

(19)



(10) **LT 6216 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patent numeris: **6216** (51) Int. Cl. (2015.01): **A01N 37/00**
- (21) Paraiškos numeris: **2014 070**
- (22) Paraiškos padavimo data: **2014 05 21**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2015 04 27**
- (45) Patent paskelbimo data: **2015 08 25**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —
- (30) Prioritetas: —
- (72) Išradėjas:
Natalia KISELEVA, RU
Olga KOMAROVA, RU
Gražina JUODEIKIENĖ, LT
Justina ŠIUPINIENĖ, LT
Jurij GARIPOV, RU
Valerij TAŠČI, RU
Viačeslavas MASLOVAS, LT
Remigijus PELECKIS, LT
Artūras JUCIŪNAS, LT
Vaidas MISIOVIČ, LT
- (73) Patent savininkas:
UAB „ROKIŠKIO PRAGIEDRULIAI”, Nepriklausomybės a. 22, Rokiškis, LT
- (74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Jurga PETNIŪNAITĖ, AAA Law, J.Jasinskio g. 16A, LT-03163 Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
Biologiškai aktyvi sinergetinė kompozicija
- (57) Referatas:

Išradimas priskiriamas biologiškai aktyvioms kompozicijoms, kurios gaunamos iš natūralių augalinės kilmės produktų ir yra skirtos ekologiškai žemdirbystei, t. y. apdoroti sėklas prieš sėją, taip pat sudyigusius augalus vegetaciniu laikotarpiu. Biologiškai aktyvios kompozicijos yra tinkamos naudoti kaip trąša žemės ūkio augalams.

Siūlomas naujas biopreparatas, kurio pagrindą sudarytų natūralios kilmės flavonoidų ir triterpenoidų derinys, taip pat organinėje žemdirbystėje leistinas kiekis pagalbinės medžiagos, pasižyminčios didesniu biologiniu aktyvumu skirtingų augalų atžvilgiu. Biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos vandeninės emulsijos sudėtyje yra bioflavonoidinis dihidrokvercetino, aromadendrino ir naringenino kompleksas, taip pat tirpiklis ir emulgatorius. Be to, į emulsijos vandeninę fazę papildomai pridedama arabinogalaktano ir vandenyje tirpių triterpenoidų, o bioflavonoidinis kompleksas paskirstomas tarp aliejinės ir vandeninės fazės. Biologiškai aktyvioje sinergetinėje kompozicijoje kaip aliejinę fazę tikslinga naudoti bioflavonoidinio komplekso propilenglikolyje ir (arba) etanolyje tirpalą, o kaip emulgatorius naudojami poliaromatiniai etoksilatai ir natrio dioktilsulfosukcinatas.

Technikos sritis

Išradimas priskiriamas biologiškai aktyvioms kompozicijoms, kurios gaunamos iš natūralių augalinės kilmės produktų ir yra skirtos ekologiškai žemdirbystei, t. y. apdoroti sėklas prieš sėją, taip pat sudygusius augalus vegetaciniu laikotarpiu. Tinka naudoti kaip trąšą žemės ūkio augalams.

Technikos lygis

Žinoma, kad flavonoidai, gaunami iš perdirbtos augalinės kilmės žaliavų, pvz., beržo tošies, Sibirinio maumedžio (*Larix sibirica*) kamblių, vynuogių kauliukų ir kt., pasižymi dideliu biologiniu aktyvumu, kuris reguliuoja auksinų (augalinių hormonų, kontroliuojančių augalų augimą ir vystymąsi) judėjimą. Bioflavonoidai pasižymi antibakterinėmis ir antigrybelinėmis savybėmis, todėl saugo augalus nuo įvairių infekcinių ligų sukėlėjų, stresinio aplinkos poveikio, dėl kurio susidaro laisvieji radikalai, trukdantys tinkamai vykti natūraliems gyvybiniais procesams ląstelėse [1].

Ne mažiau plačiu, nei flavonoidinių preparatų, biologinio aktyvumo diapazonu pasižymi augaliniai triterpeno glikozidai, turintys itin didelį, imunitetą skatinantį poveikį. Jų veikimo principas pasireiškia tuo, kad šis preparatas iššaukia genų, atsakingų už imunitetą, ekspresiją, aktyvuoja fermentus ir reakcijas, reikalingas chlorofilo sintezei ir fotosintezės šviesos reakcijai. Triterpenoidai pasižymi dar viena svarbia chemine savybe – jie geba sudaryti kompleksus su fenoliais, įskaitant ir flavonoidus. Svarbus uždavinys yra ištirti flavonoidų ir triterpenoidų klasių atstovų derinių biologinį aktyvumą, nes tai leistų sukurti naujus preparatus, pasižyminčius gerokai aukštesniu aktyvumo lygiu įvairių biologinių objektų atžvilgiu [2].

Yra žinoma grupė preparatų mikrokapsulės emulsijos pavidalu, kurių aliejinės fazės sudėtyje randama viena arba keletas biologiškai aktyvių medžiagų, išgaunamų iš žuvų taukų, linų aliejaus, omega-3 ir (arba) omega-6, ir (arba) omega-9 riebiųjų rūgščių, konjuguotos linolio rūgšties, terpenoidų, karotinoidų, tokotrienolių, flavonoidų, hormonų, antioksidantų [3]. Tai pat žinomas jų išgavimo būdas, t. y. tarpfazinė emulsijos polimerizacija, kur kaip klampumo modifikatoriai ir emulgatoriai dažniausiai naudojami polisorbatai, o kaip pirminį rekomenduojama naudoti emulgatorių lecitino pagrindu.

Gera žinoma išradimo privalumai yra tai, kad jį galima naudoti žmonėms skirtų maisto produktų (ypač tinka gaminant biologiškai aktyvius priedus (BAP)), pašaro gyvūnams, įskaitant žuvis, taip pat mikroorganizmų gamyboje. Be to, preparatus galima naudoti ir kitiems tikslams, pvz., atraktantų inkapsuliacijai, kosmetikos priemonėms, sterilizatoriams, repelentams, insekticidams, herbicidams, fungicidams, baktericidams, antivirusiniams preparatams gaminti, taip pat genų terapijoje ir kitiems panašiams tikslams.

Deja, išradimo medžiagoje nepateikiama nei receptūra, priskiriama preparatams, kurių sudėtyje yra biologiškai aktyvių medžiagų derinių, nei jų aktyvumo tyrimo metodai ar išgavimo būdai. Taip pat nėra jokių duomenų apie preparatus ir jų gavimo metodus, skirtus augalų apsaugai nuo žalingo aplinkos poveikio, augalų šaknų sistemos, kamienų, stiebų, lapų, žiedų ir vaisių stiprinimui, taip pat nėra informacijos apie preparatų įtaką derliaus dydžiui ir kokybei.

Yra žinomos nanoemulsijų kompozicijos su biologiškai aktyviais junginiais, kurių funkciją atlieka bioflavonoidai: rutinas, kvercetas, dihidrokvercetas ir triterpenoidas betulinas [4]. Garsioji nanoemulsija sudaryta iš 35–80 % hidrofobinės fazės, 17–43 % paviršinio aktyvumo medžiagos, 3–7 % kotirpiklio ir 1–15 % vandeninės fazės, kaip hidrofobinė fazė naudojami mono-, di- ir trigliceridų bei prisotintų ir neprisotintų riebiųjų rūgščių di-eterių mišiniai, o paviršinio aktyvumo medžiagos iš sorbentų grupės – mišinys su polihidroksialkanais arba vienatomiais spiritais.

Žymioji nanoemulsijos kompozicija turi keletą privalumų: ji lengvai išgaunama, ją galima naudoti kaip polifenolinių, triterpeninių junginių aktyviuosius elementus, vitaminus bei mikroelementus, taip pat kuriant receptūras su prolanguotu hidrofiliškų aktyviųjų ingredientų išsiskyrimu. Deja, pateiktoje medžiagoje nėra duomenų apie nanoemulsijų kompozicijos fizikines chemines savybes ir biologinį aktyvumą, kombinuotai naudojant aktyviuosius ingredientus.

Yra žinomas būdas, kaip pakoreguoti grūdinių augalų augimą, grūdus prieš sėją, o vėliau – augalus vegetaciniu laikotarpiu apdorojant preparatu „Larixin“, sudarytu iš 5 % vandeninės emulsijos, kurios sudėtyje yra veikliosios medžiagos (50 mg/ml koncentracijos). Apdorojant grūdus prieš sėją, preparato išeiga sudaro 100–250 ml / 1 tonai grūdų, o vegetuojantys augalai apdorojami dukart: bambliųjimo tarpsnyje ir pasirodžius vėliaviniam lapui, tirpalo išeiga – 30–75 mg/ha [5].

Komercinis preparatas „Larixin“ (OOO Mokslinė gamybinė įmonė „Biochimzaščita“, UAB „Ametis“) dėl jo sudėtyje esančios pagrindinės veikliosios medžiagos – dihidrokvercetino, gali padidinti kultūrinių augalų atsparumą ligoms, kenkėjams ir nepalankioms klimato sąlygoms, padidina (indukuoja) kultūrinių augalų apsauginių genų ekspresiją (aktyvumą). Be to, jis stimuliuoja augalų imuninę sistemą, saugo juos nuo grybelinių ir bakterinių ligų arba gerokai sumažina jų poveikį. Apdorojus augalą biologiškai aktyvia medžiaga, suaktyvėja atsparumo stresui genų aktyvumas, augalas pradeda sintetinti specialias medžiagas, kurių funkcija – organizuoti ryšius tarp išorinės aplinkos faktorių ir konkrečių genų arba jų blokų aktyvumo. Naudojant preparatą „Larixin“, iki minimumo sumažėja būtinybė apdoroti pasėlius fungicidais, padidėja žemės ūkio kultūrų derlingumo lygis [6]. Vis dėlto šis gerai žinomas preparatas nėra pakankamai veiksmingas, kai augalus būtina apsaugoti nuo grybelinių ir bakterinių ligų. Taip pat nėra duomenų apie preparato receptūros sudėtyje esančias pagalbinės medžiagas ir galimybę naudoti jį organinės žemdirbystės tikslais.

Daugelyje Europos Sąjungos šalių organinė žemdirbystė tampa vis populiareesnė. Per keletą pastarųjų metų pastebimai auga paklausa žemės ūkio produkcijai, gaminamai pagal bendrosios žemės ūkio politikos reformos, orientuotos į organinės žemdirbystės vystymą, reikalavimus [7]. Yra sukurta Bendrijos normatyvinė bazė, reglamentuojanti organinės produkcijos sektorių, siekiant užtikrinti teisingą konkurenciją ir tinkamą organinės produkcijos rinkos funkcionavimą, taip pat palaikyti vartotojų pasitikėjimą produkcija, kuri pristatoma kaip organinė [8].

Šiuo atveju daugiausia dėmesio skiriama profilaktinėms priemonėms, skirtoms kovai su kenkėjais, ligomis ir piktžolėmis. Pesticidai, kurie gali padaryti didelės žalos aplinkai arba išlikti žemės ūkio produkcijos sudėtyje, naudojami itin mažais kiekiais. Taip pat gerokai ribotai naudojamos biologiškai aktyvios ir pagalbinės medžiagos, pvz., trąšos ir augalų apsaugai skirtos priemonės. Taigi, svarbu sukurti naujus biologiškai aktyvius preparatus, kurių receptūrose gali būti panaudotos aktyviosios ir pagalbinės medžiagos, tinkamos naudoti organinėje žemdirbystėje.

Išradimo tikslas – sukurti naują biopreparatą, kurio pagrindą sudarytų natūralios kilmės flavonoidų ir triterpenoidų derinys, taip pat organinėje žemdirbystėje leistinas kiekis pagalbinės medžiagos, pasižyminčios didesniu biologiniu aktyvumu skirtingų augalų atžvilgiu.

Išradimo esmė

Pasiekti iškeltą tikslą leidžia tai, kad biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos vandeninės emulsijos sudėtyje yra bioflavonoidinis dihidrokvercetino, aromadendrino ir naringenino kompleksas, kurių molinis santykis $1,0 : 0,102 - 0,104 : 0,014 - 0,016$, taip pat tirpiklis ir emulgatorius. Be to, į emulsijos vandeninę fazę papildomai pridedama arabinogalaktano ir vandenyje tirpių triterpenoidų, kurių svorio santykis $1 - 3 : 5 - 7$, pagal kiekį $0,3-0,7 \%$ svorio vandeninės fazės, o bioflavonoidinis kompleksas paskirstomas tarp aliejinės ir vandeninės fazės svorio santykiu $5-10:1$.

Biologiškai aktyvioje sinergetinėje kompozicijoje kaip aliejinę fazę tikslinga naudoti bioflavonoidinio komplekso propilenglikolyje ir (arba) etanolyje tirpalą, o kaip emulgatorius naudojami poliaromatiniai etoksilatai ir natrio dioktilsulfosukcinatas, kurių svorio santykis $8 - 10 : 5 - 7$ arba 60% koncentracijos lecitino sojų aliejuje tirpalas, kurių kiekis sudaro $15-25 \%$ aliejinės fazės tūrio.

Taip pat būtina rasti būdą pagaminti biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos vandeninę emulsiją, kur būtų atskirai gaminamos aliejinė ir vandeninė fazė. Vandeninė fazė gaminama, distiliuotame vandenyje ištirpdant arabinogalaktaną ir triterpenoidus, kiekis – ne daugiau kaip 5 gramai 1 litre vandens, laikant 4 valandas, esant $30-40^{\circ}\text{C}$ temperatūrai. Paskui į tirpalą įdedama biologiškai aktyvių komponentų, kurių kiekis sinergetiniame santykiyje neturi viršyti 0,5 gramo 1 litrui vandens. Aliejinė fazė ruošiama, ištirpinant biologiškai aktyvius komponentus dihidrokvercetiną, aromadendrino ir naringeniną, kurių molinis santykis $1,0 : 0,102 - 0,104 : 0,014 - 0,016$, iš anksto pakaitintame iki $33-39^{\circ}\text{C}$ propilenglikolyje arba jo ir etanolio mišinyje, vėliau pridedant emulgatoriaus „Agrilan AEK 145“ arba SOPROPHOR BSU, kurio kiekis turi sudaryti $15-25 \%$ aktyvių komponentų tirpalo kiekio. Tirpinimas trunka $30-45$ min., paskui įdedama stabilizatoriaus „Lankropol KPH 70“ arba GEROPON DOS/PG į $6-9 \%$ tūrio. Paruoštas tirpalas $45-60$ min. laikomas, esant $30-33^{\circ}\text{C}$ temperatūrai, intensyviai maišant, paskui iš anksto paruošta vandeninė fazė $60-90$ min. nepertraukiamai dozuojaama į aliejinę fazę, esant reakcinės masės cirkuliacijos dalumui $9-12$ tūrio per valandą, maišymo intensyvumas – $0,016-0,024$ kW 1 litrui emulsijos, kuri vėliau per $60-90$ min. atvėsinama iki $20-25^{\circ}\text{C}$ temperatūros.

Dar viena užduotis – rasti būdą pritaikyti biologiškai aktyvią sinergetinę kompoziciją, paruošiant jos darbinį tirpalą, t. y. ištirpinant emulsiją vandenyje iki bioflavonoidinio komplekso koncentracijos $0,05-0,25$ g/l, o paskui apdorojant ją žemės

ūkio augalų sėklas arba užpurškiant ant augalų ankstyvosiuose augimo tarpsniuose.

Nagrinėjamų junginių kompozicijų su įvairiu veikliųjų medžiagų deriniu biologinis aktyvumas buvo tiriamas fizikinės cheminės analizės laboratorijoje, dirbtinio klimato laboratorijoje ir lauko sąlygomis Rokiškio raj. (Lietuvos Respublika) žemėse.

Fizikinės cheminės analizės laboratorijos sąlygomis buvo atlikti antiradikalinio aktyvumo bei bioflavonoidinio komplekso pagrindinių elementų tyrimai, pvz., 99,9 % grynumo dihidrokvercetino (DHQ), 98,9 % grynumo aromadendrino (ARD) ir 97,5 % naringenino (NAR), taip pat tirtos įvairios jų kombinacijos, taikant amperometrinį metodą ir panaudojant chromatografą „CvetJauza 1-A“ (ЦветЯуза 1-A) su amperometriniu paauksuotu detektoriumi (Mokslinė gamybinė organizacija „Chimavtomatika“). Antiradikalinis aktyvumas buvo matuojamas pagal etaloną – Troloksą *ORAC hydro value* vienetais (mkmol TE/g). Aktyvieji komponentai buvo išskirti, remiantis išradimu „Didelio grynumo dihidrokverticino gavimo būdas“ (*Process for Preparing of highly pure dihydroquercetin*) WO 2013/172693, taikant preparatinės chromatografijos metodą kolonoje DAU 100-700 su dinamine ašine kompresija, užpildytoje atvirkštinių fazių sorbentu su padidintu polinių junginių sulaikymu, kurių dalelių dydis 10–20 mkm, porų dydis – 120–200 Å.

Bioflavonoidinio komplekso ir jo aktyviųjų elementų kiekinė analizė buvo atliekama, taikant aukšto efektyvumo skystinės chromatografijos (AESC) metodą, chromatografu masės spektrometru „Shimadzu Nexera 2020“ toliau išvardintomis sąlygomis: kolonėlė (*HPLC Column*) – 250 mm x 4,0 mm, atvirkštinių fazių sorbentas – YMC-Pack ODS-AQ C₁₈, I.D. S – 5µm, analitinis bangos ilgis – 290 nm, judančioji fazė – acetonitrilas 0,1 % koncentracijos acto rūgšties vandeniniame tirpale (25:75), injekcijos tūris (*Injection Volume*) – 10 mkl, judančiosios fazės srauto greitis – 80 mkl/min., chromatogramos įrašymo trukmė – 25 min. Rezultatai buvo apdoroti programa *LabSolutions LCMS*.

Remiantis duomenimis apie kompozicinių preparatų, kurių sudėtyje yra daugiau nei viena aktyvioji medžiaga, veiksmingumą, atsižvelgiama į aktyviųjų komponentų, sudarančių kompoziciją, biologinės tarpusavio sąveikos pobūdį, siekiant įvertinti jų sinergijos, antagonizmo arba adityvumo lygį, t. y. tiesiog sudedant visų dalių, sudarančių preparatines mišinio formas, poveikius.

Herbologijoje biologinės tarpusavio sąveikos pobūdis paprastai įvertinamas,

taikant Kolbio ir Limpelo pasiūlytas matematinės lygtis. Pagal Kolbio-Limpelo lygtis mišriems preparatams palyginimui parenkami konkrečių preparatų, kurie buvo pritaikyti konkrečioje normoje, ir mišrios sudėties veiksmingumo duomenys, kur sudėtiniai komponentai naudojami tokiais pat normomis arba labai joms artimomis.

Tiriamų preparatų sinergetinis poveikis apskaičiuotas pagal Kolbio formulę (1) (žr. Colby S. R. *Calculating Synergistic and Antagonistic responses of herbicide combination Weeds*. 1967. V. 15. N1. PP. 20–22):

$$E = E_E - E_o \quad (1)$$

kur E – sinergetinis kompozicijos poveikis,

E_E – rezultato reikšmė eksperimente,

E_o – tikėtina rezultato reikšmė eksperimente.

Apskaičiavimo pavyzdys trikomponentei sudėčiai ($A + B + V$):

kur E – „tikėtinas“ sudėtinio preparato poveikis ($A + B + V$);

x – rezultato reikšmė, kai A komponentas taikomas individualia norma, kurios dydis artimas jo kiekiui kompozicijos sudėtyje;

y – rezultato reikšmė, kai komponentas B taikomas anksčiau nurodytu būdu;

z – rezultato reikšmė, kai komponentas C taikomas anksčiau nurodytu būdu.

Kuomet faktinis 2-jų arba daugiau sudedamųjų dalių mišinio poveikis gerokai viršija „tikėtiną“ E_o , apskaičiuotą pagal formules, galima kalbėti apie kompozicijos komponentų sinergiškumą biologinės tarpusavio sąveikos pobūdyje; jei eksperimento metu nustatytas faktinis poveikis pastebimai mažesnis nei „tikėtinas“ E_o , pastebimas mišinio komponentų antagonizmas; jei „tikėtinas“ E_o rodiklis sutampa su faktinės eksperimentinės reikšmės rezultatu, galima spręsti apie mišinio arba kompozicijos komponentų tarpusavio sąveikos adityvumą.

Atlikti tyrimai rodo, kad visos trys išbandytos aktyviosios medžiagos – dihidrokvercetas, aromadendrinas ir naringeninas – ir gryname pavidale, ir kompozicijose pasižymi dideliu biologiniu (antioksidantiniu) aktyvumu.

Dihidrokverceto, aromadendrino ir naringenino įvairiomis proporcijomis įtaka biologiniam (antioksidantiniam) aktyvumui pateikta 1 lentelėje.

1 lentelė

Molinis santykis DHQ/ARD/ NAR	Aktyvaus komponento kiekis kompozicijoje (g/l)			Antioksidantinis aktyvumas pagal ORAC (mkmol TE/g)		
	DHQ	ARD	NAR	E _a	E _o	E
1:0:0	50	0	0	25,40		
0:1:0	0	5	0	9,70		
0:0:1	0	0	0,7	7,90		
0,15:0,01:0,002	45,638	2,883	0,545	17,30	11,88	5,423
0,16:0,01:0,002	48,68	2,883	0,545	18,80	12,65	6,1527
0,17:0,01:0,002	51,723	2,883	0,545	20,50	13,42	7,0824
0,16:0,015:0,002	51,723	4,324	0,572	23,70	13,54	10,159
0,16:0,016:0,002	51,723	4,612	0,545	24,20	13,56	10,637
0,16:0,017:0,002	51,723	4,900	0,545	28,80	13,59	15,212
0,165:0,017:0,0025	50,201	4,900	0,681	29,70	13,21	16,488
0,16:0,015:0,001	51,723	4,612	0,272	19,90	13,54	6,3553
0,16:0,016:0,002	51,723	4,612	0,545	24,20	13,56	10,637
0,16:0,017:0,003	51,723	4,612	0,817	26,50	13,58	12,918

Kaip matyti iš 1 lentelėje pateiktų duomenų, tinkamiausiu tiriamų kompozicijų komponentų santykiu, lemiančiu didžiausią antioksidantinio aktyvumo lygį, laikytina šios sudėties kompozicija: dihidrokvercetas – 0,165 mol/l, aromadendrinas – 0,017 mol/l ir naringeninas – 0,0025 mol/l, kas atitinka tirtų komponentų molinį santykį 1,0 : 0,102 - 0,104 : 0,014 - 0,016. Tinkamiausių molinių santykių srityje iširta bioflavonoidinė sudėtis duoda didžiausią biologinį aktyvumą su sinergetiniu efektu 12,9–16,5 %.

Biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos vandeninės mikroemulsijos pavidalu sudėtyje esančių komponentų santykis pateiktas lentelėje:

Dihidrokvercetas (<i>Taxifoline</i>) CAS 207-543-4	1,0
Aromadendrinas (<i>Dihydrokaempferol</i>) CAS 480-20-6	0,102–0,104
Naringeninas (<i>Naringenin</i>) CAS 480-41-1	0,014–0,016
Paviršinio aktyvumo medžiagos (<i>Surfactants</i>), mas. %.	7–12
Tirpiklis (<i>Solvent</i>), mas. %.	20–40
Vanduo	likę iki 100

Toliau pateiktos paviršinio aktyvumo medžiagų ir tirpiklių charakteristikos, kurie gali būti naudojami naujoje biologiškai aktyvioje sinergetinėje kompozicijoje, sąlyginai pavadintoje „Rokiprag“:

Agrilan AEK 145	nejoninis emulsiklis poliaromatinio etoksilato pagrindu
SOPROPHOR BSU	Poli(oksi-1,2-ethanediil),.alfa.-[tris(1-feniletil) fenil]-.omega.-hidroksi- CAS 99734-09-5
Lankropol KPH 70	Dioktilo natrio sulfosukcinatas CAS 577-11-7 Propilenglikolis CAS 57-55-6
GEROPON DOS/PG	Dioktilo natrio sulfosukcinatas glikolio vandeniniame tirpale CAS 577-11-7; CAS 57- 5-6 ; CAS 7732-18-5
Lecitinas	Sojos lecitinas tirpalas (<i>Soya Lecithin Liquid</i>) CAS 8002-43-5
Arabinogalaktanas	Poliarabinogalaktanas iš maumedžio CAS 9036-66-2
Tirpiklis	Etilo alkoholis CAS 64-17-5
Tirpiklis	Propilenglikolis CAS 57-55-6

Pagrindinė problema emulsijos technologijoje – užtikrinti fizinį stabilumą. Emulsinėms dispersinėms sistemoms su išvystytu fazių etapo paviršiumi ir laisvos paviršinės energijos pertekliumi būdingi toliau išvardinti nestabilumo tipai: termodinaminis – gebėjimas laikui bėgant išlaikyti nepakitusio dydžio dispersinės fazės lašus, ir sedimentacinis – gebėjimas laikui bėgant išlaikyti nepakitęs dispersinės fazės lašų pasiskirstymą per visą sistemos tūrį.

Sedimentacinio stabilumo nustatymo metodas pagrįstas emulsijos išskirstymu į aliejinę ir vandeninę fazes centrifuguojant.

Du mėgintuvėliai iki pusės tūrio buvo užpildyti tiriamąja emulsija ir pasverti, rezultatas fiksuojamas iki antrosios dešimtainės reikšmės. Mėgintuvėlių su emulsija masės skirtumas neturi viršyti 0,2 g. Mėgintuvėliai sudėti į vandens vonelę ir 20 min. laikomi, esant 22–25 °C temperatūrai. Paskui mėgintuvėliai išimti, sausai nušluostyti iš išorės ir įstatyti į centrifugos lizdus. Centrifuguojama 5 min. 1000 aps./min. dažniu, paskui mėgintuvėliai išimti, ir nustatytas emulsijos stabilumas. Pastebėjus, kad viename iš mėgintuvėlių emulsija susisluoksniavo, bandymas būdavo pakartojamas su kitomis emulsijos porcijomis.

Nepastebėjus aiškaus emulsijos susisluoksniavimo, mėgintuvėlio turinys atsargiai išpilamas ant balto tankaus popieriaus lapo ir pažymima, ar emulsija

susluoksniavo, ar ne. Emulsija buvo laikoma stabilia, jei po centrifugavimo mėgintuvėliuose buvo matyti ne daugiau kaip vienas lašas vandeninės fazės arba ne didesnis nei 5 mm storio aliejinės fazės sluoksnis.

Termostabilumo nustatymo metodas pagrįstas emulsijos išdaliniu į aliejinę ir vandeninę fazę, esant aukštesnei temperatūrai.

Trys 14 mm skersmens 120 mm aukščio mėgintuvėliai arba 25 cm³ tūrio cilindrai iki pusės užpildomi tiriamąja emulsija, stebint, kad joje neliktų oro burbuliukų, uždengiami kamšteliais ir sudedami į termostatą, kuriame palaikoma 40–42 °C temperatūra. Tiriant emulsijų termostabilumą, mėgintuvėlių arba cilindrų turinys po 1 val. termostataavimo atsargiai išmaišomas stikliniu pagaliuku, kad pasišalintų oras. Emulsija laikoma termostate 24 val., paskui nustatomas jos stabilumas. Emulsija buvo laikoma stabilia, jeigu po termostataavimo mėgintuvėliuose nebuvo pastebima išsiskyrusios vandeninės fazės arba didesnio nei 5 mm aliejinės fazės sluoksnio.

Termodinaminis stabilumas nustatomas emulsijos stabilumo tyrimo metodu pagal patentą RF Nr. 2464970, kuriame numatyta tokia pat mėginių atranka ir paruošimas, kaip ir tiriant sedimentacinį stabilumą. Paskui buvo atliekamas mikroskopinis tiriamos emulsijos stebėjimas, suskaičiuojamas micelių kiekis 1 cm² plote, padidinus vaizdą 2000 kartų, paskui jis palyginamas su micelių kiekiu neparuoštame pavyzdyje n₀, laikant, kad emulsija yra sąlyginai stabili, kai $n/n_0 \cdot 100 \geq 50$. Toliau sąlyginai stabilios emulsijos pavyzdžiai per 1 mėnesį buvo pagreitintai pasendinami, laikant juos termostate, esant 40–42 °C temperatūrai ir 65±2 % santykiniam drėgnumui, periodiškai atliekant mikroskopinį pavyzdžių stebėjimą 1 cm² plote, padidinus vaizdą 2000 kartų. Eksperimentinių duomenų statistinis apdorojimas buvo atliekamas pagal lygtį $n' = \tilde{a} \exp(a_1 \cdot 1/\bar{t})$, kur n' – micelių kiekis, vnt./cm²; $\tilde{a}$ – pagreitinto sendinimo trukmė, dienomis; $\tilde{a}$, a_1 – eksponentinės lygties apskaičiavimo koeficientai, gauti apdorojant eksperimentinius duomenis, kai $\bar{t} \rightarrow$ užduota saugojimo trukmė, apskaičiuojant galimą emulsijos būklę. Kai $n/n_0 \cdot 100 \geq 50$, emulsija laikoma stabilia ir tinkama ilgam saugojimui.

Iš pradžių buvo tiriamas dviejų biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“, kurios sudėtyje yra 50 g/l dihidrokvercetino, 5 g/l aromadendrino ir 0,5 g/l naringenino, mėginių sedimentacinis ir termodinaminis stabilumas. Mėginiai buvo paimti nuo įvairių paviršinio aktyvumo medžiagų: mėginyje Nr. 1 buvo 90 ml/l emulgatoriaus „Agrilan AEK145“ ir 60 ml/l stabilizatoriaus „Lankropol KPH 70“;

mėginyje Nr. 2 buvo 120 ml/l *Soya Lecithin Liquid*. Abiem atvejais naudotas tirpiklis *Propylene glycol*, kurio kiekis buvo pakankamas visiškai ištirpinti bioflavonoidų kompleksą. Abiejuose mėginiuose nustatytas vienodas sedimentacinis stabilumas – emulsijos susisluoksniavimo nepastebėta. Abu mėginiai pasižymėjo dideliu termodinaminiu stabilumu – kriterijaus $n/n_0 \cdot 100$ reikšmė mėginiui Nr. 1 praėjus 24 val. $n/n_0 \cdot 100$ sudarė 97 %, mėginiui Nr. 2 – 98 %, praėjus 24 val. atitinkamai 94 % ir 95,5 %.

Visiškai netikėtai autoriai nustatė, kad esant mechaniniam poveikiui, susijusiam su transportavimu, abiejuose mėginiuose kartais būdavo pastebimas nežymus aliejinės ir vandeninės fazių susisluoksniavimas. Mėginio Nr. 1 susisluoksniavimas buvo žymesnis, nei mėginio Nr. 2. Taip pat pastebėta, kad papurčius abu mėginius 10–15 sek., pavykdavo atstatyti pradinę abiejų mėginių būklę. Pastebėtą reiškinį autoriai susiejo su emulsijos gavimo būdo trūkumais, t. y. nepakankamu emulsijos vandeninės fazės klampumu. 2 lentelėje pateiktos biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ emulsijų pavyzdžių sudėtys su pakitusiu aktyviųjų komponentų pasiskirstymu tarp vandeninės ir aliejinės fazės, taip pat vandeninės fazės modifikacija, panaudojant arabinogalaktanto (ARG) ir tirpiųjų triterpenoidų (TTR) priedus, gautus 99,9 % grynumo dihidrokvercetino išskyrimo stadijoje.

2 lentelė

Mėginys	Aliejinė fazė, g/l			Vandeninė fazė, g/l					Stabilumas	
	DHQ	ARD	NAR	DHQ	ARD	NAR	ARG	TTR	%	n/cm ²
Nr. 1 *	47,5	4,75	0,581	2,5	0,25	0,1	5	0	96,7	33
Nr. 2 **	47,5	4,75	0,581	2,5	0,25	0,1	5	0	97,4	37
Nr. 3 *	49,3	4,85	0,611	0,7	0,15	0,07	0	5	95,2	29
Nr. 4 **	49,3	4,85	0,611	0,7	0,15	0,07	0	5	96,5	32
Nr. 5 *	46,5	4,67	0,581	3,5	0,33	0,1	5	5	98,3	38
Nr. 6 **	46,5	4,67	0,581	3,5	0,33	0,1	5	5	99,5	44

*) Kaip aliejinė fazė buvo panaudotos paviršinio aktyvumo medžiagos (surfaktantai) „Agrilan AEK“ 145–90 ml/l ir „Lankropol“ KPH 70–60 ml/l. Tirpiklis – *Propylene glycol*.

**) Kaip aliejinė fazė buvo panaudotas „Soya Lecithin Liquid“ 120 ml/l tirpalas.

Tirpiklis – *Propylene glycol*.

Kaip matyti iš 2 lentelės, didžiausiu sedimentaciniu ir termodinaminiu stabilumu pasižymėjo mėginiai Nr. 5 – 98,5 % ir Nr. 6 – 99,5 %. Geriausią rezultatą parodė mėginiai Nr. 5 ir Nr. 6, mikroskopu ištyrus abiejų mėginių darbinių tirpalų vidutinį lašelių skaičių, atskiedus pradinės emulsijas 100 kartų ir padidinus vaizdą 2000 kartų: atitinkamai 38 lašeliai 1 cm² ir 44 lašeliai 1 cm². Visiškai netikėtas rezultatas buvo gautas, išmatavus mėginių Nr. 1, Nr. 3 ir Nr. 5 lašelių vidutinį dydį. Mėginių Nr. 2, Nr. 4 ir Nr. 6 lašelių vidutinis dydis siekė 1,2, 1,6 ir 2,0 mkm, mėginių Nr. 1, Nr. 3 ir Nr. 5 lašelių vidutinis dydis buvo 0,22, 0,13 ir 0,09 mkm. Be to, preparatai Nr. 1, Nr. 3 ir Nr. 5 – tamsiai rudos spalvos skaidrus skystis, todėl juos galima priskirti nanoemulsijos kategorijai.

Remiantis atliktais tyrimais, galima daryti išvadą apie tai, kad biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ vandeninę fazę yra tikslinga modifikuoti arabinogalakтанu ir (arba) vandenyje tirpiaais triterpenoidais, taip pat iki 5 % aktyviųjų komponentų perskirstyti iš aliejinės fazės į vandeninę.

Vegetacinėmis sąlygomis pirminis preparato „Rokiprag“ fitotoksiškumo tyrimas buvo atliekamas dirbtinio klimato laboratorijoje (DKL), sukuriant kameroje toliau nurodytus režimus: apšvietimas – 20 000 liuksų 14 val. laikotarpiu, be apšvietimo – 10 val. per parą, oro temperatūra dieną 18 °C, naktį 12 °C, santykinis oro drėgnumas 70 %, dirvos drėgnumas vegetaciniuose induose 60 % kuris palaikomas, kasdien laistant dirvą pagal svorį nudruskintu vandeniu. Kaip bandomasis augalas buvo naudojama „Radiata“ veislės sėjamoji pipirinė (lot. *Lepidium sativum*) („N. Sgaravatti & c.S.P.A“ (Italija)) – vienmetis, žolinis, šalčiui atsparus, anksti subręstantis augalas. Laikotarpis nuo sudygimo iki techninės brandos užima 20–25 dienų. Šis augalas yra pusiau pakelto tipo, su daug lapų, išauga iki 15–20 cm aukščio. Lapai vidutinio dydžio, siauri, lyros formos, žalios spalvos, gerokai perskirti. Lapo plokštelės kraštai dantyti. Lapai išsidėstę priešpriešiniu būdu. Vidutinė vieno augalo masė – 30 g. Sėjamosios pipirinės pasižymi padidintu jautrumu aplinkos užterštumui, jų sėklos greitai sudygsta, daigumas siekia beveik 100 %, tačiau jis gerokai sumažėja, esant kenksmingoms aplinkos sąlygoms. Be to, tokiu atveju pastebimi ryškūs augalo ūglių ir šaknų morfologiniai pakitimai: sulėtėja augimas, atsiranda ūglių kreivumas, sumažėja šaknų ilgis ir masė, taip pat sėklų skaičius ir jų masė.

Bandymas buvo atliekamas, daiginant bandomojo augalo – sėjamosios pipirinės – sėklas anksčiau išvardintų režimų sąlygomis, panaudojant vienkartinio naudojimo vegetacinius 600 g talpos indus, užpildytus humuso-jaurine dirva, kurios sudėtyje yra smėlio ir organinių medžiagų santykiu 1:1:1. Į kiekvieną indą buvo įberta po 20 vnt. apdorotų bandomojo augalo sėklų. Eksperimentas pakartotas tris kartus, išskiriant keturis eksperimentinius pavyzdžius, kurie buvo apdoroti mėginių Nr. 5 ir Nr. 6 iš 2 lentelės darbiniais tirpalais, ir vieną kontrolinę grupę, laistytą geriamu vandeniu. Apdorotų sėklų skaičius kiekvienoje grupėje – 20 vnt. Visos sėklos paimtos iš vienos partijos.

Sėkloms mirkyti buvo paruošti darbiniai tirpalai, praskiedžiant pradines emulsijas 10, 100 ir 200 kartų. Bandomųjų augalų sėklos buvo mirkomos 2 valandas, paskui apdorotos ir subertos į vegetacinius indus.

Biologinis aktyvumas buvo įvertinamas kas 8 valandas, pradedant nuo antros paros po apdorojimo, palyginant su neapdorotais kontroliniais pavyzdžiais. 5-ą ir 10-ą parą rezultatai buvo įvertinti pagal bandomųjų augalų žaliosios masės skirtumą. Preparato „Rokiprag“ fitotoksiškumo „Radiata“ veislės bandomiesiems augalams pirminio įvertinimo rezultatai pateikti 3 lentelėje.

3 lentelė

	5 paros		10 parų		15 parų	
	Masė, g	% kontrolei	Masė, g	% kontrolei	Masė, g	% kontrolei
Mėginys Nr. 5, tirpalas 0,5 %	17,7	118,0	26,4	105,6	32	106,7
Mėginys Nr. 5, tirpalas 1 %	11,5	76,7	19,8	79,2	29,8	99,3
Mėginys Nr. 5, tirpalas 10 %	7,9	52,7	14,4	57,6	24,4	81,3
Mėginys Nr. 6, tirpalas 0,5 %	19,3	128,7	27,3	109,2	34,7	115,7
Mėginys Nr. 6, tirpalas 1 %	13,70	91,3	23,7	94,8	32,2	107,3
Mėginys Nr. 6, tirpalas 10 %	10,9	72,7	19,6	78,4	28,4	94,7
Kontrolė	15		25		30	

Kaip matyti iš 3 lentelės, preparatas „Rokiprag“ toksiškai veikia „Radiata“ veislės sėjamasias pipirines, kai mėginių Nr. 5 ir Nr. 6 darbinių tirpalų koncentracija siekia 10 %. Mėginio Nr. 5 darbinis tirpalas, kurio koncentracija 1 %, neturėjo fitotoksinio poveikio, tačiau ir nestimuliavo augalų augimo – kontrolės lygyje. Mėginio Nr. 5 darbiniai tirpalai, kurių koncentracija, 0,5 ir 1 %, padidino augalų augimą atitinkamai 15,7 % ir 7,3 %.

Tyrimo metu taip pat nustatyta, kad visais trimis pasikartojančiais atvejais gaunami panašūs rezultatai. Kontrolinės grupės ontogeneze vyko pagal standartinę schemą. Pirmojoje grupėje (mėginių Nr. 5 ir Nr. 6 10 % darbiniai tirpalai) pastebėta, kad sėkliaskiltės suglebusios, daigumas sumažėjęs 5 %, o daigų fazė pailgėjusi, tačiau toliau augalai vystėsi pagal standartinę schemą, tik gerokai vėluodami. Antroje grupėje (mėginių Nr. 5 ir Nr. 6 10 % darbiniai tirpalai) augimo reakcijos pirmą ir antrą parą sulėtėjo, tačiau trečios paros metu atsistatė. Vis dėlto buvo matyti ryškus augalų suglebimas pirmųjų 10-ies parų laikotarpiu. Trečioje grupėje (mėginių Nr. 5 ir Nr. 6 0,5 % darbiniai tirpalai) pastebėtos sustiprintos augimo reakcijos per visą stebėjimo laikotarpį.

Taigi, prieš daiginant apdorotas sėjamosios pipirinės sėklas, pasireiškė biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ fitotoksiškumas, kai darbinių tirpalų koncentracija viršija 1 %, o labiau atskiedus (iki 0,5 % ir daugiau) pastebėtas augalų augimą skatinantis poveikis.

Panašaus pobūdžio eksperimentų, skirtų nustatyti biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ darbinių tirpalų fitotoksiškumą ir veiksmingumą, lyginant su preparatu „Larixin“ (Etalonas), rezultatai, apdorojant kultūrinių augalų sėklas prieš daiginant, pateikti 4 lentelėje.

4 lentelė

	Darbinio tirpalo veiksminga koncentracija, %		Darbinio tirpalo ribinis fitotoksiškumas, %	
	„Rokiprag“	„Larixin“	„Rokiprag“	„Larixin“
Kviečiai	0,4	0,5	0,6	0,7
Rugiai	0,4	0,5	0,7	0,7
Miežiai	0,4	0,5	0,6	0,7
Grikiiai	0,5	0,7	0,5	0,9
Avižos	0,5	0,8	0,9	1
Soja	0,75	1,0	1,15	1,35

Rapsai	1,1	1,2	1,3	1,25
Saulėgražos	1,75	2,5	2,4	3
Agurkai	0,05	0,1	0,12	0,15
Pomidorai	0,05	0,1	0,13	0,15
Cukriniai runkeliai	1,5	2,5	2,7	3

Kaip matyti iš 4 lentelėje pateiktų duomenų, vidutinis preparato „Rokiprag“ fitotoksiškumo lygis yra 19,4 % aukštesnis, nei preparato „Larixin“. Preparato „Rokiprag“ biologinis aktyvumas pagal darbinio tirpalo veiksmingos koncentracijos kriterijų 29,8 % viršija preparato „Larixin“ vidutinį biologinį aktyvumą.

Biologiškai aktyvi sinergetinė kompozicija „Rokiprag“ buvo išbandyta lauko sąlygomis atskiruose sklypuose.

2012 m. vegetacinio sezono oro sąlygos keletu atvejų skyrėsi nuo vidutinio daugelio metų rodiklio (normos) (žr. 5 lentelę).

5 lentelė

Mėnuo, dekada	Oro temperatūra, °C			Krituliai, mm		
	Vidutinė, daugiametė	2012 m.	Nuokrypis nuo vidutinės daugiametės	Vidutinė, daugiametė	2012 m.	Nuokrypis nuo vidutinės daugiametės
gegužė 1	10,7	12,6	+1,9	14,1	21,5	+7,4
2	12,0	16,5	+4,5	19,1	5,9	-13,2
3	13,5	15,2	+1,7	21,4	9,2	-12,2
vidurkis	<u>12,1</u>	<u>14,8</u>	<u>+2,7</u>	<u>Σ54,6</u>	<u>Σ 36,6</u>	<u>-18,0</u>
birželis 1	15,2	13,7	-1,5	24,8	41,1	+16,3
2	16,1	18,5	+2,4	23,4	32,8	+9,4
3	16,8	17,0	+0,2	24,3	25,4	+1,1
vidurkis	<u>16,0</u>	<u>16,4</u>	<u>+0,4</u>	<u>Σ72,5</u>	<u>Σ 99,3</u>	<u>+26,8</u>
liepa 1	17,2	21,8	+4,6	28,9	0,7	-28,2
2	17,8	18,3	+0,5	28,0	22,9	-5,1
3	17,6	20,4	+2,8	26,2	16,0	-10,2
vidurkis	<u>17,5</u>	<u>20,2</u>	<u>+2,7</u>	<u>Σ83,1</u>	<u>Σ 39,6</u>	<u>-43,5</u>
rugpjūtis 1	17,5	21,3	+3,8	22,8	1,7	-20,1
2	15,6	17,2	+1,6	22,5	40,6	+18,1
3	14,6	13,9	-0,7	26,0	32,3	+6,3
vidurkis	<u>15,9</u>	<u>17,3</u>	<u>+1,4</u>	<u>Σ71,3</u>	<u>Σ 76,6</u>	<u>+5,3</u>

Kaip matyti iš 5 lentelės, 2012 m. vegetacinis laikotarpis pagal oro temperatūrą žymiai nesiskyrė nuo daugiametio vidutinio rodiklio, tačiau vidutiniškai gegužės-

balandžio mėnesiai buvo 0,4–2,7 °C šiltesni nei įprasta. Kritulių kiekis vegetacinio sezono metu (nuo gegužės iki rugpjūčio) labai varijavo, lyginant su daugiamečiu kritulių kiekio lygiu (lietaus deficitas kai kuriais mėnesiais svyravo 18,0–43,5 mm ribose). Gegužės mėn. (sojos pasėliai) kritulių kiekis buvo 18 mm mažiau normos, liepą (kultūrinių augalų ir piktžolių aktyvaus augimo laikotarpiu) kritulių kiekis 26 mm viršijo vidutinį daugiamečių rodiklį. Liepa buvo gana sausa, kritulių deficitas sudarė 43 mm, rugpjūtis pagal kritulių kiekį buvo gana lietingas ir nesiskyrė nuo įprastinių daugiamečių rodiklių. Žiūrint bendrai, 2012 m. vegetacinis sezonas pagal temperatūros sąlygas ir atmosferinių kritulių kiekį buvo pakankamai palankus augti ir vystytis ir kultūriniais augalams, ir piktžolėms, iš esmės nesiskyrė nuo daugiamečių rodiklių.

Augalas: „Bara“ veislės soja. Sėklų sėjos norma: 10 kg/ha. Sėjos data: 2012-05-22. Daigų pasirodymo laikas: 2012-06-02. Bandomųjų sklypų dirva: humuso-jaurinė, kur humuso kiekis sudaro 2,5 %, pH_{vand.} 5,8; EKO 11 mg-ekv /100 g dirvos.

Diena, kai buvo atliekamas apdorojimas prieš dygimą: 2012-05-28, oro temperatūra 15,6 °C, santykinis oro drėgnumas 64 %, vėjo greitis – ne mažiau 1,8 m/sec. Kritulių pasirodymo laikas po apdorojimo ir jų intensyvumas: po 2 val., 1,5 mm.

Pirmojo vegetacinio apdorojimo diena: 2012-06-28 (žydėjimo pradžios fazė), oro temperatūra 18,2 °C, santykinis oro drėgnumas 50 %, vėjo greitis: mažiau nei 1,8 m/sec. Kritulių pasirodymo laikas po apdorojimo ir jų intensyvumas: kritulių nebuvo.

Antrojo vegetacinio apdorojimo diena: 2012-07-15, oro temperatūra 15,3 °C, santykinis oro drėgnumas 75 %, vėjo greitis: mažiau nei 1,8 m/sec. Kritulių pasirodymo laikas po apdorojimo ir jų intensyvumas: po 2 val., 0,5 mm.

Ekstremalių meteorologinių sąlygų (krušos, šalnų, liūčių ir pan.) nebuvo.

Įvairios sudėties biologiškai aktyvi sinergetinė kompozicija „Rokiprag“, lyginant su preparatu „Larixin“ (Etalonas), buvo purškiama ant vegetuojančių augalų vandeninės suspensijos pavidalu, panaudojant eksperimentinį purkštuvą OD-2, sukonstruotą Rusijos fitopatologijos mokslinių tyrimų institute (Rusijos žemės ūkio akademijos žinybas, 1993, Nr. 3). Vandeninės suspensijos išeigos norma – 300 l/ha. Bandomųjų laukelių plotas – 25–50 m², keturi pakartojimai, laukeliai išdėstyti pakaitomis su rendomizacijos elementais.

Preparatų, naudojamų eksperimentų metu, normos pateiktos 6 lentelėje.

6 lentelė

Preparatai	Preparatų dozės, ml/ha	
	Pirmas apdorojimas	Antras apdorojimas
„Rokiprag“ Nr. 5	40	30
„Rokiprag“ Nr. 6	30	25
„Larixin“	40	30
Kontrolinė grupė	0	0

Tiriamų objektų patikros datos: liepos 12 d. ir rugpjūčio 2 d. Patikros būdas: kiekio ir kiekio-svorio metodai 0,25 m² ploto bandomosiose aikštelėse, po 4 aikšteles kiekviename laukelyje. Derliaus nuėmimo ir apskaitos būdas: nuėmimas pėdais (kūliais) nuo 1 m², kiekviename sklype po 2 pakartojimus. Statistinis duomenų apdorojimas atliekamas dispersinės analizės metodu.

Preparatų veiksmingumo laikotarpis: nuo apipurškimo momento visu augalų vegetavimo laikotarpiu.

Preparatų, analogiškų naujai biologškai aktyviai sinergetinei kompozicijai „Rokiprag“, derlingumas, lyginant su etalonu, kai jie naudojami sojos pasėliams apdoroti prieš dygimą, pateiktas 7 lentelėje.

7 lentelė

Eksperimento variantas	Preparatų mišinių statinėse norma, ml/t	Grūdų derlingumas, cnt/ha					Apsaugotas derlingumas, cnt./ha
		pakartojimai				Vidutinis derlingumas,	
		I	II	III	IV		
„Rokiprag“ Nr. 5	100	18,4	20,1	22,0	19,8	20,0	11,9
„Rokiprag“ Nr. 6	100	23,5	23,9	22,0	22,7	23,7	15,6
„Larixin“	100	15,5	16,3	15,7	14,9	15,6	7,5
Kontrolinė grupė	—	6,0	8,8	10,7	6,8	8,1	

Preparatų, analogiškų naujai biologškai aktyviai sinergetinei kompozicijai „Rokiprag“, derlingumas, lyginant su etalonu, kai jie naudojami sojos pasėliams apipurkšti žydėjimo pradžioje, pateiktas 8 lentelėje.

8 lentelė

eksperimento variantas	Preparatų normos, ml/t	Grūdų derlingumas, cnt/ha					Apsaugotas derlingumas,
		pakartojimai				Vidutinis derlingumas, cnt/ha	
		I	II	III	IV		
„Rokiprag“ Nr. 5	40	20,6	21, 6	22, 2	21, 4	21,4	19,1
„Rokiprag“ Nr. 6	40	23,5	23, 9	22, 0	22, 7	23,7	20,7
„Larixin“ (standartas)	40	21,0	19, 2	17, 5	19, 0	19,2	16,9
Kontrolinė grupė	–	6,0	8,8	10, 7	6,8	8,1	

Kaip matyti iš 7 ir 8 lentelėse pateiktų duomenų, biologiškai aktyvia sinergetine grupe „Rokiprag“ (mėginys Nr. 6) apdorojus augalus prieš dygimą ir apipurškus žydėjimo tarpsnio pradžioje, „Bara“ veislės sojos augimas tapo gerokai spartesnis, žymiai padidėjo derlingumas.

Tyrimų metu taip pat nustatyta, kad preparato „Rokiprag“ mėginiai Nr. 5 ir Nr. 6 pasižymėjo gerokai aukštesniu biologiniu aktyvumu, ne tik lyginant su kontroliniu mėginiu, bet ir 22,4 % pralenkė etalono t. y. preparato „Larixin“ biologinį aktyvumą. Abiejų sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ mėginių derlius buvo didesnis, apdorojant šaknis išoriškai, negu apdorojant augalus prieš dygimą: 19,1–20,7 cnt/ha apipurškštų sojų derliaus, kuris gerokai viršijo derlių, gautą iš sklypo, kuriame buvo naudojamas etaloninis preparatas „Larixin“ – 16,9 cnt/ha.

Atliekant lauko tyrimus gana netikėtas buvo pastebėjimas, kad biologiškai aktyvi sinergetinė kompozicija „Rokiprag“, kurios sudėtyje papildomai yra arabinogalaktano ir triterpenoidų 0,05–5,0 g/gI normomis, naudojama įvairiomis normomis bei visose ištirtose vegetacijos tarpsniuose, stimuliuoja sojos augimą, taip didindama derlių.

Taigi, naująją biologiškai aktyvią sinergetinę kompoziciją „Rokiprag“ yra tikslinga formuoti vandeninės emulsijos pavidalu (aliejus vandenyje), kai aktyviųjų medžiagų dihidrokvercetino, aromadendrino ir naringenino molinis santykis yra 1,0 : 0,102 - 0,104 : 0,014 - 0,016, arabinogalaktano ir triterpenoidų kiekis kompozicijoje –

0,05–0,5 % svorio, ir esant iki 5 % aktyviųjų komponentų persiskirstymui iš aliejinės į vandeninę fazę.

Biologiškai aktyvią sinergetinę kompoziciją rekomenduojama formuoti toliau nurodytu būdu. Vandeninė fazė ruošama, ištirpinant ne daugiau kaip 5 g arabinogalaktano ir triterpenoidų 1 l distiliuoto vandens per 4 val., esant 30–40 °C temperatūrai. Paskui į tirpalą įdedama biologiškai aktyvių komponentų, kurių sinergetinis kiekio santykis neviršija 0,5 g į 1 l tirpalo. Tirpinti biologiškai aktyvius komponentus geriausia, maišant ultragarsu. Aliejinė fazė ruošama, tirpinant biologiškai aktyvius komponentus dihidrokvercetiną, aromadendriną ir naringeniną, moliniu santykiu 1,0 : 0,102 - 0,104 : 0,014 - 0,016, tirpiklyje, pvz., propilenglikolyje arba propilenglikolio ir etanolio mišinyje, iš anksto pakaitintame iki 33–39 °C temperatūros. Paskui pridedama emulgatoriaus „Agrilan AEK 145“ arba SOPROPHOR BSU, kurio kiekis turi sudaryti 15–25 % aktyvių komponentų tirpalo tūrio. Tirpinimas trunka 30–45 min., po to į tirpalą įdedama stabilizatoriaus „Lankropol KPH 70“ arba GEROPON DOS/PG, kiekis – 6–9 %, ir intensyviai maišant tirpalas 45–60 min. laikomas, esant 30–33 °C temperatūrai. Kaip emulgatorių rekomenduojama naudoti 60 % lecitino tirpalą sojų aliejuje (*Soya Lecithin Liquid*), kurio kiekis turi sudaryti 15–25 % aliejinės fazės tūrio, ir kuris turi būti pašildytas iki 33–39 °C temperatūros. Biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos emulsija gaminama, iš anksto pakaitintą vandeninę fazę 60–90 min. laikotarpiu tolygiai dozuojuant į aliejinę fazę, kai reakcinės masės cirkuliacijos dalumas yra ne mažesnis nei 9–12 tūrių/val., o maišymo intensyvumas – 0,016–0,024 kW į 1 l emulsijos. Paskui emulsija per 60–90 min. atvėsinama iki 20–25 °C temperatūros.

Jei aliejinė fazė ruošama, panaudojant paviršinio aktyvumo medžiagas „Agrilan AEK 145“ ir „Lankropol KPH 70“ arba SOPROPHOR BSU ir GEROPON DOS/PG, 75 % emulsijos aliejinės fazės lašelių linijinis dydis (skersmuo) sudaro 0,09–0,22 mkm, ir tai leidžia biologiškai aktyvią sinergetinę kompoziciją laikyti emulsija.

Išradimo realizavimo aprašymas

1 Pavyzdys

Į šildomą reaktorių su maišytuvu, kurio parametrai: galingumas 0,5 kW, darbinis tūris 0,3 m³, įpilama 10,5 l propilenglikolio CAS 57-55-6 ir pakaitinama iki 37

°C temperatūros. Po to dozuojama 1490 g dihidrokvercetino CAS 207-543-4, 130 g aromadendrino CAS 480-20-6 ir 63 g naringenino CAS 480-41-1, išmaišoma, esant 39 °C temperatūrai, kol medžiagos visiškai ištirpsta. Tada į reaktorių įdedama 2700 ml emulgatoriaus SOPROPHOR BSU CAS 99734-09-5 ir 40 min. maišoma, paskui įdedama 1800 ml stabilizatoriaus GEROPON DOS/PG CAS 577-11-7 ir maišoma 35 min, esant 33 °C temperatūrai. Į analogišką reaktorių įpilama 18 l distiliuoto vandens, kuris pakaitinamas iki 39 °C temperatūros, įdedama 35 g arabinogalaktano CAS 9036-66-2 ir 30 g vandenyje tirpių triterpenoidų, maišoma 4 val. Paskui įdedama 100 g dihidrokvercetino CAS 207-543-4, 15 g aromadendrino CAS 480-20-6 ir 7 g naringenino CAS 480-41-1. Maišoma 2 val. ultragarsu, kurio intensyvumas 150 W. Į pirmąjį reaktorių su paruošta aliejine faze 0,3 l/min. greičiu 60 min. laikotarpiu dozuojama vandeninė fazė, kai maišymo intensyvumas – 0,5 kW, cirkuliacijos dažnis – 9 reaktoriaus tūrio vienetų per valandą, temperatūra – 35 °C. Gaunama 30 l emulsijos, kuri 60 min. intensyviai maišant atvėsinama iki 20 °C temperatūros, paskui išpilama iš reaktoriaus ir supilstoma į 1 l talpos butelius. Paruošta biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ emulsija – tai skaidrus tamsiai rudos spalvos skystis, kurio tankis – 1,085 g/cm³, 1 % preparato vandeninės emulsijos rodiklis – 5,9. Aktyviųjų komponentų sudėtis: dihidrokvercetas – 50,2 g/l, aromadendrinis – 4,9 g/l, naringeninas – 0,7 g/l, kas atitinka komponentų sinergetinį molinį santykį 1,0 : 0,102 : 0,014. Dalelių skersmuo (50 % bendros sudėties) siekia ne daugiau kaip 2,2–3,6 mkm. Preparatas gamyklinėje pakuotėje išlieka nepakitęs 2 metus nuo pagaminimo datos, laikant nuo +30 °C iki –20 °C temperatūros aplinkoje. Esant aplinkos temperatūrai, žemesnei nei –20 °C, visiškai užšąla. Preparatui atitirpus, apačioje matyti susidaręs apie 50 mm storio aliejinės fazės sluoksnis, kuris dingsta, išmaišius.

0,06 l/ha biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ vandeninės emulsijos buvo panaudota „Moskovskij 2“ veislės miežių apipurškimui bamblėjimo tarpsnio pradžioje ir vėliavinio lapo pasirodymo tarpsnyje, panaudojant nugarinio tipo pneumatinį purkštuvą „Agrotop“ su dviejų metrų ilgio strypu. Darbinio skysčio išeiga – 300 l/ha.

Atlikus preparato „Rokiprag“ biologinio efektyvumo lyginamąjį įvertinimą nustatyta, kad jis gerokai veiksmingesnis už preparatą „Larixin“. Praėjus 30 dienų po vasarinių miežių pasėlių vėliavinio lapo tarpsnyje, apipurškimo, įvertinus poveikį nustatyta, kad šie augalai auga gerokai greičiau, lyginant su kontroliniais pavyzdžiais.

Derliaus struktūrinių elementų analizė parodė, kad vasarinių miežių derlingumui daugiausia įtakos turėjo 1000 grūdų masė. Visais preparato „Rokiprag“ panaudojimo atvejais 1000 grūdų masė padidėjo 20 %; naudojant preparatą „Larixin“, 1000 grūdų masė padidėjo tik 14 %, lyginant su kontroliniu pavyzdžiu.

Apipurškus pasėlius bamblėjimo tarpsnio pradžioje, panaudojant 0,06 l/ha preparato, vasarinių miežių derlingumas padidėjo 120,3 %, apipurškus vėliavinio lapo pasirodymo tarpsnyje – 121,2 %, lyginant su neapdorotų kontrolinių augalų derlingumo rodikliais (kontrolinių augalų derlingumas – 30,6 cnt/ha).

Taigi, biologiškai aktyvi sinergetinė kompozicija „Rokiprag“ pasižymi dideliu ekonominiu efektyvumu, gerokai padidina grūdinių kultūrų pasėlių derlingumą, išplečia panaudojimo temperatūros diapazoną.

2 Pavyzdys

Į šildomą reaktorių su maišytuvu, kurio parametrai: galingumas 0,5 kW, darbinis tūris 0,3 m³, įpilama 4 l propilenglikolio CAS 57-55-6, 1 l etanolio CAS 64-17-5 ir pakaitinama iki 37 °C temperatūros. Po to dozuojama 610 g dihidrokvercetino CAS 207-543-4, 51 g aromadendrino CAS 480-20-6 ir 6 g naringenino CAS 480-41-1, išmaišoma, esant 33 °C temperatūrai, kol medžiagos visiškai ištirpsta. Tada į reaktorių įdedama 1270 ml emulgatoriaus „Soya Lecithin Liquid“ CAS 8002-43- ir 40 min. maišoma. Į analogišką reaktorių įpilama 26 l distiliuoto vandens, kuris pakaitinamas iki 39 °C temperatūros, įdedama 50 g arabinogalaktano CAS 9036-66-2 ir 70 g vandenyje tirpių triterpenoidų, paskui 4 val. maišoma. Paskui įdedama 145 g dihidrokvercetino CAS 207-543-4, 21 g aromadendrino CAS 480-20-6 ir 10 g naringenino CAS 480-41-1. Maišoma 2 val., esant 30 °C temperatūrai. Į pirmąjį reaktorių su paruošta aliejine faze 0,3 l/min. greičiu 90 min. laikotarpiu dozuojama vandeninė fazė, kai maišymo intensyvumas – 0,5 kW, cirkuliacijos dažnis – 12 reaktoriaus tūrio vienetų per valandą, temperatūra – 35 °C. Gaunama 30 l emulsijos, kuri 60 min. intensyviai maišant atvėsinama iki 20 °C temperatūros, paskui išpilama iš reaktoriaus ir supilstoma į 1 l talpos butelius. Paruošta biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ emulsija – tai skaidrus šviesiai rudos spalvos skystis, kurio tankis – 1,055 g/cm³, 1 % preparato vandeninės emulsijos rodiklis – 5,7. Aktyviųjų komponentų sudėtis: dihidrokvercetas – 25,2 g/l, aromadendrinas – 2,4 g/l, naringeninas – 0,33 g/l, kas

atitinka komponentų sinergetinį molinį santykį 1 : 0,104 : 0,016. Dalelių skersmuo (50 % bendros sudėties) siekia ne daugiau kaip 2,4–3,2 mkm. Preparatas gamyklinėje pakuotėje išlieka nepakitęs 2 metus nuo pagaminimo datos, laikant nuo +30 °C iki –20 °C temperatūros aplinkoje. Esant aplinkos temperatūrai, žemesnei nei –20 °C, visiškai užšąla. Preparatui atitirpus, viršuje matyti susidaręs apie 1–3 mm storio vandens sluoksnis, kuris dingsta, išmaišius.

Biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ vandeninės emulsijos bandymai lauko sąlygomis nedideliuose sklypuose buvo atliekami 2010 m. rugsėjo – 2011 m. liepos mėn. Augalas – „Moskovskaja 39“ veislės žieminiai kviečiai, sėjos norma – 230 kg/ha, sėjos data – 2010 m. rugsėjo 10 d. Dirva – nušarmintas juodžemis, humuso kiekis ariamajame sluoksnyje – 4,8 %, kalio ir fosforo pH 5.8 rodiklis aukštas. Priešsėlis – sideralinis garstyčių pūdymas. Dirvos apdorojimas – baltųjų garstyčių žaliosios masės apdorojimas diskinėmis akėčiomis, priešsėjinis kultivavimas, sėja, sulyginimas volu. Daigai pasirodė 2010 m. rugsėjo 20 d. Trašos – pavasarinis tręšimas N₆₀ išbarstant. Augalų augimo tarpsnis apdorojimo momentu (2011 m. gegužės 27 d.) – krūmijimosi etapas.

Viso tyrimo metu buvo ekstremalios meteorologinės sąlygos – drėgmės trūkumas ir aukšta temperatūra gegužės–liepos mėn.

Apdorojimo dieną oro temperatūra siekė 28 °C, santykinis oro drėgnumas 64 %, vėjo greitis 2 m/sek. Naudojimo būdas – vegetuojančių augalų krūmijimosi stadijoje ištisinis paviršinis apipurškimas. Naudojama įranga – kuprinės tipo pneumatinis purkštuvas „Agrotop“ su dviejų metrų ilgio strypu. Darbinio skysčio išeiga – 300 l/ha.

Patikros datos: birželio 26 d. – praėjus 30 dienų po purškimo, liepos 11 d. – praėjus 45 dienoms po purškimo, liepos 18 d. – nuimant derlių. Patikros būdas: kiekio ir kiekio-svorio metodai 4-iose 0,25 m² ploto aikštelėse kiekviename bandomajame sklype. Derliaus nuėmimo ir apskaitos būdas: nuėmimas rankiniu būdu, bandomaisiais pėdais (kūliais) nuo 1 m², kiekviename sklype. Derliaus nuėmimo data – 2011 m. liepos 18 d.

Siekiant gauti duomenų apie galimą biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos emulsijos toksinį poveikį žieminiams kviečiams, buvo vykdomi sistemingi vizualiniai augalų stebėjimai preparatu apdorotuose sklypuose. Apdorojus preparatu „Rokiprag“ 0,03 ir 0,06 l/ha normomis aiškaus vegetuojančių žieminių „Moskovskaja

39“ veislės kviečių suglebimo nebuvo pastebėta. Lapų spalva ir ūgiu augalai nesiskyrė nuo kontrolinių ir etaloninių augalų, išskyrus atvejį, kai buvo panaudota 0,06 l/ha preparato norma, ir augalai vystėsi greičiau.

Atlikus tyrimus lauko sąlygomis nedideliuose sklypuose nustatyta, kad naudojant preparatą nurodytomis dozėmis, jis pasižymi dideliu efektyvumu. Praėjus 30 dienų po žieminių kviečių bamblėjimo fazėje apdorojimo 0,03 ir 0,06 l/ha preparato „Rokiprag“ dozėmis, augalų augimas paspartėjo atitinkamai 6 ir 8 %. Atlikus patikrą, praėjus 45 dienoms po purškimo nustatyta, kad augalų augimas paspartėjo 8 ir 10 %, o jų biomasė padidėjo atitinkamai 7 ir 9 %.

Derliaus struktūrinių elementų analizė parodė, kad žieminių kviečių derlingumui daugiausia įtakos turėjo 1000 grūdų masė. Visais preparato „Rokiprag“ panaudojimo atvejais 1000 grūdų masė padidėjo 3,2–3,7 g, lyginant su neapdorotais pavyzdžiais (1000 kontrolinių grūdų masė – 44,4 g).

„Moskovskaja 36“ veislės žieminių kviečių derliaus struktūra, naudojant preparatą „Rokiprag“, pateikta 9 lentelėje.

9 lentelė

Bandymo variantas	Pasikartojimas	Struktūriniai elementai				
		Produktyvių bamblių kiekis, vnt./m ²	Augalų aukštis, cm	Varpos ilgis, cm	Grūdų kiekis varpoje, vnt.	1000 grūdų masė, g
„Rokiprag“ 0,03 l/ha	1	386	92.6	10.5	35.5	48.3
	2	420	96.0	9.3	35.2	47.9
	3	391	90.5	9.1	31.7	48.7
	4	440	95.0	8.5	32.2	47.4
	Vidutin.	409	93.0	9.3	33.6	48.1
„Rokiprag“ 0,06 l/ha	1	448	93.9	9.1	34.5	46.6
	2	472	90.1	8.6	36.0	47.8
	3	412	88.5	9.0	35.6	48.4
	4	388	89.6	8.5	31.7	47.6
	Vidutin.	430	90.5	8.8	34.4	47.6
„Larixin“ – 0,05 l/ha (standartas)	1	440	83.3	8.4	34.2	47.5
	2	454	90.0	9.8	33.0	46.8
	3	402	93.0	10.0	31.0	46.2
	4	464	91.0	9.4	34.7	47.5
	Vidutin.	440	89.3	9.4	33.2	47.0
Kontrolinis	1	430	89.0	8.5	32.0	43.6
	2	414	90.0	9.0	30.8	44.4

3	390	91.0	8.6	31.7	44.8
4	422	92.0	8.8	31.0	45.0
Vidutin.	414	90.5	8.7	31.4	44.4

Purškiant pasėlius bamblėjimo tarpsnyje preparatu „Rokiprag“ 0,03 ir 0,06 l/ha norma, žieminių kviečių derlingumas padidėjo atitinkamai 16,2 ir 19,5 %, lyginant su augalų derlingumu neapdorotame kontroliniame sklype (derlingumas kontroliniame sklype – 36,4 cnt/ha).

„Moskovskaja 39“ veislės žieminių kviečių derlingumo rodikliai, panaudojus preparatą „Rokiprag“, pateikti 10 lentelėje.

10 lentelė

Bandymo variantas	Derlingumas pasikartojimus, cnt/ha pagal				Vidutinis derlius	
	1	2	3	4	cnt/ha	%, lyginant su kontroliniu pavyzdžiu
„Rokiprag“ – 0,03 l/ha	42,0	41,8	43,0	42,4	42,3	116,0
„Rokiprag“ – 0,06 l/ha	43,0	42,9	44,4	44,2	43,6	119,7
„Larixin“ – 0,05 l/ha	41,6	41,5	42,7	41,7	41,9	114,9
Kontrolinis	37,5	36,3	36,2	35,8	36,5	100,0

Atlikus registruotus preparato „Rokiprag“ tyrimus nedideliuose sklypuose su žieminiiais kviečiais Riazanės srities sąlygomis nustatyta, kad purškiant pasėlius bamblėjimo tarpsnyje preparatas neturėjo neigiamos įtakos tolesniam augalų augimui ir vystymuisi. Panaudojus preparatą „Rokiprag“ tiriamomis normomis, gerokai padidėjo grūdinių augalų atsparumas miltligei, septoriozei, helmintosporiozei. Preparato „Rokiprag“ biologinis efektyvumas, kovojant su lapų septorioze, bandymų metu siekė 61 %, rudosiomis rūdimis – 83,3 %. Biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ 0,03 l/ha norma buvo labai efektyvi, didinanti augalų atsparumą oro anomalijoms bei jų derlingumą.

3 Pavyzdys

| šildomą reaktorių su maišytuvu, kurio parametrai: galingumas 0,5 kW,

darbinis tūris 0,3 m³, įpilama 10,5 l propilenglikolio CAS 57-55-6 ir pakaitinama iki 37 °C temperatūros. Po to dozuoja 1490 g dihidrokvercetino CAS 207-543-4, 130 g aromadendrino CAS 480-20-6 ir 63 g naringenino CAS 480-41-1, išmaišoma, esant 39 °C temperatūrai, kol medžiagos visiškai ištirpsta. Tada į reaktorių įdedama 2400 ml emulgatoriaus „Soya Lecithin Liquid“ CAS 8002-43- ir 40 min. maišoma. Į analogišką reaktorių įpilama 26 l distiliuoto vandens, kuris pakaitinamas iki 39 °C temperatūros, įdedama 90 g arabinogalaktano CAS 9036-66-2 ir 25 g vandenyje tirpių triterpenoidų, maišoma 4 val. Paskui įdedama 145 g dihidrokvercetino CAS 207-543-4, 21 g aromadendrino CAS 480-20-6 ir 10 g naringenino CAS 480-41-1. Maišoma 2 val., esant 30 °C temperatūrai. Į pirmąjį reaktorių su paruošta aliejine faze 0,3 l/min. greičiu 90 min. laikotarpiu dozuoja vandeningą fazę, kai maišymo intensyvumas – 0,5 kW, cirkuliacijos dažnis – 12 reaktoriaus tūrio vienetų per valandą, temperatūra – 35 °C. Gaunama 30 l emulsijos, kuri 60 min. intensyviai maišant atvėsinama iki 20 °C temperatūros, paskui išpilama iš reaktoriaus ir supilstoma į 1 l talpos butelius. Aktyviųjų komponentų sudėtis: dihidrokvercetas – 50,2 g/l, aromadendrinis – 4,9 g/l, naringeninas – 0,7 g/l, kas atitinka komponentų sinergetinį molinį santykį 1 : 0,103 : 0,015. Dalelių skersmuo (50 % bendros sudėties) siekia ne daugiau kaip 2,2–3,6 mkm. Preparatas gamyklinėje pakuotėje išlieka nepakitęs 2 metus nuo pagaminimo datos, laikant nuo +30 °C iki –20 °C temperatūros aplinkoje. Esant aplinkos temperatūrai, žemesnei nei –20 °C, visiškai užšąla. Preparatui atitirpus, viršuje matyti susidaręs apie 5 mm storio vandens sluoksnis, kuris dingsta, išmaišius.

Biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ vandeninės emulsijos bandymai lauko sąlygomis nedideliuose laukeliuose buvo atliekami 2013 m. Rokiškio rajono (Lietuvos Respublika) žemės ūkiuose.

Tyrimai buvo vykdomi plėvele dengtame gruntiniame šiltnamyje. Šiltnamis be papildomo pašildymo, su įrengta žarnine laistymo sistema. Dirvožemis – humuso ir puvenų mišinys. Dirva šiltnamyje prieš sėjant augalus buvo palaistyta, įbertas reikiamas kiekis mineralinių trąšų – azofoskos, siekiant aprūpinti dirvą mineralinėmis medžiagomis iki N₂₀-90, P₂₀-20, K₂₀- 25, Mg₇₀ Ca₉₀. Daigai buvo auginami plėveliniame šiltnamyje su įrengtu papildomu šildymu. Sėklos pasėtos balandžio 15 d. į dėžes su dirvos mišiniu (1 dalis lauko dirvos ir 2 dalys pjuvenų). Prieš sėjant dirvos mišinys palaistytas vario sulfatu, siekiant apsaugoti daigus nuo šaknų ir kaklelių puvinio. 8-ą parą po daigų pasirodymo jie išpikiuoti, persodinti į 10/10 cm vazonelius ir

palikti toliau augti plėveliniame šiltnamyje su avariniu šildymu. Daigai buvo 2 kartus patręšti kompleksinėmis mineralinėmis trąšomis „Kemira“, laistomi, ravimi, pikiuojami. Į gruntinį plėvelinį šiltnamį daigai persodinti gegužės 31 d. Duobutės iškastos pagal dvipusę schemą 90x40, paliekant tarp duobučių 35–40 cm tarpus. Sodinimo tankis – 3,5 augalo 1 m² plote. Augalai formuojami 1 stiebu, pririšami špagatu prie 2 m aukščio špalerių. Augalų priežiūra buvo atliekama pagal visuotinai priimtą technologiją. Vegetaciniu laikotarpiu augalai buvo apdoroti birželio 10, birželio 20 ir liepos 1 dieną.

Eksperimentai buvo atliekami, purškiant kultūrinius pomidorus uždengtame grunte. Bandomųjų laukelių plotas – 10 m². Kontrolinių laukelių plotas – 5 m². Eksperimentai pakartoti 4 kartus. Bandymo schema:

1. Kontrolinis sklypas – nepadorotas preparatu.

2. Pirmą kartą preparatu „Rokiprag“ augalai apipurkšti, pradėjus žydėti pirmosioms kekėms, antrą kartą – praėjus 10 dienų po pirmojo purškimo, trečią – 10 dienų po antrojo purškimo. Preparato norma – 60 ml/ha, darbinio tirpalo kiekis – 400 l/ha.

3. Pirmą kartą preparatu „Larixin“ augalai apipurkšti, pradėjus žydėti pirmosioms kekėms, antrą kartą – praėjus 10 dienų po pirmojo purškimo, trečią – 10 dienų po antrojo purškimo. Preparato norma – 60 ml/ha, darbinio tirpalo kiekis – 400 l/ha.

Bandymu metu pastebėtas 25–30 % spartesnis daigų biomasės augimas, 2–3 paromis ankstesnė žydėjimo fazės pradžia, vaisiai taip pat prinoko 4–6 paromis anksčiau nei kontrolinės grupės augalų. Taip pat nustatyta, kad augalai 65–70 % mažiau pažeisti fitoftoros, alternariozės, septoriozės, juodosios bakterinės dėmėtligės, lyginant su kontroline augalų grupe.

Produkcijos kokybė buvo vertinama pagal standartines metodikas: sausosios medžiagos kiekis – termostatinis-svorio metodu, cukrų kiekis – Bertrano metodu, vitamino C kiekis – I. K. Murri metodu. Duomenims apdoroti buvo panaudoti variacinės statistikos metodai (B. A. Dospechov, 1985).

Kaip rodo atlikti skaičiavimai, augimą reguliuojantys preparatai turėjo teigiamos įtakos pagrindinių fenologinių fazių keitimosi greičiui. Lyginant kontrolinės grupės augalus su apdorotais preparatu „Rokiprag“, vaisių formavimosi pradžios ir sunokimo laikas skyrėsi 4 paromis. Skirtumas, lyginant su etaloniniu „Larixin“, neviršijo

1 paros.

Preparato „Rokiprag“ poveikis pomidorų fenofazių kitimo greičiui nurodytas 11 lentelėje.

11 lentelė

Bandymo variantas	Masinis žydėjimas	Vaisių formavimosi pradžia	Vaisių sunokimo pradžia
1. Kontroliniai pvz.,	VI.18	VI.28	VII.22
2. „Larixin“ etalonas, 60	VI.17	VI.25	VII.19
3. „Rokiprag“, 60 ml/ha	VI.17	VI.24	VII.18

Preparatu „Rokiprag“ apdoroti pomidorai greičiau sunokino vaisius, davė ankstesnį derlių. Pirmosiomis derliaus nuėmimo savaitėmis pastebėtas ryškus derlingumo rodiklių skirtumas, lyginant su kontrolinės grupės augalais. Bendras vaisių, apdorotų preparatu „Rokiprag“, derlingumas, lyginant su kontroline grupe, buvo didesnis 7,1 %.

Preparato „Rokiprag“ poveikis pomidorų derlingumui pateiktas 12 lentelėje.

12 lentelė

Variantas	Derlingumas, kg/m ²		Priedas prie kontrolinės grupės	
	Pirmomis 2 derliaus rinkimo savaitėmis	Bendras	kg/m ²	%
1. Kontrolinė grupė	0,8	2,8	-	-
2. „Larixin“ etalonas, 60 ml/ha norma	1,1	3,1	0,3	10,7
3. „Rokiprag“, 60 ml/ha norma	1,2	3,0	0,2	7,1
HCP 05	0,2	0,3	-	-

Ištyrus pomidorų vaisių biocheminę sudėtį pagal atskirus eksperimento variantus nustatyta, kad preparatais apdorotose vaisiuose buvo didesnis procentinis kiekis sausų medžiagų, cukrų ir vitamino C, lyginant su kontroline augalų grupe.

Preparato „Rokiprag“ poveikis pomidorų vaisių cheminei sudėčiai pateiktas 13 lentelėje.

13 lentelė

Bandymo variantas	Sausosios medžiagos, %	Cukrūs, %		Vitaminas C, mg/%	NO ₃ , mg/kg
		Mono-	Di-		
1. Kontrolinė grupė	7,9	3,5	0,08	17,5	23
2. „Larixin“ etalonas, 60 ml/ha dozė	9,5	3,91	0,60	25,0	38
3. „Rokiprag“, 60 ml/ha dozė	9,5	4,0	0,27	20,5	29

Nitratinio azoto kiekis produkcijoje visuose bandymo variantuose buvo gerokai mažesnis nei didžiausia leistina norma (apsaugotame grunte augantiems pomidorams šis rodiklis sudaro 300 mg/kg drėgnos masės). Produkcija taip pat pasižymėjo geromis skonio savybėmis.

Taigi, atlikti bandymai parodė, kad naudojant preparatą „Rokiprag“ gaunamas ankstesnis derlius, jis teigiamai veikia pomidorų vaisių biocheminę sudėtį ir pagerina skonio savybes.

4 Pavyzdys

Biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos „Rokiprag“ vandeninės emulsijos gavimo sąlygomis (žr. „3 būdas“) 2013 m. sezonu buvo atlikti preparato „Rokiprag“ bandymai lauke nedideliuose sklypuose su vegetuojančiomis vynuogėmis Rokiškio raj. (Lietuvos Respublika) klimato sąlygomis. Dirva – nušarmintas juodžemis. Humuso riba viršija 150 cm. Dirvoje gausu kalio oksido; bendrojo fosforo kiekis viršutiniuose sluoksniuose siekia 0,18 %, daugiausia mineralinių junginių forma, viršutiniuose sluoksniuose 55–65 %, apatiniuose – daugiau 90 % bendrojo kiekio, organinių fosfatų kiekis – 43 % viršutiniuose ir 8–10 % apatiniuose sluoksniuose. Juodžemis gerai sulaiko drėgmę, nors pasižymi mažu aktyviosios drėgmės diapazonu. Iš bendro dirvos drėgmės kiekio tik mažiau nei 50 % priskiriama aktyviosios arba produktyviosios drėgmės kategorijai. Klimatas rajone, kur buvo atliekami bandymai, nepastoviai drėgnas. Drėkinimo koeficientas 0,25–0,30. Per metus iškrenta 500–600 mm kritulių. Vidutinė mėnesio temperatūra sausio mėn. siekia –5–7 °C, žemiausia temperatūra –30–36 °C, sniego dangos aukštis – 5–7 cm. 50–70 % sniego dangos

nepatvari. Žiemkenčių vegetacijos atsinaujinimas prasideda trečią kovo dekadą. Laikotarpis be šalnų tęsiasi 185–220 dienų. Vasaros karštos, dominuoja giedros ir sausos oro sąlygos. Vidutinė liepos mėnesio temperatūra +24–26 °C, aukščiausia temperatūra kai kuriomis dienomis pakyla iki +30–33 °C. Karštų dienų (kurių vidutinė paros temperatūra viršija +20 °C) vasaros sezonu būna iki 80–90. Aktyvios vegetacijos laikotarpiu bendras kritulių kiekis siekia 250–300 mm. Vasarą būna iki 70–85 dienų su sausvėjais. Šios zonos pavasarinis laikotarpis išsiskiria staigiu temperatūros pakilimu. Rudens periodui būdingi ryškūs paros oro temperatūros svyravimai nuo +1–2 °C naktį iki 25–26 °C dieną. 2013 m. vegetacijos laikotarpio oro sąlygos pateiktos 14 lentelėje.

14 lentelė

Mėnuo	Oro temperatūra, °C		Kritulių kiekis, mm		Santykinis drėgnumas, % oro	
	vidutinė daugiametė	vegetacijos laikotarpiu	vidutinis daugiametis	vegetacijos laikotarpiu	vidutinis daugiametis	vegetacijos laikotarpiu
Balandis	10,9	14,0	48	6,8	69	58,8
Gegužė	16,8	22,0	57	5,7	67	53,3
Birželis	20,4	13,5	67	28,5	66	58,7
Liepa	23,2	24,9	58	31,8	64,3	56,0

Oro sąlygos žemės ūkio augalų vegetacijos periodu gerokai skyrėsi nuo vidutinių daugiamečių rodiklių. Anksti prasidėjusi sausra ir aukšta temperatūra paspartino vegetacijos fazių kaitą ir lapų senėjimo procesus, susilpnino reprodukcinių organų formavimąsi. Liūtys vaisių brandimo ir derliaus nuėmimo metu pakenkė žemės ūkio produkcijos kokybei.

Bandymo schema:

1. Kontrolinė augalų grupė – neapdorota preparatais.
2. „Larixin“ apipurkšti augalai: 1-ieji – žydėjimo tarpsnyje, 2-ieji – praėjus 20 dienų po pirmojo purškimo (250 ml/ha, 600 l/ha);
3. „Rokiprag“ apipurkšti augalai: 1-ieji – žydėjimo tarpsnyje, 2-ieji – praėjus 20 dienų po pirmojo purškimo (250 ml/ha, 600 l/ha).

Tiriamas laukelis – 10 m, pasikartojimas – keturi kartai.

Bandymo metu buvo atliekama derliaus struktūrinė analizė (nustatomas kekių kiekis ir masė), uogų derlingumas viename krūme ir hektare (pagal faktiškai nuimtą kiekį); tiriama uogų kokybė – cukraus ir titruojamų rūgščių kiekis (I. I. Ivanov, 1946). Derliaus, kekių kiekio ir masės rodikliai buvo apdoroti B. A. Dospechovo dispersinės analizės metodu (1985).

Tiriamų preparatų poveikio vynuogių kekių formavimuisi ir uogų kokybei rodikliai pateikti 15 lentelėje.

15 lentelė

Bandymo variantas	Kekių kiekis, vnt./krūme	Kekės masė, g	Uogų sulčių sudėtis	
			cukrūs, g/100 cm ³	titruojamos rūgštys, g/dm ³
Kontrolinė grupė	23,6	158,8	20,7	7,3
„Larixin“, (250 ml/ha)	27,0	173,9	21,7	8,8
„Rokiprag“, (250 ml/ha)	27,2	174,7	22,3	9,5
HCP ₀₅	0,9	5,8		

Tyrimai parodė, kad dukart apipurškus vegetuojančius vynuogių augalus (pirmą kartą žydėjimo metu, antrą – praėjus 20 dienų po pirmojo purškimo), susiformavo daugiau (27,0–27,2 vnt., kontrolinėje grupėje – 23,6 vnt.) ir stambesnių masės atžvilgiu (173,9–174,7 g, kontrolinėje grupėje – 158,8 g) kekių. Be to, uogos buvo geresnės kokybės – jų sultyse nustatytas didesnis cukrų (21,7–22,3, kontrolinėje grupėje – 20,7 %) ir titruojamų rūgščių (8,8–9,5 g/dm³, kontrolinėje grupėje – 7,3 g/dm³) kiekis.

Būtina paminėti, kad panaudojus preparatą „Rokiprag“ (250 ml/ha doze) kekių kiekis ir masė buvo didžiausi, o uogų kokybė – aukščiausia.

Bandomų preparatų poveikio vynuogių derlingumui rodikliai pateikti 16 lentelėje.

16 lentelė

Bandymo variantas	Derlingumas, kg/krūmas	Priedas kontrolinei grupei		Derlingumas, t/ha	Priedas kontrolinei grupei	
		kg	%		t/ha	%
Kontrolinė grupė	3,71	-	-	8,30	-	-
„Larixin“, (250 ml/ha)	4,43	0,72	19,4	9,9	1,68	20,2
„Rokiprag“, (250 ml/ha)	4,45	0,74	19,9	10,05	1,75	21,1
HCP ₀₅	0,2			0,4		

Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų, kekių kiekiui padidėjus 12,3–15,7 %, o masei – 4,7–10,0 %, vynuogių derlingumas krūme padidėjo 19,4–19,9 %, hektare – 20,2–21,1 %. Didžiausias derlingumo rodiklis gautas, 2 kartus apdorojus augalus preparato „Rokiprag“ norma 250 ml/ha.

Literatūros sąrašas

1. Patentas RF Nr. 2463759, 2011.
2. Visos Rusijos mokslinis vaistinių ir aromatinių augalų tyrimų institutas (VILFR). Vladimiras Karlovičius Kolchir. „Fitopreparatų, kurių sudėtyje yra triterpenoidų ir flavonoidų, paieška ir kūrimas“. Disertacija pranešimo forma medicinos mokslų daktaro laipsniui gauti. Kupavna 2002 m. <http://medical-diss.com/docreader/55384/a?#?page=1>
3. Tarptautinė paraiška WO 2005/058476, 2005.
4. Tarptautinė paraiška WO 2008/123797, 2008.
5. Patentas RF, Nr. 2229213, 2002.
6. RF Valstybinis pesticidų ir agrochemikalų katalogas. Registracijos numeriai 0164-06-111-042-0-1-3-0 ir 1986-10-111-042-0-1-3-1.
7. 2007 m. birželio 28 d. Tarybos reglamentas (EB) Nr. 834/2007 dėl ekologinės gamybos ir ekologiškų produktų ženklinimo ir panaikinantį reglamentą (EEB) Nr. 2092/91 (OL 2007 L 189, p. 1).
8. 2008 m. rugsėjo 5 d. Komisijos reglamentas (EB) Nr. 889/2008, kuriuo nustatomos išsamios Tarybos reglamento (EB) Nr. 834/2007 dėl ekologinės gamybos ir ekologiškų produktų ženklinimo įgyvendinimo taisyklės dėl ekologinės gamybos, ženklinimo ir kontrolės (OL 2008 L 250, p. 1).

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Biologiškai aktyvi sinergetinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad jos vandens emulsijos sudėtyje yra bioflavonoidinis dihidrokvercetino, aromadendrino ir naringenino kompleksas, kurių molinis santykis $1,0 : 0,102 - 0,104 : 0,014 - 0,016$, taip pat tirpiklis ir emulgatorius, o emulsijos vandeninė fazė papildomai apima arabinogalaktaną ir vandenyje tirpius triterpenoidus, kurių svorio santykis $1 - 3 : 5 - 7$, pagal kiekį $0,3-0,7$ % svorio vandeninės fazės, o bioflavonoidinis kompleksas paskirstomas tarp aliejinės ir vandeninės fazės svorio santykiu $5-10:1$.

2. Biologiškai aktyvi sinergetinė kompozicija pagal 1 punktą b e s i s k i r i a n t i tuo, kad aliejinė fazė apima bioflavonoidinio komplekso propilenglikolyje ir (arba) etanolyje tirpalą, o kaip emulgatoriai yra naudojami poliaromatiniai etoksilatai ir natrio dioktilsulfosukcinatas, kurių svorio santykis $8 - 10 : 5 - 7$ arba 60 % koncentracijos lecitino sojų aliejuje tirpalas, kurių kiekis sudaro $15-25$ % aliejinės fazės tūrio.

3. Biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos vandeninės emulsijos gavimo būdas, apimantis žingsnius:

(i) atskirą vandeninės ir aliejinės fazės paruošimą, apimantį žingsnius:

(a) vandeninės fazės ruošimą distiliuotame vandenyje ištirpdant arabinogalaktaną ir triterpenoidus, ne didesniu kiekiu kaip 5 gramai 1 litre vandens, ir laikant 4 valandas, esant $30-40$ °C temperatūrai,

(b) biologiškai aktyvių komponentų, kurių kiekis sinergetiniame santykyje neturi viršyti $0,5$ gramo 1 litrai vandens, įdėjimą į žingsnyje (a) gautą tirpalą,

(c) aliejinės fazės ruošimą ištirpinant dihidrokvercetiną, aromadendrino ir naringeniną, kurių molinis santykis yra $1,0 : 0,102 - 0,104 : 0,014 - 0,016$, iš anksto pakaitintame iki $33-39$ °C propilenglikolyje arba jo ir etanolio mišinyje,

(d) emulgatoriaus „Agrilan AEK 145“ arba SOPROPHOR BSU, kurio kiekis turi sudaryti $15-25$ % aktyvių komponentų tirpalo kiekio, pridėjimą į žingsnyje (c) gautą tirpalą ir tirpinimą, trunkantį $30-45$ min.,

(f) stabilizatoriaus „Lankropol KPH 70“ arba GEROPON DOS/PG įdėjimą, kiekis 6–9 %, į žingsnyje (d) gautą tirpalą,

(g) žingsnyje (f) paruošto tirpalo laikymą 45–60 min., esant 30–33 °C temperatūrai, intensyviai maišant,

(ii) iš anksto paruoštos vandeninės fazės nepertraukiamą dozavimą, trunkantį 60–90 min., į aliejinę fazę, esant reakcinės masės cirkuliacijos dalumui 9–12 tūrio per valandą, kur maišymo intensyvumas yra 0,016–0,024 kW 1 litrui emulsijos,

(iii) žingsnyje (ii) gautos emulsijos atvėsšinimą per 60–90 min. iki 20–25 °C temperatūros.

4. Biologiškai aktyvios sinergetinės kompozicijos pagal 1 – 3 punktą darbinio tirpalo, gauto ištirpinant emulsiją vandenyje iki bioflavonoidinio komplekso koncentracijos 0,05–0,25 g/l, panaudojimas žemės ūkio augalų sėklų apdorojimui arba kultūrinių augalų, ankstyvosiose vegetacijos stadijose, apipurškimui.