

NEDERLANDS PROEFSTATION VOOR STROVERWERKING
TE GRONINGEN

VERGELIJKEND ONDERZOEK OVER DE BEREIDING VAN HOLOCCELLULOSE
UIT STRC.

Uitgevoerd door: J.G. Dijkhuis
Gesteld door: Drs. B.P. Knol

GRONINGEN, december 1960.

Dit rapport mag slechts woordelijk en in zijn geheel worden gepubliceerd; voor reclame alleen na schriftelijke toestemming. Aanvragen om advies worden alleen behandeld op voorwaarde, dat de aanvrager afstand doet van ieder recht op aansprakelijkstelling terzake van de inhoud van het te geven of gegeven advies.

2284237

VERGELIJKEND ONDERZOEK OVER DE BEREIDING VAN HOLOCELLULOSE
UIT STRO.

Uitgevoerd door: J.G. Dijkhuis
Gesteld door: Drs. B.P. Enol.

Inleiding:

Als voorbereiding voor het chromatografisch onderzoek van de hemicellulose voorkomend in stro werd nagegaan op welke wijze het best holocellulose uit stro kan worden verkregen.

In het algemeen wordt stro daartoe eerst met een organisch oplosmiddel behandeld en daarna met water of een waterige oplossing. Daarna wordt het geëxtraheerde stro gedelignificeerd.

Omdat bij deze proeven toch een waterig extract werd verkregen, werden in deze extracten ook nog pektienbepaling uitgevoerd, met de bedoeling na te gaan of water resp. een waterige oplossing dezelfde hoeveelheid pektien uit het stro extraheerden.

De extractie van stro.

De extractie van het stro kan op verschillende manieren worden uitgevoerd. Zo gebruikt mej. Gaillard de combinatie alcohol + benzeen (1 + 2) en een 0.5% ammoniumoxalaatoplossing.

Op het Nederlands Proefstation voor Stroverwerking wordt eerst met aether en daarna met water geëxtraheerd. Hierbij zij opgemerkt, dat de alcohol/benzeenextractie 30 uur wordt voortgezet, de aetherextractie daarentegen slechts 5 uur.

Om inzicht te krijgen in hoeverre beide extractiemethoden verschilden, werd het onderzoek begonnen met het vergelijkenderwijs uitvoeren van verschillende extractiecombinaties met eenzelfde strosoort; genomen werd roggestro afkomstig van zandgrond.

De volgende combinaties van extracties werden uitgevoerd:

- | | |
|------------------------------|---|
| a) aether | + water (N.P.V.S.-methode) |
| b) aether | + 0.5% ammoniumoxalaatoplossing |
| c) alcohol + benzeen (1 + 2) | + water |
| d) alcohol + benzeen (1 + 2) | + 0.5% ammoniumoxalaatoplossing
(methode Gaillard) |

De resultaten zijn in tabel I samengevat.
Hieruit blijkt:

- a) dat de hoeveelheid alcohol/benzeenextract ca. 4 x zo groot is als de hoeveelheid aetherextract. (N.B. de extractietijd bedraagt 30 resp. 5 uur!)
- b) dat de hoeveelheden waterextract en extract verkregen met 0.5% ammoniumoxalaat praktisch niet verschillen.
- c) het pektiengehalte in het ammoniumoxalaatextract na aetherextractie merkbaar hoger is dan het waterextract na aetherextractie.

Omdat de resultaten nogal verschilden, werd besloten om de andere bij het onderzoek te betrekken strosoorten als volgt te extraheren:

- 1° Alcohol/benzeen (1 + 2) en een 0.5%-ige ammoniumoxalaatoplossing en
- 2° aether en een 0.5% ammoniumoxalaatoplossing.
(de waterextractie is dus komen te vervallen)

De resultaten van de extractiemethoden zijn vermeld in tabel II.

Tabel II.

(De getallen geven % oorspronkelijk stro aan).

Uit tabel II volgt, dat de pektienbepaling door de aard der organische extractie slechts weinig wordt beïnvloed. In verband daarmee werd de delignificatie alleen maar toegepast op de strosoorten, die waren voorbehandeld met aether en 0.5% ammoniumoxalaatoplossing.

B. De delignificatie van het geëxtraheerde stro.

Om holocellulose te bereiden moet het materiaal na de onder A besproken extracties worden gedelignificeerd. Het is uiteraard de bedoeling, dat deze lignienverwijdering zover mogelijk gaat, zonder daarbij de koolhydraten aan te tasten.

De laatste 3 à 4% lignien worden echter hardnekkig vastgehouden. Bij het verwijderen daarvan treden grote verliezen aan koolhydraten op.

Het is de zaak de holocellulose zodanig te bereiden, dat geen verlies aan pentosanen plaats heeft en de lignienverwijdering zo scherp mogelijk is.

Er zijn bij dit onderzoek drie verschillende delignificatiemethoden vergeleken n.l.:

1^o de delignificatie volgens Gaillard¹.

Bij deze methode wordt het lignien in drie étappes verwijderd met chlooramine T en azijnzuur. Mej. Gaillard heeft deze methode gebruikt in plaats van de chlorering volgens de TAPPI standaardmethode, waarbij het materiaal onder ijskoeling met chloorgas wordt behandeld. Dit is een methode, die zeer veel voorzorgsmaatregelen vereist en daarom minder geschikt is.

De methode Gaillard is evenwel ook erg bewerkelijk.

2^o de delignificatie volgens Wise, Murphey en D'Addieco.

Het lignien wordt volgens deze methode verwijderd met natriumchloriet en azijnzuur bij 60 tot 80°C. Deze methode van lignienverwijdering heeft als voordeel dat ze slechts enkele uren duurt.

3^o de delignificatie volgens Schmidt.

Bij deze methode wordt het lignien verwijderd met een oplossing van 0.25% chloordioxyde, die gebufferd is met pyridine bij temperaturen lager dan 15°C. Het duurt ca. 10 dagen om op deze wijze het lignien te verwijderen.

De 3 bovengenoemde methoden zijn uitvoerig onderzocht aan roggestro, vooraf geëxtraheerd met aether en water.

Zij zullen hier afzonderlijk worden besproken en daarna worden toegelicht.

1) Delignificatie vgl. Mej. Gaillard.

Het voorschrift luidt als volgt:
2.5 à 3 g materiaal, waaruit de vetten, kleurstoffen enz. zijn verwijderd, wordt met 75 ml water overgebracht in een bekerglas van 250 ml. Het mengsel wordt op het waterbad tot 70°C verwarmd en hieraan worden toegevoegd: 10 druppels ijsazijn en na omroeren 1 g Chloramine T. Het bekerglas wordt met een horlogeglas afgedekt en het mengsel gedurende twee uur onder herhaald roeren gedigereerd bij 70°C. Hierna wordt het mengsel nog warm op een glas filterkroes (1G1) afgezogen, en twee maal op het filter met alcohol gewassen. Nu wordt een oplossing van 3% aethanolamine in alcohol tot koken verwarmd en op het residu gegoten. Na twee minuten gedurende welke tijd herhaaldelijk wordt omgeroerd, wordt de vloeistof afgezogen. Deze behandeling met aethanolamine wordt nog éénmaal herhaald, waarna het residu tweemaal met alcohol en vervolgens tweemaal met water wordt gewassen.

Deze gehele behandeling van chloreren, behandelen met aethanolamine en uitwassen wordt nog tweemaal herhaald, waarna het residu nog slechts licht gekleurd is. De zo verkregen holocellulose wordt met aceton gewassen en daarna zo kort mogelijk bij 100°C tot constant gewicht gedroogd en gewogen.

II. Delignificatie volgens Wise, Murphy en D'Addieco.

2.5 à 3 g materiaal waaruit de vetten, kleurstoffen enz. zijn verwijderd, wordt in een bekerglas van 400 ml overgebracht met + 90 ml water. Het mengsel wordt op een waterbad verwarmd en hieraan worden toegevoegd 10 druppels ijszijn, en na omroeren 10 ml van een 17% oplossing van natriumchloriet. Het bekerglas wordt met een horlogeglas afgedekt en het mengsel onder herhaald roeren een uur op het waterbad gelaten. Vervolgens wordt het mengsel afgekoeld, afgezogen op een glasfilter, het residu goed uitgewassen met ijswater, tot slot met aceton en daarna zo kort mogelijk bij 100°C tot constant gewicht gedroogd en gewogen.

III. Delignificatie volgens Schmidt.

Deze methode, waarbij de z.g. "Skelettsubstanz" wordt bereid, welke als uitgangsmateriaal dient voor de bepaling van het alfa-cellulosegehalte, is vermeld in publicatie no. 1 van het Nederlands Proefstation voor Stroverwerking en luidt als volgt:

In een wijdmondse stopfles van 3 l inhoud wordt ca. 10 gram luchtdroog gemalen stro ingewogen dat van te voren met aether en water is geëxtraheerd en waarvan het vochtgehalte bekend is. Vervolgens voegt men aan dit stro 2.5 l chloordioxyde oplossing toe met een gehalte van 2.00 g ClO₂.

De fles wordt gesloten en gezwenkt, zodanig dat de hals en stop niet nat worden. Na 1 uur voegt men 35 cm³ 30% pyridine-oplossing in water toe en zwenkt men weer. Nu wordt de fles in een luchtthermostaat van 10 à 15°C geplaatst en eens per dag gezwenkt.

Na ca. 10 dagen is het oxydatieproces voltooid en kan de inhoud worden gefiltreerd; het best over een doek van fijn katoen of populine welke van te voren apprêt-vrij is gemaakt.

Vervolgens wast men uit met leidingwater, spoelt de fles schoon, overgiet de verkregen stof met warme natriumdithionietoplossing (15 g Na₂S₂O₄/l) laat ca. 5 minuten staan, zuigt af en wast vervolgens eerst met koud leidingwater en tot slot met warm gedestilleerd water. Daarna wordt in een droogkast met luchtcirculatie bij + 25 à 30°C gedroogd en het rendement bepaald.

Toelichtingen op de drie delignificatiemethoden.

Na de eerste toepassing van deze drie delignificatiemethoden op het roggestro was het volgende gebleken:

- ad.1. De holocellulose verkregen volgens de methode Gaillard bleek nog ruim 9% lignien te bevatten. De lignienverwijdering op deze wijze is dus onvoldoende. Er werd nog geprobeerd op deze wijze het ligniengehalte (zonder aantasting van de hemicellulose) te verlagen door verhoging van de hoeveelheden chlooramine T en ijsazijn. Evenwel bleek de fluiditeitscoëfficiënt op te lopen tot zulke hoge waarden, dat daaruit duidelijk bleek dat behalve de pentosanen ook de α -cellulose was aangetast. Er werd daarom besloten deze delignificatiemethoden niet meer toe te passen.

Dat Mej. Gaillard van mening is, dat deze methode voldoende ver delignificeert komt waarschijnlijk doordat zij vóór de eigenlijke lignienbepaling volgens Klason, het materiaal eerst met 5% zwavelzuur behandelde om de pentosanen en eiwitten door hydrolyse te verwijderen.

De bedoeling was te voorkomen dat deze stoffen door de behandeling met 72% zwavelzuur in lignienachtige stoffen kunnen worden omgezet.

Uit een onderzoek op het N.P.v.S volgt dat indien deze voorbehandeling wordt toegepast het ligniengehalte ca. 4% lager is dan in het geval dat dit niet gebeurt; reden waarom Mej. Gaillard van mening zal zijn geweest dat de door haar toegepaste delignificatiemethode wel bevredigende resultaten gaf.

Genoemd onderzoek, dat vervat is in blauw rapport 82b, leidde tot de conclusie, dat althans voor stro de noodzaak van voorextractie met 5% zwavelzuur niet kon worden onderschreven en dat deze wijze van lignienbepaling tot te lage ligniengehalten moet leiden.

- ad.2. Dit voorschrift is in zoverre onvolledig, dat er geen temperatuur bij is opgegeven, waartoe verwarmd moet worden, en deze moest dus zelf worden uitgezocht. Indien wordt verhit, zoals hierboven wordt aangegeven, komt de temperatuur boven 80°C en heeft aantasting zowel van de pentosanen als van de α -cellulose plaats. Verder is in ons geval bij het uitwassen het ijswater vervangen en door een oplossing van natriumdithioniet ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) volgens de N.P.v.S-methode. Voorts moet er goed op worden gelet dat er voldoende azijnzuur wordt toegevoegd; het begrip 10 druppels is zeer rekbaar en kan variëren van 0.3 tot ruim 1 ml.

Deze methode is allereerst toegepast op het roggestro en wel bij de volgende temperaturen: 65, 70, 75 en 80°C. Bij een uitgebreid analytisch onderzoek van het uitgangsmateriaal en de daaruit verkregen holocellulose bleek, dat een ontsluitingstemperatuur van 70 tot 75°C de voorkeur verdient en dat op deze wijze een delignificatie tot 3 à 4% wordt bereikt. (zie tabel 3). Gezien de geringe tijdsduur van deze methode is ze op de overige te onderzoeken strosoorten toegepast, en wel deels bij de temperaturen 65, 70, 75 en 80°C, en deels bij 70°C. (Zie tabel 4.)

- ad.3. a) Voor rendementbepalingen kan ook van 1 à 2 gram stof worden uitgegaan; deze stof moet op dezelfde wijze worden behandeld, alleen wordt nu over een glasfilter G1 of G2 afgefiltreerd en daarna bij 100 - 105°C gedroogd.
- b) Bij de uitvoering van deze methode bleek een produkt met ca. 2% lignien te zijn verkregen; evenwel was het pentosagehalte vrij laag geworden, ondanks dat de temperatuur laag was gehouden, n.l. 5°C. Daarom zijn deze proeven nog steeds met roggestro herhaald met een reaktietijd van 3 tot 5 dagen in plaats van de voorgeschreven 10 dagen.
- Nu bleek na een uitgebreide analyse van de verkregen holocellulose dat het hemicelluloseverlies zeer gering en alleszins acceptabel was, terwijl uit de bepaling van het ligniengehalte bleek dat een produkt was verkregen dat iets zuiverder was dan dat bereid volgens de methode Wise (zie tabel 3.).
- De lange ontsluitingsduur t.o.v. de methode Wise blijft evenwel een bezwaar.
- Daarom werd ze niet systematisch op de overige strosoorten toegepast (zie tabel 4).

Resultaten:

De resultaten van deze delignificatieproeven en analyses van de verkregen produkten zijn samengevat in de tabellen.

Hieruit blijkt ook, dat in het gehele onderzoek een 5-tal strosoorten zijn opgenomen. Beschouwing van deze resultaten leidt tot een aantal conclusies die hieronder zijn opgenomen

Conclusies:

- 1) De delignificatiemethode van Wise uitgevoerd bij 75 - 80°C verdient de voorkeur, omdat:
 - a) het rest ligniengehalte van de verkregen holocellulose 3 à 4% bedraagt en
 - b) het pentosanverlies gering is.

Een bijkomend voordeel is, dat de bepaling in enkele uren is voltooid.

- 2) Hoewel de delignificatiemethode volgens Schmidt in 3 tot 5 dagen een zeer goede holocellulose geeft, is de lange tijdsduur, nodig voor de delignificatie een praktisch nadeel.

Samenvatting.

1. Als voorbehandeling van stro voor de bereiding van holocellulose heeft de alcohol/benzeen-extractie, gevolgd door extractie met een 0.5% ammoniumoxalaatoplossing geen wezenlijk voordeel boven de aetherextractie, gevolgd door extractie met heet water.
Als voorbehandeling werd besloten extractie met aether 0.5% ammoniumoxalaat te nemen.
2. De delignificatiemethode van Wise, Murphy en D'Addieco verdient de voorkeur boven de methode Gaillard, omdat het rest ligniengehalte van de verkregen holocellulose geringer is en ook de voorkeur boven de methode Schmidt omdat ze veel sneller is.
3. De delignificatie volgens Wise dient te worden uitgevoerd bij 75° - 80°C omdat bij deze temperatuur het rest ligniengehalte betrekkelijk laag is (3 à 4%) en het verlies aan pentosan gering is (1%)

Literatuur:

1. Dr. B.P.A. Gaillard: Chromatografisch onderzoek naar de samenstelling van de polysacchariden uit de celwand in verband met de analyses van ruwvoeder .
(Proefschrift Wageningen 1954).

Tabel 1. Extractgehalten van een monster roggestro.

De getallen geven het percentage (in % van het oorspronkelijke stro) aan van de geëxtraheerde hoeveelheden uit een monster roggestro (Valthe '52).

Combinatie	aether	alcohol	water	0.5% amm.	pektien
		benzeen		oxalaat opl.	
aether + water	0.9		8.8		0.7
aether + 0.5% oxalaat opl.	0.9			8.6	1.4
alcohol/benzeen + water		3.6	6.9		
alcohol/benzeen + 0.5% amm. oxalaat opl.		3.6		7.0	

De duplicerbaarheid was uitstekend.

Tabel 2. Gehalten aan aetherextract, alcohol-benzeen extract, pektien (in oxalaatextract) en holocellulose in verschillende strosoorten (in % van oorspronkelijk stro).

Strosoort	Aether-extr.		Alcohol-benzeen-extr.		Pektien		Holocell. vgl. Wise 70°C	
Wintertarwe '55	1.0				2.1		77.8	
	0.9	1.0			1.9	2.0	77.8	77.8
Kloosterburen			4.2		1.6		77.2	
			4.0	4.1	1.6	1.6	77.5	77.4
Haverstro '55	2.2				2.5		72.9	
	2.2	2.2			2.5	2.5	72.8	72.9
:			5.9		2.3		73.4	
			6.1	6.0	2.1	2.2	73.2	73.3
:	1.2				1.2		78.9	
	1.2	1.2			1.3	1.3	78.8	78.9
Wintergerst '58			4.5		1.2		79.5	
			4.5	4.5	1.4	1.3	79.3	79.4
Zomergerst '58	1.3				1.8		80.2	
	1.3	1.3			1.4	1.6	79.9	80.1
Warfhuizen			5.1		1.4		79.6	
			5.0	5.1	1.3	1.4	79.7	79.7
Rogge oogst '55	1.4				1.6		80.9	
	1.4	1.4			1.7	1.7	80.5	80.7
:			4.5		1.9		78.9	
			4.7	4.6	1.6	1.8	79.0	79.0
Zomertarwe '55	1.1				2.4		74.0	
	1.1	1.1			2.3	2.4	74.0	74.0
:			4.6		2.3		73.8	
			4.4	4.5	2.5	2.4	73.6	73.8

Tabel 3.

Analyse van uitgangsmateriaal en holocellulose.

Omschrijving	Rendement (% v. oorspr. stro)	In % v. stro										Acetyl (%)	CO ₂ (%)	Fluidi- teits- coeffi- cient
		Aether- extract %	Water- extract %	As (%)	Lignien (%)	Totaal Pento- san (%)	Totaal Pentosan	Pentosan- verlies	Onop- losbaar Pentosan (%)	-cel- lulose as en pen- tosan vrij	Pentosan in -cel- lulose (%)			
Uitgangsmateriaal; Roggestro uit Valthe '55		1.3	9.4		18.1	27.6						1.4	0.8	
Holocellulose volgens Wise bij 650C	81.7	0.1	8.9	1.4	5.3	32.2	26.3	1.3	30.2	48.8	3.4	1.9	1.6	11.8
Holocellulose volgens Wise bij 800C	76.7	0.2	10.2	1.2	2.7	35.2	26.9	0.7	29.5	51.2	3.1	1.8	1.5	13.4
Holocellulose volgens Schmidt na 10 dagen staan	73.7	0.1	10.2	1.6	2.0	32.6	24.0	3.6	28.8	52.1	3.0	1.8	1.4	12.4
Holocellulose volgens Schmidt na 3 dagen staan	76.9		6.7	1.4	3.4	34.3	26.4	1.2	31.0	51.8	2.8	1.6	1.5	13.3
Holocellulose volgens Schmidt na 5 dagen staan	75.7		7.1	1.4	2.6	34.8	26.4	1.2	32.4	51.7	2.9	1.8	1.6	13.4

Tabel 4.

Omschrijving	Holocellulose volgens Gaillard met Chloramine - T			Holocellulose volgens Wise bij diverse temperaturen				Holocellulose volgens Schmidt (skeletsubstantz)		
	Rende- ment %	Lignien %	Fluidi- teits- coeff.	Tem- pera- tuur in °C	Rende- ment %	Lignien %	Fluidi- teits- coeff.	Rende- ment %	Lignien %	Fluidi- teits- coeff.
<u>Roggestro</u> oogst '55	83.5	9.2	13.4	65	82.3	4.9	12.7	74.2	1.1	12.0
	74.1	4.4	21.4	70	80.7	4.3	13.2			
				75	80.0	3.8	13.5			
				80	79.6	3.3	14.2			
<u>Wintertarwestro</u> afkomstig uit Kloosterburen '55				65		5.1	14.2	72.9	1.8	14.8
				70	77.8	3.8	14.4			
				75		3.2	14.8			
				80		3.2	14.8			
Haverstro oogst '55				65		4.6	13.2	69.6	1.7	12.8
				70	72.9	4.0	13.6			
				75		3.3	13.9			
				80		3.0	14.2			
Wintergerst oogst '58 Warfhuizen				70	78.9	4.1	14.7			
Zomergerst oogst '58 Warfhuizen				70	80.1	4.2	14.6			

C. Conclusies.

1. Als voorbereiding van de holocellulosebereiding geeft extractie met alcohol/benzeen gevolgd door extractie met 0.5% ammoniumoxalaatoplossing, geen voordeel boven extractie met aether, gevolgd door extractie met heet water.
2. Voor de bereiding van holocellulose verdient de methode van Wise, Murphy en D'Addieci de voorkeur boven die van Gaillard en die van Schmidt.
3. Bij de methode van Wise cs. dient de temperatuur 75 - 80° te bedragen; er wordt dan een preparaat met ca. 3% lignien verkregen, terwijl het verlies aan pentosan minder dan 1% bedraagt.