāts mikroorganismu kultivēšanai fermentācijas bioreaktorā. Mikroorganismi, piemēram, raugi, baktērijas vai sēnes, fermentācijas laikā patērē substrāta organiskās vielas un vairojas, veidojot biomasu ar augstu olbaltumvielu saturu. Pēc noteikta audzēšanas laika biomasu atdala no fermentācijas barotnes, izmantojot, piemēram, centrifugēšanu vai filtrēšanu, un apstrādā, iegūstot galaproduktu.

Lai izprastu SCP ražošanas konceptu, ir jāaplūko pirmās un otrās paaudzes pieejas šajā jomā. Pirmās paaudzes SCP ražošanā



tradicionāli izmanto tīras, pārtikas kvalitātes izejvielas (piemēram, glikozi, melasi, etanolu vai pat metānu) līdzīgi tam, kā pirmās paaudzes biodegvielu ražošanā izmanto cukuru vai eļļu saturošas lauksaimniecības izejvielas [468]. Šādā gadījumā mikroorganismi tiek audzēti optimālos apstākļos ar viegli patērējamu substrātu, kas nodrošina augstu ražību, taču var radīt konkurenci ar pārtikas un lopbarības resursiem. Otrās paaudzes SCP pieejas fokusējas uz nepārtikas izejvielām – dažādiem atkritumiem un blakusproduktiem – un inovācijām procesā, lai pārvarētu iepriekšējo pieeju ierobežojumus. Otrās paaudzes SCP konceptā kā substrātus mikroorganismu fermentācijai izmanto, piemēram, lauksaimniecības atlikumus, koksnes biomasu, rūpnieciskos blakusproduktus un pat notekūdeņus [468]. Tas ļauj vienlaikus samazināt spiedienu uz tradicionālo lauksaimniecību un risināt atkritumu apsaimniekošanas problēmas. Tāpat otrās paaudzes pieejās nereti tiek iesaistītas progresīvas tehnoloģijas, piemēram, ģenētiski modificētu mikroorganismu izmantošanu lielākas proteīna ražas iegūšanai [368] vai jaunus bioreaktoru dizainus efektīvākai masas un siltuma apmaiņai. Šo inovāciju mērķis ir palielināt SCP ražošanas efektivitāti un mazināt izmaksas, lai tehnoloģiju padarītu konkurētspējīgu plašā tirgū. Attīstoties biotehnoloģiskajiem un inženiertehniskajiem risinājumiem, SCP ražošana pakāpeniski kļūst arvien dzīvotspējīgāka un mērogojamāka, paverot ceļu tās integrācijai pārtikas sistēmā un devumam globālās pārtikas drošības uzlabošanā.

## 6.2. attēls.

SCP un vienšūnu eļļas ražošanas procesa vispārējā shēma.

Šis ceļvedis galvenokārt vērsts uz *SCP* kā pārtikas un barības proteīna avota ražošanas kontekstu, taču pamatprincipi un tehnoloģijas ir līdzīgas arī citiem lietojumiem.

## 6.2. Potenciālie resursi *SCP* ražošanai

Viena no lielākajām *SCP* tehnoloģijas priekšrocībām ir spēja izmantot plašu izejvielu klāstu, tostarp lētus lauksaimniecības un rūpniecības blakusproduktus, kā substrātu mikroorganismu kultivēšanai. Turpmāk uzskaitīti vairāku lauksaimniecības izcelsmes substrātu piemēri, kas minēti un pārbaudīti dažādos *SCP* tehnoloģiju pētījumos [194], [226].

**Lignocelulozes biomasa**, piemēram, salmi, koksnes atlikumi un rapšu rauši, ir lēti un plaši pieejami substrāti, taču pirms fermentācijas tie jāhidrolizē, jo mikroorganismi bez priekšapstrādes nevar izmantot celulozi un hemicelulozi. Fizikāli ķīmiskā vai enzimatiskā apstrāde sadala šķiedrvielas vienkāršos cukuros, padarot koksnes atkritumus par efektīvu oglekļa avotu *SCP* ražošanai.

**Cieti un cukurus saturoši blakusprodukti**, tostarp melase, augļu izspaidas, graudu pārstrādes atlikumi un sūkalas, satur viegli fermentējamus ogļhidrātus, kas nodrošina augstu mikrobu augšanas ātrumu. Melasi tradicionāli izmanto rauga biomasa audzēšanai, bet sūkalas var kalpot kā vērtīgs substrāts organismiem, kas spēj fermentēt laktozi.

**Augu eļļu un tauku pārstrādes atlikumi**, piemēram, spraukumi un rauši satur proteīnus, ogļhidrātus un eļļu, ko var izmantot specifiskas mikrobu sugas, īpaši oleagīnie raugi. Šāda fermentācija var nodrošināt gan *SCP* biomasu, gan vienšūnu eļļu kā blakusproduktu.

**Rūpnieciskās un pārtikas nozares šķidrās blakusplūsmas**, piemēram, cietes, cukura vai alus ražošanas notekūdeņi, satur organiskās vielas, ko mikroorganismi var efektīvi pārstrādāt, vienlaikus attīrot notekūdeņus. Šādi substrāti ir vērtīgi *SCP* ieguvei, ja tiek nodrošināta atbilstoša procesa kontrole un netoksiskums.

**Neapstrādāts glicerīns** ir labs oglekļa avots specializētiem raugiem, piemēram, *Yarrowia lipolytica*. Šādu atkritumu valorizācija *SCP* veidā jau ir izvērtēta arī drošuma ziņā, demonstrējot iespējas rūpniecisko plūsmu ilgtspējīgai izmantošanai.

Dažos pētījumos *SCP* iegūšanai izmantotas arī **notekūdeņu dūņas un organiskie atkritumi**, īpaši metanotrofu audzēšanai. Tomēr šīs pieejas vēl ir agrīnā izpētes stadijā un nav piemērotas pārtikai vai barībai potenciālo piesārņojumu dēļ.

Kopumā potenciālo substrātu spektrs *SCP* ražošanai ir ļoti plašs – no tradicionālām cukura bāzes barotnēm līdz pat atkritumu gāzēm. Izvēloties konkrētu substrātu, jāņem vērā ne tikai tā pieejamība un

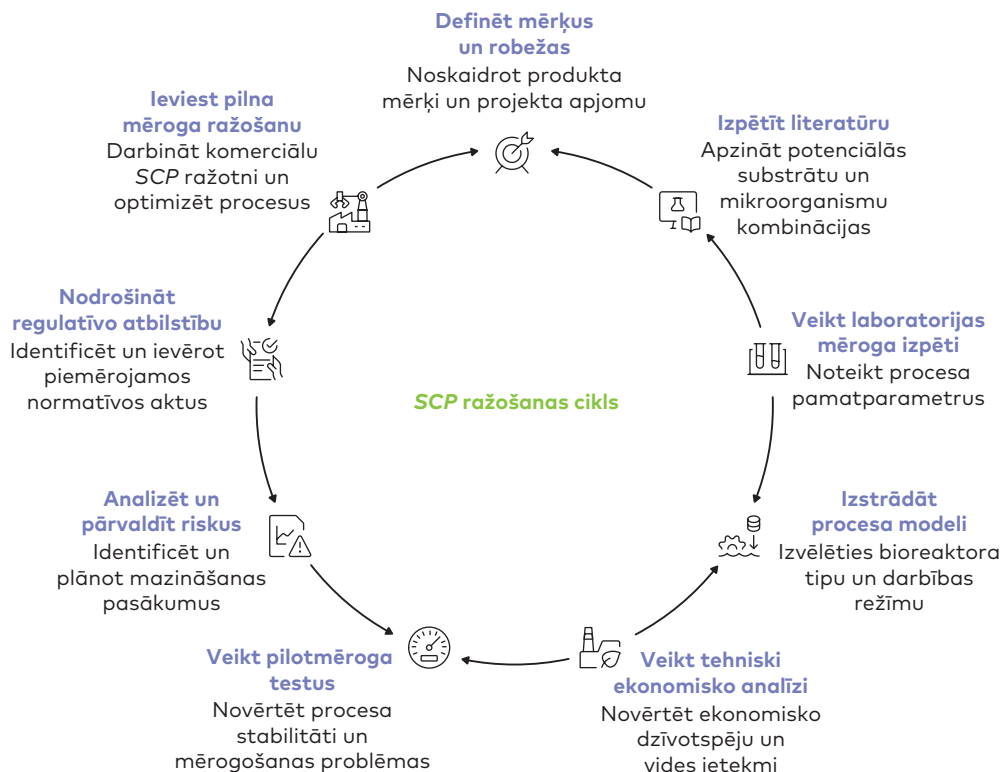
izmaksas, bet arī apstrādes prasības (piemēram, nepieciešamība hidrolizēt cieti vai celulozi), barības vielu saturs, iespējamie inhibitori (toksiskas vai barībā neizmantojamas vielas) un atbilstība normatīvajām prasībām. Daudzus blakusproduktus drīkst izmantot barības un pārtikas ražošanā tikai noteiktos apstākļos, piemēram, ES Kopējais barības sastāvdaļu reģistrs (Regula (ES) Nr. 68/2013) nosaka virkni blakusproduktu, kurus atļauts lietot dzīvnieku barībā, un to kvalitātes kritērijus, tāpēc pirms jauna substrāta izmantošanas ir jāizvērtē tā īpašības un jāpārlicinās, ka produkts būs drošs un atbildīs galalietotājam.

Nākamajā nodaļā aplūkosim metodoloģijas, kā sistemātiski novērtēt un salīdzināt dažādas substrātu un mikroorganismu izvēles iespējas *SCP* ražošanas projektos. Šī ceļveža galvenā ideja ir izmantot lauksaimniecībā un rūpniecībā pieejamos blakusproduktus, lai no tiem varētu iegūt vērtīgus produktus, piemēram, *SCP*.

### 6.3. *SCP* ražošanas projekta izstrādes metodoloģiskais ietvars

*SCP* ražošanas sistēmas plānošana un ieviešana prasa integrētu un daudzdisciplīnu pieeju. Jau projekta sākumposmā jāsaprot, ka jāņem vērā gan biotehnoloģiskie, gan inženiertehniskie, ekonomiskie, vides un regulatīvie aspekti. Turpmāk apkopot galvenie posmi un darbības, kas veido metodoloģisko ietvaru *SCP* ražošanas attīstīšanai no idejas līdz rūpnieciskai ieviešanai.

1. **Projekta mērķu un robežu definēšana.** Vispirms skaidri jānosaka, kādam nolūkam paredzēts *SCP* produkts (dzīvnieku barībai vai pārtikai, konkrētam dzīvnieku veidam vai cilvēkiem, specializēts produkts ar noteiktām īpašībām vai masveida proteīna aizstājējs utt.). Tāpat jādefinē projekta apjoms – plānotā jauda (piemēram, tonnas produkta gadā), ģeogrāfiskais konteksts (vietējās izejvielu bāzes pieejamība, tirgus) un ierobežojumi. Šajā posmā nosaka arī to, vai projekts būs orientēts uz pilnīgi jaunas tehnoloģijas izstrādi vai esošu risinājumu pielāgošanu.
2. **Literatūras izpēte un sākotnējā koncepta formulēšana.** Balstoties zinātniskajā literatūrā un esošajā pieredzē, tiek apzinātas potenciālās substrātu un mikroorganismu kombinācijas, tehnoloģiju risinājumi un citi līdzīgi projekti pasaulē. Jāizstrādā sākotnējā procesu shēma (piemēram, blokshēma), kurā iezīmēti galvenie posmi: izejvielu apstrāde, fermentācija, biomasas novākšana, produkta rafinēšana. Šajā solī jau var izmantot sistemātiskas izvērtēšanas metodes, piemēram,



**6.3. attēls.**  
SCP ražošanas projekta algoritms.

daudzkritēriju lēmumu analīzi (*MCDA*), lai salīdzinātu vairākus iespējamus ražošanas scenārijus pēc tehniskiem, ekonomiskiem un vides kritērijiem. *MCDA* palīdz izvēlēties daudzsoļāko koncepciju pirms resursietilpīgu eksperimentu uzsākšanas.

3. **Laboratorijas mēroga izpēte.** Tiek veikti laboratorijas eksperimenti, lai izvēlētajam mikroorganismam un substrātam noteiktu ražošanas pamatparametrus: augšanas ātrumu, proteīna saturu biomasā, nepieciešamo barotnes sastāvu, optimālo temperatūru, pH, aerācijas līmeni u. c. Tiek izmēģinātas arī substrāta priekšapstrādes metodes (ja nepieciešams) un biomasas novākšanas paņēmieni mazos apjomos. Laboratorijas dati ļauj validēt sākotnējos pieņēmumus un kalibrēt procesu modelēšanas rīkus. Piemēram, var veikt kolbas fermentācijas testus ar dažādām barotnēm un noteikt, kura dod vislielāko biomasas ražu un proteīna saturu.
4. **Procesa modelēšana un integrēts dizains.** Balstoties eksperimentos, tiek izstrādāts detalizētāks procesa modelis – izvēlēts bioreaktora tips un darbības režīms (piemēram,

periodiskas, piebarotas fermentācijas vai nepārtrauktas darbības process), noteikta nepieciešamā priekšapstrādes iekārta, biomasas atdalīšanas tehnoloģija utt. Tiek izveidota procesa blokshēma ar galvenajiem mezgliem un materiālu un enerģijas plūsmām. Mūsdienās pieejamas programmatūras, kas ļauj simulēt bioķīmiskos ražošanas procesus un aprēķināt masas bilances, enerģijas patēriņu u. tml. Integrēti aplūkojot visu ķēdi, var identificēt vājos posmus un optimizācijas iespējas.

5. **Tehniski ekonomiskā analīze (TEA) un dzīves cikla analīze (LCA).** Jau konceptuālajā stadijā ieteicams veikt provizorisku TEA, lai novērtētu, vai izvēlētais risinājums ir potenciāli ekonomiski dzīvotspējīgs. TEA ietvaros aprēķina aptuvenās kapitālizmaksas (iekārtas, infrastruktūra) un ekspluatācijas izmaksas (izejvielas, enerģija, darbaspēks) uz produkta vienību, kā arī produkta pašizmaksu. Ja šie aprēķini rāda nekonkurētspējīgu rezultātu, iespējams, jāatgriežas pie koncepcijas korigēšanas vai citu substrātu/mikroorganismu izvēles. Parāli tiek veikta provizoriska LCA jeb vides ietekmju novērtēšana, lai saprastu, vai jaunajam procesam ir patiešām mazāka vides pēda nekā alternatīvām (piemēram, sojas audzēšanai vai zivju miltu ražošanai). TEA un LCA rezultāti agrīnā posmā ļauj koncentrēt resursus uz ilgtspējīgākajām un izdevīgākajām opcijām, kā arī identificēt galvenos izmaksu un ietekmju avotus, kas jāoptimizē.
6. **Pilotmēroga testi un pieejamo resursu izvērtēšana.** Ja konceptuālie un laboratorijas rezultāti ir daudzsološi, nākamais solis ir tehnoloģijas pārbaude pilotiekārtās. Jāapzina pieejamie resursi – finansiālie, tehniskie un arī kompetenču resursi –, lai varētu izstrādāt lielāka mēroga projektus. Pilotmēroga eksperimenti ļauj novērtēt procesa stabilitāti ilgākā laikā, identificēt mērogošanas problēmas un precizēt rūpnieciskā projekta inženiertehniskos parametrus. Šajā posmā tiek arī apmācīts personāls, izstrādātas iekārtu darbības instrukcijas un kvalitātes kontroles protokoli.
7. **Risku analīze un pārvaldība.** Visā projekta izstrādes laikā tiek veikta risku identificēšana – gan tehnisko, gan finansiālo, gan vides un drošības risku izvērtēšana. Katram identificētajam riskam tiek plānoti mazināšanas pasākumi. Risku pārvaldība ir nepārtraukts process, kas turpinās arī tehnoloģijas ieviešanas un ekspluatācijas fāzē.
8. **Regulatīvo prasību izpilde un atbilstības nodrošināšana.** Jau projekta sākumā un jo īpaši tuvojoties demonstrācijas un ražošanas fāzei, jāidentificē piemērojami normatīvie akti un jānodrošina to ievērošana. Tas var iekļaut atļauju saņemšanu,

kā arī produkta drošuma testēšanu un sertifikāciju. Šie aspekti detalizētāk aplūkoti turpmāk nodaļā par regulējumu.

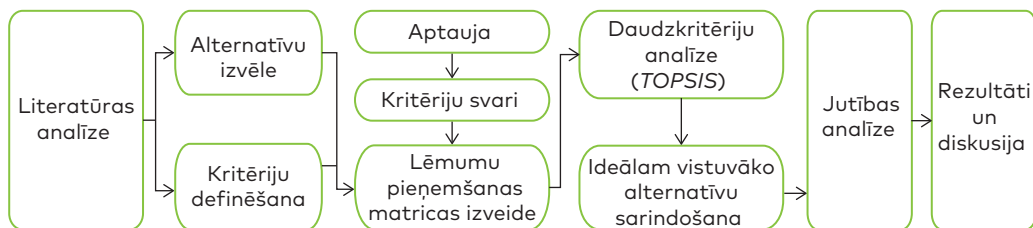
9. **Pilna mēroga ieviešana un nepārtraukta uzlabošana.** Pēdējais posms ir komerciālas *SCP* ražotnes darbība. Ar to gan metodoloģiskais cikls nebeidzas – rūpnieciskās ražošanas laikā turpinās datu vākšana, procesu optimizācija (piemēram, izmaksu taupīšanas iespējas, blakusproduktu labāka izmantošana), jaunu celmu vai izejvielu izmēģināšana uz esošās bāzes un paplašināšanās plānošana. Tāpat tiek aktīvi pārvaldīti riski un nodrošināta atbilstība visām kvalitātes un drošības prasībām.

Plāns nodrošina, ka neviens būtisks aspekts netiek nepalaists garām, sākot no agrīnas ekonomiskās puses un ilgtspējas izvērtēšanas līdz pat galaprodukta drošumam. Īpaši svarīgi ir starpdisciplināri aspekti – tehnoloģijas izstrādē jāsadarbojas biotehnologi, ķīmijas inženieri, ekonomisti, vides zinātnieki un regulējuma eksperti. Tikai visaptveroša pieeja garantē, ka *SCP* ražošanas projekts būs ne vien tehniski īstenojams, bet arī ilgtspējīgs, drošs un ekonomiski pamatots.

## 6.4. Substrātu un mikroorganismu izvēles ietvars

Plānojot *SCP* ražošanu, viena no pirmajām stratēģiskajām izvēlēm ir vispiemērotākā substrāta un mikroorganisma kombinācijas noteikšana. Šis lēmums ir sarežģīts, jo vienlaikus jāņem vērā vairāki kritēriji: izejvielas pieejamība un cena, mikroorganisma augšanas rādītāji, proteīna kvalitāte, procesa prasības utt. Lai sistemātiski salīdzinātu alternatīvas un pamatoti izvēlētos optimālo risinājumu, izmanto *MCDA* metodes. *MCDA* ļauj strukturēt lēmumu pieņemšanas procesu situācijās, kad jāizvērtē vairākas alternatīvas pēc vairākiem savstarpēji konkurējošiem kritērijiem. Šādā pieejā:

- tiek definēta problēma un mērķis (piemēram, atrast visefektīvāko substrātu *SCP* ražošanai Latvijā);
- identificētas alternatīvas (piemēram, salmi, sūkalas, melase, biogāze utt. un/vai atšķirīgi mikroorganismi);
- izvirzīti izvēles kritēriji (tehniskie, ekonomiskie, vides, sociālie u. c., kas raksturo katras alternatīvas veiktspēju);
- savākti dati par katras alternatīvas sniegumu katrā kritērijā (izmantojot literatūras avotus, eksperimentus vai ekspertu novērtējumus);
- noteikti kritēriju svāri atbilstoši to relatīvajam nozīmīgumam (parasti ar ekspertu iesaisti vai projekta mērķu analīzi);
- veikti matemātiski aprēķini, lai novērtētu un sarindotu alternatīvas pēc to kopējā rezultāta.



Rezultātā *MCDAs* sniedz pārskatāmu pamatojumu, kura no alternatīvām vislabāk atbilst visiem izvirzītajiem kritērijiem kopumā. *MCDAs* ietvaros bieži izmanto jutīguma analīzi, lai pārbaudītu, vai ranga secība paliek stabila, mainot kritēriju svarus vai pieņēmumus. Tas nodrošina lēmuma stabilitāti.

Viena no populārākajām *MCDAs* metodēm inženiertehniskos un ekonomiskos uzdevumos ir *TOPSIS* (*Technique for Order of Preference by Similarity to Ideal Solution*). Tās priekšrocības ir vienkārša algoritma loģika un rezultātu interpretācija. Šīs metodes pamatā ir ģeometriskā pieeja – tiek aprēķināts, cik katra alternatīva ir tuvu ideālajam risinājumam (hipotētiskai alternatīvai, kas visos kritērijos sasniegtu iespējami labākās vērtības) un cik tālu no vissliktākās iespējamās alternatīvas. Aprēķinu gaitā katrai alternatīvai tiek piešķirts indekss  $[0,1]$  intervālā, kas raksturo tās relatīvo atbilstību ideālam – jo indekss tuvāks 1, jo alternatīva kopumā labāka. Alternatīvas sarindo pēc šī indeksa dilstošā secībā, un vislabākā ir tā, kuras indekss ir visaugstākais. *TOPSIS* algoritmu var ērti īstenot ar izklājlapu rīkiem vai specializētām programmām. Tas ļauj salīdzināt ļoti atšķirīgus variantus, jo izejas dati vispirms tiek normalizēti un reizināti ar svara koeficientiem. *TOPSIS* metode arī paredz pievērst uzmanību kritēriju svaru izvēlei – svaru noteikšana notiek, balstoties ekspertu vai lēmumu pieņēmēju viedokli par kritēriju relatīvo nozīmīgumu konkrētajā kontekstā. Piemēram, ja ekonomiskie faktori (izmaksas, tirgus pieprasījums) projektā tiek uzskatīti par divreiz svarīgākiem nekā vides rādītāji, tad tiem piešķir attiecīgi lielāku kopējo svaru modeli. Iznākumā *TOPSIS* (un citas *MCDAs* metodes) nodrošina skaitliski salīdzināmu rezultātu katrai alternatīvai, ļaujot pamatoti izvēlēties optimālo.

#### 6.4. attēls.

Daudzkritēriju analīzes algoritms.

## 6.5. Substrātu izvēles kritēriji

Nosakot, kurš substrāts ir visperspektīvākais *SCP* ražošanai, jāizvērtē vairāki tehniskie, ekonomiskie un vides kritēriji. Šeit ir uzskaitīti kritēriji, kas būtu ņemami vērā, izvēloties blakusproduktus kā substrātus *SCP* ražošanā.

Izmantojot *MCDAs*, šos kritērijus var integrēt vienotā izvērtējumā. Piemēram, viens substrāts var nodrošināt ļoti augstu biomasas ražu,

**6.1. tabula.**

Blakusproduktu kā substrātu izvēles kritēriji SCP ražošanai

<b>Kritēriji</b>	<b>Kritērija nozīme substrāta izvēlē</b>
Biomasa raža no substrāta	Cik kilogramu biomasas (sausnas) var iegūt no noteikta substrāta daudzuma (piemēram, vienas tonnas). Šis rādītājs raksturo oglekļa konversijas efektivitāti – jo augstāka raža, jo labāk substrāts tiek pārvērsts vēlamajā produktā.
Proteīna saturs un kvalitāte biomasā	Kāds procents no iegūtās biomasas ir proteīns, un vai aminoskābju sastāvs atbilst mērķa vajadzībām (piemēram, dzīvnieku uztura prasībām). Substrāti, kas ļauj mikroorganismiem sintezēt vairāk proteīna, tiek vērtēti augstāk.
Priekšapstrādes nepieciešamība un sarežģītība	Vai konkrētajam substrātam ir nepieciešama intensīva priekšapstrāde pirms fermentācijas un cik tas maksā. Substrāti, kurus var izmantot ar minimālu apstrādi, ir tehniski un ekonomiski pievilcīgāki.
Maksimālā sasniedzamā šūnu koncentrācija un produktivitāte	Cik lielu biomasu koncentrāciju (g/L) var sasniegt fermentācijas beigās un cik ātri tā pieaug (g/L/h). Šie rādītāji nosaka ražotnes caurlaidību un iekārtu izmērus – vēlamā substrāts, uz kura mikroorganismi aug ļoti ātri un blīvi.
Procesa ar konkrēto substrātu inženiertehniskā sarežģītība	Vai substrāta izmantošanai vajadzīgs specifisks un dārgs aprīkojums. Jo vienkāršāk tehnoloģiski apstrādāt konkrēto substrātu, jo augstāk tas tiek vērtēts.
Substrāta pieejamība, izmaksas un loģistika	Cik plaši pieejams ir substrāts (vietēji un sezonāli), vai tā piegāde ir uzticama, cik maksā substrāta iegāde vai sagatavošana, un vai pastāv konkurence.
<b>Vides aspekti</b>	Cik videi draudzīga ir attiecīgā substrāta izmantošana – vai tā palīdz samazināt atkritumus, cik liels ir potenciālais emisiju ietaupījums salīdzinājumā ar alternatīvām, vai substrāta iegūšana/transportēšana nerada lielu CO <sub>2</sub> pēdas nospiedumu.
<b>Jebkuri specifiski riski vai šķēršļi</b>	Ja substrāts ir pārtikas ķēdes blakusprodukts, jāvērtē sabiedrības viedoklis un tas, vai pastāv regulatīvi šķēršļi tā izmantošanai.

bet tam vajadzīga dārga priekšapstrāde, kamēr cits substrāts var būt lēts un pieejams, bet dot mazāku ražu. *MCDA* palīdz kvantitatīvi sabalansēt kompromisus starp šādām alternatīvām.

## 6.6. Mikroorganismu izvēles kritēriji

Ne mazāk svarīga ir vispiemērotākā mikroorganisma izvēle konkrētajam substrātam un procesam. Arī šeit var izmantot *MCDA*, iekļaujot 6.2. tabulā minētos kritērijus.

Līdzīgi kā substrātiem, arī mikroorganismu izvēlē *MCDA* palīdz integrēt šos kritērijus vienotā vērtējumā. Bieži substrāta un

## 6.2. tabula.

Mikroorganismu izvēles kritēriji SCP ražošanai

Kritēriji	Kritērija nozīme mikroorganismu izvēlē
Spēja izmantot konkrēto substrātu	Vai mikroorganisms efektīvi metabolizē galvenās substrāta sastāvdaļas. Piemēram, ja substrāts ir laktozi saturošas sūkalas, tad raugam jāspēj ražot laktāzi; ja substrāts ir metāns, mikroorganismam jābūt metanotrofam utt.
Tolerance pret inhibējošām vielām	Substrātos var būt savienojumi, kas kavē augšanu. Izvēlētais mikroorganisms nedrīkst būt pārlieku jutīgs pret šādām vielām, vai arī substrāts jāspēj efektīvi attīrīt pirms fermentācijas.
Prasības pret barības elementiem un C:N attiecība	Dažādiem mikroorganismiem optimālai augšanai vajadzīga atšķirīga oglekļa un slāpekļa attiecība un mikroelementi. Vislabākā situācija ir tad, ja substrāta sastāvs dabiski atbilst mikroorganisma uzturprasībām.
Augšanas raksturojums un produktivitāte	Maksimālais konkrētā mikroorganisma augšanas ātrums, sasniedzamā biomasas koncentrācija, kultūras stabilitāte ilgstošā kultivēšanā. Vēlams izmantot mikroorganismus ar augstākiem ražības rādītājiem un stabilu darbību nepārtrauktos ražošanas procesos.
Aerācijas un citu apstākļu prasības	Ja mikroorganismam nepieciešams intensīvs skābekļa padeves režīms, tad rūpnieciski tas var būt energoietilpīgs izaicinājums. Tāpat jāvērtē, vai mikroorganismam nav nepieciešami specifiski augšanas faktori, piemēram, noteikts pH līmenis u. c., kas sarežģī procesu.
Biomasas novākšanas vieglums	Mikroorganismu šūnu izmērs un morfoloģija ietekmē, cik viegli pēc fermentācijas varēs atdalīt biomasu. Piemēram, raugu un baktēriju šūnas ir mazas un tām bieži nepieciešama centrifugēšana. Priekšroka būtu dodama organismiem, kurus ir visvienkāršāk atdalīt un attīrīt.
Drošums un regulatīvie aspekti	Izvēlētajai sugai jābūt nekaitīgai. Ja tā ir labi zināma (GRAS jeb par drošu vispārārtzītu statusu vai tradicionāli lietota), tas atvieglo atbilstību normatīviem. Ja mikroorganisms ir ģenētiski modificēts, jāreķinās ar papildu regulatīvajiem soļiem.

mikroorganisma izvēle jāskata kombinēti, proti, jāatrod optimālais pāris, jo daži mikroorganismi ir īpaši piemēroti konkrētam substrātam (piemēram, īpaši fermenti substrāta polisaharīdu šķelšanai, tolerance pret substrāta sastāvdaļām). Pētījumos demonstrēts, ka, izmantojot *MCD*, var objektīvi salīdzināt dažādas sugas un to atbilstību. Piemēram, vienā kompleksā izvērtējumā vairākas rauga sugas (piemēram, *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida*) ieguva augstāku kopvērtējumu nekā vairāku baktēriju sugas, kas norāda uz raugu potenciāli lielāku piemērotību noteiktiem atkritumu substrātiem. Tajā pašā pētījumā *TOPSIS* rezultāti parādīja, ka vislabākā baktēriju alternatīva tikai nedaudz atpalika no raugu vissliktākās alternatīvas, savukārt visas trīs apskatītās rauga sugas bija līderos ar ļoti līdzīgiem rādītājiem [185].

Bieži, attīstoties tehnoloģijai un parādoties jaunām iespējām, var būt lietderīgi pārvērtēt sākotnējo izvēli. Tomēr *MCDA* pieejas nodrošina, ka šī izvēle jebkurā brīdī tiek veikta caurspīdīgi, balstoties datos un projekta mērķos. Šāda metodoloģiskā pieeja palīdz mazināt subjektīvu aizspriedumu risku un fokusēties uz tiem risinājumiem, kas objektīvi sniedz vislielāko ieguvumu pēc definētajiem kritērijiem.

## 6.7. Tehnoloģiskie posmi

*SCP* ražošanas procesu var iedalīt vairākos secīgos tehnoloģiskos posmos, no kuriem galvenie ir izejvielas priekšapstrāde, fermentācija (mikroorganismu kultivēšana) un biomasas apstrāde, lai iegūtu galaproduktu. Katra no šīm stadijām ir kritiska veiksmīgai un efektīvai *SCP* iegūšanai.

### Priekšapstrāde

Priekšapstrādes mērķis ir sagatavot izvēlēto substrātu tādā formā, ko mikroorganismi var efektīvi patērēt fermentācijas laikā. Priekšapstrādes darbības ir atkarīgas no substrāta veida.

Daļiņu izmēra samazināšana ir būtiska cieto substrātu, piemēram, salmu vai koksnes, apstrādē, jo malšana palielina virsmas laukumu un uzlabo pieejamību mikroorganismiem. Tomēr pārlietu smalka malšana palielina enerģijas patēriņu un rada apstrādes problēmas, piemēram, putekļus. Lignocelulozes materiāliem nepieciešama arī ķīmiskā vai enzimatiskā hidrolīze, lai sašķeltu celulozi fermentējamam cukuros. To panāk ar skābo hidrolīzi, tvaika sprādzienapstrādi un enzīmu pievienošanu, kas pārvērš salmus vai šķeldu substrātā, ko mikroorganismi var izmantot.

Daļa substrātu satur inhibitorus, piemēram, furfuroļu, fenolus vai pesticīdus, tāpēc priekšapstrāde iekļauj to neitralizēšanu vai noņemšanu, izmantojot mazgāšanu, pH korekciju vai filtrāciju. Līdzīgi pirms fermentācijas bieži jāatdala citrusu pārstrādes atkritumos esošās ēteriskās eļļas. Lai fermentācijā izvairītos no svešo mikroorganismu konkurences, substrātu un barotni nereti sterilizē (piemēram, termiski apstrādājot 121 °C 20–30 min autoklāvā vai plūsmas pasterizatorā). Tomēr pilna sterilizācija lielos apjomos ir dārga, tādēļ rūpnieciskos procesos bieži izmanto pasterizāciju vai substrāta skābināšanu, lai nomāktu konkurējošo mikrofloru līdz pieņemamam līmenim. Piemēram, melasi pirms rauga fermentācijas mēdz uzkarstēt un paskābināt ar sērskābi. Tā nav sterila vide, bet lielākā daļa baktēriju tiek nomāktas, un raugs (kā skābes tolerants organisms) dominē fermentācijās.

Tā kā daudzi blakusprodukti nav pilnvērtīgi barības avoti, barotne jāpapildina ar slāpekļa savienojumiem, minerālvielām un

vitamīniem, kā arī jāatšķaidā līdz piemērotai koncentrācijai, lai izvairītos no osmotiskā stresa. Pareizi veikta priekšapstrāde būtiski uzlabo fermentācijas efektivitāti, taču tā bieži ir energoietilpīga, un inovācijas šajā posmā var ievērojami uzlabot procesa ekonomiskos rādītājus.

## Fermentācija

Fermentācija ir centrālais posms, kurā izvēlētie mikroorganismi aug un vairojas, pārvēršot sagatavoto substrātu biomasā. Šis posms parasti norit bioreaktoros – specializētās tvertnēs ar kontrolētiem apstākļiem. Fermentācijas procesa parametri atšķiras atkarībā no izvēlēta mikroorganisma un substrāta.

**Darbības režīms.** Izšķir periodisko fermentāciju (*batch*), kur reaktors tiek piepildīts ar barotni un inokulēts, un mikroorganismi aug, līdz barības vielas izsīkst, piebaroto (*fed-batch*) fermentāciju, kur barotne tiek pakāpeniski papildināta audzēšanas laikā, lai pagarinātu aktīvās augšanas fāzi; un nepārtraukto fermentāciju, kur svaiga barotne tiek nepārtraukti pievadīta un kultūras daļa nepārtraukti novākta, uzturot mikroorganismus stabilā augšanas režīmā. Periodiskā režīma cikls var ilgt, piemēram, 24–120 stundas, pēc tam iekārta jātīra un jāusāk jauns cikls. Nepārtrauktā režīmā process var turpināties nedēļām un pat mēnešiem (ja izdodas izvairīties no kontaminācijas). Piemēram, mikrosēnes var audzēt nepārtrauktā kultivēšanā lielos kolonnas tipa bioreaktoros vairākas nedēļas, periodiski caur sietu atdalot daļu biomasas un pievienojot svaigu barotni.

**Aerācijas un maisīšanas sistēma.** Lielākajai daļai SCP procesu nepieciešama intensīva aerācija, jo mikroorganismiem, sintezējot proteīnu, vajag skābekli enerģijas iegūšanai (izņēmums – dažas raugveida sēnes, kas spēj producēt biomasu arī daļēji anaerobos apstākļos, taču ar zemāku ražību). Bioreaktori ir aprīkoti ar gaisa padevi un maisītājiem vai cirkulācijas sūkņiem, lai nodrošinātu vienmērīgu skābekļa sadali. Liela mēroga bioreaktoros skābeklis mēdz kļūt par limitējošu faktoru, jo difūzija un šķīdība ir ierobežotas, tāpēc rūpniecībā reizēm izmanto tīra skābekļa padevi vai paaugstinātu spiedienu reaktorā, lai palielinātu O<sub>2</sub> šķīdību barotnē. Maisīšanai jānodrošina ne tikai gāzes sadale, bet arī suspensijas homogenizācija un siltuma novade. Siltuma kontrole ir būtiska, jo intensīvas mikroorganismu augšanas laikā izdalās siltums, un lielos tilpumos var notikt pārkaršana, ja reaktors nav pietiekami dzesējams. Šī iemesla dēļ bioreaktorus aprīko ar dzesēšanas apvalkiem vai iekšējiem siltummaiņiem.

**Process ilgums un fāzes.** Fermentācijas fāžu dinamika ir centrāla arī procesa vadībai, jo katrs posms nosaka atšķirīgas metabolisma prioritātes. Adaptācijas fāzē mikroorganismi pielāgojas

videi un aktivizē nepieciešamās enzīmu sistēmas, savukārt eksponenciālajā fāzē sasniedz maksimālo specifisko augšanas ātrumu un efektīvi pārstrādā substrātu biomasā. Kad barības vielas izsīkst vai uzkrājas inhibējoši metabolīti, kultūra pāriet stacionārajā fāzē – šeit šūnu dalīšanās un bojāeja ir līdzsvarā, un kopējais biomasas pieaugums apstājas. Ilgstoši šajā posmā šūnas pakāpeniski nonāk nāves fāzē, kur dominē šūnu noārdīšanās.

Tāpēc *SCP* ražošanas stratēģijās cenšas izvairīties no stacionārās fāzes iestāšanās, piemēram, kontrolējot substrāta koncentrāciju ar piebarošanas (*fed-batch*) pieejām vai saglabājot optimālu C/N attiecību. Nepārtrauktajās fermentācijas kultūrās augšanas ātrumu regulē ar barotnes plūsmas ātrumu, ļaujot šūnām ilgstoši uzturēties eksponenciālajā stāvoklī, kas būtiski palielina produktivitāti un procesa efektivitāti.

**Putas un kontaminācijas kontrole.** Intensīvi aerējot un maisot, daudzas fermentācijas rada putas (īpaši, ja barotnē ir olbaltumvielas vai virsmaktīvas vielas). Pārmērīgas putas var izplūst no reaktora un veicināt zudumus, kā arī kontamināciju, tādēļ lieto pretslāpēšanas līdzekļus, putu slāpētājus, piemēram, silikona eļļas vai augu eļļas nelielās devās, un/vai mehāniski putu nosmēlētus reaktora augšdaļā. Bioreaktora iekšējām sienām, vārstiem un caurulēm jābūt konstruētām tā, lai minimizētu mikroorganismu piesaisti un biofilmu veidošanos, kā arī jānodrošina efektīva *CIP* (*clean-in-place*) sistēma mazgāšanai un dezinfekcijai starp cikliem.

**Procesa automatizācija.** Mūsdienu rūpnieciskās fermentācijas ir aprīkotas ar sensoriem un vadības sistēmām (temperatūrai, pH, izšķīdušā skābekļa līmenim, putu detektoram, svaram piebarošanai u. c.), kas ļauj reāllaikā uzturēt optimālus apstākļus. Piemēram, *DO* (izšķīdušā skābekļa) kritums zem noteikta līmeņa var automātiski palielināt maisītāja apgriezienus vai gaisa plūsmu. Šāda automatizācija palielina ražības un kvalitātes reproducējamību.

Kultivēšanas temperatūra mezofilajiem mikrobiem parasti ir 25–35 °C (raugiem, baktērijām), termofiliem mikrobiem var būt augstāka (50–60 °C, kas reizēm ir izdevīgi, jo mazina kontaminācijas risku). pH līmenis uzturams optimāls (piemēram, raugiem ap 4–5, baktērijām biežāk neitrāls 6,5–7,5). To regulē, automātiski pievienojot skābi vai sārmu.

Fermentācijas posma rezultāts ir liels daudzums mikroorganismu biomasas suspensijas veidā, kur biomasas koncentrācija var būt no dažiem g/L līdz vairākiem desmitiem g/L (sausnas). Piemēram, atkarībā no apstākļiem rauga fermentācijā var sasniegt 50 g sausnas/L, baktēriju kultūrās – 20–30 g/L, mikrosēņu kultūrās – 10–20 g/L. Kad substrāts izlietots vai sasniegts vēlamais ražas punkts, fermentāciju pārtrauc un kultūra virzās uz nākamo posmu.

## Biomasa apstrāde

Pēc fermentācijas pabeigšanas iegūtā mikroorganismu biomasa jāatdala no pārpalikušās šķidrās barotnes un jāpārveido stabilā, lietojamā produktā. Biomasa novākšana un apstrāde parasti ietver vairākus secīgus soļus atkarībā no tā, kāda veida mikroorganismi tiek audzēti. Ja galaprodukts paredzēts izmantošanai barībā vai pārtikā, fermentācijas beigās mikroorganismi parasti tiek nonāvēti (termiski vai ķīmiski), lai apturētu to metabolismu un novērstu jebkādu risku patērētājam. Piemēram, rauga suspensiju var pastērēt 65–80 °C temperatūrā noteiktu laiku vai īslaicīgi uzkarstēt līdz 121 °C. Tas nodrošina, ka produktā nav dzīvu šūnu un ir apturēta proteīnu un citu komponentu noārdīšanās.

Šūnu masas separācijai no barotnes parasti izmanto centrifugēšanu vai filtrēšanu. Izvēle atkarīga no mikroorganisma lieluma un īpašībām. Raugi (5–10 μm) un baktērijas (1–5 μm) veido smalku suspensiju un sedimentē ļoti lēni, tāpēc nepieciešami dekanteri, disku kausu centrifūgas vai filtrpreses ar smalkiem filtru audumiem. Nereti pievieno flokulantus, lai sīkas šūnas saķepinātu lielākos konglomerātos, kas vieglāk nogulsnējas. Mikroskopiskās aļģes, kas ir ļoti sīkas un gludas, ir īpaši grūti filtrēt, un to novākšanai gandrīz vienmēr izmanto energoietilpīgu centrifugēšanu. Pretstatā pavedienveida sēnes bieži aug kā makroskopiski pavedieni vai granulas (>0,5 mm), kuras var vienkāršāk atfiltrēt vai nosēdināt. Piemēram, *Fusarium* sēņu kultūru var izlaist caur sietu, atdalot micēlija gabaliņus no šķidrums. Atšķirīgie atdalīšanas paņēmieni ietekmē arī produkta struktūru. Atdalīto biomasu bieži skalo ar tīru ūdeni, lai atbrīvotos no pievienotās barotnes atliekām, kas var nevēlami ietekmēt produkta garšu vai stabilitāti. Skalošana var notikt statiskā maisītājā traukā vai tieši centrifūgas iekšienē.

Dažkārt ražoto *SCP* produktu vēlas iegūt nevis veselu šūnu veidā, bet kā izolētu proteīnu vai atbrīvotu no šūnu sienīņu atlikumiem. Tad šūnas mehāniski, ultraskaņas iedarbībā vai ķīmiski/enzimātiski sadrupina. Piemēram, ja no rauga vēlas iegūt tīru proteīna koncentrātu, šūnas vispirms jāsadala un tad proteīni jāatdala. Tomēr daudzos gadījumos *SCP* izmanto veselu šūnu veidā, tā nodrošinot arī šūnu sienīņu polisaharīdu un citu komponentu klātbūtni, kas var būt labvēlīgi, piemēram, kā prebiotiski dzīvnieku barībā.

Cilvēku uzturam paredzētajā *SCP* produktā nereti jāpazemina RNS/DNS saturs, lai izvairītos no urīnskābes veidošanās metabolismā. Klasiska metode ir karsēšana 60–65 °C temperatūrā viegli bāziskā vidē, kas aktivē šūnu endogēnās RNāzes un tās noārda. Alternatīvi var apstrādāt fermentatīvi. Dzīvnieku barībai paredzētajam *SCP* parasti šāds solis nav vajadzīgs, jo diēta ar augstāku nukleīnskābju daudzumu dzīvniekiem ir piemērotāka.

Lai *SCP* produktu stabilizētu ilgstošai uzglabāšanai un atvieglotu transportēšanu, biomasu parasti izžāvē līdz pulverim vai granulām

ar zemu mitruma saturu (<10 %). Populāri ir izsmidzināšanas žāvētāji (*spray dryers*), kuros biomasas suspensiju smalki izsmidzina karstā gaisa plūsmā un tā acumirkli izžūst sīkās pulverveida daļiņās, un rotācijas cilindru žāvētāji (*drum dryers*), kuros biomasa plānā kārtiņā nokļūst uz sakarsētiem cilindriem un nožūst, veidojot plēvīti, kas nokasāma kā milti. Izsmidzināšanas žāvētāji dod smalku, vienmērīgu pulveri un ir ātri, bet patērē daudz enerģijas; atvērto žāvētāju produkts var būt nedaudz graudaināks. Jūtīgiem produktiem alternatīva ir liofilizācija, taču tā ir ļoti dārga. Pēc žāvēšanas iegūto cieto produktu var samalt un izsijāt, lai iegūtu vienmērīga izmēra pulveri vai granulas. Šeit iegūst arī galaprodukta frakciju atbilstoši klienta prasībām, piemēram, 0,5–1 mm graudiņus barības piedevu maisījumu ražotājiem vai smalku pulveri piejaukšanai pārtikas produktos.

Gatavo *SCP* produktu fasē lielapjoma maisos vai mazākos konteineros, nodrošinot aizsardzību pret mitrumu un oksidēšanos. Jāuzglabā sausā, vēsā vietā, kas aizsargāta no kaitēkļiem.

Apstrādes posmā var rasties arī blakusprodukti, piemēram, atdalītais fermentācijas šķidrums (no kura var rekuperēt neizmantotās barības vielas vai to var izmantot biogāzes ražošanai) vai izlietotais šūnu sienīņu materiāls. Integrēta šo blakusplūsmu izmantošana uzlabo procesa aprites efektivitāti.

Katrā no tehnoloģijas posmiem ir optimizācijas iespējas un izaičinājumi: piemēram, priekšapstrādē – kā panākt maksimālu cukuru iznākumu ar minimālām izmaksām; fermentācijā – kā nodrošināt pietiekamu skābekļa padevi nesamazinot mikroorganismu augšanas ātrumu; biomasas žāvēšanā – kā saglabāt proteīna kvalitāti un bioloģisko vērtību, vienlaicīgi taupot enerģiju. Turpmākajās nodaļās aplūkotas procesu optimizācijas pieejas un mērogošanas jautājumi, kas palīdz risināt šos uzdevumus un uzlabot *SCP* ražošanas sistēmas veikspēju.

## 6.8. Procesu optimizācija

Pēc tam, kad *SCP* ražošanas procesam izveidots sākotnējais dizains, seko detalizētas optimizācijas aktivitātes, kuru mērķis ir uzlabot ražīgumu, produktu kvalitāti un samazināt izmaksas. Optimizācija aptver vairākas jomas.

**Fermentācijas parametru optimizācija.** Tiek meklēti mikroorganismu augšanai un proteīna sintēzei optimālie apstākļi: temperatūra, pH, *DO* līmenis, barības vielu koncentrācijas, padeves profili piebarotā (*fed-batch*) fermentācija procesā utt. Parasti šo uzdevumu veic, izmantojot statistiski plānotus eksperimentus un modelēšanu, piemēram, pilno vai daļējo faktoriālo eksperimentu un atbilžu virsmas metodi (*RSM*). Ar šo metožu palīdzību var noteikt gan atsevišķu faktoru

optimālās vērtības, gan arī faktoru mijiedarbības, piemēram, kā pH un temperatūra kopā ietekmē ražu. Šāda pieeja ir daudz efektīvāka par eksperimentiem, kuros maina vienu faktoru, jo ļauj ar relatīvi nelielu eksperimentu skaitu aptvert plašu parametru kopu.

**Bioprocresa vadības stratēģijas.** Papildus statistikai optimālo parametru noteikšanai tiek izstrādātas dinamiskas vadības stratēģijas, kas procesam reāllaikā pielāgo apstākļus, piemēram, izstrādā barības vielu padeves profilu piebarotā (*fed-batch*) fermentācijā – sākumā lēnāk, vēlāk straujāk, bet, tuvojoties fermentācijas beigām, atkal lēnāk, lai nepaliktu neizmantots substrāts. Tiek ieviesti kontroles algoritmi, kas uztur noteiktus parametrus. Adaptīva vadība ļauj mikroorganismus ilgāk noturēt optimālā augšanas režīmā. Mūsdienās izmanto arī automatizētus, ar sensoru datiem darbināmus vadības risinājumus, kas var prognozēt optimālo padeves ātrumu vai aerācijas intensitāti, balstoties reāllaika bioreaktora datus.

**Biomases un produkta kvalitātes uzlabošana.** Optimizācija attiecas ne tikai uz daudzumu, bet arī kvalitāti. Piemēram, var eksperimentāli mainīt barotnes C:N attiecību, lai panāktu augstāku proteīna saturu šūnās (pārāk liels oglekļa pārpalikums var veicināt ogļhidrātu uzkrāšanos šūnās proteīna vietā). Tāpat var optimizēt kultivēšanas ilgumu, jo dažkārt īsāks cikls dod mazāku ražu, bet augstāku proteīna īpatsvaru. Ja produkts ir paredzēts specifiskam lietojumam, optimizācijas kritērijos var ietvert arī, piemēram, aminoskābju profila atbilstību vai samazināt nevēlamu komponentu saturu ar atbilstošām procesu modifikācijām.

**Celmu ģenētiskā uzlabošana.** Paralēli procesu parametriem būtiski ir arī paši mikroorganismi. Mutāģenēze un selekcija vai mērķtiecīga metabolisma inženierija var radīt celmus, kas labāk piemēroti konkrētajam procesam. Piemēram, klasiskajā pieejā mikroorganismu kultūru apstaro ar UV vai apstrādā ar mutāģēniem, iegūstot miljoniem mutantu. Pēc tam izvēlas tos, kuri aug visātrāk uz konkrētā substrāta vai veido visvairāk proteīna. Celmu uzlabošana bieži iet roku rokā ar procesu optimizāciju. Jaunas mikroorganisma īpašības ļauj mainīt arī optimālos procesa parametrus.

**Enerģijas un resursu patēriņa optimizācija.** No ilgtspējas un izmaksu viedokļa ļoti svarīgi ir optimizēt arī palīgresursus. Tas ietver siltumenerģijas atgūšanu (piemēram, izmantot bioreaktora atdzesēšanas laikā iegūto siltumu priekšapstrādes sildīšanai), procesa atkritumplūsmu recirkulāciju (piemēram, attīrīt un atkārtoti izmantot procesā ūdeni, atgūt fermentācijas gāzēs esošo siltumu vai CO<sub>2</sub>), efektīvu iekārtu darbības režīmu. Šie optimizācijas aspekti bieži tiek balstīti tehniski ekonomiskās analīzes un *LCA* rezultātos. Identificējot dārgākos procesa posmus, tie tiek padziļināti optimizēti, meklējot alternatīvus risinājumus.

Procesu optimizācija *SCP* ražošanā ir nepārtraukts uzdevums – pat pēc ražotnes darbības uzsākšanas notiek nemitīga datu vākšana

un analīze, lai vēl vairāk uzlabotu procesu. Labi optimizēts process spēj sasniegt robežas, kas tuvinās mikroorganisma teorētiskajam potenciālam (piemēram, proteīna ražas tuvu maksimāli iespējamajai no substrāta) un vienlaikus darboties droši, prognozējami un ar zemām izmaksām. Optimālā gadījumā *SCP* ražošanas process nodrošina vairāk ar mazākiem resursiem.

## 6.9. Mērogošana

Mērogošana ir process, kurā tehnoloģija no laboratorijas vai pilotmēroga tiek pārceļta rūpnieciskā apjomā. Biotehnoloģijas mērogošana ir zināma ar savām grūtībām, jo parametri, kas lieliski strādā nelielā bioreaktorā, ne vienmēr tieši pārceļami simtos vai tūkstošos reižu lielākā tilpumā, tādēļ mērogošanas plānošana un testēšana ir kritisks posms *SCP* ražošanas attīstībā.

Mērogojot *SCP* procesu, jānodrošina, lai bioreaktora uzvedība pēc iespējas saglabātos līdzīga dažādos izmēros. Ģeometriskā līdzība palīdz uzturēt vienādus trauka proporciju un maisītāju attiecību parametrus, taču pat ideālos gadījumos lielos tilpumos samazinās relatīvā siltuma apmaiņas virsma, kas apgrūtina dzesēšanu. Dinamiskā līdzība nozīmē līdzīgu plūsmas režīmu un skābekļa pārnesi ( $kLa$ ) [376], tomēr praksē jāizvēlas kompromisi, jo aerobās fermentācijās bieži prioritāte ir tieši skābekļa padeve un mērogojot nepieciešami jaudīgāki maisītāji un intensīvāka aerācija. Lielākos reaktoros pieaug maisīšanas laiks un veidojas barības vielu un skābekļa gradienti, tāpēc izmanto vairākus maisītājus, papildu gaisa ievades punktus vai cirkulācijas caurules, lai uzturētu pietiekamu homogenitāti.

Pārejot no maziem tilpumiem uz desmitiem vai simtiem kubikmetru, arvien sarežģītāka kļūst sterilitātes nodrošināšana, tāpēc rūpniecībā izmanto *SIP/CIP* sistēmas, ilgstošu tvaicēšanu un automatizētus higiēnas protokolus. Neskatoties uz to, pilna sterilitāte nav garantējama, un bieži fermentācijas ciklu pārtrauc agrāk, nekā to paredz teorētiskais process, lai ierobežotu kontamināciju. Mērogošanā izmanto inženiertehniskos kritērijus, piemēram, jaudas ievadi uz tilpumu ( $P/V$ ) vai vienādu  $kLa$ . Pilotmēroga eksperimenti kalpo kā starpposms, kur pārbauda, vai laboratorijas rezultātus iespējams atkārtot lielākā mērogā. Dažreiz mērogošana prasa pašas procesa stratēģijas izmaiņas, piemēram, intensīvas mehāniskās maisīšanas aizstāšanu ar cita tipa bioreaktoru, kas labāk piemērots ļoti lieliem tilpumiem un samazina bīdes sprieguma radītās problēmas. Šādā veidā procesi tiek pielāgoti tā, lai tie būtu tehniski īstenojami un ekonomiski dzīvotspējīgi arī rūpnieciskā mērogā.

Veiksmīga mērogošana balstās rūpīgā plānošanā, eksperimentālā validācijā un inženiertehniskos pielāgojumos. Jau agrīnā

attīstības posmā ir ieteicams identificēt parametrus, kurus var būt grūti mērogot, un censties optimizēt procesu tā, lai izvairītos no režīmiem, kurus rūpniecībā nebūs iespējams nodrošināt. Piemēram, ja laboratorijā optimāli rezultāti iegūstami tikai ļoti augstā maisīšanas ātrumā, varbūt jāizvērtē citi risinājumi. Mērogošanas posmā ļoti svarīga ir arī starpdisciplināra sadarbība un kompetence, kas saistīta ar biotehnoloģijām. Ir vajadzīgi biotehnologi, kas pārzina mikroorganismu uzvedību, un iekārtu inženieri, kas prot projektēt lielas sistēmas, kopā rodot vislabāko kompromisu. Ar pilotprojektiem un demonstrācijas iekārtām iespējams pakāpeniski atrisināt mērogošanas izaicinājumus un nodrošināt, ka rūpnieciskās ražošanas efektivitāte neatpaliek no laboratorijas. Tieši saglabāt un iespēju robežās uzlabot veikspēju ir galvenais mērogošanas mērķis.

## 6.10. Risku pārvaldība

Jebkura jauna tehnoloģija un ražošanas process ir pakļauti dažāda veida riskiem. Risku pārvaldības mērķis ir proaktīvi identificēt potenciālos apdraudējumus *SCP* projektā un īstenot pasākumus to novēršanai vai ietekmes mazināšanai. To veiksmīga pārvaldība prasa gan tehnisku, gan organizatorisku gatavību visos ražošanas posmos. Tehniskie riski galvenokārt saistīti ar fermentācijas procesa jutīgumu: kontaminācija var apturēt ražošanu, iekārtu atteice var radīt dīkstāvi, bet substrātu sastāva svārstības – izraisīt nestabilu mikroorganismu metabolismu un nevēlamu blakusproduktu veidošanos. Šo risku mazināšanai nepieciešami stingri protokoli, rezerves aprīkojums, preventīva apkope un sistemātiska procesa analīze ar metodēm, kas ļauj iepriekš identificēt kritiskos mezglus un ieviest aizsargpasākumus. Drošības un vides riski izriet no tā, ka rūpnieciskā fermentācija ietver augstu spiedienu, temperatūru un mehāniskas sistēmas, tādēļ būtiski ir drošības vārsti, sensori un apmācīts personāls. *SCP* gadījumā īpaša nozīme ir produkta nekaitīgumam, tāpēc jāievieš kontrole, nodrošinot kritisko punktu uzraudzību, piemēram, sterilizācijas parametru vai potenciālo piesārņotāju monitoringu. Vides risku vadība paredz efektīvu notekūdeņu attīrīšanu, emisiju uzraudzību un avārijas plānus gadījumiem, kad notiek ķīmiskāliju noplūde vai sistēmas atteice.

Finansiālie un tirgus riski izriet no tā, ka *SCP* projekti ir ļoti jutīgi pret izejvielu izmaksām, energoresursu cenām un tirgus izmaiņām. Ja substrāts kļūst dārgāks vai parādās lētāki alternatīvie proteīna avoti, procesa rentabilitāte var strauji krist. Lai mazinātu šo ietekmi, uzņēmumi bieži veido ilgtermiņa piegāžu līgumus, diversificē izejvielu bāzi, izstrādā elastīgus cenu modeļus un seko tirgus tendencēm. Palīdz arī apdrošināšana un finanšu riska instrumenti, kas nodrošina stabilitāti

ārējo svārstību laikā. Regulatīvie riski var būt izšķiroši, jo *SCP* izmantošanai pārtikā ir strikts normatīvais regulējums, piemēram, ES Jaunās pārtikas procedūra. Dokumentācijas trūkumi vai normatīvu izmaiņas var aizkavēt produktu ieviešanu tirgū un radīt būtiskas izmaksas. Svarīga ir arī skaidra, zinātniski pamatota komunikācija ar sabiedrību, *SCP* priekšrocību uzsvēršana un caurskatāma pieeja visos ražošanas un lēmumu pieņemšanas posmos.

Efektīva risku pārvaldība nozīmē, ka uzņēmums ne tikai reaģē uz problēmām, kad tās rodas, bet jau iepriekš plāno potenciālos scenārijus. *SCP* projektiem ieteicams izveidot risku reģistru, kur uzskaitīti visi identificētie riski, to iespējamība un ietekme, kā arī atbildīgās personas un pasākumi šo risku kontrolei. Šis reģistrs regulāri jāatjaunina, novērtējot jaunus riskus vai izmaiņas esošajos. Laba risku pārvaldības prakse palīdz projektam saglabāt stabilitāti un noturēt kursu uz mērķiem pat mainīgos apstākļos.

## 6.11. Tehniski ekonomiskā analīze

Lai novērtētu, vai izstrādātais *SCP* ražošanas process ir ekonomiski dzīvotspējīgs, tiek veikta tehniski ekonomiskā analīze (TEA). TEA ir sistemātiska metode, kas apvieno inženiertehniskos datus ar finanšu aprēķiniem, lai aprēķinātu projekta izmaksas, potenciālos ieņēmumus un finanšu rādītājus. TEA atbild uz jautājumu, vai konkrētā ražošanas procesa ieviešana ir finansiāli pamatota, un identificē galvenos izmaksu virzītājus un jutīgos parametrus.

TEA *SCP* ražošanā sākas ar procesa modelēšanu, kur, balstoties laboratorijas datus un pilotdatus, sastāda masas un enerģijas bilances. Tās ļauj noteikt izejvielu un enerģijas patēriņu, kā arī paredzēt gada produkcijas apjomu, kas kļūst par pamatu izmaksu aprēķiniem. Tālāk novērtē kapitālieguldījumus (*CAPEX*), identificējot nepieciešamās iekārtas un to izmaksas, kam pieskaita uzstādīšanu, cauruļvadus, būvdarbus un projektēšanu. Bioprocesos kopējās investīcijas parasti ir vairākas reizes lielākas par pašu iekārtu cenu. Šajā solī arī aprēķina, cik ātri investīcijas varētu atmaksāties, piemēram, ar *IRR* vai atdeves periodu.

Ekspluatācijas izmaksu (*OPEX*) aprēķins ietver izejvielas, enerģiju, darbaspēku, uzturēšanu, atkritumu apstrādi un loģistiku, ko parasti izsaka uz saražoto produkta kilogramu. Kombinējot *OPEX* ar amortizētām *CAPEX* daļām, nosaka produkta pašizmaksu un salīdzina to ar tirgus cenām. Ja pašizmaksa pārsniedz konkurentu cenas, nepieciešama optimizācija vai līdzproduktu valorizācija. Pēc tam TEA veic jutīguma un scenāriju analīzi, novērtējot, kā kritisku parametru (substrāta izmaksas, enerģijas cenas, ražība) izmaiņas ietekmē rentabilitāti un kādos apstākļos projekts kļūst dzīvotspējīgs.

TEA rezultātus parasti apkopo atskaitē ar galvenajiem rādītājiem: kopējais investīciju apjoms, produkta pašizmaksa, paredzamais peļņas līmenis (vai produkta vienības izmaksas salīdzinot ar tirgus cenu), atmaksāšanās periods utt. Piemēram, TEA var secināt, ka, lai izveidotu SCP rūpnīcu, kas saražo 10 000 t/gadā, nepieciešami 50 milj. EUR kapitālieguldījumi, produkta pašizmaksa būtu 1,5 EUR/kg, un, ja pārdošanas cena būtu 2 EUR/kg, investīcijas atmaksātos astoņu gadu laikā. Šādi skaitļi dod pamatotas norādes investoriem un lēmumu pieņēmējiem. Protams, TEA precizitāte ir atkarīga no pieņēmumiem; tāpēc to vēlams regulāri atjaunināt, kad parādās jauni dati.

Gala rezultāti apkopoti atskaitē ar investīciju apjomu, pašizmaksu, peļņas potenciālu un atmaksāšanās laiku, sniedzot pamatu investoru lēmumiem. TEA nav tikai spriedums, bet tā ir arī optimizācijas metode, kas palīdz identificēt dārgākos procesa posmus un salīdzināt alternatīvas, īpaši tad, ja tiek apvienota ar vides ietekmes novērtējumu.

## 6.12. Dzīves cikla analīze

Līdztekus ekonomiskajai izvērtēšanai, būtiski ir analizēt SCP ražošanas vides ietekmi visā tās dzīves ciklā. Dzīves cikla analīze (LCA) ir standartizēta metodoloģija, kas kvantificē produkta vai procesa ietekmi uz vidi, sākot no izejvielu ieguves līdz pat produkta lietošanas vai likvidācijas beigu posmam. LCA ietver četrus galvenos soļus:

- mērķa un darbības jomas definēšanu – tiek noteikts, ko tieši analizē un kādās robežās (piemēram, no šūpuļa līdz vārtiem (*cradle-to-gate*), aptverot visu ražošanu līdz rūpnīcas vārtiem, vai no šūpuļa līdz kapam (*cradle-to-grave*), iekļaujot arī produkta izmantošanu un likvidēšanu);
- dzīves cikla inventarizāciju (LCI) – apkopota attiecīgās funkcionālās vienības visu ievaddatu un izvaddatu inventarizācija. Tas nozīmē datu vākšanu par resursu izmantošanu un emisijām katrā procesa posmā;
- dzīves cikla ietekmes novērtējumu (LCIA) – inventarizācijas dati pārtop vides ietekmēs, tos sasaistot ar konkrētām ietekmes kategorijām un aprēķinot katras kategorijas kopējo rezultātu;
- rezultātu interpretāciju – izvērtē, kuras procesa daļas visvairāk ietekmē vidi un kādus uzlabojumus var veikt.

SCP ražošanas LCA parāda, ka šī tehnoloģija var būt vides ziņā daudz ilgtspējīgāka par tradicionālajiem proteīna avotiem, īpaši zemes un ūdens izmantošanas ziņā, jo fermentācijai nav vajadzīgas lauksaimniecības platības un liela apūdeņošana. Siltumnīcefekta

gāzu emisijas galvenokārt nosaka izmantotā enerģija: ja procesa apamtā ir fosilā enerģija, oglekļa pēda var būt augsta, taču, integrējot atjaunīgos energoresursus un kā substrātus izmantojot blakusproduktus vai atkritumus, *SCP* emisijas kļūst zemākas nekā sojai un daudz zemākas nekā liellopu gaļai. Arī citās kategorijās – eitrofikācijā, acidifikācijā un ekotoksicitātē – *SCP* potenciāli var būt labāks par lauksaimniecības proteīniem, ja tiek nodrošināta efektīva notekūdeņu attīrīšana un ķīmikāliju aprites kontrole, vienlaikus mazinot atkritumu slodzi, pārvirzot organiskās plūsmas no poligoniem uz vērtīgu produktu ražošanu. Veicot *LCA*, ļoti svarīga ir funkcionālās vienības izvēle un salīdzināmība. Proteīna produktus var salīdzināt pēc masas, bet vēl precīzāk būtu salīdzināt pēc uzturvērtības. *SCP* produkta uztura kvalitātes iekļaušana salīdzinājumos ir būtisks uzdevums nākotnē, lai objektīvi salīdzinātu vides efektus ar tradicionālajiem proteīniem. Piemēram, ja *SCP* satur pilnvērtīgāku aminoskābju profilu nekā soja, tad pat ar vienādām CO<sub>2</sub> emisijām uz kilogramu produkta tas var dot lielāku vērtību.

*LCA* kopā ar *TEA* sniedz kopēju novērtējumu par *SCP* ražošanu. Ideālais scenārijs ir vides un ekonomisko ieguvumu sinerģija – kad process ne tikai spēj gūt peļņu, bet arī ievērojami mazina ietekmi uz vidi salīdzinājumā ar tradicionālajām alternatīvām. *SCP* ražošana tiecas būt tieši šāds risinājums: slēdzot resursu ciklus, izmantojot atjaunīgo enerģiju un samazinot atkarību no ierobežotiem resursiem, tā potenciāli var nodrošināt sabiedrību ar proteīnu avotu, kas vienlaikus ir ekonomiski dzīvotspējīgs un videi draudzīgs.

## 6.13. Tiesiskie aspekti

*SCP* ražošanas un laišanas tirgū juridiskie aspekti aptver pārtikas un barības drošumu, atļauju procedūras, standartus un marķējuma prasības. Tā kā *SCP* produktus var izmantot gan dzīvnieku barībā, gan cilvēku pārtikā, attiecīgais regulējums nedaudz atšķiras, taču pamatprincipi ir līdzīgi – jānodrošina, ka produkts ir drošs patēriņam, kvalitatīvs un izsekojams visā piegādes ķēdē.

Eiropas Savienībā *SCP* ražošanu un laišanu tirgū regulē virkne savstarpēji saistītu tiesību aktu, kas nosaka gan produkta drošumu, gan ražošanas higiēnu, gan marķēšanas prasības. Vispārīgā pārtikas un barības regula (EK) Nr. 178/2002 kalpo kā pamata ietvars, nosakot pienākumu tirgū laist tikai drošus produktus un nodrošināt izsekojamību visā ķēdē, kas *SCP* gadījumā nozīmē rūpīgu substrātu, ražošanas un galaprodukta kontroli. Dzīvnieku barības regulējums (EK) Nr. 767/2009 un higiēnas regula (EK) Nr. 183/2005 nosaka prasības, kurām jāatbilst *SCP*, ja tas paredzēts barībā: materiālam

jābūt drošam dzīvniekiem un cilvēkiem, ražotnei jābūt reģistrētai un kontrolētai, bet produkts jāmarķē pēc Kopienas barības materiālu kataloga. Ja *SCP* neatbilst nevienai esošajai kategorijai, ražotājam tas jāreģistrē kā jauns barības materiāls, sniedzot datus par sastāvu un drošumu.

Ja *SCP* paredzēts cilvēku uzturā, tas parasti tiek kvalificēts kā jauns pārtikas produkts (*Novel Food*) saskaņā ar Regulu (ES) 2015/2283, un tā laišanai tirgū nepieciešams *EFSA* drošuma izvērtējums. Tas nozīmē pilnīgu dokumentāciju par toksikoloģiju, alergēniem, uzturvērtību un ražošanas procesu. Dažiem raugiem, piemēram, *Yarrowia lipolytica*, jau ir izsniegti šādi apstiprinājumi, demonstrējot, ka *SCP* var nonākt pārtikas tirgū, ja tiek pierādīta tā drošība. Izvēlētā mikroorganisma statuss *EFSA QPS* sarakstā būtiski atvieglo šo procesu. *QPS* sugas tiek uzskatītas par drošākām, un tām nepieciešams mazāks datu daudzums nekā jaunām vai mazpētītām sugām.

Ja *SCP* ražošanā izmanto ģenētiski modificētus mikroorganismus, stājas spēkā ĢMO regula (EK) Nr. 1829/2003, kas paredz atļauju, drošuma izvērtējumu un speciālu marķējumu, ja galaproduktā saglabājas modificētās sugas ģenētiskais materiāls vai proteīni. Vienlaikus ražotnei jānodrošina slēgta sistēma un jāsaņem atļaujas no vides iestādēm, lai novērstu ĢMO nonākšanu vidē.

Substrātu izvēle arī ir pakļauta tiesiskajam regulējumam. Ja izmantotā izejviela ir klasificēta kā atkritums, to drīkst pārstrādāt tikai atbilstoši atkritumu apsaimniekošanu regulējošajiem tiesību aktiem, savukārt augu un pārtikas rūpniecības blakusproduktus bieži drīkst izmantot barībā, ja tie atbilst drošuma kritērijiem (piemēram, nepārsniedz mikotoksīnu vai smago metālu robežas). Dzīvnieku izcelsmes blakusproduktiem ir stingrāki ierobežojumi, un tos nevar tieši izmantot *SCP* ražošanā bez īpašas apstrādes.

Alternatīvo proteīnu stratēģijas un investīciju atbalsta programmas (piemēram, ES pētniecības projekti) liecina par regulatoru interesi veicināt šīs tehnoloģijas, vienlaikus stingri ievērojot drošuma principu. Uzņēmējiem, kas vēlas laist tirgū *SCP* produktus, jābūt gataviem sadarboties ar regulējošām iestādēm, nodrošinot caurspīdīgumu un zinātniski pamatotus datus par savu produktu. Laikus un atbilstoši iegūtas atļaujas ir būtiskas projekta īstenošanai.

## 6.14. Politikas ieteikumi un ieviešanas scenāriji

Lai laboratorijā testēta *SCP* tehnoloģija tiktu plaši ieviesta un sniegtu maksimālu ieguvumu sabiedrībai un videi, nepieciešams mērķtiecīgs un koordinēts politikas atbalsts. Šāds ietvars balstās vairākos pamata virzienos.

- Pirmkārt, būtiski ir turpināt ieguldījumus pētniecībā un attīstībā, jo tas ļauj pilnveidot otrās paaudzes substrātu

izmantošanu, optimizēt fermentācijas procesus un uzlabot mikroorganismu selekciju, kas savukārt samazina izmaksas un palielina konkurētspēju.

- Politikas līmenī nozīmīgi ir arī pilotprojekti un infrastruktūras veidošana – bioekonomikas centri un koplietojamas iekārtas ļauj uzņēmumiem iegūt reālu pieredzi pusrūpnieciskā mērogā un mazināt riskus, kas citādi attur investorus.
- Finansiālie stimuli, piemēram, nodokļu atvieglojumi, subsīdijas vai inovāciju atbalsta finansējums, var palīdzēt agrīnajiem tirgus dalībniekiem pārvarēt izmaksu barjeras un sasniegt sākotnējo tirgus mērogu, kas nepieciešams *SCP* tehnoloģijas nostiprināšanai pārtikas un barības nozarē.

Vienlaikus nepieciešama arī skaidra un efektīva normatīvā vide, kas saglabā augstus drošuma standartus, bet nepārtraukti uzlabo procesu caurskatāmību un pārredzamību. Tas var ietvert detalizētākas vadlīnijas jauno pārtikas produktu apstiprināšanai, kā arī barības materiālu kataloga papildināšanu ar mūsdienu *SCP* veidiem, atvieglojot to ieviešanu tirgū. *SCP* jāpiesaista arī lielākām stratēģijām. Tās, piemēram, ir pārtikas drošības, bioekonomikas un klimata politikas dokumenti, kur šī tehnoloģija var palīdzēt sasniegt mērķus vietējo proteīna resursu nodrošinājumam un zemākam importam. Šo pasākumu iedarbību pastiprina starpnozaru sadarbība, apvienojot zinātniekus, uzņēmējus un politikas veidotājus kopīgos projektos, kur tiek izmantoti reģionālie resursi, piemēram, CO<sub>2</sub> plūsmas, melase vai graudu pārstrādes atlikumi.

Ilgspējīgas *SCP* ieviešanas neatņemama sastāvdaļa ir sabiedrības informēšana. Patērētāji un lauksaimnieki jāiepazīstina ar *SCP* priekšrocībām, kas ir stabila cena, vietējā izcelsme un zemāka vides noslodze. Tad jādemonstrē, ka tas ir dabisks fermentācijas produkts. Šī informācija palīdz mazināt neuzticību un veicina tirgus pieprasījumu. Ar šādu politikas atbalstu iespējami vairāki attīstības scenāriji. Optimistiskajos scenārijos redzams, kā Latvijā un Eiropā veidojas rūpnieciski *SCP* klasteri, kas spēj aizstāt ievērojamu daļu importētās proteīna barības, palielinot ekonomisko noturību un samazinot slogu videi. Protams, reālā attīstība varētu būt vidusceļš starp dažādiem scenārijiem, tomēr skaidrs, ka politikas lēmumiem ir būtiska loma. Tie var paātrināt inovācijas ciklu un tirgus ieviešanu. Ar pārdomātu atbalstu *SCP* ražošana varētu kļūt par nozīmīgu Latvijas bioekonomikas daļu, nodrošinot ilgtspējīgu proteīna avotu, veicinot aprites ekonomiku un radot jaunas darba vietas zaļajā sektorā.

Ieviešot šajā ceļvedī aprakstītos tehnoloģiskos, metodoloģiskos un politiskos risinājumus, vīzija par aprites bioekonomiku, kur atkritumi pārtop augstvērtīgā *SCP*, var kļūt par realitāti tuvākajā laikā.

## Izmantotā literatūra

- [1] K. Spalvins and D. Blumberga, 'Production of Fish Feed and Fish Oil from Waste Biomass Using Microorganisms: Overview of Methods Analyzing Resource Availability', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 22, no. 1, pp. 149–164, Dec. 2018, doi: 10.2478/rtuect-2018-0010.
- [2] H. Ritchie, 'The world now produces more seafood from fish farms than wild catch'. [Online]. Available: <https://ourworldindata.org/rise-of-aquaculture>
- [3] B. D. Glencross, D. Huyben, and J. W. Schrama, 'The Application of Single-Cell Ingredients in Aquaculture Feeds—A Review', *Fishes 2020, Vol. 5, Page 22*, vol. 5, no. 3, p. 22, Jul. 2020, doi: 10.3390/FISHES5030022.
- [4] 'FAO. Official website Food and Agricultural Organization of the United Nations. Aquaculture Feed and Fertilizer Resources Information System. Atlantic salmon -Nutritional requirements'. Accessed: Feb. 06, 2024. [Online]. Available: <https://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/atlantic-salmon/nutritional-requirements/en/>
- [5] A. G. J. Tacon, 'The nutrition and feeding of farmed fish and shrimp; a training manual. 1: The essential nutrients', OOD and Agriculture Organization of the United Nations, Jun. 1987. Accessed: Feb. 16, 2024. [Online]. Available: <https://www.fao.org/3/ab470e/AB470E02.htm#ch2.6.3>
- [6] M. S. Astorga-España, B. Rodríguez-Galdón, E. M. Rodríguez-Rodríguez, and C. Díaz-Romero, 'Amino acid content in seaweeds from the Magellan Straits (Chile)', *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 53, pp. 77–84, 2016, doi: 10.1016/j.jfca.2016.09.004.
- [7] S. Janbakhsh, S. S. P. Hosseini, and M. M. Shamsaie, 'Nutritional value and heavy metal content of fishmeal from the Southwest Caspian Sea', *Caspian J. Environ. Sci.*, vol. 16, no. 4, pp. 307–317, 2018, doi: 10.22124/CJES.2018.3200.
- [8] R. Jannathulla, O. Sravanthi, S. Moomeen, G. Gopikrishna, and J. S. Dayal, 'Microbial products in terms of isolates, whole-cell biomass, and live organisms as aquafeed ingredients: production, nutritional values, and market potential—a review', *Aquaculture International*, vol. 29, pp. 623–650, 2021, doi: 10.1007/s10499-021-00644-2.
- [9] *Towards Blue Transformation*. in The State of World Fisheries and Aquaculture., no. 2022. Rome: FAO, 2022. doi: <https://doi.org/10.4060/cc0461en>.
- [10] R. S. Cottrell, J. L. Blanchard, B. S. Halpern, M. Metian, and H. E. Froehlich, 'Global adoption of novel aquaculture feeds could substantially reduce forage fish demand by 2030', *Nature Food*, vol. 1, no. 5, pp. 301–308, 2020, doi: 10.1038/s43016-020-0078-x.
- [11] [www.indexmundi.com](http://www.indexmundi.com), 'Commodity price. Fishmeal.' [Online]. Available: <https://www.indexmundi.com/commodities/?commodity=fish-meal&months=240&currency=eur>
- [12] 'FAO. Official website Food and Agricultural Organization of the United Nations. Aquaculture Feed and Fertilizer Resources Information System. Rainbow trout - nutritional requirements'. Accessed: Feb. 28, 2024. [Online]. Available: <https://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/rainbow-trout/nutritional-requirements/en/>
- [13] R. Jannathulla, V. Rajaram, R. Kalanjiam, K. Ambasankar, M. Muralidhar, and J. S. Dayal, 'Fishmeal availability in the scenarios of climate change:

- Inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources', *Aquaculture Research*, vol. 50, no. 12, pp. 3493–3506, Dec. 2019, doi: 10.1111/ARE.14324.
- [14] L. Gasco *et al.*, 'Fishmeal Alternative Protein Sources for Aquaculture Feeds', in *Feeds for Aquaculture Sector. Current situation and alternatives sources.*, in SpringerBriefs in Molecular Science., Springer, Cham, 2018, pp. 1–28. Accessed: May 02, 2024. [Online]. Available: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-77941-6\\_1](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-77941-6_1)
- [15] B. C. Bratosin, S. Darjan, and D. C. Vodnar, 'Single cell protein: A potential substitute in human and animal nutrition', *Sustainability (Switzerland)*, vol. 13, no. 16, pp. 1–24, 2021, doi: 10.3390/su13169284.
- [16] M. Øverland, A. Karlsson, L. T. Mydland, O. H. Romarheim, and A. Skrede, 'Evaluation of *Candida utilis*, *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae* yeasts as protein sources in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*)', *Aquaculture*, vol. 402–403, pp. 1–7, 2013, doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.03.016.
- [17] S. W. Jones, A. Karpol, S. Friedman, B. T. Maru, and B. P. Tracy, 'Recent advances in single cell protein use as a feed ingredient in aquaculture', *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 61, no. Table 1, pp. 189–197, 2020, doi: 10.1016/j.copbio.2019.12.026.
- [18] R. C. Carranza-Méndez, M. L. Chávez-González, L. Sepúlveda-Torre, C. N. Aguilar, M. Govea-Salas, and R. Ramos-González, 'Production of single cell protein from orange peel residues by *Candida utilis*', *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 40, no. January, pp. 1–9, 2022, doi: 10.1016/j.bcab.2022.102298.
- [19] A.-F. M. El-Sayed, 'Nutrition and feeding', in *Tilapia Culture*, Elsevier, 2020, pp. 135–172. doi: 10.1016/B978-0-12-816509-6.00007-0.
- [20] M. García-Garibay, L. Gómez-Ruiz, A. E. Cruz-Guerrero, and E. Bárzana, 'Single Cell Protein: Yeasts and Bacteria', in *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*, Elsevier Inc., 2014, pp. 431–438. doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00310-4.
- [21] A. Singh and P. Mishra, 'Microbial production of single cell protein (SCP) and single cell oil (SCO)', *Elsevier*, vol. 33, no. C, pp. 301–316, 1995, doi: [https://doi.org/10.1016/S0079-6352\(06\)80051-2](https://doi.org/10.1016/S0079-6352(06)80051-2).
- [22] European Commission, 'MEMO - Indirect Land Use Change (ILUC)', Brussels, MEMO/12/787, 2012.
- [23] European Commission, '2050 long-term strategy'. Accessed: Dec. 19, 2023. [Online]. Available: [https://climate.ec.europa.eu/eu-action/climate-strategies-targets/2050-long-term-strategy\\_en](https://climate.ec.europa.eu/eu-action/climate-strategies-targets/2050-long-term-strategy_en)
- [24] A. Nyyssölä, A. Suhonen, A. Ritala, and K. M. Oksman-Caldentey, 'The role of single cell protein in cellular agriculture', *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 75, pp. 1–7, 2022, doi: 10.1016/j.copbio.2022.102686.
- [25] A. Vidakovic *et al.*, 'Growth performance, nutrient digestibility and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed graded levels of the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Wickerhamomyces anomalus*', *Aquaculture Nutrition*, vol. 26, no. 2, pp. 275–286, Apr. 2020, doi: 10.1111/ANU.12988.
- [26] J. O. Agboola, D. Lapeña, M. Øverland, M. Ø. Arntzen, L. T. Mydland, and J. Ø. Hansen, 'Yeast as a novel protein source - Effect of species and autolysis on protein and amino acid digestibility in Atlantic salmon (*Salmo salar*)', *Aquaculture*, vol. 546, p. 737312, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.AQUACULTURE.2021.737312.

- [27] D. Huyben *et al.*, 'Effects of dietary inclusion of the yeasts *Saccharomyces cerevisiae* and *Wickerhamomyces anomalus* on gut microbiota of rainbow trout', *Aquaculture*, vol. 473, no. 2016, pp. 528–537, 2017, doi: 10.1016/j.aquaculture.2017.03.024.
- [28] A. Zamani, M. Khajavi, M. H. Nazarpak, and E. Gisbert, 'Evaluation of a Bacterial Single-Cell Protein in Compound Diets for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry as an Alternative Protein Source', *Animals* 2020, Vol. 10, Page 1676, vol. 10, no. 9, p. 1676, Sep. 2020, doi: 10.3390/ANI10091676.
- [29] K. Hua and D. P. Bureau, 'Estimating changes in essential amino acid requirements of rainbow trout and Atlantic salmon as a function of body weight or diet composition using a novel factorial requirement model', *Aquaculture*, vol. 513, no. August, 2019, doi: 10.1016/j.aquaculture.2019.734440.
- [30] E. Blas and T. Gidenne, 'Digestion of sugars and starch.', in *Nutrition of the rabbit*, 3rd ed., C. De Blas and J. Wiseman, Eds., UK: CAB International, 2020, pp. 21–40. doi: 10.1079/9781789241273.0021.
- [31] Q. Liu, T. Yu, K. Campbell, J. Nielsen, and Y. Chen, 'Modular Pathway Rewiring of Yeast for Amino Acid Production', in *Methods in Enzymology*, vol. 608, Elsevier, 2018, pp. 417–439. doi: 10.1016/bs.mie.2018.06.009.
- [32] Q. Ma *et al.*, 'Systems metabolic engineering strategies for the production of amino acids', *Synthetic and Systems Biotechnology*, vol. 2, no. 2, pp. 87–96, Jun. 2017, doi: 10.1016/j.synbio.2017.07.003.
- [33] M. M. Mekonnen and A. Y. Hoekstra, 'Water footprint benchmarks for crop production: A first global assessment', *Ecological Indicators*, vol. 46, pp. 214–223, Nov. 2014, doi: 10.1016/j.ecolind.2014.06.013.
- [34] D. Tilman, 'Global environmental impacts of agricultural expansion: The need for sustainable and efficient practices', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 96, no. 11, pp. 5995–6000, May 1999, doi: 10.1073/pnas.96.11.5995.
- [35] S. J. Vermeulen, B. M. Campbell, and J. S. I. Ingram, 'Climate Change and Food Systems', *Annual Review of Environment and Resources*, vol. 37, no. Volume 37, 2012, pp. 195–222, Nov. 2012, doi: 10.1146/annurev-environ-020411-130608.
- [36] K. Spalvins, K. Ivanovs, and D. Blumberga, 'Single cell protein production from waste biomass: review of various agricultural by-products', p. 413.7Kb, 2018, doi: 10.15159/AR.18.129.
- [37] A. Ritala, S. T. Häkkinen, M. Toivari, and M. G. Wiebe, 'Single Cell Protein-State-of-the-Art, Industrial Landscape and Patents 2001-2016', *Front Microbiol*, vol. 8, p. 2009, 2017, doi: 10.3389/fmicb.2017.02009.
- [38] U. O. Ugalde & J. I. Castrillo, 'Applied mycology and biotechnology', vol. 2, 2002, p. 347. [Online]. Available: <https://www.sciencedirect.com/bookseries/applied-mycology-and-biotechnology/vol/2/suppl/C>
- [39] L. Zihare, K. Spalvins, and D. Blumberga, 'Multi criteria analysis for products derived from agro-industrial by-products', *Energy Procedia*, vol. 147, pp. 452–457, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.egypro.2018.07.045.
- [40] K. Spalvins, L. Zihare, and D. Blumberga, 'Single cell protein production from waste biomass: comparison of various industrial by-products', *Energy Procedia*, vol. 147, pp. 409–418, Aug. 2018, doi: 10.1016/j.egypro.2018.07.111.
- [41] Y. Gao, D. Li, and Y. Liu, 'Production of single cell protein from soy molasses using *Candida tropicalis*', *Ann Microbiol*, vol. 62, no. 3, pp. 1165–1172, Sep. 2012, doi: 10.1007/s13213-011-0356-9.

- [42] A. J. Kinney, 'Engineering Soybeans for Food and Health', pp. 18–22, 2003.
- [43] N. Kopsahelis, N. Agouridis, A. Bekatorou, and M. Kanellaki, 'Comparative study of spent grains and delignified spent grains as yeast supports for alcohol production from molasses', *Bioresour Technol*, vol. 98, no. 7, pp. 1440–1447, May 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.03.030.
- [44] T. Aggelopoulos, K. Katsieris, A. Bekatorou, A. Pandey, I. M. Banat, and A. A. Koutinas, 'Solid state fermentation of food waste mixtures for single cell protein, aroma volatiles and fat production', *Food Chemistry*, vol. 145, pp. 710–716, Feb. 2014, doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.105.
- [45] P. J. Anderson, K. E. McNeil, and K. Watson, 'Thermotolerant single cell protein production by *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*', *Journal of Industrial Microbiology*, vol. 3, no. 1, pp. 9–14, Feb. 1988, doi: 10.1007/BF01569436.
- [46] A. Bekatorou, C. Psarianos, and A. A. Koutinas, 'Production of Food Grade Yeasts', 2006.
- [47] A. E. Ghaly, N. S. Mahmoud, D. G. Rushton & F. Arab, 'Potential Environmental and Health Impacts of High Land Application of Cheese Whey', 2007, doi: 10.3844/ajabssp.2007.106.117.
- [48] J. S. S. Yadav, J. Bezawada, S. Elharche, S. Yan, R. D. Tyagi, and R. Y. Surampalli, 'Simultaneous single-cell protein production and COD removal with characterization of residual protein and intermediate metabolites during whey fermentation by *K. marxianus*', *Bioprocess Biosyst Eng*, vol. 37, no. 6, pp. 1017–1029, 2013, doi: 10.1007/s00449-013-1072-6.
- [49] J. S. S. Yadav, J. Bezawada, C. M. Ajila, S. Yan, R. D. Tyagi, and R. Y. Surampalli, 'Mixed culture of *Kluyveromyces marxianus* and *Candida krusei* for single-cell protein production and organic load removal from whey', *Bioresour Technol*, vol. 164, pp. 119–127, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2014.04.069.
- [50] V. B. Braio & C. R. Taveres, 'Effluent Generation by the dairy industry: preventive Attitudes and Opportunities', 2007, doi: 10.1590/S0104-66322007000400003.
- [51] J. K. Singh, R. L. Meshram & D. S. Ramteke, 'Production of Single cell protein and removal of "COD" from dairy waste water', 2011, Accessed: Sep. 04, 2025. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/230873700\\_Production\\_of\\_Single\\_cell\\_protein\\_and\\_removal\\_of\\_COD\\_from\\_dairy\\_waste\\_water](https://www.researchgate.net/publication/230873700_Production_of_Single_cell_protein_and_removal_of_COD_from_dairy_waste_water)
- [52] J. H. Kim and J. M. Lebeault, 'Protein production from whey using *Penicillium cyclopium*; growth parameters and cellular composition', *EUropean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 13, no. 3, pp. 151–154, Sep. 1981, doi: 10.1007/BF00703044.
- [53] A. Paraskevopoulou, I. Athanasiadis, M. Kanellaki, A. Bekatorou, G. Blekas, and V. Kiosseoglou, 'Functional properties of single cell protein produced by *kefir* microflora', *Food Research International*, vol. 36, no. 5, pp. 431–438, Jan. 2003, doi: 10.1016/S0963-9969(02)00176-X.
- [54] J. Baldensperger, J. Le Mer, L. Hannibal, and P. J. Quinto, 'Solid state fermentation of banana wastes', *Biotechnol Lett*, vol. 7, no. 10, pp. 743–748, Oct. 1985, doi: 10.1007/BF01032289.
- [55] M. Hashem, A. E.-L. Hesham, S. A. Alamri, and S. A. Alrumman, 'Production of single-cell protein from wasted date fruits by *Hanseniaspora uvarum* KKUY-0084 and *Zygosaccharomyces rouxii* KKUY-0157', *Ann Microbiol*, vol. 64, no. 4, pp. 1505–1511, Dec. 2014, doi: 10.1007/s13213-013-0793-8.

- [56] T. C. Bhalla and M. Joshi, 'Protein enrichment of apple pomace by co-culture of cellulolytic moulds and yeasts', *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 10, no. 1, pp. 116–117, Jan. 1994, doi: 10.1007/BF00357577.
- [57] V. Scerra, A. Caridi, F. Foti, and M. C. Sinatra, 'Influence of dairy *Penicillium spp.* on nutrient content of citrus fruit peel', *Animal Feed Science and Technology*, vol. 78, no. 1, pp. 169–176, Mar. 1999, doi: 10.1016/S0377-8401(98)00264-8.
- [58] A. De Gregorio, G. Mandalari, N. Arena, F. Nucita, M. M. Tripodo, and R. B. Lo Curto, 'SCP and crude pectinase production by slurry-state fermentation of lemon pulps', *Bioresource Technology*, vol. 83, no. 2, pp. 89–94, Jun. 2002, doi: 10.1016/S0960-8524(01)00209-7.
- [59] G. B. Calleja, M. Yaguchi, S. Levy-Rick, J. R. H. Seguin, C. Roy, and C. V. Lusena, 'Single-cell protein production from potato starch by the yeast *Schwanniomyces alluvius*', *Journal of Fermentation Technology*, vol. 64, no. 1, pp. 71–75, Jan. 1986, doi: 10.1016/0385-6380(86)90060-9.
- [60] M. R. D. Jr, R. R. Hiesch, and R. D. Klein, 'Secreted Amylolytic Enzymes from *Schwanniomyces Occidentalis*: Purification by Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC) and Preliminary Characterization', *Preparative Biochemistry*, Mar. 1988, doi: 10.1080/00327488808062514.
- [61] S. Konlani, J. P. Delgenes, R. Moletta, A. Traore, and A. Doh, 'Optimization of cell yield of *Candida krusei* SO1 and *Saccharomyces* sp. LK3G cultured in sorghum hydrolysate', *Bioresource Technology*, vol. 57, no. 3, pp. 275–281, Sep. 1996, doi: 10.1016/S0960-8524(96)00079-X.
- [62] R. H. Shipman, I. C. Kao, and L. T. Fan, 'Single-cell protein production by photosynthetic bacteria cultivation in agricultural by-products', *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 17, no. 11, pp. 1561–1570, 1975, doi: 10.1002/bit.260171102.
- [63] M. J. G. Valentino, L. S. Ganado & J. R. Undan, 'Single cell protein potential of endophytic fungi associated with bamboo using rice bran as substrate', *Adv. in Appl. Sci. Res.*, pp. 68–72, 2016.
- [64] T. S. Kahlon, 'Rice Bran: Production, Composition, Functionality and Food Applications, Physiological Benefits', ResearchGate. Accessed: Sep. 02, 2025. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/43284919\\_Rice\\_Bran\\_Production\\_Composition\\_Functionality\\_and\\_Food\\_Applications\\_Physiological\\_Benefits](https://www.researchgate.net/publication/43284919_Rice_Bran_Production_Composition_Functionality_and_Food_Applications_Physiological_Benefits)
- [65] R. Ravinder, L. V. Rao, and P. Ravindra, 'Studies on *Aspergillus oryzae* Mutants for the Production of Single Cell Proteins from Deoiled Rice Bran', 2003.
- [66] B. Liu, Y. Li, J. Song, L. Zhang, J. Dong, and Q. Yang, 'Production of single-cell protein with two-step fermentation for treatment of potato starch processing waste', *Cellulose*, vol. 21, no. 5, pp. 3637–3645, Oct. 2014, doi: 10.1007/s10570-014-0400-6.
- [67] B. Liu, J. Song, Y. Li, J. Niu, Z. Wang, and Q. Yang, 'Towards industrially feasible treatment of potato starch processing waste by mixed cultures', *Appl Biochem Biotechnol*, vol. 171, no. 4, pp. 1001–1010, Oct. 2013, doi: 10.1007/s12010-013-0401-1.
- [68] S. Chanda and S. Chakrabarti, 'Plant origin liquid waste: A resource for singlecell protein production by yeast', *Bioresource Technology*, vol. 57, no. 1, pp. 51–54, Jul. 1996, doi: 10.1016/0960-8524(96)00053-3.

- [69] N. W. Pirie, 'Leaf Protein: And Its By-products in Human and Animal Nutrition', Cambridge University Press & Assessment. Accessed: Sep. 05, 2025. [Online]. Available: <https://www.cambridge.org/universitypress/subjects/life-sciences/plant-science/leaf-protein-and-its-products-human-and-animal-nutrition-2nd-edition>
- [70] S. Choi and M.-H. Chung, 'A review on the relationship between aloe vera components and their biologic effects', *Seminars in Integrative Medicine*, vol. 1, no. 1, pp. 53–62, Mar. 2003, doi: 10.1016/S1543-1150(03)00005-X.
- [71] R. G. Nelson, 'Resource assessment and removal analysis for corn stover and wheat straw in the Eastern and Midwestern United States—rainfall and wind-induced soil erosion methodology', *Biomass and Bioenergy*, vol. 22, no. 5, pp. 349–363, May 2002, doi: 10.1016/S0961-9534(02)00006-5.
- [72] NL Agency, 'Rice straw and Wheat straw. Potential feedstocks for the Biobased Economy', 2013. Accessed: Feb. 21, 2018. [Online]. Available: <https://edepot.wur.nl/288866>
- [73] A. R. Ahmadi, H. Ghoorchian, R. Hajihosaini, and J. Khanifar, 'Determination of the amount of protein and amino acids extracted from the microbial protein (SCP) of lignocellulosic wastes', *Pak J Biol Sci*, vol. 13, no. 8, pp. 355–361, Apr. 2010, doi: 10.3923/pjbs.2010.355.361.
- [74] G. Zervas, K. Fegeros, K. Koysotolis, C. Goulas, and A. Mantzios, 'Soy hulls as a replacement for maize in lactating dairy ewe diets with or without dietary fat supplements', *Animal Feed Science and Technology*, vol. 76, no. 1, pp. 65–75, Dec. 1998, doi: 10.1016/S0377-8401(98)00209-0.
- [75] P. Wongputtisin, C. Khanongnuch, W. Kongbuntad, P. Niamsup, S. Lumyong, and P. K. Sarkar, 'Use of *Bacillus subtilis* isolates from Tua-nao towards nutritional improvement of soya bean hull for monogastric feed application', *Lett Appl Microbiol*, vol. 59, no. 3, pp. 328–333, Sep. 2014, doi: 10.1111/lam.12279.
- [76] G. Lettinga, A. F. M. van Velsen, S. W. Hobma, W. de Zeeuw, and A. Klapwijk, 'Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment', *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 22, no. 4, pp. 699–734, 1980, doi: 10.1002/bit.260220402.
- [77] B. Frostell, 'Anaerobic-Aerobic Biological Treatment of Starch Industry Waste Waters', *Starch - Stärke*, vol. 35, no. 6, pp. 185–189, 1983, doi: 10.1002/star.19830350602.
- [78] K. V. Rajeshwari, M. Balakrishnan, A. Kansal, K. Lata, and V. V. N. Kishore, 'State-of-the-art of anaerobic digestion technology for industrial wastewater treatment', *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 4, no. 2, pp. 135–156, Jun. 2000, doi: 10.1016/S1364-0321(99)00014-3.
- [79] E. Cibis, M. Krzywonos, and T. Miśkiewicz, 'Aerobic biodegradation of potato slops under moderate thermophilic conditions: Effect of pollution load', *Bioresource Technology*, vol. 97, no. 4, pp. 679–685, Mar. 2006, doi: 10.1016/j.biortech.2005.03.035.
- [80] M. Krzywonos, E. Cibis, M. Lasik, J. Nowak, and T. Miśkiewicz, 'Thermo- and mesophilic aerobic batch biodegradation of high-strength distillery wastewater (potato stillage) – Utilisation of main carbon sources', *Bioresource Technology*, vol. 100, no. 9, pp. 2507–2514, May 2009, doi: 10.1016/j.biortech.2008.12.008.

- [81] M. Lasik, J. Nowak, M. Krzywonos, and E. Cibis, 'Impact of batch, repeated-batch (with cell recycle and medium replacement) and continuous processes on the course and efficiency of aerobic thermophilic biodegradation of potato processing wastewater', *Bioresource Technology*, vol. 101, no. 10, pp. 3444–3451, May 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2009.12.096.
- [82] S. Suzuki, M. Fukuoka, S. Tada, M. Matsushita-Morita, R. Hattori, N. Kitamoto & K. I. Kusumoto, 'Production of Polygalacturonase by Recombinant *Aspergillus oryzae* in Solid-State Fermentation Using Potato Pulp', 2010, doi: 10.3136/fstr.16.517.
- [83] T. Y. Wang, Y. H. Wu, C. Y. Jiang, and Y. Liu, 'Solid state fermented potato pulp can be used as poultry feed', *Br Poult Sci*, vol. 51, no. 2, pp. 229–234, Apr. 2010, doi: 10.1080/00071661003781864.
- [84] F. Zadrzil and A. K. Puniya, 'Studies on the effect of particle size on solid-state fermentation of sugarcane bagasse into animal feed using white-rot fungi', *Bioresource Technology*, vol. 54, no. 1, pp. 85–87, Jan. 1995, doi: 10.1016/0960-8524(95)00119-0.
- [85] A. Pessoa, I. M. Mancilha, and S. Sato, 'Cultivation of *Candida tropicalis* in sugar cane hemicellulosic hydrolyzate for microbial protein production', *Journal of Biotechnology*, vol. 51, no. 1, pp. 83–88, Oct. 1996, doi: 10.1016/0168-1656(96)01572-6.
- [86] K. M. Ghanem, 'Single cell protein production from beet pulp by mixed culture', *Microbiologia*, vol. 8, no. 1, pp. 39–43, Apr. 1992.
- [87] R. C. Upadhyay and H. S. Sohi, 'Apple pomace - a good substrate for the cultivation of edible mushrooms', *Current Science*, vol. 57, no. 21, pp. 1189–1190, 1988.
- [88] R. H. Walter and R. M. Sherman, 'Fuel value of grape and apple processing wastes', *J. Agric. Food Chem.*, vol. 24, no. 6, pp. 1244–1245, Nov. 1976, doi: 10.1021/jf60208a044.
- [89] Food and Agricultural Organization of United Nations (FAO), 'FAOSTAT'. Accessed: Sep. 02, 2025. [Online]. Available: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- [90] M. L. Shuler *et al.*, 'Process for the aerobic conversion of poultry manure into high-protein feedstuff', *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 21, pp. 19–38, Jan. 1979, doi: 10.1002/bit.260210103.
- [91] V. Jaliasutram, S. Kataram, B. Gandu, and G. R. Anupoju, 'Single cell protein production from digested and undigested poultry litter by *Candida utilis*: optimization of process parameters using response surface methodology', *Clean Techn Environ Policy*, vol. 15, no. 2, pp. 265–273, Apr. 2013, doi: 10.1007/s10098-012-0504-3.
- [92] C. C. Mitchell and S. Tu, 'Long-Term Evaluation of Poultry Litter as a Source of Nitrogen for Cotton and Corn', *Agronomy Journal*, vol. 97, no. 2, pp. 399–407, 2005, doi: 10.2134/agronj2005.0399.
- [93] V. G. Stanley, C. Gray, M. Daley, W. F. Krueger, and A. E. Sefton, 'An Alternative to Antibiotic-Based Drugs in Feed for Enhancing Performance of Broilers Grown on *Eimeria* Spp.-Infected Litter', *Poultry Science*, vol. 83, no. 1, pp. 39–44, Jan. 2004, doi: 10.1093/ps/83.1.39.
- [94] F. Kargi, M. L. Shuler, R. Vashon, H. W. Seeley Jr., A. Henry, and R. E. Austic, 'Continuous aerobic conversion of poultry waste into single-cell protein using a single reactor: Kinetic analysis and determination of optimal conditions', *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 22, no. 8, pp. 1567–1600, 1980, doi: 10.1002/bit.260220805.

- [95] A. A. El-Deek, K. M. Ghonem, M. H. Saffa, M. A. Aser, M. A. Fahad & M. M. Osman, 'Producing Single Cell Protein from Poultry Manure and Evaluation for Broiler Chickens Diets', 2009, doi: 10.3923/ijps.2009.1062.1077.
- [96] L. C. Duarte, F. Carvalheiro, S. Lopes, I. Neves, and F. M. Gírio, 'Yeast Biomass Production in Brewery's Spent Grains Hemicellulosic Hydrolyzate', in *Biotechnology for Fuels and Chemicals*, W. S. Adney, J. D. McMillan, J. Mielenz, and K. T. Klasson, Eds., Totowa, NJ: Humana Press, 2008, pp. 637–647. doi: 10.1007/978-1-60327-526-2\_59.
- [97] S. I. Mussatto, G. Dragone, and I. C. Roberto, 'Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications', *Journal of Cereal Science*, vol. 43, no. 1, pp. 1–14, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.jcs.2005.06.001.
- [98] S. Revah-Moiseev and P. A. Carroad, 'Conversion of the enzymatic hydrolysate of shellfish waste chitin to single-cell protein', *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 23, pp. 1067–1078, May 1981, doi: 10.1002/bit.260230514.
- [99] A. F. Mauldin, A. J. Szabo, United States, and S. & A. Domingue, *Shrimp canning waste treatment study*. in Environmental protection technology series ;EPA-660/2-74-061. Washington, D.C.: Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, 1974. Accessed: Sep. 04, 2025. [Online]. Available: <https://catalog.hathitrust.org/Record/102893776>
- [100] R. A. Kreag and F. J. Smith, 'Seafood Solid Waste In Oregon : Disposal Or Recovery?', Accessed: Sep. 04, 2025. [Online]. Available: <https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/38381>
- [101] D. Hattis, A. E. Murray, and N. A. Ashford, 'Industrial Prospects For Chitin And Protein From Shellfish Wastes : A Report On The First Marine Industries Business Strategy Program Marine Industry Advisory Service', Accessed: Sep. 02, 2025. [Online]. Available: <https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/9621>
- [102] R. Rhishipal and R. Philip, 'Selection of marine yeasts for the generation of single cell protein from prawn-shell waste', *Bioresource Technology*, vol. 65, no. 3, pp. 255–256, Sep. 1998, doi: 10.1016/S0960-8524(97)00179-X.
- [103] K. Atalo and B. A. Gashe, 'Protease production by a thermophilic *Bacillus* species (P-001A) which degrades various kinds of fibrous proteins', *Biotechnol Lett*, vol. 15, no. 11, pp. 1151–1156, Nov. 1993, doi: 10.1007/BF00131207.
- [104] I. Berzina and K. Spalvins, 'Fungal Hydrolysis of Food Waste: Review of Used Substrates, Conditions, and Microorganisms', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 27, no. 1, pp. 639–653, Jan. 2023, doi: 10.2478/rtuect-2023-0047.
- [105] S. Kam, A. A. Kenari, and H. Younesi, 'Production of Single Cell Protein in Stickwater by *Lactobacillus acidophilus* and *Aspergillus niger*', *Journal of Aquatic Food Product Technology*, vol. 21, no. 5, pp. 403–417, Oct. 2012, doi: 10.1080/10498850.2011.605539.
- [106] L. Wang, Z. Wu, B. Zhao, W. Liu, and Y. Gao, 'Enhancing the adsorption of the proteins in the soy whey wastewater using foam separation column fitted with internal baffles', *Journal of Food Engineering*, vol. 119, no. 2, pp. 377–384, Nov. 2013, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.06.004.

- [107] P. W. S. Chiou, S. W. Chiu, and C. R. Chen, 'Value of *Aspergillus niger* fermentation product as a dietary ingredient for broiler chickens', *Animal Feed Science and Technology*, vol. 91, no. 3, pp. 171–182, Jun. 2001, doi: 10.1016/S0377-8401(01)00224-3.
- [108] A. Perosa & F. Zecchini, 'Methods and Reagents for Green Chemistry: An Introduction'. Accessed: Sep. 04, 2025. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/232238553\\_Methods\\_and\\_Reagents\\_For\\_Green\\_Chemistry](https://www.researchgate.net/publication/232238553_Methods_and_Reagents_For_Green_Chemistry)
- [109] P. Wongputtisin, C. Khanongnuch, P. Pongpiachan, and S. Lumyong, 'Antioxidant Activity Improvement of Soybean Meal by Microbial Fermentation', *Research Journal of Microbiology*, vol. 2, no. 7, pp. 577–583, doi: 10.17311/jm.2007.577.583.
- [110] J. Feng, X. Liu, Z. R. Xu, Y. P. Lu, and Y. Y. Liu, 'The effect of *Aspergillus oryzae* fermented soybean meal on growth performance, digestibility of dietary components and activities of intestinal enzymes in weaned piglets', *Animal Feed Science and Technology*, vol. 134, no. 3, pp. 295–303, Apr. 2007, doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.10.004.
- [111] A. L. Lehninger, *Biochemistry: the molecular basis of cell structure and function*. New York: Worth Publishers, 1975. Accessed: Sep. 04, 2025. [Online]. Available: [http://archive.org/details/biochemistrymole00lehn\\_0](http://archive.org/details/biochemistrymole00lehn_0)
- [112] P. Dalev, 'An enzyme-alkaline hydrolysis of feather keratin for obtaining a protein concentrate for fodder', *Biotechnol Lett*, vol. 12, no. 1, pp. 71–72, Jan. 1990, doi: 10.1007/BF01028496.
- [113] H. P. Baden and J. Kubilus, 'Fibrous proteins of bovine hoof', *J Invest Dermatol*, vol. 81, no. 3, pp. 220–224, Sep. 1983, doi: 10.1111/1523-1747.ep12518002.
- [114] E. B. Kurbanoglu and O. F. Algur, 'Single-cell protein production from ram horn hydrolysate by bacteria', *Bioresour Technol*, vol. 85, no. 2, pp. 125–129, Nov. 2002, doi: 10.1016/s0960-8524(02)00094-9.
- [115] A. E. Maczulak, *Pollution: Treating Environmental Toxins*. Facts on File, 2010.
- [116] D. Klemm, B. Heublein, H.-P. Fink, and A. Bohn, 'Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material', *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 44, no. 22, pp. 3358–3393, 2005, doi: 10.1002/anie.200460587.
- [117] S. O-Thong, C. Mamimin, P. Kongjan, and A. Reungsang, 'Two-stage fermentation process for bioenergy and biochemicals production from industrial and agricultural wastewater', in *Advances in Bioenergy*, vol. 5, Elsevier, 2020, pp. 249–308. doi: 10.1016/bs.aibe.2020.04.007.
- [118] N. Perez-Esteban *et al.*, 'Potential of anaerobic co-fermentation in wastewater treatments plants: A review', *Science of The Total Environment*, vol. 813, p. 152498, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.152498.
- [119] R. S. Vethathirri, E. Santillan, and S. Wuertz, 'Microbial community-based protein production from wastewater for animal feed applications', *Bioresource Technology*, vol. 341, p. 125723, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125723.
- [120] E. Agyeman-Duah, C. C. Okonkwo, and V. C. Ujor, 'Microbial removal of nutrients from anaerobic digestate: assessing product-coupled and non-product-coupled approaches', *Front. Microbiol.*, vol. 14, p. 1299402, Dec. 2023, doi: 10.3389/fmicb.2023.1299402.

- [121] K. C. Ivarson and H. Morita, 'Single-Cell Protein Production by the Acid-Tolerant Fungus *Scytalidium acidophilum* from Acid Hydrolysates of Waste Paper', *Appl Environ Microbiol*, vol. 43, no. 3, pp. 643–647, Mar. 1982, doi: 10.1128/aem.43.3.643-647.1982.
- [122] A. E. HUMPHREY, 'The Hydrolysis of Cellulosic Materials to Useful Products', in *Hydrolysis of Cellulose: Mechanisms of Enzymatic and Acid Catalysis*, vol. 181, in *Advances in Chemistry*, no. 181, vol. 181, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 1979, pp. 25–53. doi: 10.1021/ba-1979-0181.ch002.
- [123] D. Gold, 'Single-cell protein production from spent sulfite liquor utilizing cell-recycle and computer monitoring', *Biotechnology and Bioengineering*, Jan. 1981, doi: 10.1002/BIT.260230914.
- [124] J. P. Casey, *Pulp and paper : chemistry and chemical technology*. Interscience Publishers, 1952. Accessed: Sep. 08, 2025. [Online]. Available: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1971993809708964102>
- [125] E. J. Tomlinson, 'The production of single-cell protein from strong organic waste waters from the food and drink processing industries–I. Laboratory cultures', *Water Research*, vol. 10, no. 5, pp. 367–371, Jan. 1976, doi: 10.1016/0043-1354(76)90053-1.
- [126] K. Buchholz, J. Puls, B. Goedelmann, and H. H. Dietrichs, 'Hydrolysis of cellulosic wastes', *Process Biochem.; (United Kingdom)*, vol. 16:1, Jan. 1981, Accessed: Sep. 08, 2025. [Online]. Available: <https://www.osti.gov/etdeweb/biblio/5462039>
- [127] E. Eklund, A. Hatakka, A. Mustranta, and P. Nybergh, 'Acid hydrolysis of sunflower seed husks for production of single cell protein', *EUropean J. Appl Microbiol.*, vol. 2, no. 3, pp. 143–152, Sep. 1976, doi: 10.1007/BF00930874.
- [128] J. M. Boa and A. Leduy, 'Acidophilic fungus SCP from peat hydrolyzate', *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, vol. 60, no. 4, pp. 532–537, 1982, doi: 10.1002/cjce.5450600415.
- [129] L. Huang and B. E. Logan, 'Electricity generation and treatment of paper recycling wastewater using a microbial fuel cell', *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 80, no. 2, pp. 349–355, Aug. 2008, doi: 10.1007/s00253-008-1546-7.
- [130] N. Tojo, C. Fischer, 'Europe as a Recycling Society. EUROpean Recycling Policies in relation to the actual. EUROpean Topic Centre on Sustainable Consumption and Production', *The International Institute for Industrial Environmental Economics*, 2011.
- [131] P. Bajpai, *Recycling and Deinking of Recovered Paper*. Elsevier, 2014.
- [132] E. Sjoström, *Wood Chemistry: Fundamentals and Applications*. Gulf Professional Publishing, 1993.
- [133] M. B. Hocking, 'Vanillin: Synthetic Flavoring from Spent Sulfite Liquor', *J. Chem. Educ.*, vol. 74, no. 9, p. 1055, Sep. 1997, doi: 10.1021/ed074p1055.
- [134] B. Alriksson, A. Hörnberg, A. E. Gudnason, S. Knobloch, J. Arnason, and R. Johannsson, 'Fish feed from wood', *Cellulose Chemistry and Technology*, vol. 48, pp. 843–848, 2014.
- [135] C. J. Biermann, *Essentials of Pulping and Papermaking*. Academic Press, 1993.
- [136] J. Rodríguez, A. Ferraz, R. F. P. Nogueira, I. Ferrer, E. Esposito, and N. Durán, 'Lignin biodegradation by the ascomycete *Chrysonilia sitophila*', *Appl Biochem Biotechnol*, vol. 62, no. 2, pp. 233–242, Mar. 1997, doi: 10.1007/BF02787999.

- [137] D. Fengel and G. Wegener, *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter, 2011.
- [138] M. Akhtar, M. C. Attridge, G. C. Myers, and R. A. Blanchette, 'Biomechanical Pulping of Loblolly Pine Chips with Selected White-Rot Fungi', vol. 47, no. 1, pp. 36–40, Jan. 1993, doi: 10.1515/hfsg.1993.47.1.36.
- [139] I. D. Reid and M. G. Paice, 'Biological bleaching of kraft pulps by white-rot fungi and their enzymes', *FEMS Microbiol Rev*, vol. 13, no. 2–3, pp. 369–375, Mar. 1994, doi: 10.1111/j.1574-6976.1994.tb00056.x.
- [140] A. A. Agrawal and K. Konno, 'Latex: A Model for Understanding Mechanisms, Ecology, and Evolution of Plant Defense Against Herbivory', *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, vol. 40, no. Volume 40, 2009, pp. 311–331, Dec. 2009, doi: 10.1146/annurev.ecolsys.110308.120307.
- [141] A. F. Hill, *Economic Botany: A Textbook of Useful Plants and Plant Products*. McGraw-Hill, 1952.
- [142] N. Kornochalert, D. Kantachote, S. Chairapat, and S. Techkarnjanaruk, 'Use of Rhodopseudomonas palustris P1 stimulated growth by fermented pineapple extract to treat latex rubber sheet wastewater to obtain single cell protein', *Ann Microbiol*, vol. 64, no. 3, pp. 1021–1032, Sep. 2014, doi: 10.1007/s13213-013-0739-1.
- [143] D. Kantachote, N. Kornochalert, and S. Chairapat, 'The use of the purple non sulfur bacterium isolate P1 and fermented pineapple extract to treat latex rubber sheet wastewater for possible use as irrigation water', *AJMR*, vol. 4, no. 23, pp. 2604–2616, Dec. 2010, doi: 10.5897/AJMR.9000707.
- [144] D. Kantachote, S. Torpee, K. Umsakul, 'The potential use of anoxygenic phototrophic bacteria for treating latex rubber sheet wastewater', vol. 8, pp. 314–323, 2005, doi: DOI:10.2225/vol8-issue3-fulltext-8.
- [145] S. Chairapat and S. Sdoodee, 'Effects of wastewater recycling from natural rubber smoked sheet production on economic crops in southern Thailand', *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 51, no. 3, pp. 577–590, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.resconrec.2006.11.003.
- [146] F. Nakajima, N. Kamiko, and K. Yamamoto, 'Organic wastewater treatment without greenhouse gas emission by photosynthetic bacteria', *Water Science and Technology*, vol. 35, no. 8, pp. 285–291, Jan. 1997, doi: 10.1016/S0273-1223(97)00178-9.
- [147] R. J. Mehta, 'Studies on methanol-oxidizing bacteria', *Antonie van Leeuwenhoek*, vol. 39, no. 1, pp. 295–302, Dec. 1973, doi: 10.1007/BF02578861.
- [148] M. Bewersdorff and M. Dostálek, 'The use of methane for production of bacterial protein', *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 13, no. 1, pp. 49–62, 1971, doi: 10.1002/bit.260130104.
- [149] H. F. Schoyen, J. R. K. Frøyland, S. Sahlström, S. H. Knutsen, and A. Skrede, 'Effects of autolysis and hydrolysis of bacterial protein meal grown on natural gas on chemical characterization and amino acid digestibility', *Aquaculture*, vol. 248, no. 1, pp. 27–33, Jul. 2005, doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.04.017.
- [150] F. Yazdian, S. Hajizadeh, S. A. Shojaosadati, R. Khalilzadeh, M. Jahanshahi, and M. Nosrati, 'Production of single cell protein from natural gas: Parameter optimization and RNA evaluation', *Iranian Journal of Biotechnology*, vol. 3, no. 4, pp. 235–242, Oct. 2005.
- [151] Y. Tani, 'Methylotrophs for biotechnology; Methanol as a raw material for fermentation production', *Biotechnol Genet Engng.*, vol. 3, pp. 111–135, 1985.

- [152] EPA Publication, 'Inventory of U.S. Greenhouse Gas Emissions and Sinks: 1990-2009 | US EPA'. [Online]. Available: <https://www.epa.gov/ghgemissions/inventory-us-greenhouse-gas-emissions-and-sinks-1990-2009>
- [153] R. A. Alvarez, S. W. Pacala, J. J. Winebrake, W. L. Chameides, and S. P. Hamburg, 'Greater focus needed on methane leakage from natural gas infrastructure', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 109, no. 17, pp. 6435–6440, Apr. 2012, doi: 10.1073/pnas.1202407109.
- [154] D. T. Shindell, G. Faluvegi, D. M. Koch, G. A. Schmidt, N. Unger, and S. E. Bauer, 'Improved Attribution of Climate Forcing to Emissions', *Science*, vol. 326, no. 5953, pp. 716–718, Oct. 2009, doi: 10.1126/science.1174760.
- [155] J. Gangadwala, G. Radulescu, A. Kienle, F. Steyer, and K. Sundmacher, 'New processes for recovery of acetic acid from waste water', *Clean Techn Environ Policy*, vol. 10, no. 3, pp. 245–254, Aug. 2008, doi: 10.1007/s10098-007-0101-z.
- [156] K. D. Patil and B. D. Kulkarni, 'Review of Recovery Methods for Acetic Acid from Industrial Waste Streams by Reactive Distillation', *Journal of Water Pollution & Purification Research*, vol. 1, no. 2, pp. 13–18, Apr. 2019, doi: 10.37591/jowppr.v1i2.535.
- [157] I. L. Chien, K.-L. Zeng, H.-Y. Chao, and J. Hong Liu, 'Design and control of acetic acid dehydration system via heterogeneous azeotropic distillation', *Chemical Engineering Science*, vol. 59, no. 21, pp. 4547–4567, Nov. 2004, doi: 10.1016/j.ces.2004.06.041.
- [158] H. Demiral and M. Ercengiz Yildirim, 'Recovery of acetic acid from waste streams by extractive distillation', *Water Sci Technol*, vol. 47, no. 10, pp. 183–188, May 2003, doi: 10.2166/wst.2003.0570.
- [159] D. Dionisi, M. Majone, A. Bellani, C. C. Viggi, and M. Beccari, 'Role of biomass adaptation in the removal of formic acid in sequencing batch reactors', *Water Sci Technol*, vol. 58, no. 2, pp. 303–307, Aug. 2008, doi: 10.2166/wst.2008.385.
- [160] P. Dürre and B. J. Eikmanns, 'C1-carbon sources for chemical and fuel production by microbial gas fermentation', *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 35, pp. 63–72, Dec. 2015, doi: 10.1016/j.copbio.2015.03.008.
- [161] K. Schuchmann and V. Müller, 'Autotrophy at the thermodynamic limit of life: a model for energy conservation in acetogenic bacteria', *Nat Rev Microbiol*, vol. 12, no. 12, pp. 809–821, Dec. 2014, doi: 10.1038/nrmicro3365.
- [162] European Biodiesel Board, 'Statistics. The EU biodiesel industry'. [Online]. Available: <https://ebb-eu.org/>
- [163] S. United, 'Biodiesel – Just theBasics.' [Online]. Available: [https://www1.eere.energy.gov/vehiclesandfuels/pdfs/basics/jtb\\_biodiesel.pdf](https://www1.eere.energy.gov/vehiclesandfuels/pdfs/basics/jtb_biodiesel.pdf)
- [164] D. T. Johnson and K. A. Taconi, 'The glycerin glut: Options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production', *Environmental Progress*, vol. 26, no. 4, pp. 338–348, 2007, doi: 10.1002/ep.10225.
- [165] T. Ito, Y. Nakashimada, K. Senba, T. Matsui, and N. Nishio, 'Hydrogen and ethanol production from glycerol-containing wastes discharged after biodiesel manufacturing process', *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 100, no. 3, pp. 260–265, Sep. 2005, doi: 10.1263/jbb.100.260.

- [166] D. Hedtke, *Bailey's industrial oil & fat products*, vol. Volume 5: Industrial and consumer nonedible products from oils and fats. New York: Wiley, 1996. [Online]. Available: <https://www.scribd.com/doc/91802406/Bailey-s-Industrial-Oil-and-Fat-Products>
- [167] S. Santala *et al.*, 'Improved Triacylglycerol Production in *Acinetobacter baylyi* ADP1 by Metabolic Engineering', *Microb Cell Fact*, vol. 10, no. 1, p. 36, May 2011, doi: 10.1186/1475-2859-10-36.
- [168] K. P. Patil and P. R. Gogate, 'Improved synthesis of docosahexaenoic acid (DHA) using *Schizochytrium limacinum* SR21 and sustainable media', *Chemical Engineering Journal*, vol. 268, pp. 187–196, May 2015, doi: 10.1016/j.cej.2015.01.050.
- [169] S. Papanikolaou and G. Aggelis, 'Lipid production by *Yarrowia lipolytica* growing on industrial glycerol in a single-stage continuous culture', *Bioresource Technology*, vol. 82, no. 1, pp. 43–49, Mar. 2002, doi: 10.1016/S0960-8524(01)00149-3.
- [170] S. Papanikolaou and G. Aggelis, 'Modeling Lipid Accumulation and Degradation in *Yarrowia lipolytica* Cultivated on Industrial Fats', *Curr Microbiol*, vol. 46, no. 6, pp. 0398–0402, Jun. 2003, doi: 10.1007/s00284-002-3907-2.
- [171] P. A. E. P. Meesters, G. N. M. Huijberts, and G. Eggink, 'High cell density cultivation of the lipid accumulating yeast *Cryptococcus curvatus* using glycerol as a carbon source', *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 45, no. 5, pp. 575–579, Jun. 1996, doi: 10.1007/s002530050731.
- [172] J. Li *et al.*, 'A strategy for the highly efficient production of docosahexaenoic acid by *Aurantiochytrium limacinum* SR21 using glucose and glycerol as the mixed carbon sources', *Bioresource Technology*, vol. 177, pp. 51–57, Feb. 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2014.11.046.
- [173] C. A. Shacklady, 'Single cell proteins from hydrocarbons', *Outlook Agric*, vol. 6, no. 3, pp. 102–107, Jun. 1970, doi: 10.1177/003072707000600303.
- [174] B. B. Ghosh and A. K. Banerjee, 'Production of single cell protein from hydrocarbons by *Arthrobacter simplex* 162', *Folia Microbiol*, vol. 29, no. 3, pp. 222–227, May 1984, doi: 10.1007/BF02877312.
- [175] R. I. Mateles, J. N. Baruah, and S. R. Tannenbaum, 'Growth of a Thermophilic Bacterium on Hydrocarbons: A New Source of Single-Cell Protein', *Science*, vol. 157, no. 3794, pp. 1322–1323, Sep. 1967, doi: 10.1126/science.157.3794.1322.
- [176] S. Vрати, 'Single cell protein production by photosynthetic bacteria grown on the clarified effluents of biogas plant', *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 19, no. 3, pp. 199–202, Mar. 1984, doi: 10.1007/BF00256454.
- [177] P. K. Wong and K. Chan, 'Algal single cell protein production from sewage effluent with high salinity', *Experientia*, vol. 36, no. 9, pp. 1065–1066, Sep. 1980, doi: 10.1007/BF01965971.
- [178] G. H. Wegner, 'Emerging applications of the methylotrophic yeasts', *FEMS Microbiol Rev*, vol. 7, no. 3–4, pp. 279–283, Dec. 1990, doi: 10.1111/j.1574-6968.1990.tb04925.x.
- [179] F. Romagnoli *et al.*, 'Microalgae cultivation in a biogas plant: Environmental and economic assessment through a life cycle approach', *Biomass and Bioenergy*, vol. 182, p. 107116, Mar. 2024, doi: 10.1016/j.biombioe.2024.107116.
- [180] R. Moraine, G. Shelef, A. Meydan, and A. Levi, 'Algal single cell protein from wastewater treatment and renovation process', *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 21, no. 7, pp. 1191–1207, 1979, doi: 10.1002/bit.260210709.

- [181] K. Spalvins and D. Blumberga, 'Production of Fish Feed and Fish Oil from Waste Biomass Using Microorganisms: Overview of Methods Analyzing Resource Availability', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 22, no. 1, pp. 149–164, Dec. 2018, doi: 10.2478/rtuct-2018-0010.
- [182] K. Spalvins and D. Blumberga, 'A simple tool for resource availability optimization: A case study of dairy whey supply for single cell protein and oil production in Latvia', p. 784.7Kb, 2020, doi: 10.15159/AR.20.112.
- [183] S. Raita, I. Kuzmika, T. Mika, Z. Geiba, and K. Spalvins, 'Enhanced amino acid biosynthesis in *Phaffia rhodozyma* via herbicide-induced selection', *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, vol. 52, p. kuaf011, Dec. 2024, doi: 10.1093/jimb/kuaf011.
- [184] B. Zlaugotne, L. Zihare, L. Balode, A. Kalnbalkite, A. Khabdullin, and D. Blumberga, 'Multi-Criteria Decision Analysis Methods Comparison', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 24, no. 1, pp. 454–471, Jan. 2020, doi: 10.2478/rtuct-2020-0028.
- [185] I. Berzina, S. Raita, M. Kalnins, K. Spalvins, and I. Kuzmika, 'In search of the best technological solutions for creating edible protein-rich mutants: a multi-criteria analysis approach', p. 639.82 KB, 2024, doi: 10.15159/AR.24.039.
- [186] A. Ishizaka and P. Nemery, *Multi-criteria Decision Analysis: Methods and Software*. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 2013. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-48318-9>
- [187] C. Zhang *et al.*, 'Valorization of food waste for cost-effective reducing sugar recovery in a two-stage enzymatic hydrolysis platform', *Energy*, vol. 208, p. 118379, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.energy.2020.118379.
- [188] R. Yang, Z. Chen, P. Hu, S. Zhang, and G. Luo, 'Two-stage fermentation enhanced single-cell protein production by *Yarrowia lipolytica* from food waste', *Bioresource Technology*, vol. 361, p. 127677, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2022.127677.
- [189] R. G. Nelson, 'Resource assessment and removal analysis for corn stover and wheat straw in the Eastern and Midwestern United States—rainfall and wind-induced soil erosion methodology', *Biomass and Bioenergy*, vol. 22, no. 5, pp. 349–363, May 2002, doi: 10.1016/S0961-9534(02)00006-5.
- [190] D. Hattis, A. E. Murray, and N. A. Ashford, 'Industrial Prospects For Chitin And Protein From Shellfish Wastes : A Report On The First Marine Industries Business Strategy Program Marine Industry Advisory Service', Sep. 2025, Accessed: Sep. 02, 2025. [Online]. Available: <https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/9621>
- [191] M. Elsayed *et al.*, 'Sustainable valorization of waste glycerol into bioethanol and biodiesel through biocircular approaches: a review', *Environ Chem Lett*, vol. 22, no. 2, pp. 609–634, Apr. 2024, doi: 10.1007/s10311-023-01671-6.
- [192] M. Bewersdorff and M. Dostálek, 'The use of methane for production of bacterial protein', *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 13, no. 1, pp. 49–62, 1971, doi: 10.1002/bit.260130104.
- [193] Z. Kusnere, L. Laipniece, V. Liberova, and D. Lauka, 'Carrier Material and Microbial Selection for Enhanced Methane Production in *Ex-Situ* Biomethanation', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 28, no. 1, p. 20240072, Jan. 2024, doi: 10.2478/rtuct-2024-0072.

- [194] K. Spalvins, K. Ivanovs, and D. Blumberga, 'Single cell protein production from waste biomass: Review of various agricultural by-products', *Agronomy Research*, vol. 16, pp. 1493–1508, 2018, doi: 10.15159/AR.18.129.
- [195] I. Berzina and K. Spalvins, 'Fungal Hydrolysis of Food Waste: Review of Used Substrates, Conditions, and Microorganisms', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 27, no. 1, pp. 639–653, Jan. 2023, doi: 10.2478/rtuect-2023-0047.
- [196] K. Slopiecka, F. Liberti, S. Massoli, P. Bartocci, and F. Fantozzi, 'Chemical and physical characterization of food waste to improve its use in anaerobic digestion plants', *Energy Nexus*, vol. 5, p. 100049, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.nexus.2022.100049.
- [197] Md. A. H. Baky, M. N. Hassan Khan, Md. F. Kader, and H. A. Chowdhury, 'Production of Biogas by Anaerobic Digestion of Food Waste and Process Simulation', in *Volume 2: Economic, Environmental, and Policy Aspects of Alternate Energy; Fuels and Infrastructure, Biofuels and Energy Storage; High Performance Buildings; Solar Buildings, Including Solar Climate Control/Heating/Cooling; Sustainable Cities and Communities, Including Transportation; Thermofluid Analysis of Energy Systems, Including Exergy and Thermoconomics*, Boston, Massachusetts, USA: American Society of Mechanical Engineers, Jun. 2014, p. V002T04A018. doi: 10.1115/ES2014-6756.
- [198] G. A. Ewunie, Z. D. Yigezu, and J. Morken, 'Biochemical methane potential of Jatropha press cake: Effect of steam explosion pretreatment and co-digestion with crude glycerol', *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, vol. 12, no. 6, p. 063102, Nov. 2020, doi: 10.1063/5.0005935.
- [199] R. Høyli and K. G. Aarsæther, 'A study of energy use and associated greenhouse gas emissions in Norwegian small-scale processing of whitefish', *Fisheries Research*, vol. 268, p. 106842, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.fishres.2023.106842.
- [200] I. Corrado, S. Varriale, and C. Pezzella, 'Microbial Processes for Upcycling Food Wastes Into Sustainable Bioplastics', in *Reference Module in Food Science*, Elsevier, 2023. doi: 10.1016/b978-0-12-823960-5.00029-9.
- [201] F. Feliatra, M. Hendra, U. M. Batubara, I. Effendi, A. Adelina, and V. A. Feliatra, 'Potential of Single Cell Protein Production Using Waste as Growth Medium', *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, vol. 1118, no. 1, p. 012024, Dec. 2022, doi: 10.1088/1755-1315/1118/1/012024.
- [202] D. I. Koukoumaki, E. Tsouko, S. Papanikolaou, Z. Ioannou, P. Diamantopoulou, and D. Sarris, 'Recent advances in the production of single cell protein from renewable resources and applications', *Carbon Resources Conversion*, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.crcon.2023.07.004.
- [203] J. M. Coimbra, K. Cristina Dos Reis, R. F. Schwan, and C. F. Silva, 'Effect of the Strategy of Molasses Supplementation in Vinasse to High SCP Production and Rose Flavor Compound', *Waste Biomass Valor*, vol. 12, no. 1, pp. 359–369, Jan. 2021, doi: 10.1007/s12649-020-00961-2.
- [204] L. Favaro, M. Basaglia, and S. Casella, 'Improving polyhydroxyalkanoate production from inexpensive carbon sources by genetic approaches: a review', *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, vol. 13, no. 1, pp. 208–227, Jan. 2019, doi: 10.1002/bbb.1944.
- [205] Y. Gao, D. Li, and Y. Liu, 'Production of single cell protein from soy molasses using *Candida tropicalis*', *Annals of Microbiology*, vol. 62, no. 3, pp. 1165–1172, Sep. 2012, doi: 10.1007/s13213-011-0356-9.

- [206] A. Hashem, G. Lyberatos, and I. Ntaikou, 'Assessment of novel yeasts for the production of single cell protein from wasted dates molasses', 2013.
- [207] B. Bajić, D. Vučurović, Đ. Vasić, R. Jevtić-Mučibabić, and S. Dodić, 'Biotechnological Production of Sustainable Microbial Proteins from Agro-Industrial Residues and By-Products', *Foods*, vol. 12, no. 1, Art. no. 1, Jan. 2023, doi: 10.3390/foods12010107.
- [208] E. G. D. Morais, J. I. Druzian, I. L. Nunes, M. G. D. Morais, and J. A. V. Costa, 'Glycerol increases growth, protein production and alters the fatty acids profile of *Spirulina (Arthrospira)* sp LEB 18', *Process Biochemistry*, vol. 76, pp. 40–45, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.procbio.2018.09.024.
- [209] T. Attarbach, M. D. Kingsley, and V. Spallina, 'New trends on crude glycerol purification: A review', *Fuel*, vol. 340, May 2023, doi: 10.1016/j.fuel.2023.127485.
- [210] E. Odriosolla dos Santos, M. Michelon, E. Badiale Furlong, J. Fernandes de Medeiros Burkert, S. Juliano Kalil, and C. André Veiga Burkert, 'Evaluation of the composition of culture medium for yeast biomass production using raw glycerol from biodiesel synthesis', *Brazilian Journal of Microbiology*, pp. 432–440, 2012.
- [211] D. Pan *et al.*, 'Homologous High-Level Lipase and Single-Cell Protein Production with Engineered *Yarrowia lipolytica* via Scale-Up Fermentation for Industrial Applications', *Fermentation*, vol. 9, no. 3, Mar. 2023, doi: 10.3390/fermentation9030268.
- [212] K. Martínez-Gómez *et al.*, 'New insights into *Escherichia coli* metabolism: carbon scavenging, acetate metabolism and carbon recycling responses during growth on glycerol', *Microb Cell Fact*, vol. 11, no. 1, p. 46, Dec. 2012, doi: 10.1186/1475-2859-11-46.
- [213] A. Garg, C. Jers, H. J. Hwang, A. Kalantari, I. Ventina, and I. Mijakovic, 'Engineering *Bacillus subtilis* for production of 3-hydroxypropanoic acid', *Front. Bioeng. Biotechnol.*, vol. 11, p. 1101232, Jan. 2023, doi: 10.3389/fbioe.2023.1101232.
- [214] J. Kopp *et al.*, 'Impact of Glycerol as Carbon Source onto Specific Sugar and Inducer Uptake Rates and Inclusion Body Productivity in *E. coli* BL21(DE3)', *Bioengineering*, vol. 5, no. 1, p. 1, Dec. 2017, doi: 10.3390/bioengineering5010001.
- [215] N. R. Baral and A. Shah, 'Comparative techno-economic analysis of steam explosion, dilute sulfuric acid, ammonia fiber explosion and biological pretreatments of corn stover', *Bioresource Technology*, vol. 232, pp. 331–343, 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2017.02.068.
- [216] A. C. Eloka-Eboka and S. Maroa, 'Biobutanol fermentation research and development: feedstock, process and biofuel production', in *Advances and Developments in Biobutanol Production*, Elsevier, 2023, pp. 79–103. doi: 10.1016/b978-0-323-91178-8.00007-2.
- [217] L. Guardia, L. Suárez, N. Querejeta, R. Rodríguez Madrera, B. Suárez, and T. A. Centeno, 'Apple Waste: A Sustainable Source of Carbon Materials and Valuable Compounds', *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, vol. 7, no. 20, pp. 17335–17343, Oct. 2019, doi: 10.1021/acssuschemeng.9b04266.
- [218] P. E. Plaza, L. J. Gallego-Morales, M. Peñuela-Vásquez, S. Lucas, M. T. García-Cubero, and M. Coca, 'Biobutanol production from brewer's spent grain hydrolysates by *Clostridium beijerinckii*', *Bioresource Technology*, vol. 244, pp. 166–174, 2017, doi: 10.1016/j.BIORTECH.2017.07.139.

- [219] C. Zhang *et al.*, 'Valorization of food waste for cost-effective reducing sugar recovery in a two-stage enzymatic hydrolysis platform', *Energy*, vol. 208, Oct. 2020, doi: 10.1016/j.energy.2020.118379.
- [220] J. Tan, Y. Li, X. Tan, H. Wu, H. Li, and S. Yang, 'Advances in Pretreatment of Straw Biomass for Sugar Production', *Frontiers in Chemistry*, vol. 9, Jun. 2021, doi: 10.3389/fchem.2021.696030.
- [221] Y. El Gnaoui, A. Frimane, N. Lahboubi, C. Herrmann, M. Barz, and H. EL Bari, 'Biological pre-hydrolysis and thermal pretreatment applied for anaerobic digestion improvement: Kinetic study and statistical variable selection', *Cleaner Waste Systems*, vol. 2, no. January, p. 100005, 2022, doi: 10.1016/j.clwas.2022.100005.
- [222] L. Guo, M. Lu, Q. Li, J. Zhang, Y. Zong, and Z. She, 'Three-dimensional fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy with regional integration analysis for assessing waste sludge hydrolysis treated with multi-enzyme and thermophilic bacteria', *Bioresource Technology*, vol. 171, pp. 22–28, 2014, doi: 10.1016/J.BIORTECH.2014.08.025.
- [223] L. M. Fonseca, S. L. M. E. Halal, A. R. G. Dias, and E. D. R. Zavareze, 'Physical modification of starch by heat-moisture treatment and annealing and their applications: A review', *Carbohydrate Polymers*, vol. 274, p. 118665, Nov. 2021, doi: 10.1016/j.carbpol.2021.118665.
- [224] E. Blas and T. Gidenne, 'Digestion of starch and sugars', *Nutrition of the rabbit*, no. Wallingford, UK, pp. 21–40, 2020, doi: <https://doi.org/10.1079/9781789241273.0021>.
- [225] I. Berzina, 'Assessment of single cell protein production from residual potato starch via mono- and two-step fermentation. Master thesis'. RTU, 2023.
- [226] K. Spalvins, L. Zihare, and D. Blumberga, 'Single cell protein production from waste biomass: Comparison of various industrial by-products', *Energy Procedia*, vol. 147, pp. 409–418, 2018, doi: 10.1016/j.egypro.2018.07.111.
- [227] M. K. I. Khan, M. Asif, Z. U. Razzaq, A. Nazir, and A. A. Maan, 'Sustainable food industrial waste management through single cell protein production and characterization of protein enriched bread', *Food Bioscience*, vol. 46, p. 101406, Apr. 2022, doi: 10.1016/j.fbio.2021.101406.
- [228] J. Hu *et al.*, 'Multi-Scale Biosurfactant Production by *Bacillus subtilis* Using Tuna Fish Waste as Substrate', *Catalysts*, vol. 11, no. 4, p. 456, Apr. 2021, doi: 10.3390/catal11040456.
- [229] J. G. D. Oliveira and C. H. Garcia-Cruz, 'Properties of a biosurfactant produced by *Bacillus pumilus* using vinasse and waste frying oil as alternative carbon sources', *Braz. arch. biol. technol.*, vol. 56, no. 1, pp. 155–160, Feb. 2013, doi: 10.1590/S1516-89132013000100020.
- [230] K. Spalvins, Z. Geiba, Z. Kusnere, and D. Blumberga, 'Waste Cooking Oil as Substrate for Single Cell Protein Production by Yeast', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 24, no. 3, pp. 457–469, Nov. 2020, doi: 10.2478/rtuct-2020-0116.
- [231] E. Eklund, A. Hatakka, A. Mustranta, and P. Nybergh, 'Acid hydrolysis of sunflower seed husks for production of single cell protein', *EUROPEAN J. Appl Microbiol.*, vol. 2, no. 3, pp. 143–152, Sep. 1976, doi: 10.1007/BF00930874.

- [232] A. Patel, U. Rova, P. Christakopoulos, and L. Matsakas, 'Simultaneous production of DHA and squalene from *Aurantiochytrium* sp. grown on forest biomass hydrolysates', *Biotechnology for Biofuels*, vol. 12, no. 1, p. 255, Oct. 2019, doi: 10.1186/s13068-019-1593-6.
- [233] Y.-T. Lung, C. H. Tan, P. L. Show, H. L. Lam, and J. C. W. Lan, 'Docosahexaenoic acid production from crude glycerol by *Schizochytrium limacinum* sr21', *Chemical Engineering Transactions*, vol. 45, pp. 967–972, Oct. 2015, doi: 10.3303/CET1545162.
- [234] M. K. M. Wong, C. K. M. Tsui, D. W. T. Au, and L. L. P. Vrijmoed, 'Docosahexaenoic acid production and ultrastructure of the thraustochytrid *Aurantiochytrium mangrovei* MP2 under high glucose concentrations', *Mycoscience*, vol. 49, no. 4, pp. 266–270, 2008, doi: 10.1007/S10267-008-0415-7.
- [235] S. Raita, Z. Kusnere, K. Spalvins, and D. Blumberga, 'Optimization of Yeast Cultivation Factors for Improved SCP Production', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 26, no. 1, pp. 848–861, Jan. 2022, doi: 10.2478/rtuect-2022-0064.
- [236] W.-K. Park *et al.*, 'Economical DHA (Docosahexaenoic acid) production from *Aurantiochytrium* sp. KRS101 using orange peel extract and low cost nitrogen sources', *Algal Research*, vol. 29, pp. 71–79, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.algal.2017.11.017.
- [237] M. G. Wiebe, 'Quorn™ Myco-protein - Overview of a successful fungal product', *Mycologist*, vol. 18, no. 1, pp. 17–20, Feb. 2004, doi: 10.1017/S0269915X04001089.
- [238] A. Sifferlin, 'Over Half of E.U. Countries Are Opting Out of GMOs'. Accessed: Sep. 12, 2025. [Online]. Available: <https://time.com/4060476/eu-gmo-crops-european-union-opt-out/>
- [239] D. Lynch and D. Vogel, 'The Regulation of GMOs in EU and the United States: A Case-Study of Contemporary', 2013. Accessed: Sep. 12, 2025. [Online]. Available: <https://www.semanticscholar.org/paper/The-Regulation-of-GMOs-in-Europe-and-the-United-A-Lynch-Vogel/d7ab8532891e149052025dd8f05ba08e15412f05>
- [240] C. Marris, 'Public views on GMOs: deconstructing the myths', *EMBO reports*, vol. 2, no. 7, pp. 545–548, Jul. 2001, doi: 10.1093/embo-reports/kve142.
- [241] Z. Zhang, X. Chen, and L. Gao, 'New strategy for the biosynthesis of alternative feed protein: Single-cell protein production from straw-based biomass', *GCB Bioenergy*, vol. 16, no. 2, p. e13120, Feb. 2024, doi: 10.1111/gcbb.13120.
- [242] B. C. Bratosin, S. Darjan, and D. C. Vodnar, 'Single Cell Protein: A Potential Substitute in Human and Animal Nutrition', *Sustainability*, vol. 13, no. 16, Art. no. 16, Jan. 2021, doi: 10.3390/su13169284.
- [243] M. E. Jach and A. Malm, 'Yarrowia lipolytica as an Alternative and Valuable Source of Nutritional and Bioactive Compounds for Humans', *Molecules*, vol. 27, no. 7, p. 2300, Apr. 2022, doi: 10.3390/molecules27072300.
- [244] D. Turck *et al.*, 'Safety of an extension of use of *Yarrowia lipolytica* yeast biomass as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283', *EFSA*, vol. 21, no. 11, Nov. 2023, doi: 10.2903/j.efsa.2023.8416.
- [245] M. E. Jach *et al.*, 'Yarrowia lipolytica Grown on Biofuel Waste as a Source of Single Cell Protein and Essential Amino Acids for Human Diet', vol. 3, 2017.

- [246] L. Neuls *et al.*, 'Immunomodulatory effects of *Yarrowia lipolytica* as a food additive in the diet of Nile tilapia', *Fish & Shellfish Immunology*, vol. 119, pp. 272–279, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.fsi.2021.10.011.
- [247] R. C. Carranza-Méndez, M. L. Chávez-González, L. Sepúlveda-Torre, C. N. Aguilar, M. Govea-Salas, and R. Ramos-González, 'Production of single cell protein from orange peel residues by *Candida utilis*', *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 40, p. 102298, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.bcab.2022.102298.
- [248] M. I. Rajoka, S. H. Khan, M. A. Jabbar, M. S. Awan, and A. S. Hashmi, 'Kinetics of batch single cell protein production from rice polishings with *Candida utilis* in continuously aerated tank reactors', *Bioresource Technology*, vol. 97, no. 15, pp. 1934–1941, Oct. 2006, doi: 10.1016/j.biortech.2005.08.019.
- [249] M. E. Lucca, M. E. Romero, and D. A. S. Callieri, 'Continuous culture of *Candida utilis*: influence of medium nitrogen concentration', *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 11, no. 5, pp. 515–518, Sep. 1995, doi: 10.1007/BF00286365.
- [250] A. Cruz *et al.*, '*Candida utilis* yeast as a protein source for weaned piglets: Effects on growth performance and digestive function', *Livestock Science*, vol. 226, pp. 31–39, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.livsci.2019.06.003.
- [251] M. Øverland, A. Karlsson, L. T. Mydland, O. H. Romarheim, and A. Skrede, 'Evaluation of *Candida utilis*, *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae* yeasts as protein sources in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*)', *Aquaculture*, vol. 402–403, pp. 1–7, 2013, doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.03.016.
- [252] M. A. Olvera-Novoa, C. A. Martínez-Palacios, and L. Olivera-Castillo, 'Utilization of torula yeast (*Candida utilis*) as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) fry: Torula yeast as protein source for tilapia diets', *Aquaculture Nutrition*, vol. 8, no. 4, pp. 257–264, Dec. 2002, doi: 10.1046/j.1365-2095.2002.00215.x.
- [253] C. H. Luna-Flores, A. Wang, J. von Hellens, and R. E. Speight, 'Towards commercial levels of astaxanthin production in *Phaffia rhodozyma*', *Journal of Biotechnology*, vol. 350, pp. 42–54, May 2022, doi: 10.1016/j.jbiotec.2022.04.001.
- [254] S. Roy, S. Chatterjee, and S. K. Sen, 'Biotechnological potential of *Phaffia rhodozyma*', *Journal of Applied Biosciences*, vol. 5, pp. 115–122, 2008.
- [255] A. K. Patel *et al.*, 'Recent advancements in astaxanthin production from microalgae: A review', *Bioresource Technology*, vol. 364, p. 128030, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2022.128030.
- [256] C. U. Mussagy *et al.*, 'Production of natural astaxanthin by *Phaffia rhodozyma* and its potential application in textile dyeing', *Biochemical Engineering Journal*, vol. 187, p. 108658, Nov. 2022, doi: 10.1016/j.bej.2022.108658.
- [257] D. G. Moriel, I. M. P. Machado, J. D. Fontana, and T. M. B. Bonfim, 'Optimization of biomass and astaxanthin production by the yeast *Phaffia rhodozyma*', *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, vol. 40, pp. 421–424, Sep. 2004, doi: 10.1590/S1516-93322004000300019.
- [258] H. Xie, Y. Zhou, J. Hu, Y. Chen, and J. Liang, 'Production of astaxanthin by a mutant strain of *Phaffia rhodozyma* and optimization of culture conditions using response surface methodology', *Ann Microbiol*, vol. 64, no. 4, pp. 1473–1481, Dec. 2014, doi: 10.1007/s13213-013-0790-y.

- [259] C. Zhang *et al.*, 'High-density cultivation of *Phaffia rhodozyma* SFAS-TZ08 in sweet potato juice for astaxanthin production', *Electronic Journal of Biotechnology*, vol. 61, pp. 1–8, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.ejbt.2022.09.007.
- [260] Y. Su, C. Liu, H. Fang, and D. Zhang, '*Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine', *Microbial Cell Factories*, vol. 19, no. 1, p. 173, Sep. 2020, doi: 10.1186/s12934-020-01436-8.
- [261] B. A. Omogbai and E. I. Obazenu, 'Production of Single Cell Protein with Three Agro-Shell Wastes Using *Bacillus subtilis*', *African Scientist*, vol. 18, no. 2, pp. 119–128, 2017.
- [262] E. B. Kurbanoglu and O. F. Algur, 'Single-cell protein production from ram horn hydrolysate by bacteria', *Bioresource Technology*, vol. 85, no. 2, pp. 125–129, Nov. 2002, doi: 10.1016/S0960-8524(02)00094-9.
- [263] Z. Zhang, D. Yang, H. Si, J. Wang, R. E. Parales, and J. Zhang, 'Biotransformation of the herbicide nicosulfuron residues in soil and seven sulfonylurea herbicides by *Bacillus subtilis* YB1: A climate chamber study', *Environmental Pollution*, vol. 263, p. 114492, Aug. 2020, doi: 10.1016/j.envpol.2020.114492.
- [264] S. Zeinali Dizaj, Z. Avarseji, M. Mollashahi, E. G. Alamdari, and F. Taliei, 'Tribenuron-methyl herbicide bacterial decontamination via *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*', *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 20, no. 7, pp. 7167–7176, Jul. 2023, doi: 10.1007/s13762-023-04932-7.
- [265] X. M. Yu *et al.*, 'Glyphosate biodegradation and potential soil bioremediation by *Bacillus subtilis* strain Bs-15', *Genet. Mol. Res.*, vol. 14, no. 4, pp. 14717–14730, 2015, doi: 10.4238/2015.November.18.37.
- [266] B. D. Glencross, D. Huyben, and J. W. Schrama, 'The Application of Single-Cell Ingredients in Aquaculture Feeds—A Review', *Fishes*, vol. 5, no. 3, p. 22, Jul. 2020, doi: 10.3390/fishes5030022.
- [267] Valorlact, 'VALORLACT - Full use of the whey produced by the dairy industry LIFE11 ENV/ES/000639'. Accessed: Sep. 16, 2025. [Online]. Available: <https://webgate.ec.europa.eu/life/publicWebsite/search>
- [268] C. R. Brião V. B. & Granhen Tavares, 'Effluent Generation by the dairy industry: preventive Attitudes and Opportunities', vol. 24, no. 4, pp. 487–497, 2007, doi: 10.1590/S0104-66322007000400003.
- [269] M. Ebadian, T. Sowlati, S. Sokhansanj, L. Townley-Smith, and M. Stumborg, 'Modeling and analysing storage systems in agricultural biomass supply chain for cellulosic ethanol production', *Applied Energy*, vol. 102, pp. 840–849, Feb. 2013, doi: 10.1016/j.apenergy.2012.08.049.
- [270] S. Sokhansanj, A. Kumar, and A. F. Turhollow, 'Development and implementation of integrated biomass supply analysis and logistics model (IBSAL)', *Biomass and Bioenergy*, vol. 30, no. 10, pp. 838–847, Oct. 2006, doi: 10.1016/j.biombioe.2006.04.004.
- [271] A. K. Slavov, 'General Characteristics and Treatment Possibilities of Dairy Wastewater – A Review', *Food Technology and Biotechnology*, vol. 55, no. 1, pp. 14–28, Mar. 2017, doi: 10.17113/ftb.55.01.17.4520.
- [272] A. Welfle, P. Gilbert, and P. Thornley, 'Increasing biomass resource availability through supply chain analysis', *Biomass and Bioenergy*, vol. 70, pp. 249–266, Nov. 2014, doi: 10.1016/j.biombioe.2014.08.001.
- [273] LSM, 'Piena nozare Latvijā augoša, iedzīvotāju pirktspēja - zema'. 2014. Accessed: Sep. 16, 2025. [Online]. Available: <https://www.lsm.lv/raksts/zinas/ekonomika/piena-nozare-latvija-augosa-iedzivotaju-pirktspeja-zema.a85965/>

- [274] S. Raita *et al.*, 'Microbial Carotenoids Production: Strains, Conditions, and Yield Affecting Factors', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 27, no. 1, pp. 1027–1048, Jan. 2023, doi: 10.2478/rtuct-2023-0075.
- [275] A. Singh & P. Mishra, 'Microbial production of single cell protein (SCP) and single cell oil (SCO)', in *Progress in Industrial Microbiology*, vol. 33, Elsevier, 1995, pp. 301–316. doi: 10.1016/S0079-6352(06)80051-2.
- [276] Y. Shen *et al.*, 'Feed nutritional value of brewers' spent grain residue resulting from protease aided protein removal', *J Animal Sci Biotechnol*, vol. 10, no. 1, p. 78, Dec. 2019, doi: 10.1186/s40104-019-0382-1.
- [277] E. O. Falade, K. J. E.-P. Kouamé, Y. Zhu, Y. Zheng, and X. Ye, 'A review: Examining the effects of modern extraction techniques on functional and structural properties of cellulose and hemicellulose in Brewer's Spent Grain dietary fiber', *Carbohydrate Polymers*, vol. 348, p. 122883, Jan. 2025, doi: 10.1016/j.carbpol.2024.122883.
- [278] P. Niemi, C. B. Faulds, J. Sibakov, U. Holopainen, K. Poutanen, and J. Buchert, 'Effect of a milling pre-treatment on the enzymatic hydrolysis of carbohydrates in brewer's spent grain', *Bioresource Technology*, vol. 116, pp. 155–160, Jul. 2012, doi: 10.1016/j.biortech.2012.04.043.
- [279] T. G. Enrique Blas, 'Digestion of starch and sugars', *CABI Publishing*, 1998, [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/275519571\\_Digestion\\_of\\_starch\\_and\\_sugars](https://www.researchgate.net/publication/275519571_Digestion_of_starch_and_sugars)
- [280] S. Chavan, B. Yadav, A. Atmakuri, R. D. Tyagi, J. W. C. Wong, and P. Drogui, 'Bioconversion of organic wastes into value-added products: A review', *Bioresource Technology*, vol. 344, p. 126398, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2021.126398.
- [281] C. E. S. Muniz, Á. M. Santiago, T. A. S. Gusmão, H. M. L. Oliveira, L. D. S. Conrado, and R. P. D. Gusmão, 'Solid-state fermentation for single-cell protein enrichment of guava and cashew by-products and inclusion on cereal bars', *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 25, p. 101576, May 2020, doi: 10.1016/j.bcab.2020.101576.
- [282] M. Areniello, S. Matassa, G. Esposito, and P. N. L. Lens, 'Biowaste upcycling into second-generation microbial protein through mixed-culture fermentation', *Trends in Biotechnology*, vol. 41, no. 2, pp. 197–213, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.tibtech.2022.07.008.
- [283] A. G. K. P. G. Gamage, 'ASSESSMENT OF PRETREATMENT METHODS ON ENZYMATIC HYDROLYSIS OF BREWER'S SPENT GRAIN SUITABLE FOR CULTIVATION OF ASPERGILLUS ORYZAE', Riga Technical university, 2025.
- [284] L. G. Nair, K. Agrawal, and P. Verma, 'Organosolv pretreatment: an in-depth purview of mechanics of the system', *Bioresour. Bioprocess.*, vol. 10, no. 1, p. 50, Aug. 2023, doi: 10.1186/s40643-023-00673-0.
- [285] B. Bals, C. Rogers, M. Jin, V. Balan, and B. Dale, 'Evaluation of ammonia fibre expansion (AFEX) pretreatment for enzymatic hydrolysis of switchgrass harvested in different seasons and locations', *Biotechnol Biofuels*, vol. 3, no. 1, p. 1, Dec. 2010, doi: 10.1186/1754-6834-3-1.
- [286] F.-L. Wang *et al.*, 'Ionic liquids as efficient pretreatment solvents for lignocellulosic biomass', *RSC Adv.*, vol. 7, no. 76, pp. 47990–47998, 2017, doi: 10.1039/C7RA08110C.
- [287] A. T. Adeleye *et al.*, 'Ionic liquids (ILs): advances in biorefinery for the efficient conversion of lignocellulosic biomass', *Asain J. Green Chem.*, vol. 3, no. Issue 3, pp. 288–417, May 2019, doi: 10.22034/ajgc.2018.146881.1100.

- [288] B. C. Saha, N. Qureshi, G. J. Kennedy, and M. A. Cotta, 'Biological pretreatment of corn stover with white-rot fungus for improved enzymatic hydrolysis', *International Biodeterioration & Biodegradation*, vol. 109, pp. 29–35, Apr. 2016, doi: 10.1016/j.ibiod.2015.12.020.
- [289] C. W. Edmunds *et al.*, 'Fungal pretreatment and enzymatic hydrolysis of genetically-modified *Populus trichocarpa*', *BioRes*, vol. 15, no. 3, pp. 6488–6505, Jul. 2020, doi: 10.15376/biores.15.3.6488-6505.
- [290] H. Chen and X. Fu, 'Industrial technologies for bioethanol production from lignocellulosic biomass', *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 57, pp. 468–478, May 2016, doi: 10.1016/j.rser.2015.12.069.
- [291] A. Madhavan *et al.*, 'Design of novel enzyme biocatalysts for industrial bioprocess: Harnessing the power of protein engineering, high throughput screening and synthetic biology', *Bioresource Technology*, vol. 325, p. 124617, Apr. 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2020.124617.
- [292] 'What Are the Factors That Affect Fungal Alpha Amylase Activity?', Jiangsu Yiming Biological Technology Co., Ltd. Accessed: Dec. 29, 2022. [Online]. Available: <https://www.yimingbiotechnology.com>
- [293] A. G. Pardo and F. Forchiassin, 'Influence of temperature and pH on cellulase activity and stability in *Nectria catalinensis*', *Rev Argent Microbiol*, vol. 31, no. 1, pp. 31–35, 1999.
- [294] W.-C. Tu and J. P. Hallett, 'Recent advances in the pretreatment of lignocellulosic biomass', *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, vol. 20, pp. 11–17, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.cogsc.2019.07.004.
- [295] S. O-Thong, C. Mamimin, P. Kongjan, and A. Reungsang, 'Two-stage fermentation process for bioenergy and biochemicals production from industrial and agricultural wastewater', in *Advances in Bioenergy*, vol. 5, Elsevier, 2020, pp. 249–308. doi: 10.1016/bs.aibe.2020.04.007.
- [296] R. Martín-Sampedro *et al.*, 'Endophytic Fungi as Pretreatment to Enhance Enzymatic Hydrolysis of Olive Tree Pruning', *BioMed Research International*, vol. 2017, pp. 1–10, 2017, doi: 10.1155/2017/9727581.
- [297] Y. El Gnaoui, A. Frimane, N. Lahboubi, C. Herrmann, M. Barz, and H. El Bari, 'Biological pre-hydrolysis and thermal pretreatment applied for anaerobic digestion improvement: Kinetic study and statistical variable selection', *Cleaner Waste Systems*, vol. 2, p. 100005, Jul. 2022, doi: 10.1016/j.clwas.2022.100005.
- [298] M. Parchami, J. A. Ferreira, and M. J. Taherzadeh, 'Starch and protein recovery from brewer's spent grain using hydrothermal pretreatment and their conversion to edible filamentous fungi – A brewery biorefinery concept', *Bioresource Technology*, vol. 337, p. 125409, 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.125409.
- [299] Hielscher, 'Ultrasonic Extraction and its Working Principle', Hielscher-Ultrasound Technology. [Online]. Available: <https://www.hielscher.com/ultrasonic-extraction-and-its-working-principle.htm>
- [300] R. Budhathoki, 'Microwave assisted extraction: Principle, process, application, advantage', ChemistNotes. [Online]. Available: [https://chemistnotes.com/analytical\\_chemistry/microwave-assisted-extraction-principle-process-application-advantage/](https://chemistnotes.com/analytical_chemistry/microwave-assisted-extraction-principle-process-application-advantage/)
- [301] Q. Ma, W. Zhou, X. Du, H. Huang, and Z. Gong, 'Combined dilute sulfuric acid and Tween 80 pretreatment of corn stover significantly improves the enzyme digestibility: Synergistic removal of hemicellulose and lignin', *Bioresource Technology*, vol. 382, p. 129218, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.biortech.2023.129218.

- [302] W. Sun *et al.*, 'Production of single cell protein from brewer's spent grain through enzymatic saccharification and fermentation enhanced by ammoniation pretreatment', *Bioresource Technology*, vol. 394, p. 130242, Feb. 2024, doi: 10.1016/j.biortech.2023.130242.
- [303] M. Parchami, S. Agnihotri, and M. J. Taherzadeh, 'Aqueous ethanol organosolv process for the valorization of Brewer's spent grain (BSG)', *Bioresource Technology*, vol. 362, no. June, p. 127764, 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2022.127764.
- [304] D. Macheiner, Bernhard F. Ferdinand K., and H. Werner A, 'Pretreatment and hydrolysis of Brewer's Spent Grains'. Engineering in Life Sciences, October 2003.
- [305] X. Li and H. Kim, 'Low-liquid pretreatment of corn stover with aqueous ammonia'. *Bioresource Technology*, 2011.
- [306] W. Wei, Y. Jin, S. Wu, and Z. Yuan, 'Improving corn stover enzymatic saccharification via ferric chloride catalyzed dimethyl sulfoxide pretreatment and various additives'. *Industrial Crops & Products*, 2019.
- [307] B. D. Glencross, D. Huyben, and J. W. Schrama, 'The application of single-cell ingredients in aquaculture feeds—a review', *Fishes*, vol. 5, no. 3, pp. 1–39, 2020, doi: 10.3390/fishes5030022.
- [308] S. I. Patsios, A. Dedousi, E. N. Sossidou, and A. Zdragas, 'Sustainable animal feed protein through the cultivation of *YARROWIA lipolytica* on agro-industrial wastes and by-products', *Sustainability (Switzerland)*, vol. 12, no. 4, 2020, doi: 10.3390/su12041398.
- [309] O. Margareth and S. Anders, 'Yeast derived from lignocellulosic biomass as a sustainable feed resource for use in aquaculture', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 97, no. 3, pp. 733–742, 2016, doi: 10.1002/jsfa.8007.
- [310] M. E. Jach, T. Baj, M. Juda, R. Świder, B. Mickowska, and A. Malm, 'Statistical evaluation of growth parameters in biofuel waste as a culture medium for improved production of single cell protein and amino acids by *Yarrowia lipolytica*', *AMB Express*, vol. 10, no. 1, pp. 1–12, 2020, doi: 10.1186/s13568-020-00968-x.
- [311] S. F. S. Reihani and K. Khosravi-Darani, 'Influencing factors on single-cell protein production by submerged fermentation: A review', *Electronic Journal of Biotechnology*, vol. 37, pp. 34–40, 2019, doi: 10.1016/j.ejbt.2018.11.005.
- [312] D. Dhanasekaran, S. Lawanya, and S. Saha, 'Production of Single Cell Protein From Pineapple Waste', vol. 8, pp. 26–32, 2011.
- [313] S. Siddique, H. A. Shakir, J. I. Qazi, A. B. Tabinda, and M. Irfan, 'Screening of some agri-wastes for economical cultivation of *Candida tropicalis* SS1', *Punjab University Journal of Zoology*, vol. 31, no. 1, pp. 31–37, 2016.
- [314] Y. Gao, D. Li, and Y. Liu, 'Production of single cell protein from soy molasses using *Candida tropicalis*', *Annals of Microbiology*, vol. 62, no. 3, pp. 1165–1172, 2012, doi: 10.1007/s13213-011-0356-9.
- [315] J. S. S. Yadav, S. Yan, S. Pilli, L. Kumar, R. D. Tyagi, and R. Y. Surampalli, 'Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides', *Biotechnology Advances*, vol. 33, no. 6, pp. 756–774, 2015, doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.07.002.
- [316] K. T. Myint *et al.*, 'Isolation and identification of flower yeasts for the development of mixed culture to produce single-cell protein from waste milk', *Bioresource Technology Reports*, vol. 10, no. February, p. 100401, 2020, doi: 10.1016/j.biteb.2020.100401.

- [317] F. Arous, S. Azabou, A. Jaouani, H. Zouari-Mechichi, M. Nasri, and T. Mechichi, 'Biosynthesis of single-cell biomass from olive mill wastewater by newly isolated yeasts', *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 23, no. 7, pp. 6783–6792, 2016, doi: 10.1007/s11356-015-5924-2.
- [318] P. Patelski *et al.*, 'Conversion of potato industry waste into fodder yeast biomass', *Processes*, vol. 8, no. 4, pp. 1–8, 2020, doi: 10.3390/PR8040453.
- [319] B. Michalik, W. Biel, R. Lubowicki, and E. Jacyno, 'Chemical composition and biological value of proteins of the yeast *Yarrowia lipolytica* growing on industrial glycerol', *Canadian Journal of Animal Science*, vol. 94, no. 1, pp. 99–104, 2014, doi: 10.4141/CJAS2013-052.
- [320] A. A. Rages, M. M. Haider, and M. Aydin, 'Alkaline hydrolysis of olive fruits wastes for the production of single cell protein by *Candida lipolytica*', *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 33, no. January, pp. 1–6, 2021, doi: 10.1016/j.bcab.2021.101999.
- [321] K. Spalvins, Z. Geiba, Z. Kusnere, and D. Blumberga, 'Waste Cooking Oil as Substrate for Single Cell Protein Production by Yeast *Yarrowia lipolytica*.', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 24, no. 2, pp. 457–469, 2020, doi: <https://doi.org/10.2478/rtuct-2020-0116>.
- [322] M. E. Jach, A. Serefko, M. Ziaja, and M. Kieliszek, 'Yeast Protein as an Easily Accessible Food Source', *Metabolites*, vol. 12, no. 1, 2022, doi: 10.3390/metabo12010063.
- [323] M. Umesh, K. Priyanka, B. Thazeem, and K. Preethi, 'Production of Single Cell Protein and Polyhydroxyalkanoate from *Carica papaya* Waste', *Arabian Journal for Science and Engineering*, vol. 42, no. 6, pp. 2361–2369, 2017, doi: 10.1007/s13369-017-2519-x.
- [324] M. Sharif, M. H. Zafar, A. I. Aqib, M. Saeed, M. R. Farag, and M. Alagawany, 'Single cell protein: Sources, mechanism of production, nutritional value and its uses in aquaculture nutrition', *Aquaculture*, vol. 531, no. September 2020, 2021, doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735885.
- [325] I. A. Amata, 'Yeast a single cell protein: characteristics and metabolism', *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, vol. 4, no. 1, pp. 158–170, 2013.
- [326] J. R. Broach, 'Nutritional control of growth and development in yeast', *Genetics*, vol. 192, no. 1, pp. 73–105, 2012, doi: 10.1534/genetics.111.135731.
- [327] V. Jalsutram, S. Kataram, B. Gandu, and G. R. Anupaju, 'Single cell protein production from digested and undigested poultry litter by *Candida utilis*: Optimization of process parameters using response surface methodology', *Clean Technologies and Environmental Policy*, vol. 15, no. 2, pp. 265–273, 2013, doi: 10.1007/s10098-012-0504-3.
- [328] J. Wu *et al.*, 'Single-cell Protein and Xylitol Production by a Novel Yeast Strain *Candida intermedia* FL023 from Lignocellulosic Hydrolysates and Xylose', *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 185, no. 1, pp. 163–178, 2018, doi: 10.1007/s12010-017-2644-8.
- [329] M. I. Rajoka, M. A. T. Kiani, S. Khan, M. S. Awan, and A. S. Hashmi, 'Production of single cell protein from rice polishings using *Candida utilis*', *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 20, no. 3, pp. 297–301, 2004, doi: 10.1023/B:WIBI.0000023845.96123.dd.
- [330] S. Zheng, M. Yang, and Z. Yang, 'Biomass production of yeast isolate from salad oil manufacturing wastewater', *Bioresource Technology*, vol. 96, no. 10, pp. 1183–1187, 2005, doi: 10.1016/j.biortech.2004.09.022.

- [331] H. El Bialy, O. M. Gomaa, and K. S. Azab, 'Conversion of oil waste to valuable fatty acids using Oleaginous yeast', *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 27, no. 12, pp. 2791–2798, 2011, doi: 10.1007/s11274-011-0755-x.
- [332] O. Nicolas, S. Aly, K. S. Marius, T. François, Z. Cheikna, and S. T. Alfred, 'Effect of mineral salts and nitrogen source on yeast (*Candida utilis* NOY1) biomass production using tubers wastes', *African Journal of Biotechnology*, vol. 16, no. 8, pp. 359–365, 2017, doi: 10.5897/ajb2016.15801.
- [333] A. Bekatorou, C. Psarianos, and A. A. Koutinas, 'Production of food grade yeasts', *Food Technology and Biotechnology*, vol. 44, no. 3, pp. 407–415, 2006.
- [334] M. Hezarjaribi, F. Ardestani, and H. R. Ghorbani, 'Single Cell Protein Production by *Saccharomyces cerevisiae* Using an Optimized Culture Medium Composition in a Batch Submerged Bioprocess', *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 179, no. 8, pp. 1336–1345, 2016, doi: 10.1007/s12010-016-2069-9.
- [335] M. Dourou, D. Aggeli, S. Papanikolaou, and G. Aggelis, 'Critical steps in carbon metabolism affecting lipid accumulation and their regulation in oleaginous microorganisms', *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 102, no. 6, pp. 2509–2523, 2018, doi: 10.1007/s00253-018-8813-z.
- [336] A. Daskalaki, N. Perdikouli, D. Aggeli, and G. Aggelis, 'Laboratory evolution strategies for improving lipid accumulation in *Yarrowia lipolytica*', *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 103, no. 20, pp. 8585–8596, 2019, doi: 10.1007/s00253-019-10088-7.
- [337] M. Dourou, P. Mizerakis, S. Papanikolaou, and G. Aggelis, 'Storage lipid and polysaccharide metabolism in *Yarrowia lipolytica* and *Umbelopsis isabellina*', *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 101, no. 19, pp. 7213–7226, 2017, doi: 10.1007/s00253-017-8455-6.
- [338] M. Kieliszek, S. Błażej, A. Bzducha-Wróbel, and A. M. Kot, 'Effect of Selenium on Lipid and Amino Acid Metabolism in Yeast Cells', *Biological Trace Element Research*, vol. 187, no. 1, pp. 316–327, 2019, doi: 10.1007/s12011-018-1342-x.
- [339] M. K. Somda *et al.*, 'Optimization of *Saccharomyces cerevisiae* SKM10 single cell protein production from mango (*Magnifera indica* L.) waste using response surface methodology', *African Journal of Biotechnology*, vol. 16, no. 45, pp. 2127–2133, 2017, doi: 10.5897/ajb2017.16210.
- [340] S. Rajendran, R. Kapilan, and S. Vasantharuba, 'Single Cell Protein Production from Papaw and Banana Fruit Juices Using Baker's Yeast', *American-Euroasian J. Agric. & Environ. Sci.*, vol. 18, no. 4, pp. 168–172, 2018, doi: 10.5829/idosi.aejaes.2018.168.172.
- [341] G. B. Akanni, J. C. du Preez, L. Steyn, and S. G. Kilian, 'Protein enrichment of an *Opuntia ficus-indica* cladode hydrolysate by cultivation of *Candida utilis* and *Kluyveromyces marxianus*', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 95, no. 5, pp. 1094–1102, 2015, doi: 10.1002/jsfa.6985.
- [342] M. Han, Q. He, and W. G. Zhang, 'Carotenoids production in different culture conditions by *Sporidiobolus pararoseus*', *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, vol. 42, no. 4, pp. 293–303, Jul. 2012, doi: 10.1080/10826068.2011.583974.

- [343] A. M. Kot *et al.*, 'Effect of exogenous stress factors on the biosynthesis of carotenoids and lipids by *Rhodotorula* yeast strains in media containing agro-industrial waste', *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 35, no. 10, pp. 1–10, Oct. 2019, doi: 10.1007/S11274-019-2732-8/TABLES/3.
- [344] P. Patelski *et al.*, 'Utilisation of sugar beet bagasse for the biosynthesis of yeast SCP', *Journal of Food Engineering*, vol. 167, pp. 32–37, 2015, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.03.031.
- [345] A. M. Kot *et al.*, 'Effect of initial pH of medium with potato wastewater and glycerol on protein, lipid and carotenoid biosynthesis by *Rhodotorula glutinis*', *Electronic Journal of Biotechnology*, vol. 27, pp. 25–31, 2017, doi: 10.1016/j.ejbt.2017.01.007.
- [346] R. M. Schweiggert and R. Carle, 'Carotenoid Production by Bacteria, Microalgae, and Fungi', in *Carotenoids in Nutrition: Therapy, Spectroscopy and Technology*, 2016. doi: 10.1002/9781118622223.ch12.
- [347] R. Sharma and G. Ghoshal, 'Optimization of carotenoids production by *Rhodotorula mucilaginosa* (MTCC-1403) using agro-industrial waste in bioreactor: A statistical approach', *Biotechnology Reports*, vol. 25, p. e00407, Mar. 2020, doi: 10.1016/J.BTRE.2019.E00407.
- [348] Z. T. Harith, M. de A. Lima, D. Charalampopoulos, and A. Chatzifragkou, 'Optimised production and extraction of astaxanthin from the yeast *Xanthophyllomyces dendrorhous*', *Microorganisms*, vol. 8, no. 3, 2020, doi: 10.3390/microorganisms8030430.
- [349] F. Rostami, S. H. Razavi, A. A. Sepahi, and S. M. T. Gharibzahedi, 'Canthaxanthin biosynthesis by *Dietzia natronolimnaea* HS-1: effects of inoculation and aeration rate', *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 45, no. 2, pp. 447–456, Apr. 2014, doi: 10.1590/S1517-83822014005000046.
- [350] F. Xu, Q. P. Yuan, and Y. Zhu, 'Improved production of lycopene and  $\beta$ -carotene by *Blakeslea trispora* with oxygen-vectors', *Process Biochemistry*, vol. 42, no. 2, pp. 289–293, Feb. 2007, doi: 10.1016/J.PROCBIO.2006.08.007.
- [351] Y. S. Liu, J. Y. Wu, and K. P. Ho, 'Characterization of oxygen transfer conditions and their effects on *Phaffia rhodozyma* growth and carotenoid production in shake-flask cultures', *Biochemical Engineering Journal*, vol. 27, no. 3, pp. 331–335, 2006, doi: 10.1016/j.bej.2005.08.031.
- [352] C. Zhang *et al.*, 'High-density cultivation of *Phaffia rhodozyma* SFAS-TZ08 in sweet potato juice for astaxanthin production', *Electronic Journal of Biotechnology*, vol. 61, pp. 1–8, Jan. 2023, doi: 10.1016/J.EJBT.2022.09.007.
- [353] Z. T. Harith, D. Charalampopoulos, and A. Chatzifragkou, 'Rapeseed meal hydrolysate as substrate for microbial astaxanthin production', *Biochemical Engineering Journal*, vol. 151, p. 107330, Nov. 2019, doi: 10.1016/J.BEJ.2019.107330.
- [354] A. T. Nasser, S. Rasoul-Ami, M. H. Morowvat, and Y. Ghasemi, 'Single Cell Protein: Production and Process', *American J. of Food Technology*, vol. 6, no. 2, pp. 103–116, Jan. 2011, doi: 10.3923/ajft.2011.103.116.
- [355] J. G. Kuenen and O. J. Johnson, 'Continuous Cultures (Chemostats)', in *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*, Third Edition., M. Schaechter, Ed., Oxford: Academic Press, 2009, pp. 130–147. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00112-7>.

- [356] M. Zakhartsev and M. Reuss, 'Cell size and morphological properties of yeast *Saccharomyces cerevisiae* in relation to growth temperature', *FEMS Yeast Research*, vol. 18, no. 6, 2018, doi: 10.1093/femsyr/foy052.
- [357] D. Lapeña *et al.*, 'Spruce sugars and poultry hydrolysate as growth medium in repeated fed-batch fermentation processes for production of yeast biomass', *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 43, no. 4, pp. 723–736, 2020, doi: 10.1007/s00449-019-02271-x.
- [358] A. Kurcz, S. Błazejak, A. M. Kot, A. Bzducha-Wróbel, and M. Kieliszek, 'Application of Industrial Wastes for the Production of Microbial Single-Cell Protein by Fodder Yeast *Candida utilis*', *Waste and Biomass Valorization*, vol. 9, no. 1, pp. 57–64, 2018, doi: 10.1007/s12649-016-9782-z.
- [359] A. K. Manoj, A. V. Saradanandan, and V. Jayaraman, 'Crabtree effect in yeast: a phosphate tug-of-war between fermentation and respiration', *Trends in Biochemical Sciences*, vol. 50, no. 2, pp. 89–91, 2025, doi: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2024.12.001>.
- [360] K. Rewak, 'Optimizing batch fermentation scheduling in smart breweries with artificial intelligence methods', *Procedia Computer Science*, vol. 270, pp. 2838–2847, 2025, doi: <https://doi.org/10.1016/j.procs.2025.09.406>.
- [361] L. Gregersen and S. B. Jørgensen, 'Supervision of fed-batch fermentations', *Chemical Engineering Journal*, vol. 75, no. 1, pp. 69–76, 1999, doi: [https://doi.org/10.1016/S1385-8947\(99\)00018-2](https://doi.org/10.1016/S1385-8947(99)00018-2).
- [362] S. Xue *et al.*, 'Yeast based N-demethylation for the production of nororipavine in fed-batch or continuous cultivation', *Bioresource Technology*, vol. 442, p. 133684, 2026, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2025.133684>.
- [363] J. Palcevska *et al.*, 'Pilot-Scale Design and Economic-Environmental Assessment of *Phaffia rhodozyma* single-cell protein with added value', 2025.
- [364] K. D. Novak *et al.*, 'Performance of a pilot scale pressurized deep-jet gas bioreactor for SCP production with *Cupriavidus necator* H16', *Journal of Biotechnology*, vol. 408, pp. 1–14, 2025, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2025.08.013>.
- [365] M. A. Martin, 'The Future of the World Food System', *Outlook on Agriculture*, vol. 30, no. 1, pp. 11–19, Mar. 2001, doi: 10.5367/000000001101293409.
- [366] G. J. O. Martin and S. Chan, 'Future production of yeast biomass for sustainable proteins: a critical review', *Sustainable Food Technol.*, vol. 2, no. 6, pp. 1592–1609, 2024, doi: 10.1039/D4FB00164H.
- [367] K. Abou-taleb, 'Enhancing Production of Amino Acids from *Bacillus* spp. Using Batch and Fed-batch Fermentation Strategies', *British Microbiology Research Journal*, vol. 5, no. 3, pp. 257–272, Jan. 2015, doi: 10.9734/BMRJ/2015/12447.
- [368] S. Raita, I. Berzina, Z. Kusnere, M. Kalnins, I. Kuzmika, and K. Spalvins, 'Herbicide-based selection of mutants for improved single cell protein synthesis: application and procedures', 2024, Accessed: Sep. 17, 2025. [Online]. Available: <http://hdl.handle.net/10492/9433>
- [369] S. Raita, I. Kuzmika, Z. Geiba, Z. Kusnere, T. Mika, and K. Valters, 'Optimization of *Phaffia rhodozyma* single-cell protein production by response surface methodology'.

- [370] K. S. Marius *et al.*, 'Optimization of *Saccharomyces cerevisiae* SKM10 single cell protein production from mango (*Magnifera indica* L.) waste using response surface methodology', *African Journal of Biotechnology*, vol. 16, no. 45, pp. 2127–2133, 2017, doi: 10.5897/ajb2017.16210.
- [371] F. Tabssum, M. Irfan, H. A. Shakir, and J. I. Qazi, 'RSM based optimization of nutritional conditions for cellulase mediated Saccharification by *Bacillus cereus*', *J Biol Eng*, vol. 12, no. 1, p. 7, Dec. 2018, doi: 10.1186/s13036-018-0097-4.
- [372] P. Bardhan, J. Baruah, G. V. S. B. Raj, E. Kalita, and M. Mandal, 'Optimization of culture conditions for biomass and lipid production by oleaginous fungus *Penicillium citrinum* PKB20 using response surface methodology (RSM)', *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 37, p. 102169, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.bcab.2021.102169.
- [373] J.-B. Beigbeder, J. M. De Medeiros Dantas, and J.-M. Lavoie, 'Optimization of Yeast, Sugar and Nutrient Concentrations for High Ethanol Production Rate Using Industrial Sugar Beet Molasses and Response Surface Methodology', *Fermentation*, vol. 7, no. 2, p. 86, May 2021, doi: 10.3390/fermentation7020086.
- [374] E. Hawaz *et al.*, 'Optimization of bioethanol production from sugarcane molasses by the response surface methodology using *Meyerozyma caribbica* isolate MJTm3', *Ann Microbiol*, vol. 73, no. 1, p. 2, Jan. 2023, doi: 10.1186/s13213-022-01706-3.
- [375] T. M. Roberts, H. Kaltenbach, and F. Rudolf, 'Development and optimisation of a defined high cell density yeast medium', *Yeast*, vol. 37, no. 5–6, pp. 336–347, May 2020, doi: 10.1002/yea.3464.
- [376] J. Vanags and A. Suleiko, 'What is kLa in bioreactors?'
- [377] M. Lackner, T. Bodraya, and D. Drew, 'Single cell protein (SCP) for feed and food', in *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems (Third Edition)*, Third Edition., P. Alexander, Ed., London: Academic Press, 2026, pp. 90–107. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15976-3.00036-2>.
- [378] C. D. Scown, N. R. Baral, M. Yang, N. Vora, and T. Huntington, 'Technoeconomic analysis for biofuels and bioproducts', *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 67, pp. 58–64, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.copbio.2021.01.002.
- [379] S. Raita, I. Kuzmika, T. Mika, Z. Geiba, and K. Spalvins, 'Enhanced amino acid biosynthesis in *Phaffia rhodozyma* via herbicide-induced selection', *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 52, p. kuaf011, Jan. 2025, doi: 10.1093/jimb/kuaf011.
- [380] A. Patil, P. T. Benavides, D. A. Monceaux, and A. S. Engelberth, 'Technoeconomic assessment and life cycle assessment of three potential pathways for biomass liquefaction', *Bioresource Technology Reports*, vol. 21, p. 101383, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.biteb.2023.101383.
- [381] National Renewable Energy Laboratory, "'BEST": Biochemical Engineering Simulation Technology', Jan. 1996.
- [382] J. Poore and T. Nemecek, 'Reducing food's environmental impacts through producers and consumers', *Science*, vol. 360, no. 6392, pp. 987–992, Jun. 2018, doi: 10.1126/science.aaq0216.
- [383] K. Spalvins, S. Raita, K. Valters, and D. Blumberga, 'Improving single cell protein yields and amino acid profile via mutagenesis: review of applicable amino acid inhibitors for mutant selection', p. 774.5Kb, 2021, doi: 10.15159/AR.21.083.

- [384] A. G. J. Tacon and M. Metian, 'Feed Matters: Satisfying the Feed Demand of Aquaculture', *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, vol. 23, no. 1, pp. 1–10, Jan. 2015, doi: 10.1080/23308249.2014.987209.
- [385] R. Sivaramakrishnan and A. Incharoensakdi, 'Enhancement of lipid production in *Scenedesmus* sp. by UV mutagenesis and hydrogen peroxide treatment', *Bioresource Technology*, vol. 235, pp. 366–370, Jul. 2017, doi: 10.1016/j.biortech.2017.03.102.
- [386] R. Yamada, T. Kashihara, and H. Ogino, 'Improvement of lipid production by the oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* through UV mutagenesis', *World J Microbiol Biotechnol*, vol. 33, no. 5, p. 99, May 2017, doi: 10.1007/s11274-017-2269-7.
- [387] X. Zhu *et al.*, 'Strain improvement by combined UV mutagenesis and ribosome engineering and subsequent fermentation optimization for enhanced 6'-deoxy-bleomycin Z production', *Appl Microbiol Biotechnol*, vol. 102, no. 4, pp. 1651–1661, Feb. 2018, doi: 10.1007/s00253-017-8705-7.
- [388] D. Atzmüller, F. Hawe, D. Sulzenbacher, and A. Cristobal-Sarramian, 'Wheat straw and lipids: UV-mutagenized *Yarrowia lipolytica* for the conversion of wheat straw hydrolysate into lipids', p. 386.8Kb, 2019, doi: 10.15159/AR.19.197.
- [389] S. Omura, 'The antibiotic cerulenin, a novel tool for biochemistry as an inhibitor of fatty acid synthesis', *Bacteriol Rev*, vol. 40, no. 3, pp. 681–697, Sep. 1976, doi: 10.1128/br.40.3.681-697.1976.
- [390] E. Tapia V, A. Anschau, A. L. Coradini, T. T Franco, and A. C. Deckmann, 'Optimization of lipid production by the oleaginous yeast *Lipomyces starkeyi* by random mutagenesis coupled to cerulenin screening', *AMB Expr*, vol. 2, no. 1, p. 64, Dec. 2012, doi: 10.1186/2191-0855-2-64.
- [391] G. Katre, N. Ajmera, S. Zinjarde, and A. RaviKumar, 'Mutants of *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 grown on waste cooking oil as a biofactory for biodiesel production', *Microb Cell Fact*, vol. 16, no. 1, p. 176, Dec. 2017, doi: 10.1186/s12934-017-0790-x.
- [392] L. Berlicki, 'Inhibitors of Glutamine Synthetase and their Potential Application in Medicine', *MRMC*, vol. 8, no. 9, pp. 869–878, Aug. 2008, doi: 10.2174/138955708785132800.
- [393] A. H. Cobb and J. P. H. Reade, *Herbicides and Plant Physiology*, 1st ed. Wiley, 2010. doi: 10.1002/9781444327793.
- [394] C. J. Hall, E. R. Mackie, A. R. Gendall, M. A. Perugini, and T. P. Soares Da Costa, 'Review: amino acid biosynthesis as a target for herbicide development', *Pest Management Science*, vol. 76, no. 12, pp. 3896–3904, Dec. 2020, doi: 10.1002/ps.5943.
- [395] S. Raita, 'A Screening Method for Improved Single-Cell Protein Production', PhD, Riga Technical University, Riga, Latvia, 2025. doi: 10.7250/9789934371554.
- [396] International Organization for Standardization, *Environmental Management – Life Cycle Assessment – Principles and Framework (ISO Standard No. 14040:2006)*, ISO 14040:2006, 2006. doi: <https://www.iso.org/standard/37456.html>.
- [397] B. Bjerkeng, M. Peisker, K. von Schwanzenberg, T. Ytrestøyl, and T. Åsgård, 'Digestibility and muscle retention of astaxanthin in Atlantic salmon, *Salmo salar*, fed diets with the red yeast *Phaffia rhodozyma* in comparison with synthetic formulated astaxanthin', *Aquaculture*, vol. 269, no. 1, pp. 476–489, Sep. 2007, doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.04.070.

- [398] M. Becker, A. Ziemińska-Stolarska, D. Markowska, S. Lütz, and K. Rosenthal, 'Comparative Life Cycle Assessment of Chemical and Biocatalytic 2'3'-Cyclic GMP-AMP Synthesis', *ChemSusChem*, vol. 16, no. 5, p. e202201629, Mar. 2023, doi: 10.1002/cssc.202201629.
- [399] C. S. Mattick, A. E. Landis, B. R. Allenby, and N. J. Genovese, 'Anticipatory Life Cycle Analysis of In Vitro Biomass Cultivation for Cultured Meat Production in the United States', *Environ. Sci. Technol.*, vol. 49, no. 19, pp. 11941–11949, Oct. 2015, doi: 10.1021/acs.est.5b01614.
- [400] R. Aidoo, E. M. Kwofie, P. Adewale, E. Lam, and M. Ngadi, 'Designing sustainable circular bioeconomy solutions for the pulse industry: The case of crude pea starch as a substrate for single cell protein production', *Science of The Total Environment*, vol. 912, p. 169029, Feb. 2024, doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.169029.
- [401] Y. Kobayashi *et al.*, 'Life-cycle assessment of yeast-based single-cell protein production with oat processing side-stream', *Science of The Total Environment*, vol. 873, p. 162318, May 2023, doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.162318.
- [402] N. Järviö, N.-L. Maljanen, Y. Kobayashi, T. Ryyänen, and H. L. Tuomisto, 'An attributional life cycle assessment of microbial protein production: A case study on using hydrogen-oxidizing bacteria', *Science of The Total Environment*, vol. 776, p. 145764, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145764.
- [403] T. Upcraft *et al.*, 'Protein from renewable resources: mycoprotein production from agricultural residues', *Green Chem.*, vol. 23, no. 14, pp. 5150–5165, 2021, doi: 10.1039/D1GC01021B.
- [404] M. Owsianiak *et al.*, 'Performance of second-generation microbial protein used as aquaculture feed in relation to planetary boundaries', *Resources, Conservation and Recycling*, vol. 180, p. 106158, May 2022, doi: 10.1016/j.resconrec.2022.106158.
- [405] H. L. Tuomisto, S. J. Allan, and M. J. Ellis, 'Prospective life cycle assessment of a bioprocess design for cultured meat production in hollow fiber bioreactors', *Science of The Total Environment*, vol. 851, p. 158051, Dec. 2022, doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.158051.
- [406] J. Sillman *et al.*, 'A life cycle environmental sustainability analysis of microbial protein production via power-to-food approaches', *Int J Life Cycle Assess*, vol. 25, no. 11, pp. 2190–2203, Nov. 2020, doi: 10.1007/s11367-020-01771-3.
- [407] S. A. Aldaghi, R. Ubais, I. Schmitt, V. F. Wendisch, M. Costamagna, and M. Perucca, 'Life Cycle Assessment of Bacterial, Algal, and Synthetic Approaches for Astaxanthin Production at a Laboratory Scale: Comparative Environmental Analysis and Sensitivity of Energy Sources', *Processes*, vol. 11, no. 10, p. 2911, Oct. 2023, doi: 10.3390/pr11102911.
- [408] C. Onorato and C. Rösch, 'Comparative life cycle assessment of astaxanthin production with *Haematococcus pluvialis* in different photobioreactor technologies', *Algal Research*, vol. 50, p. 102005, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.algal.2020.102005.
- [409] Ecoinvent 3.10, 'Soybean meal {RoW}| market for soybean meal'.
- [410] Ecoinvent 3.10, 'Fishmeal, 63–65% protein {GLO}| market for fishmeal, 63–65 % protein'.
- [411] B. Zlaugotne, J. Pubule, and D. Blumberga, 'Advantages and disadvantages of using more sustainable ingredients in fish feed', *Heliyon*, vol. 8, no. 9, p. e10527, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e10527.

- [412] V. Wilke, J. Gickel, and C. Visscher, 'Monitoring of Performance-Based Environmental Impacts of Substituting Soybean Meal with Rapeseed Meal in the Rye-Based Diet of Weaned Pigs', *Sustainability*, vol. 15, no. 3, p. 2210, Jan. 2023, doi: 10.3390/su15032210.
- [413] L. R. D'Abramo, 'Sustainable aquafeed and aquaculture production systems as impacted by challenges of global food security and climate change', *Journal of the World Aquaculture Society*, vol. 52, no. 6, pp. 1162–1167, 2021, doi: 10.1111/jwas.12867.
- [414] S. Jafarzadeh *et al.*, 'Alternative proteins; A path to sustainable diets and environment', *Current Research in Food Science*, vol. 9, p. 100882, Jan. 2024, doi: 10.1016/j.crfs.2024.100882.
- [415] A. Raziq, 'Single cell protein (SCP) production and potential substrates: A comprehensive review', *Pure and Applied Biology*, vol. 9, no. 3, Sep. 2020, doi: 10.19045/bspab.2020.90185.
- [416] A. Veipa, V. Kirsanovs, and A. Barisa, 'Techno-economic analysis of biofuel production plants producing biofuels using fisher tropisch synthesis', *Environmental and Climate Technologies*, vol. 24, no. 2, pp. 373–387, Sep. 2020, doi: 10.2478/rtuect-2020-0080.
- [417] J. P. Ahire *et al.*, 'Techno-economic and life cycle analyses of bio-adhesives production from isolated soy protein and kraft lignin', *Journal of Cleaner Production*, vol. 447, p. 141474, Apr. 2024, doi: 10.1016/j.jclepro.2024.141474.
- [418] Y. Balcı and C. Erbay, 'Green hydrogen production from offshore wind: A techno-economic analysis for Türkiye', *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 97, pp. 377–390, Jan. 2025, doi: 10.1016/j.ijhydene.2024.11.431.
- [419] H. E. Ashkanani *et al.*, 'Effect of Power Plant Capacity on the CAPEX, OPEX, and LCOC of the CO2 Capture Process in Pre-Combustion Applications', *International Journal of Greenhouse Gas Control*, vol. 109, p. 103371, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.ijggc.2021.103371.
- [420] M. Kim and H. Shin, 'Application of a dual tubing CO2 injection-water production horizontal well pattern for improving the CO2 storage capacity and reducing the CAPEX: A case study in Pohang basin, Korea', *International Journal of Greenhouse Gas Control*, vol. 90, p. 102813, Nov. 2019, doi: 10.1016/j.ijggc.2019.102813.
- [421] C. Moscariello *et al.*, 'One-stage single cell protein production from hemp (*Cannabis sativa* L.) biomass residues and cheese whey through sequential anaerobic-aerobic fermentation', *Waste Management*, vol. 193, pp. 462–471, Feb. 2025, doi: 10.1016/j.wasman.2024.12.029.
- [422] Y. He *et al.*, 'Protein production from brewer's spent grain via wet fractionation: process optimization and techno-economic analysis', *Food and Bioproducts Processing*, vol. 126, pp. 234–244, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.fbp.2021.01.005.
- [423] 'Working Capital: Formula, Components, and Limitations', Investopedia. Accessed: Mar. 02, 2025. [Online]. Available: <https://www.investopedia.com/terms/w/workingcapital.asp>
- [424] R. Yang, Z. Chen, P. Hu, S. Zhang, and G. Luo, 'Two-stage fermentation enhanced single-cell protein production by *Yarrowia lipolytica* from food waste', *Bioresource Technology*, vol. 361, p. 127677, Oct. 2022, doi: 10.1016/j.biortech.2022.127677.

- [425] A. Ruiz *et al.*, 'Single cell protein from methanotrophic bacteria as an alternative healthy and functional protein source in aquafeeds, a holistic approach in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles', *Aquaculture*, vol. 576, p. 739861, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.aquaculture.2023.739861.
- [426] C. E. S. Muniz, Â. M. Santiago, T. A. S. Gusmão, H. M. L. Oliveira, L. de S. Conrado, and R. P. de Gusmão, 'Solid-state fermentation for single-cell protein enrichment of guava and cashew by-products and inclusion on cereal bars', *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 25, p. 101576, May 2020, doi: 10.1016/j.bcab.2020.101576.
- [427] M. P. Gundupalli *et al.*, 'Bacterial single cell protein (BSCP): A sustainable protein source from methylobacterium species', *Trends in Food Science & Technology*, vol. 147, p. 104426, May 2024, doi: 10.1016/j.tifs.2024.104426.
- [428] A. Veipa, V. Kirsanovs, and A. Barisa, 'Techno-Economic Analysis of Biofuel Production Plants Producing Biofuels Using Fisher Tropsch Synthesis', vol. 24, pp. 373–387, 2020, Accessed: Jan. 04, 2025. [Online]. Available: <https://ortus.rtu.lv/science/lv/publications/31619>
- [429] 'How to Calculate ROI on Investments: The Ultimate Guide'. Accessed: Apr. 02, 2025. [Online]. Available: <https://www.kubera.com/blog/how-to-calculate-roi-on-investments>
- [430] D. A. Mellichamp, 'Internal rate of return: Good and bad features, and a new way of interpreting the historic measure', *Computers & Chemical Engineering*, vol. 106, pp. 396–406, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.compchemeng.2017.06.005.
- [431] D. G. Dhavale and J. Sarkis, 'Stochastic internal rate of return on investments in sustainable assets generating carbon credits', *Computers & Operations Research*, vol. 89, pp. 324–336, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.cor.2017.02.014.
- [432] M. V. Sokolov, 'NPV, IRR, PI, PP, and DPP: A unified view', *Journal of Mathematical Economics*, vol. 114, p. 102992, Oct. 2024, doi: 10.1016/j.jmateco.2024.102992.
- [433] N. Pal, C. Siletti, and D. Petrides, *Superpro Designer: An Interactive Software Tool for Designing and Evaluating Integrated Chemical, Biochemical, and Environmental Processes*. 2008.
- [434] 'SuperPro Designer®, User-Oriented Software Used for Analyzing the Techno-Economic Feasibility of Electrical Energy Generation from Sugarcane Vinasse in Colombia'. Accessed: Jan. 05, 2025. [Online]. Available: <https://www.mdpi.com/2227-9717/8/9/1180>
- [435] N. Harun, N. A. Othman, N. A. Zaki, N. A. Mat Rasul, R. A. Samah, and H. Hashim, 'Simulation of Anaerobic Digestion for Biogas Production from Food Waste Using SuperPro Designer', *Materials Today: Proceedings*, vol. 19, pp. 1315–1320, Jan. 2019, doi: 10.1016/j.matpr.2019.11.143.
- [436] K. I. Al-Malah, 'Aspen plus : chemical engineering applications'.
- [437] '(PDF) Aspen Plus: Chemical Engineering Applications', ResearchGate. Accessed: Apr. 09, 2025. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/301294748\\_Aspen\\_Plus\\_Chemical\\_Engineering\\_Applications](https://www.researchgate.net/publication/301294748_Aspen_Plus_Chemical_Engineering_Applications)
- [438] A. Technology, 'User's Guide Aspen Process Economic Analyzer', 2016. [Online]. Available: <http://www.aspentech.com>
- [439] K. Bogdanovičs, 'Proteīna ražošanas biotehnoloģiskā procesa tehniski ekonomiskais izvērtējums', RTU, Rīga, Latvija, 2025.

- [440] fermenter, 'Seed Fermenter'. Accessed: Apr. 09, 2025. [Online]. Available: <https://fermentorchina.com/seed-fermenter/>
- [441] 'Vogelbusch Biocommodities – The Bioprocess Company'. Accessed: Apr. 09, 2025. [Online]. Available: <https://www.vogelbusch-biocommodities.com/>
- [442] 'What is a bioreactor and how does it work? | INFORS HT'. Accessed: Apr. 09, 2025. [Online]. Available: <https://infors-ht.com/en/blog/what-is-a-bioreactor-and-how-does-it-work>
- [443] 'Лабораторная центрифуга: что это такое, для чего нужна и где используется', Амбимед. Accessed: Apr. 09, 2025. [Online]. Available: [https://ambimed.ru/news/stati-o-meditsinskomborudovanii/laboratornaya-tsentrifuga-chto-eto-takoe-dlya-chego-nuzhna-i-gde-ispolzuetsya/?srsrtid=AfmBOoqBvDzF\\_j9tKUo6FW-5o\\_YoFAlHk\\_ewHT4FXhy45fdDbXqllGrp](https://ambimed.ru/news/stati-o-meditsinskomborudovanii/laboratornaya-tsentrifuga-chto-eto-takoe-dlya-chego-nuzhna-i-gde-ispolzuetsya/?srsrtid=AfmBOoqBvDzF_j9tKUo6FW-5o_YoFAlHk_ewHT4FXhy45fdDbXqllGrp)
- [444] 'What is an Air Compressor Used For? | BigRentz'. Accessed: Apr. 09, 2025. [Online]. Available: <https://www.bigrentz.com/blog/air-compressor-use>
- [445] I. Berzina *et al.*, 'Creating Single-Cell Protein-Producing *Bacillus subtilis* Mutants Using Chemical Mutagen and Amino Acid Inhibitors', *Scientifica*, vol. 2024, no. 1, p. 8968295, 2024, doi: 10.1155/sci5/8968295.
- [446] B. Bajić, D. Vučurović, Đ. Vasić, R. Jevtić-Mučibabić, and S. Dodić, 'Biotechnological Production of Sustainable Microbial Proteins from Agro-Industrial Residues and By-Products', *Foods*, vol. 12, no. 1, Jan. 2023, doi: 10.3390/foods12010107.
- [447] 'Energy Consumption Formula – Meaning, Calculation and FAQs', VEDANTU. Accessed: May 04, 2025. [Online]. Available: <https://www.vedantu.com/formula/energy-consumption-formula>
- [448] M. Chen, Y. Chen, and Q. Zhang, 'A Review of Energy Consumption in the Acquisition of Bio-Feedstock for Microalgae Biofuel Production', *Sustainability*, vol. 13, no. 16, Art. no. 16, Jan. 2021, doi: 10.3390/su13168873.
- [449] '250L\_Integrated\_System\_SUB\_Data\_Sheet.pdf'. Accessed: Jan. 23, 2025. [Online]. Available: [https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/brochures/250L\\_Integrated\\_System\\_SUB\\_Data\\_Sheet.pdf](https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/brochures/250L_Integrated_System_SUB_Data_Sheet.pdf)
- [450] K. O. Cohrt, 'How Much Salary Can You Expect in a Biotech Job?', Labiotech.eu. Accessed: Feb. 02, 2025. [Online]. Available: <https://www.labiotech.eu/best-biotech/biotech-salaries-europe-top/>
- [451] 'Что нужно знать о налогах на зарплату в 2025 году (и латвийским украинцам тоже)'. Accessed: Feb. 08, 2025. [Online]. Available: <https://rus.lsm.lv/statja/novosti/analitika/01.01.2025-cto-nuzno-znat-onalogax-na-zarplatu-v-2025-godu-i-latviiskim-ukraincam-toze.a581774/>
- [452] 'Medicīnas darbiniekiem | If.lv'. Accessed: Feb. 08, 2025. [Online]. Available: <https://www.if.lv/uznemumiem/apdrosinasana/medicinas-darbiniekiem>
- [453] 'Veselības apdrošināšana darbiniekiem | If.lv'. Accessed: Feb. 08, 2025. [Online]. Available: <https://www.if.lv/uznemumiem/apdrosinasana/veselibas-apdrosinasana>
- [454] O. Çetin, *A Business Plan for a Biodiesel Company*. 2017.
- [455] 'Profitability Analysis: A Comprehensive Guide to Success'. Accessed: Feb. 10, 2025. [Online]. Available: <https://www.fathomhq.com/blog/profitability-analysis-a-comprehensive-guide>

- [456] 'Teacher's Guide ROI.pdf'. Accessed: Feb. 10, 2025. [Online]. Available: <https://jwilson.coe.uga.edu/EMAT6450/Class%20Projects/Major/Teacher's%20Guide%20ROI.pdf>
- [457] 'Internal Rate of Return (IRR): Formula and Examples', Investopedia. Accessed: Feb. 10, 2025. [Online]. Available: <https://www.investopedia.com/terms/i/irr.asp>
- [458] 'Net Present Value (NPV): What It Means and Steps to Calculate It', Investopedia. Accessed: Feb. 10, 2025. [Online]. Available: <https://www.investopedia.com/terms/n/npv.asp>
- [459] InnoRative, *How to Calculate NPV (Net Present Value) in Excel*, (Mar. 20, 2019). Accessed: Feb. 10, 2025. [Online Video]. Available: [https://www.youtube.com/watch?v=Q\\_lqNmVzgMY](https://www.youtube.com/watch?v=Q_lqNmVzgMY)
- [460] Edspira, *How to Calculate IRR in Excel*, (Dec. 05, 2022). Accessed: Feb. 12, 2025. [Online Video]. Available: <https://www.youtube.com/watch?v=HgWHogdFUc4>
- [461] 'Breakeven Point: Definition, Examples, and How to Calculate', Investopedia. Accessed: Feb. 12, 2025. [Online]. Available: <https://www.investopedia.com/terms/b/breakevenpoint.asp>
- [462] 'Break-Even Analysis: Formula and Calculation', Investopedia. Accessed: Feb. 12, 2025. [Online]. Available: <https://www.investopedia.com/terms/b/breakevenanalysis.asp>
- [463] 'Payback Period', Corporate Finance Institute. Accessed: Feb. 12, 2025. [Online]. Available: <https://corporatefinanceinstitute.com/resources/financial-modeling/payback-period/>
- [464] 'What is Sensitivity Analysis?', Corporate Finance Institute. Accessed: Mar. 24, 2025. [Online]. Available: <https://corporatefinanceinstitute.com/resources/financial-modeling/what-is-sensitivity-analysis/>
- [465] L. Ye, B. Bogicevic, C. J. Bolten, and C. Wittmann, 'Single-cell protein: overcoming technological and biological challenges towards improved industrialization', *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 88, p. 103171, Aug. 2024, doi: 10.1016/j.copbio.2024.103171.
- [466] L. D. H. Benock G. Loewer O. J. ., Bridges Jr. T., 'Grain flow restrictions in harvesting-delivery drying systems.', *Transactions of the ASAE*, vol. 24, no. 5, pp. 1151-1161, 1981.
- [467] B. Vallejo, C. Picazo, H. Orozco, E. Matallana, and A. Aranda, 'Herbicide glufosinate inhibits yeast growth and extends longevity during wine fermentation', *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, p. 12414, Sep. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-12794-6.
- [468] Y. P. Li, F. Ahmadi, K. Kariman, and M. Lackner, 'Recent advances and challenges in single cell protein (SCP) technologies for food and feed production', *npj Sci Food*, vol. 8, no. 1, p. 66, Sep. 2024, doi: 10.1038/s41538-024-00299-2.

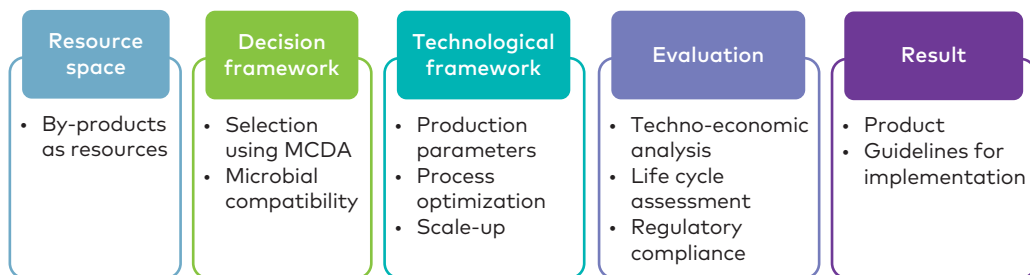
## Summary

The aquaculture sector is becoming increasingly important in providing high-quality animal-based protein. However, its expansion is constrained by the availability of feed raw materials and associated environmental impacts. Traditional feed components, such as fish meal and plant-based proteins, are subject to fluctuations in supply and price, require substantial land, water, and energy inputs, and often do not provide a balanced profile of essential amino acids. Therefore, the demand for alternative, sustainable protein sources for aquafeed represents a long-term structural need rather than a temporary trend.

Single-cell protein (SCP) is defined here as protein-rich dried microbial biomass (e.g., yeasts, bacteria, fungi, and algae), the quality of which is determined by total protein content, essential amino acid profile, and bioavailability. SCP is produced through biotechnological fermentation, in which microorganisms are cultivated in bioreactors under controlled conditions, utilizing carbon and nitrogen sources from the culture medium to generate biomass, which is then separated and dried into a stable product. In practice, the process contains three main stages: feedstock preparation, fermentation, and biomass recovery and drying, through which biodegradable substrates are converted into a protein-rich product. The metabolic versatility of microorganisms enables the use of a wide range of carbon and nitrogen sources, allowing protein production to shift from food-grade raw materials to low-cost, biodegradable agro-industrial by-products. SCP production offers simultaneous nutritional, logistical, and sustainability benefits; however, its competitiveness is determined by costs and process efficiency.

SCP production is a well-defined process comprising three main stages. First, feedstock selection and, where necessary, pretreatment are carried out, during which organic residues are converted into a homogeneous, fermentable substrate while reducing growth-inhibiting factors. Second, fermentation involves the cultivation of selected microorganisms under controlled conditions, enabling biomass formation. Third, downstream processing includes biomass separation, washing, and drying into a stable and safe product; where required, digestibility is enhanced and nucleic acid content is reduced. This process chain can be flexibly adapted to a wide range of raw materials, microbial strains, and market requirements. It also enables the integration of co-production pathways, such as the generation of single-cell oils or pigments, thereby improving the overall techno-economic performance.

A distinct yet critical step preceding production is the selection of an appropriate microorganism. The chosen strain should be safe, genetically stable, and compatible with both the available



**Figure 1.**  
From idea to  
product

substrates and process conditions. It should exhibit a favourable essential amino acid profile, predictable growth and post-harvest characteristics, moderate oxygen requirements, and adequate tolerance to inhibitory compounds. In practice, this involves aligning the intended application, raw material availability, and regulatory constraints with the physiological properties of the strain. This step may be followed by targeted strain improvement and subsequent process optimization.

Despite significant progress, widespread adoption remains limited by cost and scalability factors. For SCP to effectively replace a portion of fish meal and plant-based proteins in aquaculture feed, further optimization is required, including the integration of low-cost substrates through appropriate pretreatment, improvement of microbial strains with respect to essential amino acid composition and biomass digestibility, and the development of energy-efficient, low-waste production processes. This monograph follows a “from idea to product” framework (Figure 1), including resource selection and microorganism choice, as well as the determination and optimization of fermentation parameters and product yield. Through this approach it demonstrates how SCP can be developed into a sustainable aquaculture feed ingredient in terms of both nutritional value and environmental performance.

The monograph concludes with an integrated evaluation of the overall process and provides practical guidance on implementing all stages to obtain a protein product suitable for use as a feed additive. The “from idea to product” framework illustrates a systematic pathway from conceptual design to a market-ready product, integrating biological, technological, and economic considerations. It highlights that the successful implementation of SCP production depends not on isolated improvements, but on the coordinated optimization of all stages within the value chain.

**NO IDEJAS LĪDZ PRODUKTAM**

Rīgas Tehniskā universitāte  
Dabaszinātņu un tehnoloģiju fakultāte  
Vides aizsardzības un siltuma sistēmu institūts

Rīga 2026

Proteīns ir būtiska uzturviela gan dzīvnieku, gan cilvēku uzturā. Pieaugot iedzīvotāju skaitam, palielinās arī pieprasījums pēc proteīna, radot papildu slogu uz vidi un ekosistēmām. Lai to mazinātu, tiek meklēti alternatīvi un ilgtspējīgi risinājumi. Viens no daudzsološākajiem risinājumiem ir viensūnu proteīns, ko iegūst no raugiem, baktērijām, aļģēm un mikroskopiskajām sēnēm, audzējot tos kontrolētos apstākļos bioreaktoros. Šo mikroorganismu augšanai iespējams izmantot oglekli saturošus agroindustriālus atlikumus. Monogrāfijā analizēts viensūnu proteīna izstrādes process – no idejas līdz tā praktiskam lietojumam zivju barībā.

