



TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOI

INSENERITEADUSKOND

Tartu kolledž

**PÕLEVKIVI JA PÕLEVKIVITUHA KASUTATAVUS
HALLITUSSEENTE TÕRJEL**

**USABILITY OF OIL SHALE AND OIL SHALE ASH FOR MOLD
CONTROL
MAGISTRITÕÕ**

Üliõpilane: Maris Püks

Üliõpilaskood: 204169NAEM

Juhendajad: Lembit Nei, emeriitprofessor
Jane Raamets, vanemlektor

Tartu 2023

AUTORIDEKLARATSIOON

Olen koostanud lõputöö iseseisvalt.

Lõputöö alusel ei ole varem kutse- või teaduskraadi või inseneridiplomit taotletud. Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on viidatud.

“24” mai 2023.

Autor: Maris Püks

/ digitaalselt allkirjastatud /

Töö vastab magistritööle esitatud nõuetele

“24” mai 2023.

Juhendaja: Lembit Nei ja Jane Raamets

/ digitaalselt allkirjastatud /

Kaitsmisele lubatud

24. mai 2023

Kaitsmiskomisjoni esimees Jane Raamets.

/ digitaalselt allkirjastatud /

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks¹

Mina, Maris Püks

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose Põlevkivi ja põlevkivituha hallituste inhibeerimisvõime,

mille juhendajad on Lembit Nei ja Jane Raamets,

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

24.05.2023

¹ *Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal vastavalt üliõpilase taotlusele lõputööle juurdepääsupiirangu kehtestamiseks, mis on allkirjastatud teaduskonna dekaani poolt, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil. Kui lõputöö on loonud kaks või enam isikut oma ühise loominguulise tegevusega ning lõputöö kaas- või ühisautor(id) ei ole andnud lõputööd kaitsvale üliõpilasele kindlaksmääratud tähtjaks nõusolekut lõputöö reprodutseerimiseks ja avalikustamiseks vastavalt lihtlitsentsi punktidele 1.1. ja 1.2, siis lihtlitsents nimetatud tähtaja jooksul ei kehti.*

LÕPUTÖÖ ÜLESANNE

Üliõpilane: Maris Püks 204169NAEM

Õppekava, peaeriala: NAEM06/18 - Tööstusökoloogia

Juhendaja(d): emeriitprofessor, Lembit Nei; vanemlektor, Jane Raamets

Lõputöö teema:

Põlevkivi ja põlevkivituha kasutatavus hallituseente tõrjel

Usability of oil shale and oil shale ash for mold control

Lõputöö põhieesmärgid:

1. Saavutada hõbeda nanoosakestega võrreldav hallituskindlus pinnakattematerjalidel kasutades selleks põlevkivipulbrit ja põlevkivituha.

Lõputöö etapid ja ajakava:

Nr	Ülesande kirjeldus	Tähtaeg
1.	Töö kirjandusega	02.2023
2.	Metoodika valik	11.2022
3.	Eksperimentide planeerimine ja läbiviimine	05.2023
4.	Tulemuste töötlus, analüüs ja järeldused	05.2023
5.	Lõputöö kokkupanek	05.2023

Töö keel: eesti keel

Lõputöö esitamise tähtaeg: "24" mai 2023a

Üliõpilane: Maris Püks "24" mai 2023. a
/digitaalselt allkirjastatud/

Juhendajad: Lembit Nei "24" mai 2023. a
/digitaalselt allkirjastatud/
Jane Raamets "24" mai 2023. a
/digitaalselt allkirjastatud/

Programmijuht: Jane Raamets "24" mai 2023. a
/digitaalselt allkirjastatud/

SISUKORD

EESSÕNA	6
1. SISSEJUHATUS	7
2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	9
2.1. NANOOSAKESED	9
2.1.1. Nanoosakesed pinnakatetes	11
2.1.2. Hõbeda nanoosakesed	12
2.1.3. Nanoosakeste ohtlikkus	13
2.2. HALLITUSEENED.....	16
2.3. PÕLEVKIVI	17
2.4. PÕLEVKIVITUHK	20
2.4.1. Põlevkivi antimikroobsed ja hallitusvastased omadused	22
3. MATERJALID JA METOODIKA	24
3.1. MATERJALID JA SEADMED	24
3.2. METOODIKA.....	26
3.3. KATSED	29
4. TULEMUSED	31
4.1. HÕBEDA NANOOSAKESTE TULEMUSED	31
4.2. PÕLEVKIVI TULEMUSED	32
4.3. PÕLEVKIVITUHA TULEMUSED.....	37
5. ARUTELU JA JÄRELDUSED	42
KOKKUVÕTE	44
SUMMARY	46
KASUTATUD ALLIKAD.....	48
LISAD	54
Lisa 1. Katse 1 lähtetulemused	54
Lisa 2. Katse 2 lähtetulemused	55
Lisa 3. Katse 3 lähtetulemused	57
Lisa 4. Katse 4 lähtetulemused	59
Lisa 5. Katse 5 lähtetulemused	61

EESSÕNA

Magistritöö temaatika pakkus välja töö juhendaja, emeriitprofessor Lembit Nei, tänu kellele jõuti üheskoos vanemlektor Jane Raametsa toetusega antud uurimuse lõpuni. Antud töös uuriti põlevkivi ja põlevkivituha kasutatavust hallitusseente tõrjeks. Käesoleva töö praktiline osa viidi läbi Tallinna Tehnikaülikooli Tartu Kolledži laboris.

Töö autor tänab juhendajaid Lembit Neid ja Jane Raametsa, kes suunasid, toetasid ning abistasid töö koostamisel ja praktilise osa läbiviimisel.

Märksõnad: magistritöö, põlevkivi, põlevkivituhk, hõbeda nanoosakesed, hallitusvastasus.

1. SISSEJUHATUS

Nanoosakesed on muutunud tänapäeva elustiili vältimatuks osaks (Turan et al., 2019). Nende päritolu võib olla looduslik, kuid aina rohkem kasutatakse ka tööstuslikult konstrueeritud nanoosakesi (Purohit et al., 2017). Nende suurest eripinnast ja nanoskaalast tingitud omaduste tõttu leiavad nanoosakesed aina rohkem rakendust mitmesugustes valdkondades (Pidgeon et al., 2004). Enim leiavad nanoosakesed rakendust meditsiinivaldkonnas (Gosselin, 2021), aga ka näiteks elektroonika valmistamisel ning toidu ja kosmeetikatööstuses (Rauwel, et al., 2015; Yaqoob, et al., 2020).

Nanoosakesi toodetakse ja kasutatakse aina enam ning sellest tingitult võivad soovimatud nanoosakesed jõuda vee, pinnase ja õhu kaudu ka keskkonda (Khan et al., 2019; Sengul & Asmatulu, 2020). Lisaks nõuab nanomaterjalide valmistamine rohkelt vett ja energiat ning sünteesimiseks vajaminevad kemikaalid on sageli mürgised (Purohit et al., 2017). Nanoosakesed võivad ohtu seada ka inimtervise – näiteks kokkupuutel nahaga, õhu kaudu sisse hingates, või alla neelates (Tortella et al., 2020). Nanotehnoloogia kasutusega kaasneb ka mitmeid eetilisi küsimusi. Alati leidub võimalus, et nanotehnoloogiat kasutatakse tahtlikult kahju tekitamiseks (Purohit et al., 2017). Kuna me pole täielikult kindlad, mida nanoosakeste kasutamine meid ümbritsevale keskkonnale ja ühiskonnale võib kaasa tuua, siis on vaja teada, kuidas on võimalik vältida potentsiaalseid soovimatuid aga kahjulikke tagajärgi?

Hõbeda nanoosakesed on kõige levinumad tarbekaupades kasutatavad nanomaterjalid nende antimikroobsete omaduste tõttu (Temizel-Sekeryan & Hicks, 2020). Näiteks, tingituna nende antibakteriaalsest iseloomust, kasutatakse hõbeda nanoosakesi pinnakatetes (Qi et al., 2022). Hõbedapõhiste nanomaterjalide laialdane ja kasvav kasutamine tekitab aga muret nende negatiivsete mõjude pärast, mis võivad tekkida nii keskkonnale kui ka inimestele ja seda põhjusel, et hõbeda nanoosakeste kahjulikud mõjud on endiselt ebaselged (Tortella et al., 2020).

Põlevkivi on Eesti peamine energiaallikas ja põlevkivituhka, põlevkivi kasutamise jäädet, leidub Eestis rohkelt. Põlevkiviekstraktide, põlevkivi poolkoksi ja põlevkiviõli antimikroobseid omadusi on uuritud ja seetõttu neid kasutatakse sel eesmärgil erinevates toodetes (Aknederm pureskincare, 2023; Oumam et al., 2002; Yuru, 2018).

Antud magistritöö eesmärgiks on saavutada hõbeda nanoosakestega võrreldav hallituskindlus pinnakatematerjalidel, kasutades selleks põlevkivipulbrit ja põlevkivituhka.

Töös on seatud kaks hüpoteesi:

1. Põlevkivipulbri ja põlevkivituha kasutamine on efektiivne viis saavutamaks hallituskindlust, mida on võimalik rakendada pinnakatetes hallituse vältimisel;
2. Hõbeda nanoosakestega võrreldava hallituskindluse saavutamiseks peab põlevkivipulbri või -tuha kogus olema oluliselt suurem.

Magistritöö on jagatud kolmeks osaks: kirjanduse ülevaade, katsemetoodika ja katse tulemused ning arutelu. Töös kasutatud kirjanduse valimi moodustavad enamuses asjakohased teaduslikud tööd ja raamatud. Eesti-keelset kirjandust leidub nanoosakeste kohta vähe, see-eest eesti-keelset kirjandust põlevkivi kohta leidub rohkelt. Siiski moodustavad enamuse kasutatud kirjandusest inglisekeelsed teaduslikud tööd. Magistritöö esimeses osas on teadustööde põhjal selgitatud uurimistöö eesmärgi saavutamiseks vajalik taust nanoosakestest, täpsemalt on keskendutud hõbeda nanoosakestele ja nende ohtlikkusele. Lisaks on kirjeldatud eesti põlevkivi kukersiidi olemus ja selle jäätmel, põlevkivituha, vähene kasutus. Keskendutakse ka põlevkivi toodete ja -jäätmel antibakteriaalsele potentsiaalile ning hallituseente ohtlikkusele inimeste tervisele.

Töös on kasutusel kvantitatiivne uurimismeetod, mille eesmärgiks on saada objektiivsed empiirilised andmed ning uurimustöö materjalid kogutakse mõõtmismeetodiga, mis annab arvulisi tulemusi. Metoodika ja materjalid on kirjeldatud magistritöö teises osas. Töö viimases osas esitatakse magistritöö raames läbi viidud katsete tulemused ja analüüs.

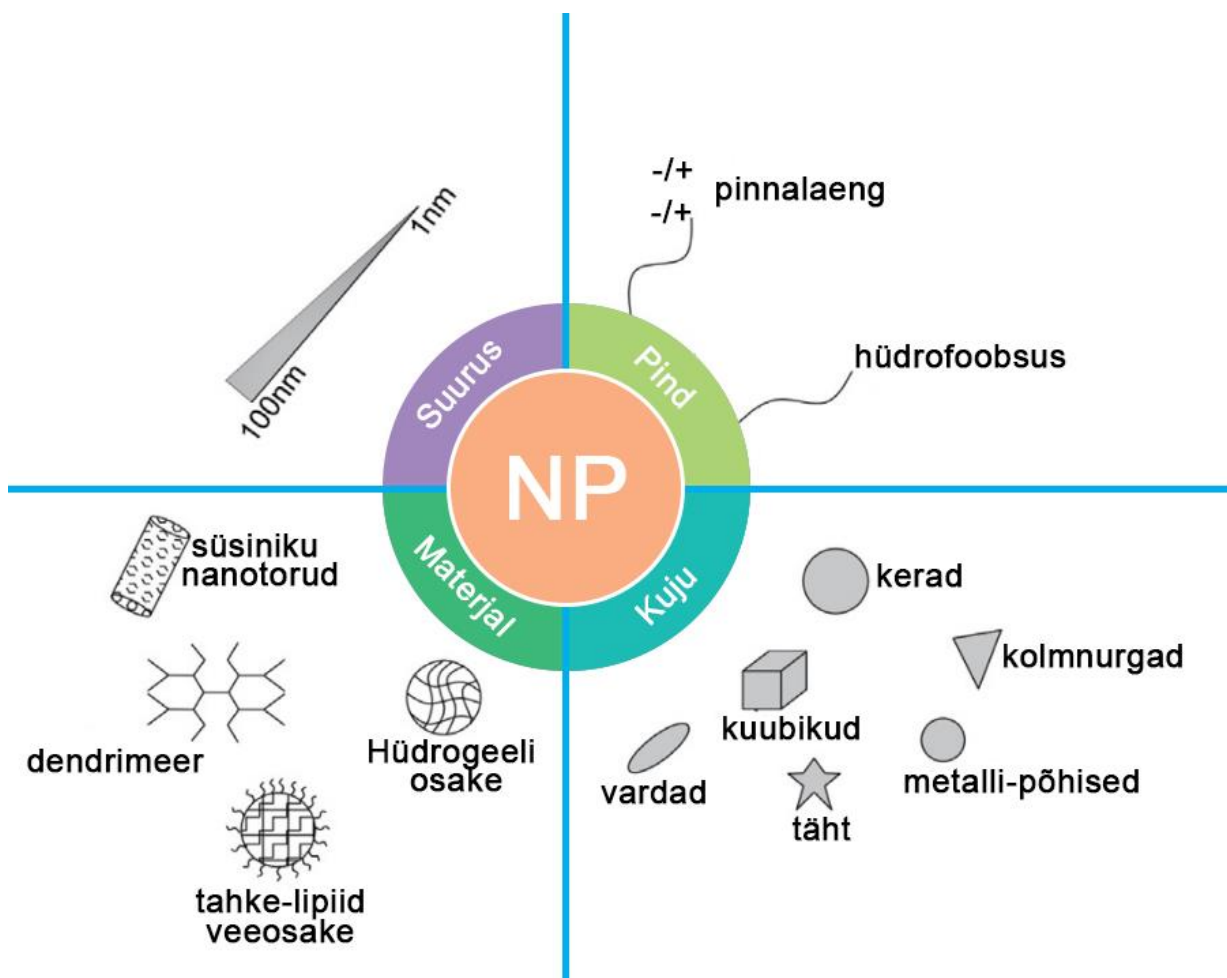
2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

2.1. Nanoosakesed

Nanoteadus ja nanotehnoloogia on äärmiselt väikeste objektide uurimine ja rakendamine ning neid saab kasutada pea kõigis teadusvaldkondades nagu keemia, bioloogia, füüsika, materjaliteadus ja inseneriteadus (National Nanotechnology Coordination Office, 2022). Nanoteadus on nähtuste ja materjalidega manipuleerimise uurimine aatomi-, molekulaar- ja makromolekulaarses skaalas, mille omadused erinevad oluliselt makroskaala omadest (Pidgeon et al., 2004). Nanotehnoloogia on inseneriteadus ja tehnoloogia, mida viiakse läbi nanoskaalal ehk 1–100 nanomeetrit ehk 1×10^{-9} ja 1×10^{-7} (Dewangan et al., 2012; Khan et al., 2019; (National Nanotechnology Coordination Office, 2022). Nanoteadusel ja nanotehnoloogial on potentsiaali tuua kasu paljudele uurimis- ja rakendusvaldkondadele ning need meelitavad paljudes maailma paikades valitsustelt ja ettevõtetelt kiiresti kasvavaid investeeringuid (Pidgeon et al., 2004).

Nanoosakesi saab klassifitseerida kuju, suuruse ning omaduste nagu pinnakate ja laengu, keemilise koostise, eripinna, lahustuvuse ja päritolu kaudu. Näiteks jagunevad nanoosakesed kuju poolest sümmeetrilisteks (kerad, kuubikud) ja asümmeetrilisteks (nanotorud) (joonis 2.1.). (Khan et al., 2019; Mourdikoudis et al., 2018). Erinevad rühmad hõlmavad fullereene, metalli, keraamilisi ja polümeerseid nanoosakesi ning neil on unikaalsed füüsikalised ja keemilised omadused tänu nende suurele eripinnale ja nanoskaalale, lisaks sõltuvad nende reaktsioonivõime, vastupidavus ja muud omadused ka nende ainulaadsest suurusest, kujust ja struktuurist (Khan et al., 2019). Puistmaterjalidel (*ingl. k. Bulk materials*) on tavaliselt sarnases keskkonnas ajas püsivad füüsikalised omadused, kuid nanoosakestel leidub suurusest sõltuvaid omaduste muutusi (Khan et al., 2019). Nanoosakesi võib nende tekke põhjal jagada kolme kategooriasse: looduslikud (vulkaaniline tuhk, mineraalid jne), juhuslikud (tööstusprotsesside jäätmeosakesed) ja konstrueeritud (metall, pooljuhid, metall oksiidid jne) (joonis 2.1) (Purohit et al., 2017). Keskkonda sattunud nanoosakesed pärinevad erinevatest looduslikest ja tahtlikust või tahtmatust inimtegevustest tingitud allikatest (Turan et al., 2019). Pinnase erosioon, tormid, metsatulekahjud ja

vulkaanilised tegevused on looduslikud tegevused, mis vabastavad keskkonda nanoosakesi, aga nanoosakeste inimestepoolne tahtlik eraldumine on enamasti seotud konstrueeritud nanoosakeste kasutamisega ravimite tootmiseks, põhjavee tervendamiseks, biomeditsiinilise pildistamise ja muude rakenduste jaoks, samas kui tahtmatu on seotud selliste tegevustega nagu fossiilkütuste põletamine, sõidukite heitgaasid, kaevandamine ja lammutamine (Turan et al., 2019).



Joonis 2.1 Tööstuslikult konstrueeritud nanoosakeste tüübid vastavalt suurusele (nm), pinna omadustele, kujule ja materjalile (Turan et al., 2019)

Mida väiksem on osake, seda suurem on selle eripind ja seda rohkem paikneb aatomeid osakese pinnal ning sellest tulenevalt on aine reaktiivsem (Purohit et al., 2017). Seetõttu võivad NP-d elusorganismidele mõjuda sama materjali suurematest osadest erinevalt (Auyeung et al., 2017; Pidgeon et al., 2004). Nende omaduste tõttu

on nanoosakesed sobivad kandidaadid näiteks katalüüsiks, meditsiinilisteks ja keskkonnarakendusteks ning need on ajendanud arvukaid uuringuid ja rakendusi elektroonikas, nanomeditsiinis, biomaterjalides, energias ja toidutehnoloogias (Khan et al., 2019; Rauwel et al., 2015). Näiteks nanometalliosakesed nagu Ag, Cu, Zn, Au on väga kasulikud elektroonikalülituste valmistamisel, kuna need parandavad ka elektrijuhtivust (Yaqoob et al., 2020).

Kõige enam on nanoosakesed leidnud kasutamist meditsiinivaldkonnas (Gosselin, 2021). Kuigi antibiootikumide avastamine on päästnud palju elusid, on bakteritüved saavutanud resistentsuse paljude antibiootikumide suhtes (Paul & Neogi, 2019), mistõttu on tekkinud vajadus teistsuguste antibakteriaalsete ainete järele. Metalloksiidi nanoosakeste kasutamine antibakteriaalsete uuringute valdkonnas on pälvinud suurt huvi peamiselt nende usaldusväärse antimikroobse toime tõttu, mis on madala nanoosakeste kontsentratsiooni korral tugev (Paul & Neogi, 2019). Antimikroobsed nanoosakesed hävitavad erinevaid mikroobe häirides nende rakuseina struktuuri, olulisemaid metaboolseid teid või muid raku osasid ning see osutub mikroobidele surmavaks (Pelgrift & Friedman, 2013).

2.1.1. Nanoosakesed pinnakatetes

Pinnakatted on dekoratiivsed või kaitsekihid, mis kantakse hoonete sise- ja väliseintele (GlobalSpec, 2022). Näiteks puidu nakatumine hallitussentega halvendab selle pinna kvaliteeti ja võib potentsiaalselt ohustada inimeste tervist (Qi et al., 2022). Hallitussened võivad kasvada ka värvitud seintel, kuna nad saavad toitaineid metaboliseerides pinnakatete ja värvide valmistamisel kasutatavaid ühendeid, näiteks plastifikaatoreid, mida värvidele ja teistele pinnakatetele nende voolavuse suurendamiseks lisatakse (Auyeung et al., 2017).

Üha kõrgemad nõuded pinnakatete omadustele tingivad nende variatsioonide ja tootmistehnoloogiate uut moodi kujundamist ning paljude ainulaadsete mehaaniliste omadustega nanoosakesed on viimastel aastatel muutunud üheks atraktiivsemaks valikuks nende vajaduste rahuldamisel (Guo et al., 2014). Hetkel on turul üheks kõige populaarsemaks pinnakatete hallituse inhibiitoriks vees lahustuvad fungitsiidid.

Probleemiks on aga ioonsetest vormidest tingitud kerge leostumine, mis vähendab nende antimikroobse toime efektiivsust ja põhjustab ka keskkonnareostust. Antibakteriaalsetel nanoosakestel aga on tugev läbilaskvus ja fungitsiidne käitumine ning ainulaadse nanoskaala efekti tõttu ei ole need kergesti leostuvad ning neist on saanud alternatiivsed kandidaadid puidukaitset turustavate hallitusevastaste ainetena. (Qi et al., 2022)

Nanomaterjalid ja -struktuurid võivad avaldada oma ainulaadseid materjaliomadusi nende suure eripinna tõttu, mis annab traditsiooniliste värvilisanditega võrreldes väga kõrge pinna ja kaalu suhte (Gosselin, 2021). Nanoosakesi saab kanda otse või lisandina pinnakatetele ning selle eesmärgiks on anda pinnale mitmeid omadusi nagu peegeldusvastatus, hüdrofoobsus, kleepuvus või antimikroobsus (American Elements, 2022). Näiteks kasutatakse vedelikke tõrjuvaid pinnakatteid mitmetel eesmärkidel nagu veekindlate tekstiilide loomisel. Tsinkoksiidi, tsingi ja hõbeda nanoosakesi kasutatakse sageli antimikroobsete, antibakteriaalsete ja seenevastaste ainetena lisades neid pinnakatetesse, kiududele, polümeeridele, esmaabisidemetele, plastidele, seebile ja ka tekstiilidele (American Elements, 2022). Uued edusammud töötlemises võimaldavad nanoosakesi kombineerida iseseisvate pinnakattekihtidena, mis on ladestunud tugevama nakkumise ja pinna omadustega õhukeste kiledena ning käimas on ka uuringud ülipeente nanostruktuuride väljatöötamiseks kattekihtides, et tagada paremad füüsikalised ja mehaanilised omadused (Gosselin, 2021).

2.1.2. Hõbeda nanoosakesed

Hõbedapõhiseid ühendeid on sajandeid kasutatud mittetoksilise ning ohutu anorgaanilise antibakteriaalse ja seenevastase ainenäna (Niskanen et al., 2010; Rauwel et al., 2015). Hõbedal on väga suur potentsiaal paljudes bioloogilistes rakendustes, eriti nanoosakeste kujul. Arvestades nende antimikroobseid, elektrilisi ja optilisi omadusi, on hõbeda nanoosakesed kõige levinumad tarbekaupades kasutatavad nanomaterjalid (Agnihotri, Mukherji, & Mukherji, 2014; Temizel-Sekeryan & Hicks, 2020), kusjuures hõbeda nanoosakesi võib sünteesida mitme meetodi abil, sealhulgas keemilised, bioloogilised ja füüsikalised meetodid (Küünal, 2022). Enamik tootjaid

(85%) eelistavad kasutada füüsikalisi ja keemilisi sünteesimeetodeid, mitte aga bioloogilisi (Temizel-Sekeryan & Hicks, 2020).

Keskkonnasõbralikud sünteesimeetodid muutuvad keemias ja keemiatehnoloogiates üha populaarsemaks ning suureneb vajadus ökoloogiliste sünteesimeetodite järele. Nende eesmärk on vähendada saastavate reaktsioonide kõrvalsaadusi. Keskkonnasõbralike nanoosakeste sünteesimisviiside eeliseks on ka kuluefektiivsus ja tooraine rohkus (Rauwel et al., 2015). Kuna aga turunõudluse rahuldamiseks on vaja suurt hulka hõbeda nanoosakesi siis enamasti sünteesitakse neid tööstuslikus mastaabis, peamiselt füüsikalise-keemiliste tehnoloogiatega (Tortella et al., 2020). Kuigi neid meetodeid peetakse tõhusateks, tekitavad need mürgiseid jääke, mis võivad potentsiaalselt keskkonda sattuda (Tortella et al., 2020).

Tänapäeval peetakse hõbeda nanoosakesi oluliseks nanomaterjalide klassiks, kusjuures hõbedapõhised ühendid on palju odavamad kui näiteks kullapõhised ning praegu kasutatakse neid peamiselt katalüsaatorina või antibakteriaalsete ja hallituseente vastaste ainetena (Rauwel et al., 2015). Oma suure pindala ja ruumala suhte ja lahustumisel vabanevate hõbeda ioonide tõttu on neil ka madalatel kontsentratsioonidel hea antibakteriaalne mõju (Yaqoob et al., 2020). Täpne mehhanism, miks hõbeda nanoosakesed on antibakteriaalsed, ei ole välja selgitatud (Yin et al., 2020). Hõbeda nanoosakesed toimivad efektiivselt gramnegatiivsete bakterite (nt *Escherichia coli*) ja hallituseente vastu, kuid grampositiivsete bakterite (nt *Staphylococcus aureus*) puhul ei ole toime nii silmatorkav, sest arvatakse, et grampositiivsed bakterid ei ole hõbeioonide suhtes nii tundlikud, kuna rakuseinas on paksem peptidoglükaanikiht kui gramnegatiivsetel bakteritel (Niskanen et al., 2010).

2.1.3. Nanoosakeste ohtlikkus

Nanoosakesed on kujunenud paljulubavateks vahenditeks, millel on laialdased rakendused meditsiinis, kosmeetikas ja mitmetes muudes bioloogilistes ja mittebioloogilistes valdkondades (Najahi-Missaoui et al., 2021). Nanoosakeste kasvav

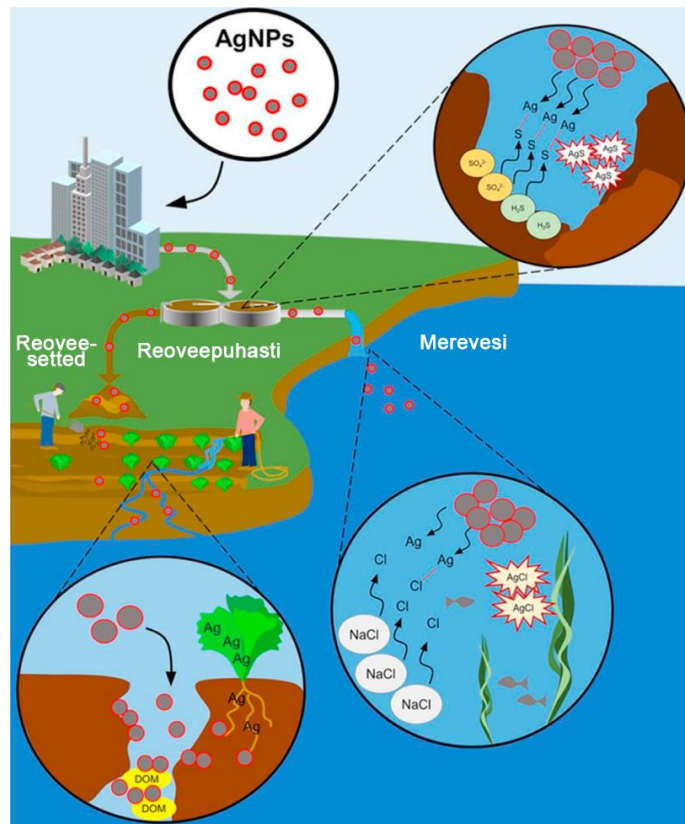
tootmine ja kasutamine põhjustab suuremat kokkupuudet inimeste ja keskkonnaga, tõstatades seega toksilisuse probleeme (Sengul & Asmatulu, 2020).

Nanomaterjalide valmistamine nõuab palju vett ja energiat ning vajaminevad kemikaalid on sageli väga mürgised (Purohit et al., 2017). Inimtegevuse tõttu satuvad nanoosakesed keskkonda vee, pinnase ja õhu kaudu (Khan et al., 2019). Kuigi näiteks hõbeda ionide antimikroobne toime on juba ammu teada olnud, käib ikka veel arutelu hõbeda mürgisuse tegeliku mehhanismi üle, kusjuures laialdaselt arvatakse, et toksilisus tuleneb hõbeda ionide vastastikmõjust rakkudes olevate valkudega (Niskanen et al., 2010). Nanomaterjalide käitumist mõjutavad paljud tegurid, näiteks päritolu, pH, kontsentratsioon, suurus ja kuju jne (Purohit et al., 2017).

Inimeste kokkupuude nanoosakestega võib toimuda mitmel viisil nagu sissehingamisel, nahaga kokkupuutel ja allaneelamisel (Najahi-Missaoui et al., 2021; Sengul & Asmatulu, 2020). Organispetsiifiline toksilisus pärast NP-dega kokkupuudet sõltub manustamisviisist ja nende süsteemsest jaotumisest (Najahi-Missaoui et al., 2021). Kui nanoosakesed jõuavad vereringesse, võivad nad akumuleeruda tundlikesse organitesse nagu süda, maks, põrn, neerud, aju ja kopsud (Najahi-Missaoui et al., 2021; Sengul & Asmatulu, 2020). Mõned kokkupuuted on tahtmatud, näiteks nanoosakeste kopsudesse sissehingamine keskkonnas või tootmiskohtades. Kokkupuude kopsude kaudu võib põhjustada põletikulisi reaktsioone, fibroosi ja kopsukudede nekroosi, aga muud kokkupuuted on tahtlikud, näiteks nahatoodete kasutamine või ravimi manustamine allaneelamise või süstimise teel (Najahi-Missaoui et al., 2021). Näiteks inimesed, kes töötavad kohtades, kus on kõrge nanomaterjalide kontsentratsioon, nagu söekaevandused, on nanoosakeste kahjulikele mõjudele vastuvõtlikumad (Purohit et al., 2017). Tavaliselt on inimestel kaitsemehhanismid keskkonnamõjurite vastu, kuid tööstuslikult konstrueeritud nanoosakesed võivad olla ohtlikud, sest nendel osakatel on omadused, mille eest olemasolevad kaitsemehhanismid, nagu immuunsüsteem, ei kaitse. Samuti on võimalik, et nanotehnoloogia toodetel on keskkonnamõjud, mis on seotud nanoosakeste dispersiooni ja püsimisega keskkonnas (Purohit et al., 2017).

Kui hõbeda nanoosakesed sisenevad looduslikku keskkonda võib nendega toimuda mitmeid transformatsioone nagu agregatsioon, oksüdatsioon, lahustumine, sulfideerimine ja kloorimine (joonis 2.2). Nanoosakeste saatus looduskeskkonnas

sõltub mitmetest keskkonnaparameetritest nagu orgaanilise aine sisaldus, pH, ioontugevus jne. Samuti sõltub see ka nende omadustest nagu kontsentratsioon ja suurus. (Tortella et al., 2020). Metallipõhiste nanoosakeste reguleerimata sadestumine maismaaökosüsteemides, eriti põllumajandussüsteemides, ohustab keskkonna jätkusuutlikkust ja kasulike mikroobipopulatsioonide, näiteks mullabakterite ja seente mitmekesisust, kusjuures selle põhjuseks on näiteks reovee-setete kasutamine põllumajanduses muldade viljakuse suurendamiseks (Ameen et al., 2021). Pidev sadestumine, madal biolagunevus ja metalli nanoosakeste pikem püsivus pinnases mõjutavad ebasoodsalt mulla kasulike bakterite ja seente populatsiooni (Ameen et al., 2021). Nanoosakeste esinemine veekeskkonnas mõjutab veelustikku, eriti taimi, baktereid ja vees elavaid mikroobe, vees elavaid selgrootuid ja selgroogseid ning lõpuks ka inimeste tervist ning lisaks võivad nanoosakeste toksilisust esile kutsuda või leevendada ka veomadused, nagu lahustunud orgaanilise aine olemasolu ja keemilised stressorid (Turan et al., 2019).



Joonis 2.2 Võimalused, mis võib tööstuslikult konstrueeritud hõbeda nanoosakestega (AgNP) juhtuda looduskeskkonnas ja kuidas nad võivad sinna jõuda (Tortella et al., 2020)

2.2. Hallituseened

Hallituseened on suur ja mitmekesine seente rühm (Auyeung et al., 2017). Nad on niitjad seened, mis on võimelised kasvama peaaegu kõigil looduslikel ja sünteetilistel materjalidel, näiteks nagu inimeste ehitatud pindadel, toidus ja mädanenud orgaanilises aines (Auyeung et al., 2017; Khan & Karuppaiyil, 2012). Hallituseente kasvu iseloomustab ebameeldiv lõhn suletud või ventileerimata kohtades ja ebaesteetiline välimus (Auyeung et al., 2017).

Bakteriaalsed või mikroobsed infektsioonid põhjustavad tõsiseid haigusi ja on seega endiselt suur rahvatervise probleem (Paul & Neogi, 2019). Need kujutavad endast terviseprobleemi, kuna nad suudavad toota ja vabastada mükotoksiine, mis on loomadele ja inimestele mürgiseid ühendeid. Muuhulgas võivad hallituseened tekitada näiteks allergiaid (Auyeung et al., 2017), köha või astmat (Moon & Augenbroe, 2005). Kõige tõhusam viis hallituseente kasvu piiramiseks hoonetes on seente teket ja kasvu soodustavate tingimuste kõrvaldamine (Khan & Karuppaiyil, 2012). Seoses avalikkuse suurenenud huviga terviseprobleemide vastu on hallituse levimine hoonetes ehitustööstuse suureks probleemiks (Moon & Augenbroe, 2005). Teisalt aga on hallituseened olulised mikroorganismid, mis täidavad ökoloogilisi funktsioone orgaanilise aine lagundamise läbi (Auyeung et al., 2017; Khan & Karuppaiyil, 2012).

Siseõhu kvaliteet viitab õhukvaliteedile ehitatud keskkonnas ja selle ümbruses, eriti kui see on seotud elanike tervise ja mugavusega (Stanley et al., 2019). Enamik inimesi veedab 80–95% oma ajast siseruumides, hingates keskmiselt 10–14 m³ õhku päevas (Andualem et al., 2019). Regulaarne välisõhu sissevool siseruumidesse on peamine sisekeskkonna bioloogilise saastatuse allikas (Stanley et al., 2019). Välisõhk sisaldab palju erinevaid hallituseente eoseid ning nende kontsentratsioon õhus sõltub peamiselt taimestikust, ilmast, aastaajast, kellaajast, liiklusest, jäätmekäitluskohtadest, farmidest ning ilmastiku- ja kliimatingimustest (Haas et al., 2014).

Hallitusseened arenevad sisekeskkonnas ja ohustavad ehitusmaterjalide stabiilsust ja elanike tervist (Martin-Sanchez et al., 2022). Õhuvoolud kannavad hallitusseente eoseid ning jõudes sobivale substraadile võivad hakata nad kasvama kui ka teised kasvuks vajalikud tingimused, nagu piisav niiskus, on olemas (Moon & Augenbroe, 2005). Liigniiskuse esinemine siseruumides on seotud hallituste ja bakterite kasvuga (Stanley et al., 2019). Ehitusmaterjalide suurenenud niiskus toob kaasa seente kasvu nii nähtavates kui ka varjatud struktuurides (Martin-Sanchez et al., 2022). Niiskuse ja hallituse esinemine kodudes suurendab näiteks astma ja allergiate riski (WHO, 2018). Elujõuliste hallitusseente kontsentratsioon õhu sisekeskkonnas on tavaliselt paar kuni mitu tuhat kolooniat moodustavat ühikut (KMÜ) kuupmeetri õhu kohta (World Health Organization Europe, 2009).

2.3. Põlevkivi

Põlevkivi on tahke põlev maavara ehk energiakandja ja see koosneb mittepõlevast mineraalosast ja orgaanilisest ainest (Purohit et al., 2017). Selle põlevad komponendid on süsinik ja vesinik, lisaks leiduvad orgaanilises aines veel ka hapnik, lämmastik, fosfor, kloor ja paljud teised elemendid (Bachmann et al., 2014). Põlevkivi on maailmas laialt levinud, teadaolevaid leiukohti on üle 600 (Bachmann et al., 2014; Talve & Põld, 2022). Maailma suurim põlevkivimaardla asub Ameerika Ühendriikides, sellele järgnevad varud Hiinas ja Venemaal (Bachmann et al., 2014). Tänapäeval kaevandatakse märkimisväärses koguses põlevkivi Eestis, Venemaal, Hiinas, aga ka Brasiilias, Austraalias ja Saksamaal (Talve & Põld, 2022).

Enamasti kasutatakse põlevkivi õli tootmiseks (Bachmann et al., 2014), vaid Hiinas kasutatakse sarnaselt Eestiga põlevkivi nii õli kui ka energia tootmiseks (Talve & Põld, 2022). Põlevkivid on üle maailma tekkinud erinevatel ajaperioodidel, näiteks Ameerika Ühendriikides leiduv Utah Mahogany põlevkivi tekkis 50–60 miljonit aastat tagasi (Bachmann et al., 2014). Maailma erinevates paikades tekkinud põlevkivil on erinev koostis ning seetõttu on ka nende keemilised omadused ja niiskustase erinevad, millest sõltub suuresti ka töödeldavus ja kasutus tootmises (Geologyscience, 2018).

Eestis leiduv ja kasutusel olev põlevkivi ehk kukersiit on settelkivim (Tallinna Tehnikaülikool & Tartu Ülikool, 2019), mis tekkis 400 kuni 450 miljonit aastat tagasi ordoviitsiumi ajastul merelistes tingimustes (Bachmann et al., 2014; Velling & Vaasmaa, 2012). Kukersiit koosneb orgaanilisest ainest kerogeenist (20–50%), lubiainest (25-50%) ja savikast lisandist (20-40%) (Suuroja, 2004). Kukersiidi orgaaniline osa moodustus valdavalt tsüanobakteri *Gloeocapsomorpha prisca* jäänustest. Peamine osa kukersiidist asub Eestis Ülem-Ordoviitsiumi Kukruse lademes, kus kukersiidikihtide vahel asuvad õhukesed lubjakivi kihid (Bachmann et al., 2014; Tallinna Tehnikaülikool & Tartu Ülikool, 2019). Kukruse lademe paksus on 18-22 m, milles leidub lubjakivi vahel 18-20 kukersiidikihti (Tallinna Tehnikaülikool & Tartu Ülikool, 2019). Kukersiidi niiskus on keskmiselt 10% ja seetõttu tuleb seda enne põletamist kuivatada, kuid näiteks Utah Mahogany põlevkivi niiskus on 1-2% ja kuivatamine on seega ebavajalik (Bachmann et al., 2014). Kohalikku kvaliteetset põlevkivi (joonis 2.3.) kasutati Eestis juba enne Teist maailmasõda väikeses koguses põlevkiviõli tootmiseks, kuid pärast sõda, mil Nõukogude Liit Eesti okupeeris, rajati Kirde-Eestisse põlevkivi suurtööstus, sh põlevkivi kaevandamine, soojus- ja elektrienergia tootmine ja hiljem ka põlevkiviõli tootmine (Talve & Põld, 2022).



Joonis 2.3 Eestis laialdaselt kasutusel olev põlevkivi kukersiit (Tallinna Tehnikaülikool, 2023)

Põlevkivi on Eesti tähtsaim maavara – Eesti on ainus riik maailmas, kus kasutatakse põlevkivi peamise energiaallikana (Bachmann et al., 2014; Suuroja, 2004) ja see on võimaldanud Eestile suurema energiasõltumatus (Baird et al., 2021). Võib öelda, et Eesti põlevkivitööstus on maailmas kõige arenenum, seda eriti energeetika osas (Talve & Põld, 2022). Eestis leidub põlevkivi Kirde-Eestis asuvas Eesti leiukohas ja Tapa leiukohas, kuid kuna Tapal on tootmisväärsed põlevkivi vaid kuni 2,3m ja see asub kuni 170m sügavusel, siis hetkel toimub kaevandamine vaid Eesti leiukohas. Kaks leiukohta moodustavad Venemaal asuvate Leningradi maardla ja Weirmani ning Tšudovo-Babino leiukohtadega ühe suure Balti põlevkivimaardla (Bachmann et al., 2014).

Eestis leidub lisaks kukersiidile veel ka teine põlevkivi – graptoliitargilliit ehk diktüoneemakilt, mis tekkis kukersiidiga samal ajal ja asub Türisalu kihistus üsna maapinna lähedal, kuid kuna kivim on kukersiidist madalama kütteväärtusega ning sisaldab mitmeid haruldasi muldmetalle ja radioaktiivseid elemente, siis seetõttu on selle põletamine keskkonnaohtlikum ning pole ka kütusena kasutusel (Bachmann et al., 2014). Graptoliitargilliit võib sisaldada kõrges kontsentratsioonis raskemetalle, mis on põlevkivis seotud orgaanika ja sulfiidsete mineraalidega, mis võivad keskkonnale porsumise käigus kahjulikuks muutuda (Hade et al., 2017). Õhuhapniku ja veega kokku puutudes algab orgaanika ja püriidi oksüdeerumisprotsess, millest tulenevalt moodustuvad uued mineraalid nagu kips või jarosiit ja keskkonda kandub happeline vesi, mis kannab edasi vabanenud raskemetalle (Hade et al., 2017).

Orgaanika kogusest põlevkivis sõltub põlevkivi kui kütteaine kvaliteet (Bachmann et al., 2014). Sõltuvalt kerogeeni sisaldusest on kaevandatava kukersiidi kütteväärtus 7,0 – 10,9 MJ/kg (Tallinna Tehnikaülikool & Tartu Ülikool, 2019). Põlevkivi kütteväärtus jääb kivisöele kaks kuni kolm korda alla ja naftale kuni neli korda alla (Suuroja, 2004). Madal kütteväärtus ja suur mineraalosa sisaldus tähendab, et põlevkivil puudub energeetilise maavara ekspordipotentsiaal, kuid samas on kõrge ekspordipotentsiaal põlevkiviõlil, elektrienergial ja keemiatoodetel (Tallinna Tehnikaülikool & Tartu Ülikool, 2019).

2.4. Põlevkivituhk

Põlevkivi töötlemise ja rikastamisega tekivad lubjakivi täitematerjal ning õli- ja elektritootmisega tuhk (Eesti Energia et al., 2018). Kukersiidi kõrge mineraalisisalduse tõttu tekib, sõltuvalt kasutatud tehnoloogiast, 43-57% tahkeid jäätmeid ehk poolkoksi ja/või tuhka (Tallinna Tehnikaülikool & Tartu Ülikool, 2019). Eestis põlevkivitööstusega kaasnevate tahkete kõrvalsaaduste kogused on küll viimastel aastatel langema hakanud, kuid siiski väga kõrged (tabel 2.1) (Taltech Virumaa kolledži põlevkivi kompetentsikeskus, 2021).

Tabel 2.1 Põlevkivitööstusega kaasnevad tahked kõrvalsaadused aastatel 2015–2021 (Taltech Virumaa kolledži põlevkivi kompetentsikeskus, 2021)

Kõrvalsaadused	Aasta 2015	Aasta 2016	Aasta 2017	Aasta 2018	Aasta 2019	Aasta 2020	Aasta 2021
Põlevkivituhk (tuh. t)	7296	8973	9323	9387	6499	5118	5647
Aheraine (tuh. t)	11973	10312	6261	6461	5970	3953	4401

Põlevkivienergeetikas tekkiv tuhk on võrreldes kivisöe- ja ligniidielektri jaamadega ühe toodetud energiaühiku kohta ligikaudu 1,5-5 korda kõrgem (Tallinna Tehnikaülikool & Tartu Ülikool, 2019). Siiski on tuha taaskasutus veel äärmiselt piiratud ning 2018 ja 2019 aastal leidis taaskasutust ligikaudu vaid 2,4% tekkivast tuhast (Keskkonnaministeerium, 2021). Enamik tuhast ladestatakse elektri jaamade läheduses paiknevatele tuhaladestusaladele ehk tuhaväljadele ning igal aastal ladestatakse Eestis ühe inimese kohta ligi 5 tonni tuhajäätmeid aastas (Tallinna Tehnikaülikool & Tartu Ülikool, 2019). Tuha ladestamine aga avaldab negatiivset mõju keskkonnale, sest tuha ladestamisel toimub õhu, pinnase ja vee saastumine (Tallinna Tehnikaülikool, 2021).

Energiatootmise kõrvalsaaduste võimalikeks edasiarendusteks on põlevkivituha kasutamine põllumajanduses, ehitusmaterjali- või polümeeritööstuses ning ka tsemenditootmisel ja fenoolse vee puhastamisel (Eesti Energia et al., 2018). Suuremahuliselt on põlevkivituha taaskasutusviisidest siiani rakendunud põlevkivituhk-tsemendi tootmine, põldude lupjamine, vähemal määral ehitusplokkide tootmine ja teedehitus ning lisaks on katsetatud ka kasutatud kaevanduse täitmist põlevkivituhaga (Tallinna Tehnikaülikool & Tartu Ülikool, 2019). Põlevkivituha taaskasutuse madalal osakaalul on mitu põhjust: põlevkivituhast väikeplokkide tootmine on tänaseks Eestis hääbunud, tuhk sobib hästi põldude lupjamiseks, kuid sellega kaasnevad kõrged transpordi- ja laotuskulud. Lisaks on kasutatud tuhka edukalt pinnase stabilisaatorina teede ehituses, kuid ka selles valdkonnas pole märgata tuha tarbimise tõusu (Keskkonnaministeerium, 2021).

Alles hiljaaegu oli Eestis põlevkivituhk liigitatud ohtlikuks jäätmeks, kuid KeM-i tellitud ning Tallinna Tehnikaülikooli ja Tartu Ülikooli poolt läbi-viitud uuringus „Põlevkivituhkade ohtlikkuse uuring“ (2019) tehti ettepanek põlevkivituhk liigitada sarnaselt teiste tuhkadega tavajäätmeks. Uuringust lähtuvalt keskkonnaministri 14.12.2015. a määrus nr 70 „Jäätmete liigitamise kord ja jäätmenimistu“ (2020) muudeti ja alates 01.01.2020 on põlevkivituhad liigitatud tavajäätmeteks.

Aastatega on vähenenud ka põlevkivituha kasutus tsemenditööstuses, sest elektritootmiseks hästi sobival põlevkivi tsirkuleerivas keevkihikatlas põletamisel tekkivat tuhka ei ole peetud omadustelt sobivaks tsemenditootmises. Selle asemel on tsemenditööstuses eelistatud tolm-põletuskatelde tuhka, kuid elektritööstuses on toimunud keevkihtplokkide suurem kasutuselevõtt ja vanade tolm-põletusplokkide järkjärguline sulgemine (Keskkonnaministeerium, 2021). Samas viidi Tallinna Tehnikaülikooli (2021) poolt läbi uuringud keevkihtkatlas põletamisel tekkiva tuha kasutusvõimaluste kohta tsemenditööstuses ning jõuti järeldusele, et keevkihikatla põlevkivituhaga betoonisegu tootmine on võimalik. See võimaldab vältida jäätmete teket ehk tuha ladestamist ja sellega seotud keskkonnamõjusid ning toetada maapõueressursi säilitamist (tsemendi/betooni vajaliku toorme mitte välja kaevandamist). (Tallinna Tehnikaülikool, 2021).

2.4.1. Põlevkivi antimikroobsed ja hallitusvastased omadused

Antimikroobsed ained on ühendid, mis madalal kontsentratsioonil pärsivad mikroorganismide kasvu (Pelgrift & Friedman, 2013). Oumam et al. (2002) viisid esimestena läbi uuringu, milles hinnati Maroko põlevkiviekstraktide bioloogilist aktiivsust. Katses valmistati Maroko Tarfaya formatsiooni põlevkivist Soxhlet ekstraktori abil põlevkivi ekstrakt, mis kontsentreeriti alandatud rõhul aurustamisega. Seejärel ekstraheeriti ekstrakti heksaani, eetri, diklorometaani, etüülatsetaadi ja metanooliga. Sellele järgnes iga ekstrakti testimine antibakteriaalse aktiivsuse, tsütotoksilisuse ja DNA-ga koostoime suhtes (Oumam et al., 2002).

Ekstrakte testiti viie maismaabakteri vastu: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ja *Agrobacterium tumefaciens* (Oumam et al., 2002). Antibakteriaalsed katsed viidi läbi standardse ketta difusioonanalüüsi (ing. k. *Disk diffusion assay*) abil. Ekstraktid kanti 6 mm steriilsetele ketastele 10 µl lahusti alikvootidena, lasti toatemperatuuril kuivada, asetati agari plaatidele ja inkubeeriti 37 °C juures 24 tundi. Kasvu inhibeerimise tsoone, kui neid oli, mõõdeti pärast inkubeerimist. Iga ekstrakti katsetati kahel paralleelil. Põlevkiviekstraktide antibakteriaalset aktiivsust mõõdeti inhibeerimistsooni raadiusena ümber ketta. Kõik põlevkiviekstraktid peale eetriekstrakti näitasid antibakteriaalsust. *Agrobacterium tumefaciens* oli ekstraktide suhtes tundlikum kui teised bakterid. Ekstraktid ei inhibeerinud selektiivselt ühte mikroorganismide rühma, vaid põhjustasid nii grampositiivsete kui ka gramnegatiivsete bakterite pärssimist.

Yuru et al. (2018) patenteerisid hübriidse antibakteriaalse aine valmistamise meetodi põlevkivi poolkoksi abil. Meetod hõlmab endas poolkoksi segu valmistamise etappe mehaanilise segamise teel massiprotsendiga 10-20%; pärast filtreerimist ja liiva eemaldamist lisatakse tsingisoola 20-35% poolkoksi massiprotsendiga segusse, sellele järgneb 25-30 min segamist; peale mida lisatakse leelisevedelikku, et reguleerida süsteemi pH väärtus 7,5-8-ni; seejärel segatakse konstantselt 50-60 min ja viiakse läbi tahke-vedeliku eraldamine; peale seda toimub saadud filtrikoogi disperseerimine

vees vastavalt tahke-vedeliku massisuhtele 1:8-1:12; taaskord segatakse 25-30 min ja seejärel viiakse uuesti läbi tahke-vedeliku eraldamine; millele järgneb saadud filtrikoogi töötlemine topeltrulliga, seejärel filtrikoogi asetamine dünaamilisse kaltsineerimisahju ja filtrikoogi kaltsineerimine 2-4 tundi temperatuuril 400-800°C; pärast kaltsineerimist segu purustatakse ja sõelutakse ning saadakse hübriidne antibakteriaalne aine. Toodet saab kasutada antibakteriaalse keraamika, värvi, plasti, kattekihtide, pinnatöötuse jms valdkondades (Yuru et al., 2018).

Põlevkiviõli kasutatakse ka kosmeetikatööstuses. Saksa bränd Aknederm (2023) kasutab oma toodetes Alpidest ja Juura mägedest pärit põlevkivi. Kuumutades seda õhu puudumisel temperatuuril kuni 480 °C, eraldatakse kivimist väävlirikas põlevkiviõli. Seda protsessi nimetatakse kuivdestilleerimiseks. Saadud õli puhastatakse seejärel, enne kui see lisatakse Aknedermi toodete koostisosaks vees lahustuval kujul. Ettevõtte on põlevkiviõli baasil valmistatud nahahooldustooteid müünud alates 1929. aastast. Põlevkiviõli lisatakse toodetesse nende antibakteriaalse ja põletikuvastase mõju tõttu.

Põlevkivi hallituseente vastast toimet on uurinud Listemann et al. (1993), kes tõestasid sulfoneeritud põlevkiviõlide seenevastase toime. Bungler (2007) uuringus töötati välja protsessiskeem, tõstmaks põlevkiviarenduse ökonoomikat, mille hulgas toodi välja, et põlevkiviõlist eraldatud alküülresortsinoolidel põhinevad biotsiidid sobivad biolagunemise ja hallituse inhibeerimiseks ehitusmaterjalides, nagu kipsplaadid, värvid ja lakid (Bunger, 2007).

3. Materjalid ja metoodika

Töö eesmärgiks oli saada hallituskindlad pinnad, kasutades selleks hõbeda nanoosakesi, põlevkivi ja põlevkivituhka. Töö eesmärgi saavutamiseks viidi läbi katsed Tallinna Tehnikaülikooli Tartu kolledži laboris vahemikus 14.11.2022 – 12.05.2023. Eesmärgi saavutamiseks valmistati söötmeplaadid, mida töödeldi hõbeda nanoosakestega, põlevkivipulbri (P) või põlevkivituha (PT) lahusega või kasutati P või PT söötmekomponendina.

3.1. Materjalid ja seadmed

Põlevkivi ja põlevkivituhk saadi Eesti põlevkivitööstuse ettevõttest Viru Keemia Grupp AS. Ettevõtte peamiseks tegevusaladeks on põlevkivi kaevandamine, põlevkiviõli tootmine, soojus- ja elektrienergia koostootmine ja peenkeemia toodete valmistamine ning turustamine (Viru Keemia Grupp, 2023). Põlevkivituhk on pärit elektrifiltrist. Hõbeda nanoosakesed telliti Türgist ettevõttest Nanografi Nano Tehnoloji. Kasutatud nanoosakeste suurus oli 28–48 nm ja puhtusaste 99,995%.

Söötmeplaatide valmistamisel kasutati söötmeks linnaseekstrakti ja agarit. Kaalumisel kasutati analüütilist kaalu Precisa XT 120A (täpsusaste $\pm 0,0001$ g). Söötmeplaatidena kasutati 90 mm läbimõõduga Petri tasse (KRK OÜ, Tartu, Eesti). Söötmeplaadid valati tõmbkapi all (vastab ISO 13150 standardile, tootja: Retent AS, Nõo, Eesti). Lahusteks vajalik destilleeritud vesi valmistati seadmega RO01033 (ROWA, Heimsheim, Saksamaa). Söötmeid autoklaaviti autoklaaviga HMT 260 MB (HMC Euroopa, Tüßling, Saksamaa). Õhuproovid koguti 2 õhuanalüsaatoriga: mudel - Microbio MB2 (Cantium Scientific, Dartford, Ühendkuningriik). Katsekehi inkubeeriti kliimakambris RUMED 4101 (RH 20-95%, täpsusaste $\pm 2-3\%$; temperatuur 0-60 °C, täpsusaste ± 0.5 °C) 22 °C juures.

Sõotmed valmistati ja tulemused loeti vastavalt ISO 16000-18 standardile (International Organisation for Standardization, 2008) ja õhuproovid võeti vastavalt ISO 16000-17 standardile (International Organisation for Standardization, 2011).

3.2. Metoodika

Söötme valmistamiseks kasutati linnaseekstrakti ja agarit. Kaalutud ainetele lisati destilleeritud vett. Vastavalt 1 liitrile destilleeritud veele lisati 30 grammi linnaseekstrakti ja 20 grammi agarit. Söödet autoklaaviti 121 °C juures 15 minutit. Iga 90 mm läbimõõduga Petri tass märgistati, sööde jahutati 49 °C ning valati söötmeplaatidele. Ühele plaadile valati 20 ml söödet. Põlevkivi ja nanoosakesed viidi spaatli abil kaalul olevale kaalumisalusele, mille abil kanti need edasi kas lahusesse või otse söötmesse.

Hõbeda nanoosakeste lahuste kontsentratsioonid valiti Agnihotri et al. metoodikast (Agnihotri, et al., 2014). Kuna põlevkiviga ja -tuhaga pole varasemalt sarnaseid katseid tehtud, siis esimeses katses olid põlevkivi ja põlevkivituha kaalulised kogused samad, mis hõbeda nanoosakestel. Põlevkivi kogust suurendati erinevates katsetes nanoosakeste ja põlevkivi ja -tuha eripinna erisuse tõttu. Katsete jätkudes suurendati kontsentratsioone mitmekordselt. Lahuseid valmistati kontsentratsioonides – 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml, 500 µg/ml (Agnihotri et al., 2014) ning hiljem kaaluti igale söötmeplaadile 1 ml lahust (Vettik, 2014). Lahused põlevkiviga, põlevkivituha ja hõbeda nanoosakestega valmistati klaasist kolbides, kuhu mõõdeti 50 ml destilleeritud vett ja lisati vastavalt kontsentratsioonile ained: 10 µg/ml kontsentratsiooniks lisati 50 ml veele 0,05 g ainet, 20 µg/ml kontsentratsiooniks lisati 50 ml veele 0,1 g ainet ja 30 µg/ml kontsentratsiooniks lisati 50 ml veele 0,15 g ainet. Kui lahus oli kolvis valmis, siis enne söötmeplaatidele 1 ml lahuse lisamist kolbe loksutati, et tagada aine või osakeste ühtlane jaotumine lahuses.

Pealekülviks lisati tahenenud söötmele 1ml erinevates kontsentratsioonides lahuseid, mis hiljem spaatli abil üle söötme pinna laiali kanti. Lahuse sissekülvil lisati Petri tassile 1ml lahust ning valati peale 20ml söödet.

Puhta ainega valmistatud söötmeplaatide jaoks ei valmistatud lahust, mida söötmele pipetiga lisada vaid enne söötme valamist Petri tassi lisati vastavalt õige kogus puhast põlevkivi või -tuhka. Tagamaks ühtlane põlevkivi kontsentratsiooni jaotus läbi katsete,

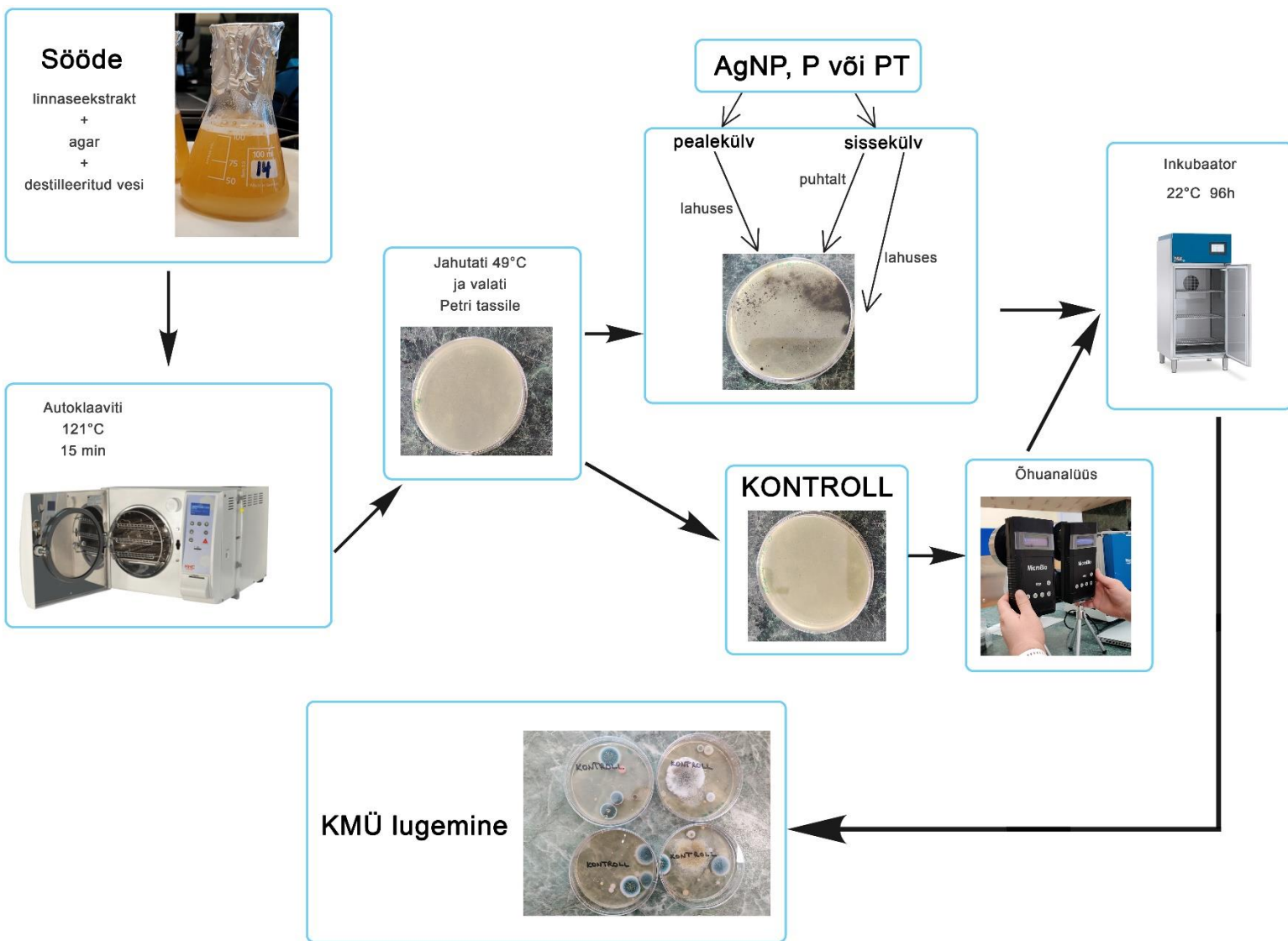
siis puhta pulbri või tuhaga plaatidele lisati söödet 20 ml ja vastavalt poole vähem ainet, kui lahusesse (tabel 3.1).

Tabel 3.1 Lahustesse või otse söötmele lisatud hõbeda nanoosakesed (AgNP), põlevkivi (P) või põlevkivituhk (PT) kogus vastavalt kontsentratsioonidele

	P/PT10	P/PT20	P/PT30	P/PT50	P/PT100	P/PT200	P/PT300	P/PT500	P/PT1000	P/PT3000	Ag10	Ag20	Ag30	Kontroll
Puhta aine kogus (g)	0,025	0,05	0,075	0,125	0,25	0,5	0,75	1,25	2,5	7,5	-	-	-	0
Kogus lahuses (g)	0,05	0,1	0,15	0,25	0,5	1	1,5	2,5	-	-	0,05	0,1	0,15	0

Lisaks valmistati igal katsel ka kontrollplaadid, kuhu lisati 20ml söödet ja millele võeti laboriruumis õhuproovid 1,2 m kõrguselt põrandapinnast. Proovivõtu aeg oli 1 minut ja läbitava õhu maht oli 100 l proovi kohta. Kasutati paralleelselt kahte õhuanalüsaatorit (Microbio MB2, Cantum Scientific, Suurbritannia). Õhuanalüsaatorid puhastati enne proovide võttu metanooliga.

Söötmeplaate inkubeeriti kliimakambris +22 °C juures 96 tundi. Tassid asetati inkubaatorisse kaas allapoole suunatult. Peale seda, kui tuvastati söötmeplaatidel silmnähtav mikroobide kasv loeti kokku söötmeplaatidel olnud kolooniat moodustavad ühikud (KMÜ). Kui plaadil oli üle 100 koloonia ja/või silmaga polnud võimalik eristada kolooniaid, siis loeti söötmeplaat ülekasvanuks ning tulemust ei arvestatud. Seejärel pildistati söötmeplaadid. Joonisel 3.1 on illustreeritud töös kasutatud meetoodika.



Joonis 3.1 Töös kasutatud meetodika struktuur (autori joonis)

3.3. Katsed

Katseks 1 valmistati kokku 80 söötmeplaati. Pealekülviks valmistati 11.11.2022 36 söötmeplaati, millel lasti toatemperatuuril jahtuda ja taheneda.

Katsega jätkati 14.11.2022. Vastavalt töödeldi varasemalt valmistatud söötmeplaatide põlevkivi, põlevkivituha või hõbeda nanoosakeste lahusega. Katsed teostati neljas korduses. Sissekülvi söötmeplaadid valmistati 14.11.2022. Lisaks valmistati kontrolliks ka 4 tühja söötmeplaati, millele põlevkivi ja nanoosakesi ei lisatud, kuid võeti õhuanalüüsid.

Esimeses katses valmistati ka söötmeplaadid kuhu lisati hõbeda nanoosakesi, et kontrollida hõbeda nanoosakeste antimikroobsust, mida võrrelda hiljem põlevkivi ja põlevkivituha tulemustega. Nanoosakesed lisati destilleeritud veele vastavalt kontsentratsioonidele – 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml (Agnihotri et al., 2014). 21.11.2022 loeti katsekehadel kolooniat moodustav ühik (KMÜ).

Katse 2 viidi läbi perioodil 21.11.2022 – 28.11.2022. Teiseks katseks valmistati kokku 52 söötmeplaati. Seekord katsetati vaid põlevkivi ja põlevkivituha sissekülvi meetodit. Pealekülvi meetodit rohkem ei kasutatud, sest suur osa katse 1 pealekülvi söötmeplaatide olid ülekasvanud, samas ükski sissekülvi plaat polnud, seega polnud pealekülvi efektiivne. Katsed teostati kahes korduses. Sissekülvil lisati põlevkivi või põlevkivituha söötmesse puhtalt või kasutati lisamiseks vesilahust. Seekord tõsteti söötmeplaatidesse lisatud põlevkivi ja -tuha kontsentratsioone, mida on võimalik näha tabelis 3.1. Puhast ainet lisati sööta kõigis kontsentratsioonides, kuid vesilahused valmistati alates 50 µg/ml kontsentratsioonidega, sest katses 1 väiksemaid kontsentratsioone vesilahuses katsetati. Katses 2 ei tuvastatud ühtegi ülekasvuga söötmeplaati. Algandmetega on võimalik tutvuda lisa 2.

Kui kõik söötmeplaadid olid jahtunud ja tahkunud jätkati õhuproovidega. Kasutatud õhuanalüsaatorid olid samad ning kuna korduskatseid oli seekord kaks, siis võeti korduskatsetest ühele proovile ühe analüsaatoriga ja teisele proovile teise analüsaatoriga õhuproovid.

Katse 3 toimus vahemikul 27.02.2023 – 06.03.2023. Kolmandaks katseks valmistati kokku 60 söötmeplaati. Katse 3 viidi läbi katse 2 korduskatsena, seega taaskord katsetati põlevkivi ja põlevkivituha sissekülvi vesilahuses või vastavalt puhta pulbri või tuhana. Katsed teostati kahes korduses. Lisaks valmistati kaks kontrollplaati, millele võeti õhuproovid. Algandmetega on võimalik tutvuda lisas 3. Kasutati kontsentratsioone, mida on võimalik näha tabelis 3.1.

Katse 3 kontrollid ei tulnud välja, sest vahetult enne õhuanalüüside võtmist puhastati analüsaatorid metanooliga, kuid eeldatavasti ei jõudnud metanool aurustuda enne õhuanalüüse. See tähendab, et kahe paralleeli kolooniat moodustava ühiku (KMÜ) tulemused olid mõlemad 0. Katse 3 tulemuste võrdluseks kasutati kontrollina katse 2 kontrollitulemust, mis oli 37 kolooniat moodustav ühikut (KMÜ).

Katse 4 toimus perioodil 17.03.2023 – 24.03.2023. Katse 4 viidi läbi katse 3 korduskatsena ehk katsetati põlevkivi ja -tuha sissekülvi vesilahuses või vastavalt puhta pulbri või tuhana, sest eelmises katses kontrollplaadid ei õnnestunud. Taaskord valmistati kokku 60 katsekeha, katsed teostati kahes korduses ning kontrollplaatidele võeti õhuproovid. Kontsentratsioonide kogustega võib tutvuda tabelis 3.1. Algandmetega on võimalik tutvuda lisas 4. Katse 4 kontrollplaadid õnnestusid.

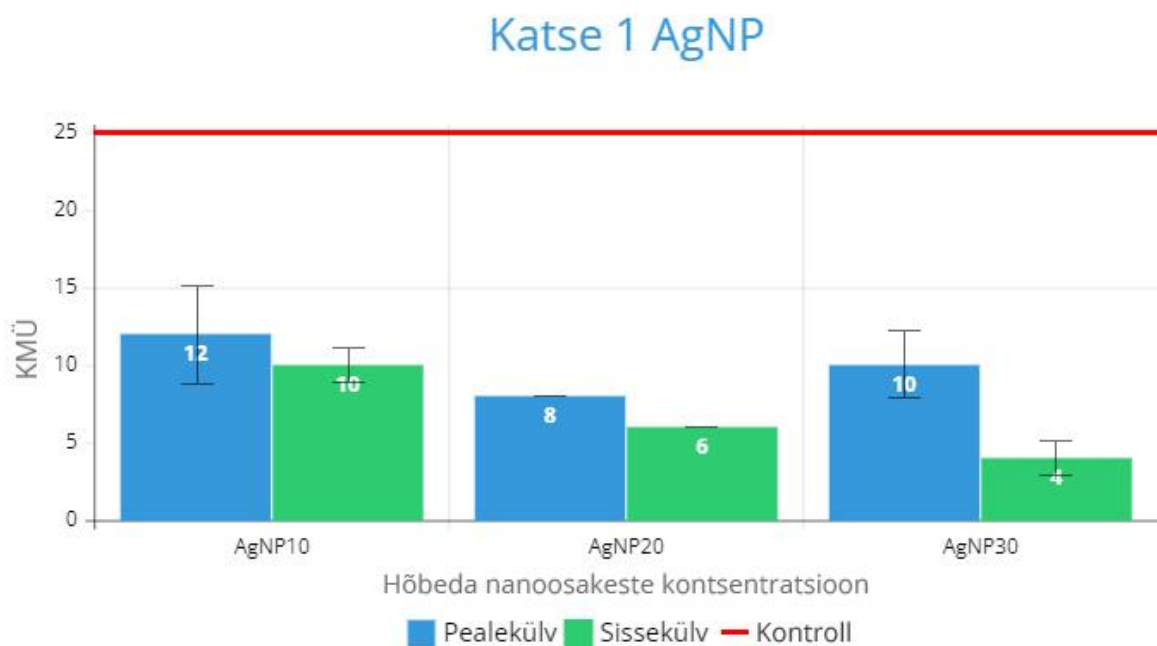
Katse 5 toimus perioodil 05.05.2023 – 12.05.2023. Põlevkivi ja -tuha kontsentratsioonid tõsteti 1000 ja 3000 kordseteks (tabel 3.1.). Meediumile lisati põlevkivi ja -tuhka vaid puhtalt sissekülvi meetodil. Kokku valmistati 10 katsekeha, mõlemad kontsentratsioonid nii põlevkivi kui ka tuhaga kahes korduses ning lisaks kontrollplaadid. Algandmetega on võimalik tutvuda lisas 5.

4. Tulemused

Töö tulemusi hinnati söötmeplaatidel kolooniat moodustavate ühiku (KMÜ) keskmestatud tulemuse järgi paralleelidel. Seda tehti vastavalt kontsentratsioonile, külvi viisile ja lahuse olemasolule. Katsete tulemuste lähteandmetega on võimalik tutvuda lisas 1, lisas 2, lisas 3, lisas 4 ja lisas 5.

4.1. Hõbeda nanoosakeste tulemused

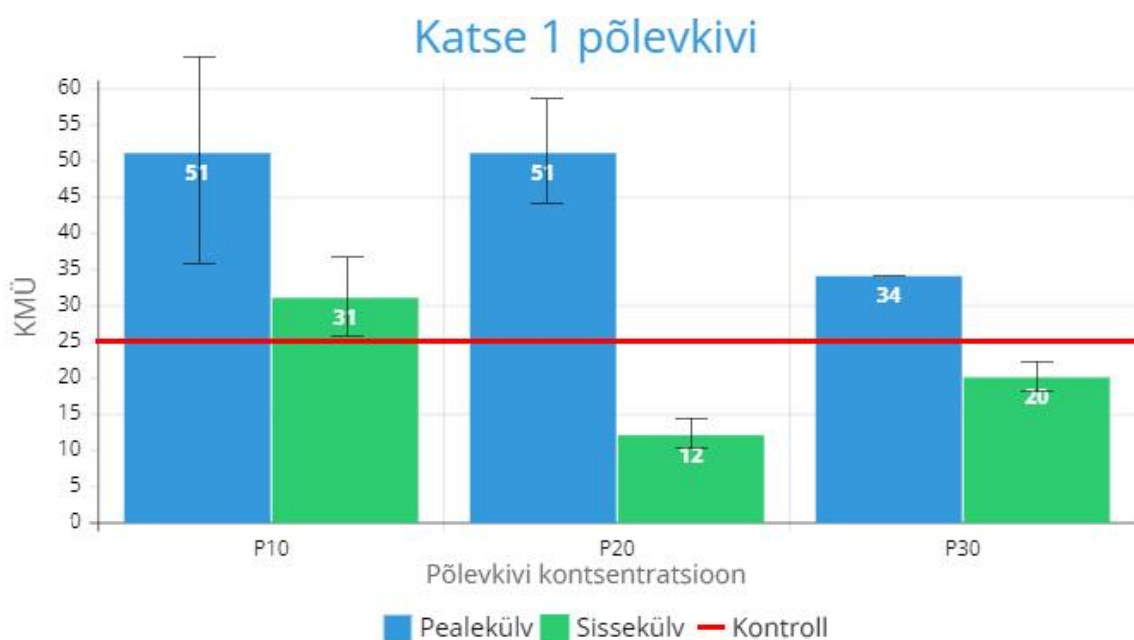
Katse 1 oli ainuke katse, milles valmistati katsekehad hõbeda nanoosakestega. Katse 1 kontrollide keskmine tulemus oli 25 KMÜ. Algandmetega on võimalik tutvuda lisas 1.



Joonis 4.1 Hõbeda nanoosakeste tulemused hallitussente inhibeerimisel: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, AgNP – hõbeda nanoosake ning sellele järgnev arv märgistab hõbeda nanoosakeste kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

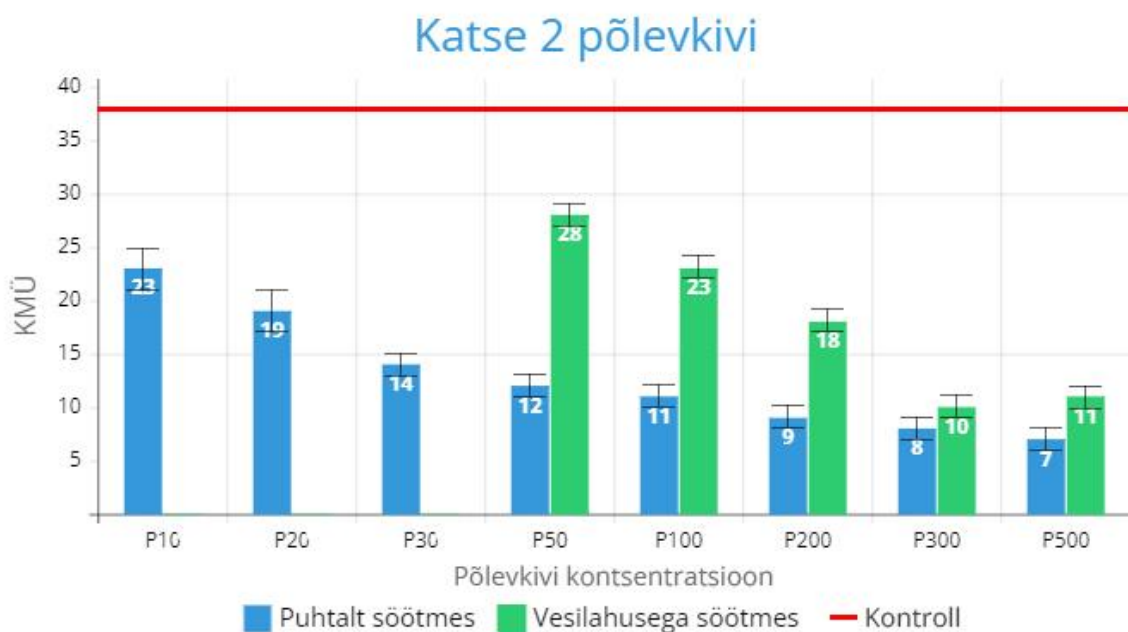
Hõbeda nanoosakeste (AgNP) antibakteriaalsuse kinnitamiseks lisati kolmes kontsentratsioonis (10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml) osakesi vesilahuses söötmeplaatidele (tabel 3.1). Kasutati nii pealekülvi kui ka sissekülvi. Pealekülvi meetodil 20 µg/ml kontsentratsioonil vesilahuses valminud ühel söötmeplaadil (AgNP20) tuvastati ülekasv. Hõbeda nanoosakeste kolooniat moodustav ühik (KMÜ) oli nii sissekülvi kui ka pealekülvi meetodit kasutades kontrollitulemustest madalam (Joonis 4.1). Sissekülvil tekkis trend - mida suurem oli nanoosakeste kontsentratsioon, seda väiksem oli kolooniat moodustav ühik (KMÜ). Seega saab läbi viidud katses järeldada, et hõbeda nanoosakeste (AgNP) toime on hallitusseente kasvu inhibeeriv ja sissekülvi meetod edukam, kui pealekülvi meetod.

4.2. Põlevkivi tulemused



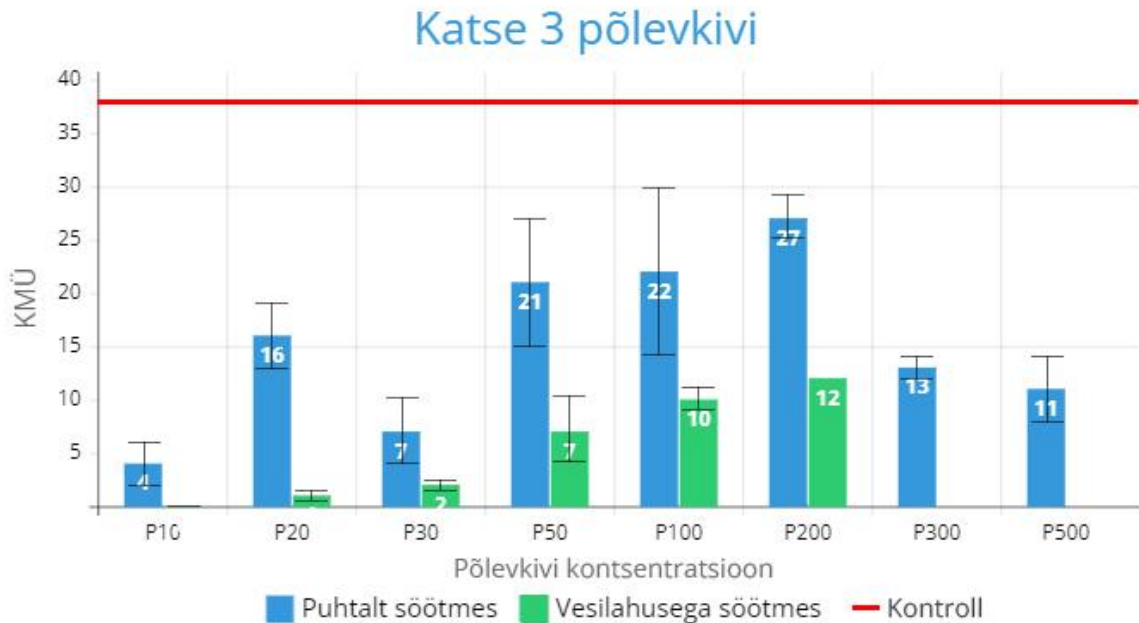
Joonis 4.2 Põlevkivi tulemused hallitusseente tõrjel katses 1: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, P – põlevkivi, sellele järgnev arv märgistab põlevkivi kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

Katses 1 lisati põlevkivi ja -tuhka söötmeplaatidele samades kontsentratsioonides, nagu hõbeda nanoosakesi (AgNP) - 10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml (tabel 3.1). Pealekülvi meetodil 30 µg/m kontsentratsiooniga söötmeplaatidest (P30) kolmel neljast paralleelist tuvastati ülekasv. Katse 1 kontrollplaatide kolooniat moodustav ühik (KMÜ) oli 25. Vaid sissekülvi meetodil valminud söötmeplaadid kontsentratsioonidega 20 µg/m, tulemusega 12 KMÜ, ja 30 µg/m, tulemusega 20, jäid allapoole kontrollipiiri (joonis 4.2). Pealekülvi meetodi tulemused ületasid kõik kontrollipiiri. Seega oli sissekülvi meetod edukam.



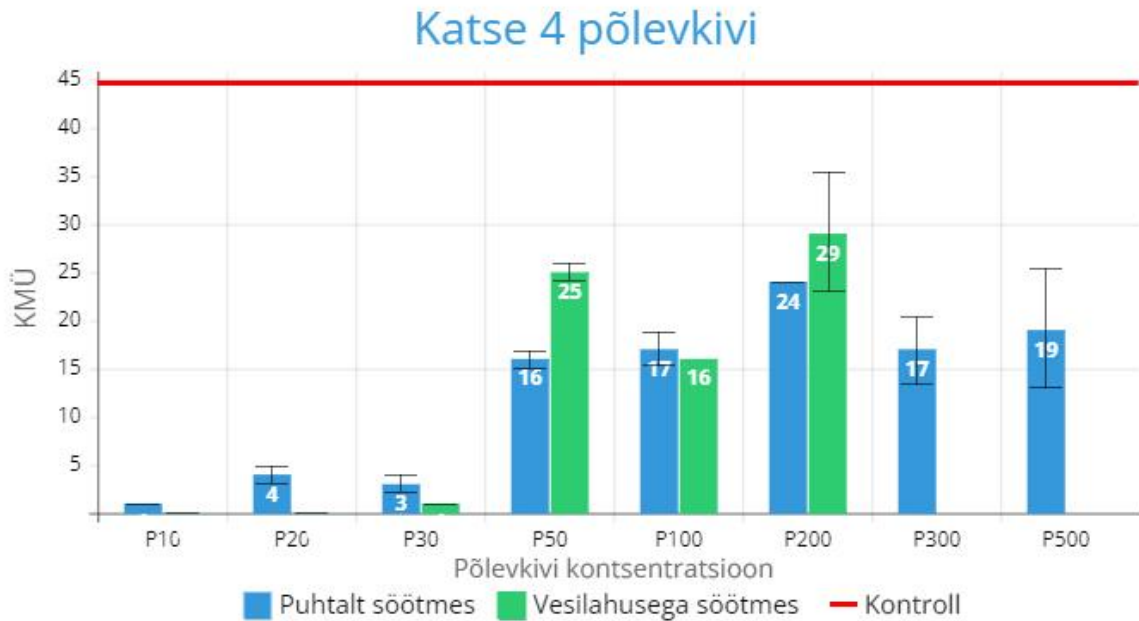
Joonis 4.3 Katse 2 põlevkivi tulemused hallitusseente tõrjel: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, P – põlevkivi ning sellele järgnev arv märgistab põlevkivi kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

Katse 2 kontrollide keskmine kolooniat moodustav ühik (KMÜ) oli 37. Puhast põlevkivi ja -tuhka söötmesse lisades on näha paremaid tulemusi kui vesilahusega. Katses 2 on näha, et kõik põlevkivi tulemused, seda nii puhtalt söötmes kui ka vesilahusega, on alla kontrolli (joonis 4.3). Puhtalt söötmesse lisatud põlevkivi andis paremad tulemused, kui vesilahusega, kuid mõlemal viisil on näha, et põlevkivi kontsentratsioonide suurenemisel väheneb kolooniat moodustav ühik (KMÜ). Katses 2 oli põlevkivil parem hallitusseente vastane inhibeerimisvõime, kui põlevkivituhal.



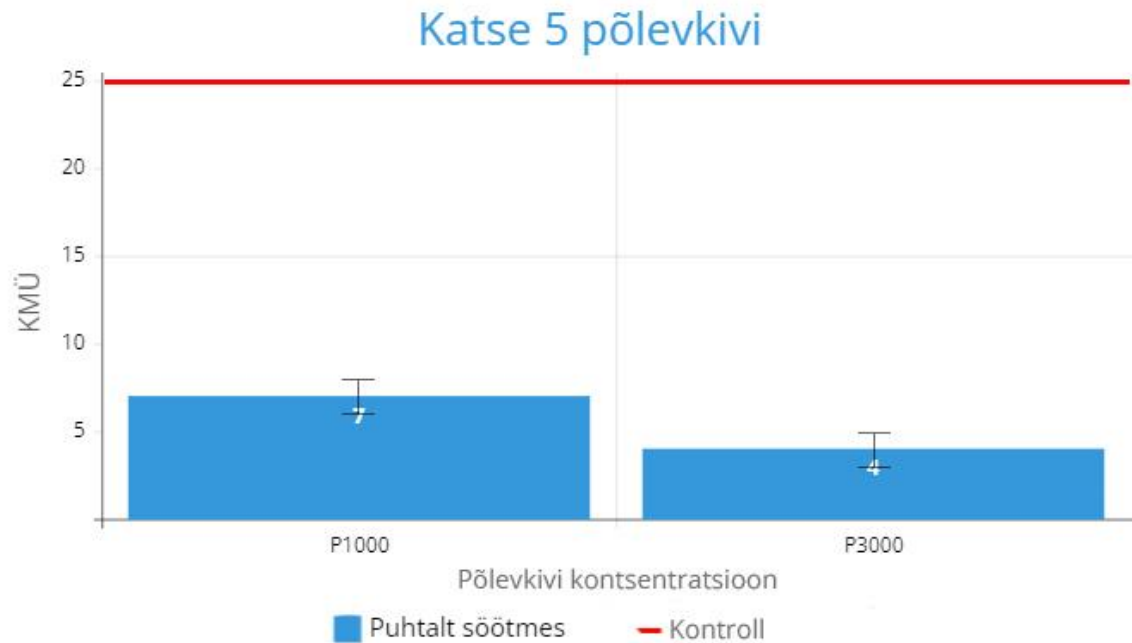
Joonis 4.4 Hallitusseente tõrje tulemused põlevkivi abil katses 3: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, P – põlevkivi, sellele järgnev arv märgistab põlevkivi kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

Katses 3 kontroll ei õnnestunud ja seega kasutati katse 2 kontrollitulemusi. Kõik katse 3 põlevkivi tulemused (Joonis 4.4) jäid alla katse 2 kontrollipiiri. Vesilahuse 300 µg/ml (P300) ja 500 µg/ml (P500) kontsentratsioonides olid kõik paralleelid ülekasvanud ja seega on need tulemused lugemata. Põlevkivi vesilahuses kontsentratsioonil 200 µg/ml (P200) üks kahest paralleelist oli ülekasvanud. Tulemustes trendi ei tekkinud.



Joonis 4.5 Hallituseente inhibeerimisvõime põlevkiviga katses 4: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, P – põlevkivi, sellele järgnev arv märgistab põlevkivi kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

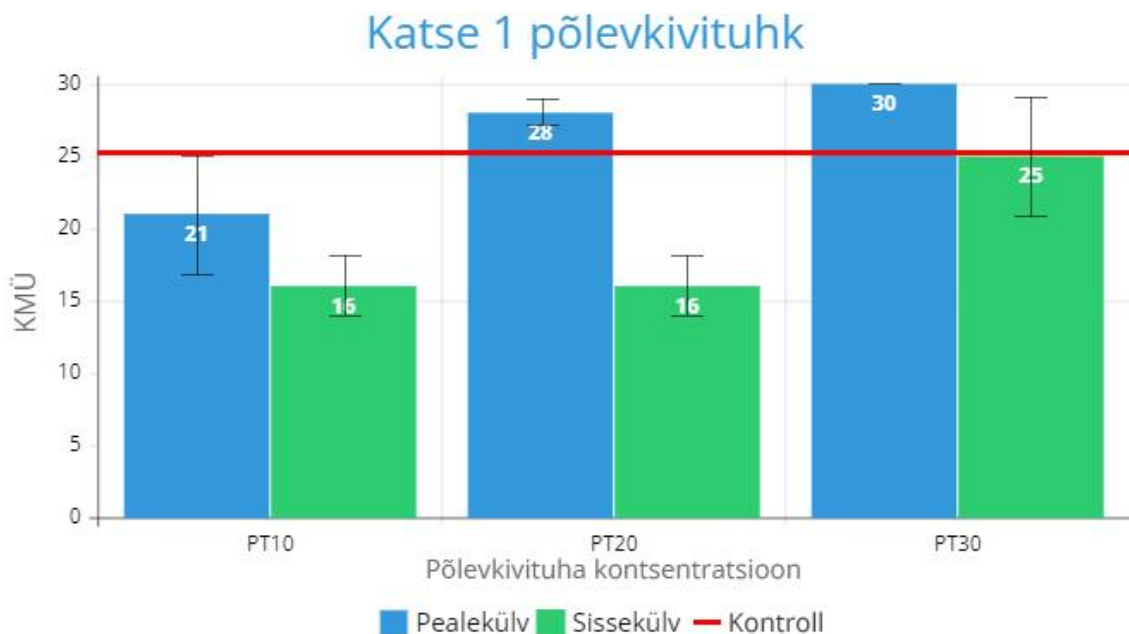
Katses 4 (joonis 4.5) jäid kõik põlevkivi tulemused alla kontrollpiiri, mis oli 45 kolooniat moodustavat ühikut (KMÜ). Vesilahuse 300 µg/ml (P300) ja 500 µg/ml (P500) kontsentratsioonides olid kõik paralleelid ülekasvanud ja seega on need tulemused lugemata. Lisaks põlevkivi vesilahuses kontsentratsioonil 100 µg/ml (P100) üks kahest paralleelist oli ülekasvanud. Tulemustes trendi ei tekkinud.



Joonis 4.6 Põlevkivi tulemused hallitusseente tõrjel katses 5: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, P – põlevkivi ning sellele järgnev arv märgistab põlevkivi kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

Katses 5 selgub, et puhta põlevkivi tulemused (Joonis 4.6) jäid alla kontrollpiiri, mis oli 25 kolooniat moodustav ühikut (KMÜ) ning tekkis ka trend kontsentratsioonide suurenedes.

4.3. Põlevkivituha tulemused



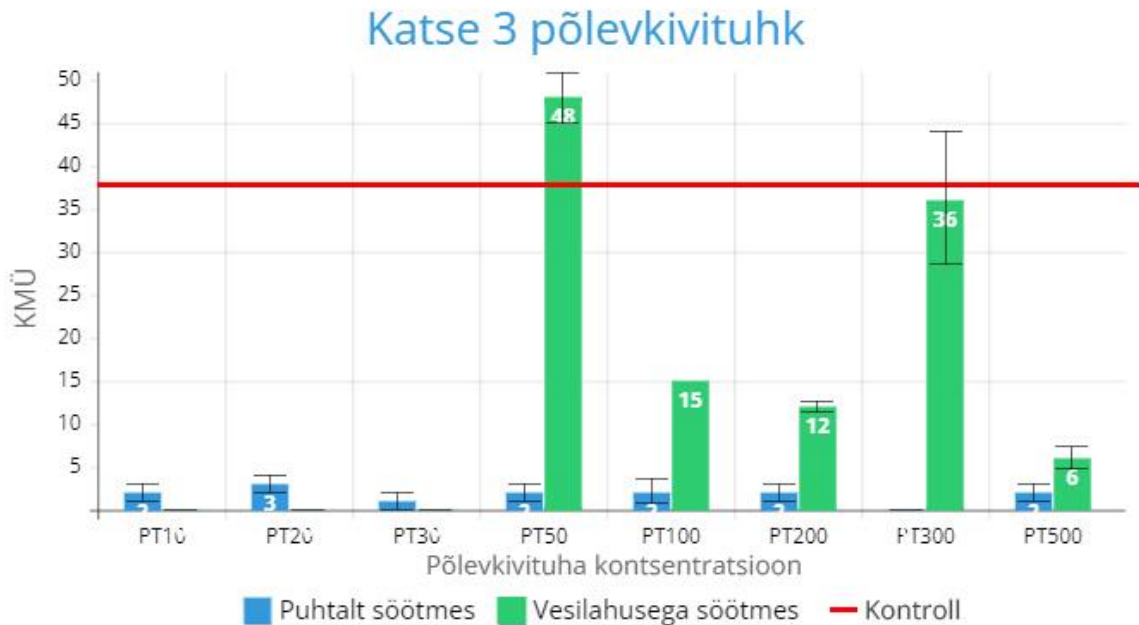
Joonis 4.7 Põlevkivituha hallitussente inhibeerimisvõime katses 1: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, PT – põlevkivituhk, sellele järgnev arv märgistab põlevkivituha kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

Põlevkivituha lisati katses 1 söötmeplaatidele kolmes kontsentratsioonis (10 µg/ml, 20 µg/ml, 30 µg/ml) (tabel 3.1). Pealekülvi meetodil 10 µg/ml kontsentratsiooniga söötmeplaatidest (PT10) ühel neljast paralleelst tuvastati ülekasv ning pealekülvi meetodil 30 µg/ml kontsentratsiooniga söötmeplaatidest (PT30) kolmel neljast tuvastati ülekasv. Kontrollplaatide kolooniat moodustav ühik (KMÜ) oli 25 ning pealekülvi meetodist 20 µg/ml ja 30 µg/ml kontsentratsiooniga plaadid ületasid kontrollipiiri ning neljal plaadil kaheksast tuvastati ülekasv. Sissekülvi meetodil ülekasvu ei tuvastatud ning kontsentratsioonidel 10 µg/ml (PT10) ja 20 µg/ml (PT20) jäid allapoole kontrollipiiri. Söötmeplaatide kolooniat moodustav ühik tuha kontsentratsiooniga 30 µg/ml (PT30) oli võrdne kontrolliga (joonis 4.7) Taaskord oli sissekülvi meetod pealekülvist edukam, kuid kuna tulemustes puudub trend saab järeldada, et põlevkivituha kontsentratsioonid peavad olema kõrgemad.



Joonis 4.8 Katse 2 tulemused põlevkivituhaga hallituseente tõrjel: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, PT – põlevkivituhk ning sellele järgnev arv märgistab põlevkivituha kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

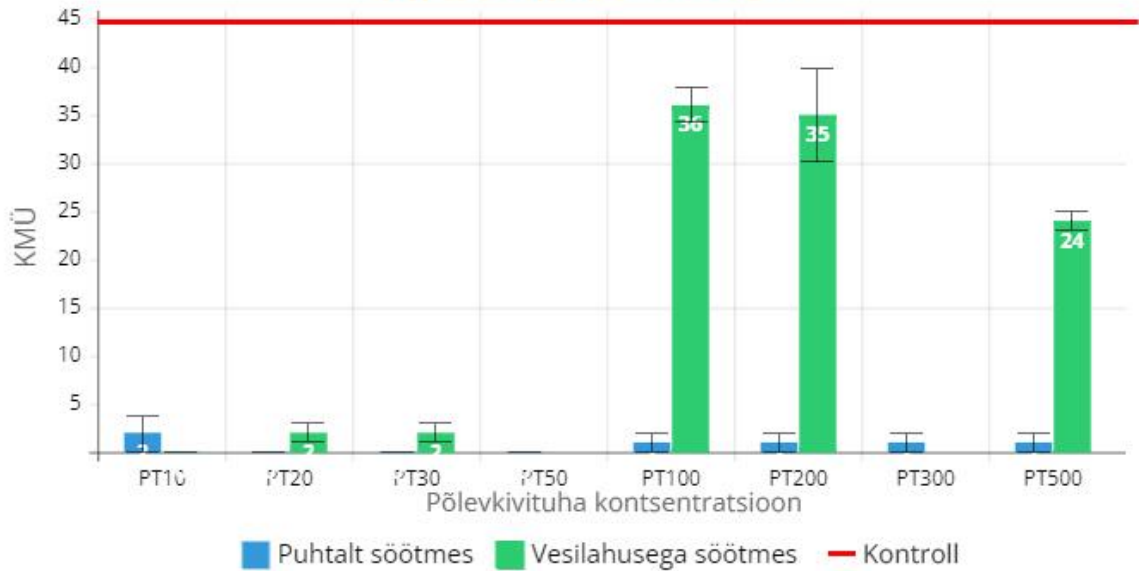
Nagu põlevkiviga katses 2 (joonis 4.3), siis ka põlevkivituhaga on kõik tulemused alla kontrolli (joonis 4.8). Selgub, et põlevkivituha kontsentratsioonide suurenemisel väheneb kolooniat moodustav ühik (KMÜ). Vesilahusega põlevkivituha lisamisel söötmesse on näha järsemat trendi kontsentratsioonide suurenedes. Katses 2 oli kolooniat moodustav ühik (KMÜ) 37.



Joonis 4.9 Põlevkivituha tulemused hallitussente inhibeerimisel katses 3: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, PT – põlevkivituhk ning sellele järgnev arv märgistab põlevkivituha kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

Kõik katse 3 põlevkivituha tulemused (Joonis 4.9), v.a. 50 µg/ml (PT50) vesilahuses, jäid alla katse 2 kontrollpiiri, mis oli 37 kolooniat moodustav ühik (KMÜ). Tuha vesilahuses kontsentratsioonil 100 µg/ml (100) üks kahest paralleelist oli ülekasvanud. Tulemustes trendi ei tekkinud, kuid põlevkivituhk puhtalt söötmes on igas kontsentratsioonis saavutanud paremad tulemused, kolooniat moodustav ühik (KMÜ) vahemikus 0-3, kui hõbeda nanoosakesed (AgNP) (joonis 4.1).

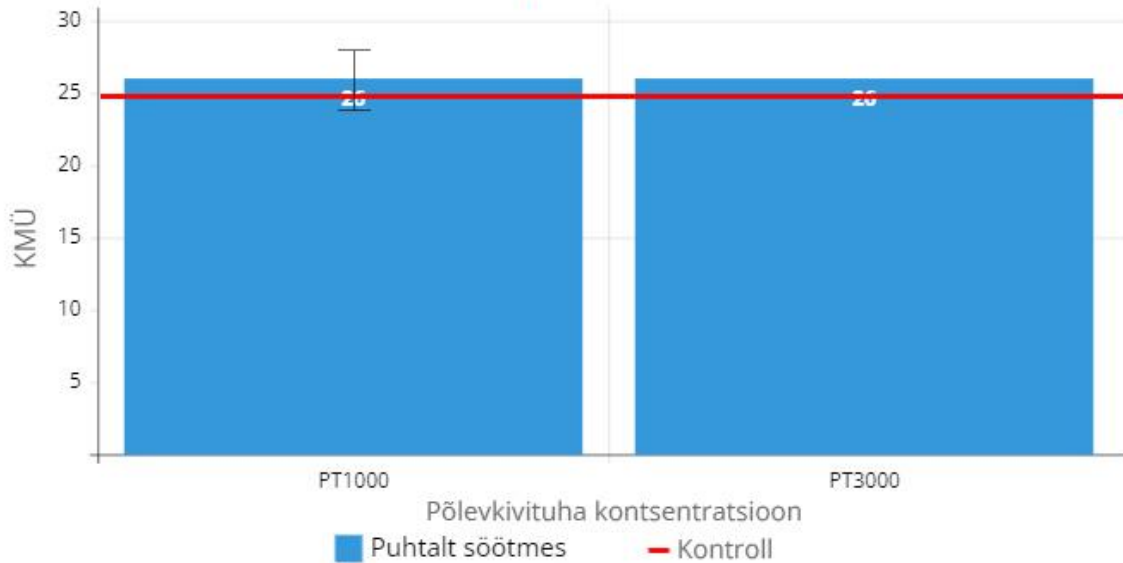
Katse 4 põlevkivituhk



Joonis 4.10 Katses 4 põlevkivituhk hallituseente tõrje tulemused: KMÜ – kolooniat moodustav ühik, PT – põlevkivituhk, sellele järgnev arv märgistab põlevkivituhk kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

Kõik katse 4 põlevkivituhk tulemused (joonis 4.10) jäid alla kontrollpiiri, mis oli 45 kolooniat moodustav ühik (KMÜ). Vesilahuse 50 µg/ml (PT50) ja 300 µg/ml (PT300) kontsentratsioonides olid kõik paralleelid ülekasvanud ja seega on need tulemused lugemata. Tulemustes trendi ei tekkinud, kuid nagu ka katses 3, siis põlevkivituhk puhtalt söötmes on igas kontsentratsioonis saavutanud paremad tulemused - vahemikus 0-4, kui hõbeda nanoosakesed (AgNP) (joonis 4.1).

Katse 5 põlevkivituhk



Joonis 4.11 Põlevkivituha tulemused katses 5 hallitusseente tõrjel. KMÜ – kolooniast moodustav ühik, PT – põlevkivituhk ning sellele järgnev arv märgistab põlevkivituha kontsentratsiooni söötmes (autori joonis)

Katse 5 tulemustest selgub, et põlevkivituhk kontsentratsioonides 1000 ja 3000 ületasid mõlemad kolooniast moodustava ühiku (KMÜ) kontrollipiiri, mis oli 25 ning põlevkivituhk, kontsentratsioonis nii 1000 kui ka 3000, oli kolooniast moodustav ühik (KMÜ) 26 (Joonis 4.11). Põlevkivituhk söötmeplaadil kontsentratsiooniga 3000 (PT3000) üks kahest paralleelst oli ülekasvanud.

5. Arutelu ja järeldused

Hõbedapõhiseid ühendeid on pikalt kasutatud nende antibakteriaalse ja seenevastase toime tõttu (Niskanen et al., 2010; Rauwel et al., 2015). Need omadused leidsid kinnitust ka käesolevas töös. Tänu oma suurele eripinnale ja lahustumisel vabanevatele ioonidele on hõbeda nananoosakestel ka madalatel kontsentratsioonidel kõrge antibakteriaalne mõju (Yaqoob et al., 2020). Tänapäeval kasutatakse hõbeda nanoosakesi peamiselt antimikroobse ainaena (Rauwel et al., 2015). Tööstuslikult toodetud hõbeda nanoosakesi seostatakse aga kõrgete energia ja hinna kulutustega. (Tortella et al., 2020)

Teame, et ka põlevkivi omab antimikroobseid omadusi ning seetõttu kasutatakse põlevkivitooteid ka näiteks kosmeetikas (Aknederm pureskincare, 2023). Ka põlevkivi hallituseente vastane toime on tõestatud (Bunger, 2007; Listemann et al., 1993). Eestis leidub rohkelt põlevkivi ja seda kasutatakse peamise energiaallikana (Bachmann et al., 2014). Põlevkivi põletamise üheks jäätmeks on aga põlevkivituhk, mille taaskasutuse osakaal on madal (tabel 2.3.1) (Keskkonnaministeerium, 2021). Käesolevas töös viidi läbi katsed põlevkivi ja põlevkivituha hallituseente inhibeerimisvõime hindamiseks.

Esimese katse tulemused näitasid, et hõbeda nanoosakesed toimisid efektiivselt madalatel kontsentratsioonidel hallituseente kasvu vastu. Lisaks, et põlevkivi ja põlevkivituha kontsentratsioonid peavad olema kõrgemad, kui hõbeda nanoosakeste kontsentratsioonid. Järgnevas katses, kus kontsentratsioon suurendati, oli näha, et mida suurem oli kontsentratsioon, seda väiksem oli hallituseente kasv ning kõik tulemused jäid allapoole kontrollpiiri. Kolmandas katses ei õnnestunud kontrollid, kuid kui selle tulemusi võrrelda eelneva kontrollitulemustega, siis selgub, et kõik tulemused, v.a. põlevkivituhk kontsentratsiooniga 50% vesilahuses, jäid allapoole kontrollpiiri. Samas aga ei tekkinud kolmandas katses trendi põlevkivi ega põlevkivituha kontsentratsioonide suurenemisel. Neljandast katses selgub, et puhta põlevkivi ja -tuha lisamisel ei tekkinud ühtegi ülekasvuga söötmeplaati, kuid vesilahuse kasutamisel tekkis neid üheksa. Samas olid kõik ilma ülekasvuta tulemused alla kontrollpiiri. Viimases katses oli näha, et põlevkivi toimis kõrgetel kontsentratsioonidel hästi, ning kontsentratsioonide suurenemisel tekkis ka trend. Põlevkivituhk aga viimases katses ei toiminud.

Katsetest saame järeldada, et hõbeda nanoosakesed on edukad hallituseente inhibeerimisel. Lisaks nägime, et sissekülvi meetod toimus efektiivsemalt kui pealekülvi meetod. Eelistada tuleks põlevkivi või põlevkivituha lisamisel hallituseeni tõrjuval eesmärgil puhast ainet vesilahuses olevale ainele. Seda seetõttu, et söötmeplaatidele puhta põlevkivi ja -tuha lisamisel tekkis vähem ülekasvu, kui vesilahusega lisamisel.

Kahe esimese katse põhjal selgus, et põlevkivi toimib edukamalt hallituseente kasvu vältimisel kui põlevkivituhk. Kahe järgneva katse põhjal ei ole seda võimalik väita, sest kolmanda katse kontrollid ei õnnestunud, mõlemas katses leidis rohkelt ülekasvu ning trende ei tekkinud. Samas nähtus, et puhta põlevkivituha söötmesse lisamisel saadud tulemused olid madalamad kui hõbeda nanoosakestel. Viimasest katsest aga nähtub, et põlevkivi toimus hallituseente inhibeerimisel kõrgematel kontsentratsioonidel edukalt, kuid tuha kohta seda väita ei ole võimalik. See tähendab, et tulevikus peaks edasi katsetama nii põlevkivi kui ka põlevkivituha hallituseente inhibeerimisvõimet, kasutades kõrgemaid kontsentratsioone.

Teades, et eelkõige hõbeda nanoosakeste suurest eripinnast tingitult on hõbeda nanoosakestel ka madalatel kontsentratsioonidel kõrge antibakteriaalne mõju (Yaqoob et al., 2020), siis saame eeldada, et põlevkivi ja põlevkivituhk vajavad hallituseente vastasuse saavutamiseks kõrgemaid kontsentratsioone kui hõbeda nanoosakesed. Seda sai ka teisest katsest alates proovida, kus oli näha, et see toimus. Edaspidistes katsetes tuleks põlevkivi ja põlevkivituha samu või sarnaseid kontsentratsioone katsetada pikemaajaliselt ja valmistada rohkem paralleele.

Edaspidi põlevkivi hallituseente inhibeerimisvõime uurimisel tuleks katsetada põlevkiviekstrakti, nagu seda tegid Oumam et al. (2002), kasutada puhastatud põlevkiviõli nagu saksa kosmeetikabränd Aknederm (2023) ning katsetada poolkoksi segu valmistamist nagu Yuru et al. (2018). Kuna aga põlevkivi kaevandamise ja töötlemise mõju on looduskeskkonda kahjustav (Velling & Vaasmaa, 2012), siis soovitatakse edasistes uurimustes eelkõige keskenduda põlevkivi põletamisel tekkivatele tahketele jäätmetele. Lisaks peaks katsetusi läbi viima ka pinnakatetes nagu krohv, värvid või lakid.

KOKKUVÕTE

Inimesed on alati olnud ümbritsetud nanoosakestest. Pinnase erosioon, tormid, metsatulekahjud ja vulkaanilised tegevused on vaid osake sellest, kuidas loodus meie ümber nanoosakesi vabastab. Aina rohkem aga hakatakse kasutama tööstuslikult konstrueeritud ja toodetud nanoosakesi meditsiinis, kosmeetikas, toidus ja pinnakatetes. Inimeste tegevuse tõttu satub aina rohkem nanoosakesi looduskeskkonda, kus nad mõjutavad nii eluta kui elus loodust. Lisaks on tööstuslike nanomaterjalide tootmine energia ja veerikas ning tootmiseks vajalikud kemikaalid mürgised. Inimeste kokkupuude nanoosakestega toimub igapäevaselt, neid hingatakse sisse, määratakse oma nahale ja neelatakse alla ning see on inimeste tervisele kahjulik. Üheks levinuimaks tööstuslikuks nanoosakeseks on hõbeda nanoosake. Hõbedat on pikalt kasutatud antimikroobse aineana, kuna hõbeda nanoosakestel on tänu oma suurele eripinnale ka väga madalatel kontsentratsioonidel kõrge antimikroobne mõju. Samas on hõbeda kasutamine kallis ja ohtlik nii inimestele kui loodusele.

Eestis laialt levinud põlevkivi omab antimikroobseid omadusi. Eestis on põlevkivi kasutatud eelkõige energiatootmiseks ja seetõttu on Eestis ka rohkelt põlevkivi põlemisest alles jäänud tahkeid jääke nagu tuhk ja poolkoks, mida kahjuks taaskasutatakse vähesel määral. Sellest inspireeritult sai käesoleva magistr töö eesmärgiks saavutada hõbeda nanoosakestega võrreldav hallituskindlus pinnakattematerjalidel kasutades selleks põlevkivi ja põlevkivituhka. Eesmärgi täitmiseks seati kaks hüpoteesi:

1. Põlevkivipulbri ja põlevkivituha kasutamine on efektiivne viis saavutamaks hallituskindlust, mida on võimalik rakendada pinnakatetes hallituse vältimisel;
2. Hõbeda nanoosakestega võrreldava hallituskindluse saavutamiseks peab põlevkivipulbri või -tuha kogus olema oluliselt suurem.

Hüpoteeside uurimiseks viidi läbi viis erinevat katset hõbeda nanoosakestega, põlevkiviga ja põlevkivituhaga.

Katsetest selgus, et hõbeda nanoosakesed on edukad hallituseente inhibeerimisel. Eelistada tuleks põlevkivi või põlevkivituha lisamisel antimikroobsetel eesmärkidel puhast ainet vesilahuses olevale ainele. Põlevkivi vajab antimikroobsuse saavutamiseks kõrgemaid kontsentratsioone kui hõbeda nanoosakesed. Seda sai ka alates katsest 2 proovida ning me nägime teises katses, et see toimis. Katsed 3, 4 ja 5 seda aga ei kinnitanud. Tulevastes katsetes võiks põlevkivi ja põlevkivituha erinevaid kontsentratsioone katsetada pikemaajaliselt ja valmistada rohkem paralleele. Edaspidiselt võiks põlevkivi hallituseente inhibeerimisvõime uurimisel katsetada põlevkiviõli ja poolkoksi. Lisaks tuleks edasi uurida põlevkivi ja põlevkivituha antimikroobsust erinevate pinnakatete osana.

Käesoleva magistritöö eesmärk sai osaliselt täidetud. Hõbeda nanoosakestega suudeti võrdväärne ja isegi parem hallituskindlus saavutada, kasutades selleks põlevkivi. Põlevkivituha kasutamisel analoogilise tulemuseni ei jõutud.

SUMMARY

Humans have always been surrounded by nanoparticles. Soil erosion, storms, wildfires and volcanic activity are just some of the ways nature releases nanoparticles around us. Increasingly, synthetically designed and produced nanoparticles are being used in medicine, cosmetics, food and surface coatings. Due to human activities, more and more nanoparticles enter the natural environment, where they participate in both inanimate and living nature. In addition, the production of industrial nanomaterials is energy and water intensive, and the chemicals required for nanoparticle production can be toxic. Humans are exposed to nanoparticles daily - inhaled, applied to their skin and ingested - they are harmful to human health. One of the most common synthetically manufactured nanoparticles is produced from silver. It has long been used as an antimicrobial agent because silver nanoparticles have a high antimicrobial effect even at very low concentrations due to their large specific surface area. At the same time, the use of silver is expensive and dangerous for both people and nature.

We know that oil shale, which is widespread in Estonia, also has antimicrobial properties. In Estonia, oil shale has been used primarily for energy production, and therefore Estonia also has a lot of solid residues left over from burning oil shale, such as ash and semi-coke, which unfortunately are recycled only to small extent. Inspired by this, the goal of this master's thesis was to achieve mold resistance equivalent to silver nanoparticles in surface coating materials using oil shale and oil shale ash. To fulfill the objective, two hypotheses were set:

1. The use of oil shale powder and oil shale ash is an effective way to achieve mold resistance, which can be applied in surface coatings to prevent mold;
2. To achieve mold resistance equal to that of silver nanoparticles, the amount of oil shale powder or ash must be several times higher.

To investigate the hypotheses, five different experiments were conducted - with silver nanoparticles, oil shale and oil shale ash.

The experiments revealed that silver nanoparticles are successful at inhibiting molds. When adding oil shale or oil shale ash for antimicrobial purposes, the pure substance should be preferred over the substance in aqueous solution. Oil shale and shale ash require higher concentrations than silver nanoparticles to achieve antimicrobial activity. In one of the experiments, it worked. However, other experiments did not confirm this. In future experiments, different concentrations of oil shale and shale ash should be tested over a longer period and more parallels should also be conducted. In the future, shale oil and semi-coke could be tested when investigating the ability of inhibiting molds with oil shale. In addition, the antimicrobial properties of oil shale and shale ash as part of various surface coatings should be further investigated.

The objective of this master's thesis was partially fulfilled. It was proved that silver nanoparticles inhibit mold. Also, inhibiting mold using oil shale was achieved, but shale ash did not perform the desired features.

KASUTATUD ALLIKAD

- Agnihotri, S., Mukherji, S., & Mukherji, S. (2014). Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy. *RSC Advances*, 4(8), 3974–3983. <https://doi.org/10.1039/c3ra44507k>
- Aknedermpureskincare. (2023). WHAT IS OIL SHALE OIL AND WHY IS IT IN AKNEDERM? Retrieved from <https://pureskin-shop.com/oil-shale-oil/>
- Ameen, F., Alsamhary, K., Alabdullatif, J. A., & ALNadhari, S. (2021). A review on metal-based nanoparticles and their toxicity to beneficial soil bacteria and fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 213, 112027. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112027>
- American Elements. (2022). About Nanotechnology. Retrieved from <https://www.americanelements.com/nanomaterials-nanoparticles-nanotechnology.html>
- Andualem, Z., Gizaw, Z., Bogale, L., & Dagne, H. (2019). Indoor bacterial load and its correlation to physical indoor air quality parameters in public primary schools. *Multidisciplinary Respiratory Medicine*, 14(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s40248-018-0167-y>
- Auyeung, A., Casillas-Santana, M. Á., Martínez-Castañón, G. A., Slavin, Y. N., Zhao, W., Asnis, J., ... Bach, H. (2017). Effective control of molds using a combination of nanoparticles. *PLoS ONE*, 12(1), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169940>
- Bachmann, M., Ilp, R., Kilk, K., Kopti, M., Leies, E., Loorents, K., ... Vennik, E. (2014). *Kukersiit ja konnatahvel. Meie energia lugu*. Tallinn: Motor.
- Baird, Z. S., Neshumayev, D., Järvik, O., & Powell, K. M. (2021). Comparison of the most likely low-emission electricity production systems in Estonia. In *PLoS ONE* (Vol. 16). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261780>
- Bunger, J. W. (2007). *Shale oil value enhancement research*. 192. Retrieved from <http://www.osti.gov/scitech/servlets/purl/921028-JpG1B0/>
- Dewangan, R., Sharma, A. K., Kumar, N., Maiti, S. K., Singh, H., Gangwar, A. K., ...

- Kumar, A. (2012). In-vitro biocompatibility determination of bladder acellular matrix graft. *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, 25(4), 161–171.
- Eesti Energia, Viru Keemia Grupp, Kiviõli Keemiatööstus, & TalTech Virumaa kolledži Põlevkivi Kompetentsikeskus. (2018). *Eesti Põlevkivitööstuse Aastaraamat 2018*. 49.
- Geologyscience. (2018). Oil Shale. Retrieved from https://geologyscience.com/rocks/sedimentary-rocks/oil-shale/#Characteristics_and_Properties
- GlobalSpec. (2022). Wall Coatings Information. Retrieved from https://www.globalspec.com/learnmore/materials_chemicals_adhesives/industrial_coatings_sealants/wall_coatings
- Gosselin, C. A. (2021). Nanotechnology in the World of Paints and Coatings. Retrieved from <https://www.paint.org/coatingstech-magazine/articles/nanotechnology-in-the-world-of-paints-and-coatings/>
- Guo, D., Xie, G., & Luo, J. (2014). Mechanical properties of nanoparticles: Basics and applications. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 47(1). <https://doi.org/10.1088/0022-3727/47/1/013001>
- Haas, D., Habib, J., Luxner, J., Galler, H., Zarfel, G., Schlacher, R., ... Reinthaler, F. F. (2014). Comparison of background levels of culturable fungal spore concentrations in indoor and outdoor air in southeastern Austria. *Atmospheric Environment*, 98, 640–647. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.09.039>
- Hade, S., Voolma, M., & Soesoo, A. (2017). *Eesti graptoliitargilliidis leiduvate raskemetallide ja teiste elementide keskkonnamõju mudel ning leostumise dünaamika*. Tallinn.
- Haleem Khan, A. A., & Mohan Karuppaiyil, S. (2012). Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19(4), 405–426. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.06.002>
- International Organisation for Standardization. *Indoor air. Detection and enumeration of moulds — Culture-based method (ISO Standard No. 16000-17)*. , (2008).
- International Organisation for Standardization. *Detection and enumeration of moulds -- Sampling by impaction (ISO Standard No. 16000-18)*. , (2011).

- Keskkonnaministeerium. (2021). *Põlevkivi kasutamise riikliku arengukava 2016-2030 täitmise 2018. ja 2019. aasta aruanne*.
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- Küünal, S. (2022). *Plant Mediated Synthesis of Silver-Based Nanoparticles and Their Use as Antimicrobial Agent in Applications*. Tallinn.
- Listemann, H., Schölermann, A., & Meigel, W. (1993). Antifungal activity of sulfonated shale oils. *Arzneimittelforschung*, 43(7), 784–788.
- Martin-Sanchez, P. M., Nunez, M., Estensmo, E. L. F., Skrede, I., & Kauserud, H. (2022). Comparison of Methods to Identify and Monitor Mold Damages in Buildings. *Applied Sciences (Switzerland)*, 12(18). <https://doi.org/10.3390/app12189372>
- Moon, H. J., & Augenbroe, G. (2005). Assessing mold risks in buildings under uncertainty. *College of Architecture, Doctor of(August)*, 245.
- Mourdikoudis, S., Pallares, R. M., & Thanh, N. T. K. (2018). Characterization techniques for nanoparticles: Comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties. *Nanoscale*, 10(27), 12871–12934. <https://doi.org/10.1039/c8nr02278j>
- Najahi-Missaoui, W., Arnold, R. D., & Cummings, B. S. (2021). Safe nanoparticles: Are we there yet? *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms22010385>
- National Nanotechnology Coordination Office. (2022). What is nanotechnology? Retrieved from <https://www.nano.gov/nanotech-101/what/definition>
- Niskanen, J., Shan, J., Tenhu, H., Jiang, H., Kauppinen, E., Barranco, V., ... Kontturi, K. (2010). Synthesis of copolymer-stabilized silver nanoparticles for coating materials. *Colloid and Polymer Science*, 288(5), 543–553. <https://doi.org/10.1007/s00396-009-2178-x>
- Oumam, M., Abourriche, A., Hannache, H., Abourriche, A., Bennamara, A., Charrouf, M., ... Naslain, R. (2002). Bioactives properties of extracts from Moroccan oil shale. *Scientia Pharmaceutica*, 70(3), 271–276. <https://doi.org/10.3797/scipharm.aut-02-25>

- Paul, D., & Neogi, S. (2019). Synthesis, characterization and a comparative antibacterial study of CuO, NiO and CuO-NiO mixed metal oxide. *Materials Research Express*, 6(5). <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab003c>
- Pelgrift, R. Y., & Friedman, A. J. (2013). Nanotechnology as a therapeutic tool to combat microbial resistance ☆. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(13-14), 1803–1815. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.07.011>
- Pidgeon, N., Porritt, J., Ryan, J., Seaton, A., Tendler, S., Welland, M., & Whatmore, R. (2004). Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. *London The Royal Society The Royal Academy of Engineering Report*, 46(July), 618–618. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Nanoscience+and+nanotechnologies+:+opportunities+and+uncertainties#0>
- Purohit, R., Mittal, A., Dalela, S., Warudkar, V., Purohit, K., & Purohit, S. (2017). Social, Environmental and Ethical Impacts of Nanotechnology. *Materials Today: Proceedings*, 4(4), 5461–5467. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2017.05.058>
- Qi, Y., Dai, X., Wei, L., Luo, H., Liu, Y., Dong, X., ... Li, Y. (2022). Nano-AgCu Alloy on Wood Surface for Mold Resistance. *Nanomaterials*, 12(7), 1–13. <https://doi.org/10.3390/nano12071192>
- Rauwel, P., Küünal, S., Ferdov, S., & Rauwel, E. (2015). A review on the green synthesis of silver nanoparticles and their morphologies studied via TEM. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/682749>
- Riigi Teataja. *Keskkonnaministri 14. detsembri 2015. a määruse nr 70 „Jäätmete liigitamise kord ja jäätmenimistu” muutmine.* , (2020).
- Sengul, A. B., & Asmatulu, E. (2020). Toxicity of metal and metal oxide nanoparticles: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 18(5), 1659–1683. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01033-6>
- Stanley, H. O., Onwuna, B., & Ugboma, C. J. (2019). Microbial Assessment of Indoor Air Quality of Ventilation Systems. *Asian Journal of Advanced Research and Reports*, 1–7. <https://doi.org/10.9734/ajarr/2019/v3i430095>
- Suuroja, K. (2004). *Kiviaabits. Eesti kivimid*. Tallinn: OÜ GeoTrail KS.

- Tallinna Tehnikaülikool. (2021). *Põlevkivituhk betoonilisandina – baasuuringud*. (17942).
- Tallinna Tehnikaülikool. (2023). MIS ON PÕLEVKIVI? Retrieved from <https://taltech.ee/et/node/3930>
- Tallinna Tehnikaülikool, & Tartu Ülikool. (2019). *Põlevkivituhkade ohtlikkuse uuring*. 1–184.
- Taltech Virumaa Kolledži põlevkivi kompetentsikeskus;, Eesti Energia; Viru Keemia Grupp;, & Kiviõli Keemiatööstus. (2021). *EESTI PÕLEVKIVITÖÖSTUSE AASTARAAMAT 2021*. Retrieved from https://haldus.taltech.ee/sites/default/files/2022-12/Eesti_polevkivitoostuse_aastaraamat_2021_0.pdf?_ga=2.199281511.834046610.1678386378-90378047.1586474189
- Talve, S., & Pöld, E. (2022). Reduction of life cycle impacts of oil shale electricity caused by the shift to fluidized bed combustion technology. *Oil Shale*, 39(4), 252–269. <https://doi.org/10.3176/oil.2022.4.02>
- Temizel-Sekeryan, S., & Hicks, A. L. (2020). Global environmental impacts of silver nanoparticle production methods supported by life cycle assessment. *Resources, Conservation and Recycling*, 156(December 2019), 104676. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.104676>
- Tortella, G. R., Rubilar, O., Durán, N., Diez, M. C., Martínez, M., Parada, J., & Seabra, A. B. (2020). Silver nanoparticles: Toxicity in model organisms as an overview of its hazard for human health and the environment. *Journal of Hazardous Materials*, 390(September 2019), 121974. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121974>
- Turan, N. B., Erkan, H. S., Engin, G. O., & Bilgili, M. S. (2019). Nanoparticles in the aquatic environment: Usage, properties, transformation and toxicity—A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 130, 238–249. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.08.014>
- Velling, Siiri;, & Vaasmaa, T. (2012). Ülevaade põlevkivist. Retrieved from https://dspace.ut.ee/bitstream/handle/10062/27643/levaade_plevkivist.html
- Velling, Siiri, & Vaasmaa, T. (2012). Mõju keskkonnale. Retrieved from https://dspace.ut.ee/bitstream/handle/10062/27643/mju_keskkonnale.html
- Vettik, A. (2014). *Ehitusmaterjalina kasutatavatel põhuplokkidel esineva mikroobikoosluse*

tõrje ja selle efektiivsus sõltuvalt populatsioonitihedusest.

Viru Keemia Grupp. (2023). Ettevõttest. Retrieved from <https://www.vkg.ee/ettevotest/>

WHO. (2018). Air Pollution and Child Health. In *Who* (Vol. 113). Retrieved from http://pediatrics.aappublications.org/content/113/Supplement_3/1037.full.html

World Health Organization Europe. (2009). *WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould* (E. Heseltine & J. Rosen, Eds.). Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK143941/pdf/Bookshelf_NBK143941.pdf

Yaqoob, A. A., Umar, K., & Ibrahim, M. N. M. (2020). Silver nanoparticles: various methods of synthesis, size affecting factors and their potential applications—a review. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, *10*(5), 1369–1378. <https://doi.org/10.1007/s13204-020-01318-w>

Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., & Chu, C. H. (2020). The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *International Journal of Nanomedicine*, *15*, 2555–2562. <https://doi.org/10.2147/IJN.S246764>

Yuru, K. (2018). *Method for preparing hybrid antibacterial agent by using oil shale semicoke*. Retrieved from <https://patents.google.com/patent/CN109526983B/en>

LISAD

Lisa 1. Katse 1 lähtetulemused

Põlevkivi ja põlevkivituha vesilahusega pealekülv söötmesse: ÜK – ülekasvanud söötmeplaat.

Proov	Ag10	Ag20	Ag30	P10	P20	P30	PT10	PT20	PT30	Kontrol I
1	5	4	13	89	68	34	ÜK	30	30	19
2	8	ÜK	8	44	55	ÜK	16	29	ÜK	29
3	13	11	11	23	44	ÜK	18	28	ÜK	24
4	20	9	6	48	38	ÜK	29	26	ÜK	29
Keskmine (KMÜ)	12	8	10	51	51	34	21	28	30	25
Ruutjuur (KMÜ)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Standardhälve (KMÜ)	6,5	0	3,1	27,6	13,2	0	7	1,7	0	4,7
Standardviga (KMÜ)	3	0	2	14	7	0	4	1	0	2

Põlevkivi ja põlevkivituha vesilahusega sissekülv söötmesse.

Proov	Ag10	Ag20	Ag30	P10	P20	P30	PT10	PT20	PT30	Kontrol I
1	9	5	5	39	14	18	17	11	25	19
2	7	7	6	33	7	14	17	22	28	29
3	13	5	1	34	16	24	19	18	13	24
4	9	6	5	18	11	23	10	14	34	29
Keskmine (KMÜ)	10	6	4	31	12	20	16	16	25	25
Ruutjuur (KMÜ)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Standardhälve (KMÜ)	2,5	1	2,2	9	3,9	4,6	3,9	4,7	8,8	4,7
Standardviga (KMÜ)	1	0	1	5	2	2	2	2	4	2

Lisa 2. Katse 2 lähtetulemused

Puhas põlevkivituhk söötmesse sissekülvi meetodil.

Proov	PT10	PT20	PT30	PT50	PT100	PT200	PT300	PT500
1	21	21	21	18	19	15	15	11
2	20	19	16	20	17	18	15	13
Keskmine (KMÜ)	21	20	19	19	18	17	15	12
Ruutjuur (KMÜ)	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Standardhälve (KMÜ)	0.7	1.4	3.5	1.4	1.4	2.1	0	1.4
Standardviga (KMÜ)	1	1	3	1	1	2	0	1

Puhas põlevkivi söötmesse sissekülvi meetodil.

Proov	P10	P20	P30	P50	P100	P200	P300	P500
1	24	21	14	12	10	10	8	6
2	21	17	13	11	11	8	7	7
Keskmine (KMÜ)	23	19	14	12	11	9	8	7
Ruutjuur (KMÜ)	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Standardhälve (KMÜ)	2.1	2.8	0.7	0.7	0.7	1.4	0.7	0.7
Standardviga (KMÜ)	2	2	1	1	1	1	1	1

Põlevkivituhk vesilahusega söötmesse sissekülvi meetodil.

Proov	PT50H₂O	PT100H₂O	PT200H₂O	PT300H₂O	PT500H₂O
1	33	25	13	10	9
2	30	27	12	9	8
Keskmine (KMÜ)	32	26	13	10	9
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Standardhälve (KMÜ)	2,1	1,4	0,7	0,7	0,7
Standardviga (KMÜ)	2	1	1	1	1

Põlevkivi vesilahusega söötmesse sissekülvi meetodil.

Proov	P50H₂O	P100H₂O	P200H₂O	P300H₂O	P500H₂O
1	27	24	18	9	12
2	28	22	17	11	10
Keskmine (KMÜ)	28	23	18	10	11
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Standardhälve (KMÜ)	0,7	1,4	0,7	1,4	1,4
Standardviga (KMÜ)	1	1	1	1	1

Lisa 3. Katse 3 lähtetulemused

Puhas põlevkivituhk söötmesse sissekülvi meetodil.

Proov	PT10	PT20	PT30	PT50	PT100	PT200	PT300	PT500
1	1	3	0	1	3	2	0	3
2	3	2	1	3	0	1	0	1
Keskmine (KMÜ)	2	3	1	2	2	2	0	2
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Standardhälve (KMÜ)	1,4	0,7	0,7	1,4	2,1	0,7	0,0	1,4
Standardviga (KMÜ)	1	1	1	1	2	1	0	1

Puhas põlevkivi söötmesse sissekülvi meetodil.

Proov	P10	P20	P30	P50	P100	P200	P300	P500
1	6	13	4	26	30	28	14	8
2	2	19	9	15	14	25	12	14
Keskmine (KMÜ)	4	16	7	21	22	27	13	11
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Standardhälve (KMÜ)	2,8	4,2	3,5	7,8	11,3	2,1	1,4	4,2
Standardviga (KMÜ)	2	3	3	6	8	2	1	3

Põlevkivituhk vesilahusega söötmesse sissekülvi meetodil: ÜK – ülekasvanud söötmeplaat.

Proov	PTH ₂ O 10	PTH ₂ O 20	PTH ₂ O 30	PTH ₂ O 50	PTH ₂ O 100	PTH ₂ O 200	PTH ₂ O 300	PTH ₂ O 500
1	0	0	0	45	15	12	28	7
2	0	0	0	51	ÜK	11	44	4
Keskmine (KMÜ)	0	0	0	48	15	12	36	6
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,0	1,4	1,4	1,4
Standardhälve (KMÜ)	0,0	0,0	0,0	4,2		0,7	11,3	2,1
Standardviga (KMÜ)	0	0	0	3	0	0,5	8	1,5

Põlevkivi vesilahusega söötmesse sissekülvi meetodil: ÜK – ülekasvanud söötmeplaat.

Proov	PH ₂ O 10	PH ₂ O 20	PH ₂ O 30	PH ₂ O 50	PH ₂ O 100	PH ₂ O 200	PH ₂ O 300	PH ₂ O 500
1	0	0	2	4	11	ÜK	ÜK	ÜK
2	0	1	1	10	9	12	ÜK	ÜK
Keskmine (KMÜ)	0	1	2	7	10	12		
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,0		
Standardhälve (KMÜ)	0,0	0,7	0,7	4,2	1,4			
Standardviga (KMÜ)	0	0,5	0,5	3	1	0	0	0

Lisa 4. Katse 4 lähtetulemused

Puhas põlevkivi söötmesse sissekülvi meetodil.

Proov	P10	P20	P30	P50	P100	P200	P300	P500
1	1	5	4	17	15	24	20	25
2	1	3	2	15	18	24	13	12
Keskmine (KMÜ)	1	4	3	16	17	24	17	19
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Standardhälve (KMÜ)	0,0	1,4	1,4	1,4	2,1	0,0	4,9	9,2
Standardviga (KMÜ)	0	1	1	1	2	0	4	7

Puhas põlevkivituhk söötmesse sissekülvi meetodil.

Proov	PT10	PT20	PT30	PT50	PT100	PT200	PT300	PT500
1	0	0	0	0	0	0	1	0
2	4	0	0	0	1	1	0	1
Keskmine (KMÜ)	2	0	0	0	1	1	1	1
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Standardhälve (KMÜ)	2,8	0,0	0,0	0,0	0,7	0,7	0,7	0,7
Standardviga (KMÜ)	2	0	0	0	1	1	1	1

Põlevkivi vesilahusega söötmesse sissekülvi meetodil: ÜK – ülekasvanud söötmeplaat.

Proov	PH2O10	PH2O 20	PH2O 30	PH2O 50	PH2O 100	PH2O 200	PH2O 300	PH2O 500
1	0	0	1	26	16	35	ÜK	ÜK
2	0	0	1	24	ÜK	22	ÜK	ÜK
Keskmine (KMÜ)	0	0	1	25	16	29		
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,0	1,4		
Standardhälve (KMÜ)	0,0	0,0	0,0	1,4		9,2		
Standardviga (KMÜ)	0	0	0	1	0	7	0	0

Põlevkivituhk vesilahusega söötmesse sissekülvi meetodil: ÜK – ülekasvanud söötmeplaat.

Proov	PTH2O10	PTH2O 20	PTH2O 30	PTH2O 50	PTH2O 100	PTH2O 200	PTH2O 300	PTH2O 500
1	0	2	2	ÜK	34	40	ÜK	24
2	0	1	1	ÜK	37	30	ÜK	23
Keskmine (KMÜ)	0	2	2		36	35		24
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4	1,4	1,4	1,0	1,4		1,4
Standardhälve (KMÜ)	0,0	0,7	0,7		2,1	7,1		0,7
Standardviga (KMÜ)	0	1	1	0	2	5	0	1

Lisa 5. Katse 5 lähtetulemused

Puhas põlevkivi söötmesse sissekülvi meetodil.

Kontroll	P1000	P3000
23	6	3
27	8	4
Keskmine (KMÜ)	7	4
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4
Standardhälve (KMÜ)	1,4	0,7
Standardviga (KMÜ)	1	1

Puhas põlevkivituhk söötmesse sissekülvi meetodil: ÜK – ülekasvanud söötmeplaat.

Kontroll	PT1000	PT3000
23	24	26
27	27	ÜK
Keskmine (KMÜ)	26	26
Ruutjuur (KMÜ)	1,4	1,4
Standardhälve (KMÜ)	2,1	0
Standardviga (KMÜ)	2	0