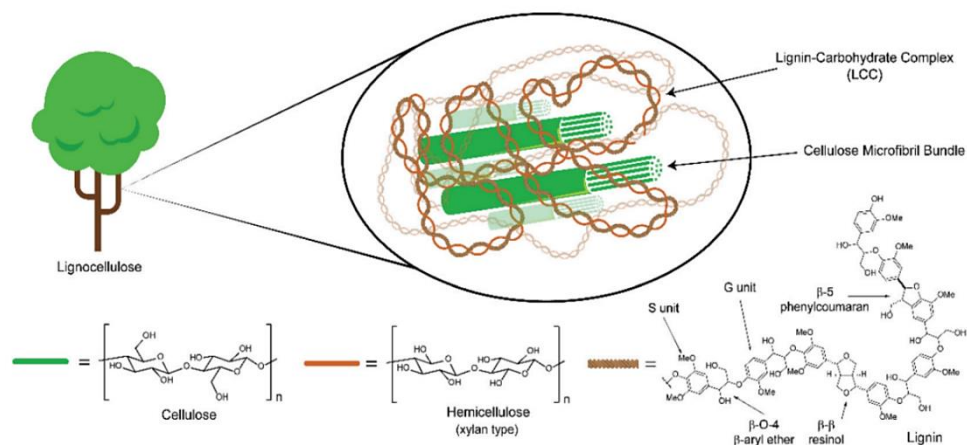


# KATALITSKA DEPOLIMERIZACIJA LIGNINA Z Ni/C ZA PRIDOBIVANJE BIO-OSNOVANIH KEMIKALIJ: VPLIV STRUKTURE NA PORAZDELITEV PRODUKTOV

## RAZISKOVALNA NALOGA – PODROČJE KEMIJA 2022–2023



Avtorja:

Teodor Maurer<sup>1</sup> in Ema Zdovc<sup>1</sup>

Mentorici:

Tina Ročnik Kozmelj<sup>2</sup> in Alenka Mozer<sup>1</sup>

## 1. POVZETEK

Fosilna goriva so trenutno najpomembnejši vir aromatskih spojin, vendar imajo številne škodljive učinke na okolje – emisije CO<sub>2</sub>, onesnaževanje okolja, tanjšanje ozonske plasti in izumiranje živalskih vrst. Znanstveniki zato nenehno iščejo alternative. Lignin, biopolimer, se je izkazal za obetavno, saj je zelo razširjen, neškodljiv za organizme in podnebje ter izhaja iz obnovljive surovine – biomase. Lignin se zato zadnje stoletje poglobljeno preučuje.

Cilj naše raziskave je bil oceniti vpliv frakcionacije lignina na produkte depolimerizacije. Obdelovanje lignina poteka v dveh glavnih fazah: izolacija in depolimerizacija. Za obe fazi je že razvita vrsta različnih postopkov, ki pa se po večini še vedno preiskujejo. Za našo raziskavo smo se odločili za ekstrakcijo organosolv lignina iz bukove žagovine, ki ima nekondenzirano strukturo. Postopek je sestavljen iz dveh korakov: ekstrakcijske reakcije z mešanico organskega topila, vode in organske kisline kot katalizatorja ter obarjanja lignina v treh različnih deležih vode (tri frakcije lignina). Drugo fazo – depolimerizacijo – smo izvedli v reduktivnem mediju. Zatam smo produkte karakterizirali s pomočjo različnih metod – monomere z GC-MS analizami, oligomere pa s SEC, <sup>31</sup>P in 2D HSQC NMR analizami. Frakcionirani lignin smo primerjali z nefrakcioniranim.

Rezultati kažejo, da frakcionacija lignina vodi do bolj porazdeljenih in homogenih frakcij. Strukturne značilnosti nefrakcioniranega lignina so bile podobne značilnostim druge ligninske frakcije. Ugotovili smo, da je med monomernimi komponentami najbolj prisotna 2-metoksi-4-propilfenol. Ta vsebuje prost C6 in metoksi skupino, zaradi česar je uporabna za podjetje Fenolit, ki se ukvarja s produkcijo fenolformaldehidnih smol.

S to ugotovijo lahko potrdimo, da bi lignin lahko služil kot nadomestilo za neobnovljive fosilne surovine v številnih podjetjih. Za optimizacijo pridobivanja pa so potrebne dodatne raziskave še ostalih vrst lesa.

**Ključne besede:** lignin, organosolv, frakcionacija, depolimerizacija, karakterizacija, 2-metoksi-4-propilfenol

## 2. KAZALO

1. POVZETEK	1
2. KAZALO	2
2.1 KAZALO SLIK	4
2.2 KAZALO TABEL	4
3. UVOD	5
4. CILJ RAZISKOVALNE NALOGE	6
4.1 HIPOTEZE	6
5. TEORETIČNO OZADJE	7
5.1 LIGNOCELULOZNA BIOMASA	7
5.1.1 Evropska bukev	8
5.2 PREGLED EVROPSKIH BIORAFINERIJ	8
5.3 LIGNIN	9
5.3.1 Struktura	9
5.4 DEPOLIMERIZACIJA LIGNINA	10
5.4.1 Kislinska depolimerizacija	10
5.4.2 Bazična depolimerizacija	10
5.4.3 Oksidativna depolimerizacija lignina	11
5.4.4 Reduktivna depolimerizacija lignina	11
5.4.5 Produkti depolimerizacije	12
5.4.6 Nastanek monomerov	12
5.4.6.1 Nastanek trdnega preostanka (oglja)	12
5.4.6.2 Nastanek plinov	13
6. EKSPERIMENTALNI DEL	14
6.1 MATERIALI IN METODE	14
6.1.1 Izolacija lignina	14
6.1.2 Depolimerizacija lignina	15
6.1.3 GC-MS analiza	16
6.1.4 2D HSQC in <sup>31</sup> P NMR analiza	16
6.1.5 Analiza z velikostno izključitveno kromatografijo (SEC)	17
7. REZULTATI IN INTERPRETACIJA	18

7.1	PRIMERJAVA IZKORISTKOV IZOLACIJE LIGNINA IZ OBEH REAKTORJEV	18
7.2	ANALIZA DEPOLIMERIZACIJE	18
7.2.1	Izkoristki depolimerizacije lignina	18
7.2.2	Karakterizacija in kvantifikacija ligninskih monomerov	19
7.3	NMR ANALIZA	21
7.3.1	Karakterizacija lignina	21
7.3.2	Karakterizacija delno depolimeriziranega lignina (oligomerov)	23
7.4	SEC ANALIZA	24
7.5	RAZPRAVA	25
8.	UPORABA PRODUKTOV DEPOLIMERIZACIJE IN NADALJNJA RAZISKAVA	27
8.1	LIGNIN IN FENOLFORMALDEHIDNE SMOLE	27
8.2	2-METOKSI-4-PROPILFENOL	28
8.3	NADALJNJA RAZISKAVA	28
9.	ZAKLJUČEK	30
10.	ZAHVALA	31
11.	BIBLIOGRAFIJA	32
12.	PRILOGE	35
12.1	PRILOGA 1	35
12.1.1	Bloom	36
12.1.2	Fabiola	36
12.1.3	CIMV	36
12.1.4	Fraunhofer	36
12.1.5	RISE	36
12.1.6	LignoFibre	36
12.1.7	CHEMPOLIS	37
12.1.8	Biorafinerije v Sloveniji	37

## 2.1 KAZALO SLIK

Slika 1 Sestava lignocelulozne biomase in vpogled v njeno molekularno strukturo. <sup>8</sup> .....	8
Slika 2 Zgradba monolignolov in tipi vezi. <sup>3</sup> .....	10
Slika 3 Reduktivna depolimerizacija – cepitev vezi $\beta$ -O-4. <sup>3</sup> .....	12
Slika 4 Mehanizem reakcije nastanka trdnega preostanka. <sup>12</sup> .....	13
Slika 5 Dva reaktorska Sistema, v katerih smo izvajali izolacijo lignina. A, 300-mililitrski reaktor; B, Večji 1900-mililitrski reaktor na laboratorijskem nivoju. <sup>18</sup> .....	15
Slika 6 Reaktorski sistem, s katerim smo izvajali depolimerizacijo lignina (75 mL). <sup>18</sup> .....	16
Slika 7 Primerjava izkoristkov iz 300 mL in 1900 mL reaktorjev. Prve tri eksperimente smo izvedli v 300 mL reaktorju (oštevilčeno 1–3), druga dva pa v 1900 mL reaktorju (4. in 5. stolpec). Izkoristki so preračunani glede na maso žagovine, uporabljene pri eksperimentu. ....	18
Slika 8 Izkoristki depolimerizacije lignina (trdni preostanek, oligomeri, monomeri) in molekulska masa frakcioniranega lignina ter oligomerov. ....	19
Slika 9 Relativna površina vrhov relevantnih monomerov za vse tri frakcije lignina in lignin C. Številke na osi x predstavljajo zaporedno število vnosa, iz Tabele 2. Na y osi se nahaja delež spojin, izražen v masnih procentih. ....	21
Slika 10 2D HSQC NMR spektri izoliranega (frakcioniranega) lignina: A, $\beta$ -etrške enote ( $\beta$ -O-4); A', $\alpha$ -etoksilirani $\beta$ '-etrski motivi; B, fenilkumaranske enote ( $\beta$ -5); C, smolne enote ( $\beta$ - $\beta$ ); G, gvajacilske enote; S, siringilne enote; S', oksidirane siringilne enote. ....	22
Slika 11 Vsebnost alifatskih, fenolnih (siringil in gvajacil), karboksilnih in skupnih OH skupin v (frakcioniranem) ligninu. ....	23
Slika 12 Rezultati NMR oligomernih vzorcev. A: 2D spekter HSQC oligomerov po depolimerizaciji lignina (C), B: <sup>31</sup> P NMR oligomerov po depolimerizaciji lignina (C, F1, F2 in F3). ....	24
Slika 13 Primerjava povprečnih molekulskih mas frakcioniranega vzorca lignina (F1) pred in po depolimerizaciji. ....	25
Slika 14 Zgradba: <b>a</b> , fenolformaldehidne smole; <b>b</b> , fenolformaldehidne smole zamrežene z ligninom. <sup>24</sup> .....	28
Slika 15 Skeletna formula najbolj prisotnega monomera po depolimerizaciji. <sup>27</sup> .....	29

## 2.2 KAZALO TABEL

Tabela 1 Vsebnost celuloze, hemiceluloze in lignina v vsaki vrsti biomase ter vpogled v njeno molekularno strukturo. ....	7
Tabela 2 Seznam relevantnih sestavin, ugotovljenih po depolimerizaciji lignina. ....	20
Tabela 3 Povprečna molekulska masa (Mw), numerična povprečna molekulska masa (Mn) in disperznost frakcioniranega lignina ter oligomernih fragmentov .....	25
Tabela 4 Seznam postopkov organskega raztapljanja v EU, reakcijski pogoji in uporaba izoliranega lignina .....	35

### 3. UVOD

Človeštvo je že več desetletij odvisno od fosilnih goriv. Ta so nastala iz odmrlih prazgodovinskih rastlin in živali ter so nujno potrebna za proizvodnjo energije, infrastrukturo, farmacevtske izdelke, kozmetično industrijo in druga področja. Fosilna goriva imajo velik vpliv na okolje in so razlog za skoraj 90 % svetovnih emisij ogljikovega dioksida. Globalno segrevanje, izumiranje vrst in zmanjševanje ozonske plasti so za človeštvo vedno bolj zaskrbljujoča.

Fosilna goriva so neobnovljiva, kar pomeni, da jih bo v prihodnosti začelo zmanjkovati in bodo ljudje prisiljeni uporabljati alternative. Prehod ne bo enostaven in se ne more zgoditi čez noč, saj fosilna goriva trenutno zagotavljajo približno 80 % svetovne energije. Na alternative se bodo morale prilagoditi tako rafinerije kot tudi porabniki njihovih produktov.

Znanstveniki nenehno iščejo rešitve, da bi postali na družba, ki bi temeljila na obnovljivih virih. Podnebne spremembe in izčrpavanje zaloga fosilnih goriv so glavni dejavniki, ki kemično in polimerno industrijo spodbujajo k razvoju bolj trajnostnih postopkov.<sup>1</sup> Surovine na rastlinski osnovi so zato ena izmed najbolj obetavnih in raziskanih okolju prijaznih alternativ.<sup>2</sup> Nadomestki fosilnih goriv morajo biti razširjeni, nevtralni glede CO<sub>2</sub>, obnovljivi in ne smejo ovirati proizvodnje hrane.<sup>3</sup> Lignin je prav zaradi tega v zadnjem stoletju pritegnil veliko pozornosti. Glede na zgornje kriterije je dober kandidat za nadomestek fosilnih goriv na različnih petrokemičnih področjih, saj ga najdemo v vsaki rastlini, je neškodljiv za organizme in nima negativnega vpliva na podnebje. Številne industrije vidijo lignin kot edini vir aromatskih spojin na biološki osnovi, ki bi se jih lahko naprej uporabljalo v kemiji materialov – od epoksidnih smol, poliuretanskih pen in zamreževal do nadomestkov bitumna.

Čeprav je lignin obnovljiv in najbolj razširjen vir aromatskih spojin, njegovega potenciala še vedno nismo v celoti izkoristili. Približno 98 % lignina, ki nastane kot odpadke v papirni industriji, se uporabi za proizvodnjo električne energije nizke vrednosti ali za ogrevanje s sežigom. Preostala 2 % pa se uporabi za naprednejše aplikacije. Pri gradnji cest se ga na primer dodaja asfaltu za izboljšanje njegovih fizikalnih lastnosti, kot so večja viskoznost, temperaturna odpornost, trdota in odpornost proti udarcem.<sup>4</sup> Ker je lignin obnovljiva surovina, so aplikacije v biorafinerijah nujen korak proti družbi, ki temelji na bioloških virih, le-te pa bodo igrale pomembno vlogo v prihodnosti. Drugi primer aplikacije najdemo v kemiji polimerov: lignin se lahko uporablja za proizvodnjo fenolnih smol, epoksidnih smol in poliuretanov, ki se uporabljajo za aplikacije na komercialni ravni.<sup>5</sup> Lignin se lahko meša s sintetičnimi komponentami teh polimerov, pri čemer ne nastanejo zgolj okolju prijaznejše spojine, temveč se v primerjavi s polimeri na naftni osnovi izboljšajo tudi njihove mehanske lastnosti.<sup>6</sup>

Lignin je prisoten v žagovini, ki je ostanek žagarske industrije po poseku dreves. Kljub temu je žagovina zaradi vsebnosti lignina lahko obravnavana kot trajnostna surovina. Za eksperimente raziskovalne naloge smo uporabili žagovino bukovega lesa.

Za raziskavo smo se priključili ekipi Kemijskega inštituta, ki se aktivno ukvarja s problemi tega področja.

## 4. CILJ RAZISKOVALNE NALOGE

Glavni cilj naše raziskave je bil oceniti vpliv postopka frakcionacije na produkte depolimerizacije.

Raziskane so bile že številne vrste postopkov izolacije lignina, kot so kraft, organosolv, soda itd. Produkt izolacije ima sicer zelo heterogeno strukturo. Da bi ga naredili bolj homogenega in s tem bolj predvidljivega, smo organosolv lignin pred obarjanjem frakcionirali, del pridobljenega lignina pa smo pustili nefrakcioniranega. Za reakcijo izolacije lignina smo uporabili dve različni vrsti reaktorskih sistemov, ki smo ju tudi primerjali. Lignin je bil nato depolimeriziran v reduktivnem okolju z uporabo katalizatorja Ni/C. Zatem smo izvedli nekaj različnih metod karakterizacije za produkte depolimerizacije in izolacije. Te metode so GC-MS analiza, 2D HSQC in  $^{31}\text{P}$  NMR ter SEC analiza. Omogočile so nam primerjavo med frakcioniranim in nefrakcioniranim ligninom na različnih ravneh, kot so prisotnost različnih vezi, molekulska masa itd. S primerjavo smo lahko opredelili pomen frakcionacije lignina.

### 4.1 HIPOTEZE

1. Reaktorski sistem ne vpliva na izkoristek izolacije lignina.
2. S protokolom frakcioniranja dobimo bolj definirane ligninske frakcije.
3. Nikelj prispeva k učinkovitosti depolimerizacije lignina.
4. Različne strukturne lastnosti ligninskih frakcij vplivajo na strukturo končnih produktov.
5. Delež monomerov narašča z nižanjem molekulske mase frakcij.

## 5. TEORETIČNO OZADJE

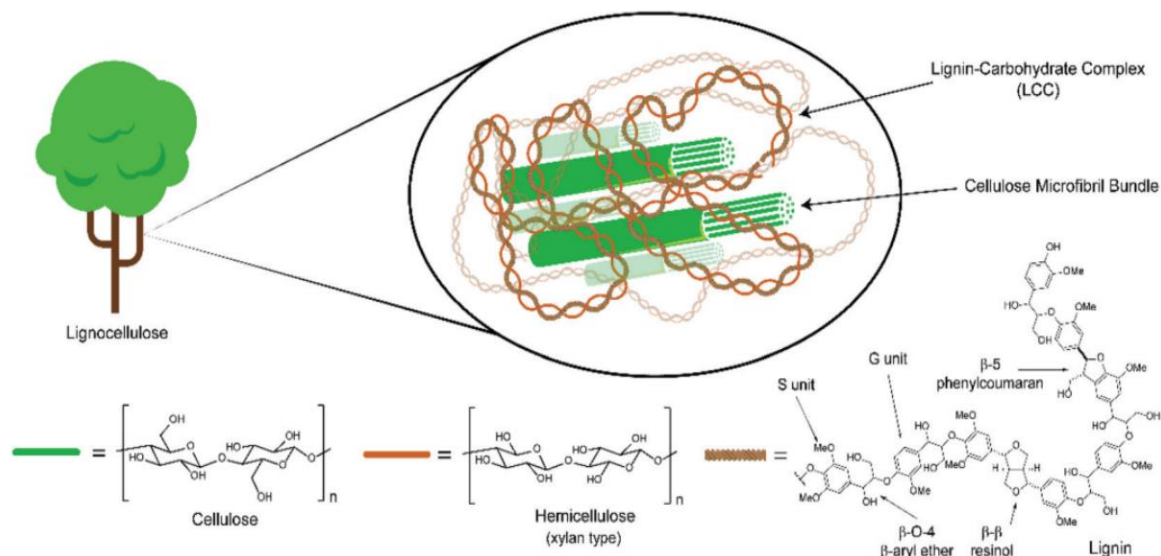
### 5.1 LIGNOCELULOZNA BIOMASA

Lignocelulozna biomasa – lesne in travnate rastline – je sestavljena iz celuloze, hemiceluloze in lignina (Tabela 1). Razmerje teh komponent se razlikuje glede na vrsto biomase, torej na trdi ali mehki les in travnate rastline (Tabela 1). Vse tri sestavine skupaj tvorijo mikrofibrile, ki tvorijo rastlinsko celično steno ter dajejo rastlinam togost in stabilnost (Slika 1). Strukturno najmanj zapletena celuloza je sestavljena iz glukočnih enot, ki tvorijo linearno molekulo. Njena stopnja polimerizacije meri od 100 do 10000 enot, sestavljajo pa jo glukočni monomeri, povezani z linearnimi  $\beta$ -1,4-glikozidnimi vezmi, zaradi česar nastanejo dolge verige. Povezane z inter- in intramolekulskimi vodikovimi vezmi ter Van der Waalsovimi silami in tvorijo mikrofibrile. Tej se sestavijo v vlakna, ki so nato povezana z ligninom in hemicelulozo.<sup>7</sup> Hemiceluloza, druga najpogostejša spojina v lignocelulozi, ima nižjo stopnjo polimerizacije (<200). Je močno razvejan ogljikov hidrat, sestavljen iz več pentoz in heksoz (npr. galaktoze, ksiloze, glukoze, manoze), ki so med seboj povezane z različnimi vezmi. Hemiceluloza je amorfni polimer (nima kristalne strukture), zato je lažje topna in bolj nagnjena h kemičnim napadom. Tretja in najbolj kompleksna sestavina lignocelulozne biomase pa je tema naše raziskovalne naloge – lignin.<sup>3</sup>

Tabela 1 Vsebnost celuloze, hemiceluloze in lignina v vsaki vrsti biomase ter vpogled v njeno molekularno strukturo.

	Vsebnost strukturnih enot [masni odstotki]					
Tip rastline	Lignin	Celuloza	Hemiceluloza	p-hidroksifenil	Gvajacil	Siringil
Trdi les	16–24	43–47	25–35	0–8	25–50	46–75
Mehki les	25–31	40	25–29	<5	>95	0
Travnate rastline	16–21	29–35	26–32	5–33	33–80	20–54





Slika 1 Sestava lignocelulozne biomase in vpogled v njeno molekularno strukturo.<sup>8</sup>

### 5.1.1 Evropska bukev

Evropska bukev (*Fagus sylvatica*) je trdo listnato drevo, ki doseže višino med 30 in 40 metri. Razširjena je po vsej Evropi, zlasti v osrednjem in jugovzhodnem delu. Bukev lahko doseže življenjsko dobo do 300 let in je eno izmed najbolj raznovrstno uporabljenih dreves v Evropi.<sup>9</sup>

## 5.2 PREGLED EVROPSKIH BIORAFINERIJ

V letih preučevanja lignina je bilo uporabljenih že veliko različnih metod za izolacijo lignina iz lignocelulozne biomase, kot so kraft, soda, lignosulfonat, organosolv itd. Z njimi pridobivajo delignificirano celulozo.<sup>7</sup> Struktura lignina se razlikuje za različne metode izolacij, zato je težko vse vrste lignina kot produkta različnih izolacijskih postopkov uporabiti za pretvorbo v kemikalije z dodano vrednostjo. Na primer, pri kraft, soda (najpogosteje uporabljeni metodi v papirni industriji)<sup>10</sup> in lignosulfonatnih postopkih se z uporabo sulfidnih soli pridobi lignin z zelo kondenzirano strukturo, kar ni primerno za pretvorbo v produkte z dodano vrednostjo. Leta 2010 je bilo na primer komercialno uporabljenih le približno 2 masna procenta vseh izoliranih ligninov, pridobljenih v papirni industriji, preostali lignin pa je bil obravnavan kot gorivo nizke kakovosti.<sup>11</sup> Kasneje sta se zato razvila postopka organosolv in "ionic liquid" za izolacijo lignina brez žvepla, ki je strukturno blizu *native* ligninu.

V naši raziskavi smo za izolacijo lignina uporabili organosolv postopek. Pri tem se za raztapljanje lignina uporablja mešanica organskih topil, kot so alkoholi (etanol, metanol itd.) in voda, za katalizator pa se doda organska (ocetna, mravljinčna itd.) kislina.<sup>10,11</sup> Najpogosteje uporabljeno topilo je etanol. Lignin, izoliran z organosolv postopkom, je netopen v vodi in ima v primerjavi z lignom, pridobljenim z ostalimi postopki, manjšo molekularno maso.<sup>7,11</sup> Med postopkom izolacije z organosolvom se ligninske vezi  $\alpha$ -O-4 večinoma razcepijo, medtem ko se vezi  $\beta$ -O-4 povečini ohranijo. Lahko pride tudi do tvorbe novih C-C vezi. Poleg tega sta prednosti postopka organosolv možnost ponovne uporabe organskega topila, zaradi česar je postopek okolju prijaznejši, in visokokakovostni tok vsake lignocelulozne biomase (celuloza,

hemiceluloza in lignin), kar nam omogoča valorizacijo vsake komponente posamično.<sup>7,10,11</sup> Več o posameznih organosolv procesih in biorafinerijah na slovenskem je zapisano v PRILOGA 1.

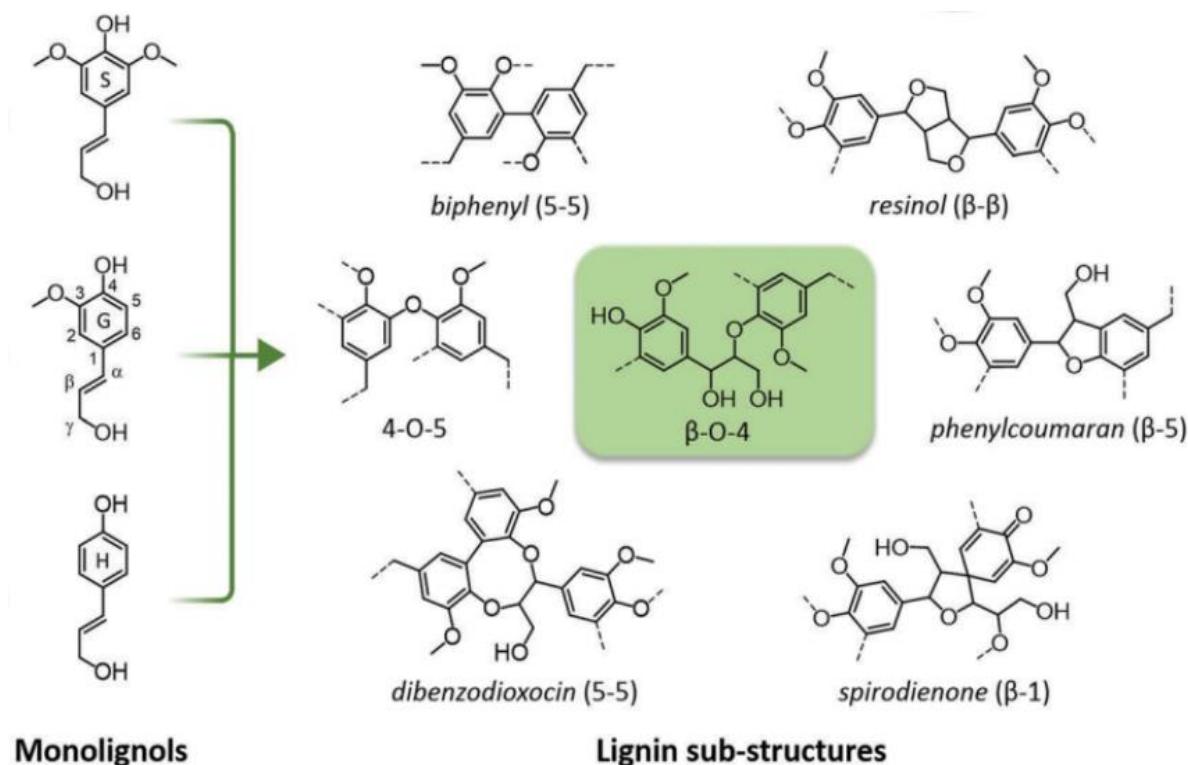
### 5.3 LIGNIN

Lignin je kompleksen tridimenzionalen (amorfen) biopolimer in eden od treh sestavnih delov lignocelulozne biomase. Vsebnost lignina v njej se razlikuje glede na vrsto rastline – vsebnosti za trdi/mehki les ali pa za travnate rastline so različne (Tabela 1). Lignin kot sestavni del lignocelulozne biomase je odporen na mikrobne napade in preprečuje, da bi voda uničila polisaharidno-proteinski matriks rastlinskih celic. Izboljšuje številne mehanske lastnosti rastlin, na primer zagotavlja togost in stabilnost. Služi kot smola, saj povezuje celulozo in hemicelulozo. Lignin je edini naravno bogat vir aromatskih spojin.<sup>11</sup>

#### 5.3.1 Struktura

Lignin je večinoma sestavljen iz fenilpropanskih enot: sinapil alkohol, koniferil alkohol in *p*-kumaril alkohol z različno stopnjo metoksiliranosti. To pomeni, da vsebujejo različno število metoksilnih skupin na fenolnih jedrih in so znani tudi kot: *p*-hidroksifenil (H), gvajacil (G) in siringil (S) enote (Slika 2). Opozoriti je treba, da monolignoli niso edine prisotne komponente v ligninu. Druge so estri hidroksicinamske kisline (*p*-kumarat, ferulat itd.), *p*-hidroksibenzoat, triclin, acetat itd. Struktura lignina je odvisna od vrste rastline. Lignin iz mehkega lesa (npr. smreke in bora) je na primer sestavljen samo iz enot G, lignin iz trdega lesa (breza, evkaliptus) vsebuje enote G in S, medtem ko so v ligninu iz trav prisotne vse tri enote (G, S in H) (Tabela 1).<sup>3</sup>

Enote lignina so povezane z vezmi C-O – v obliki etrske veze ali kot del furanskega obroča – ali z vezmi C-C.<sup>12</sup> Več kot 60 % vezi predstavljajo  $\alpha,\beta$ -etrske vezi, medtem ko so ostale vezi C-C.<sup>11</sup> Najpogostejše vezi v makromolekuli lignina so  $\beta$ -etrske vezi ( $\beta$ -O-4; 45–48 %) in  $\beta$ -5 vezi v fenilkumaranu (12 %). Druge vezi, ki povezujejo monolignole, so  $\beta$ - $\beta$  (smola),  $\alpha$ -O-4 (diarilni eter, fenilkumarin),  $\beta$ -1 (spirodienon) in 5-5 (dibenzodioksocin, bifeniil), ki so predstavljene na Sliki 2.<sup>13</sup> Etrske vezi se med depolimerizacijo lignina cepijo predvsem zaradi nižje energije vezi (med 226 kJmol<sup>-1</sup> in 301 kJmol<sup>-1</sup>) v primerjavi z energijo vezi C-C (približno 525 kJmol<sup>-1</sup>).<sup>3,12,14</sup>



Slika 2 Zgradba monolignolov in tipi vezi.<sup>3</sup>

## 5.4 DEPOLIMERIZACIJA LIGNINA

Struktura lignina je spremenjena zaradi kombinacije de- in repolimerizacijskih reakcij med predelavo biomase ali lignina. Izid je zelo odvisen od vira biomase in metode obdelave. Glede na to so v nadaljevanju opisane štiri različne metode depolimerizacije s poudarkom na  $\beta$ -O-4 vezeh, saj so najbolj prisotne in reaktivne. Zato so glavna tarča depolimerizacije lignina.<sup>3</sup>

V nasprotju z metodami, ki se osredotočajo na *native* lignin, je depolimerizacija lignina dobro raziskana, saj so bile o njej napisane številne študije.

### 5.4.1 Kislinska depolimerizacija

Kislinska depolimerizacija se običajno izvaja pri visokih temperaturah ( $\geq 250$  °C), čeprav se lahko uporabijo tudi nižje (140-180 °C). Študije z modelnimi komponentami so pokazale tudi, da se lahko  $\beta$ -O-4 vezi razcepijo že pri 85 °C. Uporablja se lahko vrsta topnih Lewisovih kislin in topnih ali trdnih Brønstedovih kislin. Izkoristki variirajo od zelo nizkih (2 masna procenta) do zelo visokih (do 61 masnih procentov).

### 5.4.2 Bazična depolimerizacija

Lignin je zaradi svoje srednje polarnosti netopen v vodi. Ob izpostavljenosti bazičnemu mediju pa se njegova topnost v vodi zaradi deprotonizacije fenolnih OH skupin znatno poveča. Bazične razmere se zato pogosto uporabljajo v procesih delignifikacije – procesih, pri katerih se lignin izloči iz biomase, na primer v papirni industriji pri izolacijskem postopku kraft.

Bazično katalizirana depolimerizacija poteka pri visoki temperaturi (240–330 °C) v prisotnosti topne ali trdne baze, običajno NaOH. Najpogostejše topilo je voda, čeprav se redno

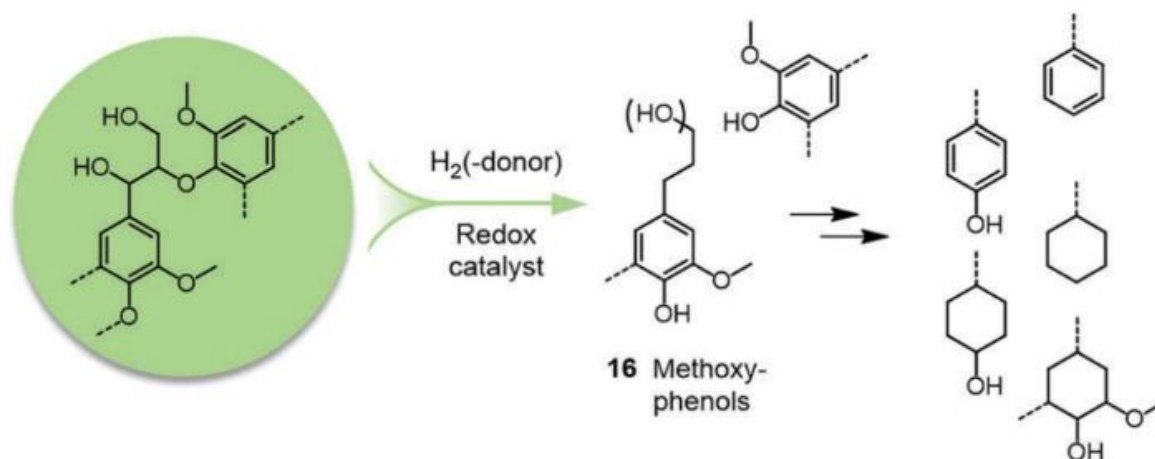
uporabljajo tudi raztopine organskih topil. Izkoristek monomerov je v večini primerov pod 10 masnih procentov, izkoristki nad 20 masnih procentov pa še niso bili zabeleženi.

#### 5.4.3 Oksidativna depolimerizacija lignina

Uporaba oksidantov ni posebej prakticiran postopek kljub številnim študijam o protokolih oksidacije modelnih komponent lignina. Oksidativna depolimerizacija bi lahko bila zanimiv postopek zaradi velike prisotnosti OH skupin v ligninu. Pri postopku nastajajo aromatske karboksilne kisline in aldehidi, pri čemer je glavni produkt vanilin, katerega izkoristek znaša med 5 in 15 masnih procentov. Večina študij navaja uporabo bazičnih ali mineralnih kislin v kombinaciji z vodikovim peroksidom. Pri visokih temperaturah in tlakih se uporabljajo tudi homogeni heteropolikislinski katalizatorji in v nekaterih primerih kombinacije kovin ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  itd.). Pri oksidativnih protokolih lahko nastanejo radikali, ki vodijo v delno repolimerizacijo in tvorijo kompleksnejše strukture lignina, zato niso vedno idealni.<sup>13</sup>

#### 5.4.4 Reduktivna depolimerizacija lignina

Reduktivna depolimerizacija lignina, ki je bila uporabljena tudi v naši raziskavi, se v mnogih primerih izvaja ob prisotnosti reduciranega kovinskega katalizatorja na različnih nosilcih (npr.  $\text{Ru}/\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Ru}/\text{C}$ ,  $\text{Pd}/\text{C}$ ,  $\text{Ni}/\text{C}$ ,  $\text{Pt}/\text{C}$ ), redukcijskega sredstva (predvsem vodika) in topila.<sup>15</sup> Vodik se lahko pojavlja v različnih oblikah – raztopljen v topilu, doveden kot plinasti  $\text{H}_2$  ali pridobljen iz organskih donorjev vodika, kot so na primer alkoholi (etanol itd.). Prenos vodika iz donorja je lahko dobra alternativa vodikom pod visokim tlakom, ki zahteva nevarnejše pogoje za delo. Reduktivna depolimerizacija lignina z alkoholom je zato obetaven postopek za proizvodnjo fenolnih spojin. Lignin se v reduktivnem okolju pogosto ne le depolimerizira, ampak tudi deoksigenira, izkoristki pa se gibljejo med 10 in 50 masnih procentov.<sup>3</sup> V nekaterih študijah so zabeleženi izkoristki depolimerizacije tudi nad 60 masnih procentov. Pomembno je opozoriti, da se izkoristki in selektivnost produktov razlikujejo glede na uporabo različnih katalizatorjih. Reduktivna depolimerizacija je usmerjena predvsem na vezi  $\beta\text{-O-4}$  in hidroksilne skupine stranskih verig, saj večina reduktivnih metod ne more razcepiti C-C vezi, ki imajo večjo energijo vezi. Reduktivna depolimerizacija je zato učinkovita za lignin z visoko vsebnostjo vezi  $\beta\text{-O-4}$ . Obstajata dve različni metodi hidroprocesiranja: v blagih in ostrih pogojih, ki vodita do istih končnih produktov: hidrogenoliza etrskih vezi in odstranjevanje  $\text{OH}_\alpha$  ter  $\text{OH}_\gamma$  skupin. Tipične reakcije za blago hidroprocesiranje so dehidracija, hidrogeniranje, hidrokrekiranje in hidrodeoksigenacija, ki potekajo pri nižjih temperaturah (<300 °C). Med reakcijami nastane več različnih radikalskih intermediatov, npr. alkil, fenoksi in hidroksil. Razlikujejo se po svoji reaktivnosti, hidroksilni radikal je namreč bolj reaktiven od drugih dveh. Za odstranjevanje  $\text{OH}_\alpha$ ,  $\text{OH}_\gamma$  in fenolnih OH skupin sta bistvena katalizator ter vodik. Vezi  $\beta\text{-O-4}$  se razcepi po odstranitvi  $\text{OH}_\alpha$  in nastanku radikala na položaju  $\text{C}_\alpha$ . Hidroksilni radikali se sproščajo v obliki vode, kar spodbuja nastanek koniferilnih alkoholov in dihidroksibenzenov. Reduktivni sistemi dušijo reaktivne funkcionalne skupine ter tako preprečujejo kondenzacijo in nastanek trdnega preostanka. Takšne funkcionalne skupine so alkenilne in karbonilne skupine.<sup>3,11,12</sup> Slika 3 prikazuje razcepitev vezi  $\beta\text{-O-4}$  v reduktivnem okolju.



Slika 3 Reduktivna depolimerizacija – cepitev vezi  $\beta$ -O-4.<sup>3</sup>

#### 5.4.5 Produkti depolimerizacije

Med depolimerizacijo lignina nastanejo različne vrste produktov: oligomeri, monomeri, plini in trdni ogljikovi ostanek (ogljje). Delež vsakega od produktov je odvisen od mehanizma depolimerizacije (pogoji, katalizatorji itd.) in od strukturnih značilnosti lignina, kot je na primer delež različnih vezi.

#### 5.4.6 Nastanek monomerov

Lignin je sestavljen iz monomernih enot. Te so med seboj povezane z vezmi, ki imajo različne vezne energije. Nižja kot je vezna energija, lažje je razcepiti vez pod blagimi pogoji depolimerizacije. Zato je delež monomerskih produktov močno odvisen od količine vezi  $\beta$ -O-4.<sup>12</sup>

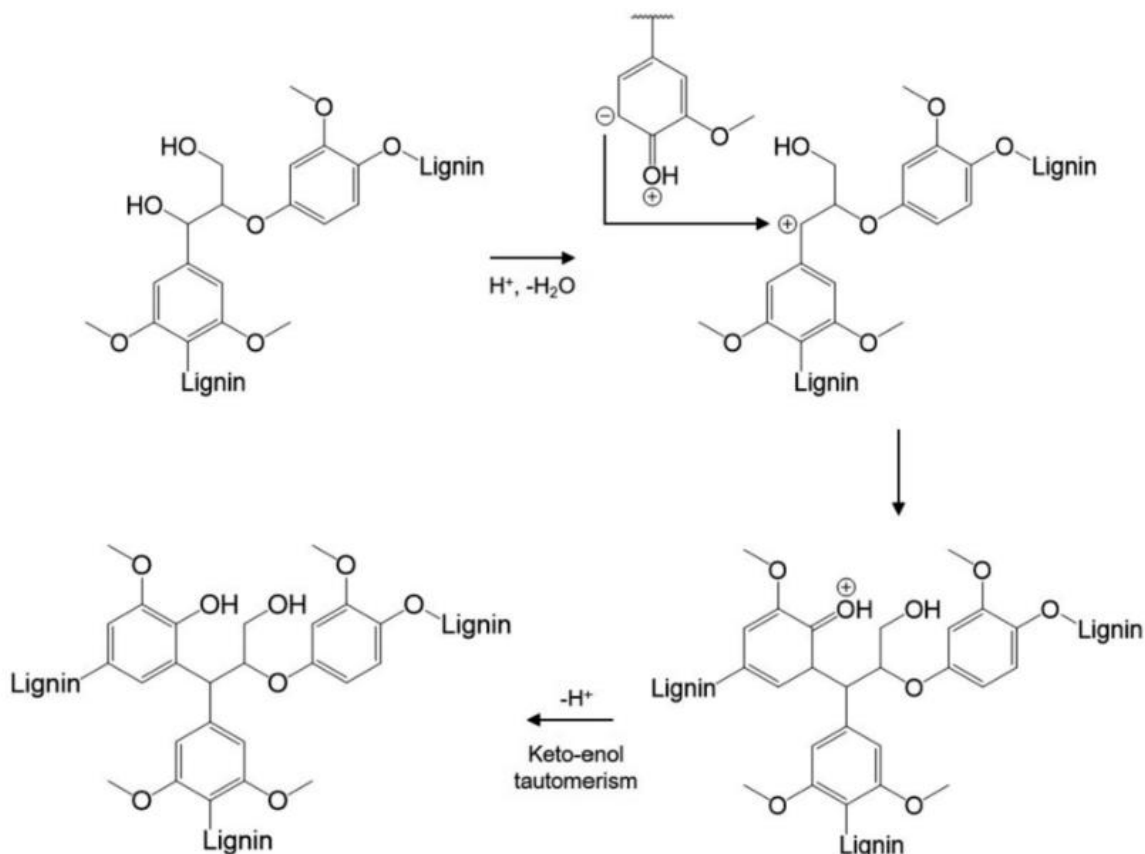
Mono- ali disubstituirani aromatski obroči z metoksi skupinami nastanejo pri pretvorbi dimerov v monomere. Pri depolimerizaciji lignina iz mehkega lesa lahko pričakujemo metoksifenole kot vmesne produkte, pri trdem lesu pa tako metoksifenol kot dimetoksifenol. Zaradi prisotnosti vseh treh monolignolov v lignin travnatih rastlin se lahko dimeri pretvorijo v alkilfenole in (di)metoksifenole.<sup>12</sup>

Nadaljnja defunkcionalizacija (di)metoksifenolov se lahko poteče skozi demetoksilacijo in demetilacijo – odstranjevanjem metoksi in metilnih skupin. Glede na začetno stopnjo metoksilacije se z zamenjavo metilne skupine z vodikovim atomom tvorijo različni di- ali trihidroksibenzeni. Metoksilna in metilna skupina imata najnižjo energijo vezi med funkcionalnimi skupinami, vezanimi na aromatski obroč, zato sta najbolj dovzetni za zamenjavo v reduktivnih pogojih.

##### 5.4.6.1 Nastanek trdnega preostanka (ogljja)

Zaradi navzkrižnega povezovanja med reaktivnimi fragmenti, ki nastanejo med reakcijo, se tvori zelo kondenziran trdni ostanek, imenovan ogljje. Te reakcije navzkrižnega povezovanja potekajo, kadar sta dve ogljikovi mesti ugodnejši za vezavo zaradi odstranitve substitucijskih skupin. Med depolimerizacijo lignina lahko nastaneta dve vrsti trdnih ogljikovih ostankov: fenolni in aromatski trdni ostanek. Fenolni ostanek nastane, ko zelo reaktivne fenolne OH

skupine olajšajo nastanek novih C-C vezi na orto in para položaju. Ta nastanek pa je omogočen s tvorbo intermediatov aldehida in kinonmetida (Sliki 4). Dodatne kondenzirane strukture nastanejo tudi pri interakciji fenolne OH skupine z nenasičenimi ogljikovimi atomi stranskih verig in aromatskimi obroči. Po drugi strani pa je nastanek aromatskega oglja – zelo kondenziranega trdnega preostanka – mogoč s heterolizo aromatskih ogljikovodikov, kot so benzen, toluen in naftalen.<sup>12</sup>



Slika 4 Mehanizem reakcije nastanka trdnega preostanka.<sup>12</sup>

#### 5.4.6.2 Nastanek plinov

Med depolimerizacijo lignina se sproščajo plini. Metan in metanol nastajata, ko se metilne in metoksi skupine odcepijo od gvajacilnih in siringilnih enot. Obe skupini sta med seboj povezani s šibkimi vezmi, zato se jima reaktivnost povečuje s temperaturo. Pri depolimerizaciji lignina pri višjih temperaturah ( $>300\text{ }^\circ\text{C}$ ) lahko iz metoksilnih in metilnih substitucijskih skupin nastaneta  $\text{CO}_2$  in  $\text{CH}_4$ , iz hidroksilne skupine, vezane na alifatsko verigo ali aromatski obroč, pa  $\text{H}_2$  in  $\text{H}_2\text{O}$ . Prisotni so lahko tudi nekateri drugi plini, kot sta  $\text{CO}$  in  $\text{H}_2\text{S}$ , pri čemer  $\text{H}_2\text{S}$  nastaja redukativno med depolimerizacijo kraft lignina.<sup>12</sup>

## 6. EKSPERIMENTALNI DEL

### 6.1 MATERIALI IN METODE

Materiali in kemikalije, uporabljene v raziskavi:

- Etanol
- Tekoči dušik
- Vodik
- Deionizirana voda
- Žveplova kislina (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)
- Ni/C katalizator
- Klorovodikova kislina (HCl)
- Devteriran dimetil sulfoksid (DMSO-*d*<sub>6</sub>)
- Piridin
- Devteriran kloroform (CDCl<sub>3</sub>)

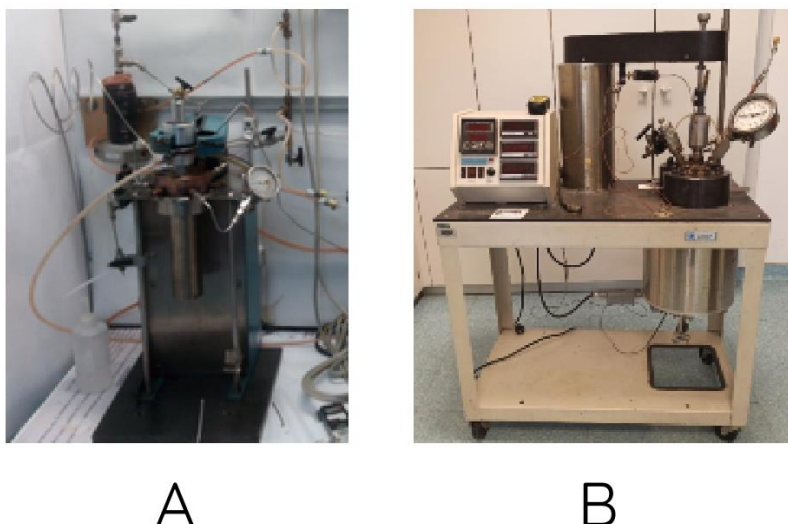
#### 6.1.1 Izolacija lignina

Poskuse smo najprej izvedli v reaktorju s prostornino 300 mL (Slika 5A) Lignin iz bukove žagovine (25 g, sušen 24 ur pri 105 °C) smo ekstrahirali s 75 vol% raztopino etanola in vode (131,24 ml EtOH, 43,7 ml H<sub>2</sub>O) v razmerju 1:7 (m/v). Reakcijo je kataliziral 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, izračunan glede na maso bukove žagovine. Reaktor je bil trikrat prepihan z dušikom pod tlakom 0,2 MPa. Poskusi so potekali pri 160 °C in hitrosti mešanja 250 vrtljajev na minuto za eno uro. Nato smo reaktor potopili v ledeno kopel, da smo ga ohladili ustavili reakcijo. Reakcijsko zmes smo filtrirali, da smo ločili trdne delce – celulozo – od hemiceluloze in raztopine lignina. Filtrirano pogačo smo izpirali s 150 mL 80 vol% raztopino etanol/voda. Celulozo smo sušili pri 105 °C do konstantne mase. Lignin smo oborili z dodajanjem destilirane vode v 3-kratnem presežku. Frakcionirani lignin smo oborili z dodajanjem vode v ločenih količinah (150 mL – prva frakcija, F1, 150 mL – druga frakcija, F2, 600 mL – tretja frakcija, F3). Oborino smo centrifugirali pri 4500 vrtljajih na minuto 10 minut, jo trikrat izpirali z destilirano vodo in posušili z zamrzovanjem v liofilizatorju. Ekstrakcijo lignina v 300 mL reaktorju smo izvedli trikrat. Nato je bila enaka (frakcionirana) ekstrakcija lignina izvedena v večjem laboratorijskem reaktorju s prostornino 1900 mL. (Slika 5B). Za depolimerizacijo smo potrebovali veliko količino vzorca – lignina. Ugotovili smo, da eksperimenti izolacije v reaktorju z manjšo prostornino zahtevajo preveč časa in da je večji reaktor v tem primeru bolj praktična rešitev. Z nadgradnjo na večji reaktor smo se približali industrijski kemiji.<sup>16,17</sup>

Izkoristki izolacije lignina so bili izračunani s pomočjo Enačbe 1:

$$\text{Izkoristek(\%)} = \left( \frac{m_t}{m_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

kjer  $m_t$  predstavlja celotno maso izoliranega lignina in  $m_0$  predstavlja maso bukove žagovine.



Slika 5 Dva reaktorska Sistema, v katerih smo izvajali izolacijo lignina. A, 300-mililitrski reaktor; B, Večji 1900-mililitrski reaktor na laboratorijskem nivoju.<sup>18</sup>

### 6.1.2 Depolimerizacija lignina

Eksperimenti depolimerizacije lignina so bili izvedeni v 75 mL reaktorju (Slika 6). V reaktor smo dali 1,75 g lignina, 20 masnih procentov katalizatorja Ni/C s 5 masnimi procenti niklja, da se doseže 1 masni procent niklja na lignin in čisti etanol v razmerju 1:20 (m/v). Po zatesnitvi smo reaktor najprej trikrat prepihali z dušikom, nato pa ga napolnili z vodikom, pri čemer smo uporabili redukcijske pogoje. Reaktor smo segreli na 250 °C in nastavili hitrost mešanja na 1000 min<sup>-1</sup>. Ko je dosegel končno temperaturo, smo ga pustili stati 4 ure. Po štirih urah reakcije smo reaktor ohladili v ledeni kopeli. Reakcijsko zmes smo filtrirali skozi 1 µm stekleni filter. Raztopini smo dodali etanol, da smo dosegli končni volumen 52,5 mL. Prefiltrirani ostanek brez mase katalizatorja je bil netopen v etanolu, zato smo ga označili kot trdni ostanek (TO). Maso TO smo izračunali po Enačbi 2:

$$TO(\text{masni procent}) = \left( \frac{m_{trden}}{m_{lignin}} \right) \times 100 \quad (2)$$

kjer  $m_{lignin}$  predstavlja maso suhega lignina in  $m_{trden}$  predstavlja maso TO, ki je nastala z depolimerizacijo.

Za precipitacijo oligomernih fragmentov smo dodali vodo in klorovodikovo kislino. Oligomere smo centrifugirali in jih trikrat sprali z destilirano vodo. Po sušenju z zamrzovanjem smo maso ligninskih oligomerov izračunali s pomočjo Enačbe 3:

$$Oligomeri(\text{masni procent}) = \left( \frac{m_{oligomer}}{m_{lignin}} \right) \times 100 \quad (3)$$

kjer je  $m_{lignin}$  masa suhega lignina in  $m_{oligomer}$  masa trdnega produkta po nakisanju.<sup>3</sup>





Slika 6 Reaktorski sistem, s katerim smo izvajali depolimerizacijo lignina (75 mL).<sup>18</sup>

### 6.1.3 GC-MS analiza

Monomeri depolimerizacije lignina so bili identificirani in delno kvantificirani s spektrometrom GC-MS (Ultra, Shimadzu, Kyoto, Japonska, 2010), opremljenim s plamenskim ionizacijskim detektorjem (FID), kapilarno kolono Zebtron ZB-5 (Phenomenex Torrance, CA, ZDA) 60 m x 0,25 mm x 0,25 um. Metoda GC-MS je bila pripravljena, kot je navedeno drugje.<sup>19</sup> Spojine so bile identificirane s primerjavo retencijskih časov kromatografskih vrhov in fragmentacije masnih spektrov z opremljeno knjižnico masnih spektrov (NIST14s MS Library Database ali WILEY229 MS Library Database). Enačba 4 je bila uporabljena za delno kvantifikacijo monomerov lignina kot razmerje med površino vrha posamezne spojine in vsoto površin vrhov vseh zaznanih spojin:

$$\text{Relativna površina vrha}_i (\%) = \frac{A_i}{\sum_i^n A_i} \times 100 \quad (4)$$

kjer je  $A_i$  površina vrha snovi "i" in "n" število spojin.<sup>19</sup>

### 6.1.4 2D HSQC in <sup>31</sup>P NMR analiza

Spektrometer za jedrsko magnetno resonanco (NMR) Bruker AVANCE NEO 600 MHz, opremljen s sondo BBFO, smo uporabili za zapis 2D spektrov HSQC (heteronuklearna enojna kvantna koherenca) NMR (frakcioniranega) lignina in oligomerov po protokolu, opisanem drugje.<sup>20</sup> Približno 85 mg lignina ali oligomernega fragmenta smo raztopili v 0,60 mL DMSO- $d_6$ . Uporabili smo ga tudi kot interno referenčno točko ( $\delta_C$  39,5;  $\delta_H$  2,50 ppm). Izračuni in analiza spektrov so bili pripravljene po opisanem postopku.<sup>21</sup> Z metodo smo določili prisotnost različnih vezi in razmerje G/S v (frakcioniranem) ligninu in oligomerih.

Kvantitativne preiskave <sup>31</sup>P NMR so bile izvedene v skladu s protokolom, opisanem drugje.<sup>22</sup> Vzorce lignina in oligomerov smo derivatizirali z TMDP. Za meritve pri 25°C smo uporabili mešanico CDCl<sub>3</sub>/piridina v razmerju 1:1,6 (v/v) z NHND kot internim standardom.<sup>17</sup> To metodo smo uporabili za določanje prisotnosti in vsebnosti različnih hidroksilnih (OH) skupin.

### 6.1.5 Analiza z velikostno izključitveno kromatografijo (SEC)

Pred analizo smo vzorce lignina acetilirali z mešanico piridina in očetnega anhidrida v razmerju 2:1 (v/v) 8 ur pri 50 °C in hitrosti mešanja 140 obratov na minuto v oljni kopeli. Po 8 urah smo pH vzorcev znižali na približno pH 3 z 0,1M HCl in ga pustili na sobni temperaturi 12 ur ob stalnem mešanju. Vzorce smo nato centrifugirali, jih trikrat izprali z destilirano vodo in posušili z zamrzovanjem. Analiza z velikostno izključitveno kromatografijo (Size Exclusion Chromatography; SEC) je bila izvedena s sistemom Ultimate 3000, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, ZDA, opremljenim z detektorjem UV, s THF kot eluentom pri hitrosti pretoka 1 mLmin<sup>-1</sup>. Za kalibracijo so bili uporabljeni polistirenski standardi (Polymer Standards Service; PSS) z molekulsko maso v razponu od 127 kDa do 672 Da. Za obdelavo kromatografskih podatkov je bila uporabljena programska oprema PSS WinGPC Unity.<sup>16,17</sup> Disperznost smo izračunali s pomočjo Enačbe 5:

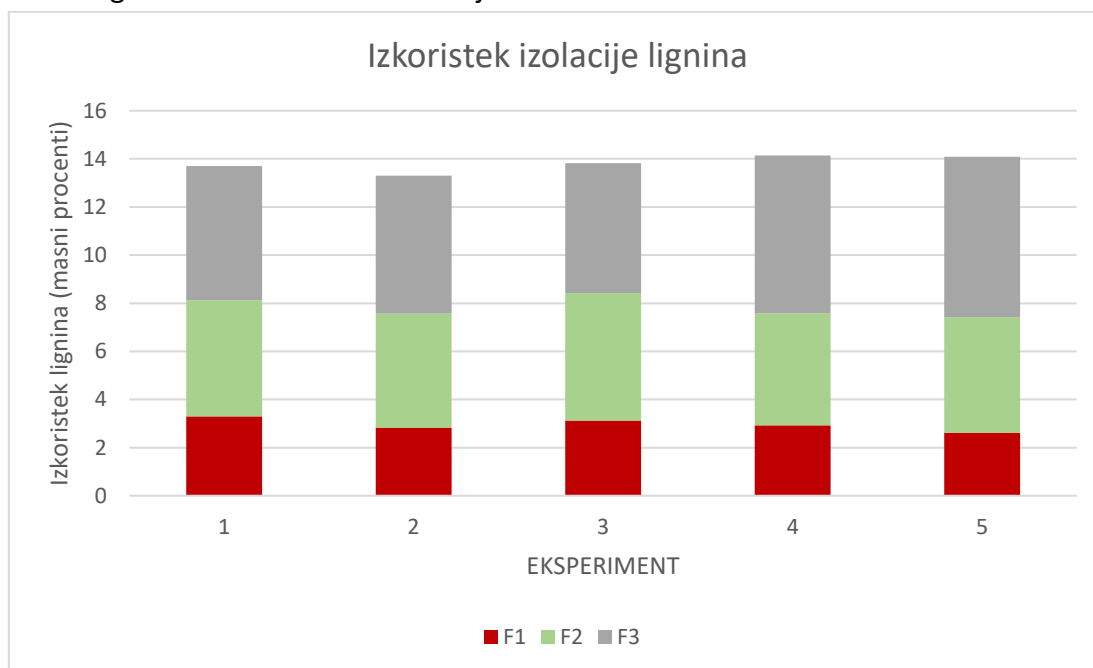
$$D = \frac{M_w}{M_n} \quad (5)$$

kjer je  $M_w$  povprečna molekulska masa glede na maso in  $M_n$  molekulska masa glede na število delcev.

## 7. REZULTATI IN INTERPRETACIJA

### 7.1 PRIMERJAVA IZKORISTKOV IZOLACIJE LIGNINA IZ OBEH REAKTORJEV

Rezultati izolacije lignina iz bukove žagovine so povzeti na Sliki 7. Ovrednotili smo vpliv uporabe različnih reaktorskih sistemov (300 mL in 1900 mL) na izolacijo lignina, njegovo količino in izkoristek. Reaktor v laboratorijskem merilu s prostornino 300 mL je bil zaradi manjših količin izoliranega lignina časovno manj učinkovit, zato smo za 4. in 5. eksperiment uporabili reaktor z večjo prostornino (1900 mL) in primerjali izkoristke lignina. Rezultati kažejo, da so izkoristki iz obeh reaktorjev primerljivi. Zanimivo je, da je izkoristek iz reaktorja s prostornino 1900 mL nekoliko večji (Slika 7). Večji delež dodane vode obori večjo količino ligninske frakcije. Posledično je bila količina tretje frakcije največja, prve pa najmanjša. Največja topnost lignina je dosežena v 75 vol.% etanola – našem reakcijskem mediju. Volumen destilirane vode, dodan prvi frakciji, posledično ni mogel oboriti velikih količin raztopljenega lignina, saj se vrednost topnostnega parametra ( $\delta$ -vrednost) ni občutno spremenila. Rezultati in količine lignina so za obe vrsti reaktorjev skladni.



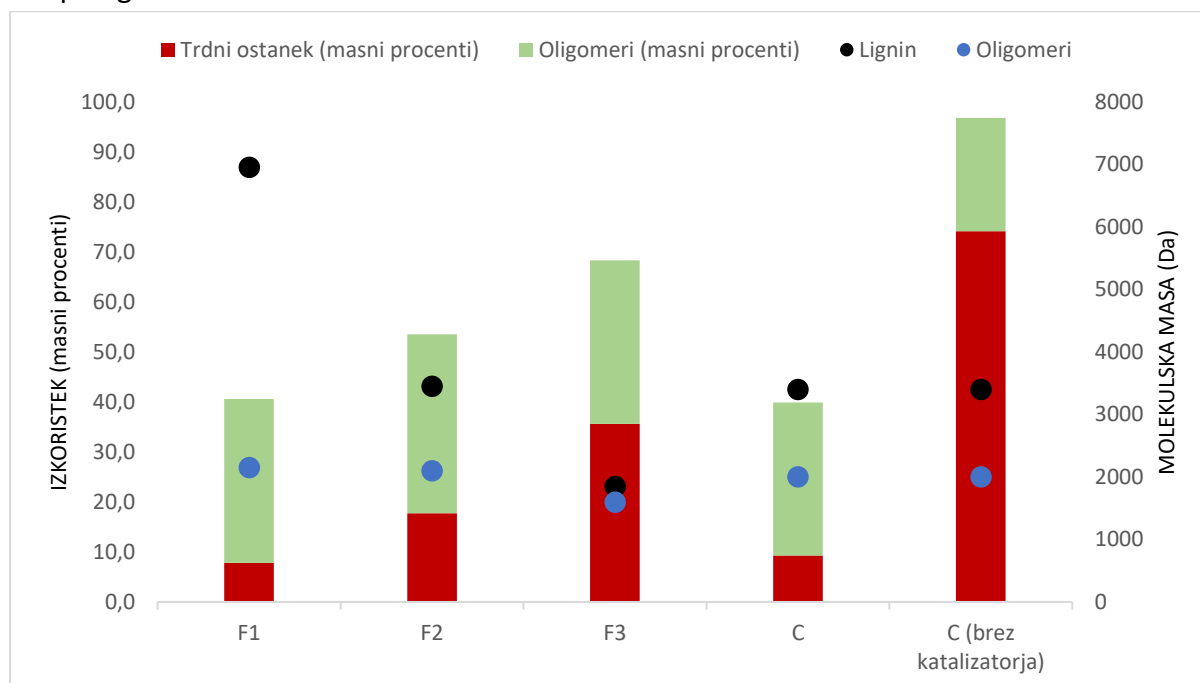
Slika 7 Primerjava izkoristkov iz 300 mL in 1900 mL reaktorjev. Prve tri eksperimente smo izvedli v 300 mL reaktorju (oštevilčeno 1–3), druga dva pa v 1900 mL reaktorju (4. in 5. stolpec). Izkoristki so preračunani glede na maso žagovine, uporabljene pri eksperimentu.

### 7.2 ANALIZA DEPOLIMERIZACIJE

#### 7.2.1 Izkoristki depolimerizacije lignina

Za prikaz izkoristkov smo produkte depolimerizacije lignina stehtali in jih numerično izrazili v skladu z enačbami iz Poglavja 6.1.2. Izkoristki dobljenih produktov so prikazani na Sliki 8. Delež produktov je odvisen predvsem od dveh dejavnikov: prvič, ali je bil uporabljen katalizator, in drugič, katera frakcija lignina je bila depolimerizirana.

Če katalizatorja nismo uporabili, je bil delež monomerov po reakciji občutno nižji v primerjavi z deležem monomerov po katalizirani depolimerizaciji. Delež trdnega ostanka pa je bil največji (74,1 masnih procentov), medtem ko so bile oligomerne spojine prisotne v manjših količinah – skupaj 22,6 masnih procentov. To je pričakovano, saj se ob prisotnosti katalizatorja  $\beta$ -O-4 vezi raje cepijo, ob njegovi odostnosti pa prevladuje repolimerizacija (nastanek trdnega preostanka). Ob dodanem katalizatorju so izkoristki različnih produktov lepše razporejeni – v reakcijski zmesi so prisotni tako trdni preostanki, oligomeri kot monomeri. Poleg tega igra pomembno vlogo tudi frakcionacija lignina, saj se izkoristek trdnega ostanka dvakrat poveča z vsako ligninsko frakcijo (7,8 masnih procentov za F1, 17,7 masnih procentov za F2, 35,6 masnih procentov za F3). Količina oligomerov je s frakcijami ostala približno enaka, medtem ko se je količina monomerov zmanjšala z vsako frakcijo lignina. Opozoriti je treba, da je katalitska depolimerizacija lignina F1 glede na razmerja produktov depolimerizacije podobna kot pri ligninu C.



Slika 8 Izkoristki depolimerizacije lignina (trdni preostanek, oligomeri, monomeri) in molekulska masa frakcioniranega lignina ter oligomerov.

### 7.2.2 Karakterizacija in kvantifikacija ligninskih monomerov

Za kvalifikacijo in kvantifikacijo monomernih produktov, ki nastajajo med depolimerizacijo lignina smo uporabili metodo GC-MS. Analizo smo izvedli na različnih frakcioniranih vzorcih lignina. Spekter GC-MS nam je zagotovil podatke o končnih monomernih komponentah. Med 80 zaznanimi monomeri je 18 najpomembnejših navedenih v Tabeli 2. Kvantitativna opredelitev teh sestavin je povzeta na Sliki 9.

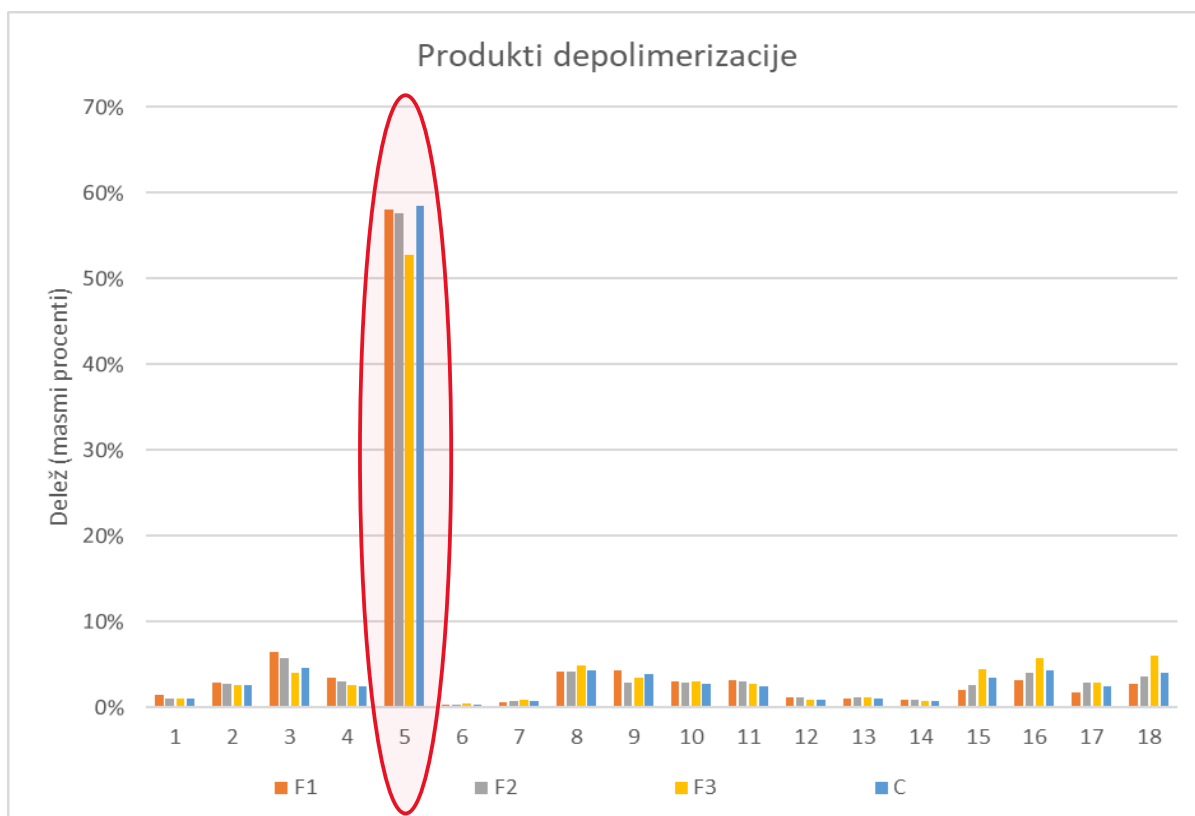
Rezultati GC-MS kažejo, da pri depolimerizaciji lignina nastane več monomernih spojin, ki pa so različno prisotne. Na splošno so te spojine aromatski mono-, di- ali tri-substituirani benzeni. Funkcionalne skupine, vezane na fenolni obroč, so v večini primerov metoksi (-OCH<sub>3</sub>), hidroksi (-OH), karboksil (-COOH) in alkilne skupine (-R). V naših vzorcih je najbolj prisotna sestavina v Tabeli 3 zapisana z rdečo barvo in obkrožena na Sliki 9. Ta sestavina, Vnos 5 ali

T. Maurer, E. Zdovc: Katalitska depolimerizacija lignina z Ni/C za pridobivanje bio-osnovanih kemikalij: vpliv strukture na porazdelitev produktov

2-metoksi-4-propilfenol, predstavlja več kot 52 % med relevantnimi zaznanimi monomeri. Relativna površina vrha 2-metoksi-4-propilfenola je največja pri ligninu C in ligninski frakciji F1 (58,5 %), najmanjša pa pri ligninski frakciji F3 (52,8 %). Ostale komponente so manj prisotne, kar pa ne vpliva na našo raziskavo. Najbolj zastopana sestavina (Vnos 5) je zelo zanimiva in pomembna za našo nadaljnjo uporabo.

*Tabela 2 Seznam relevantnih sestavin, ugotovljenih po depolimerizaciji lignina.*

Oznaka	Komponente
1	Guaiacol
2	2-metoksi-4-metilfenol (kreosol)
3	2-metoksi-4-etilfenol
4	Siringol
<b>5</b>	<b>2-metoksi-4-propilfenol</b>
6	2-metoksi-1,4-benzendiol
7	Vanilin
8	2,6-dimetoksi-4-metilfenol
9	Eugenol
10	Acetovanilon
11	Gvajacilaceton
12	Homovanilil alkohol
13	Metilni ester homovanilne kisline
14	Etil homovanilat
15	Siringilaldehid
16	Acetosiringon
17	Homosiringova kislina
18	Acetosiringon



Slika 9 Relativna površina vrhov relevantnih monomerov za vse tri frakcije lignina in lignin C. Številke na osi x predstavljajo zaporedno število vnosa, iz Tabele 2. Na y osi se nahaja delež spojin, izražen v masnih procentih.

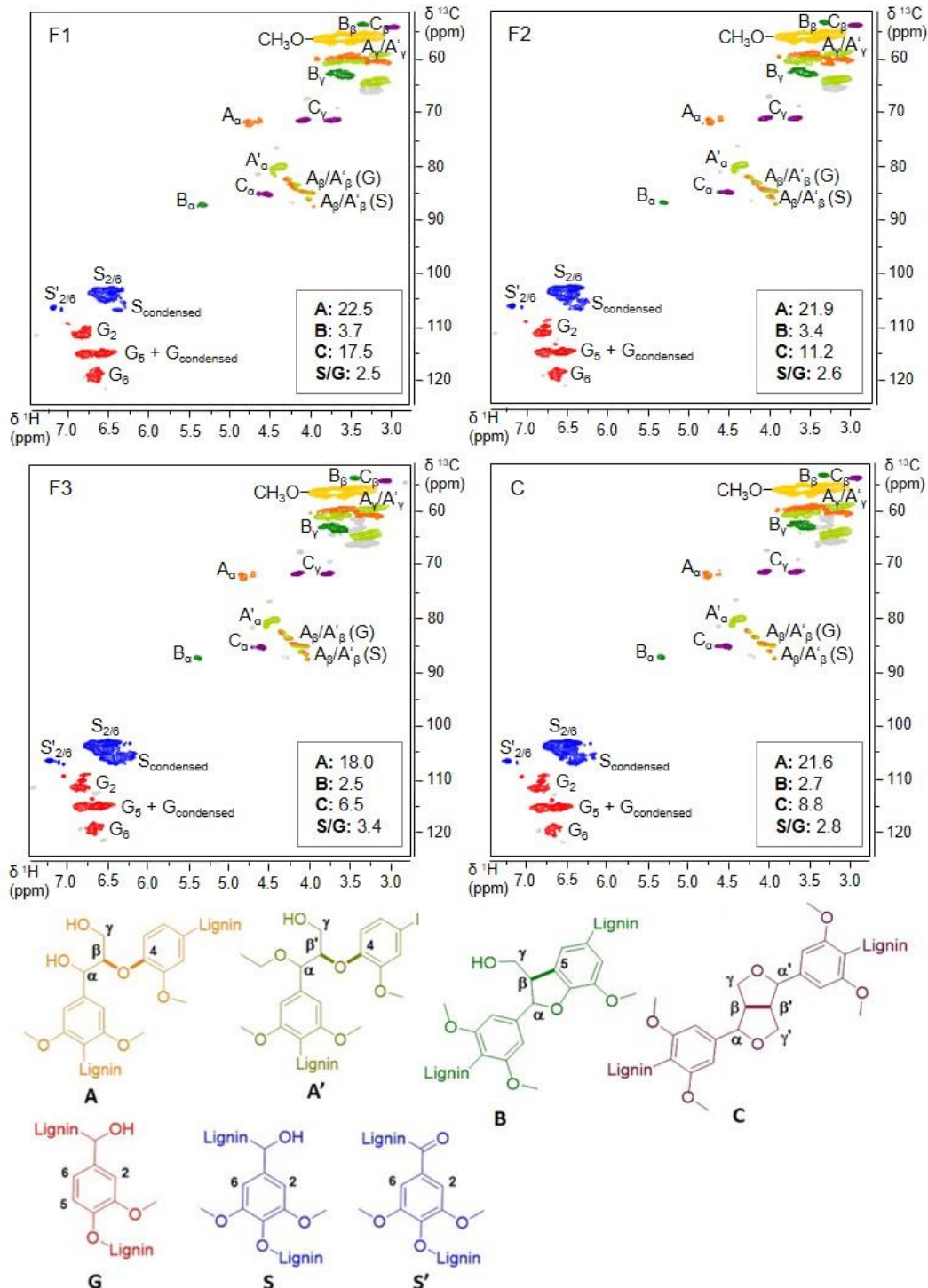
## 7.3 NMR ANALIZA

### 7.3.1 Karakterizacija lignina

Cilj analize NMR je bil določiti kakovost lignina. (Pol)kvantitativne analize  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC in  $^{31}\text{P}$  NMR smo uporabili za različne izolirane frakcije lignina in oligomerne (delno depolimeriziran lignin) vzorce, da bi pridobili podrobne informacije o sestavi in strukturi oziroma ocenili spremembo vsebnosti OH skupin.

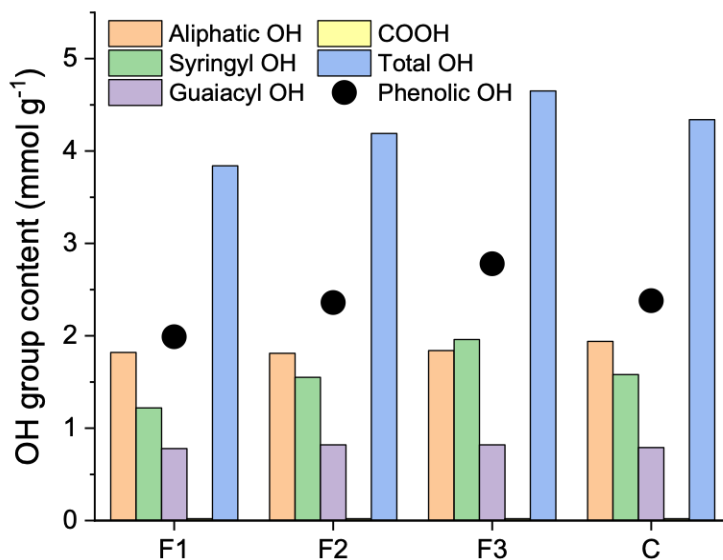
Rezultati 2D analize HSQC so povzeti na Slika 10. Rezultati NMR kažejo, da se pri izolaciji lignina z metodo proti topila pridobijo frakcije lignina z različnimi strukturnimi značilnostmi. Na splošno se vsebnost interenotnih vezi v frakcijah lignina zmanjšuje s povprečno molekulsko maso. Zlasti frakcija lignina F1 ima v primerjavi z frakcijama F2 in F3 največjo skupno količino  $\beta$ -O-4 (A),  $\beta$ -5 (B) in  $\beta$ - $\beta$  (C) vezi. Vendar zmanjšano skupno število vezi  $\beta$ -O-4 in  $\beta$ -5 ni bistveno v primerjavi z vezmi  $\beta$ - $\beta$ , saj se je količina zmanjšala s 17,5 (F1) na 6,5 (F3) na 100 enot C9. NMR je pokazal, da je med izolacijo lignina v sistemu etanol/voda prišlo do strukturne spremembe  $\beta$ -O-4 vezi. Zamenjava skupine  $\alpha$ -OH je povzročila  $\alpha$ -etoksilirano vez  $\beta'$ -O-4. Nastanek aromatskih struktur je razviden iz pojava intenzivnih križnih signalov pri  $\delta\text{C}$  102-107,5 in  $\delta\text{H}$  6,30-7,25 ppm, ki ustrezajo siringilnim skupinam ter križnih signalov pri  $\delta\text{C}$  109-121 in  $\delta\text{H}$  6,40-6,95 ppm, ki ustrezajo gvajacilnim enotam. Intenzivni križni signal, ki se nanaša na G5 in kondenzirane gvajacile, pomeni, da kondenzirane enote G sodelujejo pri tvorbi ligninskega omrežja. Zabeležili smo tudi, da se je razmerje S/G povečalo, kar pomeni prevladujočo hkratno obogatitev enot S.

Izolirani lignin brez frakcioniranja (C) je imel podobne strukturne značilnosti kot ligninska frakcija F2. Vsebnost vezi  $\beta$ -O-4,  $\beta$ -5 in  $\beta$ - $\beta$  je 21,6, 2,7 in 8,8 na 100 enot C9. Frakcije lignina, bogate z vezmi  $\beta$ -O-4, so zanimive za nadaljnjo depolimerizacijo, da bi razkrili učinek prilagajanja strukturnih značilnosti lignina.



Slika 10 2D HSQC NMR spektri izoliranega (frakcioniranega) lignina: A,  $\beta$ -etrske enote ( $\beta$ -O-4); A',  $\alpha$ -etoksilirani  $\beta$ '-etrski motivi; B, fenilkumaranske enote ( $\beta$ -5); C, smolne enote ( $\beta$ - $\beta$ ); G, gvajacilske enote; S, siringilne enote; S', oksidirane siringilne enote.

Rezultati kvantitativne  $^{31}\text{P}$  NMR so prikazani na Sliki 11 z vsebnostjo alifatskih, fenolnih (siringil in gvajacil OH), karboksilnih in skupnih OH skupin. Med frakcijami lignina je mogoče povezati več trendov. Vsebnost alifatskih in gvajacilnih OH skupin je ostala skoraj nespremenjena za različne frakcije lignina, medtem ko se je vsebnost siringilnih OH, fenolnih in skupnih OH skupin povečala za frakcije, izolirane kasneje v postopku izolacije. Porazdelitev vsebnosti gvajacilnih in siringilnih OH skupin je potrdila rezultate analize HSQC in prevlado S enot pri oblikovanju izolirane strukture lignina.

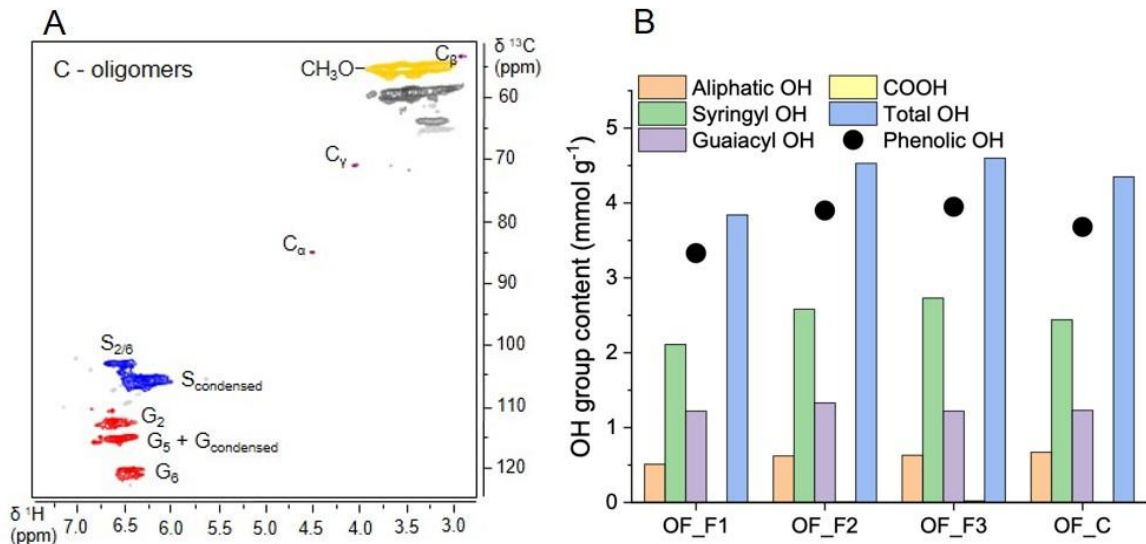


Slika 11 Vsebnost alifatskih, fenolnih (siringil in gvajacil), karboksilnih in skupnih OH skupin v (frakcioniranem) ligninu.

### 7.3.2 Karakterizacija delno depolimeriziranega lignina (oligomerov)

Po depolimerizaciji (frakcioniranih) vzorcev lignina so bile opravljene analize NMR za delno depolimerizirane vzorce lignina, tako imenovane oligomere. Slika 12A prikazuje oligomerni spekter HSQC, oborjenih po depolimerizaciji lignina C. Očitno je, da se je večina ligninskih vezi razcepila, pri čemer je med ligninskimi vezmi ostala le vez  $\beta$ - $\beta$  z največjo vezno energijo. Pojav intenzivnega navzkrižnega signala  $S_{\text{condensed}}$  in povečana vsebnost siringilnih OH skupin (Slika 12B) v oligomerih nakazuje na kondenzirano strukturo na položaju C5 z nizko prisotnostjo alifatskih OH skupin. Poleg tega je vsebnost gvajacilnih OH skupin v primerjavi z izhodiščnimi vzorci lignina povečana. Večja skupna vsebnost fenolnih OH skupin nam pove, da se struktura oligomerov med depolimerizacijo preuredi v povezavi z vezmi, ki neposredno povezujejo fenolne obroče (npr. vez 5-5').





Slika 12 Rezultati NMR oligomernih vzorcev. A: 2D spekter HSQC oligomerov po depolimerizaciji lignina (C), B: <sup>31</sup>P NMR oligomerov po depolimerizaciji lignina (C, F1, F2 in F3).

## 7.4 SEC ANALIZA

Molekulske mase frakcioniranih ligninov in oligomernih fragmentov po depolimerizaciji smo analizirali z velikostno izključitveno kromatografijo (SEC). Vrednosti povprečne molekulske mase ( $M_w$ ), povprečne numerične molekulske mase ( $M_n$ ) in disperznosti (D) izoliranih ligninov in oligomerov so povzete v Tabeli 3. Rezultati kažejo, da je bila  $M_w$  izoliranih ligninov od 6950 Da do 1850 Da, medtem ko je  $M_w$  oligomerov pokazala prisotnost manjših molekul z razponom med 2150 Da in 1600 Da. Pričakovano je bilo opaziti zmanjšanje molekulske mase z vsako frakcijo. Večje, bolj neparne molekule so se precipitirale v prvi frakciji. Velikost molekul v ligninski frakciji F2 je primerljiva z nefrakcioniranim ligninom C, medtem ko so se v tretji frakciji precipitirale manjše, bolj polarne molekule. Rezultati kažejo, da imajo oligomerni fragmenti manjšo  $M_w$  v primerjavi s frakcioniranim ligninom in da je  $M_w$  frakcioniranih ligninov vplivala na  $M_w$  oligomerov. Zmanjšanje  $M_w$  v izoliranih frakcijah lignina je občutno večje (s 6950 Da na 1850 Da) kot zmanjšanje  $M_w$  pripadajočih oligomerov (s 2150 Da na 1600 Da). Izračunali smo disperznost, da bi ugotovili heterogenost vzorcev glede na velikost molekul. Nižja vrednost pomeni manjše število različnih fragmentov in s tem večjo homogenost. Rezultati kažejo zmanjšanje D z vsako frakcijo in ustreznimi oligomeri, ki se oborijo po depolimerizaciji. Razlika v D med vzorcem lignina in oligomeri je prikazana na Tabeli 3. Opazili smo, da je D lignina C 2,40, kar ga uvršča med frakciji lignina F1 in F2. Frakcionacija lignina igra zelo pomembno vlogo, saj zmanjšuje disperznost lignina.

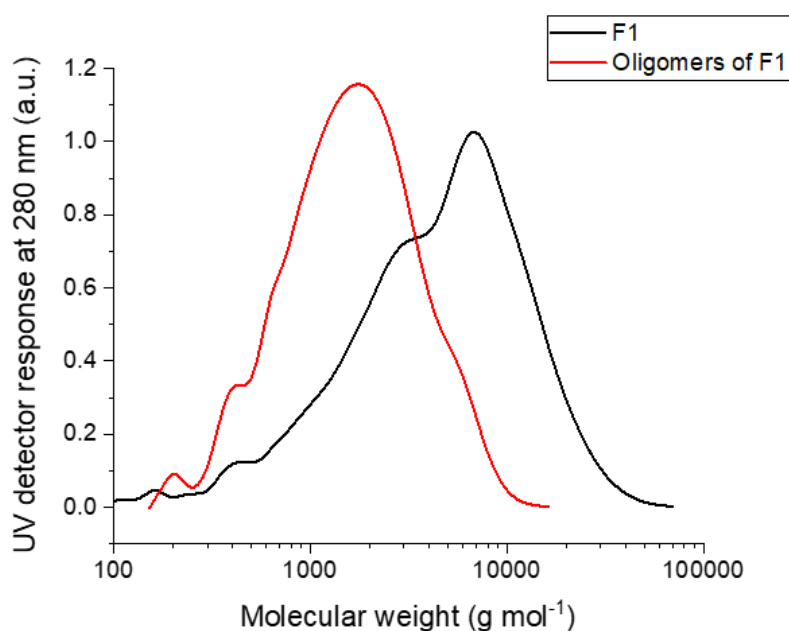
Slika 13 jasno prikazuje razliko v disperznosti. Funkcija ligninske frakcije F1 je očitno širša od funkcije oligomerov F1, kar kaže na prisotnost večjega števila različnih fragmentov ali večjo razpršenost.

Razlika med nekatalitsko in katalitsko (Ni/C) depolimerizacijo lignina C se kaže v razpršenosti oligomernih fragmentov. D je manjša pri oligomernih fragmentih, ki se precipitirajo po nekatalitski depolimerizaciji, katerih molekule so večje, vendar imajo podobno  $M_w$ . Oligomeri,

ki se oborijo po katalitski depolimerizaciji, so strukturno manjše molekule, vendar imajo bolj različne  $M_w$ .

Tabela 3 Povprečna molekulska masa ( $M_w$ ), numerična povprečna molekulska masa ( $M_n$ ) in disperznost frakcioniranega lignina ter oligomernih fragmentov.

Ime vzorca	$M_w$ (Da)	$M_n$ (Da)	D
Ligninska frakcija <b>F1</b>	6950	2400	2,81
Ligninska frakcija <b>F2</b>	3450	1750	2,05
Ligninska frakcija <b>F3</b>	1850	1100	1,64
Lignin <b>C</b>	3400	1400	2,40
Depolimerizacija – <b>F1</b>	2150	1150	1,84
Depolimerizacija – <b>F2</b>	2100	1200	1,76
Depolimerizacija – <b>F3</b>	1600	1000	1,56
Depolimerizacija – <b>C</b>	2000	1150	1,77
Depolimerizacija – <b>C (brez katalizatorja)</b>	2000	1200	1,69



Slika 13 Primerjava povprečnih molekulskih mas frakcioniranega vzorca lignina (F1) pred in po depolimerizaciji.

## 7.5 RAZPRAVA

Opazili smo, da se  $M_w$  oligomernih fragmentov zmanjšuje z vsako frakcijo, medtem ko je izkoristek oligomerov enak, kar pomeni, da ni korelacije med izkoristkom in  $M_w$  oligomerov. Prva frakcija z najvišjim  $M_w$  ima najmanjšo skupno količino OH enot, kot smo ugotovili z  $^{31}\text{P}$  NMR. Ima tudi največji delež vezi in metoksi skupin, kot smo ugotovili z 2D HSQC NMR, kar kaže na prisotnost velikih, kondenziranih molekul. Količina skupnih OH enot se povečuje, zlasti razmerje S-OH/G-OH s frakcioniranjem, kar kaže na prisotnost manj kondenziranih molekul. Poleg tega se delež cepitev, zlasti cepitev  $\beta$ - $\beta$ , s frakcioniranjem zmanjšuje, kar kaže na prisotnost manjših molekul. To sovпада z zmanjšanjem  $M_w$ , določenim z analizo SEC.

Po depolimerizaciji je skupna vsebnost OH skupin primerljiva z vsebnostjo v frakcioniranih ligninih. Vendar je količina alifatskih OH bistveno manjša, količina fenolnih OH pa večja, zlasti razmerje S-OH/G-OH, kar kaže na to, da je več enot G vključenih v vezi, ki so bolj izpostavljene cepitvi, enote S pa so vključene v manj cepljive vezi in so zato bolj prisotne v oligomernih spojinah, kot smo določili z  $^{31}\text{P}$  NMR. To kaže na nastanek molekul z manj zgoščeno strukturo (oligomerov). Medtem ko se količina aromatskih OH enot povečuje, se po depolimerizaciji  $M_w$  zmanjša. Vendar se količina OH skupin poveča tudi med depolimerizacijo druge in tretje frakcije, kar sovпада z zmanjšanjem  $M_w$  in nakazuje na prisotnost manjših molekul.

Naša prva hipoteza je bila: "Na izkoristek izolacije lignina reaktorski sistem ne vpliva." Kot so pokazali rezultati, ni bistvene razlike v izkoristkih izoliranega lignina pri obeh reaktorjih, čeprav je bil reaktorski sistem s 1900 mL nekoliko učinkovitejši, kar je pomembno za uporabo na industrijski ravni. Zato lahko **prvo hipotezo potrdimo**.

Naša druga hipoteza je bila: "S protokolom frakcioniranja dobimo bolj definirane ligninske frakcije." Analiza z velikostno izključitveno kromatografijo je pokazala, da se s protokolom frakcioniranja pridobijo frakcije lignina po porazdelitvi molekulskih mas in bolj definirani strukturi – zmanjšanje razpršenosti. Sicer je disperznost ligninske frakcije F3 primerljiva z ligninom C, kar kaže na njegovo homogenost. Analize NMR so potrdile spremembo prisotnosti lahko cepljivih vezi  $\beta\text{-O-4}$ , vendar le majhno razliko v vsebnosti alifatskih OH skupin, ki pomembno prispevajo k depolimerizaciji lignina. Kljub temu lahko **potrdimo drugo hipotezo**.

Naša tretja hipoteza je bila: "Nikelj prispeva k učinkovitosti depolimerizacije lignina." Izkoristki produktov depolimerizacije kažejo, da je uporaba katalizatorja koristna za zatiranje neželenega nastajanja trdnih preostankov in povečanje količine oligomernih fragmentov. Zato lahko **potrdimo našo tretjo hipotezo**.

Naša četrta hipoteza je bila: "Različne strukturne lastnosti ligninskih frakcij vplivajo na strukturo končnih produktov." Analiza  $^{31}\text{P}$  NMR je pokazala, da se je skupna vsebnost OH skupin za oligomerne fragmente povečala z vsako frakcijo, kar je povezano s frakcioniranim ligninom pred depolimerizacijo. Poleg tega zmanjšanje molekulske mase za frakcionirani lignin pred depolimerizacijo sovпада z zmanjšanjem molekulske mase za oligomere. **Potrdimo lahko tudi četrto hipotezo**.

Naša peta hipoteza je bila: "Delež monomerov z nižanjem molekulske mase frakcij narašča." Analiza po depolimerizaciji je pokazala, da se delež monomerov zmanjšuje z zmanjševanjem molekulske mase frakcij. Razlago najdemo v rezultatih 2D HSQC, saj je ligninska frakcija F3 vsebovala manjšo količino lahko cepljivih vezi  $\beta\text{-O-4}$ . Tako **peto hipotezo ovržemo**.

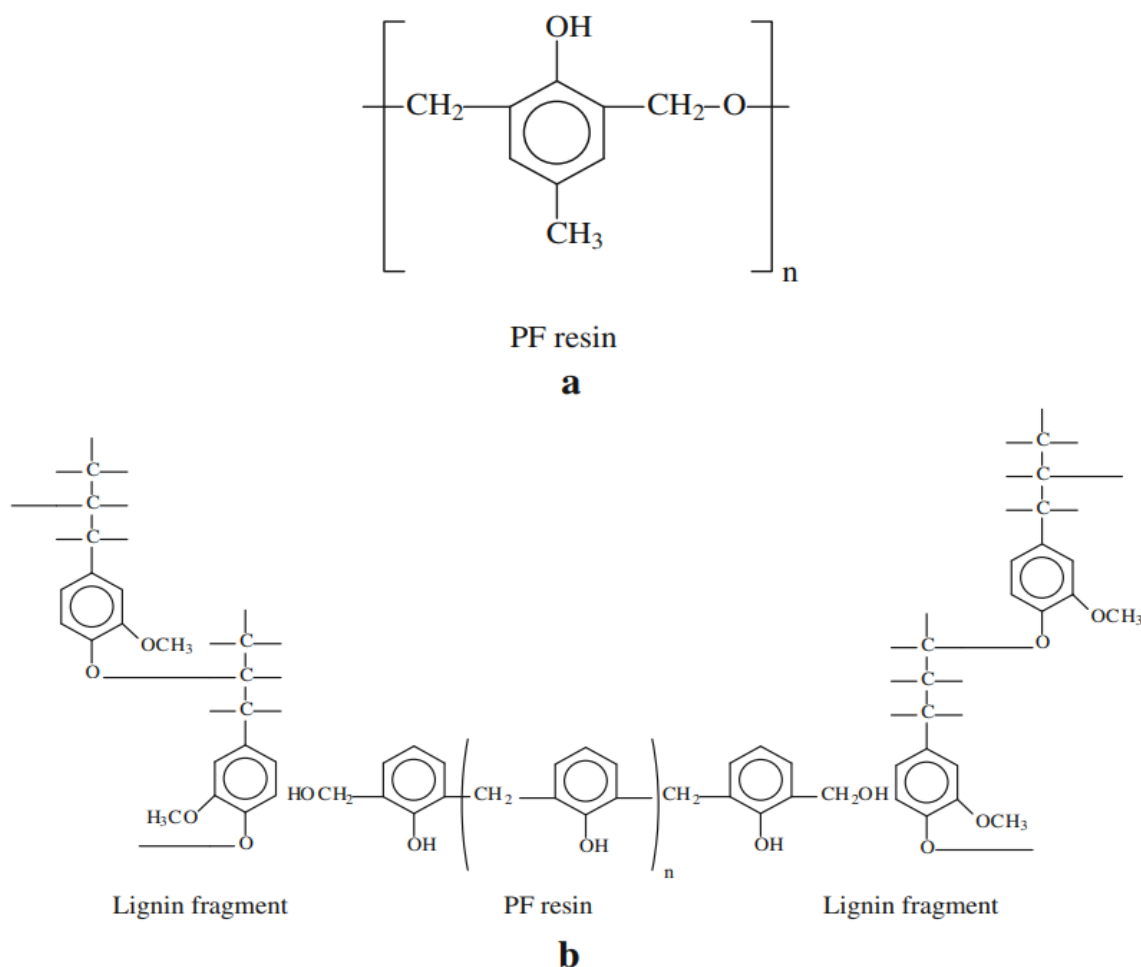
## **8. UPORABA PRODUKTOV DEPOLIMERIZACIJE IN NADALJNJA RAZISKAVA**

### **8.1 LIGNIN IN FENOLFORMALDEHIDNE SMOLE**

Ena od najbolj razširjenih končnih uporab lignina je nadomestitev fenola v fenolformaldehydih smolah oz. masah (PF). PF smole so produkti kondenzacije naftnega fenola s formaldehidom. Zaradi širokega spektra uporabe in vsestranskih lastnosti veljajo za najpomembnejše polimere v industriji smol. Njihove prednosti so zaviranje gorenja, prožnost, nizka cena, visoka toplotna stabilnost in odpornost proti vodi. Uporabljajo se na primer v letalski, avtomobilski in računalniški industriji.

Obstajajo tehtni razlogi za zamenjavo fenola v PF smolah (Slika 14). Prvič, ne trajnostno naravnana uporaba nafte za proizvodnjo fenola povzroča okoljske težave. Poleg tega sta razpoložljivost in cena fenola močno odvisni od cen nafte, medtem ko so komercialni postopki delignifikacije ekonomsko bolj stabilni. Zadnji razlog pa je povezan z zdravjem in varnostjo, saj sta tako fenol kot formaldehid strupena za razmnoževanje, mutagena in rakotvorna.

Mehanske lastnosti PF smol na osnovi kraft lignina so slabše od mehanskih lastnosti standardnih PF smol. To je posledica dejstva, da je lignin v primerjavi s fenolom manj sposoben tvoriti vezi s formaldehidom. Lignin omejujejo velika molekulska masa, kompleksna zgradba in sterične ovire. Za izboljšanje reaktivnosti lignin pred vgradnjo v PF smole kemijsko modificiramo na več načinov s postopki, kot so metilacija, demetilacija, fenolacija in reduktivna depolimerizacija.<sup>23</sup> Pomembno je, da je izvedba depolimerizacije lignina v tej raziskavi reduktivna. Zato je zelo verjetno, da so nekateri produkti primerni kot nadomestki fenola za proizvodnjo PF smol.



Slika 14 Zgradba: **a**, fenolformaldehidne smole; **b**, fenolformaldehidne smole zamrežene z ligninom.<sup>24</sup>

## 8.2 2-METOKSI-4-PROPILFENOL

Spojina z oznako 5 ali 2-metoksi-4-propilfenol (Slika 15 na naslednji strani) je monomer, ki je v največji meri prisoten kot produkt po depolimerizaciji lignina. Ker je te spojine veliko, smo se posvetovali z zunanjim strokovnjakom na tem področju (družba Fenolit d.d.), ki je ovrednotil potencial te spojine.

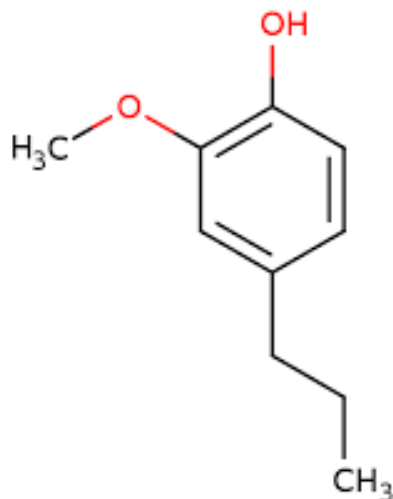
2-metoksi-4-propilfenol ima prosto orto pozicijo, medtem ko dve meta poziciji nista aktivni. Stranska propilna veriga kot sterična ovira za orto položaj upočasnjuje reakcijo. Ko je metoksi skupina ustrezno aktivirana, je orto položaj primeren za polimerizacijo. Ta spojina je v primeru PF smol primerna alternativa fenolu, saj so znane raziskave, kjer je bil tudi kemijsko manj čist lignin po depolimerizaciji ustrezen.<sup>25,26</sup>

## 8.3 NADALJNA RAZISKAVA

V prihodnjih raziskavah je potrebno raziskati širši nabor biomas, saj se vsebnost in kemijska zgradba lignina od rastline do rastline spreminjajo. Poleg tega bi lahko postopek depolimerizacije optimizirali za pridobivanje specifičnih spojin.

T. Maurer, E. Zdovc: Katalitska depolimerizacija lignina z Ni/C za pridobivanje bio-osnovanih kemikalij: vpliv strukture na porazdelitev produktov

Načrtujemo tudi sodelovanje z raziskovalci družbe Fenolit d.d. za laboratorijsko testiranje 2-metoksi-4-propilfenola, da bi ugotovili, v kolikšni meri lahko ta spojina nadomesti fenol v fenolformaldehidnih smolah oz. masah, ne da bi se lastnosti končnega izdelka bistveno spremenile.



*Slika 15 Skeletna formula najbolj prisotnega monomera po depolimerizaciji.<sup>27</sup>*

## 9. ZAKLJUČEK

Cilj naše raziskave je bil oceniti učinke frakcioniranja lignina na produkte depolimerizacije. Ugotovili smo, da je frakcioniranje pomemben postopek, saj vodi do bolj definiranih frakcij lignina. Za ekstrakcijo lignina smo z mešanico etanola in vode uporabili metodo organosolv. Lastnosti izoliranih frakcij lignina smo analizirali z 2D HSQC in  $^{31}\text{P}$  NMR, ki sta prikazali razlike v strukturi in porazdelitvi mase. Izolacijo lignina smo izvedli v majhnem in večjem laboratorijskem merilu in pri tem ugotovili, da ni bistvenih razlik v izkoristku izoliranega lignina med obema reaktorjema.

Izvedena je bila tudi reduktivna depolimerizacija s katalizatorjem Ni/C. Rezultati so pokazali, da je uporaba katalizatorja učinkovito preprečila nastajanje neželenih trdnih preostankov in povečala količino oligomernih fragmentov. Ugotovili smo, da strukturne lastnosti ligninskih frakcij vplivajo na strukturo končnih depolimeriziranih produktov. Poleg tega smo ugotovili, da zmanjšana molekulska masa ligninskih frakcij ne vpliva na količino monomerov.

Naša raziskava je pokazala, da je spojina 2-metoksi-4-propilfenol primeren delen nadomestek za fenol v PF smolah, saj ima prosto orto pozicijo, primerno za polimerizacijo. Poudariti je treba, da smo to spojino v naši raziskavi pridobili iz odpadkov žagarske industrije, medtem ko so komercialni postopki pridobivanja lignina za PF smole v industriji smol odvisni od kemikalij na naftni osnovi.

## **10. ZAHVALA**

Iskrena hvala Tini Ročnik Kozmelj in Alenki Mozer za dano priložnost za sodelovanje pri projektu, svetovanje in zanesljivo usmerjanje. Zahvalila bi se rada tudi dr. Editi Jasiukaityte Grojzdek s Kemijskega inštituta za vse znanje in ekspertizo. Zahvala gre še Roku Pogorevcu s Kemijskega inštituta, ki je pomagal pri eksperimentalnem delu za raziskavo. Na koncu pa bi se rada zahvalila še dr. Nadi Verdel s Fenolita za strokovno mnenje.



## 11. BIBLIOGRAFIJA

1. Vendamme, R. *et al.* Aldehyde-Assisted Lignocellulose Fractionation Provides Unique Lignin Oligomers for the Design of Tunable Polyurethane Bioresins. *Biomacromolecules* **21**, 4135–4148 (2020).
2. Abu-Omar, M. M. *et al.* Guidelines for performing lignin-first biorefining. *Energy and Environmental Science* vol. 14 262–292 Preprint at <https://doi.org/10.1039/d0ee02870c> (2021).
3. Schutyser, W. *et al.* Chemicals from lignin: An interplay of lignocellulose fractionation, depolymerisation, and upgrading. *Chemical Society Reviews* vol. 47 852–908 Preprint at <https://doi.org/10.1039/c7cs00566k> (2018).
4. Yao, H. *et al.* Review on Applications of Lignin in Pavement Engineering: A Recent Survey. *Frontiers in Materials* vol. 8 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fmats.2021.803524> (2022).
5. Lee, Y., Tran, M. H. & Lee, E. Y. Hydroxymethylation of technical lignins obtained from different pretreatments for preparation of high-performance rigid polyurethane foam. *European Journal of Wood and Wood Products* **80**, 1225–1234 (2022).
6. van de Pas, D. J. & Torr, K. M. Biobased Epoxy Resins from Deconstructed Native Softwood Lignin. *Biomacromolecules* **18**, 2640–2648 (2017).
7. Galkin, M. v. & Samec, J. S. M. Lignin Valorization through Catalytic Lignocellulose Fractionation: A Fundamental Platform for the Future Biorefinery. *ChemSusChem* vol. 9 1544–1558 Preprint at <https://doi.org/10.1002/cssc.201600237> (2016).
8. Lancefield, C. S., Panovic, I., Deuss, P. J., Barta, K. & Westwood, N. J. Pre-treatment of lignocellulosic feedstocks using biorenewable alcohols: Towards complete biomass valorisation. *Green Chemistry* **19**, 202–214 (2017).
9. T. Houston Durrant, D. de Rigo & G. Caudullo. *Fagus sylvatica* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. (2016).
10. Xu, J. *et al.* Biomass Fractionation and Lignin Fractionation towards Lignin Valorization. *ChemSusChem* vol. 13 4284–4295 Preprint at <https://doi.org/10.1002/cssc.202001491> (2020).
11. Gillet, S. *et al.* Lignin transformations for high value applications: Towards targeted modifications using green chemistry. *Green Chemistry* vol. 19 4200–4233 Preprint at <https://doi.org/10.1039/c7gc01479a> (2017).
12. Ročnik, T., Likozar, B., Jasiukaitytė-Grojzdek, E. & Grilc, M. Catalytic lignin valorisation by depolymerisation, hydrogenation, demethylation and hydrodeoxygenation: Mechanism, chemical reaction kinetics and transport phenomena. *Chemical Engineering Journal* vol. 448 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137309> (2022).
13. Xu, C., Arancon, R. A. D., Labidi, J. & Luque, R. Lignin depolymerisation strategies: Towards valuable chemicals and fuels. *Chemical Society Reviews* vol. 43 7485–7500 Preprint at <https://doi.org/10.1039/c4cs00235k> (2014).
14. Rinaldi, R. *et al.* Paving the Way for Lignin Valorisation: Recent Advances in Bioengineering, Biorefining and Catalysis. *Angewandte Chemie International Edition* **55**, 8164–8215 (2016).
15. Bartolomei, E. *et al.* Lignin Depolymerization: A Comparison of Methods to Analyze Monomers and Oligomers Lignin depolymerization: a comparison of methods to

- analyze monomers and oligomers Table of contents (only for review). doi:10.1002/cssc.202001126i.
16. Jasiukaitytė-Grojzdek, E., Huš, M., Grilc, M. & Likozar, B. Acid-catalysed  $\alpha$ -O-4 aryl-ether bond cleavage in methanol/(aqueous) ethanol: understanding depolymerisation of a lignin model compound during organosolv pretreatment. *Sci Rep* **10**, (2020).
  17. Jasiukaitytė-Grojzdek, E., Huš, M., Grilc, M. & Likozar, B. Acid-Catalyzed  $\alpha$ -O-4 Aryl-Ether Cleavage Mechanisms in (Aqueous)  $\gamma$ -Valerolactone: Catalytic Depolymerization Reactions of Lignin Model Compound during Organosolv Pretreatment. *ACS Sustain Chem Eng* **8**, 17475–17486 (2020).
  18. KEMIJSKI INŠTITUT. <https://www.ki.si/odseki/d13-odsek-za-katalizo-in-reakcijsko-inzenirstvo/oprema/reaktorski-sistemi-1/>.
  19. Sosa, F. H. B. *et al.* Conversion of Organosolv and Kraft lignins into value-added compounds assisted by an acidic deep eutectic solvent. *Sustain Energy Fuels* (2022) doi:10.1039/d2se00859a.
  20. Tran, F., Lancefield, C. S., Kamer, P. C. J., Lebl, T. & Westwood, N. J. *Selective modification of the  $\beta$ - $\beta$  linkage in DDQ-treated Kraft lignin analysed by 2D NMR spectroscopy. J. Name* vol. 00 (2013).
  21. Zijlstra, D. S. *et al.* Extraction of Lignin with High  $\beta$ -O-4 Content by Mild Ethanol Extraction and Its Effect on the Depolymerization Yield. *Journal of Visualized Experiments* (2019) doi:10.3791/58575.
  22. Meng, X. *et al.* Determination of hydroxyl groups in biorefinery resources via quantitative  $^{31}\text{P}$  NMR spectroscopy. *Nat Protoc* **14**, 2627–2647 (2019).
  23. Smit, A. & Huijgen, W. Effective fractionation of lignocellulose in herbaceous biomass and hardwood using a mild acetone organosolv process. *Green Chemistry* **19**, 5505–5514 (2017).
  24. Alonso, M. v., Oliet, M., Domínguez, J. C., Rojo, E. & Rodríguez, F. Thermal degradation of lignin–phenol–formaldehyde and phenol–formaldehyde resol resins. *J Therm Anal Calorim* **105**, 349–356 (2011).
  25. Verdel, N. *et al.* Microbiotechnology-Based Solutions for Removal and Valorization of Waste in Pulp and Paper Industry. in *Biorefinery for Water and Wastewater Treatment* 445–479 (Springer International Publishing, 2023). doi:10.1007/978-3-031-20822-5\_21.
  26. Venkatesagowda, B. & Dekker, R. F. H. Enzymatic demethylation of Kraft lignin for lignin-based phenol-formaldehyde resin applications. *Biomass Convers Biorefin* **10**, 203–225 (2020).
  27. YMDB. <http://www.ymdb.ca/compounds/YMDB15989?fbclid=IwAR2nhZkUxgAAPjP7xwBJUA1kJeJTPaf76YRUC1Ryp3nZ9-ql60VD9JkX1aA>.
  28. Dr. Remy Buser, Dr. Florent Héroguel & Prof. Jeremy Luterbacher. Bloom. <https://www.bloombiorenewables.com/> (2022).
  29. Arjan T. Smit. UNRAVEL BBI. <http://unravel-bbi.eu/project/> (2022).
  30. Rue Jean Bart. CIMV. <http://www.cimv.fr/> (2021).
  31. Dr. Kerstin Thiele. Fraunhofer. <https://www.igb.fraunhofer.de/content/cbp/en/reference-projects/align.html> (2022).
  32. Mesfun, S., Matsakas, L., Rova, U. & Christakopoulos, P. Technoeconomic Assessment of Hybrid Organosolv–Steam Explosion Pretreatment of Woody Biomass. *Energies (Basel)* **12**, 4206 (2019).

T. Maurer, E. Zdovc: Katalitska depolimerizacija lignina z Ni/C za pridobivanje bio-osnovanih kemikalij: vpliv strukture na porazdelitev produktov

33. Kangas, H. *et al.* Lignofibre (LGF) process-a flexible biorefinery for lignocellulosics. *CELLULOSE CHEMISTRY AND TECHNOLOGY Cellulose Chem. Technol* vol. 48 (2014).
34. Markus Alholm. chempolis. <https://chempolis.com/company/>.
35. Shuai, L. *et al.* Formaldehyde stabilization facilitates lignin monomer production during biomass depolymerization. *Science (1979)* **354**, 329–333 (2016).
36. Snelders, J. *et al.* Biorefining of wheat straw using an acetic and formic acid based organosolv fractionation process. *Bioresour Technol* **156**, 275–282 (2014).
37. Laure, S., Leschinsky, M., Fröhling, M., Schultmann, F. & Unkelbach, G. *Assessment of an organosolv lignocellulose biorefinery concept based on a material flow analysis of a pilot plant.* *CELLULOSE CHEMISTRY AND TECHNOLOGY Cellulose Chem. Technol* vol. 48 (2014).
38. Rousu, P., Rousu, P. & Anttila, J. Sustainable pulp production from agricultural waste. *Resour Conserv Recycl* **35**, 85–103 (2002).

## 12. PRILOGE

### 12.1 PRILOGA 1

V Tabeli 4 je naveden seznam postopkov izolacije z organskim topilom na pilotni ali industrijski ravni v EU. Vključuje organsko topilo, katalizator in reakcijske pogoje, uporabljene s primeri končnih proizvodov na osnovi lignina.

*Tabela 4 Seznam postopkov organskega raztapljanja v EU, reakcijski pogoji in uporaba izoliranega lignina.*

Organosolv postopek in država	Organsko topilo	Katalizator	Reakcijski pogoji	Izdelki	Viri
Bloom (Švica)	1,4-dioksan, aldehid	HCl	60 min; 80 °C; 0,10 MPa	kozmetika in doma narejeni produkti, tekstili, bioplastika, aditivi, nutracevtiki, in biogoriva	<a href="http://bloombiorenewables.com">Products (bloombiorenewables.com)</a> <sup>28</sup>
Fabiola (Nizozemska)	aceton/ H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	60 min; 140 C; 0,85 MPa	na ligninu temelječi polioli za porietanske in poliizocianuratne pene, aditivi bitumnu	<a href="http://unravel-bbi.eu">The Project – UNRAVEL BBI (unravel-bbi.eu)</a> <sup>29</sup>
CIMV (Francija)	metanojska/ ertanojska kislina	/	60 min; 50–115 °C; 0,10 MPa	C5 sirupi, biolignin, celuloza	<a href="http://cimv.com">Home – CIMV – Biorefinery</a> <a href="http://cimv.com">CIMV – Biorefinery – the industrial company of plant matter</a> <sup>30</sup>
Fraunhofer (Nemčija)	Etanol/ H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	60 min; 180 °C; 1,8 MPa	fenolne smole za visokotlačne laminatne in naravni vanilin za prehrano	<a href="http://fraunhofer.de">ALIGN – Biobased Aromatics from LIGNin (fraunhofer.de)</a> <sup>31</sup>
RISE (Švedska)	Etanol/ H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	15 min; 200 °C; 3 MPa	etanol, organosolv lignin in hemicelulozni sirup	<a href="http://mdpi.com">Energies   Free Full-Text   Technoeconomic Assessment of Hybrid Organosolv–Steam Explosion Pretreatment of Woody Biomass (mdpi.com)</a> <sup>32</sup>
LignoFibre (Finska)	Ocetna kislina/ Ethanol	H <sub>3</sub> PO <sub>2</sub>	180-240 min; 130-150 °C; /	reaktivna in/ali dobro hidrolizabilna celulozna vlakna in lignin brez žvepla	<a href="http://cellulosechemtechnol.ro">Microsoft Word - p.765-771.doc (cellulosechemtechnol.ro)</a> <sup>33</sup>
Chempolis (Finska)	Mravljična kislina	/	/	transportna goriva, biokemikalije, embalaža, tekstil, in celuloza	<a href="http://chempolis.com">Technologies &amp; Solutions - Chempolis</a> <sup>34</sup>

### **12.1.1 Bloom**

Proces Bloom v pilotnem obsegu (500 L) v Švici pridobiva visokokakovosten in manj kondenziran lignin s skoraj teoretičnimi izkoristki. Glavne pomanjkljivosti postopka pa so strupena in vnetljiva topila (1,4-dioksan, aldehyd) in korozivna kislina (HCl). Sodelovali so pri različnih projektih, kot so IDEALFUEL, LIGFLOW, INNOSUISSE in VALORISE. Ligninski produkti se uporabljajo v kozmetiki kot potencialni antioksidanti, pri UV-filtrih, reciklabilni bioplastiki, aditivih za živila, nutracevtikih z močnimi antioksidativnimi in protimikrobnimi lastnostmi ter biogorivih z nizko vsebnostjo pepela.<sup>28,35</sup>

### **12.1.2 Fabiola**

Postopek Fabiola je razvil ECN, partner TNO, v okviru nizozemskega projekta UNRAVEL BBI. Cilj projekta UNRAVEL je povečati uporabo ostankov iz kmetijstva in žag za izdelke z dodano vrednostjo. Na pilotnem nivoju (460 L) postopek izvajajo v Fraunhoferjevem inštitutu CBP v Nemčiji. Pridobljeni lignin ima manj kondenzirano strukturo. Slabost postopka Fabiola je uporaba vnetljivega acetona. Lignin se uporablja za proizvodnjo poliolov za poliuretanske in poliizocianuratne pene ter dodatkov za bitumen in gradnikov sladkornih frakcij, kot sta jabolčna ali ksilonska kislina.<sup>23,29</sup>

### **12.1.3 CIMV**

Tehnologija CIMV, razvita v Franciji, ponuja visokokakovosten lignin, imenovan Biolignin™. Lignin ima linearno strukturo in nizko molekulsko maso. Biolignin™ se uporablja za na osnovi osnovane adhezive za iverne plošče, laminate in vezane plošče ter zelene plastike, kot so poliuretani, poliestri, fenolne smole in epoksidne smole. Poleg lignina je postopek CIMV namenjen tudi visokokakovostni celulozi in sirupom C5. Oba se lahko uporabljata za biogoriva (bioetanol), celuloza pa tudi za papir in embalažo za živila.<sup>30,36</sup>

### **12.1.4 Fraunhofer**

Fraunhoferjev postopek izolacije lignina je najbolj primerljiv s tehnologijo, uporabljeno v tej raziskavi. Lignin izolirajo v Nemčiji v pilotnem obsegu 400 L. Njihova glavna prednost je uporaba obnovljivega organskega topila – etanola, ki privede do najmanj kondenzirane strukture lignina. V okviru projekta ALIGN (Aromatics from LIGNin) je bil depolimeriziran lignin uporabljen za proizvodnjo fenolnih smol za visokotlačne laminate ter naravnega vanilina za živila in pijače.<sup>31,37</sup>

### **12.1.5 RISE**

Tehnologija RISE poudarja pomen visokokakovostnega lignina in hemiceluloze. Lignin se uporablja za biološka veziva in termoplastiko.<sup>32</sup>

### **12.1.6 LignoFibre**

Vlakna LignoFibre so razvili v tehnično-raziskovalnem centru VTT na Finskem. Kot novost v postopku je bila predstavljen H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> kot redukcijsko sredstvo. Glavni proizvodi so reaktivna

T. Maurer, E. Zdovc: Katalitska depolimerizacija lignina z Ni/C za pridobivanje bio-osnovanih kemikalij: vpliv strukture na porazdelitev produktov

in/ali dobro hidrolizabilna celulozna vlakna in lignin brez žvepla z velikim potencialom za pretvorbo v kemikalije z dodano vrednostjo.<sup>33</sup>

#### **12.1.7 CHEMPOLIS**

Družba CHEMPOLIS s sedežem na Finskem razvija svoje tehnologije formico®. Dve najpomembnejši sta Formicobio™ za proizvodnjo etanola iz kmetijskih ostankov in Formicofib™ za proizvodnjo vlaken za papir, karton in embalažo.<sup>34,38</sup>

#### **12.1.8 Biorafinerije v Sloveniji**

Biorafinerije in papirna industrija pa so prisotne tudi v Sloveniji. Papirnice so na primer VIPAP Videm Krško, papirnica Vevče in kartonarna Količevo. Poleg tega obstajajo raziskovalni inštituti in centri, kjer je lignocelulozna biomasa del raziskovalnih področij. Na primer Biotehniška fakulteta v Ljubljani, Gozdarski inštitut Slovenije, Inštitut za celulozo in papir ter Kemijski inštitut, kjer smo izvajali poskuse za to raziskavo. V Sloveniji se podjetje Fenolit iz Borovnice ukvarja s fenolnimi smolami na naftni osnovi. Naravni vir monomernih produktov te raziskave bi bil lahko potencialno pomemben tudi zanje.