

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Keemia instituut

Orgaanilise keemia õppetool

Nikolai Treiberg

**Tööstusliku hüdrolyüsi ligniini lahustuvus ja fraktsioneerimine  
tetrahüdrofuraan- ja 2-metüültetrahüdrofuraan-vesilahustes**

Bakalaureusetöö (6 EAP)

Keemia

Juhendajad:

Henry Vider, MSc

Siim Salmar, PhD

Tartu 2022

## **Infoleht**

### **Tööstusliku hüdrolyüsi ligniini lahustuvus ja fraktsioneerimine tetrahüdrofuraan- ja 2-metüültetrahüdrofuraan-vesilahustes**

Fossiilsete ressursside ammendumise ning kasvava nõudluse tõttu kütuste ja kemikaalide järele on muutunud aktuaalseks taastuva ja kättesaadava lignotselluloosse biomassi kasutamine traditsiooniliste fossiilsete allikate asemel. Biorafineerimistehased suudavad üsna edukalt ära kasutada biomassist saadavat tselluloosi ja hemitselluloosi, kuid suuremaks väljakutseks on osutunud ligniini väärindamine. Ligniini heterogeenne polümeerne struktuur piirab selle kasutamist kõrge väärtusega rakendustes. Käesoleva lõputöö eesmärk on leida orgaanilise-vee lahustite segud tööstusliku hüdrolyüsi ligniini (HL) puhastamiseks ja fraktsioneerimiseks. Esmakordselt on HL-i homogeensuse ja puhtuse parandamiseks tõhusalt kasutatud HL-i lahustamist tetrahüdrofuraani ja 2-metüültetrahüdrofuraani (biomassi suhkrutest toodetud lahusti) vesilahuste segudes.

Märksõnad: hüdrolyüsi ligniin, solventidega fraktsioneerimine, tetrahüdrofuraan, 2-metüültetrahüdrofuraan

CERCS: P390 Orgaaniline keemia

### **Solubility and fractionation of industrial hydrolysis lignin in aqueous tetrahydrofuran and 2-methyltetrahydrofuran mixtures**

With the depletion of fossil resources and the increasing demand for fuels and chemicals, the utilization of renewable and abundant lignocellulosic biomass in place of the traditional fossil sources has become actual. Biorefineries utilise cellulose and hemicellulose from biomass quite successfully, however, lignin valorisation has proven to be a much greater challenge. Heterogeneous polymeric structure of lignin limits its utilisation in high-value applications. This thesis aims to find organic-water solvent mixtures for purifying and fractionating industrial hydrolysis lignin (HL). For the first time, the solubilisation of HL in tetrahydrofuran and 2-methyltetrahydrofuran (a solvent produced from biomass sugars) aqueous solvent mixtures have been effectively used to improve HL homogeneity and purity.

Keywords: hydrolysis lignin, fractionation with solvents, tetrahydrofuran, 2-methyltetrahydrofuran

CERCS: P390 Organic chemistry

# Sisukord

Infoleht.....	2
Sisukord.....	3
Kasutatud lühendid ja mõisted.....	4
1. SISSEJUHATUS.....	5
2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	6
2.1. Ligniini ja selle struktuur.....	6
2.2. Tehnilised ligniinid ja nende saamine.....	8
2.3. Ligniini fraktsioneerimine orgaanilise-vesilahustega.....	10
2.4. Tetrahüdrofuraan ja 2-metüültetrahydrofuraan – vesilahused hüdrolüüsi ligniini fraktsioneerimiseks.....	12
3. EKSPERIMENTAALNE OSA.....	15
3.1. Materjalid.....	15
3.2. Aparatuur ja töövahendid.....	15
3.3. Hüdrolüüsi ligniini keemilise koostise määramine Klasoni meetodil.....	16
3.4. Hüdrolüüsi ligniini hüdroksüülrühmade määramine <sup>31</sup> P TMR spektroskoopiaga.....	17
3.5. Veega pestud hüdrolüüsi ligniini valmistamine.....	17
3.6. Hüdrolüüsi ligniini lahustamine ja kontsentratsiooni määramine.....	17
3.7. Hüdrolüüsi ligniini fraktsioonide suhtelise molekulmassi määramine.....	18
4. TULEMUSED JA ARUTELU.....	20
4.1. Hüdrolüüsi ligniini koostise analüüs.....	20
4.2. Hüdrolüüsi ligniini lahustamine THF-vesilahustes.....	20
4.3. Hüdrolüüsi ligniini lahustamine MTHF-vesilahustes.....	22
4.4. Lahustatud ligniini fraktsioonide suhteline molekulmassi suurusjaotuse analüüs.....	23
4.5. Lahustunud ligniini fraktsioonide hüdroksüülrühmade määramine <sup>31</sup> P TMR meetodil.....	28
4. KOKKUVÕTE.....	30
5. SUMMARY.....	31
Kasutatud kirjandus.....	32
7. LISAD.....	36
Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks.....	40

## **Kasutatud lühendid ja mõisted**

G – koniferüülalkoholi monomeer

H – kumarüülalkoholi monomeer

HL – puidu biomassi hüdrolüüsimisel saadud ligniin

Kraft ligniin – tselluloosi tootmisel tekkinud ligniin, mis on mustast leelisest sulfaattehnoogiaga eraldatud

Mn – Number-keskmine molekulmass

MTHF – 2-metüültetrahydrofuraan

Must leelis – sulfaatidega saastunud leelis, nime saanud oma musta värvuse järgi

Mw – Keskmine molekulmass (proovis olevate molekulide keskmine molekulmass)

OSL – organosolv ligniin

PDI – Polüdispersuse indeks

PHL – Veega pestud hüdrolüüsi ligniin

S – Sinapüülalkoholi monomeer

SEC – suuruseralduskromatograafia (ingl. *Size-exclusion chromatography*)

TMR – tuumamagnetresonantspektroskoopia

UV-Vis – Ultraviolet-nähtava valguse spektroskoopia

# 1. SISSEJUHATUS

Suurenev fossiilsete maavarade kasutamine on toonud kaasa keskkonnaprobleeme ning vajaduse leida alternatiivseid taastuvaid ressursse kemikaalide saamiseks, sealhulgas neid ressursse, mis sisaldavad aromaateid tuumi. On leitud, et üheks parimaks alternatiiviks fossiilsetest allikatest saadavate kemikaalide asendamiseks on lignotselluloose biomassi töötlemisel saadavate produktide väärimine. Lignotselluloosne biomass, mis on pärit taimsest või puitsest toorainest, koosneb peamiselt polümeersestest komponentidest: tselluloos, hemitselluloos ja ligniin. Praegused tehnoloogiad kasutavad puidu biomassist peamiselt ainult ühte komponenti, tselluloosi, tootmaks pakkematerjale nagu paber ja papp ja teised komponendid kasutatakse ühel või teisel viisi energia tootmiseks. Kaasaegsed arenevad biorafineerimise tehnoloogiad keskenduvad maksimaalse ressursi väärimisele, leidmaks väärtuslikumat rakendust kõigile biomassi komponentidele. Biorafineerimistehastes toodetavatele suhkrutele on mitmeid väljundeid. Suhkruid võib kasutada kemikaalide ja biokütuste valmistamiseks, kuid biorafineerimise tehaste jätkusuutlikkuse tagamiseks on määrav hüdrolyüsi ligniini (HL) väärimine.

Biorafineerimisel saadud ligniinid on väga heterogeensete omadustega, suure molekulmassi jaotusega, väga halva vees ja orgaanilistes lahutites lahustumise omadustega, mis ei võimalda selle materjali kasutamist vajalikeks rakendusteks. Tööstuslikult on proovitud kasutada ultrafiltrimise tehnoloogiat ligniinide selektiivseks eraldamiseks edasiseks väärimiseks, mis on osutunud suhteliselt kalliks.

Üks alternatiivne võimalus biorafineerimisel saadud ligniini töötlemiseks ja puhastamiseks on lahutumisfraksioneerimine. Lahustatud ligniin, kontrollitud molekulmassi jaotusega fraktsioon, on lihtsamalt väärimatav kasulikeks materjalideks.

Käesoleva töö eesmärk on leida efektiivsemaid võimalusi tööstusliku HL-i fraksioneerimiseks ja puhastamiseks vesi-orgaanilistes lahutites. Selleks on uuritud HL-i lahustuvust tetrahüdrofuraan- ning biomassist saadava 2-metüültetrahüdrofuraan-vesi segudes. Lahustunud fraktsioonide omadusi hinnatakse suhtelise molekulmassi jaotuse määramisega suuruseralduskromatograafia ja  $^{31}\text{P}$  TMR meetodi abil.

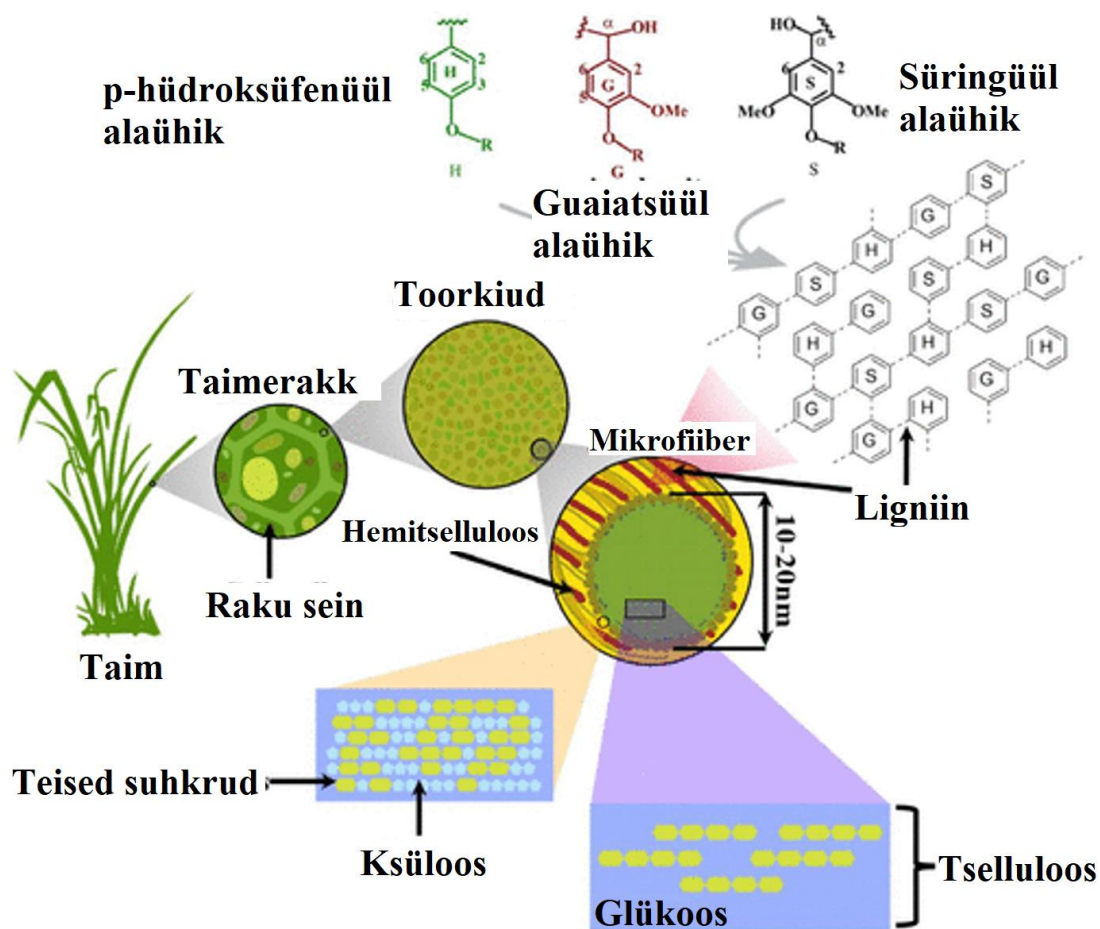
## 2. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

Kasvav ülemaailmne nõudlus kütuste ja kemikaalide järele on tekitanud muret keskkonnasaaste, kliimamuutuste ja Euroopa, sh Eesti, energiajulgeoleku pärast. Euroopa Liidu roheline kokkuleppe valguses [1] on Euroopa Komisjoni poolt muude lahenduste kõrval esile tõstetud ringbiomajanduse arendamist, et neid probleeme osaliselt leevendada [2]. See aga nõuab uuendusi tehnoloogiates ja erinevate lähteainete täielikku väärimist keskkonnasõbralikul viisil. Biomassi rafineerimisel on suur tähtsus tööstusliku tooraine puuduse ja fossiilsete ressursside liigse sõltuvuse leevendamisel, kuna biomass on taastuv, odav ja laialdaselt kättesaadav [3–6].

Lignotselluloosne biomass, mis koosneb peamiselt tselluloosist (40 – 50%), hemitselluloosist (25 – 35%) ja ligniinist (15 – 20%), on kõige levinum biomassi tooraine, mida saab muuta mitmesugusteks toodeteks, nagu pakke- ja ehitusmaterjalid, biokütused ja biokemikaalid [7,8]. Enamik tavapäraseid biorafineerimisprotsesse, nagu tselluloosi- ja bioetanoolitööstus, keskenduvad aga vaid süsivesikute (st tselluloosi ja hemitselluloosi) kasutamisele. Seevastu ligniini, looduslikku aromaatsset polümeeri ja üht kõige atraktiivsemat taastuvat lähteainet tarkade materjalide valmistamisel, [9] ei kasutata täielikult ära kõrgete väärtustega rakendustes, vaid põletatakse soojusenergia saamiseks [3,4]. Samas kui võtta näiteks bioetanoolitööstus, siis ainuüksi USA-s prognoositakse umbes 62 miljonit tonni ligniini tootmist 2022. aastal ja pärast osalist põletamist väliseenergia andmiseks protsessi jääb järele palju jääkligniini [4,10]. Veelgi enam, ennustatakse et ainuüksi Põhja-Ameerika biorafineerimistehased hakkavad tulevikus tootma 225 miljonit tonni tehnilist ligniini aastas, mis ületab praegu võimaliku tselluloosi tootmisest eraldatava ligniini kogust kaks suurusjärku [3]. Selge on, et ligniini väärimine kasvataks tavapäraste biokütuste ja biokemikaalide tehnoloogiate kasumlikkust, suurendades seeläbi biorafineerimise ökonoomsust.

### 2.1. Ligniini ja selle struktuur

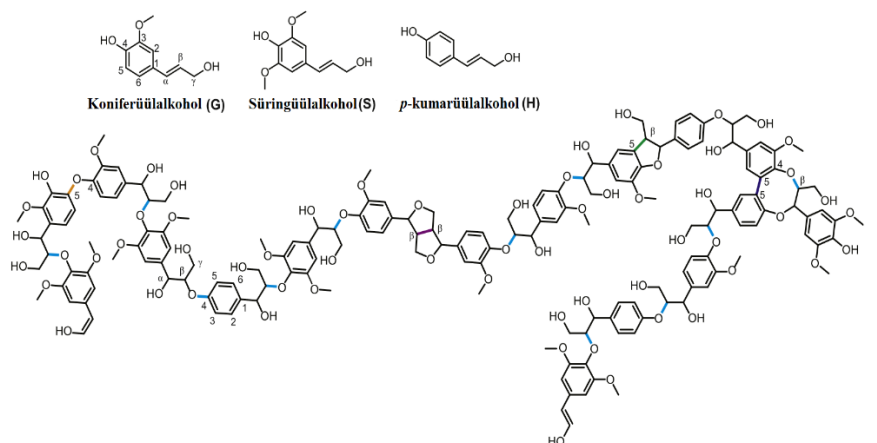
Ligniini on tselluloosi kõrval teine kõige laialdasemalt levinud biopolümeer ja on maailmas kõige levinum looduslik fenoolpolümeer [3,7,8]. Ligniini on maismaataimede jaoks oluline, pakkudes struktuurilist tuge taimede kasvuks ning võimaldades taimes rakkudevahelist vee transporti.



**Joonis 1.** Lignotselluloosse biomassi ülevaatlik struktuur [4,6].

Sõltudes taime tüübist, sh puuliigist, varieerub taimes biopolümeeride osakaal. Lehtpuud sisaldavad tavaliselt vähem (18 – 25%) ja okaspuud rohkem ligniini (25 – 35%). Ligniin koosneb peamiselt süringüül- (S), guajaatsüül- (G) ja hüdroksüfenüül- (H) ühikutest ning tema struktuur biomassis on varieeruv ja heterogeenne (**joonis 1**). Lisaks sõltuvad tehniliste ligniinide omadused tootmisviisist.

Ligniini monomeeride vahel on kaks peamist sidet: süsinik-süsinik sidemed, mida tuntakse ka kondenseerunud sidemetena, ja eetersidemed (**joonis 2**). Domineerivad sidemed ligniini polümeeris on eetersidemed, mis moodustavad 56% või rohkem sidemete koguarvust. Monomeeride eri suhete tõttu erinevates ligniinides on ka sidemete täpsed suhted erinevate liikide puhul erinevad, näiteks kõige levinumad on  $\beta$ -arüüleetersidemed ( $\beta$ -O-4), moodustades umbes 50 ja 60% kogu sidemetest vastavalt okas- ja lehtpuidu puhul [4,7]. Enimlevinud sidemete tüübid on toodud joonisel 2.



**Joonis 2.** Ligniini keemilise struktuuri mudel. Peamised ligniinis leiduvad sidemed on näidatud erinevates värvides. Leht- ja okaspuidus kõige olulisem on  $\beta$ -O-4 side (helesinine). Teist tüüpi ligniinis esinevad sidemed hõlmavad  $\beta$ - $\beta$  (violetne), 5-5 (tumelilla),  $\beta$ -5 (roheline) ja 5-O-4 (oranž), mis koos moodustavad ülejäänud 15 – 60 % üksustevahelistest seostest.[8]

Ligniinil on kõrgem süsiniku ja hapniku suhe ( $> 2:1$ ) ja suurem energiatihedus kui tselluloosil ja hemitselluloosil, mis teeb sellest paljulubava kandidaadi kütusena. Kõrgemaid väärtusi saab tekitada ka ligniini muundamine biokemikaalideks ja biomaterjalideks, mis suurendab lignotselluloosi biorafineerimistehaste üldist majandust. Kahjuks piirab delignifitseerimisel saadud ligniinirikaste fraktsioonide muundamist lisandväärtusega toodeteks lähteainete keerukus ja sihtkemikaalide madal saagis.

Puidumassi keemiliselt töödeldes muutub ligniini algne struktuur oluliselt kondensatsioonireaktsioonide ja fragmentatsiooni mõjul, muutes samuti sidemete jaotusi. Seega, olenevalt töötlemise meetodist, erinevad saadavad ligniinid struktuurilt kompleksuse ja funktsionaalrühmade poolest.[3,11,12]

## 2.2. Tehnilised ligniinid ja nende saamine

Praegusel hetkel on tavapärasel tselluloositehased peamised tehnilise ligniini tootjad. Enamus müügil olevatest puidutselluloosi tootmisel tekkivate tehniliste ligniinide tüüpidest on sulfitligniin (LS) ja kraftligniin (KL). LS, mis saadakse sulfitcelluloosi valmistamise protsessis, on praegu ainus märkimisväärse mahuga ligniinipõhiste kaubanduslike toodete pakkuja. LS-i praegune turg on umbes 1 miljonit tonni aastas. Siiski on LS eriline ligniinitüüp ning olles tugevasti sulfoonitud on selle struktuur ja enamik omadusi teiste tehniliste ligniinitüüpide omast erinev [3].



Kraft protsess, mis on tuntud ka sulfaattehnoogiaga, on laialdaselt kasutatud protsess tselluloosi- ja paberitööstustes tselluloosi tootmiseks, mille kõrvalprodukt on KL [13]. Protsess koosneb aluselise hüdrolüüsist naatriumhüdrosiidi (NaOH) ja naatriumsulfiidiga (Na<sub>2</sub>S). Sellist keedulahust kutsutakse „valgeks leeliseks“ ning ideaalseks vahetaks peetakse 1 mol/l NaOH ja 0,25 – 0,7 mol/l Na<sub>2</sub>S [14]. Kraft protsessi on võimalik jagada kolmeks etapiks, kus esialgne reaktsioon viiakse läbi 150 °C juures, mille tagajärjel lagunevad α- ja β-arüül eetersidemed. Teises etapis on vajalik temperatuur vahemikus 150 – 170 °C, selle käigus eraldatakse enamik süsivesikud ning saadakse kätte ~70% ligniini. Viimases etapis hoitakse maksimaalset temperatuuri, mis eelmises etapis saavutati. Selle käigus saadakse ~90% ligniini ja saadust nimetatakse „mustaks leeliseks“ [15]. Must leelis on rikastatud ligniiniga ja hemitselluloosi laguproduktidega. Musta leelist kasutatakse enamasti keedukemikaalide (NaOH ja Na<sub>2</sub>S) regenereerimiseks põletamise protsessis. Siiski, kui tselluloosi tootmine on väga suures mahus, mis võimaldab põletamisel toota piisavalt energiat protsessi toimimiseks ja kemikaalide regenereerimiseks, on võimalik mingi osa ligniinist eraldada. Tänapäeval on komertsiaalselt kasutusel kaks protsessi: LignoBoost ja LignoForce, [16] mille potentsiaalne turg võib laieneda umbes 3,5 – 14 miljonit tonni aastas [17]. Põhimõtteliselt toimub siin musta leelise hapestamine ligniini sadestamiseks ja väevliühendite eraldamine oksüdeerimisel. KL-i struktuur on tugevasti muutunud kondensatsioonireaktsioonide tõttu ja väevli sisaldus piirab selle laiemat rakendamist.

Organosolv protsess on populaarne ligniini orgaaniliste lahustitega biomassist eraldamise meetod, sest erinevalt teistest meetoditest, on võimalik solventidega saavutada komponentide suurusjaotuslik eraldamine. Protsessi viiakse läbi kõrgendatud temperatuuri juures, vahemikus 130 – 200 °C [18]. Organosolv ligniini (OSL) saamiseks viiakse protsess tavaliselt läbi EtOH-vesi või sipelghape-vesi lahusega, kuid kasutatud on veel mitmeid teisi solvent-vesi segusid mitme teadusgrupi poolt, metanooliga [19] ja metüülisobutüülketooniga [20]. Selle meetodiga saadud ligniin on puhas, sest sisaldab ainult vähesel määral tuhka. Samas modifitseerub OSL struktuur protsessi käigus. Organosolvi meetodit kasutatakse enamasti biomassi eeltötlusel, edasise suhkrustamise lihtsustamiseks ja ligniini saagis on suhteliselt väike. Kommertsiaalselt pole see veel suuremat kasutamist leidnud [3]. OSL kasutatakse lakkides, värvides ja liimides [21].

HL-i toodetakse peamiselt biorafineerimistehastes, kus kasutatakse erinevaid keemilisi ja füüsikalisi töötusi. Enamasti veeauru-, lämmastikuplahvatuse või lahja happe töötlusel saavutatakse hemitselluloosi hüdrolüüs, millele järgneb ensümaatilne tselluloosi hüdrolüüs

ning tahkeks jäägiks on HL [22]. Auruplahvatusega eeltöötlus on madala keskkonnamõjuga ja mõõduka energiakuluga. Töötlemisel on võimalik kasutada puitu suuremate laastudena, sest plahvatus on energiasäästlik viis kuidas biomassi peenestusastet suurendada [23]. Kriitilise tähtsusega on tselluloosi ensümaatilise hüdrolyüüsi [24]. Protsessi käigus eraldatakse biomassist tselluloos ja hemitselluloos vees lahustunud monosuhkrutena ning saadakse struktuuriliselt suhteliselt vähe muudetud HL. HL-i kasutamist on ajalooliselt raskendanud madal puhtusaste, 50 – 70%, sisaldades suhteliselt palju jääksuhkruid, tselluloosi, ensüümide jääke ja töötlemise mineraale.

### **2.3. Ligniini fraktsioneerimine orgaanilise-vesilahustega**

Tehnilised ligniinid on väga heterogeense koostisega, mis raskendab nende edasist väärindamist. Ligniini homogensemaks muutmiseks on võimalik kasutada erinevaid meetodeid, nagu ultrafiltreerimist, mille käigus surutakse suure rõhuga aine läbi membraanide/filtrite [25]. Ultrafiltratsiooni tehnoloogia eelis on see, et seda on võimalik rakendada otse tselluloositehase jäägile, pH-d ja temperatuuri muutmata. Kuid ultrafiltratsiooni veaks on membraanise ummistus oht ligniini halval lahustumisel (nt EtOH-i tootmistehase HL). Selle tehnoloogia kasutamine biorafineerimistehastes pole oma seadmete kalliduse ja eksploatatsiooni kulu tõttu tihti sobilik [12].

Ultrafiltreerimisele lisaks on võimalik kasutada lahustiga fraktsioneerimist. Nende kahe meetodi kombinatsioon võiks olla potentsiaalne meetod, mille abil vähendada ligniini heterogeensust. Lahustiga fraktsioneerimine baseerub polümeeride osalisel lahustumisel lahustis. Ligniini lahustuvus on varieeruv omadus, sõltudes ligniini tüübist, päritolust ning heterogeensest olemusest. Ligniini lahustumine võib parandada selle potentsiaalset väärindamist, muutes selle keemiliste reaktsioonide suhtes tundlikumaks [26]. Lahusti fraktsioneerimist saab kasutada ligniini rafineerimise esimese etapina, et kohandada selle mõningaid omadusi enne edasist töötlemist. HL sisaldab peale ligniini veel tselluloosi, tsellulaaside jääke, tuhka ja monosuhkruid, seega selektiivne lahustamine on ka potentsiaalne HL-i puhastamise meetod. Kitsa molaarmassi jaotusega, hargnevuse või keemilise koostisega polümeerfraktsioonide tootmiseks on välja töötatud mitu lahustiga fraktsioneerimismeetodit [11,12,26–28]. Ligniini lahustiga fraktsioneerimist saab läbi viia kas tahke ligniini selektiivse lahustamise või lahustunud ligniini selektiivse sadestamise teel. Sarnaseid strateegiaid on aastate jooksul rakendatud ja meetodid põhinevad orgaaniliste lahustite, nagu diklorometaan, isopropanool, MeOH, EtOH, atsetoon, dietüüleeter, dioksaan, THF, butanoon ja heksaan,

puhastel lahustitel või lahustisegudel. Kuid paljud varem loodud meetodid on osutunud problemaatiliseks, sest neid on raske taaskasutada, nad on loodust kahjustavad või mürgised [12]. Seepärast proovitakse leida alternatiivseid, odavamaid ja looduslikke orgaanilisi lahusteid, millega on võimalik asendada kalleid või isegi mürgiseid solvente. Mõned protokollid kasutavad järjestikku nelja erinevat lahustit (etüülatsetaat, etanool, MeOH ja atsetoon), mis muudab mahu suurendamise keeruliseks, eriti kui on vaja kaaluda keemilist ringlussevõttu tööstuses [29].

Valdav enamus lahustiga fraktsioneerimisi on testitud tselluloositootmisel saadud jääk KL-ga Samas Ragauskase töögrupp on kasutanud lihtsat ja keskkonnasõbralikku meetodit lüliheina ja männi laastu OSL (väike osa ligniinist, mis on atsetoonis lahustuv) erineva molekulmassiga fraktsioonide saamiseks [11]. Ligniini fraktsioneerimiseks kasutati atsetooni erinevaid proportsioone vees, vahemikus 30 – 60 massi%. Atsetooni kõrgem kontsentratsioon lahustas ligniini suurema molekulmassiga fraktsioone. Fraktsioneeritud OSL-il oli erinev molekulmass ja funktsionaalsed rühmad. Kõrgema molekulmassiga fraktsioonid sisaldasid rohkem alifaatseid ja vähem fenoolseid OH-rühmi kui madalama molekulmassiga fraktsioonid. Võrreldes suurema molekulmassiga proovidega, tõid madalama molekulmassiga fraktsioonid kaasa homogeensema struktuuri [11].

Sarnaseid tulemusi on saadud KL-i sadestamisega ja fraktsioneerimisel EtOH, atsetooni ja propüleenglükoolmonometüüleetri vesilahusest, lisades ligniini välja sadestajana vett. Mittelahustuvatel fraktsioonidel oli suur molaarmass ( $M_w$  4,3–18,9 kg/mol) ja kõrge polüdisperssus (2,2 – 5,6). Lahustest sadestunud fraktsioonide molaarmass sõltus sadestamise etapis lisatud vee kogusest. Väga lahustuvad ligniini fraktsioonid olid väga väikese molaarmassiga ( $M_w$  1,1 – 2,0 kg/mol), sisaldades rohkem vabu fenoolseid OH-rühmi (3,95 – 4,05 mmol/g), karboksüülhapperühmi (0,56 – 0,71 mmol/g) ja rohkem süsivesikuid (5,3 – 6,1%) kui teised ligniini fraktsioonid [12].

Veel on uuritud okaspuu KL-i lahustuvust EtOH-i vesilahustes ja määratud saadud fraktsioonide molaarmassi jaotus ja fenoolsed hüdroksüülrühmad [26]. Suurim ligniini kontsentratsioon saavutati 60 massi% EtOH-i lahuses 235,89 g/l tahke aine ja vedeliku suhtega 300 g ligniini liitris lahustis. Algse ligniini keskmine molaarmass oli 4,7 kg/mol. Kui kasutati ainult vett, oli lahustunud fraktsiooni keskmine molaarmass vahemikus 0,1 kuni 2 kg/mol ja molekulide suurusjaotus oli enamasti vahemikus 0,1 kuni 1 kg/mol. Puhta EtOH-i kasutamisel oli molekulide suuruse jaotus vahemikus 0,1 kg/mol kuni 10 kg/mol ja massi keskmine

molaarmass vahemikus 1 kuni 1,3 kg/mol. Kui EtOH-i sisaldus lahustis on suurem kui 90 massiprotsenti, saab suurema molaarmassiga molekulid ( $> 10$  kg/mol) eraldada lahustumatu fraktsioonina. Lisaks vähenes mõlema fraktsiooni polüdispersus, kui EtOH-i kontsentratsioon oli üle 80 massi%. Lahustumatu fraktsiooni OH-rühmade sisaldus oli kõrgem fraktsioneerimisel alla 20 massi% EtOH-iga, samas kui 20 massi% ja suurema EtOH-iga lahustuvad fraktsioonid sisaldasid suuresti fenoolseid hüdroksüülrühmi.[12]

#### **2.4. Tetrahüdrofuraan ja 2-metüültetrahüdrofuraan – vesilahused hüdrolüüsi ligniini fraktsioneerimiseks**

Käesolevas töös uuritakse tööstuslikult biorafineeritud kasepuidu HL-i. See HL on suuresti säilitanud oma loodusliku struktuuri ja on väga heterogeene, sisaldades väga laia molekulmassi jaotusega ja suuri ligniini molekule. HL-id on tuntud oma väga kapriisete lahustumisomaduste poolest orgaanilistes solventides ja lahustuvad hästi vaid väga tugevalt aluselistes tingimustes (nt NaOH-i vesilahustes). Lisaks sisaldab lisatöötletud HL alati tselluloosi, tsellulaase, suhkruid ja mineraale, mis puhastes orgaanilistes lahustes ei lahustu. Ühes vähestes töödes, kus on uuritud teiste hulgas ka ensüümide abil lehtpuidust saadud HL-i lahustumist orgaanilistes solventides, saadi THF-i kasutades rahuldavad tulemused [30]. 50%-line HL lahustumine puhtas THF-is võiks anda võimaluse HL fraktsioneerida vesilahustes. Ainus töö, kus on kasutatud ainult puhast THF-i ligniini fraktsioneerimiseks, tehti Soxhleti ekstraktoriga okaspuu KL-iga [31].

THF on värvitu orgaaniline ühend, mis seguneb veega täielikult. THF-i toodetakse peamiselt naftakeemia saadustest. Kuigi THF-i on võimalik sünteesida mõningatest taastuvatest ressurssidest, pole see majanduslikel põhjustel laialt levinud. Sellegi poolest peetakse THF-i suhteliselt keskkonnasõbralikuks solvendiks, sest tema taaskasutamise võimalused on head. THF-i kõige suurem koormus keskkonnale tuleneb tema kuivatamisest. Kuna reageerides hapniku juuresolekul tekib THF-is peroksiide, tuleb destilleerides jälgida hoolikalt ohutusnõudeid, sest plahvatusohtlikud peroksiidid kontsentreeruvad jääki. Samas fraktsioneerimisprotsessis pole kuiv THF vajalik ja saab kasutada ka destilleeruvat asetropset segu (~6,7%).

**Tabel 1.** THF-i füüsikalised omadused

Omadused	THF
Molekulmass – M (g/mol)	72,1
Sulamistemperatuur – $T_f$ (°C)	-108
Keemistemperatuur – $T_b$ (°C)	66
Aururõhk 20 °C juures (mmHg)	132
Tihedus 20 °C juures (g/ml)	0,889
Viskoossus 25 °C juures (mPa×s)	0,48
Leekpunkt (°C)	-17
Lahustuvus vees 20 °C juures (g/100g)	Täielikult

Teine tööstuslikult huvipakkuv lahusti on 2-metüültetrahydrofuraan (MTHF). Seda on võimalik sünteesida viiest või kuuest süsinikust koosnevatest suhkrutest, mis on saadud biomassi töötlemisel (**joonis 3**). MTHF on biolagunev, mittemürgine ning pole kahjulik osoonikihile. MTHF ei lahustu vees täielikult nagu THF (

**Tabel 2).** MTHF lahustub vees 14 massi% ja vett lahustub MTHF-is 4,1 massi% 20 °C juures [32]. Vähene vees lahustuvus on kasulik MTHF-i eraldamisel veest. Erinevalt paljudest teistest ainetest on MTHF-i lahustuvus vees pöördvõrdelises sõltuvuses temperatuurist. See tähendab, et temperatuuri tõstes väheneb MTHF-i lahustuvus vees ja vastupidi, mis võib kasuks tulla MTHF-i kuivatamisel.

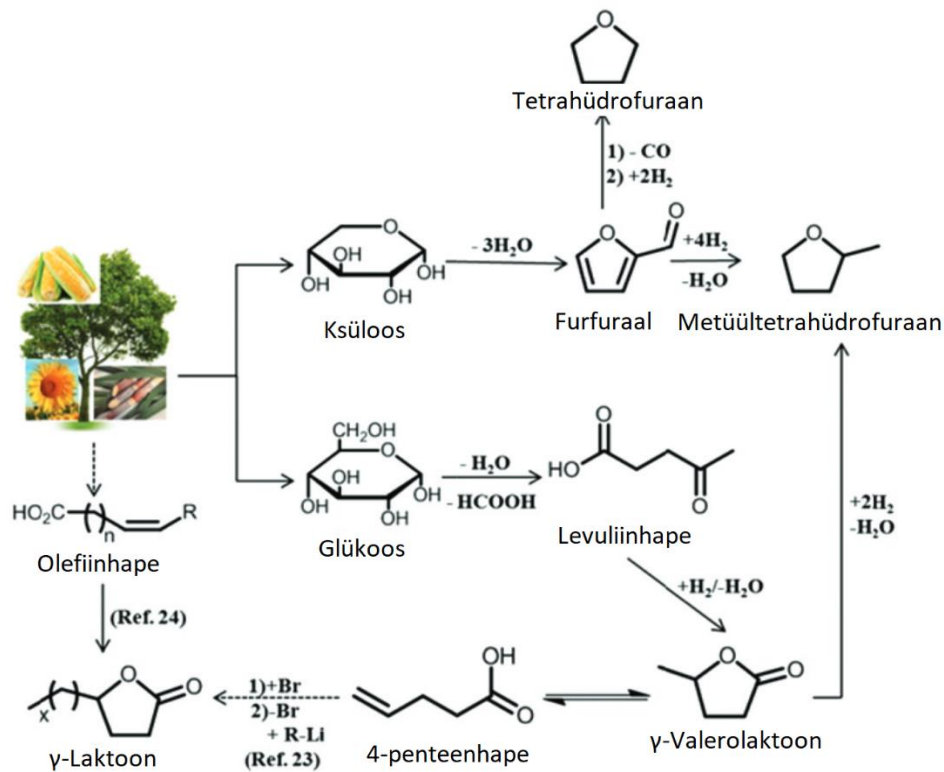
**Tabel 2.** MTHF-i füüsikalised konstandid.[35]

Omadused	MTHF
Molekulmass – M (g/mol)	86,1
Sulamistemperatuur – $T_f$ (°C)	-136
Keemistemperatuur – $T_b$ (°C)	80,2
Aururõhk 20 °C juures (mmHg)	102
Tihedus 20 °C juures (g/ml)	0,854
Viskoossus 25 °C juures (mPa×s)	0,46
Leekpunkt (°C)	-11
Aurustumise entalpia (kJ×kg <sup>-1</sup> )	375
Dielektriline konstant 20 °C juures	6,97
Lahustuvus vees 20 °C juures (g/100g)	14

Sellegi poolest on MTHF potentsiaalne solvent ligniini lahustamiseks, sest on toodetav biomassist. MTHF-i loodetakse hakata kasutama THF-i asemel erinevates rakendustes, et muuta protsesse keskkonna sõbralikumaks. Praegu on MTHF veel suhteliselt kallis, aga eeldatakse selle odavnemist, kuna on leitud, et MTHF on palju efektiivsem kütuse biolisandina

kasutamisel kui bioetanool [33]. Teisedki biomassist toodetavad lahustid on pälvinud tähelepanu tehniliste ligniinide lahustamisel. Binaarseid  $\gamma$ -valerolaktooni (GVL) lahustisüsteeme kaaslahustiga (nt vesi, ioonsed vedelikud, DMSO ja dimetüülformamiid) on kasutatud erinevat tüüpi ligniinide sh HL-i lahustamiseks. Leiti, et kaaslahusti sisaldus GVL-is mõjutas oluliselt ligniinide lahustuvust [27].

Käesoleva töö eesmärk on hinnata esmakordselt tööstuslikul biorafineerimisel saadud kase HL-i lahustuvust THF-i ja MTHF-i vesilahustes ja määrata saadud fraktsioonide kasulikud omadused nagu molekulmassi jaotus ning alifaatsed ja fenoolsed OH-rühmad.



**Joonis 3.** Ülevaatlisk skeem biomassist THF-i ja MTHF-i saamiseks.[36]

### 3. EKSPERIMENTAALNE OSA

#### 3.1. Materjalid

Nimetus	Päritolu	CAS	g/mol	Keemistäpp °C
Etanool	Sigma-Aldrich	64-17-5	46,0	78
Hüdrolüüsi ligniin	Fibenol	-	-	-
Metüültetrahüdrofuraan	Acros Organics	96-47-9	86,1	80
MilliQ vesi		7732-18-5	18,0	100
Naatriumhüdroksiid	Sigma-Aldrich	1310-73-2	39,9	-
Tetrahüdrofuraan	Sigma-Aldrich	109-726-8	72,1	66
Väävelhape	Sigma-Aldrich	7664-93-9	98,0	327

Lahustamise jaoks vaja minevaid lahuseid segati MilliQ veest (18,2 M $\Omega$ ×cm) ja THF-ist või MTHF-ist. THF oli puhtusega 99,9% ja inhibiitorita. Kasutatud MTHF-i puhtus oli 99% (millest kuni 0,2% vett) ja sisaldas stabilisaatorina 1% butüülhüdroksütolueeni. Enne kasutamist kuivatati THF ja MTHF destilleerides. THF-i destilleeriti naatriumiga (Na) ja koguti fraktsioon 66 °C juures. MTHF-i destilleeriti liitiumalumiiniumhüdraadiga (NaAlH<sub>4</sub>) ja koguti fraktsioon 80 °C juures.

Kontsentreeritud väävelhapet kasutati 72%-lise lahuse tegemiseks. Jäävannis lisatakse 100 ml mõõtekolbi 30 ml MilliQ vett ja aegamööda lisatakse 67 ml kontsentreeritud väävelhapet (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, tihedus 1,84 g/ml). Lahusel lastakse jahtuda toatemperatuurini ja täidetakse MilliQ veega märgini ja loksutatakse.

#### 3.2. Aparatuur ja töövahendid

- Kaalumised viidi läbi digitaalsel kaalul Radwag WAS 220/C/2 ( $\pm 0,1$  mg).
- Vedelike ülekandmisel kasutati Eppendorf Reference® 20  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 200,  $\mu$ l, 1000  $\mu$ l ja 5 ml automaatpipette.
- Proovide kuivatamiseks kasutati lüofilisaatorit Alpha 1-2 LDplus (Martin Christ Freeze Dryers) 20 mbari ja -50 °C.
- UV-vis spektroskoopilised mõõtmised viidi läbi seadmega Thermo Scientific Evolution 160.
- UV-Vis spektroskoopilised andmed töödeldi programmis VISIONlite 4.0.
- UV-Vis spektroskoopiliste mõõtmiste tegemiseks kasutati Hellma Analytics kvartsküvette (optiline teepikkus 1 cm, mahtuvus 3 ml).
- Lahustamise proove segati seadmega IKA Vortex Genius 3 230V 1/cs

- Proove tsentrifugeeriti Eppendorf® Centrifuge 5804/5804R seadmega, kasutades nurkrootorit FA-45-30-11.
- Molekulmassi suhtelist jaotust määrati kõrgrõhvedelik kromatograafia (HPLC) (lõik 3.1.4).

### 3.3. Hüdrolyüsi ligniini keemilise koostise määramine Klasoni meetodil

Klasoni meetod on standardiseeritud meetod ligniini ja suhkrute määramiseks biomassis happelise hüdrolyüsi kaudu. Meetod on välja töötatud Innventia AB poolt.[34]

Meetodi läbiviimiseks valmistati 72% väävelhappe (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) lahus. Tahkeaine filtreerimiseks vajalik filter varustati klaasfiibrist filterpaberiga ning asetati kuivatuskappi 105 °C kuni 2 – 24 h varem. Pärast kuivatamiseks kulunud aja möödumist jahutati filtrid toatemperatuurini kuivatusaine peal (CaSO<sub>4</sub>) eksikaatoris ja seejärel kaaluti.

Kõrgrõhureaktor kaaluti 0,3 g kuiva HL-i. Proovile lisati 3 ml 72% väävelhapet ja magnetsegaja pulk. Lahust segati 1 h toatemperatuuril kiirusega 400 rpm. Seejärel lisati kolbi 84 ml MilliQ vett ning asetati 120 °C õlivanni. Reaktsioonil lasti käia 1 h ning siis jahutati nõu toatemperatuurini. Kõrgrõhureaktori sisu filtreeriti vaakumfiltriga ning kolb loputati MilliQ veega. Filtrile jäänud tahkis pesti MilliQ veega kolm korda. Filter kuivatati lüofilisaatoris 20 mbari ja -50 °C juures kuniks kaal enam ei muutunud. Happes lahustumatu ligniini sisaldus arvutati kasutades valemit 1.

$$AIR = \frac{m}{M} \times 1000 \text{ mg/g}$$

**Valem 1.** Happes lahustumatu ligniini arvutamise valem. AIR (ingl k. *acid insoluble residue*) – happes lahustumatu ligniin, m – filtrile jäänud tahke jäägi mass ja M – algselt kaalutud proovi mass. Tulemuseks saadakse happes lahustumatu ligniini sisaldus (mg) grammi proovi kohta.[34]

Filtraadis määrati happes lahustuv ligniin UV-vis meetodi abil kasutades valemit 2.

$$ASL = \frac{A \times D \times V}{a \times b \times M} \times 1000 \text{ mg/g}$$

**Valem 2.** Happes lahustuva ligniini arvutamise valem. ASL (ingl k. *acid soluble lignin*) – happes lahustuv ligniin, A – neelduvus 205 nm, D – proovi lahendusfaktor, V – filtraadi kogus (l), a – neelduvustegur (110 g/l), b – optilise teepikkus, M – proovi kaal.[34]



HL-is suhkrute määramiseks võeti 2 ml happehüdrolüüsi lahuse osa ning lisati tahket  $\text{Ca(OH)}_2$  kuniks lahuse pH on ~7. Lahuse pH muutust jälgiti pH-paberiga. Analüüsitava lahuse pH peab olema 7 lähedane kuna see on suhkrute analüüsis kasutatud HPLC kolonni üks töötingimustest.

### 3.4. Hüdrolüüsi ligniini hüdroksüülrühmade määramine $^{31}\text{P}$ TMR spektroskoopiaga

OH-rühmad määrati TMR spektroskoopiaga, derivatiseerides ligniini OH rühmi 2-kloro-4,4,5,5-tetrametüül-1-3-2-dioksüfosfolaanini (TMDP). Meetod on põhjalikult kirjeldatud Argyopolulos grupi poolt [35]. TMR kasutatud parameetrid on toodud tabelis 3. 30 mg proovi lahustati deuteeritud kloroformi ja püridiini segus (suhe 1:1,6), mis sisaldas 5 mg/ml relaksatsioonireagenti kroom(III)2,4-pentaanedionaat ja 18 mg/ml sisestandardit N-hüdroksü-5-norborneen-2,3-dikarboksüümiid (NHND).  $^{31}\text{P}$  mõõtmised teostati TMR spektromeetris Bruker Avance-III 700 MHz, 256 skanneeringut, pulsiprogrammiga Inverse gated decoupling pulse.

**Tabel 3.** Kasutatud parameetrid mõõtmise läbi viimiseks, kasutades TopSpin programmi zgig (ingl. *inverse gated decoupling pulse*)

TMR parameetrid	Väärtused
Tuum	$^{31}\text{P}$
Spektri laius (SW)	100 p.p.m.
Mõõtmis aeg (AQ)	~0,8 s
Relaktseerumise viivitus (D1)	$\geq 10$ s
Mõõtmiste arv (NS)	64 või rohkem
Spektri keskosa (O1P)	140 p.p.m.

### 3.5. Veega pestud hüdrolüüsi ligniini valmistamine

HL-i pesemiseks kaaluti 4 g HL-i 50 ml Falcon tuubi ning lisati 30 ml MilliQ vett. Tuubi segamiseks kasutati vortexi (IKA Vortex Genius 3 230V 1/cs) kuni kogu aine oli märgunud. Tuubi tseentrifuugiti 10 minutit jõul  $4000 \text{ m/s}^2$ . Lahus dekanteeriti ning tuubi lisati uuesti 30 ml MilliQ vett ja segati kuniks tahkis on saadud põhjast vabalt liikuvalt lahusesse. Kokku teostati kolm pesutsükli kirjeldatud protsessi järgi. Veega pestud HL (PHL) kuivatati lüofilisaatoris 20 mbari ja  $-50 \text{ }^\circ\text{C}$  juures kuniks kaal enam ei muutu.

### 3.6. Hüdrolüüsi ligniini lahustamine ja kontsentratsiooni määramine

Lahustuvuse määramiseks valmistati sobivas vahemikus erinevate massi% THF- ja MTHF-vesilahuseid kasutades vastavat lahustit ja MilliQ vett. Kuiv HL kaaluti ja valmistati

lahused nii, et kuivainet oleks 10% lahuse massi järgi. Lahuseid segati magnetsegajaga 24 tundi kiirusel 350 rpm kontrollitud temperatuuril 25 °C. Lahustumata osa tsentrifugeeriti põhja. Pestud mittelahustunud HL kuivatati lüofilisaatoris Alpha 1-2 LDplus(Martin Christ Freeze Dryers) 20 mbari ja -50 °C juures ööpäeva ning kaaluti koos viaaliga.

Lahustunud ligniini hulk määrati gravimeetriselt lahustumatu jäägi järgi ja UV-Vis spektroskoopilisel meetodil lahusest. UV-Vis mõõtmisi tehti kasutades Thermo Evolution 160 spektrofotomeetrit ja neelduvus mõõdeti vahemikus 200 – 600 nm. Lahustunud proovid lahjendati kasutades 70% EtOH lahust selliselt, et neelduvus 280 nm juures oleks vahemikus 0,2 – 1,0 AU. Mõõtmised viidi läbi kasutades 2,5 ml lahust kvartsküvettes, baasjoonena kasutati õhku ning võrdluslahusena 70% EtOH vesilahust. UV-Vis meetodil saadud andmete töötlemiseks kasutati 70% EtOH-i vesilahuse neeldumiskoeffitsenti ( $\epsilon_{280} = 11,12 \text{ mg/ml}$ ). Kalibreerimisgraafiku koostas ja neeldumiskoeffitsendi määras Nikolai Treiberg. Analüüsitud lahuste neeldumist 280 nm juures kasutati lahustunud ligniini kontsentratsiooni arvutamisel.

### **3.7. Hüdrolüüsi ligniini fraktsioonide suhtelise molekulmassi määramine**

SEC on üles seatud järgnevalt: juhtpaneel Shimadzu CBM-20A, kolonni ahi Shimadzu CTO-10AS, pump Shimadzu LC-20AD, murdumisnäitaja detektor Shimadzu RID-20A, automaatne proovivõtja Shimadzu SIL-20A, diodimassiivi detektor Shimadzu SPD-M20A, kolonnid PSS MCX 1000 Å ja 100 000 Å 5  $\mu\text{m}$ , 8 mm  $\times$  300 mm, mobiilseks faasiks on 0,1 M NaOH, voolukiiruseks 0,6 ml/min, jooksuajaks 50 minutit ja võetud proovi koguseks 10  $\mu\text{l}$ . Proovi analüüsimiseks lahjendati lahustunud fraktsioon kontsentratsioonini 5 mg/ml kasutades 0,5% NaOH lahust. Enne analüüsimist tsentrifugeeriti lahjendatud proovi 10 minutit jõul 12 300  $\text{m/s}^2$ , et vältida kolloidosaake sattumist masinasse. Andmete analüüsimiseks kasutati polüstüreensulfonaadi sooladega (tootja PSS, vahemikus 246 – 100 000 g/mol) tehtud kalibreerimisgraafikut.

SEC-is mõõdeti UV-vis detektoriga neelduvust 280 nm juures. Sellest saadud kromatogrammilt arvutati kolm väärtust. Arvkeskmine molekulmass ( $M_n$ ), mida arvutati kogupolümeeri mass jagatud kõikide molekulide arvuga. Keskmise molekulmass ( $M_w$ ), arvutati proovi keskmine molekulmass. Polüdispersuse indeks (PDI), mida arvutati valemiga  $M_w/M_n$ , kirjeldab suhtelise molekulmassi jaotuse ulatust.

Andmete võrdlemiseks võimalikult suure molekulmassi jaotusega lahustati HL-i NaOH-s. Lahustunud fraktsioon sadestati välja lisades lahusele väävelhapet kuni pH 2.

Hapestamisel sadenes välja happesadestatud ligniin (HSL), mille molekulmassi jaotuse väärtused mõõdeti:  $M_n = 12,4 \text{ kg/mol}$ ,  $M_w = 127,2 \text{ kg/mol}$  ning PDI on 10,2.

## 4. TULEMUSED JA ARUTELU

Käesoleva töö eesmärk on hinnata tööstuslikul biorafineerimisel saadud kase HL-i lahustuvust THF-i ja MTHF-i vesilahustes ja määrata saadud lahustuvate fraktsioonide iseloomustamiseks molaarmassi jaotus. HL-i fraktsioonide omaduste ja lahustuvuse vahelisi seoseid prooviti seletada lahustunud HL struktuursete omaduste kaudu NMR analüüsi kasutades. Lahustamise katsed viidi läbi termostaadis 25 °C juures.

### 4.1. Hüdrolüüsi ligniini koostise analüüs

Selles töös kasutatud toorligniini on koostööpartneri Fibenol OÜ üks demootmise optimeerimisel saadud partii. Kuna HL-i lahustamist võivad mõjutada kõik lisandid toormaterjalis, siis on tähtis määrata ka antud partii koostis. Standardse Klasoni meetodiga (vt 3.3.1.) määrati HL sisaldus tooraines: 86,3%, millest 4,9% on vees lahustuv. Toor HL-i tuhasisaldus on 1,15%, millest ~0.5% on vees lahustuv. Toor HL-i sahhariidide sisalduse andmed pärinevad Fibenolilt: 4.7% glükoos, 2.1% ksüloos, 1.3% galaktoos, 0.6% arbiinooos, 1.4% mannoos. Mittelahustuvate tselluloosi ja tsellulaaside sisaldus on kumbagi ~4%.

Toorligniini oli eelnevalt kuivatatud ja peenestatud tööstusliku desintegraatoriga 100 Hz juures, kuid niiskus sisaldus oli ~2%. Edasiste eksperimentaalsete lahustumistulemuste võrdlemiseks kuivatati HL lüofilisaatoris täiesti kuivaks (20 mbar, -50 °C).

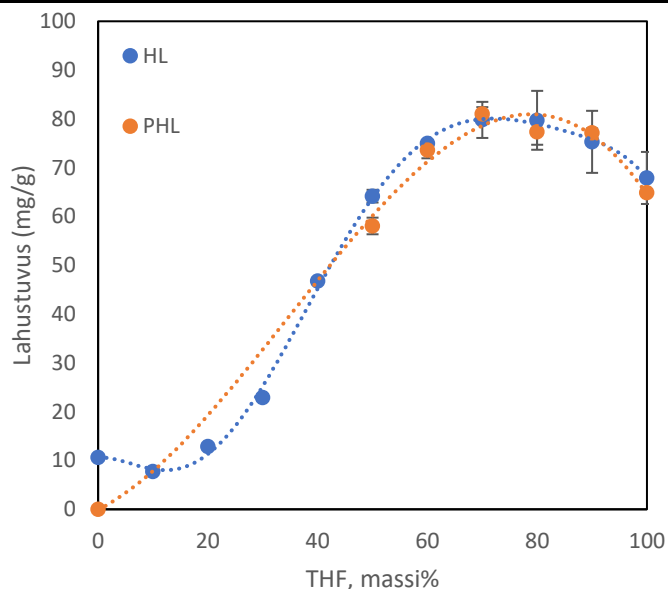
Kuivale HL-ile tehti veega pesu (vt. 3.4), et eemaldada vees lahustuv fraktsioon: peamiselt monosuhkrud, lahustuvad soolad ning madal molekulaarsed ligniini osised. Veega eemaldatav materjali hulk on 10,6±0,08%. Veega pesemine võiks anda lisaks puhtamatele ligniini fraktsioonidele infot ligniini lahustumise kohta kasutatud lahustisegudes võrreldes pesemata HL-ga.

### 4.2. Hüdrolüüsi ligniini lahustamine THF-vesilahustes

Mõistmaks paremini HL ja PHL võimalikku fraktsioneerimist, uuriti nende lahustuvust puhtas THF-is ja 10 – 90 massi% THF-i vesilahustes. Katsed viidi läbi 10% tahke ligniini lisamisega lahusele (1/10 lahuse suhtes). HL-i ja PHL-i lahustumise tulemused THF-vesilahustes on toodud tabelis 4 ja visualiseeritud joonisel 4. Seega tabelis 4 toodud ligniini proovide lahustuvused mg/g lahustisegu kohta numbrilised väärtused näitavad ka lahustuva osa protsenti algsest materjalist.

**Tabel 4.** HL-i ja PHL-i lahustuvused THF ja vesilahustes, 25 °C. 1 osa tahket ligniini/10 osa lahuse kohta.

THF massi%	HL		PHL	
	Lahustuvus (mg/g)	Katsete arv	Lahustuvus (mg/g)	Katsete arv
100	67,9±5,3	3	64,9±0,4	3
90	75,3±6,4	3	77,1±0,9	3
80	79,7±6,0	3	77,3±2,6	3
70	79,8±3,7	3	81,0±1,4	3
60	75,0±0,3	3	73,6±1,6	3
50	64,2±1,3	3	58,1±1,7	3
40	46,8±0,4	2	-	-
30	22,9±0,2	2	-	-
20	12,9±0,3	2	-	-
10	7,8±0,4	2	-	-
0	10,6±0,1	2	-	-



**Joonis 4.** HL-i ja PHL-i lahustuvused THF-vesi segudes, 25 °C. Lahuse kontsentratsioon on 1 osa tahket ligniini/10 osa lahuse kohta.

Nagu näha tabelis 4, siis väikeste THF lisandite korral, 0-20%, HL-i lahustuvus ei muutunud märgatavalt ja võib eeldada, et peamiselt lahustus HL-st sama fraktsioon, mis puhtasse vette HL-i pesemisel. Alates 20%-st hakkas lahustuvus kasvama, saavutades maksimumi, ligi 80% algselt võetud HL-st, 70 – 80% THF-i sisalduse juures. Platoo tekkimine võib olla ka tingitud lahustatava HL-i algsest kogusest (10 massi%) ning kui seda suurendada võiks välja joonistuda teravam lahustuvuse maksimum. Suurematel THF-i hulkadel HL-i lahustuvus langeb kuni 68%-ni HL-ist. Kuivas THF-i lahuses on HL-i lahustuvus väärtuselt

sarnane 50%-lise THF-i vesilahusega. Sarnaseid sõltuvusi on saadud erinevate tehniliste ligniinidega atsetoon-vesi [11] ja EtOH-vesi [26] segudes. Sellist sõltuvust on põhjendatud erineva suurusega molekulide lahustuvusomaduste ja fenoolsete rühmade sisaldusega lahustuvates molekulides [26]. On täheldatud, et kõrgema lahustuvusega fraktsioonid sisaldavad rohkem fenoolseid ja vähem alifaatseid OH-rühmi [11]. Vesiniksidemete moodustumise omadustele solvendis ja interaktsioonidele ligniiniga on tõstetud esile [27], mis viitab lahustisegu mikroheterogeensuse tähtsusele lahustumisprotsessis. Antud töö tulemustes on märkimisväärne HL-i kõrge lahustuvus THF-vesilahustes. Teised autorid on leidnud, et KL-i puhul, mille keskmine molekulmassi jaotus on palju väiksem kui HL-il, on lahustuvus jäänud 60% piirkonda [31].

PHL-i lahustamise tulemused THF-vesilahustes on näidatud samuti tabelis 4 ja joonisel 4. Nagu jooniselt näha, siis PHL-i lahustuvus on sisuliselt sama ja sarnase sõltuvusega 50 – 100% THF segudes kui HL-i korral. Arvestades, et PHL-i korral on veega välja pestud ~11% vees lahustuv fraktsioon (vabad suhkrud, soolad ja vees lahustuv ligniin), siis PHL-i lahustuvus on oodatust kõrgem. Siin võib olla seletuseks just vees hästi lahustuvate suhkrute ja soolade (väljasoolamine ja -suhkrustamine) mõju HL-i lahustumisele, [36] mille puudumisel PHL-i molekulidel on parem lahustuvus. Samuti on võimalik ligniini suhteline suurem hulk lahustatava PHL-i korral.

### **4.3. Hüdrolüüsi ligniini lahustamine MTHF-vesilahustes**

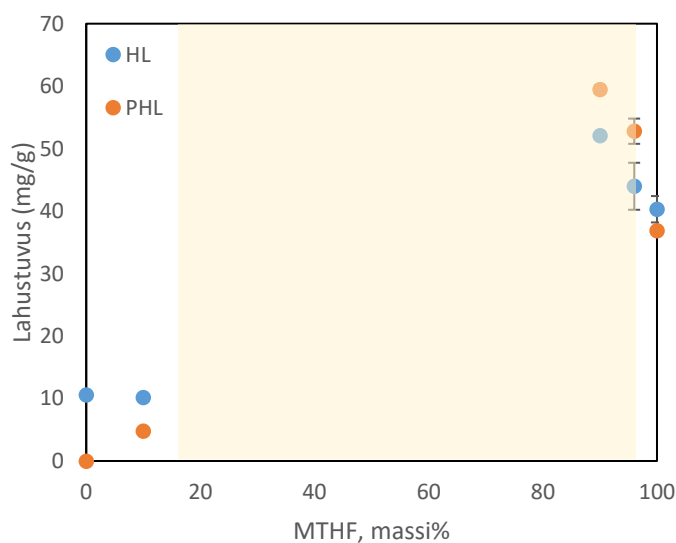
HL-i ja PHL-i lahustumise tulemused MTHF-vesilahustes on toodud tabelis 5 ja visualiseeritud joonisel 5. Lahustumine viidi läbi MTHF-vesilahustes neljas punktis, 10, 90, 96 ja 100%, arvestades see juures solvendi ja vee omavahelisi lahustuvusi erinevatel tingimustel. Tähelepanu tuleb pöörata, et vahemikus 14 – 96 % MTHF juures on vastavad vesilahused heterogeensed, moodustades kaks faasi, veefaas all pool ja MTHF üleval. Seega on üks valitud 90% MTHF-vesi heterogeene. Üks valitud segu suhe (10%) on MTHF-i veega aseotroobi moodustumissuhe ja teine (96%) on MTHF-i vees lahustuvuse piiri lähedal.

Nagu võib näha tabelis 5, nii HL-i kui ka PHL-i lahustuvused MTHF-i lahustes on väiksemad, kui vastavates segudes THF-vesi korral, ulatudes ~45%-ni HL-i ja ~60%-ni PHL-i korral. Huvitaval kombel PHL-i lahustub 96 ja 90% MTHF juures märgatavamalt rohkem kui HL-i. Siin võib olla põhjuseks eelpool mainitud väljasoolamise või suhkrustamise mõju HL-i korral [36]. Veelgi intrigeerivam on asjaolu, et mõlema ligniini korral on suurim lahustuvus 90% MTHF-vesilahustes, mis on algselt kahefaasilised. Ligniini lisamisel lahustite segule aga

faasieraldatus kaob koheselt. Selline nähtus võib olla tingitud sellest, et HL ja PHL mõlemad sisaldavad natuke tselluloosi ja ensüümide jääke, mis võivad vee siduda (geelistumine) ja seejuures soodustada ligniini molekulide lahustumist MTHF-is. Käesolevas töös ei jõutud uurida laiemalt heterogeense solventsegu koostise toimet ligniini lahustuvusele, aga leitud efekt tekitab kindlasti rakendusliku huvi.

**Tabel 5.** HL-i ja PHL-i lahustuvused MTHF-i ja vesilahustes, 25 °C. 1 osa tahket ligniini/10 osa lahuse kohta.

MTHF massi%	HL		PHL	
	Lahustuvus (mg/g)	Korduste arv	Lahustuvus (mg/g)	Korduste arv
100	40,3±2,1	4	36,9±0,5	4
96	44,0±3,8	4	52,8±2,0	4
90	52,1±0,3	4	59,5±0,7	4
10	10,2±0,3	4	4,8±0,4	4
0	10,6±0,1	2	0	-



**Joonis 5.** HL-i ja PHL-i lahustuvused MTHF-vesilahustes, 25 °C. 1 osa tahket ligniini/10 osa lahuse kohta. Värviline taust näitab lahusti heterogeene ala.

#### 4.4. Lahustatud ligniini fraktsioonide suhteline molekulmassi suurusjaotuse analüüs

Ligniini, nagu ka teisi polümeere, saab iseloomustada selle keskmiste molaarmasside (arvkeskmise,  $M_n$  ja massikeskmise,  $M_w$ ) ja polüdispersusindeksi (PDI) kombinatsioonina, mis võib anda teavet ligniini molekulmassi jaotuse kohta [37]. SEC on kõige sagedamini kasutatav analüüsimeetod, mis annab ligniini suhtelise molaarmassi väärtused. SEC-i on

kasutatud erinevate tehniliste ligniinide [37], lahustiga fraktsioneerimisel saadud lahustuvate ja lahustumatute ligniinifraktsioonide iseloomustamiseks [26].

Antud töös kasutati standardset SEC süsteemi kalibratsiooni polüstüreensulfonaadi sooladega, mis on lineaarne aromaadne polümeer ning see võimaldab ligniinile anda vaid suhtelise molekulmassi väärtuse. Selle põhiline põhjus on ligniini heterogeenne struktuur, mis on hargnev ja kolmemõõtmeline. Seega saab tabelis 5 ja 6 toodud andmeid kasutada ainult võrdlevas uuringus.

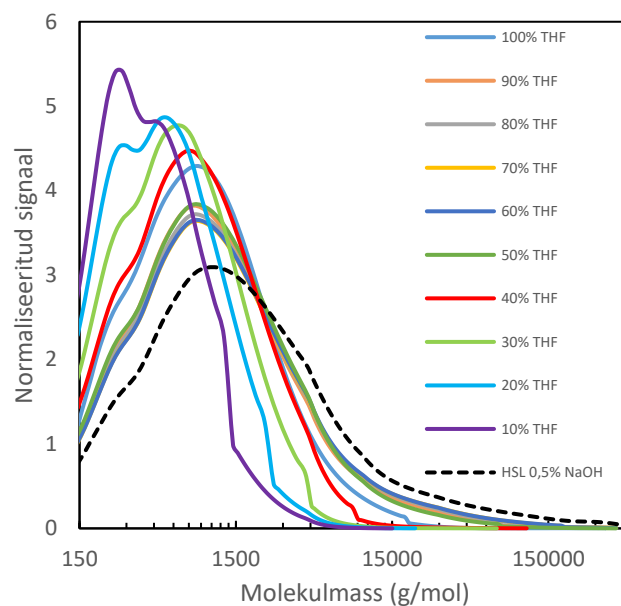
Töörühmas on määratud HL-i molekulmassi suhteline jaotus. Selleks lahustati HL NaOH-i lahuses, kus on võimalik saavutada maksimaalne lahustuvus ja seejärel sadestatud H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-ga (pH=2). Joonistel tähistatud kui HSL. Tähtis on märkida, et ka NaOH-i lahustes jääb jääk tselluloos ja hüdrolüüsiensüümid lahustumatuks. Sellisel viisil kätte saadud ligniini suhteline molekulmassi jaotus on väga lai, mida näitab kõrge PDI (10,2). Sellise fraktsiooni suhtelise molekulmassi väärtused on  $M_n = 12,4$  kg/mol ja  $M_w = 127,2$  kg/mol. Neid tulemusi kasutatakse võrdluses orgaanilistes lahustisegudes fraktsioneeritud ligniini tulemustega.

Valitud THF-vesi segudes lahustunud HL-i ja PHL-i fraktsioonidele on tehtud suhteline molekulmassi analüüs. Tulemused on toodud tabelis 5, joonisel 6 ja 7.

**Tabel 5.** Keskmised suhtelised molekulmassid erinevatel THF-vesi segudes lahustunud HL-i ja PHL-i fraktsioonidele, mõõdetuna SEC meetodil.

THF	HL			PHL		
	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	PDI	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	PDI
100%	2365	8952	3,78	2675	11754	4,39
90%	5472	37799	6,91	4684	31863	6,80
80%	6244	42014	6,73	5399	35610	6,60
70%	6018	42199	7,01	5646	37797	6,70
60%	5891	40442	6,86	5534	36827	6,66
50%	3687	19570	5,31	2837	9944	3,51
40%	1481	8117	5,48	-	-	-
30%	958	3070	3,21	-	-	-
20%	762	1867	2,45	-	-	-
10%	622	1401	2,25	-	-	-

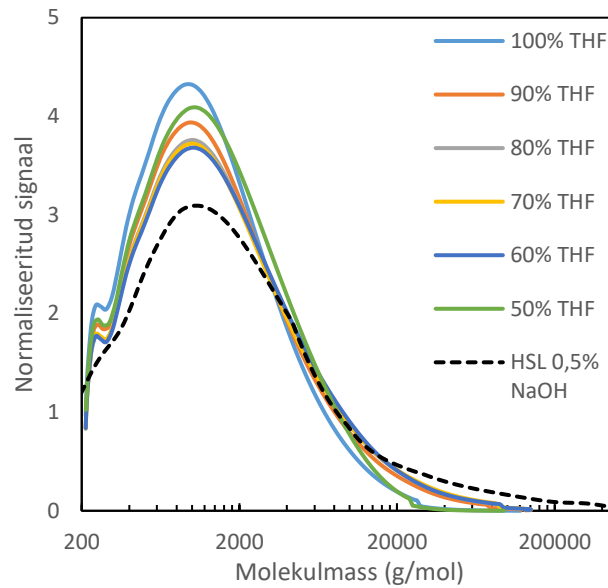




**Joonis 6.** Lahustuvate HL- ja HSL-fraktsioonide molekulmassi jaotused THF-i erinevatel kontsentratsioonidel vees.

Tabelis 5 ja joonisel 6 võib näha, et vahemikus 10 – 40% THF-veesi lahustes on HL suhtelised keskmised molekulmassid väikesed, ehk siis lahustuvad selektiivselt vaid väikesed molekulid ja üldine HL-i lahustuvus on madal (**joonis 4**). Võiks eeldada, et need fraktsioonid sisaldavad polaarsemaid väikseid ligniini molekule. 60 – 80% THF fraktsioonis on  $M_w$  suurim nagu ka HL lahustuvus ja lähedasem kogu lahustuva ligniini (HSL) keskmisele molekulmassi jaotusele. Lahustunud HL-i keskmine suhteline molekulmass langeb aga kõrgemal kui 90% THF segudes nagu ka lahustuvus nendes segudes. 100% THF-is lahustunud HL fraktsiooni  $M_w$  on sarnane 40% THF segule, mis tekitab küsimuse, kas see on sarnastest molekulidest koosnev fraktsioon.

Sarnased tulemused saadi PHL-i valitud lahustite segudes nagu näha tabelis 5 ja joonis 7. Lahustunud PHL-i fraktsioonide suurimad keskmised  $M_w$ -d saadi 60 – 80% THF-i vesilahustes, madalamatel ja kõrgematel THF-i vesilahustes olid vastavad numbrid väiksemad. Samas suhtelise molekulmassi jaotust kirjeldavad parameetrid olid selgelt väiksemad võrreldes lahustunud HL-i fraktsioonidega. Siin võib jälle rolli mängida väljasoolamise ja -suhkrustamise toime, [36] sest PHL ei sisalda lahustuvaid sooli ja suhkruid, mille tõttu võib lahustuda ka väiksemaid mittepolaarseid ligniini molekule, mis lahustuvad kontsentreeritumates THF-i segudes. PHL-i korral on molekulmassi jaotus sarnane 50ja 100% THF-i korral.

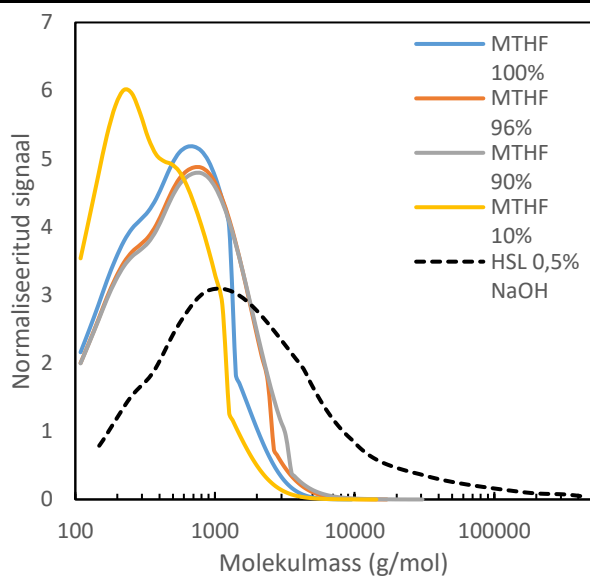


**Joonis 7.** Lahustuvate PHL- ja HSL-fraktsioonide molekulmassi jaotused THF-i erinevatel kontsentratsioonidel vees.

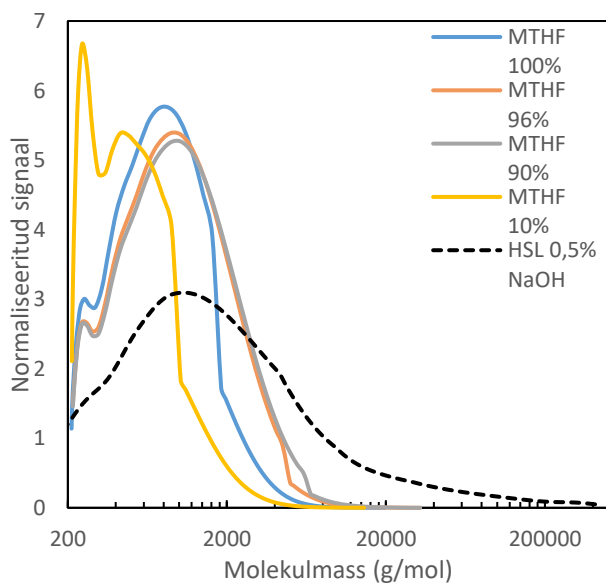
MTHF-vesilahustes lahustunud HL-i ja PHL-i fraktsioonide SEC analüüsi tulemused on toodud tabelis 6 ja illustreeritud joonisel 8 ja 9. Kuna HL-i ja PHL-i lahustuvus on väiksem MTHL-vesilahustes, siis keskmise molekulmassi jaotuse langus võrreldes THF-i lahustega on oodatav. Samas on nii kitsa fraktsioonide selektiivne lahustumine nii HL kui PHL korral väga intrigeeriv rakenduslikust seisukohast. Märkimisväärne on asjaolu, et suurim lahustuvus nii HL ja PHL puhul, mis ulatusid vastavalt HL-i puhul 52%-ni ja PHL-i korral ligi 60%-ni kogu tahkest proovist, saavutati kahefaasilises MTHF-vee segus. Samas lahustunud fraktsioonide suhtelise keskmise molekulmassi maksimaalne erinevus võrreldes THF-ga on ligi 30 kordne. Võib ainult oletada, et MTHF ja vee spetsiifilised solvatatsiooni toimed nendes segudes võimaldavad lahustuda selektiivselt nii hüdrofoobsetel kui hüdrofiilsetel ligniini molekulidel sõltuvalt molekulimassist. Samas MTHF vesilahustes on siiski sarnane THF-ga, suurem lahustuvuse korral on ka suurem keskmine molekulmassi jaotus. Rakenduslikult on muidugi oluline, et suur osa väga väikese suhtelise molekulmassiga hüdrolüüsi ligniinist saab selektiivselt fraktsioneerida. See tulemus avab palju võimalusi juba tuntud väärindamismeetodite, nagu näiteks polümeermaterjalide valmistamine, efektiivsemaks kasutamiseks.

**Tabel 6.** Keskmised suhtelised molekulmassid erinevatel MTHF-vesilahustes lahustunud HL-i ja PHL-i fraktsioonidele, mõõdetuna SEC meetodil.

MTHF	HL			PHL		
	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	PDI	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	PDI
100%	795	1408	1,77	978	1794	1,84
96%	928	1834	1,98	1275	2916	2,29
90%	979	2087	2,13	1356	3273	2,41
10%	579	1152	1,99	633	1249	1,97



**Joonis 8.** Lahustuvate HL-i ja HSL-i fraktsioonide molekulmassi jaotused MTHF-i erinevatel kontsentratsioonidel vees.



**Joonis 9.** Lahustuvate PHL- ja HSL-fraktsioonide molekulmassi jaotused MTHF-i erinevatel kontsentratsioonidel vees.

#### 4.5. Lahustunud ligniini fraktsioonide hüdroksüülrühmade määramine <sup>31</sup>P TMR meetodil

Lahustunud fraktsioonide ja SEC analüüsi tulemuste lahti mõtestamiseks tehti valitud lahustunud ligniini fraktsioonidele OH-rühmade sisalduse analüüs <sup>31</sup>P TMR meetodil. Fenoolsete hüdroksüülrühmade sisalduse tähtsust ligniinide lahustumisel on toodud esile erinevate autorite poolt [31]. <sup>31</sup>P TMR analüüsiks valiti neli huvipakkuvat solventseguga PHL-i fraktsiooni 50, 70 ja 100 % THF-i vesilahustes ja 100% MTHF-s. HL võib sisaldada suhkruid, mis on spektril näha ja võivad segada interpreteerimist. Hüdroksüülrühmade sisalduse analüüsi tulemused erinevatele PHL fraktsioonidele on esitatud tabelis 7.

**Tabel 7.** TMR spektroskoopiaga saadud OH-rühmade sisaldused (mmol/g).

Nimetused	THF			MTHF
	50%	70%	100%	100%
Fenoolne OH	2,36	2,18	1,89	1,82
Alifaatne OH	1,94	1,87	1,41	1,34
C5 asendatud OH	1,87	1,69	1,53	1,48
Süriigüül OH	1,12	0,96	0,97	1,00
Guajatsüül OH	0,46	0,46	0,35	0,33
p-Hüdroksüfenüül	0,02	0,03	0,01	0,01
COOH	0,05	0,08	0,06	0,07

Nagu võib näha tabelis 7, siis 50% THF vesi segus on väga kõrge OH-rühmade sisaldus võrreldes 100% THF-i seguga. Seega lähedane lahustuvus ja sarnasem suhtelise molekulmassi jaotus ei tähenda, et lahustisegudes lahustusid samad molekulid. 50% THF-i juures lahustuvad ligniini molekulid, mis sisaldavad selgelt rohkem nii alifaatseid kui fenoolseid OH-rühmi, mis on seetõttu hüdrofiilsemad molekulid, võrreldes 100% THF fraktsioneerimisel saadutega. 70% THF lahuses, kus PHL-i lahustuvus on suurem, OH rühmade sisaldus ligniinis näitab nii hüdrofoobsete ja hüdrofiilsete ligniini molekulide lahustumist. 100% MTHF-i lahuses lahustunud fraktsioon, mille lahustuvus oli selgelt väiksem, sisaldab märgatavalt vähem OH rühmasid ning seega on mittepolaarse,.

Antud töös saadud tulemused omavad selgelt praktilist väärtust, mis näitab, et väga suure fraktsiooni tööstuslikust HList on võimalik selektiivselt fraktsioneerida spetsiifiliste omadustega regenereeritavate roheliste solventidega, mis on eraldatavad lihtsa destillatsioonoga. Ligniini fraktsioneerimist võiks kasutada esimese sammuna ligniini omaduste optimeerimiseks enne edasist töötlemist ja väärtustamist: väiksema molaarmassiga

fraktsioone saab kasutada sellisel kujul nagu nad on (nt polümeeride valmistamisel), samas kui raskeimad fraktsioone saab edasi depolümeriseerida väiksemateks molekulideks.

## 4. KOKKUVÕTE

Suurenev fossiilsete maavarade kasutamise kaasnivad keskkonnaprobleemid. Selle lahendamiseks on vajalik leida alternatiivseid taastuvaid ressursse. Üheks valikuks on puidu biomass. Puidust saadav biomass sisaldab põhiliselt kolme erinevat polümeeri: tselluloosi, hemitselluloosi ning ligniini. Biorafineerimistehastes hüdrolüüsitakse tselluloos ja hemitselluloos vesilahustuvateks monosuhkruteks, neid on võimalik kasutada toorainena, kuid ligniinile pole leitud laialdast kasutust ning seda käsitletakse jäägina. Biorafineerimistehaste arendamisel hakatakse tootma rohkem kõrge puhtusega HL-i. Biorafineerimistehaste jätkusuutlikuse tagamiseks, on vajalik leida kõrge väärtusega kasutusalasid HL-le.

Antud töö eesmärgiks oli uurida orgaaniliste solventidega ja nende vesilahustega tööstusliku HL-i fraktsioneerimise võimalusi. HL-i puhastamine ja fraktsioneerimine on vajalik, et homogeniseerida HL-i. Mida homogensem on HL, seda lihtsam on sellele leida kõrgväärtuslike rakendusi.

Töös testiti kahe potentsiaalselt biomassist saadavate solventide ning nende vesilahustega HL-i fraktsioneerimist. Määrati toor HL-i koostis, lahustuvus, lahustunud fraktsiooni suhteline molekulmassi jaotus ning valitud fraktsioonidele hüdroksüülrühmade sisaldus.

Leiti, et THF-vesi lahused fraktsioneerivad selektiivselt erineva molekulmassiga fraktsioone. Väiksema molekulmassiga osised HL-st on võimalik fraktsioneerida suurema vee sisalduse juures. Maksimaalne ligniini lahustuvus saavutatakse 60 – 90% THF-vesi sisalduse juures, seejuures molekulimassijaotus on sarnane algse ligniini omaga. Puhtas THF lahuses saadi aga madala molekulmassiga fraktsioon. SEC ja <sup>31</sup>P TMR analüüsid näitasid, et THF-vesi lahustes on võimalik väga selektiivselt fraktsioneerida erinevate omadustega ligniini.

MTHF lahustega oli võimalik eraldada väga suur osa tööstuslikust ligniinist väga kitsa molekulmassijaotusega. Huvitav tulemus saavutati MTHF segul, kus lahustisegu on heterogeene, kuid ikkagi töötavad hästi.

Antud töö tulemustest selgus, et valitud orgaaniliste solventidega fraktsioneerimine on väga jätkusuutlik ja potentsiaalselt tööstuslikult rakendatav HL-i väärimisel.

## 5. SUMMARY

The increasing use of fossil fuels is associated with environmental problems. To solve this, it is necessary to find alternative renewable resources. One option is wood biomass. The biomass obtained from wood mainly contains three different polymers: cellulose, hemicellulose and lignin. In biorefineries, cellulose and hemicellulose are hydrolysed to water-soluble monosaccharides, which can be used as a raw material, -. With the development of biorefineries, more high-purity HL will be produced in the foreseeable future. To ensure the sustainability of biorefineries, it is necessary to find high value uses for HL.

The aim of this work was to study the possibilities of industrial HL fractionation with organic solvents and their aqueous solutions. Purification and fractionation of HL is necessary to homogenize HL. The more homogeneous HL is, the easier it will be to find high-value applications.

The fractionation of two potentially biomass solvents and their aqueous HL solutions was tested. The composition of the crude HL, the solubility, the relative molecular weight distribution of the dissolved fraction and the content of hydroxyl groups for the selected fractions were determined.

The THF-water solutions were found to selectively fractionate fractions of different molecular weights. The lower molecular weight fractions of HL can be fractionated at higher water contents. Maximum lignin solubility was achieved at 60-90% THF-water, with a molecular weight distribution similar to the original lignin. However, when 100% THF was used, the low molecular weight fraction of HL was obtained. SEC and <sup>31</sup>P NMR analyses showed that lignin with different properties can be very selectively fractionated in THF-water solutions.

MTHF solutions were able to separate a very large proportion of industrial lignin with a very narrow molecular weight distribution. An interesting result was obtained with a heterogeneous mixture of MTHF.

The results of this thesis showed that fractionation with selected organic solvents is a sustainable and potentially industrially applicable method for HL valorization

## Kasutatud kirjandus

- [1] Euroopa roheline kokkulepe. Euroopa Komisjon - European Commission n.d. [https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal\\_et](https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal_et) (accessed May 24, 2022).
- [2] Commission E, Directorate-General for Internal Market E Industry, SMEs. Biomassi astmelise kasutamise suunised koos hea tava näidetega puitbiomassi kohta. Publications Office; 2019. <https://doi.org/doi/10.2873/032817>.
- [3] Balakshin MYu, Capanema EA, Sulaeva I, Schlee P, Huang Z, Feng M, et al. New Opportunities in the Valorization of Technical Lignins. *ChemSusChem* 2021;14:1016–36. <https://doi.org/10.1002/cssc.202002553>.
- [4] Yan Z, Song B, Fang G, Wu T, Chen N, Zhao M, et al. Bringing Material Concepts into Conventional Biorefineries: Considerations of Sources, Preparations, and Applications of Lignin Nanomaterials. *ACS Sustainable Chem Eng* 2021;9:10403–23. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c02954>.
- [5] Poveda-Giraldo JA, Solarte-Toro JC, Cardona Alzate CA. The potential use of lignin as a platform product in biorefineries: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2021;138:110688. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110688>.
- [6] Rubin EM. Genomics of cellulosic biofuels. *Nature* 2008;454:841–5. <https://doi.org/10.1038/nature07190>.
- [7] Chio C, Sain M, Qin W. Lignin utilization: A review of lignin depolymerization from various aspects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2019;107:232–49. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.03.008>.
- [8] Bertella S, Luterbacher JS. Lignin Functionalization for the Production of Novel Materials. *Trends in Chemistry* 2020;2:440–53. <https://doi.org/10.1016/j.trechm.2020.03.001>.
- [9] Moreno A, Sipponen MH. Lignin-based smart materials: a roadmap to processing and synthesis for current and future applications. *Mater Horiz* 2020;7:2237–57. <https://doi.org/10.1039/D0MH00798F>.
- [10] Wang H, Pu Y, Ragauskas A, Yang B. From lignin to valuable products—strategies, challenges, and prospects. *Bioresource Technology* 2019;271:449–61. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.072>.
- [11] Sadeghifar H, Wells T, Le RK, Sadeghifar F, Yuan JS, Jonas Ragauskas A. Fractionation of Organosolv Lignin Using Acetone:Water and Properties of the



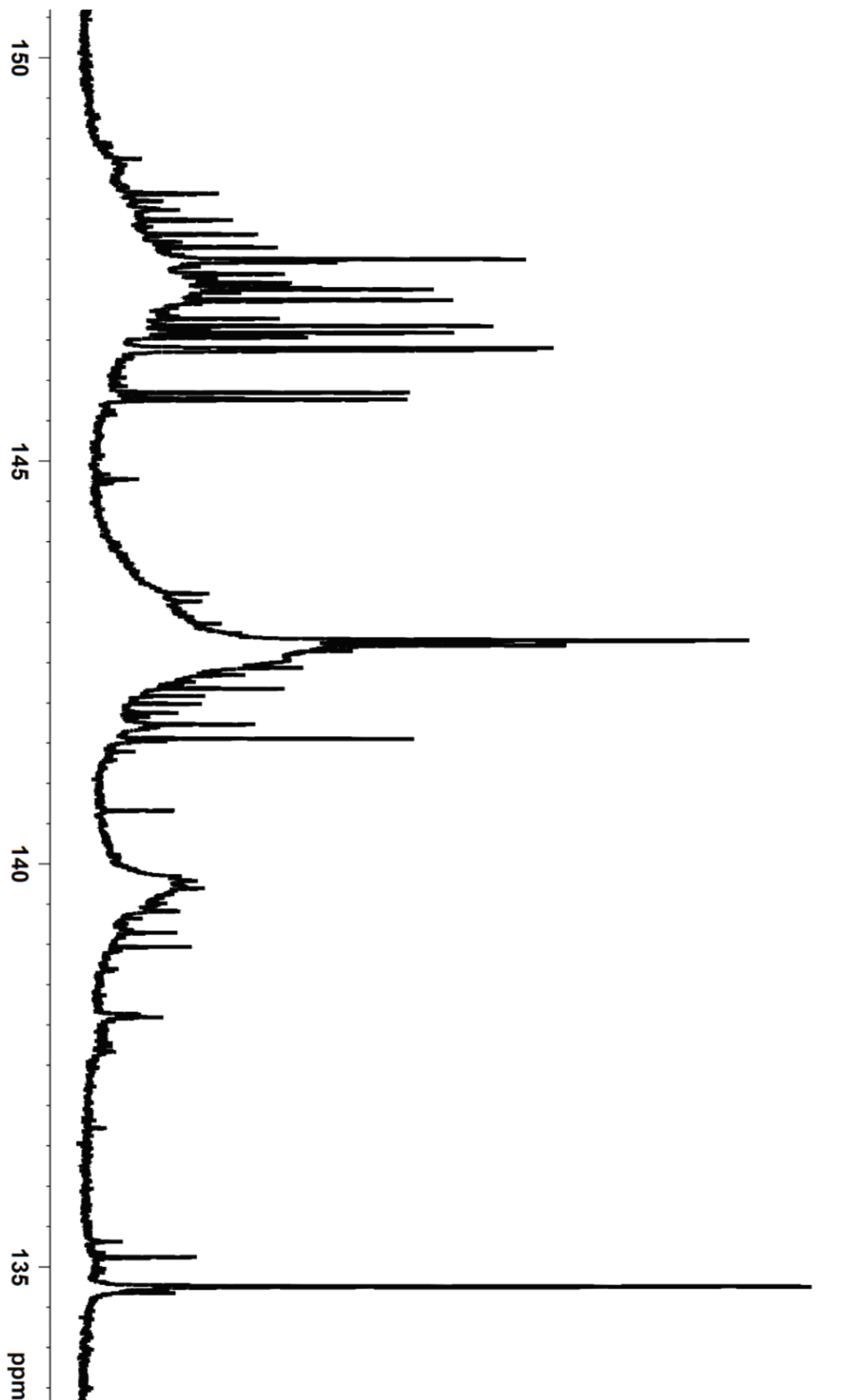
- Obtained Fractions. *ACS Sustainable Chem Eng* 2017;5:580–7.  
<https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b01955>.
- [12] Jääskeläinen A-S, Liitiä T, Mikkelsen A, Tamminen T. Aqueous organic solvent fractionation as means to improve lignin homogeneity and purity. *Industrial Crops and Products* 2017;103:51–8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.03.039>.
- [13] Lobato-Peralta DR, Duque-Brito E, Villafán-Vidales HI, Longoria A, Sebastian PJ, Cuentas-Gallegos AK, et al. A review on trends in lignin extraction and valorization of lignocellulosic biomass for energy applications. *Journal of Cleaner Production* 2021;293:126123. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126123>.
- [14] Rinaldi R, Jastrzebski R, Clough MT, Ralph J, Kennema M, Bruijninx PCA, et al. Paving the Way for Lignin Valorisation: Recent Advances in Bioengineering, Biorefining and Catalysis. *Angew Chem Int Ed* 2016;55:8164–215.  
<https://doi.org/10.1002/anie.201510351>.
- [15] Pratima Bajpai. *Pulping Fundamentals*. Biermann's Handbook of Pulp and Paper (Third Edition), Elsevier; 2018, p. 295–351.
- [16] Kienberger M, Maitz S, Pichler T, Demmelmayer P. Systematic Review on Isolation Processes for Technical Lignin. *Processes* 2021;9:804.  
<https://doi.org/10.3390/pr9050804>.
- [17] Dessbesell L, Paleologou M, Leitch M, Pulkki R, Xu C (Charles). Global lignin supply overview and kraft lignin potential as an alternative for petroleum-based polymers. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2020;123:109768.  
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109768>.
- [18] Pratima Bajpai. *Carbon Fiber from Lignin*. vol. 1. Springer Singapore; 2017.
- [19] Saake B, Lehnen R. Lignin. In: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, editor. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2007, p. a15\_305.pub3.  
[https://doi.org/10.1002/14356007.a15\\_305.pub3](https://doi.org/10.1002/14356007.a15_305.pub3).
- [20] Bozell JJ, Black SK, Myers M, Cahill D, Miller WP, Park S. Solvent fractionation of renewable woody feedstocks: Organosolv generation of biorefinery process streams for the production of biobased chemicals. *Biomass and Bioenergy* 2011;35:4197–208.  
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.07.006>.
- [21] Vishtal A, Kraslawski A. CHALLENGES IN INDUSTRIAL APPLICATIONS OF TECHNICAL LIGNINS n.d.:22.

- [22] Zhang X, Zhu J, Sun L, Yuan Q, Cheng G, Argyropoulos DS. Extraction and characterization of lignin from corncob residue after acid-catalyzed steam explosion pretreatment. *Industrial Crops and Products* 2019;133:241–9. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.027>.
- [23] Pielhop T, Amgarten J, von Rohr PR, Studer MH. Steam explosion pretreatment of softwood: the effect of the explosive decompression on enzymatic digestibility. *Biotechnol Biofuels* 2016;9:152. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0567-1>.
- [24] Selig M. Enzymatic Saccharification of Lignocellulosic Biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP). Technical Report 2008:8.
- [25] Sevastyanova O, Helander M, Chowdhury S, Lange H, Wedin H, Zhang L, et al. Tailoring the molecular and thermo–mechanical properties of kraft lignin by ultrafiltration. *Journal of Applied Polymer Science* 2014;131. <https://doi.org/10.1002/app.40799>.
- [26] Goldmann WM, Ahola J, Mikola M, Tanskanen J. Solubility and fractionation of Indulin AT kraft lignin in ethanol-water media. *Separation and Purification Technology* 2019;209:826–32. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.06.054>.
- [27] Xue Z, Zhao X, Sun R, Mu T. Biomass-Derived  $\gamma$ -Valerolactone-Based Solvent Systems for Highly Efficient Dissolution of Various Lignins: Dissolution Behavior and Mechanism Study. *ACS Sustainable Chem Eng* 2016;4:3864–70. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00639>.
- [28] Boeriu CG, Fițigău FI, Gosselink RJA, Frissen AE, Stoutjesdijk J, Peter F. Fractionation of five technical lignins by selective extraction in green solvents and characterisation of isolated fractions. *Industrial Crops and Products* 2014;62:481–90. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.019>.
- [29] Duval A, Vilaplana F, Crestini C, Lawoko M. Solvent screening for the fractionation of industrial kraft lignin. *Holzforschung* 2016;70:11–20. <https://doi.org/10.1515/hf-2014-0346>.
- [30] Sameni J, Krigstin S, Sain M. Solubility of Lignin and Acetylated Lignin in Organic Solvents. *BioResources* 2017;12:1548–65.
- [31] Passoni V, Scarica C, Levi M, Turri S, Griffini G. Fractionation of Industrial Softwood Kraft Lignin: Solvent Selection as a Tool for Tailored Material Properties. *ACS Sustainable Chem Eng* 2016;4:2232–42. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.5b01722>.

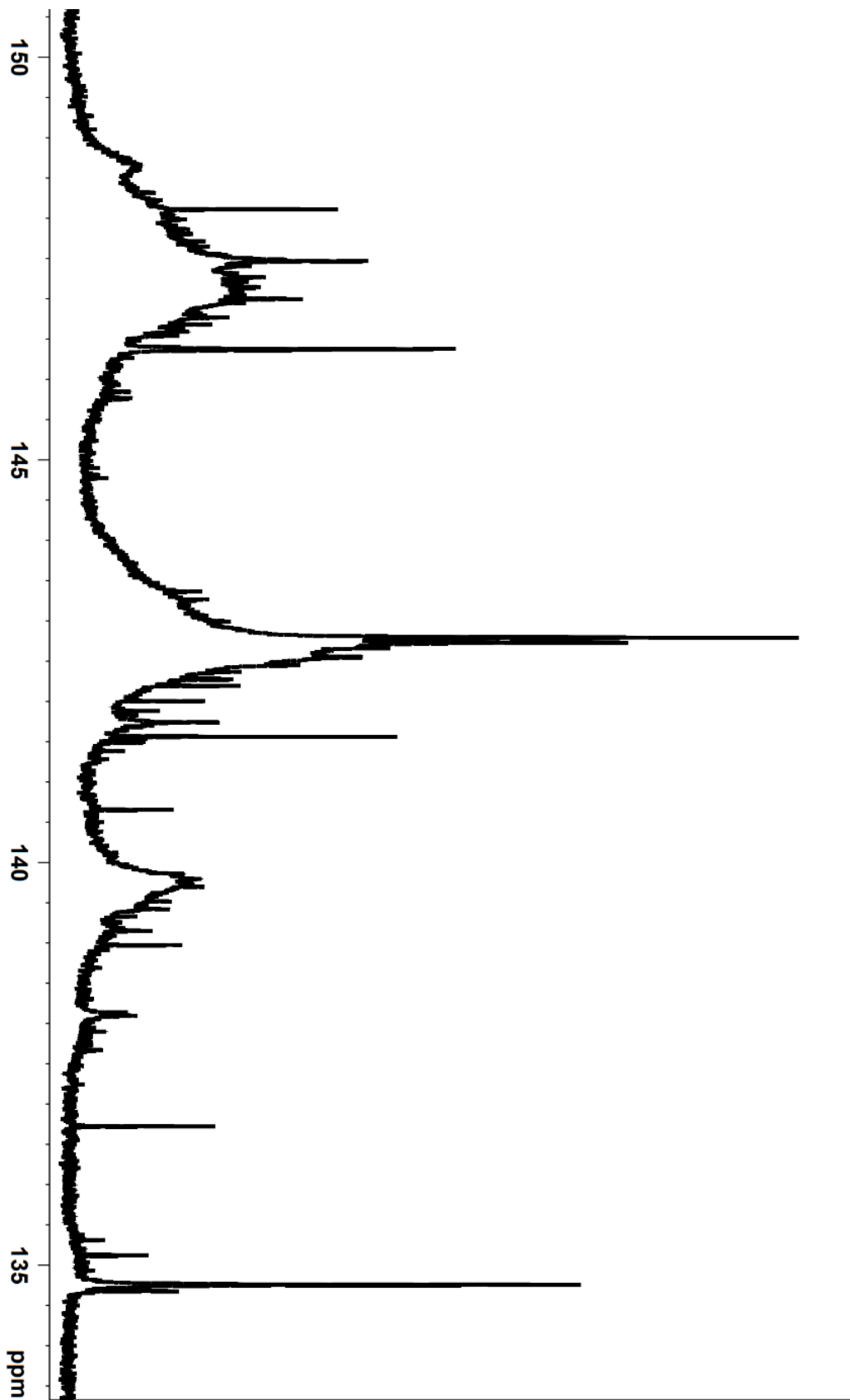
- [32] Sicaire A-G, Vian MA, Filly A, Li Y, Bily A, Chemat F. 2-Methyltetrahydrofuran: Main Properties, Production Processes, and Application in Extraction of Natural Products. In: Chemat F, Vian MA, editors. *Alternative Solvents for Natural Products Extraction*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014, p. 253–68. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-43628-8\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-662-43628-8_12).
- [33] Swarnalatha Mailaram, Pankaj Kumar, Alekhya Kunamalla, Palkesh Saklecha, Sunil K. Maity. Biomass, biorefinery, and biofuels. *Sustainable Fuel Technologies Handbook*, 2021, p. 51–87.
- [34] Innventia AB. Kraft lignins – Lignin and carbohydrate content – Acid hydrolysis method 2016.
- [35] Meng X, Crestini C, Ben H, Hao N, Pu Y, Ragauskas AJ, et al. Determination of hydroxyl groups in biorefinery resources via quantitative <sup>31</sup>P NMR spectroscopy. *Nat Protoc* 2019;14:2627–47. <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0191-1>.
- [36] Fu C, Li Z, Sun Z, Xie S. A review of salting-out effect and sugaring-out effect: driving forces for novel liquid-liquid extraction of biofuels and biochemicals. *Front Chem Sci Eng* 2021;15:854–71. <https://doi.org/10.1007/s11705-020-1980-3>.
- [37] Constant S, Wienk HLJ, Frissen AE, Peinder P de, Boelens R, Es DS van, et al. New insights into the structure and composition of technical lignins: a comparative characterisation study. *Green Chem* 2016;18:2651–65. <https://doi.org/10.1039/C5GC03043A>.

## 7. LISAD

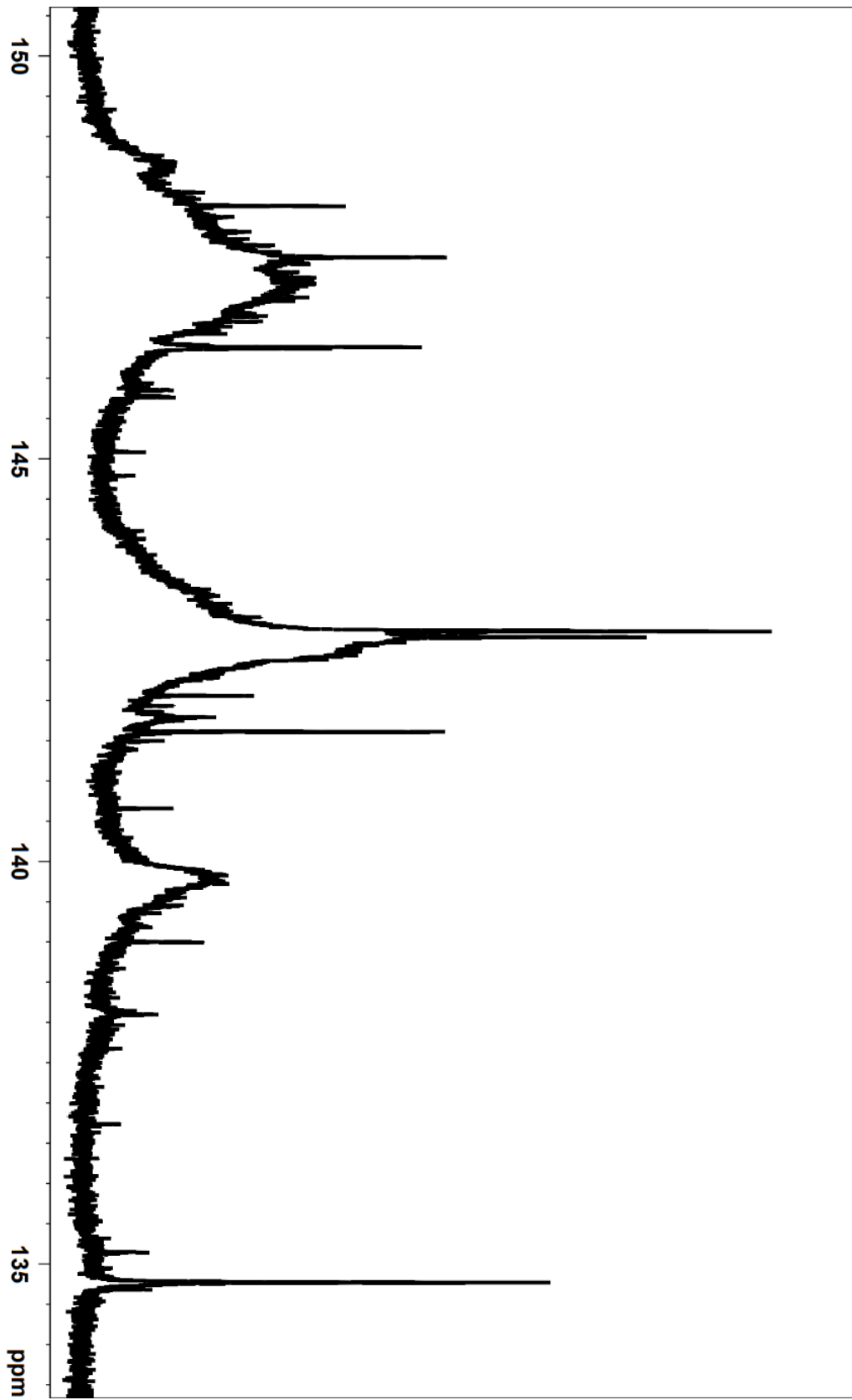
Lisa 1. 100%-lises MTHF-is lahustunud fraktsioonile mõõdetud TMR spekter.



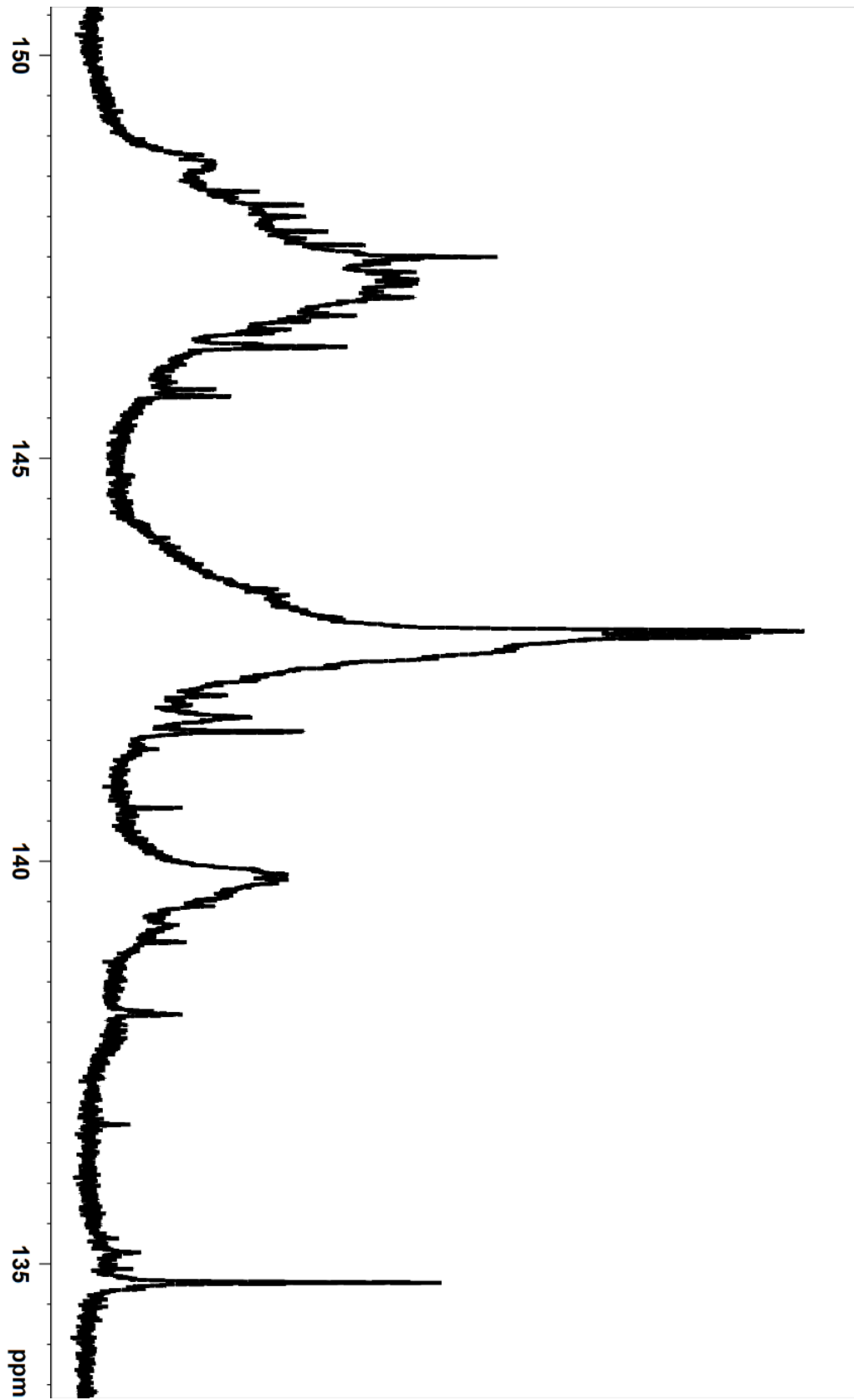
Lisa 2. 100%-lises THF-is lahustunud fraktsioonile mõõdetud TMR spekter



**Lisa 3.** 70%-lises THF-is lahustunud fraktsioonile mõõdetud TMR spekter



Lisa 4. 50%-lises THF-is lahustunud fraktsioonile mõõdetud TMR spekter



# **Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks**

Mina, Nikolai Treiberg,

Annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose: , **Tööstusliku hüdroliüsi ligniini lahustuvus ja fraktsioneerimine tetrahüdrofuraani- ja 2-metüülterahüdrofuraani-vesilahustes**, mille juhendajad on Henry Vider, MSc ja Siim Salmar, PhD, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.

1. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons litsentsiga CC BY NC ND 4.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, alates **26.05.2024** kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

*Nikolai Treiberg*

**26.05.2022**