

ZMENY SACHARIDOVÉHO PODIELU DREVA VÍBY BIELEJ (*SALIX ALBA* L.) POČAS VODNEJ PREDHYDROLÝZY

THE CHANGES OF SACCHARIDES in WILLOW WOOD (*SALIX ALBA* L.) DURING WATER PREHYDROLYSIS

Viera Kučerová – Eva Výbohová

ABSTRACT

In this study the changes of saccharides content of willow (*Salix alba* L.) wood during water prehydrolysis at temperature 180°C and four different durations (30, 60, 120 and 240 min) were described. Samples of solid residues after water prehydrolysis were treated by Tappi T-222 om-88. Subsequently, incurred hydrolysates were analysed by means of high performance liquid chromatography (HPLC). They were identified and determined D-glucose, D-xylose and L-arabinose. The total content of saccharides in untreated wood was 79 % and the predominant sugar was the D-glucose (60 %). The concentration of D-glucose in solid residues increased with duration of hydrothermal treatment, especially into the time 120 minutes. The concentration of monosaccharides originated from hemicelluloses (D-xylose and L-arabinose) with increasing time of hydrolysis decreased, especially into the time 60 minutes. The changes in the content of hexoses to pentoses are described by logarithmic dependence $y = 4.2508\ln(x) - 8.6524$ ($R^2 = 0.9871$).

Keywords: willow wood, saccharides, glucose, xylose, arabinose, HPLC, prehydrolysis, solid residue.

ÚVOD

Víby sú rýchlorastúce dreviny s intenzívnym rastom v priebehu celej rubnej doby. Ich prednosťou je ľahká krížiteľnosť, výborná reprodukčná schopnosť vegetatívnym spôsobom a odolnosť voči chorobám a škodcom. Na Slovensku je známych približne 20 druhov víb, pričom víba biela (*Salix alba* L.) patrí k najbežnejším z nich. Drevo víby nenachádza uplatnenie v nábytkárskej výrobe ani v stavebníctve, využíva sa na výrobu paliet, vlákniny a štiepky (VARGA, BARTKO 2010). Perspektívnym sa javí zhodnotenie víbového dreva spracovaním na významné chemické látky a suroviny biotechnologickými postupmi.

Pred biotechnologickým spracovaním je potrebné drevnú surovinu upraviť do takej formy, aby bola prístupná účinkom enzýmov. Jednou z možností predúpravy je vodná hydrolyza, ktorej podstatou je degradácia drevných polysacharidov, a to celulózy a hemicelulózy, na monoméne alebo oligoméne produkty. Makromolekula celulózy je

zložená výlučne z glukózových jednotiek, zatiaľ čo hemicelulózy sú zložené z rôznych monosacharidov (glukóza, manóza, galaktóza, xylóza, arabinóza a pod.).

Pôsobením vody a tepla na drevo dochádza najprv k hydrolyze glykozidových väzieb, t. j. k depolykondenzácii týchto polymérnych látok. V prvých fázach procesu sa z dreva uvoľňujú hemicelulózy, o niečo neskôr sa do roztoku hydrolyzáta uvoľňuje vodorozpustná časť lignínu a časť amorfnej celulózy. Zároveň dochádza k narušeniu štruktúry makromolekúl celulózy. Podmienky hydrolyzných procesov je potrebné optimalizovať tak, aby sa získali produkty s vysokým výťažkom za výhodných podmienok - z technického, energetického aj ekonomického hľadiska (HASHAIKEH *et al.* 2007, FANG 2011, LAUROVÁ, VACEK 2011, TJEERDSMA, MILITZ 2005, KUČEROVÁ *et al.* 2011, SUN, CHENG 2002, BINDER, RAINES 2010, DAHLMAN *et al.* 2000).

Cieľom článku je zistiť vplyv času vodnej predhydrolyzy pri teplote 180 °C na sacharidový podiel v dreve vŕby bielej. Za týmto účelom bol stanovený obsah sacharidov v tuhých zvyškoch po vodnej predhydrolyze v trvaní 30, 60, 120 a 240 minút.

EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

Vŕba biela pochádzala z lokality Vysokoškolského lesníckeho podniku vo Zvolene. Vek vzorky dreva bol určený vizuálnou metódou, odčítaním počtu ročných kruhov na pričnom reze na 15 rokov. Vo vzorkách dreva vŕby bielej pred (vzorka 0) a po vodnej predhydrolyze (teplota 180 °C, vzorky 30, 60, 120, 240, hydromodul 1:4) boli po toluén-etanolovej extrakcii (ASTM D 1107–96) dvojstupňovou hydrolyzou kyselinou sírovou (Tappi T-222 om-88) stanovené sacharidy. Polysacharidy sa v prvom stupni hydrolyzovali 72 % kyselinou sírovou 1 hodinu a teplote 30 °C. V druhom stupni sa roztok kyseliny sírovej zriedil na koncentráciu 4 %, pričom roztok bol hydrolyzovaný ešte 1 hodinu pri teplote 121 °C.

Stanovenie sacharidov kvapalinovou chromatografiou

Sacharidy boli po neutralizácii roztoku stanovené podľa metódy NREL (SLUITER *et al.* 2011) za podmienok: kolóna – Aminex HPX-87P, detektor – RI, mobilná fáza – deionizovaná voda, prietok mobilnej fázy – 0,6 ml·min⁻¹, teplota – 80 °C, injekovaný objem – 50 µl. Množstvá jednotlivých sacharidov boli vypočítané metódou vnútorného štandardu, ktorým bola celobióza.

Výsledky stanovenia obsahu jednotlivých sacharidov boli vyhodnotené štatisticky metódou jednofaktorovej analýzy rozptylu zo štyroch meraní pri každom čase.

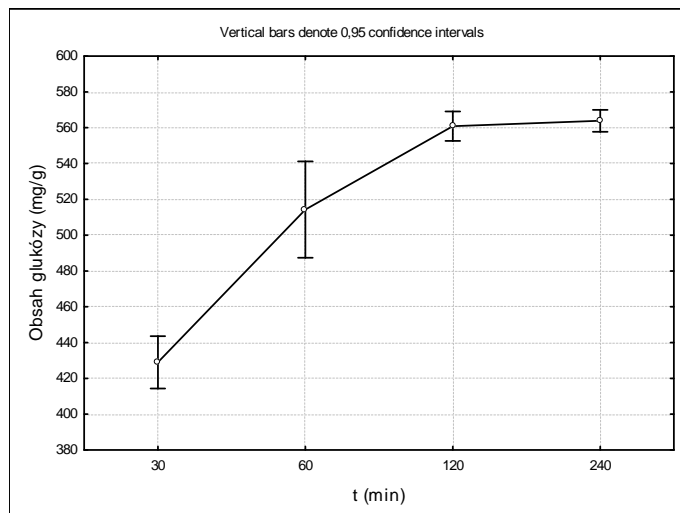
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Drevo obsahuje 65–75 % sacharidov. Najväčšie zastúpenie má β-D-glukóza, ktorá je základnou stavebnou zložkou celulózy. Ostatné sacharidy sa v dreve vyskytujú podľa druhu dreviny. Medzi sacharidy typické pre listnaté dreviny patrí D-xylóza, L-ramnóza, D-manóza, D-glukóza a D-galaktóza (KAČÍK, KAČÍKOVÁ 2007).

Analýzou sacharidov metódou HPLC sme zistili, že tuhý zvyšok po predhydrolyze dreva vŕby bielej obsahoval len D-glukózu, D-xylózu a L-arabinózu.

Zastúpenie D-glukózy v porovnaní s ostatnými sacharidmi v tuhých zvyškoch bolo jednoznačne najvyššie (Obr. 1, 2, 3). Maximálnu hodnotu dosahovala jej koncentrácia pri čase úpravy 120 minút, po tomto čase sa už výrazne nemenila (Obr. 1). Metódou jednofaktorovej analýzy rozptylu sme zistili signifikantný vplyv času predúpravy na obsah

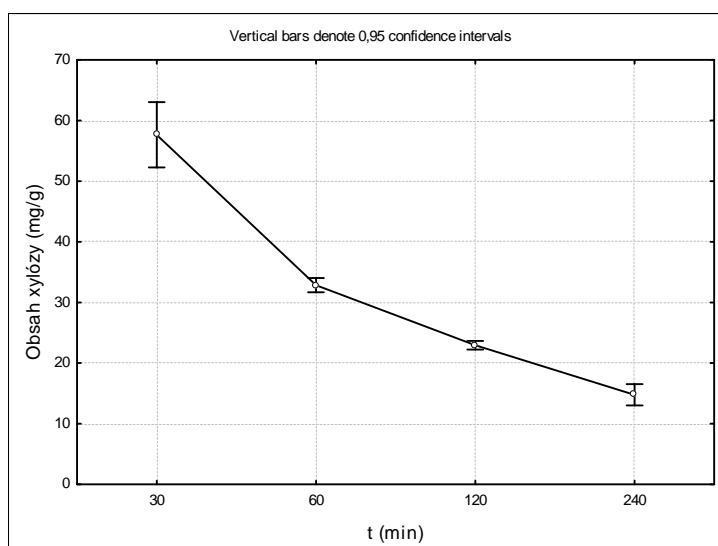
glukózy (Tab. 1). Nárast koncentrácie glukózy v tuhom zvyšku je pravdepodobne relatívny, pričom so vzrastajúcim časom úpravy dochádza k hmotnostnému úbytku upravovaného dreva. Hodnoty obsahu jednotlivých sacharidov uvádzané na obrázkoch 1, 2, 3 sú prepočítané na 1 g tuhého zvyšku po hydrolýze, a nie na hmotnosť dreva pred úpravou. Nárast koncentrácie glukózy po hydrotermickej úprave zaznamenali aj XIAO *et al.* (2011).



Obr. 1 Obsah D-glukózy v hydrotermicky upravenom (30, 60, 120 and 240 min) dreve vrbí bielej.
Fig. 1 Content of D-glucose isolated from hydrothermal treated (30, 60, 120 and 240 min) willow wood.

Tab. 1 Analýza rozptylu obsahu D-glukózy.
Tab. 1 Analysis of variance of D-glucose content.

Zdroj menlivosti	Súčet štvorcov	Stupne voľnosti	Rozptyl	Fisherov F-test	Hladina významnosti p
Celkový priemer	4276706	1	4276706	41467	0
t (min)	47492	3	15831	154	0
Náhodné činitele	1238	12	103		



Obr. 2 Obsah D-xylózy v hydrotermicky upravenom (30, 60, 120 and 240 min) dreve vrbí bielej.
Fig. 2 Content of D-xylose isolated from hydrothermal treated (30, 60, 120 and 240 min) willow wood.

Zo sacharidov, ktoré tvoria hemicelulózovú zložku dreva, sme stanovili D-xylózu a L-arabinózu. V porovnaní s D-glukózou mala D-xylóza, v tuhom zvyšku podstatne menšie

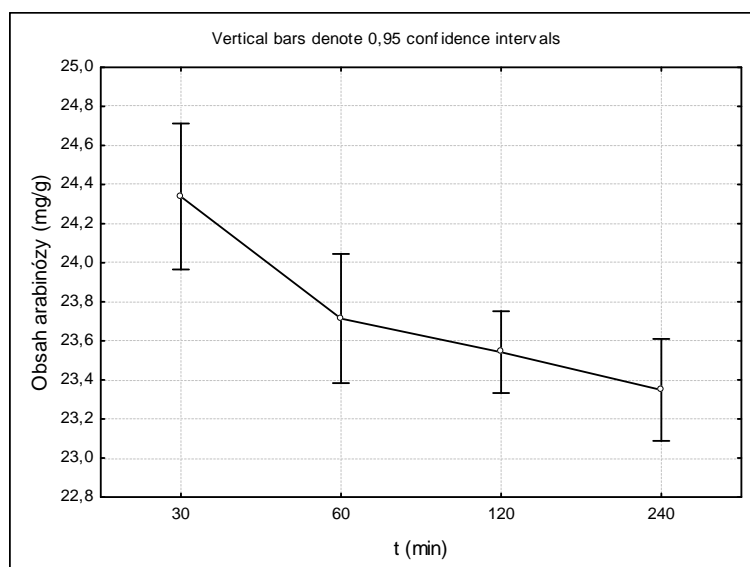
zastúpenie a so zvyšujúcim sa časom štatisticky významne klesala. Pokles xylózy oproti vzorke 30 bol o 74 %, pričom mohol byť zapríčinený rozkladom hemicelulóz na oligomérené a monomérené formy a ich uvoľnením do hydrolyzátu. Metóda jednofaktorovej analýzy rozptylu potvrdila signifikantný vplyv času na obsah D-xylózy (Tab. 2). Vo vzorke pôvodného dreva bola stanovená koncentrácia D-xylózy 133 mg/g.

Tab. 2 Analýza rozptylu obsahu D-xylózy.

Tab. 2 Analysis of variance of D-xylose content.

Zdroj menlivosti	Súčet štvorcov	Stupne voľnosti	Rozptyl	Fisherov F-test	Hladina významnosti p
Celkový priemer	16434	1	16434	4902	0
t (min)	4151	3	1384	413	0
Náhodné činitele	40	12	3		

Vo vzorke pôvodného dreva bola stanovená koncentrácia L-arabinózy 57 mg/g. Vplyvom hydrotermickej úpravy sa jej obsah znižoval, pričom v sledovanom časovom rozpätí 30-240 minút boli zmeny v jej obsahu menej výrazné. Napriek tomu údaj o hladine významnosti F-testu $p=0$ potvrdil závislosť obsahu L-arabinózy v tuhom zvyšku od času hydrotermickej úpravy (Tab. 3). LAUROVÁ (2011) analyzovala hydrolyzáty po vodnej predhydrolyze vrby bielej pri teplote 180 °C a časoch 30, 60, 120 a 240 minút. Už v čase 30 minút hydrotermickej úpravy zaznamenala prítomnosť glukózy a xylózy, ktoré pravdepodobne pochádzajú z hemicelulóz. Z tohto dôvodu je obsah sacharidov pochádzajúcich z hemicelulóz, v tuhých zvyškoch nízky.



Obr. 3 Obsah L-arabinózy v hydrotermicky upravenom (30, 60, 120 and 240 min) dreve vrby bielej.

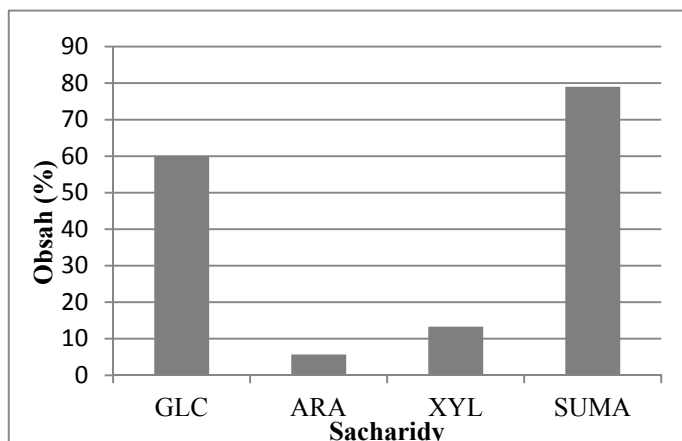
Fig. 3 Content of L-arabinose isolated from hydrothermal treated (30, 60, 120 and 240 min) willow wood.

Tab. 3 Analýza rozptylu obsahu L-arabinózy.

Tab. 3 Analysis of variance of L-arabinose content.

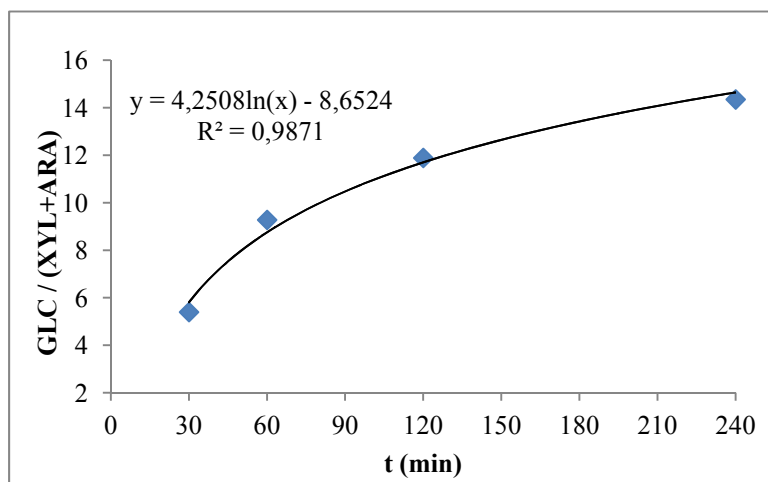
Zdroj menlivosti	Súčet štvorcov	Stupne voľnosti	Rozptyl	Fisherov F-test	Hladina významnosti p
Celkový priemer	9014	1	9014	252872	0
t (min)	2	3	1	21	0
Náhodné činitele	0	12	0		

Seamanovou hydrolyzou bol v pôvodnej vzorke dreva stanovený celkový obsah sacharidov na 79 % (Obr. 4). Zo sacharidov mala najväčšie zastúpenie D-glukóza (60 %). D-xylóza (13,3 %) a L-arabínóza (5,7 %) boli zastúpené v menšej miere.



Obr. 4 Obsah D-glukózy, D-xylózy a L-arabínózy v dreve vrby bielej.
Fig. 4 Content of D-glucose, D-xylose and L-arabinose in willow wood.

Pomer hexóz k pentózam v tuhom zvyšku po horúcovodnej predhydrolyze vyjadruje zmeny množstiev D-glukózy k neglukózovým sacharidom (D-xylózy a L-arabínózy) (Obr. 5). D-glukóza pochádza prevažne z celulózy, ale vyskytuje sa aj v hemicelulózach. D-xylóza a L-arabínóza sú monosacharidy výlučne hemicelulózovej zložky. Vypočítaný pomer narastá z dôvodu rýchlejšieho odbúravania neglukózových sacharidov vo všetkých časových intervaloch, pri ktorých vodná hydrolyza prebiehala. Zmeny hexóz k pentózam opisuje logaritmická závislosť $y = 4,2508\ln(x) - 8,6524$ ($R^2 = 0,9871$).



Obr. 5 Zmena pomeru hexóz k pentózam.
Fig. 5 Change of the ratio hexoses/pentoses.

ZÁVER

Zo stanovenia sacharidov v tuhých zvyškoch získaných po horúcovodnej predhydrolyze dreva vrby bielej pri teplote 180 °C a časoch 30, 60, 120 a 240 minút vyplývajú nasledovné závery:

- celkový obsah sacharidov bol v pôvodnom dreve vrby bielej stanovený na 79 %.

- v pôvodnom dreve aj v tuhom zvyšku boli zo sacharidov identifikované D-glukóza, D-xylóza a L-arabinóza,
- koncentrácia D-glukózy v tuhom zvyšku výrazne vzrastala do času úpravy 120 minút, potom sa už nemenila
- koncentrácia D-xylózy a L-arabinózy klesala so vzrastajúcim časom hydrolyzy, výraznejší pokles bol zaznamenaný v prvých 60 minútach,
- štatistickým vyhodnotením bol potvrdený signifikantný vplyv času na obsah všetkých stanovených sacharidov,
- pomer hexóz k pentózam v tuhom zvyšku vzrastal s časom úpravy, a to z dôvodu rýchlejšieho odbúravania hemicelulózy,

Zo získaných výsledkov môžeme konštatovať, že po vodnej predhydrolyze pri teplote 180 °C je na ďalšie enzymatické spracovanie z hľadiska obsahu sacharidov v tuhom zvyšku najvhodnejší čas úpravy 120 minút.

LITERATÚRA

- ASTM D 1107-96. Standard Test Method for Ethanol- Toulene Solubility of Wood.
- BINDER, J. B., RAINES, R. T. 2010. Fermentable sugars by chemical hydrolysis of biomass. In Proceedings of the National Academy of Sciences USA (PNAS), 2010, roč. 107, č. 10, s. 4516–4521.
- DAHLMAN, O., JACOBS, A., LILJENBERG, A., OLSSON, A. 2000. Analysis of carbohydrates in wood and pulps employing enzymatic hydrolysis and subsequent capillary zone electrophoresis. Journal of Chromatography, 2000, zv. 891, (1): 157–74.
- FANG, Z. 2011. Noncatalytic fast hydrolysis of wood. Bioresource Technology, 2011, 102: 3587–3590.
- FENGEL, D., WEGENER, G. 1984. Wood. Chemistry, Ultrastructure, Reactions. Berlin - New York : Walter de Gruyter, 1984. 613 s.
- HASHAIKEH, R., FANG, Z., BUTLER, I. S., HAWARI, J., KOZINSKI, J.A. 2007. Hydrothermal dissolution of willow in hot compressed water as a model for biomass conversion. Fuel, 2007, 86: 1614–1622.
- KAČÍK, F., KAČÍKOVÁ, D. 2007. Charakteristika a analýza celulózy a jej derivátov. Zvolen : Technická univerzita vo Zvolene, 2007. 93 s. ISBN 978-80-228-1819-3
- KUČEROVÁ, V., HALAJOVÁ, L., JAĎUĐOVÁ, K., LAUROVÁ, M. 2011. Evaluation of recycled fibers by hydrolysis. In Annals of Warsaw University of Life Sciences. Forestry and Wood Technology. Warszawa : Warsaw University of Life Sciences Press, 2011, s. 7–11. ISSN 1898-5912.
- LAUROVÁ, M. 2011. Hot-water prehydrolysis of willow wood. In Annals of Warsaw University of Life Sciences. Forestry and Wood Technology. Warszawa : Warsaw University of Life Sciences Press, 2011, s. 49–53. ISSN 1898-5912.
- LAUROVÁ, M., VACEK V. 2011. Vodná predhydrolyza brezy bradavičnatej (*Betula verrucosa* Ehrh.). Acta Facultatis Xylogiae Zvolen, 2011, 53(1): 77–86. ISSN 1336-3824.
- SEAMAN, J. F., MOORE, W. E., MITCHELL, R. L., MILLETT, M. A. 1954. Technique for the determination of pulp constituents by quantitative paper chromatography. Tappi journal, 37: 336–343.
- SLUITER A., HAMES B., RUIZ R., SCARLATA C., SLUITER J., TEMPLETON D., CROCKER D. 2011. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) [online]. 2011, [cit. 2011-08-21]. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory. Dostupné na internete: <http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/42618.pdf> (21.8.2011).
- SUN, Y., CHENG, J. 2002. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. Bioresource Technology, 2002, 83: 1–11.
- Tappi Method T-222 om-88 (1988). Acid-insoluble lignin in wood and pulp. TAPPI PRESS, Atlanta, GA.

TJEERDSMA B. F., MILITZ H. 2005. Chemical changes in hydrothermal treated wood: FTIR analysis of combined hydrothermal and dry heat-treated wood. Holz als Roh- und Werkstoff, 2005, 63: 102–111.

VARGA, L., BARTKO, M. 2010. Produkčný potenciál rýchlorastúcich drevín na Slovensku. In Rýchlorastúce dreviny–jeden z obnoviteľných zdrojov drevnej suroviny a energie. Zvolen : Národné lesnícke centrum vo Zvolene, 2010, s. 53–56. ISBN 978-80-08093-117-9.

XIAO, L. P., SUN, Z. J., SHI, Z. J., XU, F., SUN, R. C. 2011. Impact of hot compressed water pretreatment on the structural changes of woody biomass for bioethanol production. Bioresources, 2011, 6(2): 1576–1598.

PodĎakovanie

Táto štúdiá/publikácia vznikla vďaka podpore v rámci operačného programu Výskum a vývoj pre projekt: Dobudovanie centra excelentnosti: Adaptívne lesné ekosystémy, ITMS: 26220120049, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.“

Adresa autorov

Mgr. Viera Kučerová, PhD.

Ing. Eva Výbohová, PhD.

Technická fakulta vo Zvolene

Drevárska fakulta

Katedra chémie a chemických technológií

T.G. Masaryka 24

960 53 Zvolen

Slovensko

kucerovav@tuzvo.sk, vybohova@tuzvo.sk