



TEKNILLINEN TIEDEKUNTA

# LIGNIININ LIUKOISUUS JA FRAKTIOINTI

Salla Vuolteenaho

PROSESSITEKNIikka

Kandidaatin työ

Joulukuu 2020

# TIIVISTELMÄ

Ligniinin liukoisuus ja fraktiointi

Salla Vuolteenaho

Oulun yliopisto, Prosessitekniikan tutkinto-ohjelma

Kandidaatintyö 2020, 35 s.

Työn ohjaajat yliopistolla: Marja Mikola, Juha Ahola

Ligniini on yksi yleisimpiä luonnossa esiintyviä biopolymeerejä, jonka ominaisuudet vaikuttavat merkittävästi sitä sisältävän kasvin ominaisuuksiin. Ligniinin rakenne on hyvin monimutkainen ja siihen vaikuttaa sen alkuperän lisäksi mm. uuttotekniikka, jolla ligniini poistetaan kasvista. Yksi ligniinin ominaisuuksiin merkittävästi vaikuttavista tekijöistä on sen kokojakauma, johon voidaan vaikuttaa liuottamalla ligniiniä erilaisiin liuottimiin.

Työssä tutkittiin ligniinin liukoisuutta dimetyylisulfoksidia tai isopropanolia sisältävien vesiliuosten eri pitoisuuksiin ja samalla havainnoitiin, liukeneeko jokin tietty ligniinin partikkelikoko paremmin tietyn pitoisuuden liuottimeen. Tutkimus suoritettiin yksinkertaisella liuotuskokeella, jonka jälkeen sekä liuenneesta että liukenemattomasta fraktiosta suoritettiin kromatografinen tutkimus, jonka perusteella voitiin tehdä päätelmiä siitä, mitä liuotinta ja liuotinpitoisuutta olisi hyödyllistä käyttää, kun halutaan liuottaa tietyn kokoluokan ligniiniä. Työn tavoitteena oli löytää tapa liuottamaan ligniinistä halutut partikkelikoot, kun sitä pyritään muokkaamaan jatkojalostusta tai tulevia tutkimuksia varten.

Liukoisuuskokeen tuloksena huomattiin, että dimetyylisulfoksidi-vesi-seokseen liuetessaan ligniinin kokonaisliukoisuus kasvoi liuottimen pitoisuuden funktiona. Isopropanoli-vesi-seokseen ligniini liukeni parhaiten 50–60 % isopropanolipitoisuuden liuottimeen. Kromatografian tuottaman datan perusteella voitiin selvittää eri liuottimiin liuenneen ja liukenemattoman ligniinin polydispersiteetti-arvot. Tämän tiedon perusteella voitiin päätellä, että halutessa pienen polydispersiteetin ligniiniä, on kannattavinta käyttää liuotinta, jonka dimetyylisulfoksidipitoisuus on 40 % tai isopropanolipitoisuus on joko 40 % tai 70 %.

*Asiasanat: ligniini, ligniinin liukoisuus, ligniinin fraktiointi*

# SISÄLLYSLUETTELO

1 Johdanto .....	4
2 Kirjallisuuskatsaus .....	5
2.1 Ligniini yleisesti.....	5
2.2 Ligniinin rakenne .....	5
2.3 Ligniinin ominaisuudet ja sen tehtävä puussa.....	6
2.4 Ligniinin liukoisuus .....	7
2.5 Ligniinin kokojakauma ja sen määrittäminen .....	8
2.6 Ligniinin käyttömahdollisuudet .....	9
2.7 Ligniini tulevaisuudessa.....	10
3 Tutkimuksen suorittaminen.....	11
3.1 Ligniinin liukoisuuden määrittäminen .....	11
3.2 Ligniinin kokojakauman määrittäminen.....	11
4 Tulokset ja niiden tarkastelu .....	13
4.1 Liukoisuuskoe, DMSO.....	13
4.2 Liukoisuuskoe, isopropanoli .....	13
4.3 Tunnusluvut.....	14
4.4 Kokojakauman vaikutus liukoisuuteen .....	16
4.4.1 DMSO.....	18
4.4.2 Isopropanoli .....	22
5 Johtopäätökset ja suositukset .....	28
5.1 DMSO liuottimena .....	28
5.2 Isopropanoli liuottimena .....	28
6 Yhteenveto .....	30
Lähdeluettelo.....	31

# 1 JOHDANTO

Tämän kandidaatintyön aihe on ligniinin liukoisuus ja fraktiointi. Aihe on valittu tukemaan jatkotutkimuksia Oulun yliopistossa, jotka tähtäävät ligniinin parempaan hyödyntämiseen tulevaisuudessa. Työn tarkoituksena on tarkastella ligniinin liukoisuutta kahteen eri liuottimeen, joista ensimmäinen sisältää dimetyylisulfoksidia ja toinen isopropanolia. Työssä määritetään optimi dimetyylisulfoksidin ja isopropanolin pitoisuudelle liuottimeissa, niin että mahdollisimman suuri määrä ligniiniä liukenee ja samalla saavutetaan liuennelle ligniinille selkeä kokojakauman luokka. Samalla tutkitaan myös ligniinin kokojakauman mahdollista vaikutusta sen liukoisuuteen. Oletuksena on, että orgaanisen liuottimen pitoisuuden kasvattaminen vesiliuoksessa vaikuttaa ligniinin liukoisuuteen merkittävästi vain tiettyyn pisteeseen asti, jonka jälkeen ei ole enää kannattavaa kasvattaa aineen pitoisuutta liuottimeissa. Työn kirjallisuuskatsauksessa perehdytään tarkemmin ligniinin rakenteeseen, ominaisuuksiin ja mahdollisiin tulevaisuuden käyttötarkoituksiin. Lisäksi työssä tarkastellaan yleisesti liukoisuutta ilmiönä ja kokojakauman määrittämistä nestekromatografisilla menetelmillä.

Työ on suoritettu syksyllä 2020 Oulun yliopistossa.

## 2 KIRJALLISUUSKATSAUS

### 2.1 Ligniini yleisesti

Ligniini on biopolymeeri, joka on puun yksi tärkeimpiä ainesosia selluloosan ja hemiselluloosan kanssa. Tämän lisäksi ligniiniä esiintyy kaikissa putkilokasveissa. (Ek et al. 2009, s.72, 121–124) Ligniiniä esiintyy luonnossa kolme eri päätyyppiä, jotka ovat havupuuligniini, lehtipuuligniini ja ruoholigniini. Eri ligniinityypit eroavat ominaisuuksiltaan suuresti toisistaan. (Gullichsen et al. 2000, s.39) Havupuuligniiniä esiintyy lähinnä paljassiemenisissä havupuissa ja niiden lisäksi joissain yksinkertaisissa paljassiemenisissä kasveissa. Lehtipuuligniiniä taas esiintyy lähinnä kaksisirkkaisissa koppisiemenisissä puissa ja myös joissain paljassiemenisissä kasveissa. Ruoholigniiniä esiintyy ruohossa ja muiden tyyppien yksisirkkaisissa koppisiemenisissä kasveissa. (Ek et al. 2009, s.123) Tämän lisäksi paljon erilaisia teknisiä ligniinejä muodostuu selluteollisuuden sivutuotteina. (Gullichsen et al. 2000, s.39) Teollisuudessa syntyvää ligniiniä pidetään sivutuotteena ja sille etsitään jatkuvasti uusia käyttötarkoituksia. (Ek et al. 2009, s.124)

### 2.2 Ligniinin rakenne

Ligniinipolymeeri koostuu kolmesta eri perusmonomeeristä, jotka ovat p-kumaryylialkoholi, koniferyylialkoholi ja sinapyylialkoholi. Ne kaikki ovat propyylifenolijohdannaisia, ja eroavat toisistaan monolignolipitoisuuden perusteella. Monomeerien suhde vaihtelee kasvityypeittäin ja se vaikuttaa merkittävästi kasvin ominaisuuksiin. Näiden monomeerien lisäksi on todettu olevan olemassa myös muita harvinaisemmin esiintyviä monomeerejä. (Ek et al. 2009, s.122–123)

Eri ligniinityypit sisältävät monomeerejä eri suhteilla, joka aiheuttaa eri ligniinityyppien toisistaan eroavat ominaisuudet. Havupuuligniini koostuu lähes yksinomaan koniferyylialkoholista, mutta saattaa sisältää myös pieniä määriä p-kumaryylialkoholia. Lehtipuuligniini sisältää koniferyylialkoholia ja sinapyylialkoholia samassa suhteessa ja mahdollisesti vain hieman p-kumaryylialkoholia. On myös mahdollista, että sinapyylialkoholia voi esiintyä joskus p-kumaryylialkoholia enemmän. Ruohon ligniini

taas sisältää kaikkia kolmea monomeeriä, niin että p-kumaryylialkoholia esiintyy huomattavasti suuremmassa suhteessa verrattaessa muihin ligniinityyppeihin. (Ek et al. 2009, s.123)

Ligniinin rakenne eroaa suuresti puun muista polymeereistä. (Gullichsen et al. 2000, s.39) Ligniinin rakenne on monimutkainen ja se koostuu monista eri funktionaalisista ryhmistä, joita ovat metoksyyli-, fenoli-, keto-, aldehydiryhmät ja alifaattiset hydroksyyli-ryhmät. (Gullichsen et al. 2000, s.45) Rakenneosat ovat sitoutuneet toisiinsa joko eetteri- tai hiili-hiili-sidoksilla, mutta ne eivät ole kuitenkaan yhdistyneet toisiinsa systemaattisessa järjestyksessä, vaan ligniinin kemiallinen rakenne on hyvinkin epäsäännöllinen. (Gullichsen et al. 2000, s.39–40) Tämä tekee rakenteesta verkkomaisen, kun monomeeri voi polymeroitua neljästä eri kohdasta sattumanvaraisesti. (Ek et al. 2009, s.121) Myös funktionaalisten ryhmien sisältö vaihtelee huomattavasti eri puulajien välillä sekä soluseinien sisällä, ja siksi ligniinin tiheydelle voidaankin määrittää vain likimääräinen arvo. Myös ligniinin moolimassaa ei ole voitu määrittää tarkasti, sillä ligniiniä on vaikea erottaa muusta puumassasta hajottamatta sitä. (Gullichsen et al. 2000, s.45)

### **2.3 Ligniinin ominaisuudet ja sen tehtävä puussa**

Ligniinin erityinen rakenne saa aikaan sen erityiset ominaisuudet ja se vaikuttaakin puun ominaisuuksiin merkittävästi. (Ek et al. 2009, s.124–125) Ligniini antaa soluseinälle suuren mekaanisen lujuuden, (Paterson, 2011, s.2), kun sen haarautunut ja verkkomainen rakenne antaa soluseinille jäykkyyttä ja toimii siinä kiinnityspolymeerinä yhdessä polysakkaridien kanssa muodostaen niihin kovalenttisia sidoksia. Ligniini myös sitoo puun rakenteita yhteen liimaamalla solut yhteen puukudoksissa, kun sen rakenteen aromaattiset renkaat sekä hydroksyyli-ryhmät muodostavat vetysidoksia ja ei-kovalenttisia dipolisia vuorovaikutuksia puun selluloosan ja hemiselluloosan kanssa. (Ek et al. 2009, s.124–125) Ligniinin tärkein tehtävä onkin vahvistaa puuta (Paterson, 2011, VII).

Ligniini parantaa puun vastustuskykyä mikrobien aiheuttamaa hajoamista vastaan (Paterson, 2011, s.2), kun se tiivistää puukerrosta niin, ettei mikrobien tuottamat proteiinit pääse siitä läpi. Ligniini tekee myös kasvin soluseinästä hydrofobisen, kun se estää veden jäämisen soluseiniin, niin että vesi voi kulkea kasvissa eteenpäin, jolloin ravinteet

kulkeutuvat sen mukana. Tämän takia ligniinin olemassaoloa voidaan pitää edellytyksenä putkilokasvien evoluutiolle. (Ek et al. 2009, s.124–125)

Ligniinin alkuperän lisäksi sen rakenteeseen ja siten myös sen fysikaalisiin ja kemiallisiin ominaisuuksiin vaikuttaa merkittävästi uuttotekniikka, jolla ligniini on poistettu puumassasta. Tämän takia ligniinin ominaisuudet saattavat vaihdella paljonkin myös samasta alkuperästä olevan ligniinin välillä. Ligniinit voidaan luokitella eri tyypeihin uuttotekniikan perusteella. Kraft-ligniinit ovat peräisin kraft-prosessista, lignosulfonaatit ovat sulfaattisellun valmistusprosessin tuotteita (Paterson, 2011, s.4) ja organosolv-ligniinit ovat uutettu orgaaniseen liuottimeen perustuvalla tekniikalla. (Paterson, 2011, s.381) Tässä työssä tutkittava ligniini on kraft-ligniiniä.

## 2.4 Ligniinin liukoisuus

Liukoisuus määritellään kiinteän aineen pitoisuutena kylläisessä liuoksessa. Ainetta liukenee liuottimeen siihen asti, kun liuos saavuttaa dynaamisen tasapainon liuotettavan aineen ja liuoksen ionien välille. Tällöin liuos on kylläinen ja siihen ei enää liukene enempää kyseistä ainetta. Liukoisuus riippuu lämpötilasta, liuottimesta ja liuotettavasta aineesta, jonka takia myös ligniini liukenee eri tavalla eri liuottimiin. (Rautio et al. 2013, s.45) Tässä työssä liuottimina käytetään dimetyylisulfoksidia ja isopropanolia, joiden kanssa ligniinin liukoisuus vaihtelee paljon.

Ligniinin rakenne vaikuttaa merkittävästi myös sen liukoisuuteen ja siksi on tärkeä huomioida, että tässä työssä tutkitaan kraft-ligniinin liukoisuutta, sillä esimerkiksi lignosulfonaatit ovat vesiliukoisia, kun taas kraft-ligniinit ovat vesiliukoisia vain hyvin emäksisillä pH-arvoilla. (Gigli & Crestini, 2020)

Ligniiniä liuotettaessa sen komponenteilla on usein taipumus muodostaa klustereita yhdessä muiden komponenttien kanssa. Nämä ovat ei-kovalenttisia vuorovaikutuksia aromaattisten renkaiden ja vetysidosten välillä. Työssä liuottimina käytetyt DMF ja DMSO saavat molemmat aikaan näiden klustereiden syntymistä, joka aiheuttaa virhettä kokojakaumamäärittämisessä. Tämän takia tässäkin työssä kokojakaumamittauksen yhteydessä DMF-liuottimen sekaan lisätään litiumbromidia, sillä litiumhalogenin uskotaan suojaavan yksittäisten molekyylien dipoleja tai estävän protonin siirtymistä ja

siten vähentävän sidosten muodostumista eri yksiköiden välille. (Lu, 2014, s.82) Täysin toimivaa klustereiden muodostumista estävää keinoa ei ole kuitenkaan pystytty löytämään, joka onkin suuri haaste ligniinin hyödyntämiseen laajemmin. (Gigli & Crestini, 2020)

## 2.5 Ligniinin kokojakauma ja sen määrittäminen

Ligniinin molekyyli­massa ja molekyyli­massajakaumat vaikuttavat merkittävästi sen reaktiivisuuteen sekä sen fysikaalisiin ja kemiallisiin ominaisuuksiin. (Lu, 2014, s.67) Tämän takia kokojakauman selvittäminen on hyödyllistä myös liukoisuuksia tutkittaessa. (Gigli & Crestini, 2020) Kokojakaumaa kuvataan keskimääräisen moolimassan ja polydispersiteetin avulla. Keskimääräisen moolimassan yksikkönä käytetään Daltonia (Da), joka on kuitenkin numeerisesti sama kuin g/mol. Polydispersiteetti kertoo moolimassan jakautumisesta annetussa ligniininäytteessä. (Gilbert et al. 2009) Ligniinin moolimassan määrittäminen on kuitenkin vaikeaa, sillä sen koostumus vaihtelee ja se liukenee vain osittain tavallisissa liuotinsysteemeissä. (Lu, 2014, s.67)

Ligniini voidaan muuntaa teollisesti käyttökelpoiseen molekyyli­massajakaumaan käyttämällä kemiallista johdannaista tai fraktioimalla. Fraktioinnilla pyritään erottamaan fysikaalisilta ja kemiallisilta ominaisuuksiltaan erilaiset ligniinikomponentit eri fraktioihin. Ligniini­partikkeleiden jakautumiseen eri fraktioihin vaikuttaa fraktioiden rakenteellisten ominaisuuksien lisäksi liuottimien polaarisuus ja vetysitoutumiskyky, joka tekee mekanismista monimutkaisen, eikä sitä ole pystytty selvittämään vielä täysin. (Gigli & Crestini, 2020) Tässä työssä tutkitaan ligniinin jakautumista eri fraktioihin geelipermeaatiokromatografian (GPC) avulla, joka on yksi nestekromatografisten menetelmien alalaji.

Nestekromatografia on fysikaalinen erotusmenetelmä, (Riekkola & Hyötyläinen, 2000, s.7), jonka avulla saadaan selvitettyä sekä ligniinin massakeskimääräinen molekyyli­paine että lukukeskimääräinen molekyyli­paine yhdessä analyysivaiheessa. (Lu, 2014, s.80) GPC on kuitenkin ainoa käytettävissä oleva tekniikka polymeerien molekyyli­painojakauman selvittämiseksi. (Agilent Technologies, 2015) Erotuksessa tutkittavan aineen komponentit jakaantuvat kahden erilaisen faasin välille, jotka ovat liikkuva ja stationaarifaasi. Liikkuvana faasina, eli eluettina toimii neste, johon näyte



syötetään, jonka jälkeen se kulkee useimmiten kiinteän stationaarifaasin läpi. Nestekromatografiassa erottuminen perustuu analyttien erilaisiin kemiallisiin ja fysikaalisiin ominaisuuksiin, kun ne ovat erotuksen aikana eri tavoin aktiivisessa vuorovaikutuksessa stationaarifaasin ja eluentin kanssa. (Riekkola, Hyötyläinen, 2000, s.7) Suurikokoiset näytemolekyylit eluotuvat pienempiä molekyylejä aikaisemmin, kun pienet molekyylit diffundoituvat huokosiin enemmän. (Lu, 2014, s.80) GPC:ssa arvioidaan lähinnä polymeerien ketjupituutta ja joitain muita ominaisuuksia. (Agilent Technologies, 2015) Lopuksi detektori havaitsee kolonnissa erottuneet komponentit (Lehtonen & Sihvonen, 2004, s.148) ja määrittelee retentioajan perusteella massapainotetut ja moolimääräpainotetut moolimassat. (Lu, 2014, s.80) Tässä työssä detektorina käytetään UV-detektoria, joka on yleisimmin nestekromatografiassa käytetty detektori. Sen sovellusalue on laaja ja menetelmänä se on suhteellisen herkkä. (Lehtonen & Sihvonen, 2004, s.148) Ligniinin jatkojalostuksen kannalta usein pieni polydispersiteetin arvo on hyödyllinen, jonka takia fraktioinnissa pyritään usein tunnistamaan ne fraktiot, jossa polydispersiteetin arvo on tiettyä kokoluokkaa. (Gigli & Crestini, 2020) Detektorin antamien tietojen perusteella voidaan selvittää polydispersiteetti seuraavasti: (Lu, 2014, s.80)

$$PDI = \frac{M_w}{M_n} \quad (1)$$

missä  $M_w$  on massapainotettu moolimassa [Da],  
 $M_n$  on moolimääräpainotettu moolimassa [Da],  
 PDI on polydispersiteetti

## 2.6 Ligniinin käyttömahdollisuudet

Paperin valkaisu ja kemiallinen sellunkäsittely perustuvat pääasiassa ligniinin kemiallisiin reaktioihin ja siksi sen rakennetta tutkitaan jatkuvasti. (Ek et al. 2009, s.122)

Ligniinin rakenteen monimutkaisuus vaikeuttaa löytämään sille hyödyllisiä käyttötarkoituksia. (Xu et al. 2020) Tämän takia suuri määrä sellutuotepaperiteollisuuden

puunjalostuksen ligniinistä käsitellään teollisuudessa jätteenä ja poltetaan tuottamaan energiaa tai kemikaalien talteen ottamiseksi. Tällä on negatiivisia ympäristövaikutuksia. (Paterson, 2011, s.1) Kemiallisessa prosessissa vapautuvalla ligniinillä on tutkittu hyvin vähän ja sen käyttökohteita pyritään etsimään. Ligniinin tutkimuksessa on vielä paljon kysymyksiä. (Ek et al. 2009, s.122–124)

## **2.7 Ligniini tulevaisuudessa**

Ligniinistä tuotetaan tällä hetkellä hyödykkeitä varsin vähän ja siitä valmistettavat tuotteet ovat joko erittäin vähäarvoisia tai tarve niihin on pieni. Uusien, tuottavampien ligniinipohjaisten tuotteiden tutkimus ei ole tuottanut tulosta, koska ligniinin heterogeenisyys, haju ja väriongelmat vaikeuttavat toimivien ratkaisujen löytämistä. (Paterson, 2011, VII) Myös ligniinierien ominaisuuksien vaihtelu on suuri ongelma ja tavoitteena onkin löytää toimiva ja yksinkertainen tapa onnistua muokkaamaan heterogeeniset erät homogeeniseksi, jotta niitä olisi mahdollista prosessoida hyödykkeiksi tehokkaammin tulevaisuudessa. (Gigli & Crestini, 2020)

Kuitenkin jo nykyisen teknisen tietämyksen ja tunnettujen teknisten ominaisuuksien perusteella ligniiniä voitaisiin käyttää tehokkaasti fossiilisten resurssien korvaamiseen. (Paterson, 2011, s.73) Lisäksi ligniinissä nähdään potentiaalia korvaamaan tulevaisuudessa perinteiset kestopuovut ja kertamuovut ja myös sen käyttöä hiilikuitujen esiasteena on tutkittu. (Gigli & Crestini, 2020)

### 3 TUTKIMUKSEN SUORITTAMINEN

Tutkimuksessa tutkittiin Indulin AT kraft-ligniinin liukoisuutta kahden eri liuottimen eri vahvuisiin liuksiin ja ligniinin kokojakaamaa liuenneessa sekä liukenemattomassa fraktiossa. Liuottimina käytettiin Sigma-Aldrich:n toimittamaa dimetyylisulfoksidia (DMSO) ja VWR-chemicals:n toimittamaa isopropanolia.

#### 3.1 Ligniinin liukoisuuden määrittäminen

Tutkimuksessa punnittiin 1,5 g kiinteää ligniiniä eri liuottimien joukkoon. Puolet liuottimista olivat DMSO-vesi-seoksia ja toinen osa isopropanoli-vesi-seoksia. Kumpaakin liuotinsarjaa valmistettiin 11 eri vahvuudella, joista kummankin sarjan laimein liuos sisälsi pelkästään vettä. Muiden liuosten liuotinpitoisuus kasvatettiin 10 %-yksikön välein, niin että sarjojen vahvimmat liuokset sisälsivät joko ainoastaan DMSO:ta tai isopropanolia, niin että jokaisen liuoksen kokonaistilavuus oli 10 ml.

Ligniinin annettiin liueta liuottimeen noin 20 °C huoneenlämmössä vuorokauden ajan koko ajan sekoittaen. Tämän jälkeen liukenematon ligniini imusuodatettiin liuottimen joukosta suodatinpaperille ja liuenneen ligniinin sisältävät liuottimet otettiin talteen tutkimuksen seuraavaa vaihetta varten. Suodatinpaperit siirrettiin uuniin, jossa niiden annettiin kuivua 105 °C lämpötilassa vuorokauden ajan, niin että kosteus poistui näytteestä. Tämän jälkeen ligniinin kuivapaino voitiin punnita ja määrittää liuottimeen liuenneen ligniinin määrä vähentämällä tämä massa aiemmin punnitun ligniinin massasta. Liuenneen ligniinin määrän muutosta tarkasteltiin liuottimen liuotinpitoisuuden funktiona.

#### 3.2 Ligniinin kokojakauman määrittäminen

Tutkimuksen toisessa vaiheessa tutkittiin ligniinin kokojakaamaa liuenneessa ja liukenemattomassa osuudessa. Tavoitteena oli löytää yhteyksiä ligniinin kokojakauman ja liukoisuuden välille ja selvittää, liukeneeko jokin tietty ligniinin molekyylikoko paremmin tietyn vahvuisen liuottimeen. Näytteiden kokojakauma määritettiin sekä liuottimeen liuenneelle että siihen liukenemattomalle ligniinille GPC:n avulla.

Työssä käytetty GPC oli Agilent Technologies 1260 Infinity- sarjan kromatografi ja eluettina käytettiin VWR-chemicals:n valmistamaa dimetyyliformamidia (DMF), johon oli liuotettu 0,05 m-% litiumbromidia. Laitteen ajovirtausnopeutena käytettiin 0,5 ml/min ja kolonneina käytettiin kahta eri Phenomenexin valmistamaa, Phenogel 5  $\mu\text{m}$  kolonnia, joista toinen oli 50 Å ja toinen 10<sup>3</sup> Å. Uunin lämpötilana käytettiin 35 °C astetta ja lopuksi detektointi suoritettiin UV-detektorilla aallonpituudella 280 nm.

Liunneen ligniinin kokojakauma määritettiin suoraan laimentamattomasta näytteestä ruiskusuodatuksen jälkeen. Liukenematon ligniini käsiteltiin liuottamalla se samaan eluettina käytettävään dimetyyliformamidiin, suhteessa 0,01 g ligniiniä 10 ml liuotinta kohti, eli konsentraatiolla 1 g/l. Kiintoaine, joka jäi liuotettaessa 80 % isopropanoliin ei liuenut enää DMF-liuottimeen, joten kiintoaineen annettiin laskeutua näytepullon pohjalle ja kokojakaumamittausta varten tutkittava näyte otettiin varovasti näyteen pinnalta nestefaasista.

Ligniinin liukoisuus oli niin suuri DMSO-pitoisuudeltaan 30–100 % ja isopropanolipitoisuudeltaan 50–60 % liuottimiin, ettei sitä jäänyt tarpeeksi kromatografianalyysia varten.

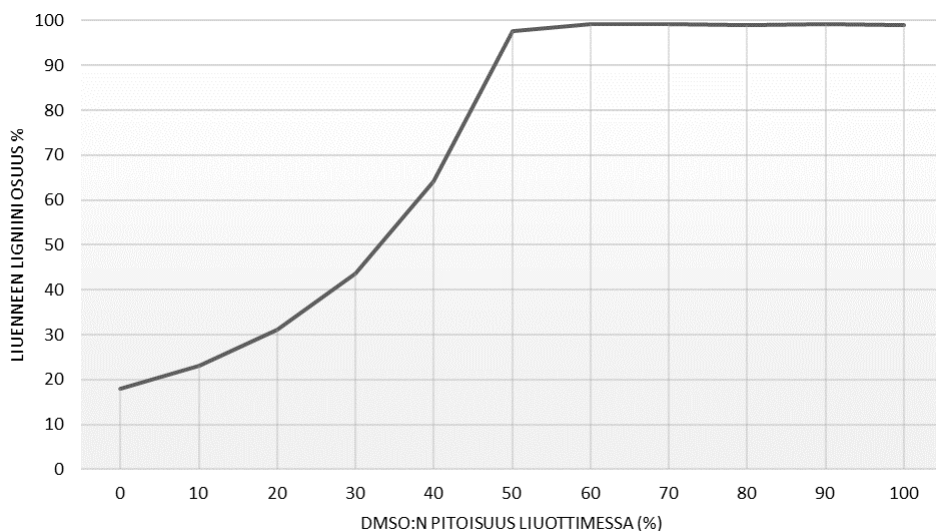
Näytteenkäsittelyn jälkeen näytteet ajettiin GPC:n läpi, ja detektorin tallentaman datan perusteella piirrettiin eri kokoisten ligniinipartikkelien esiintymistiheyttä tarkastelevat kuvaajat.

Kromatografian datan perusteella lasketaan myös massapainotetut moolimassat, moolimääräpainotetut moolimassat ja polydispersiteettiarvot eri vahvuisiin liuottimiin liukenemattomalle ligniinille sekä niihin liuenneelle ligniinille.

## 4 TULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

### 4.1 Liukoisuuskoe, DMSO

Tarkastellessa ligniinin liukoisuutta DMSO:ta sisältävään liuottimeen (kuva 1), voidaan todeta liukoisuuden kasvavan aluksi eksponentiaalisesti, kun liuottimen DMSO-pitoisuutta kasvatetaan. Liukoisuuden kasvu kuitenkin hidastuu huomattavasti, kun liuottimen kokonaismäärästä puolet on DMSO:ta ja puolet vettä. Tämän jälkeen liukoisuus kasvaa vain hieman, kun DMSO-pitoisuutta kasvatetaan 60 % asti, mutta sen jälkeen liuottimen DMSO-pitoisuuden kasvattaminen ei enää vaikuta ligniinin liukoisuuteen merkittävästi, kun lähes 100 % liukoisuus saavutetaan jo 60 % ja sitä korkeammissa pitoisuuksissa.

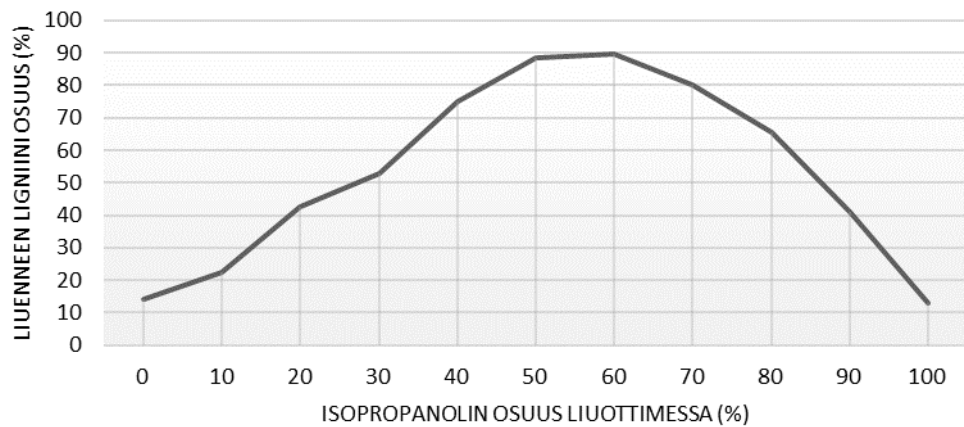


Kuva 1. Liuennetyn ligniinin osuus liuottimen DMSO-pitoisuuden funktiona

### 4.2 Liukoisuuskoe, isopropanoli

Tarkastellessa ligniinin liukoisuutta isopropanolia sisältävään liuottimeen (kuva 2), voidaan todeta liukoisuuden kasvavan lähes lineaarisesti lukuun ottamatta pistettä, jossa isopropanolipitoisuus on 20 %. Tämä johtuu siitä, että tämän näytteen kuivatuksen yhteydessä kaikkea ligniiniä ei saatu talteen punnitusta varten. Liukoisuus kasvaa lineaarisesti, kunnes liuottimen isopropanolipitoisuus saavuttaa 50 % suhteen, ja pysyy

samana kasvatettaessa isopropanolin osuutta 60 % asti. Tämän jälkeen isopropanolin osuutta kasvatettaessa ligniinin liukoisuus kääntyy laskuun ja laskee yhtä heikolle liukoisuuden tasolle, kuin pelkkään veteen liuotettaessa. Kokonaisliukoisuus kuitenkin laskee aluksi hitaammin kuvaajan huipulla, kuin nousee sinne. Liukoisuuden maksimiarvo ligniinille on noin 90 % eli hyvin korkea. Kuitenkin DMSO-vesi-seoksen avulla saavutetaan jopa 100 % liukoisuus ligniinille.



Kuva 2. Liuenneen ligniinin osuus liuottimen isopropanolipitoisuuden funktiona

### 4.3 Tunnusluvut

Taulukossa 1 ja 2 on esitetty kromatografian avulla määritetyt massapainotetut moolimassat, moolimääräpainotetut moolimassat ja polydispersiteetti-arvot liuottimiin liuenneelle ja siihen liukenemattomalle ligniinille. Kokojakaumaa on tarkasteltu välillä 300 Da – 500 kDa, sillä tämän alueen ulkopuolella kolonnien erotuskyky ei ole riittävä. Fraktioimattoman ligniinin polydispersiteetin arvo on 2,75, massapainotettu moolimassa on 3255 Da ja moolimääräpainotettu moolimassa on 1185 Da. Tarkastellessa fraktioidun ligniinin polydispersiteetin arvoja ja verratessa niitä fraktioimattoman ligniinin tunnuslukuihin, voidaan tehdä päätelmiä siitä, minkä pitoisuuden liuotimessa saavutetaan haluttu polydispersiteetin arvo.

Tarkasteltaessa DMSO-vesi-seokseen liuenneen ja siihen liukenemattoman ligniinin ominaisuuksia kuvaavia arvoja (taulukko 1), voidaan nähdä, että liuenneen ligniinin sekä massapainotettu moolimassa ja moolimääräpainotettu moolimassa kasvavat DMSO-

pitoisuuden kasvaessa liuottimessa. Poikkeuksena vesi, joka käyttäytyy liuottimena hyvin eri tavalla. Polydispersiteetin minimiarvo 1,8 saavutetaan, kun liuottimen DMSO-pitoisuus on 20–30 %. Polydispersiteetin arvo pysyy pienenä, kun DMSO-pitoisuus on 10–40 %, mutta sen ulkopuolella se kasvaa huomattavasti. Liukenemattoman ligniinin kaikki polydispersiteetti-arvot ovat suuria.

Taulukko 1. Dimetyylisulfoksidiin liukenemattoman ja siihen liunneen ligniinin massapainotetut moolimassat, moolimääräpainotetut moolimassat ja polydispersiteetti-arvot

DMSO	LIUKENEMATON LIGNIINI			LIUENNUT LIGNIINI		
	Mw	Mn	PDI	Mw	Mn	PDI
0 %	3124	1000	3,12	3044	719	4,23
10 %	3444	1044	3,3	1473	617	2,39
20 %	3899	1097	3,55	1137	620	1,83
30 %	5094	1194	4,27	1205	659	1,83
40 %	-	-	-	1682	750	2,24
50 %	-	-	-	3294	934	3,53
60 %	-	-	-	3002	949	3,16
70 %	-	-	-	2873	952	3,02
80 %	-	-	-	2984	979	3,05
90 %	-	-	-	3344	1017	3,29
100 %	-	-	-	3873	1090	3,55

Tarkasteltaessa isopropanoli-vesi-seokseen liunneen ligniinin ominaisuuksia kuvaavia arvoja (taulukko 2), voidaan huomata, että liunneen ligniinin moolimääräpainotettu moolimassa saavuttaa minimiarvonsa todella pienellä ja todella suurella isopropanolipitoisuudella. Poikkeuksena kuitenkin tässäkin vesi, joka toimii liuottimena hyvin eri tavalla. Maksimiarvo moolimääräpainotetulle moolimassalle saavutetaan 60 % pitoisuudessa ja siitä poikkeavat arvot laskevat suhteellisen tasaisesti minimiarvoihin saakka. Massapainotettujen moolimassojen minimiarvo saavutetaan 90 % isopropanolipitoisuudessa. Pieniä arvoja saavutetaan myös pitoisuuksissa 10–30 % ja 70–80 %. Tämä vaihtelu aiheuttaa vaihtelua myös polydispersiteetin arvoihin eri pitoisuuksilla. Polydispersiteetin minimiarvo 1,54 saavutetaan 90 % isopropanolipitoisuudella. Seuraavaksi pienin arvo 1,75 saavutetaan 30 % isopropanolipitoisuudella. Sitä seuraavaksi pienemmät arvot saavutetaan 20 % ja 90 % pitoisuudella. Kaikista suurimmat arvot saavutetaan puhtaalla vedellä ja isopropanolilla.

Liukenemattoman ligniinin polydispersiteettien kaikki arvot ovat suuria tässäkin tapauksessa.

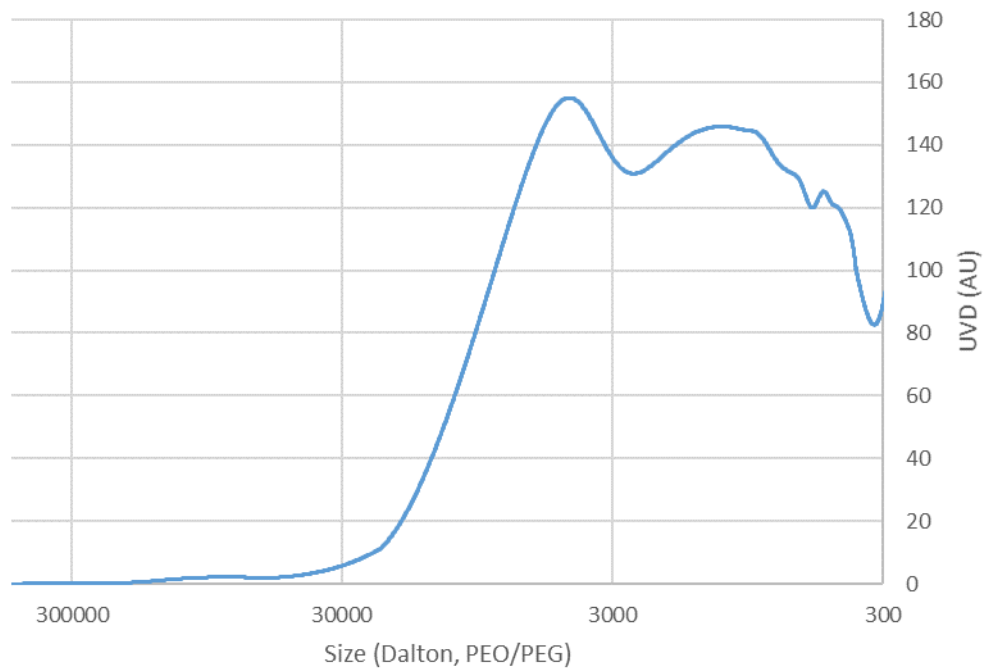
Taulukko 2. Isopropanoliin liukenemattoman ja siihen liunneen ligniinin massapainotetut moolimassat, moolimääräpainotetut moolimassat ja polydispersiteetti-arvot

ISOPROPANOLI	LIUKENEMATON LIGNIINI			LIUENNUT LIGNIINI		
	Mw	Mn	PDI	Mw	Mn	PDI
0 %	3124	1000	3,12	3044	719	4,23
10 %	3355	1034	3,25	1355	577	2,35
20 %	4016	1115	3,6	1121	606	1,85
30 %	6500	1352	4,81	1158	661	1,75
40 %	13635	1730	7,88	1645	763	2,16
50 %	-	-	-	2590	878	2,95
60 %	-	-	-	2634	915	2,88
70 %	17089	1864	9,17	1977	858	2,3
80 %	15595	1911	8,16	1442	773	1,87
90 %	5623	1365	4,12	964	625	1,54
100 %	3357	1017	3,3	2380	577	4,12

#### 4.4 Kokojakauman vaikutus liukoisuuteen

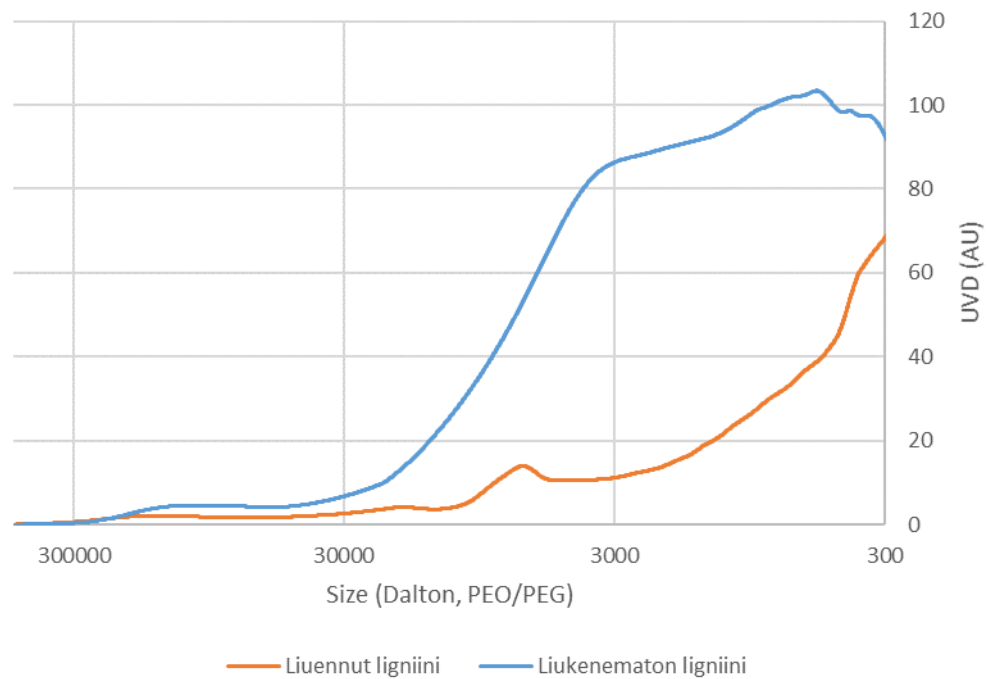
Puhtaan ligniininäytteen kokojakauman kuvaajasta nähdään (kuva 3), että se sisältää todella vähän suuria partikkeleja, paljon keskisuuria partikkeleja ja pieniä partikkeleja ja hieman vähemmän todella pieniä partikkeleja. Tietoa voidaan käyttää hyödyksi, kun verrataan puhtaan ligniinin kokojakaumaa (kuva 3) eri vahvuisiin liuoksiin liunneen ja liukenemattoman ligniinin kokojakaumien kuvaajiin (kuvat 4–12) ja pohtia kuvaajien oikeellisuutta ja klusteroitumisen mahdollisuutta kyseisissä tilanteissa.





Kuva 3. Puhtaan ligniinin kokojakauma

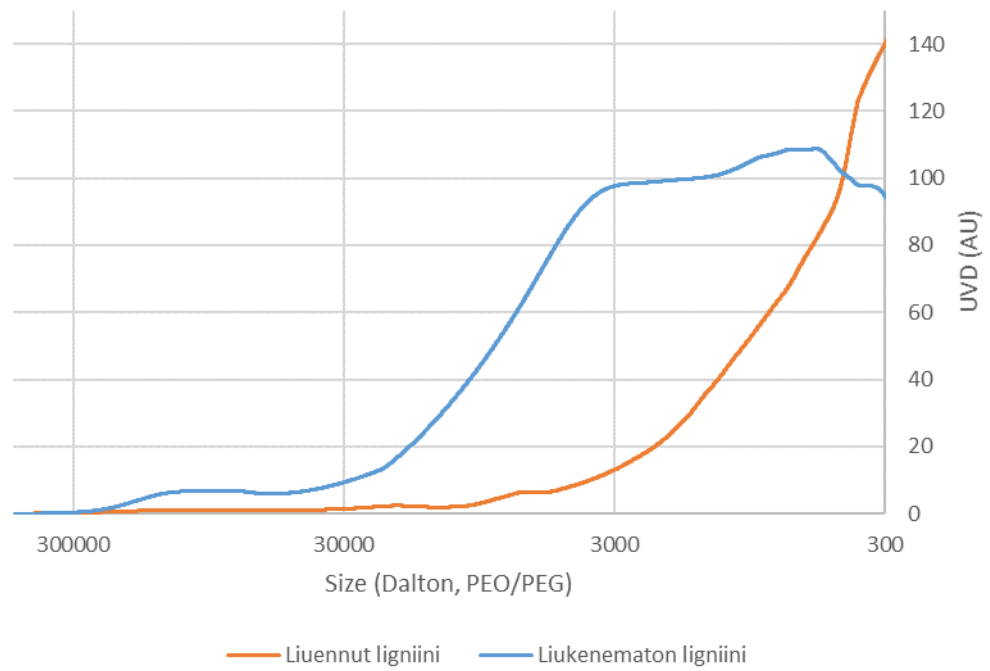
Tarkastellessa puhtaaseen veteen liunneen ligniinin kokojakauman kuvaajaa (kuva 4), voidaan huomata, että pelkkään veteen liukenee parhaiten pienet ligniinipartikkelit ja niiden lisäksi pieni määrä keskisuuria ja todella pieni määrä suuria partikkeleja. Liukenemattomassa fraktiossa esiintyy eniten pieniä ja keskisuuria partikkeleita, ja paljon vähemmän suuria partikkeleja. Voidaan kuitenkin nähdä, että tähän liukenemattomaan fraktioon jää kaiken kokoisia partikkeleja huomattavasti enemmän, kuin liuottimeen liukenee.



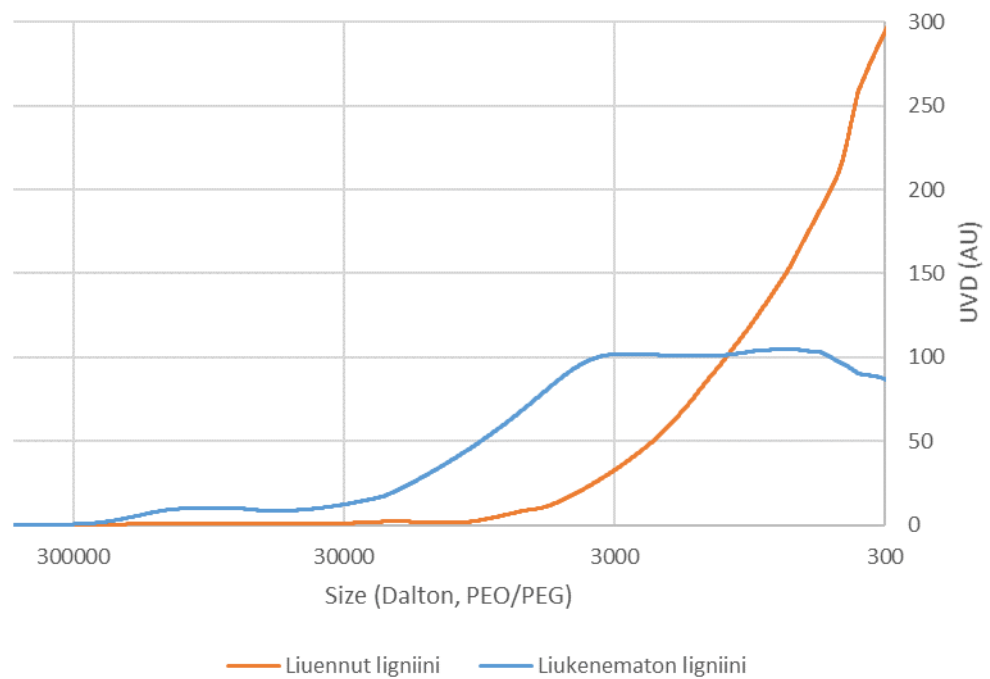
Kuva 4. Puhtaaseen veteen liunneen ja liukenemattomien ligniinifraktioiden kokojakaumat

#### 4.4.1 DMSO

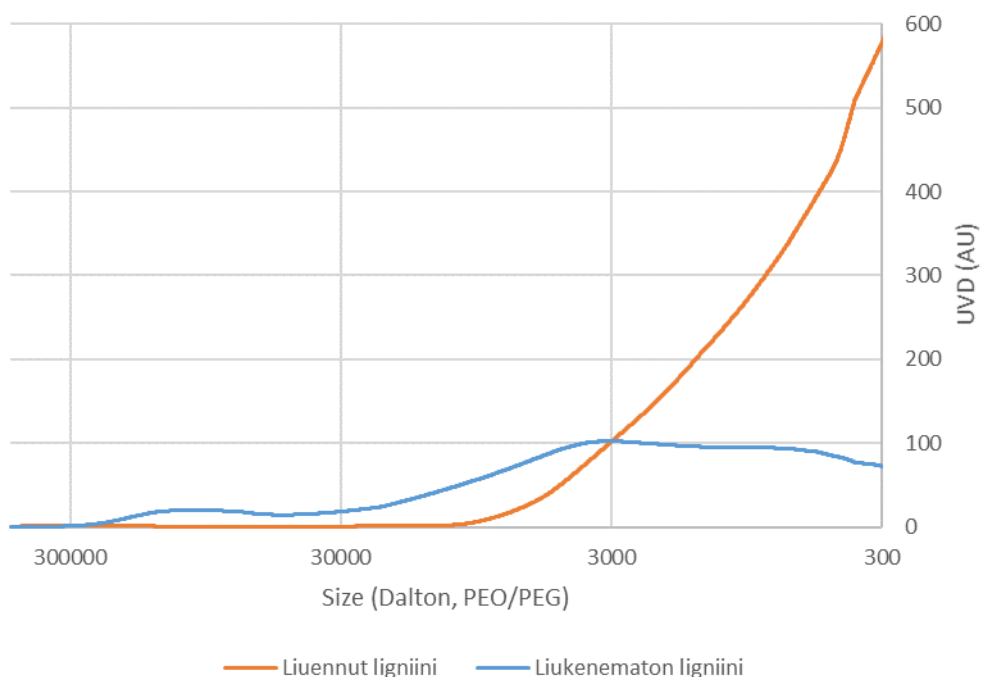
Seuraavaksi tarkastellaan DMSO-vesi-seokseen liunneen ja liukenemattoman ligniinin kokojakaumia samassa kuvaajassa ja verrataan niissä esiintyvien partikkelikokojen esiintyvyyttä toisiinsa (kuvat 5, 6 ja 7) Kuvaajat voidaan piirtää vain 40 % DMSO-pitoisuuteen asti, koska tämän suuremmissa DMSO-pitoisuuksissa ei jäänyt kiinteää ligniiniä tarpeeksi kokojakauman määrittämistä varten. Tarkastellaan myös liunneen ligniinin kokojakaumakuvaajia yhdessä kuvassa 8.



Kuva 5. 10 % DMSO-pitoisuuden liuottimeen liuenneen ja liukenemattomien ligniinifraktioiden kokojakaumat



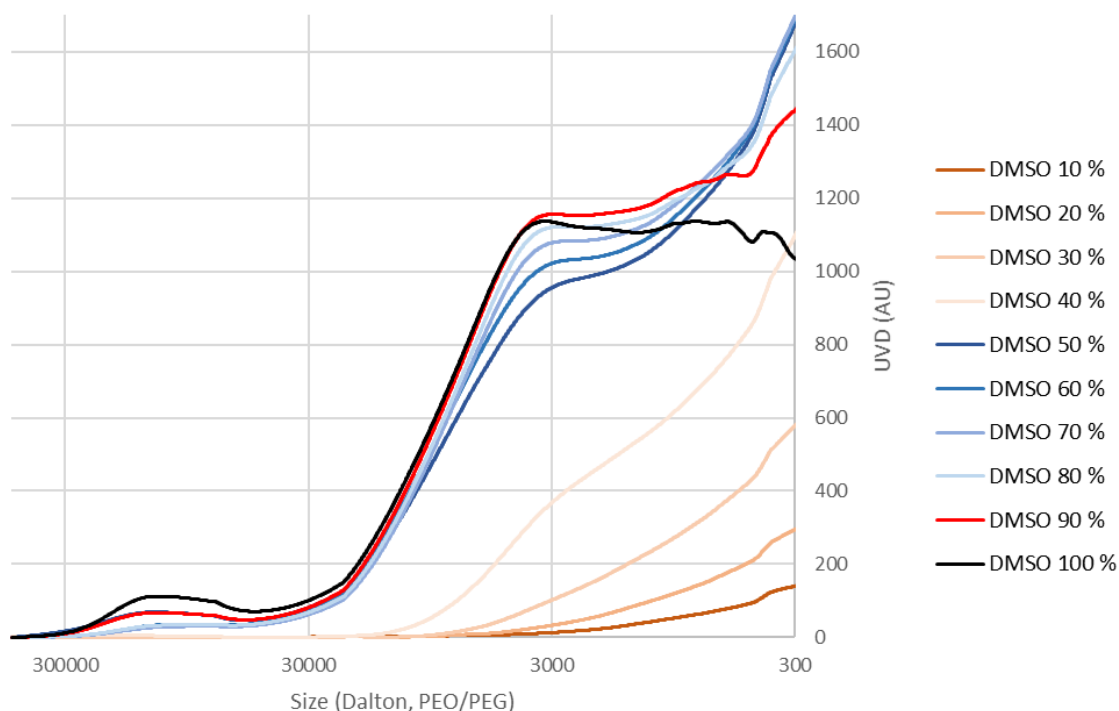
Kuva 6. 20 % DMSO-pitoisuuden liuottimeen liuenneen ja liukenemattomien ligniinifraktioiden kokojakaumat



Kuva 7. 30 % DMSO-pitoisuuden liuottimeen liuenneen ja liukenemattomien ligniinifraktioiden kokojakaumat

Kun liuottimen DMSO-pitoisuutta aletaan kasvattamaan, voidaan huomata muutoksia kokojakaumassa verrattaessa kuvaajia kuvaan 4. Kuvaa 5 katsoessa voidaan huomata, että jo 10 % DMSO-pitoisuus liuottimeessa saa aikaan pienien ligniinipartikkelien määrän merkittävän kasvun liuenneessa fraktiossa.

Tarkastellessa kuvia 5, 6 ja 7, voidaan huomata, että liuenneen ligniinin kokojakauma pysyy kaikissa kuvaajissa lähes samana, kun liuottimen DMSO-pitoisuus on 10–30 %. Vain keskikokoisten partikkelien osuus on hieman suurempi 30 % pitoisuudessa. Liukenemattoman ligniinin kokojakaumassa nähdään muutos kaikkien kuvaajien välillä, kun 10 % pitoisuudessa pienien ja keskisuurien partikkelien osuus on todella suuri verrattuna 20 % pitoisuuteen, jossa niiden osuus laskee merkittävästi ja jatkaa edelleen laskuaan, kun liuottimen DMSO-pitoisuutta nostetaan 30 %. Tästä voidaan päätellä, että sekä pienten että keskisuurten partikkelien liukoisuus kasvaa samalla, kun liuottimen DMSO-pitoisuutta kasvatetaan. Suurien partikkelien osuus pysyy samana kaikilla pitoisuuksilla 10–30 %.



Kuva 8. Eri DMSO-vesi-seoksiin liuenneen ligniinin kokojakaumakuvaajat

Kun katsotaan kuvaa 8, voidaan huomata että, kun liuottimen DMSO-pitoisuutta nostetaan 40 %, pienten ja keskisuurten partikkelien liukoisuus jatkaa kasvuaan. Kuitenkin kuvasta nähdään keskisuurten partikkelien liukoisuusosuuden kasvavan hieman enemmän suhteessa pienien partikkelien liukoisuuteen.

Kun saavutetaan 50 % DMSO-pitoisuus, keskisuurten partikkelien liukoisuus kasvaa voimakkaasti. Tämän jälkeen liuottimen DMSO-pitoisuutta kasvattaessa keskisuurten partikkelien liukoisuus jatkaa kasvuaan, mutta se hidastuu merkittävästi. Suurilla DMSO-pitoisuuksilla myös suurien partikkelien osuus liukoisessa fraktiossa alkaa kasvamaan samalla, kun pienien partikkelien osuus siinä laskee. Tämä suurien partikkelien määrän kasvu liukoisessa fraktiossa johtuu luultavasti suurilta osin DMSO:n aiheuttamasta klusteroitumisesta, kun pienet partikkelit muodostavat sidoksia toisiinsa. Tätä väitettä tukee myös se, kuinka vähän näin suuria partikkeleja esiintyy puhtaan ligniinin kokojakauman kuvaajassa (kuva 3).

Voidaan tehdä johtopäätös, että pieniä ligniinipartikkeleja liukenee hyvin jo laimeamman DMSO-pitoisuuden liuottimiin, kun keskisuuret partikkelit vaativat vähintään 50 % DMSO-pitoisuuden liuetakseen kunnolla.

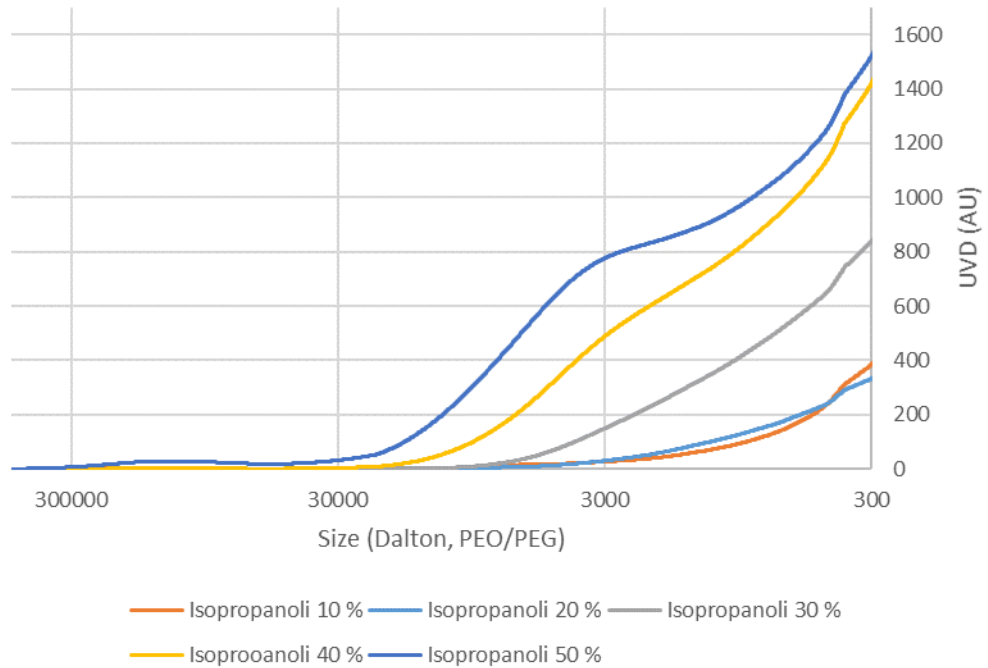
Eri kokoisten partikkelien liukoisuudella voidaan nähdä yhteys ligniinin kokonaisliukoisuuteen (kuva 1). Liuottimen DMSO-pitoisuutta kasvatettaessa 30 % asti, ligniinin kokonaisliukoisuuden voimakas kasvu selittyy pienten ja keskisuurten partikkelien liukoisuuden kasvulla. Tämän jälkeen DMSO-pitoisuutta kasvattaessa 50 % asti, kokonaisliukoisuuden kasvu selittyy edelleen pienten partikkelien, mutta hieman enemmän keskisuurten partikkelien liukoisuuden kasvulla. Tämän jälkeen kokonaisliukoisuuden hidas kasvu selittyy pelkästään keskisuurten partikkelien liukoisuuden kasvulla enemmän DMSO:ta sisältävässä liuottimessa.

Tarkastellessa DMSO-vesi-seokseen liunneen ligniinin kokojakaumakuvaajia, voidaan huomata yhteys ligniinin polydispersiteettiarvojen suuruuteen liunneessa fraktiossa (taulukko 1). Kaikista suurimmat polydispersiteettiarvot saavutetaan, kun liuotin koostuu pelkästä vedestä tai isopropanolista. Tämä kertoo siitä, että vaikka suurin osa liuottimeen liunneesta ligniinistä onkin pientä partikkelikokoja, liukenee siihen myös jotain suurempaa partikkelikokoja ja koska liukoisuusmäärä on todella pieni, niin suuri partikkelikoko vaikuttaa polydispersiteetin arvon suuruuteen merkittävästi. Kaikista pienimmät polydispersiteetin arvot saavutetaan pitoisuuksilla 20–30 % ja 80–90 %, joka selittyy sillä, että näillä pitoisuuksilla liuottimeen liukenee huomattava määrä pieniä partikkeleja. Myös 10 % ja 40 % pitoisuuden suhteellisen pieni polydispersiteetin arvo korreloi pienten partikkelien liukoisuuden kanssa suhteessa keskisuurten partikkelien liukoisuuteen.

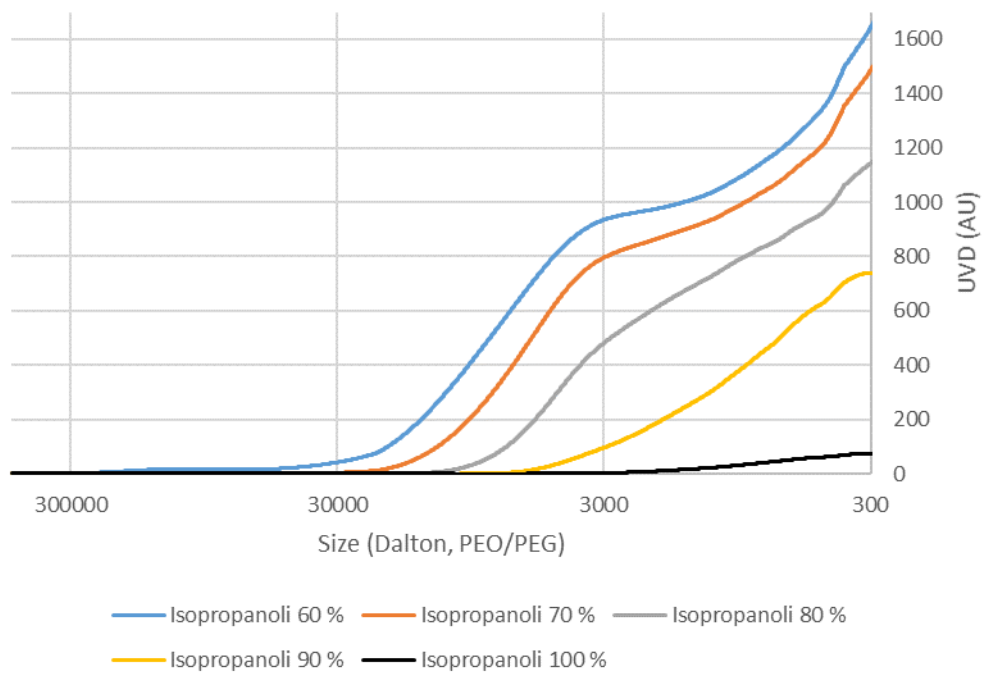
#### **4.4.2 Isopropanoli**

Seuraavaksi tarkastellaan eri vahvuisiin isopropanoli-vesi-seoksiin liunneen ligniinin kokojakaumakuvaajia samassa kuvaajassa ja verrataan niissä esiintyvien partikkelikokojen esiintyvyyttä toisiinsa (kuvat 9 ja 10). Tämän jälkeen tarkastellaan samassa kuvassa liukenemattomien fraktioiden kokojakaumakuvaajia samaan tapaan (kuvat 11–12) Kuvaajat voidaan piirtää kaikille isopropanolipitoisuuksille, lukuun

ottamatta 50–60 % isopropanolipitoisuuksien liukenematonta fraktiota, koska niissä pitoisuuksissa ei jäänyt kiinteää ligniiniä tarpeeksi kokojakauman määrittämistä varten.



Kuva 9. Liuottimeen liuenneen ligniinin kokojakauma, kun liuottimen isopropanolipitoisuus on 10–50 %



Kuva 10. Liuottimeen liuenneen ligniinin kokojakauma, kun liuottimen isopropanolipitoisuus on 60–100 %

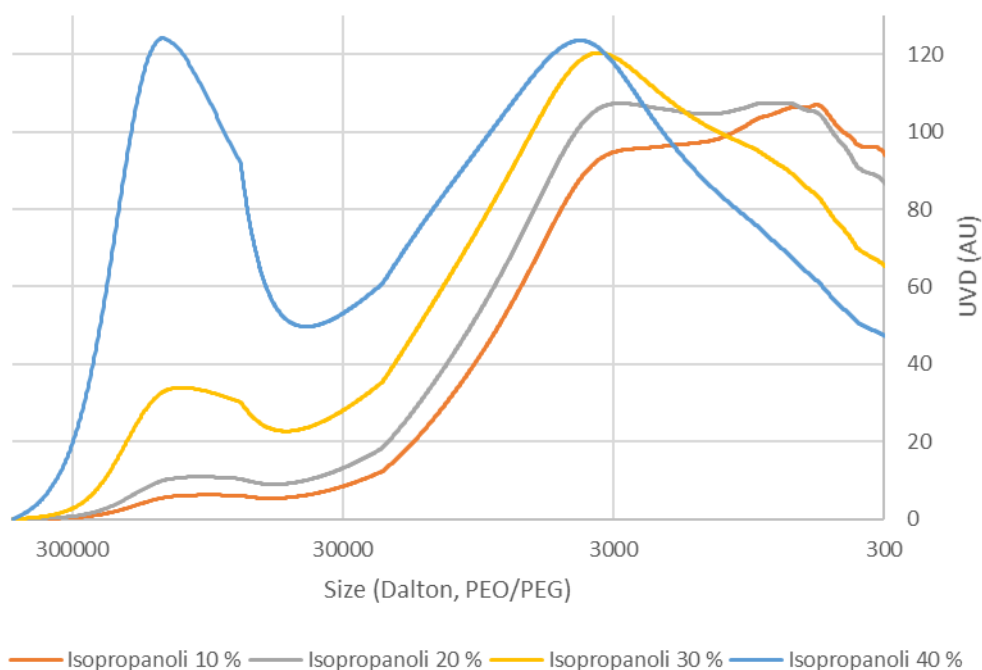
Liuotettaessa ligniiniä isopropanoliin, kokojakaumakuvaajat muistuttavat paljolti toisiaan myös toisista poikkeavilla isopropanolipitoisuuksilla, joka näkyy samanlaisessa kokojakaumakuvaajan muodossa. Tämän voi huomata esimerkiksi vertaamalla puhtaaseen veteen liuenneen ligniinin (kuva 4) ja puhtaaseen isopropanoliin liuenneen ligniinin kokojakaumakuvaajia toisiinsa, kun voidaan todeta, että ne muistuttavat kovasti toisiaan, kun vain todella pieni määrä kaikista pienimpiä partikkeleja voi liueta liuottimeen.

Tämän jälkeen isopropanolipitoisuutta nostettaessa 10–20 % alkavat pienet partikkelit liueta siihen paremmin. Isopropanolipitoisuuden ollessa 30 % ja 90 %, on sekä pienten, että keskisuurien ligniinipartikkelien liukoisuus kasvanut edellisiin pitoisuuksiin verrattaessa. 40 % ja 80 % pitoisuudessa pienien ligniinipartikkelien liukoisuus on vieläkin suurempi, mutta keskikokoisten ligniinipartikkelien osuus alkaa jo hieman kasvamaan liuenneessa fraktiossa. Kun isopropanolipitoisuus on 50–70 %, liukenevat pienet partikkelit edelleen hyvin, mutta samalla myös keskisuurten partikkelien liuennut määrä alkaa olla huomattavasti suurempi muihin pitoisuuksiin verrattuna. Todella suuria partikkeleja esiintyy liuenneessa fraktiossa vain 50–60 % isopropanolipitoisuudella.

Liuenneen ligniinin kokojakaumassa voidaan nähdä myös yhteys ligniinin kokonaisliukoisuuteen (kuva 2). Puhtaassa vedessä ja isopropanolissa ligniinin kokonaisliukoisuus on todella matala, kun siihen liukenee vain todella pieniä partikkeleja ja niitäkin hyvin heikosti. Kun isopropanolipitoisuutta kasvatetaan 30 % asti, paranee pienten partikkelien liukoisuus koko ajan. Myös 90 % pitoisuuden kokonaisliukoisuuden arvo selittyy vain pienten partikkelien liukoisuudella. Pitoisuudessa 40 % ja 80 % suuremman kokonaisliukoisuuden määrän selittää joidenkin keskisuurien partikkelien liukeneminen. Todella suuria partikkeleja liukenee vain pitoisuuksiin 50–60 %, joka selittää myös kokonaisliukoisuuden huippuarvon näillä pitoisuuksilla. Keskikokoisia partikkeleja liukenee parhaiten pitoisuuksiin 50–70 %, joka selittää myös kuvaajan korkeammat arvot heti huippukohdan oikealla, kuin vasemmalla puolella.



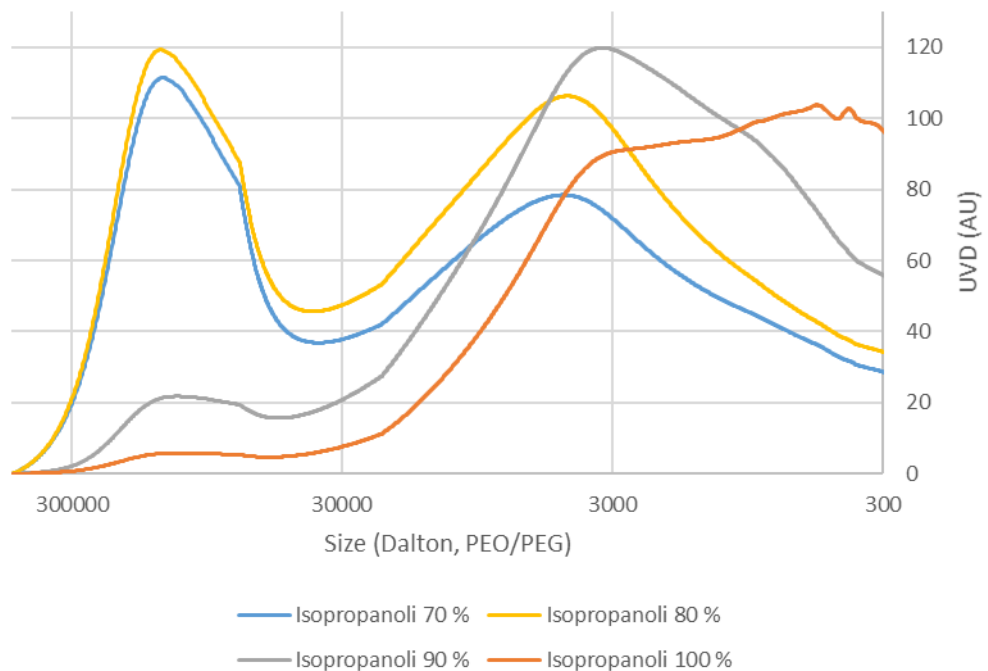
Tarkastellessa isopropanoliin liuenneen ligniinin kokojakaumakuvaajia, voidaan huomata yhteys ligniinin polydispersiteetti-arvojen suuruuteen liuenneessa fraktiossa taulukko 2). Kaikista suurimmat polydispersiteetti-arvot saavutetaan, kun liuotin koostuu pelkästä vedestä tai isopropanolista. Tämä kertoo siitä, että vaikka suurin osa liuottimeen liuenneesta ligniinistä onkin pientä partikkelikokoa, liukenee siihen myös jotain suurempaa partikkelikokoa ja koska liukoisuusmäärä on todella pieni, niin suuri partikkelikoko vaikuttaa polydispersiteetin arvon suuruuteen merkittävästi. Kaikista pienimmät polydispersiteetin arvot saavutetaan pitoisuuksilla 20–30 % ja 80–90 %, joka selittyy sillä, että näillä pitoisuuksilla liuottimeen liukenee huomattava määrä pieniä partikkeleja. Myös 40 % pitoisuuden suhteellisen pieni polydispersiteetin arvo korreloi pienten partikkelien liukoisuuden kanssa suhteessa keskisuurten partikkelien liukoisuuteen.



Kuva 11. Liuottimeen liukenemattoman ligniinin kokojakaumat, kun liuottimen isopropanolipitoisuus on 10–40 %

Tarkastellessa isopropanoli-vesi seokseen liukenemattomien ligniinifraktioiden kokojakaumia (kuva 11 ja 12), voidaan huomata, että 10–20 % isopropanolipitoisuudella pienten partikkelien osuus on lähes yhtä suuri kuin keskikokoisten partikkelien osuus. Myös jonkin verran suuren partikkelikoon ligniiniä jää liukenematta ja koska sitä ei

esiintynyt näillä pitoisuuksilla liuenneen ligniinin kokojakaumassa (kuva 9), voidaan olettaa, että sitä oli vain pieni määrä ligniininäytteissä. 30–40 % isopropanolipitoisuuden liuottimeen jäi liukenematta vielä suurempi osa keskisuurista ligniinipartikkeleista ja pienempien ligniinipartikkelien osuus jäi pienemmäksi. 30 % pitoisuudessa suurien partikkelien määrä kasvaa merkittävästi ja 40 % pitoisuudella niiden osuus on jo todella suuri. Kuitenkaan suoraan ligniininäytteestä määritetyn kokojakaumakuvaajan mukaan (kuva 3), tämän koon ligniinipartikkeliä ei esiinny näytteessä kovin paljoa ja siksi näin suuri osuus selittyy luultavasti ligniinin klusteroitumisella, jonka liuottimessa oleva isopropanoli saa aikaan. Suurien partikkelien suuri määrä selittyy osittain myös näytteen pienellä kokonaismäärällä, jonka takia suurten partikkelien osuus siinä näkyy kokojakaumakuvaajassa merkittävänä.



Kuva 12. Liuottimeen liukenemattoman ligniinin kokojakaumat, kun liuottimen isopropanolipitoisuus on 70–100 %

Suurta partikkelikokoa esiintyy suuri määrä myös 70–80 % pitoisuuden liuottimiin liukenemattoman ligniinin kokojakaumakuvaajissa. Tämä vääristää myös muiden partikkelikokojen tuloksia, sillä ei voida olla varmoja ovatko pienen vai keskisuuren partikkelikoon ligniinipartikkelit klusteroituneet yhteen suuriksi partikkeleiksi. Tämän jälkeen isopropanolipitoisuutta nostettaessa 90 % asti, vähenee suurien partikkelien

määrä liukenemattomassa fraktiossa samalla, kun keskisuurten ja pienten partikkelien osuus kasvaa, niin että keskisuuria partikkeleita jää liukenematta huomattavasti enemmän. Puhtaaseen isopropanoliliuottimeen jää liukenematta entistä vähemmän suuria partikkeleja sekä jonkin verran keskikokoisia partikkeleja ja hieman enemmän pieniä partikkeleja.

## 5 JOHTOPÄÄTÖKSET JA SUOSITUKSET

### 5.1 DMSO liuottimena

Liukoisuuden kasvu on eksponentiaalista 50 % DMSO-pitoisuuteen asti ja 60 % asti liukoisuus kasvaa voimakkaasti DMSO-pitoisuuden funktiona. Jos jatkokäsittelyn kannalta ei ole oleellista, minkä koon ligniiniä liukenee, niin liuottimen pitoisuudeksi kannattaa valita vähintään 50 %, koska silloin liukoisuus on huipussaan. Kuitenkin saattaa olla taloudellisesti kannattavinta valita liuottimen DMSO-pitoisuudeksi korkeintaan 60 %, sillä sen jälkeen lisättävä DMSO ei enää nosta kokonaisliukoisuutta merkittävästi.

Jos halutaan liuottaa vain pieniä partikkeleja, kannattaa valita pieni DMSO-pitoisuus. Kuitenkaan suurta kokonaisliukoisuutta ei ole mahdollista saavuttaa, koska vasta kun keskisuuret ligniinipartikkelit alkavat liueta DMSO-vesi-seokseen alkaa kokonaisliukoisuus kasvaa merkittävästi. Pitoisuuden ollessa hyvin korkea, liukenevat myös suuret partikkelit liuottimeen. DMSO-pitoisuutta ei kuitenkaan kannata nostaa liian korkealle myöskään siitä syystä, että se aiheuttaa klustereiden muodostumista

Polydispersiteetin arvo pysyy pienenä, kun DMSO-pitoisuus on 10–40 %, mutta sen ulkopuolella se kasvaa suureksi. Jos siis halutaan liuottaa pienen polydispersiteetin ligniiniä, on kannattavinta valita liuottimen DMSO-pitoisuudeksi jotain 10–40 % väliltä. Jos halutaan saavuttaa eristettävälle ligniinille mahdollisimman pieni polydispersiteetin arvo kuitenkin säilyttäen ligniinin liukoisuusmäärä korkeana, kannattaa valita liuottimen DMSO-pitoisuudeksi 40 %.

### 5.2 Isopropanoli liuottimena

Kokonaisliukoisuuden huippu saavutetaan isopropanolipitoisuuden ollessa 50–60 %, joten jos liunneen ligniinin kokojakaumalla ei ole merkitystä, kannattaa valita tämän pitoisuuden liuotin. Tästä poikkeavat pitoisuudet liuottavat ligniiniä huonommin aina siihen asti, kun liuotin sisältää ainoastaan vettä tai isopropanolia.

Isopropanoli-vesi-seoksiin liunneen ligniinin kokojakaumista pienin partikkelikoko on pitoisuuksilla 10 %, 20 %, 30 % ja 90 %. Näillä pitoisuuksilla ligniinin kokonaisliukoisuus on kuitenkin niin heikko, ettei fraktioita ole kuitenkaan välttämättä kannattavaa hyödyntää.

Liunneen ligniinin polydispersiteettien minimiarvot saavutetaan isopropanolipitoisuuksilla 30 % ja 90 %. Vahvempi 90 % isopropanolipitoisuuden liuotin saa aikaan hieman alhaisemman polydispersiteetin arvon, mutta siinä liuotinta kuluu huomattavasti enemmän, kuin käytettäessä vain 30 % pitoisuutta, joka johtaa lähelle samaa lopputulosta. Sitä seuraavaksi pienimmät polydispersiteettiarvot saavutetaan pitoisuuksilla 20 % ja 80 %. Kuitenkin kaikissa näissä pitoisuuksissa ligniinin kokonaisliukoisuus on matala ja jos pyritään liuottamaan pienen polydispersiteetin ligniiniä tehokkaasti, kannattavinta on valita joku toinen pitoisuus lähempänä kokonaisliukoisuuden huippua, esimerkiksi 40 % tai 70 %. Näistä vaihtoehdoista 40 % saattaa olla siinä mielessä parempi vaihtoehto, koska siinä isopropanolia ei kulu niin paljoa. Toisaalta 70 % isopropanolipitoisuudella saavutetaan hieman suurempi kokonaisliukoisuus.

## 6 YHTEENVETO

Kandidaatintyön tavoitteena oli löytää sopiva liuotin ja liuotinpitoisuus, jolla ligniinin tietty kokojakaumaluokka saadaan liukenemaan hyvin. DMSO-vesi-seoksella ligniinistä saadaan liukenemaan lähes 100 %, kun isopropanoli-vesi-seoksella saavutetaan vain noin 90 % liukoisuus. Molemmat liuottimet vaativat 50–60 % pitoisuuden liuottimessa saavuttaakseen ligniinin maksimiliukoisuuden. Tämän jälkeen pitoisuutta kasvattaessa liuottimet kuitenkin käyttäytyvät hyvin eri tavalla, kun DMSO:ta sisältävä liuottimen liuotusteho pysyy suunnilleen samana ja isopropanolia sisältävä liuottimen liuotusteho laskee voimakkaasti. Molempien liuottimien kohdalla huomataan yhteys korkean kokonaisliukoisuuden ja suurempien partikkelien liukoisuuden välillä.

## LÄHDELUETTELO

Agilent Technologies, 2015. An Introduction to Gel Permeation Chromatography and Size Exclusion Chromatography.

Ek M., Gellerstedt G., Henriksson G., 2009. Pulp and Paper Chemistry and Technology, Volume 1. Berlin; Boston: De Gruyter, 320 s. ISBN 978-661-24-5691-6

Gigli M., Crestini C. 2020. Fractionation of industrial lignins: opportunities and challenges. Green Chemistry, 22 (15) S. 4722-4746.

Gilbert R.G., Hess M., Jenkins A.D., Jones R.G., Kratochvíl P., Stepto R.F.T. 2009. Dispersity in polymer science. Pure and Applied Chemistry, 81 (2) S. 351-353.

Gullichsen J., Paulapuro H., Stenius, P., 2000. Forest products chemistry, Volume 3. Helsinki: Fapet, 350 s. ISBN-952-5216-03-9

Lehtonen P. O., Sihvonen M. 2004. Laboratorioalan analyttinen kemia. Helsinki: Opetushallitus ISBN-952-13-2135-0

Lu F., 2014. Lignin - Structural Analysis, Applications in Biomaterials and Ecological Significance. New York: Nova Science Publishers, 431 s. ISBN-1-63117-465-7

Paterson R. J., 2011. Lignin - Properties and Applications in Biotechnology and Bioenergy. New York: Nova Science Publishers, 576 s. ISBN-1-62417-494-9

Rautio J., Laine K., Jarho P., Wallén E., Vuorensola K., Wikberg T., Lindeke B., 2013. Farmaseuttisen kemian perusteet. Kuopio: Farmasian opiskelijayhdistys Fortis ry, 244 s. ISBN-978-951-98725-7-5

Riekkola M., Hyötyläinen T. 2000. Kolonnikromatografia ja kapillaarielektromigraatiotekniikat. Helsinki: Yliopistopaino ISBN 951-45-9518-1

Xu J., Li C., Dai L., Xu C., Zhong Y., Yu F., Si C., 2020. Biomass Fractionation and Lignin Fractionation towards Lignin. ChemSusChem, 13 (17), S. 4284-4295.