

NACIONĀLAIS
ATTĪSTĪBAS
PLĀNS 2020



EIROPAS SAVIENĪBA
EIROPA INVESTĒ LAUKU APVIDOS
Eiropas Lauksaimniecības fonds
lauku attīstībai

Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests

EIROPAS SAVIENĪBAS EIROPAS LAUKSAIMNIECĪBAS FONDA LAUKU ATTĪSTĪBAI (ELFLA)
LATVIJAS LAUKU ATTĪSTĪBAS PROGRAMMAS 2014.–2020.GADAM PASĀKUMA „SADARBĪBA”
16.1. APAKŠPASĀKUMS „ATBALSTS EIROPAS INOVĀCIJU PARTNERĪBAS LAUKSAIMNIECĪBAS
RAŽĪGUMA UN ILGTSPĒJAS DARBA GRUPU PROJEKTA ĪSTENOŠANAI”

PROJEKTA NR. 23-00-A01612 – 000007

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

ATSKAITE - KOPSAVILKUMS

Projekta īstenošanas periods: 01.05.2023. – 30.06.2025.

Kopējās projekta izmaksas: 450138,75 EUR

Informācijas sagatavotājs:

LVMI Silava

Projekta vadītājs: Uldis Grīnfelds

SILAVA, 2025

0.1. Projekta koordinators, vadošā partnera un sadarbības partneru kontaktinformācija	3
0.2. Vispārīgs darba grupas sadarbības partneru pienākumu, atbildības un veicamo darbību sadalījuma apraksts	4
0.3. Projekta mērķis un uzdevumi	5
1. BIOMASAS SAGĀDE	8
2. BIOMASAS FIZIKĀLO ĪPAŠĪBU RAKSTUROJUMS	8
3. BIOMASAS ĶĪMISKO ĪPAŠĪBU RAKSTUROJUMS	9
4.1. CHNSO analīzes	10
4.4. Egļu frakciju makroelementu noteikšana	12
4. BIOMASAS EKSTRAKCIJA	13
5.1. “Zaļo” šķīdinātāju izmantošanas potenciāla novērtēšana	14
5.2. Egļu skuju un zaru ekstrakcijas metožu efektivitātes noteikšana	15
5.3. Ekstraktu hidroksilgrupu aizvietošana ar BSTFA un GC-MS analīze	18
5.2. Paraugu ekstrakcija ar glicerīnu un propilēnglikolu	21
5. CIETĀ ATLIKUMA PIROLĪTISKĀ SADALĪŠANA, BIOOGLE	31
6. HUMUSVIELU IZDALĪŠANA UN TESTĒŠANA	31
7.1. Sintētisko humusvielu izdalīšana ar hidrotermālo metodi	33
7.2. Humusvielu izdalīšana ar skalošanas metodi	34
7.3. Pētījumā izmantotais zālenis un tā pirmapstrāde	35
7.4. Hidrotermālās humifikācijas apstākļi un sintētisko humusvielu sintēze	36
7.5. Sintētisko humusvielu analīze	36
7.6. Humīnskābju fizikāli-ķīmiskais raksturojums	37
7.7. Fulvoskābju un blakusproduktu šķīdumu analīze	38
7.8. Biomasas atkritumu hidrotermālās karbonizācijas optimizācija	39
7.9. Sintētisko humīnskābju elementsastāvs	43
7.10. Sintētisko humīnskābju funkcionālo grupu un īpašību raksturojums	47
7.11. Fulvoskābju un blakusproduktu šķīdumu analīze	60
7. BIOMASAS PILOTIEKĀRTĀS EKSTRAKCIJA UN FAKCIONĒŠANA	
PILOTIEKĀRTĀS	64
8. CIETĀ ATLIKUMA BIOLOĢISKĀ KONVERSIJA	66
9. HUMUSVIELU TESTĒŠANA	77
10. CIETĀS BIOMASAS SILTUMSPĒJAS NOTEIKŠANA	81
11. REPELENTA IZVEIDE AR SKUJU VASKU	82

KOPSAVILKUMS	84
SECINĀJUMI	85
PUBLICITĀTES NODROŠINĀŠANA.....	87

0. VISPĀRĪGI

0.1. Projekta koordinators, vadošā partnera un sadarbības partneru kontaktinformācija

Vadošais partneris

Silava

Pētnieks

Kontaktpersona

Vadošais pētnieks Uldis Grīnfelds

Tālruņa numurs

26134140

E-pasta adrese

uldis.grinfelds@silava.lv

Adrese:

Rīgas iela 111; Salaspils LV-2169

Tīmekļa vietne

silava.lv

Sadarbības partneri

Latvijas Universitāte

Pētnieks

Kontaktpersona

Vadošais pētnieks Māris Kļaviņš

Tālruņa numurs

29479430

E-pasta adrese

Maris.Klavins@lu.lv

Adrese:

Raiņa bulvāris 19; Rīga LV-1586

Tīmekļa vietne

lu.lv

Biolat SIA

Meža produktu pārstrādātājs

Kontaktpersona

Direktors Arvis Eisaks

Tālruņa numurs

22488883

E-pasta adrese

biolat@biolat.lv

Adrese:

Rīgas iela 111; Salaspils LV-2169

Tīmekļa vietne

biolat.lv

Gourmet Industries SIA

Mazais uzņēmums

Kontaktpersona

Direktors Mārtiņš Spāde

Tālruņa numurs

27418071

E-pasta adrese

martins.spade@gmail.com

Adrese:

Tilta iela 3; Sigulda LV-2150

Tīmekļa vietne

-

Skogssallskapet SIA

Mežsaimnieks

Kontaktpersona

Mežsaimniecības vadītāja Iveta Desaine

Tālruņa numurs

26126578

E-pasta adrese

iveta.desaine@skogssallskapet.com

Adrese:

Valmieras iela 20a; Cēsis LV-4101

0.2. Vispārīgs darba grupas sadarbības parteru pienākumu, atbildības un veicamo darbību sadalījuma apraksts

Projektā darba grupas sastāvā darbojās 5 sadarbības partneri no dažādām organizācijām un uzņēmumiem. Projekta budžets starp partneriem sadalīts proporcionāli katra partnera lomai un ieguldījumam projektā, taču sekmīgai projekta mērķa sasniegšanai būtiska bija katra partnera loma projektā, jo partneri pārstāv dažādas mežsaimniecības nozarē ieinteresētās puses. Vislielākais budžets projektā bija vadošajam partnerim, kurš papildus projekta rezultātu izstrādei nodrošināja arī projekta vispārējo koordinēšanu un sadarbību ar uzraugošajām iestādēm.

Silava projektā uzņēmās vadošā partnera pienākumus un sadarbībā ar pārējiem sadarbības partneriem nodrošināja projekta idejas un pieteikuma izstrādi un iesniegšanu, projekta aktivitāšu sekmīgu īstenošanu, kā arī nepieciešamo pārskatu un maksājuma pieprasījumu iesniegšanu uzraugošajai institūcijai. Silava nodrošināja procesus, lai sasniegtu projektā plānoto rezultātu sasniegšanu un sākotnējās projekta shēmas (skat. 1.1. att.) pārbaudi. Silava uzņēmās arī daļu zinātnisko pētījumu rezultātu iegūšanu un eksperimentālo pārbaudes laukumu ierīkošanu.

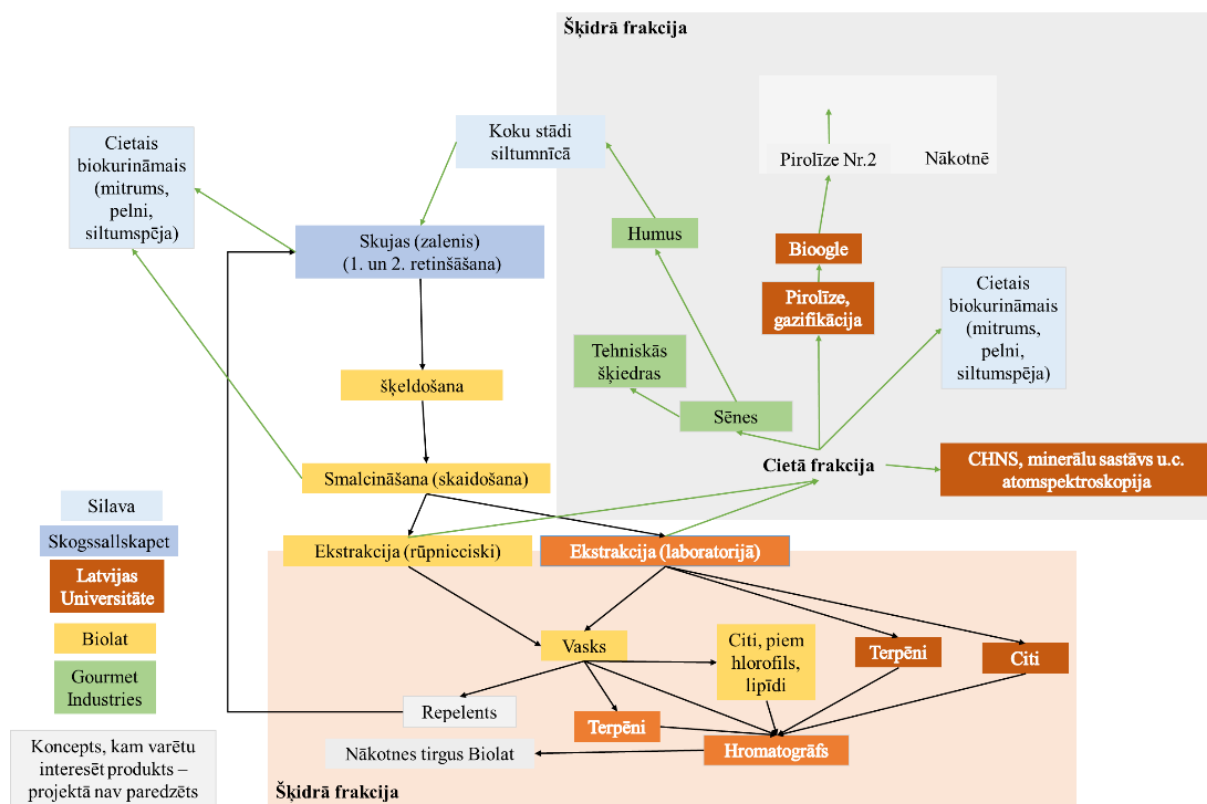
Latvijas Universitāte (LU) projektā uzņēmās sadarbības partnera pienākumus un sadarbībā ar pārējiem sadarbības partneriem nodrošināja projekta idejas projekta aktivitāšu sekmīgu īstenošanu: 1) veikt skuju un zaru manuālu atdalīšanu; 2) veikt skuju un zaru ekstrakciju ar dažādiem šķīdinātājiem; 3) veikt ekstrakcijas pārpalikumu pārstrādi sintētiskajās humusvielās. Sadarbības partneris veicis publikāciju izstrādi, kā arī piedalījies vietēja un starptautiska līmeņa konferencēs, kā arī starptautiskos pasākumos Somijā.

Biolat SIA veica zaleņa ekstrakciju pilotiekārtās un sagatavoja zaleņa ekstraktus to zinātniskajai izpētei. Biolat nodrošināja pētījuma dalībniekus ar skuju vaska apjoma iegūšanu, kas, pielietojot zinātnisko aparāturu nebūtu iespējams visa projekta laikā. Biolat SIA veica zinātnisko rezultātu pārbaudi ekstrakcijas pilotiekārtās.

Gourmet Industries SIA projektā veica ekstrahētās cietās frakcijas bioloģisko konversiju, pielietojot biokultūras. Pielietojot dažādas biokultūras un organisko vielu maisījumu, kā arī dažādas biokultūras audzēšanas režīmus identificēja optimālāko biokultūru maisījumu un metodi. Gourmet Industries veica arī humusvielu ekstrakciju pilotiekārtā, lai potenciāli pārbaudītu katlu māju pelnu pielietojumu humusvielu ieguvē, kas nākotnē būtiski samazinātu deponējamo pelnu apjomu no šķeldu kalnu mājām.

Skogssallskapet SIA projekta dalībniekus nodrošināja ar skuju izejmateriālu, to savlaicīgi piegādājot. Skogssallskapet sniedza pētījuma dalībniekiem praktisku ieskatu jaunaudzes kopšanas darbos, lai projekta dalībniekiem būtu lielāka izpratne par skuju zaleņa sagatavošanas un jaunaudzes aizsardzības problemātiku.

Tā kā pētījums ir visnotaļ plašs un ar vairāku potenciālo produktu zinātnisko izstrādi, projekta dalībnieki izveidoja projekta pētījuma shēmu, norādot praktiskās izpildes atbildības robežas. Viegļākai komunikācijai un saziņai ar uzraudzības institūciju shēmu papildināja ar krāsu simboliem, kas norādīja attiecīgās sadaļas izpildes progresu.



1.1. att. Projekta principiālā shēma

0.3. Projekta mērķis un uzdevumi

Skuju zaļās biomasas biorafinēšana ar cirkulārās ekonomikas iezīmēm par augstvērtīgu izejvielu ķīmijas, farmācijas industrijai ieguvei, lai palielinātu meža vērtību, it sevišķi mežu pirmreizējās retināšanās iegūtajai biomasai, kas patreiz rada finansiālus zaudējumus meža īpašniekiem, atjaunojot mežu. Meža atjaunošanas izdevumi būtiski samazina meža īpašnieka / mezsaimnieka rentabilitāti, jo meža pirmreizējās retināšanas laikā izstrādātā biomasa netiek izmantota, un pēc tās nav pieprasījuma.

Projekta mērķis

Skuju zaļās biomasas biorafinēšana ar cirkulārās ekonomikas iezīmēm par augstvērtīgu izejvielu ķīmijas, farmācijas industrijai ieguvei, lai palielinātu meža vērtību.

Izveidot sadarbību starp meža īpašniekiem, meža apsaimniekotājiem, biorafinēšanas uzņēmumiem, zinātni un inovatīvu gala produktu ražotājiem, kuri izmanto dabīgas vielas (kosmētika, uztura bagātinātāji, pārtika un ķīmijas un farmācijas industrija).

Iegūt kūdras aizstājējmateriāla prototipu.

Projekta uzdevumi – aktivitātes

Projekta uzdevumi – aktivitātes ir apkopotas 1.1. tabulā. Atskaite veidota tā, lai katra nodaļa atspoguļotu katru aktivitāti.

1.1. tabula

Projekta uzdevumi

Projekta darbība	Darbības apraksts	Rezultāts	Atzīme par izpildi
Biomases sagāde	Biomases izstrāde no jaunaudzēm	Biomasa pieejama pētījumiem	Veikts. Apraksts 2. nodaļā
Biomases raksturojums	Biomases fizikālo īpašību noteikšana	Biomases (zaleņa) fizikālo īpašību, sezonalitātes ietekmes izpēte	Veikts. Apraksts 3. nodaļā
Biomases ķīmiskais raksturojums	Biomases ķīmiskā sastāva noteikšana	Biomases (zaleņa) ķīmisko īpašību, sezonalitātes ietekmes izpēte	Veikts. Apraksts 4. nodaļā
Biomases un aktīvo vielu raksturojums	Izdalīto vielu kvalitātes raksturojums	Iegūto ekstrakcijas materiālu starpproduktu raksturojums	Veikts. Apraksts 5. nodaļā
Cietā atlikuma pirolītiskā sadalīšana, bioogle	Bioogles iegūšanas režīmu izstrāde un materiālu raksturojums	Iegūtās bioogles un starpproduktu materiālu raksturojums	Veikts. Apraksts 6. nodaļā
Biomases ekstrakcija un frakcionēšana	Šķīstošo savienojumu izdalīšana no biomasas	Dažādi šķīdumi, optimālā biomasas sagatavošanas režīmu noteikšana	Veikts. Apraksts 7. nodaļā

Projekta darbība	Darbības apraksts	Rezultāts	Atzīme par izpildi
Biomases ekstrakcija un frakcionēšana pilotiekārtās	Šķīstošo savienojumu lielu apjomu izdalīšana no biomasas	Dažādi šķīdumi, sagatavota sausnes bioloģiskai konversijai	Veikts. Apraksts 8. nodaļā
Cietā atlikuma bioloģiskā konversija	Testa apjoma kūdras aizstājējmateriāla iegūšana	Optimālo sēņu kultūru saraksts, konversijas režīmu noteikšana	Veikts. Apraksts 9. nodaļā
Cietā atlikuma bioloģiskā konversija eksperimentālā ražotnē	Testa apjoma kūdras aizstājējmateriāla iegūšana	Optimālo sēņu kultūru saraksts, konversijas režīmu noteikšana	Veikts. Apraksts 9. nodaļā
Kūdras aizstājējmateriāla sākotnējā testēšana	Kūdras aizstājējmateriāla potenciāla pārbaude	Koku stādu pieauguma raksturlīkne, aizstājējmateriāla raksturojums	Veikts. Apraksts 10. nodaļā
Informācijas izplatīšanas pasākumi (pasākumi, publikācijas, konferences)	Informācijas izplatīšanas pasākumi	3 SCI publikācijas, dalība 8 konferencēs un 2 starptautiskos pasākumos, pasākums meža īpašniekiem	Veikts. Apraksts nodaļā Publicitātes nodrošināšana

1. BIOMASAS SAGĀDE

2023. gada 23.augustā visi projekta sadarbības partneri tikās SKOGSSALLSKAPET rīkotajā meža jaunaudžu apsekošanā un veica zaleņa izstrādi (SKOGSSALLSKAPET pārraudzītajos mežos, Pelēču pagastā).

Laikā, kad kokaugiem saslēdzas zaru vainagi, ir nepieciešama to retināšana, ko veic izņemot atsevišķus kokaugus. Tas nepieciešams, lai kokaugi savā starpā viens otru nesavainotu un neļautu veidoties brūcēm, kas var piesaistīt insektus vai koku noārdošās sēnes un jaunā mežaudze izaugtu par spēcīgu kokaudzi.

Tā kā lielākajai daļai sadarbības partneru šos darbus veica pirmo reizi, tad mežsaimniecības nozares speciālistu SKOGSSALLSKAPET kompetences ļoti noderēja gan pie kokaugu izvēles, gan pie skuju izstrādes, lai tās būtu piemērotas rūpnieciskajai ekstrakcijai Biolat reaktoros.

Biolat pārstāvji atzinīgi novērtēja sagatavoto jaunaudzes zaru kvalitāti, ko ietekmē zaru caurmērs (rekomendējoši ir zaru koksne ar caurmēru līdz 6 mm) (skat. 2.2. att.)

LU un Silavas pētnieki sagatavoja atsevišķus maisus ar skujām, ko nogādāja attiecīgo pētniecisko institūciju saldētavās, lai uzglabātu šos resursus maksimāli nemainīgos apstākļos un tie nezaudētu savu bioloģisko kvalitāti.

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

Skujas periodiski sagatavoja un Biolat ražotnei piegādāja SKOGSSALLSKAPET, iepriekš vienojoties ar Biolat pārstāvjiem par skuju piegādēm (2.4. att.).

SKOGSSALLSKAPET sagatavoja un piegādāja svaigas egļu skujas, lai pētnieki tos izmantotu ekstraktvielu noteikšanai, kā arī Biolat ražotnei, rūpnieciskai egļu vasku iegūšanai, ko plānots pielietot koku stādu aizsardzības līdzekļa prototipa izveidei.

No biomasas pārstrādes Biolat ražotnes pētījuma laikā sagādāja arī pārstrādāto (ekstrahēto) skuju cietais atlikums, lai iegūtu izejmateriālu vēl barotņu izstrādei (2.6. att.).

2. BIOMASAS FIZIKĀLO ĪPAŠĪBU RAKSTUROJUMS

Egļu zaleņa skuju un zaru sastāvs

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
	Egļu zaru koksne	45,3±2,5	62,3	62,8

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 3.1. tabulā.

Kā redzams 3.1. tabulā, tad lielākā atšķirība vērojama pirmreizējās un otrreizējās retināšanai pakļautajām egļēm. 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 otrreizējās retināšanas egļu skujas izmantotu pētījumā piedāvātajai biorafinēšanas shēmai, ir nepieciešams sagatavot vairāk zaru koksnes un rūpīgāk veikt skuju atdalīšanu no zaru koksnes. Patreiz otrreizējai retināšanai pakļautās egles nav piemērotas, salīdzinot ar pirmreizējai retināšanai pakļautajām egļu mežaudzēs iegūtajām egļu skujām.

Novērtējot egļu stumbru formu un kvalitāti, tad jāatzīmē, ka pēc egļu izvākšanas no jaunaudzēs, to stumbru daļa ir piemērota papīrmalkas sortimentu sagatavošanai (tievgaļa caurmērs >6cm), kas var radīt papildu ienākumu meža apsaimniekotājiem, piekopjot piedāvāto egļu biorafinēšanas principu. Šeit gan jāatzīmē, ka no praktiskā viedokļa ir iespējama arī stumbra koksnes sasmalcināšana cietajam biokurināmajam. Tādēļ potenciālās izstrādātās stumbra koksnes pārstrādes un realizācijas veidu nosaka koksnes resursu sagatavošanas iespējas un realizācijas cena, kā arī meža augšanas apstākļi un izvēlētie stādi, ko pētījuma dalībnieki projektā detalizēti neapskata.

Veicot skuju mitruma analīzi 2024. gada sezonā, var secināt, ka skuju mitrumu visbūtiskāk nosaka tās vecums – 1. gada vecumā egļu skujas ir vismitrākās un sasniedz 57% mitrumu. Taču, ievērtējot sezonālītātes ietekmi, skuju mitrums ir visaugstākais ir pavasarī un vasaras sākumā, un tas sasniedz $55\pm 2\%$, turpretim, skujām nobriestot, tas nokrītas līdz $48\pm 3\%$. Jāpiemin, ka skuju mitrums mainās sezonāli – viszemākais tas ir jūlijā un augustā. Šeit gan jāatzīmē, ka paaugstinātais mitrums skujās nozīmē arī palielinātu vielmaiņu, kas savukārt, aktīvāk noris tieši 1. gada skujās.

3. BIOMASAS ĶĪMISKO ĪPAŠĪBU RAKSTUROJUMS

Paraugu sagatavošana ķīmisko īpašību raksturošanai. Tajā pašā dienā paraugus nogādāja Latvijas Universitātē un žāvēja žāvskapī 48 h 50°C temperatūrā. Sausnas paraugus sadalīja frakcijās (zari, skujas) un noteica to masas attiecību. Iegūtās frakcijas smalcināja asmeņu dzirnavās un frakcionēja

ar 1 mm, 2 mm un 3 mm sietu. Pēc paraugu frakcionēšanas tika iegūtas divas lieluma frakcijas (<1 mm un 1-2 mm), kas tika uzglabātas -20°C tālākiem eksperimentiem.

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

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 ekstr.	3,43	0,12	0,66	0,49	0,79	<0,2	2,25	3,17	<4	<0,008
ES neekstr.	<2	<0,09	1,10	<0,3	<0,4	<0,2	2,21	4,93	<4	<0,008
EZ ekstr.	<2	0,25	1,48	0,98	0,70	0,26	6,35	4,72	<4	<0,008
EZ neekstr.	<2	<0,09	1,70	0,83	<0,4	0,38	6,82	5,80	<4	<0,008
EZal ekstr.	4,50	0,18	0,84	0,54	0,49	0,29	3,32	3,45	<4	<0,008
EZal ekstr. USS	5,65	0,11	1,55	0,33	0,68	<0,2	2,85	3,19	<4	<0,008
EZal neekstr.	2,63	0,17	0,80	0,47	0,45	<0,2	2,85	3,07	<4	<0,008

4.1. 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.

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

Savukārt, attiecībā un elementu masas pārnesi 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 skuju 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.

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 ekstr.	44	77	1145	392	62	146	0,54	118	<5	<0,2
ES neekstr.	87	139	1029	323	53	132	<0,4	110	<5	<0,2
EZ ekstr.	91	75	231	160	91	119	<0,4	54	<5	0,27
EZ neekstr.	121	118	209	164	81	106	<0,4	51	<5	<0,2
EZal ekstr	51	80	933	363	70	142	<0,4	102	<5	<0,2
EZal ekstr. USS	38	130	477	395	61	137	<0,4	106	5,0	<0,2
EZal neekstr.	46	74	922	399	65	139	0,51	108	<5	<0,2

* ES – Egļu skuja; EZ – egļu zari; ekstr. – ekstrahēts; neekstr. – neekstrahēts; USS – ultraskaņas stienis; EZal – egļu zalenis

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

Egļu frakciju galveno mikroelementu saturs attēlots 4.3. tabulā. Novērots, ka egļu zaros ir zemāks mikroelementu saturs kā skujās, kas apliecina, ka bioakumulācijas gaitā mikroelementi dominējoši uzkrājas skujās. 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 pārnese ekstraktā ekstrakcijas gaitā nav novērojama.

Noteiks, ka egļu skujās 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 par Norvēģijas eglēs esošo mikroelementu saturu.

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 ekstr.	16829	7146	1264	21	1663	833
ES neekstr.	16004	6255	1105	<20	1568	752
EZ ekstr.	6092	4414	1162	79	1198	461
EZ neekstr.	6290	4074	1100	<20	1275	440
EZal ekstr.	13958	6482	1233	31	1588	738
EZal ekstr. USS	12390	7948	1018	34	1819	804
EZal neekstr.	14925	6534	1224	34	1552	780

* ES – Egļu skuja; EZ – egļu zari; ekstr. – ekstrahēts; neekstr. – neekstrahēts; USS – ultraskaņas stienis; EZal – egļu zalenis

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

4.4. tabulā attēloti pelnu satura, 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, kas parāda biomasas īpatnējo siltumietilpību megadžoulos uz 1 kilogramu (MJ/kg) 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 zalenī, 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.

4.4. 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 zālenis	0,88	51,41	6,54	<0,01	41,17
Egļu zālenis ekstr. USV	1,21	49,17	6,19	<0,01	43,42
Egļu zālenis ekstr. USS	2,02	46,56	5,62	<0,01	45,80

* USV – ultraskaņas vanna; USS – ultraskaņas stienis

4. BIOMASAS EKSTRAKCIJA

Veicot egļu skuju zāleņa ekstrakciju datu apkopojumu Biolat ražotnē, ir iegūtas ļoti aptuvenas ražotnes vielu iznākumi, jo precīzus datus apgrūtinā iegūt ražotnē izmantotās tehnoloģijas īpatnības – zāleņa uzskaites tilpuma vienībās, ko nosaka LV biomasas uzskaites likumdošana, biomasas nehomogēniskums, zaru un gružu piejaukums. Biolat ražotnē režīmus nodrošina lielā mērā operatora kompetence un pieredze, nevis automātika, tādēļ ir iegūto datu plaša variācija. Tuvināta zāleņa ekstrakcijas iznākumi ir apkopoti 5.1. tabulā.

5.1. tabula

Ekstrahēto vielu iznākumi Biolat ražotnē

Produkts	Vienība	Patērētais zālenis uz vienu vienību, kg	Smalcinātās skuju tilpums, L	Nesmalcinātu zaru tilpums, L
Skuju vasks	1kg	50±5	200±5	500±20
Skuju ekstrakts	1 Litrs	2.5±0.3	10±0.5	25±4

Kā redzams 5.1. tabulā, lai saražotu 1kg skuju vaska, ir nepieciešams pārstrādāt ap 200l smalcinātās egļu skuju, kas norāda, ka egļu skuju vaska ražošana var būt iespējama, ja papildus no skužām izdala papildus ekstraktvielas, kā arī ja izdalītajam vaskam tiek identificēts potenciāls pielietojums ar augstu pievienoto vērtību.

Skuju ķīmiskie parametri atspoguļo sezonālās vielmaiņas izmaiņu. Literatūrā aprakstīts, ka polifenolu saturs (piemēram, proantociānīdīni, flavonoli) sasniedz maksimumu vasaras sākumā, kamēr terpēnu (monoterpēni, seskviterpēni) koncentrācija ir izteikti augsta vasaras vidū (*Picea abies* ēterisko eļļu pētījumos monoterpēnu īpatsvars sasniedz 72 % aprīlī, bet samazinās līdz 45–50 % rudenī). Šeit gan jāatzīmē, ka pavasarī skuju satur vairāk brīvo cukuru, kas ir labvēlīgi mikrobiālai konversijai.

Literatūras dati apliecina, ka arī klimata pārmaiņu apstākļos sezonālie rādītāji var būtiski mainīties – siltākas ziemas un sausāki pavasari veicina fenola uzkrāšanos, savukārt ilgstoši lietaini periodi samazina ekstraktu kvalitāti. Optimālākais ieguves laiks bioaktīvo vielu ekstrakcijai ir vēlāis pavasaris līdz vasaras vidum.

5.1. “Zaļo” šķīdinātāju izmantošanas potenciāla novērtēšana

Tradicionālajiem un perspektīvajiem "zaļajiem" šķīdinātājiem ir atšķirīga ietekme uz vidi, kā arī atšķirīgas darbības īpašības, kā parādīts 5.2. tabulā. Visnegatīvākā šķīdinātāju ietekme (trīskāršs "-") ir vērojama attiecībā uz to pārstrādi un uzliesmojamību/izplūšanu. Tādi šķīdinātāji kā izopropanols, dihlormetāns un acetons negatīvi ietekmē atkritumu pārstrādi saistībā ar to lietošanu. Tāpat tādi šķīdinātāji kā MBTE un heksāns rada ievērojamu risku attiecībā uz uzliesmošanas un sprādzienbīstamību, kas var radīt nopietnas sekas darba drošībai un tehnoloģijas ieviešanai ražošanā.

5.2. tabula

Modificētais GlaxoSmithKline šķīdinātāju ilgtspējas ceļvedis – šķīdinātāju saraksts

Šķīdinātājs	Dabai draudzīgs	Veselība	Reaktivitāte / stabilitāte	Uzliesmojamība / eksplozija	Dzīves ciklu aprīte	Šķīdinātāja pārstrāde
Etilacetāts	+++	+++	+++	+	++	+
Izopropanols	+++	+++	+++	++	+	-
Acetons	+++	+++	+++	+	++	-
Propil acetāts	++	+++	+++	++	+	+
3-pentanons	++	+++	++	++	+	+
Dimetil karbonāts	+++	++	+++	++	+++	+
Izopropil acetāts	++	++	+++	++	++	+
Butan-1-ols	++	+	+++	+++	+	+
Etil propanoāts	++	+	++	++	+++	+
Dihlormetāns	++	+	+++	++	++	-
<i>t</i> -Butil metil ēteris	+	+	+++	-	+++	+
Heksāns	-	+	+++	--	++	+

Tomēr vairāki šķīdinātāji uzrāda relatīvi neitrālu ietekmi (+) attiecībā uz to atkritumu pārstrādes iespējām un ietekmi uz vidi. Daudziem šķīdinātājiem, tostarp etilacetātam un dimetilkarbonātam, ir pozitīvi rādītāji attiecībā uz atkritumu pārstrādi (+++), kas liecina par to potenciālu atkārtotas izmantošanas vai pārstrādes procesos. Turklāt vairākiem šķīdinātājiem, piemēram, etilacetātam un izopropanolam, ir pozitīva ietekme uz vidi, kas nozīmē mazāku negatīvo ietekmi uz vidi salīdzinājumā ar citiem faktoriem.

Klasiskie organiskie šķīdinātāji, ko izmanto skujkoku skuju skuju/zaļumu apstrādē, ir heksāns un dihlormetāns, kurus visbiežāk izmanto lipofilo savienojumu ekstrakcijai. Šķīdinātāja spēju ekstrahēt lipofilos savienojumus ietekmē šķīdinātāja polaritāte (ko raksturo dipola moments un dielektriskā konstante). Šķīdinātāji, kuru dielektriskā konstante ir mazāka par 5, norāda uz nepolāriem šķīdinātājiem, savukārt šķīdinātāji ar augstāku dielektrisko konstanti norāda uz polāriem šķīdinātājiem. Polāros

šķīdinātājus var iedalīt divās grupās: 1) proktiskie šķīdinātāji (ūdens, metanols utt.) un 2) aprotiskie šķīdinātāji (dihlormetāns, etilacetāts utt.). tabulā izšķir proktiskos un aprotiskos šķīdinātājus, un tā var kalpot kā vadlīnijas piemērotāko šķīdinātāju izvēlei biomasas pārstrādei. Tabulā iekļauto šķīdinātāju atšķirīgā pazīme ir -OH grupas klātbūtne, kas ir vizizplatītākā proktisko šķīdinātāju pazīme (5.3. tabula).

5.3. tabula

Perspektīvo ekstrakcijas šķīdinātāju fizikāli ķīmiskie parametri

Šķīdinātājs	Automātiskā aizdedzināšanās temperatūra °C	Vārīšanās temperatūra, °C	Dipola moments, D	Dialektriskā konstante	Šķīdinātāja polaritātes klasifikācija	Šķīdinātāja rekomendācija
Heksāns	224	69	0,08	1,88	Nepolārs	Nerekomendēts
Dimetil karbonāts	458	90	0,18	3,09	Nepolārs	Rekomendēts
<i>t</i> -Butil metil ēteris	375	55	1,32	4,5	Nepolārs	Rekomendēts
Etil propanoāts	440	99	1,74	5,7	Polārs aprotisks	Ierobežota lietošana
Etil acetāts	426	77	1,88	6,02	Polārs aprotisks	Ierobežota lietošana
Izopropil acetāts	425	89	1,75	6,3	Polārs aprotisks	Rekomendēts
Propil acetāts	455	102	1,86	6,3	Polārs aprotisks	Rekomendēts
Dihlor- metāns	556	40	1,14	8,93	Polārs aprotisks	Nerekomendēts
3-Pentanons	452	102	2,70	17,3	Polārs aprotisks	Ierobežota lietošana
Butān-1-ols	345	118	1,75	17,8	Polar protic	Rekomendēts
Izopropan- ols	399	82	1,63	19,92	Polārs protisks	Rekomendēts
Acetons	465	56	2,69	20,7	Polārs aprotisks	Ierobežota lietošana

* **Sarkanā** krāsā atzīmēti videi kaitīgi un toksiski šķīdinātāji; **dzeltenā** krāsā atzīmēti daļēji videi draudzīgi šķīdinātāji; **zaļā** krāsā atzīmēti dabai draudzīgi šķīdinātāji.

5.2. Egļu skuju un zaru ekstrakcijas metožu efektivitātes noteikšana

Maisīšanas metode. 20 mL headspace pudelītēs ar korķi uz analītiskajiem svāriem iesvēra sagatavoto biomasu (1 g). Biomasai pievienoja 10 mL šķīdinātāja un ekstrahēja maisot (*Biosan* PSU-20i) 24 h istabas temperatūrā. 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 pārnēsa headspace pudelītēs. Ekstraktus žāvēja 45°C slāpekļa atmosfērā un uzglabāja saldētavā -20°C tālākām analīzēm.

Soksleta metode. Stikla soksleta kapsulās uz analītiskajiem svāriem iesvēra sagatavoto biomasu (1 g). Kolektora kolbā ielēja 150 mL attiecīgo šķīdinātāju un ekstrahēja 6 h temperatūrā kas ir par 30°C lielāka nekā attiecīgā šķīdinātāja viršanas temperatūra. Pēc ekstrakcijas šķīdumus iekonzentrēja

izmantojot rotācijas ietvaicētāju un kvantitatīvi pārnese headspace pudelītēs. Ekstraktus žāvēja 45°C slāpekļa atmosfērā un uzglabāja saldētavā -20°C tālākām analīzēm.

Lielapjoma ekstrakcija ar ultraskaņas zondi. 3000 mL vārglāzē ievietoja metāla sietu, uz laboratorijas svariem nosvēra 150 g egļu zaleņi, pievienoja 1500 mL izopropanolu un ekstrahēja ar ultraskaņas zondi (20 min., 1,5 kW, 20 kHz). Pēc ekstrakcijas lielo zaleņa frakciju filtrēja ar metāla sietu, bet smalko frakciju atdalīja filtrējot ar kroku filtru. Zaleņa smalkās daļiņas, kas atradās uz filtrpapīra pārnese atpakaļ ekstrakcijas reaktorā, lai palielinātu ekstrakcijas iznākumu. Ekstrakciju atkārtoja 3 reizes. Iegūto ekstrakcijas šķīdumu iekoncentrēja izmantojot rotācijas ietvaicētāju un kvantitatīvi pārnese 100 mL burciņā. Ekstraktus žāvēja 45°C slāpekļa atmosfērā un uzglabāja saldētavā -20°C tālākām analīzēm.

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 iekoncentrēja izmantojot rotācijas ietvaicētāju un kvantitatīvi pārnese 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 iekoncentrēja izmantojot rotācijas ietvaicētāju un kvantitatīvi pārnese 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 biomasu filtrēja ar kroku filtru. Nofiltrētās biomasas daļiņas, kas atradās uz filtrpapīra, pārnese atpakaļ pudelē, lai palielinātu iegūtā ekstrakta daudzumu. Ekstrakcijas atkārtoja 3 reizes un ūdeni ultraskaņas vannā mainīja 10 minūšu intervālā, lai izvairītos no ekstrakcijas šķīduma sasīlšanu.

Ultraskaņas stieņa (USS) metode. 3 L vārglāzē ievietoja metāla sietu, uz laboratorijas svariem iesvēra 250 g gaissausa egļu zaleņa (≤ 2 mm), pievienoja 2,5 L izopropanolu un ievietoja USS sistēmā (20 min, 100W). Rupjāko zaleņa daļu filtrēja izmantojot metāla sietu, bet sīkākas nogulsnes filtrēja ar filtrpapīru. Nofiltrētās nogulsnes ievietoja atpakaļ vārglāzē un ekstrakciju atkārtoja 3 reizes. Iegūto ekstraktu ietvaicēja izmantojot rotācijas ietvaicētāju un žāvēja 40°C. Ekstrahēto zaleņi žāvēja 60°C un izmantoja hidrotermālās karbonizācijas eksperimentos.

Pētījuma ietvaros tika novērtēta dažādu šķīdinātāju un ekstrakcijas metožu efektivitāte egļu (*Picea abies*) skuju un zaru biomateriāla ekstraktu iegūšanā, izsakot ekstraktu iznākumu gramos uz 100 g sausnas (skat. 5.4. tabulu). Iegūtie rezultāti skaidri parāda būtiskas atšķirības gan starp ekstrakcijas metodēm, gan izmantoto šķīdinātāju polaritāti, gan starp analizētajiem augu materiāliem — skujām un zariem.

Augstākais ekstrakcijas iznākums tika iegūts, izmantojot 1-butanolu (līdz 45,76 g/100 g sausnas ar Soksleta metodi egļu skujām), savukārt zemākie rādītāji tika konstatēti tert-metilbutilēterim un heksānam (zem 5 g/100 g sausnas vairākumā metožu, īpaši zaru ekstrakcijās). Kopumā skuju

ekstrakcijas iznākumi bija ievērojami augstāki, salīdzinot ar zaru ekstraktiem: piemēram, izopropanola ekstrakcijā ar Soksleta metodi iegūti 39,13 g/100 g sausnas no skujām, bet tikai 18,14 g/100 g no zariem. Līdzīgi, acetona ekstrakcijā ar ASE metodi tika iegūti 15,36 g/100 g no skujām, bet tikai 7,45 g/100 g no zariem.

5.4. tabula

Perspektīvo ekstrakcijas šķīdinātāju fizikāli ķīmiskie parametri

Šķīdinātājs	Materiāls	Soksleta	Maisīšana	Karsēšana	Ultraskaņa	ASE
Heksāns	ES	23,30	1,59	2,29	2,51	3,82
Etilacetāts	ES	17,01	3,80	7,51	6,07	7,39
Tert metilbutilēteris	ES	5,13	2,77	5,12	4,27	-
Izopropanols	ES	39,13	8,77	19,08	15,87	19,10
Acetons	ES	22,58	6,63	12,45	11,49	15,36
1-Butanols	ES	45,76	5,13	16,81	12,48	16,92
Izopropilacetāts	ES	9,70	2,81	4,83	5,43	5,94
Propilacetāts	ES	11,97	3,23	6,36	4,46	6,57
Dimetilkarbonāts	ES	16,10	3,50	5,85	4,63	7,03
Etilpropanoāts	ES	11,08	3,01	5,96	4,40	6,02
3-pentanoāts	ES	15,94	3,36	7,44	5,08	10,64
Heksāns	EZ	4,74	2,93	2,93	2,95	3,19
Etilacetāts	EZ	12,85	5,50	4,31	4,75	4,24
Tert metilbutilēteris	EZ	4,75	4,32	4,10	3,59	-
Izopropanols	EZ	18,14	4,20	8,24	6,31	7,52
Acetons	EZ	9,21	8,57	4,52	6,66	7,45
1-Butanols	EZ	25,73	3,90	7,28	5,47	9,91
Izopropilacetāts	EZ	6,58	4,41	4,71	4,55	3,71
Propilacetāts	EZ	8,05	4,13	5,02	3,78	3,81
Dimetilkarbonāts	EZ	7,68	3,22	5,23	3,93	4,51
Etilpropanoāts	EZ	7,35	4,78	4,17	3,85	3,78
3-Pentanoāts	EZ	9,14	4,26	4,94	4,29	4,12

Vidējais ekstrakta iznākums skujām svārstījās no 2,29 līdz 45,76 g/100 g sausnas, bet zariem — no 2,93 līdz 25,73 g/100 g, atkarībā no izmantotā šķīdinātāja un metodes. Tas norāda, ka skuju satur vairāk ekstrahējamu savienojumu nekā zari, kas ir būtiski ņemt vērā, plānojot izejmateriālu izvēli rūpnieciskai ekstraktu ražošanai.

Lai gan Soksleta metode nodrošina visaugstāko ekstrakta iznākumu, tā nav piemērota mērogošanai rūpnieciskā vidē augstā enerģijas un šķīdinātāja patēriņa dēļ. Ultraskaņas ekstrakcija (kas sniedza līdz pat 15,87 g/100 g sausnas ar izopropanolu) piedāvā efektīvu alternatīvu mazās un vidējās kapacitātes ražošanā. Savukārt rūpnieciskā līmenī ultraskaņas ekstrakciju var aizstāt ar hidrodinamiskās

kavitācijas tehnoloģijām, kas ļauj sasniegt līdzīgu efektivitāti ar augstu caurlaidspēju un zemākām ekspluatācijas izmaksām.

Vides un drošības apsvērumu dēļ īpaša uzmanība tika pievērsta šķīdinātāju izvēlei. Pētījumā iekļautie videi un cilvēka veselībai draudzīgāki šķīdinātāji, piemēram, etilacetāts, izopropilacetāts, propilacetāts un dimetilkarbonāts, parādīja konkurētspējīgu ekstrakcijas efektivitāti. Piemēram, dimetilkarbonāts nodrošināja līdz 7,03 g/100 g ar ASE metodi (skuju ekstraktiem) un ir uzskatāms par perspektīvu zaļās ķīmijas aizstājēju halogenētajiem šķīdinātājiem, piemēram, dihlormetānam.

Apkopojot, iegūtie dati ļauj identificēt efektīvākos šķīdinātājus un metodes dažādu egļu biomateriālu ekstrakcijai, kā arī piedāvā iespējas aizstāt kaitīgus šķīdinātājus ar ilgtspējīgākām alternatīvām. Šie rezultāti ir būtiski jaunu kosmētikas, biofarmācijas un pārtikas nozares prototipu izstrādē, balstoties uz zaļās ķīmijas principiem. Jāatzīmē, ka pētījumā novērots, ka vasaras paraugiem bija augstāki ekstrakcijas iznākumi, salīdzinot ar ziemas laikā iegūtu skuju materiālu.

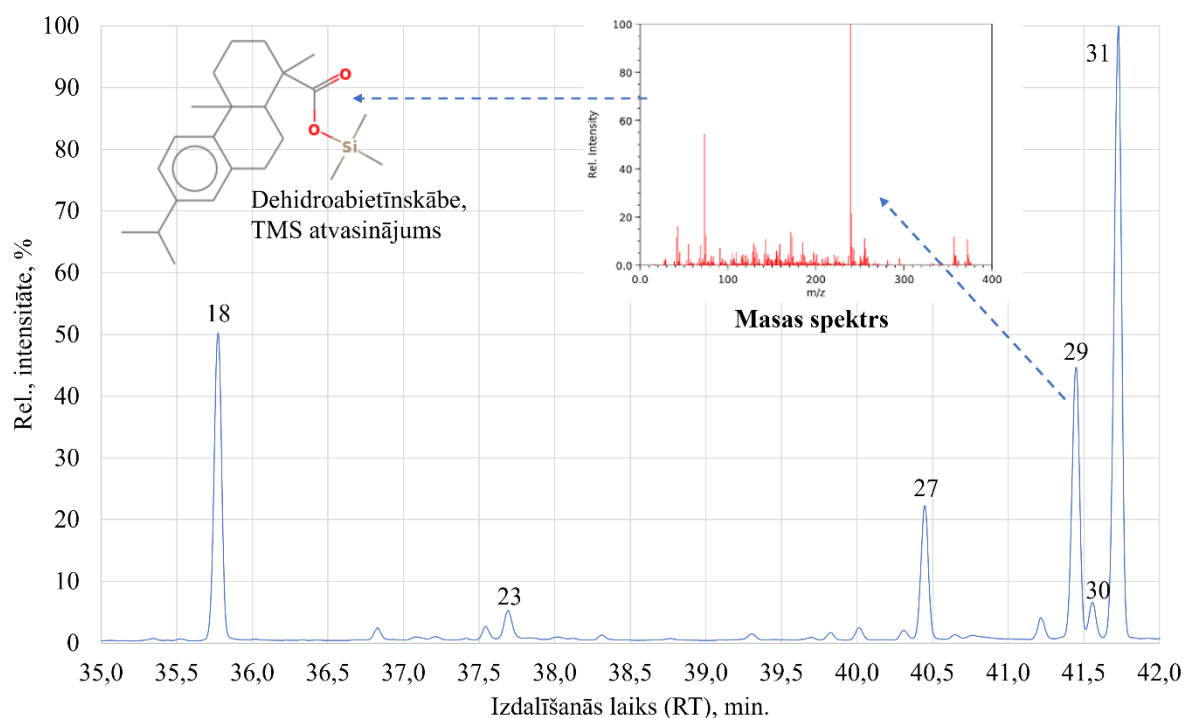
5.3. Ekstraktu hidroksilgrupu aizvietošana ar BSTFA un GC-MS analīze

Kopējo ekstraktu analīze. Hromatogrāfijas pudelītēs pagatavoja maisīšanas metodes piridīna šķīdumus koncentrācijas intervālā 1-2 mg/mL. 1,30 mL piridīna šķīdumam pievienoja 0,20 mL BSTFA reģentu. Reakcijas šķīdumus karsēja 2 h 60°C temperatūrā. Pēc karsēšanas šķīdumus atdzesēja līdz istabas temperatūrai un analizēja ar GC-MS.

GC-MS analīze tika veikta, izmantojot GC-2010 plus, GC-MS QP-2010 Ultra masas detektoru un gāzes – šķidrums hromatogrāfa kolonna *Restek Rxi®-5MS* ar temperatūras intervālu 40–350°C. He tika izmantots kā nesējgāze ar plūsmas ātrumu 16,0 mL/min. un kolonnas plūsmas ātrumu 1,18 mL/min., spiediens 77,8 kPa, kolonnas attīrīšanas plūsmas ātrums 3,0 mL/min. Tika izmantota dalījuma attiecība 1:10 un injekcijas temperatūra 290,00°C., temperatūras uzstādījumi analīzes laikā: krāsns sākotnējā temperatūra (75,0°C) tika izturēta 2,00 min. nemainīgi, palielināta no 75,0°C līdz 130,0°C ar kāpumu 20,00°C/min., izturēta 10,00 min., palielināta no 130°C līdz 310°C ar kāpumu 4,00°C/min., izturēta 10,00 min. Pirms katras injekcijas šļirce tika izskalota 3 reizes ar 1,0 µL hloroforma šķīdinātāju, 3 reizes ar 1,0 µL heksāna šķīdinātāju, 3 reizes ar 1,0 µL analizējamo šķīdumu. 1,0 µL injekcija tika veikta ar autoinjektoru. Četrpolu masas analizators tika izmantots ar elektrona trieciena jonizācijas metodi, jonizācijas spriegums 70 V, detektora pastiprinājums 0,98 kV + 0,40 kV. Jonu avota temperatūra 230°C un interfeisa temperatūra 290°C. Šķīdinātāja nedetektēšanas laiks 3,00 min. ACQ režīms skenēšana, notikuma laiks 0,30 sekundes, skenēšanas ātrums 2500, sākuma m/z 35,00, beigu m/z 650,00 Savienojumu atdalīšana tika veikta, izmantojot GC, un identifikācija, izmantojot Shimadzu LabSolutions 4.30 programatūru kopā ar NIST17 un NIST20 spektrālo bibliotēku.

Lai gan abas ir skujkoki, priedes un egles skuju un zari satur dažāda veida savienojumus. Šīs atšķirības skaidrojamas ar to unikālo fitoķīmisko sastāvu, kas ietekmē ekstrakcijas procesā ekstrahēto

gaistošo un negaistošo savienojumu veidus. Šajā pētījumā ar gāzu hromatogrāfijas un masas spektrometrijas metodi iegūtajos ekstraktos tika identificētas 14 dažādas vielu grupas (5.1. attēls).



5.1. att. Savienojumu identifikācijas piemērs egļu skuju dimetilkarbonāta ekstraktā, izmantojot GC-MS

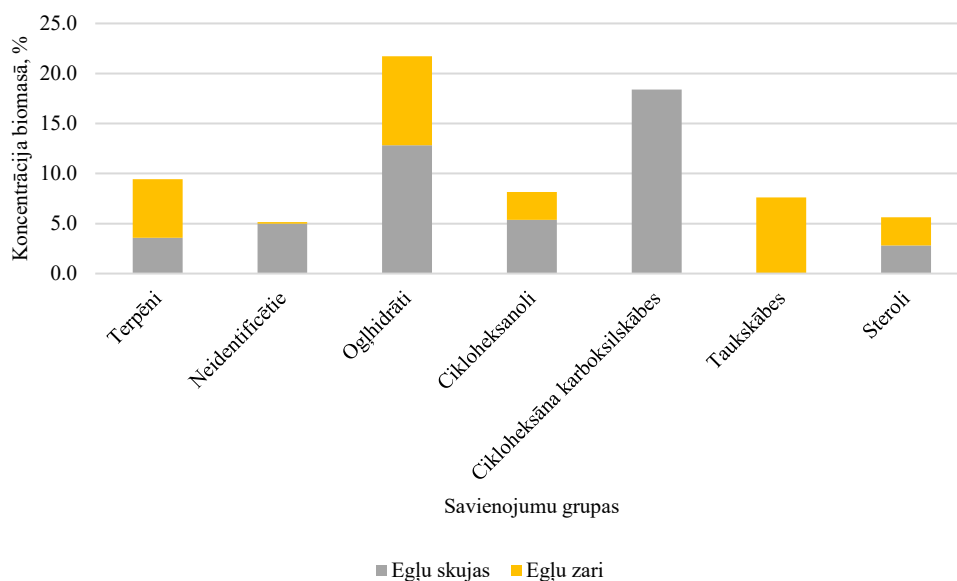
No analizētajām savienojumu grupām vislielākajās koncentrācijās egļu ekstraktos tika konstatēti terpēni, ogļhidrāti, taukskābes, sterīni un neidentificēti savienojumi. Terpēni tika identificēti ievērojami atšķirīgos daudzumos (1,38–23,65 %) atkarībā no izmantotā šķīdinātāja un materiāla. Ogļhidrāti bija sastopami visos analizētajos ekstraktos, bet to ekstrahēšana augstākā koncentrācijā (3,13–12,83 %) bija iespējama ar polārākiem šķīdinātājiem, piemēram, acetonu, izopropanolu un butān-1-olu. Savukārt ar zemas polaritātes šķīdinātājiem, piemēram, dimetilkarbonātu, t-butilmetilēteri, izopropilacetātu, dihlormetānu, etilpropanoātu un propilacetātu, ogļhidrātu izdalīšana bija mazāk efektīva — konstatētās koncentrācijas pārsvarā bija zem 1 % (5.2. attēls).

Taukskābes tika konstatētas gandrīz visos ekstraktos, īpaši egļu zaru ekstraktos (6,68–11,11 %), kamēr egļu skuju taukskābju koncentrācija pārsvarā bija zemāka par 2,64 %, izņemot heksāna ekstraktu (6,56 %). Sterīni visos ekstraktos tika konstatēti zemā koncentrācijā (0,85–3,93 %), ar augstāko saturu dimetilkarbonāta, etilacetāta un etilpropanoāta ekstraktos.

Neidentificēto savienojumu koncentrācija atšķīrās atkarībā no izmantotā materiāla. Egļu skuju ekstraktos šī grupa veidoja 3,99–15,28 % no ekstrakta, bet egļu zaru ekstraktos – 0,15–4,54 %, kas norāda uz nepieciešamību veikt tālāku frakcionēšanu un savienojumu identifikēšanu.

Egļu skuju acetona, izopropanola un butān-1-ola ekstrakti spēja selektīvi ekstrahēt cikloheksānkarboksilskābi (2,20–5,38 %) un cikloheksanola savienojumus (2,20–5,30 %), piemēram, šikimskābi un D-pinitolu (11,15–18,40 %). D-pinitols ir labi pazīstams ar pretmikrobu un pretvēža

īpašībām. Jaunākie pētījumi liecina, ka šis savienojums var efektīvi mazināt iekaisumu, mijiedarbojoties ar ciklooksigenāzi-2 (COX-2), pat efektīvāk nekā zināmie sintētiskie pretiekaisuma līdzekļi, piemēram, celekoksibs un ketoprofēns.



5.2. att. Galvenās savienojumu grupas, kas atklātas egļu skuju un zaru acetona ekstraktos

Gāzu hromatogrāfija egļu skuju ekstraktos atklāja 32 savienojumus ar relatīvo laukumu virs 1 %, no kuriem 9 nebija iespējams identificēt ar izmantoto metodi. Viena no nozīmīgākajām savienojumu grupām bija šikimskābe, kas tika konstatēta augstā koncentrācijā, īpaši acetona (18,4 %) un izopropanola (13,26 %) ekstraktos. Starp terpēniem ievērojami savienojumi bija labda-8(20),14-dien-13-ols, (13S)- (1,56–13,88 %), izopimarīnskābe (0,32–4,65 %) un dehidroabietīnskābe (1,34–11,44 %), kas visbiežāk tika iegūti, izmantojot heksāna, etilpropanoāta un dimetilkarbonāta ekstrakciju (5.5. tabula).

Taukskābes (C16:0, C18:1 un C22:0) tika identificētas 0,54–2,47 % apjomā, ar augstāko koncentrāciju heksāna (1,94–2,47 %) un dimetilkarbonāta (0,57–0,78 %) ekstraktos. Sterīni, tostarp stigmast-5-ēns, 3β-(24S), tika identificēti visos ekstraktos (1,17–7,56 %), ar augstāko koncentrāciju etilpropanoāta (7,65 %) ekstraktā.

Egļu zaru ekstraktu ķīmiskais sastāvs atšķiras no skuju ekstraktiem, jo atsevišķu savienojumu koncentrācija ir ievērojami zemāka (nepārsniedz 5,32 % no kopējā ekstrakta). Gāzu hromatogrammā tika konstatēti 33 savienojumi ar relatīvo laukumu virs 1 %, no kuriem 8 nebija iespējams identificēt. Pieci visbiežāk sastopamie savienojumi bija: izopimarīnskābe (2,35–5,32 %), C22:0 skābe (2,45–4,31 %), dehidroabietīnskābe (1,99–4,28 %), stigmast-5-ēns, 3β-(24S) (2,48–3,93 %) un abietīnskābe (1,15–3,14 %).

Egļu zaru ekstrakti bija bagātīgāki ar taukskābju daudzveidību nekā skuju ekstrakti. Tika identificētas sešs dažādas taukskābes: C16:0 (0,77–1,71 %), C18:1 (1,12–1,68 %), C18:2 (1,13–1,92 %), C20:0 (0,62–0,96 %), C22:0 un C24:0 (0,90–1,30 %). Ogļhidrāti tika konstatēti augstākās koncentrācijās acetona, izopropanola un butān-1-ola ekstraktos (0,42–3,37 %). Šo ekstraktu ūdens fāzi

nākotnē var izmantot turpmākajos pētījumos, piemēram, šķīdumšķīduma ekstrakcijā, kristalizācijā un lipofīlo savienojumu šķīrošanā, ko vēlāk var analizēt ar preparatīvās hromatogrāfijas metodēm.

5.5. tabula

Perspektīvo ekstrakcijas šķīdinātāju fizikāli ķīmiskie parametri

RT, min	RI eksp.	RI bibl.	Nosaukums	Savienojumu grupa	Galvenie fragmentācijas joni, m/z
27,886	1843	1843	Šikimīnskābe, 4TMS atvasin.	Cikloheksān- karboksilskābe	204,00-73,00-147,00-205,00- 357,00
28,704	1869	1815	D-Pinitosl, 5TMS atvasin.	Cikloheksanols	73,00-147,00-217,00-260,00- 318,00
35,768	2137	N/A	Labda-8(20),14-diēn-13-ols, (13S)-, TMS atvasin	Diterpēns	143,00-73,00-75,00-81,00- 257,00
37,691	2218	2209	C18:1 skābe, TMS atvasin	Taukskābe	117,00-339,00-354,00
40,444	2342	2329	Izopimarīnskābe, TMS atvasin.	Diterpēns	44,00-241,00-256,00-359,00- 374,00
41,443	2389	2385	Dehidroabietīnskābe, TMS atvasin.	Diterpēns	239,00-73,00-240,00-357,00- 372,00
41,724	2401	N/A	?	Neidentificēts	
54,145	3070	N/A	Nonakozan-10-ols, TMS atvasin.	Spirts	
58,682	3358	3349	Stigmast-5-ēn, 3.beta.- (TMS)-, (24S)-	Sterols	129,00-43,00-73,00-95,00- 57,00
62,012	3570	N/A	?	Neidentificēts	

5.2. Paraugu ekstrakcija ar glicerīnu un propilēnglikolu

Egļu (*Picea abies*) un priežu (*Pinus sylvestris*) ekstrakti jau kopš seniem laikiem ir tikuši izmantoti tautas medicīnā, īpaši elpceļu slimību, ādas bojājumu un infekciju ārstēšanā, pateicoties to dabīgajām pretiekausuma, antiseptiskajām un antimikrobiālajām īpašībām. Šajā pētījumā tika izmantoti egļu un priežu skuju un zaru ekstrakti, kas iegūti, izmantojot gan dabai draudzīgus šķīdinātājus — glicerīnu un propilēnglikolu, gan salīdzināšanai tradicionālos spirtus: metanolu, etanolu un izopropanolu. Ekstrakcijai tika pielietotas trīs dažādas metodes: maisīšana, karsēšana un ultraskaņas apstrāde. No šīm metodēm visefektīvākā izrādījās karsēšanas metode, kas vēlāk tika optimizēta, mainot ekstrakcijas ilgumu (2, 6 un 10 stundas) un temperatūru (60 °C, 80 °C, 100 °C un 120 °C). Iegūtajiem ekstraktiem tika noteikta arī antimikrobiālā aktivitāte, lai novērtētu to potenciālu mūsdienu dabīgo ārstniecības līdzekļu un kosmētikas izstrādē.

Ekstrakcijas efektivitāte. Egļu un priežu zaļās masas ekstrakcija ir veikta, izmantojot dažādus šķīdinātājus un metodes. Bioloģiski aktīvo savienojumu ekstrakcijai no skuju kokiem visbiežāk izmantoti spirti, piemēram, metanols (MeOH) un etanols (EtOH), taču literatūrā nav pieejama informācija par augu materiāla ekstrakciju, izmantojot diolus un triolus, piemēram, glicerīnu (Gly) vai propilēnglikolu (PG). Pieprasījums pēc videi draudzīgiem šķīdinātājiem, kas ļautu nodrošināt laika un izmaksu ziņā efektīvas metodes, pieaug, tādēļ ir būtiski atrast jaunus šķīdinātājus ar potenciālu rūpnieciskiem pielietojumiem. Glicerīns un propilēnglikols tiek plaši izmantoti farmācijā, pārtikā, dzērienu ražošanā, kosmētikā un personīgās higiēnas līdzekļos kā saldinātāji, konservanti un nesējvielas garšvielām, krāsvielām un bioloģiski aktīvām vielām.

Balstoties uz literatūras datiem par šķīdinātājiem, kas piemēroti bioloģiski aktīvo vielu ekstrakcijai, tika izvēlēti trīs klasiskie šķīdinātāji — MeOH, EtOH un izopropanols (i-PrOH), kā arī glicerīns un propilēnglikols, un ekstrakcijas iznākumi tika aprēķināti gramos uz 100 g sausnas (%). Salīdzinot rezultātus, tika novērota tendence, ka ekstrakcijas iznākums samazinās, pieaugot oglekļa atomu skaitam vienkāršajos spirtos. Parastā maisīšanas metode uzrādīja pārsteidzoši augstus rezultātus salīdzinājumā ar ultraskaņas ekstrakciju. Egļu materiāla ekstrakcijas iznākums bija augstāks (15,43–27,28 %) nekā priežu materiālam (16,28–22,11 %). Ultraskaņas ekstrakcijā ar vienkāršajiem spirtu šķīdinātājiem egļu paraugiem tika iegūts 18,08–27,60 %, bet priežu paraugiem — 16,97–26,28 %. Vidēji egļu paraugu ultraskaņas ekstrakcijas iznākums bija par 1,82 % augstāks nekā priežu paraugiem (5.6. tabula).

5.6. tabula

Perspektīvo ekstrakcijas šķīdinātāju fizikāli ķīmiskie parametri

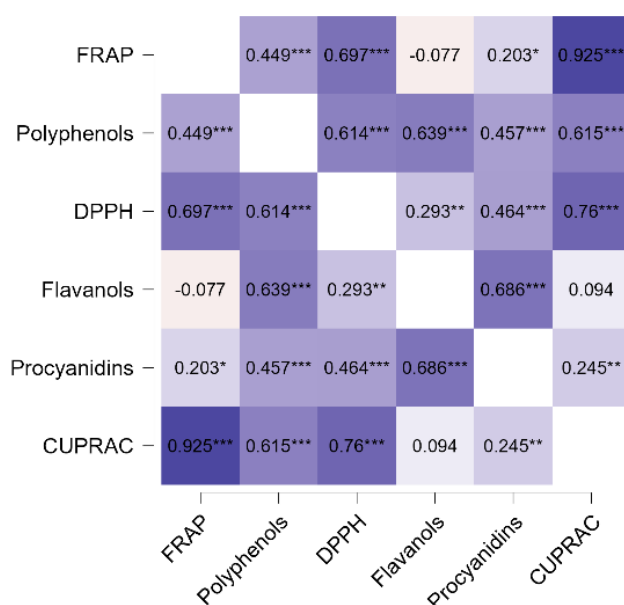
Šķīdinātājs / biomasa	<i>Picea abies</i>			<i>Pinus sylvestris</i>		
	US	Maisīšana	Karsēšana	US	Maisīšana	Karsēšana
MeOH	27,60	27,28		26,28	22,11	
EtOH	23,48	18,22		20,45	17,83	
i-PrOH	18,08	15,43		16,97	16,28	
Gly	5,10	3,14	42,47	5,03	2,69	42,12
PG	30,17	8,09	50,10	21,77	7,17	60,01

Glicerīns un propilēnglikols ir labi zināmi šķīdinātāji, kas nodrošina bioloģiski aktīvo savienojumu stabilitāti ilgākā laika periodā, jo tie rada inertu vidi, kas kavē mikrobioloģisko augšanu. Šie šķīdinātāji ir ķīmiski inerti, salīdzinot ar metanolu, etanolu un izopropanolu, kas nodrošina iegūto savienojumu saglabāšanu nemainītā formā. Glicerīna un propilēnglikola ekstraktus var izmantot uzreiz pēc ekstrakcijas, jo tie neprasa papildu apstrādes posmus, piemēram, šķīdinātāja iztvaicēšanu, tādējādi samazinot enerģijas patēriņu produkta ražošanā. Pamatojoties uz šo informāciju, vairākas pārtikas, farmācijas un kosmētikas uzņēmumu nozares izmanto glicerīnu un propilēnglikolu kā pildvielas savos produktos.

Salīdzinot glicerīna un propilēnglikola ekstraktus, kas iegūti ar klasisko ekstrakcijas metodi, redzams, ka to iznākums ir zemāks (2,69–8,09 %) nekā alkoholu gadījumā. Viena no būtiskākajām atšķirībām starp šiem šķīdinātājiem un vienkāršajiem spirtiem ir to viskozitāte, kas samazina ekstrakcijas efektivitāti. Kā novērots arī citās ekstrakcijas metodēs, piemēram, ultraskaņā un karsēšanā, pat neliels temperatūras paaugstinājums ekstrakcijas šķīdumā būtiski uzlabo ekstrakcijas iznākumu. Ultraskaņas ekstrakcijas laikā mehāniskais darbs veicina kavitāciju un šķīduma uzsildīšanu apmēram par 5 °C 20 minūšu ekstrakcijas laikā. Šādi apstākļi var palielināt ekstrakcijas efektivitāti 1,6–1,9 reizes glicerīnam (5,03–5,10 %) un 3,0–3,7 reizes propilēnglikolam (21,77–30,17 %) īsā laika periodā. Tas nodrošina šķīdinātāja viskozitātes samazināšanos, kas ļauj šķīdinātājam efektīvāk iekļūt ekstrahējamajā materiālā, tādējādi palielinot ekstrakcijas efektivitāti. Karsēšanas metode rezultējās ar 13,5–15,6 reizes augstāku iznākumu glicerīnam (42,12–42,47 %) un 6,1–8,4 reizes augstāku iznākumu propilēnglikolam (50,10–60,01 %) salīdzinājumā ar klasisko ekstrakcijas metodi.

Skujkoku biomasas ekstraktu ķīmisko parametru salīdzinājums. Eksperimentu gaitā tika iegūti daudzi parametri, lai raksturotu ekstraktus. Statistiskā datu analīze sniedz iespēju novērtēt korelācijas starp dažādiem paraugu parametriem. Līdzīgu datu apvienošana vai viena parametra izvēle atvieglo sarežģītu datu interpretāciju, ļaujot koncentrēties uz nozīmīgākajiem rādītājiem.

Ekstrakti tika analizēti, izmantojot sešas spektrofotometriskas metodes, lai identificētu dažādas savienojumu grupas, tostarp kopējos polifenolus, procianidīnus un flavanolus. Antiradikālā un antioksidatīvā aktivitāte tika noteikta, izmantojot FRAP, DPPH un CUPRAC metodes. Lai novērtētu šo metožu savstarpējās attiecības visos ekstraktos, tika izmantots Pīrsona korelācijas koeficients (5.3. att.). Spēcīgākā korelācija (0,925***) tika novērota starp CUPRAC un FRAP antioksidatīvajām metodēm, kas, iespējams, saistāma ar abu spēju novērst metālu katalizētus oksidatīvos procesus bioloģiskajās sistēmās. Ņemot vērā augsto korelāciju, CUPRAC rezultāti tika izvēlēti turpmākai analīzei. Līdzīgi spēcīgas korelācijas tika konstatētas starp DPPH metodi un pārējām antioksidatīvajām metodēm: CUPRAC (0,760***) un FRAP (0,697***).



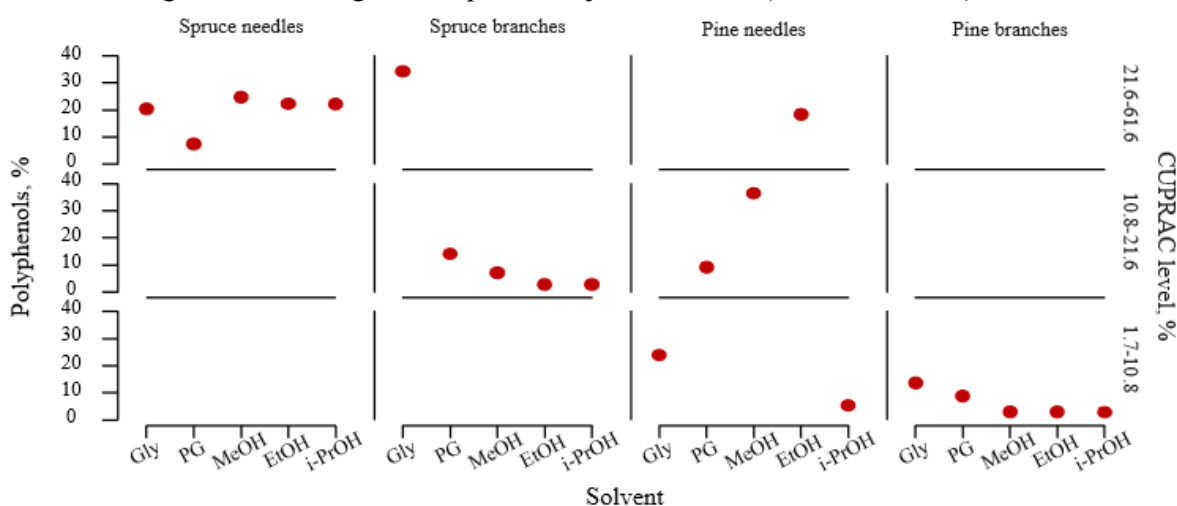
5.3. att. Pīrsona R korelācija starp iegūtajiem ekstraktiem, analizējot savienojumu grupas, antioksidatīvās un antiradikālās īpašības.*p < 0,05, **p < 0,01, *p < 0,001. Zils krāsojums norāda uz pozitīvu korelāciju starp parametriem, balts – uz korelācijas neesamību starp parametriem**

Salīdzinot ekstraktos esošās polifenolu apakšklases — flavanolus un procianidīnus — ar to antiradikālo un antioksidatīvo aktivitāti, tika novērotas vājākas korelācijas ar izvēlētajām metodēm. Flavanolu gadījumā netika konstatēta būtiska korelācija ar CUPRAC (0,094) un FRAP (-0,077) metodēm, lai gan ar DPPH metodi tika novērota mērena korelācija (0,293**). Procianidīniem tika novērotas zemas korelācijas ar CUPRAC (0,245**) un FRAP (0,203*) metodēm, taču ar DPPH metodi tika iegūta izteiktāka korelācija (0,464***). Gan procianidīniem (0,457***), gan flavanoliem

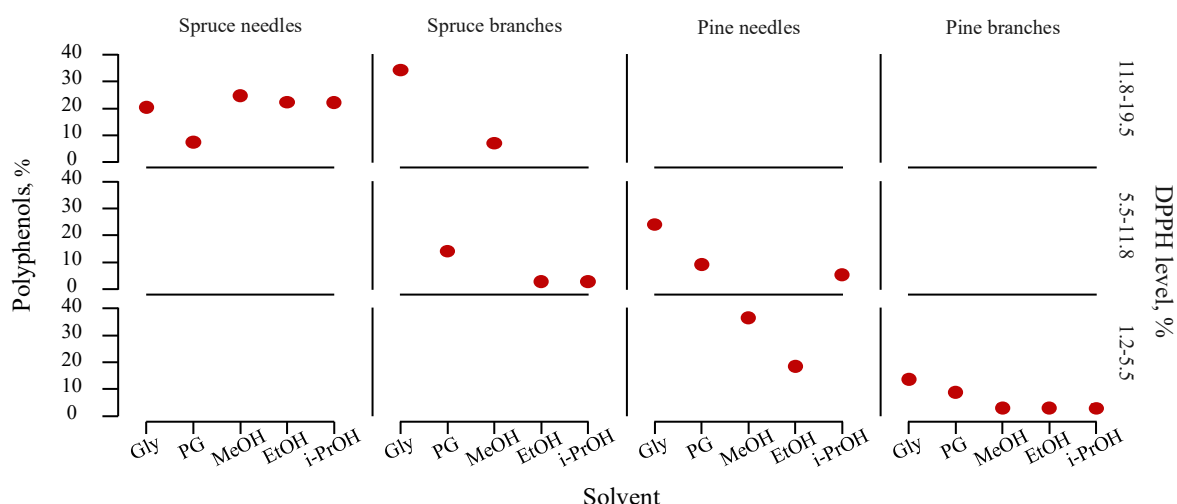
(0,639***) tika konstatēta spēcīga korelācija ar kopējo polifenolu saturu. Tāpēc turpmākajās statistiskajās analīzēs tika izmantots kopējo polifenolu saturs (5.3. att.).

Ekstrakcija izmantojot maisīšanas metodi. Konvencionālā ekstrakcija ir viena no primitīvākajām un senākajām metodēm. Šis process neprasa lielu enerģijas patēriņu, taču ir laikietilpīgs. Lai iegūtu bioloģiski aktīvus ekstraktus no egļu un priežu skužām un zariem, tika izmantoti pieci dažādi šķīdinātāji. Iegūtie ekstrakti satur polifenolus ar antiradikālām un antioksidatīvām īpašībām.

Atkarībā no antiradikālās (DPPH) un antioksidatīvās (CUPRAC) aktivitātes tika novērotas būtiskas atšķirības starp ekstraktiem polifenolu koncentrācijā. Visaugstākās šo parametru vērtības tika konstatētas visos egļu skuju ekstraktos, un tās samazinājās noteiktā secībā: egļu zari, priežu skujas un visbeidzot – priežu zari. Egļu skuju spirta ekstraktos polifenolu koncentrācija (22,16–24,71 %), DPPH aktivitāte (12,70–15,70 %) un CUPRAC aktivitāte (46,19–61,63 %) samazinājās līdz ar spirta molekulā esošo oglekļa atomu skaita pieaugumu. Glicerīna ekstrakts pēc polifenolu daudzuma un bioloģiskās aktivitātes rādītājiem ir salīdzināms ar vienkāršo spirtu ekstraktiem. Savukārt propilēnglikola ekstraktā polifenolu koncentrācija ir zema (7,49 %), taču antiradikālā (17,25 %) un antioksidatīvā (37,73 %) aktivitāte ir augsta un līdzvērtīga citiem priežu skuju ekstraktiem (5.4. att.; 5.5. att.).

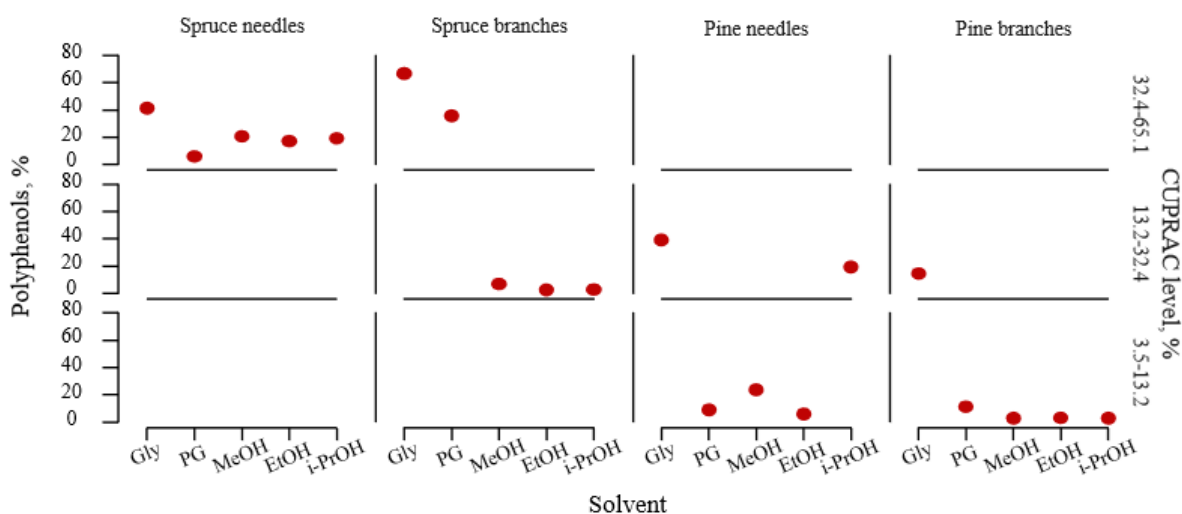


5.4. att. Polifenolu koncentrācija egļu un priežu ekstraktos, kas iegūti ar konvencionālo ekstrakcijas metodi, tika sadalīta trīs CUPRAC antioksidatīvās aktivitātes grupās: zema (1,7–10,8 %), vidēja (10,8–21,6 %) un augsta (21,6–61,6 %) aktivitātes līmeņa grupa



5.5. att. Polifenolu koncentrācija egļu un priežu ekstraktos, kas iegūti ar konvencionālo ekstrakcijas metodi, tika sadalīta trīs DPPH antiradikālās aktivitātes grupās: zema (1,2–5,5 %), vidēja (5,5–11,8 %) un augsta (11,8–19,5 %) aktivitātes līmeņa grupa

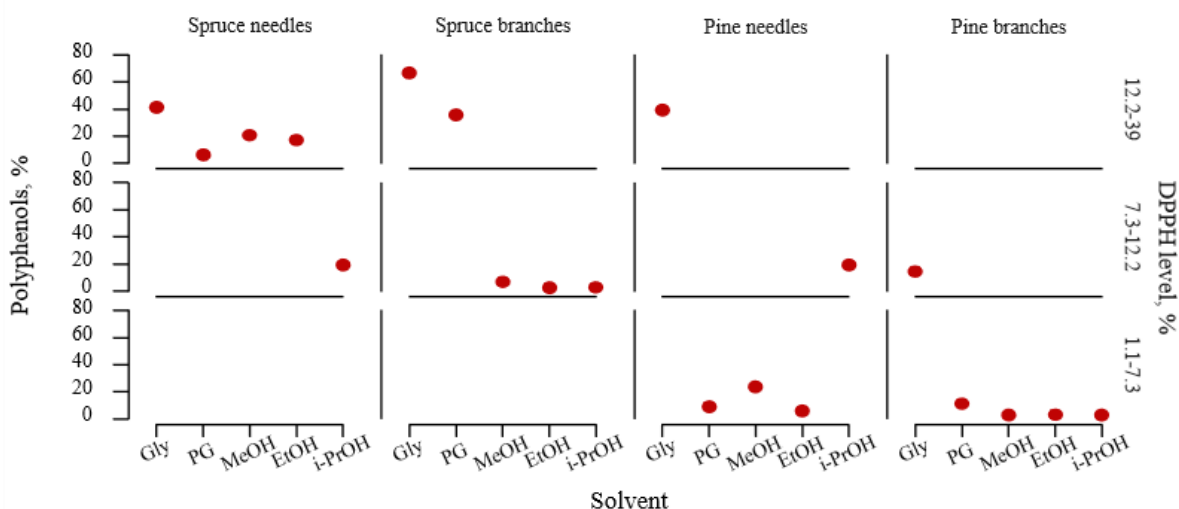
Ekstrakcija izmantojot ultraskaņas metodi. Ultraskaņas ekstrakcija ir viena no modernajām metodēm, kurai nepieciešams īss apstrādes laiks un kura ir piemērota termojūtīgu savienojumu ekstrakcijai. Šajā pētījumā, izmantojot piecus šķīdinātājus, tika iegūtas potenciāli bioloģiski aktīvas frakcijas no egļu un priežu skužām un zariem.



5.6. att. Egļu un priežu ekstraktos, kas iegūti, izmantojot ultraskaņas ekstrakcijas metodi, polifenolu koncentrācija tika sadalīta trīs CUPRAC antioksidatīvās aktivitātes līmeņu grupās: zema aktivitāte (3,5–13,2 %), vidēja aktivitāte (13,2–32,4 %) un augsta aktivitāte (32,4–65,1 %)

Pēc polifenolu satura, antiradikālās un antioksidatīvās aktivitātes rādītājiem ultraskaņas ekstrakcijas rezultāti bija līdzīgi maisīšanas metodei, ar augstākām vērtībām egļu skužās, kam seko egļu zari, priežu skužas un priežu zari. No visiem materiāliem iegūtie glicerīna ekstrakti uzrādīja visaugstākās polifenolu un CUPRAC aktivitātes vērtības salīdzinājumā ar citiem izmantotajiem šķīdinātājiem. Propilēnglikols bija otrais efektīvākais šķīdinātājs, taču rezultāti būtiski atšķīrās atkarībā no izmantotā

materiāla — skuju ekstraktiem bija zemākas vērtības nekā zaru ekstraktiem. No klasiskajiem šķīdinātājiem (MeOH, EtOH un i-PrOH) iegūtie ekstrakti no egļu skujām saturēja augstāku polifenolu un CUPRAC aktivitāti nekā ekstrakti no citiem materiāliem (5.6. att.).

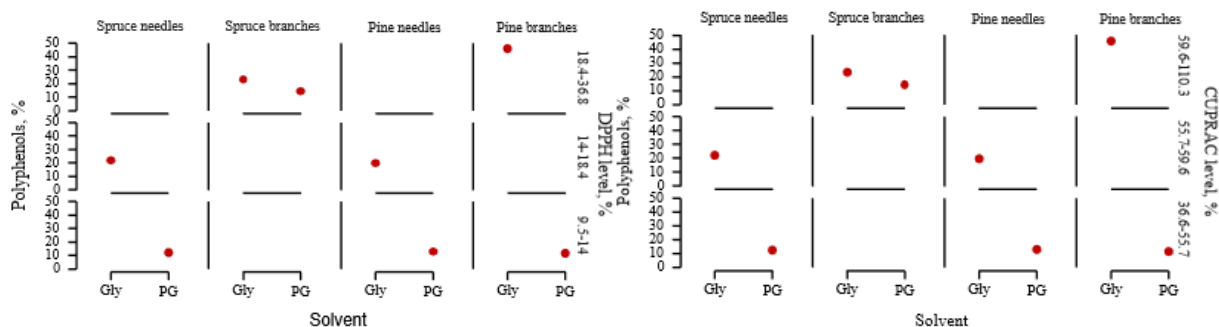


5.7. att. Egļu un priežu ekstraktos, kas iegūti, izmantojot ultraskaņas ekstrakcijas metodi, polifenolu koncentrācija tika sadalīta trīs DPPH antiradikālās aktivitātes līmeņu grupās: zema aktivitāte (1,1–7,3 %), vidēja aktivitāte (7,3–12,2 %) un augsta aktivitāte (12,2–39,0 %)

5.7. attēlā attēlota iegūto ekstraktu polifenolu koncentrācija un antiradikālā aktivitāte. Novērotais trends ir līdzīgs kā CUPRAC grafikā, ar vienīgajām atšķirībām izopropanola ekstraktā no egļu skujām un glicerīna ekstraktā no priežu skujām. Salīdzinot CUPRAC un DPPH līmeņus, izopropanola ekstrakta antiradikālā aktivitāte ir vidēja, salīdzinot ar tā antioksidatīvo spēju, savukārt priežu skuju glicerīna ekstrakta antiradikālā aktivitāte ir augstāka nekā tā antioksidatīvā aktivitāte.

Ekstrakcija izmantojot karsēšanas metodi. Ekstrakcija, izmantojot sildīšanu, ir viena no senākajām metodēm, ko izmanto bioloģiski aktīvo vielu iegūšanai no augiem, kurus tradicionāli izmanto tautas medicīnā. Priežu un egļu novārījumus joprojām izmanto saaukstēšanās un elpceļu infekciju gadījumos. Mājas apstākļos šādi novārījumi parasti tiek gatavoti ūdens vidē, taču neatbilstoša uzglabāšana un mikrobioloģiskā piesārņojuma risks var veicināt baktēriju augšanu. To iespējams novērst, izmantojot ekstrakcijai glicerīnu vai propilēnglikolu.

Eksperimentā egļu un priežu skuju un zari tika karsēti Gly un PG šķīdumos 6 stundas 60 °C temperatūrā trīs atkārtojumos. Pēc ekstrakcijas šķīdumi tika filtrēti paaugstinātā temperatūrā (60 °C), lai uzturētu šķīdinātāju zemo viskozitāti un paātrinātu filtrācijas procesu. 6. attēlā parādītas kopējo polifenolu koncentrācijas, kā arī CUPRAC un DPPH aktivitāte atkarībā no izmantotā biomasas materiāla un šķīdinātāja. Iegūtajos rezultātos ir skaidri redzamas atšķirības starp izmantotajiem šķīdinātājiem un materiāliem. Visos gadījumos kopējo polifenolu saturs, antiradikālā un antioksidatīvā aktivitāte ir augstāka glicerīna šķīdumos. Egļu un priežu ekstrakti parasti uzrāda līdzīgus rezultātus, taču priežu zaru ekstraktos novērojama aptuveni divkārt augstāka bioloģiskā aktivitāte (5.8. att.).



5.8. att. Polifenolu koncentrācija no egļu un priežu ekstraktiem, kas iegūti ar karsēšanas metodi, tika iedalīta trīs CUPRAC antioksidatīvās aktivitātes grupās: zema (36,6–55,7 %), vidēja (55,7–59,6 %) un augsta (59,6–110,3 %) aktivitāte, kā arī trīs DPPH antiradikālās aktivitātes grupās: zema (9,5–14,0 %), vidēja (14,0–18,4 %) un augsta (18,4–36,8 %) aktivitāte

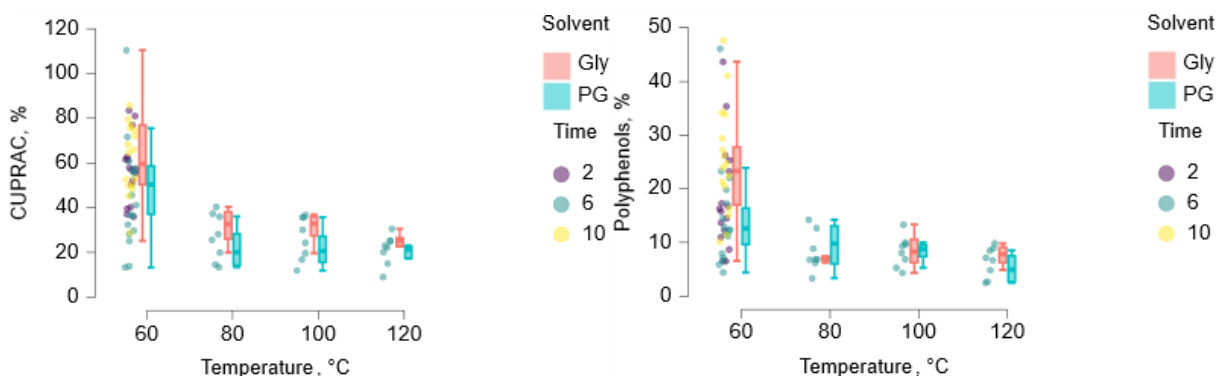
Iepriekšējās konvencionālās (5.4. un 5.5. attēls) un ultraskaņas ekstrakcijas (5.6. un 5.7. attēls) metodes parādīja, ka egļu un priežu skuju ekstraktos ir augstāka polifenolu koncentrācija un aktivitāte nekā zaru ekstraktos. Tomēr, izmantojot karsēšanas metodi, šī tendence ir apgriezta – zaru ekstrakti uzrāda augstāku aktivitāti nekā skuju ekstrakti. Glicerīnam piemīt lielāka polaritāte nekā propilēnglikolam, kas uzlabo tā spēju šķīdināt polifenolus, īpaši tos, kuriem ir augstāka hidrofilītāte. Propilēnglikols var būt mazāk efektīvs nekā glicerīns augu matricas struktūras saīsinā un saistīto fenola savienojumu atbrīvošanā, jo glicerīns efektīvāk izjauc lignocelulozes struktūru, atvieglojot fenola savienojumu izdalīšanos. Šo efektu var veicināt tanīnu klātbūtne zaros. Tanīni ir ļoti polimerizētas molekulas, kuru pamatā ir dažādas flavonoīdu struktūras. Paaugstinātā temperatūrā un ūdens klātbūtnē šīs struktūras tiek hidrolizētas, veidojot mazākas flavonoīdu polimēru struktūras, tādējādi palielinot brīvo polifenolu koncentrāciju un ekstraktu bioloģisko aktivitāti.

Karsēšanas metodes optimizācija. Līdzīgi kā iepriekš aprakstīts, konvencionālie šķīdinātāji (MeOH, EtOH un i-PrOH) dod zemāku ekstrakcijas iznākumu salīdzinājumā ar glicerīnu (Gly) un propilēnglikolu (PG). No rūpnieciskā viedokļa raugoties, tradicionālie šķīdinātāji paaugstina produkcijas izmaksas, jo pēc ekstrakcijas nepieciešami papildus soļi — iztvaicēšana un žāvēšana, lai iegūtu šķīdinātāju brīvus gala produktus.

5.9. attēlā parādīti karsēšanas metodes optimizācijas rezultāti, kurā dažādi ekstrakcijas materiāli (egles, priedes, zari, skuju) netika nošķirti pēc grafika. Iegūtie rezultāti apstiprina sākotnējo hipotēzi, ka polifenolu koncentrācija un radikāļu neitralizēšanas aktivitāte samazinās līdz ar temperatūras paaugstināšanu. Iepriekš novērotās tendences Gly un PG ekstraktu iznākumos saglabājas — Gly joprojām ir optimāls šķīdinātājs bioloģiski aktīvo savienojumu ekstrakcijai no izmantotajiem materiāliem. Eksperimentālie rezultāti rāda, ka 60 °C temperatūrā kopējo polifenolu koncentrācija mainās atkarībā no karsēšanas ilguma — no 6–22 % intervālā līdz 10 h, un pieaug līdz 20–34 % pēc 10 stundām. Līdzīga tendence novērojama arī antioksidatīvās aktivitātes rādītājos, kur CUPRAC vērtības svārstās no 17–61 % pie 2 h un 6 h, bet pieaug līdz 43–82 % pēc 10 h. Paaugstinot temperatūru

(80-120 °C), visā intervālā novērots polifenolu un antioksidantu koncentrācijas kritums, kas, iespējams, ir saistīts ar polifenolu degradāciju.

Salīdzinot ar konvencionālajām un ultraskaņas metodēm, karsēšanas metode nodrošina augstākus kopējo polifenolu, antiradikālās un antioksidatīvās aktivitātes rezultātus. Turklāt šī metode ir pietiekami vienkārša un izturīga, lai to varētu izmantot rūpnieciskai mērogošanai, jo nav nepieciešami sarežģīti inženiertehniski risinājumi. Karsēšanas metodes optimizācijā tika izmantoti tikai Gly un PG šķīdinātāji, pētījums tika veikts dažādās temperatūrās (60, 80, 100 un 120 °C) un laikos (2, 6 un 10 stundas), katrs no tiem trīs atkārtojumos.



5.9. att. Polifenolu ekstrakcijas optimizācija, izmantojot karsēšanas metodi propilēnglikola (PG) un glicerīna (Gly) šķīdinātājos: temperatūras un laika ietekme visiem egles un priedes ekstraktiem

Antimikrobiālā aktivitāte iegūtajiem ekstraktiem. Minimālā baktericīdā koncentrācija (MBK) un minimālā fungicīdā koncentrācija (MFK) apzīmē zemāko ekstrakta koncentrāciju, pie kuras tiek nogalināti $\geq 99,9$ % baktēriju vai sēņu. Savukārt minimālā inhibējošā koncentrācija (MIK) tiek definēta kā zemākā ekstrakta koncentrācija, pie kuras tiek inhibēta mikroorganismu augšana. MBK un MFK vērtības parasti ir augstākas nekā MIK, jo nepieciešama lielāka ekstrakta koncentrācija mikroorganismu nogalināšanai.

Eksperimentā iegūtās MBK un MFK vērtības atšķīrās no MIK, tādējādi sniedzot papildu informāciju par iegūtajiem egļu un priežu ekstraktiem. Šie ekstrakti tika iegūti, izmantojot karsēšanas metodi (6 stundas, 60 °C) ar glicerīnu (Gly) un propilēnglikolu (PG) kā šķīdinātājiem. Šo šķīdinātāju ekstrakti uzrādīja plaša spektra aktivitāti pret Gram-pozitīvajām un Gram-negatīvajām baktērijām, kā arī raugiem (*Candida albicans*) (2. tabula).

Visaugstākā antimikrobiālā aktivitāte tika konstatēta priežu zaru ekstraktiem, īpaši pret *Staphylococcus aureus* un meticilīnrezistentu *Staphylococcus aureus* (MRSA), ar MBK vērtībām 0,07–0,33 mg/mL un MIK vērtībām 0,16–0,29 mg/mL. Augsta aktivitāte tika novērota arī egļu zaru ekstraktiem, īpaši pret Gram-pozitīvajām baktērijām (MIK/MBK 0,18–1,43 mg/mL).

Salīdzinot šķīdinātājus, glicerīna ekstrakti parasti uzrādīja vājāku aktivitāti nekā PG ekstrakti, taču priežu zaru ekstrakti ar Gly joprojām demonstrēja būtisku efektivitāti (piemēram, MRSA MIK =

0,16 mg/mL), liecinot par augstu bioaktīvo vielu koncentrāciju, kas saglabājas arī polārā vidē. Egļu zaru ekstrakti ar Gly uzrādīja nelielu iedarbību (MIK līdz 1,43 mg/mL).

Ekstrakti bija ievērojami efektīvāki pret Gram-pozitīvajām baktērijām, piemēram, *S. aureus*, MRSA un *Listeria monocytogenes*, kuru šūnāpvalka struktūra ir vienkāršāka un tādējādi uzņēmīgāka pret augu izcelsmes savienojumiem. PG ekstrakti no priežu un egļu zariem uzrādīja zemākās MIK vērtības ($\leq 0,46$ mg/mL) šiem mikroorganismiem.

Gram-negatīvās baktērijas, piemēram, *Escherichia coli* un *Salmonella enterica*, bija rezistentākas, un to inhibēšanai bija nepieciešamas lielākas koncentrācijas (MIK/MBK $\geq 0,94$ mg/mL), iespējams, saistībā ar to aizsargājošo ārējo membrānu. Tomēr priežu zaru ekstrakti (PG un Gly) joprojām uzrādīja mērenu aktivitāti (*E. coli* MIK līdz 1,15 mg/mL).

Salīdzinot efektivitāti starp mikroorganismiem, PG ekstrakti dažkārt uzrādīja lielas atšķirības starp dažādu sugu aktivitāti (līdz 100–200 reizēm), savukārt glicerīna ekstrakti demonstrēja vienmērīgāku darbību pret vairākiem mikroorganismiem.

Kopumā, visefektīvākie ekstrakti bija iegūti no priežu un egļu zariem, īpaši PG šķīdinātājā. Tie uzrādīja konsekventi zemas MIK un MBK vērtības, īpaši pret Gram-pozitīvajām baktērijām. Glicerīna ekstrakti bija vājāki, bet joprojām efektīvi, īpaši *Pinus spp.* zaru ekstrakti. Vismazāk efektīvie ekstrakti bija egļu skuju ekstrakti ar Gly, kuru MIK vērtības bija visaugstākās.

Salīdzinājumam ar antibiotikām: priežu zaru PG ekstraktiem pret *S. aureus* un MRSA bija MIK robežās 70–290 μ g/mL. Salīdzinājumam, vankomicīnam parasti MIK ir 0,5–2 μ g/mL (MRSA: līdz 4 μ g/mL), bet penicilīnam bieži >128 μ g/mL, kas nozīmē, ka dažos gadījumos priežu ekstraktiem ir līdzīga efektivitāte.

Gram-negatīvām baktērijām, piemēram, *E. coli* un *S. enterica*, PG ekstrakti uzrādīja augstākas MIK vērtības (940–1430 μ g/mL), salīdzinot ar, piemēram, ciprofloksacīnu (MIK 0,015–0,5 μ g/mL) vai gentamicīnu (64–256 μ g/mL). Tas norāda uz zemāku efektivitāti pret šīm sugām.

Pret raugu *Candida albicans*, MIK ekstraktiem no priežu zariem PG šķīdinātājā bija 460–1290 μ g/mL. Savukārt flukonazols (0,25–4 μ g/mL) un amfotericīns B (0,03–1 μ g/mL) ir ievērojami spēcīgāki. Tas nozīmē, ka priežu ekstraktiem piemīt pretsēnīšu aktivitāte, taču to efektivitāte ir zemāka nekā standarta pretmikrobu medikamentiem.

5.7. tabula

Zaļo šķīdinātāju ekstraktu pretmikrobu aktivitāte no skuju koku skuļām un zariem. Koncentrācijas izteiktas mg/mL

		Gram-pozitīvās								Gram-negatīvās				Sēnītes	
		MSCL 333 (<i>Staphylococcus epidermidis</i>)		MSCL 334 (<i>Staphylococcus aureus</i>)		MSCL 993 (methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>)		MSCL 760 (<i>Listeria monocytogenes</i>)		MSCL 332 (<i>Escherichia coli</i>)		MSCL 588 (<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium)		MSCL 378 (<i>Candida albicans</i>)	
Materiāls	Šķīdinātājs	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK
Priežu skuļas	PG	1,84	1,84	0,23	0,23	0,90	0,90	3,65	7,30	3,65	3,65	3,65	3,65	0,90	0,90
Priežu zaro	PG	0,58	0,58	0,07	0,07	0,29	0,29	1,15	2,31	1,15	1,15	1,15	1,15	0,58	0,58
Egļu skuļas	PG	3,60	3,60	0,46	0,89	1,82	1,82	3,60	7,21	3,60	3,60	3,60	3,60	0,46	1,82
Egļu zari	PG	1,86	3,71	0,24	0,46	0,46	0,46	1,86	3,71	1,86	0,94	0,94	0,94	1,82	0,46
Priežu skuļas	Gly	0,47	0,47	0,96	1,90	3,80	3,80	1,90	3,80	1,90	3,80	3,80	3,80	3,80	3,80
Priežu zaro	Gly	0,33	0,65	0,16	0,33	0,16	0,33	0,65	1,29	0,65	1,29	1,29	1,29	1,43	1,29
Egļu skuļas	Gly	0,31	2,47	0,62	1,24	2,47	2,47	1,24	2,47	1,24	2,47	2,47	2,47	1,29	2,47
Egļu zari	Gly	0,18	1,43	0,36	1,43	1,43	1,43	0,71	1,43	0,71	1,43	1,43	1,43	2,47	1,43

* Zilā krāsa norāda, ka mikroorganismu augšanas nomākšanai nepieciešama zema ekstrakta koncentrācija, baltā krāsa – vidēja koncentrācija, bet sarkanā krāsa – augsta koncentrācija.

5. CIETĀ ATLIKUMA PIROLĪTISKĀ SADALĪŠANA, BIOOGLE

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

6.1. tabula

Perspektīvo ekstrakcijas šķīdinātāju fizikāli ķīmiskie parametri

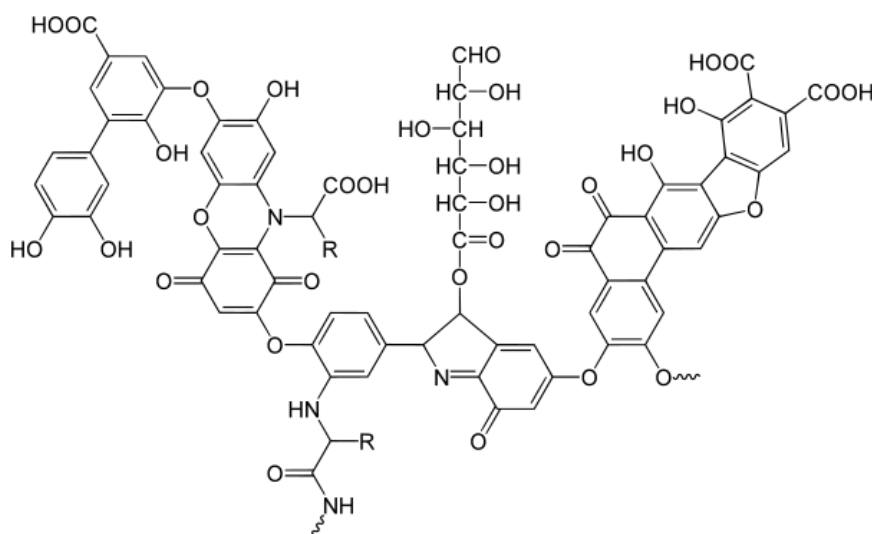
Paraugs	Pelni, %	Siltumspēja (HHV), MJ/kg
Egļu zari	3,06	20,21
Egļu zari ekstr. USV	2,94	19,48
Egļu skujas	6,14	21,52
Egļu skujas ekstr. USV	7,58	19,63
Egļu zalenis	6,04	21,26
Egļu zalenis ekstr. USV	6,63	19,81
Egļu zalenis ekstr. USS	6,26	17,96

No iegūtajiem rezultātiem var redzēt (6.1. tabula), ka potenciāli cietajam biokurināmajam var izmantot egļu zaru koksni, jo tā satur vismazāk minerālo vielu (pelnus), salīdzinot ar pārējiem analizētajiem paraugiem. Jāatzīmē, ka vairākām Latvijas cietā biokurināmā eksportējošo kompāniju notiektais augstākais pelnu saturs ir 5%, kas nozīmē, ka cietajam biokurināmajam ir izmantojama egļu zaru koksne, kas atbrīvota vai daļēji atbrīvota no skuļām. Šāda resursu racionāla izmantošana ir iespējama, ja veido pieprasījumu skuju dziļajai pārstrādei.

6. HUMUSVIELU IZDALĪŠANA UN TESTĒŠANA

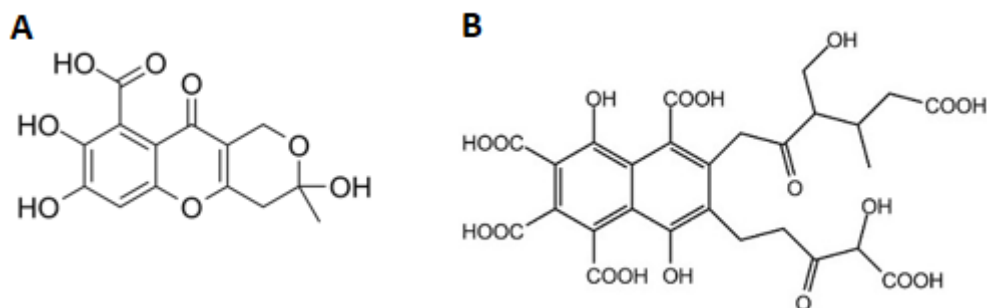
Humīnskābes (HS) ir makromolekulas, kas sastāv no fenolveida vielām ar vai bez aminoskābju klātbūtnes un ir plaši sastopamas sauszemes augsnē, dabas ūdeņos un sedimentos, kas rodas no augu un dabas atlieku sadalīšanās. Humīnskābes ir viena daļa no kopējām humusvielām (HV), kuru sastāvā ir arī nešķīstošais humīns un fulvoskābes. HS šķīst sārmainās un neitrālās vidēs, bet nešķīst skābā vidē, kas <pH 2. Tās var izmantot dažādās jomās, piemēram, kā barības piedevu mājputnu barībā, augsnes uzlabošanas līdzekli augu augšanai, adsorbentu piesārņotāju likvidēšanai un katalizatoru, pateicoties tā redoksaktivitātei. Komerciāli HS iegūst no kūdras, akmeņoglēm un brūnoglēm, kas ir neilgtspējīgi resursi. Humīnskābju vispārīga formula attēlota 7.1. attēlā. Tipiski oglekļa procentuālais saturs

humīnskābēs variē no 51-53 %, atkarībā no to veidošanās lokācijas gan augsnē, gan ūdenstilpēs, gan kūdrā.



7.1. att. Humīnskābju vispārīga formula, kur R = alifātiskas –CH₃, –CH₂, –CH ķēdes

Fulvoskābes (FS) ir humusvielu frakcija, ko raksturo to šķīdība visā pH diapazonā, atšķirībā no humīnskābēm. FS satur alifātiskās ķēdes vai aromātiskos gredzenus ar dažādām funkcionālajām grupām (piem., –COOH, –OH, =C=O), kas veicina to ķīmisko reaģētspēju. FS piemīt atšķirīgas sorbcijas īpašības, ko ietekmē to molekulizmērs, ķīmiskā struktūra, redoksaktīvās funkcionālās grupas, kompleksēšanās vietas, aromātiskums, hidrofbiskums un polielektrolītiskās īpašības. FS var mijiedarboties ar dažādiem augsnes komponentiem, tostarp organiskajiem piesārņotājiem, pesticīdiem un metālu joniem, kas atspoguļo to ķīmisko reaģētspēju FS pētījumos bieži izmanto spektroskopijas (UV-VIS, VIS-nearIR) un elektroķīmiskās metodes, lai pētītu to dabu, veidošanos, sastāvu un sorbcijas īpašības. Pesticīdiem parasti ir lielāka afinitāte pret HS nekā FS, un lielāka afinitāte pret HV, kas bagātākas ar aromātisko oglekli. Metālu jonu aizture ar HV, tostarp FS, lielā mērā ir atkarīga no to karboksilgrupu un hidroksilgrupu vāļajām skābju grupām. FS un citu HV frakciju fizikāli ķīmiskās īpašības var ievērojami atšķirties atkarībā no vides faktoriem un augsnes organiskā materiāla izcelsmes. Fulvoskābju molekulformulas attēlotas 7.2. attēlā.



7.2. att. Fulvoskābju molekulformulas. A – slēgta cikla tipa; B – atvērta cikla tipa

Dabiskos apstākļos humusvielu veidošanās prasa diezgan ilgu laiku, kur noris bioloģiskas un abiotiskas reakcijas, piemēram, sfagnu kūdrā (līdz 20 m dziļumam) notiekošā sadalīšanās, veidojot humusvielas, var ilgt līdz pat 15 000 gadu.

6.1. Sintētisko humusvielu izdalīšana ar hidrotermālo metodi

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 piestā un uzglabāja tālākām analīzēm.

Hidrotermāla humifikācija (HTH) ir hidrotermāla karbonizācija, kas veikta sārmainā vidē izmantojot bāzi, visbiežāk kālija hidroksīdu, kā katalizatoru. Biomasas hidrotermālā humifikācija autogēnā spiedienā bezskābekļa vidē ir viegls ķīmisks process, kas imitē dabisko humifikācijas procesu, taču līdz pat 109 reizi ātrāk. Šī abiotiskā metode nodrošina lielisku oglekļa ieguvu, turklāt lielākā daļa biomasas oglekļa saglabājas humificētajā produktā. Tas ir pretstatā pirolītiskiem procesiem, kuros liela daļa oglekļa oksidējas un izdalās CO₂ un CO veidā, veicinot siltumnīcefekta gāzu emisijas. Izvairoties no bioloģiskās metabolizācijas un paplašinot hidrotermālās metodes, lai imitētu augsnes organisko vielu veidošanos, šī pieeja piedāvā alternatīvu risinājumu augsnes uzlabotāju ieguvei ar mērenu enerģijas patēriņu un augstu oglekļa efektivitāti.

Humusvielu ķīmiskās veidošanās process no ogļhidrātiem un augu biomasas atkritumiem ietver vienkāršu "vārīšanas" procesu sārmainā vidē. Šā procesa laikā ogļhidrāti sadalās šķidrā formā retroaldolās pievienošanās reakcijās, un rodas dažādas organiskās skābes, tostarp pienskābe un dzintarskābe. Šī metode imitē mikrobioloģisko acidolīzi, cukuriem neitralizējot sārmainas augsnes. Lignocelulozes biomasā celulozes un hemicelulozes sadalīšanās noris pēc šāda mehānisma, taču lignīns daļēji izšķīst fenolātu veidā un paliek neizšķīdināts hidrofofiskākā formā. Makromolekulas tiek šķeltas kā rezultātā veidojas heksozes un pentozes. Procesam turpinoties, pH pazeminās, apstādinot retroaldolās reakcijas un veidojas 5-hidroksimetilfurfuols un furfuols, kas tālāk kondensējas oglekļa stabilā kompleksā. Kontrolējot pH un sārna līmeni, procesu var pielāgot, lai iegūtu lineārus vai nedaudz sazarotus sintētisko humusvielu (SHV) polimērus.

Kādā nesenā literatūras avotā pētīta un optimizēta humīnskābju sintēze un optimālie apstākļi. Pētījumā izmantots kukurūzas salmu substrāts pēc anaerobās digestācijas. Šie autori hidrotermālu humifikāciju biomasai veica 3 temperatūrās – 150; 165; 180 °C un trīs laikos, proti, 2; 5 un 8 stundas. Iegūtais humīnskābju iznākums bija 24-40% attiecībā pret biomasas iekrāvuma masu. Atrastie optimālie apstākļi humīnskābju bija 156 °C, 2h un 5% KOH šķīduma vide, kur iegūts visaugstākais sintētisko humīnskābju saturs. Citā nesenā pētījumā pētnieku grupa veica HTH govju kūtsmēsliem 6 stundas 240 °C un ieguva 37% humīnskābju iznākumu.

6.2. Humusvielu izdalīšana ar skalošanas metodi

Ņemot vērā, ka Biolat ekstrahētās skuju nesatur svešķābes un vaskus, kas apgrūtina skuju turpmāku ķīmisku pārstrādi jaunos produktos, tika nolemts Biolat ekstrahētās skuju apstrādāt ar šķeldu kurtuvēs pieejamiem pelniem, ko citādi katlu mājas deponē atkritumu poligonos. Jāatzīmē, ka, lai pelnus būtu iespējams viegli pārstrādāt “pelnu pienā” ir jāpievērš papildus vērība kurināmā kvalitātei – kurtuvē ir jāievēro tādi dedzināšanas režīmi, lai neveidotos smilšu sakusumi – kurtuves akmeņi, kas ir stiklam līdzīgi smilšu sakusumi (skat. 7.3. A att.). Ja nav iespējams ievēro dedzināšanas režīmu, tad ir nepieciešams ierīkot papildus pelnu frakcionēšanu aiz pelnu izkraušanas šneka, lai nosijātu rupjos sakusušos akmeņus un deponētu atkritumu poligonos tikai tos, nevis koksnes pelnus (skat. 7.3. B att.), tādejādi ir iespējams krasi samazināt deponēšanas izmaksas un laukumu, un atgrieztu videi resursus (minerālus, piemēram K, Ca, Fe u.c.), kas no meža ir izvests, izvedot koksnes resursus.



7.3. att. Šķeldu katlumājas pelnu paraugu iegūšana: A - Sakusušās smiltis, kas izveidojušās kurtuvē; B - Sietā potenciālā atrašanās vieta pie pelnu uzkrāšanas

No sijātiem koksnes pelniem izveidoja “pelnu pienu”, tādejādi iegūstot ekstrakcijas reaģentu, ko citādi būtu jāiegādājas no ārējiem piegādātājiem. Šādi laboratorijas apstākļos imitēja saimniecisku pieeju un koksnes resursu ilgtspējīgu pielietojumu. Ekstrakciju veica nerūsējošā tērauda cilindrā, kura apakšā ir iestrādāts 1mm siets. Uzlejot karstu “pelnu pienu”, to izturēja līdz tas atdzisa un tad nolēja. Iegūto melno humusvielu šķīdumu (skat. 7.4. A att.) ievietoja ledusskapī turpmākām analīzēm un testiem uz kokaugiem. Papildus humusvielu šķīduma testēšanai veikta arī kūdras aizstājēj substrāta testēšana (skat. 7.4. B att.), iestādot tajā egļu stādus un kontrolējot to augšanas gaitu.



7.4. att. Iegūtie paraugi no skuju ekstrakcijas ar pelnu šķīdumu: A - Skuju – pelnu humusvielu šķīdums; B - Skuju – pelnu substrāts

Ekstrakcijas laikā iegūti divi ekstrakti un divi substrātu cietie atlikumi:

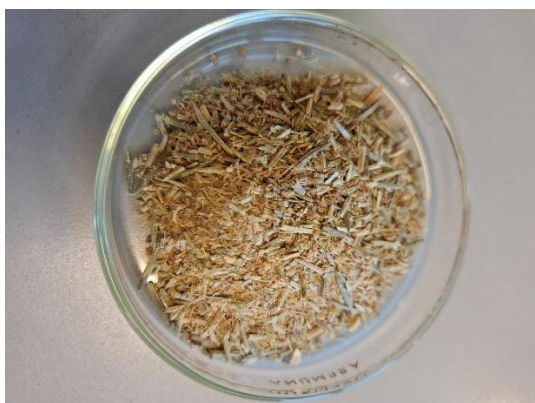
1% kālija hidroksīda (KOH) ekstrakts un tā sausais atlikums.

1% pelnu šķīduma ekstrakts un tā sausais atlikums.

Lai noteiktu iegūto ekstraktu sauso daļu, tos ietvaicēja keramikas trauciņos. Iegūto ekstraktu sausnes procenti: 1% KOH ekstrakta sausne ir $5,2 \pm 0,3\%$; 1% pelnu šķīduma ekstrakta sausne ir $4,6 \pm 0,3\%$.

6.3. Pētījumā izmantotais zalenis un tā pirmapstrāde

Pētījumā izmantota egļu skuju un zaru, jeb zaleņa (turpmāk -biomasa), kas iegūta no svaigām eglēm Aglonas dzelzceļa stacijas tuvumā ($56,166106^\circ$ platums, $26,829501^\circ$ garums), kas maltas ar nažu dzirnavām FRITSCH līdz homogēnām 2 mm izmēra daļiņām. Zalenis pirms hidrotermālas humifikācijas ekstrahēts ar izopropanolu. Pēc ekstrakcijas biomasu savāc un žāvē gaisā. Iegūto masu uzglabā ledusskapī tālākām analīzēm.



7.5. att. Egļu zaleņa biomasa pēc ekstrakcijas ar izopropanolu

6.4. Hidrotermālās humifikācijas apstākļi un sintētisko humusvielu sintēze

Balstoties uz iepriekš veiktajiem pētījumiem Vides ķīmijas laboratorijā, par derīgu sākotnējai optimizācijai izvēlēts 0,65 M KOH šķīdums. Pamatojoties uz literatūrā veiktajiem pētījumiem par HTH optimizāciju, izvēlēti 5 laiki, proti, 2; 4; 9; 14 un 24 stundas sešos temperatūras režīmos – 155; 170; 185; 200; 215 un 230 °C. Uz analītiskajiem svāriem nosver apmēram 3 g gaissausa zaleņa, kvantitatīvi pārnēs 100 mL teflona (PTFE) autoklāvā, pievieno 50 mL KOH šķīdumu un autoklāvu ievieto spiediena izturīgā tērauda ietvarā un noslēdz. Paraugu karsē izvēlētajā temperatūrā un laikā laboratorijas žāvskapī (Gallenkamp Plus II). Pēc sintēzes, kad autoklāvs atdzisis, to atver, visu saturu filtrē caur filtrpapīru un filtrātu savāc tālākām analīzēm. Katra sintēze veikta 3 atkārtojumos.

6.5. Sintētisko humusvielu analīze

Ar 15 mL Mora pipeti kvantitatīvi pārnēs sintezēto humusvielu filtrātu 100 mL Erlenmeijera kolbā un pievieno 1 mL koncentrētu sālsskābi. Paraugu apmaisa un ļauj nostāties 10 minūtes. Pēc tam izgulsnētās sintētiskās humīnskābes filtrē caur filtrpapīru un filtrātu savāc tālākām analīzēm. Nofiltrētās SHS skalo ar dejonizētu ūdeni līdz neitrālam pH un žāvē.

Ar 1000 µL automātisko pipeti kvantitatīvi pārnēs 500 µL kopējo sintētisko humusvielu šķīdumu 100 mL mērkolbā un atsevišķā 100 mL mērkolbā pārnēs 500 µL atdalīto fulvoskābju un zemas molekulmasas savienojumu šķīdumu (turpmāk, sintētisko fulvoskābju (SFS) šķīdums) un atšķaida līdz atzīmei ar dejonizētu ūdeni. Atšķaidītos šķīdumus analizē ar kopējā oglekļa analizatoru (Shimadzu TOCV CSN) un rezultātu pārrēķina miligramos organiskā oglekļa uz 1 gramu. Oglekli no SHS aprēķina no kopējās frakcijas oglekļa atņemot SFS oglekļa koncentrāciju.

Optimizācija. Pētījuma ietvaros veica vienvirziena ANOVA analīzi, lai pārbaudītu dažādu temperatūru un laika ietekmi uz hidrotermālās humifikācijas kopējā oglekļa pārnēsi sintēzes gaitā. Pēc nozīmīga ANOVA rezultāta veikts Tukija HSD (Honestly Significant Difference) pēcprādes tests, lai identificētu, kuras konkrētās temperatūras un laika grupas ievērojami atšķiras.

Datu analīzi veica izmantojot SPSS (Versija 29, IBM Corp., Armonk, NY, USA). Vienvirziena ANOVA tika izmantota, lai noteiktu temperatūras un laika kopējo ietekmi uz hidrotermālās humifikācijas sintēzes procesu. Pēcprādes salīdzinājumus veica, izmantojot Tukija HSD testu, lai kontrolētu I tipa kļūdu vairākos salīdzinājumos ($p < 0,001$; $\alpha = 0,05$; $n = 3$).

Datu statistiskā Pīrsona korelācijas analīze veikta, izmantojot brīvpieejas statistikas programmu JASP (ver. 0.19.3.0), aprēķināta katra mērītā raksturlieluma korelācija vienam pret otru.

Makroelementu (C, N) analīze. Uz analītiskajiem svāriem alvas kapsulā iesvēra 10 mg humīnskābes, kapsulu aizlocīja, līdz aptuveni sfēriskai formai un parauga kopējo oglekli un slāpekli analizēja, izmantojot EuroVector EURO EA 3000 iekārtu. Par standartvielu izvēlēta L-glutamīnskābe, kas sagatavota iesverot alvas kapsulās 5,59-16,15 mg vielas. Iegūti kalibrēšanas grafiki kopējam ogleklim $R^2 = 0,995$ un kopējam slāpeklim $R^2 = 0,994$. Mērījumus veica 3 atkārtojumos.

Mikroelementu analīze. Uz analītiskajiem svāriem PTFE kapsulās iesvēra aptuveni 0,5 g humīnskābju vai ekstrahēta zaleņa biomasas parauga un pievienoja 10 mL koncentrētu HNO₃. Kapsulas ievietoja spiediena izturīgos ietvaros, noslēdza un veica slapjo mineralizāciju, izmantojot mikroviļņu mineralizācijas iekārtu (Milestone Ethos EASY). Paraugu 15 minūtes sildīja līdz 200 °C temperatūrai ar maksimāli 1800 W jaudu, vēl 15 minūtes noturēja šajā temperatūrā un pēc mineralizācijas atdzesēja līdz istabas temperatūrai. Paraugu kvantitatīvi pārnesa 50 mL polipropilēna stobriņā un atšķaidīja līdz 50 mL, izmantojot dejonizētu ūdeni (0,055 μS/cm). Paraugi sagatavoti 2 atkārtojumos.

Pirms analīzes paraugu atšķaidīja vēl 10 reizes un analizēja ar induktīvi saistītās plazmas spektrometru, kas aprīkots ar optiskās emisijas detekciju (Thermo-Scientific iCAP 7200 series). ICP analīzes parametri: radiofrekvences jauda – 1150 W; plazmas gāzes (argons 5.0) plūsma – 12 L/min; parauga izsmidzinātāja gāzes plūsma – 0,5 L/min; papildgāzes (slāpeklis 5.0) plūsma – 0,15 L/min; parauga plūsmas ātrums – 1 mL/min. Kopā noteikti 29 elementi: Al (396,152 nm, radiāli); As (189,042 nm, aksiāli); B (249,773 nm, radiāli); Ba (455,403 nm, aksiāli); Be (313,042 nm, radiāli); Ca (422,673 nm, radiāli); Cd (228,802 nm, aksiāli); Co (228,616 nm, aksiāli); Cr (267,716 nm, aksiāli); Cu (324,754 nm, aksiāli); Fe (240,488 nm, radiāli); K (766,490 nm, radiāli); Li (670,784 nm, radiāli); Mg (285,213 nm, radiāli); Mn (257,610 nm, radiāli); Mo (202,030 nm; aksiāli); Na (589,592 nm, radiāli); Ni (231,604 nm, aksiāli); P (177,495 nm, aksiāli); Pb (220,353 nm, aksiāli); S (180,731 nm, aksiāli); Sb (206,833 nm, aksiāli); Se (196,090 nm, aksiāli); Si (251,611 nm, radiāli); Sr (407,771 nm, radiāli); Ti (334,941 nm, radiāli); Tl (190,856 nm, aksiāli); V (292,402 nm, aksiāli); Zn (213,856 nm, aksiāli). Kalibrēšanas grafiku izveidei izmantoti standartizēti references materiāli.

6.6. Humīnskābju fizikāli-ķīmiskais raksturojums

Molekulārās absorbcijas spektru uzņemšana (UV-Vis). Uz analītiskajiem svāriem nosvēra 20 mg izdalītās un attīrītās sintētiskās humīnskābes un kvantitatīvi pārnesa 1 L mērkolbā un izšķīdināja 0,5 M NaHCO₃ šķīdumā.

Šķīdumus mērīja 1 cm kvarca kivetē ar UV-VIS spektrometru UV 1800 diapazonā no 220 līdz 700 nm ar soļa garumu 1 nm. Humīnskābju raksturošanai izmantoja absorbciju attiecības pie viļņu garumiem 254 nm (E₂); 365 nm (E₃) 465 nm (E₄) un 665 nm (E₆) un izteica kā E₂/E₃; E₂/E₄; E₂/E₆ un E₄/E₆.

Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija (FTIR). Pirms analīzēm KBr 2 stundas žāvēja 105 °C, pēc tam nosvēra 200 mg un pievienoja 2 mg humīnskābes, un samaisīja. Maisījumu sapresēja kapsulā un mērīja ar FTIR spektrometru (Shimadzu IR-Tracer 100). Mērījumi veikti diapazonā no 4000 cm⁻¹ līdz 400 cm⁻¹ ar izšķirtspēju 8 cm⁻¹ un veica 16 skenējumus.

Elektronu paramagnētiskās rezonanses (EPR) spektri uzņemti LU Cietvielu fizikas institūtā izmantojot Bruker ELEXSYS-II E500 CW-EPR spektrometru. Datu iegūšanas iestatījumi bija šādi: istabas temperatūra; 9,837 GHz mikroviļņu frekvence, 1–100 mW mikroviļņu jauda un 0,1 mT magnētiskā lauka modulācijas amplitūda ar 100 kHz modulācijas frekvenci.

Oglekļa-13 šķērspolarizācijas maģiskā leņķa griešanas kodolmagnētiskās rezonanses (^{13}C -CPMAS-NMR) spektrus ieguva Latvijas Organiskās sintēzes institūtā, izmantojot 800 MHz Bruker Avance III HD spektrometru, kas aprīkots ar 3,2 mm H/F X MAS zondi. Spektrus apstrādāja, izmantojot programmu Bruker Topspin 3.6.1.

Fluorescences 3D ierosināšanas/emisijas matricas (FLR 3D-EEM) ieguva, izmantojot HORIBA Jobin Yvon Aqualog fluorescences spektrofotometru. No sintētiskajām humīnskābēm pagatavoja šķīdumus 0,5 M NaHCO_3 vidē ar koncentrāciju 20 mg/L. Paraugus mērija, izmantojot 1 cm kvarca kivetes bez šlifētiem sāniem. Ierosināšanas viļņa garumi: 240-600 nm; emisijas viļņa garumi: 260-620 nm. Mērīšanas soļa garums – 3 nm. Pēc mērījumu veikšanas izejas datiem maskēja pirmās kārtas Releja izkliedi. Iegūtos fluorescences spektru datus apstrādāja, vizualizēja un sagatavoja attēlošanai, izmantojot RStudio (versija 2024.12.1.563) vidi un R (versija 4.5.0) valodas bibliotēkas readxl, dplyr, akima un ggplot2. Dati tika interpolēti ar lineāru divdimensiju metodi (akima::interp) atkarībā no ierosināšanas un emisijas viļņu garumiem (skripts pieejams no Latvijas Universitātes pētniekiem).

Termogravimetriskā analīze. Porcelāna sverlaiviņā iesvēra aptuveni 20 mg parauga un ievietoja termogravimetrā (SDT Q600, TA Instruments). Paraugu slāpekļa atmosfērā uzkarsēja līdz 120 °C ar karsēšanas ātrumu 10 °C/min un noturēja 5 minūtes, lai atbrīvotos no mitruma. Pēc tam paraugu karsēja līdz 900 °C ar karsēšanas ātrumu 10 °C/min. Kad sasniedza vēlamu temperatūru, noturēja 7 minūtes un atmosfēru nomainīja no slāpekļa uz skābekli, un noturēja vēl 5 minūtes.

6.7. Fulvoskābju un blakusproduktu šķīdumu analīze

Paraugu sagatavošana spektrofotriskajām analīzēm. Pēc humīnskābju atdalīšanas no kopējā reakcijas produkta, fulvoskābju un blakusproduktu šķīdumu papildus filtrēja caur papīra filtru, lai atdalītu iespējamās atlikušās koloīdās daļiņas. Pēc filtrēšanas paraugs atšķaidīts 10 reizes.

FRAP darba šķīdumu sagatavoja samaisot 0,3 M nātrija acetāta (pH 3,6), 10 mM TPTZ (40 mM HCl) un 20 mM FeCl_3 šķīdumus attiecībā 10:1:1. Kalibrēšanas grafika darba šķīdumu pagatavoja šķīdinot troloksu 96% EtOH, lai iegūtu šķīdumu ar koncentrāciju 0,230 mg/mL. Kalibrēšanas grafiks sagatavots 4,16-45,7 $\mu\text{g/mL}$ diapazonā. Ieguva kalibrēšanas grafiku ar $R^2=0,9996$. Analīzēm 50 μL parauga, blanka vai standarta šķīduma pārnesa 96-bedrīšu mikroplatē, pievienoja 150 μL FRAP darba šķīduma, inkubēja 30 minūtes 37 °C un spektrofotometriski mērija absorbciju pie 593 nm viļņu garuma. Paraugi mērīti 4 atkārtojumos.

Kopējie polifenoli. Kalibrēšanas darba šķīdumu sagatavoja izšķīdinot galluskābi 96% etanolā līdz 0,500 mg/mL koncentrācijai. Kalibrēšanas grafiks sagatavots 13,5 203 $\mu\text{g/mL}$ diapazonā. Ieguva kalibrēšanas grafiku ar $R^2=0,9993$. Analīzēm 50 μL parauga, blanka vai standarta šķīduma pārnesa 96-bedrīšu mikroplatē, pievienoja 85 μL FC darba šķīduma, inkubēja 20 minūtes istabas temperatūrā, pievienoja 65 μL 7,5% Na_2CO_3 un inkubēja 10 minūtes. Spektrofotometriski mērija absorbciju pie 765 nm viļņu garuma. Paraugi mērīti 4 atkārtojumos.

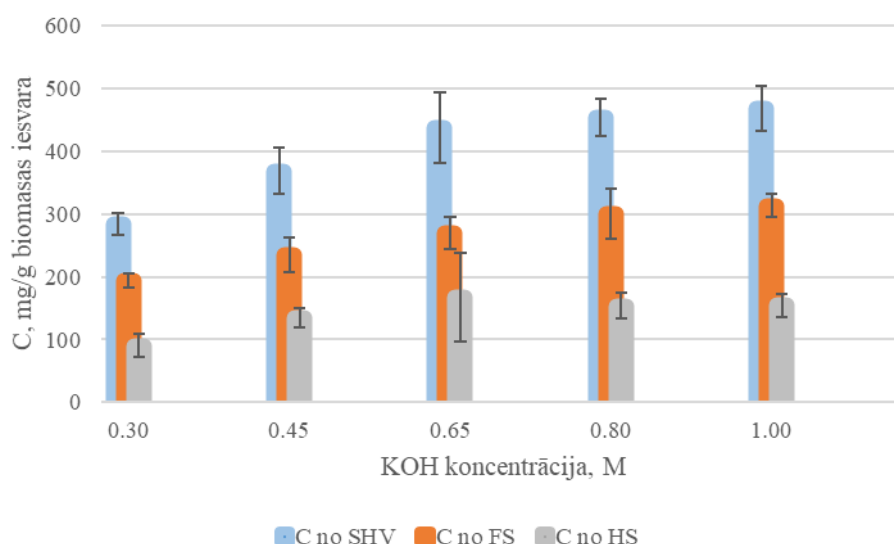
DPPH. Kalibrēšanas darba šķīdumu pagatavoja šķīdinot troloksu 96% EtOH, lai iegūtu šķīdumu ar koncentrāciju 0,230 mg/mL. Kalibrēšanas grafiks sagatavots 2,15 109 µg/mL diapazonā. Ieguva kalibrēšanas grafiku ar $R^2=0,99998$. Analīzēm 50 µL parauga, blanka vai standarta šķīduma pārnesa 96-bedrīšu mikroplatē, pievienoja 150 µL DPPH darba šķīduma un pēc 30 min spektrofotometriski mērīja absorbciju pie 517 nm viļņu garuma. Paraugi mērīti 4 atkārtojumos.

CUPRAC darba šķīdumu pagatavoja samaisot 10 mM CuCl₂, 7,5 mM neokuproīnu (96% etanolā) un 1M amonija acetāta šķīdumu (pH 7,0) attiecībā 5:5:6. Kalibrēšanas grafika darba šķīdumu pagatavoja šķīdinot troloksu 96% EtOH, lai iegūtu šķīdumu ar koncentrāciju 0,230 mg/mL. Kalibrēšanas grafiks sagatavots 6,40-230,0 µg/mL diapazonā. Ieguva kalibrēšanas grafiku ar $R^2=0,99996$. Analīzēm 50 µL parauga, blanka vai standarta šķīduma pārnesa 96 bedrīšu mikroplatē, pievienoja 150 µL FRAP darba šķīduma un pēc 60 min spektrofotometriski mērīja pie 450 nm viļņu garuma. Paraugi mērīti 4 atkārtojumos.

Kopējo ogļhidrātu kalibrēšanas darba šķīdumu pagatavoja šķīdinot glikozi dejonizētā ūdenī lai iegūtu koncentrāciju 100 µg/mL. Kalibrēšanas grafiks sagatavots 1-75 µg/mL diapazonā. Ieguva kalibrēšanas grafiku ar $R^2=0,9989$. Analīzēm 1 mL parauga pārnesa stikla mēģenē, pievienoja 1 mL 5% fenola šķīduma un inkubēja 10 minūtes. Pievienoja 4 mL konc. H₂SO₄, inkubēja 20 minūtes un mērīja spektrofotometriski pie 490 nm viļņu garuma. Paraugi mērīti 3 atkārtojumos.

6.8. Biomasas atkritumu hidrotermālās karbonizācijas optimizācija

Lai izvērtētu sārna koncentrācijas ietekmi un tā optimālo koncentrāciju turpmākajiem pētījumiem, hidrotermālo humifikāciju veica 215 °C temperatūrā 14 stundas ar 5 kālija sārna koncentrācijām – 0,30; 0,45; 0,65; 0,80; 1,00 M. Rezultāti apkopoti 7.6. attēlā



7.6. att. Oglekļa pārnese sintētiskajās humusvielās, fulvoskābēs un humīnskābēs atkarībā no KOH koncentrācijas HTH procesa laikā pie 215 °C temperatūras un 14 h sintēzes laika

Izvērtējot dažādu sārmu koncentrāciju ietekmi uz kopējo SHV, FS un HS frakcijām secināms, ka humīnskābju iznākums pie 0,65 M KOH sasniedz maksimumu un nav novērots lielāks iznākums palielinot KOH koncentrāciju. Līdzīgi ir ar kopējo SHV un SFS - straujākais iznākuma kāpums ir līdz 0,65 M KOH koncentrācijai, taču pēc tam iznākums ievērojami sarūk, palielinot koncentrāciju, kas liecina, ka 0,65 M KOH ir optimālākā koncentrācija pie kuras veikt hidrotermālo humifikāciju. Optimizācijas nolūkos veica vairākas sintēzes 6 temperatūrās un 5 dažādos reakcijas ilgumos. 7.1. tabulā attēloti rezultāti katram eksperimentam. Eksperimenti veikti 3 atkārtojumos. SHV - sintētiskās kopējās humusvielas; SFS - sintētiskās fulvoskābes un citi mazmolekulāri savienojumi; SHS - sintētiskās humīnskābes (mg oglekļa uz 1 gramu biomasas iesvara).

7.1. tabula

Eksperimentāli iegūtie dati sintētisko humusvielu oglekļa pārnesei no biomasas

T, °C	t, h	SHV, mg C/g	DI, mg C/g	SFS, mg C/g	DI, mg C/g	SHS, mg C/g	DI, mg C/g
155	2	258	27	152	106	106	43
	4	291	12	138	153	153	9
	9	329	43	142	187	187	11
	14	337	76	172	189	189	65
	24	302	106	177	170	170	2
170	2	208	28	135	73	73	10
	4	241	28	161	80	80	25
	9	307	30	185	122	122	42
	14	366	3	208	157	157	20
	24	384	45	240	143	143	12
185	2	319	84	180	22	139	105
	4	368	93	196	40	172	95
	9	380	88	214	26	166	107
	14	423	83	218	15	204	96
	24	423	73	241	17	182	82
200	2	340	56	181	9	158	47
	4	365	81	204	50	160	43
	9	418	85	221	12	198	92
	14	430	76	235	43	196	37
	24	440	51	249	39	191	90
215	2	319	65	185	27	134	48
	4	380	29	220	10	160	21
	9	439	28	246	22	193	29
	14	437	56	270	26	167	71
	24	446	16	263	13	183	4
230	2	330	26	185	29	144	10
	4	394	117	225	43	169	114
	9	454	55	242	13	212	55
	14	456	89	258	11	197	100
	24	429	99	254	36	174	110

Pēc iegūtajiem datiem uzreiz nav iespējams saskatīt viennozīmīgu labāko temperatūras un laika režīmu, tāpēc veica datu statistisko analīzi. Datu statistiskā analīze humifikācijas laika ietekmei attiecībā uz humīnskābju iznākumu attēlota 7.2. tabulā.

7.2. tabula

Humīnskābju iznākums atkarībā no sintēzes laika (-log(p))

t, h	2	4	9	14	24
2		0,49	3,58	3,79	1,95
4	0,49		1,03	1,16	0,21
9	3,58	1,03		0,00	0,10
14	3,79	1,16	0,00		0,14
24	1,95	0,21	0,10	0,14	

Jāatzīmē, ka tabulās 7.2.-7.5. attēloti salīdzinājumi, kuri veikti, izmantojot Tukija HSD testu, lai kontrolētu I tipa kļūdu vairākos salīdzinājumos ($p < 0,001$; $\alpha = 0,05$; $n = 3$). Lai ērtāk varētu orientēties statistiskajā nozīmīguma salīdzinājumā, visām p vērtībām aprēķināts negatīvais logaritms (-log(p)), proti, kritiskā p vērtība ir 0,001, bet negatīvā logaritma gadījumā tas ir 3. Ja statistiskā nozīmīguma matricā vērtība ir > 3 , tad uzskatāms, ka šo temperatūru vai laiku matricu salīdzinājumā pie attiecīgās temperatūras vai laika nav statistiskas nozīmes attiecībā pret zemāk esošo laiku vai temperatūru un ir sasniegts maksimālais iznākums.

Kā redzams tabulā 7.2., nozīmīgas atšķirības novērotas starp 2 h un 9, un 24 h sintēzes gaitā, no kā secināms, ka optimālākais minimālais laiks, kas nepieciešams, lai sintezētu humīnskābes no biomasas ir 9 h. Lai noteiktu optimālo sintēzes temperatūru humīnskābju ieguvei, veica analoģu datu statistisko apstrādi, kas attēlota 7.3. tabulā.

7.3. tabula

Humīnskābju iznākums atkarībā no humifikācijas temperatūras (-log(p))

T, °C	155	170	185	200	215	230
155		0,87	0,45	0,97	0,21	0,88
170	0,87		3,52	4,54	2,87	4,39
185	0,45	3,52		0,00	0,00	0,00
200	0,97	4,54	0,00		0,04	0,00
215	0,21	2,87	0,00	0,04		0,03
230	0,88	4,39	0,00	0,00	0,03	

Tabulā 7.3. redzams, ka gadījumos sākot nozīmības līmenis ir > 3 , kas nozīmē, ka statistiski nav nozīmīgi veikt humifikāciju augstākās temperatūrās par 185 °C. Tādu pašu datu statistisko apstrādi veica no humīnskābēm atdalītajām frakcijām un dati attēloti 7.4. tabulā.

7.4. tabula

Fulvoskābju un blakusproduktu iznākums atkarībā no humifikācijas temperatūras (-log(p))

T, °C	155	170	185	200	215	230
155		1,18	4,40	5,76	9,17	8,44
170	1,18		0,62	1,37	3,93	3,33
185	4,40	0,62		0,01	0,90	0,58
200	5,76	1,37	0,01		0,31	0,14
215	9,17	3,93	0,90	0,31		0,00
230	8,44	3,33	0,58	0,14	0,00	

Augstākās vidējās atšķirības tiek novērotas, salīdzinot zemākas temperatūras (185 °C un 200 °C) ar augstākām temperatūrām (215 °C un 230 °C). Tas liecina par minimālu iznākuma palielināšanos, palielinot temperatūru.

Salīdzinājumi starp 215 °C un 230 °C nerāda būtisku atšķirību ($-\log(p) > 3$). Tas liecina, ka temperatūras palielināšana virs 185 °C neveicina būtisku iznākuma palielināšanos (7.4. tabula).

Būtiskas atšķirības tiek konsekventi atrastas, salīdzinot 185 °C un 200 °C ar augstākām temperatūrām (215 °C un 230 °C), norādot, ka temperatūras palielināšana no 185 °C vai 200 °C uz augstāku temperatūru statistiski nepalielina iznākumu.

Fulvoskābju un blakusproduktu frakcijas iznākuma izvērtējums atkarībā no sintēzes laika aplūkots 7.5. tabulā.

7.5. tabula

Fulvoskābju un blakusproduktu iznākums atkarībā no sintēzes laika (-log(p))

t, h	2	4	9	14	24
2		0,53	2,29	5,06	6,89
4	0,53		0,31	1,98	3,43
9	2,29	0,31		0,37	1,22
14	5,06	1,98	0,37		0,07
24	6,89	3,43	1,22	0,07	

Kā pēdējais apskatīts fulvoskābju un blakusproduktu iznākums atkarībā no sintēzes laika. Tabulā 7.5. redzams, ka kritisko vērtību pārsniedz rezultāti, kas iegūti 14 un 24 h, kas nozīmē, ka optimālākais zemākais statistiski nozīmīgais sintēzes laiks ir 14 h.

Apkopojot datus, secināms, ka optimālākā temperatūra un laiks HTH, lai iegūtu maksimāli daudz humīnskābes, ir 185 °C un 9 h, savukārt, lai iegūtu maksimāli daudz fulvoskābes un blakusproduktus, optimālie apstākļi ir 185 °C un 14 h, kas ir intensīvāki sintēzes apstākļi, salīdzinot ar salmu substrātu³², iespējams tāpēc, ka salmu substrāts tika hidrotermāli humificēts pēc aerobas digestācijas, kas daļēji sadala biomasu.

6.9. Sintētisko humīnskābju elementsastāvs

Oglekļa (C) un slāpekļa (N) saturs novērtēšana sintētiskajās humīnskābēs, kas iegūtas HTH procesā, ir svarīga to izvērtēšanai pēc ķīmiskā sastāva un līdzības ar dabīgām humīnskābēm. C un N saturs sniedz informāciju par humifikācijas pakāpi un organisko vielu pārveides efektivitāti sintēzes laikā. C/N attiecība atspoguļo arī SHS stabilitāti un potenciālo bioloģisko aktivitāti, kas ietekmē to piemērotību lauksaimniecības vai vides pielietojumiem. C/N attiecības palielināšanās parasti norāda uz lielāku relatīvo oglekļa saturu salīdzinājumā ar slāpekli. Tas var liecināt par augstāku aromātiskuma pakāpi un organisko vielu kondensāciju, kas raksturīga vairāk humificētām vielām. Sintētiskajās humīnskābēs augstāka C/N attiecība var liecināt par paaugstinātu stabilitāti un zemāku bioloģisko noārdāmību, padarot tās līdzīgākas dabīgajām humīnskābēm un šo makroelementu analīze attēlota 7.6. tabulā.

7.6. tabula

Oglekļa un slāpekļa saturs sintezētajās humīnskābēs

SHS sintēzes temperatūra, °C	C, %	N%	C/N
155	62,6 ± 1,9	1,49 ± 0,15	42
170	64,55 ± 0,13	1,59 ± 0,04	41
185	72 ± 3	1,32 ± 0,04	55
200	77,2 ± 1,8	1,50 ± 0,12	51
215	78,5 ± 0,3	1,48 ± 0,13	53
230	81 ± 2	1,52 ± 0,06	53

Pamatojoties uz iegūtajiem datiem 3.6. tabulā, var secināt, ka, palielinoties sintēzes temperatūrai, būtiski pieaug oglekļa saturs sintētiskajās humīnskābēs - no 62,6 % pie 155 °C līdz 81 % pie 230 °C. Tas norāda uz intensīvāku organiskās vielas oglekļa bagātināšanu un augstāku humifikācijas pakāpi augstākās temperatūrās. Savukārt, slāpekļa saturs saglabājas relatīvi stabils visā temperatūru diapazonā (ap 1,3-1,6 %), kas liecina, ka slāpekļa iekļaušanās struktūrā nav tik izteikti atkarīga no temperatūras kā ogleklis.

C/N attiecība būtiski palielinās, pieaugot sintēzes temperatūrai - no 42 pie 155 °C līdz pat 53-55 pie 185-230 °C. Tas norāda uz augstāku aromātiskuma un kondensācijas pakāpi, kas raksturīga vairāk humificētām un stabilākām vielām. Augstāka C/N attiecība liecina arī par zemāku tieksmi bioloģiski sadalīties un lielāku līdzību dabiskajām humīnskābēm. Tādējādi var secināt, ka augstāka hidrotermālās humifikācijas temperatūra veicina biomasas strukturālo un ķīmisko humifikāciju.

Ne mazāk svarīgi bez makroelementu analīzes ir veikt mikroelementu analīzi, kas atspoguļotu gan šo mikroelementu pārnesei no biomasas, gan raksturotu potenciālo toksicitāti, kas varētu rasties no smagajiem metāliem, sevišķi, ja humīnskābes paredzēts lietot lauksaimniecībā. Vienlaikus elementu pārnese no biomasas potenciāli varētu raksturot elementu kompleksēšanos. ICP-OES analīžu rezultāti attēloti tabulās 7.7.-7.9.

Sintētisko humīnskābju un ekstrahētas biomasas elementanalīžu rezultāti (Al; As; B; Ba; Be; Ca; Cd; Co; Cr; Cu)

Paraugs	Al, μg/g	As, μg/g	B, μg/g	Ba, μg/g	Be, μg/g	Ca, μg/g	Cd, μg/g	Co, μg/g	Cr, μg/g	Cu, μg/g
SHS 155°C	<15	<5	28,4 ± 0,7	2,27 ± 0,12	<0,08	94 ± 12	<0,3	<0,6	0,58 ±0,14	24,5 ± 0,8
SHS 170°C	<15	<5	28,6 ± 1,4	0,404 ± 0,009	<0,08	42 ± 5	<0,3	<0,6	0,53 ± 0,06	17,03 ± 0,09
SHS 185°C	<15	<5	22,2 ± 0,7	<0,06	<0,08	<12	<0,3	<0,6	1,1 ± 0,4	16,3 ± 0,3
SHS 200°C	<15	<5	<19	0,12 ± 0,03	<0,08	<12	<0,3	<0,6	1,0 ± 0,4	14,68 ± 0,10
SHS 215°C	<15	<5	58 ± 2	0,20 ± 0,02	<0,08	17 ± 2	<0,3	<0,6	0,6 ± 0,3	15,3 ± 0,6
SHS 230°C	<15	<5	<19	1,6 ±0,7	<0,08	<12	<0,3	<0,6	0,38 ± 0,03	14,0 ± 0,5
Ekstrahēta biomasa	49 ± 3	6 ± 2	<19	137 ± 20	<0,08	12390 ± 1414	<0,3	<0,6	2,05 ± 0,03	32,9 ± 1,6
LOD	15	5	19	0,06	0,08	12	0,3	0,6	0,13	0,3
LOQ	50	16	64	0,21	0,28	40	1,0	2,0	0,42	0,8

Atsevišķu elementu analīze 7.7. tabulā liecina, ka alumīnijs (Al), arsēns (As), berilijs (Be), kadmījs (Cd) un kobalts (Co) nav konstatēti nevienā SHS paraugā, un tikai daļēji - biomasā (piemēram, Al - 49 μg/g, As - 6 μg/g, kas ir zem kvantificēšanas limita). Tas liecina, ka šie elementi biomasā nav pietiekamā daudzumā, lai tie varētu tikt efektīvi pārnesti sintētiskajās humīnskābēs.

Bors (B) ir konstatēts vairākos SHS paraugos (līdz 58 μg/g pie 215 °C), kaut arī tas netika atklāts pašā biomasā, kas varētu liecināt par šī elementa pārnesei SHS un tā iekonzentrēšanos. Savukārt augstākā bārija (Ba) koncentrācija (2,27 μg/g) ir pie 155 °C sintezētajā SHS, bet pie augstākām temperatūrām tā koncentrācija būtiski samazinās. Līdzīga tendence vērojama arī kalcija gadījumā – biomasā satur ļoti lielu kalcija daudzumu (12390 μg/g), bet SHS paraugos tā saturs ir ļoti zems, un koncentrācija samazinās, palielinot sintēzes temperatūru, īpaši virs 170 °C, kur kalcijs SHS netiek detektēts, vai ir tuvu detektēšanas robežai (17 μg/g, 215 °C). Tas liecina, ka kalcija pārnese sintēzes gaitā uz SHS ir ierobežota.

Hroma koncentrācija SHS paraugos ir visaugstākā pie 185 °C (1,1 μg/g), pēc tam tā saglabājas līdzīgā līmenī. Vara koncentrācija pakāpeniski samazinās ar sintēzes temperatūras pieaugumu - no 24,5 μg/g pie 155 °C līdz 14 μg/g pie 230 °C –, tomēr saglabājas virs LOD un LOQ sliekšņiem visos paraugos, kā arī šo 2 elementu saturs biomasā ir augstāks kā SHS.

Sintētisko humīnskābju un ekstrahētas biomasas elementanalīžu rezultāti (Fe; K; Li; Mg; Mn; Mo; Na; Ni; P; Pb)

Paraugs	Fe, μg/g	K, μg/g	Li, μg/g	Mg, μg/g	Mn, μg/g	Mo, μg/g	Na, μg/g	Ni, μg/g	P, μg/g	Pb, μg/g
SHS 155°C	23 ± 3	4700 ± 200	<5	3,2 ± 0,3	60 ± 4	<0,7	25 ± 4	<0,5	79 ± 2	<2
SHS 170°C	12 ± 3	8965 ± 182	<5	2,1 ± 0,2	42,1 ± 0,4	<0,7	51 ± 13	1,0 ± 0,2	54 ± 13	<2
SHS 185°C	19 ± 8	1043 ± 77	<5	<2	39,2 ± 0,4	<0,7	17 ± 4	1,8 ± 0,3	<8	<2
SHS 200°C	146 ± 3	1603 ± 14	<5	3,163 ± 0,106	24,6 ± 0,2	<0,7	28 ± 9	5,3 ± 0,4	<8	<2
SHS 215°C	42 ± 2	1757 ± 23	<5	<2	13,9 ± 1,0	<0,7	17 ± 4	2,2 ± 0,2	<8	<2
SHS 230°C	37 ± 7	1337 ± 78	<5	<2	5,2 ± 0,5	<0,7	<15	3,6 ± 0,4	<8	<2
Ekstrahēta biomasa	180 ± 41	7948 ± 1320	<5	1018 ± 49	477 ± 45	<0,7	34 ± 11	<0,5	1819 ± 191	<2
LOD	7	71	5	2	0,4	0,7	15	0,5	8	2
LOQ	22	233	17	6	1,3	2,3	50	1,5	28	7

7.8. tabulā attēlotajos rezultātos redzams, ka dzelzs (Fe) saturs SHS paraugos būtiski svārstās. Pie zemākām temperatūrām (155-170 °C) koncentrācija ir salīdzinoši zema (12-23 μg/g), taču pie 200 °C notiek izteikts pieaugums līdz 146 μg/g. Ekstrahētajā biomasā Fe koncentrācija ir augstāka kā SHS - 180 μg/g, kas norāda uz ievērojamu dzelzs pārnesi SHS.

Kālijs (K) visos SHS paraugos ir labi nosakāms, un augstākais līmenis (8965 μg/g) novērots pie 170 °C, kas pat pārsniedz koncentrāciju ekstrahētajā biomasā (7948 μg/g). Tas var būt skaidrojams ar relatīvo masas samazināšanos, kas koncentrē K saturu. Pie augstākām temperatūrām novērojama pakāpeniska koncentrācijas samazināšanās, kas var būt saistīta ar pazeminātu SHS spēju akumulēt kāliju, ja tās sintezētas augstākās temperatūrās. Kā arī var uzskatīt, ka augsts kālija saturs SHS var rasties no reakcijas vides, kurā lietots KOH.

Litijs (Li), molibdēns (Mo) un svins (Pb) nav konstatēti ne SHS paraugos, ne biomasā. Magnijs (Mg) biomasā ir ievērojami augstākā koncentrācijā - 1018 μg/g nekā SHS, un SHS paraugos tas lielākoties nav noteiktas (<2 μg/g), ar dažiem izņēmumiem pie zemākām temperatūrām. Mangāna (Mn) saturs SHS paraugos pakāpeniski samazinās, sākot no 60 μg/g pie 155 °C līdz vien 5,2 μg/g pie 230 °C. Salīdzinājumam, biomasā Mn koncentrācija sasniedz 477 μg/g, kas norāda uz sistemātisku samazinātu Mn uzkrāšanos SHS, palielinot sintēzes temperatūru.

Nātrijs (Na) koncentrācijā SHS paraugos ir relatīvi stabils (no 17 līdz 51 μg/g), bez skaidri izteiktas temperatūras atkarības. Tas liecina, ka nātrija saistīšanās ar SHS sintēzes gaitā nav atkarīga no reakcijas temperatūras.

Niķeļa (Ni) koncentrācija SHS paraugos nedaudz pieaug līdz ar temperatūras palielināšanos. Tas var liecināt par strukturālu niķeļa fiksāciju SHS matricā augstākās temperatūrās. Biomasā Ni saturs ir zem noteikšanas limita ($<0,5 \mu\text{g/g}$).

Fosfora (P) saturs SHS paraugos ir būtiski zemāks nekā biomasā ($1819 \mu\text{g/g}$). Pie zemākām temperatūrām ($155\text{--}170^\circ\text{C}$) P saturs SHS ir $54\text{--}79 \mu\text{g/g}$, bet pie temperatūrām virs 185°C tas ir zem noteikšanas limita. Šī samazināšanās norāda uz fosfora augsto jutību pret termisko apstrādi.

7.9. tabula

Sintētisko humīnskābju un ekstrahētas biomasas elementanalīžu rezultāti (S; Sb; Se; Si; Sr; Ti; Tl; V; Zn)

Paraugs	S, $\mu\text{g/g}$	Sb, $\mu\text{g/g}$	Se, $\mu\text{g/g}$	Si, $\mu\text{g/g}$	Sr, $\mu\text{g/g}$	Ti, $\mu\text{g/g}$	Tl, $\mu\text{g/g}$	V, $\mu\text{g/g}$	Zn, $\mu\text{g/g}$
SHS 155°C	1474 ± 57	<8	<14	54 ± 2	$0,80 \pm 0,03$	$2,2 \pm 0,5$	<7	$<0,2$	53 ± 2
SHS 170°C	1503 ± 132	<8	<14	79 ± 10	$0,37 \pm 0,04$	$3,0 \pm 1,0$	<7	$<0,2$	$34,8 \pm 0,3$
SHS 185°C	1335 ± 16	<8	<14	49 ± 3	$<0,2$	$2,4 \pm$	<7	$<0,2$	$30,3 \pm 0,4$
SHS 200°C	863 ± 12	<8	<14	$152,3 \pm 1,2$	$<0,2$	$12,0$	<7	$<0,2$	$147,2 \pm 1,0$
SHS 215°C	1192 ± 11	<8	<14	296 ± 7	$<0,2$	$1,89$	<7	$<0,2$	$38,2 \pm 0,7$
SHS 230°C	977 ± 13	<8	<14	362 ± 15	$<0,2$	$1,20$	<7	$<0,2$	$18,72 \pm 1,12$
Ekstrahēta biomasā	804 ± 34	<8	<14	395 ± 23	106 ± 6	$3,2 \pm 1,7$	<7	$<0,2$	65 ± 4
LOD	15	8	14	5	0,2	1	7	0,2	0,3
LOQ	50	28	46	17	0,7	4	24	0,6	0,8

7.9. tabulā attēlotā sēra (S) saturs SHS paraugos ir augsts visā SHS sintēzes temperatūras diapazonā, bet tam novērojama izteikta temperatūras atkarība. Pie zemākām temperatūrām ($155\text{--}170^\circ\text{C}$) sēra koncentrācija pārsniedz $1450 \mu\text{g/g}$, bet pie $200\text{--}230^\circ\text{C}$ tā ievērojami samazinās līdz $863\text{--}977 \mu\text{g/g}$. Tas var liecināt par sēra zudumu gaistošu savienojumu formā. Jāatzīmē, ka SHS paraugos sēra koncentrācija gandrīz visos gadījumos ir augstāka nekā izejmateriālā ($804 \mu\text{g/g}$), kas norāda uz iespējamu sēra koncentrēšanos vai fiksāciju strukturāli saistītā veidā zemākās temperatūrās.

Visos paraugos antimona (Sb), selēna (Se), tallija (Tl) un vanādija (V) koncentrācija ir zem detektēšanas limita. Silīcija (Si) koncentrācija norāda uz tendenci - zemākās temperatūrās tā ir zemāka (ap $50\text{--}80 \mu\text{g/g}$), bet pie $200\text{--}230^\circ\text{C}$ tā strauji pieaug līdz $152\text{--}362 \mu\text{g/g}$. Tas, visticamāk, atspoguļo neorganisko silīcija daļiņu (piemēram, SiO_2) pāreju uz nešķīstošu formu vai to sorbciju SHS matricā..

Stroncijs (Sr) ir nosakāms tikai divos zemākās temperatūras SHS paraugos: $0,80 \mu\text{g/g}$ pie 155°C un $0,37 \mu\text{g/g}$ pie 170°C . Pie sintēzes temperatūrām sākot ar 185°C Sr vairs nav nosakāms ($<0,2 \mu\text{g/g}$). Tā koncentrācija izejmateriālā ($106 \mu\text{g/g}$) ir ievērojami augstāka, kas skaidri norāda uz ļoti vāju stroncija pārnesei uz SHS.

Titāns (Ti) paraugos uzrāda nelielu svārstīgumu. Pie $155\text{--}185^\circ\text{C}$ koncentrācija ir ap $2\text{--}3 \mu\text{g/g}$, bet pie 200°C notiek straujš pieaugums līdz $12 \mu\text{g/g}$. Pēc tam tā atkal samazinās pie $215\text{--}230^\circ\text{C}$ ($1,2\text{--}1,89 \mu\text{g/g}$).

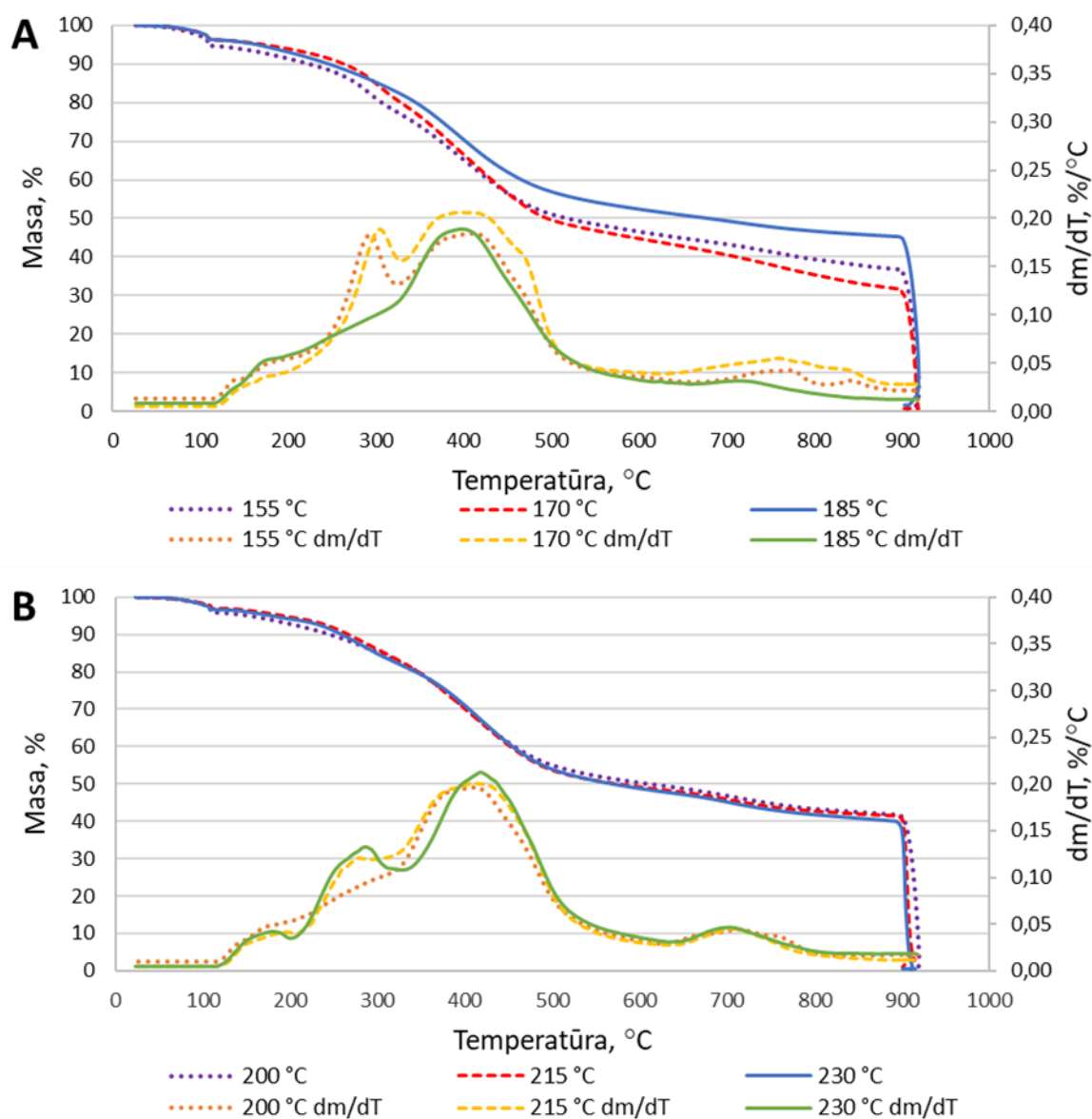
Cinka (Zn) koncentrācija SHS paraugos, atkarībā no sintēzes temperatūras, ir svārstīga. Pie 155 °C tā ir 53 µg/g, samazinās līdz 30 µg/g pie 185 °C, bet tad pie 200 °C koncentrācija pieaug līdz 147 µg/g, kas ir būtiski augstāk par sākotnējo cinka saturu ekstrahētajā biomasā (65 µg/g). Pie 230 °C Zn koncentrācija atkal samazinās līdz 18,7 µg/g. Rezultāti liecina, ka cinka saturs SHS nav atkarīgs no sintēzes temperatūras.

Literatūrā noteikts, ka Ziemeļpolijā ievāktā Norvēģijas egļu zaleņu atsevišķu elementu koncentrācijas ir samērojamas ar pētījumā izmantoto biomasu, proti, cinka saturs svārstās no 49-111 µg/g; dzelzs saturs no 65-644 µg/g; mangāns 10-495 µg/g; varš 1,66-12,37 µg/g; kadmījs 0,37-1,67 µg/g; svins 6,15-23,94 µg/g. Jāņem vērā, ka elementsastāvs eglēs ir atkarīgs no daudziem faktoriem, piemēram, augsnes kvalitātes, urbānās teritorijas tuvuma u.c.

Savukārt, dabiskajās kūdras humīnskābēs mikroelementu sastāvs ir ievērojami augstāks kā sintētiskajās. Piemēram, Mg sasniedz 4790 µg/g; Al - 9570 µg/g; Ca - 364000 µg/g; Na – 979 µg/g; Fe – 5880 µg/g. Tādi smagie elementi kā Cd, Ni un Cu atrodami koncentrācijās 0,10 3,00 µg/g.

6.10. Sintētisko humīnskābju funkcionālo grupu un īpašību raksturojums

Termogravimetriskā analīze (TGA) un diferenciālā termogravimetrija (DTG) ir būtiski rīki, lai novērtētu sintētisko humīnskābju termisko stabilitāti un humifikācijas pakāpi. Šīs analīzes atklāj, kā SHS noārdās pieaugot temperatūrai, norādot uz funkcionālo grupu - piemēram, karboksilgrupu, fenolu vai aromātisko struktūru klātbūtni un stabilitāti. Īpaši DTG līknes palīdz identificēt galvenās noārdīšanās fāzes, kas atspoguļo humifikācijas pakāpi. Sintezēto humīnskābju TGA/DTG analīžu rezultāti attēloti 7.7. attēlā.



7.7. att. Sintētisko humīnskābju termogrammas, kas sintezētas (A) 155; 170; 185 °C un (B) 200; 215; 230 °C temperatūrā pie konstanta 14 h ilga reakcijas laika un to diferenciālie masas zudumi atkarībā no vides temperatūras

Termogravimetriskā analīze tika veikta ar sešām sintētiskajām humīnskābēm, kas sintezētas temperatūrās 155 °C, 170 °C, 185 °C, 200 °C, 215 °C un 230 °C. Attēlā 3.2. TGA līknes attēlo katra parauga masas zudumu atkarībā no temperatūras, savukārt diferenciālās termogravimetriskās līknes parāda masas zuduma ātrumu, sniedzot ieskatu SHS termiskajā stabilitātē un noārdīšanās raksturā.

Galvenā noārdīšanās noris temperatūras diapazonā no 200 °C līdz 600 °C, kas atbilst alifātisko struktūru un skābekli saturošu funkcionālo grupu, piemēram, karboksilgrupu un fenolu, sadalīšanai. Jāatzīmē, ka pie 185 °C sintezētā SHS parādīja visaugstāko termisko stabilitāti šajā diapazonā, saglabājot vairāk masas salīdzinājumā ar tām SHS, kas sintezētas pie pārējām temperatūrām. Tas liecina par blīvāku un termiski noturīgāku struktūru pie šīs sintēzes temperatūras.

Palielinot sintēzes temperatūru no 200 °C līdz 230 °C, novērota uzlabota termiskās stabilitātes tendence. Pie 230 °C sintezētā SHS uzrādīja vislēzenākās DTG smailes, kas norāda uz stabilāku un aromātisku struktūru. Izteikta sadalīšanās novērojama 250-350 °C diapazonā, kas atbilst polisharīdu noārdīšanās reģionam, kā arī pati intensīvākā noārdīšanās notiek 350-500 °C diapazonā, kas raksturīga lignīna termiskās sadalīšanās procesiem⁶⁸. Šī attīstība atbilst citos pētījumos konstatētajam, kur augstāka sintēzes temperatūra veicināja termiski stabilāku humusvielu veidošanos ar augstāku aromātiskumu un zemāku skābekli saturošu funkcionālo grupu daudzumu.

Analīzes beigu posmā slāpekļa atmosfēra nomainīta uz skābekļa atmosfēru, lai noteiktu fiksētās ogles, sadalījušās (gaistošās) frakcijas daudzumu un pelnu saturu paraugos, un rezultāti attēloti tabulā 7.10.

7.10. tabula

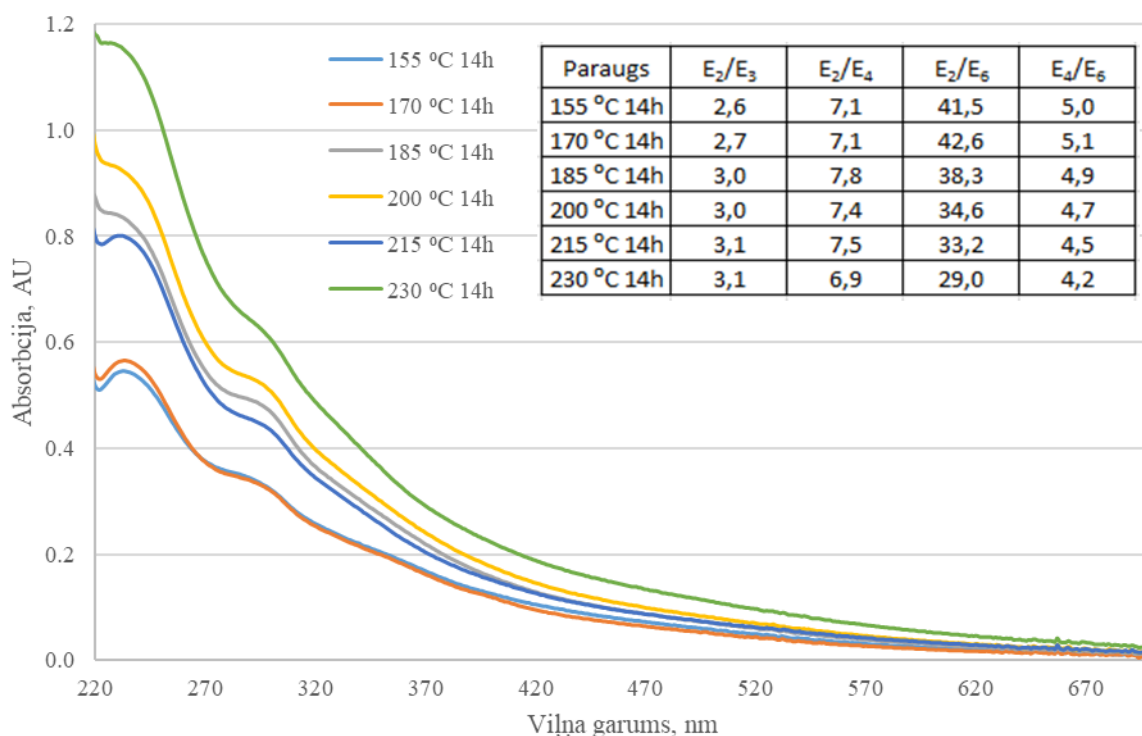
Sintētisko humīnskābju gaistošās frakcijas, fiksētās ogles un pelnu saturs

Paraugs	Gaistošā frakcija, %	Fiksētā ogle, %	Pelni, %
SHS 155 °C	60,81	38,25	0,94
SHS 170 °C	68,07	31,05	0,88
SHS 185 °C	53,15	45,08	1,77
SHS 200 °C	57,28	42,14	0,58
SHS 215 °C	58,25	40,69	1,06
SHS 230 °C	59,82	39,63	0,55

7.10. tabulā attēlotā sintētisko humīnskābju termogravimetriskā sadalīšanās analīze ir normalizēta pret parauga mitrumu, un norāda uz stabilas ogles veidošanos, kad sintēzes temperatūra ir sasniegusi 185 °C, un tā ir 45,08%. Pelnu saturs SHS paraugos ir zems, un variē no 0,55-1,77%. Zemo pelnu saturu apstiprina arī iepriekš veiktā elementanalīze.

Lai salīdzinātu iegūto sintētisko humīnskābju humifikācijas pakāpi, relatīvo molekulmasu un hromoforo grupu daudzumu, uzņēma molekulārās absorbcijas spektrus diapazonā no 220-700 nm. Lai identificētu empīriskas strukturālo izmaiņu tendences humīnskābju sintēzes dizainā, uzņēma molekulārās absorbcijas spektrus humīnskābēm, kas sintezētas 14 h, bet dažādās temperatūrās, un rezultāti attēloti 7.8. attēlā.

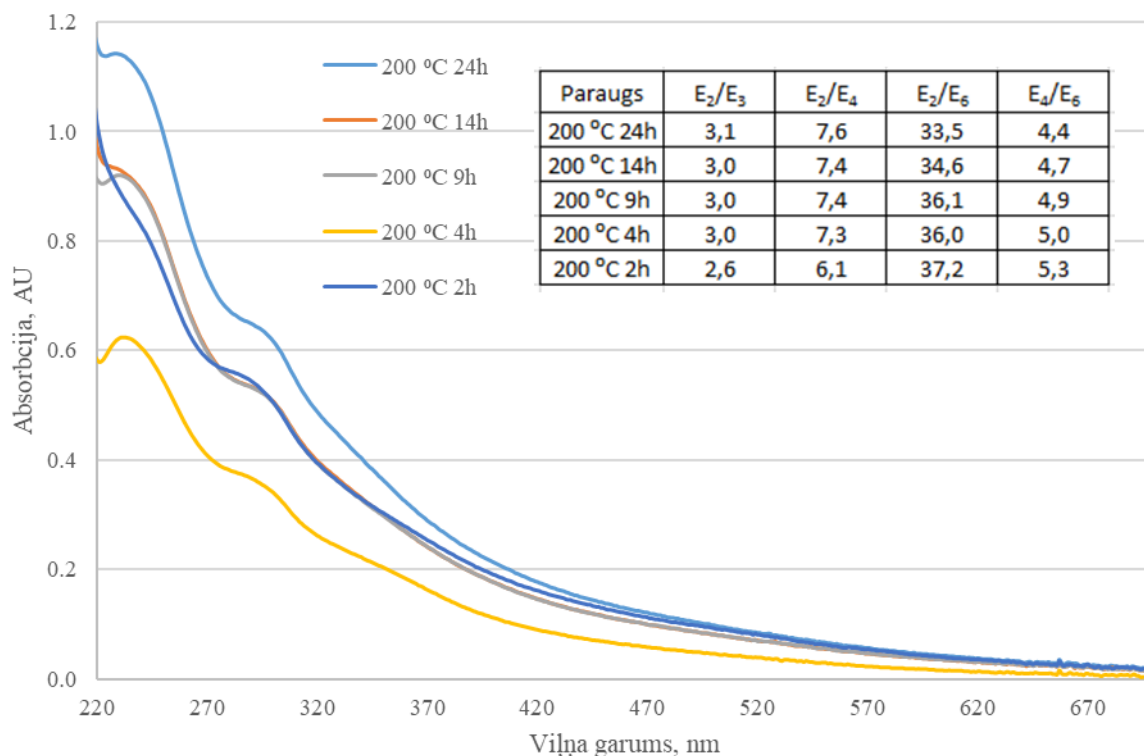
Absorbcijas spektri skaidri parāda vispārējas absorbcijas palielināšanos, pieaugot sintēzes temperatūrai, īpaši UV reģionā (220–400 nm), kas saistīts ar aromātisko un konjugēto hromoforo grupu veidošanos. Paraugs, kas sintezēts 230 °C temperatūrā, uzrāda visaugstāko absorbciju, atspoguļojot visintensīvāko humifikāciju un strukturālo kondensāciju, savukārt zemākas temperatūras (155 °C un 170 °C) uzrāda zemāku vispārējo absorbciju, norādot uz vienkāršākām un mazāk aromātiskām molekulārām struktūrām.



7.8. att. No biomasas iegūto humīnskābju molekulārās absorbcijas spektri atkarībā no sintēzes temperatūras (155-230 °C) pie konstanta sintēzes laika 14 h

E_2/E_3 attiecība pieaug no 2,6 pie 155 °C līdz 3,1 pie temperatūrām, kas ir 200 °C vai augstākas, kas liecina par pāreju uz lielākām molekulmasām un sarežģītākām aromātiskajām struktūrām, pieaugot temperatūrai. Līdzīgi E_2/E_4 attiecība sasniedz maksimumu 185 °C līdz 7,8, norādot uz zemāko aromātiskuma pakāpi, bet pēc tam nedaudz samazinās pie augstākām temperatūrām, piemēram, 6,9 pie 230 °C, kas norāda uz tālāku kondensāciju un aromātisko struktūru stabilizāciju. E_2/E_6 un E_4/E_6 attiecības uzrāda samazināšanās tendenci paaugstinot sintēzes temperatūru, sākot ar augstākajām vērtībām attiecīgi 41,5 un 5,0 pie 155 °C, kas norāda uz vienkāršākām un mazāk kondensētām struktūrām, pārejot uz zemākajām vērtībām, attiecīgi 29,0 un 4,2 pie 230 °C, kas norāda uz lielāku aromātisko kondensāciju un humifikāciju.

Šie rezultāti pierāda, ka temperatūras palielināšana paaugstina SHS aromātiskumu un strukturālo sarežģītību, un augstākas temperatūras veicina kondensētāku un stabilāku aromātisko struktūru veidošanos. Dati norāda, ka sintēzes temperatūra ir būtisks faktors, ko var izmantot, lai pielāgotu HS specifiskiem pielietojumiem, un augstākas temperatūras nodrošina izturīgākus un funkcionāli daudzveidīgākus materiālus. Analogi apskatīja arī sintēzes laika ietekmi un par piemēru izvēlētās humīnskābes, kas sintezētas pie 200 °C, bet ar atšķirīgiem reakcijas ilgumiem. Rezultāti atspoguļoti 7.9. attēlā.

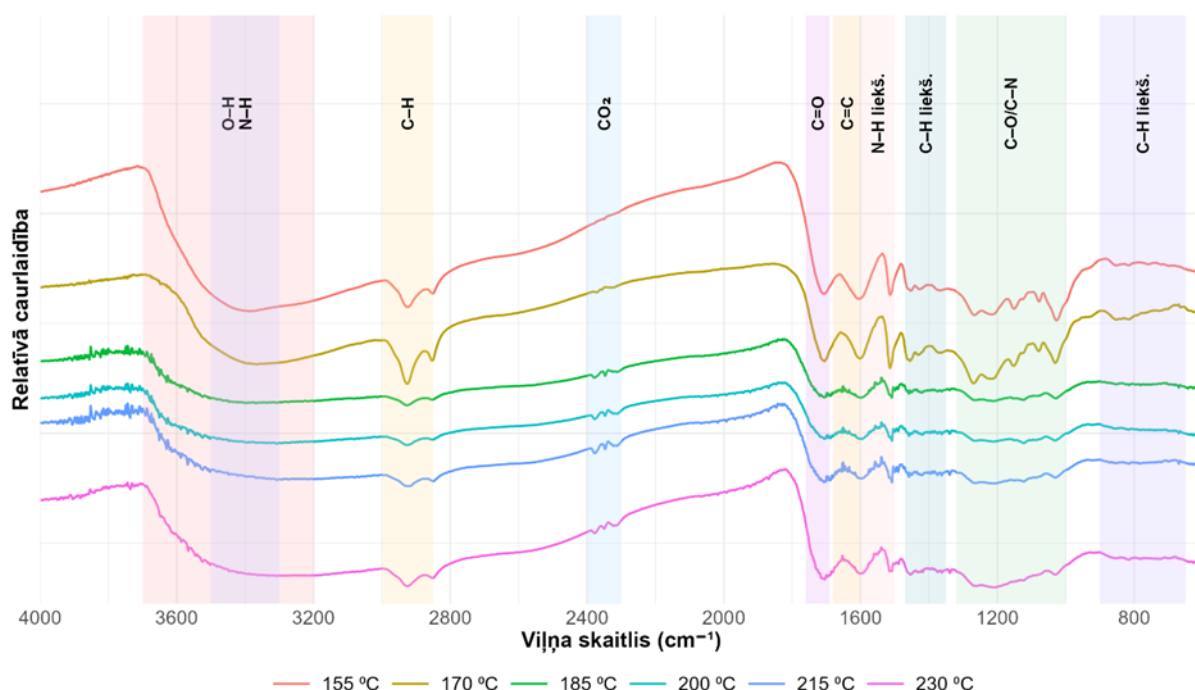


7.9. att. No biomasas iegūto humīnskābju molekulārās absorbcijas spektri atkarībā no sintēzes laika (2; 4; 9; 14; 24 h) pie konstantas sintēzes temperatūras 200 °C

Absorbcijas spektri atklāj skaidru tendenci, kur ilgāks sintēzes laiks veicina augstāku absorbciju visā spektra diapazonā, īpaši UV reģionā (220–400 nm), kas atspoguļo progresējošu aromātisko hromoforo un konjugēto struktūru veidošanos. Paraugs, kas sintezēts 24 stundas, norāda uz intensīvāku humifikāciju un strukturālo kondensāciju, savukārt īsāki sintēzes laiki rezultējas ar ievērojami zemākām absorbcijām, norādot uz vienkāršākām molekulārām struktūrām ar mazākām aromātiskām grupām. E_2/E_3 attiecība paliek salīdzinoši nemainīga 3,0–3,1 vērtībā, ja sintēzes ilgums ir 4 stundas vai ilgāk, norādot uz konstantu relatīvo molekulmasu un aromātisko sarežģītību, veicot sintēzi ilgāku laiku. Tomēr 2 stundas sintezētais paraugs rāda zemāku E_2/E_3 attiecību (2,6), kas norāda uz mazāku aromātiskumu un strukturālo attīstību. Līdzīgi E_2/E_4 attiecība ir visaugstākā 24 stundu sintēzes laikā, kas atspoguļo palielinātu aromātiskumu un konjugāciju, savukārt samazinot sintēzes temperatūru, humīnskābes uzrāda ievērojami zemāku E_2/E_4 vērtību, kas atbilst vienkāršākām struktūrām. E_2/E_6 un E_4/E_6 attiecības pakāpeniski samazinās, palielinot sintēzes ilgumu, ar zemākajām vērtībām 24 stundu laikā, norādot uz efektīvāku aromātisko kondensāciju. Šīs tendences parāda, ka ilgstošāka sintēze veicina sarežģītāku, kondensētāku un aromātiskāku humīnskābju struktūru pakāpenisku attīstību, padarot sintēzes laiku par svarīgu faktoru, pielāgojot HS specifiskām izmantošanas vajadzībām.

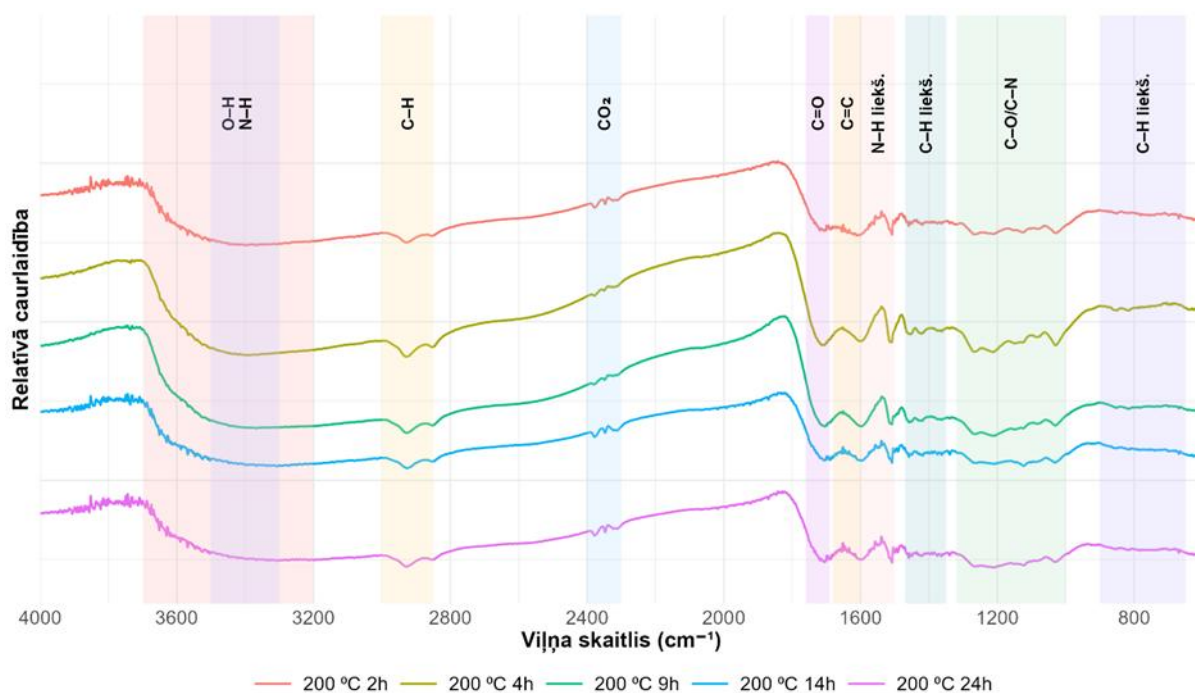
Lai sīkāk izprastu humifikācijas procesā iegūto humīnskābju funkcionālu grupu dinamiku, uzņēma FTIR spektrus. Salīdzinājumam izvēlējās tās pašas SHS, kam uzņēma molekulārās absorbcijas spektrus. Pirmkārt analizēja kāda ir temperatūras ietekme uz SHS funkcionālo grupu dinamiku un FTIR

spektri attēloti 7.10. attēlā, kur caurlaidība katram paraugam ir mākslīgi nobīdīta, lai signāli nepārklātos un ir definēta kā relatīva.



7.10. att. Dažādās temperatūrās (155-230 °C) 14 stundas sintezētu humīnskābju FTIR spektri

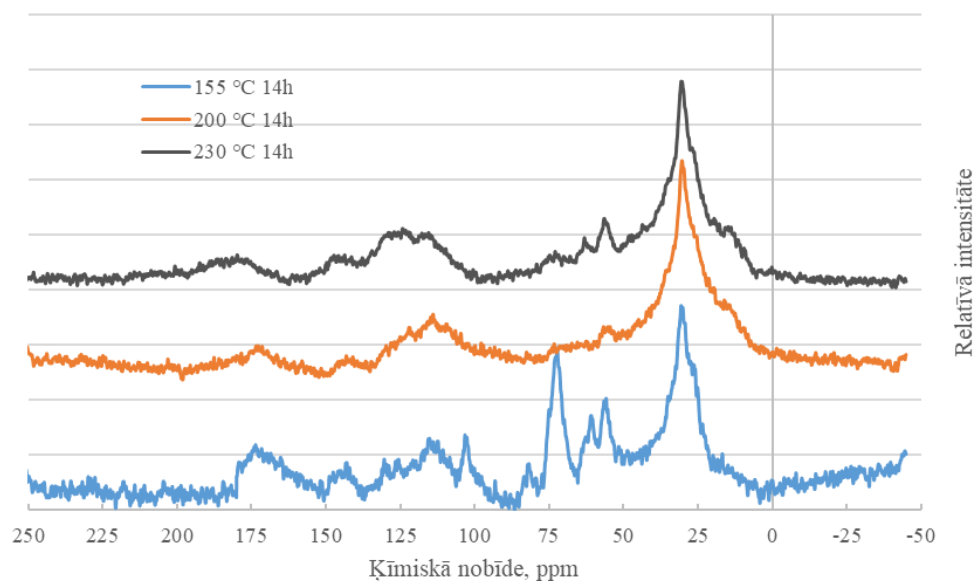
7.10. attēlā redzami FTIR spektri sintētiskajām humīnskābēm, kas sintezētas temperatūru diapazonā no 155 °C līdz 230 °C konstantā 14 stundu laikā, parāda šo vielu strukturālo attīstību, pieaugot reakcijas temperatūrai. Plašā O-H stiepšanās josla (3200–3600 cm^{-1}) samazinās intensitātē augstākās temperatūrās, atspoguļojot dehidratācijas un kondensācijas reakcijas, kas samazina hidroksilgrupu saturu. Līdzīgi arī C-H stiepšanās joslas (2800–3000 cm^{-1}), kas liecina par alifātiskām struktūrām, samazinās ar temperatūras pieaugumu, norādot uz alifātisko ķēžu noārdīšanos un pāreju uz aromātiskākām un kondensētākām molekulām. Aromātiskās C=C stiepšanās joslas apgabals (1500–1600 cm^{-1}) kļūst izteiktāks augstākās temperatūrās, kas norāda uz aromātiskuma pieaugumu un strukturālo kondensāciju. C=O stiepšanās josla (~1700 cm^{-1}) kļūst asāka un intensīvāka, liecinot par karbonilgrupu veidošanos un stabilizāciju, balstoties uz oksidācijas un kondensācijas reakcijām. Karboksilātu COO^- stiepšanās joslas (1200–1400 cm^{-1}) samazinās intensitātē, norādot uz dekarboksilācijas procesiem, savukārt C-O stiepšanās un fenolu O-H liešanās joslas (~1000–1300 cm^{-1}) vājinās, atspoguļojot hidroksilgrupu un ar ogļhidrātiem saistīto grupu zudumu aromātiskuma pieauguma rezultātā. Aromātiskā C-H liešanās (~700–900 cm^{-1}) pastiprinās augstākās temperatūrās, vēl vairāk apstiprinot kondensētu poliaromātisku struktūru veidošanos. Kopumā dati atklāj skaidru progresiju palielinot sintēzes temperatūru. Zemākās temperatūrās saglabājas vairāk alifātisko un hidroksilgrupu īpašību, savukārt augstākās temperatūrās humīnskābēs veidojas lielāks aromātiskums, kondensācija un strukturālā nostiprināšanās, kas sintezētas 230 °C temperatūrā, uzrādot visaugstāko humifikācijas pakāpi. Lai izprastu sintēzes laika kinētiku, uzņēma FTIR spektrus humīnskābēm, kas sintezētas 200 °C pie mainīgām sintēzes temperatūrām (7.11. attēls).



7.11. att. Dažādos sintēzes laikos 200 °C sintezēto humīnskābju FTIR spektri

7.11. attēlā vizualizētie FTIR spektri izceļ sintētisko humīnskābju strukturālās izmaiņas, kas sintezētas pie 200 °C, mainot reakcijas ilgumu (2; 4; 9; 14; 24 h). Pēc 2 stundām spektrā dominē plašs -OH stiepšanās signāls (3200-3600 cm^{-1}), kas norāda uz hidroksilgrupām no spirtiem, fenoliem vai ūdens, kā arī spēcīga alifātiska C-H stiepšanās josla (2800–3000 cm^{-1}), kas liecina par alifātisko ķēžu klātbūtni. Aromātisko C=C (1500-1600 cm^{-1}) un karbonilgrupu C=O (~1700 cm^{-1}) signāli ir vāji, norādot uz minimālu kondensāciju un oksidāciju. Reakcijai turpinoties līdz 4 stundām, -OH un C-H signāli sāk vājināties, kas norāda uz dehidrēšanos un alifātiskā satura samazināšanos, kamēr aromātiskās C=C un C=O vibrācijas pastiprinās, atspoguļojot aromātisko gredzenu un oksidēto funkcionālo grupu veidošanos. Pēc 9 stundām alifātiskie signāli ir ievērojami samazināti, un aromātiskie un karbonilsavienojumi dominē, kas norāda uz pieaugošu aromātiskumu un oksidāciju, kas atbilst polimerizācijas un humifikācijas procesam. Signāli pie ~1400 cm^{-1} (COO⁻ stiepšanās un C-H liekšanās) un 1200-1300 cm^{-1} (C-O/C-N stiepšanās) pieaug intensitātē, kas norāda uz karboksilskābju, esteru vai fenolu grupu veidošanos. Pēc 14 stundām spektru raksturo spēcīgi aromātisko un karboksilgrupu signāli, ar mazākām alifātiskām iezīmēm, kas norāda uz progresējošu humifikācijas stadiju. Pēc 24 stundām materiāls kļūst ļoti aromātisks un oksidēts, ar izteiktiem aromātisko (C=C) un karbonilgrupu (C=O) signāliem, kā arī minimāliem -OH un polisaharīdu saistītajiem signāliem (~1000-1100 cm^{-1}), kas liecina par plašu polimerizāciju, dehidrēšanos un oksidāciju, savukārt izmaiņas aromātiskā C-H liekšanās reģionā no 700-900 cm^{-1} nav būtiski ietekmētas palielinot temperatūru. Lai arī sintēzes laikam ir nozīme humīnskābju veidošanās procesos, tomēr sintēzes temperatūra ir izšķirošāka, ko apliecina intensīvākas spektra izmaiņas paaugstinot temperatūru. Lai izprastu vēl sīkāk temperatūras ietekmi uz funkcionālo

grupu dinamiku hidrotermāli humificētās humīnskābēs, uzņēma ^{13}C -CPMAS-NMR spektrus (7.12. attēls).



7.12. att. Sintētisko humīnskābju, kas sintezētas 14h pie 155, 200 un 230 °C ^{13}C -CPMAS-NMR spektri

7.12. attēlā vizualizētie sintētisko humīnskābju ^{13}C -CPMAS-NMR spektri pētījumā iegūtajām SHS un analīzēm izvēlēta zemākā 155 °C, vidējā 200 °C un augstākā 230 °C sintēzes temperatūra, lai gūtu papildus ieskatu kāda ir SHS funkcionālo grupu dinamika atkarībā no sintēzes temperatūras. Šo SHS relatīvo funkcionālo grupu procentuālais sadalījums sintētiskajās humīnskābēs attēlots 7.11. tabulā, to rēķinot pēc signālu laukumu attiecības.

7.11. tabula

Sintētisko humīnskābju ^{13}C -CPMAS-NMR spektra sadalījums

Humīnskābe	220-190 ppm	190-160 ppm	160-140 ppm	140-110 ppm	110-90 ppm	90-60 ppm	60-50 ppm	50-0 ppm	Alifātiskums*	Aromātiskums**
	C=O	>CO-O, N	C _{Ar} -O, N	C _{Ar}	OC-O, N	C-O, N	-OCH ₃	CH _n	%	%
155 °C	2	11	5	12	6	17	8	39	71	17
200 °C	3	7	2	12	13	9	5	48	75	15
230 °C	6	8	5	17	4	10	6	44	64	22

* - Alifātiskums izteikts procentuāli kā 0-110 ppm summa

** - Aromātiskums izteikts procentuāli kā 110-160 ppm summa

^{13}C -CPMAS-NMR spektri un funkcionālo grupu sadalījuma dati (3.11. tabula) ilustrē sintētisko humīnskābju strukturālo dinamiku, kas iegūtas hidrotermālās humifikācijas procesā pie 155 °C, 200 °C

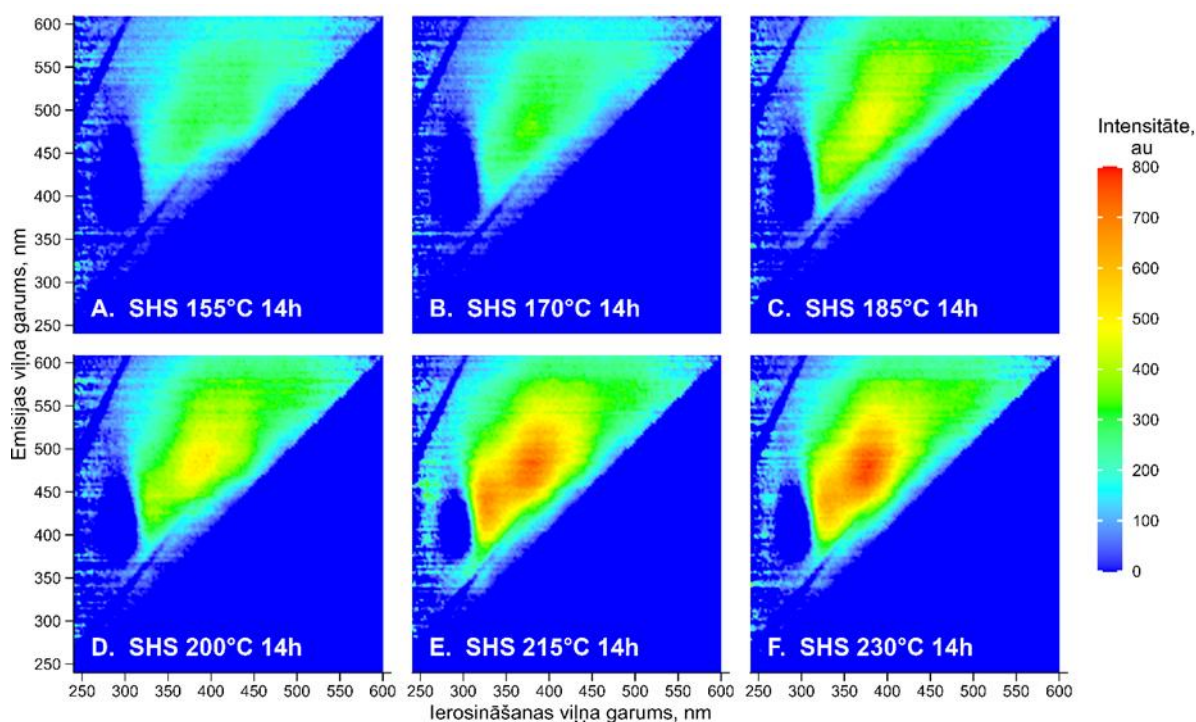
un 230 °C 14 stundu laikā. Pie 155 °C iegūtās humīnskābes raksturo augsts alifātisko oglekļu īpatsvars (39%), nozīmīgs ogļhidrātu saturs (17%) un metoksi grupas (8%), kas atspoguļo humifikācijas agrīnās stadijas, kurās dominē lignīna un polisaharīdu izcelsmes prekursori. Šie komponenti liecina par relatīvi maz pārveidotu biomasu, tās saglabāšanos ar ierobežotu aromātisko kondensāciju vai oksidāciju. Ogļhidrātu bagātā frakcija (60–90 ppm) šajā posmā izceļ polisaharīdu vai to fragmentu saglabāšanos, savukārt metoksi signāls (50–60 ppm) norāda uz lignīnam līdzīgu struktūru klātbūtni.

Palielinoties temperatūrai līdz 200 °C, kļūst redzama izteiktāka humifikācijas pakāpe. Alifātiskā frakcija sasniedz maksimumu (48%), vienlaikus ievērojami samazinoties ogļhidrātiem (9%) un neliels palielinoties aromātisko oglekļu ar alkilaizvietotājiem saturam (110–140 ppm, 13%). Tas norāda uz pāreju no polisaharīdiem un lignīnu bagātiem prekursoriem uz daļēji kondensētām struktūrām, ko, iespējams, veicina hidrolīzes un dehidratācijas reakcijas. Metoksi grupu samazinājums līdz 5% liecina par lignīna izcelsmes struktūru degradāciju, savukārt neliels oksidētu funkcionālo grupu, piemēram, karboksilgrupu un esteru (160–190 ppm, 7%), pieaugums norāda uz alifātisko ķēžu oksidāciju un funkcionālāku savienojumu veidošanos.

Pie 230 °C humīnskābes demonstrē progresējošu humifikāciju, ko raksturo ievērojams aromātiskā satura pieaugums (110–160 ppm, 22%) un oksidācijas līmeņi, karboksilskābju un esteru funkcionālo grupu saturam sasniedzot 8%, bet ketonu un hinonu oglekļiem (190–220 ppm) palielinoties līdz 6%. Alifātiskā frakcija salīdzinot ar 200 °C samazinās (44%), kas atspoguļo termiski nestabilu alifātisko struktūru kondensēšanos stabilākās aromātiskās un oksidētās formās, izmantojot kondensācijas un oksidācijas reakcijas. Gandrīz pilnīga ogļhidrātu (4%) un metoksi grupu (6%) zudums norāda uz polisaharīdu un lignīna atliekvielu sadalīšanos, savukārt aromātisko oglekļu bagātināšanās, kas saistīta ar skābekli vai slāpekli (140–160 ppm, fenoli un aromātiskie ēteri), liecina par pieaugošu humifikācijas pakāpi.

Novērotās tendences atspoguļo labilo komponentu pakāpenisku noārdīšanos un termiski stabilo struktūru uzkrāšanos. Pieaugošā temperatūra paātrina humifikācijas procesu, pie 230 °C radot sintētiskas humīnskābes, kurām piemīt dabiskām humīnskābēm raksturīgās īpašības, tostarp augsts aromātiskuma līmenis, funkcionālo grupu daudzveidība un oksidācija. Šī dinamika demonstrē hidrotermālās humifikācijas efektivitāti dabisko humīnskābju veidošanās procesu simulēšanā ievērojami īsākos laika periodos. Iegūtie rezultāti ir samērā līdzīgi citu pētnieku, kas norāda uz humifikācijas tendencēm, mainot sintēzes temperatūru.

Lai sīkāk izpētītu humīnskābju komplekso veidošanos, veica 3D-EEM fluorescences analīzi sintētiski iegūtajām humīnskābēm. Pirmkārt, uzņēma spektrus SHS, kas sintezētas dažādu temperatūru režīmos (155–230 °C) un rezultāti attēloti 7.13. attēlā.

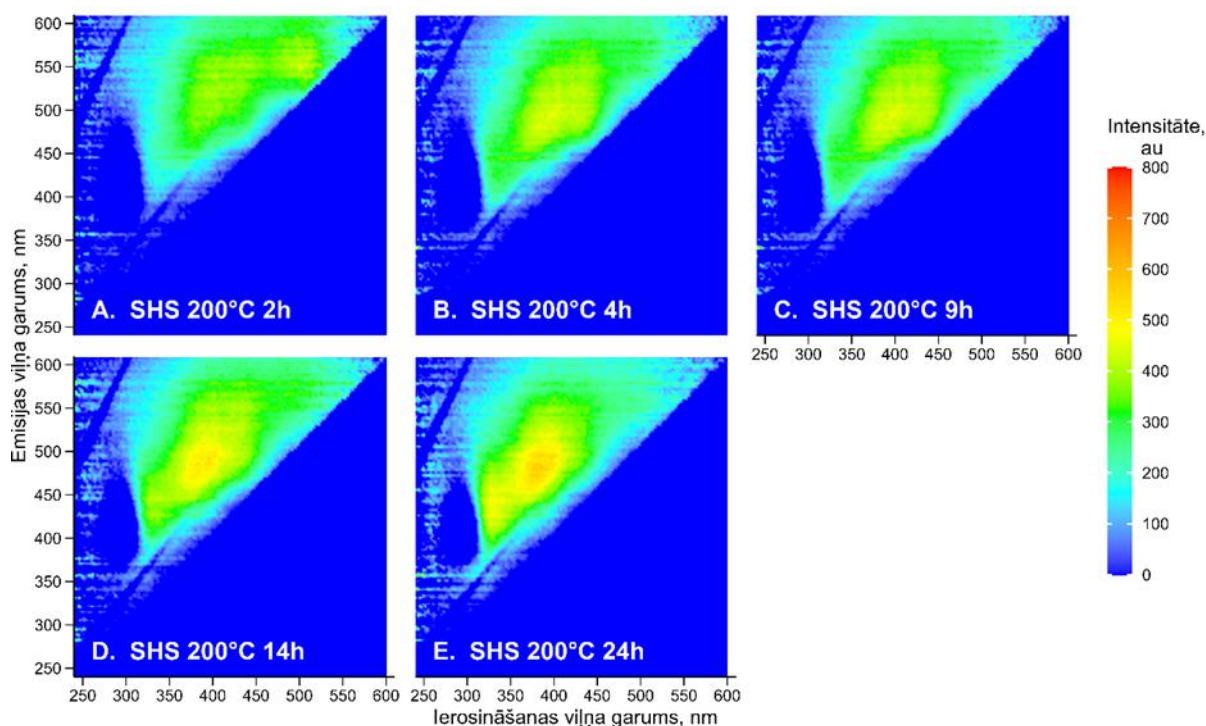


7.13. att. 3D-EEM fluorescences spektri dažādās temperatūrās sintezētajām humīnskābēm pie konstanta 14 h sintēzes laika

7.13. attēlā redzamā 3D-EEM fluorescences spektru attēlā ir attēloti seši SHS paraugi, kas sintezēti pie dažādām temperatūrām (155 °C līdz 230 °C) ar nemainīgu reakcijas laiku (14 stundas). Spektri atklāj būtiskas izmaiņas fluorescējošo organisko savienojumu sastāvā, atkarībā no sintēzes temperatūras. Pie zemākās temperatūras (paraugs A, 155 °C) novērojama vāja fluorescences intensitāte, galvenokārt proteīniem raksturīgajā reģionā (ierosināšana 220-280 nm, emisija 330-350 nm), kas norāda uz nepilnīgu biomasas konversiju un zemu aromatizāciju. Pie 170 °C (paraugs B) novērojama neliela intensitātes palielināšanās un parādās fulvoskābju tipam raksturīga fluorescence (250-260/380-480 nm), taču humīnskābju signāli joprojām ir vāji. Pie 185 °C (paraugs C) fluorescence kļūst plašāka un izteiktāka, parādot fulvoskābju un humīnskābju tipiem raksturīgu signālu (330-350/420-480 nm), kas norāda uz progresējošu molekulāro kondensāciju un lielāku aromatizāciju.

Pie 200 °C (paraugs D) SHS fluorescence kļūst dominējoša, ar izteiktu intensitāti un nobīdi uz garākiem viļņu garumiem, kas liecina par lielāku aromātisko struktūru klātbūtni un augstāku humifikācijas pakāpi. Maksimālā fluorescences intensitāte sasniegta pie 215 °C (paraugs E), kur spektrs parāda vispilnīgāk attīstītu humusvielu struktūru ar augstu molekulāro sarežģītību un aromātiskumu. Tas liecina, ka šī temperatūra ir optimāla humifikācijas procesam, kas ir saskaņā ar literatūru⁵¹. Pie vēl augstākas temperatūras (230 °C, paraugs F) intensitāte joprojām ir augsta, taču kļūst izkliedētāka, kas var norādīt uz sevišķi izteiktu kondensāciju, nešķīstošu vai mazāk fluorescējošu struktūru veidošanos. Kopumā, pieaugot temperatūrai, notiek pāreja no vienkāršām, proteīniem līdzīgām struktūrām uz kompleksām, humīnskābēm raksturīgām struktūrām, sasniedzot maksimumu pie 215 °C. Temperatūras zem 185 °C nav pietiekošas, lai iegūtu humīnskābes ar augstu humifikācijas pakāpi, savukārt

temperatūras virs 215 °C var izraisīt nelabvēlīgas struktūras izmaiņas. Tāpat arī veica sintēzes laika ietekmi uz fluorescējošu komponentu veidošanos un rezultāti attēloti 7.14. attēlā.

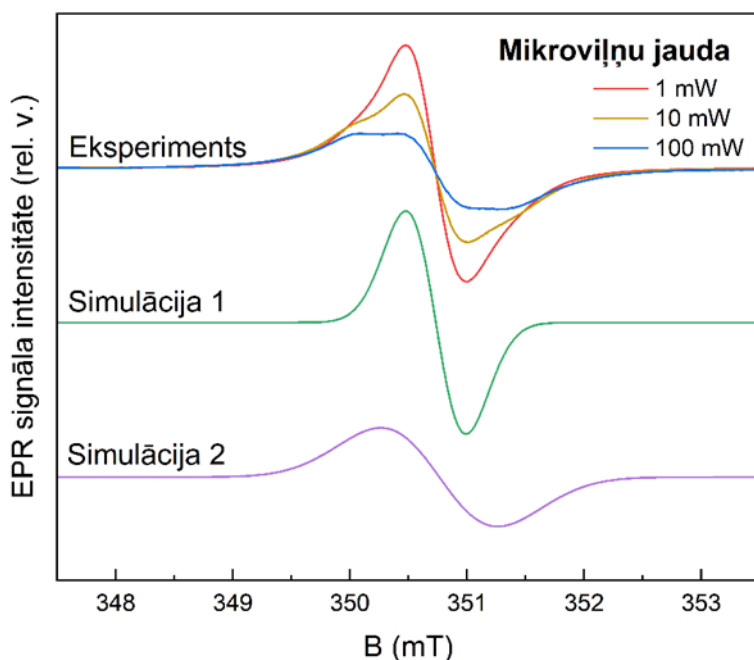


7.14. att. Fluorescences 3D-EEM spektri 2-24 h sintezētajām humīnskābēm pie konstantas 200 °C sintēzes temperatūras

Fluorescences 3D-EEM spektri, kas attēloti attēlā 7.14. piecām SHS (A–E), kas sintezētas 200 °C temperatūrā dažādos laikos (no 2 līdz 24 stundām), skaidri parāda fluoroforu klātbūtnes un intensitātes attīstību. Visos paraugos var identificēt trīs galvenos reģionus, kas atbilst proteīniem, humīnskābēm un fulvoskābēm līdzīgām vielām. Sākotnējā paraugā (A, 2 h) novērojams salīdzinoši vājš fluorescences signāls, īpaši proteīniem līdzīgajā (220-280/330-350 nm) un fulvoskābēm līdzīgajā (250-260/380-480 nm) reģionā, kas liecina par fluorescējošo organisko struktūru sākotnējo veidošanos. Pieaugot reakcijas laikam līdz 4 h (B) un 9 h (C), novērojama būtiska fluorescences intensitātes palielināšanās, īpaši humīnskābēm līdzīgajā reģionā (330–350/420–480 nm), kas norāda uz humifikācijai raksturīgu polimerizāciju un aromātisko kondensāciju. Spektru intensitāte turpina pieaugt līdz 14 h (D), kur plašāks un spēcīgāks signāls humīnskābju un fulvoskābju tipa reģionos norāda uz ievērojamu molekulāro sarežģītību un humifikāciju. Maksimālā intensitāte tiek sasniegta pēc 24 h (E), ar visintensīvāko un plašāko fluorescenci visos reģionos, īpaši humīnskābju un fulvoskābju raksturīgajos apgabalos, kas norāda uz vairāk attīstītu SHS struktūru. Kopumā dati liecina, ka ilgstoša termiskā apstrāde veicina humīnskābju attīstību, laika gaitā palielinot molekulāro sarežģītību un aromātiskumu, taču sintēzes laika ieguldījums nav tik būtisks kā sintēzes temperatūras režīms.

Visbeidzot, lai noskaidrotu, vai biomasas sastāvā esošais lignīns humifikācijas procesā veido brīvos semihinona radikāļus, uzņēma elektronu paramagnētiskās rezonanses (EPR) spektrus. EPR spektrus uzņēma sešās temperatūrās (155-230 °C) sintezētajām SHS, un EPR spektrus uzņēma ar trīs

dažādām mikroviļņu jaudām, lai noskaidrotu pret kuru mikroviļņu starojuma jaudu paraugs ir vairāk jutīgs (7.15. attēls).



7.15. att. EPR spektri 230 °C un 14h sintezētajām humīnskābēm atkarībā no mikroviļņu jaudas (1; 10; 100 mW) un atrasto radikāļu simulētie dati

7.15. attēlā spektrālo iezīmju intensitāte mainās atkarībā no mikroviļņu jaudas, kas saistīts ar piesātinājuma efektiem un parauga nesapāroto elektronu relaksācijas īpašībām.

Pie zemas jaudas (1 mW) spektrs uzrāda vislielāko signāla intensitāti, jo sistēma ir tālu no piesātinājuma, nodrošinot efektīvu enerģijas pārneši starp nesapārotajiem elektroniem un elektromagnētisko lauku. Paaugstinot mikroviļņu jaudu līdz 10 mW, signāla intensitāte nedaudz samazinās, un novērota signāla šķelšanās, kas norāda uz divu dažādu radikāļu klātesamību. Pie 100 mW spektrālā intensitāte ievērojami samazinās, un signāls paplašinās un skaidrāk iezīmējas otra radikāļa esamība. Tas ir saistīts ar piesātinājumu, kad spinu sistēma nevar pietiekami ātri relaksēties, lai pielāgotos augstajai jaudas ievadei, kā rezultātā samazinās signāla intensitāte. EPR spektru atkarība no mikroviļņu jaudas norāda, ka signāls ar $g = 2,00$ sastāv no divām pārklājošām komponentēm. Šo komponentu EPR spektru parametri ir novērtēti šādi: $g = 2,0034 \pm 0,0005$ ar maksimumu starpību (peak-to-peak) $0,5 \pm 0,1$ mT (Simulācija 1) un $g = 2,0033 \pm 0,0005$ ar maksimumu starpību $1,0 \pm 0,1$ mT (Simulācija 2). Līdzīgi EPR signāli ir novēroti un aprakstīti vairāku autoru darbos, un tiek uzskatīts, ka tie rodas no semihinona tipa brīvajiem radikāļiem^{48,49}. Visos gadījumos g -faktori ir gandrīz vienādi, kas aprēķināti pēc formulas (1):

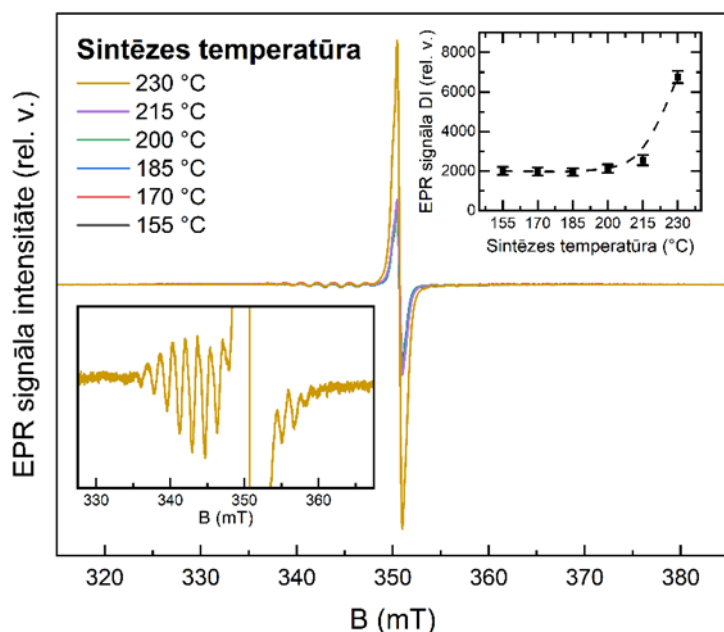
$$g = \frac{h \cdot \nu}{M_B \cdot B} = \frac{6,626 \cdot 10^{-34} \left(\frac{J}{s} \right) \cdot 9,837 \cdot 10^9 (Hz)}{9,274 \cdot 10^{-24} \left(\frac{J}{T} \right) \cdot 0,3506 (T)} = 2,0034 \quad (1)$$

Kur:

h = Planka konstante ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J/s),

ν = Mikroviļņu starojuma frekvence (Hz),
 μ_B = Bora magnetons ($9,274 \cdot 10^{-24}$ J/T),
 B = Magnētiskais lauks (T)

Šie rezultāti uzsver mikroviļņu jaudas optimizācijas nozīmi EPR eksperimentu laikā, lai izvairītos no piesātinājuma un iegūtu kvantitatīvu informāciju par spinu sistēmu. Humīnskābju dažādā uzvedība dažādu jaudu ietekmē sniedz ieskatu to relaksācijas dinamikā un elektroniskajā vidē. Lai izvērtētu radikāļu veidošanās dinamiku, veica mērījumus sintētiskajām humīnskābēm, kas sintezētas sešs dažādās temperatūrās (7.16. attēls).



7.16. att. EPR spektri (10 mW mikroviļņu jauda) SHS paraugiem pēc sintēzes dažādās temperatūrās. Ievietojums (apakšējais kreisais stūris): palielināts SHS parauga EPR spektrs, kas sintezēts pie 230 °C; ievietojums (augšējais labais stūris): dubultintegrēta (DI) EPR signāla intensitāte 348–357 mT diapazonā kā funkcija no sintēzes temperatūras

7.16. attēlā vizualizētie EPR spektri uzņemti sintētiskajām humīnskābēm, kas sintezētas sešs dažādās temperatūrās: 155 °C, 170 °C, 185 °C, 200 °C, 215 °C un 230 °C pie konstanta sintēzes laika 14 h un izmantojot mikroviļņu jaudu 10 mW. Spektri uzsver sintēzes temperatūras ietekmi uz humīnskābju paramagnētiskajām īpašībām un strukturālajām iezīmēm.

Palielinoties sintēzes temperatūrai, EPR signālu intensitāte un asums ievērojami mainās. Pie 155 °C signāla intensitāte ir salīdzinoši zema, norādot uz mazāku nesapāroto elektronu koncentrāciju, iespējams, nepilnīgas aromātisko un semihinona radikāļu struktūru veidošanās dēļ šajā temperatūrā. Pie 185 °C signāla intensitāte palielinās, atspoguļojot augstāku paramagnētisko centru koncentrāciju, visticamāk, pastiprinātas stabilo radikāļu un aromātisko sistēmu veidošanās dēļ humifikācijas procesa laikā. Spektrs pie 230 °C uzrāda vislielāko intensitāti, kas liecina, ka augstākas temperatūras veicina lielāku organisko prekursoru kondensāciju un aromatizāciju, kā rezultātā rodas blīvāks paramagnētisko centru tīkls.

Šie rezultāti norāda, ka sintēzes temperatūras paaugstināšana būtiski ietekmē humīnskābju elektronisko struktūru un radikāļu kvantitatīvo saturu, un augstākas temperatūras veicina stabilāku un intensīvāku paramagnētisko sistēmu veidošanos. Šī tendence atbilst humīnskābju strukturālajai nobriešanai paaugstinātas temperatūras apstākļos.

Šī signāla intensitāte palielinās, pieaugot sintēzes temperatūrai, sasniedzot aptuveni trīskāršu pieaugumu pie 230 °C salīdzinājumā ar 155 °C, ko var izskaidrot ar hinona struktūru relatīvās koncentrācijas pieaugumu, kā norādīts 7.11. tabulā. Papildus tam ir novērojams arī signāls ar mazāku intensitāti un sarežģītu hipersīkstruktūras šķelšanās struktūru, kura intensitāte ir līdzīga visos paraugos. Līdzīgas struktūras ir saistītas ar 4,9-dihidroksiperilēna-3,10-hinona (DHPQ) struktūru, kas parādās arī citu pētnieku grupas pētījumā.

6.11. Fulvoskābju un blakusproduktu šķīdumu analīze

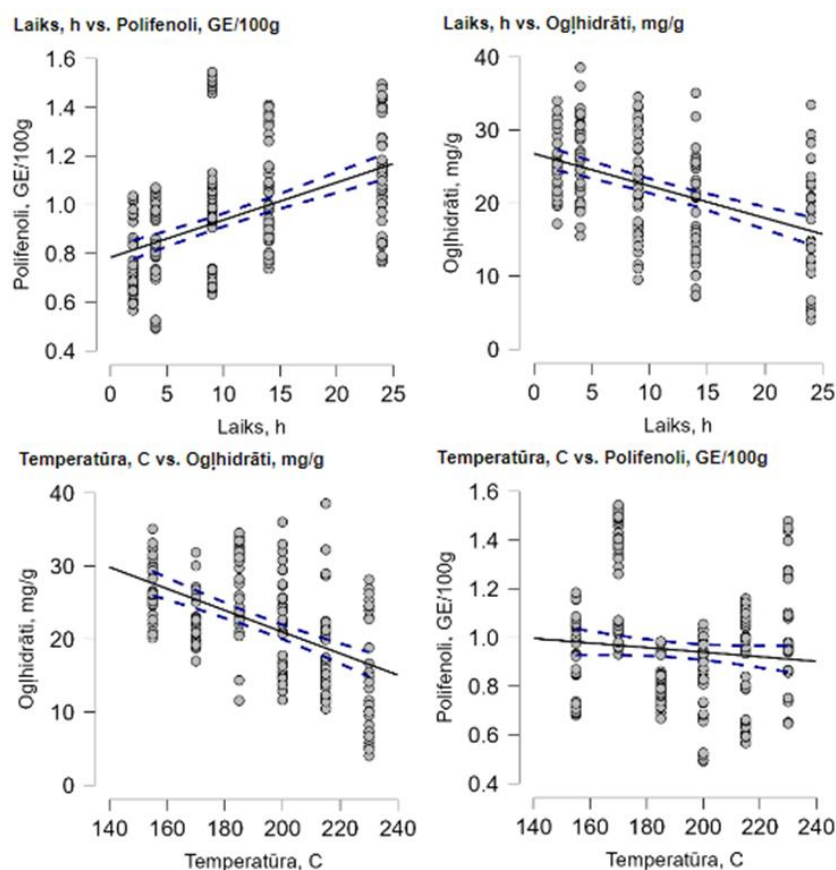
Mazmolekulāro fulvoskābju un citu blakusproduktu šķīdumi, kas rodas tandēmā ar sintētiskajām humīnskābēm kā primārais produkts, ir maz pētītas. Taču, ņemot vērā, ka šajos šķīdumos notiek ievērojama oglekļa pārnese no biomasas HTH procesā, ir vērts izprast kādi starpprodukti vai blakusprodukti paliek pēc sintēzes un kāda ir šo vielu dinamika un strukturālais sastāvs, ņemot vērā, ka otrs galvenais produkts ir fulvoskābes. Izrietot no literatūras izpēti par HTH mehānismu, zināms, ka pamatā lignīns šķēļas mazākos monomēros un var veidot mazmolekulārus polifenoliem līdzīgus blakusproduktus, kā arī celulozes un hemicelulozes šķelšanās rezultātā var palikt pāri neizreagējuši mono-, di- vai oligosaharīdi ar dažādām struktūrām. Lai noskaidrotu kāda ir starpproduktu atlieku dinamika, veica kopējo ogļhidrātu un polifenolu spektrofotometrisko analīzi (7.17. attēls).

7.17. attēlā redzamas četras izkliedes diagrammas, kas parāda laika, temperatūras un kopējo ogļhidrātu un polifenolu koncentrāciju attiecības, kas veidojas kā hidrotermālās humifikācijas blakusprodukti.

Polifenolu saturs mēdz palielināties ar laiku. Ir redzama pozitīva korelācija, ko apliecina regresijas līnijas augšupejošā tendence un datu punktu sakopojums. Tas liecina, ka ilgāks reakcijas laiks veicina polifenolu veidošanos dotajos apstākļos.

Ogļhidrātu saturs uzrāda negatīvu korelāciju ar laiku. Regresijas līnijas lejupejošā tendence norāda, ka ilgstošs reakcijas laiks izraisa pakāpenisku ogļhidrātu noārdīšanos vai pārvēršanos citos savienojumos.

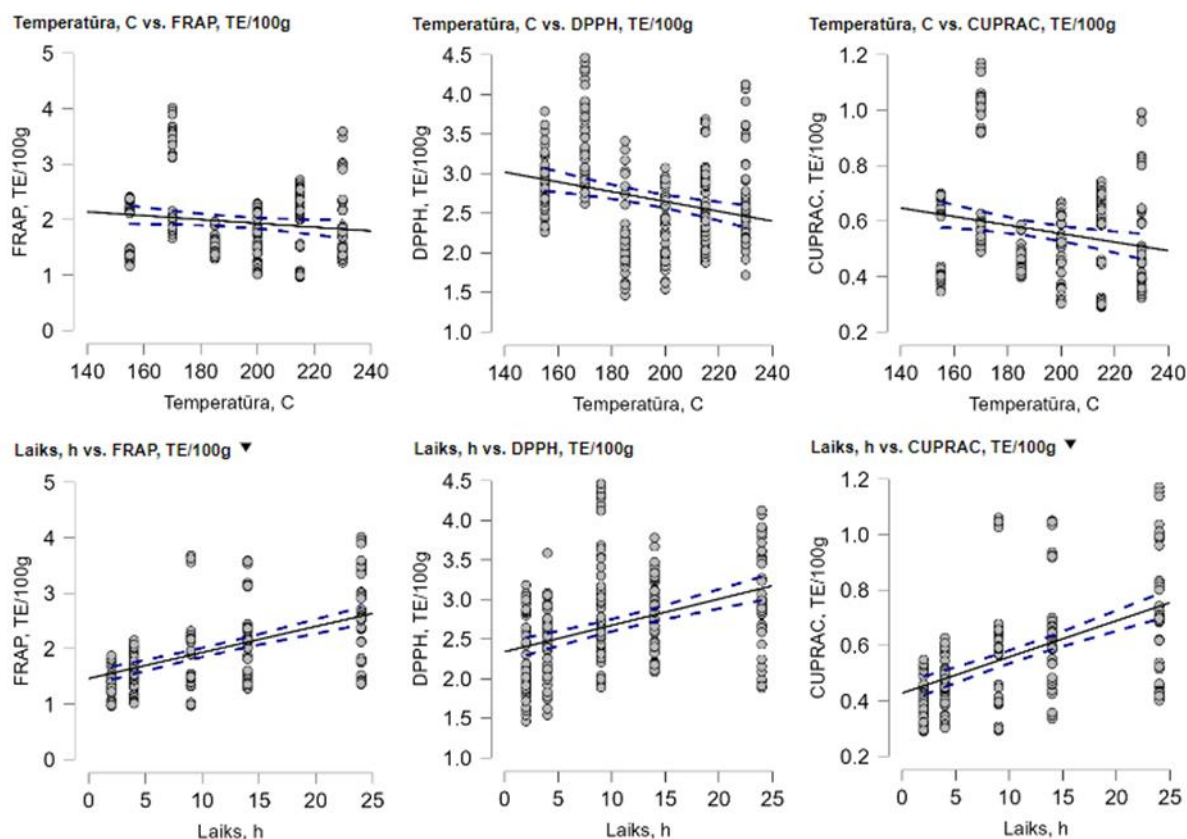
Starp temperatūru un ogļhidrātu saturu ir skaidri novērojama negatīva korelācija. Paaugstinoties temperatūrai, ogļhidrātu koncentrācija samazinās. Tas norāda, ka augstākas temperatūras, visticamāk, veicina ogļhidrātu sadalīšanos humifikācijas procesa laikā.



7.17. att. Kopējo ogļhidrātu un polifenolu saturs un to dinamika atkarībā no sintēzes temperatūras un sintēzes laika HTH blakusproduktos

Attiecības starp temperatūru un polifenolu saturu ir mazāk izteiktas, redzama neliela negatīva tendence. Tas liecina, ka, lai gan temperatūra var nedaudz ietekmēt, citi faktori, piemēram, laiks vai reakcijas kinētika, var būt nozīmīgāki polifenolu satura noteikšanā.

Kopumā dati liecina, ka laiks galvenokārt veicina polifenolu sintēzi, kamēr augstākas temperatūras un ilgstošāks reakcijas laiks veicina ogļhidrātu noārdīšanos hidrotermālās humifikācijas procesā.

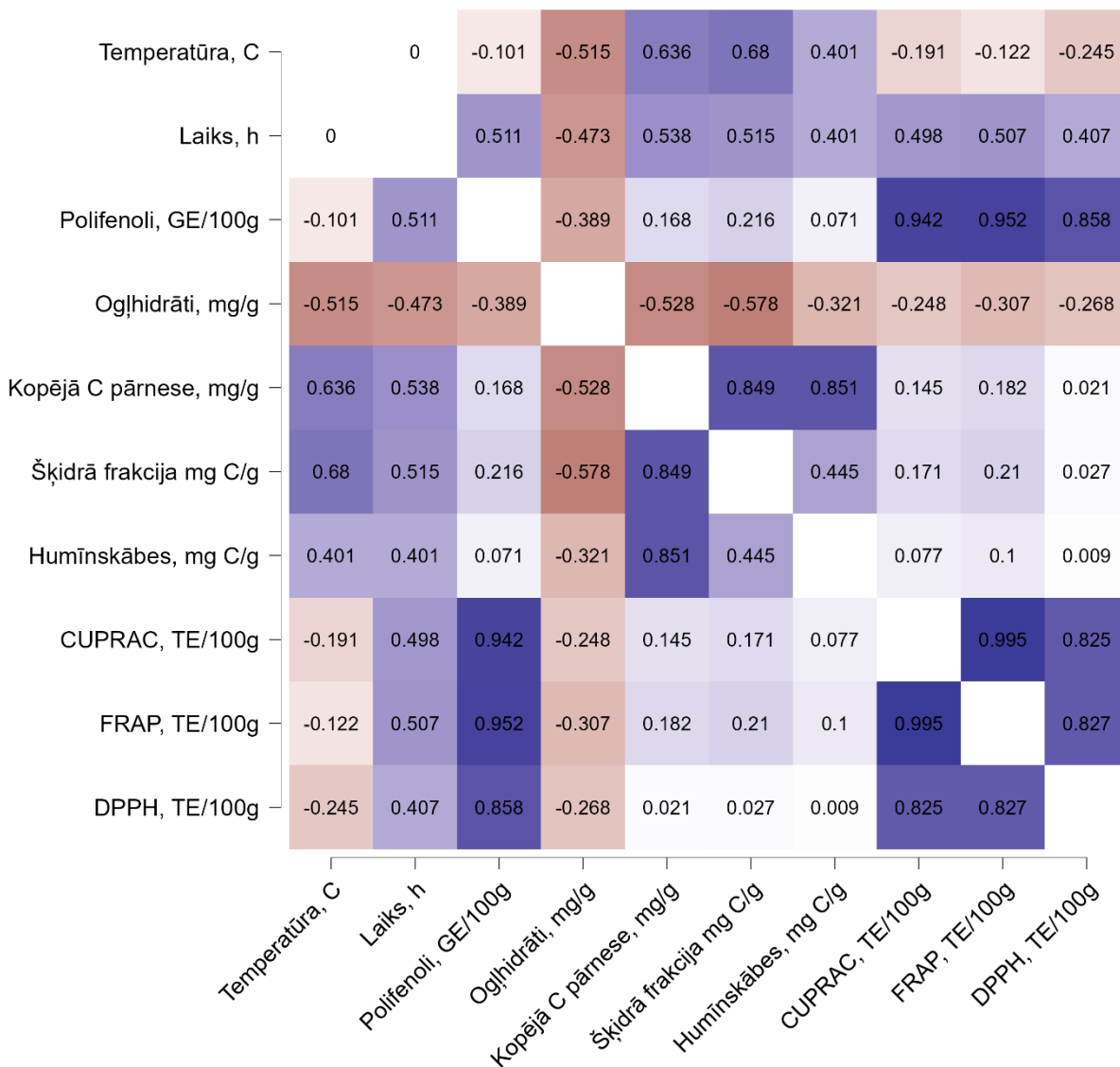


7.18. att. Antioksidatīvo aktivitāšu (FRAP, CUPRAC) un antiradikālās aktivitātes (DPPH) dinamika atkarībā no sintēzes temperatūras un laika sintēzes blakusproduktos

Korelācijas grafiki 7.18. attēlā ilustrē antioksidantu aktivitātes (FRAP un CUPRAC) un antiradikālās aktivitātes (DPPH) dinamiku no humīnskābēm atdalītajos fulvoskābju un blakusproduktu šķīdumos, ņemot vērā sintēzes temperatūru (155-200 °C) un reakcijas laiku (2-24h). Attiecībā uz temperatūru, FRAP vērtības parāda nelielu negatīvu tendenci, palielinoties temperatūrai, kas norāda, ka augstākas temperatūras ietekmei uz blakusproduktu rašanos sintēzes gaitā korelācija ir minimāli negatīva. Savukārt gan DPPH, gan CUPRAC aktivitātes uzrāda skaidru negatīvu korelāciju ar temperatūru, kas liecina, ka paaugstinātas temperatūras izjauc termiski jutīgu antioksidantu savienojumu struktūru vai maina svarīgas aktivitātes pazīmes, piemēram, funkcionālās grupas vai šķīdību. Konkrēti, augstākas temperatūras šķiet samazina šo atlikušo produktu spēju neitralizēt radikālus vai samazināt vara (II) jonu koncentrāciju, atspoguļojot aktīvo antioksidantu savienojumu zudumu. Savukārt reakcijas laiks pozitīvi ietekmē visas mērītās aktivitātes. FRAP vērtības palielinās ar garākiem reakcijas laikiem, norādot uz antioksidantu pakāpenisku veidošanos vai stabilizāciju atlikušajos šķīdumos.

Līdzīgi, DPPH aktivitāte uzlabojas ar ilgāku reakcijas laiku, liecinot par uzlabotām radikāļu neitralizēšanas spējām, kad humifikācijas process turpinās. CUPRAC aktivitāte arī palielinās laika gaitā, atspoguļojot pieaugošu spēju reducēt vara (II) jonus, iespējams, sakarā ar aktīvo blakusproduktu uzkrāšanos, turpinoties reakcijai. Šie rezultāti uzsver, ka temperatūrai un reakcijas laikam ir atšķirīga, bet savstarpēji papildinoša ietekme uz blakusproduktiem raksturīgajām antioksidatīvajām un antiradikālajām īpašībām.

Kamēr pārāk augstas temperatūras var degradēt aktīvās vielas, garāki reakcijas laiki uzlabo vielu ar antioksidantu īpašībām sintēzi un stabilizāciju, uzsverot nepieciešamību optimizēt abus parametrus, lai sasniegtu maksimālu aktivitāti hidrotermālās humifikācijas procesos. Jāņem vērā, ka gan antioksidatīvās aktivitātes, gan antiradikālā aktivitāte ir kopumā zema, sasniedzot ~4 g troloksa ekvivalentus uz 100 g biomasas iesvara FRAP; ~1,2 g troloksa ekvivalentu uz 100 g biomasas iesvara un augstākajā gadījumā ~4,5 g galluskābes ekvivalentu uz 100 g sausas biomasas iesvara. Šie zemie rādītāji lieliski korelē ar iepriekš noteikto polifenolu saturu, tāpēc, lai kopsavilkumā izvērtētu noteikto parametru dinamiku un apstākļus, izveidoja Pīrsona R koeficientu korelācijas karti, kas atspoguļo katra parametra atkarību no katra cita parametra (7.19. attēls).



7.19. att. HTH blakusproduktu rašanās dinamikas korelācijas karte. Polifenoli – galluskābes ekvivalents, g/100 g biomasas iesvara, FRAP un CUPRAC troloksa ekvivalents, g/100 g biomasas iesvara. Zilā krāsa norāda uz pozitīvu korelāciju, sarkanbrūnā uz negatīvu korelāciju

7.19. attēlā vizualizēta korelācijas karte, kas atklāj būtiskas atziņas par to, kā temperatūra, laiks un citi parametri ietekmē hidrotermālās humifikācijas dinamiku attiecībā uz dažādiem parametriem.

Temperatūrai ir divējāda loma: tā spēcīgi veicina oglekļa pārnesei, ko apliecina pozitīvās korelācijas ar kopējo C pārnesei (0,636), šķidro frakciju (0,680) un humīnskābju iznākumu (0,401), vienlaikus būtiski degradējot humifikācijas procesā radušos vienkāršos ogļhidrātus (-0,515). Tas norāda, ka augstākas temperatūras veicina ogļhidrātu sadalīšanos šķidrā frakcijā un to inkorporēšanu humīnskābēs. Tāpat arī sintēzes laikam ir izšķiroša loma humifikācijas procesā. Tas pozitīvi korelē ar antioksidantu aktivitātēm, piemēram, CUPRAC (0,498), FRAP (0,507) un DPPH (0,407), norādot, ka ilgāks reakcijas laiks uzlabo šķidrās frakcijas antioksidatīvo potenciālu, iespējams, pateicoties tam, ka sintēzes laikam palielinoties, tiek veicināta polifenolu veidošanās (0,511).

Polifenoli ir cieši saistīti ar antioksidantu īpašībām, kā to pierāda augstas pozitīvās korelācijas ar CUPRAC (0,942), FRAP (0,952) un DPPH (0,858). Tas uzsver to būtisko lomu oksidatīvās stabilitātes uzlabošanā. Tomēr to saistība ar temperatūru ir vāji negatīva (-0,101), norādot, ka reakcijas laiks varētu būt svarīgāks faktors to sintēzē. Savukārt, ogļhidrāti uzrāda konsekventi negatīvu tendenci gan ar laiku (-0,473), gan ar temperatūru (-0,515), norādot uz to sadalīšanos citos komponentos vai humificēšanos procesa laikā. Turklāt, spēcīgā negatīvā korelācija starp ogļhidrātu saturu un oglekļa pārnesei šķidrā frakcijā (-0,578) liecina, ka ogļhidrātu sadalīšanās būtiski veicina šķidrās frakcijas piesātināšanos.

Kopumā dati liecina, ka ilgāks sintēzes laiks veicina vielu veidošanos, kam ir izteikta antioksidatīvā kapacitāte un polifenolu sintēzi, padarot to vēlamu procesiem, kas prioritizē šos rezultātus. Savukārt augstākas temperatūras veicina kopējo oglekļa pārnesei un humīnskābju veidošanos.

7. BIOMASAS PILOTIEKĀRTĀS EKSTRAKCIJA UN FAKCIONĒŠANA PILOTIEKĀRTĀS

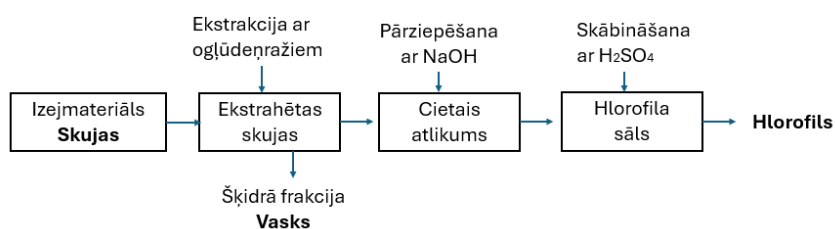
No pielietojuma viedokļa lipīdi veido nozīmīgu komponentu grupu, kas atrodama skujkoku skuļās/zaļumos. Lai iegūtu šo vielu grupu no skuļām, nepieciešams izmantot zemas polaritātes šķīdinātājus. Ņemot vērā ievērojamo apstrādājamo skuju apjomu, kā ekstraktorus priekšroka dodama ogļūdeņražiem. Pētījumā ir pētīti dažādi šķīdinātāji, alkāni (heksāns, oktāns), cikloalkāni (cikloheksāns), hlorēti šķīdinātāji, lai noteiktu to spēju ekstrahēt lipīdus un citus zemas polaritātes komponentus no skujkoku skuju/zaļumu biomasas. Ekstraktvielu iznākums, izmantojot zemas polaritātes šķīdinātājus, parasti ir ievērojami zemāks salīdzinājumā ar spirtu, spirta/ūdens maisījumu vai ūdens izmantošanu kā ekstraktoriem. Parasti iznākums ir <10% no sausnas masas.

Izmantojot zemas polaritātes šķīdinātājus, šķidrā fāzē tiek pārnestas tādas zemas polaritātes vielas kā alkāni, taukskābes un to esteri, diterpēni, seskviterpēni, sveķskābju esteri, poliprenoli un citas.

Pētījumā pilotiekārtās (skat. 8.1.a. att.) veica vaska un hlorofila izdalīšanu no egļu skuļām, saskaņā ar shēmu (skat. 8.1. b. att.).



a. Biolat ekstrakcijas pilotiekārtas



b. Frakcionēšanas shēma

8.1. att. Biolat ekstrakcijas iekārtas (a) un frakcionēšanas shēma (b)

Kopumā Biolat ražotnē pētījuma laikā ieguva 70 L atšķaidīta egļu skuju vaska ar 55% koncentrāciju. Atšķaidījuma lielāko daļu veido nopolārais šķīdinātājs – haksāns. Tādēļ darba grupā nolemts, ka nepieciešams ietvaicēt skuju vasku, lai atbrīvotos no šķīdinātāja un sasniegt vismaz 80-90% koncentrāciju (skat. 8.2. att.).



8.2. att. Ietvaicēts egļu skuju vasks

Savukārt, Biolat pārstāvji liecina, ka viņu galvenais produkts – hlorofils būtiski vairāk ir iegūstams no galvenajā cirtē iegūstamām skujām (iznākums ap 0,2%), salīdzinot ar jaunaudzēs esošo egļu skuju

pārstrādi (0,18%) (skat. 8.3. att.), kas skaidrojams, ar faktu, ka jaunaudzēs augušo egļu skuju satur mazāk hlorofila. Frakcionēto vielu bilance Biolat pilotiekārtās ir apkopota 8.1. tabulā.



8.3. att. Hlorofils, kas iegūts pārstrādājot 5t egļu zaleņa

8.1. tabula

Biolat ekstrahēto vielu bilance

Produkts	Vienība	Patērētais zalenis uz 1 vienību, kg	Iznākums, %
Skuju vasks	1 kg	50	2
Skuju ekstrakts	1 l	2,5	40
Hlorofils	1kg	555	0,18

Ņemot vērā, ka pilotiekārtās hlorofila iznākums no jaunaudzēs augošu egļu skuju hlorofils ir 0,18%, priekšroka dodama galvenajā cirtē augošu egļu izmantošanai, kur hlorofila iznākums ir 0,2%. Šeit, gan jāatzīmē, ka literatūrā zinātnieki min, ka, pielietojot CO ekstrakcijas metodi ir iespējams iegūt līdz pat 2% hlorofila no egļu skujām.

8. CIETĀ ATLIKUMA BIOĻOGISKĀ KONVERSIJA

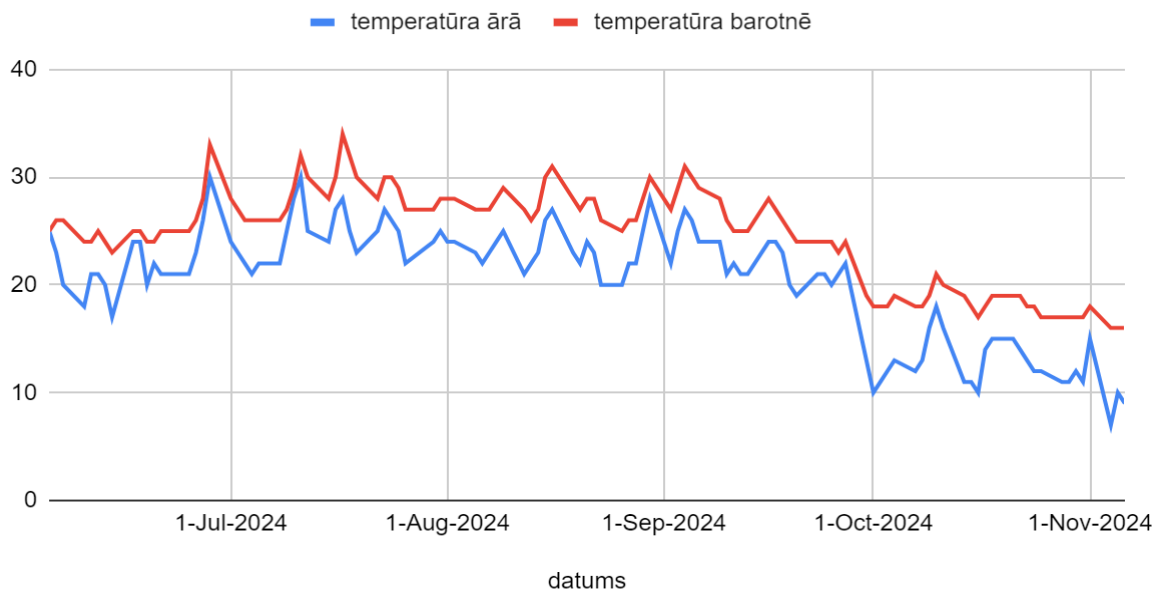
Ekstraktējamo materiālu ņem no barotnes vidus, lai iegūtu pilnvērtīgāku izpratni par barotni. Ekstrakcijas laikā iegūti divi ekstrakti un divi substrātu cietie atlikumi:

1% kālija hidroksīda (KOH) ekstrakts un tā sausais atlikums.

1% pelnu šķīduma ekstrakts un tā sausais atlikums.

Lai noteiktu iegūto ekstraktu sauso daļu, tos ietvaicēja keramikas trauciņos. Iegūto ekstraktu sausnes procenti: 1% KOH ekstrakta sausne ir $5,2 \pm 0,3\%$; 1% pelnu šķīduma ekstrakta sausne ir $4,6 \pm 0,3\%$.

Barotnes Nr.3. augšanas temperatūra grafiski atspoguļota 7.22. attēlā.



7.22. att. Barotnes Nr. 3 temperatūras izmaiņu dinamika

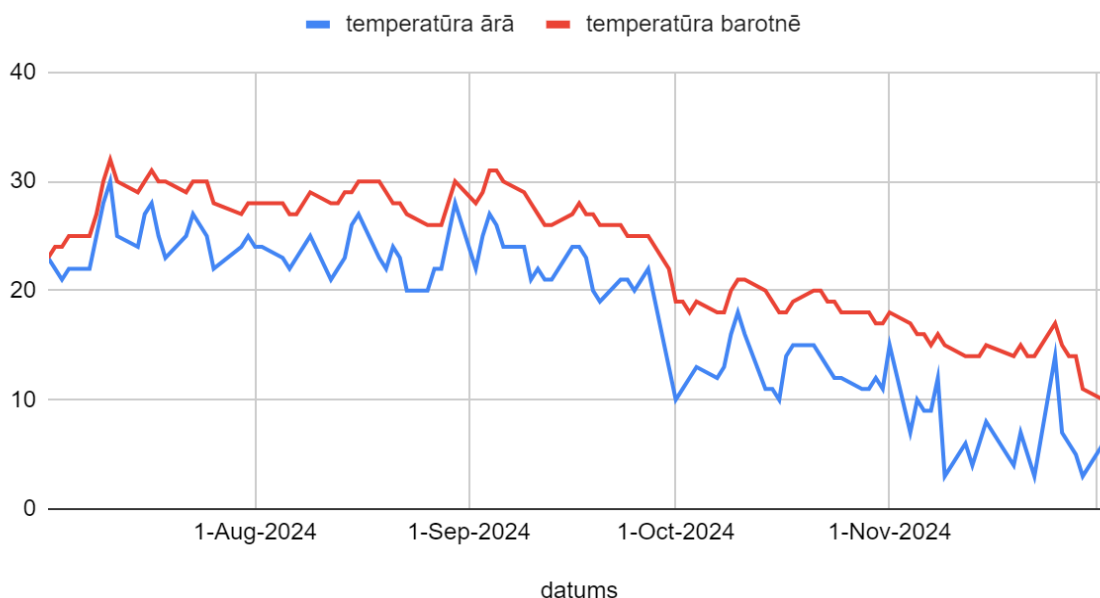
Grafikā var novērot barotnes temperatūras korelāciju ar āra temperatūru. Bartone naktīs nedaudz atdziest un dienās uzsilst vidēji, saglabājot augstāku temperatūru nekā ārā, jo fermentācijas laikā izdalās siltums. Ārā, kļūstot vēsākam, barotnē saglabājas siltums, jo fermentācija turpinās, jo barotnes temperatūra ir pietiekami augsta (augstāka par $+5^{\circ}\text{C}$), lai bioloģiskā aktivitāte barotnē turpinātos. Fermentācijas siltums neļauj barotnei atdzist, lai arī diennakts tumšais laiks pieaug un vides temperatūra samazinās. Temperatūra ir vidēji $3-8^{\circ}\text{C}$ grādus augstāka barotnē nekā āra vidē. Barotnes temperatūra periodā beigās neizlīdzinājās ar āra temperatūru, jo turpinājās fermentācija. Mitrums barotnē monitorēja un uzturēja $65-75\%$ robežās, veicot barotņu papildus laistīšanu.

Tiek ekstrahēta barotne Nr.4., izmantojot iepriekš minēto metodi. Arī šai barotnei sagatavoja divus ekstraktus un divus substrātu atlikumus: 1% kālija hidroksīda ekstrakts un tā sausais atlikums un 1% pelnu šķīduma ekstrakts un tā sausais atlikums, kā arī noteica sausnes saturu iegūtajam ekstraktam.

Iegūto ekstraktu sausnes procenti: 1% KOH ekstrakta sausne ir $4,7 \pm 0,3\%$; 1% pelnu šķīduma ekstrakta sausne ir $4,1 \pm 0,3\%$. 14. attēlā apkopotas barotnes Nr. 4 un āra temperatūras izmaiņu dinamika.

Barotnes Nr. 4. fermentācijas izdalītais siltums barotnē (7.23. att.) uztur par vidēji $3-9^{\circ}\text{C}$ grādiem augstāku temperatūru, kas ir līdzvērtīgs barotnes Nr. 3. uzturētajai temperatūrai, kas liecina, ka bioloģisko procesu dēļ izdalītais siltums ir līdzīgs.

Sagatavotie ekstrakcijas šķīdumi ir ievietoti ledusskapī ($+2^{\circ}\text{C}$), lai tas bioloģiski nesabojātos un iegūtos ekstrakcijas cietie atlikumi ir ievietoti hermētiskos plastmasas spaiņos, lai pavasarī tajos iestādītu egļu stādīņus un novērtētu to kūdras aizvietošanas potenciālu.



7.23. att. Barotnes Nr. 4 temperatūras izmaiņu dinamika

Sezonas beigās Gorumet Industries SIA, saņēma no Biolat SIA ražotnes ekstrahēto skuju cieto atlikumu. Atlikums bija ~ 9 mēnešus pakļauts savvaļas organismu ietekmei. Substrātā detektētas sēņu izcelsmes organisms. Organisms pavairots un saglabāts uz petri platēm. Ekstrahēto skuju cieto atlikumu fermentācijas laiks ir 9 mēneši. Ekstrahēto skuju cieto atlikumu ekstrahēja ar 1% koksnes pelnu šķīdumu. Paralēli ekstrahēto skuju cieto atlikumu ekstrahēja ar 1% kālija hidroksīda (KOH) šķīdumu. Abas ekstrakcijas pielāgotas, lai sasniegtu maksimālo sausnes saturu ekstraktā. Ekstrakta sausnes saturs ir apkopots 7.15. tabulā.

7.15. 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 cieto atlikumu ekstrahēja, lai salīdzinātu, vai pastāv atšķirība starp savvaļas kultūru un uzņēmuma kultivētām kultūru ekstrahēto skuju cieto 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 “patī daba” ir atradusi potenciāli vislabāko biokultūru, kas vislabāk pārstrādā ekstrahēto skuju cieto atlikumu. Tādēļ to pārbaudīs projekta turpmākajos pētniecības posmos. Plānots šo biokultūru identificēt, piesaistot Silavas zinātniekus.

Paralēli ekstrakcijai, jo tehnoloģiski tā aizņemt ievērojamu laiku, jo jākontrolē barotņu attīstība un klimats, sterilitāte, tika pavairoti sēņu mikroorganismi *Trametas 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 salīdzina pasterizēta (S) un nepasterizētā (N) apstrādes ietekmi uz barotnes kvalitāti, lai noskaidrotu pasterizācijas posma lietderību potenciālajā ražošanas tehnoloģijā.

Gourmet industres saņēma Biolat industriāli pārstrādāta egļu skuju (7.24. att.). Veicot sākotnējo pārstrādāto skuju novērtējumu, ir novērtos, ka ekstrahētajās skujās attīstās mikroorganisms, kas, visticamāk, ir “iedzīvojies” skuju pārstrādes ražotnes tuvumā pēc ražotnes darbības uzsākšanas. Tādēļ, var teikt, ka daba ir atradusi piemērotu mikroorganismu, kas pārstrādā ekstrahētās skuju lielā apjomā (vienveidīga biomasa, lielos apjomos).



7.24. att. Substrāts ar savvaļas mikroorganismu

Sākotnēji izveidoja sēņu barotnes (7.25. att.), kuras uzglabāja 25 °C grādu temperatūrā, substrāta mitrums aptuveni 70% +/- 5%. 7.16. tabulā ir atspoguļoti vidējās vērtības starp 3 atkārtojumiem, lai identificētu visoptimālāko sēņu kultūru, barotni ekstrahēto egļu skuju bioloģiskajai konversijai.



7.25. att. Sagatavotās sēņu barotnes

7.16. tabula

Mikroorganismu augšanas novērtējums¹

Kods	Sēne	Substrāts	Barotne	Vide	Cauraugšana 30 dienās 3 L tūpūmā, %	Sausne %, kas iegūta ar 1% KOH šķīdumu
PKSTV	<i>Trametas versicolor</i>	Proteīns / celulozes bāzes graudu atsijas un kalcija sulfātu	Iesala -agara	Sterils	46	4.7
PKSPG	<i>Phlebiopsis gigantea</i>	Proteīns / celulozes bāzes graudu atsijas un kalcija sulfātu	Iesala -agara	Sterils	65	5
PKNTV	<i>Trametas versicolor</i>	Proteīns / celulozes bāzes graudu atsijas un kalcija sulfātu	Iesala -agara	Nesterils	30	3.5
PKNPG	<i>Phlebiopsis gigantea</i>	Proteīns / celulozes bāzes graudu atsijas un kalcija sulfātu	Iesala -agara	Nesterils	56	4.7
STV	<i>Trametas versicolor</i>		Iesala -agara	Sterils	35	4
SPG	<i>Phlebiopsis gigantea</i>		Iesala -agara	Sterils	40	4.3
NTV	<i>Trametas versicolor</i>		Iesala -agara	Nesterils	25	3.5
NPG	<i>Phlebiopsis gigantea</i>		Iesala -agara	Nesterils	35	4

¹ APZĪMĒJUMI:

Sēņu mikroorganismi *Trametas versicolor* (TV) un *Phlebiopsis gigantea* (PG) uz iesala-agara barotnēm petri platēs.

Substrāti: Proteīna (P) / celulozes bāzes graudu atsijas un kalcija sulfātu (K).

Barotnes: pasterizētā (S) un nepasterizētā (N) veidā.

Vislabāk sēņu organisms attīstījies sterilizētā barotnē, kas bagātināta ar proteīnu un kalcija sulfātu (PKSPG). Pasterizēšana uzlaboja augšanas apstākļus, taču sēne optimāli attīstās arī nepasterizētā barotnē, kas bagātināta ar proteīnu un kalcija sulfātu (PKSPG), kas būtiski atvieglo sēņu kultūras ieviešanu ražošanā. Barotņu bagātināšana uzlabo ekstraktvielu kvalitāti un kvantitāti. Bagātināšana palīdz organismiem ātrāk attīstīties, ko var vienkārši detektēt substrātam paliekot mazāk birstošam īsākā laika nogrieznī (7.26. att.).



7.26. att. Sēņu – skuju substrāts. (pa kreisi sēņu cauraudzis substrāts, pa labi svaigs substrāts)

Novērots, ka materiālu labāk pārstrādā *Phlebiopsis gigantea* (PG) sēņu kultūra, ko izmantos turpmākos ekstrahēto skuju konversijas pētījumos. Kultūra *Trametas versicolor* (TV) neizrādījās tik efektīva, jo novērotas augšanas apstākļu problēmas tik blīvā substrātā - nevar pārstrādāt šāda veida substrātu. Jāatzīmē, ka *Trametas versicolor* (TV) nepasterizētā skuju substrātā praktiski neieaugās.

Turpretim, novērots, ka savvaļas kultūra, kas gadiem ir attīstījusies Biolat ražotnē, labi pārstrādā ekstrahēto skuju materiālu un tādēļ ar to tiks veikti tālākie biomasas konversijas eksperimenti. Savvaļas kultūra pārstrādā substrātu citādāk nekā izvēlētais kultūras, kas šim substrātam, bez bagātināšanas ar gaisīgiem lignocelulozes substrātiem (salmiem, stiebriem), ir labāka. Izmantot savvaļas kultūru ir ekonomiski un praktiski izdevīgi, jo nav arī bioloģiski jāattīra ražotnes telpas un apkārtnē, kā arī nav jāievieš speciālas skuju izkraušanas un uzglabāšanas sterilas tvertnes.

Pēc sēņu kultūru novērtējuma tālāk izveidoja 4 IBC konteīnera fermenterus, katru 1m³ tilpumā, kuros kontrolēs fermentācijas temperatūru. Fermentācijas prognozējamais laiks 2 - 3 mēneši. Iegūto produktu ekstraktēs un analizēs.

Kopumā sagatavoja 4 dažādas fermentēšanas variācijas (7.17. tabula), lai nākotnē jau varētu rūpnieciski izvēlēties optimālāko:

1. Variants. PKNPG ir barotne, kuras saturā netiek pastērizēts substrāts, bet tiek pievienota kultūra *Phlebiopsis gigantea*(PG) un tā tiek bagātināta ar kaņepju sēklu rausi un kalcija sulfātu. Kaņepju sēklu rausis ir blakus produkts eļļas spiešanas procesā, kas satur proteīnu un lignocelulozi. Tas tiek izmantots, jo ir iepriekš izmantots un ir ļoti efektīvs. Kā arī, tas ir ļoti viegli pieejams reģionā (skat. 7.27. att.).
2. Variants. PKNSav ir barotne, kas satur nepastērizētu substrātu un tā ir bagātnāta ar kaņepju sēklu rausi un kalcija sulfātu. Tiek pievienots kultivēts savvaļas kultūras paraugs.
3. Variants. PKN+LC+PG ir barotne, kura satur nepastērizētu substrātu un lignocelulozes substrātu, kas bagātināts ar rausi un kalcija sulfātu, un pievienota kultūra *Phlebiopsis gigantea* (PG).
4. Variants. PKN+LC+Sav ir barotne, kura satur nepastērizētu substrātu un lignocelulozes substrātu, kas bagātināts ar rausi un kalcija sulfātu. Tiek pievienots kultivēts savvaļas kultūras paraugs.

7.17. tabula

Varianta barotnes sagatavošana 1m³ tilpumam

	
Saražotās barotnes, kuras tika izmantotas 1. Varianta 1m³ kaudzes inokulēšanai.	Barotnes no petri platēm ievietotas spainī, lai sagatavotu šķidru suspensiju ar kuru inokulēt 1m³ kaudzi.
	
Sagatavota suspensija no barotnēm iepriekšējā	Suspensijas pievienošana subsrāta maisīšanas un mitrināšanas brīdī

	
Substrāts no maisītāja pārvietošana uz 1m³ konteineri	Pilns IBC konteineris pirms aizlīmēšanas ar perforētu plēvi

Papildus labvēlīgākai micēlija augšanai, cieta atlikumu papildus aerē to ar gaisu, pielietojot kompresoru. Temperatūras datu ievākšana notiek paralēli aerācijai. Tas tiek veikts izmantojot, pašu izgatavotu aerācijas stieni, un temperatūras zondi 7.27. A un B attēls.



7.27. att. A – Aerācijas stienis; B - Aerēšanas un temperatūras uzmērīšana

Aerēšana un temperatūras uzmērīšana veikta, iedurot aerācijas stieni vidēji 20 vietās, kamēr tiek pludināts gaiss, tiek nolasīta temperatūra, dokumentē vidējo temperatūru. Temperatūra barotnē svārstās vidēji 3 °C grādu robežas pie straujām temperatūras maiņām vidē. Un barotne ir vidēji par 6 °C grādiem siltāka, nekā vides temperatūra. No rītiem starpība ir mazāka, dienas vidū lielāka. IBC konteineris labāk uztur temperatūras režīmu un dzesē to, nekā tas notiek komposta kaudzēs.

Pētījumā ir novērots, ka kultūra *Phlebiopsis gigantea* (PG) labāk aug tumšā telpā, tādēļ nolemts izgatavot arī 3. Variantu melnā IBC konteinerī. Savukārt, savvaļas kultūra, kur tika ievākta no substrāta, tiek audzēta baltos IBC konteineros, jo netika novērota atšķirība augot dažādo apstākļos. Balti IBC ir populārāki, līdz ar to pieejamāki.

Izgatavoja 3.variantu, kura saturā ir lignocelulozes substrāts, kas šajā eksperimentā ir salmi. Tiek sagatavota barotņu suspensija, kā iepriekš un pievienota maisīšanas procesā. Arī salmi, rausis un kalcija sulfātu pievienoti maisītājā. Maisītājs tiek izkrauts spainī un tālāk ievietots konteinerī (skat. 7.28. A un B att.). Procesu atkārto līdz sasniedz nepieciešamo tilpumu.



7.28. att. A – Lignocelulozes substrāta sagatavošana ar barotni; B - Lignocelulozes substrāta pārvešana uz IBC konteineri

Sagatavotja 4. variantu, kas sastāv no substrāta, lignocelulozes materiāla, rauša un kalcija sulfāta. Barotne sagatavota baltā IBC konteinerī un tiek pievienota savvaļās kultūra, kas iepriekš laboratoriski pavairota (7.29 att.).

Sagatavoja IBC konteineri ar 2. versijas barotni. Barotne satur nepasterizētu substrātu un tā ir bagātnāta ar kaņepju sēklu rausi un kalcija sulfātu. Lai barotne saturētu vairāk gaisa, tai pievienoja kultivēts savvaļas kultūras paraugs.



7.29. att. Sagatavotās barotnes

Projekta laikā pasūtītas izgatavošanai ekstrakcijas iekārtas detaļas (skat. 7.30. att.), lai ekstrahētu pārstrādāto skuju substrātu. Ekstrakcijas iekārta izgatavota no caurules, kurai apakšā piestiprināts siets. Augšpusē ir vāks, kurā var ievadīt gaisu no kompresora, lai būtu mazāki ekstrakcijas zudumi. Ekstrakcijas kamera ir iestiprinātā rāmī ar engēm, lai varētu izkraut substrātu pēc ekstrakcijas.



7.30. att. Izgatavotā ekstrakcijas iekārta



7.31. att. Substrāts 1, kurā ir cauraugusi kultūra

7.31. attēlā var novērot balto nokrāsu, kas ir sēņu kultūras *Phlebiopsis gigantea*(PG) micēlijs. Barotne ir kultivēta 5 mēnešus. Barotnē var novērot kultūras cauraugšanas pazīmes. Ekstrakcijai pielieto izmantojot divus dažādus šķīdumus (7.32. att.): A - 1% pelnu šķīdums ūdenī; B - 1% kālija hidroksīda ūdens šķīdums.



7.32. att. A - Ekstraktora pildīšana ar substrātu; B - Šķīdinātāja pievienošana

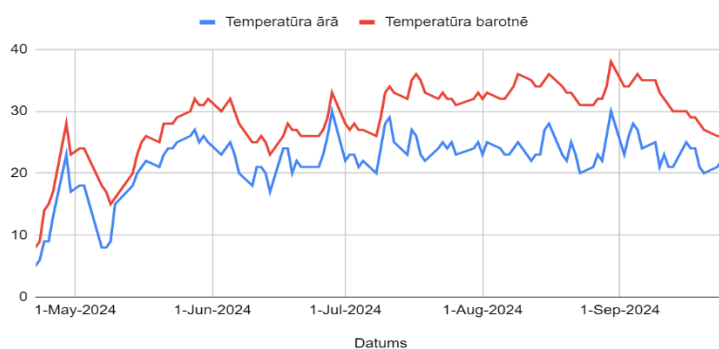
Pēc ekstrakcijas ir iegūtas divas masas – šķidrā un cietā (7.33 att.).



7.33. att. A- Ekstrakcijas process. Šķidrā frakcija; B - Sausais atlikums ekstraktorā

Iegūto ekstraktu sausnes procenti:

- 1% pelnu šķīduma ekstrakta sausne ir 4,5 %.
- 1% Kālija hidroksīda ekstrakta sausne ir 4,9 %.
- Pirmās barotnes augšanas temperatūra tiek atspoguļota grafikā (7.34. att.).



7.34. att. Āra un barotnes temperatūru izmaiņas

Novērots, ka barotnes temperatūra ir atkarīga no vides temperatūras, jo IBC konteineris naktīs atdziest un dienā uzsilst. Kad āra temperatūra ir augstāka, izdalās biotehnoloģiskais siltums no barotnes, kas ir fermentācijas rezultāts. Pie augstākām temperatūrām fermentācija notiek aktīvāk un rezultātā barotne naktīs lēnāk atdziest. Aktīvākā fermentēšana novērota no jūlija vidus līdz septembra vidum. Septembra beigās var novērot fermentēšanās aktivitātes samazināšanos un pakāpenisku barotnes atdzišanu. Barotnes mitrums tika monitorēts un barotni laistīja pēc nepieciešamības. Barotnes mitrumu uzturēja robežās 65-75%.

9. HUMUSVIELU TESTĒŠANA

Pētījuma dalībnieki, lai novērtētu izdalīto skuju humusvielu efektivitātes pārbaudi, saņēma no Latvijas Valsts Mežiem viengadīgos 111 priežu stādus, ko piegādāja 4 kasetēs, kur katra stāda substrāta tilpums ir 100 mL. Lai netraumētu jaunos priežu stādus un nodrošinātu pētījumam nepieciešamos apstākļus, tos pārstādīja lielākos konteineros ar substrāta tilpumu 300 mL, pieberot klāt attiecīgo substrātu – ekstrahēto skuju substrātu vai kūdras/ perlīta kontroles substrātu. Kopumā izveidoja 8 kasetes pa 15 stādiem kasetē, no kurus iekārtoja pēc shēmas (skat. 7.12. tabulu).

Pēc plāna oktobra beigās veica stāda pieauguma pārmērīšanu. Patreizējie rezultāti norāda, ka skuju substrāta un humusvielu ieguves veidam (LU vai Silava) neuzrāda būtisku atšķirību ($\alpha > 1,000$) un vidējais stādu pieaugums (augusts – oktobris) ir 2,5% robežās, kas veido ~5-8mm. Tas skaidrojams ar to, ka augi monitorēšanas laikā vēl nav izmantojuši padotās barības vielas pieauguma veidošanā, augšanas sezonas nobeigumā. Kas sasaucas ar Silavas skujkoku pētnieka Dr.silv. Ā.Jansona pausto domu, ka lielāku egļu pieaugumu varēs novērot pavasarī, kad priedes “modīsies” jaunajam veģetācijas periodam un stādi būs uzsūkuši barības vielas “līdz galotnei”. Jāatzīmē, ka oktobrī veiktajā stādu monitorēšanas laikā priedēm tika identificētas dzeltenas apakšējās skuja, kas nozīmē, ka priedes nejutās veselās. Veicot darba grupas pārrunas (Silava un LU pētnieki), nosprieda, ka dotās humusvielu devas ir par lielu un ir būtiski samazināmas t.i. jāpalielina humusvielu atšķaidījums – 1:1000, ko plānots ieviest nākamajā sezonā (pavasarī) reizē ar jauno barības vielu padošanu.

Stādu un papildmēslojuma shēma

Kasetes Nr.	Substrāts	Humusvielu piebarošana	Papildmēslojuma					
			Uzmērīts	12.08.	08.09.	10.10.	5.04.	3.05.
				X		X		
1	Ekstrahētas skujas	Ekstrakts ar pelniem	X	X	X	X	X	
2	Ekstrahētas skujas	Sintētiskās humusvielas	X	X	X	X	X	
3	Ekstrahētas skujas	Kontrole – bez papildus piebarošanas						
4	Ekstrahētas skujas	Ekstrakts ar pelniem	X	X	X	X	X	
5	Ekstrahētas skujas	Sintētiskās humusvielas	X	X	X	X	X	
6	Kūdra + perlīts	Ekstrakts ar pelniem	X	X	X	X	X	
7	Kūdra + perlīts	Kontrole – bez papildus piebarošanas						
8	Kūdra + perlīts	Ekstrakts ar pelniem	X	X	X	X	X	

Katrā kasetē ievieša koordināšu sistēmu, lai katru stādu būtu iespējams precīzi identificēt – tos marķēja pēc rindu un kolonnas numuriem, norādot kasetē esošo 1-1 stādu, lai nesajauktu kasetes puses. Katru pārstādīto stādu nomērīja tā augstumu no kasetes augšas, izmantojot taisnstūra lineālu (7.20. att.).



7.20. att. Priežu stāda augstuma uzmērīšana

Pētījumā izdalītās humusvielas atšķaidīja līdz līdzīgam humusvielu koncentrācijai un ielēja vannītēs, lai substrāts to spētu uzsūkt un padot stādiem. Substrāta piesūcināšanu veica 24 h. Pēc tam vannītes noņēma un stādu kasetes novietoja Silavā zem līnijveida laistītāja. Stādiem substrāta padošanu, konsultējoties ar LVM un Silavas priežu selekcijas pētniekiem, tika nolemts veikt veģetācijas laikā 1x mēnesī (7.21. att.).



7.21. att. Substrātu piesūcināšana ar humusvielām un novietojums zem laistītāja

Priežu stādu augstuma mērījumus pārmērīja veģetācijas perioda beigās (oktobrī) (skat. 7.13. tabulu.).

Patreizējie pētījumi par ekstrahēto skuju izmantošanu kūdras substrāta vietā uzrāda labus rezultātus, jo egļu stādi pēc pārstādīšanas ir atguvušies un ieguvuši staltu “stāju”. Jāatzīmē, ka skuju substrāts labi drenējas un novada lieko mitrumu no auga kasetes.

7.13. tabula

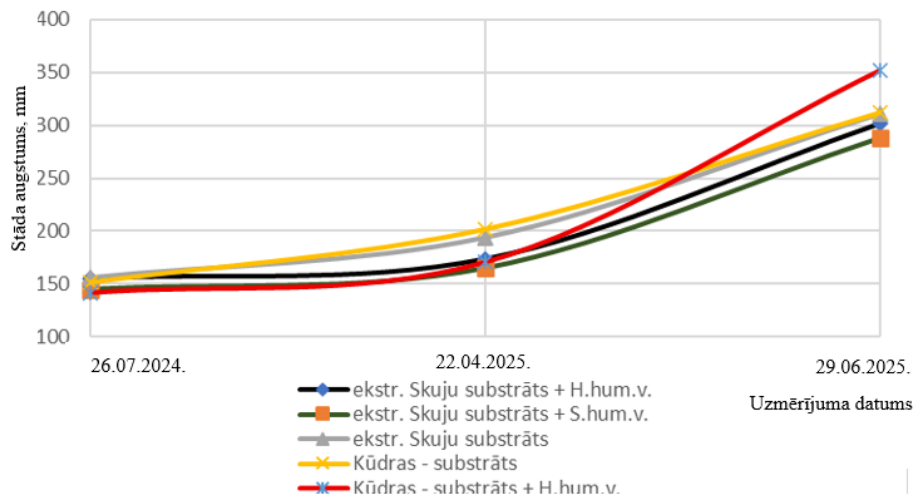
Humusvielu pārbaudes tests ar priežu stādiem

Substrāts	Pievienotās humusvielas	Relatīvais pieaugums % pret perioda sākumu		
		1-2	2-3	1-3
ekstr. Skuju substrāts	Ekstrakts ar pelniem	13.1	77.6	100.7
ekstr. Skuju substrāts	Sintētiskās	14.7	66.5	89.7
ekstr. Skuju substrāts	Kontrole, ūdens	25.9	61.5	102.0
Kūdras - substrāts	Ekstrakts ar pelniem	22.8	98.9	146.9
Kūdras - substrāts	Kontrole, ūdens	32.9	61.2	115.5

Kā redzams 7.13. tabulā, visi stādi, uzsākot testu ir pārcietuši pārstādīšanas stresu, jo sezonas beigās, kad uzstādīja pārbaudes testu, augu pieaugums veidojas samazināts, salīdzinot ar kontroli, ko veido kūdras substrātā pārstādītās priedes ar 1-2 perioda stādu relatīvo pieaugumu 32,9 %. Jāatzīmē, ka arī kūdras substrāts, ko papildus piebaroja ar skuju humusvielām, kas skalotas ar šķeldu kurtuvju pelniem un skuju substrātu kontroles pārbaudi veidojas būtiski zemāks relatīvais stādu pieaugums (~ 22 – 25%), taču vislielāko stresu ieguvuši stādi, kuri ir stādīti kasetēs ar nomainītu substrātu un vēl papildus pievienotām humusvielām. Šo stādu relatīvais pieaugums ir 13 – 14 %. Te gan jāatzīmē, ka 1 – 2 laika periodā koku stādus aplaistīja ar 10x koncentrētākām humusvielu atšķaidījumu, kas daļēji sabojāja kastēs augošos stādus, apdedzinot apakšējās skuju, kas var ietekmēt šo pārbaudes stādu turpmāko pārbaudes testa rezultātus.

2-3 periodā stādu pieaugums būtiski augstāks veidojas egļu stādiem, kas stādīti kūdras substrātā un papildus baroti ar humusvielām, kas ir skaloti ar kurtuvju pelnu šķīdumu (relatīvais stādu pieaugums periodā ir 98,9 %), turpretim, kūdras substrāta kontroles stādu relatīvais pieaugums ir 61 %, kas ir būtiski

zemāks. Šeit gan jāpiezīmē, ka kūdras substrāts, kam papildus pievienotas humusvielas, kas ekstrahētas ar pelnu šķīdumu ir devis vislielāko relatīvo stādu pieaugumu – 146% (skat. 7.22. att.). Ņemot vērā individuālo stādu pieauguma lielo izkliedi, nav statistiski būtiskas stādu pieauguma atšķirības starp pārējām stādu grupām, kas nozīmē, ka kūdras substrātu ir iespējams aizvietot ar ekstrahēto skuju substrātu, nezaudējot stādu pieaugumu.



7.22. att. Stādu augstuma pieaugums dažādos substrātos

Lai pārbaudītu humusvielu iedarbību uz stādu pieaugumu izveidoja papildus testu, kurā humusvielas testēja, pielietojot Latflora KSS-1 kūdras substrātu. Testu iekārtoja Silavas siltumnīcā, lai testi notiku kontrolētos apstākļos.

Iegūtie humusvielu pārbaudes testa rezultāti ir apkopoti 7.14. tabulā. Kā redzams 7.14. tabulā, vislielākais stādu relatīvais pieaugums ir kontroles (bez papildus barības vielu pievienošanas) un ekstrakta Nr. 2, kas ir statistiski būtiski, savukārt pārējie pārbaudes rezultāti būtiski neatšķiras. Iespējams, ka papildus barības vielas nav vēl nonākušas augu šūnu sistēmā, jo pārbaudi uzsāka, saistībā ar vēlu 2025. gada pavasara sezonu, 8. aprīlī.

Humusvielu pārbaudes tests

Kasetes Nr.	Substrāts	Papildus barības vielas	Vidējais relatīvais pieaugums, %	
			Vid.	Novirze
1	Kontrole, Skuju substrāts ar sēnēm	ūdens	130	48.4
2	Kūdra Latflora KKS-1	Ekstrakts Nr.1	155	84.6
3	Kūdra Latflora KKS-1	Ekstrakts Nr.2	172	84.2
4	Kūdra Latflora KKS-1	Ekstrakts Nr.3	100	32.9
5	Kūdra Latflora KKS-1	Ekstrakts Nr.4	113	50.3
6	Kūdra Latflora KKS-1	Ekstrakts Nr.5	131	44.3
10	Kūdra Latflora KKS-1	Ekstrakts Nr.7	149	61.1
7	Kūdra Latflora KKS-1	Sintētiskās HV	116	33.2
9	Kontrole; Kūdra Latflora KKS-1	ūdens	165	72.4

10.CIETĀS BIOMASAS SILTUMSPĒJAS NOTEIKŠANA

Lai izvērtētu ekstrahēto skuju piemērotību iespējamai granulēšanai un izplatīšanai tirgū ir nepieciešams noskaidrot bioresursa kvalitatīvos rādītājus – pelnainību un siltumspēju, kā arī piemērotību granulū ražošanai. Iegūtie dati ir salīdzināti ar meža šķeldu un rūpnieciski iegūto granulū kvalitātes rādītājiem – mitrumu, pelnainību un zemāko siltumspēju pie saņemtā mitruma (skat. 8.1. tabula).

8.1. tabula

Ekstrahētās skujas – cietais biokurināmais

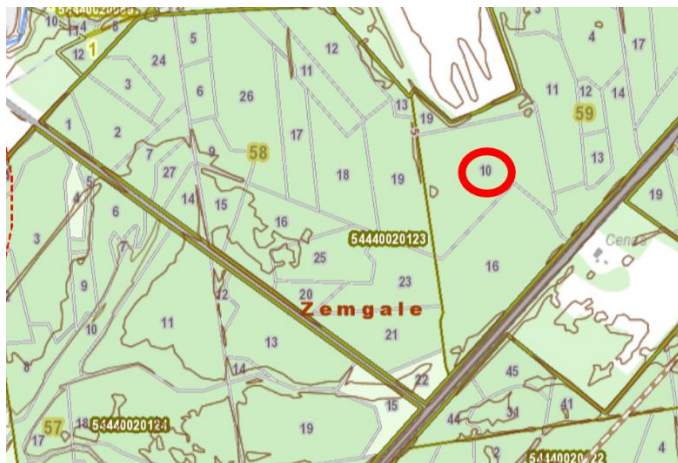
Nr.p.k.	Cietais biokurināmais	Mitrums, %	Pelni, %	Siltumspēja, kWh/kg
1	GABBY pellets 50% egle + 50% priede	6	<0,4	>4,9
2	GABBY pellets 100% egle	6	<0,4	>5,0
3	Ekstrahēto skuju granulas	10	15,0	4,0
4	Skuju šķeldas	12	14,5	4,2
5	Meža šķeldas I	47,5	2,2	2,3
6	Meža šķeldas II	45,5	1,1	2,5

Kā redzams tabulā, tad ekstrahētās skujas ir ar augstāku siltumspēju, ja salīdzina ar meža šķeldām, taču tā būtiski ir zemāka (20%), ja salīdzina ar skujkoku granulām (50% egle + 50% priede). Ja vēl tirgū var šādu cieto biokurināmo realizēt par 20% zemāku cenu (granulū lietotājam, būtu nepieciešams 20% vairāk telpu, lai uzkrātu identisku siltuma apjomu), tad būtiski paaugstinātais pelnu saturs egļu skuju granulās limitē tā realizāciju. Tas pats attiecināms arī uz neekstrahēto skuju pelnainību, ko izskaidro meža šķeldu iepircēju nevēlēšanās identificēt no mežu piegādēs skujkoku skujas. Te gan jāmin, ka neekstrahētas, nežāvētas skujas uzkrāt lielos apjomos, pavasara un vasaras mēnešos ir ugunsbīstami, jo ekstraktvielām noārdoties lielās kaudzēs, mazās skuju nobiras var strauji pašaizdegties. Šāds risks nav novērojams sausām vai ekstrahētajām skujām. No tirgus datiem iegūtā informācija liecina, ka cietā biokurināmā lietotājiem maksimālais pelnu saturs nedrīkst pārsniegt 5%, ko egļu skuju granulas

pārsniedz 3x. Tādēļ tagad var apgalvot, ka ekstrahētas egļu skuju masa nav piemērota cietā biokurināmā ražošanai.

11. REPELENTA IZVEIDE AR SKUJU VASKU

Pētnieki sagatavoja egļu vaska repelenta recepti, ko uzklāja pārbaudes laukā Ozolniekos (skat. 10.1. att.), kur vēsturiski ir paaugstināts smecernieku bojājumu risks.



a. parauglaukums

b. Stādu pārklāšana ar repelentu

10.1. att. Parauglaukums un stādu pārklāšana ar egļu skuju repelentu

Repelentu uzklāja uz iestādītiem priežu stādiem ar muguras, rokas smidzināmo iekārtu (10.1. b.). 2024. gada septembrī pētnieki veica stādījuma apsekojumus (skatīt 10.2. att.).



10.2. att. Dzīvs priežu stādiņš, kam noskalojies aizsardzības pārklājums

2024. gada rezultāti ir negatīvi:

1. Repelents ir “caurspīdīgs” un iespējams, tas ir nomazgājies, tādēļ mežsaimniecībā būtu nepieciešams veikt atkārtotu koku stādu aizsardzības līdzekļa uzklāšanu;

2. Kontroles (neaizsargātie) stādiņi nebija bojāti, kas nozīmē, ka stādījuma laukā smecernieku;
3. bojājumu nav un eksperiments ir jāatkārto citā koku stādījumā.

Lai attīstītu stādu repelenta uz egļu skuju vaska receptūras bāzes izveidi ir jāveic padziļināti pētījumi:

1. iekrāsojot vasku gaišā tonī;
2. modificējot vasku, lai tas saulē negradētos;
3. uzlabot egļu vaska polimerizēšanos.

KOPSAVILKUMS

Mūsdienās pieaug interese par mežsaimniecības blakusproduktu – tai skaitā egļu un priežu zaru, skuju un to pārstrādes atkritumu – izmantošanu augstas pievienotās vērtības produktu iegūšanā. Skuju biomasas potenciāls līdz šim netika pilnībā izmantots, lai gan vēsturiski skujas plaši izmantotas tautas medicīnā un dziedniecībā, īpaši pret iekaisumiem, infekcijām un elpceļu slimībām. Projektā identificēta būtiska problēma – līdz šim nav izstrādāta efektīva, ilgtspējīga un rūpnieciski pielāgojama metode bioloģiski aktīvo vielu iegūšanai no skužām un zaleņa (zariem ar skužām).

Pētījumā pierādīts, ka videi draudzīgi šķīdinātāji, piemēram, izopropanols, acetons, etilacetāts un dimetilkarbonāts, spēj nodrošināt augstu ekstrakcijas efektivitāti, vienlaikus būtiski samazinot toksiskumu un vides ietekmi. Šie šķīdinātāji veiksmīgi aizvieto tradicionāli izmantotos šķīdinātājus, piemēram, heksānu un dihlormetānu, un to pielietojums ir piemērots farmācijas, pārtikas un kosmētikas nozarēm. Rezultāti norāda uz lielu potenciālu to integrācijai rūpnieciskā mērogā, veicinot ilgtspējīgu biomasas pārstrādi un augstas pievienotās vērtības produktu izstrādi.

Šī projekta mērķis bija izpētīt un optimizēt dažādas videi draudzīgas ekstrakcijas metodes un šķīdinātājus egļu un priežu skuju un zaru pārstrādei, ar mērķi iegūt ekstraktus ar augstu bioloģisko aktivitāti, īpaši antioksidatīvām un antimikrobiālām īpašībām. Eksperimentālā daļā tika salīdzinātas vairākas ekstrakcijas metodes – maisīšana, karsēšana, ultraskaņas un Soksleta metode – kā arī izmantoti gan tradicionālie šķīdinātāji (metanols, etanols, izopropanols), gan zaļie šķīdinātāji (glicerīns un propilēnglikols), kas ir droši pārtikas, kosmētikas un farmācijas nozarēs.

Pētījuma rezultāti pierāda, ka karsēšanas metode ar glicerīnu vai propilēnglikolu pie 60 °C sešu stundu laikā nodrošina ievērojami augstāku ekstrakcijas iznākumu (līdz 60 %) salīdzinājumā ar tradicionālajām metodēm, un ir vispiemērotākā rūpnieciskai mērogošanai. Konstatēts, ka egļu skuju ekstrakti satur augstāku polifenolu koncentrāciju un bioloģisko aktivitāti nekā zaru ekstrakti, taču karsēšanas metode maina šo tendenci – tajā skuju un zaru ekstraktiem ir līdzīga vai pat augstāka aktivitāte zaru ekstraktos. Īpaši augsta antimikrobiālā aktivitāte tika novērota propilēnglikola ekstraktiem no priežu zariem pret Gram-pozitīvām baktērijām (*S. aureus*, MRSA), ar MIC vērtībām pat līdz 0.07 mg/mL.

Papildus tika veikti pirmie soļi atlikušās biomasas biokonversijas izpētei, tai skaitā ar sēņu (*Phlebiopsis gigantea*) kultūrām, kā arī veikta humusvielu sintēze no atlikuma. Šie rezultāti norāda uz pilna cikla biorafinēšanas iespējamību bez atlikuma, apvienojot ekstraktu iegūšanu ar pārpalikuma tālāku izmantošanu biohumusvielu vai sēņu audzēšanas substrāta ražošanā.

Šī pētījuma nozīmīgums izpaužas vairākos līmeņos: tas demonstrē skuju biomasas augsto potenciālu kā ilgtspējīgu izejvielu bioloģiski aktīvu vielu iegūšanai, piedāvā praktiski pielietojamu, energoefektīvu un videi draudzīgu ekstrakcijas metodi, kā arī atklāj jaunas iespējas biomasas bezatlikuma pārstrādei. Rezultāti ir īpaši nozīmīgi kosmētikas, pārtikas piedevu, fitoterapijas un augu izcelsmes preparātu ražotājiem, kuri meklē zaļākas alternatīvas sintētiskiem produktiem. Projekta

pieredze un iegūtās zināšanas kalpo kā pamats nākamajam attīstības solim – rūpnieciskai mērogošanai un produktu prototipu izstrādei).

SECINĀJUMI

1. **Egļu un priežu zaļās biomasas (skuju un zaru) potenciāls** tika apstiprināts kā vērtīgs izejmateriāls bioaktīvo vielu iegūšanai. Tika pierādīts, ka skuju sastāda lielāko daļu no zaleņa (~80 %), kas nodrošina augstu ekstrakcijas efektivitāti gan ķīmiskā, gan funkcionālā ziņā.
2. **Karsēšanas metode**, izmantojot videi draudzīgus šķīdinātājus (glicerīns un propilēnglikols), izrādījās visefektīvākā ekstrakcijas metode no testētajām (maisīšana, ultraskaņa). Metode nodrošināja augstāko ekstraktu iznākumu, kā arī polifenolu un antioksidatīvās aktivitātes rādītājus, īpaši 6–10 stundu ekstrakcijas laikā pie 60–80 °C temperatūras.
3. **Ultraskaņas metode** bija piemērotāka mazākam mērogam, tomēr nodrošināja salīdzinoši augstu ekstrakcijas efektivitāti īsā laikā un uzrādīja līdzīgus rezultātus kā maisīšana. Šī metode ir piemērota termojūtīgu savienojumu iegūšanai.
4. **Soksleta metode** nodrošināja visaugstākos ekstrakcijas iznākumus (līdz 15 reizēm vairāk nekā ar maisīšanu), taču tās pielietojums nav piemērots rūpnieciskai mērogošanai augsto izmaksu un sarežģītības dēļ.
5. **Dabai draudzīgie šķīdinātāji** kā izopropanols, acetons, etilacetāts un dimetilkarbonāts ir efektīvi un videi draudzīgāki šķīdinātāji, kas spēj aizvietot tradicionālos toksiskos šķīdinātājus, piemēram, heksānu un dihlormetānu, nezaudējot ekstrakcijas efektivitāti. To izmantošana nodrošina augstu ekstrakcijas iznākumu, zemu toksiskumu un iespēju šķīdinātāju pārstrādei, vienlaikus būtiski samazinot vides piesārņojumu. Šie rezultāti apliecina, ka zaļo šķīdinātāju izmantošana ir dzīvotspējīgs risinājums liela mēroga biorafinēšanas procesos.
6. **Atšķirības starp skujām un zariem** bija būtiskas – skuju saturēja ievērojami augstāku bioaktīvo savienojumu koncentrāciju nekā zari, savukārt priežu un egļu starpība bija mazāka. Tomēr zaru ekstrakti, īpaši no jaunajiem kokiem, parādīja labu potenciālu mikrobioloģiskai pārstrādei.
7. **Antimikrobiālā aktivitāte** tika pierādīta visos ekstraktos, īpaši propilēnglikola ekstraktos no priežu un egļu zariem, kuri efektīvi inhibēja gan Gram-pozitīvās (*S. aureus*, MRSA), gan Gram-negatīvās baktērijas un sēnītes (*Candida albicans*). MIC vērtības dažos gadījumos bija salīdzināmas ar tradicionālajiem antibiotiskiem līdzekļiem.
8. **Pēc-ekstrakcijas biomasas izmantojamība** tika apliecināta: iegūtais cietais atlikums bija piemērots bioloģiskai konversijai, piemēram, sēņu audzēšanai, humusvielu sintēzei un potenciāli arī kā alternatīvs substrāts mežsaimniecības vajadzībām.
9. **Sintētiski iegūtās humīnskābes**, kas tika ražotas no ekstrakcijas atlikuma, bija līdzīgas dabiskajām gan pēc funkcionālajām grupām (FTIR), gan optiskajām īpašībām (UV-VIS E₄/E₆). Tās potenciāli izmantojamas kā augsnes uzlabojoši vai biostimulējoši līdzekļi.

10. **Tehnoloģiskie risinājumi**, piemēram, fracionētāja izstrāde skuju atdalīšanai no zariem, IBC konteineru izmantošana fermentācijas procesa stabilizēšanai, kā arī biorafinēšanas prototipa definēšana, sniedz skaidru pamatu nākotnes rūpnieciskai tehnoloģiju attīstībai.
11. **Projekta rezultāti apliecina skujkoku biorafinēšanas iespējamo nozīmi bioekonomikā**, nodrošinot videi draudzīgu, efektīvu un daudzpusīgu risinājumu bioloģiski aktīvu vielu ieguvei un bioatkritumu pārstrādei augstas pievienotās vērtības produktos.
12. **Cietā biokurināmā ražošana**, izmantojot egļu skuju nav rekomendējama, jo skuju satur līdz pat 16% pelnu, kas nozīmīgi pārsniedz pieļaujamo (5%) pelnu saturu cietajā biokurināmajā. Egļu zaru koksni ir iespējams izmantot cietā biokurināmā ražošanā, ja zaru koksne ir atdalīta no skujām, tādēļ ir rekomendējama zaru koksnes apžāvēšana un skuju nobirdināšana, piemēram, izvibrējot.
13. **Sezonāla mainība** būtiski ietekmē gan fizikālos, gan ķīmiskos parametrus egļu skujās un zaros. Šie faktori jāņem vērā, plānojot izejvielu vākšanas periodus un izvēloties piemērotākās ekstrakcijas metodes. Tāpat šie dati sniedz būtisku pamatu tālākiem pētījumiem par ekstraktu optimizāciju atkarībā no vākšanas laika, piemēram, ja mērķis ir augsta antioksidatīvā aktivitāte vai augstāks ekstrakta iznākums. Zināšanu bāze ļauj attīstīt precīzākas biorafinēšanas stratēģijas, pielāgojot ekstrakcijas apstākļus sezonālajām izejvielām īpašībām.

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

PUBLICITĀTES NODROŠINĀŠANA

1. 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” (11.1. att.).



11.1. att. Publicitātes stenda referāts LBTU

2. 2023. gad 27. septembrī LU un Silavas pētnieki piedalījās Zinātnes nakts pasākumā, kur apmeklētājus informēja (Salaspils Botāniskajā dārzā, Salaspilī un LU laboratorijās, Rīgā) par projektā iegūtajiem rezultātiem un izlika informatīvus stenda plakātus (skat. pielikumu).
3. 2023. gada 27.septembrī. U.Grīnfelds iepazīstināja LBTU Meža fakultātes maģistrantus par LAD pētījuma projektu par skuju pārstrādes iespējām un iespējamo tehnoloģiju attīstību nākotnē (11.2. att.).

Šajā darba tikšanās daudzi pētnieki izrādīja padziļinātu interesi par iegūto stādu repelentu, ko veido egļu mizu ekstraktvielas. Pētnieki izteica, ka šādam repelentam ir potenciāla nākotne, jo, neskatoties uz neviennozīmīgiem sākotnējiem rezultātiem, egles satur vielas (tanīnus), kas atbaida priežu smecerniekus. Pētnieki izteica interesi sadarboties, lai attīstītu un pārbaudītu jauno repelentu arī savās valstīs (Čehija, Somija, Norvēģija, Zviedrija, Spānija un Slovākija).

5. Latvijas Universitātē ik gadu tiek rīkots zinātnes pasākums Vides akadēmija, kurā var piedalās visusskolēni no visām Latvijas skolām. Pasākuma mērķis ir vairāku nedēļas nogaļu garumā pastāstīt par to, kādi pētījumi tiek veikti universitātē, kāds ir mācību process un kādas inovatīvas lietas tiek izgudrotas, kas var veicināt tautsaimniecības attīstību. 2024. gadā LU doktorants Mārcis Mežulis un maģistrants Lauris Arbidans ir vairākas reizes uzņēmuši skolēnus un ārzemju zinātniekus laboratorijās un devušies pie studentiem uz auditorijām, lai pastāstītu par projekta mērķi un vēlamajiem rezultātiem (11.4. att.).



11.4. att. M. Mežulis stāsta, Vides akadēmijai par LAD projektu un projektā iegūstamajiem produktiem

6. 23.11.2024. tika rīkots seminārs meža īpašniekiem un LBTU studentiem par LAD projekta “Skuju zaļās biomasas pilna cikla pārstrāde augstvērtīgu izejvielu ķīmijas un farmācijas industrijai ieguvei” rezultātiem, apsekojot koku stādījumu pārbaudes stādījumu, kurā testē koku stādu aizsardzības līdzekli, kura sastāvā ir egļu skuju vasks (skat. 11.5. att.).



11.5. att. Meža īpašnieku un LBTU personāla iepazīstināšana ar LAD projektu 23.11.2024.

7. 2024. gada 17. decembrī radio SWH rīkotajā raidījumā Mežnīca viesojās LVMI "Silava" vadošais pētnieks Uldis Grīnfelds un LU pētnieks Lauris Arbidāns, lai sarunā ar žurnālistu Aināru Rutkēviču iepazīstinātu klausītājus ar LVMI "Silava" pētījuma Skuju zaļās biomasas pilna cikla pārstrāde augstvērtīgu izejvielu ķīmijas un farmācijas industrijai ieguvei īstenošanas gaitu. Raidījuma videoieraksts ir pieejams: <https://radioswh.lv/daba-un-turisms/lai-nesapust-meza-ka-skujas-parverst-deriga-resursa-skaidro-petnieki/> (skat. 11.6. att.).



11.6. att. U.Grīnfelds un L.Arbidāns iepazīstina SWH klausītājus ar LAD projekta rezultātiem 17.12.2024.

Projektā sagatavotas 3 zinātniskas publikācijas, dalība konferencēs ar 8 ziņojumiem, dalība 2 starptautiskajos pasākumos, iegūtie dati tika izmantoti viena maģistra darba izstrādē, kas tika izstāvēts 2025 gadā un 1 doktora disertācijas darbā, kas vēl tiks papildināts un aizstāvēts nākotnē.

1. Mezulis, M.; Arbidans, L.; Nikolajeva, V.; Lauberts, M.; Grinfelds, U. Klavins, M. Environmentally Friendly Extraction of Bioactive Compounds from Spruce and Pine Needles to Obtain Extracts with Antioxidant and Antimicrobial Activity. *Environmental and Climate Technologies*, 29, 184–200. <https://doi.org/10.2478/rtuct-2025-0013>
2. Mezulis, M.; Arbidans, L.; Millere, L. L.; Lauberts, M.; Grinfelds, U.; Klavins, M. Green Chemistry Approaches for Processing of Coniferous Needles and Greenery to Implement Circular Bioeconomy Concepts in Forestry. *Environmental and Climate Technologies*, 29, 97–113. <https://doi.org/10.2478/rtuct-2025-0007>
3. Arbidans, L.; Mezulis, M.; Dobkevica, L.; Antuzevics, A; Klavins, M. Hydrothermal Humification of Extracted Spruce Greenery Biomass as a Tool for End-of-Waste Approach for Production of Artificial Humic Substances. *Environmental and Climate Technologies*. (Iesniegts publicēšanai)
4. Mezulis, M.; Nikolajeva, V. Arbidans, L.; Klavins, M.; Grinfelds, U.; Lauberts, M. Sustainable Extraction of Bioactive Compounds from Spruce and Pine Greenery: Antioxidant and Antimicrobial Potential. *CONNECT 2025* (Latvija, Rīga). (Mutiska prezentācija) <https://doi.org/10.7250/CONNECT.2025.037>
5. Arbidans, L.; Mezulis, M.; Grinfelds, U.; Klavins, M. Hydrothermal Humification of Spruce Greenery as an Environmentally Friendly Tool for Production of Synthetic Humic Substances and Evaluation of Reaction Dynamics. *CONNECT 2025* (Latvija, Rīga). (Mutiska prezentācija) <https://doi.org/10.7250/CONNECT.2025.038>
6. Arbidans, L.; Mezulis, M.; Grinfelds, U.; Klavins, M. Hydrothermal Humification of Spruce Greenery as an Environmentally Friendly Tool for Production of Synthetic Humic Substances. 83rd International Scientific Conference of the University of Latvia Medicine and Life Sciences, Chemistry, Riga, 2025 (Latvija, Rīga). (Stenda ziņojums)
7. Mezulis, M.; Arbidans, L.; Klavins, M.; Lauberts, M.; Grinfelds, U. Green Chemistry-Based Processing of Spruce Greenery for Sustainable Industrial Use. 83rd International Scientific Conference of the University of Latvia Medicine and Life Sciences, Chemistry, Riga, 2025. (Mutiska prezentācija)
8. Mezulis, M.; Millere, L. L.; Arbidans, L.; Klavins, M.; Grinfelds, U.; Lauberts, M. Environmentally Friendly Processing of Forestry Biomass Side Streams – Coniferous Needles and Greenery. *CONNECT 2024*. (Mutiska prezentācija) <https://doi.org/10.7250/CONNECT.2024.062>
9. Mezulis, M.; Arbidans, L.; Millere, L. L.; Grinfelds, U.; Jansons, A.; Spade, M.; Lauberts, M. Development of green chemistry biorefinery methods for the production of high-value products from Norway spruce greenery. *Konference Latvijas Valsts mežzinātnes institūts “Silava”*. (Stenda ziņojums)

10. Arbidans, L.; Mezulis, M. Hydrothermal Humification of Spruce Greenery Biomass as a Tool for the Production of Synthetic Humic Substances. 14th Annual International Scientific Conference EcoTech 2024 (Latvija, Jelgava). (Mutiska prezentācija)
11. Grinfelds, U.; Spade, M.; Jansons, A.; Ozolins, K.; Mezulis, M.; Arbidans, L. Skuju Zaļās Biomasas Pilna Cikla Pārstrāde Augstvērtīgu Izejvielu Ķīmijas un Farmācijas Industrijai Ieguvei. Latvijas Mežu Sertifikācijas Padomes 8. Starptautiskā Konference: Izmaiņas un Risinājumi Vides Politikā Ilgspējīgai, Klimatneitrālai Ekonomikas Attīstībai (Latvija, Jelgava). (Stenda ziņojums)
12. Mezulis, M. EU CAP Network workshop “Circular bioeconomy - valorisation of forest by-products”. 25-27.03.2025 (Somija, Kouvola)
13. Mezulis, M. Circagile spring school 18-20.03.2024 (Somija, Helsinki un Lahtis)
14. Arbidans, L. Egļu zaleņa biomasas atkritumu valorizācija, izmantojot hidrotermālu humifikāciju kā rīku sintētisku humusvielu ieguvei. Maģistra darbs aizstāvēts Latvijas Universitātes Medicīnas un dzīvības zinātņu fakultātē, ķīmijas nodaļā 2025.
15. Mezulis, M. Zaļās ķīmijas pielietojums aprites ekonomikas ieviešanai mežsaimniecībā: skujkoku skuju pārstrāde pievienotās vērtības produktos. Dati iegūti doktora disertācijai, kas nākotnē tiks aizstāvēts Latvijas Universitātes Eksakto zinātņu un tehnoloģiju fakultātes Vides zinātnes nodaļā.

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 450138,75 EUR, no tiem publiskais finansējums 405124,86 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

NACIONĀLAIS
ATTĪSTĪBAS
PLĀNS 2020



EIROPAS SAVIENĪBA
EIROPA INVESTĒ LAUKU APVIDOS
Eiropas Lauksaimniecības fonds
lauku attīstībai

Atbalsta Zemkopības ministrija un Lauku atbalsta dienests