

PROJEKTA NR. 23-00-A01612 – 000007

**“SKUJU ZAĻĀS BIOMASAS PILNA CIKLA PĀRSTRĀDE
AUGSTVĒRTĪGU IZEJVIELU ĶĪMIJAS UN FARMĀCIJAS
INDUSTRIJAI IEGUVEI”**

PĀRSKATS PAR MP2 PERIODĀ

(2023. GADA NOVEMBRIS – 2024. JANVĀRIS)

VEIKTAJĀM DARBĪBĀM



SILAVA, 2024.

SATURS

1. IEPĪRKUMA VEIKŠANA	3
2. BIOMASAS SAGĀDE	3
3. BIOMASAS FIZIKĀLO ĪPAŠĪBU RAKSTUROJUMS.....	5
4. BIOMASAS ĶĪMISKO ĪPAŠĪBU RAKSTUROJUMS	7
4.1. CHNSO analīzes	7
4.2. Paraugu sagatavošana mikroelementanalīzēm	7
4.3. Mikroelementu analīze izmantojot ICP-OES.....	7
4.4. Egļu frakciju makroelementu noteikšana.....	10
5. BIOMASAS EKSTRAKCIJA UN FRAKCIONĒŠANA	11
5.1. Egļu skuju un zaru ekstrakcijas metožu efektivitātes noteikšana	11
5.2. Paraugu ekstrakcija ar propilēnglikolu, glicerīnu, un zemajiem spirtiem.....	11
5.3. Egļu zaru un skuju kopējo ekstraktu iznākumi	11
5.4. Sintētisko humusvielu izdalīšana	18
5.5. Kopējo procianidīnu analīze ar DMAC ¹⁰²	18
5.6. Kopējo polifenolu analīze ar FC reaģentu ¹⁰³	18
5.7. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar DPPH reaģentu ¹⁰⁴	19
5.8. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar FRAP reaģentu.....	19
5.9. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar CUPRAC reaģentu.....	20
5.10. Flavanoīdu noteikšana ar AlCl ₃ metodi	20
5.11. Puskvantitatīva ekstraktvielu masas koncentrācijas noteikšanas metode glicerīna un propilēnglikola ekstraktiem.....	21
6. CIETĀ ATLIKUMA PIROLĪTISKĀ SADALĪŠANA, KOKOGLE	21
7. CIETĀ ATLIKUMA BIOĻĢISKĀ KONVERSIJA	22
8. PUBLICITĀTES NODROŠINĀŠANA.....	23
SECINĀJUMI	23
PIELIKUMS	25

Projekta vadošais partneris: LVMI Silava

Projekta sadarbības partneri: Latvijas Universitāte, SIA Gourmet Industries, SIA Biolat, SIA Skogssallskapet.

1. IEPIRKUMA VEIKŠANA

Latvijas Universitāte pētījuma sākumā veica nepieciešamo ķīmisko reaģentu iepirkumu un sagādā. Labochema piegādāja ekstrakcijai nepieciešamos šķīdinātājus propanolu (3l), acetonu (4l), etilacetātu (10l), metil-terk-butilēteru (7,5l), hlorheksānu (10l); acetonitrilu (12,5l) un dimetilsulfoksīdu (200ml). Nepieciešamie reaģenti ir piegādāti neieciešamajā apjomā un kvalitātē.

Biolat SIA

MPI Silava laboratorijas ir aprīkotas un patreiz ķīmisko reaģentu un aprīkojuma daļas nav nepieciešams iegādāties.

SIA Gourmet Industries darbus projektā uzsāka novembrī, jo saņēma Biolat izekstraģētās egļu skuļas.

2. BIOMASAS SAGĀDE

2MP laikā vairākkārtīgi tika sagatavotas un piegādātas svaigas egļu skuļas no SKOGSSALLSKAPET uzturētajos egļu mežos (Kurzemē) (skat. 1. att.).



A. Mežaudze



B. Mežaudzes atrašanās vieta

1. att. Mežaudze, kurai ir jāveic 1.retināšana un koku atzarošana

Mežaudze ir atjaunota 2007. gadā, kad tika veikta kailcirte. Sugas vecums ir 16 gadi, kas atbilst projekta mērķa audzes vecumam. Audzes raksturojums – 1600 stādi uz ha, 100% egļu stādījums.

Augustā projekta dalībnieki kopā ar Biolat pārstāvjiem kopīgi sagatavoja skujas, kas atbilst Biolat ražotnes tehnoloģijai. Tādēļ 2MP laikā skujas sagatavoja un Biolat ražotnei piegādāja SKOGSSALLSKAPET, iepriekš vienojoties ar Biolat pārstāvjiem par skuju piegādēm (2. att.).



A. Sagatavotie egļu zari



B. Egļu zaru izkraušana Biolat ražotnē

2. att. Egļu zaru transportēšana uz Biolat ražotni

Papildus sagatavotajām Biolat ražotnēm daļa svaigi sagatavoto zaru nogādāja LU un Silavas pētniekiem detalizētajam pētījumam, lai labāk izprastu egļu skuju ķīmiskās atšķirības, ko var ietekmēt atšķirīgais ģeogrāfiskais kokaugu izvietojums. Sagatavotās skujas nogādāja attiecīgo pētniecisko institūciju saldētavās, lai uzglabātu šos resursus maksimāli nemainīgos apstākļos un tie nezaudētu savu bioloģisko kvalitāti pētījuma laikā.



3. att. Egļu ekstrakta, vaska un cietā ekstragētā atlikuma transportēšana uz LU, Silavu un Gourmet Industries.

Paraugu sagatavošana zaleņa raksturošanai. 2 kg svaiga egļu zaleņa tika manuāli sadalīti divās frakcijās: zari un skujas. Iegūtās frakcijas žāvēja 48 h 50°C, pēc kura tika noteikts mitrums zaleņa frakcijās (zaru koksne un skujas), kā arī zaleņa zaru un skuju attiecība. Iegūtās frakcijas smalcināja asmeņu dzirnavās un fracionēja ar 1 mm, 2 mm un 3 mm sietu. Pēc paraugu fracionēšanas tika iegūtas divas lieluma frakcijas (<1 mm un 1-2 mm), kas tika uzglabātas -20°C tālākiem eksperimentiem.

Paraugu sagatavošana ekstrakcijai. Tajā pašā dienā paraugus nogādāja Latvijas Universitātē un žāvēja žāvēskapī 48 h 50°C temperatūrā. Sausnas paraugus sadalīja frakcijās (zari, skujas) un noteica to masas attiecību. Iegūtās frakcijas smalcināja asmeņu dzirnavās un fracionēja ar 1 mm, 2 mm un 3 mm sietu. Pēc paraugu fracionēšanas tika iegūtas divas lieluma frakcijas (<1 mm un 1-2 mm), kas tika uzglabātas -20°C tālākiem eksperimentiem.

3. BIOMASAS FIZIKĀLO ĪPAŠĪBU RAKSTUROJUMS

Sākotnēji ir nepieciešams veikt biomasas kompozīcijas analīzi – t.i. cik lielu apjoma daļu veido skujas, no kuras var iegūt pētījumā nepieciešamos ekstraktus (vasku, hlorofilu, lipīdus u.c.). Tādēļ atvestajām skujām veica skuju atdalīšanu no zaru koksnes, svēršanu un mitruma noteikšanu. Šos darbus mežā sadalīja LU un Silavas pētnieki, lai nedublētos pētnieciskie darbi. Tādēļ, lai labāk izprastu 1. retināšanas skuju atšķirību no 2. retināšanas iegūtajām skujām, Silavas darbinieki izvēlējās egļu audzes Silavas pētnieciskajos mežos un veica skuju daudzuma noteikšanu ar tādu pašu metodiku kā LU pētnieki. Iegūtie pētnieciskie dati ir apkopoti 1. tabulā.

1. tabula. Skuju daudzums egļu zaru zaros.

Retināšana	Materiāls	Mitrums, %	Sastāvs zalenī (mitrs materiāls), %	Sastāvs zalenī (sausss materiāls), %
Pirmreizējā retināšana (Ventspils) (MP2)	Egļu skujas	56,2±3,1	74,2	75,2
	Egļu zaru koksne	70,5±2,2	24,2	23,5
Pirmreizējā retināšana (Aglona) (MP1)	Egļu skujas	51,4±2,3	73,5	78,6
	Egļu zaru koksne	63,3±2,5	26,5	21,4
Otreizējā retināšana	Egļu skujas	55,0±2,1	33,4	37,2

Kā redzams 1. tabulā, tad lielākā atšķirība vērojama pirmreizējās un otreizējās retināšanai pakļautajām eglēm. Lielā atšķirība ir vērojama skuju apjomā, ko būtiski ietekmē zara caurmēra pieaugums. Būtiski neatšķiras skuju sastāvs Ventspils un Aglonas jaunaudzēs sagatavotajām skujām. Ir nelielas atšķirības mitruma saturā, bet tas skaidrojams ar paraugu sagatavošanu dažādos gadalaikos un patreiz nav attiecināms uz audzes vietas ietekmi. Augstāk minētais tikai apliecina, ka MP1 laikā izteiktā hipotēze, ka otreizējās retināšanas egļu skujas izmantotu pētījumā piedāvātajai biorafinēšanas shēmai, ir nepieciešams sagatavot vairāk zaru koksnes un rūpīgāk veikt skuju atdalīšanu no zaru koksnes. Patreiz otreizējai retināšanai pakļautās egles nav piemērotas, salīdzinot ar pirmreizējai retināšanai pakļautajām egļu mežaudzēs iegūtajām egļu skujām. Tiesa, ražotājs savā ražošanas praksē liecina, ka viņu galvenais produkts – hlorofils būtiski vairāk ir iegūstams no galvenajā cirtē iegūstamām skujām (iznākums ap 0,2%).



4. att. Hlorofils, kas iegūts pārstrādājot 5t egļu skuju.

Novērtējot egļu stumbru formu un kvalitāti, tad jāatzīmē, ka pēc egļu izvākšanas no jaunaudzes, to stumbru daļa ir piemērota papīrmalkas sortimentu sagatavošanai (tievgaļa caurmērs >6cm), kas var radīt papildu ienākumu meža apsaimniekotājiem, piekopjot piedāvāto egļu biorafinēšanas principu.

4. BIOMASAS ĶĪMISKO ĪPAŠĪBU RAKSTUROJUMS

4.1. CHNSO analīzes

Analīžu veikšanai izmantotas ekstrahētas un neekstrahētas egļu zaru, skuju un zaleņa frakcijas, kas ir mazākas par 1mm. Analīzes veiktas Latvijas Organiskās Sintēzes institūtā. Iegūtos oglekļa, slāpekļa, ūdeņraža un sēra rezultātus normalizēja pret pelnu saturu paraugos un skābekļa saturs aprēķināts empīriski.

4.2. Paraugu sagatavošana mikroelementanalīzēm

Apmēram 0,5g absolūti sausa frakcionēta parauga sasmalcināja līdz homogēnam maisījumam un, izmantojot analītiskos svarus, iesvēra PTFE autoklāvā, pierakstot precīzu masu. Paraugiem pievienoja 10 mL 70% HNO₃ (ACS reagent grade, *Fluka*). PTFE autoklāvus noslēdza un ievietoja mikroviļņu mineralizācijas iekārtā (Milestone Ethos Easy) un veica paraugu slapjo mineralizāciju. Mineralizācijas temperatūra – 180 °C; mineralizācijas laiks – 15 min. Pēc mineralizācijas autoklāvus atvēra un saturu filtrēja caur filtrpapīru un atšķaidīja līdz 50 mL ar ultratīru dejonizētu ūdeni (18,2 MΩ).

4.3. Mikroelementu analīze izmantojot ICP-OES

Mineralizētos egļu frakciju paraugus analizēja izmantojot *Thermo-Scientific iCAP 7000 series* induktīvi saistītās plazmas spektrometru, kas aprīkots ar optiskās emisijas detekciju. paraugu atšķaidīšanai izmantots ultratīrs dejonizēts ūdens un kā references materiāli izmantoti *Sigma-Aldrich Co* sertificēti references materiāli. kopumā noteikti 29 ķīmiskie elementi.

Mikroelementu kvantitatīvs saturs noteikts izmantojot ICP-OAS iekārtu un kopumā noteikti 29 elementi – Al; As; B; Ba; Be; Ca; Cd; Co; Cr; Cu; Fe; K; Li; Mg; Mn; Mo; Na; Ni; P; Pb; S; Sb; Se; Si; Sr; Ti; Tl; V; Zn. Šie mikroelementi ir sadalāmi 3 kategorijās – smagie un toksiskie elementi; galvenie mikroelementi un maznozīmīgie mikroelementi.

2. tabula. Smago metālu saturs egļu frakcijās pirms un pēc ekstrakcijas

Paraugs	As, μg/g	Cd, μg/g	Cr, μg/g	Ni, μg/g	Pb, μg/g	Co, μg/g	Cu, μg/g	Ti, μg/g	Tl, μg/g	Be, μg/g
ES ex	3,43	0,12	0,66	0,49	0,79	<0,2	2,25	3,17	<4	<0,008
ES neex	<2	<0,09	1,10	<0,3	<0,4	<0,2	2,21	4,93	<4	<0,008
EZ ex	<2	0,25	1,48	0,98	0,70	0,26	6,35	4,72	<4	<0,008
EZ neex	<2	<0,09	1,70	0,83	<0,4	0,38	6,82	5,80	<4	<0,008
EZal ex	4,50	0,18	0,84	0,54	0,49	0,29	3,32	3,45	<4	<0,008
EZal ex USS	5,65	0,11	1,55	0,33	0,68	<0,2	2,85	3,19	<4	<0,008
EZal neex	2,63	0,17	0,80	0,47	0,45	<0,2	2,85	3,07	<4	<0,008

2. tabulā attēlotas smago un toksisko metālu koncentrācijas egļu frakcijās un to ekstrahētajās sausā masā. Noteikts, ka neviens no elementiem nepārsniedz rekomendējamo smago metālu saturu augos, un tie ir dabiskā fona robežās. Tāpat nevienā no frakcijām netika identificēts tallijs un berilijs. Novērojamas arī nelielas svārstības šo elementu koncentrācijās pēc biomasas ekstrakcijas. Šīs izmaiņas ir niecīgas, kas neliecina, ka notiktu būtiska smago un toksisko metālu pārnese ekstrakcijas laikā.

3. tabula. Maznozīmīgo mikroelementu saturs egļu frakcijās pirms un pēc ekstrakcijas

Paraugs	Al, μg/g	Fe, μg/g	Mn, μg/g	Si, μg/g	Zn, μg/g	Ba, μg/g	Mo, μg/g	Sr, μg/g	Se, μg/g	V, μg/g
ES ex	44	77	1145	392	62	146	0,54	118	<5	<0,2
ES neex	87	139	1029	323	53	132	<0,4	110	<5	<0,2
EZ ex	91	75	231	160	91	119	<0,4	54	<5	0,27
EZ neex	121	118	209	164	81	106	<0,4	51	<5	<0,2
EZal ex	51	80	933	363	70	142	<0,4	102	<5	<0,2
EZal ex USS	38	130	477	395	61	137	<0,4	106	5,0	<0,2
EZal neex	46	74	922	399	65	139	0,51	108	<5	<0,2

3. tabulā attēloti mikroelementi, kas būtiski neietekmē koka bioloģiskos procesus. Novērojams, ka egļu skuļās ir 5 reizes augstāks mangāna saturs kā zaros, līdz ar to arī egļu zalenī, kur ~80% no masas sastāda skuļas. Līdzīgs novērojums veikts arī stroncijam, ka zaros ir 2 reizes augstāks šī elementa saturs.

Savukārt, attiecībā un elementu masas pārnesei ekstrakcijas gaitā, novērots, ka ir ievērojama alumīnija masas ekstrakcijas gaitā, skuju gadījumā masai pēc ekstrakcijas samazinoties 2 reizes un zaru gadījumā par ~25%. Līdzīga tendence novērojama dzelzs gadījumā. Citiem elementiem šāda masas pārnese nav novērota.

Selēns kvantificēts tikai egļu zalenī pēc ultraskaņas ekstrakcijas, molibdēns atrasts egļu skuļās pēc ekstrakcijas un egļu zalenī pirms ekstrakcijas. Tāpat vanādijs atrasts tikai ekstrahētos zaros. Šo elementu koncentrācijas ir nedaudz virs kvantificēšanas limita, kas neliecinātu par piesārņojumu.

Biogēnais silīcijs skuļās ir 2 reizes augstākā koncentrācijā kā zaros, kas liecina, ka bioakumulācijas pēdējais posms ir skuļas, kur uzkrājas visvairāk mikroelementu.

4. tabula. Galveno mikroelementu saturs egļu frakcijās pirms un pēc ekstrakcijas

Paraugs	Ca, µg/g	K, µg/g	Mg, µg/g	Na, µg/g	P, µg/g	S, µg/g
ES ex	16829	7146	1264	21	1663	833
ES neex	16004	6255	1105	<20	1568	752
EZ ex	6092	4414	1162	79	1198	461
EZ neex	6290	4074	1100	<20	1275	440
EZal ex	13958	6482	1233	31	1588	738
EZal ex USS	12390	7948	1018	34	1819	804
EZal neex	14925	6534	1224	34	1552	780

Egļu frakciju galveno mikroelementu saturs attēlots 4. tabulā. Novērots, ka egļu zaros ir zemāks mikroelementu saturs kā skuļās, kas apliecina, ka bioakumulācijas gaitā mikroelementi dominējoši uzkrājas skuļās. Novērots, ka visu galveno mikroelementu saturs pēc ekstrakcijas palielinās, kas skaidrojams ar ekstraktvielu zudumu biomasā, tādējādi mikroelementu saturam palielinoties uz absolūtu masas vienību, un šo elementu masas pārnesei ekstrakcijas gaitā nav novērojama.

Noteiks, ka egļu skuļās ir līdz pat 1,6% kalcija, kas skaidrojams ar vidi kādā egle augusi, precīzāk – augsni. Magnija, fosfora un kālija saturs egļu frakcijās saskan ar slovāku veikto pētījumu ⁹⁹ par Norvēģijas eglēs esošo mikroelementu saturu.

Salīdzinot makroelementu analīžu rezultātus ar ICP-OES rezultātiem, novērots, ka ICP-OES analīžu rezultāti uzrāda sēra saturu 0,4-0,8% apmērā no kopējās masas, savukārt ar kopējo makroelementu CHNSO metodi noteica, ka sēra saturs ir <0,01%. Tas skaidrojams ar ICP-OES metodes precizitāti mikroelementanalīzē, kā arī augsts sārmu metālu, piemēram, kālija saturs nelabvēlīgi ietekmē analīzes attiecībā uz makrokomponentu CHNSO metodi.

4.4. Egļu frakciju makroelementu noteikšana

5. tabulā attēloti pelnu saturs, kā arī CHNSO rezultāti, kas izteikti procentvienībās no kopējās paraugu masas gan ekstrahētām, gan neekstrahētām egļu skuju, zaru un zaleņa frakcijām. Gan skuju, gan zaleņa gadījumā pēc ekstrakcijas nedaudz pieaudzis pelnu saturs tajās, kas skaidrojams ar organisko ekstraktvielu zudumu pēc ekstrakcijas, tādējādi iekonzentrējot mikroelementus tajos, savukārt pelnu izmaiņas zaros ir nenozīmīgas neatkarīgi no ekstrakcijas.

Būtiskākās izmaiņas novērotas slāpekļa un oglekļa procentuālajā sastāvā, visos gadījumos tam palielinoties pēc skuju frakciju ekstrakcijas, kas skaidrojams ar oglekli bagātu ekstraktvielu, kas nesatur slāpekli, aizvākšanu no biomasas. Novērots, ka egļu zalenī pēc ekstrakcijas ar ultraskaņas stieni slāpekļa saturs palielinājies aptuveni 2,5 reizes, savukārt oglekļa saturs samazinājies par ~5%, salīdzinot ar neekstrahētu egļu zaleņa paraugu, kas liecina, ka ekstrakcija ar augstas enerģijas ultraskaņas stieni ir efektīva. Līdzīgas tendences novērojamas arī egļu skujās un zaros. Turklāt, ar šo metodi noskaidrots, ka sēra saturs paraugos ir zem noteikšanas robežas.

Egļu frakcijām veikts HHV (*angl. Higher Heating Value*) aprēķins balstoties uz literatūrā izvērtētu vienotu formulu ⁹⁸, kas parāda biomasas īpatnējo siltumietilpību megadžoulos uz 1 kilogramu sausas biomasas. Novērots, ka ekstrahētām frakcijām visos gadījumos īpatnējā siltumietilpība samazinās pēc ekstrakcijas, savukārt zaleņa, kas ekstrahēts ar ultraskaņas stieni, ir zemāka HHV vērtība salīdzinot ar zaleņi, kas ekstrahēts ar ultraskaņas vannu. Tas skaidrojams ar oglekļa bilances samazinājumu ekstrakcijas laikā, kā rezultātā palielinās skābekļa procentuālais saturs biomasā. Šīs izmaiņas skaidrojamas ar oglekli bagātu ekstraktvielu aizvākšanu no biomasas, kas satur maz, vai nesatur skābekli un slāpekli.

5. tabula Egļu ekstrahētu un neekstrahētu zaru, skuju un zaleņa frakciju CHNSO rezultāti

Paraugs	N, %	C, %	H, %	S, %	O, %
Egļu zari	0,73	49,66	6,30	<0,01	43,30
Egļu zari ekstr. USV	0,81	48,38	6,17	<0,01	44,63
Egļu skujas	0,89	51,74	6,63	<0,01	40,74
Egļu skujas ekstr. USV	1,89	49,23	6,00	<0,01	42,88
Egļu zalenis	0,88	51,41	6,54	<0,01	41,17
Egļu zalenis ekstr. USV	1,21	49,17	6,19	<0,01	43,42
Egļu zalenis ekstr. USS	2,02	46,56	5,62	<0,01	45,80

* USV – ultraskaņas vanna; USS – ultraskaņas stienis

5. BIOMASAS EKSTRAKCIJA UN FRAKCIONĒŠANA

Jāatzīmē, ka būtiski ir sākotnēji noskaidrot piemērotāko metodi un šķīdinātāju skuju ekstrahēšanai.

5.1. Egļu skuju un zaru ekstrakcijas metožu efektivitātes noteikšana

Karsēšanas metode. 20 mL headspace pudelītēs ar korķi uz analītiskajiem svariem iesvēra sagatavoto biomasu (1 g). Biomasai pievienoja 10 mL šķīdinātāja un ekstrahēja paaugstinātā temperatūrā (vārīšanās temp. + 5°C). Pēc ekstrakcijas biomasu filtrēja ar kroku filtru un mazgāja divas reizes ar 10 mL attiecīgo šķīdinātāju. Iegūtos ekstrakcijas šķīdumus iekonzentrēja izmantojot rotācijas ietvaicētāju un kvantitatīvi pārnesa headspace pudelītēs.

ASE metode. 15 mL šūnā uz analītiskajiem svariem iesvēra sagatavoto biomasu (2 g). Biomasu ekstrahēja izmantojot konstantu šūnas temperatūru (90°C), ciklu skaitu (4 cikli) un cikla ilgumu (5 min). Pēc ekstrakcijas iegūtos šķīdumus iekonzentrēja izmantojot rotācijas ietvaicētāju un kvantitatīvi pārnesa headspace pudelītēs.

USV metode. 20 mL headspace pudelītēs uz analītiskajiem svariem iesvēra sagatavoto biomasu (1 g). Biomasai pievienoja 10 mL šķīdinātāju sistēmu un ekstrahēja ultraskaņas vannā 30 min. Pēc ekstrakcijas izspiednes filtrēja ar kroku filtru. Nofiltrētās biomasas daļiņas, kas atradās uz filtrpapīra, pārnesa atpakaļ pudelē, lai palielinātu iegūtā ekstrakta daudzumu. Ekstrakcijas atkārtoja 3 reizes un ūdeni ultraskaņas vannā mainīja 10 minūšu intervālā, lai izvairītos no ekstrakcijas šķīduma sasilšanu.

5.2. Paraugu ekstrakcija ar propilēnglikolu, glicerīnu, un zemajiem spirtiem

Ekstrakcija maisot. 100 mL stikla burciņās ar korķi uz analītiskajiem svariem iesvēra 5 g parauga un pievienoja 50 g šķīdinātāja. Maisīšana tika nodrošināta ar *Biosan* maisītāju 24h, 180 rpm. Pēc ekstrakcijas maisījumu filtrēja izmantojot kroku filtru. Zemo spirtu šķīdumus ietvaicēja un žāvēja 40°C slāpekļa plūsmā.

USV metode. 100 mL burciņās ar korķi uz analītiskajiem svariem iesvēra sagatavoto biomasu (5 g). Biomasai pievienoja 50 g šķīdinātāju sistēmu un ekstrahēja ultraskaņas vannā 30 min. Pēc ekstrakcijas izspiednes filtrēja ar kroku filtru. Nofiltrētās biomasas daļiņas, kas atradās uz filtrpapīra, pārnesa atpakaļ pudelē, lai palielinātu iegūtā ekstrakta daudzumu. Ekstrakcijas atkārtoja 3 reizes un ūdeni ultraskaņas vannā mainīja 10 minūšu intervālā, lai izvairītos no ekstrakcijas šķīduma sasilšanu.

Karsēšanas metode. 100 mL stikla burciņās ar korķi uz analītiskajiem svariem iesvēra sagatavoto biomasu (2,5 g). Biomasai pievienoja 25 mL šķīdinātāja un ekstrahēja paaugstinātā temperatūrā (60°C, 80°C, 100°C un 120°C). Pēc ekstrakcijas biomasu filtrēja ar kroku filtru.

5.3. Egļu zaru un skuju kopējo ekstraktu iznākumi

Egļu zaru un skuju ekstrakcija tika veikta izvēloties 12 dažādus organiskos šķīdinātājus: zaļie šķīdinātāji (1-butanols, dimetilkarbonāts, 3-pentanoāts, propilacetāts, etilpropanoāts, izopropilacetāts),

rekomendētie šķīdinātāji (tert metilbutilēteris, acetons, etilacetāts, izopropanols), problemātiskie šķīdinātāji (dihlormetāns, heksāns).

Salīdzinot soksleta un maisīšanas ekstrakcijas metodes iespējams novērot ievērojamu ekstrakcijas iznākuma pieaugumu ar soksleta metodi. Skuju ekstrakcijas gadījumā ar soksleta metodi iespējams palielināt iegūtā ekstrakta pieaugumu pat 9-15 reizes ar heksānu un 1-butanolu (6. attēls), bet skuju ekstrakcijā ekstrakcijas lielākais pieaugums novērojams 6,5 reizes ar 1-butanols (7. attēls).

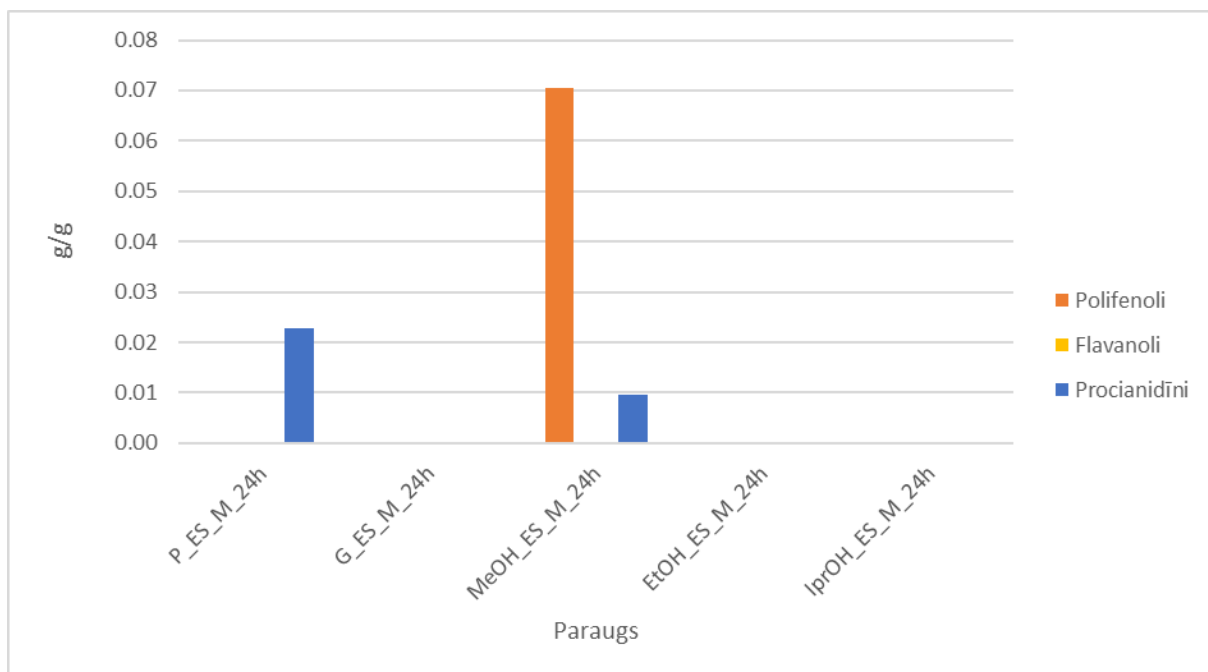
Ekstrakcijā ar maisīšanas metodi skuju un zaru ekstraktvielu daudzums nepārsniedz 9g/100g sausa materiāla (vidēji skujām 3,9g ekstrakta/100g sausa materiāla, vidēji zariem vidēji skujām 4,2g ekstrakta/100g sausa materiāla), bet ar soksleta metodi iespējams iegūt līdz pat 44g/100g sausa materiāla (vidēji skujām 17,9g ekstrakta/100g sausa materiāla, vidēji zariem vidēji skujām 9,3g ekstrakta/100g sausa materiāla).

Ekstrakcijā ar karsēšanas, ultraskaņas un ASE metodi iespējams palielināt ekstrakcijas iznākumu egļu skuju ekstraktiem salīdzinājumā ar maisīšanas metodi līdz pat aptuveni 3 reizēm 1-butanola gadījumā, bet 1,5 reizēm tert metilbutilētera gadījumā (8. attēls). Egļu zaru ekstrakcijas laikā ar iepriekš minētajām metodēm novērota līdzīga tendence salīdzinājumā ar maisīšanas metodi (izņemot 1-butanols un izopropanols). 1-butanola un izopropanola gadījumā ekstrakcijas iznākumu bija iespējams palielināt 1,5-2 reizes (9. attēls).

Lai labāk varētu izvērtēt kura ekstrakcijas metode un šķīdinātāji ir piemērotāki vēlamu vielu ekstrakcijai nepieciešams veikt ekstrakcijas metožu optimizāciju.

Maisīšanas metode. Maisīšana ir vienkāršākā un lētākā no ekstrakcijas metodēm, bet tā nevar nodrošināt augstus ekstrakcijas iznākumus. Strādājot ar viskozākiem šķīdumiem propilēnglikolu un itīpaši glicerīnu iespējams novērot to, ka ekstrakcijas process ir neefektīvs, jo nav iespējams nodrošināt biomasas un šķīdinātāja sajaukšanos. Problemātiska ir arī glicerīna un propilēnglikola filtrācija istabas temperatūrā. Sagatavotos ekstrakcijas šķīdumus un ekstraktus analizēja ar dažādām spektrofotometriskajām metodēm: vielu grupas (polifenoli, flavanoli, procianidīni), antiradikālās (DPPH) un oksidatīvās metodes (FRAP, CUPRAC).

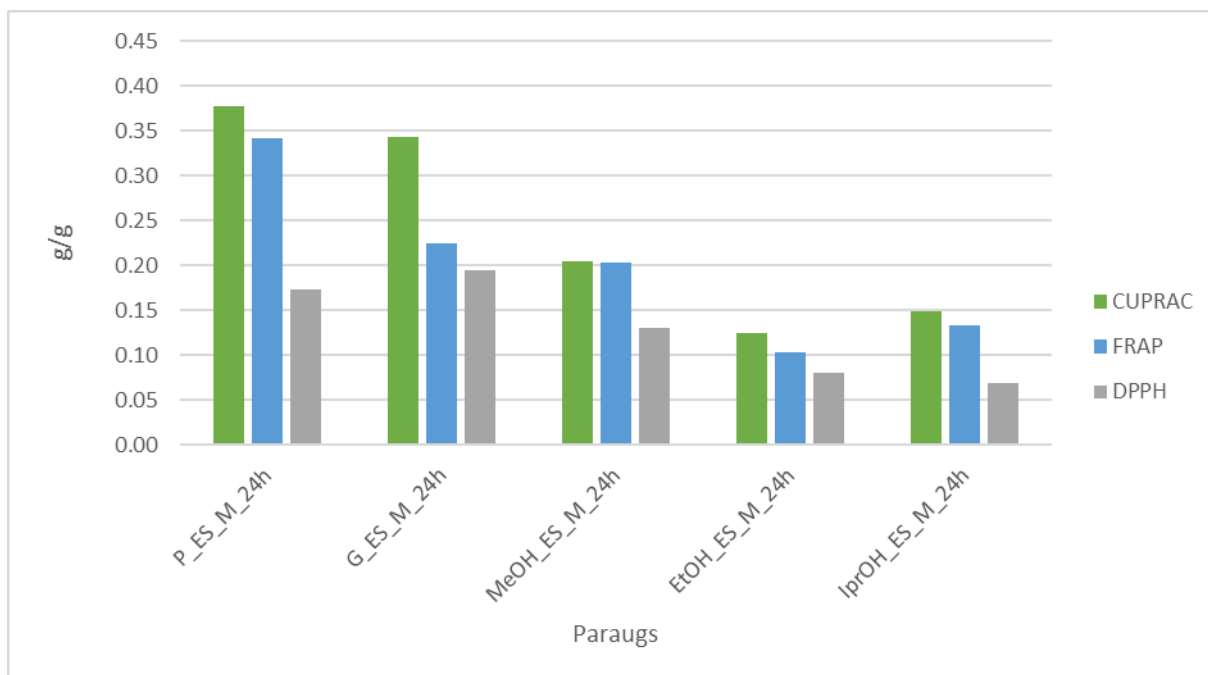
Kā labākais šķīdinātājs egļu skuju ekstrakcijā ar maisīšanas metodi ir MeOH kura sastāvā ir 0,07 g/g ekstrakta polifenolu un 0,01 g/g procinidīnu. Propilēnglikola ekstraktā tika atrasti 0,02 g/g ekstrakta procianidīnu. Iegūtais rezultāts pierāda kāpēc itīpaši EtOH un IprOH ekstrakti slikti šķīda 25% EtOH. Iespējams egļu skujās ir daudz lipofilu savienojumu, kas konkurē ar polārajiem savienojumiem, neļaujot tiem ekstrahēties polārajos šķīdinātājos (10. attēls).



5. att. Egļu skuju ekstrakcija ar maisīšanas metodi.

Iegūtais ekstrakcijas vielu iznākums norādīts gramos uz g ekstrakta, kur P (propilēnglikols), G (glicerīns), ES (egļu skujas) M (maisīšanas metode)

Kā labākie šķīdinātāji bioloģiski aktīvu savienojumu ekstrakcijā ir propilēnglikols un glicerīns, kas spēj nodrošināt ekstrakta augstāku aktivitāti līdz pat 2 reizēm salīdzinājumā ar MeOH un 2,5 reizēm augstāku par EtOH un IprOH (7. attēls).

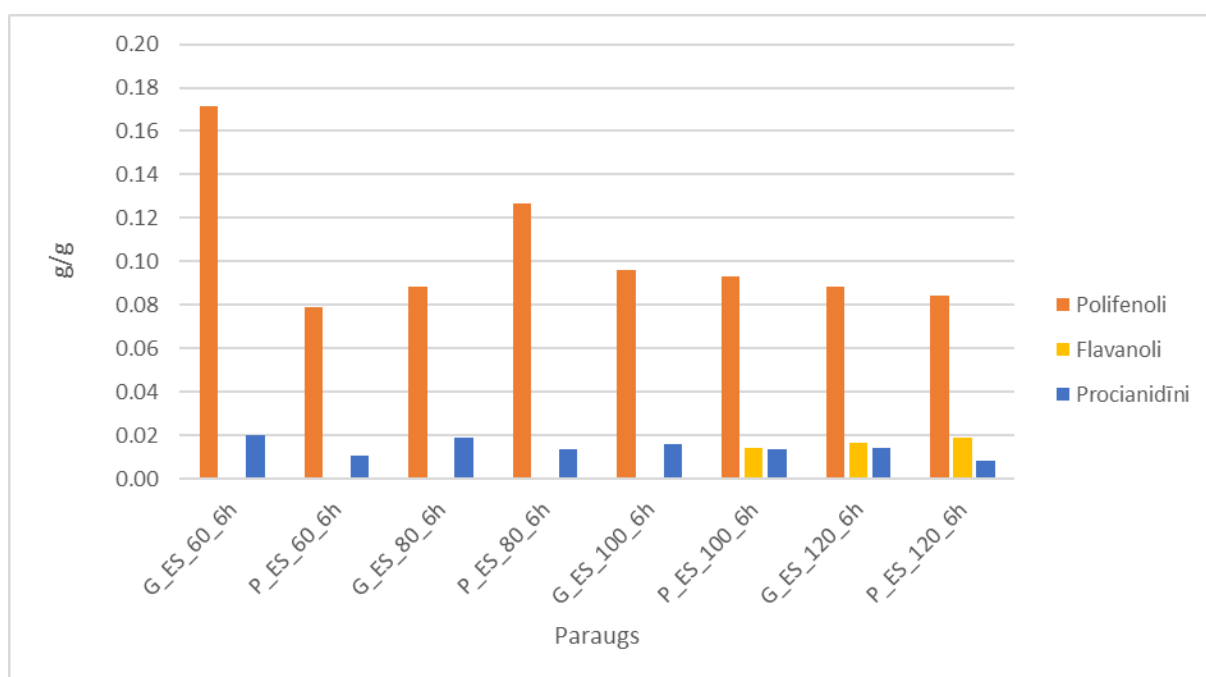


6. att. Egļu skuju ekstrakcija ar maisīšanas metodi.

Iegūtais ekstrakcijas vielu iznākums norādīts Troloks ekv. uz g ekstrakta, kur P (propilēnglikols), G (glicerīns), ES (egļu skuju) M (maisīšanas metode)

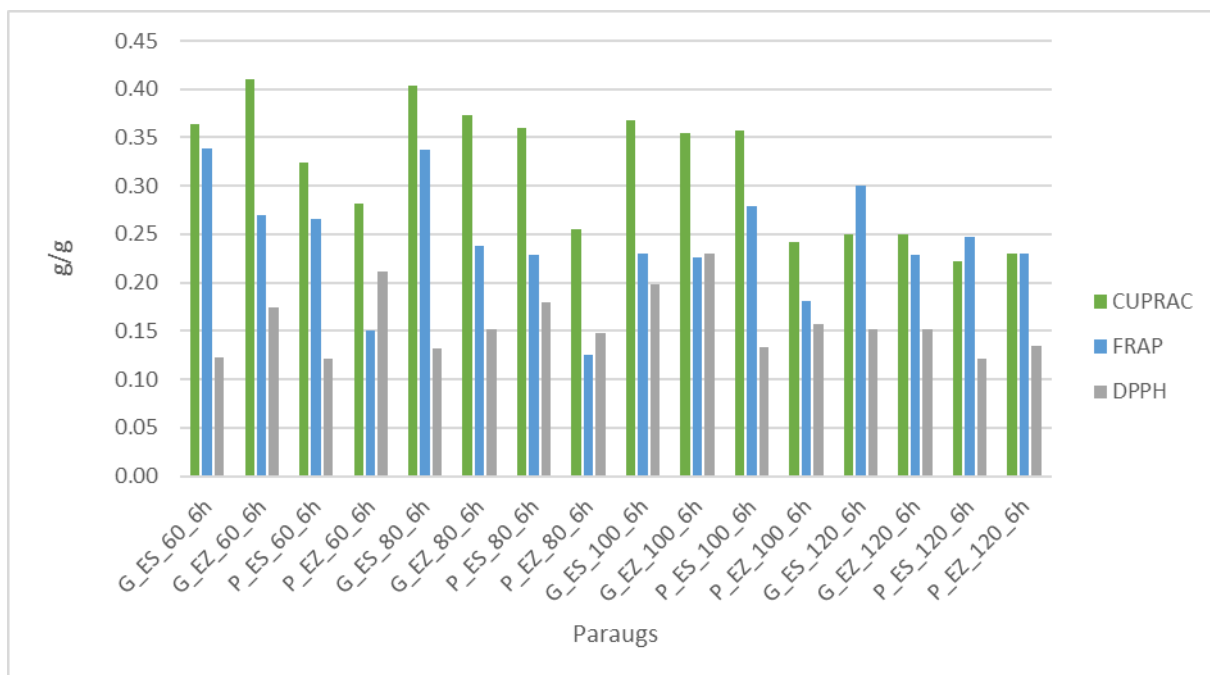
Karsēšanas metode. Karsēšanas metodes priekšrocība salīdzinājumā ar maisīšanas metodi ir iespēja samazināt glicerīna un propilēnglikola viskozitāti, kas uzlabo ekstrakcijas efektivitāti. 8. attēlā redzams, ka ievērojami ir palielinājusies polipropilēne polifenolu ekstrakcijas efektivitāte (1,5 reizes) 80°C. Ievērojami ir palielinājusies arī glicerīna ekstrakcijas efektivitāte 0,085-0,17 g/g. 100°C un 120°C ir palielinājusies arī flavanolu koncentrācija ekstraktā.

Iegūtajiem egļu skuju un zaru ekstraktiem tika veikti antioksidatīvo un antiradikālo metožu rezultāti, kas būtiski neatšķīrās no maisīšanas metodes rezultātiem. Tika novērots, ka palielinoties temperatūrai samazinās CUPRAC un FRAP antioksidatīvo metožu efektivitāte. Tas varētu būt skaidrojams ar bioloģiski aktīvu, bet termiski nestabilu savienojumu degradāciju (9. attēls).



7. att. Egļu skuju ekstrakcija ar karsēšanas metodi 60-120°C.

Iegūtais ekstrakcijas vielu iznākums norādīts gramos uz g ekstrakta, kur P (propilēnglikols), G (glicerīns), ES (egļu skuja).

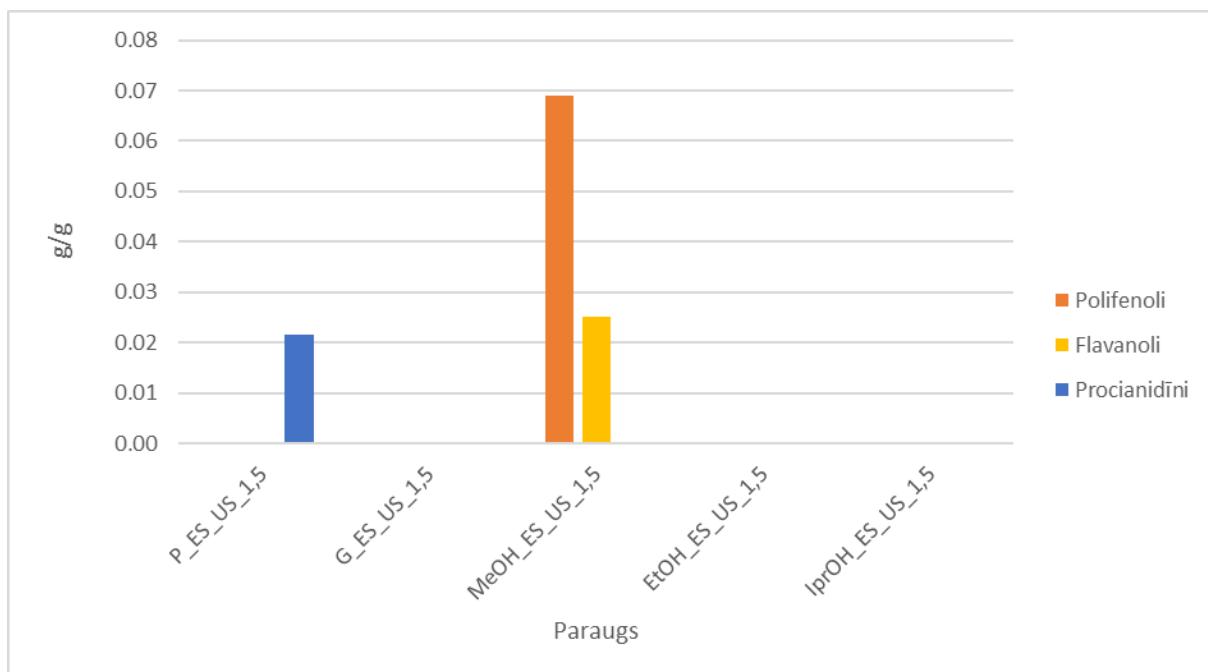


8. att. Egļu skuju ekstrakcija ar karsēšanas metodi.

Iegūtais ekstrakcijas vielu iznākums norādīts Troloks ekv. uz g ekstrakta, kur P (propilēnglikols), G (glicerīns), ES (egļu skujas), EZ (egļu zari).

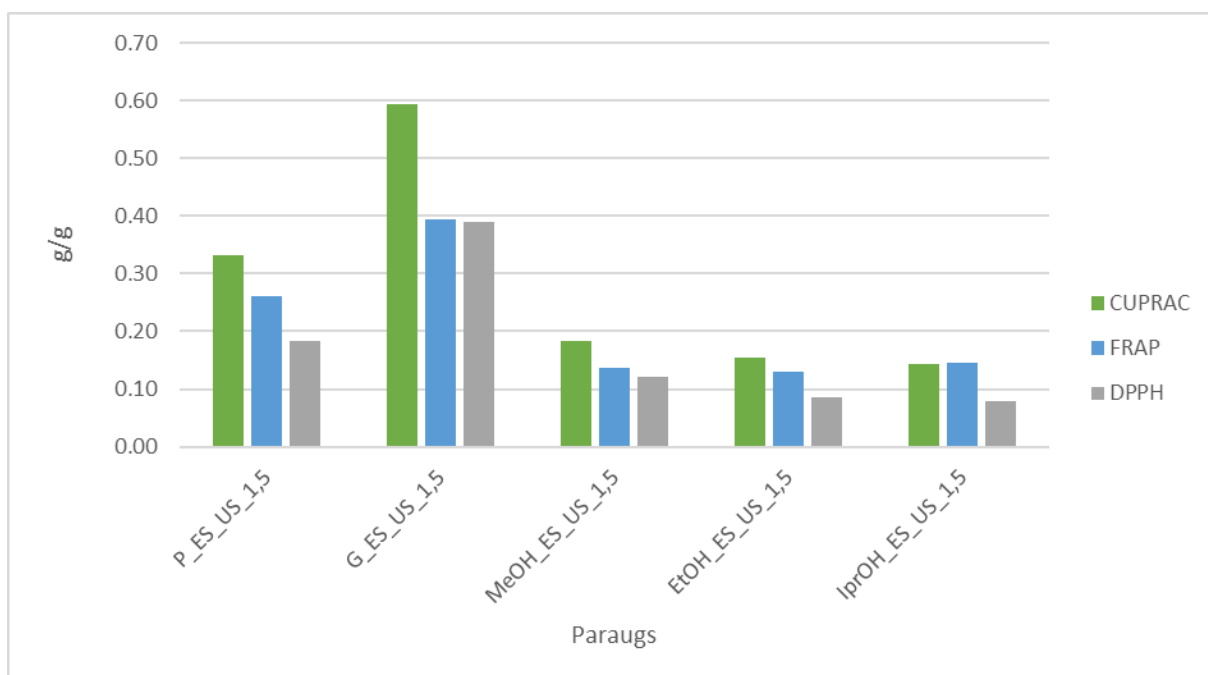
Ultraskaņas metode. Līdzīgi kā maisīšanas metodē vielu grupu koncentrācijas ekstraktos ir zemas, ka varētu būt saistīts ar lipofīlu savienojumu pārkāpumu egļu skujās un zaros. Augstākā polifenolu koncentrācija novērojama MeOH paraugā 0,069 g/g, bet flavanolu 0,025 g/g. Propilēnglikola ekstrakts satur 0,021 g/g procianidīnus (10. attēls). Augstāko antiradikālo un antioksidatīvo kapacitāti iespējams novērot glicerīna egļu skuju paraugā 0,39-0,59 g/g. Salīdzinājumā ar citām līdz šim izmantotajām metodēm tieši ultraskaņas sniedz aukstāko ekstrakta aktivitāti. Jāatzīmē arī tas, ka ultraskaņas metodei ir nepieciešams lielāks šķīdinātāju daudzums, jo ekstrakciju atkārtoti trīs reizes.

Jāatzīmē arī tas, ka veicot ekstrakciju ar ultraskaņu, pēc kāda laika ekstraktvielas izgulsnējas no šķīdinātāja. Iespējams ekstraktvielas ir piesātinājušas šķīdinātāju un ir sasniegušas šķīdības maksimumu.



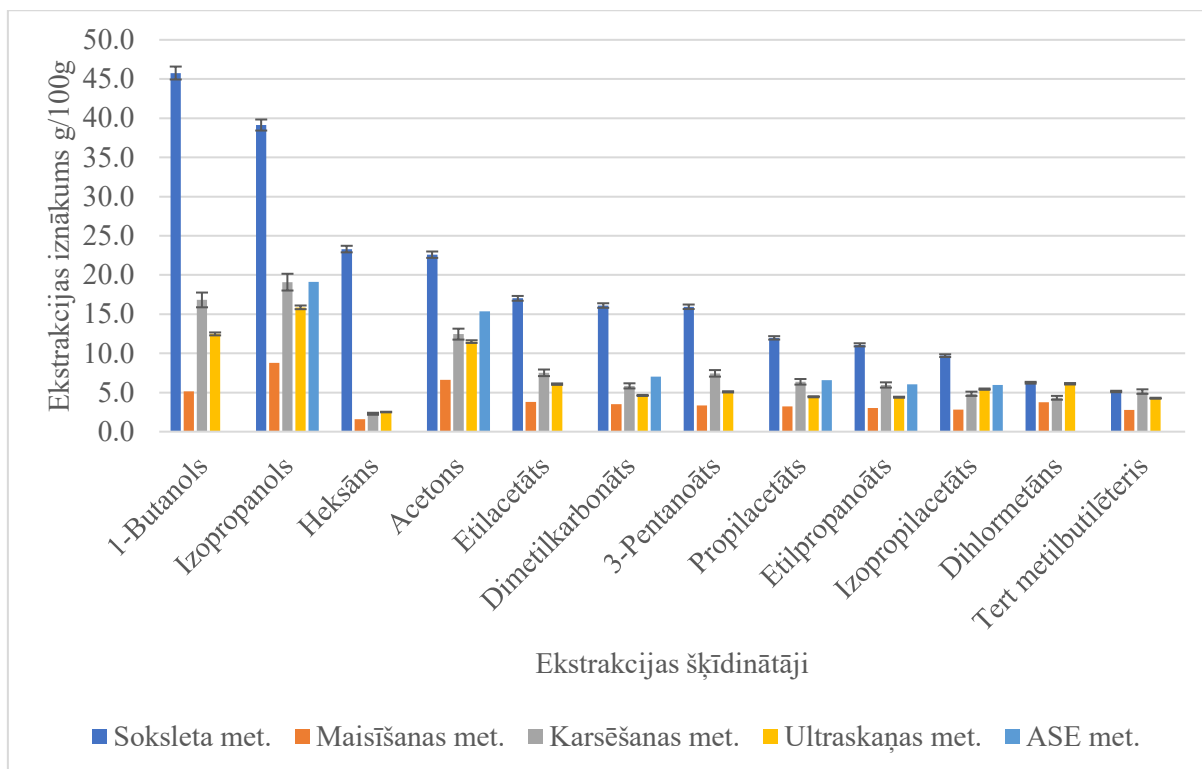
9. att. Egļu skuju ekstrakcija ar ultraskaņas metodi.

Iegūtais ekstrakcijas vielu iznākums norādīts Troloks ekv. uz g ekstrakta, kur P (propilēnglikols), G (glicerīns), ES (egļu skujas), EZ (egļu zari).

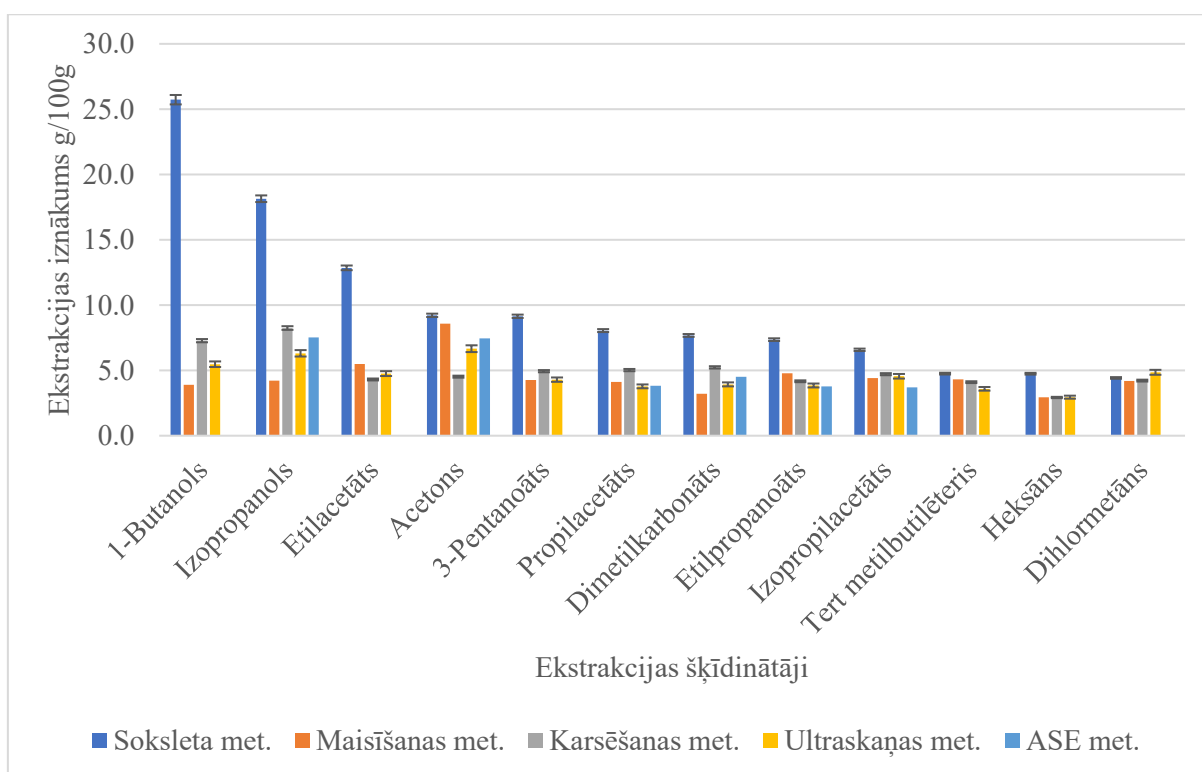


10. att. Egļu skuju ekstrakcija ar ultraskaņas metodi.

Iegūtais ekstrakcijas vielu iznākums norādīts Troloks ekv. uz g ekstrakta, kur P (propilēnglikols), G (glicerīns), ES (egļu skujas), US (ultraskaņas metode).



11. att. Egļu skuju ekstrakcija ar dažādām metodēm un organiskajiem šķīdinātājiem.
Iegūtais ekstrakcijas iznākums norādīts gramos ekstraktvielu uz 100g sausu skuju



12. att. Egļu zaru ekstrakcija ar dažādām metodēm un organiskajiem šķīdinātājiem.
Iegūtais ekstrakcijas iznākums norādīts gramos ekstraktvielu uz 100g sausu zaru

5.4. Sintētisko humusvielu izdalīšana

Pēc hidrotermālās karbonizācijas 0,65 M KOH šķīdumā, 25 mL sintētisko humusvielu (SHV) filtrātu kvantitatīvi pārnesa 100 mL Erlenmeijera kolbā, pievienoja 1 mL 37% HCl, lai izgulsnētu sintētiskās humīnskābes (SHS). Izgulsnētās humīnskābes filtrēja caur kroku filtru un skaloja ar dejonizētu ūdeni līdz neitrālai vides reakcijai. Neitralizētās SHS žāvēja 105°C laboratorijas žāvskapī 4h, sasmalcināja pietā un uzglabāja tālākām analīzēm.

5.5. Kopējo procianidīnu analīze ar DMAC ¹⁰²

Kalibrēšanas taisnes šķīdumu sagatavošana. No pagatavotā epikatehīna standartšķīduma (41,3 µg/mL) 10 mL mērkolbās pagatavoja deviņus kalibrēšanas šķīdumus koncentrāciju diapazonā 6,88-41,3 µg/mL. Kā tukšo paraugu izmantoja metanolu. Pēc iegūto datu apstrādāšanas ieguva kalibrēšanas taisni ar korelācijas koeficientu $R^2 = 0,998$, taisnes vienādojumu $y = 28,9x - 0,0257$, metodes LOD (3µg/mL) un LOQ (9µg/mL).

Analīzes procedūra. Pirms analīzes veikšanas iegūtos ekstraktus izšķīdināja 25% EtOH. Ekstraktu un standartšķīdumus filtrēja izmantojot 0,45 µm PTFE filtrus.

Izmantojot mikropipeti, 96 bedrīšu platītē pārnesa 50 µL šķīdumu (paraugu, standartšķīdumu vai tukšo paraugu) un pievienoja 150 µL DMAC reaģentu. Katram paraugam, standartšķīdumam un šķīdinātāja sistēmai veica 4 atkārtojumus.

Izmantotās aparatūras parametri:

- Tecan 96 plakandibena bedrīšu PP plate ar PS vāku;
- Maisīšana 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Kinētiskais laiks 30 min ar kinētisko intervālu 1 min;
- Absorbcijas mērījumi pie 640 nm ar viena punkta nolasīšanu un 7 mērījumiem.

5.6. Kopējo polifenolu analīze ar FC reaģentu ¹⁰³

Kalibrēšanas taisnes šķīdumu izveidošana. No pagatavotā galluskābes standartšķīduma (203 µg/mL) 10 mL mērkolbās pagatavoja deviņus kalibrēšanas šķīdumus koncentrāciju diapazonā 13,5-203 µg/mL. Kā tukšo paraugu izmantoja 96% etanolu. Pēc iegūto datu apstrādāšanas ieguva kalibrēšanas taisni ar korelācijas koeficientu $R^2 = 0,9993$, taisnes vienādojumu $y = 11,3x + 0,133$, metodes LOD (10µg/mL) un LOQ (40µg/mL).

Analīzes procedūra. Pirms analīzes veikšanas iegūtos ekstraktus izšķīdināja 25% EtOH. Ekstraktu un standartšķīdumus filtrēja izmantojot 0,45 µm PTFE filtrus.

Ar mikropipeti, 96 bedrīšu platītē pārnesa 50 µL šķīdumu (paraugus, standartšķīdumus vai šķīdinātāju sistēmu kā tukšo paraugu) un pievienoja 85 µL FC reaģentu. Pēc 20 min inkubācijas pievienoja 65 µL 7,5% Na₂CO₃ šķīdumu. Katram paraugam, standartšķīdumam un šķīdinātāja sistēmai veica 4 atkārtojumus.

Izmantotās aparātūras parametri:

- Tecan 96 plakandibena bedrīšu PP plate ar PS vāku;
- Maisīšana sākumā, 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Inkubācija 20 min;
- Maisīšana pēc 7,5% Na₂CO₃, 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Inkubācija 9 min;
- Maisīšana 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Absorbcijas mērījumi pie 765 nm, vairāku punktu apla veida mērīšanas metode (3·3, 1000 μm, 15 mērījumi bedrītē).

5.7. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar DPPH reaģentu ¹⁰⁴

Kalibrēšanas taisnes šķīdumu sagatavošana. No pagatavotā troloksa standartšķīduma (208 μg/mL) 10 mL mērkolbās pagatavoja septiņus kalibrēšanas šķīdumus koncentrāciju diapazonā 10,4-52,0 μg/mL. Kā tukšo paraugu izmantoja 96% etanolu. Pēc iegūto datu apstrādāšanas ieguva kalibrēšanas taisni ar korelācijas koeficientu $R^2=0,9993$, taisnes vienādojumu $y=14,3x+0,00929$, metodes LOD (5 μg/mL) un LOQ (16 μg/mL).

Analīzes procedūra. Pirms analīzes veikšanas iegūtos ekstraktus izšķīdināja 25% EtOH. Ekstraktu un standartšķīdumus filtrēja izmantojot 0,45 μm PTFE filtrus.

Izmantojot mikropipeti, 96 bedrīšu platītē pārnesa 50 μL šķīdumu (paraugu, standartšķīdumu vai tukšo paraugu) un pievienoja 150 μL DPPH reaģentu. Katram paraugam, standartšķīdumam un šķīdinātāja sistēmai veica 4 atkārtojumus.

Izmantotās aparātūras parametri:

- Tecan 96 plakandibena bedrīšu PP plate ar PS vāku;
- Maisīja 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Inkubācija 9 min;
- Maisīja 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Absorbcijas mērījumi pie 517 nm, vairāku punktu apla veida mērīšanas metode (3·3, 1000 μm, 15 mērījumi bedrītē).

5.8. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar FRAP reaģentu

Kalibrēšanas taisnes šķīdumu sagatavošana. No pagatavotā troloksa standartšķīduma (208 μg/mL) 10 mL mērkolbās pagatavoja deviņus kalibrēšanas šķīdumus koncentrāciju diapazonā 3,87-46,4 μg/mL. Kā tukšo paraugu izmantoja 96% etanolu. Pēc iegūto datu apstrādāšanas ieguva kalibrēšanas taisni ar korelācijas koeficientu $R^2=0,9998$, taisnes vienādojumu $y=18,9x-0,0746$, metodes LOD (2 μg/mL) un LOQ (8 μg/mL).

Analīzes procedūra. Pirms analīzes veikšanas iegūtos ekstraktus izšķīdināja 25% EtOH. Ekstraktu un standartšķīdumus filtrēja izmantojot 0,45 μm PTFE filtrus.

Izmantojot mikropipeti, 96 bedrīšu platītē pārnesa 40 µL šķīdumu (paraugu, standartšķīdumu vai tukšo paraugu) un pievienoja 160 µL FRAP darba šķīdumu. Katram paraugam, standartšķīdumam un šķīdinātāja sistēmai veica 4 atkārtojumus.

Izmantotās aparatūras parametri:

- Tecan 96 plakandibena bedrīšu PP plate ar PS vāku;
- Maisīšana 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Inkubācija 30 min, 37,0±0,5°C;
- Maisīšana, 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Absorbēcijas mērījumi pie 593 nm, vairāku punktu apla veida mērīšanas metode (3·3, 1000 µm, 15 mērījumi bedrītē).

5.9. Antiradikālās aktivitātes noteikšana ar CUPRAC reaģentu

Kalibrēšanas taisnes šķīdumu sagatavošana. No pagatavotā troloksa standartšķīduma (208 µg/mL) 10 mL mērkolbās pagatavoja deviņus kalibrēšanas šķīdumus koncentrāciju diapazonā 12,0-208 µg/mL. Kā tukšo paraugu izmantoja 96% etanolu. Pēc iegūto datu apstrādāšanas ieguva kalibrēšanas taisni ar korelācijas koeficientu $R^2=0,9994$, taisnes vienādojumu $y=7,59-0,0724x$, metodes LOD (13 µg/mL) un LOQ (45 µg/mL).

Analīzes procedūra. Pirms analīzes veikšanas iegūtos ekstraktus izšķīdināja 25% EtOH. Ekstraktu un standartšķīdumus filtrēja izmantojot 0,45 µm PTFE filtrus.

Izmantojot mikropipeti, 96 bedrīšu platītē pārnesa 40 µL šķīdumu (paraugu, standartšķīdumu vai tukšo paraugu) un pievienoja 160 µL CUPRAC darba šķīdumu. Katram paraugam, standartšķīdumam un šķīdinātāja sistēmai veica 4 atkārtojumus.

Izmantotās aparatūras parametri:

- Tecan 96 plakandibena bedrīšu PP plate ar PS vāku;
- Maisīšana 2 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Inkubācija 56 min;
- Maisīšana, 2 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Absorbēcijas mērījumi pie 450 nm, vairāku punktu apla veida mērīšanas metode (3·3, 1000 µm, 15 mērījumi bedrītē).

5.10. Flavanoīdu noteikšana ar AlCl₃ metodi

Kalibrēšanas taisnes šķīdumu sagatavošana. No pagatavotā kvercētīna standartšķīduma (171 µg/mL) 10 mL mērkolbās pagatavoja deviņus kalibrēšanas šķīdumus koncentrāciju diapazonā 19,0-171 µg/mL. Kā tukšo paraugu izmantoja 96% etanolu. Pēc iegūto datu apstrādāšanas ieguva kalibrēšanas taisni ar korelācijas koeficientu $R^2=0,9997$, taisnes vienādojumu $y=10,5x-0,0325$, metodes LOD (9 µg/mL) un LOQ (30 µg/mL).

Analīzes procedūra. Pirms analīzes veikšanas iegūtos ekstraktus izšķīdināja 25% EtOH. Ekstraktu un standartšķīdumus filtrēja izmantojot 0,45 µm PTFE filtrus.

Izmantojot mikropipeti, 96 bedrīšu platītē pārnesa 50 µL šķīdumu (paraugu, standartšķīdumu vai tukšais paraugs) un pievienoja 150 µL flavonoīdu darba šķīdumu. Katram paraugam, standartšķīdumam un šķīdinātāja sistēmai veica 4 atkārtojumus.

Izmantotās aparātūras parametri:

- Tecan 96 plakandibena bedrīšu PP plate ar PS vāku;
- Maisīšana 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Inkubācija 28 min;
- Maisīšana, 1 min, orbitāla ar amplitūdu 2 mm;
- Absorbcijas mērījumi pie 415 nm, vairāku punktu apļa veida mērīšanas metode (3·3, 1000 µm, 15 mērījumi bedrītē).

5.11. Puskvantitatīva ekstraktvielu masas koncentrācijas noteikšanas metode glicerīna un propilēnglikola ekstraktiem

Kalibrēšanas taisnes šķīdumu sagatavošana. No pagatavotajiem egļu skuju un zaru EtOH ekstraktiem izveidoja kalibrācijas grafiku koncentrāciju diapazonā 12,5-400 µg/mL. Kā tukšo paraugu izmantoja 96% etanolu.

Analīzes procedūra. Pirms analīzes veikšanas 180 mg iegūtā glicerīna vai propilēnglikola ekstrakta izšķīdināja 96% EtOH. Ekstraktu un standartšķīdumus absorbcijas mērījumi tika veikti pie 254 nm.

6. CIETĀ ATLIKUMA PIROLĪTISKĀ SADALĪŠANA, KOKOGLE

Vispirms, pirms uzsākta pirolītiskā sadalīšana un iegūta kokogle, ir nepieciešams noskaidrot minerālo vielu daudzumu izejmateriālā (skujās). Cietā atlikuma noteikšanai izmanto gan ekstrahēti, gan neekstrahētus egļu skuju, zaru un zaleņa paraugus. Uz analītiskajiem svariem apmēram 1 g parauga iesvēra porcelāna tīģeļos un ievietoja laboratorijas žāvkapī 105 °C temperatūrā uz 4h, lai atbrīvotos no mitruma un iegūtu absolūti sausu materiālu. Pēc žāvēšanas paraugu ar tīģeli nosvēra vēlreiz un pēcāk ievietoja mufelkrāsnī (Nabertherm B180) un paraugus pārpalnoja pie 550 °C temperatūras 4h. Pēc karsēšanas paraugus atdzesēja līdz istabas temperatūrai un nosvēra uz analītiskajiem svariem. Pēc svēršanas veica pelnu satura aprēķinu.

6. tabula. Egļu zaru, skuju, zaru koksnes minerālvielas un iegūstamā siltuma jauda.

Paraugs	Pelni, %	HHV, MJ/kg
Egļu zari	3,06	20,21
Egļu zari ekstr. USV	2,94	19,48
Egļu skujas	6,14	21,52
Egļu skujas ekstr. USV	7,58	19,63
Egļu zalenis	6,04	21,26

Egļu zālenis ekstr. USV	6,63	19,81
Egļu zālenis ekstr. USS	6,26	17,96

7. CIETĀ ATLIKUMA BIOLOĢISKĀ KONVERSIJA

Oktobra beigās Gorumet Industries SIA, saņēma no Biolat SIA ražotnes ekstrahēto skuju cieta atlikumu. Atlikums bija ~ 9 mēnešus pakļauts savvaļas organismu ietekmei. Substrātā detektētas sēņu izcelsmes organismi. Organisms pavairots un saglabāts uz petri platēm. Ekstrahēto skuju cieta atlikumu fermentācijas laiks ir bijis, aptuveni 9 mēneši. Ekstrahēto skuju cieta atlikumu ekstrahēja ar 1% koksnes pelnu šķīdumu. Paralēli ekstrahēto skuju cieta atlikumu ekstrahēja ar 1% kālija hidroksīda (KOH) šķīdumu. Abas ekstrakcijas pielāgotas, lai sasniegtu maksimālo sausnes saturu ekstraktā. Ekstrakta sausnes saturs ir apkopots 7. tabulā.

7. tabula. Ekstrakta sausnes saturs

Ekstrahēts ar:	Sausnes % ekstraktā no savvaļas materiāla
Koksnes pelni	3,5
KOH	3,2

Šādi ieguva divus dažādus ekstraktus. Ekstrahēto skuju cieta atlikumu ekstrahēja, lai salīdzinātu, vai pastāv atšķirība starp savvaļas kultūru un uzņēmuma kultivētām kultūru ekstrahēto skuju cieta atlikumu sadalīšanas spējām, kas ir nozīmīgi pie turpmākas biokultūras izvēles un tehnoloģijas ieviešanas ražošanas praksē. Tādēļ savvaļas kultūru atsevišķi izdalīja un pavairoja uz Petri platēm. Iespējams, ka tieši “pati daba” ir atradusi potenciāli vislabāko biokultūru, kas vislabāk pārstrādā ekstrahēto skuju cieta atlikumu. Tādēļ to pārbaudīts projekta turpmākajos pētniecības posmos. Plānots šo biokultūru identificēt, piesaistot Silavas zinātniekus.

Paralēli ekstrakcijai, jo tehnoloģiski tā aizņem ievērojamu laiku, jo jākontrolē barotņu attīstība un klimats, sterilitāte, tika pavairoti sēņu mikroorganismi *Trametes versicolor* (TV) un *Phlebiopsis gigantea* (PG) uz iesala-agara barotnēm Petri platēs. Pārskata periodā saražotas barotnes, lai inokulētu 20 kg substrāta. Kopumā ir izveidotas 8 dažādas mikroorganismu barotnes. Organismu pavairošana tiek turpināta, lai inokulētu lielākus substrāta daudzumus, ko iegūs projektā, un lai pārbaudītu mikroorganismu pārstrādes substrāta ietekmi uz kokaugu stādu attīstību. Iegūts svaigi ekstrahēts substrāts. To sadalīja divās daļās. Vienai daļai pievieno proteīna (P) /celulozes bāzes graudu atsijas un kalcija sulfāts (K), šīs vielas nepieciešamas pilnvērtīgai mikroorganismu augšanai. Tiks salīdzināts ar barotni, kurā nav pievienoti atsevišķās uzturvielas.

Barotnes turpmākajā projekta stadijā salīdzinās pasterizētā (S) un nepasterizētā (N) apstrādes ietekmi uz tās kvalitāti.

8. PUBLICITĀTES NODROŠINĀŠANA

Ir veikts publicitātes pasākums un projekta dalībnieki piedalījās starptautiskajā konferencē “Izmaiņas un risinājumi vides politikā ilgtspējīgai, klimatneitrālai ekonomikas attīstībai”, kas norisinājās 23.11.2023. LBTU. Starptautiskajā konferencē projekta dalībnieki uzstājās ar stenda referātu “Skuju zaļās biomasas pilna cikla pārstrāde augstvērtīgu izejvielu ķīmijas un farmācijas industrijai ieguvei”, kurā bija atspoguļoti projekta MP1 pārskata laikā iegūtie rezultāti (sīkāk 1. pielikums).



13. att. Publicitātes stenda referāts LBTU

SECINĀJUMI

1. Iegūtajam ekstraktvielu sastāvam zaleņa ekstraktos būs lielā mērā tāds pats kā skuju ekstraktos, jo skujas sastāda aptuveni 80% no zaleņa masas. Ņemot vērā, ka MP2 laikā skujas sagatavoja no Kurzemes ziemeļu mežaudzes, var secināt, ka būtiski neatšķiras skuju apjoms sagatavotajos egļu skuju paraugos.
2. Biorafinēšanas shēma ir piemērota tieši jaunajiem kokiem, kuru zaru masā lielāko daļu (~70%) veido skujas.
3. Iegūtajiem egļu skuju un zaru ekstraktiem iegūti antioksidatīvo un antiradikālo metožu rezultāti, kas būtiski neatšķīrās no maisīšanas metodes rezultātiem. Tika novērots, ka palielinoties temperatūrai samazinās CUPRAC un FRAP antioksidatīvo metožu efektivitāte. Tas varētu būt skaidrojams ar bioloģiski aktīvu, bet termiski nestabilu savienojumu degradāciju

Projekts tiek īstenots ar Eiropas Lauksaimniecības fonda lauku attīstībai Latvijas Lauku attīstības programmas 2014.-2020. gadam 16. pasākuma „Sadarbība” 16.1. apakšpasākuma "Atbalsts Eiropas Inovāciju partnerības lauksaimniecības ražīgumam un ilgtspējai lauksaimniecības ražīguma un ilgtspējas darba grupu projektu īstenošanai" atbalstu. Projekta attiecināmās izmaksas ir 446461,25 EUR, no tiem publiskais finansējums 401815,13 EUR apmērā. Vairāk informācijas par Eiropas Lauksaimniecības fondu lauku attīstībai pieejams Eiropas Komisijas tīmekļa vietnē - http://ec.europa.eu/agriculture/rural-development-2014-2020/index_lv.htm



PIELIKUMS



Skuju zaļās biomasas pilna cikla pārstrāde augstvērtīgu izejvielu ķīmijas un farmācijas industrijai ieguvei
Full-cycle processing of coniferous green biomass with high-value raw materials chemistry and for the pharmaceutical industry for extraction

**Uldis Grīnfelds, Mārtiņš Spāde, Āris Jansons, Kristaps Ozoliņš,
 Mārcis Mežulis*, Lauris Arbidans*,
 Latvijas Valsts mežzinātnes institūts "Silava", Latvijas Universitāte*
 uldis.grinfelds@silava.lv, aris.jansons@silava.lv**



Ievads / Introduction

Skuju zaļās biomasas biorafinēšana ar cirkulārās ekonomikas iezīmēm par augstvērtīgu izejvielu ķīmijas, farmācijas industrijai ieguvei, lai palielinātu meža vērtību, it sevišķi mežu pirmreizējās retināšanā (skat. 1.att.) iegūtajai biomasai, kas patreiz rada finansiālus zaudējumus meža īpašniekiem, atjaunojot mežu. Meža atjaunošanas izdevumi būtiski samazina meža īpašnieka / mežsaimnieka rentabilitāti, jo meža pirmreizējā retināšanas laikā izstrādātā biomasu netiek izmantota, un pēc tās nav pieprasījuma. Tādēļ izstrādāto biomasu atstāj jaunaudzē, kur to sapūdē. Zaļajai biomasai sadaloties, atbrīvojas CO₂, kas tiek atdots apkārtējā vidē un tas netiek piesaistīts vai kā citādi akumulēts. Tādēļ arī pirmreizējā meža retināšana ir CO₂ emisiju avots. Neskatoties uz iepriekš minētajām CO₂ emisijām, šī meža atstātā biomasu rada papildus risku ugunsbīstamībai un koku bojāejošo kukaiņu invāzijas palielināšanās risku. Pielietojot tikai biotehnoloģijas, kas rada pieprasījumu pēc šāda sortimenta sagatavošanas, kas reizē rada vairākus produktus, kam ir augsta pievienotā vērtība (pārtaika, farmācija, kūdras aizstājējamateriāls) ir iespējama šāda meža sortimenta izstrāde.



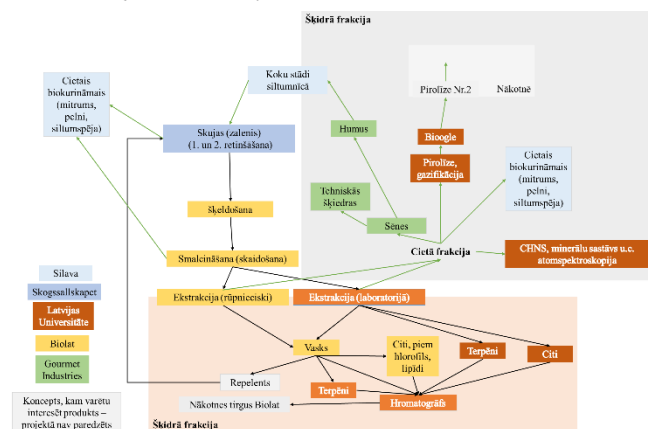
1. attēls. Egļu audzes pirmreizējās retināšana – zaļā resurs
 Figure 1. Spruce tree for first thinning – green mass resources

Materiāls un metodika / Materials and methods

Materiāls ir pirmreizējo retināšanas vecumu sasniegušas egļu audzes zālenis.

Eksperimentāli noteikt zālenī (skujās) esošās ekstraktvielas un tās raksturot.

Bioloģiski konvertēt zaļā cieto atlikumu pēc ekstrakcijas par kūdras aizvietošanas substrātu un tā pārbaude.



2. attēls. Zaļā biorafinēšanas principiālā shēma
 Figure 2. Basic scheme of green mass biorefinery

No sākotnējiem pētnieciskajiem darba uzdevumiem ir noskaidrot:

1. Zaru koksnes un skuju masas kompozīciju egļu zāros;
2. Noskaidrot efektīvāko ekstrakcijas metodi un šķīdinātāju, lai no zaļās masas izdalītu maksimāli daudz ekstrakta.

Zaru koksnes un skuju masas kompozīciju egļu zāros

Egļu skuju veido ievērojamu apjomu (pēc masas) egļu zaru zālenī (78,6%), savukārt, zaru koksne veido 21,4% piejaukumu egļu skujām.

1. tabula. Egļu skuju un zaru piejaukums egļu zālenī

tabele.1. Spruce needles and branch wood amount in branches

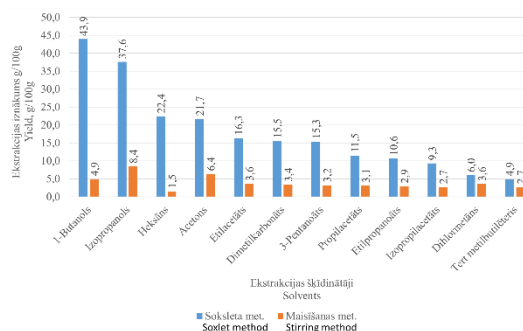
RETINĀŠANA	MATERIĀLS	MITRUMS, %	SASTĀVS ZĀLENĒ (MITRS MATERIĀLS), %	SASTĀVS ZĀLENĒ (SAUSN MATERIĀLS), %
THINNING	MATERIAL	MOISTURE, %	CONTENT IN GREEN MASS (WET CONDITION), %	CONTENT IN GREEN MASS (DRY CONDITION), %
PIRMREIZĒJĀ RETINĀŠANA	EGĻU SKUJAS NEEDLES	51,4±2,3	73,5	78,6
	EGĻU ZARI BRANCH	63,3±2,5	26,5	21,4
OTREIZĒJĀ RETINĀŠANA	EGĻU SKUJAS NEEDLES	55,0±2,1	33,4	37,2

Lai iegūtu tīrākus ekstraktus un palielinātu ekstrakcijas iekārtu ražību ir nepieciešama zaļā attīrīšana no zaru koksnes daļām. Šādi, var palielināt aptuveni par 20% ekstrakcijas iekārtu ražību un samazināt šķīdinātāja patēriņu.

Kā redzams 1. tabulā, pirmreizējā retināšanā iegūtā skuju masa ir būtiski vairāk, kā salīdzinot ar otreizējo retināšanas laikā iegūt skuju masu. Tas nozīmē, ka izraudzītais koka sortiments ir pareizs un ir ar perspektīvu izmantošanu ekstraktvielu iegūšanai.

Zaru koksnes un skuju masas kompozīciju egļu zāros

Egļu skuju veido ievērojamu apjomu (pēc masas) egļu zaru zālenī (78,6%), savukārt, zaru koksne veido 21,4% piejaukumu egļu skujām.



3. attēls. Egļu skuju ekstrakcijas metodes un šķīdinātāju salīdzinājums
 Figure 3. Comparison of spruce needles extraction methods and solvents

Salīdzinot sokleta un maisīšanas ekstrakcijas metodes iespējams novērot ievērojamu ekstrakcijas iznākuma pieaugumu ar sokleta metodi. Skuju ekstrakcijas gadījumā ar sokleta metodi iespējams palielināt iegūtā ekstrakta pieaugumu pat 9-15 reizes ar heksānu un 1 butanolu (3. att.).

Secinājumi / Conclusions

Egļu no pirmreizējās retināšanas mežaudzēm ir ar lielu zaļā biorafinēšanas potenciālu, ko nepieciešams attīstīt.

Spruce trees from first-time thinning stands have a high potential for green biorefining, which needs to be developed.