

## VODNÁ PREDÚPRAVA AGÁTOVÉHO DREVA PRI TEPLOTE 180 °C

### AQUEOUS PRETREATMENT OF BLACK LOCUST WOOD AT THE TEMPERATURE OF 180 °C

František Kačík – Danica Kačíková – Eva Zenková

#### ABSTRACT

Black locust (*Robinia pseudoaccacia* L.) is an increasingly popular tree species for the production of woody biomass for bioenergy generation with short rotation plantation. Due to its potential to produce large amounts of biomass yields even on less productive lands, this tree species is especially suitable for marginal sites. Black locust wood is suitable for energy utilization either by direct combustion or by the production of bioethanol via hydrolysis.

In this paper the concentrations of carbohydrates in hydrolysates arising at the hot water pre-treatment of black locust wood at 180 °C during 5, 10, 20, 30 and 50 minutes are presented. Saccharides were analysed by the method of high performance liquid chromatography using Benson BP-800 Pb column according to the National Renewable Energy Laboratory (NREL) analytical procedure.

Maximum yields of carbohydrates were found at the hydrolysis time of 20 minutes ( $5.25 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). In the early stages of the process, mainly polysaccharides are released into the aqueous solutions which are further hydrolysed to monosaccharides. The predominant carbohydrate in solution was D-xylose, which is the main hemicellulose monosaccharide in black locust wood. The concentration of this carbohydrate in solution at 20-minute hydrolysis was  $4.03 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

**Keywords:** black locust, hydrolysis, liquid chromatography, saccharides.

#### ÚVOD

Rastlinná biomasa predstavuje významný zdroj na výrobu tzv. biopalív 2. generácie, pričom sa využívajú najmä rýchlorastúce dreviny a niektoré poľnohospodárske rastliny ako aj odpady z drevospracujúceho a poľnohospodárskeho priemyslu (lístie, kôra, slama ap.), čo nekonkuruje produkcii potravín. V súčasnosti je najdôležitejším produktom etanol, ktorý vzniká enzymatickou hydrolýzou sacharidov, ktoré sú hlavnou zložkou lignocelulózovej biomasy. Enzymatická hydrolýza je oveľa efektívnejšia, ak sa surovina podrobí najprv predúprave, ktorá rozruší pôvodnú štruktúru bunkových stien tak, že celulóza a zvyškové hemicelulózy sú prístupnejšie pôsobeniu enzýmov. Odstránenie väčšej časti hemicelulózy sprístupní celulózu enzýmom, zvýši porozitu bunkovej steny a rozštípe kovalentné väzby medzi lignínom a hemicelulózami. Účelom horúcovodnej predúpravy je teda v prvom rade získať maximálne množstvo monosacharidov z hemicelulózy (pri ich

minimálnej degradácii) a zároveň narušiť štruktúru celulózy pre následnú enzymatickú hydrolýzu.

Existuje niekoľko postupov predúpravy, pri ktorých sa používajú rôzne prostredia (voda, kyseliny, amoniak, organické rozpúšťadlá ap.), z ktorých každý má svoje výhody a nevýhody. V súčasnosti nie je známy univerzálny spôsob predúpravy, ktorý by bol optimálny pre všetky následné spôsoby spracovania lignocelulózovej biomasy, preto je v tejto oblasti potrebný ďalší výskum.

Medzi rýchlorastúce dreviny v stredoeurópskych podmienkach zaraďujeme tie, ktorých ročná objemová produkcia presahuje  $10 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ . Najväčšiu výmeru z týchto drevín na Slovensku zaberá agát biely (*Robinia pseudoacacia* L.) (33 000 ha), potom nasledujú topole (*Populus*) (21 000 ha) a nakoniec vrbu (*Salix*) (3 500 ha). Energetické porasty možno definovať ako špecifické typy intenzívnych porastov s krátkou rubnou dobou (2–20 rokov, diferencovane podľa drevín, klonov a stanovištných podmienok), ako aj porasty výmladkového pôvodu, v ktorých cieľová produkcia je zameraná na maximálnu dendromasy za čo najkratší časový úsek (ORAVEC *et al.* 2012).

Niektoré druhy rýchlorastúcich drevín sú v popredí záujmu pri skúmaní ich konverzie na biopalivá, napr. topol' a eukalyptus (ESTEGHLALIAN *et al.* 1997, GARROTE, PARAJÓ 2002, NEGRO *et al.* 2003, DJIOLEU *et al.* 2012, KAČÍK *et al.* 2012). Agát biely patrí medzi rýchlorastúce dreviny, ktorým sa v súčasnosti venuje malá pozornosť z hľadiska ich spracovania na etanol. Cieľom príspevku je preto informovať o horúcovodnej predúprave dreva agátu bieleho v procese jeho spracovania na sacharidy.

## EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

Z kmeňa agátu bieleho (*Robinia pseudoacacia* L.) vo veku 28 rokov sme pripravili piliny, ktoré sme presitovali a na hydrolýzu sme použili častice s veľkosťou 0,5 až 1,0 mm, ktoré sme hydrolyzovali v reaktore PARR 4561. Do reakčnej nádoby sme navážili 10 g vzorky (v prepočte na absolútne suchú vzorku) a pridali 200 ml destilovanej vody (hydromodul 1:20). Reakčnú nádobu uzavreli a vyhriali na teplotu  $180 \text{ }^\circ\text{C}$  v priebehu 20 minút. Dosiadnutú teplotu sme udržiavali počas 5, 10, 20, 30 a 50 minút, potom sme reakčnú nádobu čo najrýchlejšie ochladili v nádobe so studenou vodou a ľadom. Každú várku sme vykonali dvakrát a hydrolyzáty sme analyzovali paralelne, takže pri každej úrovni úpravy sme získali 4 výsledky.

### **Stanovenie monosacharidov, oligosacharidov a polysacharidov**

Alikvotnú časť z hydrolyzátu sme odpipetovali do slzovitej banky a upravili jej hodnotu pH na 7 pridaním roztoku hydroxidu sodného (NaOH). Vzorku sme po filtrácii použili na chromatografické stanovenie monosacharidov v hydrolyzátoch (SLUITER *et al.* 2011).

V druhej časti hydrolyzátoch sme po zhydrolyzovaní glykozidových väzieb v uvoľnených nízkomolekulových fragmentoch polysacharidov stanovili celkový obsah uvoľnených sacharidov. K 5 ml hydrolyzátu sme pridali 0,42 ml koncentrovanej kyseliny sírovej (96 %), nasledovala 4-hodinová hydrolýza vo vriacom vodnom kúpeli pod spätným chladičom. Po ochladení sme vzorku preniesli do odmernej banky (25 ml) a doplnili destilovanou vodou po značku. Z odmernej banky sme odpipetovali 5 ml roztoku a pridaním roztoku hydroxidu sodného (NaOH) sme upravili pH na hodnotu 7. Potom sme vzorku prefiltrovali a použili na chromatografické stanovenie celkového množstva sacharidov v hydrolyzátoch (SLUITER *et al.* 2011). Oligosacharidy sme stanovili ako

rozdiel celkových sacharidov a monosacharidov (ARA – arabinóza, XYL – xylóza, MAN – manóza, GLC – glukóza, GAL – galaktóza).

Sacharidy v hydrolyzátoch boli stanovené podľa metódy NREL (SLUITER *et al.* 2011) vysokoúčinnou kvapalinovou chromatografiou (HPLC) za nasledovných podmienok:

Kolóna:	Benson BP-800 Pb
Detektor:	RI
Mobilná fáza:	deionizovaná voda
Prietok mobilnej fázy:	0,6 ml. min. <sup>-1</sup>
Teplota:	80 °C
Injekovaný objem:	20 µl

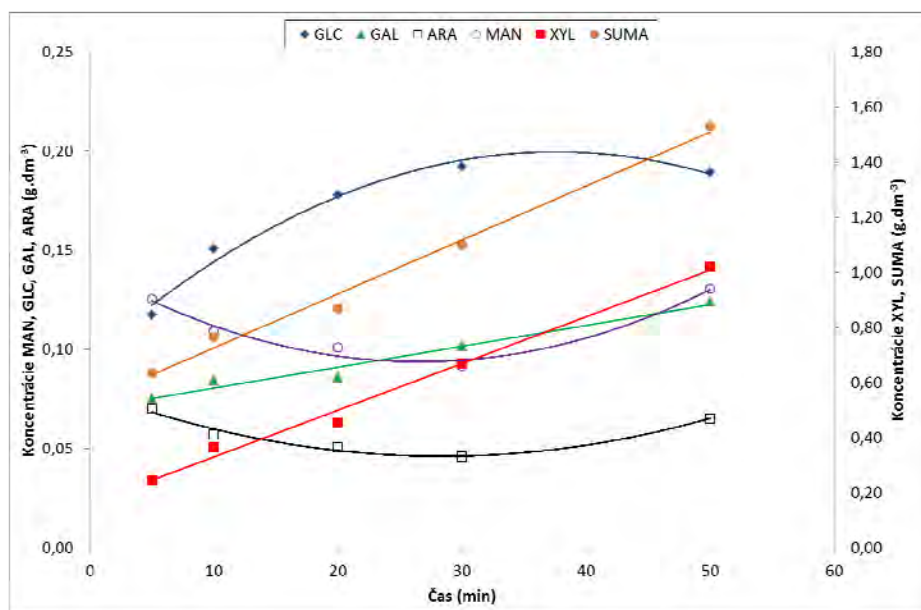
Množstvo jednotlivých sacharidov bolo stanovené metódou externého štandardu (celobióza).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri hydrolýze agátového dreva prechádzajú do roztoku jednotlivé monosacharidy v závislosti od ich množstva v pôvodnej vzorke, prístupnosti hydrolytického činidla a rýchlosti hydrolýzy.

Agát obsahuje 50,1% celulózy, 23,7% pentózanov, 20,6% lignínu, 2,8% extraktívnych látok a 0,3% popola. Celkový polysacharidový podiel (holocelulóza) dosahuje hodnotu 81,7%. Z neglukózových sacharidov sa v hemicelulózach agátového dreva vyskytuje manóza (2,2%), xylóza (16,7%), galaktóza (0,8%) a arabinóza (0,4%) (FENGEL, WEGENER 2003). Podľa GARLOCK *et al.* (2012) agátové drevo obsahuje 37,35% glukánu, 17,82% xylánu, 0,83% arabinánu, 21,19% lignínu, 1,79% popola a 5,28% extraktívnych látok. Cieľom predúpravy horúcou vodou je odstrániť väčšiu časť hemicelulóz z pôvodnej suroviny, preto je možné v hydrolyzátoch očakávať výskyt najmä xylózy s menšími množstvami manózy, galaktózy a arabinózy. Glukóza do roztoku môže prechádzať čiastočne z hemicelulóz a čiastočne z amorfnej časti celulózy.

Z obr. 1 vyplýva, že pri hydrolýze agátového dreva dochádza k zvyšovaniu koncentrácie monosacharidov v hydrolyzátoch s predlžujúcim sa časom pôsobenia. Dominantným sacharidom je xylóza, ktorá sa uvoľňuje hydrolýzou xylánov, v menšej miere sa v hydrolyzátoch nachádza glukóza, ktorá vzniká z hemicelulóz glukánového typu a hydrolýzou amorfnej časti celulózy. Ostatné sacharidy sa vyskytujú v nižších koncentráciách, čo je spôsobené ich menším zastúpením vo východiskovej surovine. Koncentrácie galaktózy, xylózy ako aj celkové množstvo monosacharidov v hydrolyzátoch lineárne vzrastajú, koncentrácie manózy a arabinózy prechádzajú minimom. Glukóza dosahuje maximum koncentrácie v čase 30 min a pri ďalšom pôsobení jej množstvo v roztoku zostáva konštantné. Pozorované rozdiely v priebehu koncentrácií jednotlivých sacharidov sú zapríčinené pravdepodobne ich rozdielnym zastúpením vo východiskovej surovine, rozdielnou prístupnosťou pre hydrolytické pôsobenie, rozličnou rýchlosťou hydrolýzy ich polymérnych foriem ako aj rozdielnou rýchlosťou degradácie vzniknutých monomérov na ďalšie produkty (aldehydy, kyseliny ap.). Závislosti koncentrácií jednotlivých monosacharidov v závislosti od času horúcovodnej predúpravy sú v tab. 1.



Obr. 1 Koncentrácie monosacharidov v hydrolyzátoch z agátového dreva.  
Fig. 1 Concentration of monosaccharides in hydrolysates of black locust wood.

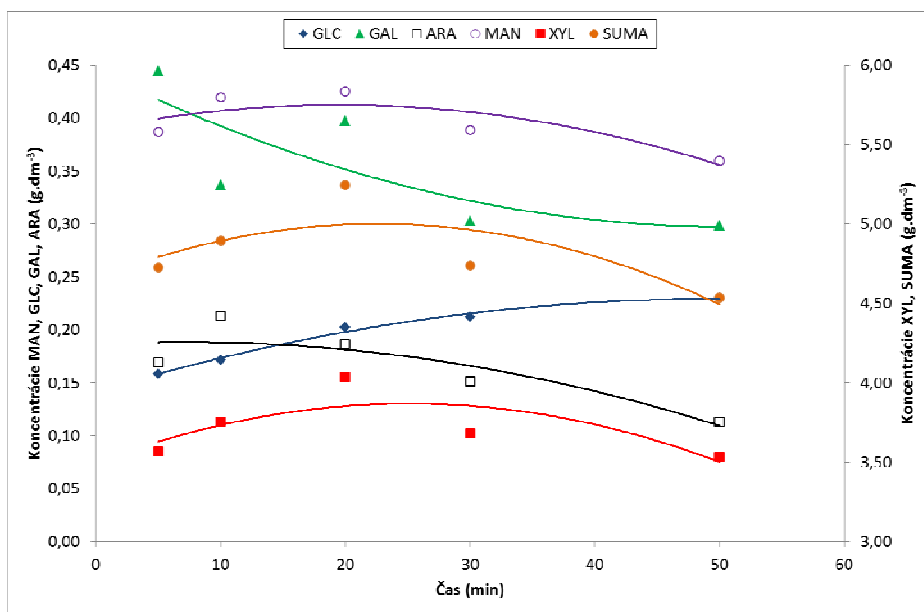
Tab. 1 Závislosti koncentrácií monosacharidov a sumy monosacharidov.  
Tab. 1 Equations of monosaccharide concentrations.

Sacharid	Rovnica	Koeficient determinácie
Xylóza	$y = 0,0169x + 0,1617$	$R^2 = 0,9907$
Galaktóza	$y = 0,0011x + 0,0701$	$R^2 = 0,9697$
Manóza	$y = 7E-05x^2 - 0,0035x + 0,1404$	$R^2 = 0,9691$
Arabinóza	$y = 4E-05x^2 - 0,0023x + 0,079$	$R^2 = 0,9629$
Glukóza	$y = -7E-05x^2 + 0,0055x + 0,0967$	$R^2 = 0,9809$
Suma	$y = 0,0195x + 0,5313$	$R^2 = 0,9896$

Pri hydrolýze topoľového dreva do roztoku prechádzajú monosacharidy aj polysacharidy (ktoré sa spoločne stanovujú a vyjadrujú sa ako celkové množstvo sacharidov), ich sumárne hodnoty koncentrácií sú znázornené na obr. 2. Z grafu vyplýva, že množstvo xylózy prechádza maximom, koncentrácie ostatných sacharidov sa mierne zvyšujú. Pokles xylózy môže byť spôsobený jej dehydratáciou na 2-furaldehyd. Podobné závislosti boli pozorované pri hydrolýze rôznych druhov biomasy (GARROTE *et al.* 1999ab, 2001, GARROTE, PARAJÓ 2002, LAUROVÁ *et al.* 2009, KAČÍK, LAUROVÁ 2010, KAČÍK *et al.* 2012).

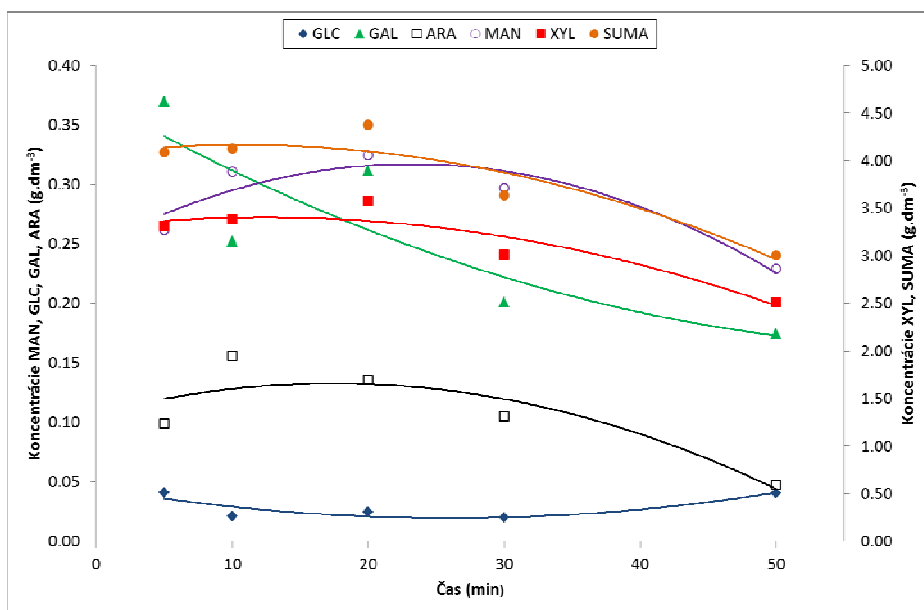
Tab. 2 Závislosti koncentrácií celkových sacharidov a ich sumy.  
Tab. 2 Equations of total saccharide concentrations.

Sacharid	Rovnica	Koeficient determinácie
Xylóza	$y = -0,0006x^2 + 0,0298x + 3,4945$	$R^2 = 0,5752$
Galaktóza	$y = 6E-05x^2 - 0,0058x + 0,4451$	$R^2 = 0,6045$
Manóza	$y = -6E-05x^2 + 0,0024x + 0,3893$	$R^2 = 0,7276$
Arabinóza	$y = -4E-05x^2 + 0,0006x + 0,1863$	$R^2 = 0,7786$
Glukóza	$y = -4E-05x^2 + 0,0035x + 0,1416$	$R^2 = 0,9903$
Suma	$y = -0,0007x^2 + 0,0305x + 4,6568$	$R^2 = 0,5790$



**Obr. 2** Koncentrácie celkových sacharidov v hydrolyzátoch z agátového dreva.  
**Fig. 2** Concentration of total saccharides in hydrolysates of black locust wood.

Na obr. 3 sú prezentované koncentrácie jednotlivých sacharidov v ich polymérnej forme. Z uvedených údajov vyplýva, že xylóza sa v začiatkových fázach hydrolýzy uvoľňuje do roztoku najmä vo forme polysacharidov, predĺženie hydrolýzy spôsobuje pokles prítomnosti xylánov v hydrolyzáte. Podobné závery dosiahli aj iní autori (JOSEFSSON *et al.* 2002, NEGRO *et al.* 2003, SUN, CHENG 2005).

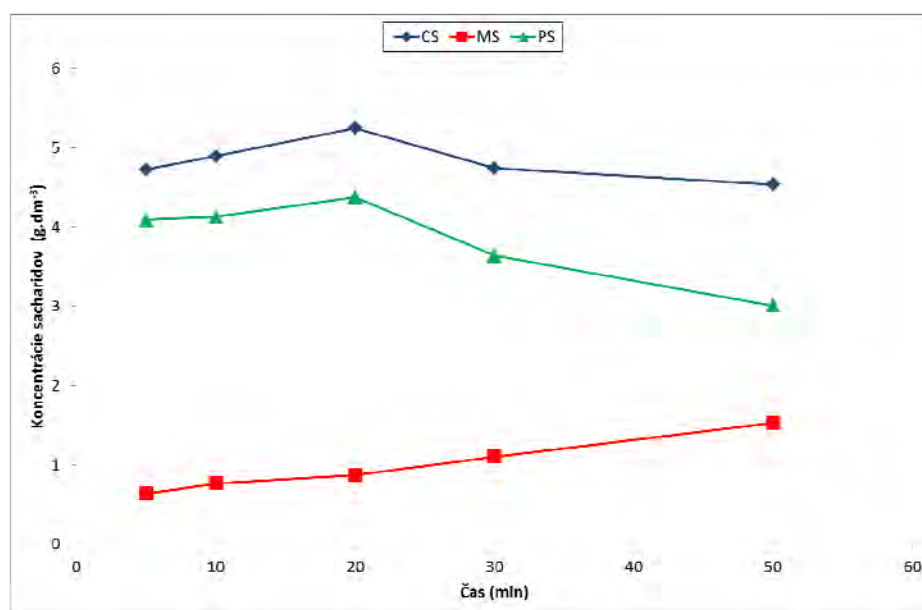


**Obr. 3** Koncentrácie polysacharidov v hydrolyzátoch z agátového dreva.  
**Fig. 3** Concentration of polysaccharides in hydrolysates of black locust wood.

**Tab. 3 Závislosti koncentrácií polysacharidov.**  
**Tab. 3 Equations of polysaccharide concentrations.**

Sacharid	Rovnica	Koeficient determinácie
Xylóza	$y = -0,0007x^2 + 0,0163x + 3,3021$	$R^2 = 0,8777$
Galaktóza	$y = 5E-05x^2 - 0,0065x + 0,3718$	$R^2 = 0,7123$
Manóza	$y = -0,0001x^2 + 0,0059x + 0,2489$	$R^2 = 0,8832$
Arabinóza	$y = -8E-05x^2 + 0,0029x + 0,1073$	$R^2 = 0,7859$
Glukóza	$y = 4E-05x^2 - 0,0019x + 0,0448$	$R^2 = 0,7634$
Suma	$y = -0,0008x^2 + 0,0167x + 4,0749$	$R^2 = 0,8804$

Na obr. 4 sú znázornené sumárne koncentrácie sacharidov v hydrolyzátoch topoľového dreva v rôznych formách. Z nameraných hodnôt vyplýva, že v prvých etapách hydrolyzného pôsobenia do roztoku prechádzajú sacharidy prevažne vo svojej polymérnej forme, neskôr sa začínajú rýchlejšie hydrolyzovať na monomérnu formu a čiastočne aj degradovať na 2-furaldehyd. Medzi karbonylovými zlúčeninami v hydrolyzátoch rôznych druhov drevín boli identifikované látky z benzenoidnej časti dreva, ale aj zlúčeniny vznikajúce rozkladom sacharidov: vanilín, syringaldehyd, 2-furaldehyd, 5-hydroxymetyl-2-furaldehyd, kyselina levulová, p-hydroxybenzaldehyd, kyselina vanilová, kyselina syringová a p. (ESTEGHLALIAN *et al.* 1997, KAČÍK 2002, KAČÍK *et al.* 2006).



**Obr. 4 Sumárne koncentrácie celkových sacharidov (CS), polysacharidov (PS) a monosacharidov (MS) v hydrolyzátoch agátového dreva.**

**Fig. 4 Sum of concentrations of total saccharides (CS), polysaccharides (PS) and monosaccharides (MS) in hydrolysates of black locust wood.**

Maximálne koncentrácie sacharidov boli stanovené pri trvaní predúpravy 20 minút a to  $5,25 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Podobné hodnoty boli zistené pri hydrolyze topoľového dreva za rovnakých podmienok úpravy ( $180 \text{ }^\circ\text{C}$ , hydromodul 1:20, trvanie predúpravy 30 min, koncentrácia sacharidov  $5,93 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). Z tohto hľadiska by bolo možné považovať agát za porovnateľnú surovinu na hydrolyzne spracovanie. Agát však obsahuje látky, ktoré pôsobia inhibične pri následnej enzymatickej hydrolyze a niektorí autori odporúčajú

pri predúprave použiť explóziu vlákien amoniakom (AFEX) (GARLOCK *et al.* 2012, CHUNDAWAT *et al.* 2013).

## ZÁVER

Agátové drevo je vhodnou surovinou na energetické využitie. Prvým krokom pri jeho výrobe je predúprava vodou, zriedenými kyselinami alebo amoniakom za zvýšenej teploty. V tomto stupni sa hydrolyzujú hemicelulózy a sprístupňuje sa kryštalický podiel celulózy pre následnú enzymatickú hydrolyzu.

V predloženom príspevku je prezentované zloženie sacharidov v hydrolyzátoch po horúcovodnej predúprave agátového dreva pri teplote 180 °C a trvaní 5, 10, 20, 30 a 50 minút. Maximálne koncentrácie sacharidov boli zistené pri trvaní hydrolyzy 20 minút (5,25 g·dm<sup>-3</sup>). V prvých etapách pôsobenia sa do hydrolyzátu uvoľňovali najmä polysacharidy, ktoré sa vo vodnom roztoku ďalej hydrolyzovali na monomérnu formu a pravdepodobne aj čiastočne degradovali na 2-furaldehyd. Dominantným sacharidom v roztoku bola D-xylóza, ktorá je aj hlavným monosacharidom v hemicelulózach agátového dreva a jej koncentrácia v roztoku bola pri 20 minútovej hydrolyze 4,03 g·dm<sup>-3</sup>.

## LITERATÚRA

- DJIOLEU, C., ARORA, A., MARTIN, E. M., SMITH, J. A., PELKKI, M. H., CARRIER, D. J. 2012. Sugar Recovery from the Pretreatment/Enzymatic Hydrolysis of High and Low Specific Gravity Poplar Clones. In *Agric. Food Anal. Bacteriol.* 2, 2,121–131.
- ESTEGHLALIAN, A., HASHIMOTO, A. G., FENSKE, J. J., PENNER, M. H. 1997. Modeling and optimization of the dilute - sulfuric - acid pretreatment of corn stover, poplar and switchgrass. *Bioresource Technology*, 59(2–3): 129–136.
- FENGEL, D., WEGENER, G. 2003. *Wood. Chemistry, Ultrastructure, Reactions.* Verlag Kessel, Remagen, 613 s. ISBN 3-935638-39-6
- GARLOCK, R. J., WONG, Y. S., BALAN, V., DALE, B. E. 2012. AFEX pretreatment and enzymatic conversion of black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) to soluble sugars. *BioEnergy Research*, 5(2): 306–318.
- GARROTE, G., DOMÍNGUEZ, H.,PARAJÓ, J. C. 1999a. Hydrothermal processing of lignocellulosic materials. *Holz als Roh-und Werkstoff*, 57(3): 191–202.
- GARROTE, G., DOMÍNGUEZ, H.,PARAJÓ, J. C. 1999b. Mild autohydrolysis: an environmentally friendly technology for xylooligosaccharide production from wood. *Journal of Chemical technology and Biotechnology*, 74(11): 1101–1109.
- GARROTE, G.,PARAJÓ, J. C. 2002. Non-isothermal autohydrolysis of Eucalyptus wood. *Wood Science and Technology*, 36(2): 111–113.
- CHUNDAWAT, S. P. S., BALS, B., CAMPBELL, T., SOUSA, L., GAO, D., JIN, M., ERANKI, P., GARLOCK, R., TEYMOURI, F., BALAN, V. AND DALE, B. E. 2013. Primer on Ammonia Fiber Expansion Pretreatment, In *Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals* (ed C. E. Wyman), John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, s. 169–200.
- JOSEFSSON, T., LENNHOLM, H.,GELLERSTEDT, G. 2002. Steam explosion of aspen wood. Characterisation of reaction products. *Holzforschung*, 56(3): 289–297.
- KAČÍK, F. 2002. Tvorba a chemické zloženie hydrolyzáto v systéme drevo – voda - teplo. In *Vedecké štúdie 7/2001/A*. Zvolen : Technická univerzita vo Zvolene, 75 s. ISBN 80-228-1098-3.
- KAČÍK, F., LAUROVÁ, M. 2010. Vplyv kvality dreva na vlastnosti produktov hydrolyzy rýchlorastúcich drevín. In: ed. Kurjatko, S. et al.: *Parametre kvality dreva určujúce jeho finálne použitie*. Zvolen : Vydavateľstvo TU vo Zvolene, 2010, s. 128–145. ISBN 978-80-22.

- KAČÍK, F., LAUROVÁ, M., VÝBOHOVÁ, E. 2006. Chromatografická analýza karbonylových zlúčenín vznikajúcich pri hydrolýze biomasy. In Zborník príspevkov z 3. vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou Environmentálne inžinierstvo. Košice : 12.–13. september 2006, s. 19–22, ISBN 80-8073-607-3
- KAČÍK, F., ĎURKOVIČ, J., SIVÁK, J. 2012. Analýza sacharidov vznikajúcich pri hydrolýze dreva *Populus × euramericana* 'I-214'. Acta Facultatis Xylogologiae Zvolen, 54(2): 23–30.
- LAUROVÁ, M., KAČÍK, F., SIVÁK, J. 2009. Water prehydrolysis of willow (*Salix alba* L.). Acta Facultatis Xylogologiae Zvolen, 51(1): 19–26.
- NEGRO, M.J., MANZANARES, P., BALLESTEROS, I., OLIVA, J.M., CABANAS, A., BALLESTEROS, M. 2003. Hydrothermal pretreatment conditions to enhance ethanol production from poplar biomass. Appl. Biochem. Biotechnol. 105: 87–100, ISBN 978-1-4612-6592-4.
- ORAVEC, M., BARTKO, M., SLAMKA, M. 2012. Postupy intenzifikácie produkcie drevnej biomasy na energetické využitie. Zvolen: Národné lesnícke centrum – Lesnícky výskumný ústav Zvolen, 2012, 65 s.
- 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). NREL/TP-510-42618. Golden, CO: National Renewable Energy Laboratory. Dostupné na internete: <<http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/42618.pdf>> (03.12.2013).
- SUN, Y., CHENG, J. J. 2005. Dilute acid pretreatment of rye straw and bermudagrass for ethanol production. Bioresource Technology, 96(14): 1599–1606.

### Pod'akovanie

Autori ďakujú agentúre VEGA za finančnú podporu pri riešení projektu 1/0454/12, v rámci ktorého vznikol prezentovaný príspevok.

### Adresa autorov

<sup>1</sup>Prof. RNDr. František Kačík, PhD.

<sup>2</sup>Doc. RNDr. Danica kačíková, PhD.

<sup>1</sup>RNDr. Eva Zenková

Technickej univerzity vo Zvolene

Drevárska fakulta

<sup>1</sup>Katedra chémie a chemických technológií

<sup>2</sup>Katedra protipožiarnej ochrany

T. G. Masaryka 24

960 53 Zvolen

kacik@tuzvo.sk

xzenkova@is.tuzvo.sk

kacikova@tuzvo.sk