

Latvijas Valsts Koksnes ķīmijas institūta pieredze aļģu biomasas izmantošanas izpētē

Oskars Bikovens, Dr.chem.
LV Koksnes ķīmijas institūts

LV KĶI bioekonomikas grants.

RPR “Aļģu biomasas izmantošanas iespēju analīze Rīgas plānošanas reģiona piekrastē” (SMR).

Kāpēc LVKĶI nodarbojas ar aļģēm?

- Viedās specializācijas stratēģija (RIS3) - Latvijā ir definētas 5 viedās specializācijas jomas. Pirmā joma - Zināšanu ietilpīga bioekonomika.

https://www.izm.gov.lv/images/zinatne/RIS3_BIOEKONOMIKA.pdf

«Latvijas Bioekonomikas stratēģija 2030» Zemkopības Ministrija (2017).

- *Latvijas bioekonomikas stratēģija nosaka, ka nepieciešams pārdomātā veida izmantot pieejamos dabas resursus, tostarp jūras aļģes, kas pašlaik ir viens no nepilnīgi izmantotajiem dabas resursiem.*
- **Aļģu biomasa nekonkurē ar pārtikas vai šķiedru sektoru**

Ievads

- Latvijā ik gadu tiek izskalots tūkstošiem tonnu jūras aļģu. Gan viengadīgas, gan daudzgadīgas sārtaļģes (piem., furcelārijas), brūnaļģes (pūšļu fuks), zaļaļģes (kladoforas).
- Atpūtas vietās peldēšanas sezonas laikā ir JĀSAVĀC izskalošanās aļģes (ES direktīva 2006/7/EC).
- Izskalotas aļģes var radīt **problēmas** – nepatīkama smaka, eitrofikācija, nevēlamā sukcesija.



Table 1. Total biomass of the algal communities in the southern Gulf of Riga (wet weight) according to Kalnozols (1973)

Location	Area, km ²	Mean coverage, %	Biomass, kg/m ²	Total biomass, t
Roja	0.23	60	1.284	295.3
Kaltene	1.65	70	1.820	3 003.0
Upesgrīva	2.76	40	0.720	1 987.1
Mērsrags	4.56	40	1.672	7 624.3
Engure	14.95	50	1.252	18 717.4
Ragaciems	0.38	60	1.584	598.8
Bigaunciems	1.05	50	1.030	1 081.5
Kaugurciems	4.18	60	1.154	4 825.4
Ainaži	3.15	30	0.918	2 891.7
Kuiviži	17.50	15	0.111	1 942.5
Salacgrīva	19.20	50	1.200	22 980.0
Vitrupe	3.20	30	0.780	2 496.0
Kutkajurags	1.44	15	0.201	289.4
Kurmpags	7.20	50	1.780	12 816.0
Latchi	2.34	30	0.738	1 726.9
Sculte	2.10	50	1.070	2 247.0
Saulkrasti	1.20	30	0.624	748.8
Total	87.09			86 271.1

Table 2. Biomass of some species of bottom vegetation in the southern Gulf of Riga according to Kalnozols (1973)

Location	Species						Total
	<i>Fucus vesiculosus</i>	<i>Fucellaria lumbricalis</i>	<i>Cladophora</i> sp.	<i>Ceramium</i> sp.	<i>Polysiphonia</i> sp.	Other	
Roja	276.0	2.8	11.0	5.5			295.3
Kaltene	2 772.0	46.2	115.5	69.3			3 003.0
Upesgrīva	1 766.4	66.2	88.3	66.2			1 987.1
Mērsrags	7 296.0	73.0	109.4	145.9			7 624.3
Engure	17 940.0	149.5	299.0	299.0	14.9	15.0	18 717.4
Ragaciems	544.3		9.1	45.4			598.8
Bigaunciems	1 050.0		10.5	21.0			1 081.5
Kaugurciems	4 012.8	200.6	301.0	301.0	10.0		4 825.4
Ainaži	2 646.0	189.0	18.9	37.8			2 891.7
Kuiviži	1 575.0	210.0	52.5	105.0			1 942.5
Salacgrīva	19 200.0	1 920.0	708.0	1 152.0			22 980.0
Vitrupe	2 304.0		115.2	76.8			2 496.0
Kutkajurags	259.2		25.9	4.3			289.4
Kurmpags	11 520.0	1 008.0	144.0	144.0			12 816.0
Latchi	1 684.8		28.1	14.0			1 726.9
Sculte	2 100.0	8.4	42.0	84.0	4.2	8.4	2 247.0
Saulkrasti	720.0	7.2	7.2	14.4			748.8
Total, t	77 666.5	3 880.9	2 085.6	2 585.6	29.1	23.4	86 271.1
%	90.01	4.50	2.43	3.00	0.03	0.03	100.00

- «In coastal regions of Estonia, the summary wet biomass of this seaweed exceeds 500 thousand tonnes» (!) Truus K., *et al.* (2001) Proc. Estonian Acad. Sci. Chem., 50, 2, 95–103.



Biedrības «Baltijas krasti» pētījumi

- Izskaloto aļģu sanesumu izkliede piekrastē ļoti nevienmērīga un grūti prognozējama. Sastāvs un apjomi atkarīgi no gadalaika, valdošo vēju stipruma un virziena.
- Izskaloto makroaļģu apjomi svarstās no $>200 \text{ m}^3/100 \text{ m}$ līdz $0,002 \text{ m}^3/100 \text{ m}$.

Maija Balode & Solvita Strāķe «*JŪRAS AĻĢU SANESUMU IZVĒRTĒŠANA LATVIJAS PIEKRASTĒ*». Seminārs “Jūras aļģu sanesumu izvērtēšana un apsaimniekošanas plāna izstrādes rezultāti Latvijas piekrastē, saimnieciskā darbība un vides aizsardzība” 02.11.2018, Lapmežciems.

Aļģu izmantošana

- Jūras aļģu ražošana 31,2 mlj t, no kurām 30,1 mlj t tiek audzētas akvakultūras (FAO 2018). Vislielākie audzetāji Ķīna, Indonēzija, Filipīnas.
- Galvenie patērētāji Āzijas valstis, taču aļģu popularitāte pieaug arī Eiropā un Z-Amerikā. Plaši lieto pārtikā, dzīvnieku barošanā, lauksaimniecībā, kosmētikā, uc. Piem. wakame (*Undaria pinatifida*), kombu (*Saccharina japonica*), nori, suši...



Aļģu izmantošana lauksaimniecībā

+ Dabīgs mēslošanas līdzeklis (līdz 20 un vairāk t/h).
Satur N, P, K, mikroelementus.

- Ne vienmēr iespējama tūlītēja pielietošana.
Problemātiska glabāšana.

ANO Pārtikas un lauksaimniecības organizācija iesaka izskalotas *Fucus* ģints brūnaļģes izžāvēt, samalt un izmantot kā augsnes mēslošanas un ielabošanas līdzekli.
FAO (2003) *A guide to the seaweed industry*. Rome.



Alternatīva. Kompostēšana.

Kompostēšana ir aerobs, eksotermisks process, kurā jaukta mikroorganismu asociācija pārstrādā organiskos atkritumus (piem., aļģes) līdz humificētam galaproduktam – kompostam un mineralvielām.

- iespējamie riski – sāļums, smiltis, smago metālu saturs.

- Komposts – Organiskais augsnes aizvietotais. Substrāts.
MK noteikumi 506. Mēslošanas līdzekļu un substrātu identifikācijas, kvalitātes atbilstības novērtēšanas un tirdzniecības noteikumi.
- Latvijā 2017. gadā ievesto un saražoto substrātu apjoms bija 71 348 m³, tajā skaitā Latvijā saražoto substrātu apjoms bija 79% no kopējā apjoma. Salīdzinājumā ar 2016. gadu Latvijā ievesto substrātu apjoms 2017. gadā palielinājies vairāk nekā trīs reizes.

Latvijas lauksaimniecība 2018. LR ZM.

Hidrocoloīdu ražošana (I)

- Hidrocoloīdi. Pārtikas piedeva - stabilizētāji. E400-E405 algināti, E406 agars, E407 karagināns, E408 furcellarāns. Pievieno saldējumam, sieriem, salātu mērcēm utt (PVD)
- Hidrocoloīdu pārdošanas apjomi pasaulē 2015.g. sastādīja 93 tk t.*
 - * - pārtikas un farmācijas kvalitātes.

Hidrocoloīdu ražošana (II)

- Igaunijas pieredze. Est-Agar AS. 2016. g. Vormsi Agar Investeeringute OÜ.
- Agara ražošana «Nakotnē», Glūda, Dobeles rajonā slēgta 90. gadu sākumā. Cēloņi – ekonomiskie, ekoloģiskie. Tankeru avārijas 1979.g. Ventspils «Antonio Gramshi», 1981. g. Klaipēda «Globe Asime». No 1978. līdz 1990. furcelāriju daudzums samazinājās no 84 tk t līdz 15 tk t.

Korolev A. & Fetter M. (2004).



Hidrocoloīdu ražošana (III)

- Alginātu ražo no brūnaļģēm (*Laminaria* spp., *Saccharina* spp., *Lessonia* spp.). Lielākie alginātu ražotāji pasaulē – Ķīna (31,8 tk t no 46,3 tk t), Norvēģija, Francija.
- Alginātu kvalitāti nosaka guluronskābes saturs (High G). Ķīna ražo «Low G». Algināta saturs rūpnieciski izmantojamās aļģēs 12-45%. Pūšļa fukā alginātu saturs var svārstīties no 8 līdz 24% robežās (Obluchinskaya *et al.*, (2002) *Appl. Biochem. Microbiol.* 38(2): 186-188).
- Algināti - 14 USD/kg, agars - 17 USD/kg, karagināns - 9 USD/kg
Porse H. & Rudolph B. (2017) *J. Appl. Phycol.* 29(5): 2187-2200.

Bioloģiski aktīvi savienojumi (I)

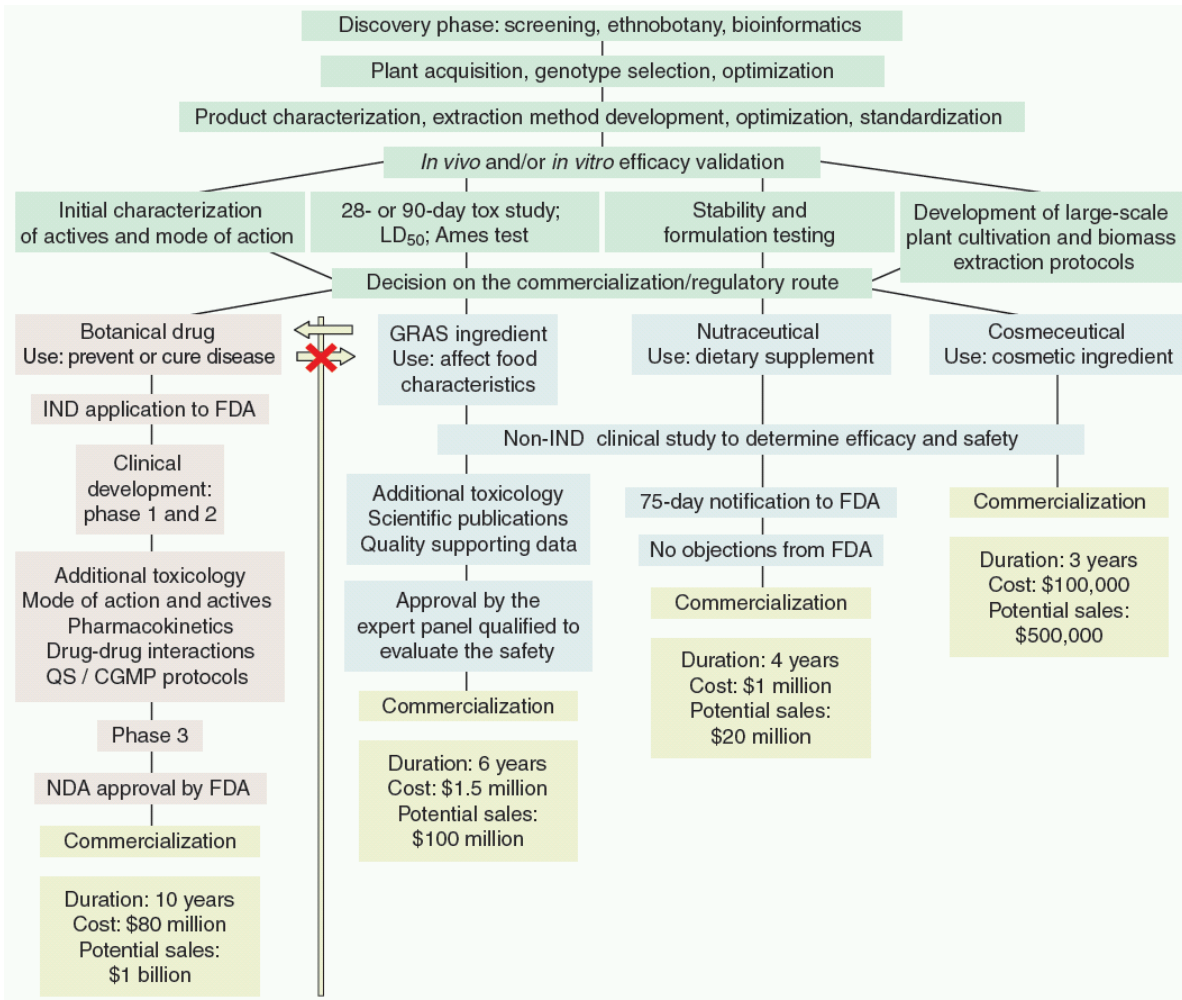
- Ļoti plaša produktu grupa. > 30 tk individuālo savienojumu (The Dictionary of Marine Natural Products). Maztonnāžas nišas produkti ar augstu pievienotu vērtību. Pielietojami kosmētikā, farmācijā, ķīmiskā ražošanā.
- Fukoidāns – sulfurētais polisaharīds ar antikoagulanta, antitrombiskām, pretiekaisuma, antivirālām uc. īpašībām.

500 mg >95% fukoidana no *Fucus vesiculosus* – 192 EUR, Sigma Aldrich.

Kosmētika

- Biežāk izmantotie aļģu ekstrakti ir fikokoloīdi (hidrokoloīdi), UV protektori, antioksidanti un vielas ar pretiekaisuma efektu (Ariede M.B., *et al.*, 2017, *Algal Res.*).
- Pretgrumbu kosmētika ar pūšļa fuka ekstraktu.
- Kosmētikā var izmantot arī Rīgas līcī bieži sastopamās aļģes kladaforas (*Cladophora glomerata*) ekstraktus (Fabrowska *et al.*, 2017)

Komericializācija



Kosmētika. No pētījumu fāzes līdz komericializācijai 3 gadi, izmaksas 100 tk USD, potenciālie pārdošanas apjomi 500 tk USD.

Schmidt, B.M. (2007)
Nature Chem. Biol. 3(7):
360-366

Veiktie pētījumi

1. Izskalotot aļģu vakšana un raksturošana;
2. Aļģu izmantošana lauksaimniecībā;
3. Aļģu kompostēšana;
4. Pūšļa fuksa ekstrakcija;
5. Jauni produkti.

Izskalotot aļģu savākšana un raksturošana

- Tika apsekotas Saulkrastu, Carnikavas, Jūrmalas un Engures novada pludmales 2018. gadā.



Izskalotot aļģu savākšana un raksturošana



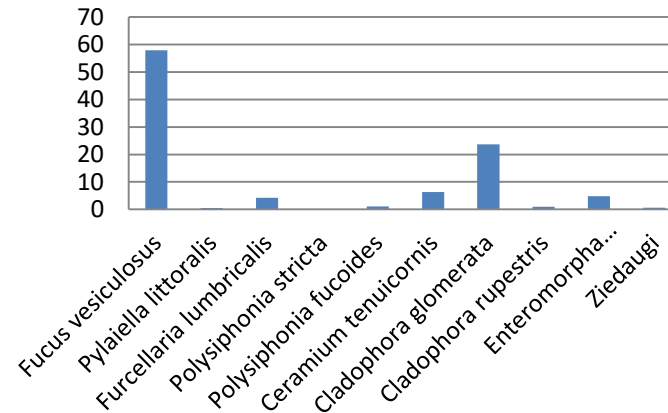
Jūras zāļu vācējs «Surf Race», Engures novads Lapmežciems

Botāniskais sastāvs

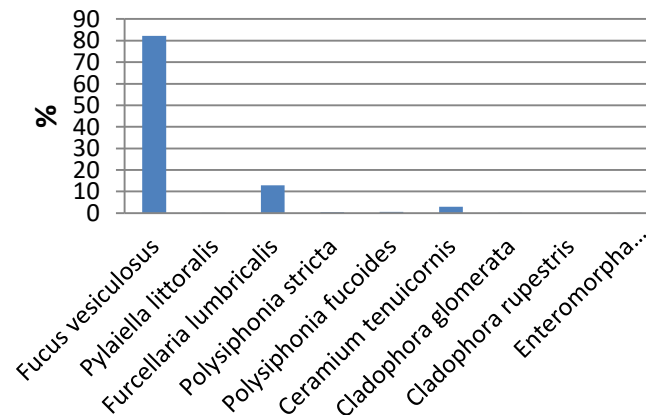
Tika identificētas 9 makroaļģu sugas.

- Brūnaļģes:
 - *Fucus vesiculosus*
 - *Pylaiella littoralis*
- Sārtaļģes:
 - *Furcellaria lumbricalis*
 - *Polysiphonia stricta*
 - *Polysiphonia fucoides*
 - *Ceramium tenuicornis*
- Zaļaļģes:
 - *Cladophora glomerata*
 - *Cladophora rupestris*
 - *Enteromorpha prolifera*

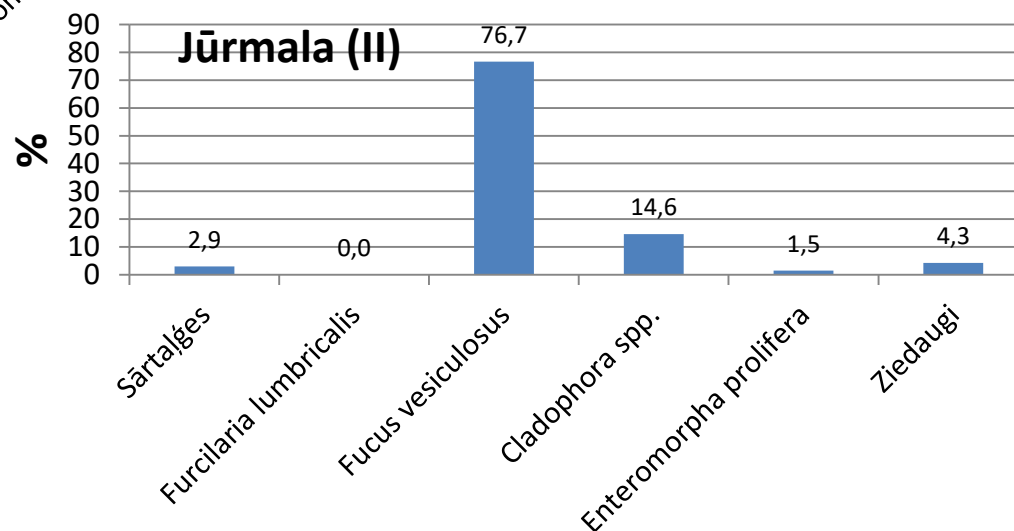
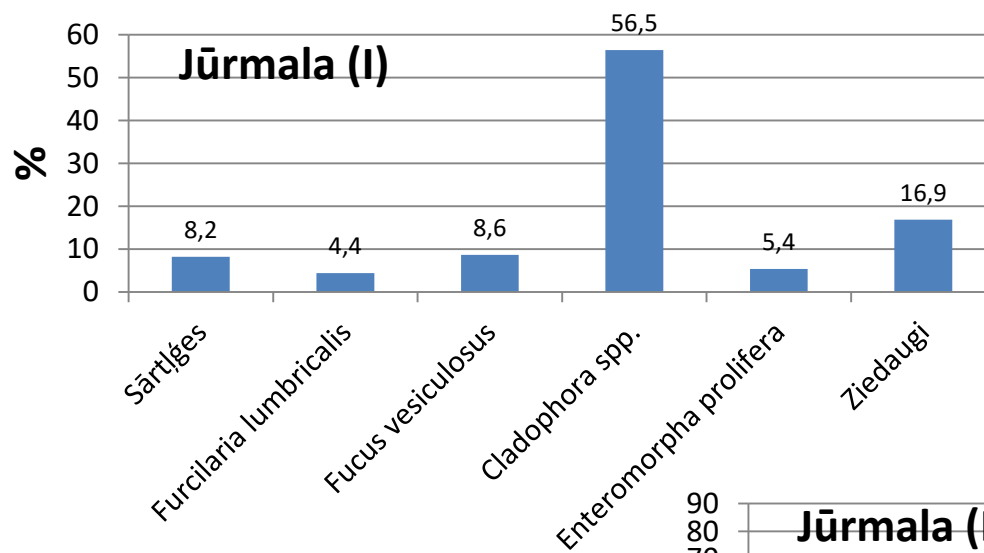
Saulkrasti



Lapmežciems



Botāniskais sastāvs



Izejvielu raksturošana

Paraugs	Beramais svars, kg/m ³	Pelnu (smilts) saturs, %	Elektrovadītspēja, mS/cm
Jūrmalas brūnaļģes	92	72	5,5
Jūrmalas zaļaļģes	343	66	8,5

Smilšu saturs sasniedza līdz pat 79% no sausnas.

Lietojot speciālo tehniku smilšu saturs mazāks - 65%.

Savukārt mazgātajās kladaforās pelnu saturs 25%, bet pūšļa fuka 17%.

Izskaloto aļģu elementu sastavs, (% no sausas)

Paraugs	K, %	P, %	N, %	C, %	S, %	C/N
Jūrmalas brūnaļģes	2,36	0,16	1,65	38,2	3,0	23
Jūrmalas zaļāļģes	0,70	0,06	2,53	35,2	3,2	14

Smago metālu saturs (mg/kg, no sausas)

Paraugs	Zn, mg/kg	Cu, mg/kg	Pb, mg/kg	Cd, mg/kg	Hg, mg/kg
Jūrmalas brūnaļģes	8,2	7,8	0,5	0,3	0,007
Jūrmalas zaļāļģes	11,5	8,9	1,0	0,3	0,008
Nopļautā zāle	9,8	11,4	0,6	0,3	0,006
Maksimāli* pieļaujamā koncentrācija.	300	100	100	2	1

* - atbilstoši MK 506. 3. Pielikumam "Nevēlamo piemaisījumu maksimāli pieļaujamā koncentrācija mēslošanas līdzeklī un substrātā"

Žāvēta pūšļa fuka izmantošana mēslošanai

- Žāvēts pūšļa fuks neuzrāda nekādu inhibējošo ietekmi uz miežu graudu dīgšanu.
- Pievienojot pūšļa fuku koncentrācijās no 1,7 līdz 5,1 t/ha palielinās mieža graudu kopējais sakņu garums, sakņu atzarojuma vietu skaits un sakņa galiņu skaits.



Ūdens ekstraktu izmantošanas iespēju izvērtējums

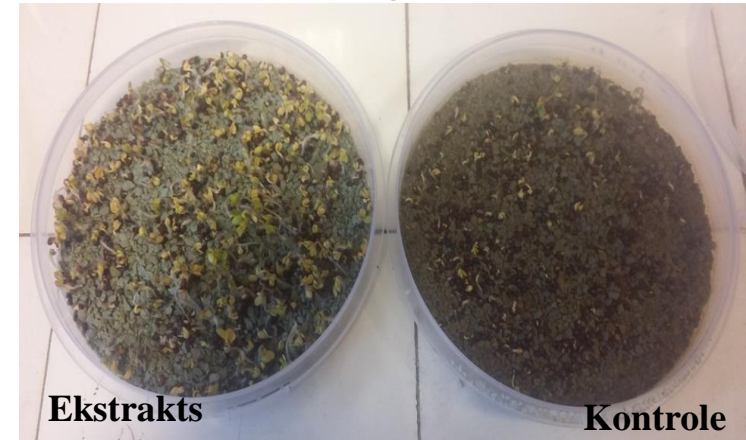
Aļģu ūdens (2 g/L) ekstrakta ietekme uz zirņu dīgšanu un sakņu sistēmas augšanu un attīstību.

Dīgšanas laiks -6 dienas

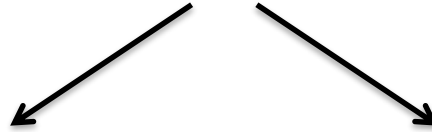


Aļģu ūdens ekstrakta ietekme uz salātu sēklu dīgšanu.

Dīgšanas laiks -5 dienas



- Aļģu ekstrakts labvēlīgi ietekmē zirņu un salātu sēklu dīgšanu, un var tikt izmantots kā biostimulators lauksaimniecības nolūkos, kas veicinās augu augšanas un attīstības procesus.



Aļģu kompostēšana

- Tika sastādītas 6 komposta kompozīcijas
 - Aļģes;
 - Aļģes (atsevišķi zaļāļģes un brūnāļģes) un zāģskaidas;
 - Aļģes un zāle;
 - Aļģes (atsevišķi zaļāļģes un brūnāļģes), zāģskaidas un zāle.

Visām kaudzem tika pievienots speciāli pagatavots sējmateriāls.

Zariņa, D. and Utinans, F. Latvijas patents No 13022, 20.09.2003.

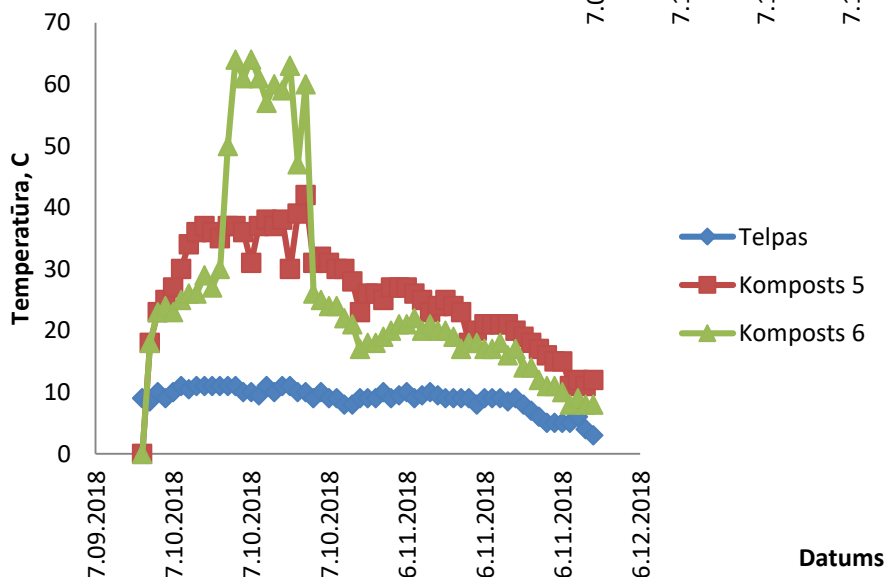
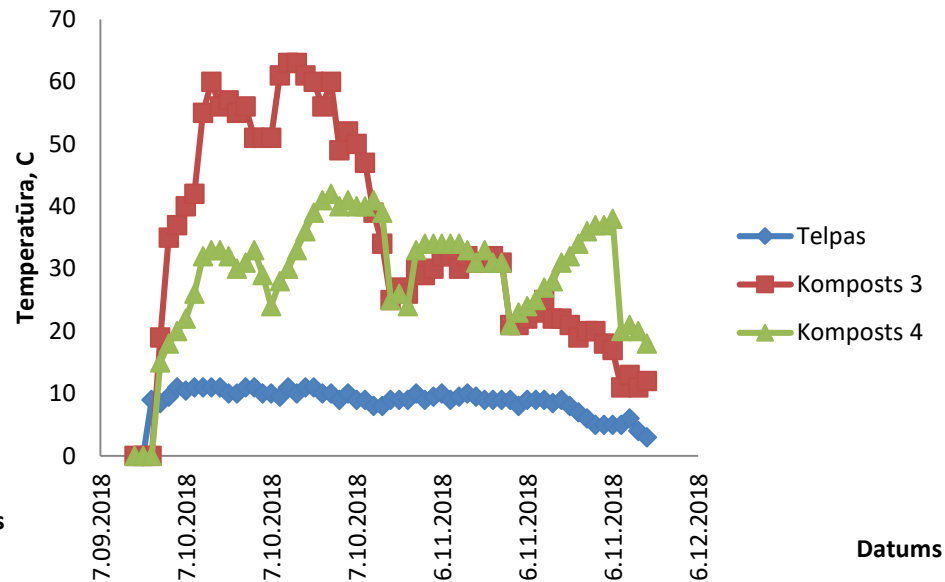
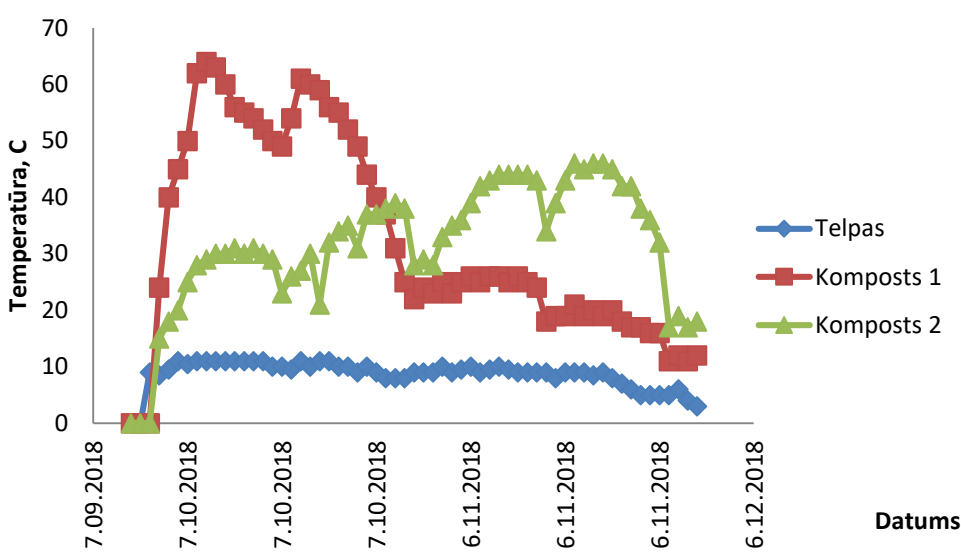
Kompostešana



SIA «Zeltābele»
Jaunauces pagasts,
Saldus novads

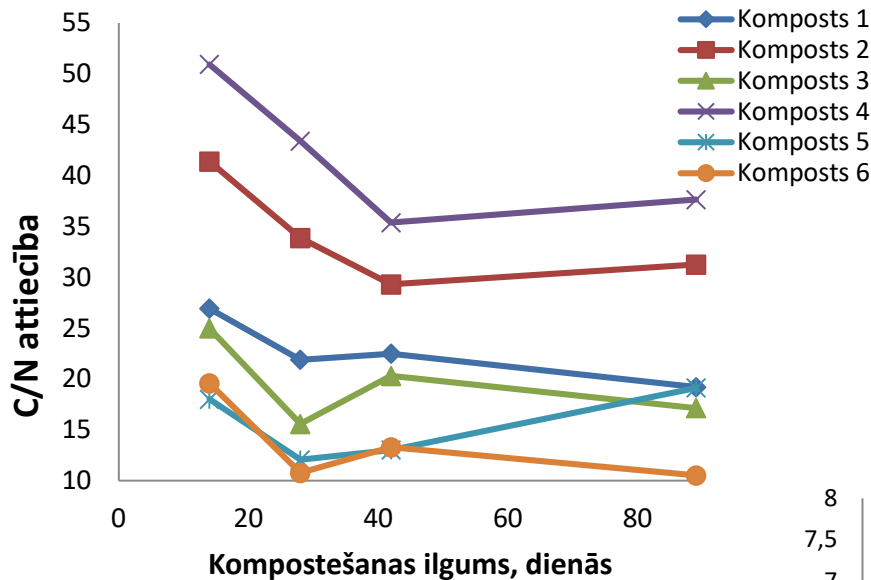


Temperatūra komposta kaudzes

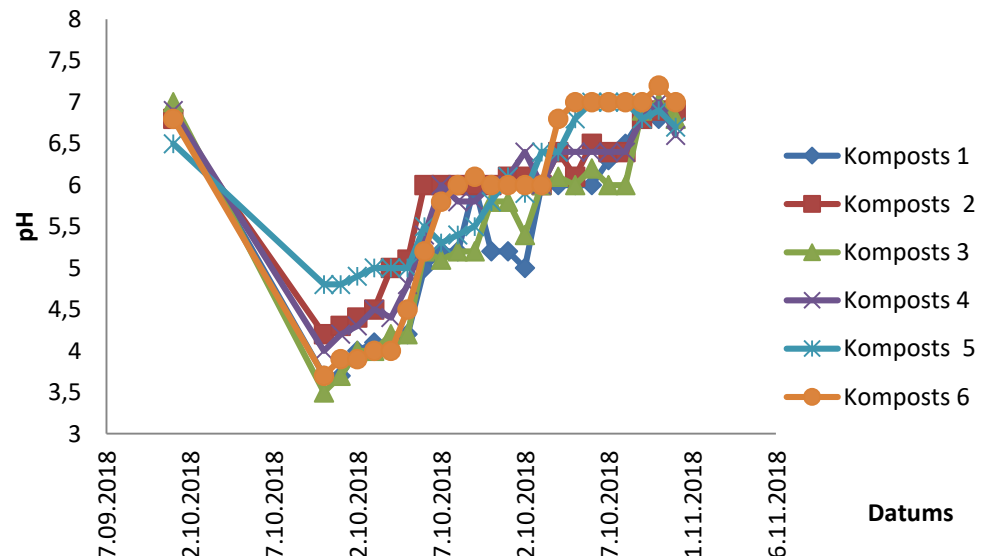


Datums

C/N un pH vērtību izmaiņa kompostēšanas laikā



Real decreto 824/2005 max C/N attiecība zāles kompostam 20.



Kompostu ķīmiskais sastāvs

- Kompostu pelnu saturs no 53 līdz 84% (EK regula 2006/799/EK nosaka min organikas saturu 20%).
- Smago metālu saturs visos kompostos atbilst MK 506 noteikumu prasībām.
- Visi komposti atbilst mikrobioloģiskām parbaudēm uz *E.coli* un *Enterococci*.
- Kompostešanas laikā sadalās lielākā daļa neitrālo cukuru un daļa uronskābju. Zāles lignīns transformējās par humusvielām.
- Kompostos, kas satur zāli un zāgskaidas notiek intensīvāka humifikācija.
- Vislabvēlīgāko efektu uz miežu un gurķu sakņu sistēmas attīstību uzrādīja komposts Nr 3 (zaļajļģes + zāle + zāgskaidas).

Aļģu ekstrakcija

- Pūšļa fuks satur mineralvielas, vitamīnus, bioloģiski aktīvus zemmolekulāros savienojumus un polisaharīdus. Pārtikas un Veterināra dienesta uztura bagātinātāju reģistra ir vairāki produkti ar pūšļa fuka ekstraktu. Piemēram, MASTOFIT “Evalar”[®], Vodorosli dolgoletija /Fukuss, SLIM TRIO, XYNG[™] uc. (<https://registri.pvd.gov.lv/ub>). Neskatoties uz bioloģiski aktīvu savienojumu klātbūtni pūšļu fukā pagaidām zāļu reģistrā nav reģistrēti medikamenti no pūšļu fuka.

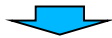
Aļģu ekstrakcija

Ekstrakcija ar heksānu



Ekstrakcija ar
etilacetātu

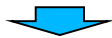
→ *Antioksidanti*



Ekstrakcija ar
etanolu

→ *Florotanīni*

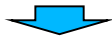
(A)



Ekstrakcija ar
CaCl₂ šķīdumu

→ *Fukoidāns*

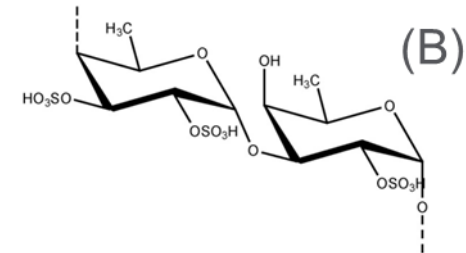
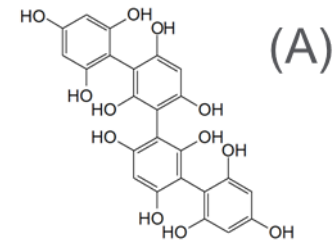
(B)



Izekstrahēts atlikums → ? *Mēslojums*



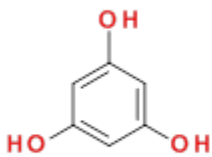
? Algināti



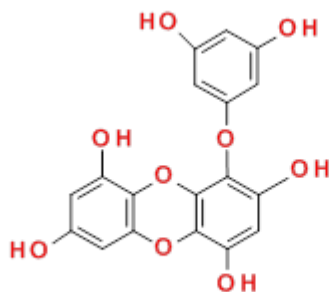
Aļģu ekstrakcija

Ekstrahents	“Pilnā” ekstrakcija Iznākums, %*	“Saīsinātā” ekstrakcija Iznākums, %
Heksāns	0,9±0,2	-
Etilacetāts	3,1±0,1	-
85% etanols	7,3±0,4	6,8±0.5
2 % CaCl ₂	10,1±0,2	9,8±0.3

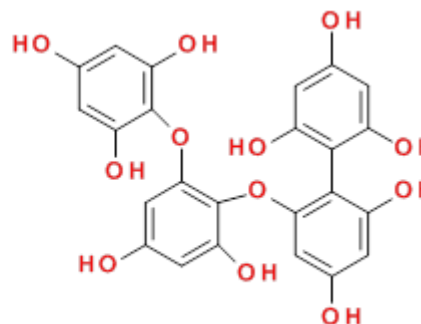
Etanola ekstrakts satur polifenolus 222 GSE/g, tajā skaitā florotanīnus – floroglicīnu (1), ekolu (2), fukodifloroetolu (3) un oligomērus.



1



2



3

Aļģu ekstrakcija

- Izmantojot dialīzes membrānas no CaCl_2 šķīduma izdalīts fukoidāns ar iznākumu 7%.
- Salīdzinot ar standartu iegūtais fukoidāns satur piemaisījumus (līdz $\sim 10\%$).

Aļģu ekstrakcija

- No izekstrahētā pūšļa fuksa atlikuma var iegūt alginātu ar iznākumu 8%. Tas sastāda ~50% no noteiktā uronskābju satura pūšļa fukā. Tas ir neliels iznākums. Pēc Truus (2001) pētījumiem Baltijas jūras pūšļa fuka algināta viskozitāte ir neliela, tomēr pūšļa fuka alginātu var lietot pārtika ražošanā (Sokolan *et al.*, 2018)

P.S. *Fukoidāns ir nišas produkts ar lielu pievienoto vērtību, bet salīdzinoši nelielu tirgu, bet algināts ir lieltonnāžas produkts.*

legūto produktu bioloģiskās aktivitātes novērtēšana

Sadarbībā ar RSU, Medicīnas fakultātes, Cilvēka fizioloģijas un bioķīmijas katedru noteikta ekstraktu aktivitāte attiecībā pret gremošanas sistēmas fermentiem.

Veikti sekojoši *in vitro*

testi:

- Ekstraktu ietekme uz amilāzes aktivitāti.
- Ekstraktu ietekme uz peptidāzes efektivitāti.
- Ekstraktu ietekme uz lipāzes aktivitāti (ar / bez žults).

Rezultāts

- Amilāzes aktivitāte, kas atvieglo cietes hidrolīzi un uzlabo gremošanas sistēmu, palielinās.
- Augstāka peptidāzes efektivitāte, to pierādīja kazeīna polipeptīdu ātrāka hidrolīze.
- Pozitīvi ietekmē aizkuņģa dziedzera lipāzi, aktivizējot lipāzi visās pārbaudītajās devās.

Augu ekstraktu antimikrobiālā iedarbība

Mikroorganismi	Baltalkšņa ūdens ekstrakts, mg/ml IC ₅₀ 4,3 mg/L		Aļģu ūdens ekstrakts, mg/ml	
	MIC	MBC/MFC	MIC	MBC/MFC
Staphylococcus aureus MSCL 332	>25	>25	0,78	1,56
Escherichia coli MSCL 332	>25	>25	12,5	12,5
Pseudomonas aeruginosa MSCL 331	>25	>25	25	25
Candida albicans MSCL 378	>25	>25	6,25	>25

MIC – minimālā inhibējošā koncentrācija; MBC – minimālā baktericīdā koncentrācija; MFC – minimālā fungicīdā koncentrācija

- Aļģu ekstraktam piemīt antimikrobiālā iedarbība gan pret grampozitīvajām (*Staphylococcus aureus*) un gramnegatīvajām (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) baktērijām, gan arī pret raugiem (*Candida albicans*).

Jauni produkti

Alģes satur ogļhidrātus, bet nesatur lignīnu. Tādējādi alģes varētu būt piemērotas kā izejviela, piem., biodegradējamu podiņu ražošanā.



- Labi sadalās augsnē
- Presētie aļģu podiņi ir videi draudzīgi, tas nozīmē, ka augus drīkst stādīt ar visu podiņu.
- Augsnē podiņš sadalās un saknes izaug cauri podiņa sienām.



Kopsavilkums

- Izskalotās jūras aļģes ir problemātiska izejviela – grūti prognozejams, mainīgs sastāvs, satur daudz smiltis.
- Var veiksmīgi vākt izskaloto pūšļa fuku, žāvēt malt un izmantot kā mēslojumu.
- Izskalotās aļģes var veiksmīgi kompostēt kopā ar zāli un zāģskaidām. Labāks komposts sanāk ar zaļajām. Izstrādāti pagaidu tehniskie noteikumi. Komposta sertifikācijai nepieciešami lauku eksperimenti.

Kopsavilkums (II)

- Pūšļu fuks ir vērtīga izejviela, no kuras vienlaicīgi var iegūt dažādus produktus ar pievienoto vērtību pārtikas, kosmētikas un iespējams farmācijas vajadzībām. Izmantojot ekstrakciju no pūšļu fuka var iegūt ekstraktu ar antioksidantām īpašībām, sulfurētu polisaharīdu fukoidānu un hidrokoloīdu alginātu.

Zinātniskie sasniegumi

- Iegūtie rezultāti tika prezentēti vairākas konferencēs:
 - 8th International Scientific Conference Rural Development 2017, Lithuania
 - Natural Organic Matter (NOM) Geochemical Flows and Properties: from Theory to Practice 2019, Riga
- Tika publicēti/iesniegti zinātniskie raksti:
 - Janceva S, Lauberte L, Vevere L, Bikovens O, Andersone A, Telysheva G. (2019) Brown Algae as a Potential Source for Obtaining of High Valuable Products. **Key Engineering Materials**. Vol. 800, 98-102.
 - Bikovens O, Janceva S, Vevere L, Purina I, Telysheva G. (submitted) Co-composting of Seaweed with lignocellulosic substratum... **International Journal of Agricultural Resources, Governance and Ecology**. *Under review*

Izaicinājumi

- Jūras piekrastes aļģēs
- Ekstraktu komercializācija
- Jaunu produktu/jaunu aļģu pielietošanas jomu meklēšana

Pateicība!

- Pirmkārt, vēlos pateikties LVKĶI un RPR par iespēju veikt šo pētījumu.
- Vēlos pateikties saviem kolēģiem, kas piedalījās šo projektu realizācijā *Dr.sc.ing. S. Jancevai, Dr.habil. chem. G. Teliševai, Dr.biol. I. Puriņai, L. Laubertei, I. Jakūševai*, kā arī *Dr.chem. M. Laubertam, L. Jašinai* un SIA «Zeltābele».
- Rīgas Purvciema Vidusskolas skolēni, kas izstrādāja savus ZPD, šī pētījuma ietvaros.