



INVAZIVNE RASTLINE – POTENCIALNO UPORABEN VIR CELULOZE IN LIGNINA

INVASIVE PLANTS – POTENTIALLY APPLICABLE SOURCE OF CELLULOSE AND LIGNIN

Monika HORVAT¹, Janja ZULČ², Ema FABJAN², Jernej ISKRA¹

IZVLEČEK

Ocenili smo možnost pridobivanja celuloze in lignina z delignifikacijo stebelne biomase invazivnih rastlin japonskega dresnika, rudbekije in octovca. Pridobljene vzorce biomase, ki so vsebovali med 37 % in 41 % celuloze, smo delignificirali po sulfatnem postopku, določili izkoristek vlaken, nastalo ligninsko lužnico pa ekstrahirali z diklorometanom, s čimer smo ločili aromatsko frakcijo od preostalega bolj polarne delu in sladkorjev. Lignin je zanimiv, saj predstavlja edini vir aromatskih spojin v naravi in je osnova za kemijsko pretvorbo v vanilin in druge uporabne kemikalije. Prisotnost lignina v ekstraktih smo potrdili z UV-VIS absorpcijsko spektrometrijo. Rezultati so pokazali, da je možno biomaso omenjenih invazivk pretvoriti v uporabne produkte, in sicer celulozna vlakna, lignin in ligninske derivate.

Ključne besede: invazivne rastline, delignifikacija, celulozna vlakna, lignin, vanilin

ABSTRACT

We evaluated the possibility of cellulose and lignin isolation from stem biomass of invasive plants Japanese knotweed, rudbeckia and rhus. The obtained samples, which contained from 37% to 41% of cellulose, were delignified according to the sulphate procedure. Fibre yield was determined, while the remaining lignin liquor was extracted with dichloromethane to separate aromatic fraction from other more polar components and sugars. Lignin is interesting as the only natural source of aromatic compounds and thus represents a starting material for chemical conversion to vanillin and other usable chemicals. Lignin presence in extracts was confirmed by the UV-VIS absorption spectrometry. The results indicated that the biomass of the examined invasive species could be converted to usable products, e.g. cellulose fibres, lignin and lignin derivatives.

Keywords: invasive plants, delignification, cellulose fibres, lignin, vanillin

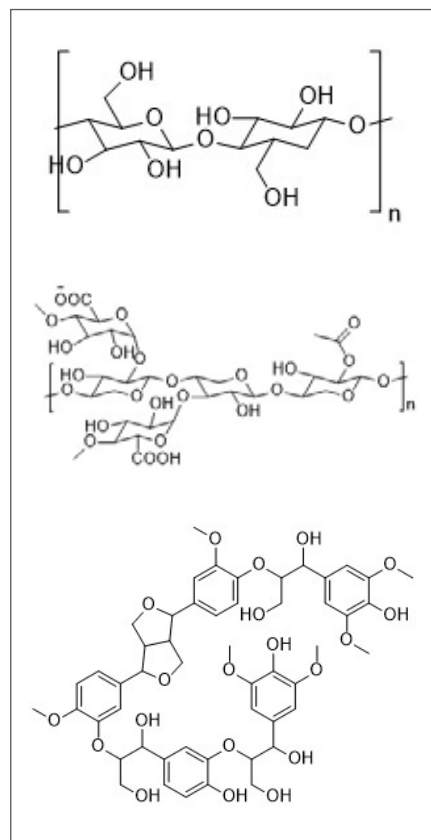
1 UVOD

V zadnjem času se zaradi okoljske problematike veliko pozornosti usmerja na pridobivanje energetskih virov, goriv in številnih uporabnih kemikalij iz naravnih materialov. Pri pridobivanju spojin iz narave je treba upoštevati, da se pri tem ne vpliva negativno na ekosistem, da se ne izrabljajo materiali, ki so uporabni kot vir prehrane, ter da izkoriščen material kontinuirno zagotavlja vir rastlinske biomase v naravi [1–3].

Invazivne tujerodne rastline se razmnožujejo in razširjajo zunaj njihovega območja naravne razširjenosti, s čimer ogrožajo ekosisteme, habitate, gospodarstvo ter biotsko raznovrstnost. Velikokrat postanejo tujerodne rastline tekmeči domorodnim vrstam za življenjski prostor, hrano ter druge vire. Na določeno območje so vnesene s človekovim posrednim ali neposrednim vplivom. Invazivne tujerodne vrste postajajo vedno večji problem tudi v Sloveniji in jih je treba odstranjevati [4]. Vendar je lesna biomasa invazivnih tujerodnih rastlinskih vrst zanimiva za predelavo v papir in druge materiale na osnovi celuloznih vlaken, prav tako pa se lahko uporabljajo tudi stebela enoletnih rastlin.

Lignocelulozna biomasa je v osnovi sestavljena iz celuloze, hemiceluloze in lignina (Slika 1). Delež posameznih komponent je odvisen od rastlinskega

materiala, od rastlinske vrste, dela rastlinskega materiala in tudi od starosti rastline [5].



Slika 1: Struktura celuloze, hemiceluloze in lignina
Figure 1: Cellulose, hemicellulose and lignin structures

Pri izdelavi papirja se uporabi predvsem celulozni del biomase, medtem ko predstavljata preostali sestavini, in sicer del hemiceluloze in lignin, »odpadek«, ki pa je hkrati tudi dragocena surovina. Lignin se v procesu kemične obdelave biomase hidrolizira in raztopi ter izloči v obliki odpadne lužnice [6].

V okviru projekta *Applause*, »Od škodljivih do uporabnih tujerodnih rastlin z aktivnim vključevanjem prebivalcev«, ki ga financira Evropska skupnost preko programa Urban Innovative Actions, skušamo pokazati, kako lahko invazivne tujerodne rastline uporabimo tudi v koristne namene. V raziskavo smo med drugim zaradi njihove invazivnosti in razširjenosti vključili tudi japonski dresnik, rudbekijo in octovec. Iz debla octovca ter stebel japonskega dresnika in rudbekije se lahko s pomočjo delignifikacije proizvede celuloza za proizvodnjo papirja. Hkrati nastaja ligninska lužnica, ki je potencialna surovina za pridobivanje aromatskih spojin.

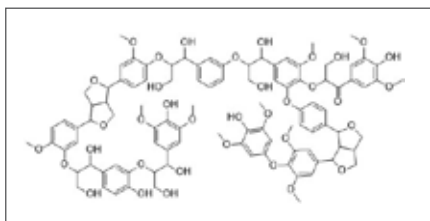
Japonski dresnik (*Fallopia Japonica*) je invazivna tujerodna rastlina iz družine Polygonaceae (Slika 2), ki izvira iz vzhodnega dela Azije (Japonska, Kitajska in Koreja). V Evropo se je razširila kot okrasna rastlina leta 1823. Japonski dresnik je 3–4 m visoka rastlina, ki jo sestavljajo votla, rdečkasto lisasta stebela. Listi so široki in ovalni, dolgi 7–14 cm in široki 5–12 cm. Rastlina cveti pozno poleti in zgodaj

jeseni z majhnimi, belimi cvetovi. Pozimi nadzemni deli rastline odmrejo, korenike, ki segajo več metrov od osnovnega stebela pa prezimijo. Močne korenike predstavljajo v naravi velik ekološki problem, saj lahko prodrejo skozi asfalt in s tem poškodujejo ceste, nasipe in stavbe [7].

Rudbekija (*Rudbeckia*) je zelena trajnica, ki izvira iz Severne Amerike ter izhaja iz družine *Asteraceae* (Slika 3). Rudbekija je 0,5 do 3,0 m visoka rastlina z goliimi stebli. Njeni listi so pernato deljeni, trojnati do peternati. Rastlina cveti od julija do oktobra, cvetovi so zlato rumene barve [8].

Octovec (*Rhus typhina*) je lesnato cvetoče drevo iz družine *Anacardiaceae* (Slika 4), ki izvira iz vzhodnega dela Severne Amerike. Drevo lahko doseže 5 do 10 m višine, cveti od maja do julija, plodovi pa zorijo od junija do septembra. Njegovi plodovi so sestavljeni iz gruče majhnih rdečih skupkov, velikosti 3 do 5 mm. Plodovi so zaradi svojih protimikrobnih, antioksidativnih, protiglivičnih, citotoksičnih, protitumorskih in protivnetnih učinkov uporabni v številnih panogah [9].

Med najbolj znane postopke kemične predelave lignocelulozne biomase sodi delignifikacija, ki se lahko izvede z uporabo kislin ali alkalij v ustrezno opremljenih reaktorjih pri povišani temperaturi in tlaku. V industriji se najpogosteje uporablja sulfatni postopek, z dodatkom aktivnih kemikalij NaOH in Na_2S . Postopek traja več ur, pri čemer pride do kemijske modifikacije in cepljenja ligninske molekule v manjše enote, ki se raztapljajo v lužnici [6]. Slednja vsebuje običajno poleg lignina tudi nekaj sladkornih enot iz hemiceluloze. Lignin je pomembna sestavna komponenta olesenelih rastlin in predstavlja 20 do 30 % njihove celotne mase, njegova primarna funkcija pa je zagotavljanje togosti in mehanske trdnosti olesenelih rastlinskih tkiv. Ima kompleksno polimerno strukturo, ki je sestavljena tako iz aromatskih kot iz alifatskih enot (Slika 5). Predstavlja edini naravni trajnostni vir aromatskih spojin in organskega ogljika, s tem pa tudi odličen vir energije. Zaradi svoje strukture je zanimiv kot surovina za pretvorbo v biogoriva, v uporabne kemikalije ter tudi v številne bio-produnkte. Polimerno molekulo lignina je mogoče izkoriščati trajnostno, vendar je zaradi zapletene strukture njegov tehnološki potencial še vedno premalo raziskan [10].



Slika 5: Struktura polimerne molekule lignina
Figure 5: Structure of polymeric lignin molecule



Slika 2: Japonski dresnik
Figure 2: Japanese knotweed

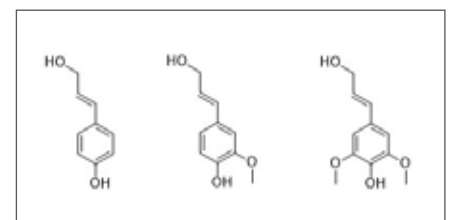


Slika 3: Rudbekija
Figure 3: Rudbeckia



Slika 4: Octovec
Figure 4. *Rhus typhina*

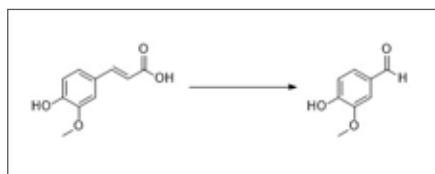
Osnovne monomerne enote lignina so 4-hidroksicinamil (*p*-kumaril), 3-metoksi-4-hidroksicinamil (koniferil) in 3,5-dimetoksi-4-hidroksicinamil (sinapil) alkohol (Slika 6) [10]. Lignin je težko izolirati iz biomase v originalni obliki, saj se pri postopku delignifikacije začne njegova struktura spreminjati in je zato težko ugotoviti, kakšna je pravzaprav njegova prvotna oblika oz. formula.



Slika 6: Strukture monomernih enot lignina
Figure 6: Structures of monomeric lignin units



Lignin je mogoče hidrolizirati do manjših podenot s cepitvijo močnih etrskih vezi. Sama pretvorba lignina v monomere enote je zaradi kompleksne strukture zahtevna, mehanizem postopka pa zato še ni povsem znan. Z njegovo razgradnjo lahko pridobimo številne kemikalije, kot so vanilin, vanilinska kislina, 2-hidroksi-1,3-dimetoksibenzen, o-dihidroksibenzen, fenol. Zaradi vsebnosti ene od monomernih podenot lignina – koniferila, predstavlja lignin odlično surovino za proizvodnjo vanilina (Slika 7) [10]. Pri tem je najbolj zanimiv mehanizem pretvorbe preko ferulne kisline. Le-ta je namreč vezni člen med polisaharidi in ligninom v celičnih stenah.



Slika 7: Pretvorba ferulne kisline v vanilin
Figure 7: Conversion of ferulic acid to vanillin

Večina raziskav pretvorbe lignina se zaradi njegove kompleksne strukture osredotoča na modelne substrate, medtem ko lahko polimerni lignin v bolj ali manj spremenjeni obliki pridobimo iz lužnice po delignifikaciji lignocelulozne biomase. Količina pridobljenega lignina in njegove lastnosti so odvisne od narave biomase in postopka delignifikacije.

2 Eksperimentalni del

2.1 Vzorci

Vzorci stebel japonskega dresnika v obliki sekancev smo dobili v jesenskem času, stebela rudbekije in debelne sekance octovca pa spomladi. Vzorce sta nam dobavili podjetji VO-KA Snaga in Tisa, in sicer z območja Mestne občine Ljubljana. Vsi vzorci predstavljajo odpadno biomaso, ki je bila pridobljena pri urejanju zelenih površin. Sveže vzorce smo posušili na zraku. Komercialni alkalni lignin smo pridobili pri podjetju TCI (Tokyo chemical industry), CAS: 8068-05-1.

2.2 Metode preskušanja

2.2.1 Določitev vsebnosti celuloze

Pred analizo smo vzorce (200 g) zmlili na velikost delcev 0,5 mm v laboratorijskem mlinu Retsch ZM 200. Zmlete vzorce (5 g) smo ekstrahirali najprej s heksanom in nato z etanolom, s čimer smo odstranili ekstraktivne snovi, ki motijo določitev celuloze. Ekstrahiranim vzorcem smo določili vsebnost celuloze (metoda Kürschner-Hoffer) [11]. V 250 ml bučko smo natehtali pribl. 1 g vzorca, ki smo mu dodali 25 ml nitracijske zmesi (20 ml 65 % HNO₃ in 80 ml 96 % eta-

nola). Zmes smo segrevali 1 uro na vodni kopeli pod refluxom, nakar smo odstranili reagent in dodali svežega ter ponovili refluktiranje. Celotni postopek smo nato ponovili še enkrat, torej skupaj trikrat. Po odstranitvi reagenta smo dodali 150 ml vode in zmes segrevali 1 uro. Sledila je filtracija skozi predhodno stehatan steklen filterni lonček. Ostanek na filtru (celuloza) smo večkrat sprali z vodo in etanolom, ga posušili pri 105°C in stehatali. Izračunali smo delež celuloze v suhi biomasi. Rezultati so podani kot srednja vrednost dveh ponovitev.

2.2.2 Laboratorijska delignifikacija

400 g suhe biomase smo v laboratorijskem delignifikatorju zmešali z 2 litroma vodne raztopine NaOH in Na₂S, pri čemer smo v primeru japonskega dresnika (opitiranje postopka) spreminjali količine dodanih reagentov. Slednje so podane glede na suho maso vzorca (Preglednica 1). Delignifikacija je potekala pri 160°C in tlaku 7 bar 2 ali 3 ure. Uporabili smo delignifikator proizvajalca UECIN s prostornino 5 litrov. Po končani delignifikaciji smo odstranili nastalo ligninsko lužnico, preostalo vlaknino pa temeljito sprali z vodo, posušili in stehatali ter določili izkoristek vlaken pri uporabi optimalnih pogojev (18 % NaOH, 6 % Na₂S, 3 ure) za vse tri vrste biomase.

2.2.3 Izolacija in analiza lignina (UV-VIS spektroskopija)

50 mL ligninske lužnice smo najprej trikrat ekstrahirali z diklorometanom (3 × 50 mL). Združene organske faze smo povratno trikrat ekstrahirali z destilirano

vodo (3 × 100 mL). Organsko fazo smo skoncentrirali pod znižanim tlakom na rotavaporju, posušene ekstrakte pa smo stehatali ter določili izkoristek ekstraktov. V nadaljevanju smo na spektrofotometru Varian 50 Bio Cary posneli UV-VIS spektre ekstraktov, in sicer v območju med 200 in 500 nm. V ta namen smo posušene ekstrakte raztopili v etanolu (20 mg/L). Za primerjavo smo posneli tudi etanolno raztopino komercialnega lignina enake koncentracije.

3 Rezultati

V Preglednici 2 so predstavljeni rezultati določitve celuloze in vlakninskega izkoristka pri optimalnih pogojih delignifikacije. Po pričakovanju vsebujeta japonski dresnik in rudbekija, ki spadata v skupino nelesnih zelatih trajnic, nekoliko manj celuloze (< 40 %) kot drevesna vrsta octovec (> 40 %), vendar pa so vlakninski izkoristki podobni pri vseh treh vzorcih biomase.

Iz rezultatov lahko ugotovimo, da je iz odpadne biomase obravnavanih rastlinskih vrst možno izolirati vlakna, vendar pa je postopek tehnološko smiseln le ob predpostavki, da koristno uporabimo tudi lužnico oz. ligninski del, ki predstavlja znaten del biomase. Preglednica 3 prikazuje mase lignina, ki smo ga pridobili po ekstrakciji ligninske lužnice.

Lignin smo z metodo ekstrakcije izolirali iz ligninske lužnice z uporabo organskega topila diklorometana, da bi pridobili čim bolj čist aromatski del lignina in se izognili raztapljanju sladkorjev. Pri ek-

Preglednica 1: Pogoji delignifikacije
Table 1: Delignification conditions

	Vzorec	Reagenti		Reakcijski čas
		NaOH	Na ₂ S	
a ₁	japonski dresnik	18%	6%	3 h
a ₂	japonski dresnik	18%	6%	2 h
a ₃	japonski dresnik	21%	3%	3 h
a ₄	japonski dresnik	0%	6%	3 h
a ₅	rudbekija	18%	6%	3 h
a ₆	octovec	18%	6%	3 h

Preglednica 2: Vsebnost celuloze in izkoristek vlaken
Table 2: Cellulose content and fiber yield

Vzorec	Celuloza, %	Vlakninski izkoristek, %
Japonski dresnik	37	42 (a ₁)
Rudbekija	37	40 (a ₅)
Octovec	41	42 (a ₆)

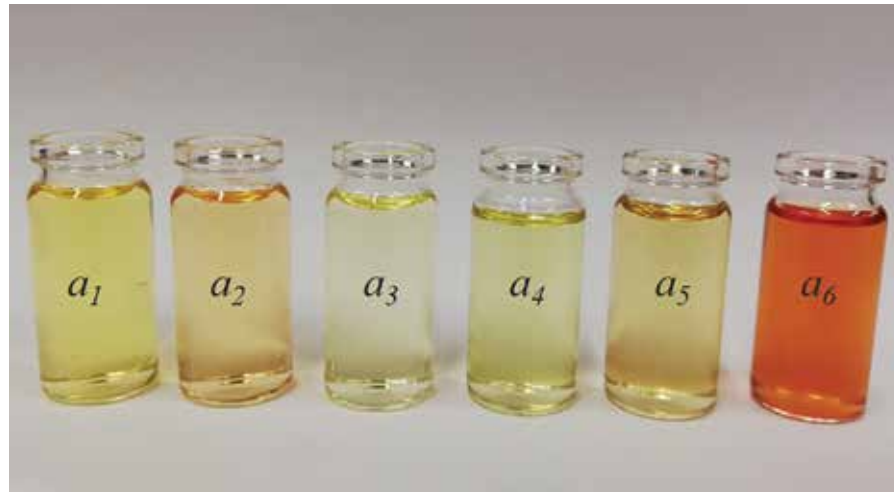
Preglednica 3: Mase lignina po ekstrakciji ligninske lužnice
Table 3: Weights of lignin extracts

Vzorec	a ₁	a ₂	a ₃	a ₄	a ₅	a ₆
Masa	57 mg	24 mg	55 mg	47 mg	78 mg	70 mg

strakciji v organsko topilo se vanj izloči le frakcija lignina, ki je v njem dobro topna, kar pomeni, da je ta izrazito aromatski del lignina verjetno najprimernejši za pretvorbo v vanilin in podobne spojine. Ekstrakti lignina so glede na posamezne rastlinske vrste in glede na postopek delignifikacije različno obarvani (Slika 8). Mase lignina, ekstrahirane iz 50 mL posameznih lužnic znašajo od 24 do 78 mg, kar ustreza koncentracijam te frakcije v lužnicah od 0,5 do 1,5 g/L.

4 Zaključek

Invazivne tujerodne rastline, ki predstavljajo ekološki problem zaradi nenadzorovanega razraščanja in izpodrivanja domačih vrst, so dejansko bogat vir celuloznih vlaken, lignina in drugih naravnih spojin. Ogromne količine biomase, ki ostajajo pri urejanju zelenih površin, pristojne službe v večini primerov uničijo, s čimer uničijo tudi tehnološko pomembne in uporabne komponente.

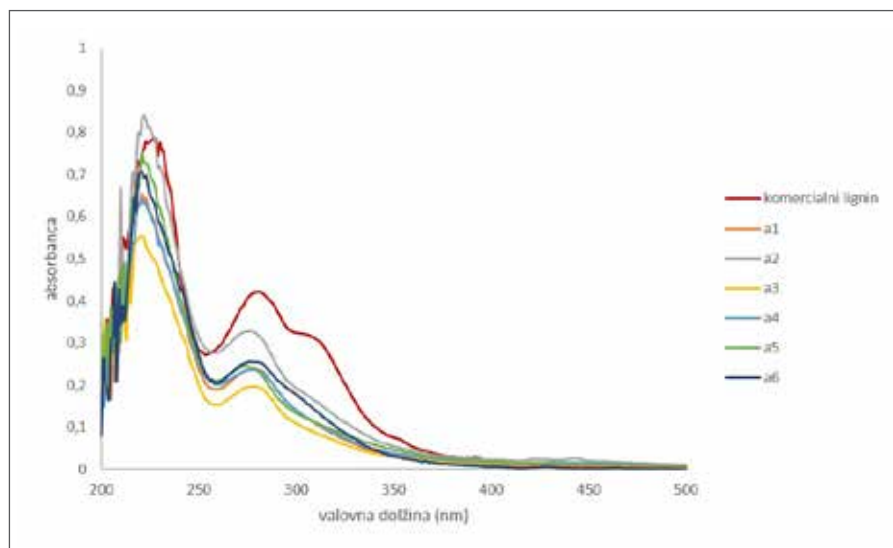


Slika 8: Ekstrakti lignina iz invazivnih tujerodnih rastlin: a_1 , a_2 , a_3 , a_4 , a_5 in a_6
Figure 8: Lignin extracts from invasive alien plants: a_1 , a_2 , a_3 , a_4 , a_5 and a_6

Primerjava barve pridobljenih ekstraktov pokaže, da je barva ekstrakta po daljšem času izvajanja sulfatnega postopka svetlejša (Slika 8, a_1 in a_2). Ekstrakt lignina rudbekije je temno rumene barve (Slika 8, a_3), medtem ko je ekstrakt octovca intenzivno rdeč (Slika 8, a_6).

S snemanjem UV-VIS spektrov smo potrdili, da je v ekstraktih res prisoten aromatski lignin, saj zaznamo tipični absorpcijski maksimum pri 280 nm. Za primerjavo smo posneli tudi absorpcijski spekter komercialnega lignina (Slika 9).

V okviru projekta Applause smo s poskusi dokazali, da lahko nekatere zelo razširjene nelesne (japonski dresnik, rudbekija) in lesne (octovec) vrste uspešno delignificiramo in pridobimo celulozna vlakna, ki lahko delno nadomestijo klasična celulozna vlakna pridobljena iz lesa iglavcev in listavcev, ter reciklirana celulozna vlakna različnih vrst papirja, ki so primerna za recikliranje (SIST EN 643). Tehnološka uporaba alternativne biomase pa ima perspektivo le, če bomo koristno uporabili vse njene komponente, torej tudi lignin. Naši poskusi so po-



Slika 9: Absorpcijski spekter komercialnega lignina in ekstraktov ligninske lužnice a_1 - a_6
Figure 9: Absorption spectra of commercial lignin and lignin extracts (a_1 - a_6)

kazali, da lahko del lignina ekstrahiramo iz sulfatne lužnice, pri čemer odstranimo aromatsko frakcijo, ki je primerna za pretvorbo v vanilin in sorodne aldehide. Tovrstne raziskave postajajo vse bolj pomembne, saj pripomorejo k boljšemu gospodarjenju z razpoložljivo biomaso, kar sodi in koncept krožnega gospodarstva.

5 Literatura

- [1] Demirbaş, A., Biomass resource facilities and biomass conversion processing for fuels and chemicals. *Energy Conversion and Management* 2001, 42 (11), 1357-1378.
- [2] Klass, D. L., Chapter 5 - Waste Biomass Resource Abundance, Energy Potential, and Availability. In *Biomass for Renewable Energy, Fuels, and Chemicals*, Klass, D. L., Ed. Academic Press: San Diego, 1998; pp 137-158.
- [3] Zule, J., Frelih, M., Flajšman, L.. Rastlinska biomasa : možni alternativni vir papirnih vlaken = Plant biomass : potential alternative source of paper fibers. *Papir* 2017, 45 (18), 34-37
- [4] Pyšek, P.; Richardson, D. M., Invasive Species, Environmental Change and Management, and Health. *Annual Review of Environment and Resources* 2010, 35 (1), 25-55.
- [5] Tursi, A., A review on biomass: importance, chemistry, classification, and conversion. *Biofuel Research Journal* 2019, 6 (2), 962-979.
- [6] Singh, R.; Shukla, A.; Tiwari, S.; Srivastava, M., A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2014, 32, 713-728.
- [7] *Reynoutria japonica*. https://en.wikipedia.org/wiki/Reynoutria_japonica.
- [8] *Rudbeckia*. <https://en.wikipedia.org/wiki/Rudbeckia>.
- [9] *Rhus typhina*. https://en.wikipedia.org/wiki/Rhus_typhina.
- [10] Klapiszewski, Ł.; Szalaty, T.; Jesionowski, T., *Depolymerization and Activation of Lignin: Current State of Knowledge and Perspectives*. 2018.
- [11] Kürschner, K., Hoffer, A. Eine neue quantitative Cellulosebestimmung. *Chemiker Zeitung*. 1931, 17, 161-168.

Zahvala

Projekt APPLAUSE sofinancira Evropski sklad za regionalni razvoj preko pobude Urban Innovative Actions (UIA). Informacije in stališča odražajo izključno poglede avtorjev. Pobuda UIA zanj ne odgovarja, prav tako ne za njihovo uporabo.

¹Univerza v Ljubljani, Oddelek za kemijo in biokemijo, Večna pot 113, 1000 Ljubljana
²Inštitut za celulozo in papir, Bogiščeva 8, 1000 Ljubljana