

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
Ģeogrāfijas un Zemes zinātņu fakultāte
Vides zinātnes nodaļa

Oskars Bikovens

Komposta humusvielu ķīmiskais raksturojums un to
izmaiņas lignocelulozes un lignocelulozes/gaļas tauku
atkritumu kompostēšanas gaitā

Promocijas darbs

Zinātniskais vadītājs:
Dr. habil.chem.
G. Teliševa

2012

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas Institutā, Lignīna Ķīmijas laboratorijā un Tokijas Universitātes, Āzijas Vides Zinātnes Centrā (Tokija, Japāna).

Darba izstrādāšanai saņemts Eiropas Sociālā fonda projekta „Atbalsts doktora studijām Latvijas Universitātē” Nr.2009/0138/1DP/1.1.2.1.2/09/IPIA/VIAA/004, kā arī 5. Ietvara Programmas INCO EU *Science Technology Fellowship in Japan* contract number ICB-CT-2000-80002 un EUREKA projekta *Degrease E!3726* finansiāls atbalsts.



Darba zinātniskā vadītāja:

Dr. habil. chem. **Gaļina Teliševa**

Promocijas padomes sastāvs:

prof. *Dr.biol.* **Viesturs Melecis** (Latvijas Universitāte), padomes priekšsēdētājs

asoc. prof. *Dr.biol.* **Gunta Sprinģe** (Latvijas Universitāte), padomes sekretāre

prof. *Dr.habil.chem.* **Māris Kļaviņš** (Latvijas Universitāte)

prof. *Dr.geogr.* **Oļģerts Nikodemus** (Latvijas Universitāte)

prof. *Dr.habil.chem.* **Andris Zicmanis** (Latvijas Universitāte)

prof. *Dr.habil.chem.* **Artūrs Vīksna** (Latvijas Universitāte)

Recenzenti:

prof. *Dr. habil. chem.* **Māris Kļaviņš** (Latvijas Universitāte)

prof. *Dr. chem., Dr. habil. sc. ing.,* **Arnīs Treimanis** (Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas Institūts)

prof. *Dr. habil. chem.* **Andris Zicmanis** (Latvijas Universitāte)

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2013. gada 10. maijā plkst. 10.00.

Latvijas Universitātes Vides zinātnes nozares promocijas padomes atklātā sēdē

LU Ģeogrāfijas un Zemes zinātņu fakultātē Rīgā, Alberta ielā 10.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes

Bibliotēkā

© Latvijas Universitāte, 2012

© Oskars Bikovens, 2012

Saturs

Saīsinājumu saraksts	5
IEVADS	6
1. LITERATŪRAS APSKATS	13
1.1. Kompostēšanas process	13
1.2. Komposta gatavības kritēriji	15
1.3. Lignocelulozi saturošie atkritumi un to kompostēšana	18
1.4. Kompostēšanas izmantošana atkritumu tauku pārstrādē	21
1.5. Komposta humusvielu sastāvs un to pētīšanas metodes	22
1.6. Komposta ekoloģiskā un bioloģiskā aktivitāte	25
1.6.1. Komposta humusvielu spēja sorbēt smagos metālus	25
1.6.2. Lignocelulozi saturošo materiālu modificēšana ar silīcija savienojumiem	26
1.7. Literatūras apskata kopsavilkums	26
2. MATERIĀLI UN METODES	28
2.1. Komposta izejvielas	28
2.2. Komposta paraugi	28
2.3. Bjorkmana lignīna un humusvielu izdalīšana no zāles komposta	29
2.4. Fulvoskābes un humīnskābes izdalīšana no zāles-skaidu komposta	30
2.5. Kompostu raksturojums	30
2.6. Komposta Bjorkmana lignīnu un humusvielu ķīmiskās analīzes	31
2.7. Komposta humīnskābju un fulvoskābju ķīmiskās analīzes	32
2.8. Kompostu fitotoksiskuma pārbaude	33
2.9. Smago metāla jonu sorbcija uz komposta	33
2.10. Svina (II) jonu fitotoksiskuma pārbaude komposta humusvielu klātbūtnē	33
3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA	35
3.1. Komposta izejvielu raksturojums	35
3.2. Gaļas atkritumu tauku kompostēšana kopā ar zāli un zāģskaidām	37
3.3. Zāles komposta ķīmiskā sastāva izmaiņas kompostēšanas gaitā	40
3.4. Zāles komposta Bjorkmana lignīna un humusvielu ķīmiskais sastāvs	42
3.5. Atkritumu tauku ietekme un zāles-skaidu komposta humusvielu ķīmiskais sastāvs	54
3.6. Zāles-skaidu komposta humusvielu makromolekulārās īpašības	58

3.7. Zāles komposta humusvielu spēja saistīt smago metālu jonus	52
3.8. Ar silīcija savienojumiem modificēts zāles-skaidu komposts kā augu augšanas stimulators	59
SECINĀJUMI.....	61
Literatūras saraksts.....	62
PIELIKUMI	713
Characterisation of humic substances formed during co-composting of grass and wood wastes with animal grease.....	74
Comparative studies of grass compost lignin and the lignin component of compost humic substances.....	81

Saīsinājumu saraksts

EPR – elektronu paramagnētiskā rezonanse;

E/T – eritroniskābes/treoniskābes attiecība;

FS – fulvoskābes;

FTIS – Furjē transformācijas infrasarkanās gaismas spektroskopija;

GŠH-MS – gāzes–šķidrumu hromatogrāfija–masspektrometrija;

HS – humīnskābes;

HV – humusvielas;

KMR – kodolu magnētiskā rezonanse;

M_w – masas vidējā molekulmasa;

M_n – vidējā skaitliskā molekulmasa;

NBO – nitrobenzola oksidēšana;

S/G – lignīna siringilvienību/gvajacilvienību attiecība;

UV-VIS – ultravioletā un redzamā gaisma.

IEVADS

Nepieciešamība pēc ekonomikas, kas balstās uz atjaunojamiem resursiem, liek arvien vairāk pievērsties esošo resursu racionālai izmantošanai. Viens no galvenajiem vadmotīviem atkritumu apsaimniekošanā Eiropas Savienībā ir direktīva 1999/31/EK, kurā noteikts, ka bioloģiski sadalāmie atkritumi ir jāpārstrādā, nevis jānoglabā atkritumu poligonos. Saskaņā ar šo direktīvu dalībvalstīm ir pienākums 2016. gadā samazināt bioloģiski sadalāmo atkritumu daudzumu izgāztuvēs līdz 35% no 1995. gadā noglabātā apjoma. Kompostēšana ir viena no perspektīvākajām bioloģiski sadalāmo atkritumu pārstrādes metodēm, kuru var realizēt gan nelielā piemājas saimniecībā, gan rūpnieciskā mērogā. Kompostējot bioloģiski sadalāmos atkritumus, samazinās to apjoms un var iegūt vērtīgu galaproduktu – stabilizētu organisko vielu jeb kompostu, ko var izmantot kā augsnes ielabošanas līdzekli vai kā augsnes substrātu, kas ir aktuāli gan lauksaimniecībā, gan dārzkopībā.

Plaša neorganisko mēslošanas līdzekļu un pesticīdu izmantošana lauksaimniecībā ievērojami palielināja augu ražību, taču vienlaikus sekmē augsnes noplicināšanos. Audzējot graudaugu monokultūras, intensīvās lauksaimniecības rezultātā humusvielu saturs augsnē ik gadu samazinās vidēji par 0,5 – 1,0 t/ha (Орлов, 1992). Lai nodrošinātu ilgtspējīgu saimniekošanu, organisko vielu daudzums augsnē regulāri jāpapildina. Kompostu kā tradicionālu augsnes ielabošanas līdzekli pievieno augsnei *in situ*, lai saglabātu un uzlabotu tās fizikālās un ķīmiskās īpašības un/vai bioloģisko aktivitāti. EK lēmums 2006/799/EK nosaka augsnes ielabošanas līdzekļu vides drošības kritērijus, lai novērstu to kaitīgo ietekmi uz vidi visa attiecīgā produkta aprites cikla laikā. Savukārt, lai palielinātu lietotāju uzticību un veicinātu komposta tirgu, Eiropas Savienības līmenī jādefinē komposta kvalitātes standarti, bet tas līdz šim ir paveikts tikai atsevišķās Eiropas Savienības valstīs.

Komposta kvalitāti nosaka komposta stabilitāte un gatavība. Komposta stabilitāte raksturo komposta mikrobiālo aktivitāti, kuru nosaka bioloģiski viegli noārdāmo vielu klātbūtne kompostā, bet komposta gatavību nosaka tas, vai komposts nav toksisks augiem. Tikai stabila un gatava komposta pielietošana veicinās augsnes auglību un ļaus samazināt neorganisko mēslošanas līdzekļu daudzumu vai pat pilnībā aizstāt tos. Savukārt, ja komposts neatbilst šīm prasībām, tā lietošanai var būt pat pretējs efekts, piemēram, augu barības vielu saistīšana un fitotoksiska iedarbība uz augiem. Ir piedāvātas daudzas ķīmiskas, fizikālķīmiskas, bioloģiskas un mikrobioloģiskas metodes, kas ļauj novērtēt komposta stabilitāti un gatavību. Tomēr vairumam no tām ir ierobežojumi – zināmā mērā kompostu lielās daudzveidības dēļ. Komposta stabilitāte un gatavība ir saistīta ar komposta humusvielu rašanos, uzkrāšanos un transformāciju kompostēšanas procesā. Komposta humusvielu ķīmiskais sastāvs ir atkarīgs no izejvielām, komposta mikroorganismiem, kompostēšanas apstākļiem un citiem faktoriem. Komposta humusvielu transformācija kompostēšanas laikā varētu kalpot kā viens no komposta kvalitātes kritērijiem.

Humusvielas ir galvenā augsnes organisko vielu sastāvdaļa, kas veidojās augu, mikroorganismu un dzīvnieku atlieku sadalīšanās produktu dziļās transformācijas, jeb humifikācijas rezultātā. Kaut arī humusvielas ir pētītas vairāk nekā 200 gadu, vēl joprojām tās tiek definētas, balstoties uz to izcelsmi un šķīdību sārmos un skābēs. Humusvielas parasti raksturo elementu un funkcionālo grupu sastāvs, atsevišķi makromolekulārie parametri un struktūras (piemēram, alifātiskais un aromātiskais ogleklis) komponenti. Tas saistīts ar humusvielu stohastisku jeb gadījuma raksturu, kas nosaka tādas fundamentālas humusvielu īpašības kā sastāva nestehiometriskums, neregularitāte, struktūrelementu heterogenitāte un polidispersums. Ir piedāvāti vairāki

humusvielu molekulārie modeļi, tomēr mūsdienās arvien plašāku atzinību gūst viedoklis, ka humusvielas ir salīdzinoši zemmolekulāro savienojumu supramolekulāra dinamiska asociācija, kas stabilizēta ar hidrofobo mijiedarbību un ūdeņraža saitēm (Sutton and Spasito, 2005).

Dabiskos apstākļos galvenais organisko vielu avots augsnē ir augu atliekas, kuru pamatmasu veido lignoceluloze. Izmantojot kompostēšanai lignocelulozes atlikumus, organisko vielu transformācijas procesus var salīdzināt ar humusvielu veidošanos dabīgos apstākļos augsnē, un tos var raksturot kā biomimētiskus. Lignocelulozes komposta humusvielu sastāva izpēte ļauj labāk izprast humifikācijas procesus kompostēšanas laikā un novērtēt iegūtā komposta kvalitāti.

Tēmas aktualitāte

Pasaulē un arī Latvijā pieaug augsnes degradācijas procesi, kurus izraisa augsnes paskābināšanās, organisko vielu un augu barības vielu daudzuma samazināšanās augsnē un citi faktori, ko veicina organiskā mēslojuma trūkums. Pēc Latvijas Atkritumu saimniecības asociācijas datiem, Latvijā bioloģiski sadalāmo atkritumu daudzums novērtēts kā 1,2 milj. tonnu gadā (LASA, 2006). Lielāko daļu no bioloģiski sadalāmajiem atkritumiem veido pārtikas rūpniecības, lauksaimniecības un mežsaimniecības atkritumi. Kā atsevišķa atkritumu grupa nodalīti zaļie atkritumi, kas rodas zālāju laukumu apsaimniekošanā, dārzkopībā un citur. Latvijā tiek kompostēta neliela daļa bioloģiski sadalāmo atkritumu, piemēram, no lauksaimniecības atkritumiem kompostē tikai 4% jeb 188 tūkst. tonnu (LASA, 2006). Latvijā bioloģiski sadalāmie atkritumi tiek kompostēti nelielos kompostēšanas laukumos pie to lielākajām rašanās vietām. Lauksaimniecības, koksnes mehāniskās apstrādes un zaļos atkritumus veido augu atliekas, kas sastāv no lignocelulozes un ko var sekmīgi izmantot kompostēšanai. Savukārt, gaļas, zivju un piena pārstrādes uzņēmumi ražo videi nedraudzīgus atkritumus, kurus ir aizliegts apglabāt atkritumu poligonos. Gaļas pārstrādes atkritumi satur lielu daudzumu šķidro atkritumu taukus un slāpekļa savienojumus. Šāda veida atkritumus sajaucot kopā ar lignocelulozi saturošajiem atkritumiem, varētu utilizēt šķidros gaļas atkritumu taukus un iegūt kvalitatīvu kompostu.

Komposts satur ievērojamu daudzumu humusvielu, un to var izmantot, ne tikai lauksaimniecībā kā organisko augsnes ielabošanas līdzekli, bet arī augsnes sanācijā, lai ierobežotu metālisko jonu migrāciju, un arī kā izejvielu, lai iegūtu jaunus augu augšanas stimulatorus ar lielu pievienoto vērtību. Šāda komposta izmantošana veicina komposta ražošanu un paplašina komposta tirgu.

Promocijas darba mērķis

Noskaidrot lignocelulozes un lignīna transformāciju kompostēšanas laikā.

Izveidot zinātnisko pamatojumu šķidro gaļas atkritumu tauku un lignocelulozi saturošo augu atlieku kompostēšanai un kvalitatīva komposta ieguvei.

Izpētīt komposta humusvielu ķīmisko sastāvu un tā transformāciju kompostēšanas laikā, kas potenciāli varētu kalpot kā viens no komposta kvalitātes kritērijiem.

Pārbaudīt komposta ekoloģisko un bioloģisko aktivitāti, lai paplašinātu tā izmantošanas iespējas un iegūtu jaunus kompostu saturošus produktus.

Promocijas darba uzdevumi:

- Izvērtēt dažādus lignocelulozi saturošus atkritumus kā komposta izejvielas;
- izvērtēt dažādus šķidros gaļas atkritumu taukus kā komposta izejvielas;
- pārbaudīt dažādas stiebrzāļu zāles un lapkoku skaidu komposta kompozīcijas, lai nodrošinātu atkritumu tauku sadalīšanu, izmantojot izvēlēto sējmateriālu;
- pārbaudīt iegūtā zāles–skaidu komposta fitotoksiskumu;
- izpētīt zāles komposta ķīmiskā sastāva izmaiņas kompostēšanas laikā;
- izdalīt un izpētīt komposta lignīna un humusvielu ķīmisko sastāvu un lignīna biotransformāciju par komposta humusvielām;
- izdalīt un izpētīt zāles–skaidu komposta fulvoskābju un humīnskābju ķīmisko sastāvu un tā izmaiņas kompostēšanas laikā, kā arī izvērtēt iespējamo šķidro gaļas atkritumu tauku ietekmi uz komposta fulvoskābju un humīnskābju ķīmisko sastāvu;
- pārbaudīt zāles komposta humusvielu spēju saistīt smago metālu jonus;
- raksturot ar silīciju savienojumiem modificētu komposta biomasu kā potenciālo augu augšanas un attīstības regulatoru, lai iegūtu jaunu produktu ar paaugstinātu vērtību.

Darba zinātniskā novitāte

Noskaidrota komposta humusvielu veidošanās un transformācija kompostēšanas laikā.

Noteiktas likumsakarības starp lignīna vienību struktūras izmaiņām humusvielu frakcijā un kompostēšanas procesu.

Pirmo reizi analizēta komposta humusvielu frakcijā ietilpstošā lignīna vienību starpmolekulāro aril-glicerol-ētera saišu degradācija kompostēšanas laikā, izmantojot analītisko ozonēšanu.

Novērtēta iespējamā atkritumu tauku ietekme uz komposta humusvielu sastāvu.

Iegūtos rezultātus var izmantot, lai novērtētu lignocelulozes komposta kvalitāti.

Pierādīts, ka komposta humusvielas spēj pildīt barjerfunkciju lomu metālisko jonu migrācijā un samazināt to fitotoksiskumu.

Pierādīts, ka lignocelulozes komposts ir perspektīva izejviela silīciju saturošu augu stimulatoru iegūšanai.

Darba praktiskā nozīmība

Promocijas darba izstrādes rezultātā Latvijā tika realizēta komposta ražošana, kas ļauj vienlaikus pārstrādāt lignocelulozes atkritumus un šķidros gaļas atkritumu taukus, kurus ir aizliegts apglabāt atkritumu poligonos, kā arī iegūts kvalitatīvs komposts. Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas institūtā sadarbībā ar SIA „Zeltābele” tika izstrādāti šķidro lopkautuvju atkritumu tauku kompostēšanas pagaidu tehniskie noteikumi un reglaments eksperimentālo komposta partiju sagatavošanai. Laika posmā no 2008. līdz 2009. gadam Eureka projekta „Degrease” ietvaros, izmantojot šos pagaidu tehniskos noteikumus, SIA „Zeltābele” kompostēja vairāk nekā 2 tonnas šķidro lopkautuvju atkritumu tauku. Komposta ražošana pēc izstrādātajiem pagaidu tehniskajiem noteikumiem turpinājās arī 2010. un 2011. gadā.

Iegūto kompostu var izmantot kā izejvielu, lai iegūtu jaunus silīciņu saturošus augu augšanas stimulatorus.

Pētījuma rezultātu aprobācija

Promocijas darba rezultāti ir apspriesti un atspoguļoti 6 zinātniskajās publikācijās, 11 starptautiskās zinātniskās konferencēs un 3 Latvijas mēroga konferencēs.

Promocijas darba pētījumu rezultāti ir izmantoti, vadot trīs bakalaura darbus un sniedzot konsultācijas trīs maģistra darba izstrādāšanā.

Publicētie pētījuma rezultāti

Zinātniskās publikācijas

1. **Bikovens O.**, Lepane V., Makarūtševa N., Dizhbite T., Telysheva G. 2013. The complementary use of UV, EPR and SEC to study the structural changes of humic substances during wood waste composting. In: *Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment*. Xu J., Wu J., He Y. (eds.). Springer-Verlag GmbH. p. 63-65.
2. **Bikovens O.**, Roze L., Pranovich A., Reunanen M. and Telysheva G. 2013. Chemical composition of lipophilic extractives from grey alder (*Alnus incana*). *BioResources*. 8(1): 350-357. (Žurnāls ir indeksēts šādās zinātnisko izdevumu datu bāzēs: *Web of Science*, *SCOPUS*.)
3. **Bikovens O.**, Dizhbite T., Telysheva G. 2012. Characterisation of humic substances formed during co-composting of grass and wood wastes with animal grease. *Environmental Technology*. 33(12): 1427-1433. (Žurnāls ir indeksēts šādās zinātnisko izdevumu datu bāzēs: *Web of Science*, *SCOPUS*.)
4. **Bikovens O.**, Telysheva G., Iiyama K. 2010. Comparative studies of grass compost lignin and lignin component of compost humic substances. *Chemistry and Ecology*. 26(Suppl.2): 67-75. (Žurnāls ir indeksēts šādās zinātnisko izdevumu datu bāzēs: *Web of Science*, *SCOPUS*.)
5. Telysheva G., Dizhbite T., Evtuguin D., Mironova-Ulmane N., Lebedeva G., Andersone A., **Bikovens O.**, Chirkova J., Belkova L. 2009. Design of siliceous lignins – Novel organic/inorganic hybrid sorbent materials. *Scripta Materialia*. 60(8): 687-690. (Žurnāls ir indeksēts šādās zinātnisko izdevumu datu bāzēs: *Web of Science*, *SCOPUS*.)
6. **Bikovens O.**, Gravitis J., Iiyama K. 2004. Biomodification of lignocelluloses under composting environment and heavy metal binding by compost humic substances. In book: *Environmental Education, Communication and Sustainability. Vol.15. Integrative Approaches towards Sustainability in the Baltic Sea Region*. W. Leal Filho (ed.). Peter Lang GmbH: Frankfurt am Main. p. 439-444. (Grāmata indeksēta – Deutsche Nationalbibliografie.)

Ziņojumi starptautiskajās konferencēs un publicētās tēzes

1. **Bikovens O.**, Lepane V., Makarūtševa N., Dizhbite T., Telysheva G. 2012. The complementary use of UV, EPR and SEC to study the structural changes of humic substances during wood waste composting. In: *Functions of Natural Organic Matter in Changing Environment*. Xu J., Wu J., He Y. (eds.).

- Springer-Verlag GmbH. p. 63-65. 16th Meeting of the Interantional Humic Substances Society. Hangzhou, China.
2. Lebedeva G., **Bikovens O.**, Telysheva G. 2011. Enhancement of compost properties by treatment with Si-containing compounds. In: *Program and Abstract Book of 13th Interantional Humic Substances Society Nordic-Baltic Chapter Symposium*. Oscarsborg, Norway, 28.
 3. **Bikovens O.**, Zarina D., Telysheva G. 2010. Co-composting of animal grease wastes and lignocellulosic as an approach for bioprocessing of wastes prohibited for landfilling. In: *Proceedings Book of 15th Meeting of the Interantional Humic Substances Society*. Puerto de la Cruz, Tenerife, Spain, 2: 417-418.
 4. **Bikovens O.**, Telysheva G. 2009. Structural features of grass compost lignin and humic substances. In: *Program and Abstract Book of 12th Interantional Humic Substances Society Nordic-Baltic Chapter Symposium*. Tallinn, Estonia, 35.
 5. Dizhbite T., Telysheva G., **Bikovens O.**, Mutere O., Andersone A. 2008. Potentials of technical lignins for application as soil amendments: free radical scavengers and biological activity. In: *Proceedings Book of 14th Meeting of the Interantional Humic Substances Society*. Moscow-S.Petersburg, Russia, 639-642.
 6. **Bikovens O.**, Muter O., Dizhbite T., Telysheva G. 2008. Antimicrobial and antioxidant activity of extracts and lignins of sub-boreal forest trees. In: *Proceedings Book of 24th International Conference on Polyphenols*. Salamanca, Spain, 365-367.
 7. **Bikovens O.**, Jurkane V., Dizhbite T., Telysheva G. 2007. Wood wastes as raw material for biologically active polyphenols. In: *Proceedings Book of 15th European Biomass Conference and Exhibition. From Research to Market Development*. Berlin, Germany, 2118-2120.
 8. **Bikovens O.**, Iiyama K., Gravitis J. 2004. Structural studies of lignin in humic substances of grass compost. In: *Proceedings Book of 8th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp. Utilization of lignocelulosics and by-products of pulping*. Riga, Latvia, 555-558.
 9. **Bikovens O.**, Gravitis J., Iiyama K. 2003. Biomodification of lignocelluloses under composting environment and transformation to humic matter. In: *Program and Abstract Book of International Conference „Integrative approaches towards sustainability. Baltic sea region taking the lead”*. Jurmala, Latvia, 189.
 10. **Bikovens O.**, Gravitis J., Iiyama K. 2002. Structural characteristics of lignin in humified materials. In: *Proceedings Book of 47th Lignin Symposium*. Fukuoka, Japan, 96-99.
 11. **Bikovens O.**, Gravitis J., Iiyama K. 2001. Sorption of Cr (III) and Cu (II) on wood and biologically decayed wood. In: *Proceedings Book of 46th Lignin Symposium*. Kyoto, Japan, 63-65.

Ziņojumi konferencēs Latvijā un publicētās tēzes

1. **Bikovens O.**, Teliševa G. 2011. Lignīnu saturošu atkritumu izmantošana augsnes ielabošanas līdzekļu iegūšanai. Referātu tēzes. Rīga: LU Ģeogrāfijas un Zemes zinātņu fakultātes 69. Zinātniskā konference, 413.-414. lpp.

2. **Bikovens O.** 2010. Gaļas atkritumu tauku kompostēšana zāles skaidu kompostā. Referātu tēzes. Rīga: LU Ģeogrāfijas un Zemes zinātņu fakultātes 68. Zinātniskā konference.
3. **Bikovens O.** 2009. Lignīna noteikšanas problēmas humificētā materiālā. Referātu tēzes. Rīga: LU Ģeogrāfijas un Zemes zinātņu fakultātes 67. Zinātniskā konference.

Autora ieguldījums

Promocijas darba autors ir piedalījies komposta paraugu vākšanā SIA „Zeltābele”. Autors sagatavoja komposta paraugus, izdalīja komposta lignīnu un humusvielas un veica to ķīmiskās un instrumentālās analīzes, kā arī ar testējamajiem augiem pārbaudīja komposta fitotoksiskumu Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas institūta un Tokijas Universitātes Āzijas Vides Zinātņu centra (Tokija, Japāna) laboratorijās. Atsevišķas komposta izejvielu analīzes veiktas Kauņas Tehniskās Universitātes, Ķīmijas Tehnoloģijas Fakultātē, Pārtikas Tehnoloģijas Katedras laboratorijā (Kauņa, Lietuva) un Abo Akadēmijā, Koksnes un Papīra Ķīmijas laboratorijā (Turku, Somija); komposta humīnskābju un fulvoskābju molekulmasas analīzes veiktas Tallinas Tehniskajā Universitātē, Analītiskās Ķīmijas Katedras laboratorijā (Tallina, Igaunija).

Autors piedalījies šādu projektu īstenošanā, kas saistīti ar promocijas darba izstrādāšanu:

- Valsts pētījumu programmas Nr. 2010.10-4/VPP-5 “Vietējo resursu (zemes dziļi, meža, pārtikas un transporta) ilgtspējīga izmantošana - jauni produkti un tehnoloģijas (NatRes)” Projekts Nr. 2. „Jauni produkti un inovatīvas meža apsaimniekošanas, meža koksnes un nekoksnes produktu ražošanas tehnoloģijas, racionāli izmantojot meža resursus un būtiski palielinot produkcijas pievienoto vērtību (MEŽS)”;
- Latvijas Zinātnes Padomes grants „Videi draudzīgo lignocelulozes funkcionālo produktu un hibrīdmateriālu iegūšana, hromoforu grupu veidošanās un destrukcija” (1547);
- Valsts pētījumu programmas „Lapu koku audzēšanas un racionālas izmantošanas pamatojums, jauni produkti un tehnoloģijas 2005-2009”, Projekts Nr. 3. „Lapu koku izmantošana uzlabotu koksnes materiālu un jaunu produktu ieguvei”;
- 7. Ietvara Programmas projekts „Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas Institūta pētnieciskā potenciāla realizēšana Eiropas Pētniecības telpā (WOOD-NET)”, Tematiskā prioritāte „Jaunu un uzlabotu produktu attīstība, ietverot lignocelulozes un polifenolu hibrīda materiālus, kuri iegūti no augu biomasas pārstādes atkritumiem, nolūkā veicināt ilgtspējīgu lauksaimniecību un mežsaimniecību”;
- EUREKA projekts Degrease E!3726 „Optimised complex technology for grease waste utilisation”;
- 5. Ietvara Programmas projekts INCO EU Science Technology Fellowship in Japan (contract number ICB-CT-2000-80002).

Promocijas darba autors ir analizējis iegūtos datus, interpretējis rezultātus un sagatavojis zinātniskās publikācijas.

Pateicības

Promocijas darba autors izsaka pateicību zinātniskajai vadītājai – Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas Institūta vadošajai pētniecei *Dr. habil. chem.* Gaļinai Teliševai, kā arī LU Mikrobioloģijas un Biotehnoloģijas Institūta bijušajai darbiniecei *Dr. biol., emeritus* Dzidrai Zariņai par sniegtajām konsultācijām un padomiem.

Autors pateicas visiem, kas palīdzējuši sasniegt darba rezultātus, īpaši bijušajiem un esošajiem Tokijas Universitātes pasniedzējiem un darbiniekiem – prof. *Dr. chem.* Kendži Iijamam (Kenji Iiyama), prof. *Dr. chem.* Judži Macumoto (Yuji Matsumoto), *Dr. chem.* Takuja Akijamam (Takuya Akiyama), *Dr. chem.* Kjoko Kacumatai (Kyoko Katsumata), *Dr. chem.* Bjon-Jop Čunam (Byung-Yeoup Chung), kā arī Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas Institūta darbiniekiem *Dr. habil. chem.* Tatjanai Dižbitei, *Dr. chem.* Gaļinai Lebedevai, *Dr. habil. chem.* Jānim Grāvītim, *Dr. chem.* Arnim Kokorevičam, zinātniskajai asistentei Vilhelmīnei Jurkjānei un SIA „Zeltābele” vadītājai Irēnai Jakūševai.

Īpaši sirsnīgi par atbalstu autors pateicas savai ģimenei.

1. LITERATŪRAS APSKATS

Kompostēšana jeb kontrolētā mikrobiālā organisko atkritumu aerobā sadalīšana ir viena no perspektīvākajām cieto organisko atkritumu apstrādes metodēm. Cilvēce par kompostēšanas procesu zina jau kopš neolīta laikmeta, kad blakus pastāvīgām cilvēku apmetnes vietām sāka ierīkot atkritumu bedres. Detalizēti kompostēšanas procesa apraksti atrodami viduslaiku bruņinieku kodeksos (Diaz and Bertoldi, 2007), tomēr liela mēroga kompostēšanu atkritumu apstrādei sāka izmantot tikai XX gadsimta pirmajā pusē. Kā vienu no pirmajiem šajā jomā var minēt Seru Albertu Hovardu (Sir Albert Howard), kas 1924.-1931. g. realizēja tā saucamo Bangalora procesu municipālo atkritumu pārstrādei Indijā (Epstein, 1997). Eliots Epsteins kompostēšanu sauc par augstāko reciklēšanas formu un resursu atkārtoto izmantošanu (Epstein, 1997).

Mūsdienās kompostēšana ir viena no perspektīvākajām bioloģiski sadalāmo atkritumu pārstrādes metodēm, kas ļauj būtiski samazināt atkritumu daudzumu un iegūt kvalitatīvu augsnes ielabošanas līdzekli, jeb kompostu. Kompostēšanu pasaulē plaši izmanto lauksaimniecības un dārzkopības atkritumu, notekūdeņu dūņu, pārtikas rūpniecības, sadzīves atkritumu un citu bioloģiski sadalāmo atkritumu pārstrādei. Kompostēšanu var salīdzinoši viegli realizēt – tā ir būtiska priekšrocība salīdzinājumā ar citām atkritumu apsaimniekošanas metodēm, tādām kā atkritumu dedzināšana vai anaerobā pārstrāde, kuras prasa lielākus kapitālieguldījumus un ir dārgākas ekspluatācijā (LASA, 2006). Izmantojot dažādas tehnoloģijas, kompostēšanu var realizēt gan piemājas dārziņā, gan lielos atkritumu poligonos. Izplatītākā zaļo atkritumu pārstrādes metode ir kompostēšana atklātās kaudzēs jeb stirpās (Adams *et al.*, 2008). Kompostēšanai izmanto arī rotējošas tvertnes un slēgta tipa bioreaktorus ar gaisa padevi. Tehnoloģijas izvēle ir atkarīga no atkritumu daudzuma, jo lielu atkritumu apjomu pārstrādei ir lietderīgi izmantot automatizētas tehnoloģijas, kuras prasa lielākus kapitālieguldījumus, bet ir lētākas ekspluatācijā (LASA, 2006).

1.1. Kompostēšanas process

Kompostēšana ir aerobs, eksotermisks process, kurā jauktā mikroorganismu asociācija gaisa skābekļa klātbūtnē organiskos atkritumus pārstrādā līdz humificētam galaproduktam – kompostam, jaunradītai biomasai un minerālvielām (CO₂ un ūdenim).

Kompostēšanas procesu ietekmē vairāki faktori, daži no tiem ir būtiski citiem ir otršķirīga nozīme. Pie svarīgākajiem faktoriem, kas ietekmē kompostēšanu, jāpieskaita skābeklis un mitrums, kas ir nepieciešami komposta mikroorganismu darbībai (Epstein, 1997). Lai kompostēšanas process noritētu veiksmīgi, ir jāveic komposta kaudzes aerācija, jo gaisa difūzija nenodrošina komposta kaudzi ar nepieciešamo skābekļa daudzumu. Komposts, kas sagatavots bez papildu aerācijas, bieži vien ir nestabils un var būt fitotoksisks. Nestabils komposts pēc iestrādāšanas augsnē nonāk saskarsmē ar gaisu un turpina sadalīties, bet tas var negatīvi ietekmēt veģetāciju (Lguirati *et al.*, 2005). Komposta mehāniska maisīšana ievērojami palielina biomasas degradācijas ātrumu un uzlabo komposta kvalitāti. Mehāniskā sajaukšana uzlabo komposta kvalitāti salīdzinājumā ar statisku kompostēšanu, tomēr uzlabojami nav tik būtiski kā no automatizētas sajaukšanas (Illmer and Schinner, 1997).

Optimālais komposta mitruma saturs ir 50 – 60% (LASA, 2006). Ja mitrums ir lielāks, komposta kaudzē var veidoties anaerobi apstākļi, savukārt pie mazāks samazinās mikroorganismu aktivitāte. Ūdeni satur komposta izejvielas, un ūdens rodas arī organisko vielu mineralizācijas laikā. Kompostēšanas laikā ūdens iztvaiko, un intensīvas iztvaikošanas gadījumā komposta kaudzes papildus jāsamitrina ar ūdeni. Ja ūdens saturs ir nepietiekams, pat vairākus gadus ilga organisko atkritumu glabāšana komposta kaudzē nenodrošina komposta gatavību (Lguirati *et al.*, 2005).

Temperatūra ir svarīgs kompostēšanas procesa parametrs, taču tā ir atkarīga no mikroorganismu aktivitātes un vienlaikus ietekmē mikroorganismu populāciju komposta vidē. Temperatūrai pārsniedzot 80 °C, var iet bojā komposta mikroorganismi. Lai novērstu komposta pārkaršanu, kaudzes ventilē ar aukstu gaisu. Temperatūrai arī ir izšķiroša nozīme komposta pasterizācijā, jo gatavais komposts nedrīkst saturēt patogēnos mikroorganismus, helmintu oļiņas un nezāļu sēklas. Palielinoties temperatūrai, samazinās kompostēšanas laiks, kas nepieciešams komposta pasterizācijai.

Citi svarīgi kompostēšanas faktori ir barības vielas un pH. Optimālā barības vielu attiecība kompostēšanai dažādām izejvielām ir atšķirīga. Dažādus atkritumus var veiksmīgi kompostēt, ja C/N attiecība ir no 12 līdz 40 un pat 50 (Hubbe *et al.*, 2010). Augu atlieku kompostēšanai par optimālo C/N attiecību pieņem 30 (LASA, 2006). Ja šī attiecība ir augstāka, kompostēšanas process tiek inhibēts, bet, ja tā ir pārāk zema, slāpekļis izdalās apkārtējā vidē amonjaka veidā. Veiksmīgai kompostēšanai ir būtisks ne tikai kompostējamā materiāla elementu sastāvs un to attiecības, bet arī izejvielu ķīmiskais sastāvs. Nodrošinot mikroorganismiem optimālos apstākļus – temperatūru, barības vielas, mitrumu un gaisa pieplūdi – organiskie atkritumi sadalās ievērojami ātrāk nekā dabiskos apstākļos.

Kompostēšanas procesu var iedalīt aktīvajā fāzē un nogatavināšanas fāzē, par pamatu ņemot komposta temperatūras izmaiņas vai mikroorganismu elpošanu. Aktīvo fāzi iedala mezofilajā un termofilajā fāzēs. Mezofilajā fāzē baktērijas un sēnītes galvenokārt sadala šķīstošos un viegli degradējamus savienojumus, tādus kā cukuri, ciete, tauki un olbaltumvielas. Šajā fāzē komposta temperatūra palielinās līdz 40 – 45 °C. Komposta pH var samazināties līdz 5, kas norāda uz organisko skābju rašanos. Termofilajā fāzē dažādas baktērijas, sēnītes un aktinomicētes aktīvi sadala hemicelulozes un celulozi. Proteīnu sadalīšanās rezultātā izdalās amonjaks un komposta pH pieaug līdz 8 – 9. Temperatūras optimums termofilajiem mikroorganismiem ir 50 – 60 °C, un to aktivitāte beidzas 70 – 80 °C temperatūrā. Nogatavināšanas fāzes stacionārajā periodā siltuma veidošanās un atdzišana līdzsvarojas. Savukārt ceturtajā fāzē temperatūras pakāpeniski pazeminās un termofilos mikroorganismus nomaina mezofilie mikroorganismi, kuri turpina sadalīšanās procesu. Nogatavināšanas fāzē sadalās izturīgākie komposta komponenti lignīns un lignocelulozes komplekss.

Kompostēšanas procesā piedalās jaukta mikroorganismu asociācija, kas sastāv no mezofilajām un termofilajām baktērijām, aktinomicētēm un sēnītēm. Komposta izejvielas parasti satur pietiekami daudz mikroorganismu (Epstein, 1997), savukārt, ja kompostējamais materiāls ir nabadzīgs ar mikrofloru, ieteicams pievienot speciāli adaptētus mikroorganismus, kas var būtiski ietekmēt kompostēšanas procesu. Komerciāli ir pieejami dažādi baktēriju un sēnīšu celmu preparāti, kas paredzēti inhibējošo savienojumu deaktivēšanai un/vai kompostēšanas procesa paātrināšanai (Hubbe *et al.*, 2010). Inokulējot rīsu salmus, var būtiski uzlaboties to kompostēšana (Rashad *et al.*, 2010). Inokulējot municipālos cietos atkritumus ar lignocelulozi sadalošām sēnēm (*Trichoderma* spp. un baltās trupes sēnes) vai komplekso

mikroorganismu asociāciju (*Bacillus* spp, *Lactobacillus* spp un *Candida rugopelliculosa*), tika parādīts, ka komposta humifikācija un nogatavošanās pieaug šādā secībā: komposts inokulēts ar lignocelulozi sadalošām sēnēm > inokulēts ar komplekso mikroorganismu asociāciju > kontrole (Wei *et al.*, 2007). *Trichoderma* spp. izdala ievērojamu daudzumu fermentu (hidrolāzes, oksidāzes), kas sadala lignocelulozi un to iekļaušana sējmateriālā nodrošina paātrinātu augu atlieku sadalīšanos (Gochev and Krastanov, 2007; Wen *et al.*, 2005). Vienlaikus *Trichoderma* spp. nomāc patogēno mikroorganismu attīstību (Kalaiselvi and Panneerselvam, 2011).

1.2. Komposta gatavības kritēriji

Komposts ir lieltonnāžas produkts, kura patēriņš var sasniegt līdz pat 1000 t/ha (Чеботарев и др., 2001), tāpēc komposta kvalitātei ir ļoti liela praktiska nozīme. Eiropas Komisijas lēmumus 2006/799/EK par ekomarķējuma piešķiršanu augsnes ielabošanas līdzekļiem, ieskaitot kompostu, nosaka ekoloģiskos kritērijus, lai novērstu komposta potenciālo kaitīgo ietekmi uz vidi visa komposta aprites cikla laikā, bet nenosaka komposta kvalitātes rādītājus. Tiek reglamentētas prasības komposta sastāvam (nedrīkst saturēt kanalizācijas nosēdumus); metālisko elementu maksimālajai koncentrācijai Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Hg, Cr, Mo, kā arī Se, As un F; svešķermeņu (stikla, metāla un plastmasas) saturam galaproduktā; maksimālajam slāpekļa saturam (3% N_{kop.}) un neorganiskā slāpekļa saturam no kopējā slāpekļa satura. Komposta sausnas saturam jābūt ne mazākam par 25%, un organisko vielu saturam saussnā jābūt ne mazākam par 20%. Komposts nedrīkst samazināt dīdzību vai kavēt augu augšanu un attīstību. Ir reglamentēts arī dīgtspēju saglabājušu nezāļu sēkļu, helmintu oīņu, *Salmonella* (negatīvs) un *E.coli* baktēriju saturs.

Komposta kvalitāti nosaka tā stabilitāte un gatavība. Stabilitāti definē kā organiskās vielas dekompozīcijas pakāpi, kas saistīta ar komposta bioloģisko aktivitāti. Gatavība ir komposta organo-ķīmiskais stāvoklis, kas parāda, vai komposts nav toksisks augiem. Komposta stabilitāte ir svarīga, lai palielinātu organisko vielu saturu augsnē, nestabils komposts pēc iestrādāšanas augsnē var turpināt sadalīties. Atsevišķos gadījumos tomēr ir pieļaujams izmantot nestabilu kompostu ar maksimālu slāpekļa saturu (Levanon and Pluda, 2002). Negatavs komposts var būt fitotoksisks (Epstein, 1997). Komposta fitotoksiskumu nosaka smago metālu (Paradelo *et al.*, 2008) un citu neorganisko savienojumu klātbūtne, šķīstošie sāļi un organiskie savienojumi ar fitotoksisku iedarbību, piemēram, brīvās taukskābes (Wilkinson *et al.*, 2009) vai mazmolekulārie fenolu savienojumi (Hachicha S. *et al.*, 2009).

Komposta gatavības parametram kompostēšanas laikā vajadzētu pakāpeniski mainīties (Iwegbue *et al.*, 2006). Komposta gatavību var noteikt ar daudzām metodēm, kuras nosacīti iedalāmas vairākās grupās: ķīmiskās, bioloģiskās, mikrobioloģiskās, spektroskopiskās metodes, metodes, kas balstās uz humifikācijas pakāpes noteikšanu, hromatogrāfiskās un fizikālās metodes.

Pie ķīmiskām metodēm jāpieskaita pH, C/N attiecības, nitrifikācijas un katjonu apmaiņas kapacitātes noteikšana. pH ir svarīgs kompostēšanas parametrs, taču to nevar izmantot, lai noteiktu komposta gatavību, ja tas ātri sasniedz savu maksimālo vērtību un vairs nemainās (Levanon and Pluda, 2002). Neņemot vērā dažādus trūkumus, C/N attiecība ir viens no parametriem, ko visbiežāk izmanto, lai noteiktu komposta gatavību. Atsevišķās valstīs C/N attiecība ir iekļauta komposta standartos, piemēram, Spānijā maksimālā C/N attiecība zāles kompostiem ir 20 (Ministerio de la Presidencia, 2005). Pēc dažu autoru pētījumiem pieņemamas C/N vērtības ir no 12

līdz 27 (Tiquia, 2010). Nitrifikācija ir fermentatīva NH_4^+ oksidēšana līdz NO_2^- un NO_3^- . Kompostēšanas laikā NH_4^+ daudzums samazinās un rodas NO_3^- , tas liecina par komposta gatavību (Epstein, 1997). No katjonu apmaiņas kapacitātes ir atkarīga mikro- un makroelementu migrācijas un pieejamībā augiem. Kompostēšanas laikā katjonu apmaiņas kapacitāte strauji pieaug. Laba korelācija ($r^2 = 0,990$) tika novērota starp katjonu apmaiņas kapacitāti un komposta gatavību (Inbar et al., 1990).

Komposta gatavības noteikšanai ir piedāvāti vairāki humifikācijas rādītāji. Organisko vielu raksturošanai augsnē var izmantot ekstrakciju ar NaOH un $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ šķīdumu (Schnitzer et al., 1981). Diemžēl šādu vienkāršotu pieeju nevar lietot kompostu raksturošanai, jo komposta sārmu ekstrakti satur ne tikai fulvoskābes un humīnskābes, bet ievērojamu daudzumu citu vielu, kas nav humusvielas. Sekvi (Sequi et al., 1986) ieteica raksturot komposta gatavību, izmantojot humifikācijas indeksu, kuru izteica kā oglekļa attiecību ne-humusvielu un humusvielu frakcijās $C_{\text{NH}}/(C_{\text{HS}}+C_{\text{FS}})$. Kompostēšanas laikā šī attiecība samazinās un tuvojas 1, savukārt augsnes organiskajām vielām šī attiecība ir zem 1. Kompostu humifikācijas indekss tika noteikts ne tikai sārmu ekstraktiem, bet arī kompostu ūdens izvilkumiem. Tomēr pētījumi parādīja (Nobili and Petrusi, 1988), ka ūdens izvilkumu humifikācijas indekss savu minimumu sasniedz ievērojami ātrāk par sārma ekstraktu humifikācijas indeksu. Respektīvi, ūdens ekstrakta humifikācijas indekss nav piemērots komposta gatavības noteikšanai.

Literatūrā ir minēti arī citi humifikācijas rādītāji (Saviozzi et al., 1988):

- $(C_{\text{HS}}+C_{\text{FS}})/C_{\text{NH}}$;
- $C_{\text{HS}}/C_{\text{FS}}$;
- $C_{\text{HS}}/C_{\text{org.}}$;
- $(C_{\text{HS}}+C_{\text{FS}})/C_{\text{org.}}$,

kur C_{HS} , C_{FS} , C_{NH} ir attiecīgi oglekļa saturs humīnskābju, fulvoskābju, ne-humusvielu frakcijās un $C_{\text{org.}}$ ir kopējais oglekļa saturs.

Analizējot papīra ražošanas notekūdeņu dūņu, salmu un kūtsmēsļu kompostu, tika izmantoti iepriekš minētie 4 humifikācijas parametri un C/N attiecība. Iegūtie rezultāti rāda, ka $(C_{\text{HS}}+C_{\text{FS}})/C_{\text{NH}}$ attiecība jeb humifikācijas indekss (HI) vislabāk raksturo organisko vielu stabilizāciju kompostēšanas procesā (Sequi et al., 1986; Saviozzi et al., 1988). Jāatzīmē, ka zinātniskajā literatūrā ar humifikācijas indeksu HI dažreiz apzīmē atšķirīgus lielumus. Tā Fukušima pētījumā (Fukushima et al., 2009) humifikācijas indekss izteikts kā $C_{\text{NH}}/(C_{\text{HS}}+C_{\text{FS}})$, respektīvi, tas ir apgriezts lielums itāļu pētnieku (Sequi et al., 1986) izmantotajam humifikācijas indeksam HI. Literatūrā ir sastopamas arī citas humusvielu un ne-humusvielu oglekļa attiecības, piemēram, $(C_{\text{HS}}+C_{\text{FS}})/C_{\text{TEC}}$, kur C_{TEC} ir kopējais ar sārmu ekstrahējama oglekļa daudzums. Humifikācijas rādītāju trūkums ir to zemā selektivitāte, kas neļauj atšķirt komposta humusvielas no šķīstošā lignīna. Ja izejvielas satur daudz lignīna, jau kompostēšanas sākumstadijā humifikācijas indikatori uzrāda nepamatoti lielu humusvielu saturu, kas ierobežo šo rādītāju lietošanu (Wichuk and McCartney, 2010).

Lignīns ir izturīgākais augu šūniņas makro-komponents, tas ļauj izstrādāt jaunas ķīmiskas metodes komposta gatavības noteikšanai, kas balstās uz lignīna īpašībām. Komposta ķīmiskās stabilitātes noteikšanai ir piedāvāta modificēta Klāsona procedūra, kuru parasti izmanto lignīna noteikšanai koksnē. Kompostēšanas laikā pieaug atlikuma daudzums, kas noteiks pēc šīs metodes. Iegūtie rezultāti liecina, ka atlikuma pieaugums, kas noteikts pēc Klāsona metodes, labi sakrīt ar komposta gatavību un parāda bio-degradējamo komponentu samazināšanos kompostā (Lopez et al., 2010). Metoksilgrupas ir raksturīgākās lignīna grupas, kuru saturs dažādas izcelsmes lignīnos veido 10–22% (Zakis, 1994). Komposta gatavības noteikšanai

piedāvāts noteikt metoksilgrupu saturu komposta humusvielās. Kompostēšanas laikā humusvielu frakcijā metoksilgrupu saturs pakāpeniski samazinājās no 3,4 līdz 1,8%, kas labi korelēja ar komposta gatavību (Larre-Larrouy and Thuriès, 2006).

Pie hromatogrāfiskām metodēm pieskaita komposta humusvielu molekulmasas sadalījuma noteikšanu, izmantojot gel-hromatogrāfiju. Kompostēšanas laikā samazinās komposta humusvielu zem molekulārās frakcijas daudzums un palielinās liel molekulārās frakcijas daudzums, kas saistīts ar zem molekulāro savienojumu polimerizāciju vai biodegradāciju. Tomati (Tomati *et al.*, 2000), izmantojot Sefadeksu® G150, novēroja, ka komposta humusvielas sadalās divās frakcijās ar molekulmasu 10^2 kDa un $2 \cdot 10^2$ kDa un kompostēšanas laikā frakcijas daudzums ar lielāku molekulmasu pieaug. Pretēja tendence ir novērota, analizējot lignocelulozes komposta humīnskābju molekulmasas izmaiņas. Skujkoku skaidu un mizu atkritumu komposta humīnskābju molekulmasa kompostēšanas sākumstadijā palielinājās, bet pēc tam samazinājās. Maksimālā skaidu komposta humīnskābju molekulmasa pēc 7 kompostēšanas dienām bija $M_w \sim 63$ kDa, bet pēc 365 dienām ~ 15 kDa, vienlaikus humīnskābju polidispersitāte M_w/M_n samazinājās no 8,8 līdz 2,5. Savukārt mizas gadījumā maksimālā molekulmasa M_w pēc 83 dienām bija 10,8 kDa, bet pēc 365 dienām $\sim 8,7$ kDa un polidispersitāte M_w/M_n samazinājās, attiecīgi no 3,4 līdz 2,8 (Fukushima *et al.*, 2009).

Komposta humifikācijas noteikšanai ir piedāvātas dažādas spektroskopiskās metodes, kas ļauj analizēt kompostu kopumā vai tā šķīstošās frakcijas. Furjē transformācijas infrasarkanā spektroskopija (FTIS) tika izmantota, lai analizētu zaļo atkritumu komposta sastāvu. Izmantojot regresijas analīzi, tika iegūta laba korelācijas starp kopējo organisko vielu, kopējo oglekļa, kopējo slāpekļa, lignīna un celulozes saturu (Tandy *et al.*, 2010), kas ir svarīgi rādītāji komposta nogatavošanas noteikšanai. FTIS un ^{13}C KMR spektroskopija parāda funkcionālo grupu izmaiņas kompostā vai tā frakcijās, tomēr šo metožu plašu lietošanu rutīnu analīzēm būtiski ietekmē to pieejamība (Epstein, 1997).

Pie fizikālām metodēm var pieskaitīt tādas rādītājus kā komposta smarža, krāsa un temperatūra. Komposta krāsa un smarža ir subjektīvi rādītāji, tomēr tiem ir svarīga nozīme, kompostu novērtējot uz vietas. Gatavs komposts parasti ir tumšā krāsā ar zemes/trūdu smaržu. Temperatūras mērījumi sniedz svarīgu informāciju par mikroorganismu aktivitāti un organisko vielu sadalīšanos. Nogatavojies komposts pēc samitrināšanas un aerācijas nesaisīst, atšķirībā no negatava komposta, kas mikroorganismu darbības rezultātā sasisīst (*Dewar test*) (Lguirati *et al.*, 2005; Wichuk and McCartney, 2010).

Mikrobioloģiskās metodes iekļauj elpošanas mērījumus (CO_2 mērījumi), kā arī dažādas fermentu aktivitātes mērījumus. Analizējot putnu un liellopu kūsmēslu kompostu un mērot CO_2 emisiju, kā arī amidāzes aktivitāti un hidrolītisko aktivitāti, izmantota fluorescēna diacetāta hidrolīze (Levanon and Pluda, 2002). CO_2 samazināšana kompostēšanas laika norāda uz komposta mikrofloras aktivitātes samazināšanu, kopējais baktēriju skaits strauji samazinājās termofilās stadijas beigās, kad mikrobiālā populācija nomainījās no baktērijām uz sēnēm un aktinomicētiem. C/N attiecība pēc termofilās kompostēšanas beigām būtiski nemainījās, atšķirībā no fermentu aktivitātes mērījumiem, kas sniedz vairāk informāciju par kompostēšanas procesiem (Levanon and Pluda, 2002).

Pie bioloģiskām metodēm pieskaita dažādas komposta gatavības pārbaudes, izmantojot augus. Šādi nosaka komposta fitotoksiskumu un gatavību, bet ne stabilitāti. Bioloģiskām pārbaudēm izmanto dažādus augus, piemēram, salātus (*Lepidium sativum*) (Hachicha S. *et al.*, 2009; Paradelo *et al.*, 2008; Tiquia, 2010),

miežus (*Hordeum vulgare*) (Paradelo *et al.*, 2008), kukurūzu (*Zea mays*) u. c. Pie biežāk izmantotajām metodēm jāpieskaita dīgšanas tests ar salātu sēklām (Zucconi *et al.*, 1981). Šis tests ļauj īsā laikā iegūt rezultātus par komposta fitotoksiskumu, mērot saknes garumu un izdīgušo sēklu skaitu. Augu augšanas testus veic laboratorijā vai lauku apstākļos, šajā gadījumā testu laiks var būt vairākas nedēļas vai pat ilgāk. Jāatzīmē, ka komposta ietekme uz dažādiem augiem var atšķirties (Epstein, 1997).

Komposta gatavības un stabilitātes noteikšanai ieteicams izmantot vairākas metodes. Itavāra (Itävaara *et al.*, 2010) ir piedāvājusi shēmu, pēc kuras vispirms nosaka komposta stabilitāti (elpošanas mērījumi, nitrifikācijas noteikšana) un pēc tam komposta gatavību, izmantojot testus ar augiem.

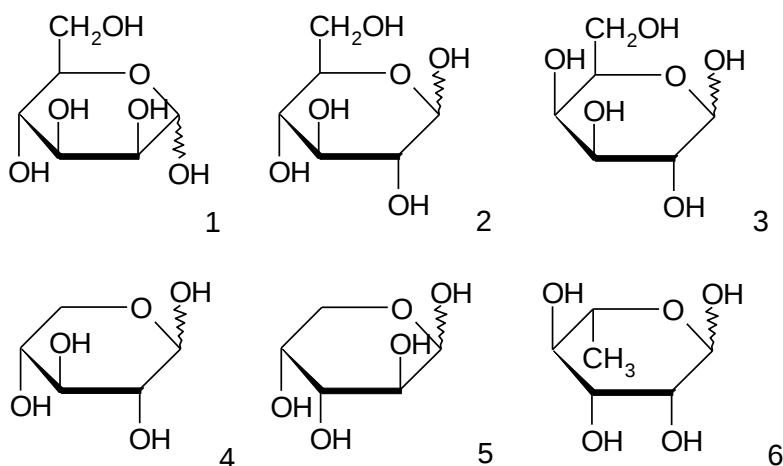
1.3. Lignocelulozi saturošie atkritumi un to kompostēšana

Augu atliekas ir tradicionālas komposta izejvielas. Visi augstākie augi satur lignocelulozes kompleksu. Pie lignocelulozi saturošiem atkritumiem jāpieskaita mežizstrādes, koksnes mehāniskās pārstrādes, lauksaimniecības, dārzkopības un zaļie atkritumi. Zaļie atkritumi ir viena no lielākajām kompostējamo atkritumu plūsmām. Lielbritānijā aptuveni 80% zaļo atkritumu tiek kompostēti atklātās kaudzēs jeb stirpās (Adams *et al.*, 2008).

Augu atliekas veido galveno augsnes organisko vielu izejvielu (Shevchenko and Bailey, 1996), tas ļauj apskatīt to kompostēšanu kā biomimētisku procesu humusvielu veidošanai augsnē. Visi vaskulārie augi dažādos daudzumos satur lignocelulozes kompleksu, kas sastāv no polisaharīdiem – celulozes un hemicelulozēm, un lignīna.

Celuloze ir izplatītākais augu valsts biopolimērs. Celuloze ir lineārs polisaharīds, kas sastāv no β -D-glikozes atlikumiem, kas savienoti ar β -(1 $\rightarrow$ 4)-glikozīdiskajām saitēm. Celulozes polimerizācijas pakāpe augos sasniedz 7000 – 15 000. Tā kā ūdeņraža saites ir regulāras, celulozes molekulas augu šūnā ir sakārtotas fibrillās, kurām ir struktūra ar kristāliskām īpašībām (Fengel and Wegener, 1984).

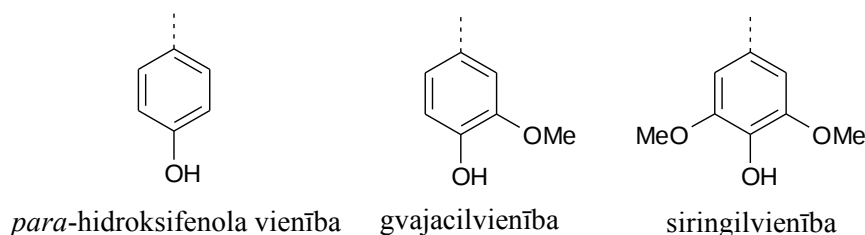
Hemicelulozes atšķiras no celulozes pēc monosaharīdu sastāva, kā arī ar īsākām un sazarotām ķēdēm, kuru polimerizācijas pakāpe vidēji ir 150–200. Augu sienīņās ietilpstošās hemicelulozes parasti sastāv no šādiem monosaharīdiem: pentozes – D-ksiloze un L-arabinoze; heksozes – D-glikoze, D-galaktoze un D-mannoze; 6-dezoksiheksozes – L-ramnoze un L-fukoze; heksuronskābes – D-glikuronskābe, D-galaktouronskābe un 4-O-metil-D-glikuronskābe (Xu, 2010) (1.1. att.). Bieži vien hemicelulozes satur acetilētus cukura atlikumus. Hemicelulozes augu šūnas sienīņās ar celulozi saista ūdeņraža saites, bet ar lignīnu – galvenokārt α -benzil ētera saites. Kompostēšanas laikā hemicelulozes sadalās ātrāk nekā celuloze (Wei *et al.*, 2012).



1.1. attēls. Biežāk sastopamie augu šūnas sieniņas monosaharīdi

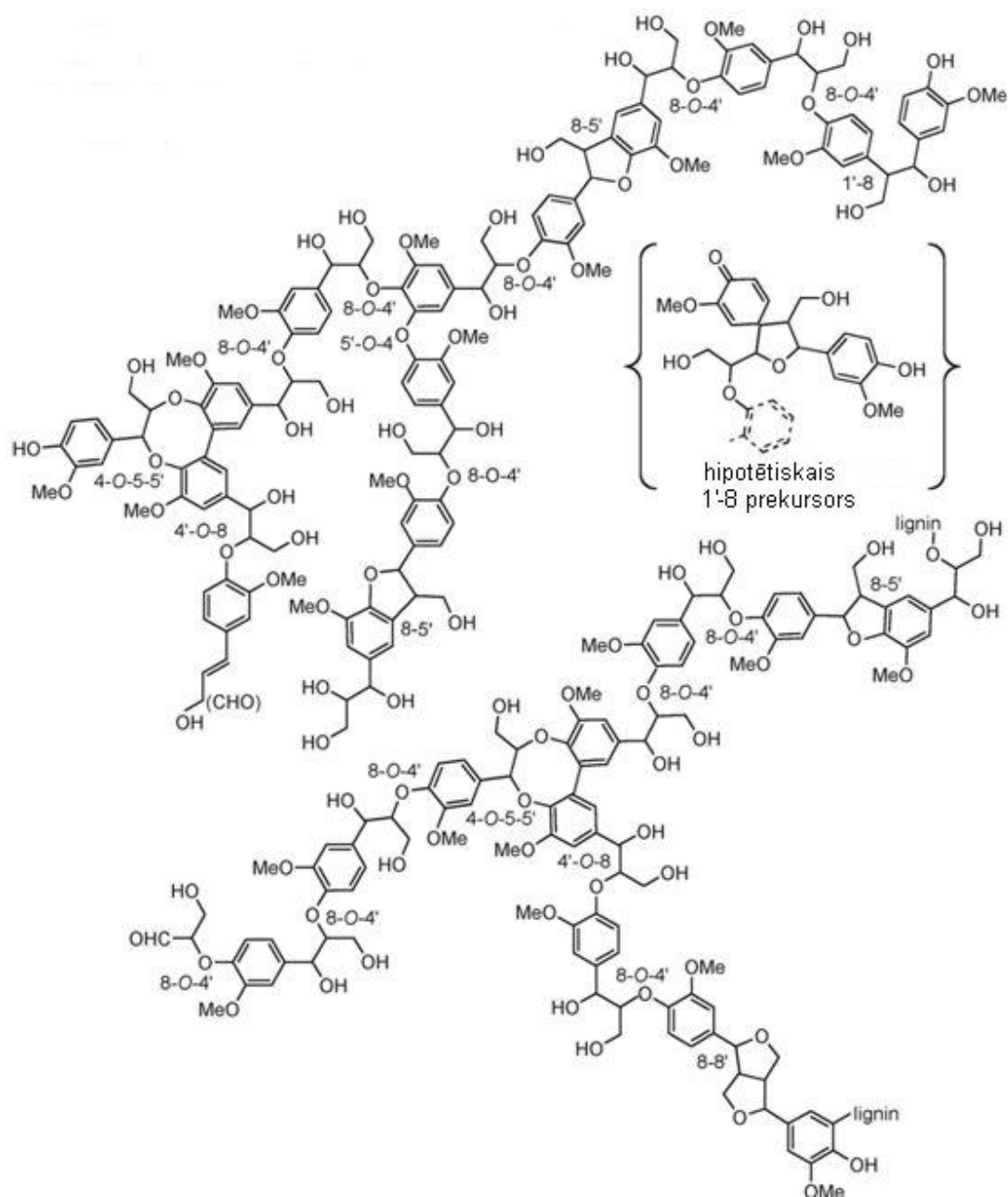
1 – mannoze, 2 – glikoze, 3 – galaktoze, 4 – ksiloze, 5 – arabinoze, 6 – ramnoze

Lignīns ir otrs izplatītākais biopolimērs augu valstī pēc celulozes. Lignīnu satur visi vaskulārie augi, iespējams arī atsevišķi zemākie augi (Martone *et al.*, 2009). Lignīna makromolekulu veido fenilpropāna vienības, kuras savā starpā savienotas ar aril-aril, alkil-aril, alkil-alkil un aril-glicerol ēteriskajām saitēm un C–C saitēm. Dažādu augu lignīns atšķiras pēc struktūrvienību sastāva. Atkarībā no aizvietotājiem aromātiskajā gredzenā lignīna struktūrvienības iedala *para*-hidroksifenola vienībā, gvajacilvienībā un siringilvienībā (1.2. att.). Skujkoki satur lignīnu, kurā ir galvenokārt gvajacilvienības. Lapu koku lignīns satur gvajacilvienības un siringilvienības dažādās attiecībās. Zālaugu lignīns satur visu trīs veidu fenilpropāna vienības: gvajacilvienības, siringilvienības un *para*-hidroksifenola vienības, kā arī ar estera un ētera saitēm saistīto *para*-hidroksikanēlskābi un ferulskābi (Grabber *et al.*, 2004). Fenilpropāna vienības var būt savienotas ar 20 dažādām saitēm. Dominējošā lignīna fenilpropāna vienību saite ir aril-glicerol-ētera 8–O–4 jeb β -O–4 saite (Xu, 2010) (1.3. att.).



1.2. attēls. Lignīna makromolekulas galvenās struktūrvienības

Salīdzinājumā ar citiem augu sieniņas pamatkomponentiem lignīns ir ievērojami izturīgāks pret bionoārdīšanos. Lignīna bioloģiskā sadalīšana aerobos apstākļos notiek ievērojami ātrāk nekā anaerobos apstākļos (Komilis and Ham, 2003). Lignīna biodegradācija ir atkarīga gan no tā satura, gan sastāva. Augsnē lignīna gvajacilvienības sadalās lēnāk nekā siringilvienības un *para*-hidroksifenola vienības (Bahri *et al.*, 2006). Lapkoku lignīns apkārtējā vidē sadalās ātrāk par skujkoku lignīnu, savukārt zālaugu lignīns sadalās ātrāk nekā kokaugu lignīns (Higuchi, 1985).



1.3.attēls. Skujkoku lignīna modelis (Brunow, 1998)

Palielināts lignīna saturs negatīvi ietekmē biomasas sadalīšanu (Hubbe *et al.*, 2010). Palielinoties lignīna saturam, samazinās polisaharīdu biodegradēšana kompostēšanas laikā. Pētot papīra un celulozes ražošanas atkritumu kompostēšanu, tika novērota lineāra negatīva korelācija starp lignīna saturu un polisaharīdu biodegradēšanu (Vikman *et al.*, 2002). Savukārt nelielos daudzumos (2-5%) pievienojot lignīnu pārtikas un virtuves atkritumiem, tiek veicināta humusvielu veidošanās. Izmantojot FTIS un termiskās metodes, tika pierādīts, ka pievienotais lignīns integrējas humusvielu kompleksā (Smidt *et al.*, 2008). Dažādiem lignīniem piemīt atšķirīga spēja transformēties par humusvielām. Daži tehniskie lignīni, kā arī zāles un lapu lignīns transformējas par humusvielām vieglāk nekā koksnes lignīns. Kompostēšanas laikā lignīns netiek pilnībā mineralizēts un tiek iekļauts komposta humusvielu kompleksā. Lignīna transformācijā komposta vidē noteicošā loma ir

aktinomicētēm un termofilajām sēnēm, kuru optimālā darbības temperatūra ir 40 – 50 °C (Tuomela *et al.*, 2000).

Ekstraktvielas ir skaitliski lielākā augu savienojumu grupa, kas sastāv no zemmolekulāriem un lielmolekulāriem savienojumiem, kurus no biomasas var izdalīt ar organiskajiem šķīdinātājiem vai ūdeni. Pie ekstraktvielām pieder dažādu ķīmisko klašu savienojumi, piemēram, lipīdi, terpēni, fenoli. Augu fenoli lielos daudzumos var palēnināt augu atlieku biodegradēšanu. Palms (Palm *et al.*, 2001) ieteica noteikt kopējo lignīna un fenolu savienojumu saturu augu atliekās, lai novērtētu to piemērotību kompostēšanai. Kompostēt ieteicams tādas augu atliekas, kas satur mazāk par 2,5% slāpekli un kurās kopējais lignīna un polifenolu saturs nepārsniedz 15%.

Koksnes mehāniskās pārstrādes rezultātā rodas liels daudzums lignocelulozi saturošu atkritumu – koksnes skaidas un miza. Dažādu koku mizu var izmantot kā mulču, augsnes substrātu pagatavošanai vai kompostēšanai (Синников и др., 1976). Kompostējot egļu mizu kopā ar slāpekli saturošiem savienojumiem (urīnvielā), jau pēc pusmēneša var iegūt kompostu, kas veicina augu (auzu) attīstību. Egļu mizas komposts augsnē saista slāpekļa minerālmēslus un darbojas kā lēnas iedarbības organiskais minerālmēslojums (Шамин, 1977). Koksne ir mazāk piemērota kompostēšanai zemā slāpekļa savienojumu un lielā lignīna satura dēļ. Kompostējot skuju koku skaidas, pēc viena gada C/N attiecība samazinājas no ~300 līdz 180 (Fukushima *et al.*, 2009). Tomēr koksni un hidrolīzes lignīnu var veiksmīgi kompostēt kopā ar dažādiem slāpekļa savienojumiem saturošiem atkritumiem, piemēram, putnu vai liellopu mēsliem un speciāliem sējmateriāliem (Беловежец и др., 2010). Koksnes skaidas un šķeldu bieži izmanto kā balasta materiālu komposta kaudžu kompozīcijā ar slāpekli saturošiem atkritumiem lai nodrošinātu nepieciešamo komposta kaudzes porozitāti un mitruma saturu.

1.4. Kompostēšanas izmantošana atkritumu tauku pārstrādē

Eiropas Savienības regula 1774/2002 noteikts, ka koncentrētos taukus, kā arī tauku atkritumus, kas satur lopkautuvju dzīvnieku audus, nedrīkst apglabāt atkritumu poligonos. Dažādas izcelsmes atkritumu tauki ir potenciāli bīstami atkritumi, jo to sadalīšanās apkārtējā vidē dabiskajos apstākļos nenotiek pietiekoši ātri un tie var kalpot kā potenciāls infekcijas perēklis. Šādus gaļas un pārtikas atkritumus varētu pārstrādāt, tos kompostējot kopā ar lignocelulozi saturošiem atkritumiem.

Tauki un eļļas sastāv galvenokārt no glicerīna un alifātisko nesazaroto taukskābju esteriem – triglicerīdiem, kā arī to hidrolīzes produktiem – taukskābēm un dažādiem gliceroliem. Alifātiskās ķēdes var būt piesātinātas vai nepiesātinātas, un to garums parasti ir robežās $C_{14} - C_{32}$. Piesātināto taukskābju triglicerīdi ir cietas vielas, savukārt nepiesātināto taukskābju triglicerīdi parasti ir šķīdri. Tauki labi šķīst dažādos nepolāros organiskajos šķīdinātājos, piemēram, heksānā, bet nešķīst ūdenī.

Koncentrētus tauku atkritumus satur gaļas un pārtikas pārstrādes uzņēmumu atkritumi, piemēram, lopkautuvju atkritumi, eļļas ražošanas uzņēmumu atkritumi, kā arī sadzīves virtuves un restorānu atkritumi. Daudz notekūdeņu, kas satur koncentrētus taukus, rada lopkautuves. Ūdens patēriņš uz 1 tonnu dzīvsvāra svārstās no 1 līdz 29 m³, atkarībā no izmantotās tehnoloģijas. Vidēji šis lielums Eiropas valstīs ir 2,5 – 5 m³/t dzīvsvāra (Johns, 1995). Koncentrēti tauki var radīt nopietnus sarežģījumus notekūdeņu savākšanas sistēmā – aizdambēt notekcaurules un izraisīt to koroziju. Atdalītos tauku var kompostēt, jo tauku enerģijas saturs ir divreiz lielāks par

cukuru vai cietes enerģijas saturu, un tā ir būtiska priekšrocība šādu atkritumu kompostēšanai. Tauki veicina ātru termofilās fāzes temperatūras sasniegšanu, kas ir svarīgi komposta pasterizācijai un tauku kušanai, difūzijai un šķīdībai – šie procesi ir atkarīgi no temperatūras.

Tauku sadalīšana sākas ar triglicerīdu hidrolīzi, ko veic ekstracelulārie hidrolītiskie fermenti (lipāze). Lipāze var būt specifiska konkrētiem taukiem vai nespecifiska un hidrolizēt jebkurus taukus. Pētot dažādu mikroorganismu spēju sadalīt atkritumu taukus, konstatēts, ka jauktās mikroorganisma kultūras, kas izdalītas no notekūdeņu dūņām un adaptētas tauku sadalīšanai, ir efektīvākas nekā tīrkultūras, kuras bieži vien ir neizturīgas nesterilās rūpnieciskos atkritumu pārstrādes apstākļos (Wakelin and Forster, 1997).

Zāles–skaidu un vistu mēslu komposts, kas satur taukus ir fitotoksisks, taču kompostēšanas laikā tā toksiskums ievērojami samazinās jau pēc 2 nedēļām. Pēc 6 nedēļām komposts bija netoksisks testos ar redīsiem (*Raphanus sativa*) un medeni (*Lobularia maritima*) (Wilkinson *et al.*, 2009).

Kompostējot mākslīgos pārtikas atkritumus (suņu barību kopā ar zāģskaidām) bioreaktorā kopā ar rapšu eļļu, tika parādīts, ka pat bez ārējās sildīšanas komposta temperatūra ātri sasniedz ~70 °C un tauku saturs termofilās fāzes laikā samazinās par 70 – 79% (Lemus and Lau, 2002).

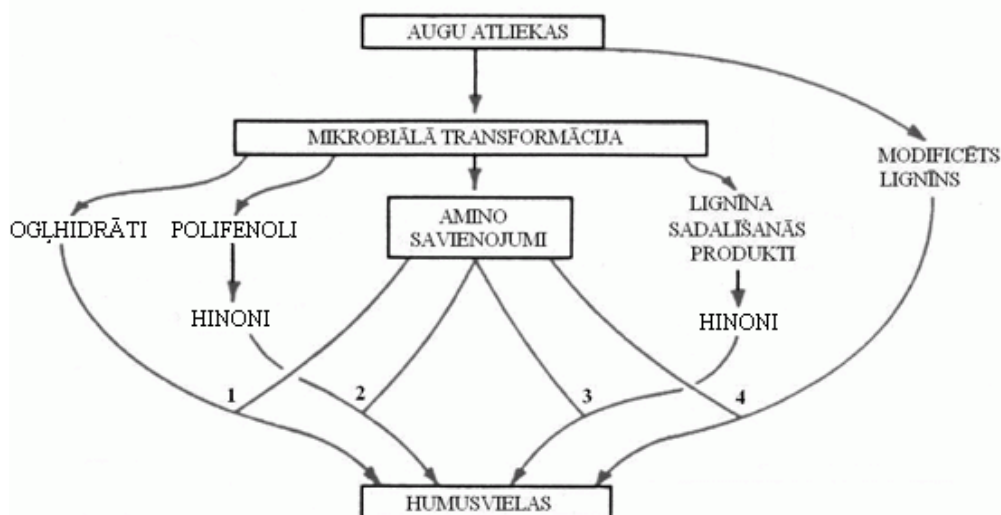
Tauki var inhibēt citu komponentu sadalīšanos, pārklājot to virsmu ar tauku kārtiņu. Kompostējot bioreaktorā cūku taukus kopā ar suņu barību, zāģskaidām un speciālo inokulumu *Alles GTM*, tika novērots, ka cūku tauki (>33,3% koncentrācija) inhibē pārējo komponentu sadalīšanu. Tauku sadalīšana sākas pēc suņu barības sadalīšanās pēc 84 h un sasniedza ~30% no sākotnējā daudzuma (33,3%) pēc 192 h (Nakasaki *et al.*, 2004).

Alburkerke (Alburquerque *et al.*, 2008) kompostēja dzīvnieku tauku–proteīna hidrolīzes atkritumus kopā ar olīveļļas ražošanas lignocelulozes atkritumiem un zirgu mēsliem. Tauku sadalīšana kompostēšanas laikā sasniedza 95%. Tauku–proteīna hidrolizāta pievienošana palielināja sāļu koncentrāciju komposta ūdens ekstraktā un negatīvi ietekmēja dīģšanas indeksu, tomēr iegūto kompostu var izmantot humusvielu ekstrakcijai – tās varētu lietot lauksaimniecībā kā šķidro mēslojumu.

1.5. Komposta humusvielu sastāvs un to pētīšanas metodes

Humusvielas tiek definētas kā fizikāli un ķīmiski heterogēns maisījums, kas sastāv no dabiski sastopamiem, biogēniem, salīdzinoši lielmolekulāriem, dzelteniem līdz tumši brūniem, amorfiem, koloidāliem, alifātiskas un aromātiskas dabas polidispersiem organiskiem polielektrolītiem un, kas veidojas humifikācijas procesā sadaloties un transformējoties mirušu organismu biomolekulām (Senesi and Loffredo, 2001). Humusvielas ietekmē augsnes svarīgākās īpašības – augsnes auglību, fizikālās un ķīmiskās īpašības, barības vielu apriti un augsnes bioloģisko aktivitāti.

Tradicionāli humusvielas iedala atkarībā no to šķīdības sārmos un skābēs. Fulvoskābes šķīst skābēs un sārmos, humīnskābes šķīst sārmos, bet nešķīst skābēs un humīns nešķīst ne skābēs, ne sārmos. Stīvensons uzsvēra, ka humusvielu veidošanās ir viens no vis–intriģējošākiem un viens no vismazāk saprātiem humusvielu ķīmijas aspektiem (Stevenson, 1994).



1.4. attēls. Humusvielu veidošanās shēma (Stevenson, 1994)

1 – humusvielu veidošanās, cukuriem kondensējoties ar amino savienojumiem; 2,3 – humusvielu veidošanās polifenolu vai lignīnu izcelsmes hinoniem kondensējoties ar amino savienojumiem, 4 – humusvielu veidošanās modificētam lignīnam kondensējoties ar amino savienojumiem

Augsnes humusvielas var veidoties pēc dažādiem mehānismiem. Slāpekļa savienojumi augsnē var kondensēties ar ogļhidrātiem (1.4. att. – 1) vai hinoniem (polifenolu hipotēze), kas rodas lignīna vai polifenolu depolimerizācijas rezultātā (1.4. att. – 2, 3), vai arī slāpekļa savienojumi var kondensēties ar modificētu lignīnu (1.4. att. – 4) (Voksmāna lignīna hipotēze). Atkarībā no apstākļiem dominē kāds no šiem humusvielu veidošanās mehānismiem. Saskaņā ar polifenolu hipotēzi vispirms rodas zem molekulārās fulvoskābes un pēc tam humīnskābes ar lielāku molekulāro masu. Savukārt pēc Voksmāna hipotēzes humifikācijas procesā vispirms rodas liel molekulārās humīnskābes, kuru molekulas humifikācijas procesā samazinās, un pēc tam rodas fulvoskābes.

Līdzīgas humusvielu veidošanās hipotēzes attīstīja arī citi vadošie pasaules pētnieki. Kononovas un Trusova kondensācijas–polimerizācijas hipotēze (Орлов, 1992) ir līdzīga polifenolu hipotēzei, bet Aleksandrova oksidēšanās skābju veidošanās humifikācijas hipotēzei (Орлов, 1992) ir daudz kopēja ar klasisko Voksmāna lignīna hipotēzi.

Ir piedāvāti daudzi un dažādi augsnes humusvielu uzbūves molekulārie modeļi. Bieži vien humusvielas apraksta kā liel molekulāras vielas ar noteiktu struktūru. Kā piemēru var minēt Šultena un Šnicera modeli (Schulten and Schnitzer, 1993), kas satur 738 atomus - $C_{308}H_{335}O_{90}N_5$ (5547 g/mol). Tomēr šādiem modeļiem ir vairāki trūkumi. Plaši izplatīts ir uzskats, ka humusvielas sastāv no salīdzinoši zem molekulāriem savienojumiem, kas veido dinamisku supramolekulāru asociāciju, kas stabilizēta ar hidrofobo mijiedarbību un ūdeņraža saitēm. Šo hipotēzi apstiprina KMR, rentgena absorbcijas šauru leņķu spektroskopija, MS un analītiskās pirolīzes rezultāti (Sutton and Spasito, 2005). Humusvielas var apskatīt kā supramolekulāro asociāciju, kuru atsevišķus parametrus apraksta noteikts sadalījums, nevis diskreti lielumi. Abām šīm humusvielu uzbūves pieejām ir zināmi trūkumi un pašreiz tās var apskatīt tikai kā darba hipotēzes (Schaumann and Tiele-Bruhn, 2011).

Kompostēšanas procesā rodas humificēts materiāls, nevis augsnes humusvielas. Atsevišķās publikācijās ir uzsvērtā līdzība starp kompostu un augsnes humusvielām (Якименко и др., 1995), tomēr vairums autoru atzīmē būtiskas atšķirības starp

komposta humusvielām un augsnes humusvielām (González-Vila and Martin, 1985; Epstein, 1997; González-Vila *et al.*, 2009). Tas ļauj apskatīt komposta iestrādāšanu augsnē nevis kā ilgtermiņa, bet gan kā īstermiņa vai vidēja termiņa organisko vielu palielināšanu augsnē (González-Vila *et al.*, 2009). Komposta humusvielu sastāvs ir atkarīgs no komposta izejvielām, kompostēšanas procesa, granulometriskā sastāva, komposta gatavības u. c. Analizējot 11 dažādus kompostus ar ^{13}C KMR spektroskopiju, tika parādīts, ka alifātiskā oglekļa saturs komposta humīnskābēs mainās plašās robežās – no 31 līdz 54%, aromātiskā C saturs – no 13 līdz 30% un ogļhidrātu C saturs – no 8 līdz 32% (Tomati *et al.*, 2002).

Humusvielu uzbūves pētījumos plaši izmanto elementu un funkcionālo grupu analīzi, dažādas ķīmiskās humusvielu degradācijas metodes (hidrolīze, reducēšana, oksidēšana, trans-esterifikācija), kā arī spektroskopiskās metodes (Stevenson, 1994). Komposta humusvielu sastāva izmaiņu pētīšanai kompostēšanas laikā tika izmantotas ultravioletā, fluorescences, infrasarkanā, kodolu magnētiskās rezonanses un elektronu paramagnētiskās rezonanses spektroskopija, kā arī analītiskā pirolīze (González-Vila *et al.*, 1999; Pajaczkowska *et al.*, 2005; Tandy *et al.*, 2010; Tomati *et al.*, 2002).

Viena no raksturīgākām humusvielu īpašībām ir monotona UV redzamās gaismas absorbcija, kas vienmērīgi samazinās, palielinoties viļņa garumam. Humusvielu raksturošanai izmanto dažādas UV absorbcijas attiecības, piemēram, E_4/E_6 (absorbciju pie 465 un 665 nm) lieto, lai novērtētu komposta humifikāciju (Senesi and Loffredo, 2001). Izmantojot EPR spektroskopiju, tika parādīts, ka notekūdeņu dūņu kompostēšanas procesā humusvielu formēšanās laikā notiek cukuru kondensācijas reakcija ar slāpekļa savienojumiem jeb Mailarda reakcija (Pajaczkowska *et al.*, 2005). Humusvielu pētījumos bieži vien kombinē vairākas pētīšanas metodes. Analizējot sadzīves, zaļo atkritumu un lauksaimniecības atkritumu komposta humīnskābes ar FTIS, KMR un termolīzi kopā ar GŠH-MS, tika parādīts, ka humīnskābes satur augu polisaharīdus, augu un mikroorganismu alkilsavienojumus, cikliskos un aromātiskos savienojumus. KMR apstiprināja, ka humīnskābes satur galvenokārt oksidēto lignīnu. Kompostēšanas laikā samazinās ogļhidrātu saturs, taču selektīvi tiek saglabāti hidroforie fragmenti, kā arī tiek iekļauti peptīdi (Spaccini and Piccolo, 2009).

Izmantojot FTIS un ^{13}C KMR spektroskopiju, tika parādīts, ka kompostējot koksni un mizu komposta humīnskābju frakcijā samazinās cukuru, bet pieaug aromātisko savienojumu un karboksilgrupu saturs. Vienlaikus notiek humīnskābju depolimerizācija un samazinās molekulmasa (Fukushima *et al.*, 2009).

Kompostēšanas laikā lignīna fragmenti tiek iekļauti humusvielu kompleksā. Tuomela izmantojot radioaktīvo ^{14}C dihidrogēnpolimēru (sintētisko lignīna analogu), konstatēja, ka pēc 45 dienas ilga kompostēšanas eksperimenta komposta humusvielas satur 12–14% radioaktīvā lignīna, bet humīns – 30–39% lignīna (Tuomela *et al.*, 2001). Lignīna makromolekula kompostēšanas laikā tiek būtiski modificēta. Lignīna demetoksilēšana kompostēšanas laikā ir aprakstīta jau agrīnos Voksmāna darbos (Waksman and Smith, 1934). Izmantojot analītisko pirolīzi, tetrametilamonija hidroksīda klātbūtnē tika parādīts, ka notekūdeņu dūņu un salmu komposta humusvielu veidošanā nozīmīga loma ir lignīna alifātiskās ķēdes oksidēšanai (Amir *et al.*, 2006).

Tauku un eļļu ietekme uz humusvielu veidošanu ir maz pētīta. Hačiča kompostēja olīveļļas ražošanas atkritumus kopā ar mājputnu mēsliem. Eļļas sadalīšanās komposta vidē sasniedza 95%, un iegūtā komposta humīnskābes saturēja 1,2% taukskābju (Hachicha R. *et al.*, 2009).

Jāatzīmē, ka pētījumu par lignīna transformāciju par humusvielām un tauku ietekmi uz humusvielām ir salīdzinoši maz, un tie ir fragmentāri.

1.6. Komposta izmantošana metālu sorbcijai un tā aktivitātes palielināšana

Lai veicinātu komposta ražošanu un palielinātu komposta tirgu, ir svarīgi paplašināt tradicionālo komposta lietošanas loku. Komposts satur humificētu materiālu, kas var sorbēt smagos metālus un to varētu izmantot piesārņoto augšņu sanācijai. Kompostu var modificēt ar biogēniem elementiem un izmantot jaunu augu augšanas stimulatoru ražošanai, kas ļautu samazināt komposta patēriņu un palielināt augu ražību.

1.6.1. Komposta humusvielu spēja sorbēt smagos metālus

Ekosistēmu, ieskaitot augsnes, piesārņojums ar smago metālu joniem ir globāla problēma. Smagie metāli ir dabīgs augsnes komponents. Daudzi metāli (Cu, Zn, Mn u.c.) ir nepieciešami augiem un dzīvniekiem kā mikroelementi, taču, palielinoties to daudzumam, tie ir toksiski. Noteicošais faktors ir smago metālu jonu mobilitāte un bio-pieejamība. Veidojoties smago metālu jonu kompleksam ar humusvielām, samazinās to toksiskums augsnes mikroorganismiem un augiem (Sparks, 2003). Smago metālu sorbcijas ar organiskiem un neorganiskām augsnes savienojumiem ir intensīvi pētīta, un tas jau ilgi ir viens no „karstajiem” tematiem augsnes ķīmijā (Sparks, 2001).

Komposts atkarībā no izejvielām var būt arī smago metālu piesārņojuma avots. Palielinātā daudzumā smago metālu jonus visbiežāk satur municipālo atkritumu un notekūdeņu dūņu komposti (Tomati *et al.*, 2002). Kompostēšanas sākumstadijā smago metālu (Cu un Zn) jonu koncentrācija komposta ūdens izvilkumā palielinās, taču kompostēšanas laikā rodas humusvielas un smago metālu jonu koncentrācija samazinās (Kang *et al.*, 2011). Pieļaujamo smago metālu jonu saturu gatavajā kompostā nosaka Eiropas Komisijas lēmums 2006/799/EK. Kompostu var izmantot ar smagajiem metāliem piesārņoto augšņu kompleksā fitostabilizēšanā (Li *et al.*, 2000). Kompostu var izmantot arī kā potenciālu bio-adsorbentu Cr (VI) savienojumu sorbēšanai. Vienlaikus notiek sorbētā Cr (VI) reducēšana līdz Cr (III) (Vargas *et al.*, 2012). Komposta fulvoskābes un humīnskābes, līdzīgi kā augsnes humusvielas spēj veidot kompleksus ar smagajiem metāliem. Pētot cūku mēslu komposta humusvielu reakciju ar smago metālu joniem ir noteikts, ka metālu reaģētspēja ar humusvielām palielinās rindā $Zn < Cd < Cu < Pb$ (Chang Chien *et al.*, 2006). Pievienojot notekūdeņu dūņu kompostam lignocelulozes atkritumus (zāģskaidas un salmus), pieaug humīnskābju saturs un palielinās komposta spēja sorbēt smago metālu jonus (Xiong *et al.*, 2010).

Nemot vērā lielu organisko vielu saturu kompostā, tas var aktīvi piedalīties smago metāla jonu adsorbcijā, izgulsnēšanā un reducēšanās–oksidēšanās reakcijās, kas īstermiņā samazina smago metālu mobilitāti un bio-pieejamību, tomēr atklāts ir jautājums par ilgtermiņa komposta humusvielu ietekmi uz smago metālu piesārņotās augsnes remediācijas procesu (Chen *et al.*, 2008).

1.6.2. Lignocelulozi saturošo materiālu modificēšana ar silīcija savienojumiem

Kompostēšanas procesā iegūto humificēto materiālu var modificēt ar biogēniem elementiem, lai palielinātu jauniegūtā produkta bioloģisko aktivitāti un samazinātu tā patēriņu. Silīcijs ir biogēns elements, kas veicina auga ķīmisko un fizikālo aizsardzību pret biotisko un abiotisko faktoru izraisīto stresu (Epstein, 2009). Palielinoties bioloģiski pieejamā silīcija daudzumam augsnē, pieaug vairāku graudzāļu dzimtas augu (piemēram, rīsu, cukurniedru, sorgo, kviešu, miežu), kā arī citu augu ražība (piemēram, sojas, pupiņu, tomātu) (Korndörfer *et al.*, 2011).

Augu biomasas, to pamatkomponentu un humusvielu modificēšanai ar silīcija savienojumiem ir piedāvāti dažādi paņēmieni. Biopolimēru modificēšanai plaši izmanto dažādus metālu/metaloīdu alkoksīdus Met(OR)_n , kur R ir organiskais radikālis, piemēram, celulozes–silīcija hibrīda materiālu iegūšanai tika lietota sol-gela metode, izmantojot tetraetoksisilānu (Sequeira *et al.*, 2007). Vienlaikus biopolimēra molekulā var ievadīt vairākus biogēnos elementus. Humusvielu modificēšanai ar silīcija un slāpekļa savienojumiem ir piedāvāts izmantot 3-aminopropiletoksīsīlānu. Iegūto produktu iestrādājot augsnē, tas darbojas kā lēnas iedarbības slāpekļa mēslojums. Augsnē humusvielu–slāpekļa–silīcija hibrīda materiāla slāpekļis tiek nitrificēts un pakāpeniski atbrīvots nitrātu formā (Kulikova *et al.*, 2012).

Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas Institutā ir izstrādāta metode tehnisko lignīnu modificēšanai ar silīcija savienojumiem (Teliševa un Ļebedeva, 1998). Izmantojot neorganiskos silīcija savienojumus un lignocelulozes matricu, var iegūt organiski-neorganisko hibrīda materiālu – lignosilīciju, kas veicina augsnes bioloģisko aktivitāti un remediāciju (Telysheva *et al.*, 2009a). Lignosilīcija augu augšanas promotējošās īpašības ir pārbaudītas uz sarkano āboliņu (Ļebedeva u. c., 2007), egles stādiem (Telysheva *et al.*, 2009b), kartupeļiem (Lebedeva *et al.*, 2011) un citiem augiem.

Latvijā pašlaik nav koksnes ķīmiskās pārstrādes rūpniecības, kur rodas tehniskais lignīns, tāpēc ir aktuāli iegūt lignosilīcija analogus no pieejamām, vietējām izejvielām, tādām kā lignocelulozi saturoša komposta.

1.7. Literatūras apskata kopsavilkums

Dažādus lignocelulozi saturošus atkritumus var veiksmīgi kompostēt, tomēr, ja izejvielas satur maz slāpekļa un ir bagātas ar lignīnu, ieteicams pievienot papildu izejvielas, kas satur slāpekļa savienojumus un lietot speciāli pagatavotus sējmateriālus, kas aktīvi sadala lignocelulozi. Kopā ar augu atliekām var veiksmīgi kompostēt dažādus taukus saturošus atkritumus, kaut gan tauku un eļļu ietekme uz komposta humusvielu veidošanu ir ļoti maz pētīta.

Kaut arī cilvēce jau ilgu laiku pazīst kompostēšanu un mūsdienās to plaši lieto dažādu atkritumu pārstrādei, kā arī organisko augsnes ielabošanas līdzekļu ražošanai, kompostēšanas procesa ķīmiskās pārvērtības joprojām nav pietiekami izpētītas. Daļēji tas saistīts ar kompostu lielo daudzveidību, kā arī ar jaunradīto humusvielu komplicēto uzbūvi. Esošās humusvielu definīcijas apraksta to īpašības, biogēnēzi, izcelsmi un pat iegūšanas viedu, nevis konkrētu ķīmisko uzbūvi. Komposta kvalitāte ir atkarīga no komposta humusvielām. Izpētot komposta humusvielu ķīmisko sastāvu un tā izmaiņas, var iegūt jaunus parametrus, kas raksturotu komposta kvalitāti. Humusvielu pētīšanai ir piedāvātas daudzas un dažādas metodes. Ņemot vērā lielo lignocelulozes saturu pētāmajā kompostā un lignīna nozīmi humusvielu veidošanā,

pastiprināta uzmanība jāpievērš lignīna transformācijai kompostēšanas gaitā, izmantojot dažādas ķīmiskās un instrumentālās pētīšanas metodes, lai iegūtu daudzpusīgu priekšstatu par šiem procesiem.

Gatavo kompostu var izmantots ne tikai kā augsnes organisko ielabošanas līdzekli, tas arī pilda barjerfunkciju, augsnē ierobežojot smago metālu piesārņojumu. Lignocelulozes komposts satur ievērojamu daudzumu bioloģiski modificēta lignīna, un to varētu izmantot silīcija saturošu organiski-neorganisko hibrīda materiālu iegūšanai, kam piemīt augu augšanas stimulatoru īpašības. Tas veicinātu komposta tirgus paplašināšanu un jaunu, kompostu saturošu produktu ražošanu.

2. MATERIĀLI UN METODES

Visi darbā izmantotie reaģenti bija analītiski tīri, ja vien tiem nebija norādīta papildus tīrības pakāpe, un netika papildus attīrīti.

2.1. Komposta izejvielas

Darbā tika analizētas dažādas potenciālās komposta izejvielas: svaigi pļauta stiebrzāļu dzimtas (*Graminaceae*) zāle, 2 veidu šķidrie atkritumu tauki un kā komposta „sausais” komponents apses (*Populus tremula*) un bērza (*Betula* spp.) zāģskaidu maisījums, egles (*Picea abies*) zāģskaidas un baltalkšņa (*Alnus incana*) miza. Zāle tika pļauta 2008. gada jūnijā SIA „Zeltābele” pļavās Jaunaucē (Saldus novads). Zāģskaidas tika iepirktas no SIA „Dace Z” uzņēmuma Aucē (Auces novads). Baltalkšņa miza tika iegūta no apmēram 30 gadus veciem baltalkšņiem, kas auguši Ogres novadā, Ogresgala apkaimes mežos. Tika analizēti 2 dažādi šķidro atkritumu tauku veidi – lopkautuves Z/S „Lankalni” (Nīkrāces pagasts, Skrundas novads) šķidrie gaļas atkritumu tauki un Saldus gaļas kombināta notekūdeņi, kas satur atkritumu taukus. Komposta izejvielu raksturošanai tika noteikts to sausnas saturs un elementu sastāvs. Sausnas saturu noteica, ietvaicējot alikvotu šķidro atkritumu tilpumu un žāvējot sauso atlikumu žāvskapī 103±2 °C temperatūrā līdz konstantai masai (Оболенская и др., 1991).

2.2. Komposta paraugi

Darbā tika analizēti 2 komposta paraugi dažādās kompostēšanas stadijās: eksperimentālais zāles-skaidu komposts, kuru ieguva kompostēšanas eksperimentos laika posmā no 2008. līdz 2009. gadam, kompostējot zāli un zāģskaidas kopā ar šķidrajiem gaļas atkritumu taukiem SIA „Zeltābele” kompostēšanas laukumā (Jaunaucē, Saldus novads, Latvija) un rūpnieciskais zāles komposta paraugs no „Nihon Doro Kodan” Itako pilsētas kompostēšanas uzņēmuma (Japānas Automaģistrāļu Publiskā Korporācija, Itako, Ibaraki prefektūra, Japāna) (turpmāk – komposts JP).

Zāles-skaidu komposts tika pagatavots no svaigi pļautas zāles, lapkoku zāģskaidām, šķidriem lopkautuves atkritumu taukiem (Z/S „Lankalni”, Skrundas novads) un speciāli pagatavota sējmateriāla. Kompostēšanai izmantots LU Mikrobioloģijas un Biotehnoloģijas Institutā pagatavots sējmateriāls, kas saturēja 4 baktēriju celmus (*Pseudomonas* spp., *Nitrosomonas* spp., *Nitrobacter* spp. un *Sarcina* spp.) un 2 sēņu celmus (*Trichoderma lignorum* un *Trichoderma viride*). Baktēriju celmi bija izolēti no bioloģiski aktīvām notekūdeņu dūņām, kas iegūtas no zivju pārstrādes uzņēmuma taukus saturošo notekūdeņu attīrīšanas iekārtām (Zariņa and Utinans, 2003). *Trichoderma* spp. ir pazīstamas kā aktīvi celulāzes, hemicelulāžu un laktāžu producenti un šo sēņu iekļaušana sējmateriāla sastāvā nodrošina paātrinātu lignocelulozes materiālu sadalīšanos. Kompostēšana notika ~1,2-1,5 m augstās atklātās vējriņdās (stirpās). Komposta kaudzes mehāniski tika aerētas 1 reizi 2 nedēļās un pēc vajadzības samitrinātas, lai uzturētu nepieciešamo kaudzes mitrumu. Eksperimenta laikā tika pagatavotas komposta kaudzes ar trīs dažādiem sastāviem: A, B un C (2.1. tab.).

2.1. tabula. Zāles–skaidu komposta kaudžu kompozīcija

Paraugi	Komposts A, kg	Komposts B, kg	Komposts C, kg
Zāģskaidas	300	300	300
Zāle	130	30	130
Atkritumu tauki	100	55	55

Kompostēšanas laikā tika mērīta kaudžu temperatūra 30–35 cm dziļumā, kā arī regulāri tika ņemti paraugi analīzēm. Gatavam kompostam tika noteikts metālisko elementu saturs un veiktas nepieciešamās mikrobioloģiskās un fitotoksiskuma pārbaudes. Darba gaitā tika izstrādāti šķidro lopkautuvju atkritumu tauku kompostēšanas pagaidu tehniskie noteikumi un reglaments eksperimentālo kompostu partiju sagatavošanai. Maksimālā temperatūra kompostēšanas laikā komposta A kaudzēs sasniedza 64 °C. Komposta paraugi tika ņemti 20. kompostēšanas dienā uzreiz pēc termofilās fāzes, kad kaudzes temperatūra nokrita zem 55 °C, kā arī 56. kompostēšanas dienā komposta atdzišanas fāzē, 86. kompostēšanas dienā, un gatavais komposts – pēc 186 kompostēšanas dienām.

Komposts JP tika pagatavots Itako kompostēšanas uzņēmumā, kompostējot zāli, kas nopļauta automaģistrāļu nogāzēs. Zāles maisījums sastāvēja no tipiskām Japānas graudzāļu (*Graminaceae*) sugām – *Phalaris* spp., *Cynodon* spp. un *Eleusine* spp. Kompostēšana notika angāros atklātās komposta kaudzēs. Maksimālā temperatūra kompostēšanas laikā sasniedza 80 °C. Komposta paraugi tika paņemti termofilās fāzes beigās pēc 14 dienām, un gatavais komposts – pēc 60 kompostēšanas dienām. Kā salīdzināšanas paraugs izmantots attiecīgās zāles maisījums. Komposta paraugi bija sasaldēti -20 °C temperatūrā. Pirms analīzēm komposta paraugi tika liofilizēti un samalti, izmantojot 420 µm sietus. Pirms ķīmiskajām analīzēm komposts papildus tika samalts lodīšu dzirnavās (*Retsch*, MM200, Vācija).

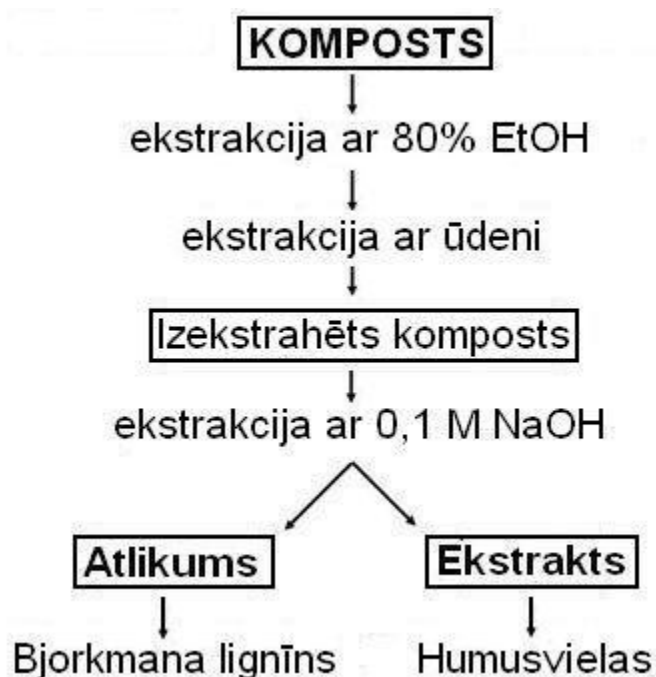
2.3. Bjorkmana lignīna un humusvielu izdalīšana no zāles komposta

Lai izpētītu bioķīmiskos procesus, kas notiek, lignocelulozes izejvielām transformējoties par komposta humusvielām, no zāles kompostiem JP pēc 14 un 60 kompostēšanas dienām tika izdalītas ekstrahējamās humusvielas (HV) un Bjorkmana lignīns. Pirms humusvielu un Bjorkmana lignīna izdalīšanas komposts tika secīgi ekstrahēts ar vārošu 80% etanolu un siltu ūdeni (40 °C, diennakts) (2.1. att.).

Humusvielas tika ekstrahētas ar 0,1 M NaOH. Pēc ekstrakcijas sārmains ekstrakts tika filtrēts, paskābināts un attīrīts no sāļiem un skābes pārākuma, izmantojot elektrodialīzi (*Asahi Chemical Micro Acilyzer S3*) ar MWCO 7500 membrānām. Ekstrahētais komposta atlikums pēc tam apstrādāts ar skābi, izskalots ar ūdeni un pēc žāvēšanas izmantots Bjorkmana lignīna izdalīšanai.

Lignīns tika izdalīja pēc modificētas Bjorkmana metodes (Björkman, 1954), izmantojot lodīšu dzirnavas ar ārejo dzesēšanu. Atšķirībā no Bjorkmana aprakstītās metodes komposta paraugi tika malti 72 h inertā atmosfērā bez šķīdinātāja. No samaltā komposta lignīns ekstrahēts ar 90% dioksānu. Dioksānu atdestilē 50 °C temperatūrā pazeminātā spiedienā, sauso atlikumu izšķīdina 90% etiķskābē, un lignīnu izgulsnē, pievienojot ūdeni (~ 1:10). Nogulsnes tika žāvētas vakuuma žāvēskapī. Lignīns tika izšķīdināts 1,2-dihloretāna : etanola (2:1) maisījumā, filtrēts un

izgulsnēts dietilēterī (Björkman, 1954). Kā salīdzināšanas paraugs izmantots bērza Bjorkmana lignīns, kas bija izdalīts no nokarenā bērza (*Betula pendula*) skaidām pēc līdzīgas metodes.



2.1. attēls. Bjorkmana lignīna un humusvielu ekstrakcijas shēma no zāles komposta

2.4. Fulvoskābes un humīnskābes izdalīšana no zāles-skaidu komposta

Lai izpētītu iespējamo atkritumu tauku ietekmi uz komposta humusvielām, no zāles-skaidu komposta A tika izdalītas komposta humīnskābes (HS) un fulvoskābes (FS). Pirms humusvielu ekstrakcijas komposta paraugi bija ekstrahēti ar heksānu Soksleta aparātā lai atdalītu brīvās taukskābes. Humusvielas tika izdalītas un attīrītas saskaņā ar Starptautiskās Humusvielu Savienības izmantoto metodi (Swift, 1996). Humusvielas tika ekstrahētas ar 0,1 M NaOH. Pēc centrifugēšanas un filtrēšanas ekstrakts tika paskābināts līdz pH 1 ar sālsskābi un atdalītas humīnskābju nogulsnes. Skābais centrifugāts tika izlaists caur PVP (polivinil-pirolidona) kolonu, lai atdalītu fulvoskābes no ne-humusvielām. Fulvoskābes eluētas ar NaOH šķīdumu. Humīnskābes un fulvoskābes tika attīrītas no sāļiem, izmantojot dialīzi (*Spectra/Por® Dialysis Membrane 6, molecular weight cut off – 1000 Da*) un liofili izžāvētas.

2.5. Kompostu raksturojums

Komposta pH noteikts ūdenī, sajaucot kompostu ar ūdeni attiecībās 1:5 un maisot 1 h (Минеева, 2001). Pelnu saturs noteikts pēc masas zuduma, pārpelnojot komposta paraugus 700 °C temperatūrā 3 h. Elementu analīze veikta ar *CE instrument Flash EA1112* (ThermoQuest, Itālija) iekārtu. Zāles-skaidu komposta paraugos tika noteiktas brīvās taukskābes izmantojot ekstrakciju Soksleta aparātā ar *n*-heksānu (Оболенская и др., 1991).

Komposta ogļhidrātu monomēru sastāvs noteikts pēc alditolu acetāta metodes (Blakeney *et al.*, 1983). Metode balstās uz polisaharīdu uzbriedināšanu 72% sērskābē 1 h un turpmāko hidrolīzi, izmantojot 4% sērskābi (121 °C, 1 h). Monosaharīdi tika reducēti ar nātrija borhidrātu līdz attiecīgiem alditoliem. Alditoli tika acetilēti, un to saturs noteikts ar gāzes hromatogrāfu (*Shimadzu* GC18A, kolona TC17 GL *Science*, 30 m × 0,25 mm), izmantojot ramnozes, arabinozes, ksilozes, mannozes, galaktozes un glikozes cukuru standartus un mio-inozitolu kā iekšējo standartu.

Lignīna saturs noteikts pēc acetilbromīda metodes un Klāsona metodes kopā ar skābē šķīstošā lignīna UV noteikšanas metodi. Nosakot lignīnu pēc acetilbromīda metodes, paraugu apstrādā ar 25% acetilbromīda šķīdumu etiķskābes anhidrīdā, kā katalizatoru izmantojot perhlorskābi HClO₄. Iegūtajā šķīdumā fotometriski nosaka lignīna saturu pie 280 nm, izmantojot specifisko absorbcijas koeficientu $\epsilon = 20 \text{ g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Iiyama and Wallis, 1990). Klāsona jeb skābē nešķīstošais lignīns noteikts gravimetriski pēc TAPPI standarta metodes T222 om-83. Izekstrahētu komposta paraugu vispirms apstrādā ar 72% sērskābi un pēc tam hidrolizē ar atšķaidītu sērskābi. Nogulsnes filtrē, mazgā ar destilētu ūdeni, žāvē līdz konstantai masai pie 103 ± 2 °C temperatūrā un nosver. Filtrātā spektrofotometriski nosaka izšķīdušo lignīnu pie 205 nm, izmantojot specifisko absorbcijas koeficientu $\epsilon = 110 \text{ g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Lin and Dence, 1992).

Metoksilgrupu saturs noteikts, izmantojot gāzes hromatogrāfijas metodi (Baker, 1996). Vispirms paraugu apstrādā ar 57% jodūdeņraža skābi 130 °C temperatūrā (20 min). Reakcijas rezultātā rodas metiljodīds CH₃J, kuru nosaka ar gāzes hromatogrāfu (*Shimadzu* GC14, kolona CP SIL13CB, 25 m × 0,32 mm), izmantojot etiljodīdu C₂H₅J kā iekšējo standartu.

2.6. Komposta Bjorkmana lignīnu un humusvielu ķīmiskās analīzes

Komposta Bjorkmana lignīniem un humusvielām pēc iepriekšminētām metodikām noteikts elementu sastāvs un metoksilgrupu saturs. Ķīmiski saistīta 4-hidroksikanēļskābe un ferulskābe noteikta pēc sārmainās hidrolīzes ar 4 M NaOH 170 °C temperatūrā slāpekļa atmosfērā 2 h (Lam *et al.*, 1994). Brīvās kanēļskābes sililētas ar N,O-bis(trimetilsilil)acetamīdu, trimetilhlorsilāna un piridīna maisījumu un kvantitatīvi noteiktas ar gāzes hromatogrāfu (*Shimadzu* GC17, kolona NB1 GL *Science*, 30 m × 0,25 mm), kā standartus izmantojot 4-hidroksikanēļskābi un ferulskābi.

Sārmainā nitrobenzola oksidēšana (NBO) veikta pēc metodikas, kas aprakstīta Iijamas (Iiyama and Lam, 1990) darbā. Paraugi oksidēti ar nitrobenzolu 2 M NaOH 170 °C temperatūrā slāpekļa atmosfērā 2 h. NBO rezultātā rodas aromātiskie aldehīdi un karbonskābes, kuras tika sililētas un noteiktas ar gāzes hromatogrāfu (*Shimadzu* GC17, kolona NB1 GL *Science*, 30 m × 0,25 mm). Kvantitatīvai noteikšanai izmantoti *para*-hidroksibenzaldehīds, *para*-hidroksibenzoskābes, vanilīna, vanilīnskābes, siringilaldehīda un siringilskābes standarti un etilvanilīns kā iekšējais standarts.

Analītiskā ozonēšana veikta pēc Akijamas aprakstītās metodes (Akijama *et al.*, 2002). Paraugi tika suspendēti etiķskābes : ūdens : metanola (16:3:1) maisījumā un oksidēti 0 °C temperatūrā 2 h ar skābekļa plūsmu, kas saturēja ~ 3% ozona. Radušās tetronīnskābes noteiktas ar gāzes hromatogrāfu (*Shimadzu* GC17, kolona NB1 GL *Science*, 30 m × 0,25 mm) kā trimetilsililatvasinājumi, izmantojot eritronīnskābes un treonīnskābes standartus un eritrolu kā iekšējo standartu.

Oksidēšana ar kālija permanganātu sārmainā vidē veikta pēc Lina aprakstītās metodikas (Lin and Dence, 1992). Pirms permanganāta oksidēšanas veikta paraugu sulfāta vienpakāpes delignifikāciju („Krafta vārīšana”) 170 °C temperatūrā 2 h ar 50% sulfiditāti, lai sašķeltu lignīna alkil-aril-ētera saites un palielinātu benzoscābju iznākumu. Pēc sulfāta delignifikācijas paraugu paskābina līdz pH 1, centrifugē un lignīnu izšķīdina dioksānā. Dioksāna šķīdumu nofiltrē, atdestilē, un lignīnu izšķīdina 1,2-dimetoksietāna : metanola : ūdens maisījumā un metilē ar dimetilsulfātu pie pH 11. Metilētu lignīnu oksidē ar kālija permanganātu sārmainā vidē un pēc tam papildus oksidē ar ūdeņraža pārskābi. Permanganāta oksidēšanas produkti tika metilēti ar diazometānu un noteikti kā metilatvasinājumi, izmantojot gāzes hromatogrāfu ar masspektrometru *Shimadzu GC17/QP5000* (kolona NB1 GL Science, 30 m × 0,25 mm). Eksperimentiem nepieciešamais diazometāna dietilētera šķīdums sintezēts no N-metil-N-nitrozo-*para*-toluensulfonamīda.

Lignīnu UV spektri uzņemti ar *Hitachi U3010* spektrometru, kā šķīdinātāju izmantojot metilcelosolvu (CH₃OCH₂CH₂OH). Lignīnu UV Δε_{ion} spektri uzņemti pēc Goldšmida metodes (Goldschmid, 1954) pirms un pēc lignīnu reducēšanas ar nātrija borhidrātu. Lignīnu reducēšana ar nātrija borhidrīdu veikta pēc Zaķa aprakstītās metodikas (Zakis, 1994).

Potenciometriskā titrēšana veikta ar *Hiranuma Comtite Auto Titrator COM 550* slāpekļa vidē. FTIS spektri uzņemti KBr tabletēs, izmantojot *Jasco FT/IR615* spektrometru (izšķirtspēja – 4 cm⁻¹, skanēšanas reižu skaits – 64).

Analītiskā pirolīze veikta mikropirolizatorā (PYR4A, *Shimadzu*) 500 °C temperatūrā. Pirolizāti bija identificēti, izmantojot gāzes hromatogrāfijas masspektrometru *Shimadzu GC17/QP5000* (kolona NB1 GL Science, 30 m × 0,25 mm).

Pirms kodolu magnētiskās rezonanses (KMR) spektru uzņemšanas lignīna paraugi bija acetilēti ar etiķskābes anhidrīdu, kā katalizatoru izmantojot piridīnu (Lundquist and Olson, 1977). 30 mg acetilēta lignīna tika izšķīdināti hloroformā-d (CD₃Cl), un uzņemti ¹H KMR spektri (skanēšanas reižu skaits – 128) pie 300 MHz un ¹³C KMR spektri (skanēšanas reižu skaits – 20000) pie 75 MHz, izmantojot *Bruker* 300 MHz NMR aparātu. Kā iekšējais standarts izmantots tetrametilsilāns (CH₃)₄Si.

2.7. Komposta humīnskābju un fulvoskābju ķīmiskās analīzes

Komposta humīnskābju un fulvoskābju elementu analīze veikta ar *Vario MACRO CHNS apparatus (Elementar Analysen-systeme, GmbH)*. Skābeklis noteikts pēc masas starpības.

Humīnskābju un fulvoskābju UV-VIS spektru uzņemšanai 5 mg parauga tika izšķīdināti 10 ml 0,5 M NaHCO₃ šķīduma. UV-VIS spektri tika uzņemti ar „Lambda 25” *PerkinElmer* spektrometru. FTIS spektri uzņemti KBr tabletēs, izmantojot „SpectrumOne” *PerkinElmer* spektrometru (izšķirtspēja – 4 cm⁻¹, skanēšanas reižu skaits – 64). EPR spektri uzņemti istabas temperatūrā uz *Bruker EMX* spektrometra pie 9,6 GHz un magnētiskā lauka modulācijas 50 kHz. Spektrometra iestādījumi bija šādi: modulācijas amplitūda ≤ 0,1 mT, laika konstante 5,1 ms, lauks pie 345,0 un 250,0 mT G, skanēšanas diapazons 10 mT.

Humīnskābju un fulvoskābju molekulmasas sadalījums noteikts, izmantojot HPSEC sistēmu ar UV detektoru (*Knauer* sūkņi, *Rheodyne* inžektors, *Agilent Technologies* 1200 Series UV-DAD detektors). Izmantota BioSep-SEC-S 2000 PEEK kolonna, kas pildīta ar silikagelu, pārklātu ar glicerolu (300 × 7,50 mm, *Phenomenex*). Kolona kalibrēta ar nātrija polistirola sulfonāta standartiem ar molekulmasu 0,21, 4,3,

6,8, 13,0 kDa (*Sigma-Aldrich*). Paraugi šķīdināti 0,02 M fosfāta bufera šķīdumā (pH 6,8) un noteikti pie $\lambda = 280$ nm.

Analītiskā pirolīze tika veikta mikropirolizatorā *Frontier Lab Micro Double-shot Pyrolyser* (Py-2020iD) 500 °C temperatūrā. Pirolizāti tika analizēti, izmantojot gāzes hromatogrāfu ar masspektrometru *Shimadzu GC/MS-QP2010* (kolona RTX-1701, 60 m × 0,25 mm). Individuālie savienojumi tika identificēti, izmantojot masspektru datubāzi MS NIST 147.LI13. Hromatogrāfiskie un masspektrometrijas apstākļi detalizēti aprakstīti publikācijās (Dizhbite *et al.*, 2011; Bikovens *et al.*, 2012).

2.8. Kompostu fitotoksiskuma pārbaude

Zāles-skaidu komposta fitotoksiskums tika pārbaudīts, izmantojot dīgšanas testu ar salātu (*Lepidium sativum*) un *Ostreg C.V.* šķirnes kukurūzas (*Zea mays*) sēklām. Dīgšanas testam sēklas mērcē ūdenī 1 h 20–22 °C temperatūrā, pēc tam izvieta uz mitra filtrpapīra un ievieto klimatiskajā kamerā (HOTCOLD-GL< P-Selecta) 38–40 h 26 °C temperatūrā, līdz asni sasniedz 2 mm garumu. Izdīgušās sēklas (10 gab.) ar asniem uz augšu ievieto Petri traukos uz filtrpapīra, kas samitrināts ar 10 ml pārbaudāmā komposta suspensiju, nosedz ar vāciņu un ievieto vēl uz 48 h klimatiskajā kamerā ($t = 26$ °C, 70% mitrums). Pēc 48 h novērtē augu attīstību: izmēra garākās saknes un dīgļa garumu, nosaka kopējo sakņu skaitu (Гродзинский и др., 1987).

Lai novērtētu komposta ietekmi uz *Ostreg C.V.* kukurūzas augšanas galvenajiem biometriskajiem rādītājiem, tika izmantots ISO 11269-1 augu saknes pagarināšanas tests ar uzbriedušām kukurūzas sēklām. Veģetācijas traukā (tilpums 1,0 l), kas pildīts ar kompostu, smiltīm vai augsnes substrātu (KANO Nr3 maisījums, SIA “KANO-P”), tika iesētas 6 uzbriedušas kukurūzas sēklas un audzētas 6 dienas 24 ± 1 °C temperatūras un 12000 luksu apgaismojumā 16 h diennaktī. Kukurūzas biometriskie rādītāji noteikti, izmantojot kalibrējošo skeneri STD-1600+ un programmu *WinRHIZO 2002c* (*Regent Instruments Inc.*).

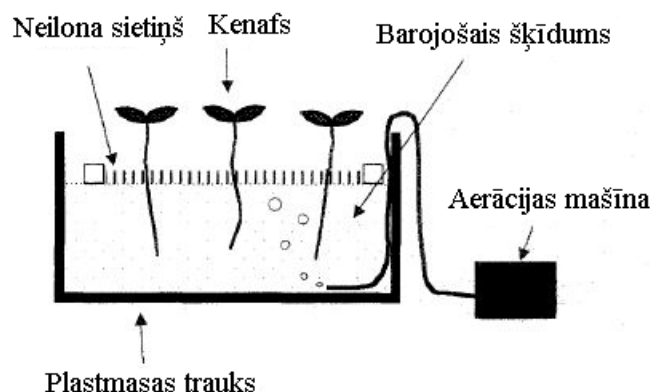
2.9. Smago metāla jonu sorbcija uz komposta

Metāla jonu sorbcija uz komposta tika veikta stacionāros apstākļos, izmantojot vara un kadmija nitrātu šķīdumus. Sorbentam (0,1 g) tika pievienots 50 ml $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ vai $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ šķīduma ar koncentrāciju 10 mg/l. Sorbēto metāla jonu daudzums noteikts pēc koncentrācijas starpības pirms un pēc sorbcijas. Sorbcijas laiks bija 24 h 22 ± 1 °C temperatūras. Šķīdumu pH tika mainīts robežās no 3 līdz 7, pievienojot atšķaidītu slāpekļskābi vai nātrija hidroksīda šķīdumu. Metāla jonu koncentrācija šķīdumā noteikta, izmantojot liesmas atomabsorbcijas spektrometru *Hitachi Z6100*.

2.10. Svina (II) jonu fitotoksiskuma pārbaude komposta humusvielu klātbūtnē

Svina (II) jonu fitotoksiskuma pārbaudēm izmantots kenafa (*Hibiscus cannabius*) galvenās saknes pagarināšanas tests pēc metodikas, kas aprakstīta Kacumatas darbā (Katsumata *et al.*, 2001). Kenafa sēklas apstrādātas ar giberelīnu 24 h un diedzētas tumsā uz filtrpapīra, kas piesūcināts ar destilēto ūdeni. Testiem

izmantotas 10 diedzētas sēklas, kuras novietotas uz peldoša neilona sietiņa 2 l plastmasas traukos ar barošanas šķīdumu, caur kuru tika burbuļots gaiss (2.2. att.).



2.2. attēls. Kenafa audzēšanas sistēma barojošajā šķīdumā

Barojošais šķīdums saturēja 0,6 mmol KNO_3 , 0,04 mmol KH_2PO_4 , 0,2 mmol NaNO_3 , 0,4 mmol CaCl_2 , 0,2 mmol MgSO_4 , 4,0 μmol Fe, 6,0 μmol B, 1,0 μmol Mn, 0,1 μmol Zn, 0,06 μmol Cu un 0,02 μmol Mo. Trauki bija ievietoti fitotronā (*System Biotron, Nippon Medical and Chemical Instrument*) $23,5 \pm 1$ °C temperatūrā un ar 5000 luksu apgaismojumu 14 h diennaktī. Kenafa sakņu mērījumi tika veikti pēc 14 dienām. Barojošajam šķīdumam pievienoti 0 – 2 mg/l svina (II) un 50 mg/l komposta humusvielas. Šķīdumu pH bija 4,5. Lai kompensētu iztvaikošanu, regulāri tika pievienots destilēts ūdens.

3. REZULTĀTI UN DISKUSIJA

3.1. Komposta izejvielu raksturojums

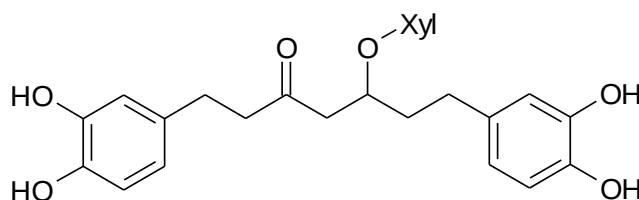
Lai sastādītu komposta kompozīciju, tika veikta dažādu augu izcelsmes izejvielu (3.1. tab.) un gaļas atkritumu tauku analīze (3.2. tab.). Komposta pamatmasu veido svaigi pļauta stiebrzāļu (*Graminaceae*) dzimtas zāle. Gaļas atkritumu taukos ir ievērojams daudzums ūdens, tāpēc, lai samazinātu mitrumu, komposta kaudzei kā „sausais” komponents tika pievienoti koksnes mehāniskās pārstrādes atkritumi.

3.1. tabula. Dažādu augu izcelsmes izejvielu elementu sastāvs (% no sausnas)

Paraugi	C	H	N	C/N	Pelni
Baltalkšņa miza	51,8	5,94	0,97	53	3,65
Lapkoku zāgskaidas	46,4	6,45	0,16	290	0,36
Skujkoku zāgskaidas	47,6	6,46	0,13	366	0,36
Svaigi pļauta zāle	38,6	5,07	1,96	20	14,1

Skujkoku zāgskaidas salīdzinājumā ar lapkoku zāgskaidām satur vairāk oglekļa un mazāk slāpekļa, kā arī satur lielāku daudzumu ekstraktvielu, kas kavē to bioloģisko noārdīšanos. 2008. gada eksperiments parādīja, ka, aizvietojo lapkoku zāgskaidas ar skujkoku zāgskaidām komposta kaudzes temperatūra ceļas ļoti lēni – tas norāda uz kompostēšanas procesa inhibēšanu.

Baltalkšņa mizas C/N attiecība ir ievērojami mazāka par zāgskaidu C/N attiecību – tā ir priekšrocība kompostēšanai, taču vienlaikus baltalkšņa miza satur ievērojamu daudzumu oglekļa – tas liecina par ievērojamu fenolu un/vai lipofīlo savienojumu klātbūtni. Veicot mizas ekstrakciju ar heksānu un spirtu, tika ieguti 8,1% lipofīlo ekstraktvielu un 36,8% hidrofilo ekstraktvielu. Lipofilās ekstraktvielas saturēja lupāna tipa triterpenoīdus (Bikovens *et al.*, 2013), savukārt hidrofilās ekstraktvielas saturēja galvenokārt kondensētos tanīnus un diarilheptanoīdus (attiecīgi 12 un 7% no sausnas) (3.1. att.) (Telysheva *et al.*, 2011).



3.1. attēls. Baltalkšņa mizas hidrofilo ekstraktvielu dominējošais savienojums diarilheptanoīds oregonīns

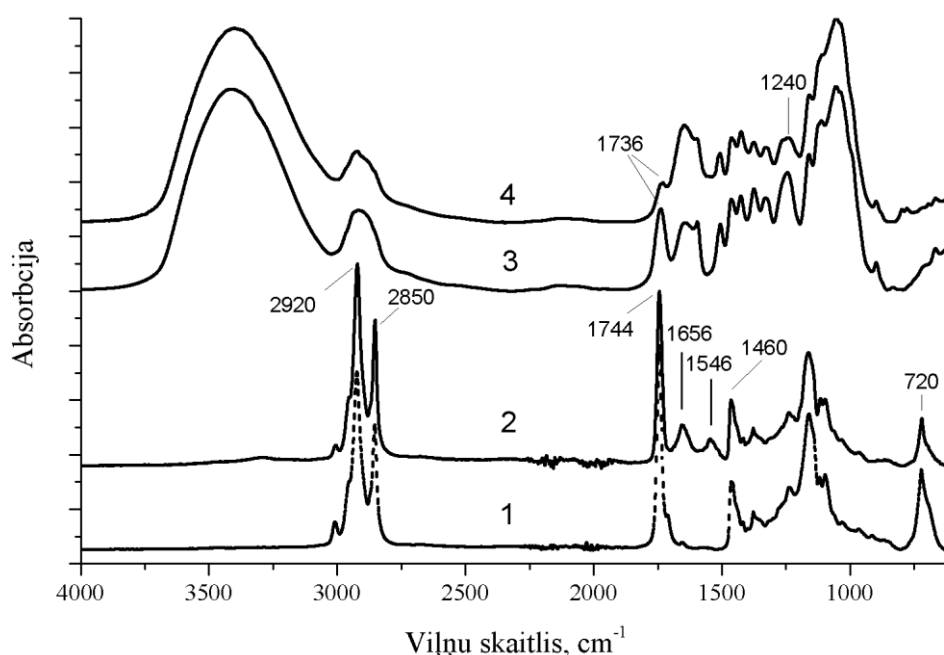
Hidrofilais baltalkšņa mizas ekstrakts uzrādīja izteiktu antibakteriālu efektu attiecībā pret *E.coli* un 24 gram negatīvo baktēriju asociācijām, kas izdalītas no augsnes (*Pseudomonas* spp., *Burkholderia* spp., *Aeromonas* spp., *Enterobacter* spp.). Ņemot vērā to, ka baltalkšņa mizās ir ievērojami daudz fenola savienojumu, kas varētu negatīvi ietekmēt komposta sējmateriāla aktivitāti, komposta kompozīcijas izveidei kā „sausais” komponents izmantots lapkoku zāgskaidas. Baltalkšņa mizu

varētu izmantot kompostēšanai pēc vērtīgu bioloģiski aktīvu savienojumu ekstrakcijas. Ekstrahējot baltalkšņa mizu ar organiskajiem šķīdinātājiem, relatīvais C saturs samazinās līdz 50,8%, bet N saturs pieaug līdz 1,2%, kas būtu vērtējams pozitīvi mizas kompostēšanai (Telysheva *et al.*, 2011). Latvijā pagaidām nenotiek rūpnieciska mizas ekstrakcija un izekstrahētās mizas daudzumi ir nenozīmīgi.

3.2. tabula. Gaļas atkritumu tauku sausnas saturs un elementu analīze, %

Paraugi	Sausna	C	H	N	C/N
Gaļas kombināta taukus saturošie notekūdeņi	5,1	56,3	8,1	0,9	61
Lopkautuves atkritumu tauki	15,6	48,7	7,2	4,5	11

Darbā tika analizēti Saldus gaļas kombināta un Nīkrāces pagasta Z/S „Lankalni” lopkautuves gaļas atkritumu tauki (3.2. tab.). Saldus gaļas kombināta atkritumi ir notekūdeņi ar suspendētām taukaudu daļiņām. Šādi notekūdeņi ir nepiemēroti utilizācijai komposta kaudzēs to lielā atšķaidījuma (tikai 5% sausnas) un augstas oglekļa un slāpekļa attiecības dēļ ($C/N > 60$). Z/S „Lankalni” lopkautuves atkritumi ir taukaudi ar muskuļu šķiedru un asiņu piejaukumu. Salīdzinājumā ar gaļas kombināta atkritumiem lopkautuves atkritumi saturēja gandrīz piecas reizes vairāk slāpekļa. Sausnas saturs veido gandrīz 16%, kas ļauj tos apskatīt kā potenciālu izejvielu kompostēšanai.



3.2. attēls. Kompostējamo izejvielu un komposta FTIS spektri

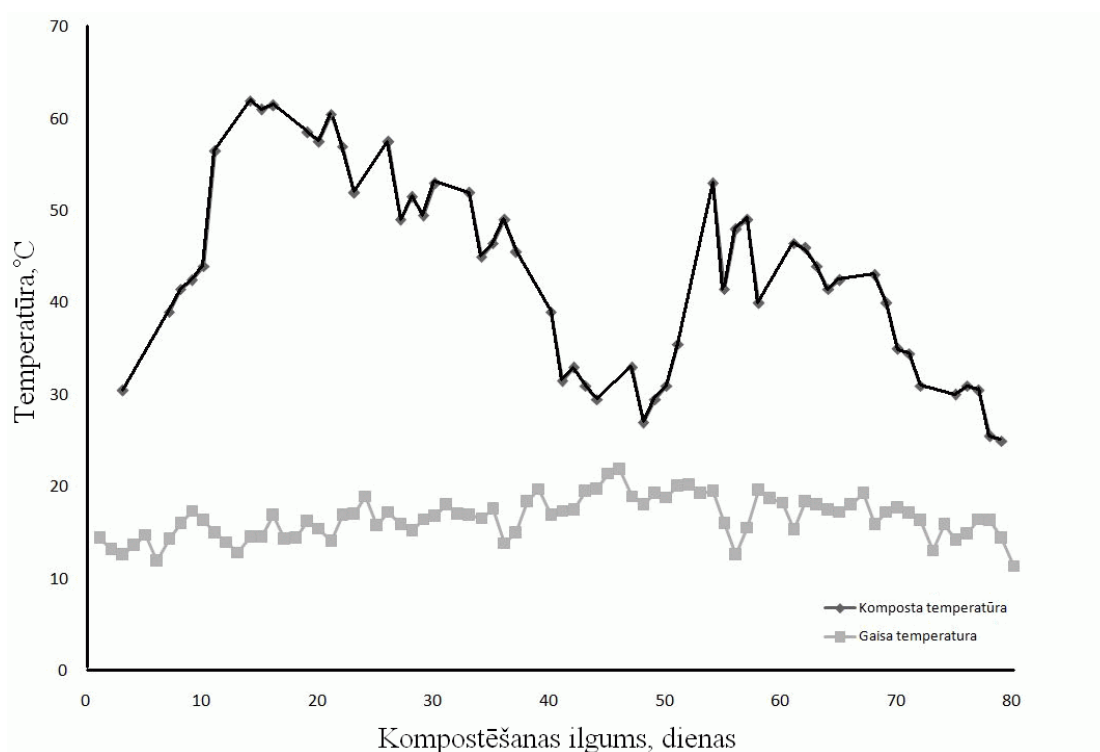
1 – Saldus gaļas kombināta flotācijas tauki; 2 – Z/S „Lankalni” lopkautuves atkritumu tauki;
3 – lapkoku zāģskaidas; 4 – komposts A pēc 20 kompostēšanas dienām

Izmantojot infrasarkanā spektroskopiju (FTIS), salīdzināti liofilizētie gaļas ražošanas atkritumu tauki (3.2. att.). FTIS spektri parādīja, ka gaļas atkritumu tauki sastāv galvenokārt no esterificētām taukskābēm jeb karbonskābēm ar garu alifātisko ķēdi: alifātiskās ķēdes svārstības pie 2920, 2850, 1460, 720 cm^{-1} un esteru

karbonilgrupas svārstības pie 1744 cm^{-1} . Lopkautuves FTIS spektros papildus redzamas proteīnu amīdu I (pie 1656 cm^{-1}) un amīdu II (pie 1546 cm^{-1}) svārstības, kas sakrīt ar elementu analīzes rezultātiem. Atkritumu tauku analītiskā pirolīze parāda, ka gaļas atkritumu tauki satur galvenokārt palmitīnskābi ($\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$) un oleīnskābi ($\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2$) (Bikovens *et al.*, 2010b) – tas sakrīt ar literatūras datiem (Webb and O'Neill, 2008).

3.2. Gaļas atkritumu tauku kompostēšana kopā ar zāli un zāģskaidām

Kompostēšanas eksperimenti tika veikti Saldus novadā, Jaunaucē pagastā SIA “Zeltābele” izveidotajā komposta laukumā, kur tika ierīkotas komposta kaudzes ar trim dažādām kompozīcijām (2.1. tab.). Visām komposta kaudzēm pievienoti 10 l laboratorijā izaudzētā sējmateriāla (Zariņa un Utināns, 2003). Kompostēšana tika sākta 2008. gada 12. jūnijā. Komposta kaudzēs ar sastāvu A temperatūras izmaiņas kompostēšanas laikā ir parādītas 3.3. attēlā. Komposta temperatūra pēc 2 dienām pieauga līdz $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Maksimālo kompostēšanas temperatūru $64\text{ }^{\circ}\text{C}$ komposta A kaudze sasniedza 14. dienā. Komposta kaudzēm ar sastāvu B un C temperatūras pieaugums kompostēšanas aktīvajā fāzē nebija tik liels. Lai pagarinātu termofilo fāzi, pēc 40 dienām visām kaudzēm tika pievienots vēl 50 kg svaigas zāles. Rezultātā komposta kaudzes temperatūra atkal pieauga.



3.3. attēls. Komposta A temperatūras izmaiņas aktīvajā kompostēšanas fāzē

Ķīmiskajām analīzēm paraugi tika ņemti pēc 20, 56, 86 un 186 kompostēšanas dienām. Komposta paraugiem noteikts pH, elementu sastāvs, pelnu saturs un heksāna ekstraktvielu daudzums (3.3. tab.).

Organiskajām vielām sadaloties, palielinājās relatīvais pelnu saturs un slāpekļa saturs, bet samazinājās oglekļa un ūdeņraža relatīvais saturs. Salīdzinot savā starpā

kompostu A un kompostus B un C, redzams, ka organisko vielu sadalīšanās ir straujāka komposta kaudzēs ar lielāku gaļas atkritumu tauku daudzumu izejas kompozīcijā, kas parāda, tātad atkritumu tauki kalpo kā barības vielu avots komposta mikroorganismu asociācijai.

3.3. tabula. Zāles–skaidu kompostu ķīmiskās analīzes (% no sausnas)

Kompostēšanas ilgum	pH	C, %	H, %	N, %	C/N	Pelni, %	Ekstrakt., %
Komposts A							
20 dienas	7,9	47,9	5,33	1,42	34	8,9	0,72
56 dienas	7,8	44,3	4,88	1,80	25	18,6	0,48
86 dienas	7,5	40,8	4,55	1,92	21	29,1	0,72
186 dienas	7,2	40,6	4,18	2,01	20	27,0	0,43
Komposts B							
20 dienas	6,5	46,7	5,13	0,98	48	6,3	0,73
56 dienas	7,1	48,5	5,51	1,17	41	11,4	0,35
86 dienas	7,2	46,7	5,07	0,87	54	14,5	1,40
186 dienas	7,3	39,0	4,08	0,81	48	20,4	n.n.
Komposts C							
20 dienas	6,8	48,0	5,41	1,19	40	7,3	0,38
56 dienas	7,8	45,2	5,03	1,36	33	11,9	0,54
86 dienas	7,3	42,3	4,72	1,17	36	19,5	0,60
186 dienas	7,3	43,9	4,90	1,32	33	19,9	n.n.

Ekstrakt.,% – ar heksānu ekstrahējamie lipīdi

Visās komposta kaudzēs bija ļoti zems nepolāro ekstraktvielu saturs (< 1%) un kompostēšanas laikā tas turpināja samazināties. Kompostu heksāna ekstraktvielu FTIS un analītiskās pirolīzes rezultāti, apstiprināja, ka tās ir galvenokārt augu, nevis dzīvnieku izcelsmes. Gaļas tauki dotajā koncentrācijas viegli sadalījās. Komposta ekstrakti saturēja nelielu daudzumu palmitīnskābes un oleīnskābes, taču šo skābju daudzums komposta ekstraktos bija neliels, un ekstraktos bija arī vairāki tipisku augu izcelsmes savienojumi (piem., triterpenoīdi). Izmantojot analītisko pirolīzi, tika pārbaudīts, vai izekstrahēts komposts satur taukskābes, taču cietajā atlikumā taukskābju fragmenti netika konstatēti. Proti, visi tauki sadalījās jau pirmajās kompostēšanās nedēļās.

Sadaloties organiskajām vielām, mainās to saturs un attiecības. Viens no biežāk izmantojamiem parametriem ir C/N attiecība. ES likumdošana nereglamentē šo svarīgo komposta rādītāju, tomēr atsevišķās valstīs, piemēram, Spānijā, likumdošana nosaka maksimālo C/N vērtību 20 organiskajiem augsnes ielabošanas līdzekļiem – kompostiem (Ministerio de la Presidencia, 2005). 3.3. tabulā redzams, ka kompostēšanas laikā C/N attiecība samazinās, tomēr kompostiem B un kompostam C šī attiecība ir pārāk liela, un tos nevar izmantot kā augsnes ielabošanas līdzekļus.

Lai novērtētu organisko vielu sadalīšanos kompostēšanas laikā izmantota FTIS, kuras galvenās priekšrocība ir metodes ātrums, pieejamība un iespēja analizēt visu

kompostējamo materiālu, nesadalot to atsevišķās frakcijās. Analizējot gaļas atkritumu tauku un zāles–skaidu kompostu, FTIS spektri parāda, ka kompostēšanas laikā notiek oksidēšanās procesi (palielinās karbonilgrupu saturs un pieaug FTIS absorbcija pie 1640 cm^{-1}), kā arī notiek koksnes hemiceluložu deacetilēšana, uz ko norāda absorbcijas samazināšanās FTIS spektros pie 1735 cm^{-1} (esteru C=O valentās svārstības) un 1240 cm^{-1} (acetātu C–O valentās svārstības) (3.2. att.) (Zakis, 1994).

Lai pārbaudītu komposta fitotoksiskumu, tika izmantoti dīgšanas testi ar salātu (*Lepidium sativum*) un kukurūzas (*Zea mays*) sēklām – tie parādīja, ka komposts neinhibē sēklu dīgšanu.

Kompostiem A, B un C pēc 86 kompostēšanas dienām tika veikts kvalitātes novērtējums pēc starptautiskā standarta ISO 11269-14 – augšanas tests ar kukurūzas sēklām. Kā negatīvā kontrole izmantotas smiltis, kā pozitīvā kontrole augsnes substrāts. Biometriskie kukurūzas mērījumi pēc 6 dienām redzami 3.4. tabulā.

3.4. tabula. Kompostu ietekme uz kukurūzas augšanas biometriskajiem rādītājiem

Paraugs	Virszemes daļa		Sakņu sistēma	
	Vidējais stāda garums, cm	Vid. stāda svars (ab. sausa), g	Garākās saknes vid. garums, cm	Sakņu masa (ab.sausa), g
Smiltis (kontrolē)	7,4	0,13	10,6	0,16
Augsnes substrāts	10,0	0,23	10,8	0,15
Komposts C	9,3	0,22	12,4	0,15
Komposts B	8,9	0,22	13,3	0,16
Komposts A	9,1	0,23	15,7	0,19

3.4. tabula. (turpinājums)

Paraugs	Kopējais sakņu garums, cm	Vid. sakņu diametrs, mm	Kopējais sakņu tilpums, cm^3	Sazarotība, gab.
Smiltis (kontrolē)	95	0,40	0,15	335
Augsnes substrāts	132	0,40	0,19	613
Komposts C	115	0,48	0,20	555
Komposts B	108	0,49	0,20	583
Komposts A	148	0,53	0,31	658

Kukurūzas biometrisko mērījumu rezultāti parādīja, ka kukurūza labāk ir augusi visos pārbaudītajos kompostos nekā smiltīs (negatīvā kontrole). Savukārt sakņu sistēmas attīstības rādītāji kukurūzai, kas augusi kompostā A, ir augstāki nekā kukurūzai, kas augusi specializētajā augsnes substrātā (kopējais sakņu garums, vidējais sakņu diametrs, kopējais sakņu tilpums un to sazarotība).

Kompostam A bija noteikts fosfora un kālija, kā arī bīstamo elementu saturs. Kālijs gatavajā kompostā bija 0,03% un fosfora – 0,09%. Metālisko elementu saturs gatavajā kompostā, redzams 3.5. tabulā, tas salīdzināts ar EK normatīviem (2006/799/EK).

3.5. tabula. Metālisko elementu daudzums gatavajā kompostā (sausnē)

Metāls	Komposts, mg/kg	Maksimāli pieļaujamā koncentrācija, mg/kg
Cinks (Zn)	50	300
Varš (Cu)	8	100
Niķelis (Ni)	5	50
Kadmījs (Cd)	1	1
Svins (Pb)	7	100
Hroms (Cr)	12	100

Kā redzams 3.5. tabulā metālisko elementu daudzums kompostā atbilst EK noteiktajiem normatīviem, un iegūto kompostu var droši lietot kā organisko augšnes ielabošanas līdzekli. Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas institūtā sadarbībā ar SIA „Zeltābele” tika izstrādāti šķidro lopkautuvju atkritumu tauku kompostēšanas pagaidu tehniskie noteikumi un reglaments eksperimentālo komposta partiju sagatavošanai. Laika posmā no 2008. līdz 2009. gadam *Eureka* projekta „Degrease” ietvaros, izmantojot šos pagaidu tehniskos noteikumus, SIA „Zeltābele” kompostēja vairāk nekā 2 tonnas šķidro lopkautuvju atkritumu tauku. Komposta ražošana pēc izstrādātajiem pagaidu tehniskajiem noteikumiem turpinājās 2010. un 2011. gadā.

3.3. Zāles komposta ķīmiskā sastāva izmaiņas kompostēšanas gaitā

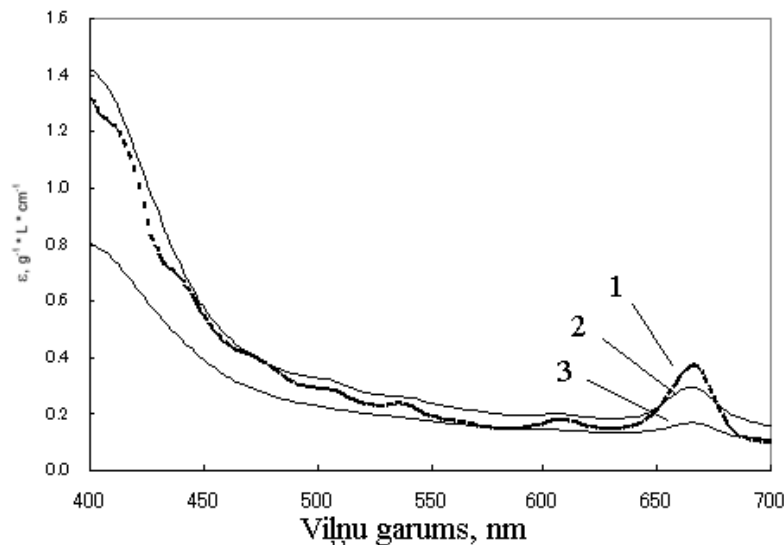
Lai izpētītu lignocelulozes atkritumus saturošā komposta ķīmiskā sastāva izmaiņas un humusvielu formēšanos kompostēšanas laikā kompostēšanas laikā, tika analizēts rūpnieciski ražotais zāles komposts no Itako (Ibaraki prefektūra, Japāna) kompostēšanas rūpnīcas (komposts JP). Tika analizēts izejas stiebrzāļu dzimtas zāles maisījums (*Phalaris* spp., *Cynodon* spp. un *Eleusine* spp.) un divi komposta paraugi pēc 14 kompostēšanas dienām un 60 kompostēšanas dienām. Līdzīgi kā eksperimentā ar zāles-skaidu kompostu, kompostēšanas laikā pH pieauga no 6,6 (zāles ūdens izvilkumam) līdz 8,0. Relatīvais slāpekļa saturs pēc 14 kompostēšanas dienām pieauga gandrīz 2 reizes, vienlaikus samazinājās oglekļa saturs un pieauga pelnu saturs. Zāles komposta C/N attiecība (3.6. tab.) samazinājās ievērojami ātrāk salīdzinājumā ar zāles-skaidu kompostu (3.3. tab.). Divu nedēļu laikā komposta JP C/N attiecība samazinājās no 36 līdz 19 un turpināja samazināties visu kompostēšanas laiku līdz sasniedza 17. C/N attiecības un pH izmaiņas kompostēšanas laikā saskan ar literatūrā publicētajiem rezultātiem (Epstein, 1997).

3.6. tabula. Zāles un zāles kompostu ķīmiskā sastāva raksturojums (% no sausasmas)

Kompostēšanas ilgums	pH	N, %	C/N	Ekstraktvielas, %		Pelni, %
				Etanola	Ūdens	
0 (izejas zāle)	6,6	1,1	36	14,9	5,6	16,0
14 dienas	8,0	2,0	19	5,8	4,8	27,7
60 dienas	8,0	1,7	17	3,0	2,8	38,0

Kompostēšanas laikā kompostā samazinās kopējais polisaharīdu saturs (3.7. tab.) un palielinās Klāsona lignīna saturs (3.8. tab.). Galvenie cukuri, kas noteikti zālē un kompostā, bija glikoze un ksiloze, kas attiecīgi ietilpst zāles celulozes un hemiceluložu sastāvā. Mannoze un galaktoze kompostā var būt gan augu, gan mikrobiālās izcelsmes (Cheshire, 1977; Arshad *et al.*, 2011), un šo heksožu relatīvais saturs kompostēšanas laikā pat nedaudz palielinās. Ksilozes/mannozes attiecība samazinājās no 24 (zāle) līdz 4 pēc 60 kompostēšanas dienām, tas norāda uz komposta mikrobiālo aktivitāti. Pēc divu mēnešu kompostēšanas kopējais polisaharīdu saturs samazinājās no 58% (zāle) līdz aptuveni 16%.

Kompostu šķīdība etanolā un ūdenī kompostēšanas laikā pazeminājās. Zāles un kompostu etanola ekstrakti bija dzelteni zaļā krāsā un uzrādīja absorbcijas maksimumu pie 665 nm, kas ir tipiski hlorofilam, kura intensitāte kompostēšanas laikā samazinājās (3.4. att.).



3.4. attēls. Komposta etanola ekstrakta spektri redzamās gaismas apgabalā
1 – zāles ekstrakts, 2 – komposts pēc 14 kompostēšanas dienām, 3 – komposts pēc 60 kompostēšanas dienām

Zāles etanola ekstrakts saturēja ievērojamu daudzumu ogļhidrātu, kas pēc hidrolīzes veidoja 2,6% (pārrēķinot uz zāli) jeb 17,6% no zāles etanola ekstrakta. Kompostu ūdens ekstrakti bija brūni, bet zāles ūdens ekstrakts praktiski bezkrāsains. Ūdens ekstraktos bija ievērojami daudz neorganisko savienojumu. Pelnu saturs sausajā zāles ekstraktā bija 57%, 32 un 39%, attiecīgi kompostam pēc 14 un 60 kompostēšanas dienām.

3.7. tabula. Zāles un kompostu kopējais ogļhidrātu saturs un sastāvs (% no sausnas)

Paraugs	Ogļhidrāti*						
	Rha	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	Kopā
Izejas zāle							
EtOH ekstrakts	0,13	0,16	0,05	0,18	0,13	1,95	2,6
Ūdens ekstrakts	0,02	0,07	0,04	0,03	0,11	0,16	0,4
Izekstrahēts atlikums	0,16	2,62	16,45	0,48	1,19	34,19	55,1
Zāle	0,3	2,9	16,5	0,7	1,4	36,3	58,1
Komposts JP pēc 14 kompostēšanas dienām							
EtOH ekstrakts	0,00	0,00	0,02	0,02	0,02	0,15	0,2
Ūdens ekstrakts	0,02	0,02	0,02	0,03	0,04	0,06	0,2
Izekstrahēts atlikums	0,27	0,98	7,33	0,54	0,54	12,61	22,3
Komposts I	0,3	1,0	7,4	0,6	0,6	12,8	22,7
Komposts JP pēc 60 kompostēšanas dienām							
EtOH ekstrakts	0,00	0,00	0,01	0,02	0,01	0,11	0,2
Ūdens ekstrakts	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,1
Izekstrahēts atlikums	0,19	0,66	3,58	0,85	0,66	9,51	15,5
Komposts II	0,2	0,7	3,6	0,9	0,7	9,6	15,7

* - Rha – ramnoze; Ara – arabinoze; Xyl – ksiloze; Man – mannoze; Gal – galaktoze; Glc – glikoze

Ogļhidrātu saturs ūdens ekstraktos bija neliels. 80% etanols šķīdina monosaharīdus, disaharīdus, kā arī dažādus glikozīdus, savukārt ūdenī šķīst

oligosaharīdi, kā arī dažas hemicelulozes, kas kalpo par barības vielām komposta mikroorganismiem. Kompostēšanas laikā samazinājās gan ekstraktu kopējais iznākums, gan ogļhidrātu saturs ekstraktos. Galvenie ogļhidrāti, kas noteikti izekstrahētajos zāles un kompostu atlikumos bija glikoze un ksiloze.

Lignīna saturs zālē un kompostos JP redzams 3.8.tabulā. Nosakot lignīna saturu zālē pēc acetilbromīda metodes un Klāsona metodes tika iegūts vienāds rezultāts, bet acetilbromīda metode izrādījās pilnīgi nepiemērota lignīna satura noteikšanai kompostā. Pēc komposta reakcijas ar acetilbromīdu tika iegūti intensīvi krāsoti šķīdumi ar absorbcijas maksimumu 270 nm, kuru intensitāte vairākas reizes pārsniedza lignīnu absorbciju, tādēļ nebija iespējams aprēķinus, izmantojot literatūrā minētos lignīnu ekstincijas koeficientus (Lin and Dence, 1992) kvantitatīvajiem aprēķiniem. Kaut arī zāles komposta JP izejvielā bija mazāk lignīna nekā zāles-skaidu komposta A izejvielās (attiecīgi 10,9 un 18,5%), gatavais zāles komposts JP pēc 60 kompostēšanas dienām saturēja vairāk Klāsona lignīna nekā gatavais zāles-skaidu komposts A pēc 186 kompostēšanas dienām (attiecīgi 41,9 un 36,9%). Iespējams, tas saistīts ar humusvielu intensīvāku veidošanos zāles kompostā, jo parauga apstrāde ar sērskābi pēc Klāsona metodes dod nešķīstošo atlikumu gan ar lignīnu, gan humusvielām (Lopez *et al.*, 2010).

3.8. tabula. Zāles un komposta lignīna un metoksilgrupu saturs (% no sausas)

Kompostēšanas ilgums	Lignīns			MeO grupas	MeO saturs lignīnā
	KL	SŠL	Kopā		
0 (izejas zāle)	10,9	2,4	13,3	1,04	7,8
14 dienas	21,3	2,7	24,0	2,02	8,4
60 dienas	41,9	3,7	45,6	2,20	4,8

KL – Klāsona lignīns; SŠL – skābē šķīstošais lignīns

Vienlaikus ar lignīna satura pieaugumu kompostēšanas laikā palielinājās arī kopējais metoksilgrupu saturs zāles kompostā, taču tā pieaugums pēc 60 kompostēšanas dienām bija salīdzinoši neliels 2,02–2,20%, kaut gan Klāsona lignīna vai, precīzāk, nešķīstošā atlikuma, kas noteikts pēc Klāsona metodes, pieaugums bija gandrīz 2 reizes lielāks. Metoksilgrupu saturs zālē un kompostā JP pēc 14 kompostēšanas dienām sastādīja apmēram 8%, tas ir neliels un norāda uz nemetoksilēto *para*-hidroksifenilgrupu klātbūtni lignīnā, taču pēc 2 mēnešiem tas nokritās līdz 4,8%. Iespējams, tas saistīts ar daļēju lignīna demetoksilēšanu, kas aprakstīta agrīnajos darbos, kuri veltīti lignīna izmaiņām kompostēšanas laikā (Waksman and Smith, 1934). Tomēr jāatzīmē, ka lignīna noteikšana pēc Klāsona metodes nav specifiska, jo apstrādes laikā ar sērskābi rodas pseido-lignīns (Hu *et al.*, 2012), kuru nevar atdalīt no lignīna. Lai izpētītu lignīna transformāciju, kompostēšanas procesā no izekstrahētā komposta tika izdalītas sārmā šķīstošās komposta humusvielas un no atlikuma izdalīts Bjorkmana lignīns.

3.4. Zāles komposta Bjorkmana lignīna un humusvielu ķīmiskais sastāvs

Lai izpētītu humusvielu veidošanās procesu un lignīna izmaiņas kompostēšanas procesā, no zāles komposta JP tika ekstrahētas komposta humusvielas un izdalīts Bjorkmana lignīns. Vispirms no komposta tika izekstrahētas humusvielas, izmantojot 0,1 M NaOH, bet pēc tam izdalīts Bjorkmana lignīns. Komposta humusvielas (HV)

un Bjorkmana lignīns no komposta JP pēc 14 kompostēšanas dienām un pēc 60 kompostēšanas dienām. Sārmā šķīstošās frakcijas iznākums veido 24,3% no komposta JP pēc 14 kompostēšanas dienām un 21,8% no komposta JP pēc 60 kompostēšanas dienām, savukārt Bjorkmana lignīna iznākums no komposta JP veidoja 1,7% pēc 14 kompostēšanas dienām un 2,3% pēc 60 kompostēšanas dienām.

3.9. tabula. Komposta Bjorkmana lignīna un humusvielu pēc 14 un 60 kompostēšanas dienām ķīmiskais sastāvs

	Lignīns		Humusvielas	
	14 dienas	60 dienas	14 dienas	60 dienas
C, %	60,6	60,6	43,0	41,4
N, %	0,95	0,88	3,1	2,4
MeO, mmol/g	4,81	5,25	1,29	0,87
OH _(fen) , mmol/g	1,51	1,50	1,29	1,18
COOH, mmol/g	0,83	0,81	2,20	2,69
p-kumarilskābe, mmol/g	0,15	0,06	0	0
Ferulskābe, mmol/g	0,10	0,04	0	0
Hidroksikanēļskābes, kopā, mmol/g	0,25	0,10	0	0
Cukuri, kopā, %	3,3	1,5	7,3	7,9
Pelni, %	n.n.*	n.n.	10,5	12,1

n.n. – nebija noteikts.

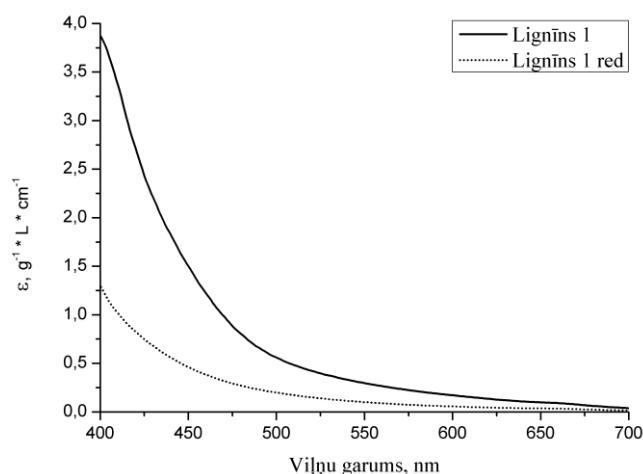
Komposta humusvielu elementu sastāvs atšķiras ar zemāku oglekļa saturu un lielu slāpekļa saturu salīdzinājumā ar komposta lignīnu elementu sastāvu. Komposta lignīni saturēja nelielu slāpekļa savienojumu piemaisījumu. Ogļhidrātu piemaisījums bija lielāks humusvielu frakcijā ap 7% salīdzinājumā ar lignīniem, kas saturēja 1,5–3,3% ogļhidrātu (skat. 3.9. tab.).

Metoksilgrupu saturs lignīnā pēc 14 kompostēšanas dienām bija 14,9% un pēc 60 kompostēšanas dienām – 16,3%. Tas ir lielāks nekā metoksilgrupu saturs zāles komposta Klāsona lignīnā, pat pēc komposta ekstrakcijas ar sārmu. Tas var būt izskaidrojams ar pseido-lignīna piemaisījumiem Klāsona lignīnā un zemo Bjorkmana lignīna iznākumu. Pieņemot lignīna struktūrvienības molekulmasu par 200, metoksilgrupu aizvietojs veido 1 MeO uz vienu fenilpropāna vienību. Fenolgrupu saturs abos lignīnos bija 1,5 mmol·g⁻¹, bet karboksilgrupu – 0,8 mmol·g⁻¹. Kaut arī karboksilgrupu daudzums kompostēšanas gaitā bija praktiski vienāds, mainījās to ķīmiskais raksturs. Zāles lignīns satur ķīmiski saistītas hidroksikanēļskābes. Kompostēšanas laikā to daudzums lignīnā samazinājās no 0,25 līdz 0,10 mmol·g⁻¹.

Humusvielu metoksilgrupu saturs bija mazāks nekā lignīnos un kompostēšanas laikā turpināja samazināties, tas norāda uz šķīstošo lignīna fragmentu demetoksilēšanu. Fenolu grupu saturs humusvielās bija nedaudz zemāks salīdzinājumā ar lignīniem, bet karboksilgrupu saturs ievērojami lielāks un kompostēšanas laikā pieauga.

Salīdzinot ar koksnes Bjorkmana lignīniem, komposta lignīni bija tumšāki. Iespējams, tas saistīts ar hinono struktūru klātbūtni, ko apstiprināja reakcija ar Na₂S₂O₄, kas specifiski reaģē ar hinonu grupām (Zaķis, 1994). Pēc reducēšanas ar Na₂S₂O₄ lignīnu absorbcija redzamās gaismas diapazonā būtiski samazinājās. Humusvielas saturēja ievērojami vairāk hinono struktūru, un pēc reducēšanas ar

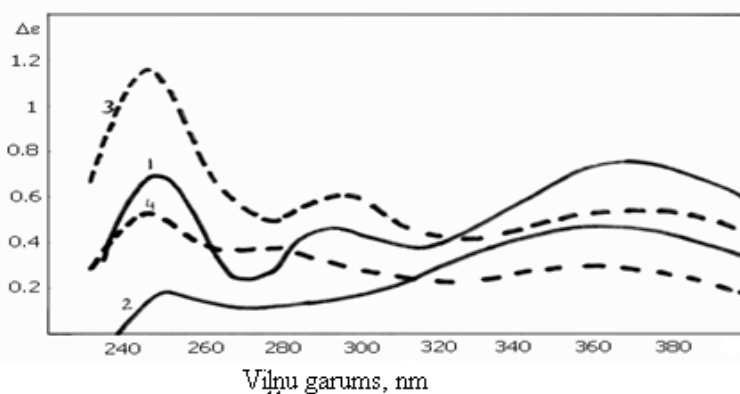
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ absorbcijas intensitāte redzamās gaismas diapazonā samazinājās par pusi (3.5. att.).



3.5. attēls. Komposta Bjorkmana lignīna spektri ultravioletajā un redzamās gaismas apgabalā pirms un pēc reducēšanas ar $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$

UV diapazonā lignīni uzrādīja tipisku absorbcijas maksimumu pie 280 nm un absorbcijas koeficientus: $17,5 \text{ g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ lignīnam pēc 14 dienām un $17,8 \text{ g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ lignīnam pēc 60 dienām. Šādas absorbcijas vērtības ir raksturīgas vairumam augu lignīnu. Humusvielu absorbcijas maksimumi un koeficienti bija līdzīgi: $17,0 \text{ g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ pēc 14 kompostēšanas dienām un $18,5 \text{ g}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ pēc 60 kompostēšanas dienām, tas norāda uz līdzīgām hromoforām grupām.

Komposta lignīniem tika uzņemti UV $\Delta\epsilon_{\text{ion}}$ spektri. Lignīna ķīmijā šo metodi izmanto, lai noteiktu nekonjugēto fenolu grupu saturu lignīnos (Zakis, 1994). Pēc 14 kompostēšanas dienām lignīna $\Delta\epsilon_{\text{ion}}$ spektrā ir labi redzami raksturīgie absorbcijas maksimumi pie 250, 300 un 360 nm (3.6. att.).

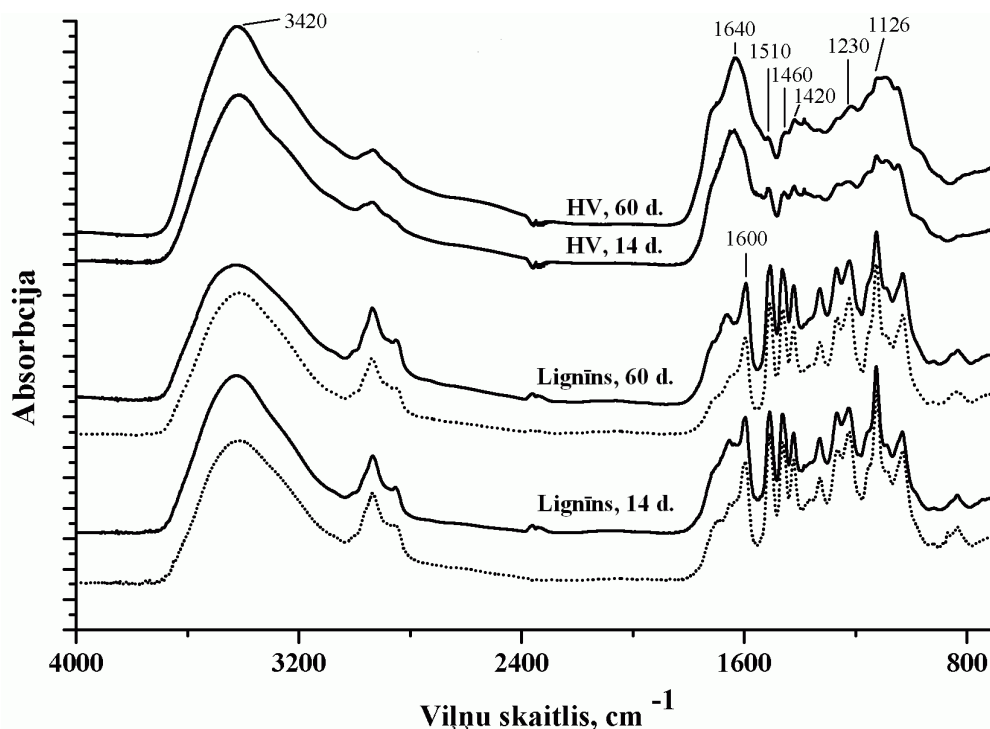


3.6. attēls. Komposta Bjorkmana lignīna $\Delta\epsilon_{\text{ion}}$ spektri ultravioletajā gaismas apgabalā
1 – lignīns pēc 14 kompostēšanas dienām; 2 – lignīns pēc 60 kompostēšanas dienām; 3 – lignīns pēc 14 dienām reducēts ar NaBH_4 ; 4 – lignīns pēc 60 dienām reducēts ar NaBH_4

Koksnes lignīnos $\Delta\epsilon_{\text{ion}}$ maksimums pie 360 nm norāda uz α karbonilgrupu klātbūtni. Absorbcijas intensitāte pie 360 nm samazinās pēc lignīnu reducēšanas ar nātrija borhidrīdu, un vienlaikus pieaug absorbcijas intensitāte pie 250 un 300 nm. Pēc lignīna reducēšanas ar nātrija borhidrīdu absorbcijas maksimuma intensitāte pie 360 nm tikai nedaudz samazinājās un attiecīgi pieauga absorbcija pie 250 un 300 nm. Savukārt lignīnam pēc 60 kompostēšanas dienām $\Delta\epsilon_{\text{ion}}$ spektrs būtiski atšķiras no

lignīna pēc 14 kompostēšanas dienām. Visintensīvākā absorbcija tiek novērota pie 360 nm, un absorbcijas maksimums pie 300 nm nav izšķirts – tas norāda uz lignīnu struktūras izmaiņām kompostēšanas laikā.

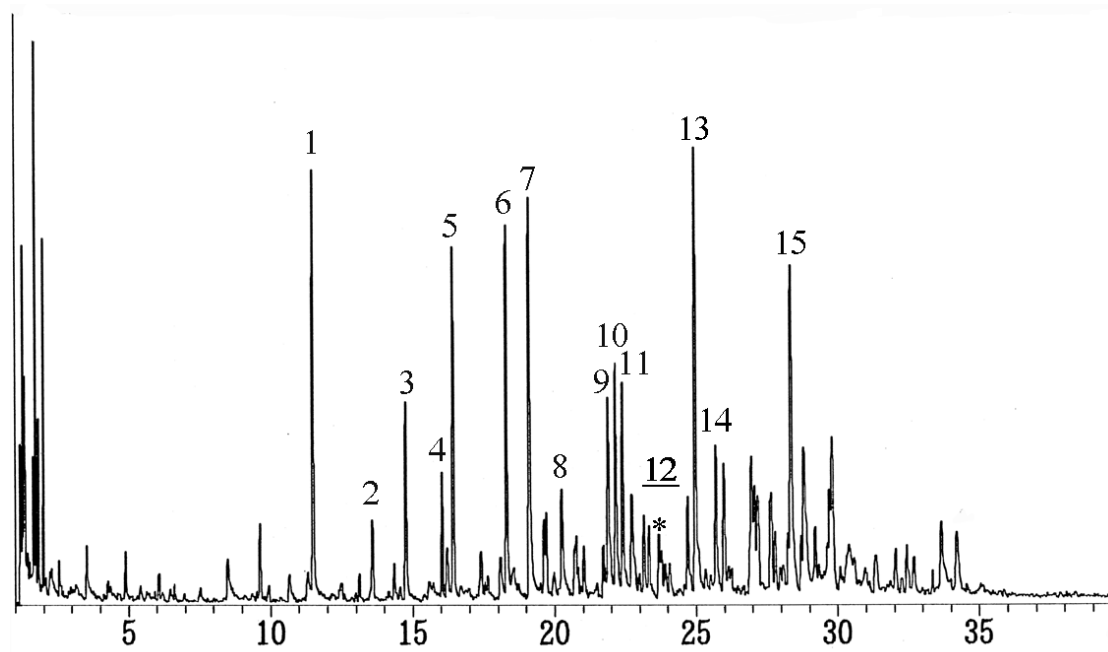
Komposta Bjorkmana lignīnu FTIS spektri bija līdzīgi un parādīja lignīnu tipiskus absorbcijas maksimumus (3.7. att.).



3.7. attēls. Komposta Bjorkmana lignīna un humusvielu pēc 14 un 60 kompostēšanas dienām FTIS spektri

Ar pārtrauktu līniju apzīmēti lignīnu spektri pēc reducēšanas ar nātrija borhidrīdu

Lignīnu maksimālā absorbcija FTIS spektros pie 1126 cm^{-1} raksturīga aromātiskām C–H plaknes deformācijām siringilvienībās un C=O svārstībām. Saskaņā ar Faiksa klasifikāciju (Lin and Dence, 1992) komposta Bjorkmana lignīnu spektri atbilst gvajacil-siringilvienības saturošiem lignīnu spektriem ar vidēju siringilvienību saturu (25–35%) un nelielu *para*-hidroksifenilvienību daudzumu (līdz 10%). Lignīniem bija palielināta C=O grupu absorbcija pie 1800–1600 cm^{-1} , kas norāda uz lignīnu oksidēšanu. Lignīnu reducēšana ar nātrija borhidrīdu tikai nedaudz samazināja lignīna absorbciju pie 1700 cm^{-1} pēc 60 kompostēšanas dienām, kas norāda uz konjugēto karboksilgrupu klātbūtni lignīnos. Savukārt komposta humusvielu spektri ir ievērojami izplūduši, tas norāda uz ievērojami lielāku sastāva dažādību un transformāciju, tomēr var atšķirt tipiskus absorbcijas maksimumus, kas raksturīgi lignīniem: 1510 (aromātiskā gredzena svārstības), 1460 (alifātiskās C–H deformācijas), 1420 (aromātiskā skeleta svārstības kombinētas ar C–H plaknes deformācijām), 1230 (aromātisko C–OH grupu svārstības un C–O–C arilēteru svārstības) un 1126 cm^{-1} . Salīdzinot komposta humusvielu FTIS spektrus ar lignīnu spektriem, redzama ievērojami lielāka absorbcija pie 3420 un 1640 cm^{-1} , tas norāda uz lielāku hidroksilgrupu un amīda grupu saturu (3.7. att.).

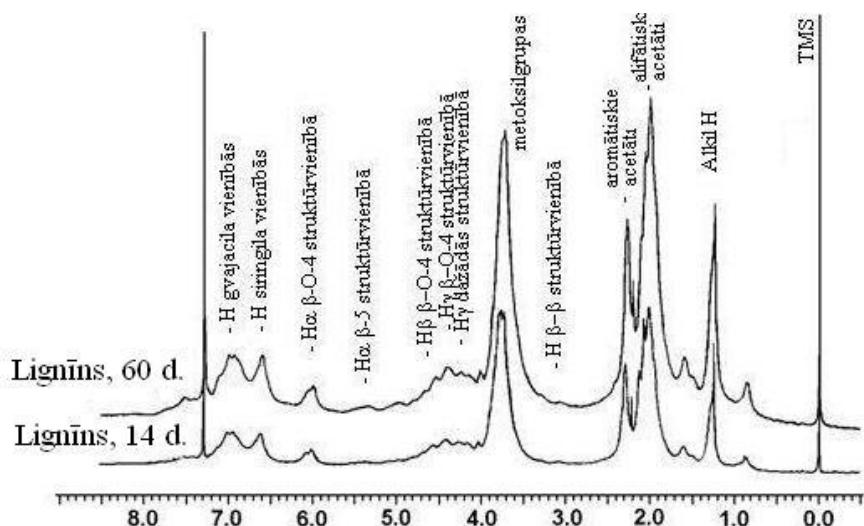


3.8. attēls. Metilētā komposta Bjorkmana lignīna analītiskā pirogramma

1 – 2-metoksifenols; 2 – 4-vinilanizols; 3 – 4-metilgvajakols; 4 – 4-metilveratrols; 5 – 1-metoksi-4(1-propenil) benzols; 6 – 4-vinilgvajakols; 7 – siringols; 8 – vanilīns; 9 – 4-metilsiringols; 10 – izoeigenols; 11 – 3,4-dimetoksibenzaldehīds; 12 – vanilīnskābes metilesteris; 13 – 4-vinilsiringols; 14 – 3,4,5-trimetoksibenzaldehīds; 15 – 4-propenilsiringons

Analītiskā pirolīze apstiprināja pieņēmumu par konjugētu karboksilgrupu klātbūtni komposta lignīnos. Pirms pirolīzes lignīna paraugi bija metilēti ar diazometānu, lai aizsargātu karboksilgrupas no dekarboksilēšanas paaugstinātā temperatūrā. Pirolīzes produktos tika identificēti vairāk nekā 30 dažādi tipiski metilēta lignīna pirolīzes produkti ar dažādu alifātiskās ķēdes garumu (C_6C , C_6C_2 , C_6C_3). Aromātiskie atlikumi saturēja ne tikai gvajacilvienības, siringilvienības un *para*-hidroksifenilvienības, bet arī veratrola, anizola un 3,4,5-trimetoksibenzola atvasinājumus. Starp šiem savienojumiem bija identificēts arī vanilīnskābes metilesteris (3.8. att.), kas norāda uz lignīna alifātiskās ķēdes oksidēšanu. HV analītiskā pirolīze apstiprināja lignīna fragmentu klātbūtni, uz ko norāda savienojumi ar gvajacilgrupām un siringilgrupām (gvajakols, siringols, 4-vinilgvajakols, 4-vinilsiringols). Papildus HV pirogrammās tika identificēti tādi tipiski cukuru pirolīzes produkti kā furfurols.

Acetilētu Bjorkmana lignīnu šķīdumu protonu kodolu magnētiskās rezonances (1H KMR) spektri ir redzami 3.9. attēlā, un to interpretācija – 3.10. tabulā. Aromātisko protonu signāli apstiprināja FTIS un analītiskās pirolīzes rezultātus, ka Bjorkmana lignīns satur gvajacilvienības un siringilvienības. 1H KMR spektri parādīja intensīvus metoksilgrupu, alifātisko acetātu un aromātisko acetātu signālus, kas norāda uz lielu metoksilgrupu, alifātisko un aromātisko hidroksilgrupu saturu komposta Bjorkmana lignīnā. Komposta lignīns satur tipiskas lignīna starpmolekulārās saites β -O-4, β - β un β -5. Salīdzinājumā ar koksnes lignīnu 1H KMR spektriem (Lundquist, 1979) komposta lignīnos ir novērojami intensīvi signāli pie ķīmiskām nobīdēm 0,7–1,7 ppm, kas raksturīgi ekranētiem protoniem ogļūdeņražos.



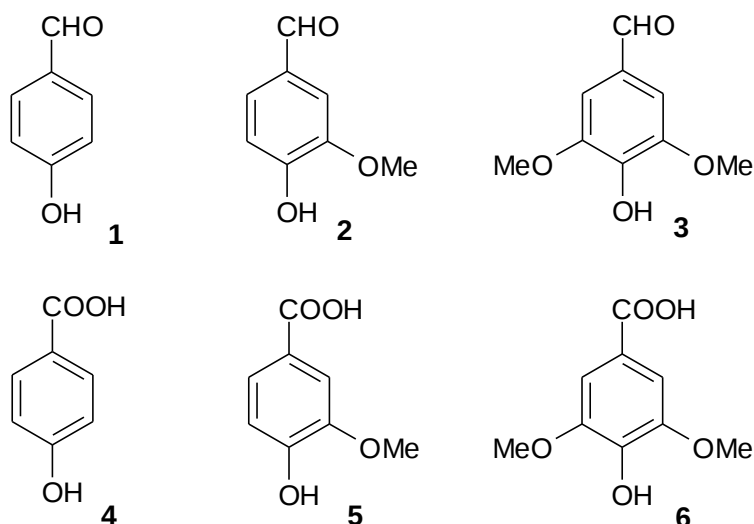
3.9. attēls. Acetilēta komposta Bjorkmana lignīna pēc 14 un 60 kompostēšanas dienām ^1H KMR spektri (šķīdinātājs CDCl_3)

Acetilētas humusvielas nešķīda hloroformā vai dioksānā, tādēļ nebija iespējams iegūt to šķīdumu ^1H KMR spektrus. Tas netieši norāda uz lignīna fragmentu integrāciju humusvielu kompleksā.

3.10 tabula. Acetilētā lignīna ^1H KMR signālu interpretācija (pēc Lundquist, 1979)

Ķīmiskā nobīde, ppm	Signāla interpretācija
0,7–1,7	Ogļūdeņražu piemaisījumi
1,95, 2,02, 2,13	Alifātiskie acetāti
2,29	Aromātiskie acetāti
3,08	β – β saites H_β
3,76	Metoksilgrupas protoni
4,18, 4,28, 4,43	H_γ dažādās struktūrās
4,58	β –O–4 struktūras H_β
5,44	β –5 struktūras H_α
6,01	β –O–4 struktūras H_α
6,60	Siringilvienības aromātiskie H
6,94, 6,99	Gvajacilvienības aromātiskie H
7,29	Hloroforms (šķīdinātājs)
7,50	Aromātiskais H <i>orto</i> - stāvoklī attiecībā pret karbonilgrupu

Sārmaino nitrobenzola oksidēšanu izmanto, lai noteiktu minimālo nekondensēto lignīna struktūrvienību daudzumu, kā arī noteiktu galveno struktūrvienību attiecību lignīnā (Lin and Dence, 1992). Oksidējot lignīnu ar nitrobenzolu, sārmainā vidē rodas aromātiskie aldehīdi: no *para*-hidroksifenilvienībām rodas *para*-hidroksibenzaldehīds, no gvajacilvienībām (G) – vanilīns, bet no siringilvienībām (S) – siringilaldehīds. Nelielā daudzumā rodas arī attiecīgās skābes (3.10. att.).



3.10. attēls. Noteiktie komposta Bjorkmana lignīna un humusvielu sārmainās nitrobenzola oksidēšanās produkti

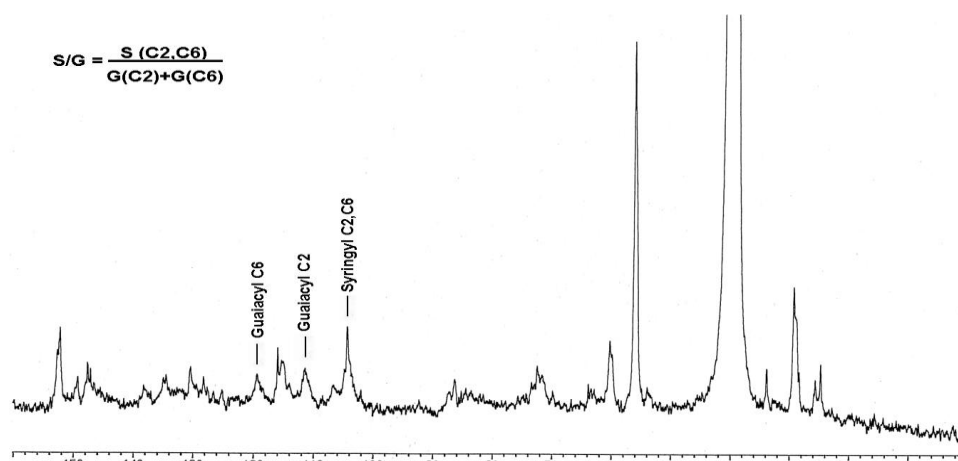
1 – *para*-hidroksibenzaldehīds; 2 – vanilīns; 3 – siringil aldehīds; 4 – *para*-hidroksibenzoskābe; 5 – vanilīnskābes; 6 – siringilskābe

Oksidējot komposta lignīnus ar nitrobenzolu, rodas liels daudzums aromātisko aldehīdu un skābju, kas norāda uz lielu nekondensēto vienību saturu lignīnā (3.11. tab.). Iegūtie rezultāti ļauj secināt, ka nekondensēto vienību saturs komposta lignīnā ir vismaz 1/3. Siringilvienību un gvajacilvienību (S/G) attiecība komposta lignīniem bija 1,2–1,4, bet *para*-hidroksifenilvienību un gvajacilvienību attiecība bija ļoti zema. Oksidējot komposta humusvielas ar nitrobenzolu, tika iegūti līdzīgi aromātiskie aldehīdi un skābes, bet ar mazāku iznākumu, kas samazinājās kompostēšanas laikā. S/G attiecība lignīniem un humusvielām bija līdzīga, kas norāda uz to kopīgo izcelsmi. Aromātisko skābju un aldehīdu attiecība humusvielām bija vairāk nekā 2 reizes lielāka nekā lignīniem, un tas norāda uz lielāku lignīna fragmentu oksidēšanu humusvielu frakcijā.

3.11. tabula. Komposta Bjorkmana lignīna un humusvielu pēc 14 un 60 kompostēšanas dienām nitrobenzola oksidēšana (mmol/g)

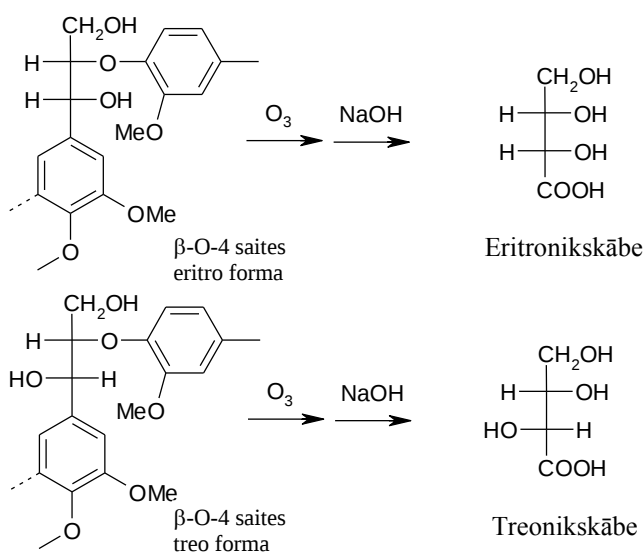
Nitrobenzola oksidēšanas produkti	Lignīns		Humusvielas	
	14 dienas	60 dienas	14 dienas	60 dienas
<i>p</i> -hidroksibenzaldehīds	0,032	0,015	0,017	0,006
Vanilīns	0,592	0,657	0,098	0,060
Siringil aldehīds	0,758	0,757	0,100	0,060
<i>p</i> -hidroksibenzskābe	0,006	0,003	0,007	0,004
Vanilīnskābe	0,063	0,076	0,020	0,014
Siringilskābe	0,148	0,144	0,049	0,029
Kopējais iznākums	1,60	1,65	0,29	0,16
Skābju/aldehīdu attiecība	0,16	0,16	0,35	0,41
Siringilvienību/gvajacilvienību attiecība	1,4	1,2	1,3	1,4
<i>p</i> -hidroksifenilvienību/gvajacilvienību attiecība	0,06	0,02	0,20	0,13

Augsnes humusvielu pētījumos plaši izmanto oksidēšanu ar CuO (Stevenson, 1994). Lignīna CuO un nitrobenzola oksidēšanas rezultāti ir savstarpēji salīdzināmi (Lin and Dence, 1992). Lignīna izcelsmes aromātisko aldehīdu un skābju iznākums pēc augsnes humusvielu CuO oksidēšanas ir ievērojami mazāks, savukārt aromātisko skābju un aldehīdu attiecība mainās plašās robežās no 0,2–0,3 aramzemes augsnēs līdz 1,3–2,1 meža augsnēs (Bahri *et al.*, 2006). Iegūtie rezultāti liecina, ka komposta un augšņu humusvielu aromātisko aldehīdu un skābju attiecība ir tuva.



3.11. attēls. Komposta Bjorkmana lignīna ^{13}C KMR spektrs (šķīdinātājs $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$)

Nitrobenzola oksidēšanas produkti saturēja ~50% no visām lignīna metoksilgrupām, tas norāda, ka kopējā lignīna S/G attiecība ir zemāka par NBO produktu S/G attiecību. To apstiprina ^{13}C -KMR spektri (3.11. att.). S/G attiecība aprēķināta pēc KMR signālu intensitātes (siringilvienībām C2 un C6 signāli pie 104,9 ppm, bet gvajacilvienībām C2 pie 111,5 ppm un C6 pie 119,3 ppm) – tā bija 0,93 lignīnam pēc 14 dienām un 0,98 lignīnam pēc 60 kompostēšanas dienām. Rezultātu starpība starp nitrobenzola oksidēšanu un KMR norāda uz kondensētām *para*-hidroksifenilvienībām komposta lignīnos.



3.12. attēls. Summārā lignīna ozonēšanas reakcija

Analītiskā ozonēšana tika izmantota, lai novērtēt lignīna vienību starpmolekulāro β -O-4 saišu daudzumu. Lignīna β -O-4 struktūrvienību ozonēšanas rezultātā rodas tetronikskābes – eritronikskābe un treonikskābe (3.12. att.). Selektīvi oksidējot aromātiskos gredzenus, tiek saglabāta lignīna alifātiskās ķēdes stereo uzbūve, kas ļauj iegūt kvalitatīvus un kvantitatīvus datus par lignīnu alifātiskās ķēdes uzbūvi. Humusvielu struktūras pētījumos analītiskā ozonēšana pēc pieejamās informācijas, tika izmantota pirmo reizi. Kā salīdzināšanas paraugs tika izmantots bērza (*Betula pendula*) Bjorkmana lignīns, kas satur 60% β -O-4 saišu (McCarthy and Islam, 1999). Kopējais tetronikskābju iznākums no bērza Bjorkmana lignīna bija 1,05 mmol/g, un eritronikskābes un treonikskābes (E/T) attiecība 2,6. Ozonējot komposta Bjorkmana lignīnus, tetronikskābju iznākums bija $\sim 0,7$ mmol/g (3.13. tab.). Salīdzinot tetronikskābju iznākumus no bērza un komposta Bjorkmana lignīniem, tika aprēķināts, ka komposta lignīns satur $\sim 40\%$ arilglicerol- β -aril-ētera jeb β -O-4 saites. Ozonējot komposta humusvielas, eritronikskābes un treonikskābes iznākums bija ievērojami zemāks salīdzinājumā ar kompostu lignīniem un kompostēšanas laikā turpināja samazināties. Humusvielu E/T attiecības atšķiras no lignīnu E/T attiecības, kas, iespējams, norāda uz stereoselektīvo lignīna fragmentu degradāciju humusvielu frakcijā.

3.12. tabula. Komposta Bjorkmana lignīnu un humusvielu pēc 14 un 60 kompostēšanas dienām ozonēšanas produktu iznākums

Ozonēšanas produkti	Lignīns		Humusvielas	
	14 dienas	60 dienas	14 dienas	60 dienas
Eritronikskābe, mmol/g	0,44	0,43	0,049	0,022
Treonikskābe, mmol/g	0,26	0,25	0,035	0,018
Kopējais tetronikskābju iznākums, mmol/g	0,71	0,68	0,084	0,039
Eritronikskābes/treonikskābes attiecība	1,7	1,7	1,4	1,3

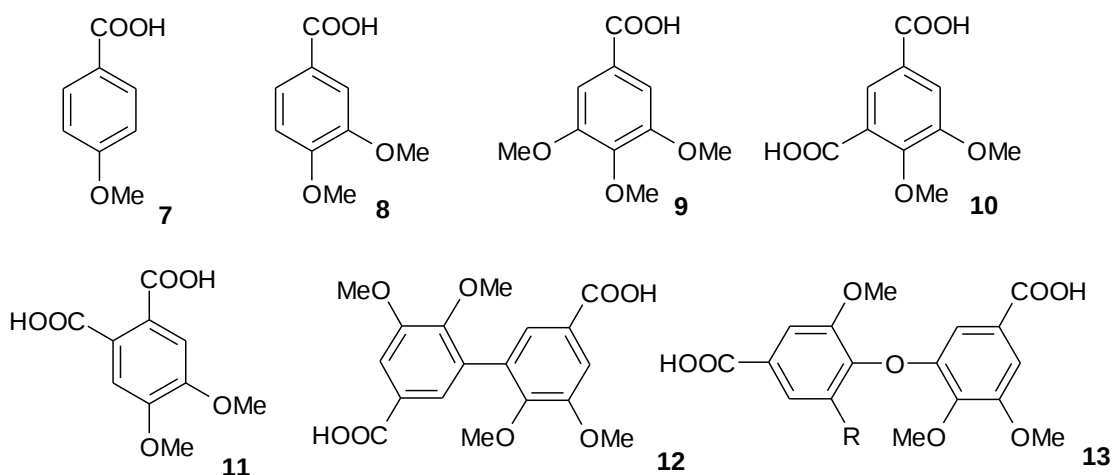
Iegūtie rezultāti parāda, ka komposta lignīni satur lielu daudzumu nekondensētu vienību, kas savienotas ar arilglicerol- β -aril ētera saitēm. Oksidēšanas rezultātā lignīni saturēja nelielu daudzumu hinono struktūru, kā arī karboksilgrupas.

Humusvielu pētījumos plaši lietota sārmainā permanganāta oksidēšana. Orlovs (Орлов, 1992) uzskatīja, ka benzopolikarbonskābju klātbūtne starp humusvielu permanganāta oksidēšanas produktiem ir viena no svarīgākajām humusvielu diagnostiskām īpašībām. Šo metodi izmanto arī, lai pētītu lignīna aromātisko kompozīciju un iekšmolekulārās saites. Aromātisko karbonskābju iznākums no humusvielām pēc 14 kompostēšanas dienām bija lielāks salīdzinājumā ar humusvielām pēc 60 kompostēšanas dienām (3.13. tab.). Komposta humusvielu permanganāta oksidēšanas rezultātā rodas galvenokārt lignīna izcelsmes aromātiskās hidroksikarbonskābes (3.12. att.), kas reprezentē lignīna nekondensētas vienības (savienojumi 7–9), β -5 tipa (savienojums 10); $C_{alif.}$ -6 tipa (savienojums 11), bifenila, jeb 5–5 tipa (savienojums 12) un aril-aril-ētera tipa (savienojums 13) struktūras. Atsevišķo savienojumu iznākums permanganāta oksidēšanas laikā no attiecīgām struktūrvienībām ir atšķirīgs, un iegūtie rezultāti ļauj tikai novērtēt to relatīvo attiecību. Humusvielas pēc 14 kompostēšanas dienām satur vairāk nekondensētu vienību salīdzinājumā ar humusvielām pēc 60 dienām. Starp kondensētām vienībām dominē β -5 tipa vienības. Šie rezultāti sakrīt ar nitrobenzola oksidēšanas rezultātiem.

3.13. tabula. Komposta humusvielu (HV) lignīna vienību relatīvais sadalījums pēc permanganāta oksidēšanas rezultātiem (%)

	Iznākums mmol/g	Nekondensētās vienības	β -5 vienības	C _{alif.} -6 vienības	5-5 vienības	4-O-5 vienības
HV, 14 d.	0,26	76	15	3	2	4
HV, 60 d.	0,14	67	19	5	4	7

Starp komposta humusvielu oksidēšanas produktiem bija noteikts tikai neliels daudzums ne-lignīna izcelsmes karbonskābju (~ 1% no kopējā aromātisko karbonskābju satura) – *orto*-ftalskābe un trimelitskābe jeb 1,2,4-benzotrikarbonskābe. Tas parāda, ka lielākā daļa komposta humusvielu aromātisko savienojumu ir lignīna izcelsmes.



3.13. attēls. Noteiktie komposta humusvielu permanganāta oksidēšanas produkti
 7 – *p*-anīsskābe; 8 – veratrīlskābe; 9 – 3,4,5-trimetoksibenzoskābe; 10 – 4,5-dimetoksi-1,3-benzoldikarbonskābe; 11 – 4,5-dimetoksi-1,2-benzoldikarbonskābe; 12 – lignīna bifenila vienības oksidēšanas produkts; 13 – lignīna aril-aril-ētera vienības produkti (R = H/OCH₃)

Lai novērtētu lignīna saturu komposta humusvielu frakcijās, tika aprēķināts lignīna saturs, izmantojot lignīna ķīmiskos marķierus – metoksilgrupu saturu komposta Bjorkmana lignīnos, nitrobenzola oksidēšanas produktu un ozonēšanas produktu iznākumus no komposta Bjorkmana lignīniem (3.14. tab.). Visos gadījumos lignīna satura novērtējums humusvielu frakcijā, izmantojot lignīna ķīmiskos marķierus bija zemāks par noteikto Klāsona lignīnu jeb nešķīstošo atlikumu pēc Klāsona metodes, kas norāda uz lignīna transformāciju kompostēšanas laikā. Lielākais lignīna saturs tika aprēķināts pēc metoksilgrupu daudzuma (27% HV pēc 14 dienām), mazāk pēc NBO produktu iznākuma un vēl mazāk pēc ozonēšanas produktu iznākuma. Tas norāda uz lignīna izmaiņām kompostēšanas laikā. Atšķēloties lignīna makromolekulas fragmentiem, pieaug polāro funkcionālo grupu saturs, lignīna fragmenti kļūst šķīstoši sārmainā vidē un iekļaujas humusvielu frakcijā, kur notiek to turpmākā modifikācija. Lignīna alifātiskās ķēdes tiek pakļautas oksidatīvai α - β sašķelšanai, ko apstiprina analītiskā pirolīze un tetronīnskābju iznākuma samazināšanās ozonēšanas laikā. Kondensējoties lignīnam samazinās nitrobenzola oksidēšanas produktu iznākums. Savukārt demetoksilēšana notiek lēnāk par

alifātiskās ķēdes šķelšanos un kondensācijas reakcijām, kas ļauj rekomendēt metoksilgrupu satura analīzi lignīna noteikšanai humificētos paraugos.

3.14. tabula. Lignīna satura novērtējums komposta humusvielu frakcijā, izmantojot dažādas analītiskās metodes (% no HV)

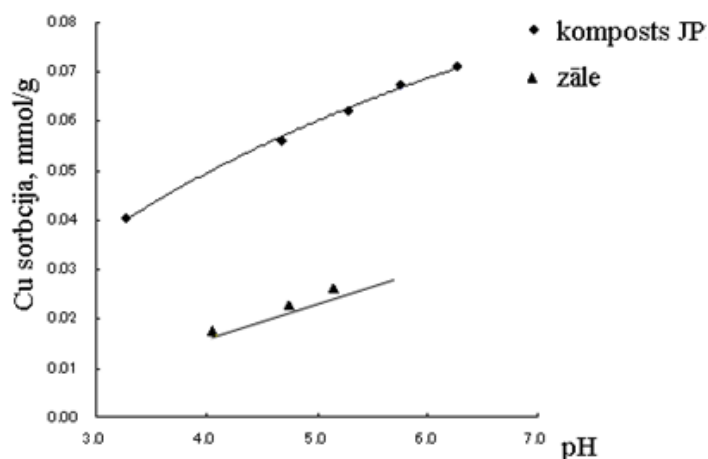
Analītiskās metodes	Humusvielas	
	14 dienas	60 dienas
Klāsona lignīns	49,7	41,9
MeO grupu saturs	27	17
NBO produkti*	18	10
Ozonēšanas produktu iznākums	12	6

* - nitrobenzola oksidēšanas produkti

Savukārt analītiskā ozonēšana parāda maz modificēta lignīna klātbūtni komposta humusvielu frakcijā. Šie rezultāti apstiprina hipotēzi, ka humusvielas ir salīdzinoši zemmolekulāru savienojumu supramolekulārā asociācija, kurā var piedalīties dažādas biomolekulas, ieskaitot bioloģiski modificētu lignīnu (Bikovens *et al.*, 2010a).

3.5. Zāles komposta humusvielu spēja saistīt smago metālu jonus

Viena no svarīgākajām augsnes humusvielu funkcijām ir spēja saistīt dažādus piesārņojumus, tajā skaitā veidot savienojumus ar metālu joniem. Kā parādīja mūsu iepriekš veiktie pētījumi, koksnes trupēšanas rezultātā vairākas reizes pieaug vara (II) sorbcija – uz bērza skaidām pieauga no 2,0 līdz 6,35 mg/g, uz priedes skaidām no 1,8 līdz 5,55 mg/g. Līdzīgs sorbcijas pieaugums novērots arī attiecībā pret hroma (III) joniem uz trupējušām skaidām. Tas ir saistīts ar lignīna oksidēšanu un funkcionālo grupu satura pieaugumu, kas notiek koksnes baltās vai brūnās trapes gadījumā (Kokorevics *et al.*, 1999). Līdzīgus rezultātus deva zāles kompostēšana. Kompostēšanas laikā zāles sorbcijas kapacitāte attiecībā pret vara (II) un kadmija (II) joniem pieauga apmēram 2–3 reizes salīdzinājumā ar nekompostēto zāli. Metālu jonu sorbcija ir atkarīga no šķīduma pH vērtības. Palielinoties pH vērtībai no 3 līdz 7, sorbēto jonu daudzums uz komposta palielinājās no 2,6 līdz 4,5 mg/g Cu(II) un no 0,9 līdz 4,4 mg/g Cd(II) (3.14. att.).



3.14. attēls. Vara (II) sorbcija uz zāles un komposta atkarībā no šķīduma pH

Ekstrakcija ar etanolu un ūdeni būtiski neietekmēja komposta sorbciju, kaut gan pēc ekstrakcijas karboksilgrupu saturs un fenolu OH grupu saturs kompostā nedaudz samazinājās (COOH grupas no 1,8 līdz 1,5% un fenolu OH grupas no 0,59 līdz 0,55%). Iespējams, noteicošā loma metāla jonu sorbcijā ir komposta humusvielu funkcionālajām grupām.

Komposta humusvielu spēja samazināt svina (II) jonu toksisko iedarbību tika pārbaudīta, mērot kenafa (*Hibiscus cannabinus*) stādu galvenās saknes pagarināšanu svina (II) jonu klātbūtnē un svina (II) jonu un humusvielu klātbūtnē. Pievienojot komposta humusvielu šķīdumam Pb (II) jonus, novērota pH samazināšanās, kas norāda uz kompleksveidošanās reakciju.

3.15. tabula. Svina (II) jonu toksiskās iedarbības samazināšana uz kenafa sakņu attīstību komposta humusvielu klātbūtnē (relatīvā pagarināšana % no kontroles)

Pb koncentrācija, mg/l	Pb (II)	+ Pb (II) + HV
2,0	20 %	23 %
1,0	19 %	29 %
0,5	48 %	88 %
0	100 %	100 %

Nedēļas laikā kenafa saknes garums kontroles grupā sasniedza 24 cm. Pievienojot barības šķīdumam svina (II) jonus koncentrācijā 0,5 mg/l, kenafa galvenās saknes garums saīsinājās par pusi salīdzinājumā ar kontroli, kā arī ievērojami samazinājās sazarotība, kas parāda svina (II) jonu izteikto fitotoksisko iedarbību uz kenafu. Pievienojot komposta humusvielu šķīdumu koncentrācijā 50 mg/l, svina (II) toksiskais efekts tika ievērojami samazināts, un kenafa sakņu sistēmas attīstība bija salīdzināma ar kontroli svina (II) koncentrācijā 0,5 mg/l (3.15. att., 3.15. tab.).



3.15. attēls. Kenafa galvenās saknes pagarināšanās tests Pb (II) un komposta humusvielu klātbūtnē

A – kontrole; B – Pb (II) 0,5 mg/l; C – Pb (II) 0,5 mg/l un humusvielas 50 mg/l

Iegūtie rezultāti parāda, ka komposta humusvielas spēj saistīt smago metālu jonus tādējādi samazinot to fitotoksiskumu (Bikovens *et al.*, 2004).

3.6. Atkritumu tauku ietekme un zāles–skaidu komposta humusvielu ķīmiskais sastāvs

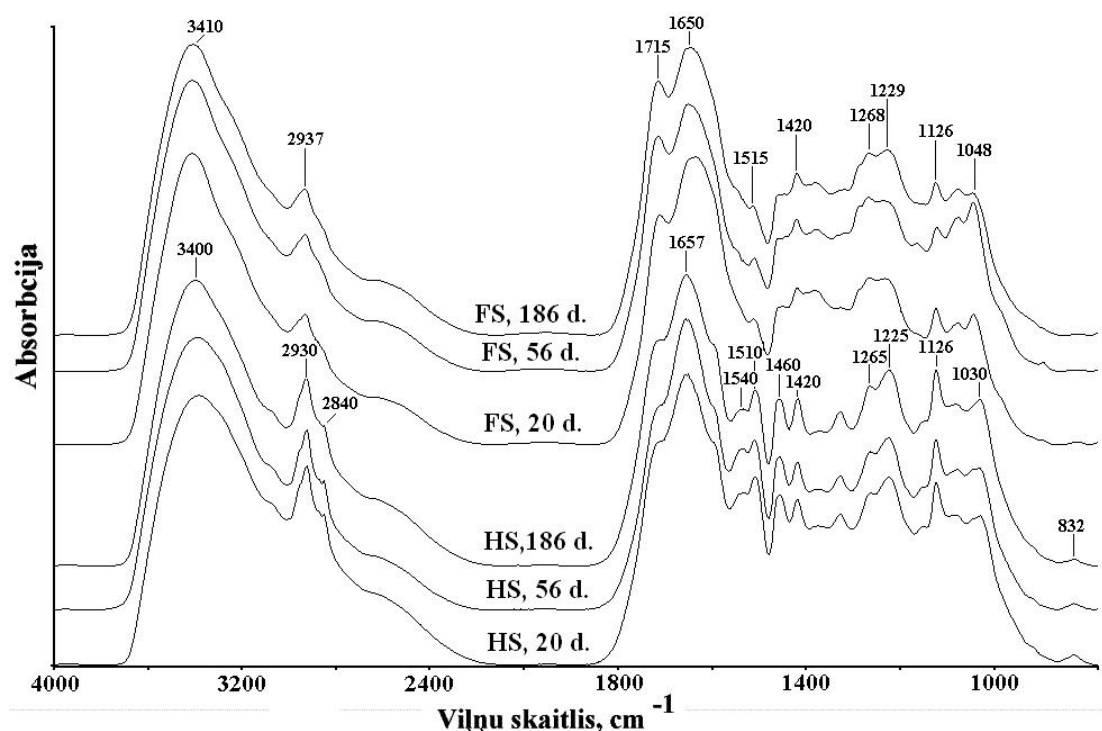
Lai izpētītu atkritumu tauku ietekmi uz humusvielu veidošanos, no zāles–skaidu komposta A pēc 20, 56 un 186 kompostēšanas dienām tika izekstrahētas komposta humusvielas, kuras tika sadalītas humīnskābes (HS) un fulvoskābes (FS) frakcijās. Humīnskābju un fulvoskābju elementu sastāvs un atomārās attiecības redzamas 3.16. tabulā.

3.16. tabula. Komposta humīnskābju un fulvoskābju pēc 20, 56 un 186 kompostēšanas dienām elementu sastāvs un atomārās attiecības ($\pm s_n$)

	Humīnskābes			Fulvoskābes		
	20 d.	56 d.	186 d.	20 d.	56 d.	186 d.
C, %	52,4 $\pm 0,03$	52,2 $\pm 0,08$	52,6 $\pm 0,24$	45,1 $\pm 1,4$	48,5 $\pm 0,3$	43,0 $\pm 0,6$
H, %	5,48 $\pm 0,06$	5,60 $\pm 0,07$	5,98 $\pm 0,06$	4,39 $\pm 0,19$	4,85 $\pm 0,08$	4,18 $\pm 0,06$
N, %	5,22 $\pm 0,08$	5,12 $\pm 0,07$	4,72 $\pm 0,02$	3,35 $\pm 0,12$	3,87 $\pm 0,13$	3,18 $\pm 0,09$
S, %	zīmes	zīmes	zīmes	0,50 $\pm 0,07$	0,56 $\pm 0,05$	0,39 $\pm 0,05$
C/N attiecība	11,7	11,9	13,0	15,7	14,6	15,8
H/C attiecība	1,3	1,3	1,4	1,2	1,2	1,2
O/C attiecība	0,5	0,5	0,5	0,8	0,7	0,9

Komposta humīnskābes satur vairāk oglekļa, ūdeņraža un slāpekļa nekā fulvoskābes, kas parāda fulvoskābju lielāku oksidēšanu. Neliels slāpekļa samazinājums kompostēšanas laikā, iespējams, saistīts ar slāpekļa mineralizāciju kompostēšanas laikā.

FTIS spektri parādīja (3.16. att.) tipisku lignīnu un proteīnu diagnostiskos maksimumus pie 1515–1510, 1420, 1126 (lignīna aromātiskais gredzens), 1460 (alifātiskās C–H deformācijas, asim. $-\text{CH}_2-$ un $-\text{CH}_3$), 1650 (amīdi I) un 1540 (amīdi II) cm^{-1} . Kaut arī konstatēts neliels H/C attiecības pieaugums komposta HS, FTIS spektri neapstiprināja taukskābju ietekmi uz komposta humusvielu formēšanu. Lielu lignīna ieguldījumu komposta humusvielu formēšanā apstiprināja metoksilgrupu analīze. Metoksilgrupu saturs humīnskābēs pieauga no 5,12% (pēc 20 kompostēšanas dienām) līdz 5,49 un 6,25% (attiecīgi pēc 56 un 186 kompostēšanas dienām). Tas ir mazāk nekā zāles komposta lignīnos, bet vairāk nekā zāles komposta humusvielās. Zāles un zāles–skaidu komposta humusvielas satur ievērojami vairāk metoksilgrupu nekā augsnes humusvielas – lignocelulozes komposta un augsnes humusvielu ķīmiskais sastāvs ir ievērojami atšķirīgi. Fulvoskābju FTIS spektros ir atpazīstami lignīna sorbcijas maksimumi, kaut arī ievērojami nogludināti ar ne-lignīna piemaisījumiem. Palielināta absorbcija pie 1800–1600 cm^{-1} ar maksimumu pie 1715 cm^{-1} (karbonilgrupu svārstības) parāda būtisku fulvoskābju oksidēšanu. Fulvoskābēs pēc 186 kompostēšanas dienām salīdzinājumā ar fulvoskābēm pēc 20 un 56 dienām novērots absorbcijas samazinājums pie 1050–1030 cm^{-1} , kas, iespējams, saistīts ar ogļhidrātu atlikumu samazināšanu.



3.16. attēls. Komposta humīnskābju (HS) un fulvoskābju (FS) pēc 20, 56 un 186 kompostēšanas dienām FTIS spektri

Viena no veiksmīgākajām metodēm sarežģītu dabīgo organisko vielu pētīšanai ir analītiskā pirolīze. Metode tika aprobēta uz skujkoku zāģskaidām un lignocelulozes atlikumiem pēc bioetanolā iegūšanas, un iegūtie rezultāti parādīja, ka analītisko pirolīzi var izmantot kvantitatīvai lignocelulozes degradācijas novērtēšanai. Pieaugot lignocelulozes apstrādes apstākļu bardzībai, tika novērota C_6C_3/C_6C_{0-2} attiecības samazināšanās (Dizhbite *et al.*, 2011).

3.17. tabula. Komposta humīnskābju un fulvoskābju pēc 20, 56 un 186 dienām analītiskās pirolīzes identificētie gaistošie produkti un to relatīvais saturs (%)

Nr.	Savienojumi	Humīnskābes			Fulvoskābes		
		20 d.	56 d.	186 d.	20 d.	56 d.	186 d.
1.	CO ₂	36,5	35,0	33,1	39,8	39,8	40,9
2.	H ₂ O + metanols	39,2	40,2	42,4	44,4	44,0	43,6
3.	Propanāls	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
4.	Propanons	0,1	0,2	0,1	0,3	0,4	0,4
5.	Etenilacetāts	0	0	0	0,2	0,1	0,1
6.	2-Metilpropanāls	1,1	1,1	1,0	0,4	0,3	0,4
7.	2-Metilfurāns	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,2
8.	2,3-Butāndions	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2
9.	2-Butanons	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
10.	Propānnitrils	0,1	0,1	0,1	0	0	0
11.	3-Metilbutanāls	0,6	0,6	0,6	0,2	0,1	0,2
12.	2-Metilbutanāls	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1	0,1
13.	Pirolidīna-1-karbonitrils	0,1	0,1	0,1	0	0	0
14.	Etiķskābe	0,7	0,7	0,8	0,8	0,6	0,6
15.	1-Hidroksipropān-2-ons	0	0	0	0	0,1	0

16.	Toluols	1,2	1,2	0,9	0,3	0,2	0,3
17.	Piridīns	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
18.	3-Metilbutānnitrils	0,1	0,1	0,1	0	0	0
19.	Propionskābe	0	0	0,1	0,1	zīmes	zīmes
20.	Pirols	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2
21.	5-Hidroksimetil- 2(5H)-furanons	0,0	0,0	0,1	0,1	0,1	zīmes
22.	Vinilbenzols	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
23.	Furfurāls	0,2	0,2	0,2	0,7	0,6	0,2
24.	3-Metil-1H-pirols	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	zīmes
25.	2-Metil-1H-pirols	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
26.	5-Metilfurfurāls	zīmes	zīmes	zīmes	zīmes	zīmes	zīmes
27.	3-Hidroksi-5,6- dihidro-(4H)-pirān-4- ons	0,1	0,2	0,1	2,3	2,6	0,3
28.	Fenols	1,1	1,1	1,1	1,1	0,9	0,8
29.	2-Metoksifenols	1,8	1,8	1,9	0,9	1,2	1,2
30.	2-Metilfenols	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
31.	1-Etenilpirolidīn-2-ons	0	0	0	0,4	0,8	1,4
32.	4-Metilfenols	1,1	1,1	1,0	0,3	0,3	0,4
33.	3-Metilfenols	0	0	0	0,2	zīmes	0,2
34.	Pirolidīn-2-ons	0	0	0	1,2	2,3	3,1
35.	4-Metilgvajakols	0,9	1,0	1,0	0,2	0,1	0,1
36.	3,4-Dimetilfenols	0,1	0,1	0,1	0,1	zīmes	zīmes
37.	4-Etilfenols	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
38.	4-Etilgvajakols	0,3	0,3	0,3	0,1	0,1	zīmes
39.	4-Vinilgvajakols	2,4	2,3	1,7	0,7	0,7	0,4
40.	Siringols	2,5	2,7	3,3	0,6	0,9	0,9
41.	Indols	0,3	0,3	0,2	0,1	zīmes	0,1
42.	3-Metoksi-5- metilfenols	0,1	0,1	0,1	0	0	0
43.	Izoeigenols	0,3	0,3	0,3	0	0	0
44.	4-Metil-1-indols	0,1	0,1	0,1	0	0	0
45.	4-Metilsiringols	1,3	1,1	1,2	0,1	zīmes	0,1
46.	5-Oksopirolidīn-2- karboksilskābe	0,1	0,1	0,1	0	0	0
47.	4-Etilsiringols	0,4	0,3	0,4	zīmes	zīmes	zīmes
48.	Acetogvajakons	0,2	0,2	0,4	0,1	0,1	0,1
49.	4-Vinilsiringols	1,8	1,7	1,8	0,3	0,3	0,3
50.	Gvajacilacetons	zīmes	0,1	0,1	0	0	0
51.	4-Alilsiringols	0,2	0,1	0,1	0	0	0
52.	Propiovanilons	zīmes	zīmes	zīmes	0	0	0
53.	cis-4-Propenilsiringols	0,1	zīmes	0,1	0	0	0
54.	trans-4-Propenil- siringols	0,8	0,6	0,6	zīmes	zīmes	zīmes
55.	1-Fenilpirolidīn-2-ons	0	0	0	zīmes	zīmes	zīmes
56.	5-Izopropil-2,4- imidazolidinedions	0,1	0,1	0,1	0	0	0
57.	Acetosiringons	0,4	0,6	0,9	0,1	0,1	0,1
58.	Siringilacetons	0,1	0,1	0,1	0	0	0
59.	5,6-dipropildekāns	0,2	0,2	0,1	0	0	0
60.	4-Metil-5- propilnonāns	0	0	0	0,2	0,1	0,1

Analizējot komposta humīnskābes un fulvoskābes, tika identificēti 60 dažādi savienojumi (3.17. tab.), kuri sadalīti sešās dažādās grupās pēc to iespējamās izcelsmes, izņemot CO₂ un ūdeni (3.18. tab.). Liels CO₂ saturs piralizātu produktos (33–40%) norāda uz komposta humusvielu oksidēšanu. Analizējot zāģskaidas, CO₂ iznākums līdzīgos pirolīzes apstākļos bija ~ 5% (Dizhbite *et al.*, 2011).

Lipīdu izcelsmes pirolīzes produktu iznākums no humīnskābēm un fulvoskābēm bija zems, tas apstiprināja FTIS novērojumus. Slāpekli saturošo savienojumu daudzums fulvoskābēs bija lielāks nekā humīnskābēs. Ogļhidrātu izcelsmes produktu vairāk bija fulvoskābēs, bet kompostēšanas beigās novērots straujš ogļhidrātu savienojumu samazinājumus, kas saskan ar FTIS datiem.

Lignīna un ne-lignīna izcelsmes aromātiskie savienojumi dominēja humīnskābju frakcijā. Siringilvienību un gvajacilvienību attiecība humīnskābju frakcijā bija apmēram 2 reizes lielāka nekā fulvoskābju frakcijā. Līdzīgas tendences iepriekš aprakstītas arī augsnes humusvielām (Ganjugunte *et al.*, 2005), un tas apstiprina, ka kompostēšana ir biomimētisks process humusvielu formēšanai augsnē.

3.18. tabula. Galveno pirolīzes produktu grupu relatīvais saturs komposta humīnskābēs un fulvoskābēs

Grupa	Humīnskābes			Fulvoskābes		
	20 d.	56 d.	186 d.	20 d.	56 d.	186 d.
Ogļhidrāti ¹	0,5	0,8	0,7	3,4	3,5	0,6
N-saturošie savienojumi	1,4	1,4	1,3	2,1	3,4	5,0
Lipīdi	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1
Lignīns ²	13,3	13,2	14,0	2,9	3,4	3,2
Dažādas izcelsmes aromātiskie savienojumi	4,0	3,9	3,7	2,1	1,7	1,8
Dažādas izcelsmes alifātiskie savienojumi	3,4	3,6	3,4	2,5	2,0	2,0
S/G attiecība ³	1,3	1,3	1,6	0,6	0,6	0,7
C ₆ C ₍₀₋₂₎ /C ₆ C ₃ ⁴	9	10	11	146	171	317
H/G attiecība ⁵	0,5	0,4	0,5	1,0	0,7	0,8
C _{arom.} /C _{alif.} ⁶	1,9	1,7	1,9	0,6	0,6	0,6

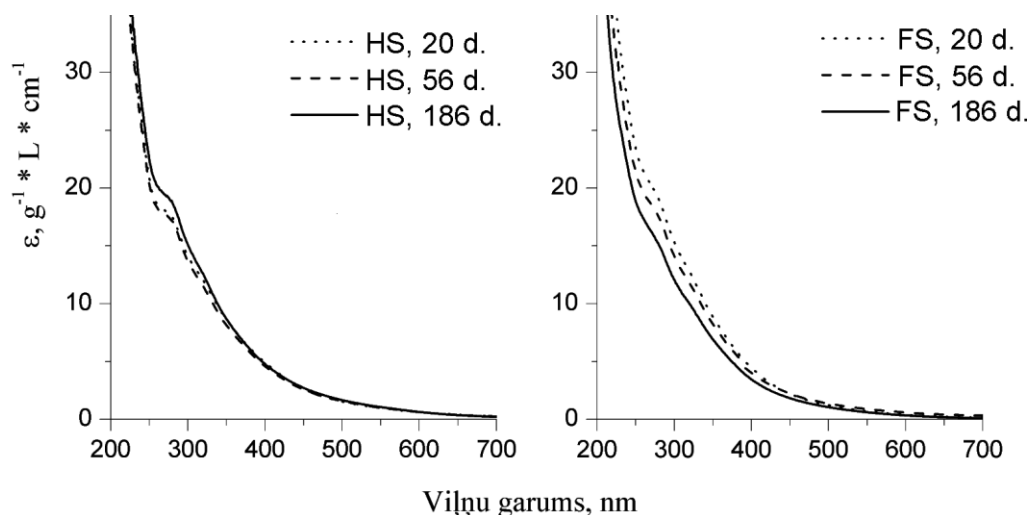
1 – anhidrocukuri un furāna atvasinājumi; 2 – gvajacilatvasinājumi un siringilatvasinājumi; 3 – S/G: siringilvienību un gvajacilvienību attiecība; 4 – gvajacil un siringil C₆, C₆-C₁ un C₆-C₂ savienojumu attiecība pret gvajacil un siringil C₆-C₃ savienojumiem; 5 – nemetoksilēto fenolu attiecība pret gvajacil vienībām; 6 – C-aromātisko savienojumu un C-alifātisko savienojumu attiecība.

Fulvoskābju frakcijā bija lielāka nemetoksilēto fenolu attiecība pret gvajacilvienībām, tas norāda uz intensīvu demetoksilēšanu fulvoskābju frakcijā. Palielinoties kompostēšanas laikam, tika novērota lignīna alifātiskās ķēdes saīsināšanās, kas īpaši drastiski notika fulvoskābju frakcijā. Līdzīgi novērojumi iegūti iepriekš, zāles komposta humusvielas analizē, izmantojot analītisko ozonēšanu (Bikovens *et al.*, 2010).

Iegūtie rezultāti parādīja, ka komposta fulvoskābes ir jutīgākas pret kompostēšanas gaitu nekā humīnskābes. Tas ļauj rekomendēt komposta humusvielu lignīna fragmentu alifātiskās ķēdes degradācijas mērījumus kā vienu no lignocelulozes komposta gatavības parametriem (Bikovens *et al.*, 2012).

3.7. Zāles–skaidu komposta humusvielu makromolekulārās īpašības

Humusvielām ir raksturīga vienmērīga UV-VIS gaismas absorbcija bez izteiktiem maksimumiem, kas monotoni samazinās, palielinoties viļņa garumam (Орлов, 1992). Tomēr zāļu–skaidu komposta humīnskābes spektros var novērot absorbcijas pārliekumu („plecu”) pie 280 nm, kas norāda uz lignīna biodegradācijas produktu klātbūtni humīnskābju sastāvā (3.17. att.).



3.17.attēls. Komposta humīnskābju (HS) un fulvoskābju (FS) pēc 20, 56 un 186 kompostēšanas dienām spektri ultravioletajā un redzamās gaismas apgabalā

Humusvielu raksturošanai bieži vien izmanto dažādas UV absorbcijas attiecības. E_2/E_4 attiecība raksturo lignīna un hinonu saturu kompostēšanas sākumstadijā, E_2/E_6 – humificēto un nehumificēto vielu attiecību, un E_4/E_6 raksturo parauga humifikāciju. Tipiska E_4/E_6 attiecības vērtība augsnes humusvielām ir <5.

3.19. tabula. Zāles–skaidu komposta humīnskābju un fulvoskābju pēc 20, 56 un 186 kompostēšanas dienām UV-VIS spektru absorbcijas attiecības un molekulmasas

Paraugs	E_2/E_6	E_4/E_6	E_2/E_3	E_3/E_4	E_2/E_4	M_w , kDa	M_n , kDa	M_w/M_n
HS, 20 d.	48,9	6,19	1,82	4,35	7,89	7,2	0,73	9,9
HS, 56 d.	49,4	6,33	1,88	4,16	7,81	7,0	0,67	10,4
HS, 186 d.	59,2	7,39	1,92	4,17	8,02	5,5	0,54	10,0
FS, 20 d.	94,3	9,10	1,89	5,49	10,37	1,2	0,34	3,7
FS, 56 d.	45,5	4,85	1,87	5,01	9,38	1,2	0,36	3,3
FS, 186 d.	95,6	10,17	1,89	4,97	9,41	1,4	0,46	3,1

M_w – masas vidējā molekulmasa; M_n – skaitliskā vidējā molekulmasa; M_w/M_n – polidispersitāte

Kā redzams 3.19. tabulā komposta humifikācijas indekss E_4/E_6 ir lielāks par 5, tas norāda, ka stabila un gatava komposta humusvielas atšķiras no augsnes humusvielām, līdzīgi kā tas ir novērots, analizējot notekūdeņu dūņu un zāģskaidu kompostu (Zbytniewski and Buszewski, 2005).

Humīnskābju UV spektra attiecības E_2/E_6 , E_4/E_6 , E_2/E_4 un E_2/E_3 kompostēšanas laikā vienmērīgi pieaug, savukārt E_3/E_4 samazinās. Turpretim fulvoskābju UV spektra

attiecības E_2/E_6 un E_4/E_6 mainās nelineāri – tas norāda uz hromoforo grupu atšķirību redzamajā diapazonā.

Komposta humusvielu gel-hromatogrāfija parādīja, ka kompostēšanas laikā humīnskābju molekulmasa samazinās – M_w samazinājās no 7,2 līdz 5,5 kDa. Līdzīgu komposta molekulmasas samazināšanos novēroja Fukušima (Fukushima *et al.*, 2009), kaut gan literatūrā ir aprakstīti arī pretēji novērojumi, kad kompostēšanas gaitā HS molekulmasa pieaug (Tomati *et al.*, 2000). Komposta humīnskābēm raksturīga ļoti augsta polidispersitāte $M_w/M_n \sim 10$. Salīdzinājumam augsnes humīnskābju maksimālā polidispersitātes vērtība nepārsniedz 4,4 (Perminova *et al.*, 2003). FS molekulmasa bija ievērojami mazāka (1,2–1,4 kDa) un būtiski nemainījās.

Elektronu paramagnētiskās rezonanses spektri parādīja, ka komposta fulvoskābes un humīnskābes satur semihinona radikāli (g faktors 2,004). Signāla platums HS ir šaurāks nekā FS un samazinās kompostēšanas gaitā – tas norāda uz aromātiskuma pakāpes pieaugumu. Radikāļa stabilizāciju nosaka nesapārotā elektrona delokalizācija poliaromātiskajā sistēmā, kas ir lielāka HS frakcijā un kompostēšanas gaitā pieaug (3.20. tab.).

3.20. tabula. Zāles–skaidu komposta humīnskābju un fulvoskābju pēc 20, 56 un 186 kompostēšanas dienām EPR spektru rezultātu raksturojums

Paraugs	g faktors	Līnijas platums, ΔH , G	Konjugācijas izplešanās, $n, \geq$	Spina koncentrācija, $C \cdot 10^{17}$, spin/g
HS, 20 d.	2,0043	5,08	20,59	2,13
HS, 56 d.	2,0042	4,30	28,37	1,58
HS, 186 d.	2,0040	4,27	28,77	1,87
FS, 20 d.	2,0044	5,70	16,56	6,64
FS, 56 d.	2,0044	5,12	20,35	3,25
FS, 186 d.	2,0044	5,61	17,11	3,66

Humusvielu UV spektra attiecības E_4/E_6 bieži vien izmanto, lai novērtētu humifikācijas pakāpi un humusvielu molekulmasas izmaiņas. Tika novērota negatīva korelācija (tuvu 1) starp zāles–skaidu komposta humīnskābju E_4/E_6 attiecību un M_w un M_n , bet komposta fulvoskābēm šo lielumu korelācija bija tikai 0,4. Līdzīgas tendences novērotas starp pārējām UV attiecībām. E_2/E_4 un E_3/E_4 attiecības uzrādīja korelāciju (0,8-0,9) ar galvenajiem EPR spektru raksturojumiem – tas apstiprina lignīna ietekmi uz UV spektriem šajā diapazonā. Tika novērota arī pozitīva korelācija (0,8) starp HS M_w un EPR līnijas platumu ΔH un negatīva korelācija starp M_n un konjugācijas izplešanos.

3.8. Ar silīcija savienojumiem modificēts zāles-skaidu komposts kā augu augšanas stimulators

Kompostu tradicionāli izmanto lauksaimniecībā, lai palielināt organisko vielu saturu augsnē un uzlabotu augsnes auglību. Modificējot kompostu ar silīcija savienojumiem var iegūt jaunu ekoloģiski drošu produktu, kas pozitīvi ietekmē augu attīstību un uzlabo to izturību pret biotiskiem un abiotiskiem stresiem. Modificējot lignīnu ar neorganiskiem silīcija savienojumiem, tika iegūts porains lignīna–silīcija materiāls ar ievērojamu iekšējo virsmu, poru tilpumu un hidrofobitāti, kas ievērojami atšķiras no izejas materiāla. FTIS spektri parādīja iegūtajā hibrīda materiālā jaunus

absorbcijas maksimumus pie 465, 805 un 1080 cm^{-1} , kas atbilst Si–O–Si saites deformācijas un simetriskajām un asimetriskajām svārstībām. Savukārt palielināta absorbcija pie 950, 1170 un 3574–3479 cm^{-1} apgabalā norāda uz Si–O–H grupu. ^{29}Si KMR apstiprināja FTIS rezultātus un parādīja, ka lignīna matrica satur polimērās silīcija vienības, kuras ar lignīnu savieno skābekļa tiltni (Telysheva *et al.*, 2009a).

Izmantojot zāles-skaidu kompostu, pēc līdzīgas metodikas tika sintezēts silīciju saturošs produkts. Iegūtais pulverveida produkts saturēja 5% silīcija. Gaisa sauss komposts bija glabāts 2 gadus istabas temperatūrā un pēc glabāšanas uzrādīja inhibējošu efektu uz salātu un kukurūzas sēklu dīgšanu. Sēklu dīdžības testi parādīja dīdžības samazināšanu no 80 līdz 40%. Savukārt silīcija–komposts uzrādīja vienādus vai pat labākus rezultātus nekā kontrole: sēklu dīdžība bija 80%, un koleoptila pieaugums veidoja 30% salīdzinājumā ar kontroli. Veģetācijas eksperimenti tika veikti 1,0 litra traukos 6 dienas. Pie silīcija–komposta devas 2 t/ha kukurūzas virszemes daļas masas pieaugums bija 25% (uz sausni), garums +7% un sakņu tilpums 16% salīdzinājumā ar kontroli. Neapstrādāts komposts līdzīgās devās neapstiprināja nekādu efektu attiecībā uz kukurūzas attīstību. Pozitīva komposta ietekme bija novērota > 10 t/ha devā. Savukārt silīcija–komposts šādās devās nomāca augu attīstību. Iegūtie rezultāti parāda, ka kompostu var izmantot silīcija hibrīda materiāla iegūšanai un tā patēriņš ir ievērojami mazāks salīdzinājumā ar nemodificētu kompostu.

SECINĀJUMI

1. Teorētiski pamatota, eksperimentāli pārbaudīta un praktiski realizēta videi bīstamo lopkautuvju atkritumu flotācijas tauku un asins saturošo atkritumu kompostēšana un iegūts kvalitatīvs organisks augsnes ielabošanas līdzeklis – komposts. Rekomendēta komposta kaudzes kompozīcija, kas sastāv no svaigi pļautas stiebrzāļu dzimtas zāles, lapkoku zāģskaidām, atkritumu taukiem un speciāli sagatavota sējmateriāla, kas satur *Trihoderma* spp., kas ir pazīstamas kā lignocelulozi sadalošas sēnes un spēj nomākt patogēnās mikrofloras attīstību. Iegūtie rezultāti parādīja, ka, kompostējot atkritumu taukus, tie sadalās pirmajās 3 nedēļās kompostēšanas termofilajā fāzē. Atkritumu tauku saturs izejas komposta kompozīcijā bija 18% jeb 6,7% no sausnas, bet pēc 3 nedēļām tas samazinājās līdz 0,5% no sausnas. Izmantotās eksperimentālās metodes neuzrādīja negatīvu lopkautuvju atkritumu tauku ietekmi uz zāles–skaidu komposta humīnskābēm vai fulvoskābēm.
2. Pamatojoties uz zāles komposta Bjorkmana lignīna un humusvielu ķīmiskām un spektroskopiskām analīzēm, eksperimentāli pierādīts, ka komposta humusvielas satur ievērojamu daudzumu lignīna fragmentu, kuru struktūra ir būtiski izmainīta. Kombinējot lignīna pētīšanas metodes – analītisko ozonēšanu, sārmaino nitrobenzola oksidēšanu un metoksilgrupu analīzi – parādīts, ka kompostēšanas laikā strauji notiek lignīna alifātiskās ķēdes oksidatīvā šķelšanās, lignīna aromātisko gredzenu kondensēšana un mazākā mērā demetoksilēšana. Analītiskā ozonēšana parādīja, ka lignīna degradācija humusvielu frakcijā notiek, iespējams, stereoselektīvi. Saskaņā ar pieejamo informāciju tā ir pirmā reize, kad humusvielu analīzei izmantota analītiskā ozonēšana.
3. Komposta humīnskābes satur vairāk bioloģiski modificēta lignīna salīdzinājumā ar fulvoskābēm. Komposta humīnskābju molekulmasas samazināšanās un spina polikonjugācijas palielināšana apstiprina kondensēšanas procesus kompostēšanas laikā. Analītiskās pirolīzes rezultāti apstiprināja lignīna alifātiskās ķēdes degradāciju kompostēšanas laikā, kas vislabāk novērojams komposta fulvoskābju frakcijā. Fulvoskābju frakcija ir jutīgāka pret kompostēšanas gaitu salīdzinājumā ar humīnskābju frakciju. Iegūtie rezultāti ļauj rekomendēt komposta humusvielu lignīna fragmentu alifātiskās ķēdes degradācijas mērījumus kā vienu no lignocelulozes komposta gatavības parametriem.
4. Pierādīta komposta spēja sorbēt metālu jonus un pildīt barjerfunkciju metālisko jonu migrācijā. Komposta humusvielas samazina svina (II) fitotoksisko iedarbību uz augiem – tas pārbaudīts ar kenafa stādiem.
5. Modificējot zāles–skaidu kompostu ar silīciju saturošiem savienojumiem, iegūts jauns hibrīda materiāls ar augu augšanas stimulatora īpašībām, kas veicina testējamo augu sakņu sistēmas attīstību. Iegūtais silīciju saturošais produkts ļauj palielināt ražību un ievērojami samazināt komposta patēriņu.

Literatūras saraksts

1. Adams, J.D.W., Zennaro, M. and Frostick, L.E. (2008). Composting of green waste: observations from windrow trials and bench-scale experiments. *Environ. Technol.* 29, 1149-1155.
2. Akiyama, T., Sugimoto, T., Matsumoto, Y. and Meshitsuka, G. (2002). Erythro/threo ratio of β -O-4 structures as an important structural characteristic of lignin. I. Improvement of ozonation method for the quantitative analysis of lignin side chain structure. *J. Wood Sci.* 48, 210-215.
3. Albuquerque, J.A., Bautista-Carrascosa, I., Lidon, A., Garcia de la Fuente, R., Girbent, J., Abad, M. and Cegarra, J. (2009). Co-composting an animal fatty-proteinaceous wastes with a solid lignocellulosic by-product from the olive oil industry ('alperujo'). *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 84, 918-926.
4. Amir, S., Hafidi, M., Lemee, L., Merlina, G., Guiressec, M., Pinelli, E., Revel, J.C., Bailly, J.R. and Ambles, A. (2006). Structural characterization of humic acids, extracted from sewage sludge during composting, by thermochemolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Process Biochem.* 41, 410-422.
5. Arshad, M.A., Soon, Y.K. and Ripmeester, J.A. (2011). Quality of soil organic matter and C storage as influenced by cropping systems in northwestern Alberta, Canada. *Nutr. Cycl. Agrosys.* 68, 71-79.
6. Bahri, H., Dignac, M.-F., Rumpel, C., Rasse, D.P., Chenu, C. and Mariotti, A. (2006). Lignin turnover kinetics in an agricultural soil is monomer specific. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1977-1988.
7. Baker, S.M. (1996). Rapid methoxyl analysis of lignins using gas chromatography. *Holzforschung* 50, 573-574.
8. Bikovens, O., Gravitis, J. and Iiyama, K. (2004). Biomodification of lignocelluloses under composting environment and heavy metal binding by compost humic substances. In book: W. Leal Filho (ed.) *Environmental Education, Communication and Sustainability. Vol.15. Integrative Approaches towards Sustainability in the Baltic Sea Region*. Peter Lang Verlag. 2004. p. 439-444.
9. Bikovens, O., Telysheva, G. and Iiyama, K. (2010). Comparative studies of grass compost lignin and lignin component of compost humic substances. *Chem. Ecol.* 26(S2), 67-75.
10. Bikovens O., Zarina D. and Telysheva G. (2010). Co-composting of animal grease wastes and lignocellulosic as an approach for bioprocessing of wastes prohibited for landfilling. In book: J.A. González-Pérez, F.J. González-Vila, and G. Almendros (eds.) *Advances in Natural Organic Matter and Humic Substances Research 2008-2010 (Vol. 1, 2 & 3)*. International Humic Substances Society. 2, p. 336-337.
11. Bikovens, O., Dizhbite, T. and Telysheva, G. (2012). Characterisation of humic substances formed during co-composting of grass and wood wastes with animal grease. *Envir. Technol.* 33, 1427-1433.

12. Björkman, A. (1956). Studies on finely divided wood. Part I. Extraction of lignin with neutral solvents. *Svensk. Pap.* 13, 477-485.
13. Blakeney, A.B., Harris, P.J., Henry, R.J. and Stone, B.A. (1983). A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.* 113, 291-299.
14. Brunow, G. (1998). Oxidative coupling of phenols and the biosynthesis of lignin. In: *Lignin and Lignan Biosynthesis*. Lewis, N.G., Sarkanen, S. (Eds.) American Chemical Society, Washington, DC, p. 131-147.
15. Chang Chien, S.W., Wang, M.C. and Huang, C.C. (2006). Reactions of compost-derived humic substances with lead, copper, cadmium, and zinc. *Chemosphere* 64, 1353-1361.
16. Chen, H., Liu, L., Huang, Q., Cai, P. and Liang, W. (2008). Advance in studies on remediation of metal-contaminated soils by compost. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.* 14, 898-904.
17. Cheshire, M. V. (1977). Origins and stability of soil polysaccharide. *J. Soil Sci.* 28: 1-10.
18. Diaz, L.D. and De Bertoldi, M. (2007). History of Composting. In book: *Compost science and technology*. L.F. Diaz, M. De Bertoldi, W. Bidlingmaier (Eds). 2007. Elsevier.
19. Dizhbite, T., Telysheva, G., Dobeles, G., Arshanitsa, A., Bikovens, O., Andersone, A. and Kampars, V. (2011). Py-GC/MS for characterization of non-hydrolyzed residues from bioethanol production from softwood. *J. Analyt. Appl. Pyrol.* 90, 126-132.
20. Epstein, E. (1997). The science of composting. CRC Press. Boca Raton, London, NY, Washington, D.C.
21. Epstein, E. (2009). Silicon: its manifold roles in plants. *Ann. Appl. Biol.* 155, 155-160.
22. Fengel, D. and Wegener, G. (Eds.) (1984). Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Walter de Gruyter. Berlin, NY.
23. Fukushima, M., Yamamoto, K., Ootsuka, K., Komai, T., Aramaki, T., Ueda, S. and Horiya, S. (2009). Effects of the maturity of wood waste compost on the structural features of humic acids. *Biores. Technol.* 100, 791-797.
24. Ganjegunte, G.K., Vance, G.F., Preston, C.M., Schuman, G.E., Ingram, L.J., Stahl, P.D. and Welker, J.M. (2005). Soil organic carbon composition in a northern mixed-grass prairie: effects of grazing, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 69, 1746-1756.
25. Gochev, V.K. and Krastanov, A.I. (2007). Isolation of laccase producing *Trichoderma* spp. *Bulg. J. Agricult. Sci.* 13, 171-176.
26. González-Vila, F.J. and Martín, F. (1985). Chemical structural characteristics of humic acids extracted from composted municipal refuse. *Agric., Ecosys., Environ.* 14, 267-278.
27. González-Vila, F.J., Almendros, G. and Madrid, F. (1999). Molecular alteration of organic fractions from urban waste in the course of composting

- and their further transformation in amended soil. *Sci. Tot. Environ.* 235, 215-229.
28. González-Vila, F.J., González-Pérez, J.A., Akdi, K., Gomis, M.D., Perez-Barrera, F. and Verdejo, T. (2009) Assessing the efficiency of urban waste biocomposting by analytical pyrolysis. *Biores. Technol.*, 100, 1304-1309.
 29. Grabber, J.H., Ralph, J., Lapierre, C. and Barriere, Y. (2004). Genetic and molecular basis of grass cell-wall degradability. I. Lignin-cell wall matrix interaction, *C.R. Biologies* 327, 455-465.
 30. Hachicha R., Hachicha S., Trabelsi I., Woodward, S. and Mechichi T. (2009a). Evolution of the fatty fraction during co-composting of olive oil industry wastes with animal manure: Maturity assessment of the end product. *Chemosphere* 75, 1382-1386.
 31. Hachicha S., Cegarra J., Sellami F., Hachicha R., Drira N., Medhioub K. and Ammar E. (2009b). Elimination of polyphenols toxicity from olive mill wastewater sludge by its co-composting with sesame bark. *J. Hazardous Materials.* 161, 1131-1139.
 32. Higuchi T. (1985). *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*, Academic Press, Orlando, FA.
 33. Hu, F., Jung, S. and Ragauskas, A. (2012). Pseudo-lignin formation and its impact on enzymatic hydrolysis. *Biores. Technol.* 117, 7-12.
 34. Hubbe, M.A., Nazhad, M. and Sanchez, C. (2010). Composting as a way to convert cellulosic biomass and organic waste into high-value soil amendments: a review. *Bioresources* 5, 2808-2854.
 35. Illmer, P. and Schinner, F. (1997). Compost turning – a central factor for a rapid and high-quality degradation in household composting. *Biores. Technol.* 59, 157-162.
 36. Iiyama, K. and Lam, T.B.T. (1990). Lignin in wheat internodes. Part 1. The reactivities of lignin units during alkaline nitrobenzene oxidation. *J. Sci. Food Agric.* 51, 481-491.
 37. Iiyama, K. and Wallis, A.F.A. (1990). Determination of lignin in *Herbaceous* plants by an improved acetyl bromide procedure. *J. Sci. Food Agric.* 51, 145-161.
 38. Inbar, Y., Chen, Y., Hadar, Y. and Hoitink, H.A.J. (1990). New approaches to compost maturity. *BioCycle* 31, 64-69.
 39. Itävaara, M., Vikman, M., Liisa M. and Vuorinen, A. (2010). Maturity tests for composts – verification of a test scheme for assessing maturity. *Compost Sci. Util.* 18, 174-183.
 40. Iwegbue, C.M.A., Egun, A.C., Emuh, F.N. and Isirimah, N.O. (2006). Compost maturity evaluation and its significance to agriculture. *Pakistan J. Biol. Sci.* 9, 2933-2944.
 41. Johns, M.R. (1995). Developments in wastewater treatment in the meat processing industry: a review. *Biores. Technol.* 54, 203-216.
 42. Kalaiselvi, S. and Panneerselvam, A. (2011). In vitro assessment of antagonistic activity of *Trichoderma* sp. against *Sarocladium oryzae* causing

- sheath rot disease in paddy. *Int. J. Appl. Biol. Pharmaceut. Technol.* 2, 179-183.
43. Kang, J., Zhang, Z. and Wang, J.J. (2011). Influence of humic substances on bioavailability of Cu and Zn during sewage sludge composting. *Biores. Technol.* 102, 8022-8026.
 44. Katsumata, K.S., Maruyama, M. and Meshitsuka, G. (2001) Reduction of aluminium toxicity to radish by alkaline oxygen treated kraft lignin. *J. Wood Sci.* 47, 129-134.
 45. Komilis, D.P. and Ham, R.K. (2003). The effect of lignin and sugars to the aerobic decomposition of solid wastes. *Waste Management* 23, 419-423.
 46. Kokorevics, A., Gravitis, J., Chirkova, E., Bikovens, O. and Druz, N. (1999). Sorption of chromium (III) and copper (II) ions on biodamaged wood and lignin. *Cellulose Chemistry and Technology*, 33, 261-267.
 47. Korndörfer, G.H., Nolla, A. and Ramos, L.A. (2005). Available silicon in tropical soils and crop yield. In *Proceedings of III Silicon in Agriculture conference*. Uberlandia/MG, Brazil. p. 72-81.
 48. Kulikova, N.A., Philippova, O.I., Bychkova, Y.S., Volikov, A.B. and Perminova, I.V. (2012). Nitrogen release from natural and aminoorganosilane-modified humic substances. In *Function of Natural Organic Matter in Changing Environment*. Xu, J., Wu, J. and He, Y. (Eds.). Springer Verlag. p. 260-262.
 49. Lam, T.B.T., Iiyama, K. and Stone, B.A. (1994) Determination of etherified hydroxycinnamic acids in cell walls of grasses. *Phytochemistry*. 36, 773-775.
 50. Larré-Larrouy, M.-C., Thuriès, L. (2006). Does the methoxyl group content of the humic acid-like fraction of compost provide a criterion to evaluate their maturity? *Soil Biol. Biochem.* 38: 2976-2979.
 51. Latvijas Atkritumu saimniecības asociācija (LASA). (2006). *Bioloģiski sadalāmo atkritumu apsaimniekošana*. Rīga. 102. lpp.
 52. Lebedeva, G., Solodovnik, V., Telysheva, G., Vigovskis, J. and Švarta, A. (2011) Use of lignosilicon to improve the harvest and quality parameters of potato. In *Proceedings of the 8th International Scientific and Practical Conference. Environment. Technology. Resources 2011*. Vol. 2. Rezekne, Latvia. p. 282-286.
 53. Lemus, G.R. and Lau, A.K. (2002). Biodegradation of lipidic compounds in synthetic food wastes during composting. *Canad. Biosyst. Engineer.* 44, 633-639.
 54. Levanon, D. and Pluda, D. (2002). Chemical physical and biological criteria for maturity in composts for organic farming. *Compost Sci. Util.* 10, 339-346.
 55. Lguirati, A., Ait Baddi, G., El Mousadik A., Gilard, V., Revel, J.C. and Hafidi, M. (2005). Analysis of humic acids from aerated and non-aerated urban landfill composts. *Int. Biodeter. Biodegrad.* 56, 8-16.
 56. Li, Y.M., Chaney, R.L., Angle, J.S. and Baker, A.J.M. (2000) Phytoremediation of heavy metal contaminated soils. In *Bioremediation of*

- Contaminated Soils*. Wise, D.L., Trantolo, D.J., Cichon, E.J., Inyang, H.I. and Stottmeister, U. (Eds.) Marcel Dekker: NY, Basel. 2000, p. 837-857.
57. Lin, Y.S. and Dence, C.W. (Eds.) (1992). *Methods in Lignin Chemistry*. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg.
 58. López, M., Huerta-Pujol, O., Martínez-Farré, F.X. and Soliva, M. (2010). Approaching compost stability from Klason lignin modified method: Chemical stability degree for OM and N quality assessment. *Resourc. Conserv. Recycling*. 55, 171-181.
 59. Lundquist, K. and Olson, T. (1977). NMR studies of lignins. 1. Signal due to protons in formyl groups. *Acta Chem. Scand. B*. 31, 788-792.
 60. Lundquist, K. (1979). NMR studies of lignins. 2. Interpretation of the ^1H NMR spectrum of acetylated birch lignin. *Acta Chem. Scand. B*. 33, 27-30.
 61. Ļebedeva, G., Teliševa, G., Rancāne, S. Tiltiņa, L. (2007). Lignosilīcija izmantošana sarkanā āboliņa (*Trifolium pratense* L.) audzēšanā. In *Proceedings of the 6th International Scientific and Practical Conference. Environment. Technology. Resources 2007*. Rēzekne, Latvija. 141.-149.lpp.
 62. Magdoff, F.R., Tabatabai, M.A. and Handlon, E.A. (Eds.) (1996). *Soil organic matter: Analysis and interpretation*. SSSA Spec. Public. No. 46, Madison, Wisconsin.
 63. Martone, P.T., Estevez, J.M., Lu, F., Ruel, K., Denny, M.W., Somerville, C. and Ralph, J. (2009). Discovery of lignin in seaweed reveals convergent evolution of cell-wall architecture. *Curr. Biol*. 19, 169-175.
 64. McCarthy, J.L. and Islam, A. Lignin chemistry, technology, and utilization: a brief history. In *Lignin: Historical, Biological and Material Perspectives*. Glasser, W.G., Northey, R.A., and Schultz, T.P. (Eds.) ACS, Washington, DC. 1999, 2-99.
 65. Ministerio de la Presidencia, 12378 Real Decreto 824/2005, de 8 julio. Sobre productos fertilizantes. <http://www.boe.es/boe/dias/2005/07/19/pdfs/A25592-25669.pdf>
 66. Nakasaki, K., Nagasaki, K. and Ariga, O. (2004). Degradation of fats during thermophilic composting of organic wastes. *Waste Manage. Res.* 22, 276-282.
 67. Nobili, M. and Petrussi, F. (1988). Humification index (HI) as evaluation of the stabilization degree during composting. *J. Ferment. Technol.* 66(5), 577-583.
 68. Pajaczowska, J., Sulkowska, A., Sulkowski, W.W. and Jedrzejczyk, M. (2003). Spectroscopic study of the humification process during sewage sludge treatment. *J. Molec. Struct.* 651-653, 141-149.
 69. Paradelo, R., Moldes, A.B., Rodriguez, M. and Barral, M.T. (2008). Relationship between heavy metals and phytotoxicity in composts. *Cienc. Technol. Aliment.*, 6, 143-151.
 70. Palm, C.A., Gachengo, C.N., Delve, R.J., Cadisch, G. and Giller, K.E. (2001). Organic inputs for soil fertility management in tropical

- agroecosystems: application of an organic resource database. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 83, 27-42.
71. Perminova, I.V., Frimmel, F.H., Kudryavtsev, A.V., Kulikova, N.A., Abbt-Braun, G., Hesse, S. and Petrosyan, V.S. (2003). Molecular weight characteristics of humic substances from different environments as determined by size exclusion chromatography and their statistical evaluation. *Environ. Sci. Technol.* 37, 2477-2485.
 72. Rashad, F.M., Saleh, W.D. and Moselhy, M.A. (2010). Bioconversion of rice straw and certain agro-industrial wastes to amendments for organic farming systems: 1. Composting, quality, stability and maturity indices. *Biores. Technol.* 101, 5952-5960.
 73. Saviozzi, A., Levi-Minzi, R. and Riffaldi, R. (1988). Maturity evaluation of organic waste. *BioCycle*. 29(3), 54-56.
 74. Schaumann, G.E. and Thiele-Bruhn, S. (2011) Molecular modelling of soil organic matter: Squaring the circle? *Geoderma*. 166, 1-14
 75. Schnitzer, M., Lowe, L.E., Dormaar, J.F. and Martel, V. (1981). Chemical parameters for the characterization of soil organic matter. *Can. J. Soil Sci.* 61, 517-519.
 76. Schulten, H.R. and Schnitzer, M. (1993). A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften* 80, 29-30.
 77. Sequi, P., Nobili, M., Leita, L. and Cercignani, G. (1986). A new index of humification. *Agrochimica* 30(1-2), 175-179.
 78. Senesi, N., and Loffredo, E. Soil humic substances. In *Biopolymers. Volume 1. Lignin, Humic Substances and Coal*. Hofrichter, M. and Steinbüchel, A. Eds., Wiley-VCH: Weinheim. 2001, 247-299.
 79. Shevchenko, S.M. and Bailey, G.W. (1996). Life after death: lignin-humic relationships re-examined. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 26, 95-153.
 80. Sequeira, S., Evtuguin, D. and Portugal. I. (2007). Synthesis and characterisation of cellulose/silica hybrids obtained by heteropoly acid catalysed sol-gel process. *Mater. Sci. Eng. C*. 27, 172-179.
 81. Sequi, P., De Nobili, M., Leita, L., Cercignani, G. (1986). A new index of humification. *Agrochimica* 30, 175-179.
 82. Simpson, A.J., Kingery, W.L., Hayes, M.H.B., Spraul, M., Humpfer, E., Dvortsak, P., Kersserbaum, R., Godejohann, M. and Hofmann, M. (2002). Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften* 89, 84-88.
 83. Smidt, E., Meissl, K., Schmutzer, M. and Hinterstoisser, B. (2008). Co-composting of lignins to build up humic substances – Strategies in waste management to improve compost quality. *Ind. Crop. Prod.* 27, 196-201.
 84. Spaccini, R. and Piccolo, A. (2009). Molecular characteristics of humic acids extracted from compost at increasing maturity stages. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1164-1172.
 85. Sparks, D.L. (2001). Elucidating the fundamental chemistry of soils: past and recent achievements and future frontiers. *Geoderma* 100, 303-319.

86. Sparks, D.L. (2003). *Environmental Soil Chemistry*. Academic Press, San Diego, NY, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto.
87. Stevenson, F.J. (1994). *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reaction*, John Wiley & Sons, Inc.
88. Sutton R. and Sposito, G. (2005). Molecular structure in soil humic substances: The new view. *Envir. Sci. Technol.* 39(23), 9009-9015.
89. Swift, R.S. (1996). Organic matter characterization. In *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods* (Eds. Sparks, D., Page, A., Helmke, P., Loeppert, R., Soltanpour, P., Tabatabai, M., Johnson, C. and Sumner, M.). Soil Sci. Soc. Am. Book, Series 5, Soil Sci. Soc. Am., Madison, 1018–1020.
90. Tandy, S., Healey, J.R, Nason, M.A., Wiliamson, J.C., Jones, D.L. and Thain, S.C. (2010). FT-IR as an alternativve method for measuring chemical properties during composting. *Biores. Technol.* 101, 5431-5436.
91. Teliševa, G. un Ļebedeva, G. (1998). Lignosilīcija augu augšanas aktivātors un tā iegūšanas paņēmiens. Latvijas patents. LV 12020.
92. Telysheva, G., Dizhbite, T., Evtuguin, D., Mironova-Ulmane, N., Lebedeva, G., Andersone, A., Bikovens, O., Chirkova, J. and Belkova, L. (2009). Design of siliceous lignins – Novel organic/inorganic hybrid sorbent materials. *Scripta Materialia* 60, 687-690.
93. Telysheva, G., Gaitnieks, T., Lebedeva, G., Daugaviete, M. and Dizhbite. T. (2009). Siliceous lignin as promoter for root system development of coniferous trees seedlings. In *Proceeding book of international symposium "Root research and applications" RootRAP*, Vienna, Austria. 152-4.
94. Telysheva, G., Dizhbite, T., Bikovens, O., Ponomarenko, J., Janceva, S. and Krasilnikova, J. (2011), Structure and antioxidant activity of diarylheptanoids extracted from bark of grey alder (*Alnus incana*) and potential of biorefinery-based bark processing of European trees. *Holzforschung* 65, 623-629.
95. Tiquia, S.M. (2010) Reduction of compost phytotoxicity during the process of decomposition. *Chemosphere*, 79, 506-512.
96. Tomati, U., Madejon, E. and Galli, E. (2000). Evolution of humic acid molecular weight as index of compost stability. *Compost Sci. Util.* 8, 108-115.
97. Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A. and Itävaara, M. (2000). Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Biores. Technol.* 72, 169-183.
98. Tuomela, M., Raiskila, S., Vikman, M., Itavaara, M. and Hatakka, A. (2001). Biodegradation of radiolabelled synthetic lignin (¹⁴C-DHP) and mechanical pulp in a compost environment, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, 492-499.
99. Vargas, C., Brandão, P.F.B., Agreda, J. and Castillo, E. (2012). Bioadsorption using comost: an alternative for removal of chromium (VI) from aqueous solutions. *Bioresources* 7, 2711-2727.
100. Vikman, M., Karjomaa, S., Kapanen, A., Wallenius, K. and Itävaara M. (2002). The influence of lignin content and temperature on the

- biodegradation of lignocellulose in composting conditions, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59, 591-598.
101. Wakelin, N.G. and Forster, C.F. (1997). An investigation into microbial removal of fats, oils and greases. *Biores. Technol.* 59, 37-43.
 102. Waksman S.A. and Smith, H.W. (1934). Transformation of the methoxyl group in lignins in the process of decomposition of organic residues by microorganisms. *J. Am. Chem. Soc.* 56, 1225-1229.
 103. Webb, E.C. and O'Neill H.A. (2008). The animal fat paradox and meat quality. *Meat Sci.* 80, 28-36.
 104. Wichuk K.M. and McCartney D. (2010). Compost stability and maturity evaluation – a literature review *Can. J. Civ. Eng.* 37, 1505-1523.
 105. Wilkinson, K., Beardsell, D., Hepworth, G., Tee, E., Hood, V. and Hudson, C. (2009) Effect of maturation of grease trap compost on plant growth. *Compost Sci. Util.* 17, 40-47.
 106. Wei, Z., Xi, B., Zhao, Y., Wang, S., Liu, H. and Jiang, Y. (2007). Effect on inoculating microbes in municipal solid wastes composting on characteristics of humic acid. *Chemosphere* 68, 368-374.
 107. Wei, H., Tucker, M.P., Baker, J.O., Harris, M., Luo, Y., Xu, Q., Himmel, M. E. and Ding, S.Y. (2012). Tracking dynamics of plant biomass composting by changes in substrate structure, microbial community, and enzyme activity. *Biotechnology for Biofuels* 5, 1-20.
 108. Wen, Z., Liao, W. and Chen, S. (2005) Production of cellulase by *Trichoderma reesei* from dairy manure. *Biores. Technol.* 96, 491-499.
 109. Xiong, X., Yan-xia, Li, Y.X., Yang, M., Zhang, F.S. and Li, W. (2010). Increase in complexation ability of humic acids with the addition of ligneous bulking agents during sewage sludge composting. *Biores. Technol.* 101, 9650-9653.
 110. Xu, F. Structure, ultrastructure, and chemical composition. In: *Cereal Straw as a Resource for Sustainable Biomaterials and Biofuels*. Sun, R.C., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 2010, 9-48.
 111. Zakis G.G. (1994). *Functional Analysis of Lignins and their derivatives*. Tappi Press, Atlanta, Georgia.
 112. Zarina, D. and Utinans, F. (2003). *Method for biocomposting the organic waste in field conditions*. Latvijas patents No 13022, 20.09.2003.
 113. Zbytniewski, R. and Buszewski, B. (2005). Characterization of natural organic matter (NOM) derived from sewage sludge compost. Part 1: chemical and spectroscopic properties. *Biores. Technol.* 96, 471-478.
 114. Zucconi, F., Pera, A., Forte, M. and De Bertoldi, M. (1981) Evaluating toxicity of immature compost. *BioCycle* 22, 54-57.
 115. Беловежец, Л.А., Волчатова, И.В. и Медведева, С.А. (2010). Перспективные способы переработки вторичного лигноцеллюлозного сырья. *Химия растительного сырья*. (2), 5-16.

116. Гродзинский, А.М., Головкин, Э.А., Горобец, С.А., Кострома, Е.Ю., Крупа, Л.И., Прутенская, Н.И., Сердюк, Л.С., Юрчак, Л.Д. и Шроль, Т.С. (1987) Экспериментальная аллелопатия. Наукова думка, Киев.
117. Минеева В.Г. (2001) *Агрохимический Практикум*. Издательство МГУ: Москва.
118. Синников, А.С., Шаших, А.А., Паршевников, А.Л., и Меньшикова, Л.В. (1976). Об использовании древесной коры. *Деревообрабатывающая промышленность*. (11), 12-13.
119. Оболенская А.В., Ельницкая З.П. и Леонович А.А. (1991). *Практические Работы по Химии Древесины и Целлюлозы*. Экология: Москва.
120. Орлов, Д.С. (1990). *Гумусовые Кислоты Почв и Общая Теория Гумификации*. Издательство МГУ: Москва.
121. Орлов, Д.С. (1992). *Химия Почв*. Издательство МГУ: Москва.
122. Чеботарев, Н.Т., Хмелинин, И.Н. и Швецова, В.М. (2001). Использование пометнолигнинового компоста для удобрения дерново-подзолистой почвы при выращивании многолетних трав. *Агрохимия* (5), 33-37.
123. Шамин, А.А. Бобнева, Л.И. и Колчина, О.Н. (1977). Биохимические и микробиологические процессы при компостировании еловой коры. *Агрохимия*. (7), 97-103.
124. Якименко, О.С., Орлов, Д.С. и Аммосова, Я.М. (1995). Гуминовые вещества лигнокомпоста и его влияние на свойства среднеподзолистой почвы. *Агрохимия* (9), 17-24.

PIELIKUMI

Characterisation of humic substances formed during co-composting of grass and wood wastes with animal grease

Oskars Bikovens*, Tatiana Dizhbite and Galina Telysheva

Laboratory of Lignin Chemistry, Latvian State Institute of Wood Chemistry, Riga, Latvia

(Received 1 April 2011; final version received 6 October 2011)

Meat processing grease wastes were composted with lignocellulosic material. Judging by the reduction in the yield of compost lipophilic extract, grease was degraded during the first 20 days of composting. Compost humic acids (HA) and fulvic acids (FA) were characterized by elemental analysis, Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and analytical pyrolysis. The compost HA and FA fractions contained a ligno-protein complex. The presence of grease (6.7% dry weight) during composting had a slight influence on the chemical composition of HA and FA. Analytical pyrolysis indicated that, during composting, major changes were observed in the FA fraction, namely, the proportion of nitrogen-bearing compounds increased and carbohydrate-derived products decreased drastically in the final compost. In addition, the shortening of the aliphatic chains of lignin-derived compounds was observed with an increase in the $C_6C_{(0-2)}/C_6C_3$ ratio in pyrolysates.

Keywords: analytical pyrolysis; grease wastes; compost; humic acids; fulvic acids

1. Introduction

Composting or controlled microbial degradation of organic matter under aerobic conditions is one of the most promising treatment methods for solid organic waste recycling. European Union legislation classifies composting as an effective method for organic recycling suitable as an alternative to landfilling. National and EU legislation prohibit the disposal of concentrated grease or fat-rich material that contains animal tissue wastes from slaughterhouses in landfills without special pretreatment because of its slow biological degradation under normal climatic conditions and the potential health risk [1]. Therefore, composting could be used as a safe method for the biodegradation of fat-rich materials. It is known that lignocellulosic materials can be used for co-composting with plant [2] and animal fatty-proteinaceous wastes [3]. During composting, a part of the organic matter is mineralized, whereas the other part is partially transformed into humic-like material [4]. However, the chemical composition of the humic-like material produced is largely unknown.

Compost from plant residues is traditionally used as an organic amendment to increase the soil organic matter content and to improve soil fertility (e.g. in organic farming, compost serves as the main source of fertilizer [5]). The characteristics of humic substances in compost are related to compost maturity and immature compost can cause severe damage to plant growth [6].

Numerous chemical and microbiological methods have been proposed for the evaluation of compost maturity

[4,5,7–9]. Some of them (i.e. estimation of ash content, C/N ratio, mineral N content) are not sensitive enough to define compost maturity [5]. Because lignin is considered to be the most recalcitrant plant component during composting, its characteristics have been also proposed for the evaluation of compost maturity [10,11]. Based on the suggestion that compost maturity is related to the chemical stability of lignin, López *et al.* [10] adapted the Klason method of lignin content determination to measure the chemical stability of compost. Larré-Larrouy and Thuriès [11] proposed the methoxyl group (originating mainly from lignin) as an index of compost maturity.

The aim of the present work was to characterize the chemical composition of the humic (HA) and fulvic (FA) acids formed during co-composting of lignocellulose residues with waste rich in animal fat from meat processing. Analytical pyrolysis (i.e. pyrolysis with gas chromatography/mass spectrometry, Py-GC/MS) is an appropriate technique for the study of complex natural organic matrices, including compost organic matter and humic substances [12,13]. In this work, Py-GC/MS was applied to characterize the chemical composition of HA and FA, and to assess changes during the composting process.

2. Experimental

2.1. Materials and methods

All chemicals used for analyses were of analytical grade and were used without further purification. Fourier transform

*Corresponding author. Email: bikovens@edi.lv

infrared (FT-IR) grade KBr was purchased from Sigma-Aldrich (Germany).

Compost was prepared in a composting facility (Zelta-bele Ltd, Saldus municipality, Latvia) in the open air in summer–autumn season of 2008. The starting material was a mixture of 19% wastewater from a slaughterhouse (Lankalni Ltd, Skrunda municipality) containing cattle fatty tissue with an admixture of blood (dry matter content 15.6%), 24% fresh reaped grass (*Gramineae*) and 55% hardwood sawdust as a bulking agent. A specially designed inoculum was added to facilitate the composting process. The inoculum contained four bacteria strains (*Pseudomonas* spp., *Nitrosomonas* spp., *Nitrobacter* spp. and *Sarcina* spp.) isolated from a biologically active sludge and two fungi strains (*Trichoderma lignorum* and *Trichoderma viride*) [14]. *Trichoderma* spp. producing significant amount of cellulases and hemicellulases can participate actively in the biodegradation of lignocellulosic complexes of herbaceous grasses and wood [15–17]. Wastewater from the slaughterhouse contained grease (mainly the triglycerides of palmitic and oleic acids) and proteins (N content 4.5% on dry weight). The grease content in the raw compost piles was 6.7% recalculated on a dry weight basis. Compost piles were mechanically aerated and water was added when necessary. Three compost samples were taken at different stages of composting:

- 20-day old compost after the thermophilic phase when temperature irreversibly fell below 55 °C (compost 1);
- 56-day old compost in the curing phase (compost 2);
- 186-day old final mature compost (compost 3).

HA and FA acids were extracted with 0.1 M NaOH. HA were precipitated at pH 1 from alkaline extracts. After centrifugation and removal of HA, the acidic supernatant containing FA was passed through a column of cross-linked polyvinylpyrrolidone (PVP) resin and FA were purified using the procedures recommended by the International Humic Substances Society (IHSS) [18]. HA and FA were dialysed against deionized water (Spectra/Por® Dialysis Membrane 6, molecular weight cut-off = 1000 Da) and then freeze-dried. HA and FA from composts 1, 2 and 3 were designated as HA 1, HA 2, HA 3, and FA 1, FA 2, FA 3, respectively.

Elemental analysis (C, H, N and S) was performed in a Vario MACRO CHNS apparatus (Elementar Analysensysteme GmbH). Oxygen was calculated by difference. Ash content was determined after the combustion of the samples at 600 °C for 3 h in a Carbolite furnace ELF 11/6B. Klason or acid-insoluble lignin content of compost was determined gravimetrically using Standard Method T222 om-83 developed by TAPPI [19]. The determination of the methoxyl group content in HA was carried out by the classical Zeisel–Viebock–Schwappach method using 57% hydrogen iodide. The lipophilic compounds were Soxhlet extracted for 7–8 h

using hexane as solvent. FT-IR spectra of humic substances were acquired in KBr pellets using a Spectrum One apparatus (Perkin Elmer) with a resolution of 4 cm⁻¹ and the number of scans equal to 64.

2.2. Analytical pyrolysis (Py-GC/MS)

Py-GC/MS analysis was performed using a micro-furnace Frontier Lab Micro Double-shot Pyrolyser (Py-2020iD). The final pyrolysis temperature was 500 °C and the heating rate was 600 °C/s. The pyrolyser was directly coupled with a Shimadzu GC/MS – QP 2010 apparatus fitted with a capillary column RTX-1701 (60 m × 0.25 mm) with a 0.25 µm stationary phase film. The injector temperature was set at 250 °C and the ion source at 250 °C with electron impact (EI) of 70 eV; the MS scan range m/z was 15–350, using He as carrier gas at a flow rate of 1 ml/min and the split ratio was 1:30. The weight of the sample was 1.00–2.00 mg. The oven programme was 1 min isothermal at 60 °C, then 6 °C/min to 270 °C, and finally 10 min at 270 °C. The identification of the individual compounds was performed on the basis of a GC/MS chromatogram using Library MS NIST 147.LI13. The total molar areas of the relevant peaks were normalized to 100% and the data from three repetitive pyrolysis experiments were averaged.

3. Results and discussion

3.1. Chemical composition of the compost

Table 1 shows the chemical composition of the initial materials and compost at different composting stages. The atomic C/N ratio, often used to estimate compost maturity, had decreased from 48 to 23 by the end of the composting process. The content of lignin measured using the Klason procedure increased rapidly during composting. The relative amount of ash increased with the mineralization of organic compounds to almost 30%. The initial materials used for composting contained a rather high proportion of melted grease (6.7%), but after a short (20 days) active phase during composting, the amount of lipophilic extractives decreased to 0.5%.

Latvian national legislation does not regulate such agronomically important parameters as the C/N ratio of compost. Advanced standards for manufacturing compost and fertilizer products have been developed in Spain [20]. The obtained compost end-product was sanitized and stabilized; the organic matter content of compost (>40%), C/N ratio (close to 20), as well as granulometric composition and amount of impurities were in accordance with Spain's standards for organic soil amendment (compost). Our previous results [21] obtained using garden cress (*Lepidium sativum*) and corn (*Zea mays*) seed germination, and root elongation tests (ISO 11269-1) with germinated corn seeds, showed that the compost obtained had no toxic effect on seed germination and had a favourable effect on the corn

Table 1. Chemical composition of initial material and compost (% on dry weight).

Parameter	Initial material	Compost 1	Compost 2	Compost 3
Ash	3.0 ± 0.2	10.0 ± 1.1	17.3 ± 1.3	29.0 ± 2.0
Hexane extractives	6.7 ± 0.3	0.51 ± 0.08	0.52 ± 0.11	0.43 ± 0.09
NaOH extractives	n.d.	12.3 ± 0.3	13.7 ± 0.2	15.5 ± 1.2
Klason lignin	18.5 ± 0.6	28.8 ± 0.4	33.5 ± 0.6	36.9 ± 0.8
C	45.8 ± 0.8	47.9 ± 0.5	44.0 ± 0.8	39.8 ± 0.3
H	6.43 ± 0.11	5.35 ± 0.08	4.92 ± 0.18	4.17 ± 0.19
N	1.12 ± 0.04	1.46 ± 0.01	1.92 ± 0.07	2.01 ± 0.02
C/N ratio	48	38	27	23

Note: n.d. = not determined.

Table 2. Elemental composition, atomic ratio and methoxyl group content of compost HA and FA.

Parameter	HA1	HA2	HA3	FA1	FA2	FA3
C (%)	52.4 ± 0.03	52.2 ± 0.08	52.6 ± 0.24	45.1 ± 1.4	48.5 ± 0.3	43.0 ± 0.6
H (%)	5.48 ± 0.06	5.60 ± 0.07	5.98 ± 0.06	4.39 ± 0.19	4.85 ± 0.08	4.18 ± 0.06
N (%)	5.22 ± 0.08	5.12 ± 0.07	4.72 ± 0.02	3.35 ± 0.12	3.87 ± 0.13	3.18 ± 0.09
S (%)	trace	trace	trace	0.50 ± 0.07	0.56 ± 0.05	0.39 ± 0.05
C/N ratio	11.7	11.9	13.0	15.7	14.6	15.8
H/C ratio	1.3	1.3	1.4	1.2	1.2	1.2
O/C ratio	0.5	0.5	0.5	0.8	0.7	0.9
MeO (%)	5.12 ± 0.02	5.49 ± 0.05	6.25 ± 0.03	n.d.	n.d.	n.d.

Note: n.d. = not determined.

root system, promoting an increase in main root length, total root volume and root weight. These data indicate that the compost end-product can be used as an organic soil amendment.

The yield of total humic extracts (NaOH extractives) increased during composting from 12.3% (Compost 1) to 15.5% (Compost 3). HA and FA were isolated from the compost alkaline extract to investigate the humification process during composting.

3.2. Elemental analysis and FT-IR spectra of compost HA and FA

The elemental composition and main atomic ratios of compost HA and FA are listed in Table 2. The increasing H/C indicated that HA was enriched during composting with some aliphatic structures, probably originated from grease. HA nitrogen content fell slightly during composting as a result of the mineralization of protein compounds.

FT-IR spectra bands were assigned in accordance with the literature [22,23]. FT-IR spectra of the HA isolated from the three compost samples were similar (Figure 1) and showed a pronounced profile of ligno-protein complexes with diagnostic peaks centred at 1515–1510, 1420, 1126 (lignin aromatic), 1460 (aliphatic C–H deformation, asymmetric in $-\text{CH}_2-$ and $-\text{CH}_3$), 1650 (amide I) and 1540 (amide II) cm^{-1} . Although elemental analyses showed a small increase in the H/C ratio of HA, the presence of grease-rich wastes did not have a significant effect on the

FT-IR spectra of the compost HA and FA (low absorption in the aliphatic stretch region 2940–2840 cm^{-1} , Figure 1).

The results of methoxyl group analysis confirmed the high content of lignin debris in the compost HA. The methoxyl group content increased during composting from 5.1% in HA1 to 6.2% in HA3 (Table 2), but it was lower than in herbaceous grass and wood lignin but much higher than in soil HA. The FT-IR spectra of FA showed a fairly well-defined lignin band pattern, although smoothened by the admixture of non-lignin components (Figure 1, FA1–FA3 spectra). The elevated absorption in the C=O stretch range at 1800–1600 cm^{-1} with a peak at 1715 cm^{-1} (carboxyl vibrations) indicates a high content of oxidized groups compared with the compost HA, which is also in agreement with the elemental analysis results. The reduction in absorption at 1050–1030 cm^{-1} in FA3 compared with that in FA1 and FA2 probably corresponds to the reduction in sugars moieties in its structure.

The compost FA was more oxidized than the compost HA, and their elemental composition changed during composting.

The data from FT-IR spectroscopy and chemical analysis showed that compost HA is characterized by an elevated N and H content, C/N and H/C ratios, and notably higher methoxyl group content compared with the samples of soil HA [23]. Our results coincide with the observations by González-Vila and colleagues in that the chemical composition of HA extracted from compost is different to that from soil [13,24].

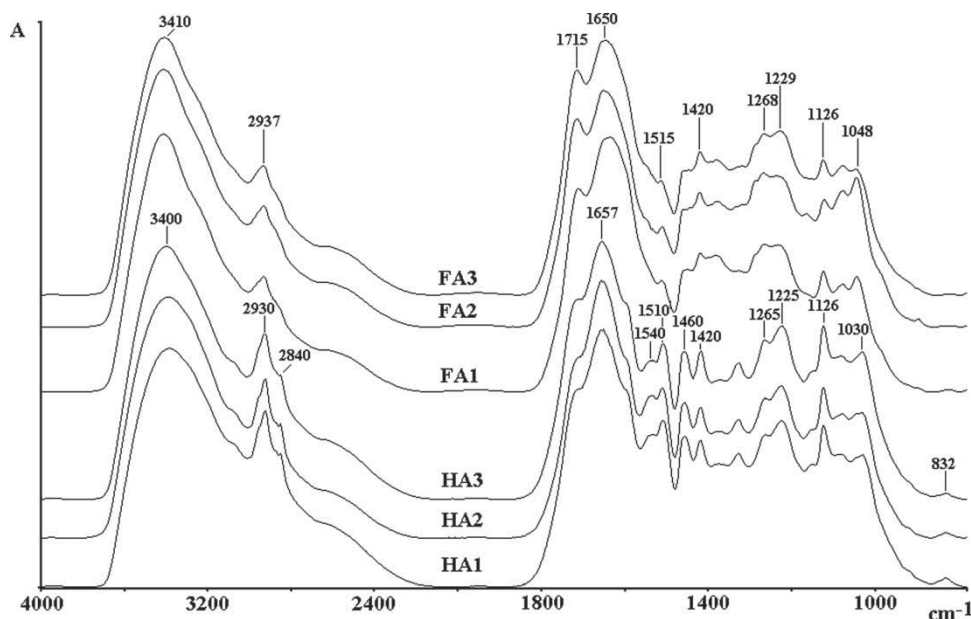


Figure 1. FT-IR spectra of compost humic and fulvic acids.

3.3. Py-GC/MS of compost HA and FA

Table 3 lists the compounds identified by analytical pyrolysis in HA and FA extracted from the compost. Sixty different compounds were detected after pyrolysis of HA and FA. The identified compounds were divided into six main groups depending on their probable origin (Table 4). The relative abundance of CO₂ in the volatiles released upon pyrolysis of compost humic substances is supposed to be connected to the oxidation of carbon atoms during composting and humification. The values obtained for HA and FA indicated a higher degree of oxidation for FA (35% and 40% CO₂, respectively). For comparison, in a previous work the corresponding value for wood using the same analytical pyrolysis conditions was estimated in about 5% [25].

The yields of lipid-derived products in the pyrolysates from compost FA and HA were low, which agrees with the results from FT-IR. The quantity of protein-derived compounds in the pyrolysis products from FA was higher than for HA, with an apparent increase during the composting process. Lignin-derived products dominated the pyrolysates from the compost HA fraction. For the samples taken at the end of the thermophilic and curing phases of composting, the relative content of carbohydrate-derived products was higher in compost FA than in compost HA, but this value fell dramatically in the FA extracted from the final compost.

To determine the alteration in the chemical structure of the lignin component of plant biomass during composting, special attention was paid to lignin-derived pyrolysis products. The aromatic-C/aliphatic-C ratios of the compost HA calculated on the basis of Py-GC/MS are about three times higher than those for FA. Lignin-derived methoxylated phenols (e.g. compounds 29, 35 and 38 in Table 3) prevailed in the composition of the compost HA, but the relative content

of non-methoxylated phenols was higher for FA (Table 4, H/G ratio).

Syringyl/guaiacyl units ratios for HA after the thermophilic stage were double those for FA, which may indicate faster degradation of syringyl units in FA, resulting in the enrichment of guaiacyl compounds. The same tendency was previously observed for soil HA [26]. The increased portion of the observed methoxyphenols with shortened side chains (C₆C₁, C₆C₂) observed could be due to the cleavage of aryl-alkyl bonds in lignin, whereas an increase in guaiacol and syringol points to more severe lignin transformations taking place [27]. The C₆C₍₀₋₂₎/C₆C₃ ratio increased dramatically during composting, especially for the FA fraction. Fulvic acids are considered as a labile organic matter and therefore the FA fraction is more sensitive to the composting process than the HA fraction. During composting, higher variations in the yields of pyrolysis volatile compounds and their ratios were observed for the FA fraction, especially in the case of carbohydrate-derived products (e.g. compound numbers 7, 23 and 27, Table 3), N-bearing components and the C₆C₍₀₋₂₎/C₆C₃ ratio (Table 4).

The Py-GC/MS results related to degradation of the lignin aliphatic chain are in agreement with our previous observation using wet chemical methods [28]. The biological degradation of lignin plays a decisive role in the formation of compost humic substances, or more correctly humic-like substances, during the composting of lignocellulosic materials. This is clearly seen in the changes in lignin-derived compounds in the pyrolysis products of compost FA. Therefore, the lignin-derived compounds in FA could be considered as a marker surrogated to the degradation of the lignocellulosic material during the composting process.

Table 3. Peak assignments and relative abundance (%) of products detected by Py-GC/MS in compost HA and FA.

Peak number	Compound	Compound proportion in volatiles (%)					
		HA1	HA2	HA3	FA1	FA2	FA3
1	CO ₂	36.5	35.0	33.1	39.8	39.8	40.9
2	H ₂ O + methanol	39.2	40.2	42.4	44.4	44.0	43.6
3	Propanal	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1
4	Propanone	0.1	0.2	0.1	0.3	0.4	0.4
5	Ethenyl acetate	0	0	0	0.2	0.1	0.1
6	2-Methylpropanal	1.1	1.1	1.0	0.4	0.3	0.4
7	2-Methylfuran	0.3	0.4	0.3	0.3	0.2	0.2
8	2,3-Butanedione	0.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.2
9	2-Butanone	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
10	Propanenitrile	0.1	0.1	0.1	0	0	0
11	3-Methylbutanal	0.6	0.6	0.6	0.2	0.1	0.2
12	2-Methylbutanal	0.5	0.5	0.5	0.1	0.1	0.1
13	Pyrrolidine-1-carbonitrile	0.1	0.1	0.1	0	0	0
14	Acetic acid	0.7	0.7	0.8	0.8	0.6	0.6
15	1-Hydroxypropan-2-one	0	0	0	0	0.1	0
16	Methylbenzene	1.2	1.2	0.9	0.3	0.2	0.3
17	Pyridine	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1
18	3-Methylbutanenitrile	0.1	0.1	0.1	0	0	0
19	Propanoic acid	0	0	0.1	0.1	trace	trace
20	Pyrrole	0.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2
21	5-Hydroxymethyl-2(5H)-furanone	0	0	0.1	0.1	0.1	trace
22	Ethenylbenzene	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1
23	Furfural	0.2	0.2	0.2	0.7	0.6	0.2
24	3-Methyl-1H-pyrrole	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	trace
25	2-Methyl-1H-pyrrole	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
26	5-Methylfurfural	trace	trace	trace	trace	trace	trace
27	3-Hydroxy-5,6-dihydro-(4H)-pyran-4-one	0.1	0.2	0.1	2.3	2.6	0.3
28	Phenol	1.1	1.1	1.1	1.1	0.9	0.8
29	2-Methoxyphenol	1.8	1.8	1.9	0.9	1.2	1.2
30	2-Methylphenol	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
31	1-Ethenylpyrrolidin-2-one	0	0	0	0.4	0.8	1.4
32	4-Methylphenol	1.1	1.1	1.0	0.3	0.3	0.4
33	3-Methylphenol	0	0	0	0.2	trace	0.2
34	Pyrrolidin-2-one	0	0	0	1.2	2.3	3.1
35	4-Methylguaiacol	0.9	1.0	1.0	0.2	0.1	0.1
36	3,4-Dimethylphenol	0.1	0.1	0.1	0.1	trace	trace
37	4-Ethylphenol	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
38	4-Ethylguaiacol	0.3	0.3	0.3	0.1	0.1	trace
39	4-Vinylguaiacol	2.4	2.3	1.7	0.7	0.7	0.4
40	Syringol	2.5	2.7	3.3	0.6	0.9	0.9
41	Indole	0.3	0.3	0.2	0.1	trace	0.1
42	3-Methoxy-5-methylphenol	0.1	0.1	0.1	0	0	0
43	Isoeugenol	0.3	0.3	0.3	0	0	0
44	4-Methyl-1-indole	0.1	0.1	0.1	0	0	0
45	4-Methylsyringol	1.3	1.1	1.2	0.1	trace	0.1
46	5-Oxopyrrolidine-2-carboxylic acid	0.1	0.1	0.1	0	0	0
47	4-Ethylsyringol	0.4	0.3	0.4	trace	trace	trace
48	Acetoguaiacol	0.2	0.2	0.4	0.1	0.1	0.1
49	4-Vinylsyringol	1.8	1.7	1.8	0.3	0.3	0.3
50	Guaiacylacetone	trace	0.1	0.1	0	0	0
51	4-Allylsyringol	0.2	0.1	0.1	0	0	0
52	Propiovanillone	trace	trace	trace	0	0	0
53	cis-4-Propenylsyringol	0.1	trace	0.1	0	0	0
54	cis-4-Propenylsyringol	0.8	0.6	0.6	trace	trace	trace
55	1-Phenylpyrrolidin-2-one	0	0	0	trace	trace	trace
56	5-Isopropyl-2,4-imidazolidinedione	0.1	0.1	0.1	0	0	0
57	Acetosyringone	0.4	0.6	0.9	0.1	0.1	0.1
58	Syringylacetone	0.1	0.1	0.1	0	0	0
59	5,6-dipropyldecane	0.2	0.2	0.1	0	0	0
60	4-Methyl-5-propylnonane	0	0	0	0.2	0.1	0.1

Table 4. Relative abundance (%) of the main groups of pyrolysis products of compost HA and FA obtained by Py-GC/MS.

Group	HA1	HA2	HA3	FA1	FA2	FA3
Carbohydrates ¹	0.5	0.8	0.7	3.4	3.5	0.6
N-bearing compounds	1.4	1.4	1.3	2.1	3.4	5.0
Lipids	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1
Lignin ²	13.3	13.2	14.0	2.9	3.4	3.2
Multi-origin aromatics	4.0	3.9	3.7	2.1	1.7	1.8
Multi-origin aliphatic	3.4	3.6	3.4	2.5	2.0	2.0
S/G ratio ³	1.3	1.3	1.6	0.6	0.6	0.7
C ₆ C ₍₀₋₂₎ /C ₆ C ₃ ratio ⁴	9	10	11	146	171	317
H/G ratio ⁵	0.5	0.4	0.5	1.0	0.7	0.8
Carom./C _{alif.} ⁶	1.9	1.7	1.9	0.6	0.6	0.6

Note: ¹Anhydrosugars and furan derivatives; ²Guaiacyl and syringyl derivatives; ³S/G: syringyl to guaiacyl units ratio; ⁴Ratio of guaiacyl and syringyl C₆, C₆-C₁ and C₆-C₂ to guaiacyl and syringyl C₆-C₃; ⁵Ratio of non-methoxylated phenols to guaiacyl units; ⁶C-aromatic to C-aliphatic ratio.

4. Conclusions

Under the conditions of the present study, wastewater from a slaughterhouse could be successfully co-composted with lignocellulose wastes; rapid decomposition of grease was achieved during the early stages of composting. The presence of a high amount of grease in composting piles has a limited effect on the chemical structure of HA and FA, which could be considered the product of the dynamic forming and degrading association of ligno-protein complexes. It is observed that FA, being a labile fraction of humic substances, is more reflective of changes during composting.

The findings described above were obtained using elemental analysis, FT-IR and analytical pyrolysis as a proxy to study compost evolution. This showed that the degradation of grease occurs after a short (20 days) thermophilic phase of composting. Changes in the proportion of N-bearing and sugar-derived products in the pyrolysates from the compost HA and FA during composting, and the cleavage of the lignin aliphatic chain in the compost HA and FA, revealed as an increase of the C₆C₍₀₋₂₎/C₆C₃ ratio in the lignin-derived compounds detected in the pyrolysates.

Acknowledgements

Financial support from the Latvian budget (National Programme 3.2.5 and grant 1547) and EUREKA project E!3726—Euroenviron Degrease are gratefully acknowledged.

References

- [1] Regulation (EC) No 1069/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 laying down health rules as regards animal by-products and derived products not intended for human consumption and repealing Regulation (EC) No 1774/2002 (Animal By-products Regulation), Off. J. Eur. Union. L300 (2009), pp. 1–33.
- [2] F. Sellami, S. Hachicha, M. Chtourou, K. Medhioub, and E. Ammar, *Bioconversion of wastes from the olive oil and confectionary industries: Spectroscopic study of humic acids*, Environ. Technol. 28 (2007), pp. 1285–1298.
- [3] J.A. Alburquerque, I. Bautista-Carrascosa, A. Lidon, R. Garcia de la Fuente, J. Girbent, M. Abad, and J. Cegarra, *Co-composting an animal fatty-proteinaceous wastes with a solid lignocellulosic by-product from the olive oil industry ('alperujo')*, J. Chem. Technol. Biotechnol. 84 (2009), pp. 918–926.
- [4] E. Epstein, *The Science of Composting*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1997.
- [5] D. Levanon and D. Pluda, *Chemical, physical and biological criteria for maturity in composts for organic farming*, Comp. Sci. Utiliz. 10 (2002), pp. 339–346.
- [6] K. Wilkinson, D. Beardsell, G. Hepworth, E. Tee, V. Hood, and C. Hudson, *Effect of maturation of grease trap compost on plant growth*, Comp. Sci. Utiliz. 17 (2009), pp. 40–47.
- [7] A. Saviozzi, R. Levi-Minzi, and R. Riffaldi, *Maturity evaluation of organic waste*, BioCycle, 29 (1988), pp. 54–56.
- [8] M.P. Bernal, C. Paredes, M.A. Sanchez-Monedero, and J. Cegarra, *Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes*, Bioresour. Technol. 63 (1998), pp. 91–99.
- [9] H.F. Li, T. Imai, M. Ukita, M. Sekine, and T. Higuchi, *Compost stability assessment using a secondary metabolite: Geosmin*, Environ. Technol. 25 (2004), pp. 1305–1312.
- [10] M. López, O. Huerta-Pujol, F.X. Martínez-Farré, and M. Soliva, *Approaching compost stability from Klason lignin modified method: Chemical stability degree for OM and N quality assessment*, Resour. Conserv. Recycling 55 (2010), pp. 171–181.
- [11] M.-C. Larré-Larrouy and L. Thuriès, *Does the methoxyl group content of the humic acid-like fraction of compost provide a criterion to evaluate their maturity?* Soil Biol. Biochem. 38 (2006), pp. 2976–2979.
- [12] F.J. González-Vila, G. Almendros, and F. Madrid, *Molecular alteration of organic fractions from urban waste in the course of composting and their further transformation in amended soil*, Sci. Total Environ. 235 (1999), pp. 215–229.
- [13] F.J. González-Vila, J.A. González-Pérez, K. Akdi, M.D. Gomis, F. Perez-Barrera, and T. Verdejo, *Assessing the efficiency of urban waste biocomposting by analytical pyrolysis*, Bioresour. Technol. 100 (2009), pp. 1304–1309.
- [14] D. Zarina and F. Utinans, *Method for biocomposting the organic waste in field conditions*, Latvian Patent No. 13022, 20.09.2003.
- [15] Z. Wen, W. Liao, and S. Chen, *Production of cellulose by Trichoderma reesei from dairy manure*, Bioresour. Technol. 96 (2005), pp. 491–499.
- [16] D. Barnard, A. Casanueva, M. Tuffin, and D. Cowan, *Extremophiles in biofuel synthesis*, Environ. Technol. 31 (2010), pp. 871–888.
- [17] V.K. Gochev and A.I. Krastanov, *Isolation of laccase producing Trichoderma spp.*, Bulg. J. Agric. Sci. 13 (2007), pp. 171–176.
- [18] R.S. Swift, *Organic matter characterization*, in *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, D. Sparks, A. Page, P. Helmke, R. Loeppert, P. Soltanpour, M. Tabatabai, C. Johnson, and M. Sumner, eds., Soil Science Society of America Book, Series 5, Soil Science Society of America, Madison, 1996, pp. 1018–1020.
- [19] Y.S. Dence, *The determination of lignin*, in *Methods in Lignin Chemistry*, Y.S. Lin and C.W. Dence, eds., Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg, 1992, pp. 33–61.
- [20] Ministerio de la Presidencia, 12378 Real Decreto 824/2005, de 8 de julio, sobre productos fertilizantes, Martes, 19 July

2005. Available at <http://www.boe.es/boe/dias/2005/07/19/pdfs/A25592-25669.pdf>.
- [21] O. Bikovens, D. Zarina, and G. Telysheva, *Co-composting of animal grease wastes and lignocellulosic as an approach for bioprocessing of wastes prohibited for landfilling*, in *Advances in Natural Organic Matter and Humic Substances Research 2008–2010*. Vol. 2, J.A. González-Pérez, F.J. González-Vila, and G. Almendros, eds., International Humic Substances Society, St Paul, MN, 2010, pp. 336–337. Available at <http://digital.csic.es/handle/10261/26346>.
- [22] F.J. Stevenson, *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions*, John Wiley and Sons, Chichester and New York, 1994.
- [23] O. Faix, *Fourier transform infrared spectroscopy*, in *Methods in Lignin Chemistry*, Y.S. Lin and C.W. Dence, eds., Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg, 1992, pp. 83–109.
- [24] F.J. González-Vila and F. Martin, *Chemical structural characteristics of humic acids extracted from composted municipal refuse*, *Agric. Ecosys. Environ.* 14 (1985), pp. 267–278.
- [25] T. Dizhbite, G. Telysheva, G. Dobeles, A. Arshanitsa, O. Bikovens, A. Andersone, and V. Kampars, *Py-GC/MS for characterization of non-hydrolyzed residues from bioethanol*, *J. Anal. Appl. Pyrol.* 90 (2011), pp. 126–132.
- [26] G.K. Ganjegunte, G.F. Vance, C.M. Preston, G.E. Schuman, L.J. Ingram, P.D. Stahl, and J.M. Welker, *Soil organic carbon composition in a northern mixed-grass prairie: Effects of grazing*, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69 (2005), pp. 1746–1756.
- [27] J.C. Del Rio, A. Gutierrez, M.J. Martinez, and A.T. Martinez, *Py-GC/MS study of Eucalyptus globulus wood treated with different fungi*, *J. Anal. Appl. Pyrol.* 58–59 (2001), pp. 441–452.
- [28] O. Bikovens, G. Telysheva, and K. Iiyama, *Comparative studies of grass compost lignin and the lignin component of compost humic substances*, *Chem. Ecol.* 26(S2) (2010), pp. 67–75.

Comparative studies of grass compost lignin and the lignin component of compost humic substances

Oskars Bikovens^{a*}, Galina Telysheva^a and Kenji Iiyama^b

^aLaboratory of Lignin Chemistry, Latvian State Institute of Wood Chemistry, Riga, Latvia; ^bThe Asian Environmental Sciences Centre, University of Tokyo, Tokyo, Japan

(Received 18 August 2009; final version received 14 May 2010)

The aim of this research was to compare the structural features of lignin and alkali-soluble humic substances isolated from grass compost at different stages of composting, and to estimate the applicability of basic analytical techniques used in lignin chemistry for characterising the lignin structures transformed during composting. Elemental, functional analyses, alkaline nitrobenzene oxidation, analytical ozonation and FT-IR techniques were applied. Compost Björkman lignins were used as reference samples. FT-IR of the compost Björkman lignins was typical for guaiacyl–syringyl lignins. The humic substances contained methoxyl groups and gave the same products as Björkman lignins by nitrobenzene oxidation and ozonation. The lignin component of humic substances, calculated on the basis of chemical markers, was lower than that for the Klason procedure and decreased in following order: methoxyl group > nitrobenzene oxidation products > ozonation products. Methoxyl groups are recommended for lignin content evaluation in compost because of their higher stability in the compost environment among the chemical markers under study. Our results showed that lignin macromolecules were already sufficiently modified at the early stage of composting to be dissolved in alkali. Modified lignin constituted a significant part of grass compost humic substances.

Keywords: grass compost; lignin; humic substances

1. Introduction

Grass-dominated ecosystems comprise approximately one third of the Earth's vegetative cover [1], and the use of grass biomass could play an important role in soil fertility management. Based on analyses of 300 plant species, Palm et al. [2] suggested that different uses of plant biomass depend on the N and lignin content. It was suggested that composting should be used in the case of a sufficient N content and high lignin content, which makes provision for grass resistance to microbial degradation [2].

Composting is one of the most promising treatment methods for solid organic waste and may be considered as a biomimetic process in the formation of humic substances (HS) in soil at the early stages. Many studies have focused on lignin degradation by white-rot fungi [3], but little attention has been paid to the main lignin degraders within a compost environment, i.e. thermophilic microfungi and actinomycetes [4]. Lignin is not totally mineralised during composting. The

*Corresponding author. Email: bikovens@edi.lv

ultimate goal in composting is to produce humus-like products, and lignin fragments become the building blocks for compost HS, which makes the evaluation of lignin degradation in compost difficult. There is a constant search for chemical methods that may be related to the decomposition state of the compost and the chemical changes that occur during the transformation of organic matter while being composted. According to Tuomela et al. [5], 12–14% of the radiolabelled lignin ^{14}C -DHP was bound to humic and fulvic acids and 30–39% to humin after 45-day composting experiments. With increasing lignin content, the biodegradation of polysaccharides decreased. A linear correlation between lignin content and biodegradation has been found in pulp and paper products [6].

Many studies clearly demonstrate that lignin biodegradation is monomer specific in the soil environment. The turnover kinetics of lignin-derived guaiacyl moieties is slower than that of syringyl and *p*-hydroxyphenyl moieties [7]. The chemical composition of grass lignin differs from that of hardwood and softwood lignins and undergoes biodegradation more easily [3]. Grass lignin is composed of all three phenylpropanoid units: guaiacyl, syringyl and *p*-hydroxyphenyl, which are interconnected through ether and C–C bonds and contain ester- and ether-linked hydroxycinnamic acids: *p*-coumaric and ferulic acid [8].

Stevenson wrote that the biochemistry of HS formation is one of the least understood aspects of humus chemistry and one of the most intriguing [9]. Lignin plays an important role in terrestrial HS formation; however, the mechanisms of this process have not been completely elucidated [9,10]. Therefore, the objectives of this study were to characterise grass compost lignin and the structural features of the lignin components of the HS fraction by the analytical tools used in lignin chemistry, with the purpose of revealing the applicability of these methods and gaining new knowledge about the changes in lignin during composting and its transformation to HS.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Samples of grass compost were kindly provided by the Itako compost yard of Nihon Doro Kodan (the Japan Highway Public Corporation, Ibaraki Prefecture, Japan). Grasses were collected from slopes beside highways. The major raw materials of the compost were common grasses growing in Japan such as *Phalaris* spp., *Cynodon* spp. and *Eleusine* spp. Composting was carried out in open compost piles, where the composting conditions such as aeration and moisture were not controlled. Samples were taken at different stages of composting, namely, a 2-week-old compost at the thermophilic stage (compost I) and a 2-month-old final compost (compost II). Grass compost samples were stored at -20°C . Before analysis, samples were freeze-dried and ground using a Wiley mill to pass a $420\text{ }\mu\text{m}$ sieve. The ground samples were successively extracted by boiling in 80% ethanol for 1 h (three times) then kept overnight with water (30°C , with shaking). Extract-free compost was used for the isolation of HS (Figure S1, available online only).

2.1.1. Isolation of alkali-soluble humic substances

Soluble HS were extracted and purified following procedures recommended by the International Humic Substances Society (IHSS) using 0.1 M NaOH from the extract-free compost [11]. HS from composts I and II were designated as HS I and II, respectively.

2.1.2. Isolation of Björkman lignin

Following the isolation of HS, the compost was milled without solvent for 96 h using a vibratory ball mill, cooled ($< 25^{\circ}\text{C}$) by water flow. Björkman lignin was extracted with dioxane/water

(9:1) and purified following the procedure described by Björkman [12]. Björkman lignin from composts I and II was designated as lignin I and II, respectively.

2.2. Analytical methods

Elemental analyses were performed with a CE instrument Flash EA1113 (Thermo Quest, Italy). Ash content was determined by the combustion of samples at 700 °C for 3 h.

Neutral sugar composition was determined using an alditol acetate procedure [13] in the composts, lignins and HS after treatment with 72% sulphuric acid for 1 h at room temperature; the acid was diluted with water to give 4% sulphuric acid and heated at 121 °C for 1 h. Alditol acetates were quantified by gas chromatography (Shimadzu GC18A, column TC17) using myo-inositol as an internal standard. The total amount of sugars was expressed as a sum of the obtained rhamnose, arabinose, xylose, mannose, galactose and glucose.

The lignin content of the extract-free compost was determined using an acetyl bromide method and Klason procedure supplemented with determination of acid-soluble lignin. Klason lignin was determined gravimetrically. Acid-soluble lignin was determined spectrophotometrically using the absorption coefficient $\epsilon = 110 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ at 205 nm [14]. Determination of lignin using the acetyl bromide method was carried out using with an absorption coefficient $\epsilon = 20 \text{ L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ at 280 nm [15]. UV spectra were recorded using a Hitachi Spectrophotometer U3010 ($b = 1.000 \text{ cm}$).

Determination of the methoxyl group content in composts, lignins and HS was carried out using the classical Zeisel–Viebock–Schwappach method with 57% hydroiodic acid (HI). The methyl iodide formed was determined by gas chromatography (Shimadzu GC14, column CP7506) using ethyl iodide as an internal standard [16].

p-Coumaric and ferulic acids in the lignins and HS were determined by gas chromatography (Shimadzu GC17, column NB1) as trimethylsilyl derivatives after their release by alkaline hydrolyses with 4 M NaOH at 170 °C for 2 h [17].

The aromatic constituents of lignin were examined using an alkaline nitrobenzene oxidation procedure [18]. Lignins and HS were oxidised with nitrobenzene in 2 M NaOH at 170 °C under an N₂ atmosphere for 2 h. The lignin-derived phenolic acids and aldehydes were quantified by gas chromatography (Shimadzu GC17, column NB1) as trimethylsilyl derivatives using ethylvanillin as an internal standard.

Ozonation was carried out using a method described by Akiyama et al. [19]. Lignins and HS were suspended in a mixture of solvents (acetic acid/water/methanol 16:3:1), and oxygen gas containing ~ 3% ozone was bubbled into the mixture at 0 °C for 2 h. The tetronic acids formed were quantified by gas chromatography (Shimadzu GC17, column NB1) as trimethylsilyl derivatives using erithrol as an internal standard.

Table 1. Chemical composition of grass mixture and grass composts (% dry matter).

	Grass mixture	Compost I	Compost II
C	39.3	37.6	28.5
N	1.1	2.0	1.7
C/N ratio	36	19	17
Ash	16.0	27.7	38.0
Total sugars (%) ^a	58.2	24.7	12.4
Klason lignin	13.3	24.0	45.6
Methoxyl group	1.04	2.02	2.21

Note: ^aSum of rhamnose, arabinose, xylose, mannose, galactose and glucose.

The potentiometric titration of lignins and HS was carried out using a Hiranuma Comtite Auto Titrator COM 550. All measurements were carried out under an N₂ atmosphere.

Analytical pyrolysis of the lignins was performed using a micro-furnace pyrolyser (PYR4A, Shimadzu) at 500 °C. The products of pyrolysis were identified using GCMS (Shimadzu GC17/QP5000 system, column NB1).

Fourier transform infrared (FT-IR) spectra of lignins and HS were recorded in KBr pellets by a Jasco FT/IR615 (resolution: 4 cm⁻¹, number of scans: 64).

3. Results and discussion

3.1. Chemical composition of grass compost

The results of elemental analysis, and the amounts of polysaccharide, lignin and methoxyl groups in the parent grass mixture and grass composts following 2 weeks and 2 months of composting are presented in Table 1. The C/N ratio is often used to estimate compost maturity. At the beginning of composting, the C/N ratio of the grass mixture was 36, and it decreased rapidly to 19 during the first 2 weeks of composting and then continued to decrease slightly to 17. The polysaccharide content decreased rapidly at the early stages of composting. This indicates that polysaccharides serve as a source of easily degradable carbon. The relative amount of ash increased with the mineralisation of organic compounds.

Determination of the lignin content was carried out using two independent methods. An acetyl bromide UV spectroscopic method has been recommended for lignin determination in herbaceous plants [14]. However, absorption of the solution obtained after digestion of the compost sample was very high and therefore use of the specific absorption coefficient recommended for lignin determination [15] was completely inapplicable for calculating the lignin content in grass compost samples.

Determination of lignin using the Klason procedure is a common method for analysis of lignocellulosic materials; however, in compost analysis, this gravimetric method is not selective enough. Sulphuric acid promotes the formation of so-called 'false lignin', which is impossible to separate from true lignin. The amount of lignin measured using the Klason procedure increased rapidly to almost twice its initial value during composting, while the methoxyl groups content increased only slightly. The amount of methoxyl groups recalculated on Klason lignin in the starting grass mixture and compost I was ~ 8%, but decreased to 4.8% after 2 months of composting (compost II). This coincides with data obtained by Jin et al. [20]. These results could be explained first by the presence of non-lignin admixtures in the residues obtained by the Klason procedure and, to some extent, by lignin demethoxylation, which was noted in earlier studies on lignin changes during composting [21]. However, on the basis of our data, it was not possible to establish the real level of demethoxylation.

HS and Björkman lignins were isolated from the compost to investigate lignin transformation during composting. The yields of alkaline extracts were 24.3 and 21.8% for composts I and II, respectively. Björkman lignin was isolated from the composts after alkaline extraction. The yield of Björkman lignins was 1.7 and 2.3% for composts I and II, respectively.

3.2. FT-IR spectra of compost lignins and humic substances

The FT-IR spectra of both Björkman lignins were very similar, and showed typical absorption maxima for lignins with a dominating maximum at 1126 cm⁻¹ of aromatic C–H in the plane deformation of the syringyl group plus C=O stretch (Figure 1). According to the classification by Faix [14], these spectra belong to the group of guaiacyl–syringyl lignins, which is characterised by

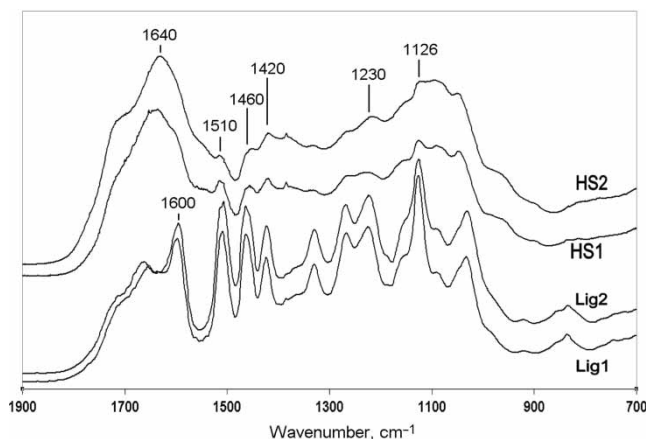


Figure 1. FT-IR spectra of grass Björkman lignin and humic substances.

a medium amount of syringyl units and a low amount of *p*-hydroxyphenyl units. The lignins were characterised by an elevated absorption in the C=O stretch range between 1800 and 1600 cm^{-1} .

HS showed a smooth FT-IR profile corresponding to the transformed macromolecular mixture (Figure 1). Only a few group frequencies and bands are assigned unequivocally, and many bands can be interpreted in various ways. Nevertheless, the spectra showed a fairly well-defined band pattern with diagnostic peaks centred at 1510 (aromatic skeletal vibrations), 1460 (aliphatic C–H deformations; asym. in $-\text{CH}_3$ and $-\text{CH}_2-$), 1420 (aromatic skeletal vibrations combined with C–H in plane deform.), 1230 (C–OH stretching of aromatic groups and C–O–C stretching of aryl ethers) and 1126 cm^{-1} , which could be interpreted by the presence of the preserved lignin component structure in humic substances. This indicates the integration of lignin into HS.

3.3. Elemental composition and functional groups of compost lignins and humic substances

The results of elemental analysis, and the amounts of polysaccharide, functional groups and hydroxycinnamic acids in lignins and HS are presented in Table 2. The elemental composition of lignin I and II was very close. Lignins also contained a small amount of nitrogen compounds and sugar admixture. Absorption coefficients (ϵ) for lignins I and II were 17.5 and 17.8 $\text{L} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ at 280 nm in methylcellusolve. The methoxyl group content of Björkman lignin was higher than

Table 2. Elemental and functional composition of compost Björkman lignins and humic substances (dry matter).

	Lignin I	Lignin II	HS I	HS II
C (%)	60.6	60.6	43.0	41.4
N (%)	0.95	0.88	3.1	2.4
MeO ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)	4.81	5.25	1.29	0.87
$\text{OH}_{(\text{phen})}$ ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)	1.51	1.50	1.29	1.18
COOH ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.83	0.81	2.20	2.69
<i>p</i> -Coumaric acid ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.15	0.06	0	0
Ferulic acid ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.10	0.04	0	0
Total hydroxycinnamic acid ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.25	0.10	0	0
Total sugars (%)	3.3	1.5	7.3	7.9
Ash (%)	n.d.	n.d.	10.5	12.1

Note: HS, humic substance.

that in compost Klason lignin; this may arise from the non-lignin admixture of compost Klason lignin. Methoxyl group content for both Björkman lignins was $\sim 5 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ or ~ 1 methoxyl group per monolignol unit based on the assumption that an equivalent molecular mass of one unit of lignin was 200 Da. This was higher than the methoxyl group content of the parent grass mixture recalculated for lignin. The data showed that compost Björkman lignin contained less *p*-hydroxyphenyl than parent grass lignin. No clear differences in the functional groups between Björkman lignin I and lignin II were observed from chemical analysis. The substitutions of OH groups were calculated as $0.47 \text{ OH} \cdot \text{unit}^{-1}$ for lignin I, and $0.46 \text{ OH} \cdot \text{unit}^{-1}$ for lignin II. Grass lignin also contained etherified and esterified *p*-coumaric and ferulic acids. The total amount of hydroxycinnamic acids in lignin decreased during composting. Nevertheless, the total acidity of lignin, judged by the COOH group content, did not change.

Analytical pyrolysis of Björkman lignins methylated with CH_2N_2 confirmed that lignin contains new acidic groups. Methyl ester of vanillic acid was identified between typical lignin C–C₆, C₂–C₆ and C₃–C₆ pyrolysis products (Figure 2). This suggested the cleavage of C α –C β bonds in the side chains of lignin during composting.

HS samples differed not only from compost Björkman lignins, but also between themselves. Both HS samples had a lower carbon content and higher nitrogen content than Björkman lignins. The amount of methoxyl groups in HS was lower than in the lignins and decreased during composting. These results made it possible to suggest the demethoxylation of lignin during its integration into HS. The total acidity of HS was significantly higher than for the lignins and increased during composting. Hydroxycinnamic acids were not detected in HS after alkaline hydrolysis.

3.4. Nitrobenzene oxidation of compost lignins and humic substances

Alkaline nitrobenzene oxidation is a method for the qualitative and quantitative determination of the minimal amount of uncondensed lignin-building blocks. The yields of nitrobenzene oxidation products for Björkman lignins and HS are summarised in Table 3. Björkman lignins gave a high yield of phenolic aldehydes and acids by nitrobenzene oxidation of 27.3 and 28.1% for lignins I and II, respectively; the amount of uncondensed units in compost lignins would be expected to be at least one third. The same products were obtained after nitrobenzene oxidation of HS, but with a lower yield. The syringyl/guaiacyl ratio for all lignins and HS was almost the same. The yield

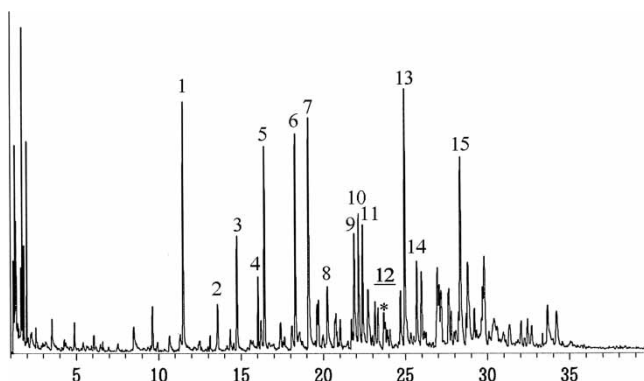


Figure 2. Analytical pyrogram of compost Björkman lignin I methylated with CH_2N_2 .

Notes: 1, 2-methoxyphenol; 2, 4-vynilanisole; 3, 4-methylguaiacol; 4, 4-methylveratrol; 5, 1-methoxy-4(1-propenyl) benzene; 6, 4-vynilguaiacol; 7, syringol; 8, vanillin; 9, 4-methylsyringol; 10, isoeugenol; 11, 3,4-dimethoxybenzaldehyde; 12, vanillic acid methyl ester; 13, 4-vynilsyringol; 14, 3,4,5-trimethoxybenzaldehyde; 15, 4-propenylsyringon.

Table 3. Alkaline nitrobenzene oxidation of compost Björkman lignins and humic substances ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ dry matter).

	Lignin I	Lignin II	HS I	HS II
<i>p</i> -Hydroxybenzaldehyde	0.032	0.015	0.017	0.006
Vanillin	0.592	0.657	0.098	0.060
Syringaldehyde	0.758	0.757	0.100	0.060
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	0.006	0.003	0.007	0.004
Vanillic acid	0.063	0.076	0.020	0.014
Syringic acid	0.148	0.144	0.049	0.029
Total yield	1.60	1.65	0.29	0.16
Acid/aldehyde ratio	0.16	0.16	0.35	0.41
Syringyl/guaiacyl ratio	1.4	1.2	1.3	1.4
Hydroxyphenyl/guaiacyl ratio	0.06	0.02	0.20	0.13

Note: HS, humic substance.

of *p*-hydroxybenzaldehyde and the corresponding acid after nitrobenzene oxidation was low for lignin and HS, and decreased during composting.

The molar ratio of aromatic acids/aldehydes in nitrobenzene oxidation products for both lignins was 0.16. The aromatic acids/aldehydes ratio in nitrobenzene oxidation products for HS was more than twice that in compost lignin after 2 weeks (0.35) of composting and increased up to 0.41 during composting. These results indicate that the lignin component of HS is more oxidised.

The yield for the lignin-derived phenolic aldehydes and acids obtained from nitrobenzene oxidation is comparable with that obtained by alkaline CuO oxidation [14]. Alkaline CuO oxidation has been used extensively in the study of soil lignins [9]. The yield for lignin-derived phenolic aldehydes and acids from soil lignin is low, but the phenolic acid to aldehyde ratio changes in a broad range from 0.2–0.3 for arable soil to 1.3–2.1 for forest soil [7]. In our case, the phenolic acid to aldehyde ratio for the compost HS was close to the typical values for soil lignin.

Nitrobenzene oxidation results indicate that the compost Björkman lignin is not significantly condensed and oxidised, in contrast to the lignin component of HS.

3.5. Ozonation of compost lignins and humic substances

The ozonation procedure is a comparatively rare method for characterising the lignin component of HS, although it allows valuable quantitative and qualitative information about lignin aliphatic chains to be obtained. Selective degradation of the aromatic nuclei of lignin by ozone gives low molecular mass compounds that retain the stereo-selective structures of the original stereo side chain structures of lignin, and makes it possible to estimate the aryl glycerol, aryl ether or β -O-4 structure content of lignin [14]. The results of analytical ozonation are presented in Table 4. The total yield of tetrionic acids from HS was very low in comparison with that obtained for lignins, and decreased twice during composting. The ratio of the different erythro/threo forms for the compost lignins and HS suggests that the lignin component of HS is degraded stereo-selectively; the erythro form in the HS fraction is degraded faster than the threo form.

3.6. Comparison of different analytical procedures for lignin component determination in humic substances

The lignin components of HS were calculated on the basis of data from different analytical procedures: Klason residue content, methoxyl group content, total yield of alkaline nitrobenzene oxidation products and total yield of erythronic and threonic acids obtained by analytical

Table 4. Yield of ozonation products of compost Björkman lignins and humic substances ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ dry matter).

	Lignin I	Lignin II	HS I	HS II
Erythronic acid	0.44	0.43	0.049	0.022
Threonic acid	0.26	0.25	0.035	0.018
Total tetronic acids	0.70	0.68	0.084	0.039
Erythro/Threo ratio	1.7	1.7	1.4	1.3

Note: HS, humic substance.

Table 5. Estimation of the lignin component content in humic substances calculated on the basis of the results of different analytical methods (% dry matter).

Basis for calculation	HS I	HS II
Yield of Klason residue	49.7	41.9
MeO group content	27	17
Yield of NBO products	18	10
Yield of ozonation products	12	6

Note: HS, humic substance; NBO, nitrobenzene oxidation.

ozonation, and their comparison with data obtained for compost Björkman lignins (Table 5). This allowed us to draw a conclusion about the transformation of lignin during composting.

The lignin content of HS estimated using chemical markers was lower than that determined using the Klason procedure. The highest value for the lignin content of HS I, namely 27%, was calculated on the basis of the methoxyl group content, whereas the values calculated from the results of nitrobenzene oxidation products and ozonation products were lower. HS II contained 17, 10 and 6% lignin, calculated on the basis of the methoxyl group, nitrobenzene oxidation and ozonation, respectively.

These results show that lignin macromolecules have been sufficiently biologically modified at the earlier stage of composting to be dissolved in alkali. The solubility of lignin may be connected to the increase in the hydrophilic carboxylic group content, as confirmed by functional analysis. The alkali-soluble lignin component constituted a significant part of the grass compost HS. This coincides with the observed numerous positive effects of lignin on humic acid formation, e.g. during co-composting lignin with yard and kitchen biowastes [22].

These results are in agreement with the viewpoint that HS are a supramolecular association of low molecular mass organic molecules, including recognisable biomolecules such as lignin-derived structures [23].

4. Conclusions

Our results have shown that part of the lignin macromolecules had been significantly biologically modified at the earlier stage of composting and underwent a deep chemical transformation. A significant part of lignin, probably including demethoxylated lignin fragments, was integrated into alkali-soluble HS during composting. The application of analytical pyrolysis, nitrobenzene oxidation and ozonation allowed us to estimate the cleavage of $\text{C}\alpha\text{--C}\beta$ bonds in lignin side chains, the oxidation of lignin and the increase in the amount of acidic groups. The acetyl bromide and Klason procedures have a significant drawback for lignin determination in compost samples. Of the chemical markers under study, methoxyl groups could be recommended for evaluating the lignin content in compost because of their higher stability in a compost environment in comparison

with uncondensed lignin aromatic units and lignin aliphatic chains, which may also be used as a basis for similar calculations. Our results have shown that the lignin component of soluble HS was oxidised and characterised by a higher condensed structure and a lower amount of aryl glycerol aryl ether or β -O-4 linkages than compost Björkman lignin at the corresponding stage of composting.

Acknowledgements

This work was financially supported by Research Directorate General of European Commission, EU Science Technology Fellowship in Japan (contract number ICB-CT-2000-80002).

References

- [1] B.F. Jacobs, J.D. Kingston, and L.L. Jacobs, *The origin of grass-dominated ecosystems*, Ann. Mo. Bot. Gard. 86 (1999), pp. 590–643.
- [2] C.A. Palm, C.N. Gachengo, R.J. Delve, G. Cadisch, and K.E. Giller, *Organic inputs for soil fertility management in tropical agroecosystems: application of an organic resource database*, Agr. Ecosys. Env. 83 (2001), pp. 27–42.
- [3] T. Higuchi, *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*, Academic Press, Orlando, FL, 1985.
- [4] M. Tuomela, M. Vikman, A. Hatakka, and M. Itavaara, *Biodegradation of lignin in a compost environment: a review*, Bioresource Technol. 72 (2000), pp. 169–183.
- [5] M. Tuomela, S. Raiskila, M. Vikman, M. Itavaara, and A. Hatakka, *Biodegradation of radiolabelled synthetic lignin (^{14}C – DHP) and mechanical pulp in a compost environment*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 55 (2001), pp. 492–499.
- [6] M. Vikman, S. Karjomaa, A. Kapanen, K. Wallenius, and M. Itavaara, *The influence of lignin content and temperature on the biodegradation of lignocellulose in composting conditions*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 59 (2002), pp. 591–598.
- [7] H. Bahri, M.-F. Dignac, C. Rumpel, D.P. Rasse, C. Chenu, and A. Mariotti, *Lignin turnover kinetics in an agricultural soil is monomer specific*, Soil Biol. Biochem. 38 (2006), pp. 1977–1988.
- [8] J.H. Grabber, J. Ralph, C. Lapiere, and Y. Barriere, *Genetic and molecular basis of grass cell-wall degradability. I. Lignin–cell wall matrix interaction*, C.R. Biologies 327 (2004), pp. 455–465.
- [9] F.J. Stevenson, *Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reaction*, Wiley, New York, 1994.
- [10] N. Senesi and E. Loffredo, *Soil humic substances*, in *Biopolymers. Volume 1, Lignin, Humic Substances and Coal*, M. Hofrichter and A. Steinbuechel, eds., Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2001, pp. 249–260.
- [11] R.S. Swift, *Organic matter characterization*, in *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*, D. Sparks, A. Page, P. Helmke, R. Loeppert, P. Soltanpour, M. Tabatabai, C. Johnson, and M. Sumner, eds., Soil Sci. Soc. Am. Book Series: 5, Soil Science Society of America, Madison, WI, 1996, pp. 1018–1020.
- [12] A. Björkman, *Studies on finely divided wood. Part I. Extraction on lignin with neutral solvents*, Svensk. Pap. 13 (1956), pp. 477–485.
- [13] A.B. Blakeney, P.J. Harris, R.J. Henry, and B.A. Stone, *A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis*, Carbohydr. Res. 113 (1983), pp. 291–299.
- [14] Y.S. Lin and C.W. Dence, eds., *Methods in Lignin Chemistry*, Springer Verlag, Berlin, 1992.
- [15] K. Iiyama and A.F.A. Wallis, *Determination of lignin in herbaceous plants by an improved acetyl bromide procedure*, J. Sci. Food Agric. 51 (1990), pp. 145–161.
- [16] S.M. Baker, *Rapid methoxyl analysis of lignins using gas chromatography*, Holzforschung 50 (1996), pp. 573–574.
- [17] T.B.T. Lam, K. Iiyama, and B.A. Stone, *Determination of etherified hydroxycinnamic acids in cell walls of grasses*, Phytochemistry 36 (1994), pp. 773–775.
- [18] K. Iiyama and T.B.T. Lam, *Lignin in wheat internodes. Part 1. The reactivities of lignin units during alkaline nitrobenzene oxidation*, J. Sci. Food Agric. 51 (1990), pp. 481–491.
- [19] T. Akiyama, T. Sugimoto, Y. Matsumoto, and G. Meshitsuka, *Erythro/threo ratio of β -O-4 structures as an important structural characteristic of lignin. I. Improvement of ozonation method for the quantitative analysis of lignin side chain structure*, J. Wood Sci. 48 (2002), pp. 210–215.
- [20] Z. Jin, T. Akiyama, B.Y. Chung, Y. Matsumoto, K. Iiyama, and S. Watanabe, *Changes in lignin content of leaf litters during mulching*, Phytochemistry 64 (2003), pp. 1023–1031.
- [21] S.A. Waksman and H.W. Smith, *Transformation of the methoxyl group in lignin in the process of decomposition of organic residues by microorganisms*, J. Am. Chem. Soc. 56 (1934), pp. 1225–1229.
- [22] E. Smidt, K. Meissl, M. Schmutzer, and B. Hinterstoisser, *Co-composting of lignin to build up humic substances – strategies in waste management to improve compost quality*, Ind. Crop. Prod. 27 (2008), pp. 196–201.
- [23] R. Sutton and G. Sposito, *Molecular structure in soil humic substances: the new view*, Env. Sci. Technol. 39 (2005), pp. 9009–9015.