

Organosolv-Lignin aus Süßgräsern (*Poacea*)
zum Einsatz in Bioverbundwerkstoffen

Jörg Dörrstein

Vollständiger Abdruck der vom TUM Campus Straubing für Biotechnologie und Nachhaltigkeit der Technischen Universität München zur Erlangung eines Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.) genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Dr. rer. nat. Marc Ledendecker

Prüfer*innen der Dissertation:

1. Prof. Dr. rer. silv. habil. Cordt Zollfrank
2. Prof. Dr. nat. techn. Rupert Wimmer

Die Dissertation wurde am 02.08.2023 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch den TUM Campus Straubing für Biotechnologie und Nachhaltigkeit am 14.12.2023 angenommen.

meiner Frau Dorra
meinen Söhnen Jonas und Alexander
meinen Eltern
meinen Brüdern
in liebevoller Dankbarkeit.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen meiner Tätigkeit als Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Biogene Polymere der Technischen Universität München am Campus Straubing für Biotechnologie und Nachhaltigkeit.

An dieser Stelle möchte ich meinen Dank nachstehenden Personen entgegenbringen, die wesentlich zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater, Prof. Dr. Cordt Zollfrank für die vertrauensvolle Betreuung der Arbeiten, die überaus motivierende Förderung und das Schaffen einer Arbeitsatmosphäre, in der man eigene Ideen frei entwickeln und zur Umsetzung bringen kann. Das durch Prof. Zollfrank geschaffene Arbeitsumfeld, in dem ich tätig sein durfte, ermöglicht mir auf dem weiteren Berufsweg eine multidisziplinäre Betrachtung von fachlichen Fragestellungen. Die über die Jahre hinzugewonnenen unschätzbaren sozialen Kompetenzen werden mich darüber hinaus im beruflichen wie auch im privaten Bereich weiterhin bereichern.

Von der Professur Biogene Polymere der Technischen Universität München bedanke ich mich besonders bei Frau Petra Peklo für Ihre immerwährende exzellente Unterstützung, die hervorragende Organisation der Lehrstuhlbelange und die mir entgegengebrachte Herzlichkeit in den letzten Jahren. Frau Peklo ist mir und meiner Familie zu einer kostbaren Freundin geworden.

Gedankt sei auch Frau Sabine Witzel für die exzellente Organisation des Labors. Meinen Kollegen Dr. Daniel Van Opendenbosch, Dr. Alexandra Kässner, Dr. Carla Chung, Dr. Shahram Shafaei, Dr. Matthias Petzold, Matthias Langhansl, M.Sc., Felix Eckel, M.Sc., Maximilian Rothhammer, M.Sc., Moritz Klotz, M.Sc., Sabine Kugler, M.Sc., Stefanie Deuerling, M.Sc., Cornelia Jobst, M.Sc., Markus Killinger, M.Sc. sei ein herzlicher Dank ausgesprochen.

Mein besonderer Dank gilt meinem ehemaligen Bürokollegen und guten Freund Dr. Patrick Herr für die fachlichen Diskussionen, aufmunternden Worte, wenn es mal nicht so gut lief und die abwechslungsreichen Freizeitaktivitäten in der Natur.

Vom Lehrstuhl für Chemie Biogener Rohstoffe sei insbesondere Herrn Prof. Dr. Volker Sieber, Frau Dr. Doris Schieder sowie Herrn Dominik Schwarz, M.Sc. für die vertrauensvolle und erfolgreiche Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Biomasseaufschlusses gedankt.

Für die exzellente und freundliche Zusammenarbeit auf dem Gebiet der biogenen Polymere und Werkstoffuntersuchung danke ich Hr. Prof. Dr. Frank Walther sowie Frau Dr.-Ing. Ronja Scholz vom Fachgebiet Werkstoffprüftechnik (WPT) der Technischen Universität Dortmund.

Aus der technischen Werkstatt am TUM Campus Straubing möchte ich stellvertretend Hr. Wolfgang Pöschl herzlich für die tatkräftige und wohlwollende Unterstützung beim Bau des Laborextruders danken.

Ebenso möchte ich meinem ehemaligen Kommilitonen Hr. Georg Huber, M.Sc. stellvertretend für die Mitarbeiter des Technologie- und Förderzentrums am Kompetenzzentrum für Nachwuchsende Rohstoffe für die exzellente Unterstützung und hervorragende Zusammenarbeit danken.

Ein herzlicher Dank gilt meinen lieben Eltern Brigitta und Dr. Dieter Dörrstein, sowie meinen Brüdern Florian und Niko Dörrstein, die mich während meiner gesamten Ausbildungszeit stets unterstützt und durch Ihre eigenen beruflichen, wie privaten Leistungen angespornt haben.

Zu guter Letzt besonders möchte ich meiner lieben Frau Dorra Dörrstein sowie meinen Söhnen Jonas und Alexander für die immerwährende Unterstützung und Liebe danken und für ihr Verständnis für die vielen Stunden, die ich für die Bearbeitung dieser Arbeit am Schreibtisch verbracht habe und nicht Euch widmen konnte. Ihr seid mein größter Schatz.

Literaturverzeichnis

Liste der eingebundenen Veröffentlichungen	6
Zusammenfassung	7
Summary	9
1. Einleitung und Fragestellung	11
1.1 Motivation	11
1.2 Problemstellung und Forschungsfragen	12
2. Theoretische Einführung	16
2.1 Lignin in lebenden Organismen	16
2.1.1 Bedeutung und Vorkommen	16
2.1.2 Ligninstruktur und Funktionen in der Pflanze	16
2.2 Lignin in der grünen Bioraffinerie	23
2.3 Technische Lignine in thermoplastischen Werkstoffen	25
3. Methoden	29
3.1 Bestimmung der Fließeigenschaften von Kunststoffschmelzen mittels Micro-Compoundierung	29
4. Ergebnisse und Diskussion	33
4.1 Beschreibung der Publikationen	33
4.2 Weiterführende Ergebnisse und Diskussion	37
4.2.1 Gewinnung und Eigenschaftsuntersuchung von hochreinem Lignin aus <i>Poaceae</i>	37
4.2.2 Thermisch- und scherungsinduzierte Reaktionen in Organosolv-Lignin aus <i>Poaceae</i> unterhalb der thermischen Hauptzersetzung	44
4.2.3 Beschreibung der Vorgänge am Übergang vom duktilen zum spröden Materialverhalten in Biowerkstoffen mit hohem <i>Poaceae</i> -Organosolv-Ligningehalt	46
4.2.4 Prozess-Struktur-Eigenschaftsbeziehungen in Lignin-Biocomposites in Abhängigkeit von Scherungs- und thermischer Energieeinleitung	52
5. Fazit und Ausblick	54
Abkürzungsverzeichnis	56
Abbildungsverzeichnis	58
Literaturverzeichnis	61
Anhang	75

Liste der eingebundenen Veröffentlichungen

Bei der vorliegenden kumulativen Dissertation handelt es sich um eine verkürzte Darstellung der Forschungsergebnisse aus vier aufeinander aufbauenden originalen Arbeiten. Die ausführlichen Ergebnisse wurden bereits bei unterschiedlichen wissenschaftlichen Zeitschriften eingereicht, anonym begutachtet und veröffentlicht:

Publikation I

Schwarz, D., Dörrstein, J., Kugler, S., Schieder, D., Zollfrank, C., Sieber, V., 2016. Integrated biorefinery concept for grass silage using a combination of adapted pulping methods for advanced saccharification and extraction of lignin. *Bioresource Technology* 216, 462–470.

Publikation II

Dörrstein, J., Scholz, R., Schwarz, D., Schieder, D., Sieber, V., Walther, F., Zollfrank, C., 2018. Effects of high-lignin-loading on thermal, mechanical, and morphological properties of bioplastic composites. *Composite Structures* 189, 349–356.

Publikation III

Dörrstein, J., Scholz, R., Schwarz, D., Schieder, D., Sieber, V., Walther, F., Zollfrank, C., 2018. Dataset on the structural characterization of Organosolv-Lignin obtained from ensiled Poaceae grass and load-dependent molecular weight changes during thermoplastic processing. *Data in Brief* 17, 647–652.

Publikation IV

Dörrstein, J., Schwarz, D., Scholz, R., Walther, F., Zollfrank, C., 2021. Tuneable material properties of Organosolv-Lignin biocomposites in response to heat and shear forces. *European Polymer Journal* 148, 110359.

In Publikation I hat der Autor in Form einer geteilten Erstautorenschaft mitgewirkt, während er Publikation II-IV federführend als Erstautor verfasst hat. Publikation II ist ein Datensatz mit direktem Zusammenhang zu Publikation I. In allen Publikationen sind über eigene praktische Arbeiten erlangte Ergebnisse und Erkenntnisse enthalten.

Zusammenfassung

Mit der neu entwickelten Route zur Gewinnung von Lignin aus *Poacea*-dominiertem Wiesengras (Süßgräser) und der erstmaligen Beschreibung der thermischen, mechanischen und chemisch-strukturellen Eigenschaften von Organosolv-Lignin aus Wiesengras wird der Zugang zu einem technischen Lignin hoher Reinheit geschaffen.

Der in der Arbeit verfolgte Weg führt dabei über den Organosolv-Aufschluss mit EtOH / H₂O unter autokatalytischen Bedingungen und die anschließende Fest-Flüssig-Extraktion mit Ethylacetat (EtOAc). Das hierüber erhaltene feste Organosolv-Lignin zeigt sehr geringe Asche-, Schwefel und Polysaccharidgehalte.

Neben den für Lignin typischen Cumaryl- (H), Guajacyl- (G) und Syringyl- (S) Struktureinheiten konnte auch die Anwesenheit von *p*-Cumarsäure und Ferulasäure als charakteristische Bestandteile von Süßgräser-Lignin bestätigt werden. Die Bausteine sind überwiegend über 4-O-5' und 5-5' und in geringerem Ausmaß über β -5 Bindungen verknüpft. Es werden darüber hinaus freie Hydroxylgruppen an allen drei Monolignolbausteinen H, G und S beobachtet. Der Anteil an aliphatischen Hydroxylgruppen übersteigt dabei den Anteil an phenolischen Hydroxylgruppen.

Aufgrund der beobachteten intrinsischen Eigenschaften wie hohe Reinheit und thermische Plastifizierbarkeit wird eine direkte Verwendung des hierüber erhaltenen Lignins als Vorläufermaterial zur Gewinnung von Ligninderivaten oder als unbehandelten Rohstoff für funktionelle thermoplastische Compounds vorgeschlagen, was zukünftig werthaltige und stoffliche Verwertungsmöglichkeiten von Lignin aus Wiesengras eröffnen könnte.

Zur Qualifizierung des erhaltenen Lignins werden physikalische und chemische Untersuchungen durchgeführt. Im Zuge von thermischen Untersuchungen werden erstmalig *in-situ*-Kopplungsreaktionen in *Poacea* Organosolv-Lignin beschrieben. Diese finden bei Temperaturen unterhalb des thermischen Zersetzungsgebietes (160-200 °C) statt. Eine thermische Behandlung des Lignins in diesem Temperaturbereich resultiert in einem bis zu 6-fachen Anstieg des Massenmittels der Molmasse (M_w). Spektroskopische Untersuchungen deuten neben den von Kraft-Lignin bekannten radikalischen Vernetzungsreaktionen auf weitere chemische Reaktionen hin, die ähnlich zu Polysacchariden, auf direkte Kondensationsreaktionen zwischen funktionellen Hydroxyl- und Säuregruppen zurückgeführt werden können. Diese thermisch induzierten Reaktionen resultieren schließlich in einer höheren thermischen Stabilität, was die technischen Anwendungsmöglichkeiten erweitert. Eine höhere Pyrolysautebeute nach thermischer Behandlung unter Sauerstoffabschluss eröffnet Anwendungen im Bereich Kohlenstoff-basierter Werkstoffe.

Mittels Schmelzcompounding werden erstmalig Bioverbundwerkstoffe aus dem gewonnenen *Poaceae* Organosolv-Lignin und einem thermoplastischen Elastomer (EVA) hergestellt und untersucht. Insbesondere wurden dabei die Auswirkungen einer hohen Ligninbeladung auf die Eigenschaften der

Verbundwerkstoffe untersucht. Mittels mechanischer (quasistatische und zyklische) und rheologische Untersuchungen kann ein spröd-duktiler Übergang um einen Lignin-Volumenanteil von $\varphi_L = 0,59$ beobachtet werden. Eine Steigerung des Lignin-Volumenanteils von $\varphi_L = 0,47$ auf $\varphi_L = 0,59$ führt zu einer Verdoppelung der Scherviskosität und einem starken M_w -Anstieg im Lignin. Ebenso bei $\varphi_L = 0,59$ wird mittels Kalorimetrie ein, den Glasübergang (T_g) überlagerndes, Relaxationssignal beobachtet, was auf durch Partikel-Partikel-Wechselwirkungen hervorgerufene reibungsinduzierte Reaktionen im Lignin hinweist. Schließlich werden diese Ergebnisse durch die veränderte Rolle des Lignins bei hohem Volumenanteil in Bioverbundwerkstoffen erklärt, vom steifigkeitssteigernden Füllstoff zu einer festigkeitsverleihenden Matrixkomponente, was durch eine mikroskopische Untersuchung bestätigt werden kann.

Schließlich kann in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass Sprödigkeit und Härte ($R^2 = 0,993$) sowie Zähigkeit und Härte ($R^2 = 0,999$) gute bis sehr gute Korrelationen zeigen, wodurch mit der Erhebung der Härte eine in der Praxis einfach zu erbringende Methode vorgeschlagen wird, um den Spröd-Zäh-Übergang von Lignin-Verbundwerkstoffen zu beschreiben.

Die in den Arbeiten gesammelten Erkenntnisse von der Rohstoffraffination bis zur Herstellung von Struktur- und Funktionsmaterialien könnten den Grundstein zur Schaffung ganz neuer Wertschöpfungswege für Wiesengras legen und damit zur Diversifikation der heutigen Landwirtschaft aber auch der (petro-)chemischen Industrie beitragen.

Summary

The newly developed route for the extraction of lignin from *Poacea*-dominated meadow grass (sweet grasses) and the first description of the thermal, mechanical and chemical-structural properties of Organosolv-Lignin from meadow grass provide access to an engineered lignin of high purity.

The route followed in this work involves organosolv digestion with EtOH / H₂O under autocatalytic conditions and subsequent solid-liquid extraction with ethyl acetate (EtOAc). The solid Organosolv-Lignin obtained here shows very low ash, sulfur and polysaccharide contents.

In addition to the cumaryl (H), guaiacyl (G) and syringyl (S) structural units typical of lignin, the presence of *p*-coumaric acid and ferulic acid was also confirmed as characteristic components of sweetgrass lignin. The building blocks are linked predominantly via 4-O-5' and 5-5' and to a lesser extent via β -5 bonds. Free hydroxyl groups are also observed on all three monolignol building blocks H, G and S. The amount of aliphatic hydroxyl groups exceeds the amount of phenolic hydroxyl groups.

Due to the observed intrinsic properties such as high purity and thermal plasticity, a direct use of the lignin obtained here as a precursor material for the extraction of lignin derivatives or as an untreated raw material for functional thermoplastic compounds is suggested, which could open up valuable and material utilization possibilities of lignin from meadow grass in the future.

Physical and chemical investigations will be carried out to qualify the lignin obtained. In the course of thermal investigations, in-situ coupling reactions in *Poacea* Organosolv-Lignin are described for the first time. These take place at temperatures below the thermal decomposition range (160-200 °C). Thermal treatment of lignin in this temperature range results in up to a 6-fold increase in the mass-average molecular weight (M_w). Spectroscopic studies indicate, in addition to the radical crosslinking reactions known from Kraft lignin, further chemical reactions which, similar to polysaccharides, can be attributed to direct condensation reactions between hydroxyl and acid functional groups. These thermally induced reactions ultimately result in higher thermal stability, which expands the technical application possibilities. A higher pyrolysate yield after thermal treatment in the absence of oxygen opens up applications in the field of carbon-based materials.

By means of melt compounding, biocomposites made from the obtained *Poaceae* Organosolv-Lignin and a thermoplastic elastomer (EVA) are produced and investigated for the first time. In particular, the effects of high lignin loading on the properties of the composites were investigated. By means of mechanical (quasi-static and cyclic) and rheological tests, a brittle-ductile transition around a lignin volume fraction of $\phi_L = 0.59$ can be observed. An increase in the lignin volume fraction from $\phi_L = 0.47$ to $\phi_L = 0.59$ leads to a doubling of the shear viscosity and a strong M_w increase in the lignin. Likewise, at $\phi_L = 0.59$, a relaxation signal superimposed on the glass transition (T_g) is observed by calorimetry, indicating friction-induced reactions in the lignin caused by particle-particle interactions. Finally, these results are explained by the changing role of lignin at high volume fraction in biocomposites, from a

stiffness enhancing filler to a strength imparting matrix component, which can be confirmed by microscopic examination.

Finally, it can be shown in the present work that brittleness and hardness ($R^2 = 0.993$) as well as toughness and hardness ($R^2 = 0.999$) show good to very good correlations, suggesting with the survey of hardness a method that can be easily achieved in practice to describe the brittle-tough transition of lignin composites.

The knowledge gained in the work, from raw material refining to the production of structural and functional materials, could lay the foundation for the creation of completely new value-added routes for grass and thus contribute to the diversification of today's agriculture but also the (petro)chemical industry.

1. Einleitung und Fragestellung

1.1 Motivation

Kunststoffe sind aus unserer Gesellschaft heute kaum mehr wegzudenken. Der Siegeszug der letzten Jahrzehnte der Kunststoffe begründet sich auf zahlreiche vorteilhafte Eigenschaften wie hervorragende Formbarkeit in industriellen Prozessen, geringe Dichte, chemische Beständigkeit, elektrische Isolationseigenschaften und geringe Marktpreise. Die Belastung von marinen und terrestrischen Ökosystemen durch quasi-persistente Mikroplastikpartikel (d.h. nicht biologisch abbaubare Kunststoffpartikel mit einem Durchmesser < 5 mm) und darauf angesammelte Schadstoffe führt dazu, dass diese Partikel bis in die Nahrungsketten vieler Lebewesen wie Säuger, Vögel, Fische, Weichtiere oder Krebstiere, oder gar des Menschen über Lebensmittel wie Salz, Zucker, Honig oder Bier gelangen. Natürliche Biopolymere wie Lignin und dessen Bestandteile können von bestimmten Bakterien (z.B. Actinomyceten, Streptomyceten) und Pilzarten (z.B. Weißfäulepilze) biologisch abgebaut werden und hinterlassen damit keine langfristigen und umweltschädigende anthropogenen Spuren [7].

Die fortschreitende Ressourcenverknappung und die bei der Gewinnung von erdölbasierten Werkstoffen einhergehende Umweltbelastung haben in den letzten Jahren stark an gesellschaftlicher Relevanz und Brisanz zugenommen [1–3]. Lignin, das mengenmäßig häufigste aromatische Biopolymer der Erde wird heute als ein aussichtsreicher Rohstoff zur Herstellung von nachhaltigeren und die Ökosysteme weniger belastenden Werkstoffen gesehen [4]. Lignin ist ein integraler Bestandteil der Zellwände von fast allen Landpflanzen und stellt damit eine nahezu unerschöpfliche und nachwachsende Ressource für eine nachhaltige Kreislaufwirtschaft dar [5,6]. Heute werden sehr große Mengen Lignocellulose zur Herstellung von Zellstoff und Papier eingesetzt [8]. Neben den Polysacchariden Cellulose und Hemicellulose fallen Schätzungen zufolge jährlich etwa 50 Millionen Tonnen Lignin an, das i.d.R. thermisch verwertet wird [9]. Der überwiegende Anteil wird hierbei über den Kraft-Prozess gewonnen.

Die fortschreitende Ressourcenverknappung, der im Zuge der Erdölförderung und -nutzung einhergehende anthropogene Klimawandel und die bei der Exploration verursachten Umweltschäden haben Konzepte zur Rohstoffkonversion auf Basis nachwachsender Rohstoffe zurück ins gesellschaftliche und wirtschaftliche Interesse rücken lassen [10]. In den letzten Jahrzehnten hat es seitens politischer und industrieller Akteure große Anstrengungen gegeben, um Biokraftstoffe wie Ethanol aus nachwachsenden Rohstoffen zu kommerzialisieren. Der ligninreichen Fraktion, welche nach der Polysaccharidkonversion anfällt, kommt dabei zumeist die Rolle als Energielieferant zur betriebsinternen Wärme- und Strombereitstellung zu. Der Heizwert von Lignin liegt bei ca. $25 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ und ist damit höher als lufttrockenes Holz ($15 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$), Holzpellets ($18 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$) und ist vergleichbar mit Ethanol ($27 \text{ MJ} \cdot \text{kg}^{-1}$). Damit dient das Lignin aufgrund des damit vergleichsweise hohen Energiegehalts der Prozess-Energiegewinnung für die Papier- und Zellstofffabriken. Das

darüberhinausgehende Ligninvolumen dient zur Gewinnoptimierung durch die Verwertung von Wärme und Elektrizität.

Die stoffliche Nutzung des Lignins beträgt heute ca. 1 Mio. Tonnen, so z.B. zur Chemikalienrückgewinnung in der Zellstoff- und Papierindustrie, als Dispergiermittel in der Beton- und Farbenindustrie, als Bindemittel und oberflächenaktive Substanz in der Futtermittelherstellung oder als Zusatz in Bohrflüssigkeiten [8]. Meist ergeben sich relativ niedrige Marktpreise für technisch gewonnene Lignine.

Das Konzept der grünen Bioraffinerie möchte an dieser Stelle ansetzen, indem durch Aufreinigungs- und Konversionswege möglichst werthaltige Produkte erhalten werden können. Während frühere Bioraffineriekonzepte von einer Rohstoffart ausgehen, wird in neuen Bioraffineriekonzepten (Bioraffinerien der 3. Generation) von einem Biomasse-Rohstoffmix ausgegangen [11]. In Grünen Bioraffinerien bilden dabei Gräser die Rohstoffbasis. Aufgrund der relativ geringen Ligningehalte eignen sie sich meist gut für den Einsatz in Bioraffinerien, da zellwandgebundenes Lignin die Effizienz der Polysaccharidkonversion mitunter stark beeinträchtigen kann [12]. Des Weiteren eröffnet die Verwendung von Gräsern den Bioraffinerie-Betreibern die Vorteile von mehreren Ernten pro Jahr und der Landwirtschaft Diversifizierung von der intensiven Viehwirtschaft [13].

Dauergrünlandflächen weisen eine im Vergleich zu Ackerland deutlich höhere Anzahl an wildlebenden Tier- und Pflanzenarten auf [14], sie bieten guten Schutz vor Bodenerosion und erhöhen sowohl Wasserrückhalt als auch -qualität [15]. Grüne Bioraffinerien können einen herausragenden Beitrag für den Rohstoff- und Energiewandel leisten, indem alternative Nutzungsmöglichkeiten für Grünlandflächen eröffnet werden. Um Grünlandumbrüche in der Folge eines Abbaus von Viehhaltung in Mitteleuropa zu vermeiden, müssen dringend neue Verwertungsmöglichkeiten geschaffen werden [23].

1.2 Problemstellung und Forschungsfragen

Die wichtigsten aktuellen Verwertungspfade lassen nur selten höherwertige Nutzungen von Lignin zu [8]. Leistungsfähige und zu hohen Anteilen Lignin enthaltende neue Werkstoffe könnten dabei von großem Interesse sein [8,16–18]. Trotz langjährigen Forschungen an Lignin in Biokunststoffanwendungen konnten konventionelle Kunststoffe bislang kaum durch den Einsatz von Lignin substituiert werden. Folgende Gründe werden häufig für die zurückbleibende stoffliche Nutzung von Lignin in polymertechnischen Prozessen angeführt [12,17,19,20]:

1. Herausforderungen bei der Gewinnung von technischen Ligninen für thermoplastische Werkstoffe mit hinreichenden und reproduzierbaren Eigenschaften
2. Wissenslücken in der Beschreibung der Prozess-Struktur-Eigenschaftsbeziehungen in Ligninreichen Materialsystemen, insbesondere zu den Vorgängen beim Übergang von duktilem zu sprödem Materialverhalten
3. Unzureichende Kenntnisse der durch thermisch induzierte chemische Reaktionen hervorgerufenen Eigenschaftsänderungen in Organosolv-Ligninen in Temperaturbereichen mit Relevanz für technische Verarbeitungsprozesse.

Den Herausforderungen in Punkt 1 wird heute häufig mit neuartigen Bioraffineriekonzepten begegnet [12]. Ähnlich den Erdölraffinerien in denen der Rohstoff über technische Verfahren gereinigt, veredelt, getrennt, oder aufkonzentriert wird, werden in Bioraffinerien Biomassen als komplexe Mehrstoffgemische für die Herstellung von Rohprodukten, Halbfabrikaten und letztlich Fertigfabrikaten möglichst ganzheitlich genutzt [20,21]. Die Verwertungspfade führen dabei einerseits über eine Nutzbarmachung von Bioenergie (energetische Verwertung) und andererseits zum Zugang zu Plattformchemikalien, Kraftstoffen und Werkstoffen (stoffliche Verwertung). In diesem Zusammenhang wird bei der sog. Kaskadierung der Verfahrens- und Technologieschritte zwischen der Auftrennung der Biomasse (sog. Primärraffination) und den sich anschließenden Konversions- und Veredelungsschritten (Sekundärraffination) unterschieden [12]. Durch die Integration und Verkettung verschiedener Verfahren und Technologien gelingt es im Zuge einer möglichst effizienten Nutzbarmachung von Hauptprodukten auch werthaltige Nebenprodukte zu generieren, die ebenso einem Wertstoffkreislauf zugeführt werden können [12,13]. Diese Konzepte auf Basis biogener Rohstoffe müssen, wollen sie hinsichtlich der oben genannten Merkmale (Ressourcenverbrauch, anthropogene Klimaänderung) überlegen sein, eine ganzheitliche Betrachtung aller Rohstoffkomponenten und damit auch der Ligninfraktionen umfassen [22]. Bestehende Konzepte für grüne Bioraffinerien betrachten häufig feste Reststoffe nur im energetischen Sinne in Form einer Biogasgenerierung [24,25]. Die Betrachtung der stofflichen Nutzung aller Reststoffe aus diesen Konzepten wurde bislang nur selten untersucht.

Einer Verwertung von Lignin in der grünen Bioraffinerie (stofflich vs. energetisch) wird dennoch heute immer häufiger bereits in der Konzeptphase Rechnung getragen [19,26]. Eine Herausforderung bei der Abtrennung und Nutzbarmachung von Lignin im Zuge der Biomasse-Vorbehandlung stellt dabei die Co-Präzipitation von Extraktstoffen dar. Die Abtrennung dieser Extraktstoffe vor der eigentlichen Biomasse-Vorbehandlung kann häufig aufgrund ökonomischer Randbedingungen nicht in Betracht gezogen werden. Für die Verwendung des Lignins in stofflichen Werkstoffformulierungen wie z.B. als Matrixkomponente in Compounds werden heute jedoch hohe Anforderungen an die Reinheit und Qualität gelegt.

Die Einsatzgebiete von technischen Ligninen sowohl aus der Papier- und Zellstoffindustrie als auch aus Bioraffinerien in Polymerblends und Verbundwerkstoffen werden stark durch innewohnende Eigenschaften begrenzt. Diese technischen Lignine zeigen häufig für eine direkte technische Nutzung in polymertechnischen Prozessen unzureichende technologische (z.B. unzureichende Fließeigenschaften) und physikalische Eigenschaften (geringe Zähigkeitseigenschaften), oftmals bedingt durch eine unzureichende Kenntnis der Beziehungen zwischen Prozess, Struktur, Eigenschaften und Gesamt-Leistungsfähigkeit (Performance), Abbildung 1.

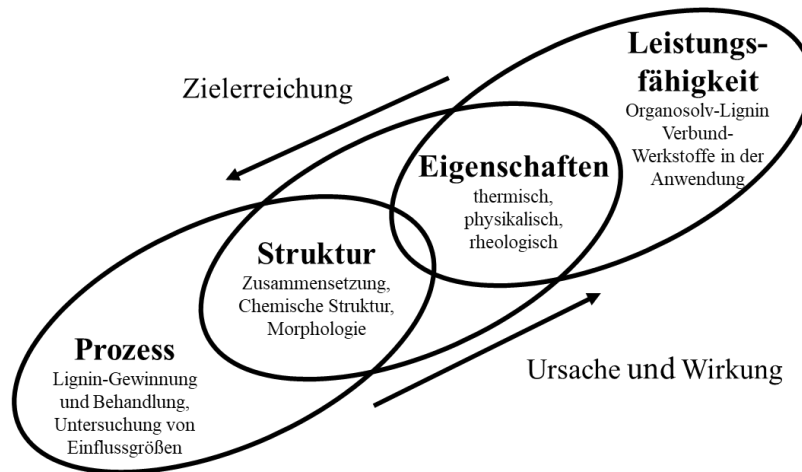


Abbildung 1 Dreigliedriges Kettenmodell zur Beschreibung des Forschungsansatzes anhand des zentralen Paradigmas der Material- und Ingenieurwissenschaften nach [27].

So zeigen Verbundwerkstoffe aus Lignin und (Bio-)Polymeren mit einem Ligningehalt von > 50 % häufig sehr spröde Eigenschaften, resultierend in sehr eingeschränkten technischen Anwendungsmöglichkeiten [4]. Eine weitere Herausforderung ergibt sich aus der sehr heterogenen Zusammensetzung und Struktur der technischen Lignine, die sowohl durch die Rohstoffpflanzen, die Aufschlussverfahren als auch durch die Aufreinigung beeinflusst werden [12]. Ausserdem zeigen technische Lignine starke intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Gruppen und eine komplexe Reaktivität (Lignin vernetzt radikalisch in thermischen Prozessen) was zu den spröden Eigenschaften und einer oftmals schlechten Formbarkeit führt [17]. Die Kompatibilitäten mit polaren Blendpartnern ist mäßig und mit unpolaren Partnern schlecht [17,18,28]. Lignin zeigt aufgrund der heterogenen Struktur keinen definierten Schmelzbereich und kann daher als amorpher Thermoplast beschrieben werden. Es kann jedoch durch thermisch induzierte (Vernetzungs-)Reaktionen duroplastische Eigenschaften aufweisen [17,18,28,29].

Eine zentrale Hypothese in dieser Arbeit geht von der Annahme aus, dass diese Eigenschaften für das Werkstoffdesign auch gezielt genutzt werden und hierdurch maßgeschneiderte Eigenschaften resultieren könnten. Innovative polymertechnische Verarbeitungsprozesse, die eine Aufbereitung und Formgebung in einem einzigen thermischen Vorgang erlauben, in Kombination mit der Anwendung von Methoden zum maschinellen Lernen, könnten zukünftig die Einstellung von definierten und anwendungsbezogenen Eigenschaften erlauben [30,31].

Um Lignin aus *Poacea* für derlei Prozesse zu qualifizieren, leiten sich drei übergeordnete und aufeinander aufbauende Hypothesen ab:

- Hochreines Lignin lässt sich als weiteres werthaltiges Produkt einer auf Süßgräsern basierenden grünen Bioraffinerie mit hohen Ausbeuten gewinnen und dessen technische Eigenschaften unterscheiden sich prozessbedingt gegenüber anderen technischen Ligninen wie Kraft-Lignin oder Organosolv-Lignin hinsichtlich Reinheit und strukturellem Aufbau.
- Über die Beschreibung von Struktur und Eigenschaften können sehr reine Ligninfraktionen aus Süßgräsern für polymertechnische Anwendungen qualifiziert werden und mittels Compoundierung mit geeigneten Verbundpartnern bei hohen Füllgraden ($\geq 50\%$) thermoplastisch verarbeitet werden. Dies erlaubt die Erforschung der Vorgänge am Übergang von duktilem zu sprödem Materialverhalten mit geeigneten Methoden. Dabei kann die veränderliche Rolle des Organosolv-Lignins in Bioverbundwerkstoffen (Füllstoff vs. Matrixsubstanz) in Abhängigkeit von thermisch-induzierten Reaktionen und Ligningehalten beschrieben werden.
- Schließlich wird durch eine gezielte Wahl von Verarbeitungsparametern eine weitere Möglichkeit zur Eigenschaftsvariation geschaffen, indem sowohl die thermoplastischen als auch die duroplastischen Eigenschaften von Organosolv-Lignin aus Süßgräsern genutzt werden.

Auf diese Hypothesen soll im Folgenden eingegangen werden, indem die Erkenntnisse aus den veröffentlichten Publikationen sowie übergreifenden Überlegungen zusammengefasst werden.

2. Theoretische Einführung

2.1 Lignin in lebenden Organismen

2.1.1 Bedeutung und Vorkommen

Lignin ist das am häufigsten in der Natur vorkommende aromatische Biopolymer und nach Cellulose das zweithäufigste in der Natur vorkommende Biopolymer [6]. Die jährliche biogene Lignin-Biosyntheseleistung der Landpflanzen beträgt ca. $5\text{-}36 \cdot 10^8$ Tonnen [6]. In Lignin sind ca. 30 % des Kohlenstoffs der nicht-fossilen Biosphäre gebunden [32]. Der Name Lignin leitet sich vom lateinischen Wort „lignum“ für Holz ab. Lignin ist eines der zellwandaufbauenden Makromoleküle in Pteridophyta, Gymnospermen und Angiospermen [5]. Es tritt vornehmlich in den vaskulären Geweben von Pflanzen auf und ist ein charakteristisches Merkmal der Tracheiden [5]. Der Ligningehalt in Weichholz ist mit ca. 27 – 33 % höher als in Hartholz (18 % – 25 %) und Gräsern (17 – 24 %) [5].

2.1.2 Ligninstruktur und Funktionen in der Pflanze

Lignin ist ein integraler Bestandteil des hierarchisch-strukturierten Zellwandaufbaus von Landpflanzen [33]. Die Strukturebenen reichen von den Sprossknoten und Internodien über die Zellwandtexturen aus Mittellamelle (ML), Primär- (P), Sekundär- (S1-S3) und Tertiärwand (T) über Makro- und Mikrofibrillen bis hinunter zu den Fibrillenbestandteilen und einzelnen Monolignolen, Abbildung 2.

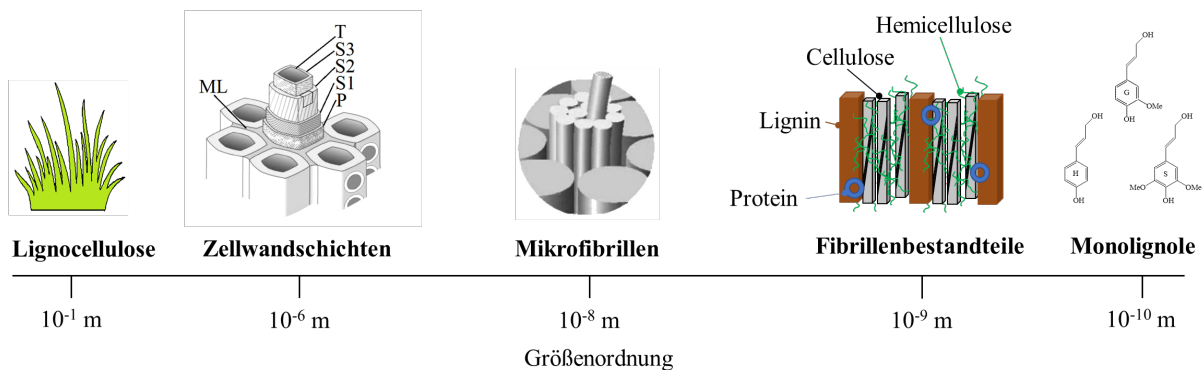


Abbildung 2 Hierarchisch-strukturierter Aufbau von Lignocellulose von der Zellebene bis zur Molekülebene. Verändert nach [34,35].

Auf den verschiedenen Strukturebenen kommt Lignin (lebens-)wichtige Funktionen zu. Lignin und Hemicellulosen sind Bindeglieder zwischen Polysaccharidbestandteilen und sie ermöglichen so den strukturellen Aufbau der Mikrofibrillen. Lignin erhöht dadurch im Zellwandverbund die mechanische Belastbarkeit bezüglich der Steifigkeit, Festigkeit und Elastizität. Durch diesen Zellwandverbund können die oberirdischen Pflanzenteile gestützt werden, indem eine Gegenkraft gegen die Schwerkraft aufgebracht werden kann. Dadurch werden Wuchshöhen von mehr als 100 m und Kronengewichte von mehreren Tonnen ermöglicht [5].

Aufgrund des lipophilen Charakters des Lignins wird die Wasserpermeabilität der Zellwand reduziert. Es ermöglicht den Ferntransport von gelösten Stoffwechselprodukten, Nährstoffen, organischen Substanzen und Wasser in den Leitbündeln. Die Einlagerung von Lignin in die Pflanzenzellwand (Lignifizierung) schützt die Pflanze aufgrund der strukturellen Stabilität des Lignins und wird so schwerer durch Mikroorganismen abgebaut (Rekalzitanz).

Die Lignifizierung wird u.a. von Boerjan et al. (2003) als die finale Phase des Differenzierungsprozesses im Zellwandwachstum angesehen, merklich verzögert zur Bildung anderer wichtiger Zellwandbestandteile wie Cellulose, Hemicellulose und Polyosen [5,36]. Die Ligninbiosynthese erfolgt dabei in den drei Hauptschritten Monolignolbiosynthese, Monolignoltransport zur Zellwand und zellwandgebundene Ligninpolymerisation [32,37].

Saake et. al gehen davon aus, dass die Biosynthese von Monolignolen ausgehend von der photosynthetisch hergestellten Glukose im Cytosol startet [5,36]. Im Zuge des sog. Shikimatweges liegt zunächst die Shikimisäure als Intermediat vor [38]. Über den Zwischenschritt der Chorisminsäure werden in Gräsern die zwei aromatischen Aminosäuren L-Phenylalanin und L-Tyrosin durch reduktive Aminierung gebildet [39,40]. Diese gelten als Ausgangsmoleküle für den enzymatisch getriebenen Phenylpropanoid-Stoffwechsel [38]. Die Aminosäuren werden dabei katalytisch durch Phenylalanin-Ammoniak-Lyase und Tyrosin-Ammoniak-Lyase unter Abspaltung von Ammoniak (NH₃) zu Zimtsäure umgewandelt (Desaminierung) [41]. Durch Hydroxylierung (Phenolasen / Phenylalaninhydroxylase), Methylierung (O-Methyltransferasen) und weitere Reaktionsschritte (enzymatische Aktivierung durch CoA-Ligasen und Reduktion durch NADP) am aromatischen Ring werden schließlich die Monolignole (Phenylpropanoideinheiten) gebildet [42]. So z.B. durch chemische Reaktionen wie Reduktion der Carbonsäurefunktionalität (*p*-Cumarylalkohol), einfache (Coniferylalkohol) und zweifache Methoxylierung (Sinapylalkohol), Abbildung 3.

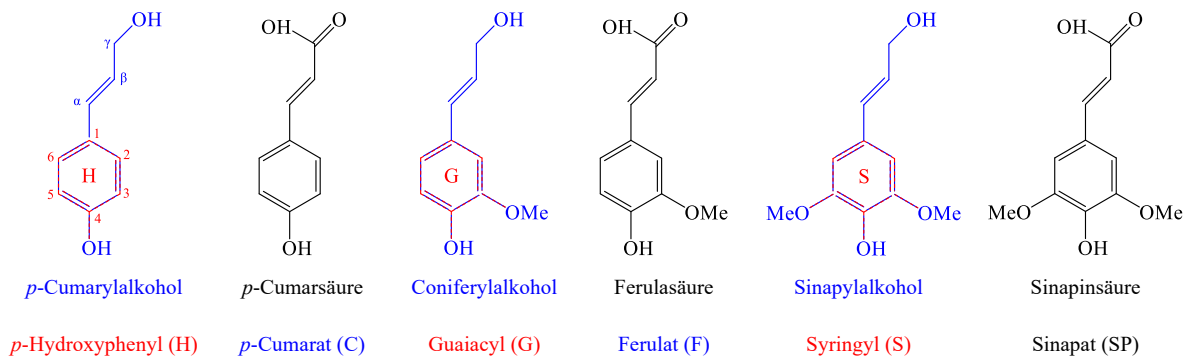


Abbildung 3 Zimtalkohol-Derivate (blau) und Phenolsäuren (schwarz) in Lignin, sowie der dazugehörige *p*-Hydroxyphenyl- (H), *p*-Cumarat-, Guaiacyl- (G), Ferulat- (F), Syringylrest (S), und Sinapatrest (SP) (eigene Darstellung).

Der chemische Aufbau der Monolignole ist dabei abhängig von der Pflanzenart und der Lage in der Zellwand [5]. Je nach Beteiligung der Monolignole werden Guaiacyl-Lignine (G) von Guaiacyl-Syringyl-Ligninen (GS) und *p*-Hydroxylphenylpropan-Guaiacyl-Syringyl-Ligninen (HGS) unterschieden. G-Lignine sind charakteristisch für Nadelhölzer, während GS-Lignine für Laubhölzer und HGS-Lignine für Gräser typisch sind [5,32].

In der Ligninchemie erfolgt die Bezeichnung der Kohlenstoffatome nicht nach der IUPAC-Nomenklatur. Während die Kohlenstoffe des Benzylrings IUPAC-konform bezeichnet werden, (z.B. OH-Gruppe am Phenolring an Position 4), wird die Propanseitenkette mit griechischen Buchstaben nummeriert (z.B. Bezeichnung α für den C-7 Kohlenstoff an der Benzylposition), siehe Beispiel *p*-Cumarylalkohol in Abbildung 3.

Die Ligninpolymerisation aus den Phenylpropaneinheiten erfolgt im Zuge eines zellwandgebundenen Reaktionsweges unter Radikalbildung [43,44]. Der erste Schritt des Reaktionsweges ist eine enzymatisch katalysierte Dehydrierung, wodurch Phenylpropan-Monomere zu Phenoxyradikalen oxidiert werden, Abbildung 4 [36].

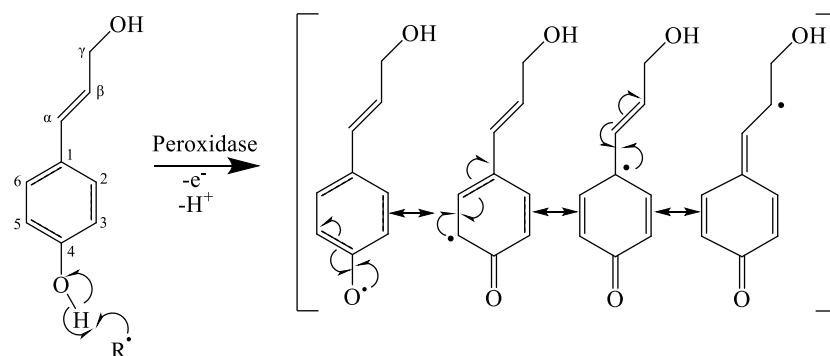


Abbildung 4 Enzymatische Dehydrierung eines *p*-Cumarylalkohols und Bildung von mesomeriestabilisierten Radikalen an der O-4-, C-5-, C-1 oder β -Position. Verändert nach [45,46].

Dies führt zu einem mesomeren Ringsystem.

Die höchsten π -Elektronendichten aller Phenoxyradikale befinden sich am phenolischen O-4 Sauerstoff. Ausserdem finden Reaktionen zwischen Monolignolen und Ligninpolymeren in großem Umfang an der β -Position statt [36]. Daher ist die Ausbildung von Aryl-Ether-Bindungen begünstigt, wobei in Laubholz-, Nadelholz- und Graslignin die β -O-4 Bindung als der häufigste Bindungstyp beschrieben wird. Sie ist an mehr als der Hälfte aller Bindungen zwischen den Grundeinheiten beteiligt. Weitere wichtige Bindungstypen sind 5-5, β -5, β - β , 4-O-5 oder β -1, Abbildung 5.

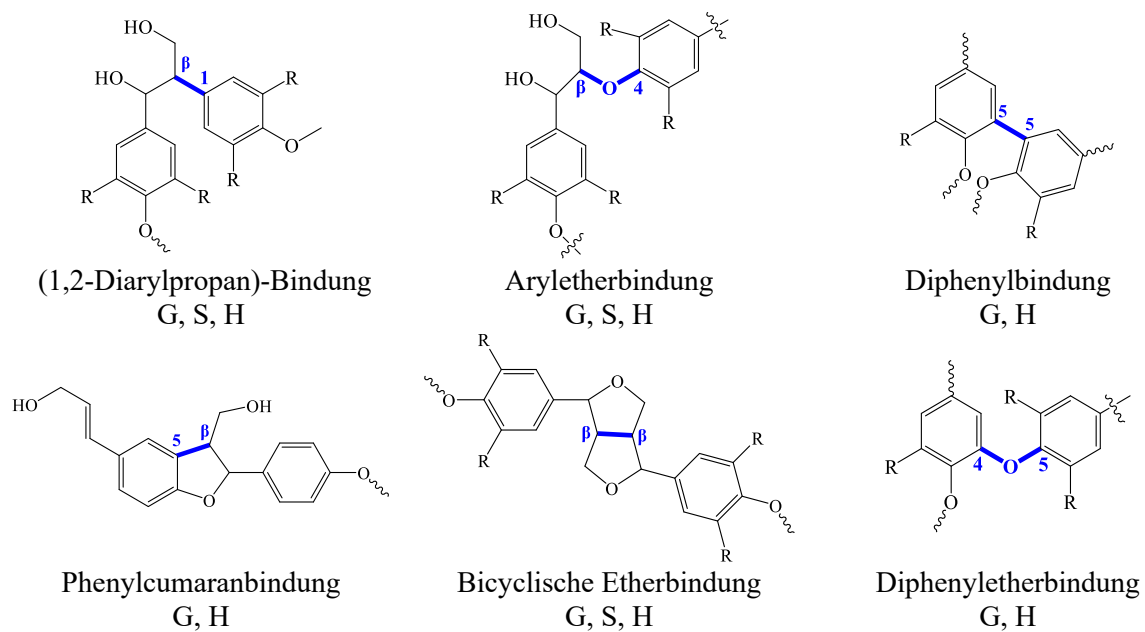


Abbildung 5 Mögliche Bindungstypen in Lignin und daran beteiligte Monolignole (H, G, S) und p-Hydroxycimtsäuren (F) nach [47–49].

Rekombinationsreaktionen zwischen zwei Phenoxyradikalen führen zu Dilignolen, welche ihrerseits zu Oligolignolen verknüpft werden können und schließlich die Polymerisation zum Ligninmakromolekül bewirken. Die wohl am ehesten bei der Initiierung der Polymerreaktionen beteiligten Katalysatoren sind Peroxidasen in Kombination mit Wasserstoffperoxid als Oxidationsmittel [50], Abbildung 6.

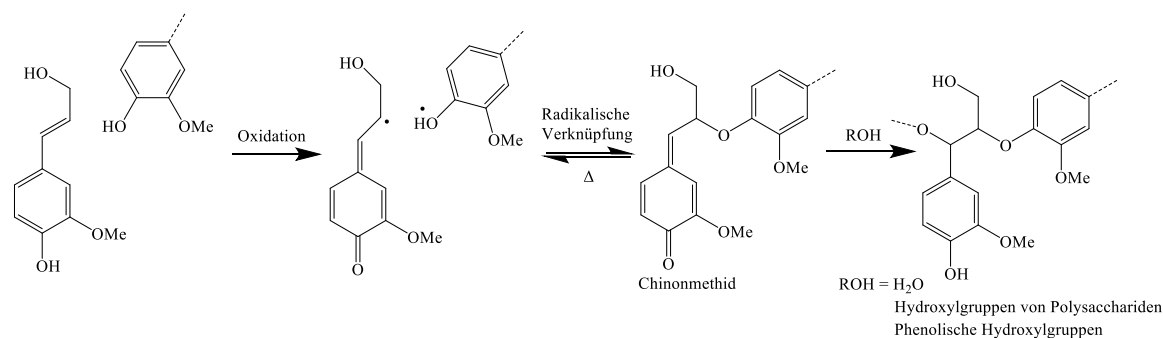


Abbildung 6 Bildung eines Chinonmethids durch oxidative Radikalbildung an Phenylpropanoid-Einheiten des Lignins und anschließende radikalische Verknüpfungsreaktion zu einem *para*-Quinonmethid-Intermediat. Anschließende Reaktion mit Wasser, Hydroxylgruppen von Polysacchariden und phenolische Hydroxylgruppen. Verändert nach [51].

Bei der β -O-4 Vernetzung entsteht zunächst ein Intermediat (Chinonmethid). Dabei handelt es sich um ein konjugiertes Keton als Oxidationsprodukt eines Hydroxyaromaten. Diese Intermediate werden umgehend durch Addition von Nucleophilen wie Wasser, Phenole, Säuren und neutrale Polysaccharide neutralisiert [51].

Die radikalische Kopplung von Monolignolen an endständige Gruppen des Makromoleküls wird angelsächsisch „end-wise polymerization“ bezeichnet. Die finale Zusammensetzung von Lignin wird daher häufig vor allem von der Reaktivität und Häufigkeit der an der Polymerisation beteiligten Einheiten abhängig gemacht.

Alternativ wird anstatt des Modells einer zufälligen Verknüpfung der Präkursormoleküle auch eine geordnete Struktur diskutiert, mit Wiederholeinheiten, die die Formulierung eines Polymerisationsgrades erlauben. Jedoch sprechen viele Merkmale wie die chemische Heterogenität der Ligninmarkomoleküle, die Anbindungsarten der Ligninmakromoleküle an die Polysaccharidstrukturen in der Zellwand und die Heterogenität der isolierten Lignin-Polysaccharidkomplexe (LPC), für das Konzept der ungeordneten Synthese der Ligninmakromoleküle. Bindungen zwischen Polysacchariden und Ligninmolekülen sind meist chemischer Natur. Es werden fünf mögliche Bindungsarten in LPC in der Literatur beschrieben [52]: Phenylglycoside, Benzylether, γ -Ester, Halbacetal/Acetal-Bindungen und Ferulat/Cumaratester.

Weniger verbreitet, aber dennoch vorhanden sind physikalische Bindungen, d.h. schwache Bindungen wie Wasserstoffbrückenbindungen oder Van-der-Waals-Wechselwirkungen. Polyosen, wie Mannose und Xylose sind in das Lignin eingebettet. Die am häufigsten vorgeschlagenen Bindungstypen sind Etherbindungen, Esterbindungen und glykosidische Bindungen [53].

Eine Besonderheit bei Gräsern ist, dass sie eine größere Menge an *p*-Cumarsäuren beinhalten, die an den γ -Kohlenstoff über Esterbindungen gekoppelt sind [54], Abbildung 7.

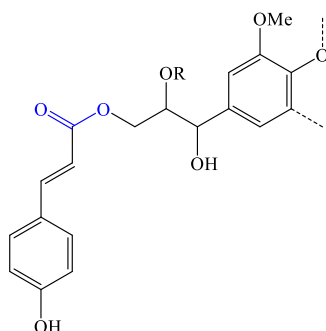


Abbildung 7 Kopplung der *p*-Cumarsäure über Esterbindung an den γ -Kohlenstoff eines Monolignolrests.

Andere Untersuchungen beschreiben auch eine umfangreiche Ausbildung von kovalenten Ether- und Esterbindungen am α -Kohlenstoff [53,55]. Die Hydroxyzimtsäuren Ferulasäure (FS) und *p*-Coumarsäure (*p*CS) können in der Zellwand von Gräsern an Vernetzungsreaktionen von Polysacchariden beteiligt sein [53,56–58]. Diese Kopplungsreaktionen können die Rekalzitranz der Zellwand erhöhen, indem die Zugänglichkeit der Polysaccharide für einen enzymatischen Abbau herabgesetzt wird [59,60]. Hier findet zunächst eine Anbindung der Säurefunktionalität von FS und *p*CS an die Hydroxylgruppen der Polysaccharide v.a. der Arabinofuranose der Arabinoxylyane statt, wie beispielsweise eine Anbindung der Ferulasäure an Arabinofuranose, Abbildung 8a [51,56,57,61].

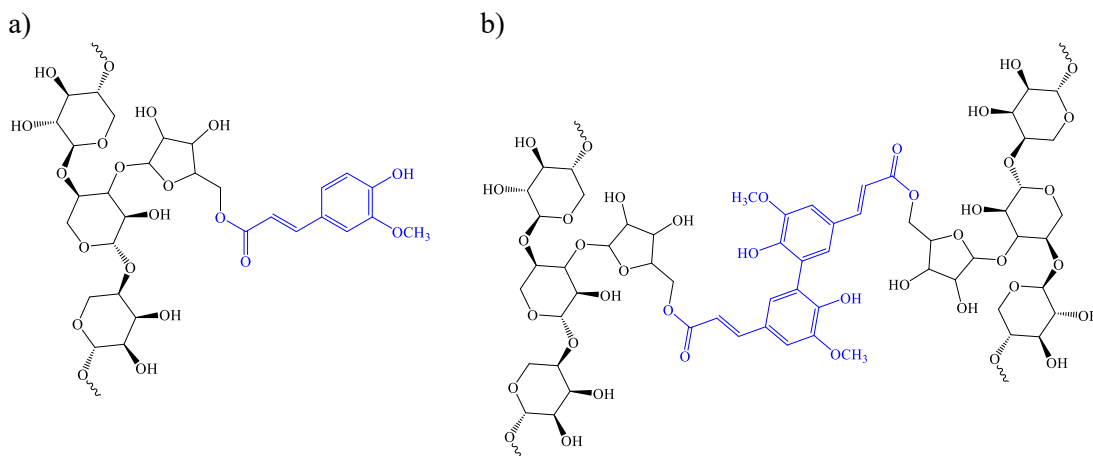


Abbildung 8 a) Strukturausschnitt einer Arabinoxylyose mit β -(1-4)-verknüpften Xylopyranosyl-Monomeren, worin einer dieser Monomere an Stelle C-(O)-2 mit einem α -L-Arabinofuranosyl-Rest substituiert ist. Veresterung an Stelle C-(O)-5 des L-Arabinofuranosyl-Rests mit Ferulasäure (FA) (blau). [62]. b) 5-5-Verknüpfung von zwei feruloylierten Arabinoxylyosen als eine der häufig auftretenden kovalenten Verknüpfungen nach [63].

Des Weiteren sind in geringerem Umfang auch 4-Hydroxybenzoesäure über Ester- und in kleinerem Umfang Etherbindungen an Polysaccharide substituiert, sowie ebenfalls über Esterbindungen die Syringasäure und die Vanillinsäure [64]. Die Anbindung dieser Stoffe an das Ligningerüst hat Einfluss auf das Wachstum [65], die Rekalzitranz [66], und die Zellwandsteifigkeit [67].

Die Vernetzung der Ferulasäurereste durch Bildung von Phenoxyradikalen über enzymatische Reaktionssysteme wie Peroxidase/H₂O₂, Manganperoxidase, Laccase/O₂, Polyphenoloxidase oder

chemische Reaktionssysteme führt zur Di- und Trimerisierung [28,56,63,68,69], Abbildung 8b. Es werden die fünf Bindungszustände zwischen den Ferulasäureresten β -O-4, β -5, β - β und 5-5 diskutiert, wobei die ersten beiden Bindungszustände zu dominieren scheinen [63,68,70]. Dies deckt sich mit den Berechnungen von Sangha et al., in denen die Bindungszustände zwischen den Monolignolen *p*-Cumarylalkohol, Coniferylalkohol und Sinapylalkohol in Form von β -O-4, β - β und β -5 mehr und in Form von 5-O-4, 5-5 und β -1 weniger bevorzugt sind [44]. Über die Berechnung der Spin-Dichten konnte die Regioselektivität der Monolignole bei radikalisch initiierten Kopplungsreaktionen theoretisch beschrieben werden [44,71].

Neben der kovalenten Verknüpfung zweier Ferulasäureeinheiten (Di-FS) konnten auch mehr Einheiten umfassende Oligomere wie Trimere (Tri-FS) nachgewiesen werden, die mit der Addition eines Phenoxyradikals an β -O-4- oder β -5-verknüpfte Di-FA in Verbindung gebracht werden [56,72–74]. In *p*-Cumarsäure-substituierten Molekülen werden analog isomere Diphenylcyclobutandicarbonsäuren (Truxillsäuren, Truxinsäuren) beschrieben, die aus einer photochemischen Dimerisierung hervorgehen [56,75]. Diese chemischen Zusammenlagerungen werden als ein wichtiger Vorgang beim Zellwandaufbau und bei der Regulierung der Zellwandexpansion gesehen und werden auch als Lignin-Ferulat-Polysaccharid-Komplexe bezeichnet [56]. Während *p*CS überwiegend über Esterbindungen an Lignin verknüpft sind, scheint FS sowohl über Ester- als auch über Etherbindungen an die Polysaccharide zu koppeln [64,76,77]. Für *p*CS wurde von Sun et al. ein Anteil von 67,0 – 83,5 % für verschiedene Organosolv-Lignine gefunden, worin *p*CS überwiegend über Esterbindungen an die Bindungspartner koppeln, ähnliche Beobachtungen wurden von Scalbert et al. gemacht [64,76]. Demgegenüber ist die Ferulasäure in ähnlichen Anteilen über Ether- und Etherbindungen angekoppelt, was eine intra- und intermolekulare Verknüpfung von Ligninfragmenten möglich macht und so zu einer starken Erhöhung der Molmasse führen kann [64]. Trotz vieler Jahrzehnte der Ligninforschung wurden erst vor einigen Jahren neue Fragmente und Bindungsmotive in Lignin aus Gräsern gefunden [78]. Dabei gibt es Hinweise, dass in allen Gräsern Flavone (Tricin) eine vergleichbare Stellung einnehmen wie die Phenylpropanoideinheiten *p*-Cumarylalkohol, Coniferylalkohol und Sinapylalkohol. Sie könnten so an der Ligninbiosynthese als Monomerbausteine teilnehmen [79,80].

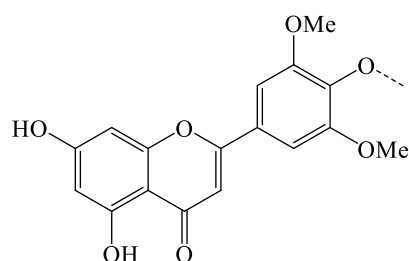


Abbildung 9 Das Flavon Tricin als monomerer Baustein für die Ligninbiosynthese in Süßgräsern (*Poaceae*).

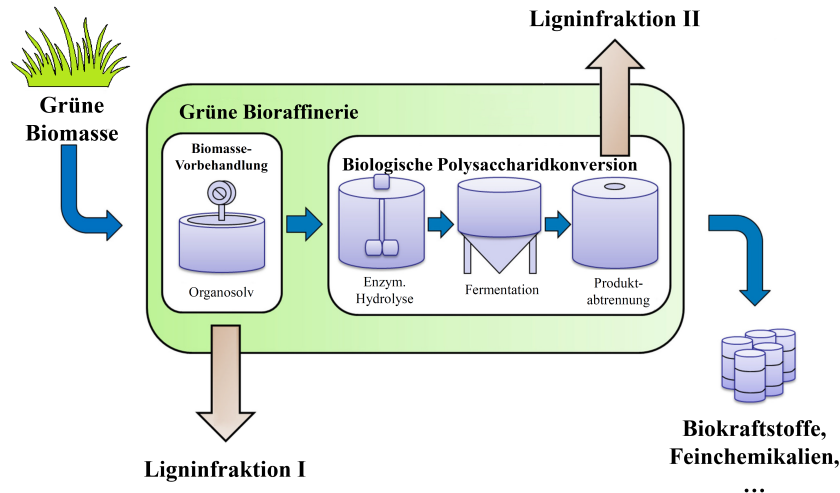
Lignin-Ferulat-Polysaccharid-Komplexe könnten neben Flavonen (Tricin) als Nuklei in der Ligninbiosynthese fungieren, indem ausgehend von den substituierten Polysacchariden radikalisch-mediierte Vernetzungsreaktionen starten [56,58,79,80]. Anders als FS scheinen *p*CS keine Vernetzungsreaktionen in der Zellwand zu initiieren, sondern als Radikalstarter für die Monolignole Sinapylalkohol und Coniferylalkohol zu fungieren, wodurch radikalische Vernetzungsreaktionen zwischen den Monolignolen und den entsprechenden -resten in Gang gesetzt werden [56]. *p*CS geht dabei Esterbindungen v.a. mit Sinapylalkohol ein [56,64,81]. In Abhängigkeit der an der Bindung beteiligten Partner (Polysaccharid, Ligninrest/Monolignol) können diese Esterbindungen sehr stabil sein [53]. An dieser Stelle muss erwähnt werden, dass die Strukturaufklärung von Lignin-Polysaccharid-Komplexen gegenwärtig Gegenstand des wissenschaftlichen Diskurses ist [52].

Der chemisch-strukturelle Aufbau des sog. Protolignins, als in der Pflanzenzellwand gebundenes natives Lignin, unterscheidet sich hinsichtlich Aufbau von technisch gewonnenen Ligninen (technische Lignine) teilweise erheblich [82]. Über viele Jahrzehnte wurde eine statistische Abfolge der Monolignole in Ligninmakromolekülen und eine dreidimensionale Netzwerkstruktur angenommen. Forschungsarbeiten der letzten Jahre fordern diese Annahme heraus indem eine weitaus regelmäßiger Ligninbiosynthese als angenommen vorgeschlagen wird. So wurden kürzlich lineare Ligninmoleküle isoliert und untersucht und strukturell in die Nähe des nativen Protolignins gestellt [49,83–86].

2.2 Lignin in der grünen Bioraffinerie

Technische Lignine können aufgrund ihrer chemischen Beschaffenheit in schwefelfreie und schwefelhaltige Lignine unterteilt werden. Die heute industriell wichtigsten technischen Lignine (Kraft-Lignin und Ligninsulfonat) gehören der letzten Gruppe an, da sie aufgrund von Reaktionen während der Ligninabtrennung im Zuge der Gewinnungsprozesse (Sulfat- und Sulfitprozess) schwefelhaltige Gruppen tragen. Zu den heute wichtigsten Vertretern der schwefelfreien Lignine mit industrieller Bedeutung zählen das Soda-, Organosolv-, Dampfdruck- und Hydrothermolyselignin [12]. Die meisten der heute entwickelten Bioraffineriekonzepte zur Polysaccharidkonversion von grüner Biomasse zu werthaltigen Zielprodukten liefern schwefelfreie Ligninströme, wie in Abbildung 10 beispielhaft dargestellt ist. Einerseits können Ligninfragmente unter relativ harschen Bedingungen (meist hohe Temperaturen, hoher Druck und saure oder alkalische Bedingungen) aus dem Zellwandverbund gelöst werden, indem chemische Bindungen (v.a. Aryl-Etherbindungen) gespalten werden (Ligninfraktion I). Andererseits kann ein ligninreicher Reststoff am Ende der biologischen Polysaccharidkonversion isoliert werden, indem Polysaccharide und Lignin-Polysaccharid-Komplexe in der Zellwand enzymatisch hydrolysiert werden und die dabei entstehenden Mono- und Oligosaccharide in Lösung gehen. Dabei wird ein ligninreicher Reststoff mit hohen Polysaccharid- und Ascheanteilen erhalten (Ligninfraktion II).

a)



b)

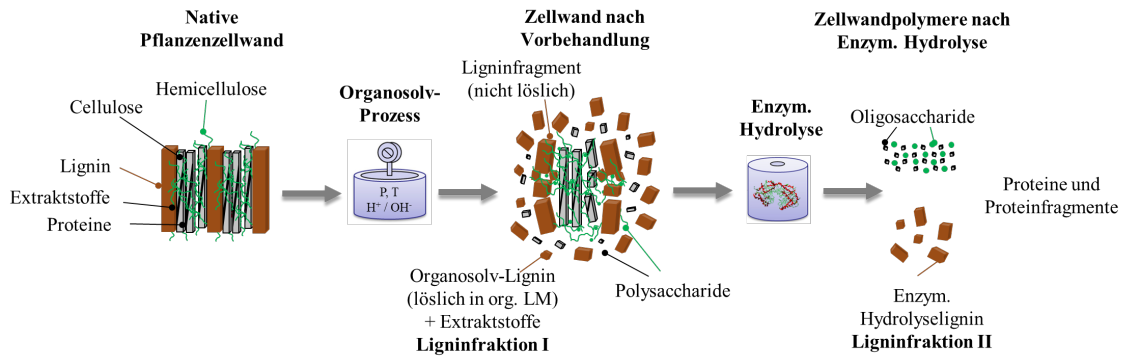


Abbildung 10 a) Möglichkeiten zur Abtrennung von Lignin in einer Grünen Bioraffinerie. Ligninabtrennung über druck- und temperaturinduzierte Bindungsspaltung und Flüssigextraktion aus dem Zellwandverbund mit organischen Lösungsmitteln (Ligninfraktion I), sowie Ligninabtrennung im Anschluss an die enzymatische Hydrolyse und ggf. fermentative Polysaccharidkonversion (Ligninfraktion II). Verändert nach [12]. **b)** Die bei der Biomassevorbehandlung (Organosolv-Prozess) und Polysaccharidkonversion (enzymatische Hydrolyse) ablaufenden Zellwandalterationen mit den Zellwandbestandteilen, Prozessschritten, Zwischen- und Endprodukten.

Allen Ligninisierungsrouten (chemisch, mechanisch, enzymatisch) ist gemein, dass sie den strukturellen Aufbau im Vergleich zum zellwandgebundenen Protolignin stark ändern, sodass technische Lignine als Mischungen aus Ligninfragmenten mit unterschiedlichen Molekulargewichten und strukturellen Merkmalen angesehen werden [18,87]. Über Ligninfraktion II berichten Wörmeyer et al. von vergleichsweise hohen Polysaccharidgehalten von bis zu 13 % und erklären dies mit einer unvollständigen enzymatischen Hydrolyse im Zuge der Polysaccharidkonversion [88].

Die mengenmäßig wichtigsten technischen Lignine stammen aus dem Papier- und Zellstoffherstellungsprozess und werden meist nach ihren jeweiligen industriellen Aufschlussprozessen benannt, dies sind v.a. Kraft-Lignin, Ligninsulfonat, Soda-Lignin, Organosolv-Lignin. Wie bereits zuvor beschrieben tragen Kraft-Lignin und Ligninsulfonat (aufschlussbedingt) schwefelhaltige Gruppen, die in weiterführenden Behandlungsrouten oder in der finalen Anwendung stören und so Reinigungsschritte erforderlich machen können [89]. Demgegenüber werden Organosolv- und Soda-

Lignin hinsichtlich Reinheit und chemisch strukturellem Aufbau näher zum Protolignin gestellt [17,28,87,88]. Der Organosolv-Prozess ist in der Papier- und Zellstoffindustrie heute noch wenig verbreitet, hat aber in den letzten Jahren im Zuge der Herstellung von Biokraftstoffen an Bedeutung hinzugewonnen und wird im Vergleich zum Sulfat- und Sulfitaufschluss als umweltverträglich angesehen [18,90]. Beim Organosolv-Prozess wird das Lignin aus der Pflanzenzellwand mit organischen oder gemischt organisch-wässrigen Lösungsmitteln (z.B. Alkohol/Wasser, Ketone und Glykole) extrahiert [90]. Zur Katalyse der Bindungsspaltung kann dem Lösungsmittel geringe Mengen an Säure oder Base hinzugesetzt sein. Während des Organosolv-Aufschlusses kann es zu Kondensationsreaktionen kommen, an denen entstandene Carbokationen und Chinonmethid-Intermediate beteiligt sein können [91]. Im Vergleich zu den anderen oben genannten technischen Lignine zeigen Organosolv-Lignine verhältnismäßig hohe Reinheiten, geringe Schwefelgehalte, geringe Molekulargewichte, enge Molekulargewichtsverteilungen, schlechte Wasserlöslichkeiten und gute Löslichkeiten in organischen Lösungsmitteln [92,93]. Darüber hinaus können in Bioraffinerien Organosolv-Ligninfraktionen mit gewünschten Eigenschaften mittels Lösungsmittelextraktion, Fällungsfractionierung oder Ultrafiltration gewonnen werden [94–98].

2.3 Technische Lignine in thermoplastischen Werkstoffen

Thermoplaste und Duroplaste sind neben den Elastomeren die zwei grundlegenden Polymerhauptklassen basierend auf deren Verhalten in Abhängigkeit von der Temperatur. In duroplastischen Werkstoffen werden Polymerketten unter Hitzeeinwirkung irreversibel vernetzt, wodurch eine dreidimensional vernetzte Struktur entsteht. Dadurch können vorteilhafte Eigenschaften in Bezug auf Temperaturbeständigkeit, Lösungsmittelbeständigkeit, Ermüdungsverhalten und Formbeständigkeit eingestellt werden. Die vernetzten Polymerketten werden jedoch unlöslich und nicht mehr schmelz- und erweichbar. In Thermoplasten erweichen die Polymerketten unter Hitzeeinwirkung und gehen in den plastischen Zustand über. Dies erfolgt über kurzzeitige Aufhebung von physikalischen Wechselwirkungen zwischen den Makromolekülen. Dieser Vorgang ist reversibel und kann viele Male vollzogen werden, ohne dass dadurch inhärente Materialeigenschaften maßgeblich verändert werden. Dies ist für zahlreiche polymertechnische Verarbeitungen eine Grundbedingung und gewinnt durch das Bestreben, Stoffkreisläufe zu schließen, an Wichtigkeit. Thermoplaste können darüber hinaus eine hohe Schlagzähigkeit und Chemikalienbeständigkeit aufweisen. Thermoplaste sollen anwendungsbezogen meist eine niedrige Viskosität, hohe thermische Beständigkeit und gute mechanische Eigenschaften aufweisen.

Technische Lignine können aufgrund des komplexen molekularen Aufbaus, einer (wenn auch bedingten) Reversibilität des Übergangs vom festen in den fließfähigen Zustand und dem Fehlen eines definierbaren Schmelzbereichs als amorphe Thermoplaste bewertet werden. Von Organosolv-Ligninen

wurden bisher verhältnismäßig niedrige Glasübergangstemperaturen T_g berichtet (70-109 °C) [17,18,28,99,100]. Die in der Literatur beschriebene Glasübergangstemperatur von technischen Ligninen unterscheiden sich vor allem in Abhängigkeit von der Rohstoffart, der Extraktionstechnologie und den -bedingungen. Die Glasübergangstemperaturen in Verbindung mit der hohen Steifigkeit werden dabei von Cui et al. mit - zwischen den aromatischen Ringen wirkenden - π - π -Wechselwirkungen in Zusammenhang gebracht [95,101]. Demnach sollten die makromolekularen Struktureinheiten vielmehr als assoziierte Komplexe denn als einzelne, entschlaupte Ligninmoleküle gesehen werden [84–86]. Wang et al. und Chen et al. beschrieben auf Grundlage von Untersuchungen mittels AFM zwei Lignin-Domänen in aufgereinigten technischen Ligninen. In der inneren Domäne der assoziierten Komplexe nehmen die aromatischen Ringe aufgrund sterischer Effekte eine Sandwich-Anordnung der aromatischen Ringe mit überlappenden π -Orbitalen an. In der äußeren Domäne sind die aromatischen Ringe T-förmig angeordnet [83,84]. Durch Zusammenlagerung vieler solcher Komplexe über randständige Domänen oder sehr niedermolekulare Ligninfragmente oder Monolignole können lückenlos zusammenhängende, supramolekulare Strukturen entstehen [84]. Thermische, rheologische und mechanische Eigenschaften werden daher maßgeblich von Orbital-Interaktionen zwischen aromatischen Ringen und den damit einhergehenden Assoziationszuständen der Lignineinheiten bestimmt [17].

Die Untersuchung der Glasübergangstemperatur erfolgt meist kalorimetrisch mittels Dynamischer Differenzkalorimetrie (DSC), da hier mit relativ geringen Probenmengen gute Untersuchungsergebnisse in Polymersystemen gewonnen werden können [102]. In zahlreichen technischen Ligninen ist am Glasübergang ein Anstieg der Wärmekapazität (C_p) zu beobachten. Die Höhe des Anstiegs von C_p und der Temperaturbereich hängt dabei z.B. von der Herkunft der Probe, der Charakterisierungsmethode und der thermischen Historie ab. Durch thermische Behandlung nahe und oberhalb der Glasübergangstemperatur kommt es zu einer Enthalpielaxation, verbunden mit einem breiten endothermen Ausschlag in der Wärmekapazitätskurve [16,102]. Hatakeyama et al. zeigten, dass C_p mit Behandlungstemperatur und -dauer absinkt, was auf strukturelle Änderungen im glasartigen Zustand und der Reduktion der molekularen Mobilität hinweisen könnte [102]. Um die thermische Geschichte (unrelaxierte Molekularstrukturen etc.) aus einer Probe vor der eigentlichen Messung zu entfernen, empfehlen Protokolle eine Wärmebehandlung bei 120 °C für 10 min [103]. Strukturelle Änderungen (chemisch durch Aufbau kovalenter Bindungen und/oder physikalisch durch Aufbau von H-Brücken) führen zu einer verringerten Molekülmobilität und entsprechend zur Verringerung und Verschiebung des endothermen Ausschlags bei nochmaligem Aufheizen [104].

Chemische Modifizierungen der aliphatischen und aromatischen Hydroxylgruppen können hingegen die molekulare Beweglichkeit steigern und verbessern die thermoplastischen Eigenschaften in Bezug auf die thermische Stabilität des Ligningerüsts (Verringerung der Vernetzungsneigung) [46]. Thermomechanische Untersuchungen an fraktionierten technischen Ligninen deuten auf einen kausalen

Zusammenhang zwischen Molekulargewicht und Glasübergangstemperatur T_g sowie Erweichungstemperatur T_s hin. Höhere Molekulargewichte wurden dabei mit höheren Werten für T_g und T_s gebracht [105,106]. Demgegenüber zeigten Glasser et al. bereits 1975, dass durch einen steigenden Esterifizierungsgrad die Glasübergangstemperatur T_g sinkt [107]. Dies kann durch die mit der Substitution verbundenen Reduktion von intra- und intermolekularen Wechselwirkungen (H-Brückenbindungen, Van-der-Waals-Ww., π - π -Wechselwirkungen) und der damit verbundenen Vergrößerung des freien Volumens erreicht werden. Auch das Einbringen von Plastifiziermitteln und inneren Weichmachern kann das freie Volumen erhöhen [18]. Jedoch neigen solche Additive oftmals zur Migration, was eine frühzeitige Versprödung des Werkstoffs zur Folge haben kann und die mechanischen Eigenschaften werden meist geschwächt.

Radikalische Vernetzungsreaktionen im Lignin erhöhen meist die Steifigkeit und können zu einer schlechten Formbarkeit in nachgelagerten Prozessen führen [17]. Um Vernetzungsreaktionen an Lignin zu verhindern, werden verschiedene Wege vorgeschlagen, die die Temperaturführung oder die Substitution von funktionellen Gruppen wie aliphatische und phenolische Hydroxylgruppen in Lignin betreffen [108,109]. Als hinreichend thermoplastische Eigenschaften werden heute eine ausreichend hohe thermische Stabilität und ein geeignetes Fließverhalten gesehen, wobei eine sehr tiefgreifende Untersuchung der Prozess-Struktur-Eigenschaftsbeziehungen bislang nicht erfolgte [17,18,28].

Des Weiteren leitet sich aus der Literatur Forschungsbedarf zur Erarbeitung der wissenschaftlichen Basis für Lignin-Verbundwerkstoffe mit hohen bis sehr hohen Ligningehalten ab [17]. Eine Möglichkeit, um die Leistungsfähigkeit von hochgradig ligninbasierten Thermoplasten zu steigern, ist das direkte Mischen in der Schmelze mit synthetischen Polymeren (engl. Blending). Dies ist gegenüber einer zumeist aufwändigen chemischen Modifizierung ein einfacher und kostengünstiger Weg, um Lignine mit den benötigten viskoelastischen und mechanischen Eigenschaften zu versehen [17,110]. Sie bieten gegenüber ligninbasierten Copolymeren eine hohe Flexibilität in der Wahl der Blendpartner und bedienen sich gut entwickelter Prozesstechnik (meist Doppelschneckenextruder). Technische Lignine können mit anderen Blendpartnern mischbar sein, wenn diese in ausreichendem Umfang intermolekulare Wechselwirkungen mit den Ligninfragmenten ausbilden können. Eine Mischbarkeit ist thermodynamisch gesehen ungünstig, wie aus der Gleichung zur Berechnung der Gibb'schen Energie hervorgeht, Gleichung 1:

$$\Delta G_m = \Delta H_m - T\Delta S_m < 0 \quad \text{Gl. 1}$$

mit G_m der Gibb'schen freien Energie, H_m der Mischungsenthalpie, T der absoluten Temperatur und S_m der Mischungsentropie. Da der Term $T\Delta S_m$ aus entropischen Effekten immer positiv ist, hängt ΔG_m nur von dem Wert der Mischungsenthalpie ab. Für eine vollständige Mischbarkeit müssen die exothermen intermolekularen Kräfte derart gestaltet sein, dass die Mischungsenthalpie aufgrund von exothermen Reaktionen ausreichend negativ wird, indem hierüber entropische Gegenkräfte überwunden werden können [17,111]. Dies können z.B. Wasserstoffbrückenbindungen oder Säure-Base-Interaktionen sein

[111]. Eine dann vollständige Mischbarkeit zeigt sich in einer homogenen Verteilung der Polymere, wobei die Domänengrößen in der Größenordnung der statistisch anzutreffenden makromolekularen Einheiten sind. Analytische Methoden zur Untersuchung von Mischbarkeiten und Kompatibilitäten der Blendpartner können mittels DSC und Fourier-Transform Infrarotspektroskopie (FTIR) angewandt werden [111,112]. Sind die Polymerpartner miteinander kompatibel, jedoch nicht oder nicht vollständig ineinander mischbar, können zwei jeweils um einen gewissen Betrag verschobene Glasübergänge beobachtet werden [113]. Die Lagen der T_g -Werte sind abhängig von den T_g -Werten der individuellen Blendpartner, von den Massenanteilen und den intermolekularen Wechselwirkungen zwischen den Blendpartnern [100,113–115]. Kubo und Kadla konnten zeigen, dass phenolische Hydroxylgruppen aufgrund der schwächeren Anbindung des Wasserstoffs stärker zu intermolekularen Wechselwirkungen mit polaren Polymeren neigen als aliphatische Hydroxylgruppen [100,115].

Die Rolle des Lignins als Füll- und Verstärkungsstoff oder als Polymermatrix wird durch die Mischbarkeit maßgeblich bestimmt. In nicht mischbaren Lignin-basierten Systemen hängen die mechanischen Eigenschaften von der Größe der Füll- und Verstärkungsstoffe (d.h. der Ligninpartikelgröße), deren Anbindung an die Polymermatrix und deren Volumenanteil ab [17,116]. Der bei weitem überwiegende Anteil der zugänglichen wissenschaftlichen Literatur, worin Blendsysteme mit Lignin untersucht wurden, beschreibt den Einsatz von Lignin entweder als Funktionsadditiv (Anteil bis ca. 5 %) oder als Füllstoff. Selten gibt es Untersuchungen zu Struktur und Eigenschaften von Blendsystemen mit einem hohen Ligninanteil von > 40 %. Dies wird v.a. auf die verhältnismäßig spröden und schwachen Werkstoffeigenschaften sowie die unzureichenden thermoplastischen Eigenschaften zurückgeführt, selbst wenn das Lignin chemisch angebunden wird [86]. Daher soll in dieser Arbeit untersucht werden, welche strukturellen chemischen und physikalischen Merkmale aus Süßgräsern hervorgegangene Lignine in Polymerblends haben. Dabei sollen insbesondere solche Polymerblends untersucht werden, die einen hohen Ligninanteil (> 50 %) aufweisen, um die Vorgänge am Übergang von duktilem Verhalten zum spröden Verhalten zu untersuchen. Außerdem wird hierbei die Beschreibung von thermisch-induzierten Reaktionen angestrebt, um hieraus ein Modell abzuleiten. Schließlich sollen thermische Energieeinträge sowie Scherenergieeinträge gezielt variiert werden, um über die Beschreibung der strukturellen Änderungen die physikalischen Eigenschaften gezielt einstellen zu können.

3. Methoden

3.1 Bestimmung der Fließeigenschaften von Kunststoffschmelzen mittels Micro-Compoundierung

Thermoplastische Kunststoffmassen sind nach Überschreiten eines materialabhängigen Temperaturbereichs fließfähige Medien, insofern thermisch induzierte, chemische oder physikalische Vorgänge die strukturellen Eigenschaften nicht maßgeblich verändern.

Im Micro-Compounder werden die Massen, die entsprechend temperiert und geschert werden und damit plastisch fließend sind, durch Druck in einem als Schlitzkapillare ausgeführten Rückflusskanal im Kreis geführt. Der im Einlaufbereich vorhandene Druck fällt bis zum Kapillarende hin ab. Aus dem Druckgradienten $\Delta P/l$ und dem pro Zeiteinheit geförderten Volumen Q_v können bei einer gegebenen Temperatur rheologische Kennwerte ermittelt werden [117,118].

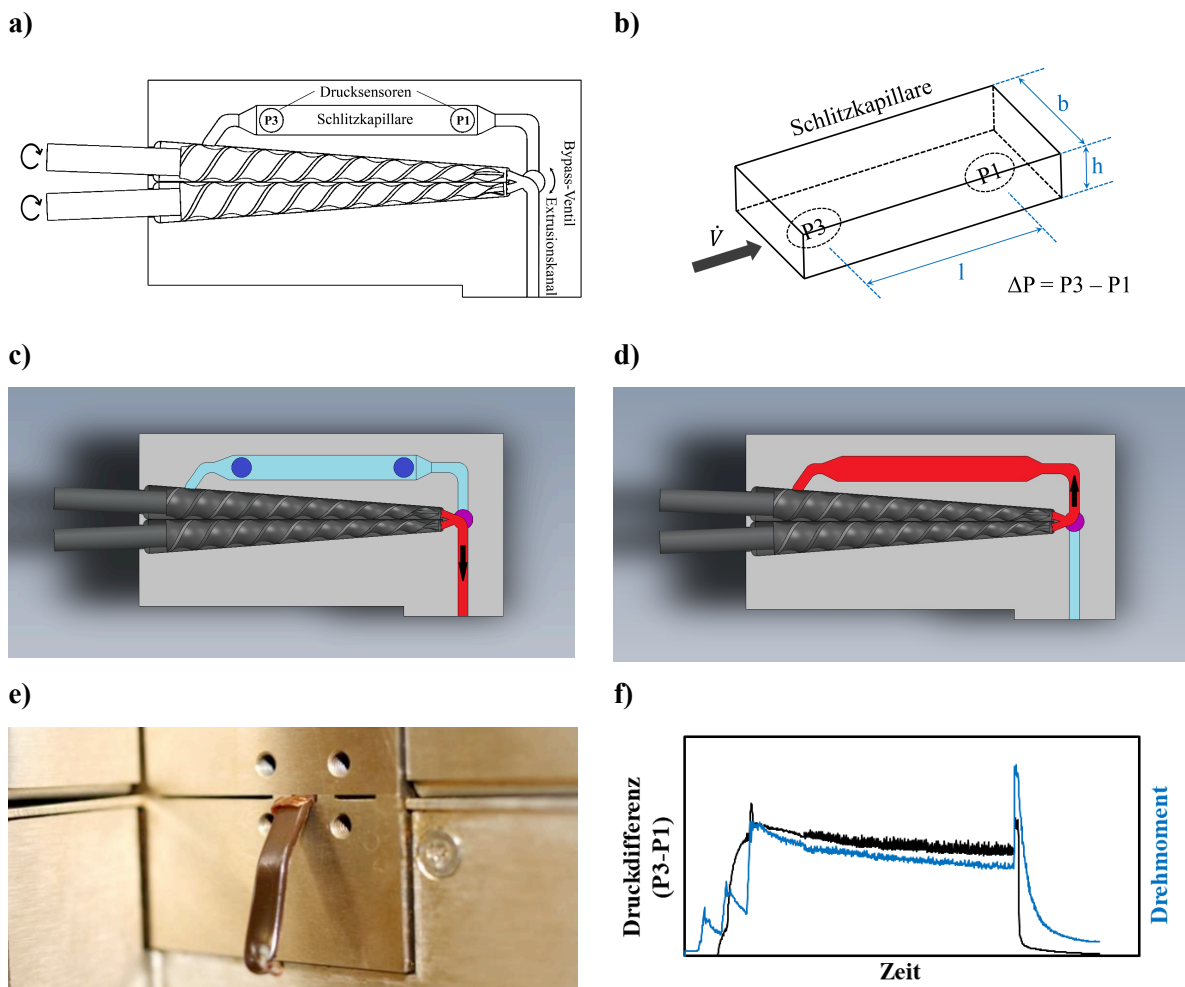


Abbildung 11 a) schematische Darstellung Micro-Compounder Haake Minilab II b) Geometrie der Schlitzkapillare und Lage der Drucksensoren P1 und P3 c) Stellung des Bypass-Ventils im Extrusionsbetrieb d) Stellung des Bypass-Ventils im Rückflussbetrieb e) Düsenaustritt eines Lignin-Verbundwerkstoffes f) Diagramm mit Darstellung der zeitabhängigen Messdatenerfassung von Druckdifferenz im Rückflusskanal (Schlitzkapillare) und Drehmoment.

In einer durchströmten Schlitzkapillare bildet sich dabei ein Strömungsprofil aus. Dabei treten die maximalen Scherspannungen in den Wandbereichen auf.

Für laminare Strömungen und unter der Annahme von linear viskosem Fließverhalten (Bedingung für newtonsche Fluide) kann für den Grad der Zähflüssigkeit η (Viskosität) angenommen werden, dass die Scherspannung τ nahezu proportional zur Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma}$ ist, Gleichung 2.

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad (2)$$

Bei Annahme einer laminaren Strömung in der Schlitzkapillare ergeben die Summe aller auf ein quaderförmiges Fluidelement wirkenden Kräfte null, wie in Abbildung 12 und Gleichung 3 gezeigt.

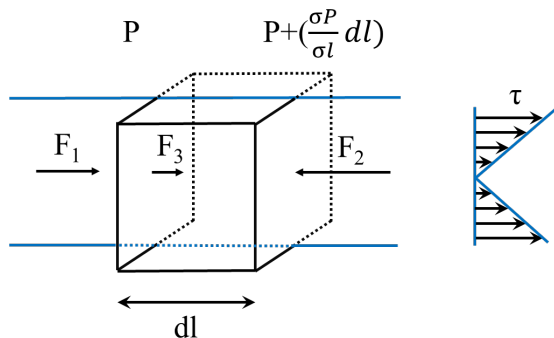


Abbildung 12 Kräftegleichgewicht an einem quaderförmigen Fluidelement und daraus resultierende Schubspannungsverteilung τ in einer stationären Strömung in einer Schlitzkapillare

$$\sum F = F_1 + F_2 + F_3 \quad \text{Gl. 3}$$

mit

$$F_1 = P \cdot (bh) \quad \text{„hydrostatische Kraft“} \quad \text{Gl. 4}$$

$$F_2 = -(P + \left(\frac{\sigma P}{\sigma l}\right) dl)(bh) \quad \text{„hydrostatische Gegenkraft“} \quad \text{Gl. 5}$$

$$F_3 = (2(b + h)l)\tau_w = (2bl + 2hl)\tau_w \quad \text{„Strömungswiderstand Kapillarwandung“} \quad \text{Gl. 6}$$

Für Schlitzkapillaren in denen die Höhe sehr viel kleiner als die Breite ist ($h \ll b$) kann vereinfachend angenommen werden $F_3 = (2bl)\tau_w$.

Durch Einsetzen von Gleichung 4-6 und Umstellen ergibt sich die Wandscherspannung τ_w in Abhängigkeit vom Druckabfall wie folgt, Gleichung 7.

$$\tau_w = \left(\frac{\Delta P}{2l}\right) \left(\frac{bh}{h+b}\right) = \left(\frac{\Delta P h}{2l}\right) \left(\frac{1}{\frac{h}{b} + 1}\right) \quad \text{Gl. 7}$$

mit h der Höhe der Schlitzkapillare (1,5 mm), l dem Abstand zwischen den Drucksensoren P1 und P3 (64 mm) und ΔP dem Druckabfall zwischen den Drucksensoren.

Die Wandschergeschwindigkeit oder scheinbare Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma}_a$ ermittelt sich dann aus dem Volumenstrom Q_v und der Geometrie des Kapillarquerschnitts, Gleichung 8.

$$\dot{\gamma}_a = \left(\frac{6}{bh^2} \right) Q_V \quad \text{Gl. 8}$$

Der Volumenstrom Q_V wird für einen bestimmten Parametersatz nach Gleichung 9 bestimmt.

$$Q_V = \frac{\dot{m}}{\rho_S} \quad \text{Gl. 9}$$

mit \dot{m} dem Massenstrom und ρ_S der Schmelzedichte.

Der Massenstrom ergibt sich aus Gleichung 10:

$$\dot{m} = \frac{m}{t} \quad \text{Gl. 10}$$

mit m der Masse des plastifizierten Materials und t der Extrusionszeit. Im Micro-Compounder wird sodann der Massenstrom \dot{m} für einen gegebenen Parametersatz bestimmt. Die Schmelzedichte kann über Gleichung 11 bestimmt werden:

$$\rho_S = \frac{4 \times m}{\pi \times d^2 \times v \times t} \quad \text{Gl. 11}$$

Die Extrusionsgeschwindigkeit v wird anhand von Messungen im Schmelzindexprüfgerät nach DIN ISO 1133 durchgeführt. Hierzu wird die bereits einmal im Micro-Compounder plastifizierte Masse in einen beheizbaren Zylinder mit $d = 9,5500$ mm gegeben. Am unteren Ende des Prüfgeräts befindet sich eine Düse aus Wolframkarbid mit $d = 2,0955$ mm. Die Düse wird mit einer Sperrvorrichtung verschlossen. Nach Befüllen des Zylinders wird ein Kolben in den Zylinder eingebracht, der die Schmelze mit einem definierten Gewicht von 10 kg belastet. Nach einer Wartezeit von 5 min bei der definierten Temperatur wird der Test gestartet und nach einem definierten Zeitintervall t von z.B. 60 s beendet. Die im Zeitintervall durch die Düse getretene Probenmasse m wird erfasst, sowie die Länge l und der Durchmesser d des entstandenen Filaments gemessen. Die Extrusionsgeschwindigkeit bei bekanntem Düsendurchmesser d berechnet sich dann zu $v = l/t$.

Im Gegensatz zu Newtonschen Materialien, in denen Energie durch Molekülkollisionen nicht verloren geht, sind in nicht-Newtonschen Fluiden Viskosität η und Schergeschwindigkeit γ nicht direkt proportional zueinander und daher zunächst unbekannt. Aufgrund des strukturviskosen Fließverhaltens und der damit einhergehenden scherverdünnenden Eigenschaft kommt es in der Schlitzkapillare zu einer Abweichung (starke Krümmung zur Wand hin) vom parabelförmigen Geschwindigkeitsprofil.

Um dieses nicht-Newtonsche Verhalten zu berücksichtigen, wird die zuvor ermittelte Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma}_a$ korrigiert. Zur Berechnung des sog. Fließexponenten n nach Weissenberg-Rabinowitsch werden Messpunkte von Wandscherspannung τ_w und scheinbarer Schergeschwindigkeit $\dot{\gamma}_a$ in einer doppelt-logarithmischen Darstellung aufgetragen. Der Weissenberg-Rabinowitsch-Korrekturfaktor n kann dann über die Ermittlung der Steigung ermittelt werden.

Für Schlitzkapillaren mit einem sehr kleinen Höhe-zu-Breite Verhältnis nahe 0 wird häufig Gleichung 12 angenommen.

$$\dot{\gamma}_w = \frac{2n + 1}{3n} \left(\frac{6Q}{WH^2} \right) = \frac{2n + 1}{3n} \dot{\gamma}_a \quad \text{Gl. 12}$$

Dies basiert auf der Annahme, dass die Schergeschwindigkeit weitgehend unabhängig von der lateralen Position des Fluidelementes ist, da sich die Fluidelemente in der Nähe der Kapillarwandung nur geringfügig auf den gesamt gemessenen Druckabfall auswirken.

Für die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Kalkulationen wurde zur Reduktion von systematischen Fehlern das Vorgehen nach Son (2006) für Schlitzkapillaren mit rechteckigem Querschnitt mit einem Höhe-zu-Breite (h/b) Verhältnis von 0,15 gewählt, Gleichung 13 [117].

$$\dot{\gamma}_w = \dot{\gamma}_a \left(\frac{b^*}{f^*} + \frac{a^*}{f^*} \times \frac{1}{n} \right) \quad \text{Gl. 13}$$

mit $a^* = 0,3781$, $b^* = 0,8745$ und $f^* = 0,8351$.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1 Beschreibung der Publikationen

Die zentralen Forschungsfragen der vorliegenden Arbeit sind I) die Erforschung von hochreinem Lignin aus Süßgräsern (*Poaceae*) unter Beschreibung von physikalischen, chemisch-strukturellen und thermischen Eigenschaften sowie II) die Beschreibung der durch Hitze und Scherbeanspruchung im Zuge einer Compoundierung zum Polymerblend auftretenden strukturellen Änderungen. Nachstehend werden die wesentlichen Ergebnisse aus den zur Veröffentlichung eingereichten und angenommenen Arbeiten vorgestellt, die die formulierten Forschungsfragen behandeln. Die Reihenfolge der Vorstellung entspricht der Chronologie der Annahme.

Publikation I

- I) Schwarz, D., Dörrstein, J., Kugler, S., Schieder, D., Zollfrank, C., Sieber, V., 2016. Integrated biorefinery concept for grass silage using a combination of adapted pulping methods for advanced saccharification and extraction of lignin. *Bioresource Technology* 216, 462–470.

Es wird ein integriertes Bioraffineriekonzept für Dauergrünland vorgeschlagen, bei dem im Gegensatz zu bestehenden Konzepten erstmals der Zugang zu hochreinem Lignin aus silierten (lagerstabilen) Süßgräsern (*Poaceae*) mit hohen Ausbeuten geschaffen wird. Zur Steigerung des Ligningehalts der Biomasse für den sich anschließenden Organosolv-Prozess wird zunächst die Trockensubstanz kontinuierlich in einer Schneckenpresse erhöht, wodurch der Extraktstoffgehalt gesenkt werden kann. Die hierüber erhaltenen strukturellen Faserrückstände werden dann einer mechanisch unterstützten enzymatischen Verzuckerung unterzogen und anschließend in einem Organosolv-Prozess aufgeschlossen. Die Einflüsse der Behandlungsschritte auf die Freilegung der Zellwandbestandteile werden durch XRD-Untersuchungen (Struktur) und SEM-Untersuchungen (Morphologie) während der Behandlungsschritte belegt und mit den Saccharidfreisetzungen und der Zusammensetzungen der erhaltenen Ligninfraktionen diskutiert. Das integrierte Bioraffineriekonzept ermöglicht hohe Saccharid-Solubilisierungen mit Prozessausbeuten von 98 % Glucose und 73 % Xylose sowie die Gewinnung von 41 % an hochreinem Lignin. Trotz des (rohstoffbedingt) verhältnismäßig geringen Ligningehalts in silierten Süßgräsern, kann durch die Kombination aus mechanisch-enzymatischer Vorbehandlung von Süßgräsern und sich anschließendem Organosolv-Prozess eine effiziente Ligninabtrennung erfolgen. Das Waschen der Fasern nach der Organosolv-Behandlung kann die Ligninausbeute zusätzlich erhöhen und es reduziert die Abscheidung von gelöstem Lignin auf dem verbleibenden Faserfeststoff. Das isolierte Lignin enthält geringe Mengen (< 2 %) an Sacchariden und Asche. Diese Ergebnisse zeigen die Machbarkeit und Effizienz des im Labormaßstab erforschten Bioraffineriekonzepts besonders in Bezug auf die Saccharidfreisetzung und Ligninrückgewinnung.

Leistungsbeiträge des Kandidaten:

Der Autor der vorliegenden Arbeit hat maßgeblich zur Identifikation des Forschungsthemas sowie zur Konzeption und Realisierung der Forschung beigetragen. Er adaptierte die Methode zur Gewinnung von hochreinem Lignin aus Süßgräsern mittels Organosolv-Aufschluss und führte diese Experimente selbstständig durch. Des Weiteren umfassten die Arbeiten die teilweise Aufbereitung und Analyse der Ergebnisse sowie die Ausarbeitung und das Verfassen des Manuskripts gemeinsam mit den Co-Autoren. Die beiden Erstautoren haben gleichermaßen zur Veröffentlichung beigetragen.

Publikation II mit Datensatz (Publikation III)

- II) Dörrstein, J., Scholz, R., Schwarz, D., Schieder, D., Sieber, V., Walther, F., Zollfrank, C., 2018. Effects of high-lignin-loading on thermal, mechanical, and morphological properties of bioplastic composites. *Composite Structures* 189, 349–356.
- III) Dörrstein, J., Scholz, R., Schwarz, D., Schieder, D., Sieber, V., Walther, F., Zollfrank, C., 2018. Dataset on the structural characterization of Organosolv-Lignin obtained from ensiled *Poaceae* grass and load-dependent molecular weight changes during thermoplastic processing. *Data in Brief* 17, 647–652.

In dieser Studie werden die Einflüsse einer hohen Lignin-Konzentration (> 50 %) auf die Eigenschaften von Lignin/Polyethylen-Co-Vinylacetat (EVA)-Verbundwerkstoffen untersucht. Dabei werden zunächst die thermischen und thermisch-induzierten Eigenschaften von Organosolv-Lignin aus Süßgräsern (*Poacea*) beschrieben. Die Ergebnisse der mechanischen (quasistatischen und zyklischen) und rheologischen Untersuchungen schlagen einen spröde-duktilen Übergang bei einem Lignin-Volumenanteil von $\varphi_L = 0,59$ vor. Um diesen Volumenanteil herum wird ein starker Anstieg der Viskosität während des Compoundiervorgangs beobachtet. Mit zunehmenden Ligningehalten steigt die dynamische Steifigkeit, was erstmals anhand von Untersuchungen an Lignin-Verbundwerkstoffen mittels Laststeigerungsversuchen (LIT) diskutiert wird. Ebenfalls erstmalig werden die Kriechigenschaften an thermoplastischen Lignin-Verbundwerkstoffen mittels Analysen zur Ultra-Mikrohärte erfasst, wodurch eine geringere Kriechneigung bei Verbundwerkstoffen mit hohen Lignin-Anteilen abgeleitet wird. Bei $\varphi_L = 0,59$ wurde mittels Dynamischer Differenzkalorimetrie eine ausgeprägte Relaxationsendotherme beobachtet, die den Glasübergang (T_g) überlagert. Das weist auf Spannungszustände auf molekularer Ebene in hochgefüllten Lignin-Verbundwerkstoffen hin, womit auch der deutlich höhere Werte für M_w des Lignins bei diesem Volumenanteil erklärt werden könnte. Diese Ergebnisse werden durch die veränderte Rolle des Lignins bei hohem Volumenanteil erklärt, d.h. ein Wechsel von Lignin als rein steifigkeitserzeugender Füllstoff zu einer festigkeitsgebenden und ermüdungsbeständigen Matrixkomponente, was durch die morphologische Analyse bestätigt wird.

Leistungsbeiträge des Kandidaten:

Der Autor hat die Forschungsfrage formuliert, den Versuchsplan erstellt und die Experimente mit Ausnahme der Laststeigerungsuntersuchung und den Untersuchungen zur Ultramikrohärte durchgeführt. Er hat die Ergebnisse analysiert und interpretiert, sowie die Publikation federführend ausgearbeitet und verfasst und mit seinen Co-Autoren abgestimmt. Die Publikation III ist ein Datensatz zur Publikation II und damit dieser direkt zugeordnet.

Publikation IV

Dörrstein, J., Schwarz, D., Scholz, R., Walther, F., Zollfrank, C., 2021. Tuneable material properties of Organosolv-Lignin biocomposites in response to heat and shear forces. *European Polymer Journal* 148, 110359.

Lignin ist ein erneuerbares Biomakromolekül und ist damit ein nachhaltiges Ausgangsmaterial für die Herstellung von Biokunststoffen und Biokunststoff-Verbundwerkstoffen. In den meisten Makromolekülen führen hohe Temperaturen und Scherkräfte zu einer Spaltung der Bindungen im Polymergerüst aufgrund von Überhitzung und Reibung zwischen molekularen Bestandteilen.

Diese Studie zeigt erstmalig, dass ingenieurtechnisch relevante Materialeigenschaften (z. B. thermische Stabilität, mechanische Eigenschaften) während der Compoundierung durch gezielte Steuerung des thermischen und mechanischen Energieeintrags zielgerichtet eingestellt werden können, indem Vernetzungsreaktionen im Lignin genutzt werden.

Aus siliertem Gras gewonnenes Organosolv-Lignin zeigt *in-situ*-Kopplungsreaktionen bei Temperaturen unterhalb des Hauptabbaupunktes ($< 200\text{ °C}$), was zu einer bis zu 6-fachen Erhöhung des M_w führt. Die Ergebnisse der Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie (FTIR) deuten auf die Ausbildung von kovalenten Bindungen hin. Wird das extrahierte Lignin längeren Compoundierzeiten ausgesetzt, so zeigt sich, dass höhere Molekulargewichte zu einem Lignin-Biokomposit mit einer erhöhten Steifigkeit und Zugfestigkeit mit Zunahmen von etwa 1800 % bzw. 40 % führen. Es wurde gefunden, dass das Organosolv-Lignin durch thermische Behandlung unter Luftabschluss unterhalb der thermischen Zersetzung zu Vernetzungsvorgängen angeregt werden kann. Eine thermische Behandlung erhöht den Polymerisationsgrad und verschiebt den Start der thermischen Zersetzung hin zu höheren Temperaturen von 248 °C zu 271 °C , was für viele polymertechnische Anwendungen von Interesse sein kann. Die Temperatur hat dabei den größten Einfluss auf die Kopplungsreaktionen, während die Energieeinträge durch mechanische Kräfte während der Compoundierung geringer waren und einem nicht-linearen Verhalten folgten. Dies zeigt sich durch Ausbildung einer Fließgrenze bei hohen Energieeinträgen. Ultra-Mikrohärtetests bestätigten, dass der Bioverbundwerkstoff mit zunehmender Scher- und Wärmeeinwirkung deutlich härter wurde. Organosolv-Lignin-Bioverbundwerkstoffe, die bei höherem spezifischen Energieeintrag erhalten wurden, zeigten eine erhöhte dynamische Steifigkeit C_{dyn} von bis zu 100%.

Leistungsbeiträge des Kandidaten:

Der Autor hat die Forschungsfrage formuliert, den Versuchsplan erstellt und die Experimente maßgeblich durchgeführt. Er hat die Ergebnisse analysiert und interpretiert, sowie die Publikation federführend ausgearbeitet und verfasst und mit seinen Co-Autoren abgestimmt.

4.2 Weiterführende Ergebnisse und Diskussion

4.2.1 Gewinnung und Eigenschaftsuntersuchung von hochreinem Lignin aus *Poaceae*

In Kapitel 4.2.1 wird auf die Hypothese eingegangen, dass hochreines Lignin als weiteres werthaltiges Produkt eines auf Süßgräsern basierenden grünen Bioraffineriekonzept effizient gewonnen werden kann. Dabei soll durch ergänzende Ergebnisse gezeigt werden, dass sich die technischen Eigenschaften prozessbedingt gegenüber anderen technischen Ligninen, darunter Kraft-Lignin und Organosolv-Lignin hinsichtlich Reinheit und strukturellem Aufbau unterscheiden.

Aus Gründen eines nachhaltigen Umweltschutzes sowie aus ökonomischen Gesichtspunkten sollten in Bioraffinerie-Konzepten sämtliche Stoffströme einer wertschöpfenden Verwertung zugeführt werden, so z.B. als Vorläufermaterialien für die chemische Industrie und der Materialwirtschaft [8,12]. Es wurde ein neuartiges integriertes Konzept für eine grüne Bioraffinerie auf Basis von siliertem Wiesengras vorgestellt. Hierbei wird ein Organosolv-Prozess in eine neuartige Raffinationsroute mit kaskadierender Abfolge von Substratvorbehandlung und partieller biologischer Polysaccharidkonversion integriert. Dadurch wird der Zugang zu hochreinem Lignin aus silierten Süßgräsern geschaffen [13], Abbildung 13.

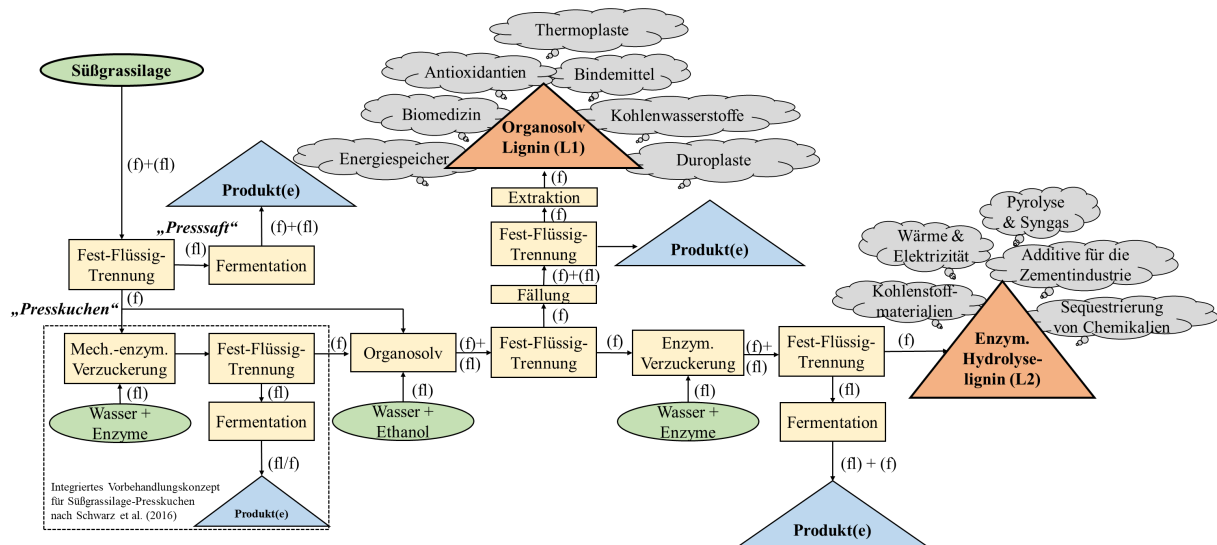


Abbildung 13 Ligningewinnung aus silierten Süßgräsern und mögliche Anwendungsgebiete für die entstehenden Ligninfraktionen nach Organosolv-Behandlung (Organosolv-Lignin (L1)) und enzymatischer Verzuckerung (Enzym-Hydrolyselignin (L2)). Grau gestrichelter Kasten: Integriertes Vorbehandlungskonzept nach [13]. Abk. der Aggregatzustände der Phasen: fl = flüssig, f = fest. Eigene Darstellung.

Als Ergebnis eröffnet dieser Weg die stoffliche Verwertung einer sehr reinen Ligninfraktion (I) aus silierten Süßgräsern unter Gesichtspunkten der grünen Chemie (Abfallvermeidung, sicherere Konversionswege, geringe Toxizität, sichere Lösungsmittel, Nutzung nachwachsender Rohstoffe) [119].

Die für die Untersuchungen verwendeten Hemikryptophyten stammen von einer intensiv bewirtschafteten Grünlandwiese aus der ostbayerischen Oberpfalz, Landkreis Cham (49°14'N 12°39'E). Die Vegetation der untersuchten Biomasse wird botanisch größtenteils (> 90 %) der Familie der Süßgräser (*Poaceae*) zugeordnet, wie Wiesen-Fuchsschwanz (*Alopecurus pratensis*), Gewöhnliches Knäuelgras (*Dactylis glomerata*) und Deutsches Weidelgras (*Lolium perenne*). Vereinzelt finden sich Vertreter der Familien der Korbblütler (*Asteraceae*), Nelkengewächse (*Caryophyllaceae*), Hülsenfrüchtler (*Fabaceae*), Wegerichgewächse (*Plantaginaceae*), Knöterichgewächse (*Polygonaceae*) und Hahnenfußgewächse (*Ranunculaceae*). Diese Vegetationszusammensetzung wird durch natürliche Standortfaktoren (z.B. Boden), Grad des Nährstoffeintrags (z.B. natürlich und anthropogen) und die Bewirtschaftungsform beeinflusst (z.B. intensive Viehwirtschaft) [120,121]. Die beobachtete Dominanz von Süßgräsern ist typisch für Intensivgrünland, da Süßgräser häufig regenerationsfähig und raschwüchsig sind und durch landwirtschaftliche Düngung gefördert werden [120]. Aufgrund der stark anthropogen geformten Vegetationszusammensetzung von Intensivgrünland kann sie aber keiner bestimmten Pflanzengesellschaft zugeordnet werden [121]. Die industrielle Nutzung von frisch geernteten Süßgräsern ist aufgrund von rasch eintretenden Zersetzungsprozessen sehr beschränkt. Erst durch eine Silierung, d.h. einer anaeroben Milchsäuregärung unter Luftabschluss wird die grüne Biomasse konserviert und ein Teil der Polysaccharide metabolisiert [122]. Für die in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Untersuchungen wurde der erste Schnitt einer Vegetationsperiode verwendet. Ambye-Jensen et al. berichten von einem etwas höheren Ligningehalt (10 %) des 1. Schnittes in *Festulolium Hykor*, einer Hybride aus Rohr-Schwingel (*Festuca arundinacea*) und Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne*) als in den weiteren Schnitten (2.-4.), was die Untersuchung dieses Schnittes aus betriebswirtschaftlichen Gesichtspunkten sinnvoll erscheinen lässt [123].

Durch die Fest-Flüssig-Trennung im Anschluss an eine sechswöchige Miete (Silierung unter Luftabschluss) wird der sogenannte Presssaft mit den Sacchariden Glukose, Xylose, Arabinose und Milchsäure und der sogenannte Presskuchen erhalten. Die Zusammensetzungen von Silage und Presskuchen werden vergleichend in Abbildung 14a dargestellt. Durch den Pressschritt steigt der relative Ligninanteil um ca. 25 % von $17,4 \pm 0,2$ % auf $21,8 \pm 0,2$ %. Im Presssaft werden Polyole, Vertreter der Vitamin B-Gruppe (B1-B12), organische Säuren und Aminosäuren gefunden [124]. UV/Vis Spektren des Presssafts zeigen keine Signale im, für Ligninverbindungen charakteristischen, Wellenlängenbereich von 200 bis 400 nm. In anderen Untersuchungen wurden neben Wasser noch Milchsäure, Fruktose, Arabinose, Xylose und Galaktose gefunden [125]. Im Pressschritt werden daher organische Verbindungen ohne Bezug zu Lignin abgetrennt und es kommt zu einer Erhöhung des relativen Ligninanteils. Zur Einordnung der Ligningehalte und relativen Verhältnisse aus Klason-Lignin und säureunlöslichem Lignin wurden Organosolv-Lignine von Hängebirke (*Betula pendula Roth.*) und Riesen-Chinaschilf (*Miscanthus x giganteus*) analysiert.

Die zusammengefassten Ligningehalte von Grassilage Presskuchen waren dabei geringfügig niedriger als von *Betula pendula* und *Miscanthus x giganteus*, wenngleich die säurelöslichen Ligninanteile in den beiden letztgenannten Materialien deutlich geringer bestimmt wurden (ca. 0,5 %). In Lignin aus Süßgräsern ist zu beachten, dass es zu einem methodisch bedingten Fehler bei der Bestimmung des Ligningehalts nach Klason kommen kann, da bestimmte Polysaccharide, Proteine und stickstoffhaltige Verbindungen ebenfalls präzipitiert werden können [126]. Jedoch wird dieser Fehler, sofern die Substrate zuvor extrahiert werden, geringer [126,127].

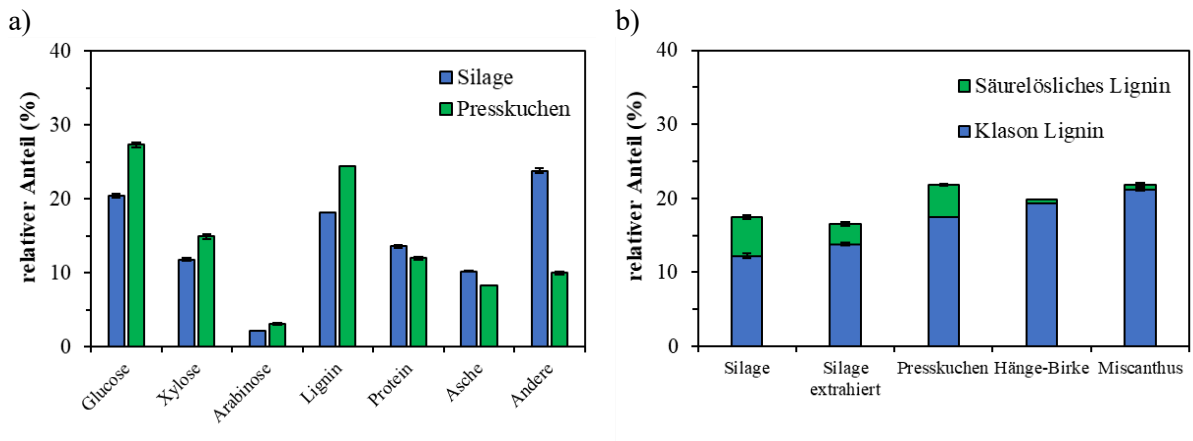


Abbildung 14 a) Zusammensetzung von Silage nach sechswöchiger Grünschnitt-Miete unter anaeroben Bedingungen (blau) und von Silage-Presskuchen (grün). b) relative Anteile von Klason Lignin und Säurelöslichem Lignin in Wiesengras-Silage, extrahierter Wiesengras-Silage, Silage-Presskuchen, Hängebirke (*Betula pendula* Roth.) und Riesen-Chinaschilf (*Miscanthus x giganteus*). Eigene Darstellung.

Dass Lignin-Polysaccharid-Komplexe (LPC) während der Silierung bei leicht erhöhten Temperaturen und bei pH 4,5 aufgespalten wurden, konnte aufgrund der stark überlappenden Signale mit spektroskopischen Methoden nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden. Bei einer vergleichenden Untersuchung von *Poacea*-Grünschnitt (*P*-GS) und siliertem Grünschnitt (*SP*-GS) wurde ein nahezu identischer relativer Ligninanteil (*P*-GS: $22,9 \pm 0,2$ %; *SP*-GS: $22,4 \pm 0,1$ %) erhalten, wobei sich die Anteile von Klason-Lignin (*P*-GS: $17,1 \pm 0,0$ %; *SP*-GS: $15,6 \pm 0,1$ %) und säurelöslichem Lignin (*P*-GS: $5,8 \pm 0,0$ %; *SP*-GS: $6,8 \pm 0,2$ %) geringfügig unterscheiden. Die zweistufige Reaktionsführung während der Ligningehaltsbestimmung nach Klason, umfasst dabei die Depolymerisation der Polysaccharide Cellulose und Hemicellulose in 72 %iger Schwefelsäure zu löslichen niedermolekularen Sacchariden und das anschließende Kochen der gelösten Polysaccharide in verdünnter 3 %iger Schwefelsäure. Dabei kommt es im Lignin zu Reaktionen, mit der Bildung von niedermolekularen Degradationsprodukten des Lignins, sowie hydrophilen Lignin-Polysaccharid Verbindungen [128]. Yasuda et al. verglichen unterschiedliche Behandlungsdauern in 72 %iger Schwefelsäure und erklären höhere Klason-Ligningehalte bei kurzen Behandlungsdauern mit einer unzureichenden Quellung und Freilegung der Zellwände, insbesondere der Cellulose-Mikrofibrillen. Durch die Silierung wird die Zellwandstruktur ebenfalls verändert, sodass hier eine bessere Zugänglichkeit der Polysaccharide gegeben ist [11].

Für die weiteren Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit wird auf die Biomasse-Vorbehandlung mit vorgeschalteter mechanisch-enzymatischer Verzuckerung aus Kapitel 4.2.1 im Sinne einer vereinfachten Nacharbeitbarkeit verzichtet. Die Ligningewinnung erfolgte wie in [129,130] beschrieben, siehe Abbildung 15.

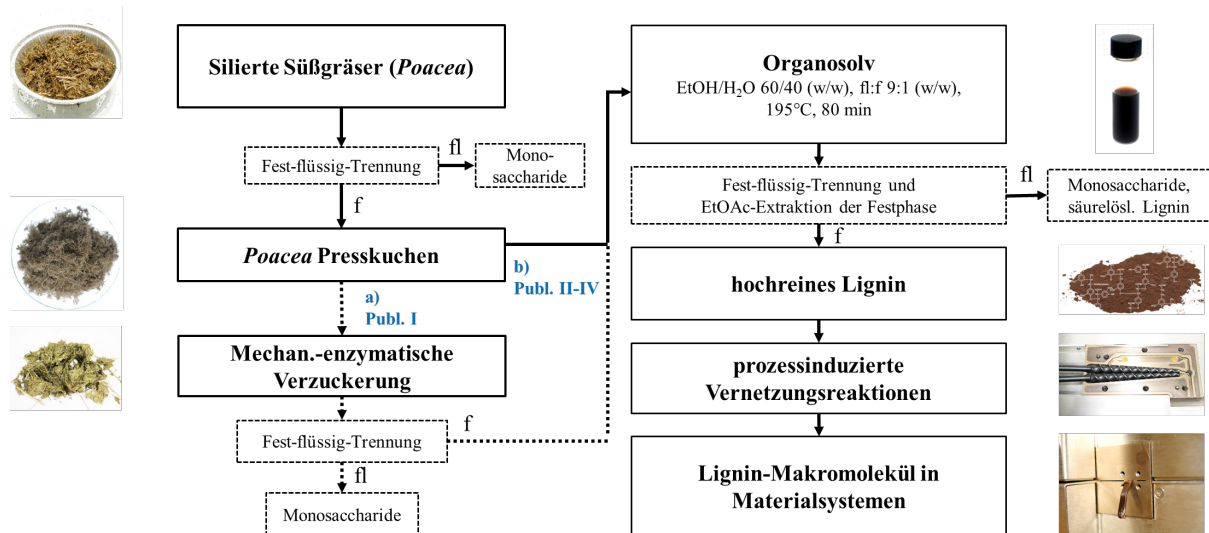


Abbildung 15 Fließschema zur Gewinnung und Prozessierung von Lignin aus silierten Süßgräsern (*Poacea*) mit (a) und ohne (b) vorgeschalteter mechanisch-enzymatischer Verzuckerung des Presskuchens. Abk. der Aggregatzustände der Phasen: fl = flüssig, f = fest. Eigene Darstellung.

Der Organosolv-Aufschluss des Presskuchens in Ethanol-Wasser ohne Zusatz von Katalysatoren wurde in einem Temperatur-Druck-Zeitbereich (195 °C, 20 bar, 80 min) durchgeführt, wobei auto-katalytische Spaltungsreaktionen zwischen den und innerhalb der Zellwandpolymere auftreten können [90]. Während häufig berichtet wird, dass die homolytische Spaltung von β -O-4 Bindungen des Lignins in ethanolischen Organosolv-Aufschluss sehr umfangreich abläuft, bleiben Resinol-Typ Bindungen (5-5) weitestgehend erhalten [131]. Die Untersuchung der molaren Konzentrationen kovalenter Bindungen zwischen und Hydroxylgruppen an den Lignineinheiten mittels ^{31}P NMR bestätigen dies, mit Konzentrationen von β -5 ($0,06 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) < 4-O-5 ($0,07 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) < 5-5 ($0,11 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) < Syringyl-OH ($0,10 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) < p-Hydroxyphenyl-OH ($0,23 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) < Guaiacyl-OH ($0,25 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$). Gut bekannt ist eine Ethoxylierung am Alpha-Kohlenstoff des Lignins im Zuge der ethanolischen Organosolvbehandlung, indem Ethanol als Nukleophil wirkt und an ein thermisch-induziertes Carbokation binden kann [90,91,112,132,133]. Kubo und Kadla vermuten, dass Ethoxylierungen am Benzylring die Glasübergangstemperatur herabsetzen könnten [112]. Unter sauren Bedingungen können Etherbindungen am Phenylring gespalten werden und es entstehen resonanzstabilisierte Carbokationen, die sodann an nukleophilen Additionsreaktionen mit Ethanol teilnehmen [91]. Reaktionen dieser Art können weitere Kondensationsreaktionen unterdrücken [133]. Kubo und Kadla beschreiben eine Erniedrigung der Glasübergangstemperatur T_g und eine Erhöhung der Fließfähigkeit im plastifizierten Zustand und begründen es mit der erhöhten thermischen Mobilität des Organosolv-Lignins durch die Einführung von Seitengruppen gegenüber Kraft-Lignin [134]. Die verhältnismäßig zu anderen

technischen Ligninen guten Fließeigenschaften des Süßgräser-Lignins könnten daher auch durch aufschlussbedingte Reaktionen positiv beeinflusst werden.

Die über den Organosolv-Prozess und anschließender Fällung und Abtrennung erhaltene lignin-reiche Festphase enthält neben phenolischen Komponenten auch hydrophobe Verbindungen, deren Herkunft zunächst unklar war. Es wurde vergleichend ein zuvor extrahierter (1. H₂O, 2. EtOH) und gemahlener Presskuchen einem identischen Aufschlussverfahren unterzogen. Der Extraktstoffgehalt in Presskuchen aus silierten Süßgräsern wurde mit 23,3 % (H₂O-Extraktstoffgehalt: 16,4 %, EtOH-Extraktstoffgehalt: 6,9 %) bestimmt und ist damit vergleichsweise hoch [135]. Unter dem Begriff Extraktstoffe werden hier die nicht-strukturgebenden Verbindungen in pflanzlichen Zellwänden zusammengefasst, die in H₂O und/oder Ethanol löslich sind [136]. Darunter zählen Proteine, Phytosterine, Fette, Wachse, Salze sowie freie Monosaccharide [135]. Werden Extraktstoffe vor der Ligninanalyse nicht entfernt, so kann es zu Fehlern bei der Bestimmung der Anteile für Klason-Lignin und säurelöslichem Lignin kommen [135]. So zeigt auch im vorliegenden Fall der unextrahierte Grassilage Presskuchen etwa doppelt so hohe Gehalte für säurelösliches Lignin, siehe Abbildung 14b.

Es werden Untersuchungen zu den physikalisch-chemischen Eigenschaften von extraktstoffbeladenen und extrahierten Phasen aus dem Organosolv-Prozess angestellt. Hierzu wird unterschieden zwischen Proben, die aus der Vorextraktion des Presskuchens mittels H₂O und EtOH erhalten werden und solche, welche durch nachträgliche Extraktion mittels eines grünen Lösungsmittels (Etylacetat) als festen Rückstand gewonnen werden.

Beim Vergleich der thermischen Eigenschaften zeigt sich eine deutlich höhere thermische Stabilität der nachträglich mit Ethylacetat extrahierten Ligninfraktionen gegenüber den Ligninfraktionen, die aus unbehandelten silierten Süßgräsern oder aus extrahiertem Presskuchen gewonnen wurden. Die chemische Charakterisierung der unbehandelten im Vergleich zum nachträglich mit EtOAc extrahierten Organosolv-Lignin, zeigt deutliche Unterschiede im Bereich hoher Wellenzahlen (3100 - 3700 cm⁻¹) (Streckschwingungen der OH-Gruppen), im Bereich der C-H Streckschwingungen in Methyl- und Methylengruppen (2800 - 3100 cm⁻¹), im Bereich der Deformationsschwingungen von Methylgruppen bei 1460 cm⁻¹ und im Bereich der C=O Streckschwingungen in freien Fettsäuren bei etwa 1710 cm⁻¹, Abbildung 16a [137]. Letztere können auch durch die in Organosolv-Ligninen häufig auftretenden Hibbert-Ketone hervorgerufen werden [138,139].

Im Lignin-Präzipitat werden durch Elementaranalyse Stickstoffgehalte von etwa 3 % beobachtet. Während der Ligninfällung kann es zu einer Co-Präzipitation von stickstoffhaltigen Extraktstoffen, häufig Proteine, kommen [140]. Der Grassilage Presskuchen zeigt einen Proteingehalt von etwa 15 % nach Kjeldahl wodurch sich die hohe Fracht der stickstoffhaltigen Extraktstoffe erklärt [127]. Nach Ecker et al. liegen die stickstoffhaltigen Verbindungen aufgrund von Hydrolyseprozessen während der Silierung bereits in der Silage in sehr großem Umfang als Aminosäuren vor [141]. Die harschen

Bedingungen während des Organosolv-Aufschlusses (195 °C, 20 bar, EtOH/H₂O) können ebenso zur Hydrolyse führen, und so leicht in Lösung gehen [127].

Die Herstellung von Bioverbundwerkstoffen mit hohen Ligningehalten (>75 %), die direkt aus dem Organosolv-Prozess von siliierter Grassilage gewonnen wurden, führt zu sehr geringen Festigkeiten (<1 MPa), eine geringe Steifigkeit (< 50 MPa) und Newtonsche Fließigenschaften.

Über die nachträgliche Extraktion des gewonnen Organosolv-Lignins mit EtOAc (OL_{ex}) wurde gegenüber unbehandeltem Organosolv-Lignin OL eine höhere gewichts- und zahlenmittleren Molmasse (OL_{ex}: M_w = 470 g·mol⁻¹, M_n = 1.500 g·mol⁻¹, D = 3,3; OL: M_w = 320 g·mol⁻¹, M_n = 1.300 g·mol⁻¹, D = 4,0) gefunden, wohingegen die Polydispersität geringer war, Abbildung 16b.

Engere Molmassenverteilungen sind vorteilhaft für zahlreiche polymertechnische Verarbeitungsprozesse, so z.B. hinsichtlich der Fließstabilität in der Extrusion [142]. Auffällig ist die Entfernung von niedermolekularen Bestandteilen. Jarrel et al. bringen die niedermolekularen Bestandteile einer Ligninfraktion aus dem Organosolv-Prozess mit Rutenhirse mit Monolignolen (ca. 150-210 g·mol⁻¹), Fettsäuren und Monosacchariden in Verbindung [137].

Durch die Extraktion mit EtOAc, die mit der Entfernung der niedermolekularen Bestandteile verbunden ist, wird der Start der thermischen Zersetzung T_{Start} von 198 °C auf 232 °C angehoben, Abbildung 16.

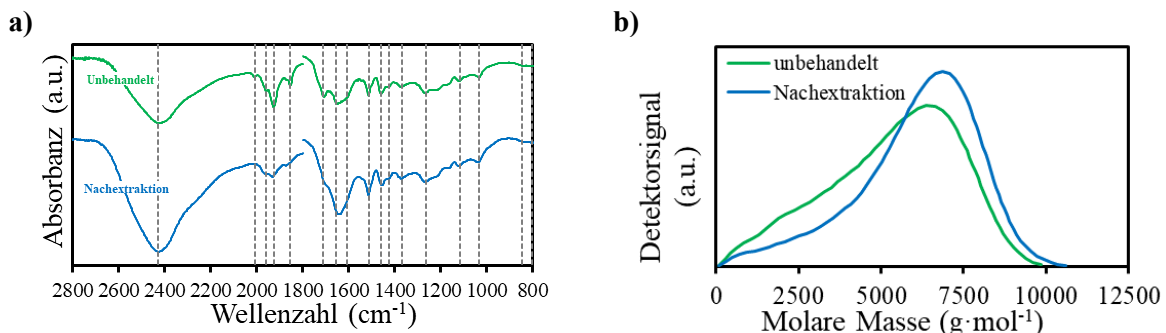


Abbildung 16 a) Fourier-Transform-Infrarot (FTIR) spektroskopische Aufnahme von unbehandeltem Organosolv-Lignin von Süßgräsern (unbehandelt), Organosolv-Lignin, das aus zuvor extrahierter silierten Süßgräsern gewonnen wurde (Vorextraktion) und Organosolv-Lignin das als fester Rückstand nach der Extraktion mit Ethylacetat erhalten wurde (Nachextraktion). b) Gel-Permeations-Chromatogramm (GPC) der Organosolv-Lignin-Fractionen.

Dies stimmt mit Untersuchungen von Costes et al. an unbehandelten und Methanol-extrahierten Kraft-Ligninen überein, wobei höhere thermische Stabilitäten in Proben mit höheren mittleren Molmassen beobachtet wurden [143]. Die Entfernung der leichtflüchtigen Bestandteile führt überdies zur Steigerung der Pyrolysausbeute von 39 % auf 49 %. Die Entfernung von niedermolekularen Ligninbestandteilen kann überdies die thermische Erweichung (Glasübergangstemperatur) zu höheren Temperaturen verschieben [144]. Dies macht die gewonnene Ligninfraktion L₀ für thermoplastische Systeme interessant, sodass für die weiteren Untersuchungen nur extrahierte Organosolv-Ligninfraktionen (OL_{ex}) verwendet wurden.

Eine Untersuchung des gewonnenen Lignins zur Bestimmung der Glasübergangstemperatur mittels DSC war nicht erfolgreich. Organosolv-Lignine bestehen aus kurzen und steifen Molekülen, sodass sich deren Beweglichkeit beim Durchschreiten des Glasübergangs nur geringfügig ändern. Dies wiederum zieht nur eine geringe Änderung der Wärmekapazität nach sich und kann kalorimetrisch häufig nicht eindeutig beobachtet werden [145]. Glasübergänge können oftmals auch aufgrund der starken Assoziationsneigung der Ligninfragmente nicht mittels DSC beobachtet werden [146]. Der hohe Assoziationsgrad in Organosolv-Ligninen wurde auf Carbonylverbindungen (sog. Hibbert Ketone) am β -Kohlenstoff bei der Spaltung von β -O-4-Bindungen zurückgeführt, die während des Aufschlussprozesses in saurer Umgebung gebildet werden [139]. Diese Ketone können starke intermolekulare Wechselwirkungen, wie z.B. Wasserstoffbrückenbindungen mit Blendpartnern ausbilden und engen die molekulare Beweglichkeit von Ligninmolekülen zusätzlich ein [112]. Auch die Polysaccharidreste und Ascheanteile können die Untersuchung der Glasübergangstemperatur stark beeinflussen [16,112,147].

Über die in der Arbeit entwickelte Route wird der Zugang zu technischem HGS-Lignin auf Basis von Wiesengras (L_0) mit hoher Reinheit (Schwefelgehalt $< 0,1$ %, Polysaccharidgehalt (Glucose, Xylose) ca. 3,0 %, Aschegehalt ca. 1,1 %) geschaffen. Die Zusammensetzung eines ligninreichen Reststoffs (Ligninfraktion II), der nach der Polysaccharidkonversion zurückbleibt, konnte ebenfalls erstmalig erforscht werden. Während diese Fraktion zwar ebenfalls schwefelfrei ($< 0,1$ %) ist, verhindert der erhöhte Polysaccharid- (ca. 5,0 %) und hohe Aschegehalt (29,1 %) eine direkte Verwendung in ligninbasierten thermoplastischen Materialien mit hohem Ligningehalt. Ligninfraktion II wurde in den weiteren Arbeiten daher nicht eingehend untersucht.

4.2.2 Thermisch- und scherungsinduzierte Reaktionen in Organosolv-Lignin aus *Poaceae* unterhalb der thermischen Hauptzersetzung

In Kapitel 4.2.2 wird auf die Hypothese eingegangen, dass über die Beschreibung des strukturellen Aufbaus von Ligninen aus Süßgräsern und deren Abgleich mit den resultierenden Eigenschaften Ligninfraktionen erhalten werden können, die mit geeigneten Verbundpartnern bei hohen Ligninanteilen ($\geq 50\%$) thermoplastisch verarbeitet werden können. Dieses Kapitel enthält weiterführende Ergebnisse, die die Publikationen II und III ergänzen sollen.

Zur Untersuchung der thermisch-induzierten Vorgänge bis 220 °C mittels TGA/DSC wird eine sehr geringe Heizrate von $1\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ gewählt. Eine geringe Heizrate ermöglicht eine temperaturabhängige Auflösung der sonst überlappenden Reaktionen im Lignin. In Kombination mit der Differenzial-Thermogravimetrie werden so drei Bereiche ($120 - 160\text{ °C}$, $160 - 180\text{ °C}$ und $> 180\text{ °C}$) mit unterschiedlichen Massenverlustdynamiken sichtbar. Auf Grundlage dieser Beobachtungen wird L_0 unter isothermen Bedingungen bei $120, 140, 160, 180$ und 200 °C und für unterschiedliche Zeitintervalle von $5, 10, 30$ und 60 min behandelt. Ein Massenverlust von ca. 1% bis 160 °C wird mit der Entfernung von relativ schwach angebondenen Verbindungen niedriger Molmasse und mit dem Start von Dehydrationsreaktionen erklärt [148]. Shen et al. berichten z.B. von ungebundenen Monolignolen, wie Coniferylalkohol (Sdp. $163 - 165\text{ °C}$) sowie von Abspaltprodukten wie Wasser, Methanol und Ameisensäure die aus phenolischen Verbindungen stammen [148,149]. In einem zweiten Bereich ($160 - 190\text{ °C}$) wird eine Verdoppelung der Massenverlustrate und ein Massenverlust von ca. 2% beobachtet. In diesem Temperaturbereich wird von der Abspaltung von niedermolekularen Bestandteilen durch Bindungsspaltung an Phenylpropanseitenketten berichtet [148,150]. So schlagen Fenner und Lephardt eine Bildung von Formaldehyd durch thermisch-induzierte Fragmentation von terminalen Hydroxymethylgruppen ($-\text{CH}_2\text{OH}$) der Phenylpropanseitenkette in diesem Temperaturbereich vor [150]. Oberhalb von 190 °C kommt es zur Zersetzung der enthaltenen Hemicellulose (z.B. Xylan ab ca. 200 °C) und zur Abspaltung von phenolischen Verbindungen [151–153]. Diese thermisch-induzierten Massenverluste für sich genommen gehen mit einer Zunahme des Molekulargewichts und einer Abnahme des Polydispersitätsindex einher, da hierbei vor allem niedermolekulare Verbindungen entfernt werden. Die Untersuchungen der Molekulargewichte und Molekulargewichtsverteilungen zeigen jedoch temperaturabhängig sehr starke Zunahmen des Molekulargewichts (bis zu 6-fach), die durch die Abspaltung von niedermolekularen Verbindungen nicht vollständig erklärt werden können. Technische Lignine sind bereits bei geringen Temperaturen thermisch instabil [154–157]. Dabei sind thermisch induzierten Reaktionen in Lignin abhängig von den Bindungsenergien [158]. Chandra und Uchimura zeigen, dass nur eine geringe Dissoziationsenergie zur Wasserstoffabspaltung in meta- und para-substituierten Phenolen aufgewendet werden muss [159]. Es werden die homolytische Bindungsspaltung über Chinonmethide unter Radikalbildung postuliert

[160,161]. Etherbindungen am α - und β -Kohlenstoff der Ligninstruktureinheiten sind instabil und können thermisch aktiviert werden unter Bildung von freien Radikalen, Abbildung 17 [162–164].

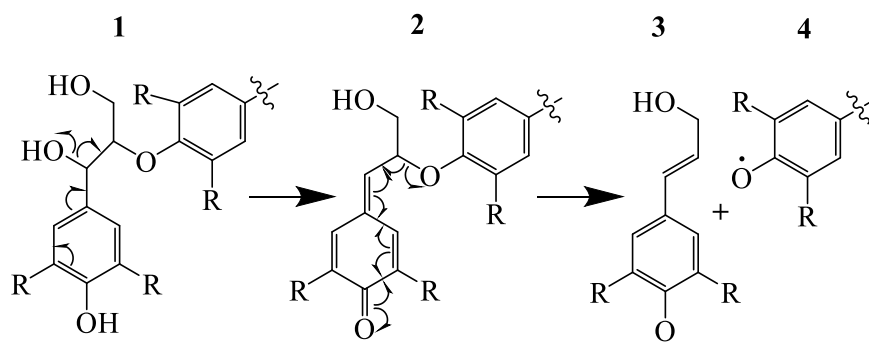


Abbildung 17 Radikalbildung in einer β -O-4 Struktureinheit (1) durch Bildung eines Chinonmethid-Intermediats durch Wasserabspaltung am α -Kohlenstoff (2) und homolytische Bindungsspaltung am C β -O-Ether unter Bildung eines Monolignol-Radikals (3) und eines Lignin-radikals (4) nach [160,161].

Die Radikalerzeugung kann bereits bei niedrigen Temperaturen erfolgen [46,109]. Durch thermische Behandlung von Hartholz-Organosolv-Lignin bei 180 °C für 60 min haben Nguyen et al. eine Reduktion der Anzahl an β -O-4-, β - β - und β -5-Bindungen beobachtet [162]. Des Weiteren existieren langlebige freie Radikale innerhalb des Lignins [157,165]. Diese bleiben durch sterische Faktoren erhalten [46]. Für Kraft-Lignin werden diese mit $3 \cdot 10^{17}$ pro g Lignin angegeben [166]. Die sterische Hinderung dieser Radikale kann durch Temperierung oberhalb der Glasübergangstemperatur aufgehoben werden und die Freisetzung von Phenoxyradikalen initiieren [166]. Die thermisch aktivierten Phenoxyradikale, lang- oder kurzlebig, initiieren eine Wasserstoffabspaltung in Ligninstruktureinheiten, analog zur enzymatischen Dehydrierung aus Abbildung 4, unter Bildung von verschiedenen möglichen mesomeren Grenzstrukturen. Die Aneinanderlagerung zweier Monolignol-bzw. Lignin-Radikale zur Koppelung oder Vernetzung von Ligninmolekülen ist energetisch unaufwändig. Dafür sprechen die von Durbeej und Eriksson theoretisch berechnete Aktivierungsenergie von $8 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ und von Shigematsu et al. semiquantitativ bestimmte Aktivierungsenergie von $9.8 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ [51,71,153,163,167–169]. Sie finden daher bei tieferen Temperaturen als Dissoziationsreaktionen zwischen den Ligninstruktureinheiten ab, da diese deutlich höhere Aktivierungsenergien benötigen, wie beispielsweise C-O-Spaltung in β -O-4 ($65.3 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$) [153,170,171]. Die radikalischen Kopplungs- und Vernetzungsreaktionen können in Abhängigkeit von Ligninaufbau und Temperaturregime zu einer starken Zunahme des Molekulargewichts führen [46,113,156,163]. Dies ist vor allem aus Kraft-Ligninen gut bekannt. Derartige thermisch-induzierte Prozesse sind nach Durchsicht der zugänglichen wissenschaftlichen Literatur für Organosolv-Lignine aus Süßgräsern nicht beschrieben. Hieraus resultierende hohe Vernetzungsgrade können einen Übergang von thermoplastischen zu duroplastischen Eigenschaften bewirken [113]. Die thermische Behandlung bei 180 °C für 30 min war mit einer Steigerung der thermischen Stabilität, ausgedrückt durch den Anstieg der thermischen Hauptzersetzungstemperatur $T_{5\%}$ um 23 °C auf 271 °C im Lignin, verbunden, was eine Anwendung als thermisch stabiles Polymer interessant macht. Durch die

thermische Behandlung konnte auch eine höhere Pyrolysausbeute von 43 % beobachtet werden. Dies kann einerseits auf die Entfernung von leichtflüchtigen Bestandteilen während der thermischen Behandlung und andererseits auf Verkohlungsreaktionen von vernetzten Strukturen hinweisen [156,172–178].

4.2.3 Beschreibung der Vorgänge am Übergang vom duktilen zum spröden Materialverhalten in Biowerkstoffen mit hohem *Poaceae*-Organosolv-Ligningehalt

In Kapitel 4.2.3 wird auf die Hypothese eingegangen, dass sich die Rolle von Lignin in hochgefüllten Materialsystemen am Übergang von duktilem Materialverhalten zu sprödem Materialverhalten ändert. Dabei soll speziell der Frage nachgegangen werden, inwieweit Lignin als steifigkeitssteigernder Füllstoff oder als festigkeitssteigernder Verstärkungstoff beschrieben werden kann. Dieses Kapitel enthält weiterführende Ergebnisse, die die Publikationen II und III ergänzen sollen.

Während thermoplastische Bioverbundwerkstoffe mit hoher Konzentration an schwefelhaltigen technischen Ligninen recht gut untersucht sind [84,86,111,179–181], gibt es nach Durchsicht der zugänglichen Literatur bislang nur sehr wenige Berichte zu Bioverbundwerkstoffen mit Volumenanteilen an schwefelfreiem Lignin von $> 50\%$ [112,182]. Die direkte Verwendung von technischem Lignin aus Organosolv-Prozessen wird jedoch durch ihre geringe Zähigkeit (d.h. geringe Fähigkeit zur Absorption von Verformungsenergie U_T) und durch mangelnde Kenntnis des Materialverhaltens in Systemen mit hohen Lignin-Volumenanteilen (φ_L) eingeschränkt. Dies kann ein Grund dafür sein, dass technischen Ligninen heute vor allem Eigenschaften von Füllstoffkomponenten und nicht Eigenschaften von Verstärkungskomponenten zugeschrieben werden. Mit steigendem Ligninanteil steigt die Werkstoffsteifigkeit, jedoch reduziert sich die Zähigkeit, Abbildung 18.

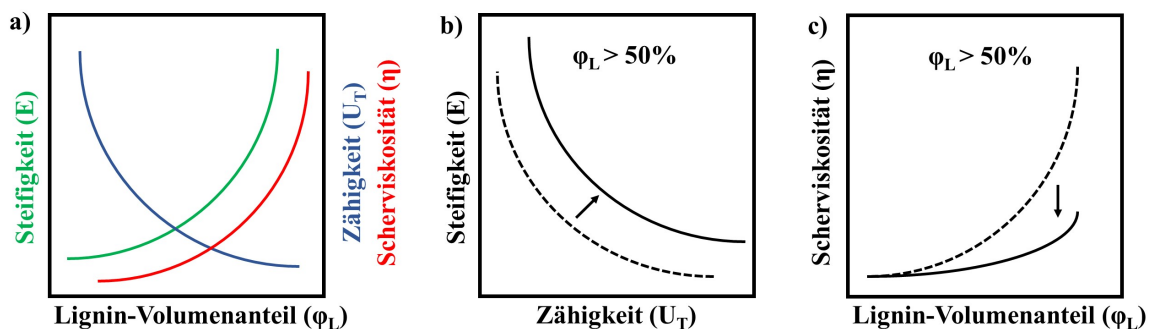


Abbildung 18 a) Typisches Materialverhalten in thermoplastischen Lignin-Verbundwerkstoffen in Bezug auf Steifigkeit (E) und Zähigkeit (U_T) in Bioverbundwerkstoffen in Abhängigkeit des Lignin-Volumenanteils. b) und c) Zielstellungen der Werkstoffforschung für ligninbasierte Thermoplaste mit hohen Lignin-Volumenanteilen φ_L .

Das Bestreben der Lignin-Werkstoffforschung liegt dabei in der simultanen Erhöhung von Steifigkeit und Zähigkeit, wie in Abbildung 18b dargestellt.

Die geringen Zähigkeitseigenschaften der Verbundwerkstoffe werden dabei zumeist mit chemischen und physikalischen Bindungszuständen im Lignin erklärt. Hierunter fallen eine chemische Vernetzung oder die starken intermolekularen Wechselwirkungen im Lignin, was in hochbeladenen Systemen zu geringeren Dimensionsstabilitäten führt [104,112,115].

In diesem Zusammenhang werden in der vorliegenden Arbeit Vorgänge am Übergang vom zähen zum spröden Materialverhalten untersucht. Dabei kommt es zur Änderung der Werkstoffzähigkeit als Maß für die Energiedissipation unter mechanischer Beanspruchung, die sich durch einen Übergang von instabiler Rissausbreitung (linear-elastisches Verhalten führt zum Sprödbbruch) zu stabiler Rissausbreitung (elastisch-plastisches Verhalten führt zum Zähbruch) ausdrückt. Es erfolgt dann eine Untersuchung des Einflusses von strukturellen Eigenschaften wie φ_L , Lignin-Teilchengrößen und -abstand und Molmassen und -verteilung auf mechanische Eigenschaften am und oberhalb des Zäh-Spröd-Überganges. Dies erfolgte durch Untersuchung ausgewählter thermischer, mechanischer und morphologischer Eigenschaften der Biowerkstoffe mit unterschiedlichen Lignin-Volumenanteilen bis zu $\varphi_L = 0,71$, die unter gleichen Temperaturen und Verweilzeiten im Zuge einer Compoundierung in einem Doppelschneckenextruder erhalten wurden.

Ein Ethylen-Vinylacetat-Copolymer (Wacker Vinnex® 2501) wurde als Bindemittel eingesetzt. Die Wahl dieses Bindemittels erfolgte aufgrund seiner weichen/duktilen und thermoplastischen Eigenschaften (E: 6 MPa, Härte: 72 SHORE A, ε : 265 %, σ_m : 11 MPa). Das Bindemittel ist ein für den Kompostierungsprozess unbedenklicher Zusatzstoff (Prüfgrundlage: DIN EN 13432:2000-12).

Die Zugabe von Füllstoffen in thermoplastische Werkstoffe erfolgt meist, um strukturelle Werkstoffeigenschaften wie Steifigkeit, Dimensionsstabilität, Schwindung, Viskosität oder funktionelle Eigenschaften wie gezielte elektrische Leitfähigkeit, magnetische Eigenschaften oder thermische Leitfähigkeit einzustellen [183]. Durch das Einbringen organischer Füllstoffe können neue Anwendungsgebiete erschlossen werden.

Höhere Füllstoffkonzentrationen führen jedoch zu einem Anstieg der Viskosität und damit zu einer Veränderung des Fließverhaltens, was wiederum zu Schwierigkeiten bei der Kunststoffverarbeitung führen kann [183,184]. Ab einem kritischen Füllstoff-Volumenanteil (sog. Perkolationschwelle) tritt eine starke Reduktion der Fließfähigkeit ein. Das Fließverhalten hochgefüllter Polymere wird neben der Menge des Füllstoffs auch von der Viskosität des Polymers, den Eigenschaften des Füllstoffs selbst, seiner Partikelform, sowie von der Kombination und den Wechselwirkungen zwischen Polymer und Füllstoff beeinflusst [183,184].

Das rheologische Verhalten einer füllstoffhaltigen Werkstoffformulierung hängt also auch stark vom Füllstoff-Volumenanteil ab, wobei tendenziell höhere Viskositäten in Systemen mit höherem

Füllstoffgehalt beobachtet werden. Bei festen Füllstoffpartikeln liegt dies daran, dass auf sie entweder keine oder nur eine geringe Scherbeanspruchung wirken kann. Bei hohen Füllstoffgehalten kann sich im Werkstoff eine innere Struktur ausbilden. In diesem Fall spricht man von der Bildung einer Fließhemmung und schließlich von einer Fließgrenze. Dies zeigt sich in einem Anstieg des Speichermoduls während der Beanspruchung bei niedrigeren Scherraten. Diese innere Struktur kann entweder durch eine Partikel-Partikel-Wechselwirkung, eine Partikel-Polymer-Wechselwirkung oder deren Kombination verursacht werden.

Nach Markov (2008) lässt sich das rheologische Verhalten in einem heterogenen Gemisch, bestehend aus einem schmelzflüssigen Polymer (kontinuierliche Phase) und darin dispergierten, nahezu nicht deformierbaren Feststoffpartikeln (disperse Phase) in drei Bereiche (Zonen) unterteilen [183], Abbildung 19.

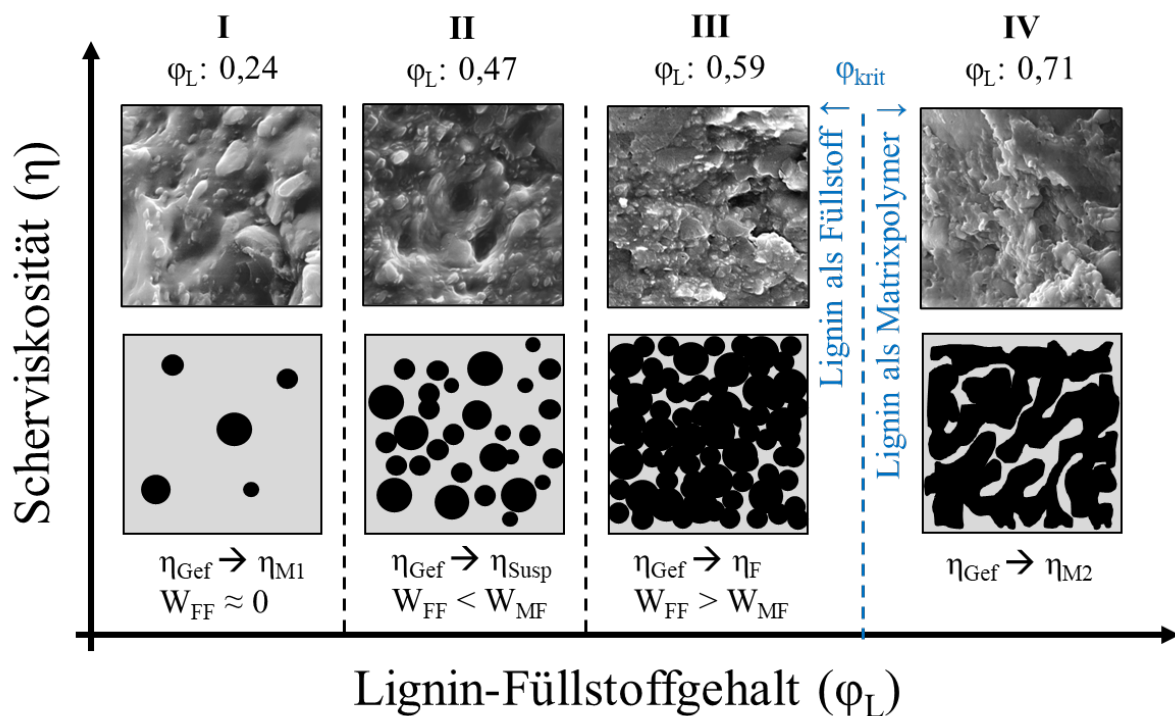


Abbildung 19 Schematische Darstellung des Einflusses des Füllstoffgehalts auf die Scherviskosität und Wechselwirkungen von gefüllten Polymeren im erweiterten Zonen-Modell nach Markov [183]. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Lignin-Bioverbundwerkstoffe aus [129]. Mit η_{Gef} der Scherviskosität des gefüllten Systems, η_{M1} der Matrixviskosität der Phase I, η_{Susp} der Suspensionsviskosität, η_{M2} der Matrixviskosität der Phase II, W_{FF} den Wechselwirkungen zwischen den Füllstoffpartikeln, W_{MF} den Wechselwirkungen zwischen Matrix und Füllstoffpartikeln. Die dargestellten Pfeile (\rightarrow) signalisieren die tendenzielle Veränderung der Viskosität hin zu höheren Füllstoffgehalten.

Wird das System mit geringen Füllstoffvolumenanteilen einer Scherbeanspruchung ausgesetzt, so wird der Fluss durch Molekülumordnungen im thermoplastischen Polymer dominiert, wohingegen dieser Fluss nur untergeordnet durch den Füllstoff beeinflusst wird (Bereich I). Die Wechselwirkung zwischen

den Füllstoffpartikeln ist nahezu null ($W_{FF} \approx 0$). Die Viskosität des niedrig beladenen Systems ist nahezu identisch zur Matrixviskosität ($\eta_{Gef} \rightarrow \eta_{M1}$).

Die Zunahme des Füllstoffgehalts führt zur Zunahme der Viskosität. Im Bereich II, mit Partikelkonzentrationen weit unter der maximalen Packungsdichte, können zur theoretischen Beschreibung der Scherviskosität Gesetzmäßigkeiten der sog. Suspensionsrheologie herangezogen werden. Dabei wird angenommen, dass interpartikuläre Wechselwirkungen W_{FF} schon existieren, wodurch die Scherviskosität steigt, jedoch im Vergleich zu Wechselwirkungen im System "Füllstoff-Matrix" (W_{MF}) betragsmäßig noch kleiner sind.

Unmittelbar unterhalb eines kritischen Füllstoffvolumenanteils ($\phi_{krit.}$) (Bereich III) dominieren schon die Wechselwirkungen zwischen den Füllstoffpartikeln (W_{FF}) sodass die Fließfähigkeit des Materials von der Interaktion (in Form von Reibung) zwischen den Füllstoffteilchen abhängt. Die Viskosität des gefüllten Systems (η_{Gef}) nähert sich in diesem Fall der Viskosität der dispersen Phase (η_F) unter Ausbildung eines partikulären Netzwerks.

Nach Überschreiten einer kritischen Wechselwirkung zwischen Lignin-Füllstoffpartikeln wird ein plastischer Zustand erreicht und es kommt in der weiteren Folge zur Koaleszenz der Lignindomänen (Bereich IV). Dies schlägt sich auch in den korrespondierenden rheologischen Eigenschaften nieder, mit sinkenden Viskositäten.

Um den Übergang des mechanischen Verhaltens in der Nähe des kritischen Lignin-Volumenanteils zu untersuchen, wurden gemessene und nach Halpin-Tsai mathematisch modellierte E-Moduln der Biocomposites in Abhängigkeit vom Lignin-Volumenanteil in Abbildung 20 verglichen.

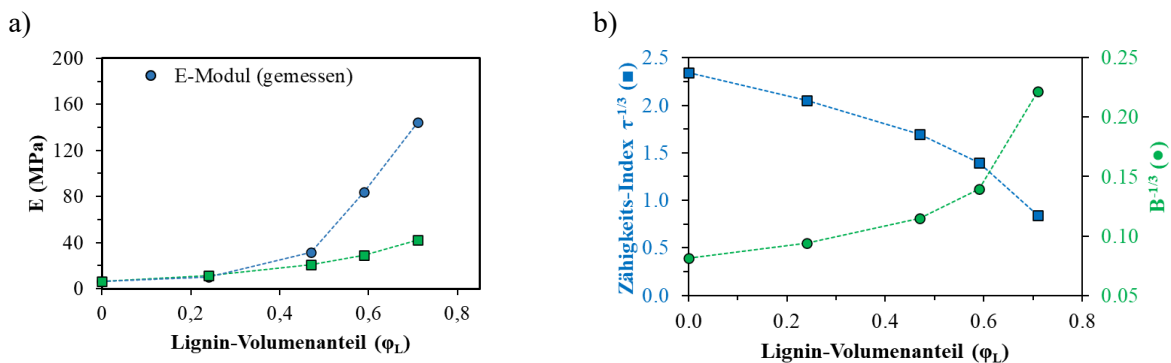


Abbildung 20 a) Experimentell ermittelte E-Moduln und Halpin-Tsai Modellierung der Lignin-EVA-Biocomposites in Abhängigkeit vom Lignin-Volumenanteil ϕ_L . b) Ergebnisse der Bestimmung von Zähigkeits-Index $\tau^{-1/3}$ und Sprödigkeitsindex $B^{-1/3}$ in Abhängigkeit vom Lignin-Volumenanteil ϕ_L .

Das Modell nach Halpin und Tsai [185] ist ein mathematisches Modell zur Vorhersage der E-Moduln von Verbundwerkstoffen in Abhängigkeit von der Geometrie und der Orientierung der Füllstoffe sowie der elastischen Eigenschaften von Füllstoff und Matrix, Gleichung 14.

$$E_c = \frac{1 + \xi_c \chi \phi_L}{1 - \eta \phi_L} E_m \quad \text{Gl. 14}$$

$$\chi = \frac{E_f/E_m - 1}{E_f/E_m + \xi_c} \quad \text{Gl. 15}$$

$$\xi_c = 2 \times \frac{l}{d} \quad \text{Gl. 16}$$

Mit l , d , E_f , E_m , χ , ξ_c , φ_L der Lignin-Partikellänge, Lignin-Partikeldurchmesser, E-Modul des Lignins, E-Modul der Matrix, Verhältnisfaktor, Geometriefaktor und Lignin-Volumenanteil. Zur Berechnung wurden vereinfachte Annahmen getroffen. Das E-Modul des Süßgräser-Lignins wurde per Extrapolation der Werte bei hohen Lignin-Volumenanteilen berechnet und mit 280 MPa angenommen. Es wurde außerdem angenommen, dass die Lignin-Partikel als quasi-sphärische Feststoffpartikel (Länge = Durchmesser) eingebracht werden, wodurch ξ_c gleich 2 wird. Außerdem zeigten elektronenmikroskopische Untersuchungen, dass die sphärischen Partikel in einer Matrix statistisch eingebettet sind und damit keine richtungsabhängige Struktur vorhanden ist.

In niedrig Lignin-beladenen Bioverbundwerkstoffen stimmen die gemessenen E-Moduln mit den nach Halpin-Tsai mathematisch modellierten Werten bis zu einem Lignin-Volumenanteil von 0,47 gut überein. In Verbundwerkstoffen mit höheren Lignin-Volumenanteilen kommt es jedoch zu einer zunehmenden Abweichung zwischen gemessenen und berechneten Werten. Die Beobachtungen legen nahe, dass es durch Koaleszenz und der einhergehenden sukzessiven Ausbildung einer kontinuierlichen Struktur zu starken strukturellen Änderungen hinsichtlich der Ligninphase kommt. Eine solche Struktur hätte eine Erhöhung des Geometrie-Faktors zur Folge und würde die zu höheren Lignin-Volumenanteilen ansteigenden E-Moduln erklären. Tatsächlich beträgt der mittels Halpin-Tsai mathematisch berechnete Geometriefaktor unter Verwendung der gemessenen E-Moduln für einen Lignin-Volumenanteil von $\varphi_L: 0,47 \rightarrow \xi_c: 2$, $\varphi_L: 0,59 \rightarrow \xi_c: 16$ und $\varphi_L: 0,71 \rightarrow \xi_c: 30$.

Aufgrund der häufig beschriebenen Sprödigkeit von Werkstoffen mit hohem Ligninanteil (> 50%) wurde diese ebenfalls tiefergehend untersucht. Sprödigkeit beschreibt die Eigenschaft eines Werkstoffs, unter Belastung mit geringer Deformation zu brechen. Versprödung tritt aus unterschiedlichen Gründen in Werkstoffen auf, so z.B. im Zuge von Trocknungsprozessen, Migration von Plastifizierungsmitteln, UV-Alterung, Tieftemperaturbeanspruchung. Jedoch kann auch die Zugabe von harten Füllstoffen in eine Polymermatrix zu einer höheren Sprödigkeit führen.

Darüber hinaus zeigen Werkstoffe mit hohem Ligningehalten oftmals und meist gleichzeitig eine geringe Schlagzähigkeit, eine geringere Stabilität unter Schwingungsbelastung, eine höhere Steifigkeit und eine höhere Druckfestigkeit [186]. Dabei ist anzumerken, dass Sprödigkeit nicht als Gegenteil von Zähigkeit zu sehen ist [186,187]. Die Zähigkeit τ kann auf verschiedene Wege definiert werden. Eines der häufig verwendeten Definitionen leitet die Größe der Zähigkeit aus Ergebnissen des uniaxialen Zugversuches einer Probe her. Dabei ist die Zähigkeit, die durch Deformation aufgenommene oder abgeleitete Energie eines Werkstoffs, bis zum Bruchversagen eines einer Spannung ausgesetzten Werkstoffs. Rechnerisch

lässt sie sich durch Flächenberechnung unterhalb der Spannungs-Dehnungskurve (σ - ε) bestimmen, Gl. 17:

$$\tau = \int_0^{\varepsilon_b} \sigma d\varepsilon \quad \text{Gl. 17}$$

mit ε_b der Reißdehnung.

Die Sprödigkeit B eines Werkstoffs kann ebenfalls aus Kennzahlen, die im uniaxialen Zugversuch erhoben wurden, nach Brostow et al. [187] angenähert werden und kann für Polymerwerkstoffe und polymerbasierte Verbundwerkstoffe mit hinreichend hohem Gütemaß ($R^2 = 0,934$) angenommen werden, Gl. 18:

$$B = (b - \tau)/(\tau a - c) \quad \text{Gl. 18}$$

wobei $a = -111$, $b = -14102$ und $c = -1640$ bei Umgebungsbedingungen ist.

Hierüber wird die Sprödigkeit der Werkstoffe bei Raumtemperatur quantitativ in Abhängigkeit des Füllstoffvolumenanteils berechnet.

Bei einem Lignin-Volumenanteil von $\varphi_L = 0,59$ wurde die Grenze zwischen duktilem und sprödem Materialverhalten gefunden. Verbundwerkstoffe mit höheren Volumenanteilen zeigen eine Zunahme der dynamischen Steifigkeit C_{dyn} um 57%, sowie eine Verringerung der Kriechneigung, d.h. der Neigung zur plastischen Verformung unter mechanischer Last.

Abbildung 21 zeigt die Indentierungs-Eigenschaften, d.h. Härte und E-Modul.

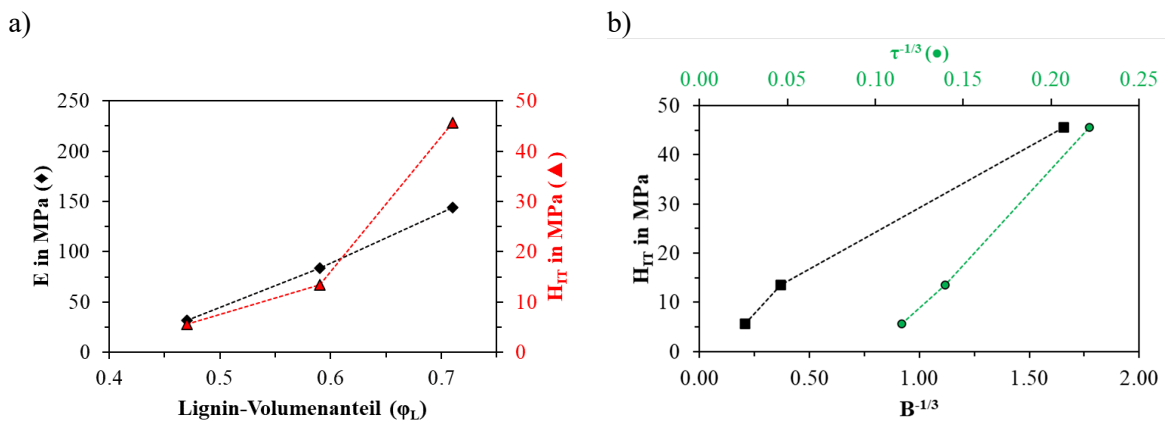


Abbildung 21 Abhängigkeit zwischen mechanischen Eigenschaften und der Sprödigkeit in Lignin-Biocomposites in Systemen mit hohem Lignin-Volumenanteil. a) E-Modul und Härte (H_{IT}) als Funktion des Lignin-Volumenanteils φ_L und b) Härte aus Indentierungsuntersuchung (H_{IT}) als Funktion des Sprödigkeits-Index ($B^{-1/3}$) und Zähigkeits-Index $\tau^{-1/3}$ für $\varphi_L \geq 0,47$.

Wie in Abbildung 21a dargestellt, steigt die Steifigkeit mit dem Lignin-Volumenanteil (φ_L) linear an, wohingegen die Härte (ermittelt mittels Indentierung) oberhalb von $\varphi_L = 0,59$ stärker ansteigt. Beim Vergleich von Sprödigkeit B und Härte H_{IT} ($R^2 = 0,993$) sowie Zähigkeit τ und Härte H_{IT} ($R^2 = 0,999$) zeigt sich eine gute bis sehr gute Korrelation, Abbildung 21b. Dies stimmt mit Berichten über kohlenstoffbeladenen Polymercomposites überein [186]. Es wird durch die Untersuchung der Härten

eine Methode geschaffen, um die Sprödigkeit von Lignin-Verbundwerkstoffen schnell und praktikabel abzuschätzen.

Über mikroskopische und kalorimetrische Methoden kann eine Änderung der morphologischen und strukturellen Aufbaus im Vergleich zu Verbundwerkstoffen mit geringem Ligninanteil beobachtet werden. Durch die Zunahme des Ligninanteils und die Koaleszenz von Lignindomänen wird der Umfang von mechanisch und thermisch induzierten Vernetzungsreaktionen erhöht. Die maximale Molekulargewichtszunahme wird bei $\varphi_L = 0,59$ gefunden. Gegenüber Verbundwerkstoffen mit höheren oder niedrigeren Ligningehalten wird gleichzeitig eine sehr viel höhere Scherviskosität während der Compoundierung beobachtet. Diese Beobachtungen werden schließlich mit den strukturellen Änderungen erklärt. Sie können einerseits auf die Koaleszenz von Ligninpartikeln und andererseits auf die räumliche Einengung der Ligninmoleküle und die dadurch einhergehenden chemisch-physikalischen Prozesse wie Vernetzungsreaktionen zurückgeführt werden.

4.2.4 Prozess-Struktur-Eigenschaftsbeziehungen in Lignin-Biocomposites in Abhängigkeit von Scherungs- und thermischer Energieeinleitung

Wie in den Publikationen II und III beschrieben, treten in den über das Organosolv-Verfahren gewonnenen und während der Compoundierung einer Scher- und thermischen Energie ausgesetzten *Poacea*-Ligninen Vernetzungsreaktionen auf, die zu einer Zunahme des Molekulargewichts führen. In Publikation IV wird daher untersucht, wie sich diese strukturellen Änderungen auf ausgewählte physikalische und thermische Eigenschaften von Bioverbundwerkstoffen mit hohen Ligninanteilen ($\varphi_L \geq 0,47$) auswirken. Hierzu werden Compoundieruntersuchungen am Microcompounder durchgeführt. Dabei werden die Parameter Temperatur, Schneckendrehzahl und Verweilzeit im Compounder variiert. Es wird gezeigt, dass die Temperatur dabei einen größeren Einfluss auf die Materialeigenschaften hat, wobei die Steifigkeit und Zugfestigkeit mit steigender Temperatur stark zunimmt.

In Abbildung 22 ist ein Spannungs-Dehnungsdiagramm von Lignin-Verbundwerkstoffen mit $\varphi_L = 0,47$ und $\varphi_L = 0,59$ bei niedrigen (1) und hohen (2) Energieeinträgen dargestellt.

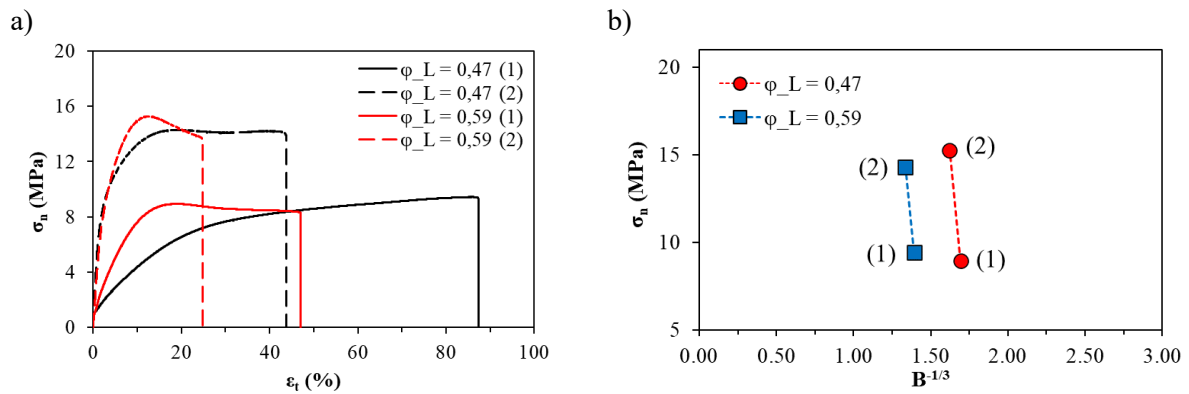


Abbildung 22 a) Spannungs-Dehnungsdiagramm von Lignin-Biocompositen mit $\varphi_L = 0,47$ und $\varphi_L = 0,59$ bei niedrigen (1) und hohen (2) Energieeinträgen. b) Gegenüberstellung von Festigkeit σ und Sprödigkeit B der Lignin-Biocomposite mit $\varphi_L = 0,47$ und $\varphi_L = 0,59$ bei niedrigen (1) und hohen (2) Energieeinträgen

Lignin-Bioverbundwerkstoffe, die bei Temperaturen nahe des Zersetzungspunktes compoundiert werden, zeigen eine starke Abnahme der Steifigkeit und Reißdehnung. Bei Temperaturen unterhalb der Zersetzungstemperatur jedoch und bei langen Verweilzeiten und vergleichsweise hohen Scherenergieeinträgen kommt es zu einer verbesserten Bruchmechanik und gesteigerten Hitzebeständigkeiten der hierüber zu erhaltenen Lignin-Bioverbundwerkstoffen. Dies zeigt sich durch verbesserte Festigkeits- und Zähigkeitseigenschaften.

5. Fazit und Ausblick

Die in dieser Arbeit beschriebene Route zur Gewinnung von hochreinem Lignin aus Wiesengras erschließt neue stoffliche Verwertungsmöglichkeiten für Wertstoffe, die bislang zumeist nur einer thermischen Verwertung zugeführt wurden. Dies ist im Sinne eines nachhaltigen Umweltschutzes sowie der Ökonomie, indem sämtliche Stoffströme einer wertschöpfenden und nachhaltigen Verwertung zugeführt werden. Das in dieser Arbeit vorgestellte neuartige Konzept für grüne Bioraffinerien kann dadurch Vorläufermaterialien für die chemische Industrie und der Materialwirtschaft hervorbringen, die dann z.B. in Kohlenstoffmaterialien, Energiespeichern, Antioxidantien, Thermoplasten, Bindemitteln, Duroplasten oder in der Biomedizin Anwendung finden können.

Es wird in dieser Arbeit eine neuartige Isolationsroute vorgestellt, die es erlaubt, hochreines Lignin zu gewinnen, sodass der Zugang zu einem weiteren werthaltigen Produkt in einer auf Süßgräsern basierenden grünen Bioraffinerie mit hohen Ausbeuten geschaffen wird. Die Identifikation einer geeigneten Ligninfraktion erfolgt über die strukturelle Beschreibung und den erforschten Eigenschaften. Es können sehr reine Ligninfraktionen aus Süßgräsern mittels Compoundierung mit geeigneten Verbundpartnern bei hohen Füllgraden ($\geq 50\%$) thermoplastisch verarbeitet werden.

Neben den für Lignin typischen Coumaryl- (H), Guajacyl- (G) und Syringyl- (S) Struktureinheiten konnte auch die Anwesenheit von *p*-Cumarsäure und Ferulasäure als charakteristische Bestandteile von Süßgräser-Lignin bestätigt werden. Die Bausteine sind überwiegend über 4-O-5' und 5-5' und in geringerem Ausmaß über β -5 Bindungen verknüpft. Dies erlaubt die Einstufung des gewonnenen Lignins als HGS-Lignin, was die Stellung zu technischen Ligninen aus einjährigen Gräsern erlaubt.

Die gewonnene Ligninfraktion zeigt hinreichend (thermo-)plastische Eigenschaften und kann bis zu sehr hohen Füllgraden von 75 m% mittels Schmelzcompoundierung mit dem Erhalt von Organosolv-Lignin-Elastomer (EVA) Verbundwerkstoffen verarbeitet und untersucht werden. Dabei wurden die Auswirkungen einer hohen Lignin-Beladung auf die Eigenschaften der Verbundwerkstoffe untersucht. Die hierbei erhaltenen Prozess-Struktur-Eigenschaftsbeziehungen und dabei insbesondere die Kenntnis und Dynamik von Kopplungsreaktionen in *Poacea* Organosolv-Lignin können zukünftig in neuen Konzepten von maschinellem Lernen zur zielgerichteten Eigenschaftseinstellung in Werkstoffsystemen zugrunde gelegt werden.

Ein Hauptaugenmerk wird auf die Rolle von Lignin in mittel- bis hochbeladenen Systemen gelegt, durch die Beschreibung des Übergangs von der Rolle des Lignins als Füllstoffkomponente, die zur Steifigkeitsmodulation verwendet werden kann, hin zur Matrixkomponente mit erstmals beschriebenen verbesserten Ermüdungseigenschaften.

Bei geringem Energieeintrag während der thermoplastischen Verarbeitung führt dies zwar zur Erhöhung der Steifigkeit, aber zu gleichzeitig hoher Sprödigkeit der erhaltenen Werkstoffkörper. Dies kann durch zielgerichteten (v.a. thermischen) Energieeintrag und Scherenergieeintrag gezielt genutzt werden.

So wird durch die gezielte Wahl von Verarbeitungsparametern eine weitere Möglichkeit zur Eigenschaftsvariation geschaffen, indem sowohl die thermoplastischen als auch die duroplastischen Eigenschaften von Organosolv-Lignin aus Süßgräsern genutzt werden können. In der Arbeit konnte über die Beschreibung der strukturellen Änderungen, die sich gleichzeitig verändernden physikalischen Eigenschaften erstmalig beschrieben werden.

Die durch den Energieeintrag hervorgerufenen strukturell-molekularen Reaktionen führen neben deutlich verbesserten mechanischen Eigenschaften (gleichbleibende Zähigkeit bei deutlich verbesserter Festigkeit und Steifigkeit) auch zu einer verbesserten thermischen Beständigkeit und Pyrolyseausbeute. Hierdurch werden zahlreiche Anwendungsoptionen für Lignin aus einjährigen Pflanzen geschaffen.

Schließlich sollten die in dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse auf andere Rohstoffe (Weichholz, Hartholz von unterschiedlicher Provenienz), Aufschlussmethoden (Sulfat-Verfahren, Sulfit-Verfahren) und Materialsysteme (Biopolymere wie Polyhydroxyalkanoate) ausgeweitet werden, um so die heute häufig als Reststoff eingestuften Ligninfraktionen werthaltigen Anwendungen zuzuführen.

Abkürzungsverzeichnis

$\dot{\gamma}_a$	Scheinbare Schergeschwindigkeit
\dot{m}	Massenstrom
$\dot{\gamma}$	Schergeschwindigkeit
$^{31}\text{P-NMR}$	^{31}P -Magnetresonanzspektroskopie
AFM	Rasterkraftmikroskop
$B^{-1/3}$	Sprödigkeitsindex
C	p-Cumarat
CoA	Coenzym A
C_p	Wärmekapazität
Di-FS	Di-Ferulasäure
DSC	Dynamische Differenzkalorimetrie
DTG	Differenzial-Thermogravimetrie
E	Elastizitätsmodul
E_f	E-Modul des Lignins
E_m	E-Modul der Matrix
EtOAc	Ethylacetat
EtOH	Ethanol
F	Ferulat
F_1	Hydrostatische Kraft
F_2	Hydrostatische Gegenkraft
F_3	Strömungswiderstand Kapillarwandung
FS	Ferulasäure
FTIR	Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie
G_m	Gibb'sche freie Energie
GPC	Gel-Permeationschromatographie
H_2O	Wasser
H_m	Mischungsenthalpie
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LPC	Lignin-Polysaccharidkomplex
NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NH_3	Ammoniak
OL	Organosolv-Lignin vor Extraktion
OL_{ex}	Organosolv-Lignin nach EtOAc Extraktion
P1	Druck am Drucksensor 1 (Microcompounder)
P3	Druck am Drucksensor 3 (Microcompounder)

pCS	p -Cumarsäure
P -GS	<i>Poacea</i> Grünschnitt
Q_v	Volumenstrom
R^2	Bestimmtheitsmaß
S_m	Mischungsentropie
SP -GS	Silierter <i>Poacea</i> Grünschnitt
$T_{5\%}$	Temperatur bei 5% Massenverlust
T_g	Glasübergangstemperatur
TG	Thermogravimetrie
Tri-FS	Di-Ferulasäure
T_s	Erweichungstemperatur
U_T	Maß für die Zähigkeit
v	Extrusionsgeschwindigkeit
W_{FF}	Wechselwirkungen zwischen Füllstoffpartikeln
W_{MF}	Wechselwirkungen zwischen Matrix und Füllstoffpartikeln
$\Delta P/l$	Druckgradient
ε	Reißdehnung
η	Viskosität
η_{Gef}	Scherviskosität des gefüllten Systems
η_{M1}	Scherviskosität der 1. Phase
η_{M2}	Scherviskosität der 2. Phase
$\eta_{Susp.}$	Suspensionsviskosität
ξ_c	Geometriefaktor
ρ_s	Schmelzdichte
σ_m	Reißspannung
τ	Scherspannung
$\tau^{-1/3}$	Zähigkeitsindex
τ_w	Wandscherspannung
$\phi_{krit.}$	Kritischer Füllstoffvolumenanteil
ϕ_L	Lignin-Volumenanteil
χ	Verhältnissfaktor

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Dreigliedriges Kettenmodell zur Beschreibung des Forschungsansatzes anhand des zentralen Paradigmas der Materialwissenschaften und Ingenieurwissenschaften nach [27].	14
Abbildung 2 Hierarchisch-struktureller Aufbau von Lignocellulose von der Zellebene bis zur Molekülebene. Verändert nach [34,35].	16
Abbildung 3 Zimtalkohol-Derivate (blau) und Phenolsäuren (schwarz) in Lignin, sowie der dazugehörige <i>p</i> -Hydroxyphenyl-, Guajacyl-, Syringylrest, <i>p</i> -Coumarat-, Ferulat- und Sinapatrest (eigene Darstellung).	18
Abbildung 4 Enzymatische Dehydrierung eines <i>p</i> -Cumarylalkohols und Bildung von mesomeriestabilisierten Radikalen an der O-4-, C-5, C-1 oder β -Position. Verändert nach [48,49].	18
Abbildung 5 Mögliche Bindungstypen in Lignin und daran beteiligte Monolignole (H, G, S) und <i>p</i> -Hydroxyzimtsäuren (F) nach [51–53].	19
Abbildung 6 Bildung eines Chinonmethids durch oxidative Radikalbildung an Phenylpropanoid-Einheiten und Lignin und anschließende radikalische Verknüpfungsreaktion zu einem <i>para</i> -Quinonmethid-Intermediat. Anschließende Reaktion mit Wasser, Hydroxylgruppen von Polysacchariden und phenolische Hydroxylgruppen. Verändert nach [55].	20
Abbildung 7 Kopplung der <i>p</i> -Cumarsäure über Esterbindung an den γ -Kohlenstoff eines Monolignolrests.	21
Abbildung 8 a) Strukturausschnitt einer Arabinoxylose mit β -(1-4)-verknüpften Xylopyranosyl-Monomeren, worin einer dieser Monomere an Stelle C-(O)-2 mit einem α -L-Arabinofuranosyl-Rest substituiert ist. Veresterung an Stelle C-(O)-5 des L-Arabinofuranosyl-Rests mit Ferulasäure (FA) (blau). [66]. b) 5-5-Verknüpfung von zwei feruloylierten Arabinoxylosen als eine der häufig auftretenden kovalenten Verknüpfungen nach [67].	21
Abbildung 9 Das Flavon Tricin als monomerer Baustein für die Ligninbiosynthese in Süßgräsern (Poaceae).	22
Abbildung 10 a) Möglichkeiten zur Abtrennung von Lignin in einer Grünen Bioraffinerie. Ligninabtrennung über druck- und temperaturinduzierte Bindungsspaltung und Flüssigextraktion aus dem Zellwandverbund mit organischen Lösungsmitteln (Ligninfraktion	

I), sowie Ligninabtrennung im Anschluss an die enzymatische Hydrolyse und ggf. fermentative Polysaccharidkonversion (Ligninfraktion II). Verändert nach [12]. b) Die bei der Biomassevorbehandlung (Organosolv-Prozess) und Polysaccharidkonversion (enzymatische Hydrolyse) ablaufenden Zellwandalterationen mit den Zellwandbestandteilen, Prozessschritten, Zwischen- und Endprodukten.	24
Abbildung 11 a) schematische Darstellung Micro-Compounder Haake Minilab II. b) Abmessungen und Lage der Drucksensoren P1 und P3 in der Schlitzkapillare. c) Stellung des Bypass-Ventils im Extrusionsbetrieb. d) Stellung des Bypass-Ventils im Rückflussbetrieb. e) Düsenaustritt eines Lignin Verbundwerkstoffes	29
Abbildung 12 Kräftegleichgewicht an einem quaderförmigen Fluidelement und daraus resultierende Schubspannungsverteilung τ in einer stationären Strömung in einer Schlitzkapillare.....	30
Abbildung 13 Ligningewinnung aus silierten Süßgräsern und mögliche Anwendungsgebiete für die entstehenden Ligninfraktionen nach Organosolv-Behandlung (Ligninfraktion I) und enzymatischer Verzuckerung (Ligninfraktion II). Grau gestrichelter Kasten: Integriertes Vorbehandlungskonzept nach [13]. Eigene Darstellung.....	37
Abbildung 14 a) Quantitative Zusammensetzung von Silage nach sechswöchiger Miete von Grünschnitt unter anaeroben Bedingungen (blau) und Silage-Presskuchen (grün). b) relative Anteile von Klason Lignin und säurelöslichem Lignin in Wiesengras-Silage, Silage-Presskuchen, Hängebirke (<i>Betula pendula</i> Roth.) und Riesen-Chinaschilf (<i>Miscanthus x giganteus</i>). Eigene Darstellung.	39
Abbildung 15 Fließschema zur Gewinnung und Prozessierung von Lignin aus silierten Süßgräsern (<i>Poacea</i>) mit (a) und ohne (b) vorgeschalteter mechanisch-enzymatischer Verzuckerung des Presskuchens (l=flüssig, s=fest). Eigene Darstellung.	40
Abbildung 16 a) Fourier-Transform-Infrarot (FTIR) spektroskopische Aufnahme von unbehandeltem Organosolv-Lignin von Süßgräsern (unbehandelt), Organosolv-Lignin, das aus zuvor extrahierter silierten Süßgräsern gewonnen wurde (Vorextraktion) und Organosolv-Lignin das als fester Rückstand nach der Extraktion mit Ethylacetat erhalten wurde (Nachextraktion). b) Gel-Permeations-Chromatogramm (GPC) der Organosolv-Lignin Fraktionen.....	42
Abbildung 17 Radikalbildung in einer β -O-4 Struktureinheit (1) durch Bildung eines Chinonmethid-Intermediats durch Wasserabspaltung am α -Kohlenstoff (2) und homolytische	

Bindungsspaltung nach am C β -O-Ether unter Bildung eines Monolignol-Radikals (3) und eines Lignin-radikals (4) nach [160,161].	45
Abbildung 18 a) Typisches Materialverhalten in thermoplastischen Lignin-Verbundwerkstoffen in Bezug auf Steifigkeit (E) und Zähigkeit (U_T) in Bioverbundwerkstoffen in Abhängigkeit des Lignin-Volumenanteils. b) und c) Zielstellungen der Werkstoffforschung für ligninbasierte Thermoplaste mit hohen Lignin-Volumenanteilen φ_L	46
Abbildung 19 Schematische Darstellung des Einflusses des Füllstoffgehalts auf die Scherviskosität und Wechselwirkungen von gefüllten Polymeren im erweiterten Zonen-Modell nach Markov [184]. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen der Lignin-Biocomposite aus [129]. Mit η_{Gef} der Scherviskosität des gefüllten Systems, η_{M1} der Matrixviskosität der Phase 1, η_{Susp} der Suspensionsviskosität, η_{M2} der Matrixviskosität der Phase 2, W_{FF} den Wechselwirkungen zwischen den Füllstoffpartikeln, W_{MF} den Wechselwirkungen zwischen Matrix und Füllstoffpartikeln. Die dargestellten Pfeile (\rightarrow) signalisieren die tendenzielle Veränderung der Viskosität hin zu höheren Füllstoffgehalten.....	48
Abbildung 20 a) Experimentell ermittelte E-Moduln und Halpin-Tsai Modellierung des Lignin-EVA-Biocomposites in Abhängigkeit vom Lignin-Volumenanteil φ_L . b) Ergebnisse der Bestimmung von Zähigkeits-Index $\tau^{-1/3}$ und Sprödigkeitsindex $B^{-1/3}$ in Abhängigkeit vom Lignin-Volumenanteil φ_L	49
Abbildung 21 Abhängigkeit zwischen den mechanischen Eigenschaften und Sprödigkeit in Lignin-Biocomposites in Systemen mit hohem Lignin-Volumenanteil. a) E-Modul und Härte (H_{IT}) als Funktion des Lignin-Volumenanteils φ_L und b) Härte aus Indentierungsuntersuchung (H_{IT}) als Funktion des Sprödigkeits-Index ($B^{-1/3}$) und Zähigkeitsindex $\tau^{-1/3}$ für $\varphi_L \geq 0,47$	51
Abbildung 22 a) Spannungs-Dehnungsdiagramm von Lignin-Biocompositen mit $\varphi_L = 0,47$ und $\varphi_L = 0,59$ bei niedrigen (1) und hohen (2) Energieeinträgen. b) Gegenüberstellung von Festigkeit σ und Sprödigkeit B der Lignin-Biocomposite mit $\varphi_L = 0,47$ und $\varphi_L = 0,59$ bei niedrigen (1) und hohen (2) Energieeinträgen	53

Literaturverzeichnis

- [1] S.B. Borrelle, J. Ringma, K.L. Law, C.C. Monnahan, L. Lebreton, A. McGivern, E. Murphy, J. Jambeck, G.H. Leonard, M.A. Hilleary, M. Eriksen, H.P. Possingham, H. De Frond, L.R. Gerber, B. Polidoro, A. Tahir, M. Bernard, N. Mallos, M. Barnes, C.M. Rochman, Predicted growth in plastic waste exceeds efforts to mitigate plastic pollution, *Science* (80-.). 369 (2020) 1515–1518.
- [2] C.M. Rochman, T. Hoellein, The global odyssey of plastic pollution, *Science* (80-.). 368 (2020).
- [3] C.J. Rhodes, Plastic pollution and potential solutions, *Sci. Prog.* 101 (2018) 207–260.
- [4] K. Müller, C. Zollfrank, M. Schmid, Natural Polymers from Biomass Resources as Feedstocks for Thermoplastic Materials, *Macromol. Mater. Eng.* 304 (2019) 1–17.
- [5] D. Fengel, G. Wegener, *Wood. Chemistry, Ultrastructure, Reactions*, de Gruyter, Berlin, 1984.
- [6] G.L.F. Gellerstedt, E.G. Henriksson, Lignins: Major sources, structure and properties, Monomers, *Polym. Compos. from Renew. Resour.* (2008) 201–224.
- [7] G. Janusz, A. Pawlik, J. Sulej, U. Świdorska-Burek, A. Jarosz-Wilkolazka, A. Paszczyński, Lignin degradation: Microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution, *FEMS Microbiol. Rev.* 41 (2017) 941–962.
- [8] D.S. Bajwa, G. Pourhashem, A.H. Ullah, S.G. Bajwa, A concise review of current lignin production, applications, products and their environment impact, *Ind. Crops Prod.* 139 (2019) 111526.
- [9] R.J.A. Gosselink, E. De Jong, B. Guran, A. Abächerli, Co-ordination network for lignin - Standardisation, production and applications adapted to market requirements (EUROLIGNIN), *Ind. Crops Prod.* 20 (2004) 121–129.
- [10] Bundesministerium für Ernährung Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), Roadmap Bioraffinerien, Roadmap Bioraffinerien Im Rahmen Der Aktionspläne Der Bundesregierung Zur Stofflichen Und Energ. Nutzung Nachwachsender Rohstoffe. 2. Auflage (2014) 1–108.
- [11] H.S.S. Sharma, M. Mandl, Green biorefinery, *Sustain. Bioenergy Prod.* (2014) 535–564.
- [12] A.J. Ragauskas, G.T. Beckham, M.J. Bidy, R. Chandra, F. Chen, M.F. Davis, B.H. Davison, R.A. Dixon, P. Gilna, M. Keller, P. Langan, A.K. Naskar, J.N. Saddler, T.J. Tschaplinski, G.A. Tuskan, C.E. Wyman, Lignin valorization: Improving lignin processing in the biorefinery, *Science* (80-.). 344 (2014).
- [13] D. Schwarz, J. Dörrstein, S. Kugler, D. Schieder, C. Zollfrank, V. Sieber, Integrated biorefinery concept for grass silage using a combination of adapted pulping methods for advanced saccharification and extraction of lignin, *Bioresour. Technol.* 216 (2016) 462–470.

- [14] A. Hopkins, B. Holz, Grassland for agriculture and nature conservation: production, quality and multi-functionality, *Agron. Res.* 4 (2006) 3–20.
- [15] S. Möckel, Protection of permanent grassland from conversion, upheaval or intensification - Part 1: Subsidy law, *Natur Und R.* 38 (2016) 741–748.
- [16] H. Hatakeyama, T. Hatakeyama, Lignin Structure, Properties, and Applications, *Adv. Polym. Sci.* 232 (2010) 1–63.
- [17] S. Yang, T.-Q. Yuan, Q. Shi, R.-C. Sun, Application of Lignin in Thermoplastic Materials, *Green Chem. Chem. Eng.* (2019) 405–426.
- [18] C. Wang, S.S. Kelley, R.A. Venditti, Lignin-Based Thermoplastic Materials, *ChemSusChem.* 9 (2016) 770–783.
- [19] M.M. Abu-Omar, K. Barta, G.T. Beckham, J.S. Luterbacher, J. Ralph, R. Rinaldi, Y. Román-Leshkov, J.S.M. Samec, B.F. Sels, F. Wang, Guidelines for performing lignin-first biorefining, *Energy Environ. Sci.* 14 (2021) 262–292.
- [20] D.S. Argyropoulos, C. Crestini, A Perspective on Lignin Refining, Functionalization, and Utilization, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 4 (2016) 5089.
- [21] M.N. Collins, M. Nechifor, F. Tanasă, M. Zănoagă, A. McLoughlin, M.A. Strózyk, M. Culebras, C.A. Teacă, Valorization of lignin in polymer and composite systems for advanced engineering applications – A review, *Int. J. Biol. Macromol.* 131 (2019) 828–849.
- [22] O.Y. Abdelaziz, A.A. Al-Rabiah, M.M. El-Halwagi, C.P. Hultberg, Conceptual Design of a Kraft Lignin Biorefinery for the Production of Valuable Chemicals via Oxidative Depolymerization, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 8 (2020) 8823–8829.
- [23] N. Schoof, R. Luick, G. Beaufoy, G. Jones, P. Einarsson, J. Ruiz, V. Stefanova, D. Fuchs, T. Windmaißer, H. Hötcker, H. Jeromin, H. Nickel, M. Ukhanova, *Grünlandschutz in Deutschland*, 2019. www.bfn.de (letzter Zugriff: 14.05.2023).
- [24] M. Santamaría-Fernández, B. Molinuevo-Salces, M. Lübeck, H. Uellendahl, Biogas potential of green biomass after protein extraction in an organic biorefinery concept for feed, fuel and fertilizer production, *Renew. Energy.* 129 (2018) 769–775.
- [25] E. Tampio, E. Winquist, S. Luostarinen, M. Rinne, A farm-scale grass biorefinery concept for combined pig feed and biogas production, *Water Sci. Technol.* 80 (2019) 1042–1052.
- [26] J. Weiermüller, A. Akermann, T. Sieker, R. Ulber, Biorefineries Based on Weakly Lignified Biomass, *Chemie-Ingenieur-Technik.* 92 (2020) 1711–1722.
- [27] G.B. Olson, Computational Design of Hierarchically Structured Materials, *Science* (80-.). 277 (1997) 1237–1242.

- [28] M. Parit, Z. Jiang, Towards lignin derived thermoplastic polymers, *Int. J. Biol. Macromol.* 165 (2020) 3180–3197.
- [29] C. Pouteau, P. Dole, B. Cathala, L. Averous, N. Boquillon, Antioxidant properties of lignin in polypropylene, *Polym. Degrad. Stab.* 81 (2003) 9–18.
- [30] W. Wohlrab, Injection molding compounder, US 2004/0265419 A1, 2004.
- [31] R. Harald, R. Eleftheriadis, E. Lodgaard, *Advanced Manufacturing and Automation VIII*, Singapore, 2019.
- [32] W. Boerjan, J. Ralph, M. Baucher, Lignin biosynthesis, *Annu. Rev. Plant Biol.* 54 (2003) 519–546.
- [33] L.J. Gibson, The hierarchical structure and mechanics of plant materials, *J. R. Soc. Interface.* 9 (2012) 2749–2766.
- [34] D. Klemm, B. Philipp, T. Heinze, U. Heinze, W. Wagenknecht, *Comprehensive Cellulose Chemistry: Fundamentals and Analytical Methods*, Wiley, 2012.
- [35] A. Rafsanjani, D. Derome, F.K. Wittel, J. Carmeliet, Computational up-scaling of anisotropic swelling and mechanical behavior of hierarchical cellular materials, *Compos. Sci. Technol.* 72 (2012) 744–751.
- [36] B. Saake, R. Lehnen, Lignin, in: *Ullmann’s Encycl. Ind. Chem.*, 2012: p. 16.
- [37] J. Ralph, K. Lundquist, G. Brunow, F. Lu, H. Kim, P.F. Schatz, J.M. Marita, R.D. Hatfield, S. a. Ralph, J.H. Christensen, W. Boerjan, Lignins: Natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenyl-propanoids, *Phytochem. Rev.* 3 (2004) 29–60.
- [38] J. Ralph, C. Lapierre, W. Boerjan, Lignin structure and its engineering, *Curr. Opin. Biotechnol.* 56 (2019) 240–249.
- [39] R. Vanholme, B. De Meester, J. Ralph, W. Boerjan, Lignin biosynthesis and its integration into metabolism, *Curr. Opin. Biotechnol.* 56 (2019) 230–239.
- [40] K. Morreel, O. Dima, H. Kim, F. Lu, C. Niculaes, R. Vanholme, R. Dauwe, G. Goeminne, D. Inzé, E. Messens, J. Ralph, W. Boerjan, Mass spectrometry-based sequencing of lignin oligomers, *Plant Physiol.* 153 (2010) 1464–1478.
- [41] J. Barros, J.C. Serrani-Yarce, F. Chen, D. Baxter, B.J. Venables, R.A. Dixon, Role of bifunctional ammonia-lyase in grass cell wall biosynthesis, *Nat. Plants.* 2 (2016) 1–9.
- [42] R.A. Dixon, L. Achnine, P. Kota, C.J. Liu, M.S.S. Reddy, L. Wang, The phenylpropanoid pathway and plant defence - A genomics perspective, *Mol. Plant Pathol.* 3 (2002) 371–390.
- [43] K. Freudenberg, Biosynthesis and constitution of Lignin, *Nature.* 183 (1959) 1152–1155.

- [44] A.K. Sangha, J.M. Parks, R.F. Standaert, A. Ziebell, M. Davis, J.C. Smith, Radical Coupling Reactions in Lignin Synthesis: A Density Functional Theory Study., *J. Phys. Chem. B.* 116 (2012) 4760–4768.
- [45] B. Saake, R. Lehnen, Lignin, in: *Ullmann's Encycl. Ind. Chem.*, 2012: pp. 21–36.
- [46] C. Cui, H. Sadeghifar, S. Sen, D.S. Argyropoulos, Toward thermoplastic lignin polymers; Part II: Thermal & polymer characteristics of kraft lignin & derivatives, *BioResources.* 8 (2013) 864–886.
- [47] E. Dorrestijn, L.J.J. Laarhoven, I.W.C.E. Arends, P. Mulder, Occurrence and reactivity of phenoxyl linkages in lignin and low rank coal, *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 54 (2000) 153–192.
- [48] H. Lange, S. Decina, C. Crestini, Oxidative upgrade of lignin - Recent routes reviewed, *Eur. Polym. J.* 49 (2013) 1151–1173.
- [49] C. Crestini, F. Melone, M. Sette, R. Saladino, Milled wood lignin: a linear oligomer, *Biomacromolecules.* 12 (2011) 3928–3935.
- [50] A.N. Kapich, K.A. Jensen, K.E. Hammel, Peroxyl radicals are potential agents of lignin biodegradation, *FEBS Lett.* 461 (1999) 115–119..
- [51] J.H. Grabber, How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies, *Crop Sci.* 45 (2005) 820–831.
- [52] N. Giummarella, Y. Pu, A.J. Ragauskas, M. Lawoko, A critical review on the analysis of lignin carbohydrate bonds, *Green Chem.* 21 (2019) 1573–1595.
- [53] T.W. Jeffries, Biodegradation of lignin-carbohydrate complex Biodegradation of lignin-carbohydrate complexes, *Biodegradation.* 1 (1990) 163–176.
- [54] D.C.C. Smith, Ester groups in Lignin, *Nature.* 176 (1955) 267–268.
- [55] T. Watanabe, T. Koshijima, Evidence for an ester linkage between lignin and glucuronic acid in lignin-carbohydrate complexes by DDQ-oxidation, *Agric. Biol. Chem.* 52 (1988) 2953–2955.
- [56] R.D. Hatfield, D.M. Rancour, J.M. Marita, Grass cell walls: A story of cross-linking, *Front. Plant Sci.* 7 (2017).
- [57] K. Freudenberg, H. Geiger, Pinoresinolid und andere Zwischenprodukte der Ligninbildung, *Chem. Ber.* 96 (1963) 1265–1270.
- [58] J. Ralph, J.H. Grabber, R.D. Hatfield, Lignin-ferulate cross-links in grasses: active incorporation of ferulate polysaccharide esters into ryegrass lignins, *Carbohydr. Res.* 275 (1995) 167–178.
- [59] D. Tarasov, M. Leitch, P. Fatehi, Lignin-carbohydrate complexes: Properties, applications, analyses, and methods of extraction: A review, *Biotechnol. Biofuels.* 11 (2018) 1–28.

- [60] L. Laureano-Perez, F. Teymouri, H. Alizadeh, B.E. Dale, Understanding Factors that Limit Enzymatic Hydrolysis of Biomass, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 121–124 (2005) 1081–1099.
- [61] M. Shimada, T. Fukuzuka, T. Higuchi, Ester linkages of para coumaric acid in bamboo and grass lignins, *Tappi.* 54 (1971) 72–78.
- [62] C.M. Courtin, J.A. Delcour, Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making, *J. Cereal Sci.* 35 (2002) 225–243.
- [63] M.C. Figueroa-Espinoza, X. Rouau, Oxidative cross-linking of pentosans by a fungal laccase and horseradish peroxidase: Mechanism of linkage between feruloylated arabinoxylans, *Cereal Chem.* 75 (1998) 259–265.
- [64] R.C. Sun, X.F. Sun, S.Q. Wang, W. Zhu, X.Y. Wang, Ester and ether linkages between hydroxycinnamic acids and lignins from wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, and fast-growing poplar wood, *Ind. Crops Prod.* 15 (2002) 179–188.
- [65] J.W. MacAdam, J.H. Grabber, Relationship of growth cessation with the formation of diferulate cross-links and p-coumaroylated lignins in tall fescue leaf blades, *Planta.* 215 (2002) 785–793.
- [66] A.C. Bily, L.M. Reid, J.H. Taylor, D. Johnston, C. Malouin, A.J. Burt, B. Bakan, C. Regnault-Roger, K.P. Pauls, J.T. Arnason, B.J.R. Philogène, Dehydrodimers of ferulic acid in maize grain pericarp and aleurone: Resistance factors to *Fusarium graminearum*, *Phytopathology.* 93 (2003) 712–719.
- [67] P. Schöpfer, Hydrogen peroxide-mediated cell-wall stiffening in vitro in maize coleoptiles, *Planta.* 199 (1996) 43–49.
- [68] G. Niño-Medina, E. Carvajal-Millán, A. Rascon-Chu, J.A. Marquez-Escalante, V. Guerrero, E. Salas-Muñoz, Feruloylated arabinoxylans and arabinoxylan gels: Structure, sources and applications, *Phytochem. Rev.* 9 (2010) 111–120.
- [69] M.C. Figueroa-Espinoza, M.H. Morel, A. Surget, X. Rouau, Oxidative cross-linking of wheat arabinoxylans by manganese peroxidase. Comparison with laccase and horseradish peroxidase. Effect of cysteine and tyrosine on gelation, *J. Sci. Food Agric.* 79 (1999) 460–463.
- [70] J. Ralph, S. Quideau, J.H. Grabber, R.D. Hatfield, Identification and Synthesis of New Ferulic Acid Dehydrodimers Present in Grass Cell Walls, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1.* (1994) 3485–3498.
- [71] B. Durbeej, L.A. Eriksson, A Density Functional Theory Study of Coniferyl Alcohol Intermonomeric Cross Linkages in Lignin - Three-Dimensional Structures, Stabilities and the Thermodynamic Control Hypothesis, *Holzforschung.* 57 (2005) 150–164.
- [72] E. Carvajal-Millan, B. Guigliarelli, V. Belle, X. Rouau, V. Micard, Storage stability of laccase

- induced arabinoxylan gels, *Carbohydr. Polym.* 59 (2005) 181–188.
- [73] M. Bunzel, J. Ralph, C. Funk, H. Steinhart, Structural elucidation of new ferulic acid-containing phenolic dimers and trimers isolated from maize bran, *Tetrahedron Lett.* 46 (2005) 5845–5850.
- [74] E. Carvajal-Millan, A. Rascón-Chu, J.A. Márquez-Escalante, V. Micard, N.P. de León, A. Gardea, Maize bran gum: Extraction, characterization and functional properties, *Carbohydr. Polym.* 69 (2007) 280–285.
- [75] W. Morrison, R. Hartley, D. Himmelsbach, Synthesis of substituted truxillic acids from p-coumaric and ferulic acid: simulation of photodimerization in plant cell walls, *J. Agric. Food Chem.* 40 (1992) 768–771.
- [76] A. Scalbert, B. Monties, J.Y. Lallemand, E. Guittet, C. Rolando, Ether linkage between phenolic acids and lignin fractions from wheat straw, *Phytochemistry.* 24 (1985) 1359–1362.
- [77] T. Higuchi, Y. Ito, I. Kawamura, P-Hydroxyphenylpropane Component of Grass Lignin and Role of Tyrosine-Ammonia Lyase in Its Formation, *Phytochemistry.* 6 (1967) 875–881.
- [78] J.C. Del Río, J. Rencoret, P. Prinsen, A.T. Martínez, J. Ralph, A. Gutiérrez, Structural Characterization of Wheat Straw Lignin as Revealed by Analytical Pyrolysis, 2D-NMR, and Reductive Cleavage Methods., *J. Agric. Food Chem.* 60 (2012) 5922–5935.
- [79] W. Lan, J. Rencoret, F. Lu, S.D. Karlen, B.G. Smith, P.J. Harris, J.C. del Río, J. Ralph, Tricin-lignins: occurrence and quantitation of tricin in relation to phylogeny, *Plant J.* 88 (2016) 1046–1057.
- [80] W. Lan, F. Lu, M. Regner, Y. Zhu, J. Rencoret, S.A. Ralph, U.I. Zakai, K. Morreel, W. Boerjan, J. Ralph, Tricin, a flavonoid monomer in monocot lignification, *Plant Physiol.* 167 (2015) 1284–1295.
- [81] R. Hatfield, J. Ralph, J.H. Grabber, A potential role for sinapyl p-coumarate as a radical transfer mechanism in grass lignin formation, *Planta.* 228 (2008) 919–928.
- [82] R. Rinaldi, R. Jastrzebski, M.T. Clough, J. Ralph, M. Kennema, P.C.A. Bruijninx, B.M. Weckhuysen, Paving the Way for Lignin Valorisation: Recent Advances in Bioengineering, Biorefining and Catalysis, *Angew. Chemie - Int. Ed.* 55 (2016) 2–54.
- [83] Y. ru Chen, S. Sarkanen, Macromolecular replication during lignin biosynthesis, *Phytochemistry.* 71 (2010) 453–462.
- [84] Y. ru Chen, S. Sarkanen, Y.Y. Wang, Lignin-only polymeric materials based on unmethylated unfractionated kraft and ball-milled lignins surpass polyethylene and polystyrene in tensile strength, *Molecules.* 24 (2019).
- [85] S. Sarkanen, Y.R. Chen, Y.Y. Wang, Journey to Polymeric Materials Composed Exclusively of

- Simple Lignin Derivatives, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 4 (2016) 5223–5229.
- [86] Y.Y. Wang, Y.R. Chen, S. Sarkanen, Blend configuration in functional polymeric materials with a high lignin content, *Faraday Discuss.* 202 (2017) 43–59.
- [87] A. Vishtal, A. Kraslawski, Challenges in industrial applications of technical lignins, *BioResources.* 6 (2011) 3547–3568.
- [88] K. Wörmeyer, T. Ingram, B. Saake, G. Brunner, I. Smirnova, Comparison of different pretreatment methods for lignocellulosic materials. Part II: Influence of pretreatment on the properties of rye straw lignin, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 4157–4164.
- [89] W. Fang, M. Alekhina, O. Ershova, S. Heikkinen, H. Sixta, Purification and characterization of kraft lignin, *Holzforschung.* 69 (2015) 943–950.
- [90] X. Zhao, S. Li, R. Wu, D. Liu, Organosolv fractionating pre-treatment of lignocellulosic biomass for efficient enzymatic saccharification: chemistry, kinetics, and substrate, *Biofuels, Bioprod. Biorefining.* 11 (2017) 567–590.
- [91] T. McDonough, The chemistry of organosolv delignification, *Tappi Solvent Pulping Semin.* 76 (1994) 186–193.
- [92] J.H. Lora, W.G. Glasser, Recent Industrial Applications of Lignin: A Sustainable Alternative to Nonrenewable Materials, *J. Polym. Environ.* 10 (2002) 39–48.
- [93] W.G. Glasser, V. Davé, C.E. Frazier, Molecular Weight Distribution of (Semi-) Commercial Lignin Derivatives, *J. Wood Chem. Technol.* 13 (1993) 545–559.
- [94] D. S Argyropoulos, The Emerging Bio-Refinery Industry Needs to Refine Lignin Prior to Use, *J. Biotechnol. Biomater.* S6 (2012) 1–2.
- [95] C. Cui, R. Sun, D.S. Argyropoulos, Fractional precipitation of softwood kraft lignin: Isolation of narrow fractions common to a variety of lignins, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 2 (2014) 959–968.
- [96] A. García, A. Toledano, L. Serrano, I. Egüés, M. González, F. Marín, J. Labidi, Characterization of lignins obtained by selective precipitation, *Sep. Purif. Technol.* 68 (2009) 193–198.
- [97] B.H. Yoshida, K.P. Kringstad, S. Pulp, H. Hatakeyama, Fractionation of Kraft Lignin by Successive Extraction with Organic Solvents, *Holzforschung.* 41 (1987) 171–176.
- [98] A. Toledano, L. Serrano, A. Garcia, I. Mondragon, J. Labidi, Comparative study of lignin fractionation by ultrafiltration and selective precipitation, *Chem. Eng. J.* 157 (2010) 93–99.
- [99] V.K. Thakur, M.K. Thakur, P. Raghavan, M.R. Kessler, Progress in green polymer composites from lignin for multifunctional applications: A review, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 2 (2014) 1072–1092.

- [100] J.F. Kadla, S. Kubo, Miscibility and hydrogen bonding in blends of poly(ethylene oxide) and kraft lignin, *Macromolecules*. 36 (2003) 7803–7811.
- [101] S. Dutta, T.M. Garver, S. Sarkanen, Modes of Association Between Kraft Lignin Components, in: W.G. Glasser, S. Sarkanen (Eds.), *Lignin - Prop. Mater.*, American Chemical Society, 1989: pp. 155–176.
- [102] T. Hatakeyama, K. Nakamura, H. Hatakeyama, Studies on heat capacity of cellulose and lignin by differential scanning calorimetry, *Polymer (Guildf)*. 23 (1982) 1801–1804.
- [103] T. Hatakeyama, H. Kanetsuna, S. Ichihara, Thermal analysis of polymer samples by the round robin method. Part III. Heat capacity measurement by DSC, *Thermochim. Acta*. 146 (1989) 311–316.
- [104] R. Pucciariello, V. Villani, C. Bonini, M. D’Auria, T. Vetere, Physical properties of straw lignin-based polymer blends, *Polymer (Guildf)*. 45 (2004) 4159–4169.
- [105] Y. Li, S. Sarkanen, Alkylated kraft lignin-based thermoplastic blends with aliphatic polyesters, *Macromolecules*. 35 (2002) 9707–9715.
- [106] S. Kubo, Y. Uraki, Y. Sano, Thermomechanical Analysis of Isolated Lignins, *Holzforschung*. 50 (1996) 144–150.
- [107] W.G. Glasser, J.L. Mccarthy, *Macromolecules*, 8 (1975).
- [108] J.B. Binder, M.J. Gray, J.F. White, Z.C. Zhang, J.E. Holladay, Reactions of lignin model compounds in ionic liquids, *Biomass and Bioenergy*. 33 (2009) 1122–1130.
- [109] H. Sadeghifar, C. Cui, D.S. Argyropoulos, Toward thermoplastic lignin polymers. Part 1. Selective masking of phenolic hydroxyl groups in kraft lignins via methylation and oxypropylation chemistries, *Ind. Eng. Chem. Res.* 51 (2012) 16713–16720.
- [110] D. Paul, S. Newman, *Polymer blends*, 1st ed., New York, 1978.
- [111] J.F. Kadla, S. Kubo, Lignin-based polymer blends, *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.* 35 (2004) 395–400.
- [112] S. Kubo, J.F. Kadla, Poly(ethylene oxide)/Organosolv-Lignin blends: Relationship between thermal properties, chemical structure, and blend behavior, *Macromolecules*. 37 (2004) 6904–6911.
- [113] S. Sen, S. Patil, D.S. Argyropoulos, Thermal properties of lignin in copolymers, blends, and composites: a review, *Green Chem.* 17 (2015) 4862–4887.
- [114] W. Brostow, R. Chiu, I.M. Kalogeras, A. Vassilikou-Dova, Prediction of glass transition temperatures: Binary blends and copolymers, *Mater. Lett.* 62 (2008) 3152–3155.

- [115] S. Kubo, J.F. Kadla, The Formation of Strong Intermolecular Interactions in Immiscible Blends of Poly (vinyl alcohol) (PVA) and Lignin, (2003) 561–567.
- [116] C. Miao, W.Y. Hamad, Controlling lignin particle size for polymer blend applications, *J. Appl. Polym. Sci.* 134 (2017) 1–10.
- [117] Y. Son, Determination of shear viscosity and shear rate from pressure drop and flow rate relationship in a rectangular channel, *Polymer (Guildf)*. 48 (2007) 632–637.
- [118] M. Yousfi, S. Alix, M. Lebeau, J. Soulestin, M.F. Lacrampe, P. Krawczak, Evaluation of rheological properties of non-Newtonian fluids in micro rheology compounder: Experimental procedures for a reliable polymer melt viscosity measurement, *Polym. Test.* 40 (2014) 207–217.
- [119] R.A. Sheldon, M. Norton, Green chemistry and the plastic pollution challenge: Towards a circular economy, *Green Chem.* 22 (2020) 6310–6322.
- [120] C. Bringmann, Einfluss unterschiedlicher Bewirtschaftung von Grünland auf die Biodiversität in der Agrarlandschaft, *Philippia*. 16 (2015) 173–234.
- [121] C. Leuschner, H. Ellenberg, Ecology of Central European Non-Forest Vegetation: Coastal to Alpine, Natural to Man-Made Habitats: Vegetation Ecology of Central Europe, Volume II, 1st ed., Springer, 2017.
- [122] A. Duwe, Lignocellulose-Bioraffinerie: Verarbeitungskonzepte hoher Feststoffkonzentrationen auf Basis der nachwachsenden Rohstoffe Holz und Grassilage, 1st ed., Cuvillier Verlag, 2017.
- [123] M. Ambye-Jensen, K.S. Johansen, T. Didion, Z. Kádár, J.E. Schmidt, A.S. Meyer, Ensiling as biological pretreatment of grass (*Festulolium Hykor*): The effect of composition, dry matter, and inocula on cellulose convertibility, *Biomass and Bioenergy*. 58 (2013) 303–312.
- [124] D. Schwarz, A.K.J. Schoenenwald, J. Dörrstein, J. Sterba, D. Kahoun, P. Fojtíková, J. Vilímek, D. Schieder, C. Zollfrank, V. Sieber, Biosynthesis of poly-3-hydroxybutyrate from grass silage by a two-stage fermentation process based on an integrated biorefinery concept, *Bioresour. Technol.* 269 (2018) 237–245.
- [125] T. Sieker, A. Neuner, D. Dimitrova, N. Tippkötter, K. Muffler, H.J. Bart, E. Heinzle, R. Ulber, Ethanol production from grass silage by simultaneous pretreatment, saccharification and fermentation: First steps in the process development, *Eng. Life Sci.* 11 (2011) 436–442.
- [126] A.G. Norman, S.H. Jenkins, The determination of lignin: Errors introduced by the presence of proteins., *Biochem. J.* 28 (1934) 2160–2168.
- [127] Q. Schmetz, G. Maniet, N. Jacquet, H. Teramura, C. Ogino, A. Kondo, A. Richel, Comprehension of an organosolv process for lignin extraction on *Festuca arundinacea* and monitoring of the cellulose degradation, *Ind. Crops Prod.* 94 (2016) 308–317.

- [128] S. Yasuda, K. Fukushima, A. Kakehi, Formation and chemical structures of acid-soluble lignin I: Sulfuric acid treatment time and acid-soluble lignin content of hardwood, *J. Wood Sci.* 47 (2001) 69–72.
- [129] J. Dörrstein, R. Scholz, D. Schwarz, D. Schieder, V. Sieber, F. Walther, C. Zollfrank, Effects of high-lignin-loading on thermal, mechanical, and morphological properties of bioplastic composites, *Compos. Struct.* 189 (2018) 349–356.
- [130] J. Dörrstein, R. Scholz, D. Schwarz, D. Schieder, V. Sieber, F. Walther, C. Zollfrank, Dataset on the structural characterization of Organosolv-Lignin obtained from ensiled Poaceae grass and load-dependent molecular weight changes during thermoplastic processing, *Data Br.* 17 (2018) 647–652.
- [131] M.Q. Zhu, J.L. Wen, Y.Q. Su, Q. Wei, R.C. Sun, Effect of structural changes of lignin during the autohydrolysis and organosolv pretreatment on *Eucommia ulmoides* Oliver for an effective enzymatic hydrolysis, *Bioresour. Technol.* 185 (2015) 378–385.
- [132] J. Wen, B. Xue, S. Sun, R. Sun, Quantitative structural characterization and thermal properties of birch lignins after auto-catalyzed organosolv pretreatment and enzymatic hydrolysis, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 88 (2013) 1663–1671.
- [133] S. Bauer, H. Sorek, V.D. Mitchell, A.B. Ibáñez, D.E. Wemmer, Characterization of *Miscanthus giganteus* lignin isolated by ethanol organosolv process under reflux condition, *J. Agric. Food Chem.* 60 (2012) 8203–8212.
- [134] J.F. Kadla, S. Kubo, R.A. Venditti, R.D. Gilbert, A.L. Compere, Lignin-based carbon fibers for composite fiber applications, *Carbon N. Y.* 40 (2002) 2913–2920.
- [135] K. Karimi, M.J. Taherzadeh, A critical review of analytical methods in pretreatment of lignocelluloses: Composition, imaging, and crystallinity, *Bioresour. Technol.* 200 (2016) 1008–1018.
- [136] A. Oliva, L.C. Tan, S. Papirio, G. Esposito, P.N.L. Lens, Effect of methanol-organosolv pretreatment on anaerobic digestion of lignocellulosic materials, *Renew. Energy.* 169 (2021) 1000–1012.
- [137] T.M. Jarrell, C.L. Marcum, H. Sheng, B.C. Owen, C.J. O’Lenick, H. Maraun, J.J. Bozell, H.I. Kenttämäa, Characterization of organosolv switchgrass lignin by using high performance liquid chromatography/high resolution tandem mass spectrometry using hydroxide-doped negative-ion mode electrospray ionization, *Green Chem.* 16 (2014) 2713–2727.
- [138] S. Li, W. Li, Q. Zhang, R. Shu, H. Wang, H. Xin, L. Ma, Lignin-first depolymerization of native corn stover with an unsupported MoS₂ catalyst, *RSC Adv.* 8 (2018) 1361–1370.

- [139] E. West, A.S. MacInnes, H. Hibbert, Studies on Lignin and Related Compounds. LXIX. Isolation of 1-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propanone and 1-Ethoxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-propanone from the Ethanolysis Products of Spruce Wood, *J. Am. Chem. Soc.* 65 (1943) 1187–1192.
- [140] M. Reisinger, Ö. Tirpanalan, F. Huber, W. Kneifel, S. Novalin, Investigations on a wheat bran biorefinery involving organosolv fractionation and enzymatic treatment, *Bioresour. Technol.* 170 (2014) 53–61.
- [141] J. Ecker, M. Schaffenberger, W. Koschuh, M. Mandl, H.G. Böchzelt, H. Schnitzer, M. Harasek, H. Steinmüller, Green Biorefinery Upper Austria - Pilot Plant operation, *Sep. Purif. Technol.* 96 (2012) 237–247.
- [142] A. Merten, Untersuchungen zu Fließinstabilitäten bei der Extrusion von Polymeren mit der Laser-Doppler Anemometrie Dissertation, (2005) 187.
- [143] L. Costes, M. Aguedo, L. Brison, S. Brohez, A. Richel, F. Laoutid, Lignin fractionation as an efficient route for enhancing Polylactide thermal stability and flame retardancy, *Flame Retard. Therm. Stab. Mater.* 1 (2018) 14–24.
- [144] T. Saito, J.H. Perkins, F. Vautard, H.M. Meyer, J.M. Messman, B. Tolnai, A.K. Naskar, Methanol fractionation of softwood Kraft lignin: Impact on the lignin properties, *ChemSusChem.* 7 (2014) 221–228.
- [145] D. Kun, B. Pukánszky, *Polymer/lignin blends: Interactions, properties, applications*, 2017.
- [146] J. Lisperguer, P. Perez, S. Urizar, Structure and thermal properties of lignins: Characterization by infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry, *J. Chil. Chem. Soc.* 54 (2009) 460–463.
- [147] S. Kubo, Y. Uraki, Y. Sano, Catalytic graphitization of hardwood acetic acid lignin with nickel acetate, *J. Wood Sci.* 49 (2003) 188–192.
- [148] D.K. Shen, S. Gu, K.H. Luo, S.R. Wang, M.X. Fang, The pyrolytic degradation of wood-derived lignin from pulping process, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 6136–6146.
- [149] Q. Liu, S. Wang, Y. Zheng, Z. Luo, K. Cen, Mechanism study of wood lignin pyrolysis by using TG-FTIR analysis, *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 82 (2008) 170–177.
- [150] R.A. Fenner, J.O. Lephardt, Examination of the Thermal Decomposition of Kraft Pine Lignin by Fourier Transform Infrared Evolved Gas Analysis, *J. Agric. Food Chem.* 29 (1981) 846–849.
- [151] K. Werner, L. Pommer, M. Broström, Thermal decomposition of hemicelluloses, *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 110 (2014) 130–137.
- [152] A. Dieguez-Alonso, A. Anca-Couce, N. Zobel, F. Behrendt, Understanding the primary and

- secondary slow pyrolysis mechanisms of holocellulose, lignin and wood with laser-induced fluorescence, *Fuel*. 153 (2015) 102–109.
- [153] M. Brebu, C. Vasile, Thermal degradation of lignin - A review, *Cellul. Chem. Technol.* 44 (2010) 353–363.
- [154] K.B. Batista, R.P.L. Padilha, T.O. Castro, C.F.S.C. Silva, M.F.A.S. Araújo, L.F.M. Leite, V.M.D. Pasa, V.F.C. Lins, High-temperature, low-temperature and weathering aging performance of lignin modified asphalt binders, *Ind. Crops Prod.* 111 (2018) 107–116.
- [155] I. Kubovský, D. Kačíková, F. Kačík, Structural changes of oak wood main components caused by thermal modification, *Polymers (Basel)*. 12 (2020).
- [156] J.Y. Kim, H. Hwang, S. Oh, Y.S. Kim, U.J. Kim, J.W. Choi, Investigation of structural modification and thermal characteristics of lignin after heat treatment, *Int. J. Biol. Macromol.* 66 (2014) 57–65.
- [157] Y.N. Sazanov, A. V. Griбанov, Thermochemistry of lignin, *Russ. J. Appl. Chem.* 83 (2010) 175–194.
- [158] R. Brežný, V. Mihalov, V. Kováčik, Low Temperature Thermolysis of Lignins - I. Reactions of β -O-4 Model Compounds, *Holzforschung*. 37 (1983) 199–204.
- [159] A.K. Chandra, T. Uchimaru, The O-H bond dissociation energies of substituted phenols and protonaffinities of substituted phenoxide ions: A DFT study, *Int. J. Mol. Sci.* 3 (2002) 407–422.
- [160] P.F. Britt, A.C. Buchanan, K.B. Thomas, S.K. Lee, Pyrolysis mechanisms of lignin: surface-immobilized model compound investigation of acid-catalyzed and free-radical reaction pathways, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*. 33 (1995) 1–19.
- [161] R.J. Evans, T.A. Milne, Molecular Characterization of the Pyrolysis of Biomass. 2. Applications, Energy and Fuels. 1 (1987) 311–319.
- [162] N.A. Nguyen, K.M. Meek, C.C. Bowland, A.K. Naskar, Responsive lignin for shape memory applications, *Polymer (Guildf)*. 160 (2019) 210–222.
- [163] Q. Sun, R. Khunsupat, K. Akato, J. Tao, N. Labbé, N.C. Gallego, J.J. Bozell, T.G. Rials, G.A. Tuskan, T.J. Tschaplinski, A.K. Naskar, Y. Pu, A.J. Ragauskas, A study of poplar Organosolv-Lignin after melt rheology treatment as carbon fiber precursors, *Green Chem.* 18 (2016) 5015–5024.
- [164] J.L. Braun, K.M. Holtman, J.F. Kadla, Lignin-based carbon fibers: Oxidative thermostabilization of kraft lignin, *Carbon N. Y.* 43 (2005) 385–394.
- [165] R.W. Rex, Electron Paramagnetic Resonance Studies of Stable Free Radicals in Lignins and Humic Acids, *Nature*. 188 (1960) 1185–1186.

- [166] C. Steelink, Stable Free Radicals in Lignin and Lignin Oxidation Products, in: *Adv. Chem.*, 1966: pp. 51–64.
- [167] M. Shigematsu, T. Kobayashi, H. Taguchi, M. Tanahashi, Transition state leading to β -O' quinonemethide intermediate of p-coumaryl alcohol analyzed by semi-empirical molecular orbital calculation, *J. Wood Sci.* 52 (2006) 128–133.
- [168] B. Durbeej, L.A. Eriksson, Formation of β -O-4 Lignin Models - A Theoretical Study, *Holzforschung.* 57 (2005) 466–478.
- [169] S. Chu, A. V. Subrahmanyam, G.W. Huber, The pyrolysis chemistry of a β -O-4 type oligomeric lignin model compound, *Green Chem.* 15 (2013) 125–136.
- [170] J.M. Younker, A. Beste, A.C. Buchanan, Computational study of bond dissociation enthalpies for substituted β -O-4 lignin model compounds, *ChemPhysChem.* 12 (2011) 3556–3565.
- [171] T. Elder, A computational study of pyrolysis reactions of lignin model compounds, *Holzforschung.* 64 (2010) 435–440.
- [172] R. Sun, B. Xiao, J.M. Lawther, Fractional and structural characterization of ball-milled and enzyme lignins from wheat straw, *J. Appl. Polym. Sci.* 68 (1998) 1633–1641.
- [173] O. Hosseinaei, D.P. Harper, J.J. Bozell, T.G. Rials, Role of Physicochemical Structure of Organosolv Hardwood and Herbaceous Lignins on Carbon Fiber Performance, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 4 (2016) 5785–5798.
- [174] J.Y. Kim, S. Oh, H. Hwang, U.J. Kim, J.W. Choi, Structural features and thermal degradation properties of various lignin macromolecules obtained from poplar wood (*Populus albaglandulosa*), *Polym. Degrad. Stab.* 98 (2013) 1671–1678.
- [175] H. Yang, R. Yan, H. Chen, D.H. Lee, C. Zheng, Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis, *Fuel.* 86 (2007) 1781–1788.
- [176] M.A. Karaaslan, M.J. Cho, L.Y. Liu, H. Wang, S. Renneckar, Refining the Properties of Softwood Kraft Lignin with Acetone: Effect of Solvent Fractionation on the Thermomechanical Behavior of Electrospun Fibers, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 9 (2021) 458–470.
- [177] A. Mandal, S.P. Singh, R. Prasad, Dynamic mechanical characterization of CNT–PP nanocomposites, *J. Mol. Model.* 22 (2016) 1–7.
- [178] H.L. Ornaghi, V. Pistor, A.J. Zattera, Effect of the epoxy cyclohexyl polyhedral oligomeric silsesquioxane content on the dynamic fragility of an epoxy resin, *J. Non. Cryst. Solids.* 358 (2012) 427–432.
- [179] R. Muthuraj, A.R. Horrocks, B.K. Kandola, Hydroxypropyl-modified and Organosolv-Lignin/bio-based polyamide blend filaments as carbon fibre precursors', *J. Mater. Sci.* 55 (2020)

7066–7083.

- [180] X.-J. Shen, B. Wang, H. Pan-li, J.-L. Wen, R.-C. Sun, Understanding the structural changes and depolymerization of Eucalyptus lignin under mild conditions in aqueous AlCl_3 , *RSC Adv.* 6 (2016) 45315–45325.
- [181] S. Kubo, J.F. Kadla, Kraft Lignin / Poly (ethylene oxide) Blends : Effect of Lignin Structure on Miscibility and Hydrogen Bonding, (2005) 1–8.
- [182] Y. Teramoto, S. Lee, T. Endo, Molecular Composite of Lignin: Miscibility and Complex Formation of Organosolv-Lignin and Its Acetates with Synthetic Polymers Containing Vinyl Pyrrolidone and/or Vinyl Acetate Units, *J. Appl. Polym. Sci.* 125 (2012) 2063–2070.
- [183] A.V. Markov, Rheologisches verhalten hochgefüllter kunststoffe. einfluss der füllstoffe, *Materwiss. Werksttech.* 39 (2008) 227–233.
- [184] J. Benz, C. Bonten, Influence of polymer-particle-interaction on the flow behavior of highly filled plastics, *AIP Conf. Proc.* 2065 (2019).
- [185] J.C. Halpin, *Primer on Composite Materials Analysis*, 2nd ed., Taylor & Francis Group, LLC, Boca Raton, 1992.
- [186] I. El Aboudi, A. Mdarhri, C. Brosseau, A. Montagne, F. Elhaouzi, Z. Bouyahia, A. Iost, Investigating carbon-black-filled polymer composites' brittleness, *Polym. Bull.* 77 (2020) 4959–4969.
- [187] W. Brostow, H.E. Hagg Lobland, S. Khoja, Brittleness and toughness of polymers and other materials, *Mater. Lett.* 159 (2015) 478–480.

Anhang

Publikationen I-IV



Integrated biorefinery concept for grass silage using a combination of adapted pulping methods for advanced saccharification and extraction of lignin



Dominik Schwarz^{a,1}, Jörg Dörrstein^{b,1}, Sabine Kugler^b, Doris Schieder^{a,*}, Cordt Zollfrank^b, Volker Sieber^a

^a Technische Universität München, Chair of Chemistry of Biogenic Resources, Schulgasse 16, 94315 Straubing, Germany

^b Technische Universität München, Biogenic Polymers, Schulgasse 16, 94315 Straubing, Germany

HIGHLIGHTS

- Integrated refining and pulping system for grass silage was established.
- Combined mechanical disruption and high total solid saccharification.
- Lignin extraction by organosolv was performed after enzymatic hydrolysis.
- 98% of glucans and 73% of xylans recovered in the hydrolysates.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 21 March 2016

Received in revised form 20 May 2016

Accepted 21 May 2016

Available online 24 May 2016

Keywords:

Grass silage

Integrated pulping

Organosolvation

Enzymatic hydrolysis

Biorefinery

ABSTRACT

An integrated refining and pulping process for ensiled biomass from permanent grassland was established on laboratory scale. The liquid phase, containing the majority of water-soluble components, including 24% of the initial dry matter (DM), was first separated by mechanical pressing. The fiber fraction was subjected to high solid load saccharification (25% DM) to enhance the lignin content in the feed for subsequent organosolvation. The saccharification enzymes were pre-selected applying experimental design approaches. Cellulose convertibility was improved by a secondary pressing step during liquefaction. Combined saccharification and organosolvation showed high degree of saccharide solubilization with recovery of 98% of the glucan and 73% of the xylan from the fiber fraction in the hydrolysates, and enabled the recovery of 41% of the grass silage lignin. The effects of the treatment were confirmed by XRD and SEM tracking of cellulose crystallinity and fiber morphology throughout the pulping procedure.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In 2013, almost 90% of Europe's feedstock mix for the organic chemical industry was based on fossil-derived resources, such as crude oil, natural gas, and coal (Rothermel, 2015). In addition to a more efficient use of natural resources, more innovative implementation of renewable resources is required (European Commission, 2012). Industrial biorefineries, multiple-product systems that integrate several separation and conversion pathways of natural raw materials, offer a promising means of creating a

* Corresponding author at: Straubing Center of Science, Chair of Chemistry of Biogenic Resources, Technische Universität München, Schulgasse 16, D-94315 Straubing, Germany.

E-mail address: doris.schieder@tum.de (D. Schieder).

¹ These authors contributed equally to this work.

novel, local, and bio-based industry (Kamm et al., 2006; Mandl, 2010). However, the use of agricultural feedstock, which is available in large quantities and does not directly compete with food and feed production, is important for a sustainable, economic, and ecological operation (European Commission, 2012).

Surplus biomass from permanent grassland shows great potential for this purpose, as multiple harvesting provides high biomass yields, with a mean annual dry matter (DM) yield of 8 t ha⁻¹ in Europe (Mandl, 2010). The release of unused biomass from permanent grassland is predicted for European temperate grassland regions, as dairy cow husbandry and cattle breeding (the main consumers of grassland) are expected to drop within the next years (Kamm et al., 2006; Kromus et al., 2004). Under EU cross compliance laws, permanent pastures must be preserved despite the current lack of industrial utilization (European Commission, 2013). Thus, surplus grass would be available to be processed in

a biorefinery facility. Since the early 2000s, demonstration plants have been developed in several European countries, but few have gained industrial relevance (Ecker et al., 2012; Kamm et al., 2010; Mandl, 2010).

The common conservation method of ensiling enables all-season availability of moist biomass. This cost-efficient storage method can be regarded as a first biological conversion step, as the lactic acid bacteria that mediate the anaerobic silage process modify the biomass and produce value-added compounds, such as lactic acid (Rooke and Hatfield, 2003). Grass silage dry matter consists largely of lignocellulose and contains also high amounts of water-soluble components (Ambye-Jensen et al., 2014; Mandl, 2010). In previous studies, the enzymatic conversion efficiencies of ensiled lignocellulosic biomass rarely exceeded 50% (relative to the initial cellulose content). However, depending on the dry matter and biomass composition, ensiling significantly improves the conversion of structural polysaccharides compared to untreated dried biomass (Ambye-Jensen et al., 2013; Chen et al., 2007). A characteristic in gramineous biomass is the large number of phenolic crosslinks between hemicelluloses and lignin in the cell wall structure, which structurally hinder enzymatic hydrolysis (EH) of polysaccharides (Buanafina, 2009; Vogel, 2008). A liquid fraction (silage juice) can be obtained by an initial solid-liquid separation of the moist biomass, and contains water soluble and value-added compounds; mainly organic acids derived from the ensiling, saccharides, and several other nutrients that are directly convertible to valuable products in different fermentation pathways (Cerrone et al., 2015; Koller et al., 2005; Sieker et al., 2011).

In an integrated biorefinery of grass biomass, the lignin fraction should also be considered as a valuable precursor of various chemical and material applications. Lignin can be extracted by organosolvation, which exploits solubility of lignin in certain organic solvents, such as alcohols and organic acids. Because of its high, multi-functional phenolic structure, organosolv-derived lignin can yield high-value products by innovative, low-cost fabrication techniques in numerous industries, such as carbon fibers, plastics, adhesives and aromatic compounds. Additionally, it is sulfur-free, exhibits low molecular weights at high polydispersity, and contains few ash and carbohydrate contaminants (Ragauskas et al., 2014).

To increase the separation of main lignocellulosic components and enhance the overall saccharification of grass silage, the present study proposes an adapted combination of different treatment methods. The efficiency of an adapted mechanical and chemical processing for grass silage, based on the biorefinery concept described in Section 2.1, was investigated. The separation and saccharification of major feedstock components were examined under laboratory conditions. By combining a mechanically supported high total solid load saccharification and subsequent organosolvation, the supply of precursors for downstream conversion to valuable products shall be enhanced. Thus, the proposed pulping concept is expected to increase the attractiveness of grass silage applications in multi-product biorefineries.

2. Material & methods

2.1. Integrated grass silage pulping concept

The combined pulping process for grass silage biomass, conceptualized as a green biorefinery is described in Fig. 1. Unless the harvested raw material was chopped before ensiling, the grass silage is crushed by common chopper systems for subsequent fractionation. The chopped raw material is separated by a screw press into a liquid fraction, the grass silage press juice (PJ), and a fiber enriched fraction, the grass silage press cake (PC). The lignocellu-

losic PC is then subjected to a saccharification process with high total solid load to reduce the water consumption. A secondary screw press is supposed to support the enzymatic hydrolysis, further disintegrating the physical structure of the fibers, as recently described by Duque et al. (2014). They reported a similar saccharification system using an extruder for barley straw. Hydrolysates containing fermentable saccharides can be directly used in subsequent fermentation processes, either separately or in combination with PJ aliquots. Afterwards, lignin is extracted from the solid phase by organosolvation. Different from upstream application, water insoluble lignin content is increased in the solid feed by the release of readily accessible saccharides and by dissolution of inherent compounds of the initial PJ liquid during the enzymatic hydrolysis. Thus, the overall solid load to be treated by organosolvation is reduced. After organosolvation, the cellulose accumulated in the residual solid phase can be hydrolyzed in a subsequent step, either separately or simultaneously with the PC by high total solid load saccharification. After lignin precipitation and organic solvent recovery, the liquid phase may be fed into an anaerobic digester for biogas production, supplying the biorefinery with heat and power. All solid-liquid separations can be performed by common centrifugation techniques or screw presses, as described above.

2.2. Feedstock

Grass silage was supplied by a farmer of the East Bavarian lower mountain range (Germany). The grass biomass had been harvested from a permanent pasture by a common rotary mower at the beginning of the emergence of ears and panicles in May of 2014. Botanic classification showed a dominance of the family *Poaceae* (e.g., *Alopecurus pratensis*, *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne*) and a minority of families *Asteraceae*, *Caryophyllaceae*, *Fabaceae*, *Plantaginaceae*, *Polygonaceae*, and *Ranunculaceae*. The moist material was rapidly wilted after cutting, then pressed into bales and wrapped in commercially available air-tight plastic foil. The grass was ensiled for approximately two months without additional inoculum or supplements.

2.3. Feedstock pre-treatment

The ensiled substrate was coarsely chopped by a laboratory-scale chaff cutter (Type 2003, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Landtechnik, Freising, Germany), then separated into liquid and solid fractions by a strainer bar screw press (Type AP 08, Maschinenfabrik Reinartz GmbH & Co. KG, Neuss, Germany). The pressing degree was calculated as follows:

$$PG = \frac{\dot{m}(\text{PJ}) * (100\% - \text{DM}(\text{PJ}))}{\dot{m}(\text{silage}) * (100\% - \text{VCOM}(\text{silage}))} * 100\%, \quad (1)$$

where PG is the pressing degree [%], $\dot{m}(\text{PJ})$ and $\dot{m}(\text{silage})$ are the corresponding mass flows [kg h^{-1}]. DM (PJ) and VCOM (silage) represent the dry matter and volatile-corrected oven dry matter content [%] of the press juice and of the unprocessed silage feedstock, respectively. The PC was packed into plastic bags for air-tight storage. After removing of the air using a commercial vacuum cleaner, the bags were stored at 4 °C until further use. The size distribution of the PC fibers was manually determined by an aliquot-based method. The PJ density was obtained by weighing a defined volume.

2.4. Enzymatic hydrolysis

2.4.1. Selection of parameters for enzymatic hydrolysis

Tests for enzymatic hydrolysis of PC were performed at 6.0% DM (w/v) in a total liquid volume of 50 mL and initial pH of the PC sus-

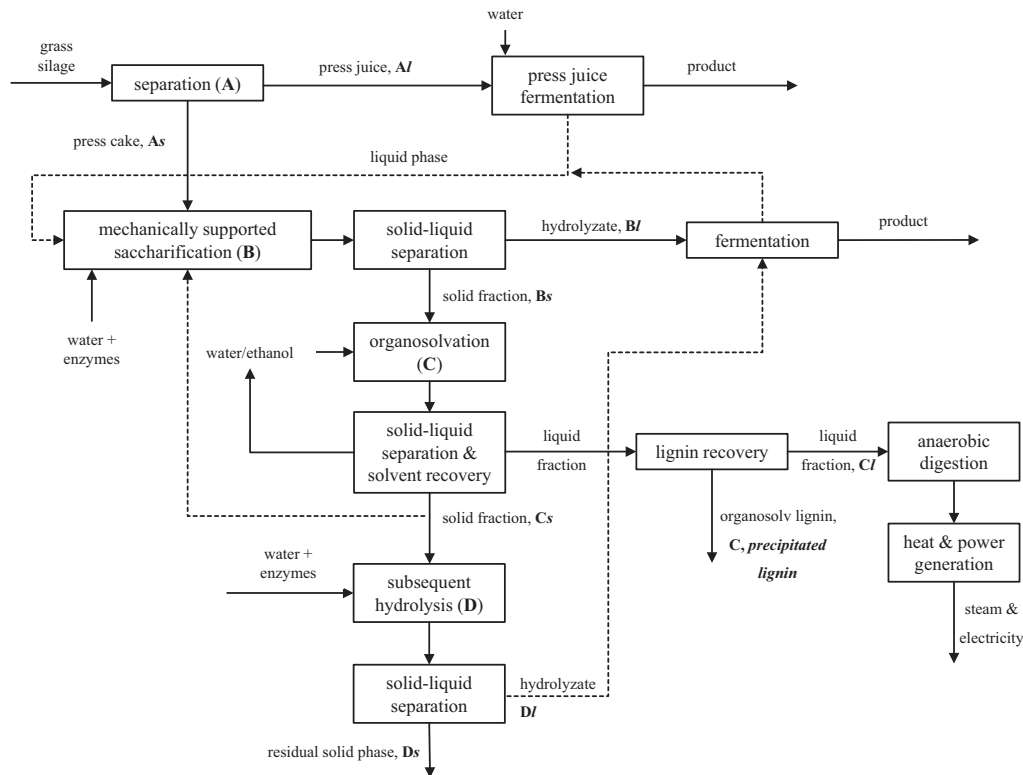


Fig. 1. Overview of the combined pulping process conceptualized for a green biorefinery. Xs and XI refer to the solid and liquid fractions after process step X, respectively.

pension. The Erlenmeyer flasks were orbitally agitated at 150 rpm and temperature was maintained at 50 °C (Minitron, Infors HT, Bottmingen, Switzerland). Cellulolytic enzyme mixture, Celluclast[®] 1.5 L, and Novozyme 188 (Novozymes A/S, Bagsværd, Denmark) were used in a 10:1 (v/v) ratio (denotation: Celluclast). Considering the complex structure of grass biomass, the effects of the ferulic acid esterase Depol[™] 740L (FAE; Biocatalysts Ltd., South Glamorgan, U.K.) and of the multi-enzyme complex Viscozyme[®] L (Viscozyme; Novozymes A/S, Bagsværd, Denmark), containing a range of carbohydrases, including arabanase, cellulase, beta-glucanase, hemicellulase, and xylanase, were also investigated. The measured enzyme activities of the employed preparations were 5.7 FPU (filter paper units) for Celluclast[®] 1.5L, 34 CBU (cellobiase units) for Novozyme 188, 0.22 ferulic acid esterase units for FAE and 76 BXU (birch xylan units) for Viscozyme, where each unit denotes the activity per gram of enzyme protein. Both enzyme activity and protein determination tests were performed in modified 96-well plate assays, as in Bailey et al. (1992), Blondin et al. (1983), Bradford (1976), Xiao et al. (2004), and Yue et al. (2009). The saccharification parameters (hydrolysis time and the abovementioned enzyme mixtures) were optimized by a modified face-centered 2⁴-central composite design (CCF) with star points. Enzyme blanks were included in each test. Experimental design and statistical analysis ($p < 0.05$) were accomplished with Statgraphics software (Statgraphics Centurion XV, StatPoint Technologies Inc., Warrenton, VA, USA). Desirability functions proposed by Derringer and Suich (1980) were applied for each response, depending on a response is to be maximized or minimized. The overall desirability of each calculation was estimated by combination of the individual desirabilities of each response using the geometric mean.

Hydrolysis of the solid phase after organosolvation was performed in triplicate under same conditions to those in the experimental design.

2.4.2. Enzymatic hydrolysis at high total solid load

For PC saccharification at high solid load, the fibrous material was adequately mixed in an adapted reactor system. Eighty-two grams of DM were loaded into a 1.2-L acrylic glass cylinder (h = 173 mm) with a flange and silicone seal at both ends. After adding the enzyme solutions and adjusting the total DM content to 25% (w/v) with water, the cylinder was sealed and placed on a roller mixer (SRT9D, Stuart, Bibby Scientific Limited, Staffordshire, U.K.) where mashing was performed at 11 rpm. The temperature was maintained at 50 °C in an acrylic glass hood incubator. Enzyme loadings were decided from the experimental design results. Where required, the mashed material was mechanically squeezed under a screw press with a perforated screen (S87 G, IBG Monforts + Reiners, Komet, Mönchengladbach, Germany) after 24 h of saccharification. Afterwards, the separated liquid and solid phases were unified for further enzymatic hydrolysis.

2.4.3. Slurry preparation

After each hydrolysis step, the liquids and solids were separated by centrifugation, and the solids were washed three times with ultrapure water and vacuum-dried (VDL 53, Binder GmbH, Tuttlingen, Germany) at 45 °C until their weight remained constant. All hydrolysates were analyzed for glucose and xylose/galactose concentrations. Hydrolysis yields were calculated relative to the amount of glucan (cellulose) and xylan (hemicellulose) in each substrate.

2.5. Organosolvation process

The solid residue from the mechanically supported enzymatic hydrolysis at high total solid load (msEH) was subjected to ethanolic organosolv processing in a 2 L stainless steel pressure reactor with a vertical anchor stirrer (Model No. 4530, Parr Instrument,

Moline, IL, USA). Here the modified methodology of Pan et al. (2006), which is appropriate for autocatalytic treatment of ligno-cellulosic substrates, was adopted. The solid fraction was treated with a 60:40% (w/w) ethanol–water solution at a reaction temperature and time of 195 °C and 80 min, respectively. The initial solid–liquid ratio was set to 1:10 (w/w). Lignin solubilization was followed by solid–from–liquid separation by filtration through a 35 µm–filter screen (Retsch, Haan, Germany), and then the separated solid was washed with a surplus volume of ethanol. The dissolved lignin was precipitated by pouring the combined filtrate and washing fractions into a 3-fold volume of water. Finally, the lignin phase recovered by centrifugation was vacuum-dried.

2.6. Analytical methods

2.6.1. Dry matter determination

The dry matter content of each sample was determined by an automatic infrared moisture analyzer (MA 35, Sartorius, Göttingen, Germany). To obtain the VCODM at 105 °C, the results of untreated grass silage were corrected by the equation according to Porter and Murray (2001).

2.6.2. Compositional analysis of raw material and pretreated solids

Prior to compositional analysis, solid samples were dried to constant weight under vacuum at 45 °C, ground in a ball mill (MM400, Retsch GmbH, Haan, Germany) and sieved to a particle size fraction ≤1.0 mm. The protein was quantified using a standard conversion factor for the total nitrogen content (6.25), determined by the Kjeldahl method. Ash analysis was performed according to a standard method of the National Renewable Energy Laboratory (NREL, Golden, CO, USA; Sluiter et al., 2010). Untreated grass silage and PC were extracted by two-step Soxhlet extraction according to Sluiter et al. (2010). The amount of extractives was defined as the mass dissolved in each extraction step.

2.6.3. Structural carbohydrate, lignin, and oligosaccharide determination

Contents of structural carbohydrates and acid insoluble lignin were examined according to NREL standard methods (Sluiter et al., 2010). The acid hydrolysates were neutralized with BaCO₃, and then analyzed for monosaccharides by HPLC. The soluble oligomeric carbohydrates in the liquid fractions separated after each pulping step were subjected to weak acid hydrolysis analysis. The derived monosaccharides were analyzed by HPLC.

2.6.4. High-performance liquid chromatography

The concentrations of carbohydrates, organic acids, and by-products in the aqueous solutions were quantified using a HPLC system (Dionex®, Sunnyvale, CA, USA) equipped with a Rezex ROA-H⁺ column (Phenomenex®, Torrance, CA, USA), a refractive index detector (RI 101, Shodex, Tokyo, Japan) and a PDA detector (210/278 nm, Dionex®, Sunnyvale, CA, USA). The mobile phase (sulfuric acid, 2.5 mM) was set to a flow rate of 0.5 mL min⁻¹ at an oven temperature of 70 °C. Prior to measurement, all samples were filtered through a 0.2-µm PVDF filter (Restek GmbH, Bad Homburg, Germany). Qualitative analyses and quantitative calculations of each compound were referred to an external standard.

2.6.5. X-ray diffraction

Prior to measurement, samples were vacuum-dried and milled to a particle size of ≤20 µm. Diffractograms were obtained by an X-ray diffractometer (MiniFlex 600, Rigaku, Tokyo, Japan) equipped with a high-speed one-dimensional detector (D/teX Ultra, Rigaku, Tokyo, Japan) and a K_β foil filter. XRD patterns were recorded over the 2θ range 5–37°, with a step width of 0.02°, a scanning speed of 2°/min, and CuKα radiation generated at 40 kV

and 15 mA. The apparent cellulose crystallinity (ACC) was calculated by peak deconvolution (Park et al., 2010). The diffraction pattern was separated into a broad non-crystalline phase (around 20.8°) and five crystalline peaks ((1 0 1), (1 0 $\bar{1}$), (0 2 1), (0 0 2), and (0 4 0)) corresponding to the lattice planes of cellulose I_β. Type I_β-cellulose, typically present in native cellulose, was assumed for all biomass samples. The XRD pattern was deconvolved by a non-linear iterative fitting process using Gaussian shape functions and the data analysis software OriginPro 8.6.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA). Iterations were repeated until the deviation decrement was below 10⁻⁹ (R² > 0.997). The ACC was calculated as follows:

$$ACC = \frac{A_{(cr)}}{A_{(am)} + A_{(cr)}} \times 100 \text{ [\%]} \quad (2)$$

with

$$A_{(cr)} = A_{(101)} + A_{(10\bar{1})} + A_{(021)} + A_{(002)} + A_{(040)}, \quad (3)$$

where ACC is the apparent cellulose crystallinity [%], A_(cr) is the total integrated crystalline peak area in the diffraction pattern, A_(am) represents the non-crystalline phase, and A₍₁₀₁₎, A_(10 $\bar{1}$), A₍₀₂₁₎, A₍₀₀₂₎, and A₍₀₄₀₎ denote the peak areas of the corresponding lattice planes. Each result describes the mean value of two equivalent treated samples, which were measured in duplicate.

2.6.6. Scanning electron microscopy

The morphology of the biomass samples at different treatment stages was observed by scanning electron microscopy (SEM). Freeze-dried samples were mounted on carbon tape and coated with Au. A digital scanning electron microscope (DSM 940 A, Zeiss, Oberkochen, Germany) was operated in secondary imaging mode at 10 kV.

3. Results and discussion

3.1. Initial feedstock separation

Table 1 lists the raw material compositions of the chopped grass silage and conditioned PC. To enhance the handling in subsequent processing units, the ensiled biomass was coarsely crushed into fiber lengths of ≤4 cm (≥90% (w/w)). The pressing step considerably reduced the proportion of water extractives in the PC fraction, as the first fractionation step of grass biomass ideally consigns the soluble compounds to the juice fraction and the solid fibrous ligno-cellulose to the PC (Mandl, 2010). The recovered PJ amounted to 0.53 L per kg grass silage, with a density of 1.05 g mL⁻¹ and a DM content of 12.2%. Numerous products derived by ensiling, mainly lactic and acetic acid, reduced the pH of the recovered PJ to 4.3. Other organic acids and polyols were present in smaller amounts (data not shown). A pressing degree of 67% was indicated with respect to the initial moisture content. As a one-step mechanical procedure removes only parts of the moisture from plant fibers, the pressing degree mainly depends on the initial DM content (King et al., 2012). During the pressing procedure, the lignocellulosic biomass from the biopolymeric structural plant framework increased from 46%-DM in the untreated grass silage to roughly 63%-DM in the PC solid.

In an industrial biorefinery, high quality silages at superior lactic acid concentrations, as well as consistent composition, are essential from both economic and procedural viewpoints (Kromus et al., 2004). To improve the ensiling process and the silage quality for an industrial biorefinery, the chopping process alternatively can be arranged directly after harvest to reach increased compression levels during the anaerobic ensiling (Muck et al., 2003).

Table 1

Moisture content, extractives, and dry matter composition of grass silage and grass silage press cake. $n \geq 2$. NA: not analyzed.

	Grass silage [(w/w)%]	Grass silage presscake [(w/w)%]
DM	26.98 ± 1.1	48.2 ± 0.9
VCODM	28.8 ± 1.2	NA
Extractives and DM-composition	[(w/w)% VCODM]	[(w/w)% DM]
<i>Extractives</i>		
H ₂ O extractives	46.4 ± 2.2	16.4 ± 1.2
Ethanol extractives	5.9 ± 0.5	6.8 ± 0.2
<i>Dry matter composition</i>		
Glucan	20.4 ± 0.3	27.3 ± 0.3
Xylan/Galactan	11.8 ± 0.2	14.9 ± 0.3
Arabinan	2.1 ± 0.0	3.1 ± 0.1
Klason lignin	12.1 ± 0.2	17.4 ± 0.2
Ash	10.2 ± 0.1	8.3 ± 0.0
Protein	13.6 ± 0.3	12.0 ± 0.2
Others ($\Sigma 100\%$)	29.8	17.0

3.2. Saccharification of grass silage press cake

3.2.1. Optimization of parameters for enzymatic saccharification

The enzymatic release of cellulose- and hemicellulose-derived saccharides from the processed PC was tested without additional pretreatment. To elucidate the impacts of hydrolysis time and enzyme mixture, and to determine the interactions between selected parameters, a CCF with star points was conducted. In preliminary tests, a dry matter content of 6.0% DM (w/v) was appropriate for homogenous mixing at orbital agitation, as the fibrous substrate was covered with surplus liquid phase. No addition of salts or other chemicals was necessary, as the pH was maintained at around 4.3 by the inherent buffer capacity of the silage.

Standardized Pareto charts and interaction plots are presented in Fig. 2. The cellulose-derived sugar release was most sensitive to the Celluclast concentration (1:10 mixture of Celluclast 1.5L and Novozymes 188, see 2.4.1) and hydrolysis time. Viscozyme, which also exhibits cellulolytic activity, exerted a positive effect at low Celluclast concentrations, and enhanced saccharification at

low hydrolysis time. Xylan-derived saccharides were most significantly affected by Viscozyme. It positively interacted with Celluclast at both low and high cellulase levels. The impact was especially prominent at low Celluclast levels. In contrast to Sieker et al. (2011), the FAE exerted no significant effect on the simultaneous release of glucan and xylan sugars from grass silage lignocellulose.

In the first statistical evaluation for the optimal saccharification conditions, cellulose- and hemicellulose-derived sugars were assigned equal importance, as both C6- and C5-sugar fractions are convertible to valuable products in subsequent fermentation processes (Table 2, calculation 1). As FAE was found to be not significant for the saccharification of the PC fraction, FAE concentration was set to zero in the calculations. According to the corresponding response surface plot (see Fig. 3(a)), high Celluclast concentrations enhance the saccharification yields. Although the multi-enzyme complex Viscozyme would reduce the cellulase amount, it would not increase the overall saccharification at high levels of Celluclast. This finding coincides with previous investigations, in which a cellulase–cellobiase combination promoted the enzymatic hydrolysis of ensiled lignocellulosic biomasses, producing equal yields of reducing sugars compared to a cellulase–xylanase combination. Furthermore, high additional levels of cellulase did not increase the maximum sugar yields (~50%; Chen et al., 2007). It appears that moderate enzyme loadings can convert the readily accessible polysaccharide fractions of ensiled biomasses, but accessibility to remaining glucan and xylan fractions is still hindered by physically steric barriers, such as lignin inclusions or phenolic crosslinks. To reduce the enzyme amounts and hence the overall pulping costs, the enzyme consumption (total enzyme volume per mass dry matter) and sugar release were simultaneously minimized and maximized, respectively, in a second optimization calculation (Table 2, calculation 2). All responses were assigned equal importance. The desirability was maximized at lower cellulase concentration than in calculation 1, and at slight addition of hemicellulase (Fig. 3(b)). The estimated optimum parameters and the responses of both calculations are summarized in Table 2 and were verified in additional approaches. The total volumetric enzyme consumption decreased by 42%, whereas the

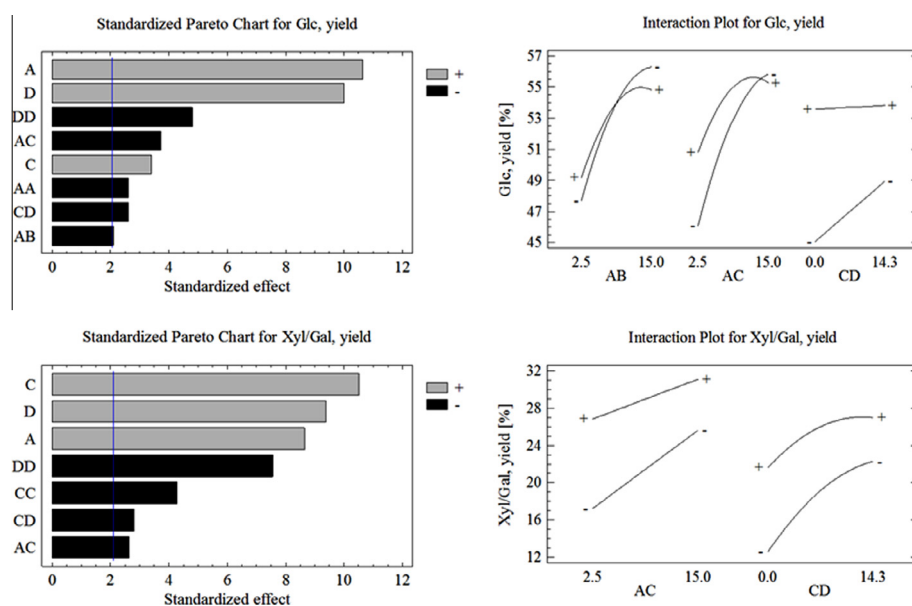


Fig. 2. Standardized Pareto charts and interaction plots of the saccharide yields from PC saccharification, determined in the CCF-2⁴-design. Levels for parameters: A – Celluclast concentration, 2.5–21.3 [mg protein g DM⁻¹]; B – FAE concentration, 0.0–2.3 [mg protein g DM⁻¹]; C – Viscozyme concentration, 0.0–21.5 [mg protein g DM⁻¹]; D – hydrolysis time, 16–96 [h]. R² (Glc, yield) 0.936; R² (Xyl/Gal, yield) 0.919.

Table 2

Optimum values for saccharification parameters, as well as responses obtained in two different multiple response optimizations. Enzyme concentrations refer to protein concentrations.

Optimum parameters				Optimum response (calculated/experimental ($n = 3$))			
Multiple response optimization							
Calculation 1 – Targets: max. Glc yield, max. Xyl/Gal yield							
Celluclast	[mg (g DM) ⁻¹]	20.7	Glc, yield	[%]	56.4/56.2 ± 0.4		
Viscozyme	[mg (g DM) ⁻¹]	5.0	Xyl/Gal, yield	[%]	32.5/33.5 ± 0.3		
Time	[h]	74.8	Enzyme volume	[mL (g DM) ⁻¹]	1.085		
Multiple response optimization							
Calculation 2 – Targets: max. Glc yield, max. Xyl/Gal yield, min. enzyme volume							
Celluclast	[mg (g DM) ⁻¹]	12.4	Glc, yield	[%]	56.7/56.0 ± 0.9		
Viscozyme	[mg (g DM) ⁻¹]	0.8	Xyl/Gal, yield	[%]	25.4/27.8 ± 0.6		
Time	[h]	77.4	Enzyme volume	[mL (g DM) ⁻¹]	0.631		

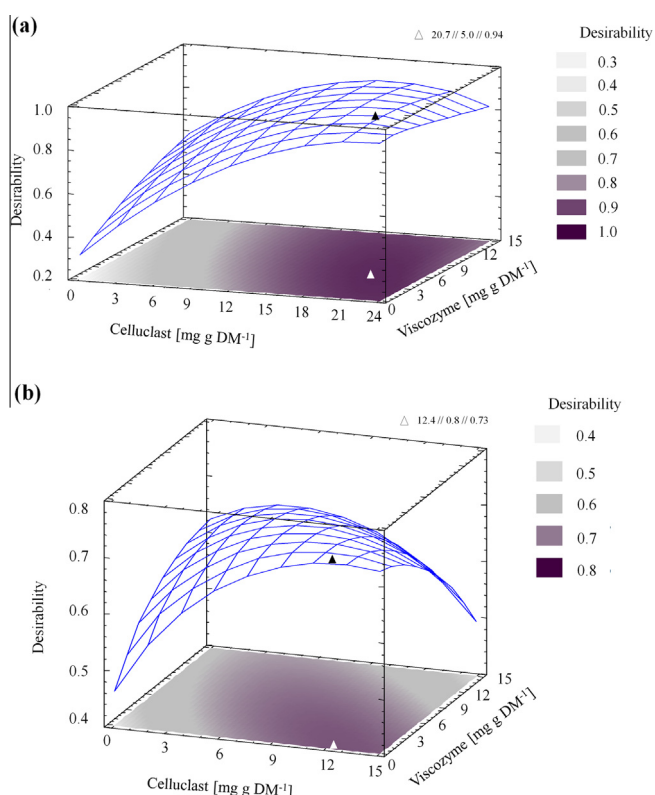


Fig. 3. Response surface plots of multiple response optimizations: (a) calculation 1 and (b) calculation 2 (see Table 2). Triangles indicate the optimal points (Celluclast/Viscozyme//desirability). Enzyme concentrations refer to protein concentrations.

glucan yield remained at a conversion rate of 56–57%. However, the hemicellulose-derived saccharides yield decreased by 22%. The parameters derived from calculation 2 were applied in all further saccharification approaches, although the hydrolysis time was adjusted to 72 h for a marginal change in response.

3.2.2. Mechanically supported high total solid load saccharification

Processes with high DM concentrations are favored, because they reduce the overall water consumption in the biorefinery design. Karunanithy and Muthukumarappan (2010), who pre-treated switchgrass and prairie cord grass by an extruder system, reported that intense mechanical disruption by a screw press-system improves the enzymatic digestibility. Therefore, the effect of a secondary screw-press system was also evaluated in this work. The monosaccharide yields of the high total solid load saccharification approaches are illustrated in Fig. 4. The msEH sample at 24 h was obtained directly after the accessory pressing step. The sec-

ondary mechanical pressing step exerted a positive effect on cellulose digestibility. Compression and further fraying increased the cellulose saccharification by 12% at 72 h. The glucose yield reached 54.7% of the initial glucan content, slightly below the value calculated in the response optimization. Glucan-derived oligomers were not detected. Concerning hemicellulose saccharification, msEH provided even higher xylose yields than the multiple response optimization approaches. Unlike glucans, the hydrolysates still comprised xylo-oligosaccharides after 72 h incubation. Thus, the hemicellulose sugar release might be increased by the enhanced oligosaccharide hydrolysis in the high total solid load approach. Doubling of the enzyme load by a secondary enzyme dosage administered after pressing showed no effect. Nevertheless, the saccharification efficiencies obtained by the proposed mechano-enzymatic approaches were similar or even superior to the results of the multiple response optimization. As the msEH approach widely recovered the lignin in the solid fraction, no noticeable phenolic compounds, which might inhibit downstream fermentations, should be released into the hydrolysate (see Table 3). Moreover, saccharide-derived inhibitors such as hydroxymethylfurfural and furfural were detected only at low concentrations (below 20 mg per liter for each compound), because the msEH approach requires no high temperatures or harsh conditions.

3.3. Organosolvation and lignin recovery

Despite the initial subordinated lignin content in grasses, gramineous biomass hydrolysis is adversely affected by the compositional characteristics of the cell wall structure. The abundance of phenolic acids such as ferulic and *p*-coumaric acid is particularly problematic (Vogel, 2008). Besides dissolving a valuable lignin fraction, organosolvation enhances the enzymatic hydrolysis by cleaving carbohydrate–lignin linkages and β -O-4 interunit bonds in lignin (Ragauskas et al., 2014). As described previously, the organosolvation of grass silage seems to be more feasibly performed after msEH, which reduced the dry matter for the organosolv-treatment by 41%, and increased the relative lignin proportion by 57% in the DM, because saccharides were hydrolyzed and other soluble compounds were separated during msEH. Applied to the solid residue after msEH, recovery of lignin reached a yield of 41% (Table 3). Washing the fibers with surplus solvent after organosolvation ensured good lignin yields and greatly reduced the precipitation of dissolved lignin on the remaining solid. The isolated lignin contained marginal amounts (<2%) of saccharides and ash. Comparable results were obtained by Cybulska et al. (2012), who extracted lignin from different dried lignocellulosic grasses and corn stover with an ethyl acetate/ethanol/water mixture. They reported recovery yields for organosolv lignin fractions between 51 and 67%, and Klason lignin contents between 66 and 74% while marginal impurities were detected. In the present study, organosolvation induced no significant loss of the

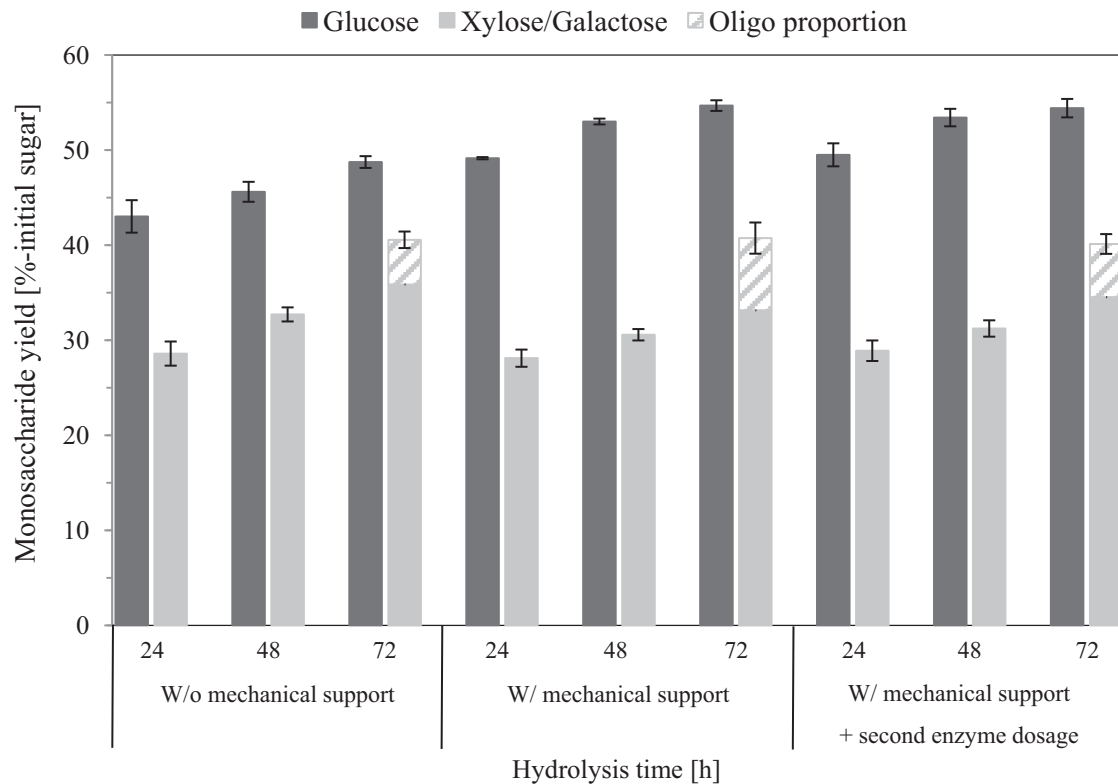


Fig. 4. Saccharide yields in the high total solid load saccharification of PC, with (W/) or without (W/o) secondary mechanical support and secondary enzyme dosage. Parameters were obtained by calculation 2 (see Table 2), although the hydrolysis time was corrected to 72 h; $n = 2$.

Table 3
Mass distribution analysis of the main components in 1000 kg DM grass silage refined by the combined pulping process presented in Fig. 1. w_i : mass fraction of component i . Y_{ij} : yield of component i in fraction j (relative to content of chopped grass silage). $n = 2-4$. NA: not analyzed.

Component i	Grass silage, chopped			A. separation As (PC)			B. msEH Bs			C. organosolvation Cs			D. subsequent hydrolysis Ds		
	m_i [kg]	w_i [%]	Y_i [%]	m_i [kg]	w_i [%]	$Y_{i,As}$ [%]	m_i [kg]	w_i [%]	$Y_{i,Bs}$ [%]	m_i [kg]	w_i [%]	$Y_{i,Cs}$ [%]	m_i [kg]	w_i [%]	$Y_{i,Ds}$ [%]
VCODM/DM	1000	100	100	707	100	71	417	100	42	229	100	23	110	100	11
Glucan	204	20.4 ± 0.3	100	193	27.3 ± 0.3	95	91	21.8 ± 0.2	45	87	37.8 ± 1.1	42	3	3.0 ± 0.1	2
Xylan	118	11.8 ± 0.2	100	105	14.9 ± 0.3	90	63	15.2 ± 0.1	54	24	10.6 ± 0.2	21	2	2.0 ± 0.02	2
Lignin	121	12.1 ± 0.2	100	123	17.4 ± 0.2	102	115	27.4 ± 0.1	95	62	26.9 ± 0.3	51	56	51.5 ± 2.4	47
Ash	102	10.2 ± 0.1	100	59	8.3 ± 0.04	58	36	8.6 ± 0.1	35	36	15.8 ± 1.6	35	32	29.1 ± 2.9	31
Component i	Al (PJ)			Bl			Cl			Dl					
	m_i [kg]	w_i [%]	$Y_{i,Al}$ [%]	m_i [kg]	c_i [g L ⁻¹]	$Y_{i,Bl}$ [%]	m_i [kg]	c_i [g L ⁻¹]	$Y_{i,Cl}$ [%]	m_i [kg]	c_i [g L ⁻¹]	$Y_{i,Dl}$ [%]			
DM	242	100	24	NA	-	-	NA	-	-	NA	-	-			
Glucan-derived saccharides	NA	-	-	110	41.5 ± 0.2	54	2	0.2	1	91	22.9 ± 0.7	44			
Xylan-derived saccharides	NA	-	-	47	17.0 ± 0.4	40	12	1.8	12	25	5.7 ± 0.1	21			
Lignin	NA	-	-	NA	-	-	NA	-	-	NA	-	-			
Ash	47 ± 1	19.3 ± 0.3	47	NA	-	-	NA	-	-	NA	-	-			
C, precipitated lignin															
Component i	m_i [kg]	w_i [%]	$Y_{i,Cp}$ [%]												
DM	63	100	6												
Glucan	1	1.2 ± 0.3	1												
Xylan	1	1.8 ± 0.1	1												
Lignin	50	78.6 ± 3.7	41												
Ash	1	1.1 ± 0.2	1												

glucan-derived saccharides, but might have pre-disrupted and partially hydrolyzed the cellulose structure (Kumar et al., 2009). In contrast, parts of the hemicellulose fraction was either degraded or hydrolyzed into soluble components, mainly oligosaccharides. The recovery of xylan-derived saccharides accounts for only 73% of the hemicellulose fraction, suggesting that this fraction was par-

tially degraded by the selected treatment conditions during lignin extraction (Table 3). This assumption is supported by the detection of the saccharide-derived inhibitors hydroxymethylfurfural and furfural in the liquid phase. The release per gram of treated DM was 16-fold and 54-fold higher in organosolvation than in the mechano-enzymic treatment, respectively. A further study is

aimed to determine appropriate organosolv conditions for msEH-treated PC for reduction of the hemicellulose degradation and enhancement of the lignin extraction. Furthermore, the effects of residual amounts of inherent organic acids, which might act as catalysts, have not been clarified in this study.

3.4. Enzymatic hydrolysis of organosolv solid and overall mass balance

The subsequent saccharification of the washed solid phase from organosolvation was investigated in a separate hydrolysis step. The saccharification approaches produced high yields of both glucan-derived ($91.9 \pm 0.3\%$, relative to saccharide content in the solid after organosolvation) and xylan-derived ($90.3 \pm 0.4\%$) saccharides (Table 3). Reducing the enzyme load to one third, the saccharification yields of the glucan- and xylan-derived fractions were slightly reduced to $84.6 \pm 0.3\%$ and $81.2 \pm 0.2\%$, respectively. All in all, the combined mechano-enzymatic and chemical process removed 98% of the glucan and xylan from the solid PC matrix, and recovered 98% of the glucan and 73% of the xylan as mono- and oligosaccharides in the hydrolysates, respectively. The mass distribution analysis of the main components in the investigated pulping process conceptualized for a biorefinery is summarized in Table 3. The msEH dissolved 54%, and organosolvation followed by EH additional 44% of the glucan. The residual solid in the overall process, which accounted for 11% of the initial dry matter, comprised to a high extent lignin (52%). Although the lignin not extracted by organosolvation can be recovered from this fraction, it is highly blended with inorganic compounds (29% ash content).

3.5. Cellulose crystallinity and morphology of grass silage at different treatment steps

The impact of each treatment step on the cellulose crystallinity was investigated by wide-angle X-ray diffraction. The structural organization of cellulose is argued to be largely responsible for the recalcitrance of lignocellulosic material. However, the interrelationship between the reduced cellulose crystallinity after specific pretreatment procedure and the enhanced enzymatic hydrolysis remains contentious (Park et al., 2010). After feedstock separation, the ACC value decreased slightly from 49% to 47%. It can be inferred that the crystalline regions are marginal disturbed by the pressing of the moist grass silage. In contrast, the msEH treatment increased the amorphous fraction of the solid phase (ACC 42%). Thus, it appears that after msEH, access to the remaining polysaccharides is mainly hindered by lignin crosslinks rather than cellulose crystallinity. Organosolvation remarkably decreased the ACC value to 26%. Judging by the large decline in the relative peak area of the (0 0 2) lattice plane, the reduced ACC is mainly attributed to the reduced proportion of (0 0 2) lattice planes in the entire crystalline phase. As the (0 0 2) lattice plane corresponds to the *c* direction of the cellulose unit cell, it appears that the physical treatment cleaves the cellulose polymer chain along its axis. As described above, organosolvation enhanced the saccharification in the solid fraction, but delignification and hemicellulose removal could also contribute by increasing the mean pore size and the area accessible to enzyme access.

The effect of each treatment step on the morphology and structure of grass fibers was investigated by SEM. In contrast to the chopped grass silage, the fibers from the PC fraction were disorganized, revealing alternating sections of smooth surfaces and rough morphologies displaying the fiber interior, presumably by mechanical disruption during the feedstock separation. The msEH treatment induced a morphological alteration characterized by partial degradation, which exposed the fiber interiors. This fraction also appeared porous, with re-deposited surface debris and some completely disjoined fiber cells. After organosolvation, the fibers were

highly degraded, and their surfaces were characterized by particulate deposits and evidences of defibrillation, which were absent in the msEH treated substrate. Thus, the additional organosolvation treatment probably enables the fibrillation process by removing lignin and hemicellulose. The SEM images along the pulping concept are consistent with the saccharification results; that is, fiber exposure increases the surface area and pore-volume, enhancing the polysaccharide accessibility, and hence the efficiency of the enzymatic hydrolysis.

3.6. Evaluation of the integrated grass silage pulping process

Evaluation of technical processes on the basis of laboratory-scale experiments is generally restricted, since reliable data for technical scale process parameters, including energy consumption, or operation conditions, cannot be derived from laboratory experiments. Nevertheless, in the following some aspects concerning the efficiency of the integrated process are discussed qualitatively.

Compared to annual field crops, grass can be provided by extensive cultivation even on unfavorable soils. By means of high dry matter yields with minimal fertilizer input and several ecological issues, perennial grasslands can contribute to reduce the energy consumption for the feedstock supply of an industrial biorefinery (Kamm et al., 2006).

Multi-product biorefineries are regarded to enhance the production of bio-based chemicals in an ecological and sustainable way (Ecker et al., 2012). The presented biorefinery concept enables multi-product systems by providing an extensive separation of the main components of the grass silage, and allows high saccharification and lignin recovery yields. The mechano-enzymatic pulping of the PC in the high total solid load process delivered saccharide streams that have not to be detoxified for downstream fermentations, since release of saccharide- and lignin-derived inhibitors was marginal at moderate conditions. Furthermore, the msEH pulping reduced the DM to be fed into the subsequent organosolv treatment by around 40%. Thus, the energy intensive organosolv unit is expected to be reduced by a similar factor in reactor volume, energy demand, and solvent consumption, compared to an upstream organosolv processing of the initial PC. In contrast to organosolv, the mechanical pulping during msEH can be regarded to require much lower energy input. For instance, Zhu and Pan (2010) indicated the mechanical wood processing to need six to eight times less energy than the subsequent organosolv process.

Altogether, 1000 kg DM grass silage was treated with 9.9 kg of enzyme (protein) in the msEH and 3.2 kg in the saccharification of the organosolv residue, respectively. According to the results of the enzymatic hydrolysis after organosolvation, this dosage can be even reduced. For further development and optimization, the organosolv product could be partially fed into the msEH process, enabling further reduction of enzyme demand as well as an integrated EH of both the PC and the organosolv residue.

4. Conclusions

The combined refining and pulping process represents an innovative concept for the integrated utilization of grass silage in a biorefinery. The study also reports for the first time the organosolv extraction of lignin after mechano-enzymatic saccharification of ensiled grass. The achieved results showed the feasibility and efficiency in matters of saccharide release and lignin recovery. Further works are directed to establish downstream fermentations of the saccharide-containing hydrolysates as well as of the press juice. Moreover, research on structure-property correlations of polymer

blends based on the separated lignin fractions will be performed with respect to material applications.

Acknowledgements

The project “Farm-based biorefinery for local supply of diesel fuel” was funded by the Bavarian State Ministry of Education, Science and the Arts. The authors wish to thank Heinrich Hausladen, Cham-Katzberg, Germany, for providing the grass silage from permanent grassland. The authors are also grateful to Dr. Edgar Remmele for enabling mechanical pressing operations at the Technology and Support Center (TFZ), Straubing, Germany. Special thanks are given to TFZ staff Roland Fleischmann and Jakob Meyer for excellent technical support.

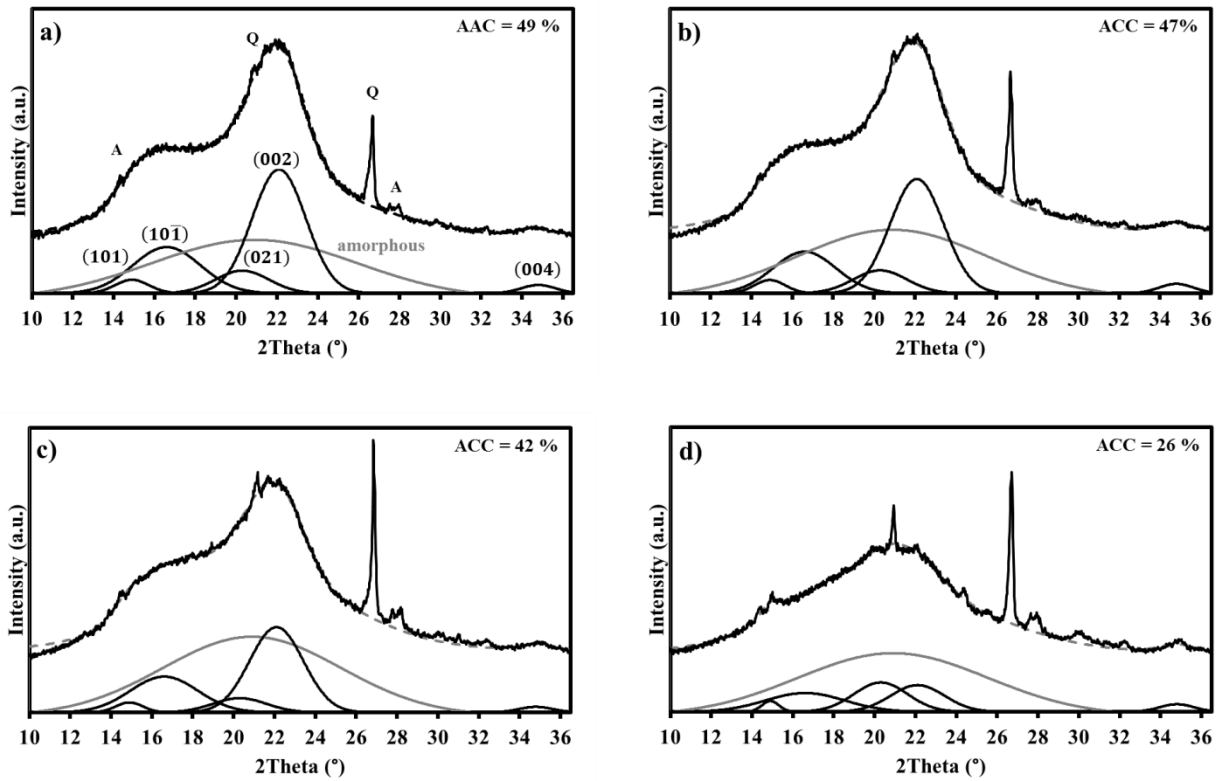
Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.092>.

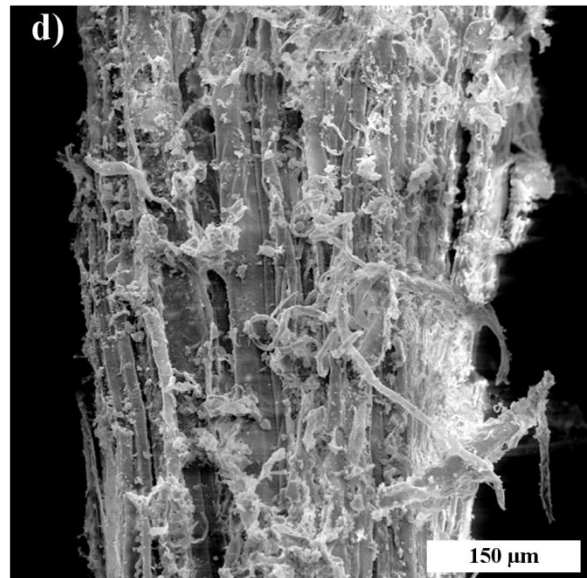
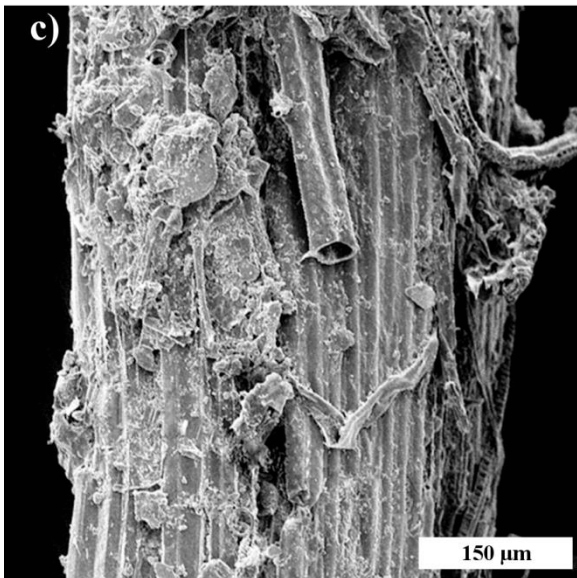
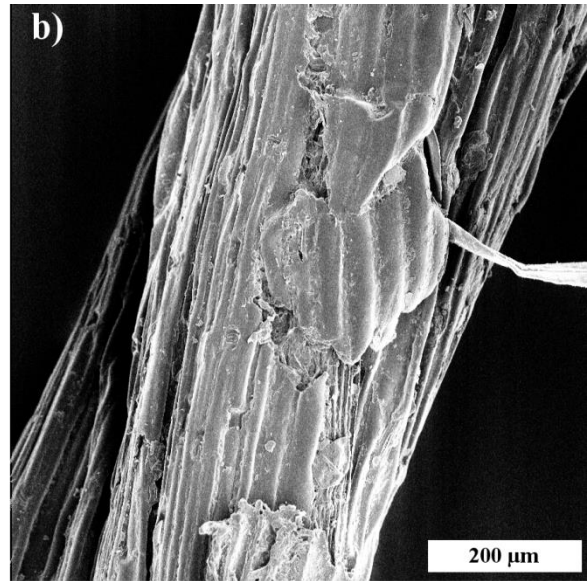
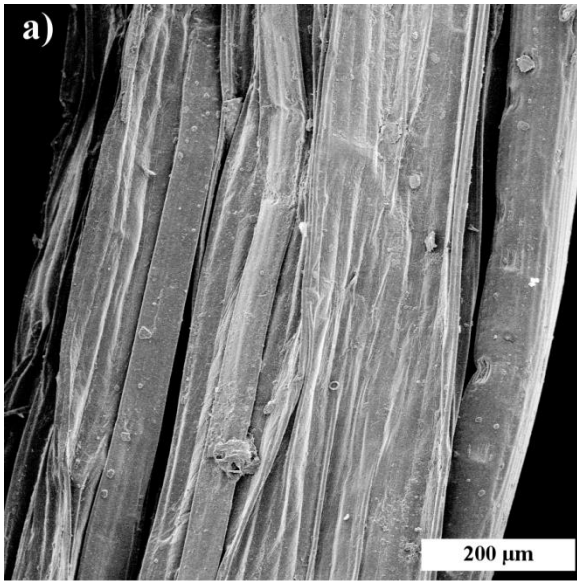
References

- Ambye-Jensen, M., Johansen, K.S., Didion, T., Kádár, Z., Schmidt, J.E., Meyer, A.S., 2013. Ensiling as biological pretreatment of grass (*Festulolium hykor*): the effect of composition, dry matter, and inocula on cellulose convertibility. *Biomass Bioenergy* 58, 303–312.
- Ambye-Jensen, M., Johansen, K.S., Didion, T., Kádár, Z., Meyer, A.S., 2014. Ensiling and hydrothermal pretreatment of grass: consequences for enzymatic biomass conversion and total monosaccharide yields. *Biotechnol. Biofuels* 7.
- Bailey, M.J., Biely, P., Poutanen, K., 1992. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. *J. Biotechnol.* 23, 257–270.
- Blondin, B., Ratamahenina, R., Arnaud, A., Galzy, P., 1983. Purification and properties of the β -glucosidase of a yeast capable of fermenting cellobiose to ethanol: *Dekkera intermedia* van der Walt. *Eur. J. Appl. Microbiol.* 17, 1–6.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Buanafina, M.M. de O., 2009. Feruloylation in grasses: current and future perspectives. *Mol. Plant* 2, 861–872.
- Cerrone, F., Davis, R., Kenny, S.T., Woods, T., O'Donovan, A., Gupta, V.K., Tuohy, M., Babu, R.P., O'Kiely, P., O'Connor, K., 2015. Use of a mannitol rich ensiled grass press juice (EGPJ) as a sole carbon source for polyhydroxyalkanoates (PHAs) production through high cell density cultivation. *Bioresour. Technol.* 191, 45–52.
- Chen, Y., Sharma-Shivappa, R.R., Chen, C., 2007. Ensiling agricultural residues for bioethanol production. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 143, 80–92.
- Cybulska, I., Brudecki, G., Rosentrater, K., Julson, J.L., Lei, H., 2012. Comparative study of organosolv lignin extracted from prairie cordgrass, switchgrass and corn stover. *Bioresour. Technol.* 118, 30–36.
- Derringer, G., Suich, R., 1980. Simultaneous optimization of several response variables. *J. Qual. Technol.* 12, 214–219.
- Duque, A., Manzanares, P., Ballesteros, I., Negro, M.J., Oliva, J.M., González, A., Ballesteros, M., 2014. Sugar production from barley straw biomass pretreated by combined alkali and enzymatic extrusion. *Bioresour. Technol.* 158, 262–268.
- Ecker, J., Schaffenberger, M., Koschuh, W., Mandl, M., Böchzelt, H.G., Schnitzer, H., Harasek, M., Steinmüller, H., 2012. Green biorefinery Upper Austria-pilot plant operation. *Sep. Purif. Technol.* 96, 237–247.
- European Commission, 2012. *Innovating for Sustainable Growth: A Bioeconomy for Europe*, 9 pp.
- European Commission, 2013. Regulation (EU) No 1306/2013 of the European Parliament and of the Council of 17 December 2013 on the Financing, Management and Monitoring of the Common Agricultural Policy and Repealing Council Regulations (EEC) No. 352/78, (EC) No. 165/94, (EC) No. 2799/98, (EC) No. 814/2000, (EC) No. 1290/2005 and (EC) No. 485/2008, 59 pp.
- Kamm, B., Gruber, P.R., Kamm, M., 2006. *Biorefineries – Industrial Processes and Products: Status Quo and Future Directions*, vol. 1. Wiley-VCH, Weinheim.
- Kamm, B., Hille, C., Schönicke, P., 2010. Green biorefinery demonstration plant in Havelland (Germany). *Biofuels Bioprod. Biorefin.* 4, 253–262.
- Karunanithy, C., Muthukumarappan, K., 2010. Effect of extruder parameters and moisture content of switchgrass, prairie cord grass on sugar recovery from enzymatic hydrolysis. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 162, 1785–1803.
- King, C., McEniry, J., O'Kiely, P., Richardson, M., 2012. The effects of hydrothermal conditioning, detergent and mechanical pressing on the isolation of the fibre-rich press-cake fraction from a range of grass silages. *Biomass Bioenergy* 42, 179–188.
- Koller, M., Bona, R., Hermann, C., Horvat, P., Martinz, J., Neto, J., Pereira, L., Varila, P., Braunegg, G., 2005. Biotechnological production of poly(3-hydroxybutyrate) with *Wautersia eutropha* by application of green grass juice and silage juice as additional complex substrates. *Biocatal. Biotransform.* 23, 329–337.
- Kromus, S., Wachter, B., Koschuh, W., Mandl, M., Krotscheck, C., Narodslawsky, M., 2004. The green biorefinery Austria – development of an integrated system for green biomass utilization. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 18, 7–12.
- Kumar, P., Barrett, D.M., Delwiche, M.J., Stroeve, P., 2009. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production. *Ind. Eng. Chem. Res.* 48, 3713–3729.
- Mandl, M.G., 2010. Status of green biorefining in Europe. *Biofuels Bioprod. Biorefin.* 4, 268–274.
- Muck, R.E., Moser, L.E., Pitt, R.E., 2003. Postharvest factors affecting ensiling. In: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Eds.), *Silage Science and Technology*, vol. 6. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, Wis., pp. 251–304.
- Pan, X., Kadla, J.F., Ehara, K., Gilkes, N., Saddler, J.N., 2006. Organosolv ethanol lignin from hybrid poplar as a radical scavenger: relationship between lignin structure, extraction conditions, and antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 54, 5806–5813.
- Park, S., Baker, J.O., Himmel, M.E., Parilla, P.A., Johnson, D.K., 2010. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance. *Biotechnol. Biofuels* 3.
- Porter, M.G., Murray, R.S., 2001. The volatility of components of grass silage on oven drying and the inter-relationship between dry-matter content estimated by different analytical methods. *Grass Forage Sci.* 56, 405–411.
- Ragauskas, A.J., Beckham, G.T., Biddy, M.J., Chandra, R., Chen, F., Davis, M.F., Davison, B.H., Dixon, R.A., Gilna, P., Keller, M., Langan, P., Naskar, A.K., Saddler, J.N., Tschaplinski, T.J., Tuskan, G.A., Wyman, C.E., 2014. Lignin valorization: improving lignin processing in the biorefinery. *Science* 344, 709–719.
- Rooke, J.A., Hatfield, R.D., 2003. Biochemistry of ensiling. In: Buxton, D.R., Muck, R.E., Harrison, J.H. (Eds.), *Silage Science and Technology*, vol. 3. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 95–140.
- Rothermel, J., 2015. *Renewable Raw Materials in the EU Chemical Industry*. German Chemical Industry Association, 18 June 2015, Frankfurt am Main.
- Sieker, T., Neuner, A., Dimitrova, D., Tippkötter, N., Muffler, K., Bart, H.-J., Heinzle, E., Ulber, R., 2011. Ethanol production from grass silage by simultaneous pretreatment, saccharification and fermentation: first steps in the process development. *Eng. Life Sci.* 11, 436–442.
- Sluiter, J.B., Ruiz, R.O., Scarlata, C.J., Sluiter, A.D., Templeton, D.W., 2010. Compositional analysis of lignocellulosic feedstocks. 1. Review and description of methods. *J. Agric. Food Chem.* 58, 9043–9053.
- Vogel, J., 2008. Unique aspects of the grass cell wall. *Curr. Opin. Plant Biol.* 11, 301–307.
- Xiao, Z., Storms, R., Tsang, A., 2004. Microplate-based filter paper assay to measure total cellulase activity. *Biotechnol. Bioeng.* 88, 832–837.
- Yue, Q., Yang, H.J., Li, D.H., Wang, J.Q., 2009. A comparison of HPLC and spectrophotometrical methods to determine the activity of ferulic acid esterase in commercial enzyme products and rumen contents of steers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 153, 169–177.
- Zhu, J.Y., Pan, X.J., 2010. Woody biomass pretreatment for cellulosic ethanol production: technology and energy consumption evaluation. *Bioresour. Technol.* 101, 4992–5002.

Supplementary data 1.



SF1. X-ray diffraction patterns (solid lines) of grass silage solids after different treatment stages: a) chopping, b) separation, c) msEH, and d) organosolvation. Dashed lines are the deconvoluted diffractograms resulting from non-linear iterative peak deconvolution. The crystal lattice planes of cellulose I_{β} for determining the apparent cellulose crystallinity (ACC) are also shown. The main inorganic phases in the sample, quartz and albite, are denoted by Q and A, respectively.



SF2. Scanning electron micrographs of grass silage solids after different treatment stages: a) chopping, b) separation, c) msEH, and d) organosolvation.

Supplementary data 2.

Supplementary Table 1

Parameters and experiments of the modified face-centered 2^4 -central composite design for PC saccharification.

Run number	A	B	C	D
	concentration Celluclast [mg (g DM) ⁻¹]	concentration FAE [mg (g DM) ⁻¹]	concentration Viscozyme [mg (g DM) ⁻¹]	hydrolysis time [h]
1	15.0	1.5	14.3	16
2	15.0	0	14.3	16
3	15.0	1.5	14.3	96
4	8.8	0.8	7.2	56
5	15	0	0	16
6	8.8	0.8	7.2	56
7	2.5	0	14.3	96
8	15.0	0	14.3	96
9	8.8	0.8	0	56
10	8.8	0.8	14.3	56
11	8.8	0	7.2	56
12	8.8	0.8	7.2	16
13	8.8	0.8	7.2	56
14	8.8	0.8	7.2	56
15	2.5	0	0	96
16	2.5	0	0	16
17	8.8	0.8	7.2	96
18	2.5	0.8	7.2	56
19	8.8	1.5	7.2	56
20	2.5	1.5	0	96
21	15.0	1.5	0	96
22	2.5	0	14.3	16
23	8.8	0.8	7.2	56
24	15.0	1.5	0	16
25	15.0	0	0	96
26	8.8	0.8	7.2	56
27	8.8	0.8	7.2	56
28	2.5	1.5	0	16
29	2.5	1.5	14.3	16
30	15.0	0.8	7.2	56
31	2.5	1.5	14.3	96
32	8.8	0.8	7.2	56
33	8.8	0.8	21.5	56
34	8.8	2.3	7.2	56
35	21.3	0.8	7.2	56
36	8.8	0.8	7.2	56



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Data in Brief

journal homepage: www.elsevier.com/locate/dib

Data Article

Dataset on the structural characterization of organosolv lignin obtained from ensiled *Poaceae* grass and load-dependent molecular weight changes during thermoplastic processing

Jörg Dörrstein^a, Ronja Scholz^b, Dominik Schwarz^c,
Doris Schieder^c, Volker Sieber^c, Frank Walther^{b,*},
Cordt Zollfrank^{a,*}

^a Chair for Biogenic Polymers, Technical University of Munich (TUM), Schulgasse 16, 94315 Straubing, Germany

^b Department of Materials Test Engineering (WPT), TU Dortmund University, Baroper Str. 303, 44227 Dortmund, Germany

^c Chair of Chemistry of Biogenic Resources, Technical University of Munich (TUM), Schulgasse 16, 94315 Straubing, Germany

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 December 2017

Received in revised form

18 December 2017

Accepted 22 January 2018

Available online 1 February 2018

ABSTRACT

This article presents experimental data of organosolv lignin from Poacea grass and structural changes after compounding and injection molding as presented in the research article “Effects of high-lignin-loading on thermal, mechanical, and morphological properties of bioplastic composites” [1]. It supplements the article with morphological (SEM), spectroscopic (³¹P NMR, FT-IR) and chromatographic (GPC, EA) data of the starting lignin as well as molar mass characteristics (mass average molar mass (M_w) and Polydispersity (D)) of the extracted lignin. Refer to Schwarz et al. [2] for a detailed description of the production of the organosolv residue and for further information on the raw material used for lignin extraction. The dataset is made publicly available and can be useful for extended lignin research and critical analyzes.

© 2018 The Authors. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

DOI of original article: <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2017.12.003>

* Corresponding authors.

E-mail addresses: frank.walther@tu-dortmund.de (F. Walther), cordt.zollfrank@tum.de (C. Zollfrank).

<https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.01.060>

2352-3409/© 2018 The Authors. Published by Elsevier Inc. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Specifications Table

Subject area	<i>Material Science</i>
More specific subject area	<i>Bioplastic composites, lignin research</i>
Type of data	<i>Tables, images, figures</i>
How data was acquired	<i>Scanning electron microscopy (SEM; DSM 940A, Zeiss, Germany), elemental analysis (EA; Euro EA, Hekatech, Germany), gel permeation chromatography (GPC; SECurtiy, PSS Polymer Standards Service, Germany) equipped with a refractive index detector and a series of linear columns (PSS Gram (30 Å, 1000 Å), AppliChrom ABOA DMSO-Phil-P (100 Å)), High Performance Liquid Chromatography (HPLC; Dionex® equipped with a Rezex ROA-H+ column), 31 Phosphorous NMR (³¹P NMR; JEOL-ECS 400 MHz, Jeol Ltd., Japan), Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR; Nicolet 380, Thermo Scientific, Germany), image analysis (ImageJ, NIH, USA)</i>
Data format	<i>Raw spectra data, analyzed data, images</i>
Experimental factors	<i>The lignin-rich precipitate obtained from organosolvation of Poacea grass silage was Soxhlet extracted with ethyl acetate (EtOAc). The solid residue was used to fabricate lignin/polyethylene-co-vinyl acetate rubber composites. Thereafter, lignin was re-extracted with dimethyl sulfoxide (DMSO) from the bioplastic composites and structural data were collected</i>
Experimental features	<i>Structural data on lignin from ensiled Poaceae grass is given by solid- and liquid-state methods</i>
Data source location	<i>East Bavaria lower mountain range near Regensburg, Germany (49°14'N; 12°39'E)</i>
Data accessibility	<i>Data is available with this article</i>

Value of the data

- The data are convenient to examine the structural characteristics of organosolv lignin from herbaceous plants such as *Poaceae* grass and can be compared with other related studies.
- The data establish a link between lignin content in bioplastic composites and load-dependent molecular weight changes.
- These data allow other researchers to extend the characterization of lignin in highly-filled composites.

1. Data

Morphological characteristics of lignin from *Poaceae* grass are shown in Fig. 1. Molecular weight change upon solvent-extraction of the organosolv residue and molecular weight changes of lignin as a function of lignin loading in processed lignin bioplastic composites [1], are given in Fig. 2. Data on lignin purity are given in Table 1.

Raw spectral data of the starting lignin are shown in Figs. 3 and 4 and band assignments and hydroxyl group contents are given in Tables 2 and 3, respectively.

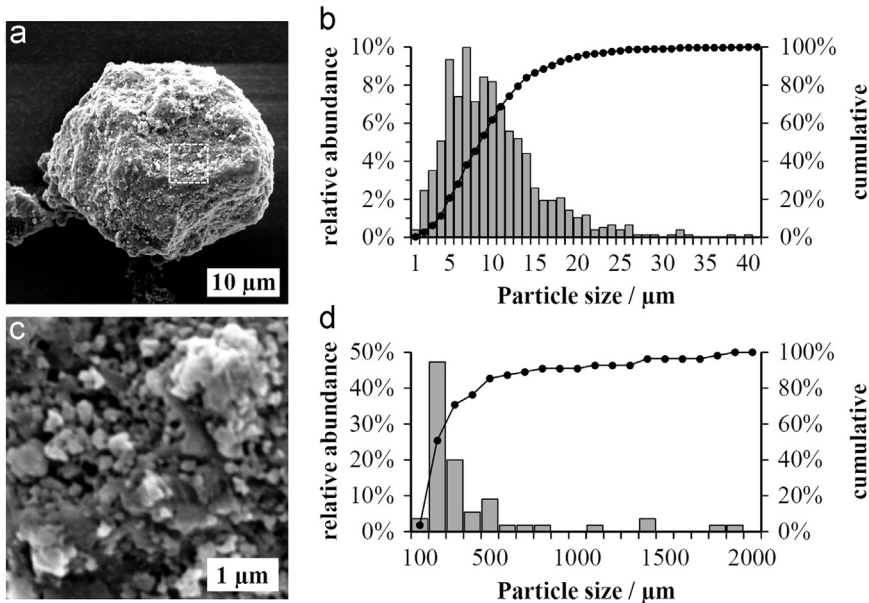


Fig. 1. a) and c) Scanning electron micrographs of a precipitated *Poaceae* grass lignin particle displaying the particle surface and b) and d) size distribution of precipitated lignin particles and size distribution of clustered particles on the particle surface obtained from image analysis.

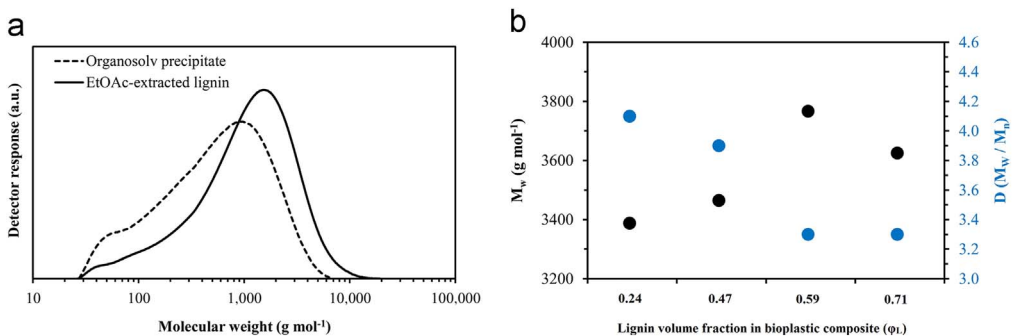


Fig. 2. a) Molecular weight characteristics obtained from GPC of Organosolv precipitate and lignin after extraction with EtOAc. b) M_w and D of *Poaceae* grass lignin after injection molding and extraction with DMSO from bioplastic composites corresponding to different lignin volume fractions.

2. Experimental design, materials and methods

2.1. Sample collection and preparation

A lignin-rich fraction was obtained by organosolvation of a grass silage press cake (PC) batch, described earlier by Schwarz et al. [2]. The obtained solid lignin phase was Soxhlet-extracted for 24 h using ethyl acetate (EtOAc), air dried overnight and then stored at ambient conditions until use.

2.2. Purity analysis

Lignin purity analysis was conducted according to NREL standard methods [11]. Acid insoluble lignin (Klason lignin) was examined by sulfuric acid hydrolysis. Residual carbohydrate and ash

Table 1

Data on purity analysis of obtained *Poaceae* grass lignin: Mass average molecular weight, residual sugar, ash, sulfur content and mean particle size.

Molar mass		Purity			Mean particle size
M_w (g mol^{-1})	D (dimensionless)	Σ sugar (%)	ash	sulfur	d_p (μm)
1600	3.3	3.0	1.1	0.1	9.5

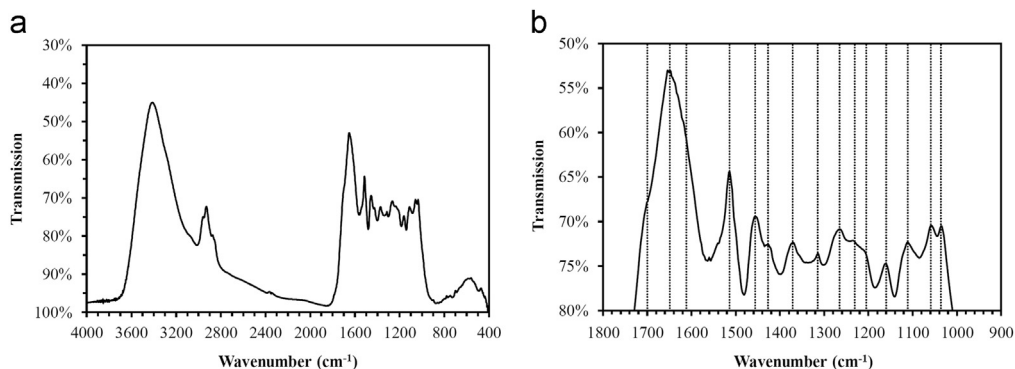


Fig. 3. a) FT-IR spectrum of the isolated lignin (precipitated and EtOAc-extracted) and b) detail of the region below 1800 cm^{-1} .

content were determined according to NREL/TP-510-48087 and sulfur content was determined using elemental analysis [12]. Measurements were run on vacuum-dried samples in duplicate and data are given as the arithmetic averages.

2.3. Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR)

FT-IR analysis was performed to examine the starting lignin. Direct transmittance was measured by using the KBr pellet technique with a lignin concentration of 0.3 wt% in 300 mg KBr. The following parameters were used: spectral range: $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$, spectral resolution: 2 cm^{-1} , total scans: 128, background: KBr.

2.4. Morphological analysis

Mean lignin particle size and particle size distribution were evaluated using a scanning electron microscope operated at 10 kV and by image analysis.

2.5. ^{31}P NMR

Spectral data were obtained according to a previously reported procedure and data on different functional groups present in lignin were obtained from integration of the spectra and calculated as described herein [13].

2.6. Gel permeation chromatography (GPC)

GPC was used to examine the mass average molecular weight and molecular weight distribution of isolated (starting) and processed lignin. For the determination of molecular weight changes following thermoplastic processing, lignin was Soxhlet-extracted for 24 h from ground composites using DMSO and lyophilized. The measurements were performed at $50\text{ }^\circ\text{C}$ using 0.075 M DMSO/ LiNO_3 as the

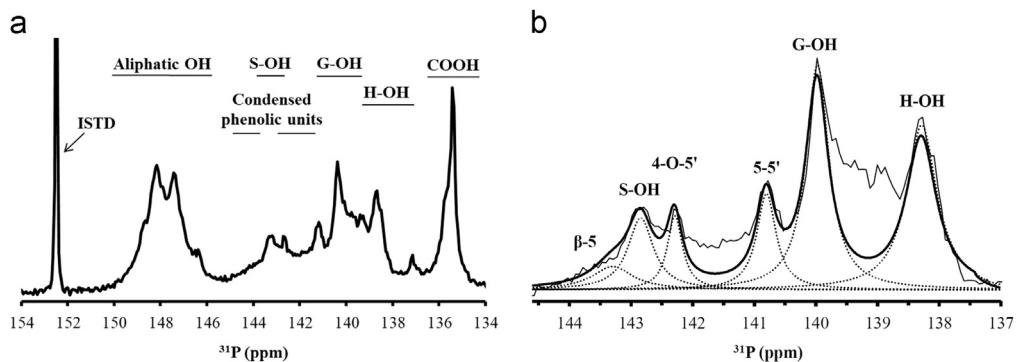


Fig. 4. a) ^{31}P NMR spectrum of phosphitylated starting lignin. b) ^{31}P NMR spectra in the overlapping region between 144.5 and 137 ppm with deconvoluted signals.

Table 2

FTIR band assignments of starting lignin.

Wavenumber (cm^{-1})	Assignment	Reference
1036	aromatic C-H in-plane deformation ($G > S$); C-O deform. in primary alcohols; C=O stretch (unconj.)	[3–6]
1059	O–H stretch in cellulose	[4]
1111	guaiacyl C-H and syringyl C-H	[4]
1160	C=O stretch in conjugated ester groups, such as p-coumaric acid, typical for HGS lignins	[3,5–8]
1231	C–C stretch; C–O stretch; C=O stretch, G condensed > G etherified	[4,8]
1265	C=O stretch; C–O stretch in guaiacyl aromatic methoxyl groups	[3–9]
~1315	condensed S and G ring (G ring substituted in pos. 5)	[3,5–8]
1371	aliphatic C–H stretch in CH_3 , not in OMe; phen. OH	[3,5–7]
~1427	aromatic ring vibrations of phenyl-propane (C_9) skeleton combined with C-H in-plane deformation	[3–9]
1456	C-H deformation; asym. in $-\text{CH}_3$ and $-\text{CH}_2-$	[3–9]
1514	aromatic skeleton vibrations ($G > S$)	[3–9]
~1612	aromatic skeletal vibrations ($S > G$); C=O stretch; G condensed > G etherified	[3,4,6]
1649	C=O stretch; in conjugated p-subst. aryl ketones; conjugated carbonyl and carboxyl; absorbed OH	[6,8–10]
~1700	C=O stretch in unconjugated ketones, carbonyls and in ester groups; conjugated aldehydes and carboxylic acids absorb around and below 1700 cm^{-1}	[3–7]
~2863	C-H vibration of methyl group of methoxyl	[3–10]
2929	C-H stretch in $-\text{CH}_3$ and $-\text{CH}_2-$	[3–10]
2964	C-H stretch in $-\text{CH}_3$ and $-\text{CH}_2-$	[3–10]
3411	O-H stretch	[3–10]

Table 3

Functional group contents obtained from quantitative ^{31}P NMR where the assignments S-OH, G-OH, H-OH, COOH, 4-O-5', 5-5', and β -5 correspond to syringyl phenolic units, guaiacyl and demethylated phenolic units, p-hydroxyphenolic units, and carboxylic acids and condensed phenolic units of the 4-O-5', 5-5', and β -5 type.

Σ aliph. OH (mmol g^{-1})	Σ carboxyl. OH (mmol g^{-1})	Σ phenol. OH (mmol g^{-1})	β -5 (mmol g^{-1})	S-OH (mmol g^{-1})	4-O-5' (mmol g^{-1})	5-5' (mmol g^{-1})	G-OH (mmol g^{-1})	H-OH (mmol g^{-1})
1.49	0.31	0.59	0.06	0.10	0.07	0.11	0.25	0.23

eluent. Lithium nitrate (LiNO_3 , anhydrous, 99.98%, Alfa Aesar, Germany) was added to minimize association effects. All samples were made up at 0.1% (w/v) in 0.075 M DMSO/ LiNO_3 . Pullulan polymer standards (PSS) ranging from 180 to 708.000 g mol^{-1} were used for calibration.

Acknowledgements

The work was conducted in the frame of the project “Farm-based biorefinery for local supply of diesel fuel” funded by the Bavarian State Ministry of Education, Science and the Arts. We wish to thank Marion Wölbinger, Dr. Tobias Gärtner and Dr. Harald Strittmatter from the Fraunhofer Project Group BioCat in Straubing for their technical assistance.

Funding

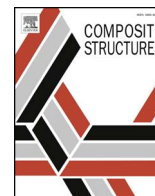
The funding for this research has been received from the Bavarian State Ministry of Education, Science and the Arts under the project “Farm-based biorefinery for local supply of diesel fuel”.

Transparency document. Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at <http://dx.doi.org/10.1016/j.dib.2018.01.060>.

References

- [1] J. Dörrstein, R. Scholz, D. Schwarz, D. Schieder, V. Sieber, F. Walther, C. Zollfrank, Effects of high-lignin-loading on thermal, mechanical, and morphological properties of bioplastic composites, *Compos. Struct.* in press, <http://dx.doi.org/10.1016/j.compstruct.2017.12.003>.
- [2] D. Schwarz, J. Dörrstein, S. Kugler, D. Schieder, C. Zollfrank, V. Sieber, Integrated biorefinery concept for grass silage using a combination of adapted pulping methods for advanced saccharification and extraction of lignin, *Bioresour. Technol.* 216 (2016) 462–470.
- [3] O. Faix, Classification of lignins from different botanical origins by FT-IR spectroscopy, *Holzforschung* 45 (1991) 21–28.
- [4] K. Pandey, A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy, *J. Appl. Anal. Pyrolysis* 71 (1999) 1969–1975.
- [5] K. Wang, S. Bauer, R.C. Sun, Structural transformation of miscanthus×giganteus lignin fractionated under mild formosolv, basic organosolv, and cellulolytic enzyme conditions, *J. Agric. Food Chem.* 60 (2012) 144–152.
- [6] G. Hu, C. Cateto, Y. Pu, R. Samuel, A.J. Ragauskas, Structural characterization of switchgrass lignin after ethanol organosolv pretreatment, *Energy Fuels* 26 (2012) 740–745.
- [7] H. Nadji, P.N. Diouf, A. Benaboura, Y. Bedard, B. Riedl, T. Stevanovic, Comparative study of lignins isolated from Alfa grass (*Stipa tenacissima* L.), *Bioresour. Technol.* 100 (2009) 3585–3592.
- [8] F. Monteil-Rivera, M. Phuong, M. Ye, A. Halasz, J. Hawari, Isolation and characterization of herbaceous lignins for applications in biomaterials, *Ind. Crop. Prod.* 41 (2013) 356–364.
- [9] Y. Liu, T. Hu, Z. Wu, G. Zeng, D. Huang, Study on biodegradation process of lignin by FTIR and DSC, 2014, pp. 14004–14013.
- [10] O. Faix, B. Andersons, G. Zakis, Determination of carbonyl groups of six round robin lignins by modified oximation and FTIR spectroscopy, *Holzforschung* 52 (1998) 268–274.
- [11] A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, D.C. Nrel, Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass, 2011 (2011).
- [12] J. Sluiter, A. Sluiter, Summative Mass Closure Laboratory Analytical Procedure (LAP) NREL/TP-510-48087, National Renewable Energy Laboratory (2011) 10.
- [13] A. Granata, D.S. Argyropoulos, 2-Chloro-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaphospholane, a reagent for the accurate determination of the uncondensed and condensed phenolic moieties in lignins, *J. Agric. Food Chem.* 43 (1995) 1538–1544.



Effects of high-lignin-loading on thermal, mechanical, and morphological properties of bioplastic composites



Jörg Dörrstein^a, Ronja Scholz^b, Dominik Schwarz^c, Doris Schieder^c, Volker Sieber^c,
Frank Walther^{b,*}, Cordt Zollfrank^{a,*}

^a Chair for Biogenic Polymers, Technical University of Munich (TUM), Schulgasse 16, 94315 Straubing, Germany

^b Department of Materials Test Engineering (WPT), TU Dortmund University, Baroper Str. 303, 44227 Dortmund, Germany

^c Chair of Chemistry of Biogenic Resources, Technical University of Munich (TUM), Schulgasse 16, 94315 Straubing, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:

Polymer matrix composites (PMC)

Lignin composites

Extrusion

Mechanical testing

Fatigue

ABSTRACT

The present study investigates the effects of high-lignin-loading on properties of lignin/polyethylene-co-vinyl acetate (EVA) rubber composites. Results from mechanical (quasi-static and cyclic) and rheological investigations revealed a brittle-ductile transition around a lignin volume fraction of $\phi_L = 0.59$ coinciding with a twofold increase in steady-shear viscosity. Towards higher lignin contents, a 36% increase in dynamic stiffness C_{dyn} from $\phi_L = 0.59$ ($C_{dyn} \approx 350 \text{ N mm}^{-1}$) to $\phi_L = 0.71$ ($C_{dyn} \approx 550 \text{ N mm}^{-1}$) was observed by load increase tests (LIT). In addition, analyses of the ultra-micro-hardness revealed less indentation creep towards high-lignin-loading. At $\phi_L = 0.59$, a pronounced relaxation endotherm superimposed on the glass transition (T_g) was observed, which was ascribed to molecular confinement to occur at highly loaded composites. At this point, the molecular weight (M_w) of lignin increased considerably. These results were explained by the different role of lignin at high volume fraction, i.e. a change from lignin as mere stiffness-inducing filler to a strength-imparting and fatigue-resistant matrix component which was supported by morphological analysis.

1. Introduction

Current environmental issues related to increasing green-house gas (GHG) emissions, resource depletion and plastic pollution in both marine and land environments are leading to an urgent demand to reduce the consumption of petroleum-derived materials for low-cost commodity plastics [1]. In this view, the biopolymer lignin is often seen as a promising substitute, since it is an abundant cell wall constituent reaching 40 wt% of the dry weight in the case of woody plants, and therefore represents an extensive and sustainable reservoir for environmentally benign materials [2]. Novel thermoplastic systems based on lignin with readily tunable mechanical properties are highly desirable towards the provision of new engineering plastics, composites, natural fiber-reinforced thermoplastics, damping materials, semi-rigid foams or membranes [3–5]. Although lignin is a large scale organic waste stream in the pulp and paper industry (about 50 Mio t), only a negligible amount of about 2 wt% of this amorphous polyphenolic macromolecule is used for material applications [6]. The valorization of lignin in considerable amounts will contribute to the viability and competitiveness of industrial biorefinery plants in the future [5,7].

One major drawback for the utilization of lignin derived from many

annual plants such as grass is related to the comparatively subordinate lignin content in the range of 12–15 wt% compared to lignin in wood which accounts for up to 40 wt% [2]. Yet, a multistep biorefinery scheme for ensiled (storable) grass might overcome this issue by enhancing the lignin concentration in the feedstock to about 27 wt% prior to organosolvation [8]. Thus, this makes lignin from surplus forage grass worthwhile to be taken into account for material applications.

However, the utilization of isolated (technical) lignins in composites is constrained by its brittleness and probably even more by a lack of understanding of the rheological and mechanical behavior at high-lignin-loadings [9]. Brittleness in lignin is often related to extensive cross-linking and strong intermolecular interactions which results in poor dimensional stability. One of the convenient, scalable, and inexpensive processes to overcome the previous drawbacks is mixing of lignin with other polymers at 150–200 °C, e.g. polyolefins [10], polyesters [11], polyethers [12,13], or rubbers [14], followed by extrusion or injection molding and cooling [3,4,15,16]. On the one hand lignin was frequently considered to act as a filler while on the other hand lignin was shown to impart strength to the composites. So contentious information is available concerning the rheological and mechanical properties of lignin composites with a high lignin amount, i.e.

* Corresponding authors.

E-mail addresses: frank.walther@tu-dortmund.de (F. Walther), cordt.zollfrank@tum.de (C. Zollfrank).

50% lignin by volume and higher [13,17].

EVA is one of the general resins for the cable and wire industry, for adhesive formulations and for the modification of plastics. It can be obtained from bio-based monomers ethylene and vinyl acetate and thus represents a non-toxic and chlorine-free copolymer [18]. Rigid EVA copolymers with vinyl acetate contents between 9 and 40 wt% have been successfully used as compatibilizers in lignin/polyethylene blend systems since EVA offers alternating non-polar and polar segments on the polymeric backbone [19–23]. In contrast, EVA copolymers of 40–80 wt% vinyl acetate are thermoplastic elastomers with rubber-like elasticity, resilience, resistance to stress cracking, and the ability for extrusion and injection-molding. To the best of our knowledge, studies on composites of lignin and EVA with a high acetyl content, i.e. 40–80 wt%, were not reported so far. Therefore, the scope of this study was to investigate the process-structure-property-relationships of bi-phasic lignin/thermoplastic elastomer composites by varying the lignin loadings. Since lignin shows distinct characteristics (stiffening effect of a filler vs. filler and strengthener), it is assumed that towards high lignin volume fractions, a ductile to brittle transition possibly occurs due to severe structural changes. These in turn are responsible for the change in the energy absorption mode and thus the in viscoelastic properties. Besides the frequently conducted static-mechanical and thermal investigations, the fundamental research gives, for the first time, insights on the behavior of highly loaded lignin composites under dynamic mechanical load increase test (LIT) and by relating the results to structural and viscoelastic properties. Moreover, the investigation of fatigue properties is of great importance for technical applications, because various mechanical properties and damage mechanisms are expected [24,25].

2. Materials and methods

2.1. Composite preparation

Lignin/EVA composites were prepared on a laboratory scale compounding (HAAKE MiniLab II, Thermo Fisher, Germany) equipped with two conical screws operated in co-rotation [26]. A commercial-grade EVA copolymer elastomer (Vinnex® 2501, 80 wt% vinyl acetate content) was supplied by Wacker Chemie AG (Munich, Germany). A lignin-rich fraction was obtained by organosolvation of a grass (*Poaceae*) silage press cake (PC) batch. The densities of lignin and EVA were measured at room temperature using the Archimedes principle. Prior to compounding, the extracted lignin was pre-mixed with EVA in a mortar for 2 min at weight fractions w_1 of 0 wt% (LIG0), 25 wt% (LIG25), 50 wt% (LIG50), 62.5 wt% (LIG62.5), and 75 wt% (LIG75) corresponding to lignin volume fractions ϕ_L of 0.0, 0.24, 0.47, 0.59, and 0.71, respectively. To ensure reproducible loading throughout the experiments, the samples were at first directly extruded through a rectangular die and processed to pellets. Afterwards 6.5 g of the solid pellets were filled into the pre-heated micro-compounder in three fractions within 2 min and the material was run in cycle mode at 170 °C at a screw speed of 50 min⁻¹ for 10 min. Samples for tensile testing were obtained on a laboratory scale injection molding machine (HAAKE MiniJet, Thermo Fisher, Germany) using a mold with dimensions according to type 2 in DIN ISO 527-3. Mold temperature, injection pressure, injection time, holding pressure, and holding time were 50 °C, 90 MPa, 5 s, 30 MPa, and 10 s, respectively.

2.2. Rheological investigation

The HAAKE MiniLab II was equipped with a slit-shaped backflow channel which allowed process simulation in recirculation mode. Furthermore, two integrated pressure transducers gave access to the rheological behavior of the materials under investigation. Thus, valid rheological information was derived from the determination of γ_w and τ_w , according to a modified protocol previously reported by Yousfi et al.

[26]. For rectangular capillaries with height/width $> > 0$, the velocity is dependent on the lateral position resulting from edge effects [27]. Therefore, the results were given after correction of the apparent shear rate, accordingly. To obtain viscosity values as a function of the shear rate, the starting materials (lignin and EVA) were first allowed to mix for 10 min at 170 °C at a screw speed of 50 min⁻¹. After a relaxation time of 1 min, a logarithmic screw speed sweep was conducted in 20 steps starting from 20 to 200 min⁻¹. For the evaluation of steady-state and shear-rate dependent viscosity, at least three measurements were considered for each formulation.

2.3. Thermal analysis

The thermal stability of lignin and lignin/EVA composites was characterized using a thermogravimetric analyzer (TGA; Linseis PT1600, Germany). Samples of about 10 mg were placed in Al₂O₃ crucibles and heated in the temperature range from 40 to 900 °C at a heating rate of 10 °C min⁻¹ under argon atmosphere (40 mL min⁻¹). The onset of thermal degradation was determined by the calculation of the temperature at 5% weight loss ($T_{5\%}$). The temperatures at maximum rates of weight loss (T_{max}) were observed from the derivative weight loss curves. To follow the glass transition behavior in the samples, thermograms were measured by differential scanning calorimetry (DSC; DSC 3, Mettler-Toledo, Germany). Samples were repeatedly heated from -20 to +50 °C at a heating rate of 10 K min⁻¹ at a nitrogen flow rate of 40 mL min⁻¹. For each evaluation, three measurements were considered by taking the data obtained from the second heating step.

2.4. Mechanical investigations

2.4.1. Quasi-static

Quasi-static investigations were performed at room temperature in accordance to DIN EN ISO 527 using a universal testing machine ($F_{max} = 5$ kN; Shimadzu, Germany) with a strain rate of $\dot{\epsilon} = 6 \cdot 10^{-3}$ s⁻¹ and specimen geometry type 1 BA. Contact free measurement of the deformation was chosen using a video extensometer (TRViewX, Shimadzu, Germany) to avoid surface impairment. Bending tests were performed in accordance to DIN EN ISO 178 on samples with the same geometry and test conditions. The investigations were accompanied with microscopic observations on tensile fractured surfaces using SEM to characterize the morphology depending on the lignin content. For image analysis, at least five independent images were used.

2.4.2. Fatigue

To investigate the fatigue behavior of the lignin/EVA composites, load increase tests (LIT) were used, which exhibit the opportunity of resource-efficient estimation of the fatigue properties of various materials. This method has been successfully applied to composite structures in previous studies [28,29]. Here, LIT was applied for a general comparative evaluation of the fatigue behavior of the lignin/EVA composites as a function of the lignin content. The investigations were performed on a micro-magnetic testing system (MMT-V series, Shimadzu, Germany) with a maximum force of $F_{max} = 500$ N. Customized specimen geometry was chosen, since no valid standardized geometry was available. Based on the geometry of the tensile samples, the total length was decreased to $l_3 = 50$ mm in respect to high deformations of the material and maximum displacement range of the testing system ($\Delta s_{max} = 20$ mm), see Fig. 1a.

The samples were subjected to a tension-tension loading ($R = 0.1$) and a sinusoidal load-time function using a frequency of $f = 5$ Hz at room temperature. As schematically displayed in Fig. 1b, load was increased stepwise with $\Delta F_{max} = 10$ N after $\Delta N = 10^4$ starting at $F_{max,start} = 10$ N until failure. To characterize the materials responses to cyclic loading, dynamic stiffness C_{dyn} was taken as the relevant damage parameter based on research activities in the field of fiber-reinforced

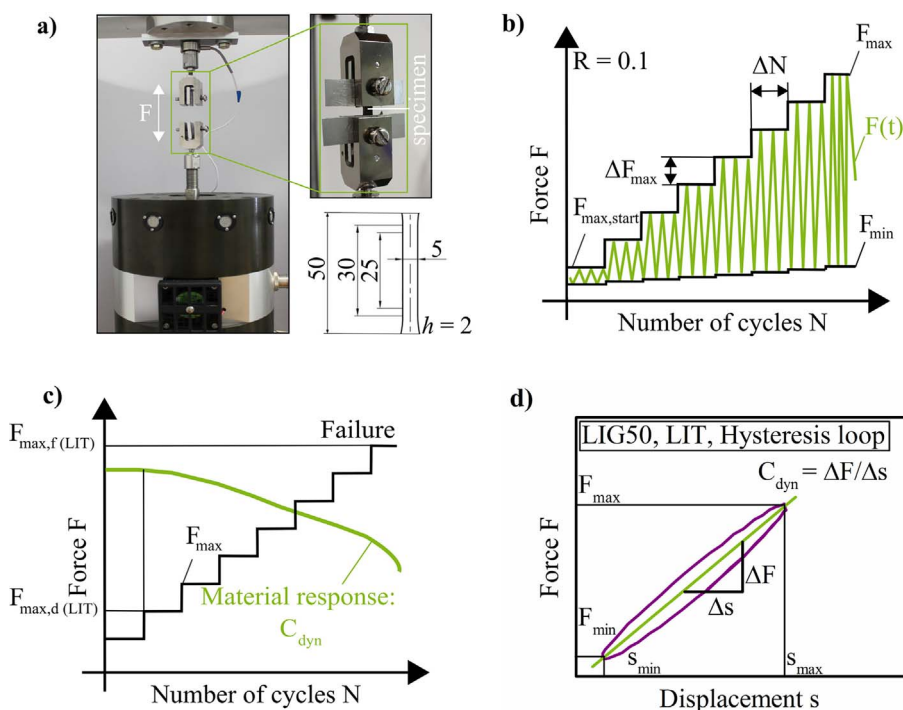


Fig. 1. (a) Test setup and specimen geometry for fatigue tests (data in mm, manufacturing tolerances according to DIN EN ISO 2768-1); (b) Scheme of load increase test (LIT); (c) Scheme of fatigue test strategy; (d) Calculation of C_{dyn} exemplary on LIG50.

composites [24,25]. For the evaluation of deformation-induced changes in microstructure, the degradation of C_{dyn} was monitored during loading, see Fig. 1c. C_{dyn} was calculated using secant modulus between $(\Delta s_{\min}, F_{\min})$ and $(\Delta s_{\max}, F_{\max})$, see Fig. 1d.

2.4.3. Hardness

The materials' hardness was measured with a shore durometer according to DIN EN ISO 868. In addition, load-displacement analysis was conducted according to DIN 14577 by instrumented ultra-micro-hardness testing (DUH 211, Shimadzu, Germany), to include elastic parts of the deformation. For the assessment and evaluation of strain hardening as a function of lignin content, indentation creep C_{it} was compared.

3. Results and discussion

3.1. Recovery and characterization of lignin derived from ensiled grass

Attempts to fabricate composites from the organosolv precipitate failed, since the composites showed very low strength (e.g. < 1 MPa at 75 wt% lignin), low stiffness ($E < 50$ MPa), weak dimensional stability, and Newtonian flow-behavior. The recovery of lignin from ensiled grass by organosolvation, precipitation and solid/liquid separation resulted in a co-precipitation of lipophilic compounds. These extractives consist of waxes, oils and fats which are frequently reported to show Newtonian flow even at very low shear rates. Dilute dispersions of hydrophobized lignin in oils were shown to be Newtonian fluids whereas the non-Newtonian behavior increased with increasing lignin concentration [30]. Therefore, prior to composite fabrication, ethyl acetate (EtOAc) was used to extract medium to low polar extractives. The removal of the lipophilic components yields a lignin material with pseudoplastic behavior. The molar mass characteristics, residual ash and sugar content as well as mean particle size of the EtOAc-insoluble lignin fraction used in this work are given in a corresponding *Data in Brief* article (Table 1). The extraction with EtOAc affected the initial lignin-rich organosolv fraction by the loss of a low-molar mass fraction (55 wt%) resulting in an increase in M_w from 1100 to 1600 g mol^{-1} and a reduction in polydispersity D from 3.7 to 3.3 (corresponding *Data in Brief* article (Fig. 1a)). A higher molar mass and a lower polydispersity

are favorable to elevate strength properties in lignin composites [31,32]. For the fabrication of composites, a high lignin purity of 96 wt% and a low sulfur content of 0.1 wt% are considered beneficial towards enhanced plasticity and reduced odor, respectively [33]. A dark brown solid powder was obtained after EtOAc-extraction and consisted of near spherical particles of a mean diameter $D_p = 9.5 \mu\text{m}$ with particles ranging from 40 μm down to the sub-micron scale (corresponding *Data in Brief* article (Fig. 2a,b)). The particles exhibited a macro-porous surface derived from clustered smaller particles in the size range between 100 nm and 1000 nm with an average D_p of 350 nm (corresponding *Data in Brief* article (Fig. 2c,d)).

The infrared spectrum obtained for the isolated *Poaceae* lignin (starting lignin) is depicted in and the band assignments based on literature are given in the corresponding *Data in Brief* article (Table 2). The lignin sample showed a broad band at 3412–3460 cm^{-1} , attributed to hydroxyl groups in phenolic and aliphatic structures. Bands corresponding to C–H stretching of methyl and methylene groups of lignin side chains and probably to aliphatic methylene groups of fatty acids were observed around 2964 cm^{-1} . A shoulder centered around 2863 cm^{-1} was ascribed to the methyl group of aromatic methoxyl groups. The spectral region below 1800 cm^{-1} showed a complex pattern with contributions from various vibration modes. Therefore, second derivative spectroscopy was employed and aided to separate overlapping peaks. The band at approximately 1649 cm^{-1} showed the highest intensity in the fingerprint region and was assigned to conjugated carbonyl/carboxyl stretching. A shoulder at around 1700 cm^{-1} was ascribed to C=O stretch in unconjugated ketone, carbonyl and in ester groups [34]. The previous observations revealed a higher proportion of conjugated than unconjugated carbonyl/carboxyl groups being present in the starting lignin. According to Boeriu et al. [35], band broadening in this region may originate from both protein impurity (carbonyl stretching of peptide bonds (amide I) at around 1640 cm^{-1}) and water (1600 cm^{-1} , 1680 cm^{-1}). As major structural constituents of the raw material, cellulose and hemicellulose which might be present in the sample are reported to be characterized by a strong carbonyl band at 1740 cm^{-1} . However, this band could not be assigned due to a strong signal broadening in this region. The bands at 1612 cm^{-1} (shoulder), 1514 cm^{-1} (strong) and 1427 cm^{-1} (shoulder)

were assigned to aromatic skeleton vibrations which are commonly found in lignin [34]. By employing peak deconvolution on infrared spectra of lignin model compounds (DHP's) and milled wood lignin (MWL), it was previously demonstrated that the characteristic band at around 1500 cm^{-1} , mainly ascribed to the vibration of the guaiacyl (G) ring, can be sub-divided into three bands centered around 1513 cm^{-1} , 1511 cm^{-1} and 1504 cm^{-1} [36]. In the case of grass lignin, a higher absorption was reported for higher wavenumbers, which is quite in accordance with the herbaceous origin of the lignin. The spectral region below 1400 cm^{-1} is indicative for the different monolignol units and thus can give a better understanding of the structural constitution. However, the fingerprint region was more difficult to analyse since most band absorptions overlap with each other. It should be pointed here that an IR band in the fingerprint region of a lignin (and of a partly contaminated technical lignin in particular) most likely has several origins. The bands at 1036 cm^{-1} (aromatic C–H in-plane deform.; C–O deform. in primary alcohols; C=O stretch (unconj.)) and 1265 cm^{-1} (C=O stretch and C–O stretch in aromatic methoxyl groups) are characteristic for the guaiacyl group, whereas the bands at 1111 cm^{-1} (guaiacyl C–H and syringyl C–H) and 1315 cm^{-1} (condensed syringyl (S) and guaiacyl (G) ring) show additional characteristics of the syringyl group. The broad absorption in the region $1205\text{--}1231\text{ cm}^{-1}$ with at least two overlapping peaks did not allow an unambiguous assignment. However, the weak band at 1231 cm^{-1} perhaps can be attributed to C–C, C–O, and C=O stretching, which are frequently encountered in lignin [34]. The band at 1371 cm^{-1} was ascribed to aliphatic C–H in methyl groups and phenolic OH. The band at 1059 cm^{-1} was related to O–H stretching vibrations of cellulose. The strong band at 1160 cm^{-1} was ascribed to carbonyl stretching in conjugated ester groups, which might involve as well p-coumaric acid, is typically encountered in HGS lignin.

The various OH-based functional groups, which define significant structural aspects, were determined by phosphorylation of lignin followed by quantitative ^{31}P NMR spectroscopy. The signals were assigned by using well established databases of chemical shifts corresponding to aliphatic (aliph.–OH) and phenolic (phen.–OH) hydroxyl groups. The latter are typically subdivided into guaiacyl (G–OH), syringyl (S–OH), *p*-hydroxyphenyl (H–OH), carboxylic acid (COOH), and C_5 substituted phenolic units of guaiacyl (β -5, 4-O-5', 5-5') [37,38]. The lignin obtained from *Poaceae* grass had the following order of hydroxyl contents aliph.–OH (1.49 mmol g^{-1}) > phen.–OH (0.82 mmol g^{-1}) > COOH (0.31 mmol g^{-1}). This is well in agreement with previous reports [39]. However, the number of aliphatic hydroxyl units was significantly lower than reported values for milled wood lignin from other herbaceous plants ($3.49\text{--}5.54\text{ mmol g}^{-1}$) [39]. The observed differences might likely be explained by the chemical transformations during ethanol organosolv pretreatment, which typically lead to an increase in phenolic OH and a decrease in aliphatic OH [40]. G–OH and H–OH appeared to be the major phenolic hydroxyls with a minor amount of S–OH, which is consistent with other reports on free phenolic hydroxyls in lignin obtained from grass and straw [40,41].

3.2. Processing and rheology of lignin/EVA composites

Organosolv lignin derived from grass silage mixed with EVA was successfully processed at $170\text{ }^\circ\text{C}$ up to a lignin volume fraction ϕ_L of 0.71, corresponding to a lignin mass content of 75 m% (LIG75). While a drastic increase in viscosity might be expected as a consequence of an increase in lignin content, this was not the case up to LIG50, with only a small increase in viscosity of about 32% (see Fig. 2a). A possible explanation is related to the higher local shear rate in the direct vicinity of a particle being higher than the overall shear rate. This effect affects the increase in viscosity to some extent [42]. However, at LIG62.5, a strong increase in viscosity was observed from $24,000\text{ Pa s}$ (LIG50) to $47,000\text{ Pa s}$ (LIG62.5). Interestingly, at high lignin loading (LIG75), the measured viscosity of $12,600\text{ Pa s}$ represented the lowest value of all the

investigated samples. These observations are related to a change of the lignin phase morphology at highly loaded composites (see chapter 3.4). At very high volume fractions, lignin probably showed self-plastification to form the matrix. Therefore, in this study, the shear flow properties of lignin/EVA composites at $170\text{ }^\circ\text{C}$ were investigated in the power law region at shear rates between 1 and 50 s^{-1} to give shear viscosities as functions of shear rates (see Fig. 2b). Generally speaking, as can be seen from the slope of the $\log(\eta)$ versus $\log(\dot{\gamma})$ curve, EVA and lignin/EVA composites obeyed shear thinning behavior in the measured region. A non-Newtonian flow behavior was previously reported for hardwood and softwood lignin at elevated temperatures ($225\text{ }^\circ\text{C}$) [43]. As can be seen, shear viscosity increased continuously with increasing lignin concentration from LIG0 to LIG50, due to the increase in filler content. However, the shear thinning of LIG62.5 was more pronounced than in LIG50 and LIG75, while at the same time it showed the highest viscosity in the low shear rate domain. This confirmed the influence of shear-induced lignin plastification around ϕ_L of 0.59 (LIG62.5).

3.3. Thermal analysis

As shown in Fig. 3a and Table 1, in comparison to the pure lignin (LIG100) with an initial decomposition temperature (IDT) of $249\text{ }^\circ\text{C}$, the lignin/EVA composites showed higher thermal stabilities (IDT $284\text{ }^\circ\text{C}$ and IDT $307\text{ }^\circ\text{C}$ for LIG75 and LIG25, respectively). Furthermore, according to the DSC heat flow curves of the lignin/EVA composites (Fig. 3b), EVA (LIG0) showed a two-step glass transition T_g extending over a broad temperature range between 0 and $30\text{ }^\circ\text{C}$ with a transition temperature of $4\text{ }^\circ\text{C}$, whereas in lignin no structural relaxation was observed. The T_g of organosolv lignin of various origin was previously reported to occur between around 90 and $100\text{ }^\circ\text{C}$ [44]. The increase in lignin content in the composites led to a shift in the onset of T_g towards slightly lower temperatures. This shift in T_g was attributed to interactions on the molecular level between lignin and EVA by the formation of hydrogen bonds which are stronger than the bonds in pure lignin, as was previously reported for Kraft lignin/poly(ethylene oxide) blends [9]. However, an immiscible blend system was deduced, since the shift of the glass transitions with increasing lignin content was low. Moreover, LIG62.5 and LIG75 showed superimposed relaxation endotherms which broadened the trailing edge of the glass transition, especially for LIG62.5. This kind of molecular relaxation is typically encountered if an amorphous polymer is heated over its glass transition during the first heating cycle of a DSC measurement, known as thermal aging. This suggests a closely packed system being present at LIG62.5 where nano-sized lignin particles are constraining the amorphous EVA phase and therefore the conformational motions during physical aging.

3.4. Morphological analysis

As can be seen in the SEM micrographs of surfaces of fractured samples in Fig. 4, all samples showed phase separated morphologies, which supported their phase immiscibility observed by DSC. From LIG0 to LIG75, the fracture pattern changed from ductile to brittle fracture (see Fig. 4a–d). Two distinct failure modes were observed, depending on the lignin content. In EVA-dominated composites (LIG25 and LIG50), the initiation of crack formation occurred along the boundaries of dispersed lignin particles, characterized by intergranular crack propagation as confirmed from cavity formations and debonding of particles, Fig. 4a,b,e,f. A possible explanation is that the presence of the ductile EVA is associated with the capability of experiencing plastic deformation and energy absorption ahead of crack, imparting toughness to the composite [45]. This resistance to crack propagation is governed by local plasticity. In LIG25 and LIG50 no creation of internal surface, i.e. change of volume was observed which reflects the energy absorption during tensile deformation, Fig. 4e,f. To evaluate the change in lignin particle size, quantitative image analysis was conducted. For LIG25, the initial size of the lignin particles was drastically reduced

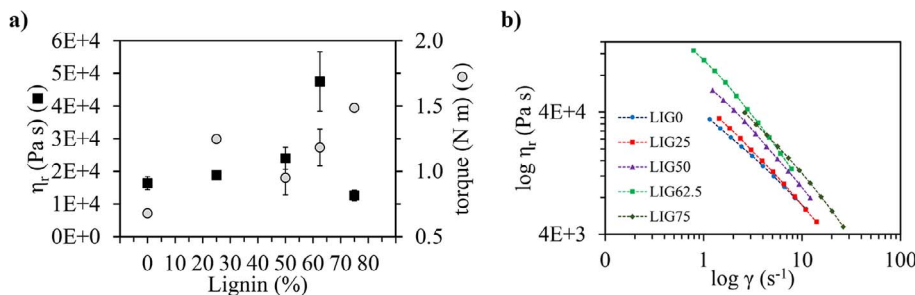


Fig. 2. Shear flow properties of lignin/EVA composites – steady shear viscosities at 170 °C of lignin/EVA composites with lignin contents of 0 wt% (LIG0), 25 wt% (LIG25), 50 wt% (LIG50), 62.5 wt% (LIG62.5) and 75 wt% (LIG75) (b) shear viscosities as functions of shear rates at 170 °C investigated in the power law region at shear rates between ~1 to ~50 s⁻¹.

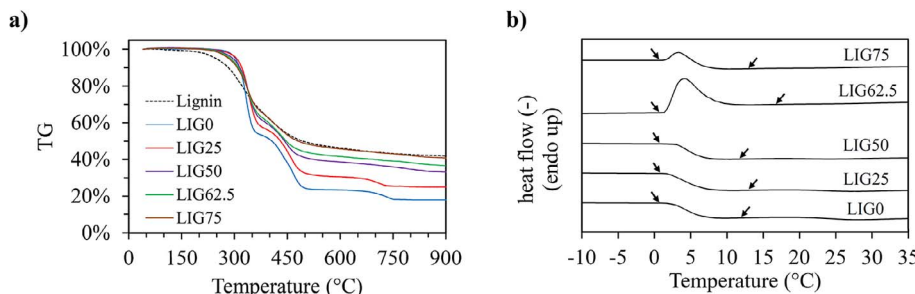


Fig. 3. Thermal analysis – (a) thermal stability of lignin and EVM and EVM/lignin composites with contents of 0 wt%, 25 wt% (LIG25), 50 wt% (LIG50), 62.5 wt% (LIG62.5) and 75 wt% (LIG75). (b) corresponding DSC curves between -15 °C and +35 °C.

Table 1
Thermal analysis – (a) thermal stability of lignin and EVA and EVA/lignin composites with contents of 0 wt%, 25 wt% (LIG25), 50 wt% (LIG50), 62.5 wt% (LIG62.5) and 75 wt% (LIG75). (b) corresponding DSC curves between -15 °C and +35 °C.

Sample	TGA/DTG				DSC		
	IDT ^a (°C)	TMDR ^b (°C)	D _{1/2} ^c (°C)	FR ^d (%)	T _g on (°C)	T _g transition (°C)	T _g on-off (°C)
LIG0	304	333	407	18	0.5	4.2	12.1
LIG25	307	343	431	25	0.7	4.5	13.1
LIG50	297	339	443	33	0.7	4.1	11.9
LIG62.5	290	338	447	37	0.5	5.8	16.8
LIG75	284	337	447	41	0.5	4.8	12.8
Lignin	249	324	494	42	n.o.	n.o.	n.o.

n.o.: not observed.

^a IDT: Initial decomposition temperature.

^b TMDR: Temperature at maximum decomposition rate.

^c D_{1/2}: temperature at 50 wt% weight loss.

^d FR: Final residue.

during compounding to equivalent spherical diameters in the range from 30 nm to 1.3 μm (mean 80 nm) as opposed to the starting material determined to be 0.9 to 40 μm (mean 8 μm). This reduction in size was associated with the change in particle shape and particle surface texture, from near-spherical particle agglomerates (length/width ratio l/w = 1.1) with rough surfaces to ellipsoidal smooth particles (l/w = 2.9) (see Fig. 4e). In LIG50, the particle size of lignin was found to be further reduced to d₅₀ of 50 nm and particles became slightly less elongated (l/w = 2.5). This particle tearing is regulated by the interplay between two competing forces and the break-up occurs, when the shear forces that deform the dispersed lignin particles (η_m·γ) exceeds the interfacial force which tend to resist the particle deformation (F_{1/2}/D_n) [26].

Composites with higher lignin contents (LIG62.5 and LIG75) showed faceted textures. As expected, the average interparticle distance decreased steadily from LIG25 (φ_L = 0.24) to LIG62.5 (φ_L = 0.59). The latter volume fraction was close to the theoretical maximum volume fraction in a randomly close-packed dispersion of spherical particles, which is calculated to be 2/π = 0.6366. At the same time, the average distance decreased from 113 nm (calc. 75 nm) (LIG25) to 16 nm (LIG50), and finally reached particle contact < 5 nm (LIG62.5). Around LIG62.5, surface effects between particles became

very important which is the reason for the sharp increase in viscosity at this point.

The fractured surface of LIG62.5 appeared rougher compared to LIG50 and LIG75, indicating poor interfacial bonding between lignin and EVA, which is the origin of weakness and poor stress transfer at the interfaces in the composites [39].

3.5. Molecular weight characteristics of processed lignin

The lignin samples obtained from extracting the bioplastic composites (LIG25, LIG50, LIG62.5, and LIG75) with DMSO were then subjected to molecular weight characterization using GPC. For LIG25, a twofold increase of M_w, exceeding 3400 g mol⁻¹ in comparison to the starting lignin (1600 g mol⁻¹) was associated with an increase in D from 3.3 to 4.1. We assume, that the lignin became eventually cross-linked during thermoplastic processing which was previously observed for Kraft lignin during thermal treatment as a consequence of radical activation [44,46]. At LIG50, the change in M_w and D was insignificant. However, at LIG62.5 the highest M_w of 3800 g mol⁻¹ and the lowest D of 3.3 was observed. This might be ascribed to the molecular confinement and thus proximity of lignin molecules which was already mentioned above (see results from DSC). While D did not change significantly between LIG62.5 and LIG75, M_w was observed to be slightly lower (3600 g mol⁻¹) at LIG75.

3.6. Quasi-static analysis

Nominal stress (σ_n) – total strain (ε_t) curves of the lignin/EVA composites are shown in Fig. 5a and the obtained mechanical values are given in Table 2. Interestingly, as previously observed for the viscosity, LIG62.5 marked again a transitional point with the lowest tensile strength of σ_{m,62.5} = 8.2 MPa. During tensile deformation, a decrease in cross-sectional area (known as necking) was clearly observed up to LIG62.5, while no necking was observed at LIG75. Up to LIG62.5, both elongation at break and tensile strength decreased and the tensile strength increased by about 30% from LIG62.5 to LIG75. Concerning the deformation behavior, the increase in lignin volume fraction φ_L led to pronounced stiffening and strain hardening of the material, which is in agreement with previous studies [e.g. 4,41]. LIG75 showed a brittle deformation behavior with lower fracture strains of ε_{f,0} = 5% and higher modulus, as expected for lignin-dominated composites. LIG50

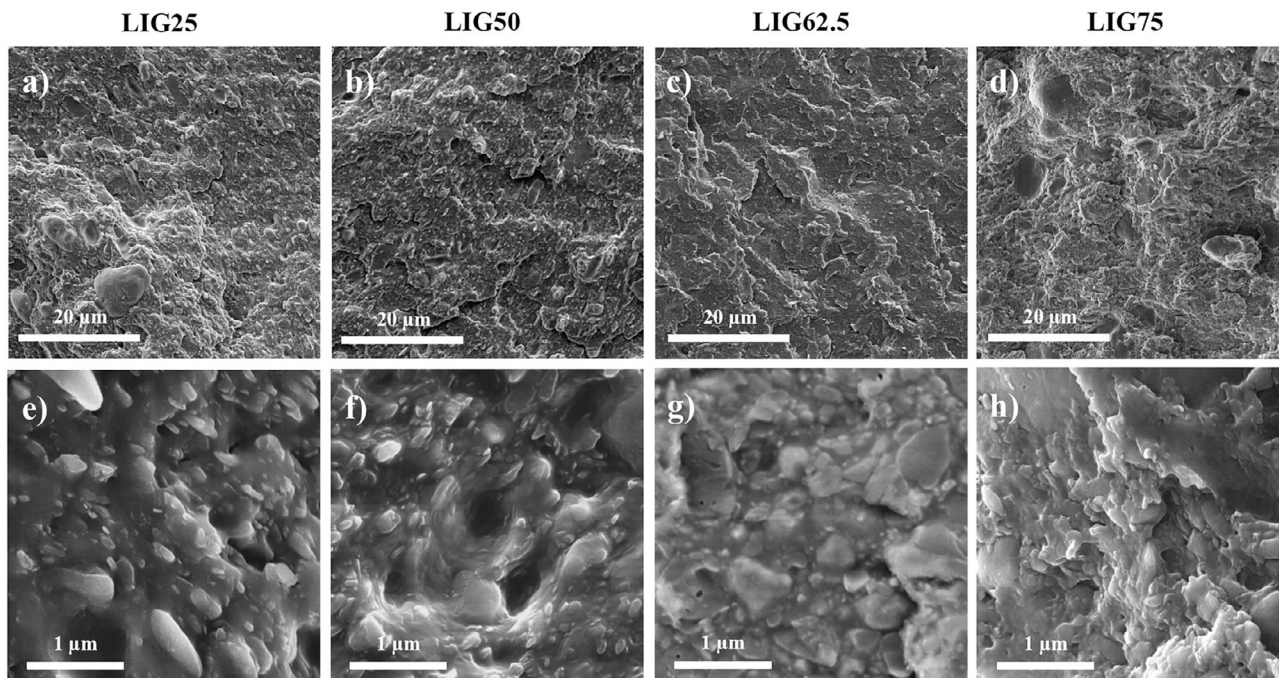


Fig. 4. Fractographic studies – SEM images of fracture surfaces of composites with lignin contents of 25 wt% (LIG25), 50 wt% (LIG50), 62.5 wt% (LIG62.5) and 75 wt% (LIG75) at low magnification (a–d) and high magnification (e–h).

showed a pronounced elastic behavior up to a stress level of $\sigma_n = 5$ MPa, then plastic deformation occurred. However, a pronounced yield point at $\sigma_n = 8.4$ MPa appeared only for LIG62.5, which well underlines the plastic and elastic contribution around this value. Obviously, particle-particle interaction at $\phi_L = 0.59$ (LIG62.5) resulted in higher forces needed to induce plastic deformation and therefore resulted in a yield strength ($\sigma_{y,62.5} = 8.4$ MPa). The stiffness and hardness of a polymer matrix can be readily improved by adding rigid nano- or microparticles and it is noticeable, that the best stress-strain relation was produced in this study with lignin contents of $\phi_L = 0.47$ – 0.59 . The results from quasi-static and morphological analysis lead to the assumption that higher particle-particle interactions led to decreasing strength and increasing stiffness of the composites. With the changing dominating phase in the composite system from EVA to lignin, a strain hardening of the polymer structure took place. This knowledge about the relations between lignin content of the lignin/EVA composites and resulting mechanical properties and deformation behavior enables a tuning of the material properties. However, although LIG0 and LIG75 showed the highest strength values, their fracture strains, either very high or very low, will restrict technical applications.

The bending stress (σ_b) – deflection (Δs) curves of the composites are shown in Fig. 5b. LIG75 reached maximum bending strengths of $\sigma_{b,75} = 0.71$ MPa with a deflection at failure of $\Delta s_f = 8.30$ mm, while EVA (LIG0) only reached $\sigma_{b,0} = 0.02$ MPa with no observed failure. Like in tensile tests, stiffness of lignin/EVA composites increased along

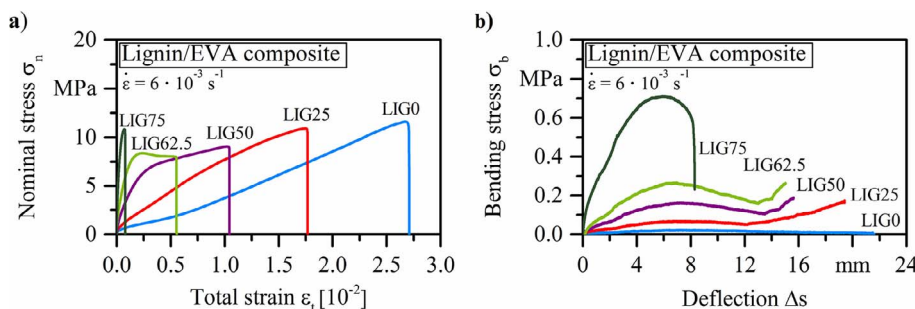


Fig. 5. Quasi-static investigation of lignin/EVA composites with lignin contents of 0 wt% (LIG0), 25 wt% (LIG25), 50 wt% (LIG50), 62.5 wt% (LIG62.5) and 75 wt% (LIG75) (a) Stress-strain curves from tensile tests; (b) Stress-deflection curves from bending tests.

Table 2

Summary of results from quasi-static investigation – tensile elastic modulus of EVA/lignin composites with lignin contents of 25 wt% (LIG25), 50 wt% (LIG50), 62.5 wt% (LIG62.5) and 75 wt% (LIG75).

Sample	Tensile strength σ_m (MPa)	Total strain ϵ_t (%)	Young's modulus E (MPa)	Bending strength σ_{max} (MPa)	Total deflection Δs (mm)	Bending stiffness C_b (N/mm)
LIG0	11.4 (0.13)	265.0 (6.00)	6.1 (0.40)	0.03 (0.01)	21.10 (0.43)	0.16 (0.07)
LIG25	11.1 (0.22)	175.0 (3.00)	9.8 (0.10)	0.07 (0.01)	19.46 (0.07)	0.36 (0.03)
LIG50	9.3 (0.30)	92.0 (4.00)	31.8 (2.20)	0.15 (0.01)	15.49 (0.13)	0.64 (0.14)
LIG62.5	8.2 (0.15)	52.0 (4.00)	83.7 (12.00)	0.27 (0.02)	15.02 (0.01)	1.86 (0.14)
LIG75	10.6 (0.16)	9.0 (0.01)	144.2 (27.10)	0.71 (-)	8.30 (-)	5.50 (0.50)

with ϕ_L . However, LIG0 showed the lowest strength values under bending load, whereas tensile strength was comparable to LIG75 (Table 2). This could be caused by different interactions of the lignin and EVA phases upon different stress states. Based on the results of the quasi-static investigations, it can be noted that lignin-based composites with ϕ_L in the range of 47 to 59% show a material behavior (in respect of elongation at yield point, strength and stiffness) comparable to a

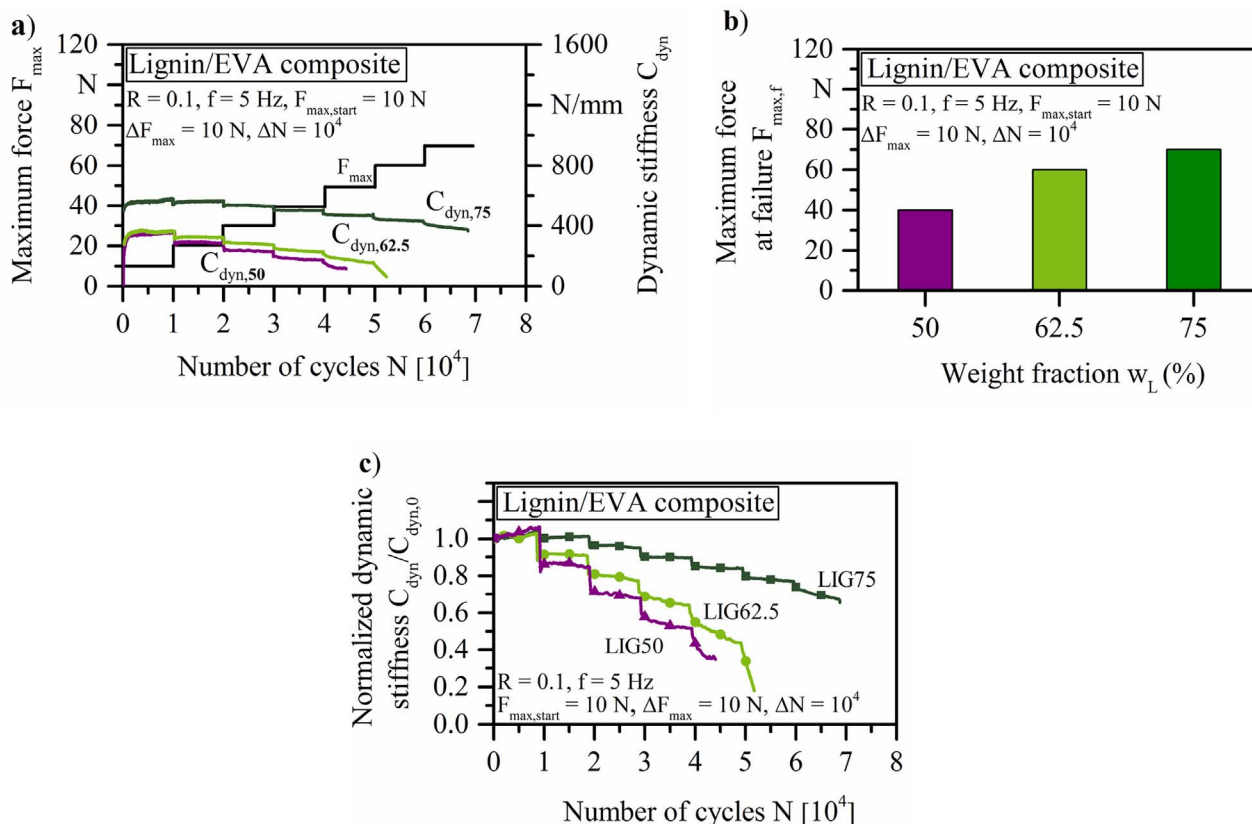


Fig. 6. Fatigue characterization of lignin/EVA composites with lignin contents of 50 wt% (LIG50), 62.5 wt% (LIG62.5), and 75 wt% (LIG75): (a) Load increase tests (LIT); (b) Maximum force at failure F_{max} (c) Normalized dynamic stiffness $C_{dyn}/C_{dyn,0}$.

linear low-density polyethylene LDPE suitable for various technical applications.

3.7. Fatigue and hardness

Fig. 6 shows the results of LIT for LIG50, LIG62.5 and LIG75 at room temperature to investigate the behavior of the composites under dynamic mechanical load. LIG75 showed the highest maximum force at failure with $F_{max,f,75} = 70$ N, Fig. 6a. Composites with lower lignin content (LIG62.5 and LIG50) attained 15–30% lower values, corresponding to $F_{max,f,62.5} = 60$ N, and $F_{max,f,50} = 50$ N, respectively (see Fig. 6b). Pronounced stiffness degradation was observed by the normalized dynamic stiffness $C_{dyn}/C_{dyn,0}$ for LIG62.5 and LIG50 in comparison to LIG75, as shown in Fig. 6c. These results can be explained by the increase in lignin loading and the change from an EVA dominated to a lignin dominated composite which led to a higher stiffness, which was already observed in the quasi-static investigations, and additionally to a higher fatigue strength. LIG75 showed a decrease of C_{dyn} of 35% until failure, while for LIG62.5 and LIG50 higher values in the range of 65–85% were monitored. All composites showed a pronounced decrease of C_{dyn} right from test start, caused by a direct damage inducement and plastic deformation.

Concerning the hardness measurements, the assumptions from the quasi-static and fatigue investigations could be verified. LIG75 showed the highest Shore A hardness as well as Martens hardness (Table 3). On the other hand, indentation creep C_{it} as a measure for the elastic behavior decreased from LIG50 to LIG75 of about 40% ($C_{it,50} = 5.9\%$; $C_{it,75} = 10.4\%$).

4. Conclusion

Lignin/polyethylene-co-vinyl acetate (EVA) composites were

Table 3

Maximum indentation force $F_{max,it}$, maximum indentation depth $h_{max,it}$ at $F_{max,it}$, indentation creep C_{it} , indentation hardness H_{it} , Martens hardness HM and Shore hardness of LIG50, LIG62.5 and LIG75.

Sample	Max. test force F_{max} (mN)	Max. indent. force h_{max} (μ m)	Indentation creep C_{it} (%)	Indentation hardness H_{it} (MPa)	Martens hardness (MPa)	Hardness Shore A (-)
LIG50	15.1 (1.26)	8.9 (0.06)	10.4 (0.85)	5.6 (0.56)	6.2 (0.60)	94.0 (1.00)
LIG62.5	19.7 (0.02)	6.5 (0.39)	7.5 (0.57)	13.5 (1.33)	15.4 (1.87)	96.5 (0.50)
LIG75	19.7 (0.03)	4.1 (0.12)	5.9 (0.56)	45.6 (3.1)	38.5 (2.41)	98.0 (-)

successfully fabricated in a micro-compounder up to a lignin volume fraction ϕ_L of 0.71. A remarkable brittle-ductile transition was found around a lignin content of 62.5 wt%, corresponding to a volume fraction ϕ_L of 0.59, associated with a near twofold increase in steady-shear viscosity investigated by on-line silt rheology. Towards higher volume fractions, lignin no longer behaved as a mere filler, but instead showed shear-induced self-plasticization. Microstructural observations on fractured surfaces using SEM showed that at $\phi_L = 0.59$, a strong reduction in lignin phase distance was associated with a change from intergranular to transgranular failure. This coincided with a pronounced relaxation endotherm superimposed on the glass transition (T_g) for composites with close-packed lignin particles, which was ascribed to molecular confinement of the EVA matrix due to internal stresses. Stiffness degradation in reaction to a mechanical load was interpreted as a damage evolution based on research activities in the field of fiber-reinforced composites. It was shown, that a transitional point was clearly visible in the LIT, with an increase in C_{dyn} from $\phi_L = 0.59$ to

$\phi_L = 0.71$ of about 36% and less decreasing of C_{dyn} during cyclic loading. Ultra-microhardness investigations revealed also less indentation creep C_{it} with increasing lignin content. Results from thermogravimetric analysis (TGA) showed that the thermal stability of lignin was shown to be increased by up to about 55 °C as a function of EVA content. The results demonstrated that the role of lignin in composite formulations is strongly influenced by phase interaction, which govern several important material characteristics such as fatigue and viscosity. Finally, the results of this study can enhance the attractiveness of lignin obtained from various feedstocks for industrial/widespread application.

Acknowledgements

The funding of the project “Farm-based biorefinery for local supply of diesel fuel” by the Bavarian State Ministry of Education, Science and the Arts is gratefully acknowledged. We want to thank Marco Rasel and Julius Berges for supporting the laboratory work.

References

- [1] United Nations Environment Programme. Biodegradable Plastics and Marine Litter. Misconceptions, concerns and impacts on marine environments 2015:38.
- [2] Fengel D, Wegener G. Wood-chemistry, ultrastructure, reactions. Berlin and New York: Walter de Gruyter; 1984.
- [3] Stewart D. Lignin as a base material for materials applications: chemistry, application and economics. *Ind Crops Prod* 2008;27:202–7.
- [4] Thakur VK, Thakur MK, Raghavan P, Kessler MR. Progress in green polymer composites from lignin for multifunctional applications: a review. *ACS Sustain Chem Eng* 2014;2:1072–92.
- [5] Ragauskas AJ, Beckham GT, Biddy MJ, Chandra R, Chen F, Davis MF, et al. Lignin valorization: improving lignin processing in the biorefinery. *Science* 2014;344:1246843.
- [6] Lora JH, Glasser WG. Recent industrial applications of lignin: a sustainable alternative to nonrenewable materials. *J Polym Environ* 2002;10:39–48.
- [7] Doherty W, Mousavioun P, Fellows CM. Value-adding to cellulosic ethanol. *Lignin polymers. Ind Crops Prod* 2011;33:259–76.
- [8] Schwarz D, Dörrstein J, Kugler S, Schieder D, Zollfrank C, Sieber V. Integrated biorefinery concept for grass silage using a combination of adapted pulping methods for advanced saccharification and extraction of lignin. *Bioresour Technol* 2016;216:462–70.
- [9] Kubo S, Kadla JF. The formation of strong intermolecular interactions in immiscible blends of poly (vinyl alcohol) (PVA) and lignin. *Biomacromolecules* 2003;4:561–7.
- [10] Kubo S, Kadla J. Kraft Lignin/Poly(ethylene oxide) blends: effect of lignin structure on miscibility and hydrogen bonding. *J Appl Polym Sci* 2005;98:1437–44.
- [11] Feldman D, Banu D, Lacasse M, Wang J, Luchian C. Lignin and its polyblends. *J Macromol Sci Part A Pure Appl Chem* 1995:37–41.
- [12] Kubo S, Kadla JF. Poly (Ethylene Oxide)/Organosolv lignin blends: relationship between thermal properties, chemical structure, and blend behavior. *Macromolecules* 2004;37:6904–11.
- [13] Kubo S, Kadla JF. Poly(Ethylene Oxide)/Organosolv lignin blends: relationship between thermal properties, chemical structure, and blend behavior. *Macromolecules* 2004;37:6904–11.
- [14] Tran CD, Chen J, Keum JK, Naskar AK. A new class of renewable thermoplastics with extraordinary performance from nanostructured lignin-elastomers. *Adv Funct Mater* 2016;26:2677–85.
- [15] Ziegler L, Regina E, Eckl W, Eisenreich N. Lignin Matrix Composites from Natural Resources – Arboform. *Bio-Based Plast. Mater. Appl.*, 2014, p. 89–115.
- [16] Richter AP, Brown JS, Bharti B, Wang A, Gangwal S, Houck K, et al. An environmentally benign antimicrobial nanoparticle based on a silver-infused lignin core. *Nat Nanotechnol* 2015;10:817–23.
- [17] Pucciariello R, Villani V, Bonini C, D’Auria M, Vetere T. Physical properties of straw lignin-based polymer blends. *Polymer (Guildf)* 2004;45:4159–69.
- [18] Ma P, Xu P, Zhai Y, Dong W, Zhang Y, Chen M. Biobased Poly(lactide)/ethylene-co-vinyl acetate thermoplastic vulcanizates: morphology evolution, superior properties, and partial degradability. *ACS Sustain Chem Eng* 2015;3:2211–9.
- [19] Samal SK, Fernandes EG, Corti A, Chiellini E. Bio-based polyethylene-lignin composites containing a pro-oxidant/pro-degradant additive: preparation and characterization. *J Polym Environ* 2014;22:58–68.
- [20] Hu L, Stevanovic T, Rodrigue D. Compatibilization of kraft lignin-polyethylene composites using unreactive compatibilizers. *J Appl Polym Sci* 2014;131:1–9.
- [21] Alexy P, Kosikova B, Crkonova G, Gregorova A, Martis P. Modification of lignin-polyethylene blends with high lignin content using ethylene-vinylacetate copolymer as modifier. *J Appl Polym Sci* 2004;94:1855–60.
- [22] Luo F, Ning N, Chen L, Su R, Cao J, Zhang Q. Effect of compatibilizers on the mechanical properties of low density polyethylene/lignin blends. *Chinese J Polym Sci* 2009;27:833–42.
- [23] Glasser WG, Knudsen JS, Chang C-S. Multiphase materials with lignin. III. Polyblends with ethylene-vinyl acetate copolymers. *J Wood Chem Technol* 1988;8:221–34.
- [24] Brunbauer J, Pinter G. Stiffness and strength based models for the fatigue-life prediction of continuously fiber reinforced composites. *Mater Sci Forum* 2015;825:960–7.
- [25] Wharmby AW, Ellyin F, Wolodko JD. Observations on damage development in fibre reinforced polymer laminates under cyclic loading. *Int J Fatigue* 2003;25:437–46.
- [26] Yousfi M, Alix SA, Lebeau M, Soulestin J, Lacrampe M-F, Krawczak P. Evaluation of rheological properties of non-Newtonian fluids in micro rheology compounder: experimental procedures for reliable polymer melt viscosity measurement. *Polym Test* 2014;40:207–17.
- [27] Son Y. Determination of shear viscosity and shear rate from pressure drop and flow rate relationship in a rectangular channel. *Polymer (Guildf)* 2007;48:632–7.
- [28] Huelsbusch D, Jamroz M, Frieling G, Mueller Y, Barandun GA, Niedermeier M, et al. Comparative characterization of quasi-static and cyclic deformation behavior of glass fiber-reinforced polyurethane (GFR-PU) and epoxy (GFR-EP). *Mater Test* 2017;59:109–17.
- [29] Klein M, Huelsbusch D, Siddique S, Walther F. Assessment of influence of corrosive environment on fatigue performance of intrinsic CFRP/Steel hybrids. *Mater Today Proc* 2016;3:2861–8.
- [30] Savitskaya T, Reznikov I, Grinshpan D. Rheological behavior of lignin based dispersions intended for composite fuel production abstract. *Appl Rheol* 2016;26:1–3.
- [31] Vanderlaan MN, Thring RW. Polyurethanes from Alcell lignin fractions obtained by sequential solvent extraction. *Biomass Bioenergy* 1998;14:525–31.
- [32] Saito T, Brown RH, Hunt MA, Pickel DL, Pickel JM, Messman JM, et al. Turning renewable resources into value-added polymer: development of lignin-based thermoplastic. *Green Chem* 2012;14:3295–303.
- [33] Mousavioun P, Doherty WOS, George G. Thermal stability and miscibility of poly (hydroxybutyrate) and soda lignin blends. *Ind Crop Prod* 2010:6–11.
- [34] Faix O. Classification of lignins from different botanical origins by FT-IR spectroscopy. *Holzforschung* 1991;45:21–8.
- [35] Boeriu CG, Bravo D, Gosselink RJA, Van Dam JEG. Characterisation of structure-dependent functional properties of lignin with infrared spectroscopy. *Ind Crops Prod* 2004;20:205–18.
- [36] Faix O, Beinhoff O. FTIR spectra of milled wood lignins and lignin polymer models (DHP’s) with enhanced resolution obtained by deconvolution. *J Wood Chem Technol* 1988;8:502–22.
- [37] Granata A, Argyropoulos DS. 2-Chloro-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaphospholane, a reagent for the accurate determination of the uncondensed and condensed phenolic moieties in lignins. *J Agric Food Chem* 1995;43:1538–44.
- [38] Argyropoulos DS. Quantitative phosphorus-31 NMR analysis of lignins, a new tool for the lignin chemist. *J Wood Chem Technol* 1994;14:45–63.
- [39] Pu Y, Cao S, Ragauskas AJ. Application of quantitative 31P NMR in biomass lignin and biofuel precursors characterization. *Energy Environ Sci* 2011;4:3154.
- [40] El Hage R, Brosse N, Sannigrahi P, Ragauskas A. Effects of process severity on the chemical structure of Miscanthus ethanol organosolv lignin. *Polym Degrad Stab* 2010;95:997–1003.
- [41] Crestini C, Argyropoulos DS. Structural analysis of wheat straw lignin by quantitative 31P and 2D NMR spectroscopy. The occurrence of ester bonds and α -O-4 substructures. *J Agric Food Chem* 1997;45:1212–9.
- [42] Barnes HA. A review of the rheology of filled viscoelastic systems. *Rheol Rev* 2003;2003:1–36.
- [43] Awal A, Sain M. Spectroscopic studies and evaluation of thermorheological properties of softwood and hardwood lignin. *J Appl Polym Sci* 2011;122:956–63.
- [44] Argyropoulos DS, Sen S, Patil S. Thermal properties of lignin in copolymers, blends, and composites; a review. *Green Chem* 2015;17:4862–87.
- [45] Deblieck RAC, Van Beek DJM, Remerie K, Ward IM. Failure mechanisms in polyolefines: the role of crazing, shear yielding and the entanglement network. *Polymer (Guildf)* 2011;52:2979–90.
- [46] Kim J, Hwang H, Oh S, Kin Y, Kim U, Choi J. Investigation of structural modification and thermal characteristics of lignin after heat treatment. *Int J Biol Macromol* 2014;66:57–65.



Tuneable material properties of Organosolv lignin biocomposites in response to heat and shear forces

Jörg Dörrstein^a, Dominik Schwarz^b, Ronja Scholz^c, Frank Walther^c, Cordt Zollfrank^{a, *}

^a Chair for Biogenic Polymers, TUM Campus Straubing for Biotechnology and Sustainability, Technische Universität München (TUM), Schulgasse 16, 94315 Straubing, Germany

^b Chair of Chemistry of Biogenic Resources, TUM Campus Straubing for Biotechnology and Sustainability, Technical University of Munich (TUM), Schulgasse 16, 94315 Straubing, Germany

^c Department of Materials Test Engineering (WPT), TU Dortmund University, Baroper Str. 303, 44227 Dortmund, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:

Lignin
Biocomposites
Thermal stability
Heat treatment
Biomaterials

ABSTRACT

Lignin as a renewable biomacromolecule is considered as a sustainable feedstock for the generation of bioplastics and bioplastic composites. However, during thermoplastic processing, high temperature and mechanical forces are known to promote destructive bond-cleavage in a vast majority of macromolecules due to overheating and internal friction between molecular constituents. This study demonstrates that several material properties (e.g. thermal stability, mechanical properties) of biocomposites with a high Organosolv lignin content (≥ 50 w%) can be tuned by carefully selecting thermal and mechanical energy input during compounding. Organosolv lignin obtained from ensiled grass was shown to undergo *in-situ* coupling reactions at temperatures below the main degradation point (< 200 °C) resulting in an up to 6-fold increase in molecular weight (M_w). The results from Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy suggested the formation of ester bonds, which was ascribed to direct esterification reactions, which occur due to energy transfer in the melt phase. When subjecting the extracted lignin to prolonged compounding times, it was shown that higher coupling degrees resulted in a lignin biocomposite with increased stiffness and ultimate tensile stress of about 1800% and 40%, respectively. Temperature was shown to have the highest effect on coupling reactions, whereas the energy transfer by mechanical forces during compounding was lower and followed a non-linear behaviour. In tensile stress–strain curves, biocomposites with high energy input revealed a distinct yield point (16 MPa). Ultra-micro-hardness tests confirmed that the biocomposite became significantly stiffer in response to shear and thermal forces with a reduction in indentation creep C_{it} of 2.0% to a value of up to 8.5%. Organosolv lignin biocomposites obtained at higher specific energy input (EIN) through thermal energy input and shear forces showed an increased dynamic stiffness C_{dyn} up to 100%, which was observed by multiple step tests (MST).

1. Introduction

Biomacromolecules have attracted great attention as renewable alternatives to conventional fossil-based polymers due to their beneficial properties in view of renewability, biodegradability, low carbon-footprint, non-toxicity, availability at low-cost [1]. Moreover, non-derivatized biogenic macromolecules from technical processes, such as Organosolv lignin, are promising candidates as sustainable alternatives to fossil-based and therefore finite feedstocks for thermoplastic materials [2]. Lignin is among the main constituents of annual plants and the overall amount of annual production (estimated about 50 million tons)

is expected to increase with the advent of multi-feedstock biorefineries for both the provision of energy and the production of chemicals [1]. In this context graminaceous plants with a lignin content of 9–18% are worthwhile to be taken into account, as the valorisation of by-products such as lignin can enhance the viability of integrated biorefineries [1].

Lignin is a complex polymer consisting of the phenylpropanoid units guaiacyl (G), syringyl (S), and *p*-hydroxyphenyl (H) derived from the monolignol units coniferyl alcohol, sinapyl alcohol, and *p*-coumaryl alcohol, respectively [1]. The heterogenous structure of technical (recovered) lignin largely depends on both the plant species used as raw mate-

* Corresponding author.

E-mail addresses: joerg.doerrstein@tum.de (J. Dörrstein), dominik.schwarz@tum.de (D. Schwarz), ronja.scholz@tu-dortmund.de (R. Scholz), frank.walther@tu-dortmund.de (F. Walther), cordt.zollfrank@tum.de (C. Zollfrank).

<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2021.110359>

Received 15 December 2020; Received in revised form 11 February 2021; Accepted 12 February 2021

0014-3057/© 2021

rials and the method employed for recovery [3,4]. In many annual plants such as graminaceous plants, the amount of hydroxycinnamic acids, such as ferulic acid and *p*-coumaric acid, is comparatively high (5–15% as opposed to e.g. < 1% in angiosperms). This specific characteristic makes the plant material highly loaded in carboxylic acids next to phenolic and aliphatic hydroxyl groups [5,6]. Lignin biosynthesis in the plant cell wall is initiated by oxidative radical–radical coupling of the monolignols of which *p*-coumaryl alcohols were computed to be the most favourable for (cross-)coupling reactions [6,7]. While the G and S units are predominantly participating in ether linkages such as β -O-4, H units containing *p*-coumaric acids are frequently linked via ester bonds to the terminal carbon atom of the side chain in lignin. These ester bonds were reported to be very stable and contribute to cell wall stiffening in plants [6,8]. It has been previously reported that a formation of ester bonds in lignocellulosic material between hydroxyls and carboxylic acids occurs (solid-state) without anhydride intermediate even at short reaction times of 5 min at elevated temperatures (90–180 °C) [12]. Furthermore, it was previously reported that thermally unstable lignin linkages promote free radical crosslinking when hardwood and softwood lignin is exposed to heat [9]. These cross-linking reactions together with the abstraction of components of low molecular weight are frequently reported to enhance thermal stability in Kraft lignin [10]. The direct utilization of non-derivatized technical lignin from organosolv processes as functional filler and reinforcing component in bioplastic composites is often facing limitations, as composites with high lignin fractions show high brittleness [11]. Therefore, a deeper understanding of processing-structure-properties relationships is needed to fully exploit the potentials of lignin in biocomposite formulations, especially at high loadings ($\geq 50\%$).

The hypothesis of this work is that *in-situ* coupling reactions between functional groups in organosolv lignin from annual plants might lead to an increase in molecular weight during thermal processing. As a result, the physical and mechanical properties of lignin biocomposites, e.g. stiffness, thermal stability, and toughness, can be changed and adjusted to the particular field of application. Furthermore, it is well established that shear force which is encountered in plastic processing operations can promote chain-scission in macromolecules. This aspect would have an effect on the resulting molecular structure in terms of molecular weight distribution, which would compete with the mentioned cross-linking reactions. Finally, this work aims to give insights into the processing-structure-properties relationships of Organosolv lignin biocomposites for various fields of application.

2. Materials and methods

2.1. Lignin preparation

Crude lignin was obtained by Organosolv treatment of ensiled grass [13,14]. The obtained lignin-rich fraction was Soxhlet-extracted for 24 h using ethyl acetate (EtOAc), and air dried overnight [14]. Selective lignin extraction from composites was conducted by immersing the composite materials in DMSO at room temperature for 12 h. After filtration, the solution was lyophilized to obtain a solid material. The obtained Organosolv lignin (LO) was dried in a vacuum oven at 50 °C for 48 h. All lignin fractions were stored in a desiccator until use.

2.2. Physicochemical properties of organosolv lignin and lignin biocomposites

Residual carbohydrates, acid soluble (ASL) and acid insoluble lignin (AIL) were determined according to NREL/TP-510-42618 [17]. ASL was determined by ultraviolet (UV) spectrophotometry and calculated from the absorption at 240 nm using an absorptivity of $25 \text{ L g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. The concentrations of carbohydrates in the liquid phases were quantified by high-performance liquid chromatography (HPLC) [13]. Sulfur

content was determined using elemental analysis. Phenolic and aromatic monomers of low molecular weight that have been previously identified in lignin-rich pretreatment products of annual plants were quantified via HS-SPME/GC–MS [5,15,16]. The sample solution was obtained by stirring 100 mg of LO in 10 mL deionized water overnight, and subsequent low-frequency ultrasound-assisted extraction at a frequency of 45 kHz for 10 min [5]. The centrifuged sample solution was transferred into a headspace vial (10 mL) and filled up to 1.0 mL with citric acid (pH 5.0; 50 mM). The prepared sample solution containing 0.5 g NaCl and 10 μL of a 1.0 mM ethylvanillin solution (as internal standard) was directly used for subsequent analyses. Extraction time and temperature were set to 30 min and 70 °C, respectively. Combined thermogravimetric and differential thermogravimetric analysis (TG/DTG) were conducted using a thermogravimetric analyzer (TGA; Linseis PT1600, Germany). Samples of about 10 mg were placed in Al_2O_3 crucibles and heated according to two different heating programs (LO: 40–220 °C, $1 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$; Organosolv lignin biocomposites: 40–900 °C, $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$). Both measurements were conducted under argon atmosphere (40 mL min^{-1}). The onset of thermal decomposition was evaluated by the determination of the temperature at 5% weight loss ($T_{5\%}$). The temperature at the highest weight loss rate (T_{max}) was calculated from differential thermogravimetric analysis (DTG). DTG data obtained from the slow heating rate ($1 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$) was processed by applying a Savitzky-Golay filter [17].

Gel Permeation Chromatography (GPC) was used to examine the molecular weight distributions (MWD) of the lignin. The GPC system (SECcurity, PSS Polymer Standards Service, Mainz, Germany) was equipped with a refractive index detector and a series of linear columns (PSS Gram (30 Å, 1000 Å) AppliChrom ABOA DMSO-Phil-P (100 Å)). The lignin biocomposites were Soxhlet-extracted for 24 h using DMSO, then freeze-dried. Isolates from Organosolv lignin biocomposites (LI) that were treated at different temperatures (T), screw speeds (n), and residence times (t) are described below as LI-T-n-t. The samples were dried in a vacuum oven at 50 °C for 48 h and stored in a desiccator prior to the sample preparation. All samples for GPC were made up at 0.1% (w/v) in 0.075 M DMSO/ LiNO_3 by gently stirring until complete dissolution. The measurements were performed at 50 °C using 0.075 M DMSO/ LiNO_3 as eluent. Lithium nitrate was added to minimise association effects. Pullulan polymer standards (PSS, Germany) ranging from 180 to 708.000 g mol^{-1} were used for calibration.

FTIR analysis was performed on a FTIR spectrometer (Nicolet 380, Thermo Fisher Scientific, Germany). Direct transmittance was measured with a lignin concentration of 0.3 wt% in 300 mg KBr. The following parameters were used: spectral range: 400–4000 cm^{-1} , spectral resolution: 2 cm^{-1} , total scans: 128, background: KBr. The obtained spectra were baseline-corrected using a linear algorithm according to Faix et al. [4]. The baseline-corrected spectra were normalized to the peak intensity at 1513 cm^{-1} corresponding to the aromatic skeleton vibrations. See appendix for baseline correction and complete band assignments [11,14].

2.3. Isothermal heat treatment of lignin

Heat treatment of LO was conducted in a pre-heated muffle furnace at different temperatures (120, 140, 160, 180, and 200 °C) and for different residence times (5, 10, 30, and 60 min), respectively. The Organosolv lignin samples were placed in pre-dried porcelain crucibles and covered with a metal lid. Lignin (L) treated at different temperatures (T) and residence times (τ) are described below as L-T- τ .

2.4. Thermo-rheological treatment of lignin

Thermo-rheological experiments were performed on a microcompounder (HAAKE Minilab II; Thermo Fisher Scientific, Karlsruhe, Germany) equipped with two co-rotating conical conveying screws (mean

diameter: 9.5 mm, length: 109.5 mm). The solid material with a mass of 6.5 g (L0/polyethylene-co-vinyl acetate (EVA) 50/50 w%) was filled into the pre-heated micro-compounder in three fractions within 2 min. EVA (Vinnex® 2501) was supplied by Wacker Chemie AG (Munich, Germany). The Melt Volume (Flow-)Rate (MVR) and glass transition temperature (T_g) of EVA was reported as 4.3 cm³/10 min (measured at 150 °C, 21.6 kg) and 16 °C, respectively.

A valve located at the tip of the screws allowed to recirculate the material, and thus extended processing intervals [1,2]. Two pressure transducers successively incorporated in the backflow channel recorded the pressure drop Δp in the slit capillary during compounding [3]. The obtained data from the last minute of compounding was used to compare rheological properties such as apparent dynamic viscosity η_r [18]. The specific mechanical energy input (SME) during processing was calculated to describe the influence of extrusion on the amount of energy that is transferred to the material, equation (1) [19]:

$$SME = \int_0^\tau \frac{M \cdot 2 \cdot \pi \cdot n}{m \cdot 60} \cdot dt \quad (1)$$

where M , n , m , and τ represent shaft torque, screw speed, loaded mass, and time, respectively. Samples for tensile testing were obtained on a laboratory scale injection molding machine (HAAKE MiniJet, Thermo Fisher Scientific). Mold temperature, injection pressure, injection time, holding pressure, and holding time were 50 °C, 90 MPa, 5 s, 30 MPa, and 10 s, respectively. Lignin biocomposites (LC) treated at different temperatures (T), screw speeds (n), and residence times (t) are described below as LC-T-n-t.

2.5. Mechanical investigations

Quasi-static, cyclic as well as micromechanical properties have been determined to examine the influence of different compounding parameters on the mechanical properties of the Organosolv lignin/EVA biocomposites. Quasi-static uniaxial tensile testing was performed at room temperature in accordance to DIN EN ISO 527-2 (specimen geometry type 1BA) using a universal testing machine ($F_{\max} = 10$ kN; smarTens, Karg Industrietechnik, Krailling, Germany) with a strain rate of 10 mm min⁻¹. Load-displacement analysis was further conducted on specimens' surfaces according to DIN 14577 by instrumented ultramicro-hardness testing (DUH 211, Shimadzu, Japan). Indentation creep C_{it} was determined to assess and evaluate the strain hardening of the differently treated composite materials. To investigate the behaviour of a composite under cyclic loading, multiple step tests (MST) were performed on a micro magnetic testing system ($F_{\max} = 500$ N, MMT-V, Shimadzu). The specimens were subjected to a stress ratio (R) of 0.1 and a frequency of 5 Hz using sinusoidal load-time-functions at room temperature.

3. Results and discussion

3.1. Physicochemical characterization of organosolv lignin

L0 was obtained from an Organosolv pretreatment of ensiled grass biomass. The lignin was previously characterized as HGS-lignin containing the main structural units hydroxyphenyl (H), guaiacyl (G), and syringyl (S) [11,14]. The purity analysis showed that L0 contained minor proportions of residual carbohydrates (1.7% glucose, 2.0% xylose, < 0.1% arabinose), ash (1.2%), and sulphur (0.1%). The lignin was composed of about 78% AIL and about 17% ASL. ASL was reported to be composed of low molecular weight phenolic acids, such as syringic, vanillic, and *p*-hydroxybenzoic acids, and of lignin-carbohydrate complexes (LCC), which are favourably formed by condensation reactions between lignin and carbohydrates [20,21]. L0 was characterized as a low-molecular-weight product with a weight-average molecular weight (M_w) of about 2000 g mol⁻¹ and a polydispersity (\mathbb{D}) of about 3. These results were within the range of previously reported MWDs of Organosolv lignins from various feedstocks [22].

The total contents of water-soluble monomeric constituents (solubility of L0 in water: 0.59 mg mL⁻¹) as obtained from HS-SPME/GC-MS was the following (% dry lignin sample, w/w): *p*-coumaric acid (1.21%), ferulic acid (0.41%), vanillin (0.34%), 4-hydroxybenzaldehyde (0.07%), syringaldehyde (0.04%), coniferylaldehyde (0.02%), acetovanillone (0.01%), acetosyringone (< 0.01%), guaiacol (< 0.01%), and acetophenone (< 0.01%). These results suggested that the lignin contained a high proportion of hydroxycinnamic acids (*p*-coumaric acid, ferulic acid), which is in agreement with previous reports on lignin obtained from graminaceous plants [6,15]. The release of hydroxycinnamic acids was reported to be originated from the dehydration of glucose units in the presence of ethanol during organosolv pretreatment [5,6].

3.2. Heat treatment of Organosolv lignin

The thermal stability of L0 between 40 °C and 220 °C was followed by TG/DTG, Fig. 1a. A slow heating rate of 1 °C min⁻¹ was chosen to approach thermal equilibrium and to detect overlapping reactions. Up to 100 °C, a weight loss of about 0.8% is ascribed to the loss of residual (physically adsorbed) water. DTG showed a nearly constant weight loss rate of 0.02 %m °C⁻¹ between 120 and 160 °C, whereas it gradually increased from 160 °C onward to 0.07 %m °C⁻¹ at 200 °C. Above 200 °C, the main thermal degradation started, which was characterised by a strong and constant increase in the weight loss rate. This observation is suggested to be ascribed to the release of phenolic compounds, degradation of residual hemicellulose, dehydration reactions and the cleavage of *aryl-ether bonds* (predominantly β -O-4) between lignin monomeric units [23-25].

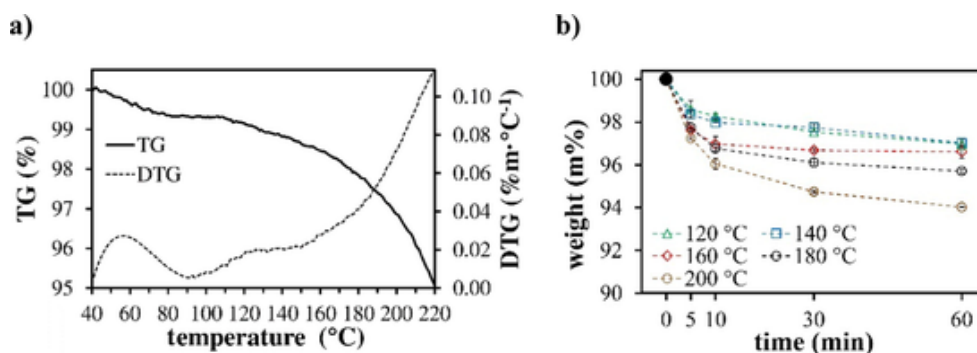


Fig. 1. Thermal analysis a) weight loss profile of Organosolv lignin (L0) in the temperature range between 40 and 220 °C as obtained from combined thermogravimetric and differential thermogravimetric analysis (TG/DTG) at a heating rate of 1 °C min⁻¹. b) Residual weight of L0 after isothermal treatment in the muffle furnace at different temperatures (120, 140, 160, and 180 °C) and residence times (5, 10, 30, and 60 min).

However, since the Organosolv lignin was low in condensed structures ascribed to the Organosolv process and the homolytic cleavage of interlinkages between monomeric units, the other chemical transformations may have been dominant [11,14,26].

In a next step, L0 was exposed to an inert atmosphere at different temperatures (120–200 °C) and for different residence times (0–60 min) to give insights into the structural changes at temperatures below the main thermal degradation (Fig. 1b). The isothermal heat treatment of L0 was associated with a weight-loss, which increased with temperature and residence time, respectively. These results are in agreement with reports on the heat treatment of other technical lignins, e.g. milled wood lignin from poplar [27]. A weight loss of between 1.5 and 2.5 % after 5 min was ascribed mainly to the release of residual water, which agreed with the results from TG/DTG. L-120–60, L-140–60, and L-160–60 showed a weight loss of about 3% (after correction for the release of water), which is in the weight loss range reported for milled wood lignin of the guaiacyl-syringyl (GS)-Type [27].

The residual weights at 160 °C remained constant after 30 min of residence time (about 3% weight loss). In contrast, a further increase in weight loss was observed for L-180-t samples from $3.9 \pm 0.2\%$ at 30 min to $4.3 \pm 0.1\%$ at 60 min. At 200 °C, both the total weight loss and the weight loss rate after 30 min further increased. This suggested progressing temperature induced reactions to occur in lignin treated above 180 °C and with increasing residence times.

This can be explained by the different degradation behaviour of Organosolv lignin in the temperature range below the main thermal degradation, i.e. up to 200 °C. Up to 160 °C the observed weight loss was mainly caused by the comparatively low energy, which is demanded for the release of water and low molecular weight compounds and partially by the abstraction of terminal phenolic moieties of low activation energies and hydrogen in dehydration reactions [28]. In contrast, thermal degradation in the temperature range between 160 °C and 200 °C has been ascribed to the release of low-molecular weight compounds through single bond fragmentation of the phenylpropane side chains in lignin, which was reported to demand higher activation energies [28,29].

GPC was employed to further characterize the heat-treated lignin by following the molecular weight changes during thermal treatment, Fig. 2.

Samples L-120–60, L-140–60 L-160–60, L-180–60, and L-200–60 were not completely dissolved in DMSO. Therefore, they could not be analyzed by GPC. Solubility factors of technical lignin fractions in various solvents have previously been reported to be influenced by their cross-linking degrees and in particular by their ratios of phenolic hydroxyls to the number of phenylpropane units and their molecular weight characteristics [30,31]. When L0 was heat-treated for a short time of 5 min, M_w remained nearly unaffected. Similarly, heat-treated Organosolv lignin showed negligible changes in M_w and \bar{D} when treated at 120 °C independent of the residence time. M_w of L-140–30 was slightly increased from $2600 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (L0) to $3400 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ whereas the change in \bar{D} was not significant. For L-160–30, an almost two-fold in-

crease in M_w was observed and \bar{D} increased from 2.6 (L0) to 4. M_w of L-180–30 was comparable to L-160–30, whereas the polydispersity \bar{D} was increased from 2.5 to 4.0. It was previously reported for Kraft lignin from softwood [10] and milled wood lignin from hardwood [27] that thermally induced cross-linking reactions can lead to a strong increase in M_w and \bar{D} . However, the observed increases in molecular weight remained comparatively low. This might be due to competing repolymerization and depolymerization reactions when Organosolv lignin was exposed to 180 °C [32–34]. The apparently lower M_w of L-200–30 in comparison to L-180–30 and L-200–10 indicates depolymerization reactions as the dominant route towards higher temperatures (>180 °C) and longer residence times (>30 min), respectively. Therefore, it was concluded that a temperature of 180 °C would facilitate constructive molecular reactions and that the extent of conversion can be controlled by the time of residence in thermal processes, such as compounding.

The solid residues after heat treatment were subjected to FTIR to give insights into the structural changes in Organosolv lignin (L0) after heat treatment at 180 °C, Fig. 3.

For semi-quantitative analysis, the corrected spectra were normalized to the aromatic skeleton vibrations at around 1513 cm^{-1} as the benzene rings in lignin were assumed to remain unchanged during heat treatments below 230 °C [29,35]. To reveal changes in band absorbances, the spectra were baseline corrected by employing a linear algorithm according to the protocol described by Faix [4]. The strong and wide OH-band in lignin was superimposed on the CH-stretching bands of alkyl and aromatic groups. This was ascribed to O-H stretching in dimeric carboxylic acids extending from 2500 to 3300 cm^{-1} . This is in conclusion to the presence of phenolic monomers in the aqueous extracts showing a considerable amount of low molecular weight compounds possessing carboxylic acids. For example ferulic acid and *p*-coumaric acid might have been formed from the hydrolysis of ester and β -O-4 bonds during Organosolv pretreatment, respectively [22,36,37]. Compared to untreated lignin, L-180–10 showed lower band intensities for carbonyl stretching (1600 – 1800 cm^{-1}) and OH-stretching (3000 – 3700 cm^{-1}). The carbonyl stretching region could be divided into a spectral range up to 1710 cm^{-1} corresponding to C=O stretching in conjugated carbonyls and carboxyls, and the shoulder towards higher wavenumbers corresponding to C=O stretching in unconjugated carbonyls and in ester groups. Residual water, which is known to absorb between 1500 and 1750 cm^{-1} , might have been released during thermal treatment and could partially explain the lower absorption. However, the additional release of low-molecular weight compounds, such as aldehydes (e.g. formaldehyde) and carboxylic acids (e.g. formic acid) is suggested by the fact, that the shoulder between 1710 and 1750 cm^{-1} was not affected by heat treatment within a residence time of 10 min [28,29]. In contrast, a longer treatment time did not affect the absorption in the spectral region between 1570 and 1660 cm^{-1} corresponding to C=O stretching in conjugated carbonyl and carboxyl groups, but an increase in the relative peak intensity at 1710 cm^{-1} from 1.4 (L-180–10) to 1.8 (L-180–30) reveals an effect in the shoulder region. Furthermore, the shoulder became successively broader charac-

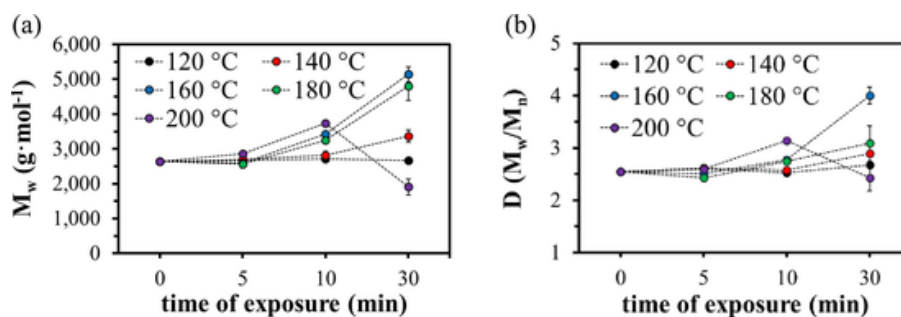


Fig. 2. Molecular weight characterization – a) Weight average molecular weight (M_w) and b) polydispersity (\bar{D}) of Organosolv lignin after heat treatment at different temperatures (120–200 °C) and residence times (5–30 min) as obtained from gel permeation chromatography (GPC).

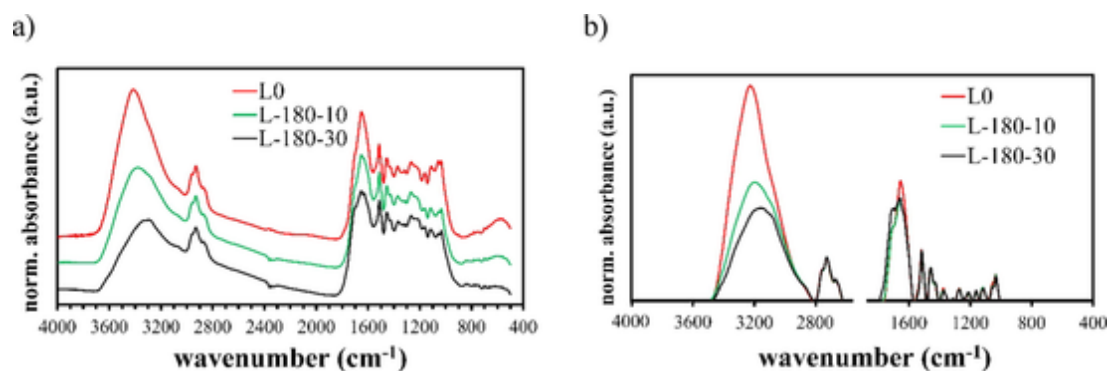


Fig. 3. a) normalized FTIR spectra of Organosolv lignin L0 (red), and heat-treated lignin at 180 °C for 10 min (L-180-10, green) and 30 min (L-180-30, black). b) Baseline corrected and normalized FTIR spectra of organosolv lignin L0 (red), L-180-10 (green), and L-180-30 (black) in the spectral ranges between 800 and 1900 cm^{-1} and 2700 to 3800 cm^{-1} .

terized by an increase of the relative absorption intensity at 1751 cm^{-1} from 0.2 (L-180-10) to 0.5 (L-180-30). This observation together with the increase of the vibration around 1240 cm^{-1} corresponding to C=O stretch in ester bending, and the decrease of the vibration around 1030 cm^{-1} corresponding to C-O in acid bending indicates the formation of ester groups. The successive decrease of the shoulder at 1052 cm^{-1} , which is ascribed to OH stretch in carbohydrates, with increasing residence time suggested the formation of ester bonds between residual carbohydrates and lignin during thermal treatment [36,38]. The region of hydroxyl absorption (from 3000 cm^{-1} to 3600 cm^{-1}) was significantly affected by heat treatment. The peak position of the broad band was shifted to lower wavenumbers by $\Delta\nu$: 31 cm^{-1} for L180-10 and by $\Delta\nu$: 120 cm^{-1} for L180-30. These shifts can be related to the relative contributions of intra-associated and 'free' OH groups to the overall OH absorptive region, which appear at around 3350 cm^{-1} and 3510 cm^{-1} , respectively [39-42]. Thus, intra-associated OH groups were less affected by thermal treatment than unbound or weakly bonded hydroxyl groups. It was previously reported that thermally unstable lignin linkages promote crosslinking of radical intermediates when hardwood and softwood lignin is exposed to heat, as investigated by 2D-HMQC NMR, 2D-HSQC NMR, ^{13}C NMR, quantitative ^{31}P NMR analyses and nitrobenzene oxidation [9,10,34,43]. Therefore, free radical crosslinking may be another major source of crosslinking within the samples which may have contributed to the increase in molecular weight.

In a next step, L0, L-180-10 and L-180-30 were subjected to TGA to evaluate their thermal characteristics, Fig. 4a.

The decomposition of lignin proceeded slowly and over the whole temperature range up to 900 °C. Such wide ranges, which are ascribed to competing bond-cleavage and condensation reactions within the chemical structure of lignin during thermal decomposition, have been

frequently reported for lignin various feedstocks, such as herbaceous plants, hardwoods, and softwoods [44 18,33,49,50 47]. The major decomposition occurred in four overlapping steps, which is consistent with previous reports on Organosolv lignin from various feedstocks [48]. Between 190 °C and 260 °C, a weight loss of about 5% was mainly ascribed to the release of phenolic compounds and the degradation of residual hemicellulose [23,45]. Between 260 °C and 380 °C, a weight loss of about 28%, which is associated with the highest weight loss rate (0.68 $\text{w}\% \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ at 330 °C), was ascribed to the cleavage of abundant and heat stable β -O-4 ether linkages in lignin [49]. Between 380 °C and 500 °C, a weight loss of 16% indicated secondary pyrolysis reactions, such as cleavage of C-C bonds, and the formation of two-, three- or four-ring polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) compounds from reactive and unstable radical intermediates [23].

Heat-treated Organosolv lignins showed shifted onsets of thermal degradation towards higher temperatures as seen by a temperature-shift in $T_{5\%}$ from 248 °C (L0) to 262 °C (L-180-10), and to 271 °C (L-180-30), respectively. Furthermore, slightly higher solid residues were observed for heat-treated lignins. The increase from 40% for L0 to 43% for L-180-30 indicated a higher proportion of fixed carbon, which resulted from charring reactions of cross-linked structures at high temperatures [27,48].

The shift of the onset of main decomposition to higher temperatures indicates the contribution of a more condensed structure to higher thermal stability [16,43,47]. The chemical bonding of low molecular weight compounds during heat treatment at temperatures below the main degradation may have contributed to a less proportion of volatile phenolic compounds and thus to a higher thermal stability [34,54,56, 57].

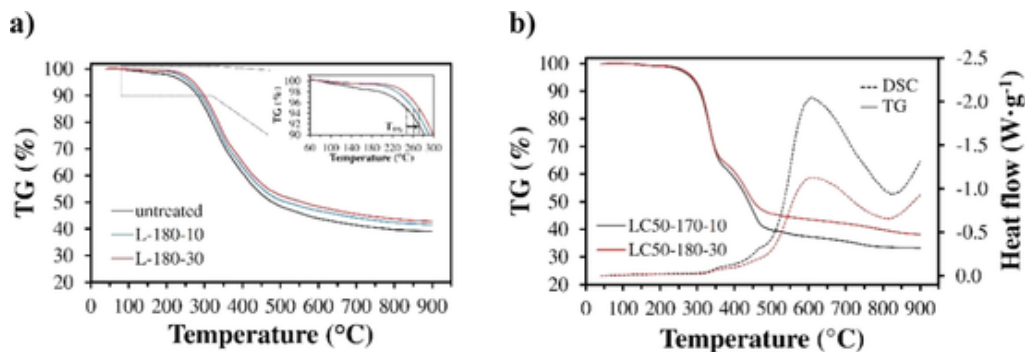


Fig. 4. Thermal analysis – a) Results from thermogravimetric analysis (TG) with a heating rate of 10 $^\circ\text{C}\text{min}^{-1}$ of Organosolv lignin (L0, black) and heat-treated Organosolv lignin at 180 °C for 10 min (L-180-10, green) and 30 min (L180-30, red), with $T_{5\%}$ corresponding to the temperature at 5% weight loss. b) TG and DSC curves of a Organosolv lignin/EVA biocomposite compounded at 180 °C for 10 min (LC50-170-10; black) and at 180 °C for 30 min (LC50-180-30; red).

3.3. Effects of thermomechanical processing on material properties

3.3.1. Extrusion characteristics

In a next step, the response of Organosolv lignin to the shear and thermal forces of twin-screw extrusion were evaluated by compounding experiments [52,53], which will assist in understanding structure-dependent material characteristics in terms of melt viscosity. Moreover, molecular reactions within Organosolv lignin biocomposites in response to heat and shear forces can be indirectly evaluated. As seen in Fig. A2 of the Appendix, both torque and viscosity were reduced during thermomechanical processing of lignin biocomposites and neat EVA in the compounder.

Furthermore, the decrease in normalized torque was temperature-dependent with the highest reduction at fixed residence time of 10 min for LC-170-50-10 (about 60%) in comparison to LC-180-50-10 (50%), and LC-200-50-10 (40%), respectively. Compounding at 180 °C (LC-180-50-10) yielded a higher apparent viscosity of about 20% in comparison to LC-170-50-10, while a further increase in temperature to 200 °C (LC-200-50-10) did not significantly further affect both viscosity and torque. When the temperature was fixed at 180 °C while simultaneously increasing the screw speed (from 50 to 200 min⁻¹) and thus the applied shear energy, the decrease in viscosity and torque after 10 min of compounding was significantly lower by 23% and 50%, respectively, Fig. 5b. Furthermore, extended compounding time at higher shear forces (LC-180-200-30) resulted in similar torque and apparent viscosity in comparison to LC-180-50-10. This was manifested by a lower slope after 3 min (thus after the initial plasticization time). The apparent dynamic viscosity of LC-180-200-90 decreased to about 60% of its initial value, which was in the range of Organosolv lignin biocomposites obtained from a low specific energy input (LC-170-50-10). The different decreases in viscosity and torque indicate competitive processes (coupling reactions versus thermal degradation) which are dependent on shear forces and temperature effects [9,47]. When the normalized torque was compared for neat EVA and LC-170-50-10 in its plasticised state, a slightly higher decreasing torque was observed for neat EVA (see Appendix, Fig. A2). Therefore, the Organosolv lignin may show either a more liquid-like flow characteristic or would behave as a filler dependent on the chemical structure and the cross-linking degree [11,54].

The effects of temperature, shear rate, and residence time on the molecular weight distribution (MWD) of Organosolv lignin were investigated by GPC to give further insights into the molecular weight changes during compounding, Table 1.

The thermomechanical forces during compounding changed the molecular weight distribution of Organosolv lignin, which was characterized by an increase in M_w and \mathcal{D} for the lignin isolates (LI). This result was ascribed to coupling reactions that were already observed for heat-treated lignin. Moreover, the change in M_w was temperature-dependent with an increase of about 30%, 60%, and 200% for LI-170-50-10, LI-180-50-10, and LI-200-50-10, respectively. This dependency was supported by the observation that the viscosity successively increased towards higher temperatures. The polydispersity \mathcal{D} showed a more than two-fold increase from L0 ($\mathcal{D} = 2.6$) to LI-200-50-10 ($\mathcal{D} = 6.1$), while it decreased between a compounding temperature of 170 °C and 180 °C. These results are indicative for increased coupling reactions in lignin towards higher temperatures, while a considerable amount of low molecular weight compounds remained present in the compounded Organosolv lignin biocomposites, especially at 200 °C.

To evaluate the influence of the applied shear energy on the molecular weight distribution, the compounding screw speed was varied. Significantly higher M_w (+25%) and \mathcal{D} (+23%) were observed when Organosolv lignin biocomposites were compounded at a higher specific mechanical energy input. This observation was contradictory to the well-known finding that mechanical forces applied during compounding typically trigger bond-scission reactions in macromolecules [52].

The residence time had the most affective effect on MWD, which was shown by an almost two-fold higher M_w and \mathcal{D} of LI-180-200-30 compared to LI-180-200-10. However, only a slightly higher M_w was observed in LI-180-200-90 compared to L-180-200-10. Prolonged residence time of Organosolv lignin at high shear rates might have led to a higher extent of degradation reactions within the lignin macromolecules.

3.3.2. Thermal properties of organosolv lignin biocomposites

The thermal properties of Organosolv lignin biocomposites (LC) were investigated by TGA/DSC (Fig. 4b). The thermal stability of lignin biocomposites treated at different conditions was slightly higher in composites compounded at higher EIN, which is indicated by the shifted onset of thermal degradation from 283 °C (LC-170-50-10) to 289 °C (LC-180-200-30). Furthermore, LC-180-200-30 showed a higher residual carbon content of about 38% in comparison to about 33% for LC-170-10. The heat flow was constantly negative which indicates that the degradation was exothermic in the temperature range investigated in this study. These findings are in agreement with the findings from Ball et al. [40]. While the charring process during lignin pyrolysis is highly exothermic, the volatilization shows endothermic behaviour. With the significantly higher solid residues generated from lignin pyrolysis, the exothermic signals observed from DSC could be attributed to both a higher extent of lignin charring and a lower extent of devolatilization. It can be concluded that the higher thermal stability is caused by the higher molecular weight of the lignin fraction and the coupling of low-molecular weight fractions during compounding at temperatures below the onset of the main decomposition [48].

3.3.3. Mechanical properties of Organosolv lignin biocomposites

Tensile tests have been performed to study the response of Organosolv lignin biocomposites to heat and shear forces, Table 1. LC-180-50-10 exposed lower tensile strength (σ_m), elongation at break (ϵ_t), and tensile toughness (U_T) compared to LC-170-50-10, while it revealed a two-fold increase in E-modulus. However, a drastic change in material properties was observed for LC-200-50-10 in comparison to LC-170-50-10, which was characterized by a decrease in ϵ_t from 90% to 4% and in U_T from 658 MPa to 23 MPa, respectively. In contrast, the E-modulus was increased from 32 MPa to 274 MPa. From the findings above, the materials obtained from two sets of processing parameters were selected, which represent low (LC-170-50-10) and high (LC-180-200-30) EIN, resulting from the specific mechanical and heat energy input. These parameters were shown to influence the molecular weight of the lignin in the composites and were thus related to the resulting material properties. Fig. 6a shows the stress-strain curves of LC samples after low and high EIN at room temperature.

The stress strain curves of LC-170-50-10 (low EIN) and LC-180-200-30 (high EIN) showed distinct differences. The lignin biocomposite, which was treated at a low temperature (170 °C) at short residence time (10 min), showed a flexible but weak behaviour under tensile load. In contrast, the same formulation that was treated at a higher temperature (180 °C) at a longer residence time (30 min) showed a tougher behaviour. This can be seen by an increased energy absorption to fracture by 32%, while the ultimate tensile stress increased nearly two-fold from 7.2 to 13.8 MPa. However, the ductility, which was characterized by the plastic strain to fracture was about half of the value of the composite treated at low EIN. Furthermore, when treated at higher temperature and longer residence time, a sharp yield point was observed. The composites changed from an elastomeric to a ductile behaviour. In comparison, oxidative heat treatment of electrospun Kraft lignin-based nanofibers can enhance the mechanical properties with a reported increase in strength and modulus of 400% and 143%, respectively [55].

In Fig. 6b, force (F)-indentation depth (h_c) curves of LC-170-50-10 and LC-180-200-30 obtained by instrumented ultra-micro-hardness

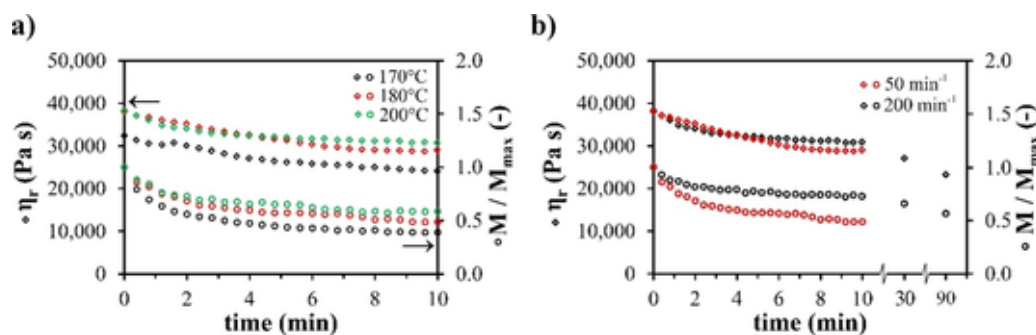


Fig. 5. Extrusion characteristics – apparent dynamic viscosity η_r (\diamond) and normalized torque M/M_{\max} (\circ) during compounding of Organosolv lignin/polyethylene-co-vinyl acetate biocomposite (50/50 w%). a) variation of temperature (170, 180, 200 °C) at fixed screw speed and residence time of 50 min^{-1} and 10 min, respectively, and b) variation of screw speed ($n = 50, 200 \text{ min}^{-1}$) at fixed temperature (180 °C) and for different residence times (10, 30, 90 min).

Table 1

Molecular weight characteristics (M_n , M_w , \bar{D}) of Organosolv lignin (LO), polyethylene-co-vinyl acetate (EVA) and Organosolv lignin composites (LC-T-n- τ), and apparent dynamic viscosity (η_r), specific mechanical energy input (SME), tensile strength (σ_m), elongation at break (ϵ_t), E-modulus (E) and tensile toughness (U_T) of Organosolv Lignin biocomposites (LC-T-n- τ) prepared at different temperatures ($T = 170, 180, 200 \text{ }^\circ\text{C}$), and variations in screw speed ($n = 50, 200 \text{ min}^{-1}$), and residence times ($\tau = 10, 30, 90 \text{ min}$).

Sample	Extrusion		GPC			Tensile properties			
	η_r	SME	M_n	M_w	\bar{D}	σ_m	ϵ_t	E	U_T
	(Pa s)	($\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$)	($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	(-)	(MPa)	(%)	(MPa)	(J m^{-3})
LO	–	–	1014	2,636	2.6	–	–	–	–
LC-170-50-10	24,072	8	880	3,460	3.9	10.0(0.6)	89.7(6.4)	32(2)	658(73)
LC-180-50-10	29,059	12	1,237	4,209	3.4	7.3(0.1)	79.9(9.9)	61(19)	480(55)
LC-200-50-10	30,762	9	1,219	7,468	6.1	9.2(0.3)	4.2(0.2)	274(16)	23(1)
LC-180-200-10	30,906	109	1,241	5,267	4.2	–	–	–	–
LC-180-200-30	27,223	253	1,184	9,647	8.1	14.1(0.2)	44.8(1.3)	575(18)	578(7)
LC-180-200-90	23,415	779	1,043	5,864	5.6	–	–	–	–

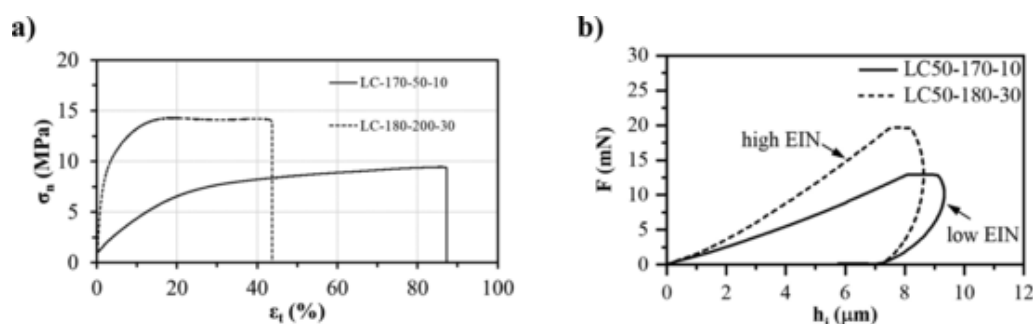


Fig. 6. a) Quasi-static investigation of Organosolv lignin composites obtained at low (LC-170-50-10 and high (LC-180-200-30) specific energy input (EIN) b) Instrumented indentation (ultra-micro-hardness): Force (F)-indentation depth (h_1) curves of organosolv lignin composites obtained at low (LC-170-50-10) and high (LC-180-200-30) specific energy input (EIN).

testing are shown. The indentation modulus could not be calculated from these measurements, as the unloading curved showed bowing effect. Therefore, indentation creep C_{it} was evaluated for low and high EIN, respectively. For specimens with high specific EIN during manufacturing a higher force was needed to reach nearly the same indentation depth compared to specimens with low EIN. Furthermore, indentation creep during hold time was calculated for $C_{it,low} = 10.4 \pm 0.2\%$ and $C_{it,high} = 8.8 \pm 0.1\%$. It was shown that a higher EIN during manufacturing led to a decrease in C_{it} of about 2%.

Fig. 7 shows the results of MST for LC-170-50-10 (low EIN) and LC-180-200-30 (high EIN) at room temperature to investigate the behaviour of the composites under cyclic mechanical loading.

MST is an effective tool for determining the viscoelastic properties and can give insights into cross-linking degree [56] and dynamic fragility [57] of a polymer composite [11,26,27]. MST with simultaneously monitoring material reactions during the mechanical loading is an established short-time method for estimating fatigue properties of

several material systems and is frequently employed in the field of metals [23–25]. Here, the method was employed to derive relationships between processing parameters, chemical structures, macroscopic deformations and failure behaviour of the material systems [11,26,27]. This testing strategy has also been successfully applied to polymeric materials and composite structures in previous studies [11,28–30]. In Fig. 6a, the progression of maximum force F_{\max} (controlled value) as well as the dynamic stiffness C_{dyn} (measured value) are shown as functions of load cycles N . Dynamic stiffness is the frequency dependant ratio between a dynamic force and the resulting dynamic deflection. With an increase in dynamic stiffness, a reduction of the the vibrational response of a material system under load is observed and thus the ability of a material to resist an external oscillatory load.

Specimens with high specific EIN during manufacturing showed the highest maximum force at failure with $F_{\max,f,high} = 70 \text{ N}$. Biocomposites with lower specific EIN attained about 14% lower values, corresponding to $F_{\max,f,low} = 60 \text{ N}$. These results can be explained by the fact

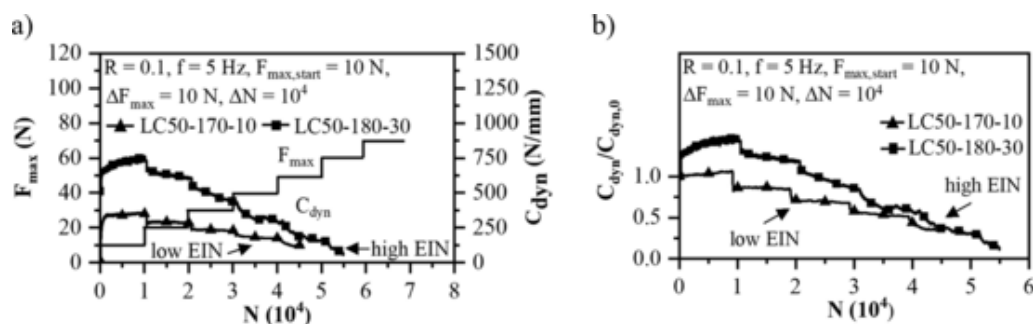


Fig. 7. Fatigue properties of lignin composites with 50% organosolv lignin content treated for different times and temperatures. a) Results from multiple step tests (MST); b) Normalized dynamic stiffness $C_{\text{dyn}}/C_{\text{dyn},0}$.

that high specific EIN during manufacturing seems to result in a higher material stiffness at initial conditions. Values of $C_{\text{dyn}, \text{high}} = 644 \text{ N mm}^{-1}$ and $C_{\text{dyn}, \text{low}} = 343 \text{ N mm}^{-1}$ were obtained at test start. These results can be ascribed to the different conditions in terms of temperature and residence time during compounding and the resulting molecular (constructive) reactions in lignin, which led to higher dynamic stiffness and fatigue strength. During the first 10^4 load cycles, $C_{\text{dyn}, \text{high}}$ increased about 4%, which indicated strain hardening which is caused by a large deformation when applying the maximum start test force of $F_{\max, \text{start}} = 10$ N. It is assumed that specimens have been stretched beyond their yield point. Therefore, they exhibited irreversible microstructural damage [53]. After the first load step, stiffness degradation can be observed for both material qualities. LC-170-50-10, i.e. low EIN, seemed mechanically more stable during one load step. Pronounced stiffness degradation was observed by the normalized dynamic stiffness $C_{\text{dyn}}/C_{\text{dyn},0}$ for both material qualities until failure.

It can be concluded that high specific EIN during manufacturing seems to enhance material stiffness in initial condition and thus increase the strain hardening effect. This can be caused by changes in molecular structure but cannot optimize the material performance during a service loading. Furthermore, stiffness degradation seems to be even more pronounced by high specific EIN specimens, which leads to the assumption, that the increased energy input in the material during manufacturing affects the long-term stability of the chemical bonds under a cyclic mechanical loading. LC50-180-30 showed a decrease of C_{dyn} of about 90% until failure, while for LC50-170-10 a value of 75% was monitored.

4. Conclusions

As demonstrated, several material properties in terms of thermal stability and mechanical performance of biocomposites with a high Organosolv lignin content (≥ 50 w%) can be tuned by selecting temperature, mechanical energy input, and residence time during the compound process. It is the first report on organosolv lignin obtained from ensiled grass to undergo *in-situ* coupling reactions at temperatures below the main degradation point (< 200 °C) as shown by a 6-fold increase in molecular weight (M_w). The results from FTIR spectroscopy suggest the formation of chemical bonds (e.g. ester bonds) which are ascribed to direct esterification reactions to occur by energy transfer towards a combined mechanical and thermal activation in the melt phase. Furthermore, at prolonged compounding times, it was shown that a higher extent of chemical coupling results in an Organosolv lignin biocomposite with increased stiffness and ultimate tensile stress by about

1800% and 40%, respectively. In tensile stress-strain curves, composites with high specific energy input reveal a distinct yield point with a yield stress of about 16 MPa. It was shown that temperature had the highest effect on coupling reactions, whereas activation by mechanical forces during compounding was lower and followed a non-linear behavior. Ultra-micro-hardness tests and cyclic multiple step tests confirm that the material becomes significantly stiffer in response to a mechanical loading, with an increase of about 50% in dynamic stiffness C_{dyn} and about 2% in indentation creep C_{it} . Monitoring of stiffness degradation during a cyclic loading could not provide proof of an enhancement of the long-term stability of the biocomposites.

5. Data availability

The raw and processed data required to reproduce these findings cannot be shared at this time as the data also forms part of an ongoing study.

Uncited references

CRediT authorship contribution statement

Jörg Dörrstein: Conceptualization, Methodology, Validation, Investigation, Visualization, Formal analysis, Writing - original draft. **Dominik Schwarz:** Investigation, Writing - review & editing. **Ronja Scholz:** Investigation, Visualization, Writing - review & editing. **Frank Walther:** Supervision, Resources, Writing - review & editing. **Cordt Zollfrank:** Conceptualization, Supervision, Funding acquisition, Resources, Writing - review & editing.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

The work was performed within the project "Farm-based biorefinery for local supply of diesel fuel" funded by the Bavarian State Ministry of Education, Science and the Arts (program: "Sondermittel des Freistaates Bayern zur Energiewende"). The funding is gratefully acknowledged by the authors.

Appendix.

Chemicals and reagents

The chemicals used in this work were ethanol (EtOH, purity $\geq 99.8\%$, Carl Roth, Karlsruhe, Germany), ethyl acetate (EtOAc, purity $\geq 99.5\%$, Roth), dimethyl sulfoxide (DMSO, purity $\geq 99.7\%$, Merck, Darmstadt, Germany), lithium nitrate (LiNO_3 , anhydrous, 99.98%, Alfa Aesar, Germany), and potassium bromide (KBr, purity $\geq 99.999\%$, Alfa Aesar). Pullulan standards were purchased from PSS Polymer Standards Service GmbH (Mainz, Germany). All chemicals were used as received.

FTIR normalization and baseline subtraction

Table A1.

Fig. A2

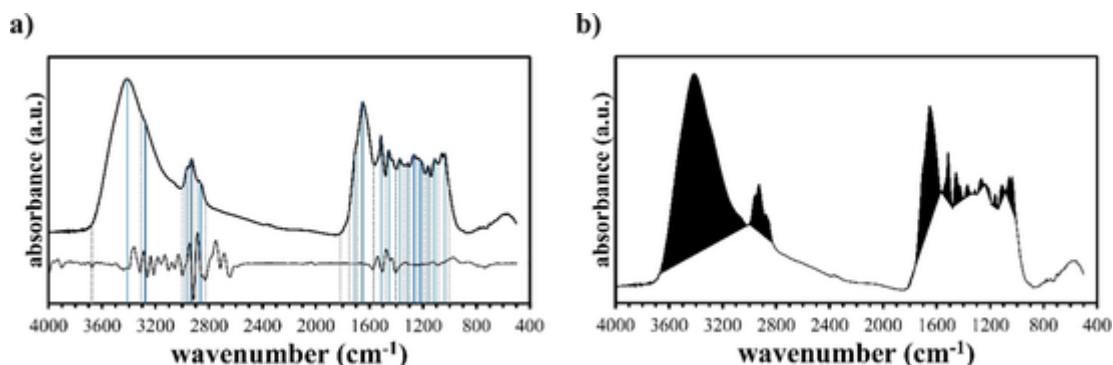


Fig. A1. a) IR spectra of Organosolv lignin (thick black solid line) and corresponding 2nd derivative (thick black dashed line) including on- and offsets (thin blue dashed line) and peak positions (thin blue solid line) of absorption bands. b) baseline correction of Organosolv lignin according to on- and offsets obtained from 2nd derivative infrared spectroscopy for semi-quantitative evaluation.

Table A1

FTIR band assignments and relative absorbance of Organosolv lignin L0, L-180-10, and L-180-30 after normalization. In brackets relative absorbance after baseline subtraction and normalization according to Faix et al. [4].

Wavenumber (cm^{-1})	Assignment	Absorbance		
		L0	L-180-10	L-180-30
1032	Aromatic C-H in-plane deformation; C-O deformation in primary alcohols; C=O stretch (unconj.)	0.81 (0.51)	0.61 (0.51)	0.66 (0.49)
1056	OH-stretch in Cellulose	0.82 (0.33)	0.58 (0.28)	0.64 (0.26)
1111	Guaiacyl C—H	0.76 (0.22)	0.62 (0.24)	0.68 (0.24)
1161	C=O stretch in conjugated ester groups, such as p-coumaric acid, typical for HGS lignins	0.69 (0.20)	0.62 (0.19)	0.71 (0.21)
1219	C—C stretch; C—O stretch; C=O stretch, G condensed > G etherified	0.75 (0.10)	0.73 (0.12)	0.80 (0.14)
1265	C=O stretch; C—O stretch in guaiacyl aromatic methoxyl groups	0.81 (0.22)	0.79 (0.21)	0.83 (0.20)
1315	Condensed S and G ring (G ring substituted in pos. 5)	0.73 (0.02)	0.70 (0.05)	0.75 (0.04)
1371	Aliphatic C—H stretch in CH_3 ; phen. OH	0.76 (0.24)	0.75 (0.21)	0.77 (0.20)
1454	C—H deformation; asym. In — CH_3 and — CH_2 —	0.85 (0.64)	0.86 (0.66)	0.87 (0.65)
1514	Aromatic skeleton vibrations	1.00 (1.00)	1.00 (1.00)	1.00 (1.00)
1653	C=O stretch; in conjugated p-subst. aryl ketones; conjugated carbonyl and carboxyl; absorbed OH	1.34 (2.39)	1.18 (2.04)	1.12 (2.04)
1711	conjugated aldehydes and carboxylic acids	0.81 (1.34)	0.79 (1.37)	0.88 (1.79)
1751	C=O stretch in unconjugated ketones, carbonyls and in ester groups;	0.24 (0.10)	0.25 (0.16)	0.38 (0.54)
2864	C—H vibration of methyl group of methoxyl	0.52 (0.35)	0.54 (0.37)	0.54 (0.39)
2929	C—H stretch in — CH_3 and — CH_2 —	0.77 (0.86)	0.75 (0.87)	0.71 (0.87)
2968	C-H stretch in — CH_3 and — CH_2 —	0.66 (0.56)	0.65 (0.52)	0.61 (0.51)
3277	OH stretch (intra-associated)	1.13 (2.28)	0.95 (1.85)	0.81 (1.64)
3412	OH stretch ('free'; not involved in hydrogen bonding)	1.58 (4.25)	1.03 (2.35)	0.77 (1.76)

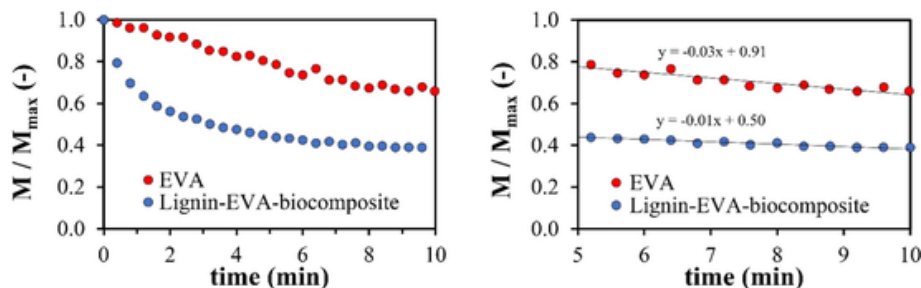


Fig. A2. Extrusion characteristics – left: normalized torque M/M_{max} (○) during compounding of polyethylene-co-vinyl acetate (EVA) and LC-170–50-10 (Lignin-EVA-Biocomposite). right: Regression analysis of normalized torque between 5 and 10 min of compounding.

References

- [1] A.J. Ragauskas, G.T. Beckham, M.J. Biddy, R. Chandra, F. Chen, M.F. Davis, B.H. Davison, R.A. Dixon, P. Gilna, M. Keller, P. Langan, A.K. Naskar, J.N. Saddler, T.J. Tschaplinski, G.A. Tuskan, C.E. Wyman, Lignin valorization: Improving lignin processing in the biorefinery, *Science* (80). 344 (2014) 1246843. <https://doi.org/10.1126/science.1246843>.
- [2] K. Müller, C. Zollfrank, M. Schmid, Natural Polymers from Biomass Resources as Feedstocks for Thermoplastic Materials, *Macromol. Mater. Eng.* 304 (2019) 1–17, <https://doi.org/10.1002/mame.201800760>.
- [3] R. El Hage, N. Brosse, P. Sannigrahi, A. Ragauskas, Effects of process severity on the chemical structure of Miscanthus ethanol organosolv lignin, *Polym. Degrad. Stab.* 95 (2010) 997–1003, <https://doi.org/10.1016/j.polymdgradstab.2010.03.012>.
- [4] O. Faix, Classification of Lignins from Different Botanical Origins by FT-IR Spectroscopy, *Holzforchung.* 45 (1991) 21–28, <https://doi.org/10.1515/hfsg.1991.45.s1.21>.
- [5] F. Montiel-Rivera, M. Phuong, M. Ye, A. Halasz, J. Hawari, Isolation and characterization of herbaceous lignins for applications in biomaterials, *Ind. Crops Prod.* 41 (2013) 356–364, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.04.049>.
- [6] R.C. Sun, X.F. Sun, S.Q. Wang, W. Zhu, X.Y. Wang, Ester and ether linkages between hydroxycinnamic acids and lignins from wheat, rice, rye, and barley straws, maize stems, and fast-growing poplar wood, *Ind. Crops Prod.* 15 (2002) 179–188, [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(01\)00112-1](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(01)00112-1).
- [7] A.K. Sangha, J.M. Parks, R.F. Standaert, A. Ziebell, M. Davis, J.C. Smith, Radical Coupling Reactions in Lignin Synthesis: A Density Functional Theory Study, *J. Phys. Chem. B.* 116 (2012) 4760–4768, <https://doi.org/10.1021/jp2122449>.
- [8] C. Ratledge, *Biochemistry of microbial degradation*, Kluwer Academic Publishers, London (1994), <https://doi.org/10.1007/978-94-011-1687-9>.
- [9] N.A. Nguyen, K.M. Meek, C.C. Bowland, A.K. Naskar, Responsive lignin for shape memory applications, *Polymer (Guildf).* 160 (2019) 210–222, <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2018.11.055>.
- [10] C. Cui, H. Sadeghifar, S. Sen, D.S. Argyropoulos, Toward thermoplastic lignin polymers, Part II: Thermal & polymer characteristics of kraft lignin & derivatives, *BioResources.* 8 (2013) 864–886, <https://doi.org/10.15376/biores.8.1.864-886>.
- [11] J. Dörrstein, R. Scholz, D. Schwarz, D. Schieder, V. Sieber, F. Walther, C. Zollfrank, Effects of high-lignin-loading on thermal, mechanical, and morphological properties of bioplastic composites, *Compos. Struct.* 189 (2018) 349–356, <https://doi.org/10.1016/j.compstruct.2017.12.003>.
- [12] A. Pantze, O. Karlsson, U. Westermark, A Model System To Study Esterification Reactions in Cellulosic or lignocellulosic material, *J. Pulp Pap. Sci.* 33 (2007) 177–183.
- [13] D. Schwarz, J. Dörrstein, S. Kugler, D. Schieder, C. Zollfrank, V. Sieber, Integrated biorefinery concept for grass silage using a combination of adapted pulping methods for advanced saccharification and extraction of lignin, *Bioresour. Technol.* 216 (2016) 462–470, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.092>.
- [14] J. Dörrstein, R. Scholz, D. Schwarz, D. Schieder, V. Sieber, F. Walther, C. Zollfrank, Dataset on the structural characterization of organosolv lignin obtained from ensiled Poaceae grass and load-dependent molecular weight changes during thermoplastic processing, *Data Br.* 17 (2018) 647–652, <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.01.060>.
- [15] M. Kolb, D. Schieder, M. Faulstich, V. Sieber, Analysis of lignocellulose derived phenolic monomers by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography, *J. Chromatogr. A* 1307 (2013) 144–157, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.07.094>.
- [16] R. Sun, B. Xiao, J.M. Lawther, Fractional and structural characterization of ball-milled and enzyme lignins from wheat straw, *J. Appl. Polym. Sci.* 68 (1998) 1633–1641, [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4628\(19980606\)68:10<1633::aid-app12>3.3.co;2-t](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4628(19980606)68:10<1633::aid-app12>3.3.co;2-t).
- [17] A. Savitzky, M.J.E. Golay, Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures, *Anal. Chem.* 36 (1964) 1627–1639, <https://doi.org/10.1021/ac60214a047>.
- [18] M. Yousfi, S. Alix, M. Lebeau, J. Soulestin, M.F. Lacrampe, P. Krawczak, Evaluation of rheological properties of non-Newtonian fluids in micro rheology compounder: Experimental procedures for a reliable polymer melt viscosity measurement, *Polym. Test.* 40 (2014) 207–217, <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2014.09.010>.
- [19] E. Leroy, P. Jacquet, G. Coativy, A.L. Reguerre, D. Lourdin, Compatibilization of starch-zein melt processed blends by an ionic liquid used as plasticizer, *Carbohydr. Polym.* 89 (2012) 955–963, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.044>.
- [20] L.R. Busche, *The Klason Lignin Determination as Applied to Aspenwood with Special Reference to Acid-soluble Lignin*, Wisconsin (1960).
- [21] Y. Matsushita, A. Kakehi, S. Miyawaki, S. Yasuda, Formation and chemical structures of acid-soluble lignin II: Reaction of aromatic nuclei model compounds with xylan in the presence of a counterpart for condensation, and behavior of lignin model compounds with guaiacyl and syringyl nuclei in 72% sulfuric, *J. Wood Sci.* 50 (2004) 136–141, <https://doi.org/10.1007/s10086-003-0543-9>.
- [22] P. Sannigrahi, A.J. Ragauskas, S.J. Miller, Lignin Structural Modifications Resulting from Ethanol Organosolv Treatment of Loblolly Pine, *Energy & Fuels.* 24 (2010) 683–689, <https://doi.org/10.1021/ef900845t>.
- [23] A. Dieguez-Alonso, A. Anca-Couce, N. Zobel, F. Behrendt, Understanding the primary and secondary slow pyrolysis mechanisms of holocellulose, lignin and wood with laser-induced fluorescence, *Fuel.* 153 (2015) 102–109, <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.02.097>.
- [24] M.T. Klein, P.S. Virk, *Model Pathways in Lignin Thermolysis*, Energy Lab. Rep. No MIT-EL (1981).
- [25] R. Brežný, V. Mihalov, V. Kováčik, Low Temperature Thermolysis of Lignins - I. Reactions of β -O-4 Model Compounds, *Holzforchung.* 37 (1983) 199–204.
- [26] B.B. Hallac, Y. Pu, A.J. Ragauskas, Chemical transformations of Buddlejia davidii lignin during ethanol organosolv pretreatment, *Energy and Fuels.* 24 (2010) 2723–2732, <https://doi.org/10.1021/ef901556u>.
- [27] J.Y. Kim, H. Hwang, S. Oh, Y.S. Kim, U.J. Kim, J.W. Choi, Investigation of structural modification and thermal characteristics of lignin after heat treatment, *Int. J. Biol. Macromol.* 66 (2014) 57–65, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.013>.
- [28] D.K. Shen, S. Gu, K.H. Luo, S.R. Wang, M.X. Fang, The pyrolytic degradation of wood-derived lignin from pulping process, *Bioresour. Technol.* 101 (2010) 6136–6146, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.02.078>.
- [29] R.A. Fenner, J.O. Lephardt, Examination of the Thermal Decomposition of Kraft Pine Lignin by Fourier Transform Infrared Evolved Gas Analysis, *J. Agric. Food Chem.* 29 (1981) 846–849, <https://doi.org/10.1021/jf00106a042>.
- [30] E.I. Evstigneev, Factors affecting lignin solubility, *Russ. J. Appl. Chem.* 84 (2011) 1040–1045, <https://doi.org/10.1134/S1070427211060243>.
- [31] J. Sameni, S. Krigstin, M. Sain, Solubility of Lignin and Acetylated Lignin in Organic Solvents, *BioResources.* 12 (2017) 1548–1565, <https://doi.org/10.15376/biores.12.1.1548-1565>.
- [32] I.J. Gomez, B. Arnaiz, M. Cacioppo, F. Arcudi, M. Prato, Nitrogen-doped Carbon Nanodots for bioimaging and delivery of paclitaxel, *J. Mater. Chem. B.* 6 (2018) 5015–5024, <https://doi.org/10.1039/x0xx00000x>.
- [33] J.L. Braun, K.M. Holtman, J.F. Kadla, Lignin-based carbon fibers: Oxidative thermostabilization of kraft lignin, *Carbon N. Y.* 43 (2005) 385–394, <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2004.09.027>.
- [34] O. Hosseinaei, D.P. Harper, J.J. Bozell, T.G. Rials, Role of Physicochemical Structure of Organosolv Hardwood and Herbaceous Lignins on Carbon Fiber Performance, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 4 (2016) 5785–5798, <https://doi.org/10.1021/acsschemeng.6b01828>.
- [35] Q. Liu, S. Wang, Y. Zheng, Z. Luo, K. Cen, Mechanism study of wood lignin pyrolysis by using TG-FTIR analysis, *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 82 (2008) 170–177, <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2008.03.007>.
- [36] N. Giummella, Y. Pu, A.J. Ragauskas, M. Lawoko, A critical review on the analysis of lignin carbohydrate bonds, *Green Chem.* 21 (2019) 1573–1595, <https://doi.org/10.1039/c8gc03606c>.
- [37] S. Bratož, D. Hađži, N. Sheppard, The infra-red absorption bands associated

- with the COOH and COOD groups in dimeric carboxylic acid—II, *Spectrochim. Acta.* 8 (1956) 249–261, [https://doi.org/10.1016/0371-1951\(56\)80031-3](https://doi.org/10.1016/0371-1951(56)80031-3).
- [38] R. Singh, S. Singh, K.D. Trimukhe, K.V. Pandare, K.B. Bastawade, D.V. Gokhale, A.J. Varma, Lignin-carbohydrate complexes from sugarcane bagasse: Preparation, purification, and characterization, *Carbohydr. Polym.* 62 (2005) 57–66, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.07.011>.
- [39] J. Wang, M.K. Cheung, Y. Mi, Miscibility and morphology in crystalline/amorphous blends of poly (caprolactone)/poly(4-vinylphenol) as studied by DSC, FTIR, and ¹³C solid state NMR, *Polymer (Guildf)*. 43 (2002) 1357–1364, [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(01\)00673-5](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(01)00673-5).
- [40] J.F. Kadla, S. Kubo, Miscibility and hydrogen bonding in blends of poly (ethylene oxide) and kraft lignin, *Macromolecules*. 36 (2003) 7803–7811, <https://doi.org/10.1021/ma0348371>.
- [41] K.F. Purcell, R.S. Drago, Theoretical Aspects of the Linear Enthalpy Wavenumber Shift Relation for Hydrogen-Bonded Phenols, *J. Am. Chem. Soc.* 89 (1967) 2874–2879, <https://doi.org/10.1021/ja00988a013>.
- [42] S.W. Kuo, F.C. Chang, Miscibility and hydrogen bonding in blends of poly (vinylphenol-co-methyl methacrylate) with poly(ethylene oxide), *Macromolecules*. 34 (2001) 4089–4097, <https://doi.org/10.1021/ma010047k>.
- [43] J.Y. Kim, S. Oh, H. Hwang, U.J. Kim, J.W. Choi, Structural features and thermal degradation properties of various lignin macromolecules obtained from poplar wood (*Populus alba* glandulosa), *Polym. Degrad. Stab.* 98 (2013) 1671–1678, <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2013.06.008>.
- [44] I. Brodin, E. Sjöholm, G. Gellerstedt, The Behavior of Kraft Lignin During Thermal Treatment, *J. Appl. Anal. Pyrolysis*. 87 (2010) 70–77.
- [45] B. Xiao, X.F. Sun, R.C. Sun, Chemical, structural, and thermal characterizations of alkali-soluble lignins and hemicelluloses, and cellulose from maize stems, rye straw, and rice straw, *Polym. Degrad. Stab.* 74 (2001) 307–319, [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(01\)00163-X](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(01)00163-X).
- [46] K. Ross, A. Leung, D. Godfrey, G. Mazza, Evaluation of thermal decomposition and antioxidant activity of crop residues and ionic liquid extracted lignin, *World Appl. Sci. J.* 16 (2012) 160–178.
- [47] E. Jakab, O. Faix, F. Till, Thermal decomposition of milled wood lignins studied by thermogravimetry/mass spectrometry, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*. 40–41 (1997) 171–186, [https://doi.org/10.1016/S0165-2370\(97\)00046-6](https://doi.org/10.1016/S0165-2370(97)00046-6).
- [48] H. Yang, R. Yan, H. Chen, D.H. Lee, C. Zheng, Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis, *Fuel*. 86 (2007) 1781–1788, <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2006.12.013>.
- [49] S. Chu, A.V. Subrahmanyam, G.W. Huber, The pyrolysis chemistry of a β-O-4 type oligomeric lignin model compound, *Green Chem.* 15 (2013) 125–136, <https://doi.org/10.1039/c2gc36332a>.
- [50] J. Cho, S. Chu, P.J. Dauenhauer, G.W. Huber, Kinetics and reaction chemistry for slow pyrolysis of enzymatic hydrolysis lignin and organosolv extracted lignin derived from maplewood, *Green Chem.* 14 (2012) 428–439, <https://doi.org/10.1039/c1gc16222e>.
- [51] D.R. Robert, M. Bardet, G. Gellerstedt, E.L. Lindfors, Structural Changes In Lignin During Kraft Cooking Part 3. On the Structure of Dissolved Lignins, *J. Wood Chem. Technol.* 4 (1984) 239–263, <https://doi.org/10.1080/02773818408070647>.
- [52] A.L.B. Ramirez, Z.S. Kean, J.A. Orlicki, M. Champhekar, S.M. Elsakr, W.E. Krause, S.L. Craig, Mechanochemical strengthening of a synthetic polymer in response to typically destructive shear forces, *Nat. Chem.* 5 (2013) 757–761, <https://doi.org/10.1038/nchem.1720>.
- [53] F. De Santis, R. Pantani, Melt compounding of poly(lactic acid) and talc: assessment of material behavior during processing and resulting crystallization, *J. Polym. Res.* 22 (2015) 1–9, <https://doi.org/10.1007/s10965-015-0885-1>.
- [54] M.A. Karaaslan, M. Cho, L.Y. Liu, H. Wang, S. Rennekar, Refining the Properties of Softwood Kraft Lignin with Acetone: Effect of Solvent Fractionation on the Thermomechanical Behavior of Electrospun Fibers, *ACS Sustain. Chem. Eng.* (2021), <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c07634>.
- [55] M. Cho, M.A. Karaaslan, S. Rennekar, F. Ko, Enhancement of the mechanical properties of electrospun lignin-based nanofibers by heat treatment, *J. Mater. Sci.* 52 (2017) 9602–9614, <https://doi.org/10.1007/s10853-017-1160-0>.
- [56] A. Mandal, S.P. Singh, R. Prasad, Dynamic mechanical characterization of CNT-PP nanocomposites, *J. Mol. Model.* 22 (2016) 1–7, <https://doi.org/10.1007/s00894-016-2924-1>.
- [57] H.L. Ornaghi, V. Pistor, A.J. Zattera, Effect of the epoxycyclohexyl polyhedral oligomeric silsesquioxane content on the dynamic fragility of an epoxy resin, *J. Non. Cryst. Solids*. 358 (2012) 427–432, <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2011.10.014>.
- [58] Carey, Patra, Ci, Silva, Ajayan, Observation of dynamic strain hardening in polymer nanocomposites, *ACS Nano* 5 (4) (2011) 2715–2722, <https://doi.org/10.1021/nn103104g>.