

# **BIOTEHNOLOGIJA 2**

izv. prof. dr. sc. Sunčica Beluhan  
ak. god. 2015/16.

# **HIDROLIZA LIGNOCELULOZNIH SIROVINA**

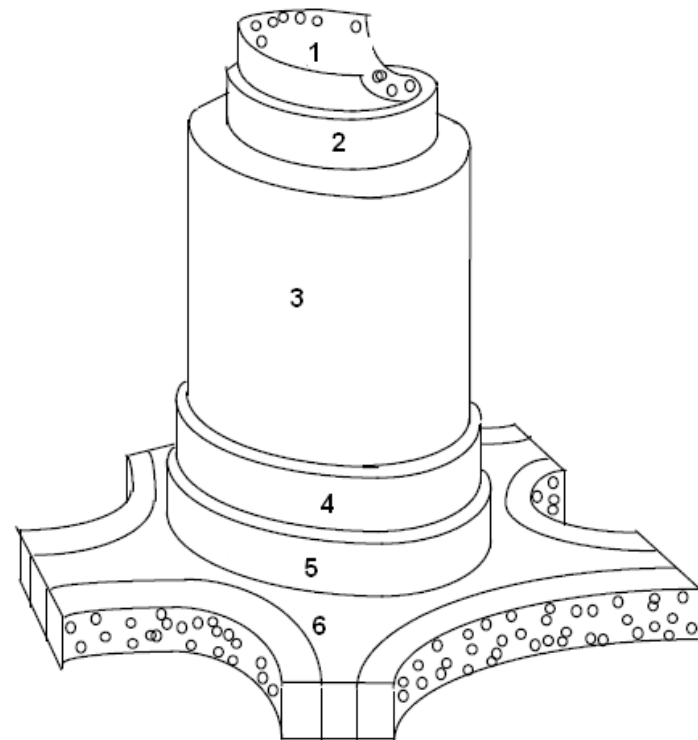
## Lignocelulozne sirovine (biomasa)



- drvenaste i nedrvenaste biljke,
- otpadni poljoprivredni i šumski otpatci (agrokulturni otpad)
- ostatci drvoprerađivačke i prehrambene industrije
- kruti komunalni otpad

# Građa biljnog vlakna

- 1 – lumen (šupljina)
- 2 – unutarnja sekundarna stijenka
- 3 – glavna sekundarna stijenka
- 4 – propusna lamela
- 5 – primarna stijenka
- 6 - središnja lamela



# Lignocelulozna biomasa



celuloza  
45 - 50 %

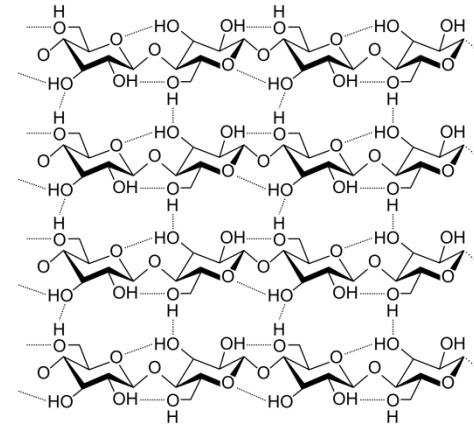
hemiceluloza  
20 - 25%

lignin  
20 - 25%

# Sastav lignocelulozne biomase

**CELULOZA:** 45-50 %

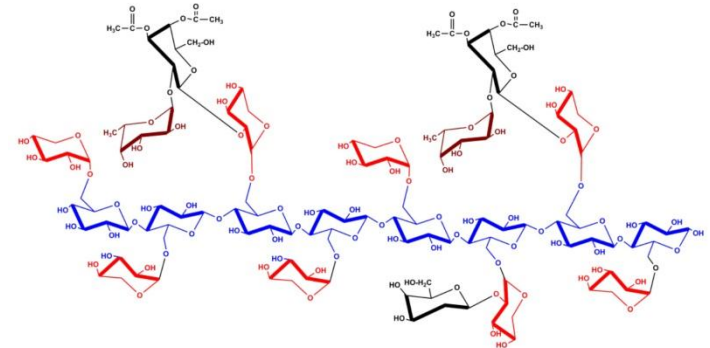
-polimer  $\beta$ -glukoze



**HEMICELULOZA:** 20-25 %

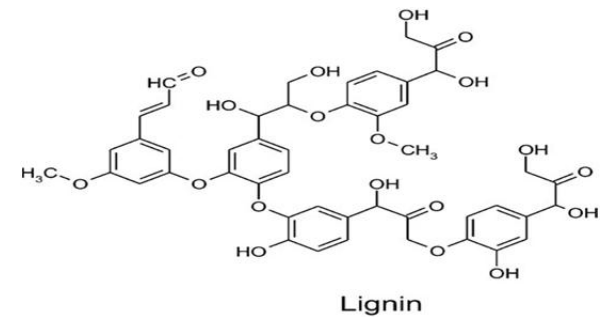
-polimer sastavljen od pentoza i heksoza

-ksiloza je najzastupljeniji šećer u biosferi



**LIGNIN:** 20-25 %

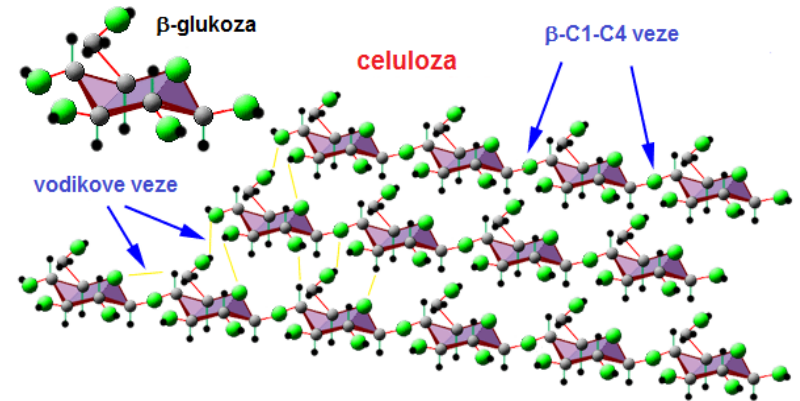
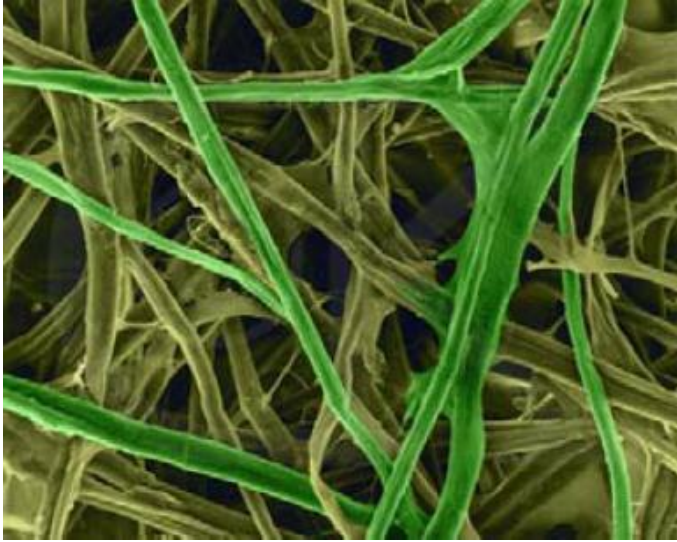
-kompleksna aromatska struktura



Tablica 1. Sastav lignocelulozne biomase

	<b>celuloza</b>	<b>Sastav (% s.tv.) lignoceluloza</b>	<b>lignin</b>	<b>pepeo</b>
kukuruzni oklasak	41	36	18	<1
kukuruzna slama	41	24	17	6
rižina slama	35	25	12	16
pšenična slama	40	25	23	10
šećerna trska	40	24	25	4

# CELULOZA

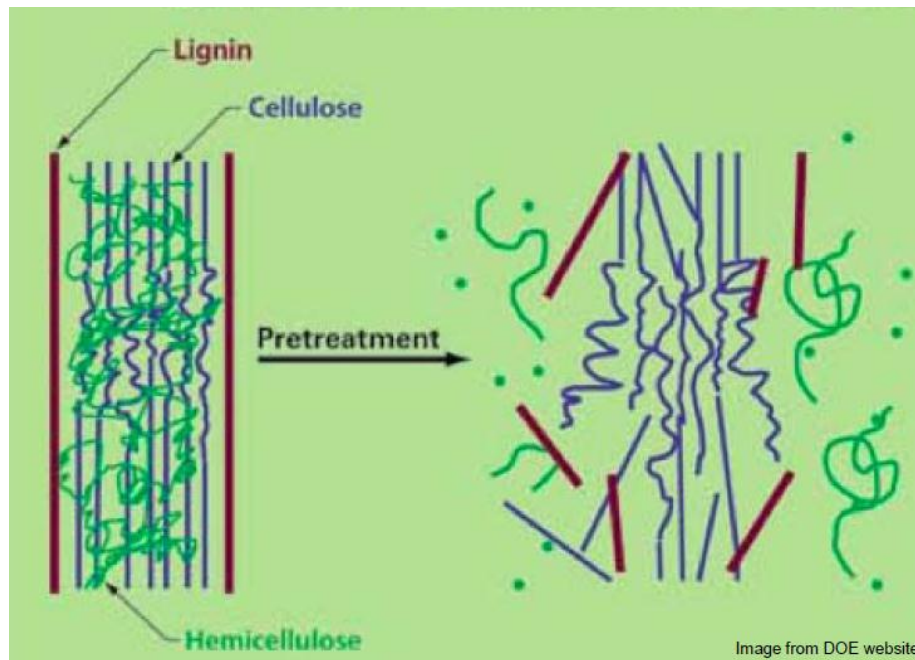


- linearni polimer  $\beta$ -glukoznih jedinica vezanih  $\beta$ -1,4 glikozidnim vezama
- približno 10 000 glukoznih jedinica po molekuli
- hidroliza kiselinom ili enzimski
- izrazito kristalične strukture



## Zbog čega je celulozu teško hidrolizirati?

- a) građa je pretežito kristalična (80 %), a udjel lako razgradljivih amornih sastojaka je mali (samo 15 %);
  - b) vlakna su obavijena ligninom, koji ih fizički štiti, a otporan je prema hidrolizi zbog nepravilne kemijske građe.
- prije hidrolize: celulozu osloboditi iz lignoceluloznog kompleksa  
- prevesti iz kristaličnog u amorfni oblik (**prethodna obrada**)



## Metode **prethodne obrade** (predtretmana)

1. Fizikalne (mehaničko usitnjavanje, djelovanje topline - piroliza),
2. Kemijske (ozonoliza, kiselinska ili alkalna hidroliza),
3. Fizikalno-kemijski postupci (autohidroliza, AFEX, eksplozija s CO<sub>2</sub>),
4. Biološki, odnosno enzimski postupci (ligninaze, celulaze, hemicelulaze).

# POSTUPCI PRETHODNE OBRADNE (PREDTRETMAN)

## 1. Fizikalni postupci

### A. Mehaničko usitnjavanje

**CILJ:** smanjenje kristaličnosti celuloze

-suho usitnjavanje – mlinovi čekićari

-ne mijenja se znatno udjel kristalične celuloze

-manje čestice (10-30 mm) – olakšana hidroliza

-mokro ili koloidno mljevenje:

- bolje usitnjavanje

- troškovi previsoki

-mljevenje u mlinovima: veličina čestica 0.2–2.0 mm

- **bolji učinak:** mljevenje uz istovremeno zagrijavanje na 200 do 240 °C (trenje)

## B. Piroliza

-dolazi do razgradnje organske tvari djelovanjem topline bez prisustva kisika ili nekog kemijskog reagensa, osim vodene pare

-na temperaturi iznad 300 °C celuloza se naglo razgrađuje

-pri nižim temperaturama razgradnja znatno sporija

## 2. Kemijski postupci

A. kiselinska hidroliza prvi put primijenjena 1913. u SAD

- hidroliza konc. kiselinama ( $H_2SO_4$ , HCl)

-**cilj**: uklanjanje lignina iz materijala

-**mane**: visoki troškovi procesa, neutralizacija supstrata

B. alkalna obrada- uklanjanje lignina

- NaOH u konc. iznad 8% (tež/tež) izaziva bubrenje biljnih stanica i depolimerizaciju celuloznih vlakana

- **mane**: veliki utrošak lužine, puno vode za ispiranje i veliki gubitak lignoceluloznog supstrata (do 25% s.tv.)

C. ozonoliza – **cilj** : razgradnja lignina i hemiceluloze

-ozon najbolje djeluje na lignin, slabije na hemicelulozu, najslabije na celulozu

-**prednosti**: nema kemijskih reagenasa;

-**mana**: postupak nije ekonomičan

## D. Oksidativna delignifikacija

- biodegradacija lignina katalizirana djelovanjem peroksidaze u prisutnosti  $\text{H}_2\text{O}_2$
- 2 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  pri 30 °C tijekom 8 sati
- 50 % lignina i veći dio hemiceluloze se pretvara u topljivu frakciju

### 3. Fizikalno-kemijski postupci

#### A. Autohidroliza

- eksplozija vodenom parom, najčešće korišten postupak predobrade lignocelulozne biomase

1. podvrgavanje usitnjenog materijala zasićenoj pari (temp. 160-260 °C) tijekom 1 minute pri visokom tlaku (0.69 – 4,83 MPa); slijedi naglo smanjenje tlaka – eksplozivna dekompresija materijala

2. tekuća vrela voda: djelovanje vrele voda pod tlakom i temperaturom od 170-230 °C/46 minuta

-dolazi do djelomične hidrolize hemiceluloze, potpuna depolimerizacija lignina

-**prednosti**: mali troškovi procesa

-**mane**: gubici ksilana, moguća tvorba inhibitora hidrolize i fermentacije.

## **B. Eksplozija vlakana amonijakom (AFEX)**

- jedina metoda za predobradu trava
- podvrgavanje biomase djelovanju tekućeg amonijaka u kratkom vremenu (30 min) pri 90 °C
- ne otapa se u potpunosti hemiceluloza; uspješna depolimerizacija lignina
- skup postupak zbog zahtjevnog uklanjanja amonijaka, smanjenje troškova reciklacijom amonijaka

## **C. Eksplozija s CO<sub>2</sub>**

- slično autohidrolizi i AFEX-u
- 4 kg CO<sub>2</sub>/kg supstrata; tlak 5,62 MPa
- dobri rezultati s recikliranim papirom, jeftiniji od AFEX-a



## 4. Biološki (enzimski) postupci

- primjena viših gljiva (*Pleurotus ostreatus*) za razgradnju lignina iz drveća
- celulaze (*Trichoderma reesei*, *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Streptomyces*, itd.)
- 1993. dokazano da neke plijesni proizvode enzim ligninazu koji razgrađuje lignin velikom brzinom
- za razliku od drugih oksidaza, mogu razgrađivati lignin bez atmosferskog kisika (peroksidaza – oduzima po 1 e<sup>-</sup> iz arilnog prstena)
- sve veća primjena u procesima izdvajanja celuloze i glukoze iz lignoceluloznih supstrata.

# HIDROLIZA (OŠEĆERENJE) CELULOZE I PROIZVODI HIDROLIZE

## Glavni cilj:

- ekonomski prihvatljiv postupak prevođenja oslobođene celuloze u glukoze
- hidroliza do glukoze moguća kemijskim ili enzimskim postupcima

## 1.Kemijska hidroliza

Prvi postupak: otapanje drveta s HF

- dobivaju se fluorirani šećeri, a zatim obrađuju slabom kiselinom
- time se šećerni oligomeri prevode u monomere

Drugi postupak: bubrenje celuloze pomoću zas. otopine  $\text{CaCl}_2$ , te hidroliza plinovitom HCl pri niskoj temperaturi

- dobiva se 45 %-tna otopina glukoze, a  $\text{CaCl}_2$  se izdvaja elektroosmozom

## 2. Enzimaska hidroliza celuloze

– kvasci iz roda *Trichoderma* (*T. reesei*, *T. viride* i *T. konigii*)

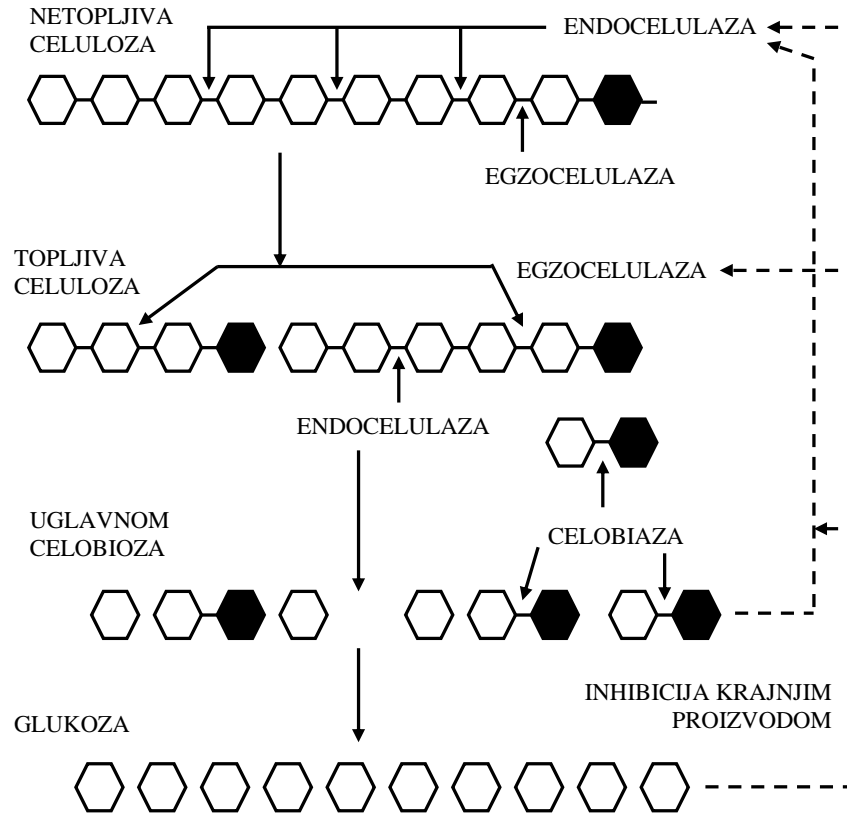
-posjeduju potpun celulazni sustav koji čine **3 enzima**:

1. **Egzo- $\beta$ -1,4-glukanaza** ili  $\beta$ -1,4-glukanocelobiohidrolaza, također poznata kao celobiohidrolaza, avicelaza ili C1 celulaza,

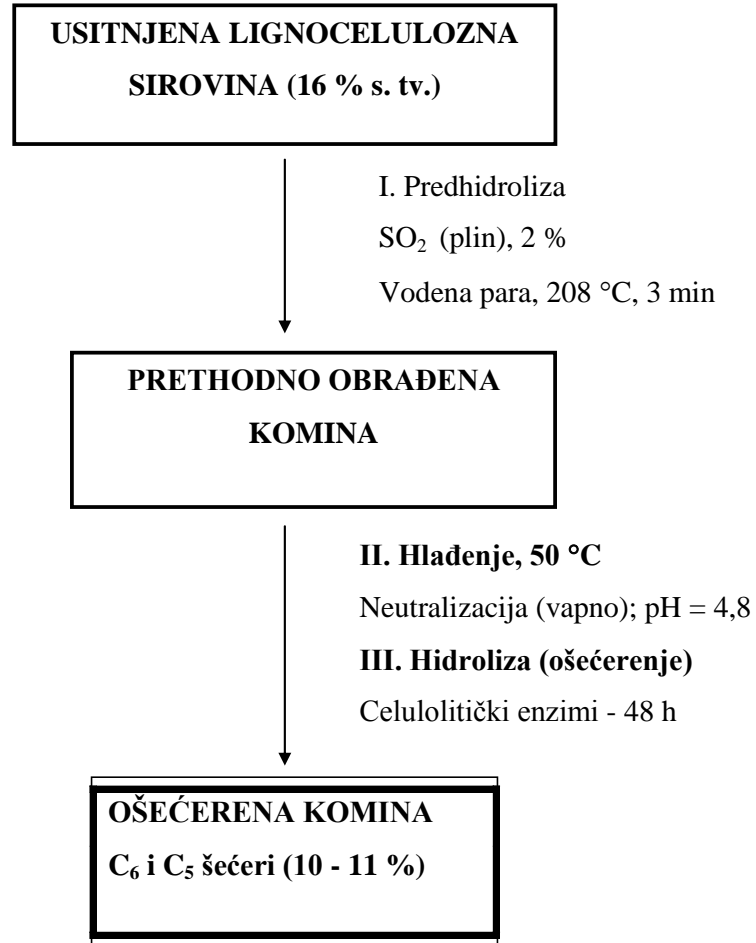
2. **Endo- $\beta$ -1,4-glukanaza** ili  $\beta$ -1,4-glukanoglukanohidrolaza, također poznata kao karboksimetil celulaza ili Cx celulaza,

3.  **$\beta$ -1,4-glukozidaza** ili celobiaza.

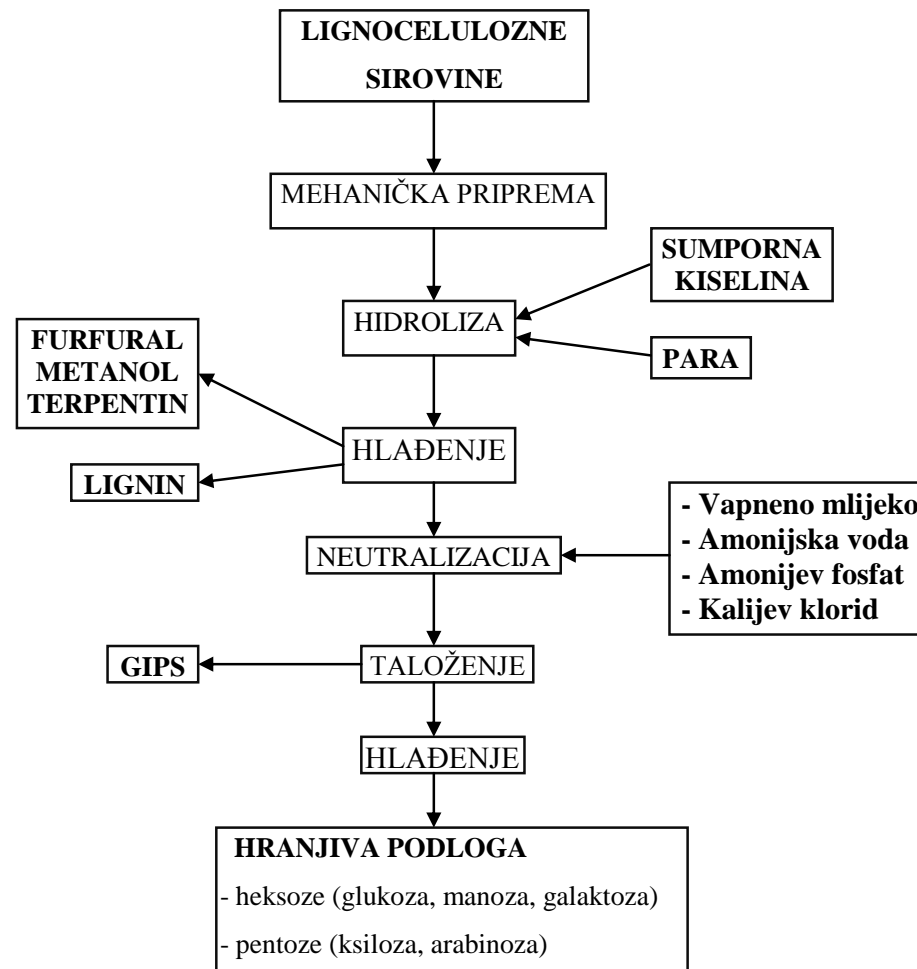
# Shematski prikaz enzimske hidrolize celuloze



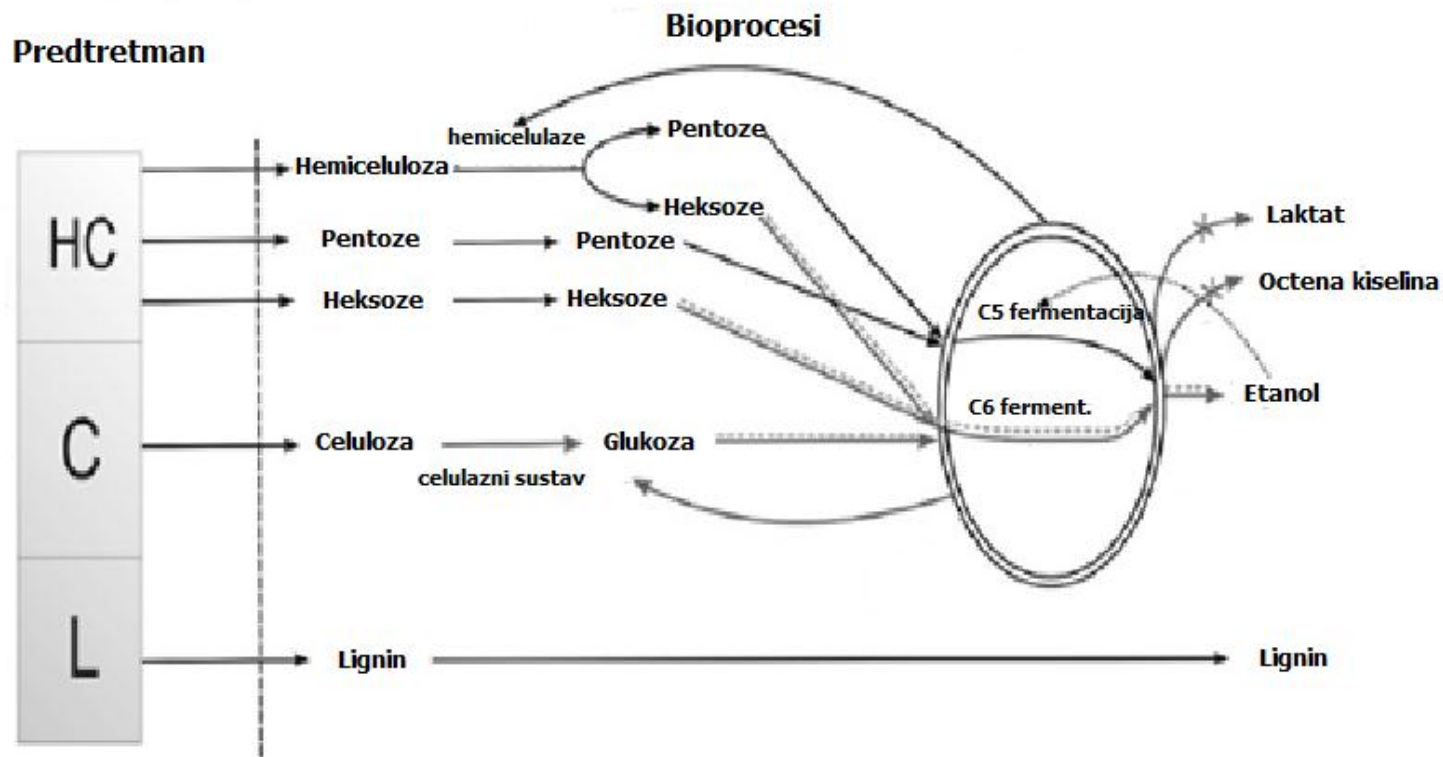
# Shematski prikaz enzimске hidrolize lignocelulozних sirovina



# Shematski prikaz kemijske hidrolize lignoceluloznih sirovina za proizvodnju etanola



# Shematski prikaz sjedinjenih bioprocеса proizvodnje etanola iz lignoceluloznih sirovina



# Biokonverzija lignoceluloznih materijala u proizvode više dodane vrijednosti (Howard i sur., 2003)

