



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
WIEN

# Diplomarbeit

---

## Celluloseabbau bei der Organosolvbehandlung

durchgeführt am Institut für Verfahrenstechnik, Umwelttechnik und Techn.  
Biowissenschaften an der Technischen Universität Wien

unter der Anleitung von

Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Ewald Srebotnik

Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Anton Friedl

durch

Martin Lindemann

Kirchstetterngasse 52-54/15  
1160 Wien

---

Datum

---

Unterschrift

# Inhaltsverzeichnis

Danksagung .....	5
Abstract .....	6
Kurzzusammenfassung.....	7
Problemstellung .....	8
Einleitung.....	9
Materialen und Methoden.....	30
1. Charakterisierung der festen Proben nach Organosolvbehandlung .....	30
1.1. Charakterisierung der chemischen Zusammensetzung der Weizenstrohfasern aus der Organosolvbehandlung .....	31
1.1.1. Extraktion .....	31
1.1.2. Hydrolyse.....	32
1.1.2.1. Säureunlösliches Lignin .....	32
1.1.2.2. Säurelösliches Lignin.....	32
1.1.3. Veraschung.....	33
1.1.4. Ionenaustauschchromatographie .....	33
1.1.4.1. Kohlenhydrate .....	33
1.1.5. Kappazahl .....	35
1.2. Bestimmung des Polymerisationsgrades und der Molekulargewichtsverteilung der Weizenstrohproben aus dem Organosolvprozess .....	36
1.2.1. Nichtderivatisierendes Lösen .....	36
1.2.2. Extraktion .....	36
1.2.3. Quellen / Disintegrieren .....	36
1.2.4. Lösemittelaustausch.....	37
1.2.5. Lösen in DMAC / LiCl .....	37

1.2.6.	Nichtgelöste Anteile .....	37
1.2.7.	Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung und des Polymerisationsgrades .....	38
1.2.7.1.	HPSEC.....	38
1.3.	Chemikalien und Ausgangsmaterialien .....	42
1.4.	Weizenstrohproben .....	43
1.5.	Vorversuche .....	44
Ergebnisse und Diskussion .....		45
2.	Vorversuche .....	45
2.1.	Optimieren der chromatographischen Methode mit schon gelösten Cellulose-Proben .....	45
2.2.	Lösen von reiner Cellulose, Xylan und Lignin in DMAc / LiCl.....	46
2.3.	Temperaturvariation beim Lösen in DMAc / LiCl.....	49
2.3.1.	Celluloseabbau und Löslichkeit bei verschiedenen Temperaturen in DMAc / LiCl.....	50
2.4.	Lösemittelaustausch .....	55
3.	Einfluss von unterschiedlichen Bedingungen bei der Organosolvbehandlung auf die chemische Zusammensetzung und die Molekulargewichtsverteilung der Strohproben.....	57
3.1.	Dauer der Behandlung.....	58
3.1.1.	Einfluss der Behandlungsdauer auf die chemische Zusammensetzung.....	58
3.1.2.	Einfluss der Behandlungsdauer auf die Molekulargewichtsverteilung.....	59
3.1.3.	Einfluss der Behandlungsdauer auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe .....	61
3.2.	Temperatur .....	62
3.2.1.	Einfluss der Temperaturvariation auf die chemische Zusammensetzung .....	62
3.2.2.	Einfluss der Temperaturvariation auf die Molekulargewichtsverteilung.....	64
3.2.3.	Einfluss der Temperaturvariation auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe.....	67
3.3.	Essigsäuregehalt.....	67
3.3.1.	Einfluss der Variation des Essigsäuregehalts auf die chemische Zusammensetzung .....	67

3.3.2.	Einfluss der Variation des Essigsäuregehalts auf die Molekulargewichtsverteilung.....	69
3.3.3.	Einfluss der Variation des Essigsäuregehalts auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe....	72
3.4.	Ethanolgehalt .....	72
3.4.1.	Einfluss der Variation des Ethanolgehalts auf die chemische Zusammensetzung.....	72
3.4.2.	Einfluss der Variation des Ethanolgehalts auf die Molekulargewichtsverteilung .....	74
3.4.3.	Einfluss der Variation des Ethanolgehalts auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe .....	77
3.5.	Partikelgröße.....	78
3.5.1.	Einfluss der Partikelgrößenvariation auf die chemische Zusammensetzung.....	78
3.5.2.	Einfluss der Partikelgrößenvariation auf die Molekulargewichtsverteilung .....	80
3.5.3.	Einfluss der Partikelgrößenvariation auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe .....	83
4.	Kappa-Zahl.....	83
	Zusammenfassung.....	85
	Anhang .....	88
	Literaturverzeichnis.....	96

# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die mich bei dieser Arbeit unterstützt haben.

Meinen Betreuern Herrn Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Ewald Srebotnik und Herrn Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Anton Friedl danke ich für das Ermöglichen dieser Arbeit. Besonderer Dank gilt Herrn Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.techn. Ewald Srebotnik für die umfangreiche Betreuung.

Herrn Dipl.-Ing. Dr. Thomas Ters möchte ich danken, der mir immer mit kompetentem Rat zur Seite stand und mir auch durch kritisches Korrekturlesen meiner Arbeit viel mitgegeben hat. Ein weiterer Dank gilt den Kollegen in der Arbeitsgruppe, die mich sehr herzlich aufgenommen und immer hilfsbereit unterstützt haben. Herrn Dipl. Ing. Felix Weiwurm danke ich für die Unterstützung bei meiner Arbeit und die Koordination mit den parallel laufenden Diplomarbeiten rund um das Thema.

Meinen Eltern möchte ich ganz besonders danken, die mich das ganze Studium über unterstützt haben und mir auch in schwierigen Zeiten immer gut zugeredet und mich motiviert haben. Dank gebührt auch Elisabeth Papapostolou, die immer motivierende Worte fand und mich aufheiterte, auch wenn gerade nicht alles nach Plan verlief.

## Abstract

In this work, a method for determining the molecular weight distribution and degree of polymerization of wheat straw after Organosolv-treatment was established in order to investigate cellulose degradation. For that purpose, a HPSEC (High Performance Size Exclusion Chromatography) system with RI detection was used, and the calibration of the system was carried out with pullulan standards.

During Organosolv treatment, duration and temperature of treatment, amount of ethanol, acetic acid and the particle size were varied. The obtained straw fibers contained 29.2-54.5 % glucan, 4.8-21.4 % xylan, 0-1.9 % arabinan, 0-0.7 % galactan, 0-2.9 % mannan, 0.7-3.6 % ash, 6.6-17.3 % lignin, and 2.1-14 % extractives. Depending on the severity of the Organosolv treatment and at a dissolution temperature of 32°C, only 39.8-92.5 % of the initial amount of fiber material could be dissolved for HPSEC-analysis. The determined degrees of polymerization (DP Mw) of cellulose from the straw fibers ranged between 8800 and 25000. Significant changes in chemical composition and degree of polymerization could be detected during variation of temperature, amount of ethanol, and acetic acid.

When varying ethanol (30 min treatment time), the largest removal of xylan (4.8 % residual xylan) and extensive delignification (8.1 % residual lignin) both were achieved at 20% (w/w) ethanol content. At the same time the sample also showed the lowest degree of polymerization (8800) and the highest polydispersity (7.9), indicating severe degradation. During temperature variation (30 min) increasing delignification (10-15.8 % residual content) and decreasing degrees of polymerization (17000-20000) with rising temperature were detected. Extensive delignification (9.5 % residual lignin) was observed when adding acetic acid (30 min) at 15 g/l. Significant degradation of cellulose was also observed that became more severe with increasing acetic acid concentrations (DP 16000, 2 g/l and DP 14000, 15 g/l).

The established method is suitable for relative comparisons of molecular weight distributions of differently treated wheat straw fibers and hence for obtaining information regarding degradation of cellulose and severity of Organosolv treatment.

## Kurzzusammenfassung

In dieser Arbeit wurde eine Methode zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung und des Polymerisationsgrades von Weizenstrohcellulose nach Organosolvbehandlung etabliert, um den Abbau von Cellulose zu charakterisieren. Zu diesem Zweck wurde ein HPSEC- (High Performance Size Exclusion Chromatography) System mit RI-Detektor eingesetzt, wobei die Kalibration des Systems mit Pullulan-Standards erfolgte.

Bei der Organosolvbehandlung wurden Behandlungsdauer, Behandlungstemperatur, Ethanolgehalt, Essigsäuregehalt und die Partikelgröße variiert. Die erhaltenen Stroh-Fasern enthielten 29,2-54,5 % Glucan, 4,8-21,4 % Xylan, 0-1,9 % Arabinan, 0-0,7 % Galactan, 0-2,9 % Mannan, 0,7-3,6 % Asche, 6,6-17,3 % Lignin und 2,1-14 % Extraktstoffe. Je nach Stärke der Organosolvbehandlung konnten nur 39,8 - 92,5 % der Ausgangsmenge bei 32 °C für die HPSEC-Analyse in Lösung gebracht werden. Die ermittelten Polymerisationsgrade (DP Mw) für die Cellulose der Strohfasern lagen zwischen 8800 und 25000. Größeren Einfluss auf die chemische Zusammensetzung und den Polymerisationsgrad hatten die Variationen von Ethanolgehalt, Temperatur, und Essigsäuregehalt.

Bei der Ethanol-Variation (30 min Behandlungsdauer) konnte bei 20 w % Ethanolgehalt die größte Entfernung von Xylan (4,8 % Restgehalt) und eine starke Delignifizierung (8,1 % Restgehalt) erzielt werden. Gleichzeitig wies die Probe auch den geringsten Polymerisationsgrad und die höchste Polydispersität (7,9) auf, was auf einen starken Abbau der Cellulose schließen lässt. Bei der Temperaturvariation (30 min) konnte mit steigender Temperatur eine steigende Delignifizierung (10-15,8 % Restgehalt) und sinkende Polymerisationsgrade (17000-20000) festgestellt werden. Bei Zugabe von Essigsäure (30 min) war bei 15 g/L eine starke Delignifizierung erkennbar (9,5 % Restgehalt). Auch ein deutlicher Abbau der Cellulose konnte festgestellt werden, der bei höheren Essigsäurekonzentrationen stärker ausfiel (DP 16000 bei 2 g/L und DP 14000 bei 15 g/L).

Die etablierte Methode eignet sich für den relativen Vergleich zwischen unterschiedlich behandelten Weizenstrohproben, um Molekulargewichtsverteilungen zu bestimmen und daraus Informationen über den Abbau von Cellulose und die Stärke des Aufschlusses zu gewinnen.

# Problemstellung

Zielsetzung dieser Arbeit war die Charakterisierung der festen Produkte nach Organosolv-Aufschluss von Weizenstroh. Es sollte insbesondere eine Methode zur Bestimmung des Polymerisationsgrades und der Faserqualität von Weizenstroh nach Organosolvbehandlung erarbeitet werden um Rückschlüsse auf die Qualität und die Stärke des Aufschlusses ziehen zu können.

1. Nicht-derivatisierendes Lösen der Cellulose aus den aufgeschlossenen Strohproben im Lösemittelsystem Dimethylacetamid (DMAc) / LiCl und nachfolgende Analyse mittels Größenausschluss-Chromatographie zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung:

- Optimierung bzw. Erstellen der chromatographischen Methode mit schon gelösten Cellulose-Proben.
- Lösen von reiner Cellulose im System DMAc /LiCl
- Lösen der Cellulose aus den Weizenstroh-Proben aus dem Organosolvprozess
- Größenausschluss-Chromatographie (HPSEC: High Performance Size Exclusion Chromatography)

2. Faseranalytik von Weizenstroh nach Organosolv-Prozess um die chemische Zusammensetzung der aufgeschlossenen Proben zu bestimmen:

- Extraktstoffe
- Analyse der Kohlenhydrate mittels Hydrolyse und anschließender Ionenchromatographie (HPAEC-PAD: High Performance Anion Exchange Chromatography - Pulsed Amperometric Detection )
- Lignin
- Aschegehalt
- Kappa Zahl

# Einleitung

## **Bioraffinerie lignocellulosehaltiger Biomasse**

Lignocellulosehaltige Biomasse gilt als eine wichtige Quelle für die Produktion von Biotreibstoffen, Biochemikalien und Energie.<sup>1</sup> Die lignocellulosehaltige Biomasse kann aus unterschiedlichen Quellen gewonnen werden, wie aus Abfallströmen aus Forst- und Landwirtschaft oder auch aus Energiepflanzen, die rein für diesen Zweck angebaut werden. Bei Energiepflanzen gibt es die Befürchtung, dass diese in Konkurrenz mit dem Anbau von Nahrungsmitteln treten könnten.<sup>2</sup> Aus diesem Grund stellt Weizenstroh eine attraktive Ressource dar, da keine Konkurrenz mit der Produktion von Nahrungsmitteln vorliegt und die ganzheitliche Nutzung der Pflanze gefördert wird. Weizenstroh wird weltweit in großen Mengen produziert und daher gibt es viel Forschung im Bereich der Bioraffinerie Technologien zur Vorbehandlung, enzymatischen Verzuckerung sowie Fermentation der enthaltenen Zucker um Ethanol und andere Produkte zu produzieren.<sup>3,4</sup> Lignocellulosehaltige Biomasse, auch innerhalb einer Sorte, ist heterogen und die chemische Zusammensetzung unterscheidet sich aufgrund unterschiedlicher agronomischer Bedingungen, Ort, und Klima. Diese Unterschiede in der Zusammensetzung spielen eine wichtige Rolle für die biomechanischen Eigenschaften, in Effizienz der Energieumwandlung und im Verzuckerungspotential für die Ethanolproduktion. Auch die unterschiedlichen Reifestadien führen zu Unterschieden in der chemischen Zusammensetzung des Weizenstrohs.<sup>5,6,7,8</sup> Daher ist es notwendig die chemische Zusammensetzung der lignocellulosehaltigen Biomasse zu bestimmen um Bioraffinerieprozesse optimieren zu können.<sup>9</sup>

Das Aufschließen der lignocellulosehaltigen Biomasse, zur Gewinnung der monomeren Kohlenhydrate, wird derzeit durch Mahlung der Rohstoffe mit anschließender Säurehydrolyse realisiert. Wenn dies mit Salzsäure durchgeführt wird, führt es direkt zu den Monomeren Glucose und Xylose. Die Reaktionsführung ist exotherm und es entstehen Abbauprodukte wie Furfural und Lävulinsäure, wobei die Bildung durch geeignete Enzymzusätze verhindert werden kann. Die enzymatische Hydrolyse besitzt derzeit noch einige Nachteile, wie lange Reaktionszeiten, ungünstiges Substrat zu Enzymverhältnis und das vorgeschaltene Pulping, das sehr

energieaufwendig ist. Das chemische Pulping als Vorbehandlung ist notwendig um die Polysaccharide zum enzymatischen Abbau zugänglich zu machen.<sup>10, 11</sup>

Es gibt mehrere „Phasen“ der Bioraffinerie. Eine „Phase I-Bioraffinerie“ kann nur einen Rohstoff zu einem Hauptprodukt verarbeiten, wie z.B. bei der Ethanol-Produktion aus Getreide (Trockenmühl-Ethanol-Herstellung). Die „Phase II-Bioraffinerie“ kann einen Rohstoff, jedoch zu mehreren Hauptprodukten umsetzen. Den höchsten Grad an Flexibilität, jedoch sehr komplex umzusetzen, bietet die „Phase III-Bioraffinerie“.

*„Eine „Phase III-Bioraffinerie“ kann nicht nur eine Vielzahl von Chemikalien, Brennstoffen, Zwischen- und Endprodukten produzieren, sie kann auch verschiedene Arten von Rohstoff- und Prozessmethoden nutzen, um Produkte für den industriellen Markt herzustellen.“<sup>11</sup>*

In Abbildung 1 ist ein Schema zur Lignocellulose Feedstock Bioraffinerie (LCF-Bioraffinerie) angegeben.

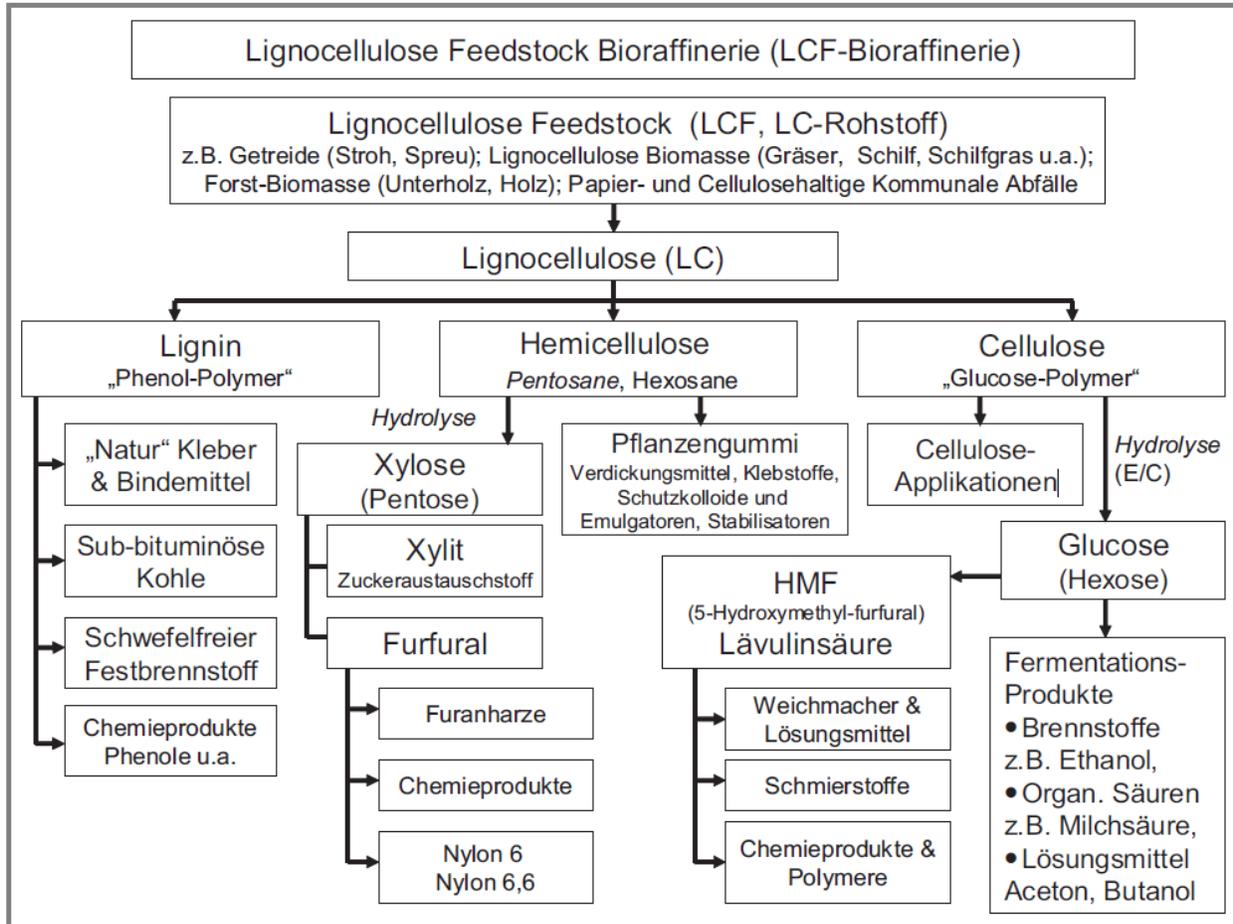


Abbildung 1 Biorefinerieschema von lignocellulosehaltiger Biomasse <sup>11</sup>

### Hauptkomponenten von lignocellulosehaltigen Pflanzen

Die Zellwand in lignocellulosehaltigen Pflanzen besteht hauptsächlich aus Cellulose, Hemicellulose und Lignin. Die Cellulose-Moleküle ordnen sich regelmäßig in Bündel an und bestimmen maßgeblich das Gerüst der Zellwand. Diese Bündel werden Mikrofibrillen genannt, die sich aus ca. 40 Glucose-Ketten zusammensetzen und über Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Ketten stabilisiert werden.<sup>12,13</sup> In Abbildung 2 ist der Aufbau von Lignocellulose dargestellt.

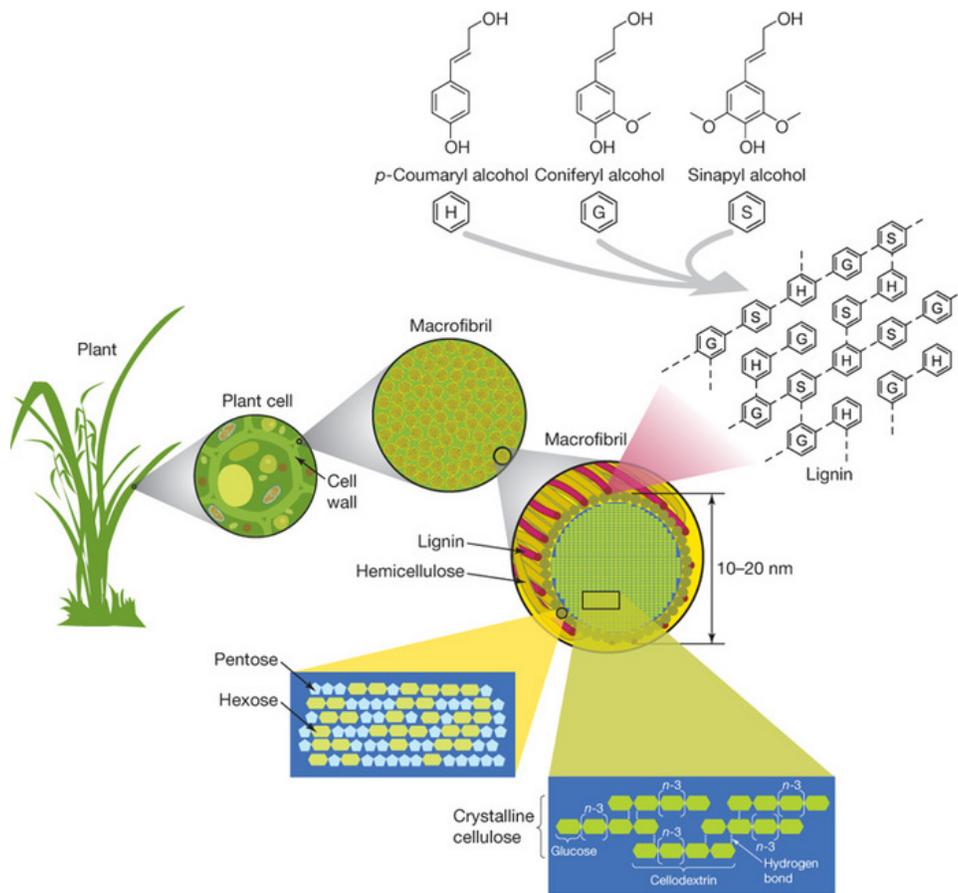


Abbildung 2 Aufbau von Lignocellulose mit den Hauptbestandteilen, Cellulose, Hemicellulose und Lignin (Rubin E. Nature 2008) <sup>14</sup>

Die Fasern werden ausgefüllt mit Hemicellulose und Lignin.<sup>29</sup> Zwischen Cellulose, Hemicellulose und Lignin treten unterschiedliche Bindungen auf, wobei die drei Hauptkomponenten hauptsächlich über Wasserstoffbrückenbindungen verbunden sind. Zusätzlich treten zwischen Hemicellulose und Lignin chemische Bindungen auf. Diese wirken sich auch auf das Lignin, das aus lignocellulosehaltigen Pflanzen isoliert wird aus, welches immer einen kleinen Anteil an Polysacchariden enthält.<sup>13</sup> Die chemischen Bindungen, die zwischen Hemicellulose und Lignin auftreten, sind meist auf chemische Bindungen zwischen Arabinose und Galactose-Reste an den Seitenketten der Hemicellulose und Lignin-Moleküle zurückzuführen, wie die Forschung an Hemicellulose-Lignin-Komplexen (LCCs) zeigt.<sup>15,16</sup> Das Zellwandmodell steht immer noch unter Diskussion, wie auch ob chemische Bindungen zwischen Cellulose und Lignin bestehen. In der Dissertation von Martin Lawoko<sup>17</sup> wird behauptet, dass chemische Bindungen zwischen Cellulose und Lignin bestehen und dass Lignin die Polysaccharid-Hauptkomponenten untereinander vernetzt.

Die Zellwand besteht aus Cellulose, Hemicellulose und Lignin in einem Verhältnis von ca. 4:3:3 wobei diese je nach Quelle wie z.B. Laub- und Nadelhölzer oder auch krautige Pflanzen variiert.<sup>13</sup> In Tabelle 1 ist eine allgemeine Zusammensetzung und Struktur der Zellwand von Pflanzen angegeben. Die exakte chemische Zusammensetzung von Hemicellulose und Lignin unterscheidet sich auch je nach Quelle der lignocellulosehaltigen Biomasse.

Tabelle 1 Zusammensetzung und Struktur der Zellwand von Pflanzen<sup>13</sup>

	Lignin	Hemicellulose	Cellulose
Subunits	Guaiacylpropane (G), syringylpropane (S), p-hydroxyphenylpropane (H)	D-Xylose, mannose, L-arabinose, galactose, glucuronic acid	D-Pyran glucose units
Bonds between the subunits	Various ether bonds and carbon-carbon bond, mainly $\beta$ -O-4 ether bond	$\beta$ -1,4-Glycosidic bonds in main chains; $\beta$ -1.2-, $\beta$ -1.3-, $\beta$ -1.6-glycosidic bonds in side chains	$\beta$ -1,4-Glycosidic bonds
Polymerization	4,000	Less than 200	Several hundred to tens of thousands
Polymer	G lignin, GS lignin, GSH lignin	Polyxylose, galactoglucomannan (Gal-Glu-Man), glucomannan (Glu-Man)	$\beta$ -Glucan
Composition	Amorphous, inhomogeneous, nonlinear three-dimensional polymer	Three-dimensional inhomogeneous molecular with a small crystalline region	Three-dimensional linear molecular composed of the crystalline region and the amorphous region
Bonds between three components	Contain chemical bond with hemicellulose	Contains chemical bond with lignin	Without chemical bond ?

## Weizenstroh

Weizenstroh ist ein Nebenprodukt bei der Herstellung von Weizen, wobei der trockene Stängel, nach der Entfernung von Weizenkorn und Spreu übrig bleibt. 2010 belief sich die Produktion von Weizen auf 47,8 %, rund 136 Millionen Tonnen, der gesamten Getreideproduktion in den EU-27 Ländern.

Die bessere Nutzung von Weizenstroh könnte neben der Unterstützung von unterschiedlichen Bereichen wie chemische und Fermentations-Industrie, Medizin, Viehzucht-Streu, Bio-Holzkohle, Bio-Treibstoffe auch ein zusätzliches Einkommen für die Landwirte bedeuten.

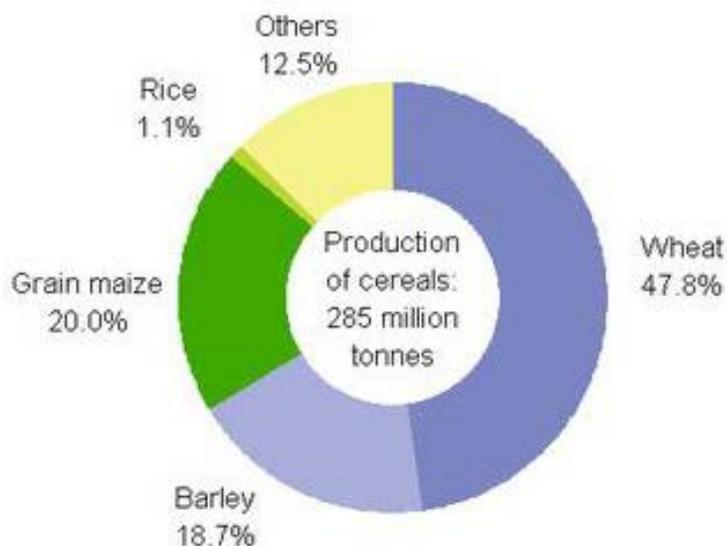


Abbildung 4 Getreideproduktion 2010 in EU-27 (% bezogen auf Tonnen) [Eurostat]<sup>18</sup>

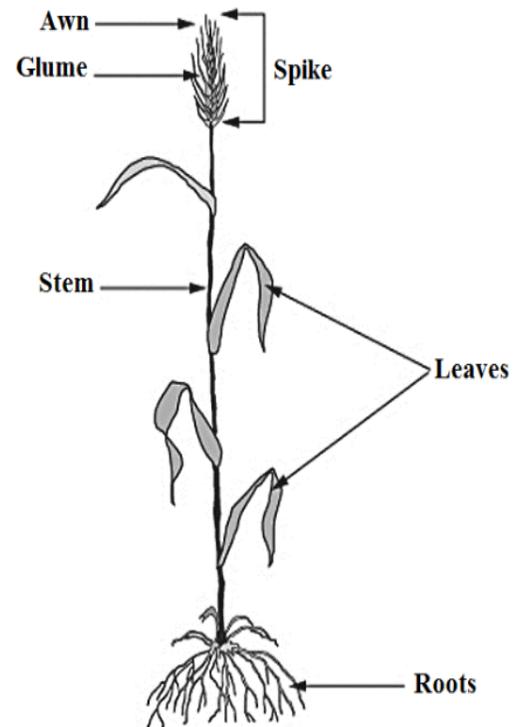


Abbildung 3 Morphologie der Weizenstrohpflanze<sup>19</sup>

Dies könnte als fördernder Faktor für einen effizienten Anbau, Ernte, Handhabung und die ganzheitliche Nutzung von Weizenstroh sorgen.<sup>19,20</sup>

*Tabelle 2 Hauptbestandteile Weizenstroh Literaturwerte<sup>20</sup> und eigene Messung*

	Glucan [%]	Hemicellulose [%]	Asche [%]	Lignin [%]	Extraktivstoffe [%]	Proteine [%]
Weizenstroh gemessen	29,2	23,9	2,1	17,3	4,6	-
Weizenstroh Literatur	33,7-40	21-26	7-9,9	11-22,9	-	3,6

Wie die meisten lignocellulosehaltigen Pflanzen besteht auch Weizenstroh hauptsächlich aus Cellulose, Hemicellulose und Lignin. In Abbildung 5 ist ein chemischer und biotechnologischer Stammbaum von Getreide dargestellt. Neben der Verwendung von Korn für Nahrungsmittel bieten sich ausgehend von Stärke zahlreiche chemische und biotechnologische Anwendungen. Die Verwendung von Weizenstroh für die Herstellung von Chemikalien hat den Vorteil nicht in Konkurrenz mit der Nahrungsmittelindustrie zu stehen, befindet sich jedoch aufgrund der aufwendigen Aufschlussbedingungen und der schwierigen Auftrennung von Cellulose, Hemicellulose und Lignin noch im Entwicklungsstadium.

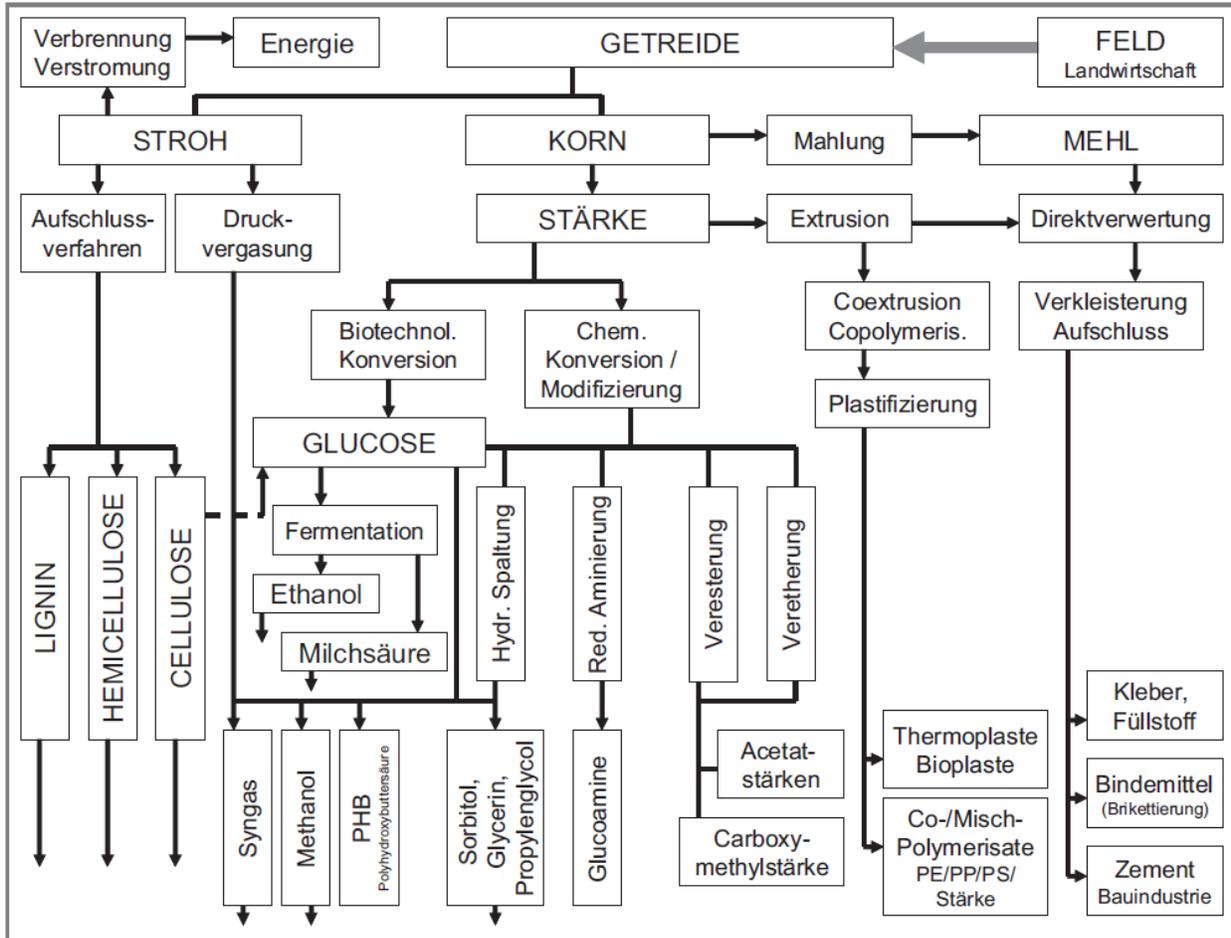


Abbildung 5 Chemischer und biotechnologischer Stammbaum von Getreide <sup>11</sup>

## Cellulose

Cellulose ist das häufigste vorkommende organische Polymer in der Pflanzenwelt. Cellulose ist ein lineares Glucan und besteht aus  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4) glycosidisch verknüpften D-Glucose-Einheiten. Die kleinste sich wiederholende Einheit ist ein Disaccharid aus 2 D-Glucose-Einheiten und wird Cellobiose genannt. Die  $\beta$ -Verknüpfung verlangt, dass der Pyranosering bei jeder zweiten Glucose-Einheit um  $180^\circ$  um die C(1)-C(4) Achse gedreht ist. Die sich wiederholende Cellobiose-Einheit besitzt eine Länge von 1,3 nm. Obwohl auf beiden Enden der Cellulose-Kette OH-Gruppen sitzen, zeigen diese ein unterschiedliches chemisches Verhalten. Am C(1) ist eine Aldehyd-Hydrat-Gruppe, die aus der Formation des Pyranoserings durch intramolekulare Hemiacetalreaktion stammt, welche reduzierende Eigenschaften besitzt. (siehe Abbildung 6) Die OH-Gruppe am C4 ist eine alkoholische Hydroxy-Gruppe, die als solche nicht reduzierende Eigenschaften besitzt.<sup>21</sup> In Abbildung 7 ist eine schematische Darstellung einer Cellulose-Kette mit reduzierender und nicht

reduzierender Endgruppe dargestellt. Die Anhydroglucoseeinheit (AGU), ein Glucose-Monomer abzüglich ein H<sub>2</sub>O-Molekül, wird verwendet um den Polymerisationsgrad zu bestimmen. In der AGU sind 3 Hydroxy-Gruppen, sekundär an C(2) und C(3) und primär an C(6), vorhanden. In kristallographischen und NMR-spektroskopischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die D-β-Glucose in Pyranose-Ring Form existiert und als Sessel-Konformation vorliegt, da diese am energetisch günstigsten ist.<sup>22,23,24</sup>

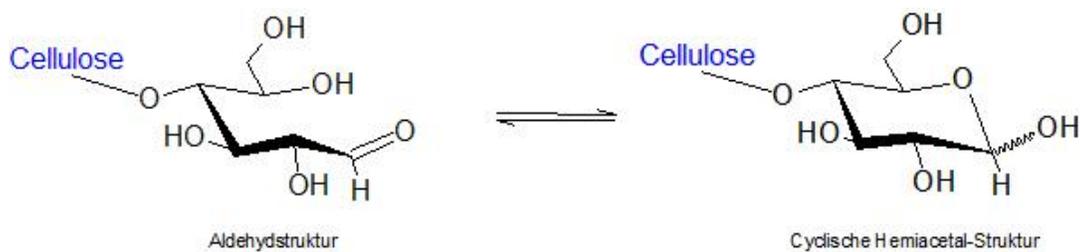


Abbildung 6 Gleichgewicht zwischen Aldehydstruktur und cyclischer Hemiacetal-Struktur am reduzierenden Ende der Cellulosekette

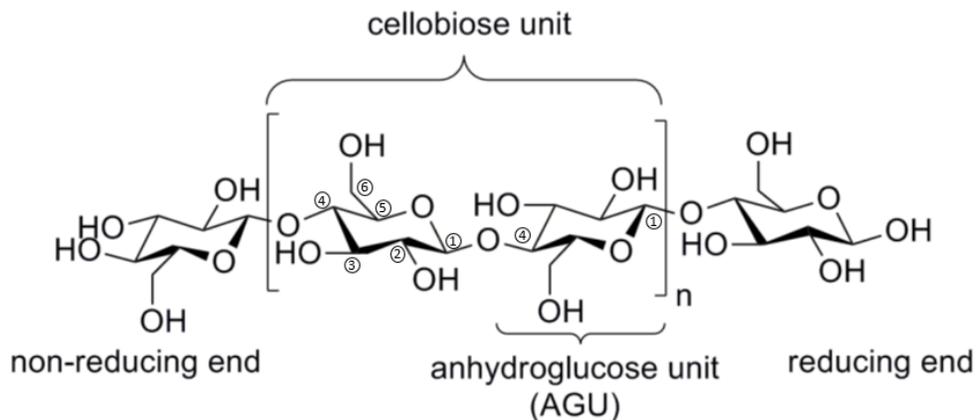


Abbildung 7 schematische Darstellung einer Cellulose-Kette, der Anhydroglucose-Einheit sowie der Cellobiose-Einheit mit reduzierendem und nicht reduzierendem Ende. (Nach Olsson, C. & Westman<sup>25</sup>)

Aufgrund der vielen freien OH-Gruppen bilden sich innerhalb und zwischen den Cellulose-Ketten intra- und intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen aus. Die intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen sind teilweise verantwortlich für die Linearität und Steifigkeit der Polymerkette. Die vorwiegende intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung findet zwischen der OH-Gruppe am C(3) und dem Sauerstoff an C(5). (O3H-O5') Auch O2H-O6' Wasserstoffbrückenbindungen kommen in einigen kristallinen Strukturen vor. (siehe Abbildung

8) Intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen führen zu kristallinen Strukturen und anderen supramolekularen Anordnungen. Reine Cellulose kommt in unterschiedlichen Allomorphen Formen vor. Native Cellulose wird als Cellulose I bezeichnet und kristallisiert gleichzeitig in zwei Formen,  $I_\alpha$  (triklin) und  $I_\beta$  (monoklin), in welchen die Celluloseketten parallel gepackt sind. In regenerierter oder merzerisierter Cellulose sind die Celluloseketten antiparallel gepackt (Cellulose II).<sup>26</sup> Cellulose I und II besitzen unterschiedliche Wasserstoffbrückenbindungen. Bei Cellulose I kommen neben der O3H-O5' Wasserstoffbrückenbindung, die auch in Cellulose II vorkommt, O2H-O6 und O6H-O3-Bindungen vor, während bei Cellulose II O6H-O2-Bindungen vorkommen.<sup>21,26</sup> (Siehe Abbildung 8 und Abbildung 9) Cellulose besitzt kristalline und amorphe Bereiche. Die intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen in den kristallinen Bereichen sind zahlreicher vorhanden und stärker als in den amorphen Bereichen. Daher ist auch die Faser in diesem Bereich stärker und sie schützen die Cellulose vor dem Schmelzen. In den schwächeren amorphen Bereichen können die Ketten mit anderen Molekülen, wie z.B. Wasser Wasserstoffbrückenbindungen eingehen. Daher bekommt die Cellulosefaser ihr hygroskopisches und hydrophiles Verhalten und schwillt in Wasser aber löst sich nicht darin.<sup>27, 28</sup>

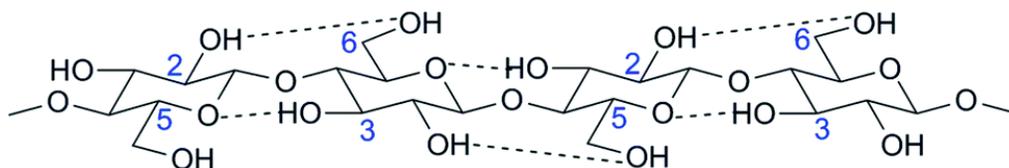


Abbildung 8 Intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen bei Cellulose <sup>28</sup>

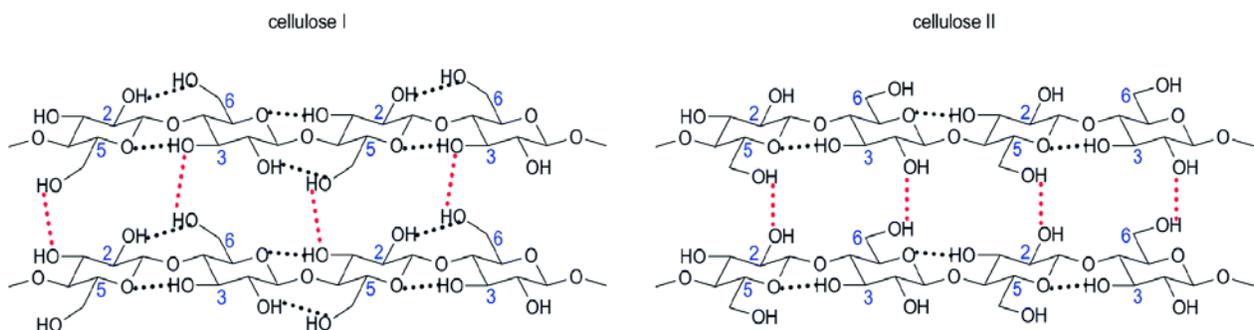


Abbildung 9 Intra- und Intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen bei Cellulose I und II. <sup>28</sup>

## Hemicellulose

Der Begriff Hemicellulose fungiert als Sammelbegriff für ein, in Biomasse vorkommendes Gemisch an Polysacchariden, deren Monomere Pentosen, Hexosen, Uronsäuren und Desoxyzucker sind. Die Hauptkette kann aus nur einer Einheit, Homopolymer, oder aus 2 oder mehr Einheiten, Heteropolymer, bestehen. Einige Einheiten kommen hauptsächlich als Seitenketten vor, wie z.B. Galactose und 4-O-Methylglucuronsäure. Aufgrund der vielen Möglichkeiten zur Verzweigung unterscheiden sich die Hemicellulosen unterschiedlicher Pflanzen deutlich untereinander.<sup>29</sup>

Weizenstroh-Hemicellulosen bestehen größtenteils aus L-arabino-(4-O-methyl-D-glucurono)-D-xylan. (AGX: Arabinoglucuronxylan). Das  $\beta$ -Xylopyranose-Gerüst ist substituiert mit  $\alpha$ -D-Glucuronsäure (GlcA, Uronsäure der D-Glucose), hauptsächlich MeGlcA an C-2 und  $\alpha$ -L-Arabinofuranose am C-3.<sup>30</sup> In Abbildung 10 ist die Primärstruktur von L-arabino-(4-O-methyl-D-glucurono)-D-xylan abgebildet. Die Xylan-Kette tritt auch acetyliert auf, weshalb auch bei Aufschlüssen Essigsäure frei wird. Zusätzlich kommen in Weizenstroh neben Wasserstoffbrückenbindungen auch chemische Bindungen zwischen Hemicellulose und Lignin vor.

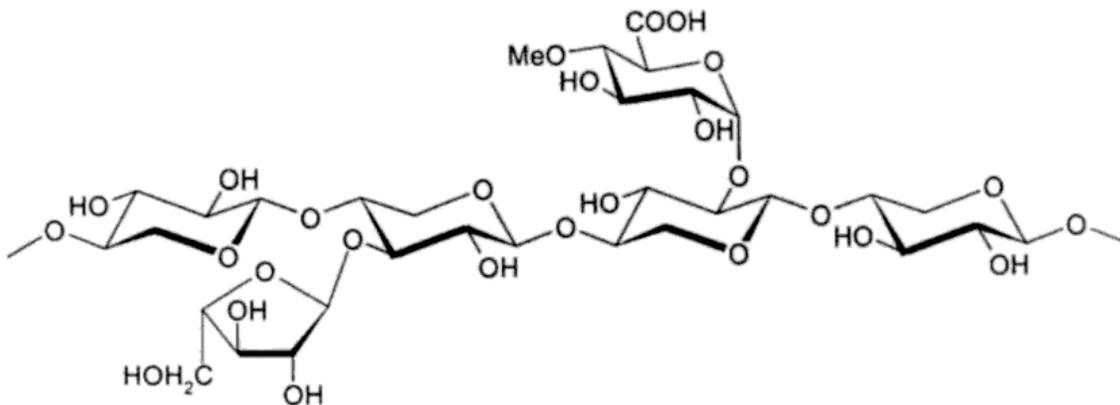


Abbildung 10 Primärstruktur von L-arabino-(4-O-methyl-D-glucurono)-D-xylan<sup>30</sup>

## Lignin

Neben Cellulose, ist Lignin das am häufigsten vorkommende und ein wichtiges organisches Polymer in Pflanzen. Durch die Einlagerung in die Zellwand steigert Lignin die mechanische Festigkeit und ermöglicht, dass z.B. Bäume mit über 100 m Höhe aufrecht bleiben.<sup>29</sup> Der Anteil

von Lignin in unterschiedlichen Pflanzen ist recht unterschiedlich. Während in Holz der Anteil von Lignin zwischen 20 und 40 % liegt, sind z.B. krautige Pflanzen meist weniger stark lignifiziert.<sup>31</sup> Lignin ist ein komplexes Makromolekül welches durch Polymerisation der 3 Hauptvorläufersubstanzen *p*-Coumaryl-, Coniferyl- und Sinapyl-Alkohol (Monolignole) entsteht.<sup>32</sup> Durch enzymatische Dehydrierung der Phenylpropane, gefolgt von einer radikalischen Kupplungsreaktion, wird Lignin aufgebaut. Die phenolischen Alkohole unterscheiden sich in der Anzahl an Methoxy-Gruppen am phenolischen Ring (0-2). Die Funktionalitäten von *p*-Coumaryl-, Coniferyl- und Sinapyl-Alkohol werden in der makromolekularen Ligninstruktur auch Guaiacyl- (G-), Syringyl- (S-) und *p*-Hydroxyphenyl- (H-) Gruppen genannt. Diese Gruppen sind mit Ether (meist  $\beta$ -O-4)<sup>33</sup> - und verschiedenen Arten von C-C-Bindungen untereinander verbunden.<sup>34</sup>

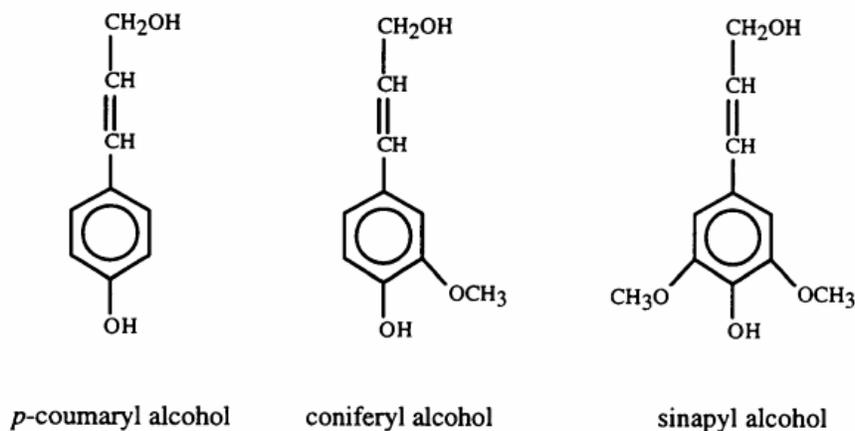


Abbildung 11 Grundbausteine von Lignin: *p*-coumaryl, coniferyl und sinapyl-alkohol<sup>35</sup>

Basierend auf 200 Fraktionen von Polysacchariden und Ligninen von Weizenstroh wurde eine provisorische Struktur von Runcang Sun, J.M. Lawther und W.B. Banks vorgeschlagen.<sup>36</sup> Diese ist in Abbildung 12 ersichtlich.

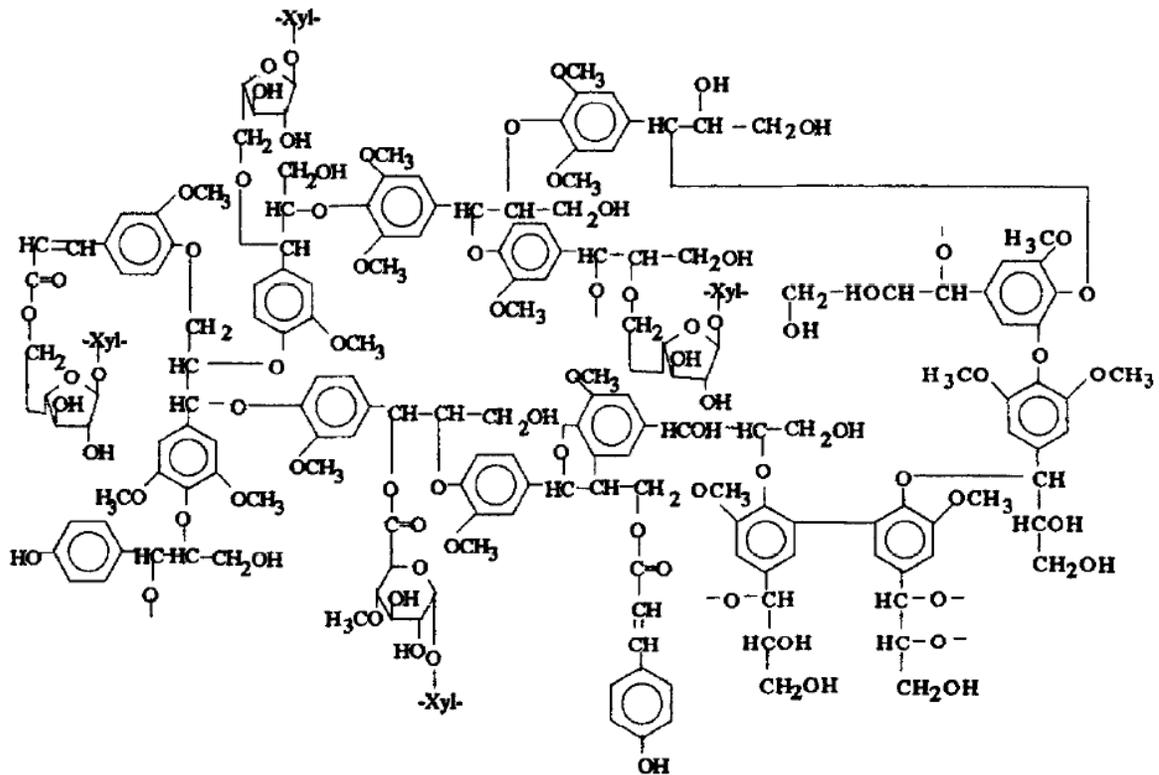


Abbildung 12 Eine provisorische Struktur von Weizenstroh-Lignin <sup>36</sup>

Natives Lignin ist kaum wasserlöslich und verantwortlich für die strukturelle mechanische Festigkeit in lignocellulosehaltigen Pflanzen, sowie für die hohe Resistenz gegen mikrobiellen Angriff und oxidativen Stress. <sup>29,37</sup>

### Heißwasserbehandlung (Liquid-Hot-Water; LHW)

Die Heißwasserbehandlung wird als Vorbehandlung von Biomasse vor weiteren Aufschlüssen für die Produktion von z.B. Ethanol verwendet. Dabei wird Wasser bei erhöhten Temperaturen (160-240°C) ohne Zusätze von Chemikalien verwendet, um Biomasse aufzuschließen sowie Hemicellulosen und Lignin aus der Faser zu lösen. Hemicellulose wird meist depolymerisiert und die entstehenden Abbauprodukte werden in der flüssigen Phase gelöst. Bei Lignin treten gleichzeitig Depolymerisations- sowie Repolymerisationsreaktionen auf. <sup>38</sup> Der Großteil des unlöslichen Lignins bleibt in den festen Rückständen, es wurden aber auch Lignin-„Tröpfchen“, die sich auf der Oberfläche der Faser niederschlagen, bei LHW-Behandlung gefunden. <sup>39</sup>

Die Vorteile von LHW-Behandlung sind der Verzicht auf zusätzliche Chemikalien neben Wasser und daher geringer Materialabtrag des Reaktors und dass relativ wenig Inhibitoren für eine nachfolgende enzymatische Hydrolyse und Fermentation gebildet werden.<sup>40,41</sup>

### **Organosolv**

Die Organosolvbehandlung dient dem gleichzeitigen Abbau von Lignin und Hemicellulose, sowie dem in Lösung bringen von Lignin-Fragmenten aus lignocellulosehaltigem Material unter Anwesenheit von organischen Lösemitteln teilweise gemischt mit Wasser. Mit den organischen Lösemitteln werden Lignin und Hemicellulosen unter erhöhter Temperatur in Lösung gebracht und es bleibt die mehr oder weniger reine Cellulose als Feststoff übrig. Übliche Lösemittel sind Methanol, Ethanol, Aceton, Ethylenglykol und Ethylacetat.<sup>42</sup> Durch die OH-Gruppe des Alkohols werden die Ester-Bindungen der Lignin-Hemicellulose-Komplexe angegriffen. Die Spaltung der Ether-Bindungen in Lignin und die leichte Hydrolyse der glykosidischen Bindungen in Hemicellulose sind wichtig für den Abbau der aromatischen Verbindungen und Polysaccharide der Lignocellulose. Der Vorteil von leichtflüchtigen Lösemitteln ist die relativ einfache Möglichkeit zur Rückgewinnung durch Destillation. Die Zugabe von Katalysatoren, wie organische und anorganische Säuren, hilft beim Aufbrechen der internen Lignin-Hemicellulose-Bindungen und verbessert den Organosolvprozess bei niedrigeren Temperaturen. Bei dieser Vorbehandlung findet eine gleichzeitige Vorhydrolyse und Delignifizierung der lignocellulosehaltigen Biomasse statt. Außerdem wurde herausgefunden, dass bei der Anwesenheit von organischen Lösemitteln die Cellulose quillt und die Kristallinität reduziert wird.<sup>43,44</sup>

Momentan ist die Organosolvbehandlung noch nicht ökonomisch erfolgreich realisierbar. Aufgrund umfangreicher Waschschriffe mit organischen Lösemitteln, um das Ausfallen von Lignin vor dem Waschen mit Wasser zu verhindern, entstehen aufwendige und teure Waschanordnungen. Zusätzlich erhöht die Rückgewinnung (meist Destillation) der organischen Lösemittel den Energiebedarf des Prozesses.<sup>45</sup>

## Hydrolyse von Polysacchariden

Bei Aufschlüssen von lignocellulosehaltiger Biomasse bei erhöhten Temperaturen, wie z.B. mit einem Organosolv-Aufschluss, treten hydrothermale Abbaureaktionen der Polysaccharide auf. Dabei werden durch Hydrolyse die Polysaccharide Cellulose und Hemicellulose in die zugehörigen Monomere Glucose und Xylose gespalten. Hemicellulosen sind für Abbau anfälliger aufgrund der verschiedenen Seitengruppen, da im Unterschied zu Cellulose weniger Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden können und so die Zugänglichkeit höher ist. Da in Lignin viele Etherbindungen vorliegen kann so auch Abbau von Lignin stattfinden.<sup>29,46</sup>

Das Xylan in Hemicellulosen, oder auch Seitengruppen liegen oft acetyliert vor und so entsteht bei Aufschlüssen mit erhöhter Temperatur auch Essigsäure.<sup>46,47,48</sup> In Abbildung 13 sind einige Abbauprodukte, die bei Aufschlüssen von lignocellulosehaltiger Biomasse bei erhöhter Temperatur entstehen können, angegeben.

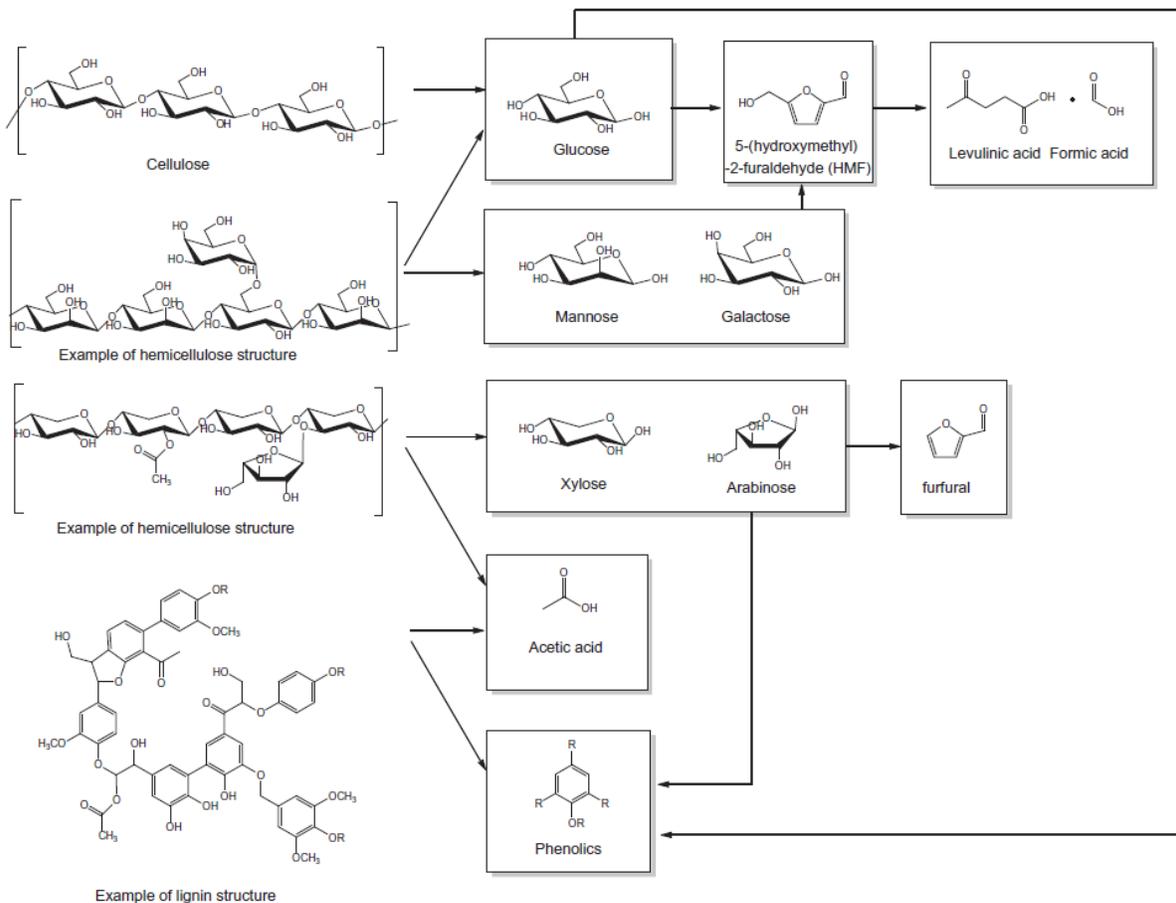


Abbildung 13 Abbauprodukte Cellulose, Hemicellulose und Lignin in der Bioraffinerie<sup>48</sup>

### **Nasschemische Analyse der Zusammensetzung von lignocellulosehaltiger Biomasse**

Durch eine zweistufige Hydrolyse (zuerst ca. 72 Gew.-%  $H_2SO_4$  und danach bei erhöhter Temperatur 100-125°C mit verdünnter  $H_2SO_4$ ) der lignocellulosehaltigen Biomasse mit Schwefelsäure können Polysaccharide in die jeweiligen Monosaccharide überführt und ein Teil des vorhandenen Lignins (säurelösliches Lignin) in Lösung gebracht werden. Durch Gaschromatographie oder Ionenchromatographie können die Monosaccharide qualitativ und quantitativ analysiert werden, liefern aber keine Information darüber, wie sich diese in den Polysacchariden wie z.B. der Hemicellulose zusammensetzen. Lignin in Lösung kann mittels UV-Absorption und säureunlösliches Lignin und Aschegehalt durch den in Schwefelsäure unlöslichen Feststoff quantifiziert werden. Vor der Hydrolyse muss die lignocellulosehaltige Biomasse von Extraktstoffen bereinigt werden. Dafür sind offizielle Test-Methoden wie z.B. von TAPPI (Technical Association of the Pulp and Paper Industry) verfügbar, die in dieser Arbeit verwendet wurden.

Die nasschemische Bestimmung der Zusammensetzung liefert verlässliche Werte, jedoch ist sie auch sehr zeit- und arbeitsintensiv.

### **Lösen von Cellulose und Analyse mittels HPSEC (High Performance Size Exclusion Chromatography)**

Natürliche Polysaccharide wie Cellulose und auch Hemicellulose besitzen kein exaktes Molekulargewicht, sie sind polydispers. Das heißt sie besitzen eine Verteilung von Molekülen mit unterschiedlichen Kettenlängen. Daher werden zur Beschreibung der Molekulargewichte von natürlichen Polysacchariden aus gemessenen Molekulargewichtsverteilungen durchschnittliche Molekulargewichte berechnet.<sup>49</sup>

Diese Molekulargewichtsverteilung lässt sich mittels HPSEC, bei der die gelösten Polymerketten nach ihrem hydrodynamischen Durchmesser aufgetrennt werden, ermitteln. Dafür muss das Polysaccharid von Interesse vollständig gelöst sein.<sup>50</sup>

## Lösen von Cellulose

Cellulose-Moleküle stabilisieren sich über intra- und intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen. Einzelne Bindungen sind nicht sehr stark, jedoch die große Anzahl und die Tendenz der Cellulose sich in kristalline Regionen zu ordnen, erschwert das Lösen enorm. Zusätzlich steht die Cellulose in lignocellulosehaltiger Biomasse in engem Kontakt mit Hemicellulose und Lignin, mit denen durch das Ausbilden weiterer Wasserstoffbrückenbindungen ein sehr schwer aufzulösendes makromolekulares Netzwerk entsteht. Cellulose, Hemicellulose und Lignin gehen typischerweise in ihrer isolierten Form in Lösung.<sup>50</sup> Durch diese „Verflechtung“ wird die Zugänglichkeit des Lösemittels erschwert und jene ist ein Schlüsselfaktor für das Lösen der Cellulose.<sup>51</sup>

Lösemittel für Cellulose sind entweder derivatisierend oder nicht derivatisierend. Einige nicht derivatisierende Lösemittel, inklusive wässrige Metallkomplexe wie Kupfer-Ethylendiamin und Cadmiumoxide in Ethylendiamin, tragen leider zum Abbau der Cellulose bei.

N,N-Dimethylacetamid / Lithiumchlorid (DMAc / LiCl) ist ein nicht derivatisierendes Lösemittel für Cellulose mit dem auch HPSEC betrieben und dadurch Molekulargewichtsverteilungen gemessen werden können. Ein übliches System ist die Kombination von HPSEC mit RI-Detektor und Multi Angle Laser Light Scattering (MALLS) im System DMAc / LiCl.<sup>52,53</sup> MALLS hat den Vorteil einer absoluten Analyseverfahren die keine Kalibration benötigt, da Molekulargewicht und (root mean square)RMS-Radius aus der Intensität an gestreutem Licht und dem Streuwinkel direkt bestimmt werden können.<sup>54</sup>

Wenn kein MALLS-Detektor zur Verfügung steht kann nur eine Kalibration mit synthetischen Polysacchariden, wie Pullulan-oder Polystyrenstandards erstellt werden, da es keine engverteilten Cellulose-Standards gibt.

In Abbildung 14 sind die Unterschiede im Molekulargewicht von Cellulose-Proben mit großem Molekulargewichtsbereich, die einerseits mittels HPSEC mit Pullulan-Kalibration (HPSEC / RI-Detektor) und andererseits mit HPSEC / RI / MALLS-Detektor bestimmt wurden angegeben. Die Pullulan-Kalibration liefert bei niedrigeren Elutionszeiten, also hohen Molekulargewichten, bei denen auch Cellulose eluiert, höhere Werte als die Kalibration, die mit dem HPSEC / RI / MALLS-Detektor System erstellt wurde.

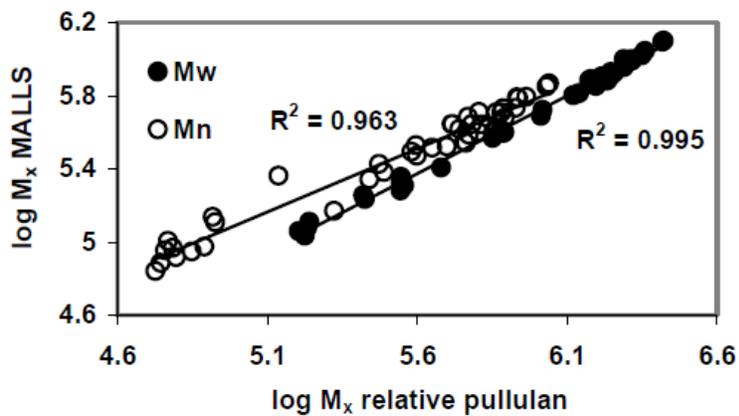


Abbildung 14 Unterschiede im Molekulargewicht einer Celluloseprobe, mit großem Molekulargewichtsbereich, bestimmt durch eine Pullulan-Kalibration oder mit MALLS-Detektor<sup>55</sup>

Die empirisch bestimmten Zusammenhänge in Formel 1 und Formel 2 können verwendet werden um die Molekulargewichte, bestimmt durch eine Pullulan-Kalibration auf richtigere Molekulargewichte, gemessen durch MALLS, umzurechnen.<sup>55</sup>

Für genauere Werte müssten die empirischen Zusammenhänge mit dem gleichen Material bestimmt werden, wie die zu bestimmenden Proben.

Formel 1 Korreliertes Mw zwischen Detektion mit Pullulan-Kalibration und MALLS-Detektor<sup>55</sup>

$$M_{w,Correlated} = (4.00 \pm 1.08) \times M_{w,Pull}^{(0.85 \pm 0.02)}$$

Formel 2 Korreliertes Mn zwischen Detektion mit Pullulan-Kalibration und MALLS-Detektor<sup>55</sup>

$$M_{n,Correlated} = (43.8 \pm 25.3) \times M_{n,Pull}^{(0.69 \pm 0.04)}$$

$M_{w,Pull}$ ... Molekulargewicht Mw bestimmt durch Pullulan-Kalibration

$M_{n,Pull}$ ... Molekulargewicht Mn bestimmt durch Pullulan-Kalibration

Bei erhöhten Temperaturen während des Löseprozesses in DMAc / LiCl kommt es auch zum Abbau von Cellulose. Es ist gezeigt worden, dass beim Lösen in DMAc / LiCl bei erhöhten Temperaturen (>85°C) Keteniminium-Kationen über das Enol durch eine thermische Elimination gebildet werden und diese die glycosidische Bindung zwischen den einzelnen Cellulose-Monomeren aufbrechen können.<sup>56</sup>

### **Lösemittelaustausch**

Der Lösemittelaustausch spielt eine wichtige Rolle beim Lösen von Cellulose in DMAc / LiCl. Dieser erhöht die molekulare Mobilität und entfernt maßgeblich für den Löseprozess störende Mengen an Wasser<sup>57,58,59</sup>. Außerdem verkürzt der Lösemittelaustausch die messbare Länge der entwirrten Cellulose-Mikrofibrille wobei auch der Aggregationszustand der Mikrofibrille beeinflusst wird.<sup>60,61,62,63</sup>

Diese Veränderungen erleichtern den Zugang von Lösemittelmolekülen und beschleunigen dadurch den Löseprozess. Es wird oft angenommen, dass der Wassergehalt mit den Hydroxy-Gruppen der Cellulose konkurriert, sodass DMAc / LiCl Moleküle keinen Komplex mit der Cellulose bilden können. Wenn die Menge an inhärentem Wasser zu hoch wird fällt gelöste Cellulose als Gel aus.<sup>57</sup>

Für die Bestimmung des Molekulargewichts von Polysacchariden stehen einige Möglichkeiten zur Verfügung. SEC, Light Scattering, Sedimentationsanalyse in Ultrazentrifugation und intrinsische Viskosität werden in der Literatur erwähnt.<sup>64</sup>

### **HPSEC (High Performance Size Exclusion Chromatography)**

Die Kopplung von Size Exclusion Chromatography und HPLC (HPSEC) ermöglicht die Bestimmung von Molekulargewichten, sowie auch ihre statistische Verteilung. Daraus folgend ist auch die Breite dieser Verteilung, die Polydispersität, bestimmbar.<sup>65</sup> Bei der HPSEC werden Moleküle aufgrund ihrer Größe, bzw. nach ihrem hydrodynamischen Durchmesser aufgetrennt.<sup>66</sup> In Abbildung 15 ist das Prinzip der Auftrennung der Analyten bei der SEC dargestellt.

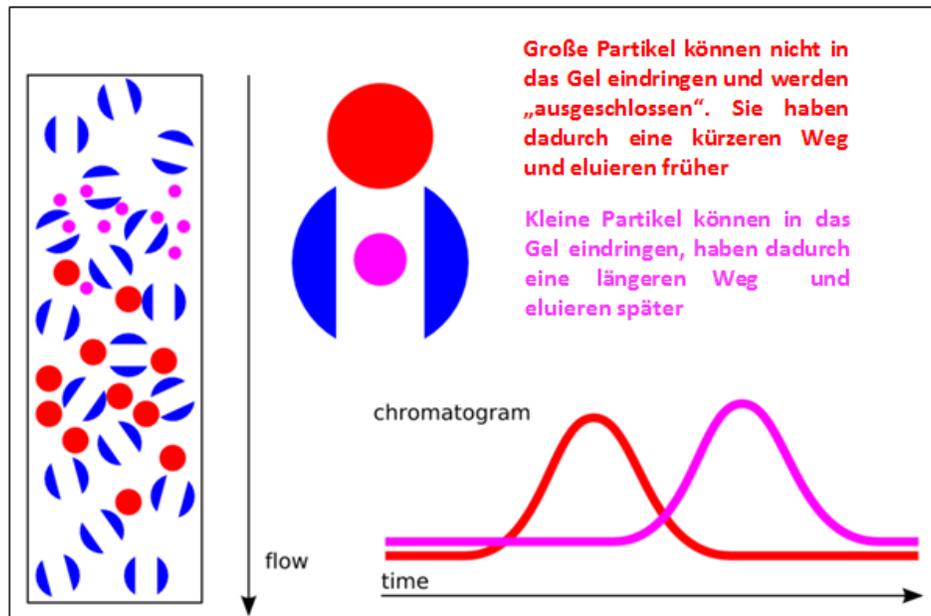


Abbildung 15 Prinzip der Auftrennung in der Size Exclusion Chromatography (nach Isaac Yonemoto <sup>67</sup>)

Wenn man einen RI- (Refractive Index) Detektor mit der HPSEC koppelt, kann man die Menge an Polymer, die zu einer bestimmten Retentionszeit, bzw. Retentionsvolumen eluiert wird, bestimmen. Um von den Retentionszeiten auf Molekulargewichte zu schließen, muss eine Kalibration mit einem Polysaccharid mit bekannten, engverteilten Molekulargewichten durchgeführt werden. Da es keine engverteilten Cellulose Standards gibt, kann nur eine Kalibration mit synthetischen engverteilten Polysacchariden, wie z.B. Pullulan- oder Polystyrenstandards erstellt werden. Eine große Errungenschaft war die Entwicklung von online Detektoren, besonders Light-Scattering-Detektoren.<sup>68</sup> Light-Scattering-Detektoren liefern absolute Molekulargewichte, wie Multi-Angle-Light-Scattering bei dem keine Kalibration nötig ist, da Molekulargewicht und (root mean square)RMS-Radius aus der Intensität an gestreutem Licht und dem Streuwinkel direkt bestimmt werden können.<sup>54,53</sup>

Aus der Molekulargewichtsverteilung können statistische Molekulargewichte berechnet werden, Zahlenmittel  $M_n$  und Gewichtsmittel  $M_w$ . Während  $M_n$  das rein statistische Mittel des Molekulargewichts aller Ketten angibt, berücksichtigt  $M_w$  das Molekulargewicht der einzelnen Kette bei der Berechnung des Anteils am durchschnittlichen Molekulargewicht. Das heißt je

schwerer die Kette, desto mehr trägt sie zum durchschnittlichen Molekulargewicht bei. In Formel 3 und Formel 4 sind die mathematischen Zusammenhänge von  $M_n$  und  $M_w$  angegeben.

*Formel 3 Molekulargewicht Zahlenmittel <sup>69</sup>*

$$M_n = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i}$$

*Formel 4 Molekulargewicht Gewichtsmittel <sup>69</sup>*

$$M_w = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i}$$

$M_i$ ... Molekulargewicht einer Kette

$N_i$ ... Anzahl an Ketten mit diesem Molekulargewicht

Der Polydispersitäts-Index wird dazu verwendet um die Breite einer Molekulargewichtsverteilung zu beschreiben. Dieser ist definiert als der Quotient von  $M_w$  und  $M_n$  (siehe Formel 5)

*Formel 5 Polydispersität <sup>69</sup>*

$$\text{Polydispersität} = \frac{M_w}{M_n}$$

Der Polymerisationsgrad kann in Bezug auf das Zahlenmittel, Gewichtsmittel oder abgeleitet aus Viskosität definiert werden.<sup>70</sup> In Formel 6 und Formel 7 sind die Berechnungen der Polymerisationsgrade in Bezug auf Zahlenmittel und Gewichtsmittel angegeben.

*Formel 6 Polymerisationsgrad Zahlenmittel DP Mn <sup>70</sup>*

$$DP_{Mn} = \frac{M_n}{M_{AGU}}$$

*Formel 7 Polymerisationsgrad Gewichtsmittel DP Mw <sup>70</sup>*

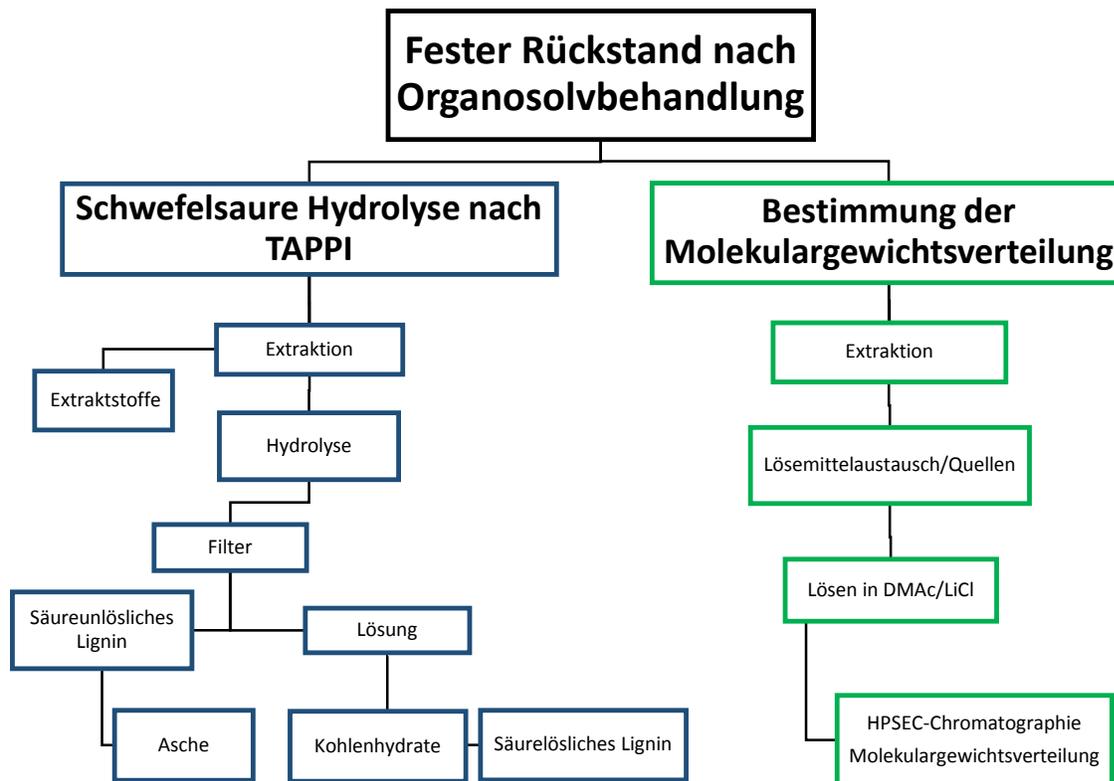
$$DP_{Mw} = \frac{M_w}{M_{AGU}}$$

$M_{AGU}$ ... Molekulargewicht der Anhydroglucoseeinheit

# Materialen und Methoden

## 1. Charakterisierung der festen Proben nach Organosolvbehandlung

Zur Charakterisierung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung wurden zwei unterschiedliche Methoden verwendet. Die Bestimmung der chemischen Zusammensetzung (Kohlenhydrate, Lignin, Asche, Extraktivstoffe, Kappa Zahl) wurde auf Basis etablierter Vorschriften der TAPPI „Technical Association of the Pulp and Paper Industry“ durchgeführt. Für die Bestimmung des Polymerisationsgrades und der Molekulargewichtsverteilung der Cellulose der Stroh-Proben wurde eine Methode entwickelt. In Schema 1 sind der Arbeitsablauf und die verwendeten Methoden dargestellt.



Schema 1 Methoden zur Charakterisierung der festen Stroh-Proben nach Organosolvbehandlung

## 1.1. Charakterisierung der chemischen Zusammensetzung der Weizenstrohfasern aus der Organosolvbehandlung

Die Bestimmung von Kohlenhydraten, säurelöslichem und säureunlöslichem Lignins und des Aschegehalts basiert auf einer schwefelsauren Hydrolyse der Strohproben. Bei der sauren Hydrolyse gehen Kohlenhydrate und säurelösliches Lignin in Lösung während das säureunlösliche Lignin als Feststoff verbleibt. Der Feststoff wird danach in einem Muffelofen verascht. Die erhaltenen Absolutmengen an Extraktstoffen, Lignin, Asche und Zucker wurden auf prozentuelle Anteile der Faser nach der Organosolvbehandlung umgerechnet. Die Proben wurden vor und nach der Extraktion mit einer Gefriertrocknungsanlage (Christ Alpha 1-4 LD plus Lyo Chamber) getrocknet.

### 1.1.1. Extraktion

Die Extraktion der Weizenstrohproben wurde in Anlehnung an T 204 cm-07<sup>71</sup> durchgeführt. Die Weizenstrohproben wurden mit einem Aceton/H<sub>2</sub>O-Gemisch in einem Büchi Speed Extraktor E-916 durchgeführt. In T204 cm-07<sup>71</sup> werden Extraktionen mit Aceton, Dichlormethan und Ethanol/Benzen-Mischung beschrieben. Die Extraktion mit Aceton wurde, aufgrund höherer Ausbeute an Extraktivstoffen, Dichlormethan vorgezogen. Aceton ist Benzen aufgrund von gesundheitlichen und sicherheitstechnischen Gründen (wirkt kanzerogen auf den Menschen<sup>72</sup>) vorzuziehen. Es wurde auch ein Ethanol/H<sub>2</sub>O-Gemisch (95/5) bei der Extraktion als Vergleich zu Aceton in einem Vorversuch getestet, jedoch aufgrund geringerer Ausbeuten verworfen. Die verwendeten Extraktionsbedingungen sind in Tabelle 3 angeführt.

Tabelle 3 Extraktionsbedingungen BÜCHI SPEED EXTRACTOR

Extraktionsbedingungen	
Temperatur [°C]	110
Druck [bar]	110
Zyklusanzahl	4
Zyklusdauer [min]	10
Extraktionsmittel	Aceton / H <sub>2</sub> O : 95/5

## 1.1.2. Hydrolyse

### 1.1.2.1. Säureunlösliches Lignin

Die Bestimmung des säureunlöslichen Lignins der Weizenstrohproben wurde nach TAPPI T 222 om-98<sup>73</sup> durchgeführt. Bei dieser Methode werden Kohlenhydrate und säurelösliches Lignin der Weizenstrohproben mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hydrolysiert und in Lösung gebracht. Das säureunlösliche Lignin wird abfiltriert (Schleicher und Schuell, 589<sup>2</sup> Weißband aschefrei) getrocknet und gravimetrisch bestimmt.

#### Adaptionen zu TAPPI T 222 om-98:

Aufgrund von limitierter Probenmenge aus dem Organosolv-Prozess wurden geringere Mengen an Probe verwendet. (0,2-0,5 g Probe je Bestimmung). Die verwendeten Chemikalien wurden auf die geringeren Probenmengen abgestimmt um gleiche Konzentrationen an H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zu gewährleisten.

### 1.1.2.2. Säurelösliches Lignin

Die Bestimmung des säurelöslichen Lignins wurde nach TAPPI UM 250<sup>74</sup> durchgeführt. Dafür wurde die UV Absorption bei 205 nm der filtrierten Hydrolyselösung (siehe 1.1.2.1) gemessen, die mit der Menge an säurelöslichem Lignin in Lösung zusammenhängt. Der Zusammenhang von UV-Absorption und Menge an gelöstem Lignin ist in Formel 8 angegeben.

*Formel 8 Zusammenhang zwischen UV-Absorption und Menge an säurelöslichem Lignin in Lösung*

$$\text{Lignin} \left[ \frac{\text{g}}{\text{L}} \right] = \frac{\text{Absorption} * \text{Verdünnung}}{\varepsilon \left[ \frac{\text{L}}{\text{g} * \text{cm}} \right] * \text{Weglänge}[\text{cm}]}$$

$\varepsilon = 110 \text{ [L/g*cm}^{-1}\text{]}$  Extinktionskoeffizient verwendet in Formel 8 entspricht einem Durchschnittswert aus unterschiedlichen Hölzern und Zellstoffen<sup>75, 76, 77</sup>

Die so erhaltenen Absolutmengen an Lignin wurden mit dem verwendeten Volumen der Lösung und der Trockenmasse der Weizenstrohproben vor der Extraktion auf prozentuelle Anteile der Faser nach der Organosolvbehandlung umgerechnet.

### 1.1.3. Veraschung

Die Veraschung, des bei der Bestimmung von unlöslichem Lignin (1.1.2.1) erhaltenen Feststoffs, wurde nach TAPPI T211 om-02<sup>78</sup> durchgeführt. Dabei wurde der Feststoff nach Auswaage direkt mitsamt des aschefreien Filters (Schleicher und Schuell, 589<sup>2</sup> Weißband aschefrei) in einen zur Gewichtskonstanz geglühten Glühtiegel überführt, dieser voll gewogen und bei 525°C über Nacht geglüht. Die Differenz der Masse des vollen Tiegels vor und nach der Veraschung liefert den Aschegehalt.

### 1.1.4. Ionenaustauschchromatographie

#### 1.1.4.1. Kohlenhydrate

Die Kohlenhydrate in der aus der Hydrolyse erhaltenen Lösung (siehe 1.1.2.1) wurden mittels Ionenaustauschchromatographie bestimmt. Die Hydrolyselösung wurde 1:20 verdünnt und 10 µl auf die Trennsäule mittels Autosampler aufgegeben.

Es wurden 5 Standards mit 1, 5, 10, 25 und 50 µg/ml Arabinose, Galactose, Glucose, Xylose, Mannose und als interner Standard Fucose hergestellt. Die Parameter der Trennung sind in Tabelle 4 angegeben. Um den Abbau der Kohlenhydrate zu charakterisieren, wurden die zugehörigen Monosaccharide gleichzeitig mit den Proben denselben Bedingungen wie bei der Hydrolyse ausgesetzt. (100°C 3% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Der erste Schritt der Hydrolyse mit 10 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wurde ausgelassen, da laut (Mark W. Davis)<sup>79</sup> die Verluste vernachlässigbar sind. Der Abbau der Monosaccharide wurde auf die gemessenen Kohlenhydrate der Proben übertragen und damit korrigiert.

Da Sulfat-Ionen aufgrund ihrer Wechselwirkung mit der Trennsäule eine Verschiebung der Retentionszeiten der Kohlenhydrate bewirken, wurde bei den verwendeten Standards dieselbe Menge an Sulfat-Ionen in Form von Schwefelsäure zugegeben. Die Sulfat-Ionen verursachen eine Art Memory Effekt, der erst nach einigen Injektionen stabile Retentionszeiten liefert.<sup>79</sup> Daher wurden zu Beginn jedes Messdurchgangs 3-4 Injektionen eines Standards bis zum Erreichen von stabilen Retentionszeiten durchgeführt. Durch diese Methode kann auf die deutlich

aufwendigere und fehleranfälliger Entfernung der Sulfat-Ionen (z.B. Fällung mit BaOH oder CaCO<sub>3</sub>) verzichtet werden.

Vor der Trennung der Kohlenhydrate wird eine Equilibrierung der Trennsäule mit 200 mM NaOH und 500mM Natriumacetat durchgeführt. Die Daten zur Equilibrierung sind in Tabelle 4 aufgelistet. Die Trennung der Kohlenhydrate erfolgte in Wasser, wobei nach der Säule mit Pumpe 2 (siehe Tabelle 4) 200 mM NaOH zugeführt wird um Basislinienstabilität und Detektorsensitivität zu optimieren. Die Detektion von Zuckern an der Goldelektrode funktioniert am besten bei pH  $\geq 12$ .<sup>79</sup>

*Tabelle 4 Systemparameter Ionenaustauschchromatographie*

<b>System</b>	Dionex ICS-5000 <sup>+</sup> DP
<b>Flussraten [ml/min]</b>	Pumpe 1: Multigradient: 0,26 Pumpe 2: Isokratisch 0,13
<b>Eluenten</b>	A) Milli-Q water B) 200 mM NaOH C) 200 mM NaOH +500 mM Natriumacetat
<b>Equilibrierung</b>	11 min 87 % B + 13 % C 6 min 100 % A
<b>Trennung</b>	18 min 100% A
<b>Systemtemperatur [°C]</b>	30
<b>Trennsäule</b>	CarboPac PA1 Carbohydrate Column (2x 250 mm)
<b>Detektor</b>	Pulsed Amperometric Detector (PAD) (Goldelektrode/Ag/AgCl) Referenz pH Elektrode
<b>Injektionsvolumen [µl]</b>	10

### 1.1.5. Kappazahl

Die Kappazahl wird in der Zellstoffindustrie verwendet um die Mengen an Doppelbindungen, die im Zellstoff nach Aufschluss verbleiben, zu bestimmen. Es dient als Maß für die Menge an Lignin im Zellstoff und um den Bedarf an Bleichchemikalien abzuschätzen. Je höher die Kappazahl, desto höher ist die Menge an Lignin und der Bedarf an Bleichchemikalien. Zellstoff mit einer Kappazahl >40 werden meist nicht gebleicht, da dies wirtschaftlich nicht attraktiv ist. Die Kappazahl ist im Bereich von 1-100 definiert. Für Proben, die aufgrund des hohen Lignin-Anteils Kappazahlen über 100 liefern, sollten keine Kappazahlen bestimmt werden. <sup>80</sup>

Die Bestimmung der Kappazahl der Weizenstrohproben wurde nicht experimentell durchgeführt. Es wurde nur eine grobe Abschätzung der Kappazahl anhand des gemäß Kapitel 1.1.2.1 ermittelten, prozentuellen Anteils an Lignin in den Weizenstrohproben durchgeführt. <sup>81</sup>

Die Abschätzung wurde laut TAPPI T 236 om-99 durchgeführt. In Punkt 10.5 des TAPPI Standards wird ein Zusammenhang von Lignin mit der Kappazahl angegeben. (siehe

Formel 9)

*Formel 9 Zusammenhang zwischen Ligningehalt und Kappazahl <sup>81</sup>*

$$Kappazahl = \frac{\text{Anteil Lignin [\%]}}{0,13}$$

## 1.2. Bestimmung des Polymerisationsgrades und der Molekulargewichtsverteilung der Weizenstrohproben aus dem Organosolvprozess

### 1.2.1. Nichtderivatisierendes Lösen

Um den Polymerisationsgrad und die Molekulargewichtsverteilung zu bestimmen wurden Weizenstrohproben nichtderivatisierend in Lösung gebracht und mittels Größenausschlusschromatographie (HPSEC: High Pressure Size Exclusion Chromatography) analysiert. Das Lösen der Proben sowie die chromatographische Auftrennung erfolgte im System DMAc / LiCl.<sup>82</sup>

### 1.2.2. Extraktion

Die Extraktion der Weizenstrohproben für die Bestimmung von Polymerisationsgrad und Molekulargewichtsverteilung wurde wie in 1.1.1 bei selben Parametern in einem Büchi Speed Extraktor durchgeführt.

Dabei sollten Extraktstoffe, sowie schon bei der Organosolvbehandlung gelöste und wieder ausgefallene Stoffe, die durch ungenügendes Waschen auf den Fasern verbleiben, entfernt werden, da nur die bei der Organosolvbehandlung nicht gelösten Anteile analysiert werden sollten.

### 1.2.3. Quellen / Disintegrieren

Für jede Bestimmung wurden 50 mg der extrahierten Weizenstrohprobe in 200 ml H<sub>2</sub>O gequollen und 2 mal 10 Sekunden mit einem Waring Blender gemixt. Dadurch sollen grobe Faserbündel aufgetrennt werden und so die Zugänglichkeit für das Lösemittel erhöht werden. Die gequollenen, aufgetrennten Fasern wurden über eine Glassinternutsche mit 10-16 µm Porenweite (G4) filtriert, trockengesaugt und 2-mal mit Ethanol gewaschen und erneut trockengesaugt.

#### 1.2.4. Lösemittelaustausch

Die Fasern aus 1.2.3 wurden in ein 25 ml Schraubgefäß überführt, 10 ml DMAc zugegeben und leicht über Nacht geschüttelt (Schüttler von Janke & Kunkel, Ika Vibrax-VXR, Typ VX7). Die Fasern wurden über eine Glassinternutsche mit 10-16 µm Porenweite filtriert, trockengesaugt und 3-mal mit ca. 10 ml DMAc gewaschen. Der Lösemittelaustausch dient der Entfernung von gebundenem Wasser in den Fasern, sowie der Erhöhung der molekularen Mobilität<sup>83,84</sup> und agiert damit als Aktivierungsschritt für den Löseprozess in DMAc / LiCl.

#### 1.2.5. Lösen in DMAc / LiCl

Für das nicht derivatisierende Lösen der Weizenstrohproben wurde eine DMAc / LiCl Lösung mit 8,46% LiCl hergestellt, was der Sättigungskonzentration von LiCl in absolut trockenem DMAc entspricht.<sup>85</sup>

Die aktivierten Weizenstrohfaseren wurden mit 10 ml DMAc / LiCl (8,46 %) versetzt und für 12-72 Stunden in einem Klimaschrank bei 32 °C mit einem Magnetrührer mit 15 Rührplätzen gerührt. Der gelöste Anteil der Celluloseproben wurde nach Zentrifugieren abdekantiert und mittels HPSEC charakterisiert. Die nicht gelösten Anteile wurden gewaschen und gravimetrisch bestimmt. (siehe 1.2.6)

#### 1.2.6. Nichtgelöste Anteile

Nicht gelöste Anteile der Weizenstrohproben aus 1.2.5 wurden bei 4°C und 7600 g zentrifugiert (SORVALL RC6 plus Centrifuge Thermo Scientific). Der Überstand wurde nach der Zentrifugation abdekantiert und dann mittels HPSEC charakterisiert. (siehe 1.2.7.1)

Der zentrifugierte Feststoff wurde mit DMAc versetzt um noch gelöste Probe von den nichtgelösten Anteilen zu entfernen, da diese bei dem nachfolgenden Waschschrift mit H<sub>2</sub>O ausfallen und die Menge an nicht gelösten Anteilen verfälschen würden. Die Lösung wurde mit einem Vortexmischer (VORTEX-GENIE K550-GE von Scientific Industries) aufgeschüttelt und wieder bei 4°C und 8000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und der Feststoff mit Wasser versetzt, aufgeschüttelt und über ein tariertes bis zur Gewichtskonstanz

getrocknetes Nylon Filter (Nylon 66 Membranen 0,2 $\mu$ m; SUPELCO) filtriert. Der Filterkuchen wurde mehrmals mit Wasser gewaschen und mitsamt des Filters zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Menge an nicht gelösten Anteilen wurde gravimetrisch bestimmt.

#### *1.2.7. Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung und des Polymerisationsgrades*

Die gelösten Celluloseproben wurden im Verhältnis 1:3 mit DMAc verdünnt und mittels HPSEC analysiert.

##### *1.2.7.1. HPSEC*

Bei der HPSEC werden Cellulose und Hemicellulose nach Kettenlängen bzw. Molekulargewicht aufgetrennt. Zur Detektion der Polysaccharide wurde ein Brechungsindexdetektor verwendet. Die UV-Absorption wurde bei einer Wellenlänge von  $\lambda = 280$  nm gemessen, um eventuell auf den Fasern verbliebenes Lignin mit zu erfassen.<sup>86</sup> Durch die chromatographische Auftrennung nach Kettenlängen kann eine Molekulargewichtsverteilung erstellt und ein durchschnittliches Molekulargewicht, sowie der Polymerisationsgrad bestimmt werden. Außerdem können UV-aktive Substanzen wie z.B. Lignin und Lignin-Kohlehydratkomplexe detektiert werden. Geräte und Parameter der verwendeten Methode sind in Tabelle 5 angegeben. Zur Kalibration wurden Pullulan-Standards mit definierten Molekulargewichten verwendet. (siehe 1.2.7.1.1)

Tabelle 5 Parameter des HPSEC-Systems und der verwendeten Methode

<b>System</b>	Dionex ICS-1100
<b>Flussraten [ml/min]</b>	1
<b>Druck [bar]</b>	30
<b>Eluent</b>	DMAc / LiCl (0,9%)
<b>Trennung [min]</b>	60
<b>Systemtemperatur [°C]</b>	30
<b>Trennsäule</b>	1x 20 µm Guard 50 * 7,5 mm 4x PL gel 20 µm Mixed-A 300 * 7,5 mm
<b>Detektor</b>	Brechungsindex: Shodex RI101 UV: Dionex Ultimate 3000 RS variable wavelength
<b>Injektionsvolumen [µl]</b>	150
<b>Kapillarenmaterial</b>	PEEK

#### 1.2.7.1.1. Pullulan Kalibration und Reproduzierbarkeit der HPSEC

Da keine Cellulose Standards mit engen, definierten Molekulargewichten kommerziell verfügbar sind, wurden Pullulan Standards (PSS Kit Pullulan; Mp (Peak Molecluar Weight: Molekulargewicht am Peak-Maximum) 342-708000; FLUKA Pullulan Standard 2,560000 Mp) verwendet.

Für die Standards 1-10 (Tabelle 6) wurden 20 mg Pullulan in 1 ml DMAc/ LiCl (0,9%) gelöst. Standard 11 mit dem höchsten Molekulargewicht wurde aufgrund der hohen Viskosität in Lösung in einer Konzentration von 10 mg/ml hergestellt. Aus den 11 Standards wurden 3 Mischstandards mit jeweils 3 bis 4 Standards hergestellt. Dafür wurden bei den Mischstandards 1 und 3 jeweils 250 µl von 4 Standards und bei Mischstandard 2 250 µl von 3 Standards + 250 µl DMAc / LiCl (0,9%) vermischt um die gleiche LiCl-Konzentration zu gewährleisten.

Die Molekulargewichte, Polymerisationsgrad sowie die Retentionszeiten der einzelnen Pullulan-Standards, die für die Kalibration verwendet wurden, sind in Tabelle 6 angegeben. Die erstellte Regression ist in Abbildung 16 angegeben.

Die Reproduzierbarkeit der HPSEC wurde mittels der 3 Mischstandards bestimmt. Dafür wurden jeweils 3-mal die 3 Mischstandards gemessen. Von allen 11 Pullulan-Standards wurden die

Retentionszeiten der Peaks bestimmt und die Standardabweichungen berechnet. Diese wurden auf Molekulargewichte umgerechnet und daraus die prozentuellen Abweichungen errechnet, die in Tabelle 6 angegeben sind. Die Molekulargewichte der PSS-Pullulan-Standards waren auf 3 signifikante Stellen gerundet. Aufgrund von den ermittelten Abweichungen von 0,1-13,2 % wurden die bestimmten Molekulargewichte auf 2 signifikante Stellen angegeben.

Tabelle 6 Molekulargewichte und Retentionszeiten der einzelnen Pullulan-Standards

Pullulan-Standard	Mischstandards [1,2,3]	Mp [g/mol]	Mp DP	Retentionszeit [min]	Standardabweichung [min]	Standardabweichung im Mp [%]
11	1	2560000	15418	23,53	0,02	0,1
10	2	708000	4366	25,05	0,07	5,3
9	3	337000	2078	26,13	0,07	7,6
8	1	194000	1196	27,00	0,03	2,3
7	2	107000	660	28,18	0,07	4,4
6	3	47100	290	29,39	0,09	5,0
5	2	21100	130	30,50	0,08	4,9
4	1	9600	59	31,51	0,07	4,9
3	3	6100	38	32,31	0,09	5,7
2	2	1080	7	34,65	0,09	6,2
1	1	342	2	35,62	0,11	13,2

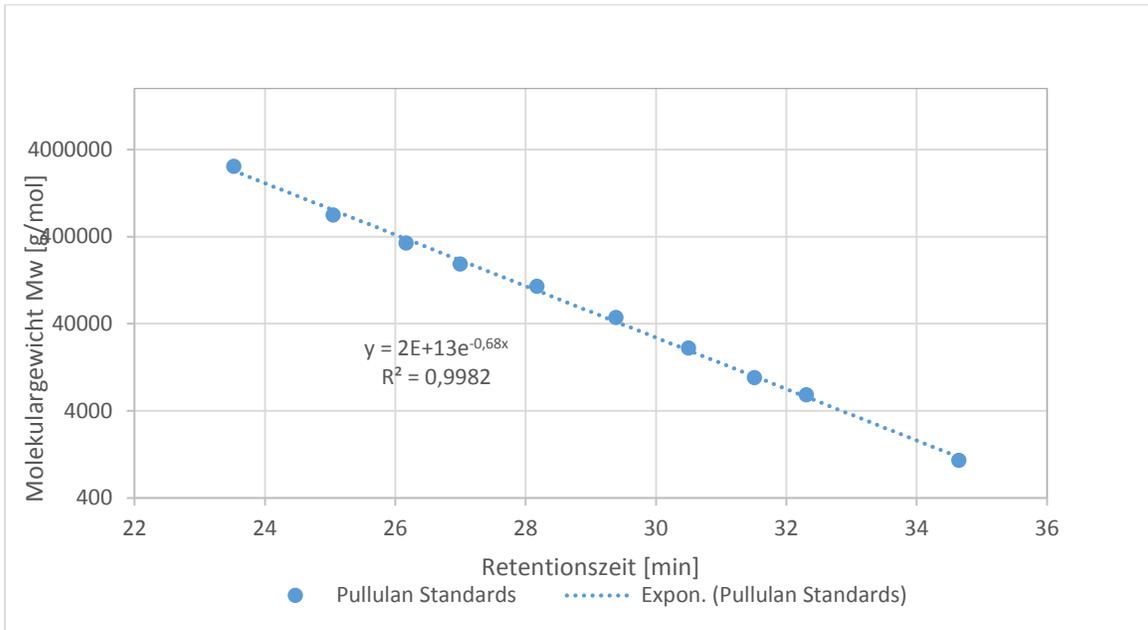


Abbildung 16 Pullulan-Kalibration mit 11 Standards

#### 1.2.7.1.2. Auswertung mit HPSEC-Vorlage

Die Auswertung der Daten aus der HPSEC wurde in Chromeleon 7.0 (Thermo Scientific) durchgeführt. Die Berechnung der durchschnittlichen Molekulargewichte und Molekulargewichtsverteilungen, sowie der Polydispersität wurden mit einer HPSEC-Vorlage (Chromeleon 7 Extension Pack GPC Templates; Thermo Scientific Dionex) ebenfalls in Chromeleon durchgeführt. Die in der Berechnung verwendeten Formeln sind in Formel 10, Formel 11, und Formel 12 angegeben. Anhand der Pullulan-Kalibration werden die Retentionszeiten in Molekulargewichte umgerechnet. Für die Darstellung der Molekulargewichtsverteilungen wurden jene Molekulargewichte gegen die differentielle Gewichtsfraktion aufgetragen. Die Sliceanzahl pro Peak wurde mit 200 festgesetzt.

*Formel 10 Molekulargewicht Zahlenmittel*<sup>69</sup>

$$M_n = \frac{\sum N_i M_i}{\sum N_i}$$

*Formel 11 Molekulargewicht Gewichtsmittel*<sup>69</sup>

$$M_w = \frac{\sum N_i M_i^2}{\sum N_i M_i}$$

$M_i$ ... Molekulargewicht einer Kette

$N_i$ ... Anzahl an Ketten mit diesem Molekulargewicht

*Formel 12 Polydispersität*<sup>69</sup>

$$\text{Polydispersität} = \frac{M_w}{M_n}$$

### 1.3. Chemikalien und Ausgangsmaterialien

#### Ausgangsmaterialien:

- Weizenstroh: Wurde nahe Dürnkrot in Niederösterreich 2009 angebaut.
- Strohlignin: Aus Organosolv-Prozess gefälltes Lignin (von Dipl.-Ing. Felix Weinwurm zur Verfügung gestellt)
- Stroh-Cellulose gebleicht (FFG-Projekt Nr. 825.108 "Biomimetischer Lignocellulose-Aufschluss")
- Gelöste Cellulose Proben (von Prof. Antje Potthast, Universität für Bodenkultur Wien zur Verfügung gestellt)

#### Chemikalien:

- Schwefelsäure 96 % Rotipuran p.a., iso; Roth; CAS-Nr. [7664-93-9]
- Ethanol vergällt  $\geq 96$  %, mit ca. 1 % MEK, Roth; CAS-Nr. [64-17-5]
- Aceton ROTIPURAN®  $\geq 99,8$  %, p.a., ACS, ISO, Roth; CAS-Nr. [67-64-1]
- Milli-Q-Wasser ISO 3696
- N,N-Dimethylacetamide Chromasolv Plus, for HPLC  $\geq 99,9$ % Sigma Aldrich; CAS-Nr. [127-19-5]
- Lithium chloride anhydrous, free-flowing, Redi-Dri™, ACS reagent,  $\geq 99$ % Sigma Aldrich; CAS Nr. [7447-41-8]
- Birken-Xylan: Xylan from beechwood  $\geq 90$ % Poly( $\beta$ -D-xylopyranose[1 $\rightarrow$ 4]), Sigma Aldrich; CAS Nr. [9014-63-5]
- NaOH (Sodium hydroxide 46/51% soin.; HPLC electrochemical grade, Fisher Scientific)
- Natriumacetat (Sodium acetate trihydrate; HPLC grade, Fisher Scientific)
- D-(+)-Glucose, D-(+)-Xylose, D-(-)-Arabinose, D-(+)-Galactose, D-(+)-Mannose, L-(-)-Fucose,  $\geq 99$ % Sigma Aldrich

#### Ionenaustauschchromatographie:

Eluent: Milli-Q water; 200 mM NaOH; 200 mM NaOH +500 mM Natriumacetat. Eluent wurden filtriert (0,2  $\mu$ m Nylon 66 Membranes Supelco) entgast und unter Heliumatmosphäre aufbewahrt.

HPSEC:

Eluent: 0,9 w % LiCl gelöst in N,N-Dimethylacetamid und anschließend filtriert (1,5 µm PTFE, Supelco Membranfilter). Nach Herstellung unter Inertgas aufbewahrt.

Pullulan-Standards: (PSS Kit Pullulan; Mp (Peak Molecular Weight: Molekulargewicht am Peak-Maximum) 342-708000; FLUKA Pullulan Standard 2,560000 Mp)

#### 1.4. Weizenstrohproben

Die erhaltenen Weizenstrohproben aus dem Organosolv-Prozess sind im Rahmen der Diplomarbeit von Jürgen Denner<sup>87</sup> behandelt worden.

Der verwendete Organosolv-Prozess kann grob in 2 Schritte eingeteilt werden:

- Heißwasserextraktion (LHW: Liquid Hot Water)- Behandlung um Hemicellulosen zu extrahieren und die Struktur des Strohs aufzubrechen.  
Der Hochdruckautoklav wurde mit Stroh und demineralisiertem Wasser befüllt, auf die gewünschte Temperatur aufgeheizt und dann auf Raumtemperatur mittels Wasserkühlung abgekühlt. (Reaktionsparameter siehe Tabelle 7) Das feuchte Stroh wurde mit Wasser gewaschen und bei Raumtemperatur mehrere Tage getrocknet.  
Bei der LHW-Behandlung wird Essigsäure freigesetzt, da die Hemicellulosen die in Lösung gehen teilweise acetyliert vorliegen. Es wurde 200-600 mg/L Essigsäuregehalt in der Lösung gemessen<sup>88</sup>
- Ethanol-basierte Organosolv (EOS)-Behandlung um Lignin aus den Strohproben zu extrahieren.  
Die 5 Hochdruckautoklaven (Parr Instrument Company, Moline, IL. Construction aus T316 rostfreiem Stahl, Volumen: 45ml) wurden gleichzeitig mit dem Stroh aus der LHW-Behandlung gestartet, auf Reaktionstemperatur aufgeheizt, für 0-60 min gehalten und dann mittels Kryostat schnell wieder auf Raumtemperatur abgekühlt. Das feuchte Stroh wurde mit frischem

Lösemittel (je nach Variation) gewaschen und mit einer kleinen Handpresse ausgepresst. Das Stroh wurde für mehrere Tage bei Raumtemperatur getrocknet.

Bei der EOS-Behandlung wird auch Essigsäure freigesetzt. Bei der Basis-Organosolvbehandlung (200 °C, 60 w% Ethanolgehalt, 1-5 mm Partikelgröße) wurden bis zu 200 mg/l Essigsäuregehalt gemessen.<sup>87</sup>

Die Reaktionsbedingungen und Reaktorparameter sind in Tabelle 7 angegeben.

*Tabelle 7 Reaktionsbedingungen und Reaktorparameter bei LHW und EOS*

	LHW	EOS
<b>Reaktor</b>	Hochdruckautoklav ohne Kryostat	Hochdruckautoklav mit Kryostat
<b>Volumen [ml]</b>	1000	45
<b>Druck [bar]</b>	10	20
<b>Lösemittel</b>	Demineralisiertes Wasser	Je nach Organosolvbedingung (H <sub>2</sub> O mit Zusätzen von Ethanol und Essigsäure)
<b>Behandlungsdauer [min]</b>	60	6-70
<b>Behandlungstemperatur [°C]</b>	180	160-200
<b>Verhältnis Probe zu Lösemittel</b>	1:11	1:11
<b>Aufheizdauer [min]</b>	30	6
<b>Haltedauer [min]</b>	0	0-60

## 1.5. Vorversuche

Für die Vorversuche wurden Weizenstrohproben aus einem Organosolv-Prozess (Diplomarbeit Jürgen Denner<sup>87</sup>) verwendet. Dafür wurde Weizenstroh (Partikelgröße 1-5 mm) mit einem Ethanol-Wassergemisch (60 w % EtOH) im Verhältnis 1:11 Trockenmasse zu Lösemittel in einem Reaktor mit 1L Volumen in 30 min auf 180°C aufgeheizt und danach abgekühlt. Dabei stellte sich bei 180°C ein Druck von 10 bar ein. Für die Vorversuche zum Lösemittelaustausch wurde ein etwas schwächer aufgeschlossenes Weizenstroh verwendet. Die Organosolvbehandlung wurde bei 160°C, jedoch ansonsten wie bei den anderen Vorversuchen durchgeführt.

# Ergebnisse und Diskussion

## 2. Vorversuche

### 2.1. Optimieren der chromatographischen Methode mit schon gelösten Cellulose-Proben

Die Methode für die HPSEC wurde anhand der Pullulan-Standards entwickelt und danach mit schon gelösten Cellulose-Proben (von Prof. Antje Potthast, Universität für Bodenkultur Wien zur Verfügung gestellt) mit einer breiten Molekulargewichtsverteilung auf die Aufgabenstellung optimiert. Die Viskosität dieser Cellulose-Proben war deutlich höher als die der Pullulan-Standards, jedoch die Konzentration geringer. Deshalb wurde das Injektionsvolumen auf 150 µl erhöht um eine auswertbare Signalintensität zu erhalten. Aufgrund der hohen Viskosität mussten die originalen Celluloseproben außerdem verdünnt werden, da bei der Einspritzung ein Druck-Spike von bis zu 50 bar über Standarddruck bei der Trennung auftrat. Dadurch nahm die Kapillare der Probenschleife nach einigen Injektionen Schaden und musste getauscht werden. Mit einer Verdünnung von 1:3 Cellulose-Probe / DMAc konnte der Druck-Spike bei der Injektion auf ca. 2-5 bar über Standarddruck während der Trennung reduziert werden.

Das Pullulan-Standard-Kit von PSS enthielt nur 10 Standards. Bei der Überlagerung der Chromatogramme der Pullulan-Standards und der schon gelösten Cellulose-Probe (siehe Abbildung 17) kann man erkennen, dass der hochmolekulare Bereich (niedrige Retentionszeit) nur unzureichend abgedeckt wird. Daher wurde noch ein 11. Standard mit höherem Molekulargewicht erworben. In Abbildung 17 sind die Chromatogramme von schon gelösten Cellulose-Probe und den Pullulan-Standards inklusive des 11. Standards abgebildet.

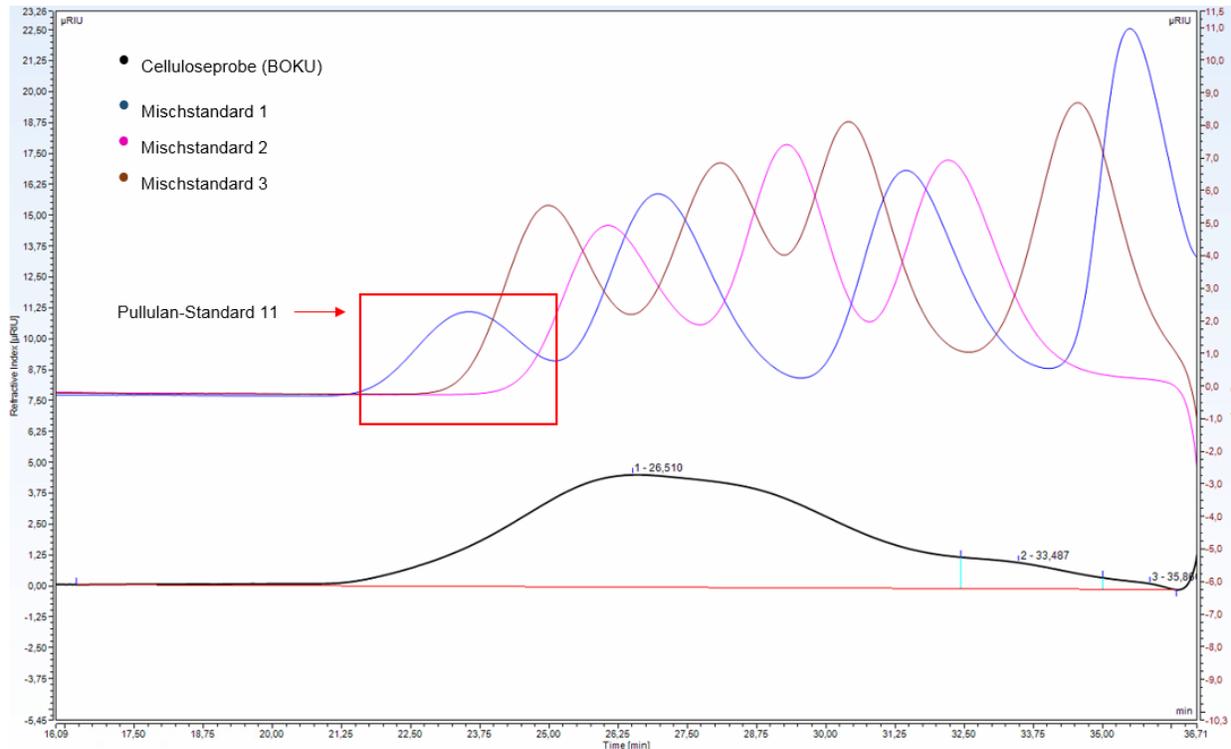


Abbildung 17 HPSEC-Chromatogramm einer schon gelösten Celluloseprobe und darüber 3 Pullulan-Misch-Standards überlagert

## 2.2. Lösen von reiner Cellulose, Xylan und Lignin in DMAc / LiCl

Um ca. abschätzen zu können, bei welcher Retentionszeit die Bestandteile Cellulose, Xylan und Lignin der Weizenstrohproben auftreten, wurden diese einzeln gelöst und vermessen. Dafür wurden eine gebleichte Strohcellulose, Birken-Xylan und Strohlignin, das aus der Organosolv-Lösung gewonnen wurde, verwendet. Diese dienen nur zur groben Abschätzung, da bei der gebleichten Strohcellulose härtere Aufschlussbedingungen angewendet wurden und daher stärkerer Abbau der Celluloseketten auftrat. Xylan gewonnen aus Birke ist nicht ident mit Xylan gewonnen aus Weizenstroh, da diese Heteroxylyane sind, die mit unterschiedlichen kurzen Kohlehydratketten verzweigt sind.<sup>30</sup> In Tabelle 8 sind die Molekulargewichte, und Polymerisationsgrade der reinen Cellulose, Xylan (Birke) und Lignin und in Abbildung 18 die überlagerten HPSEC-Chromatogramme dargestellt.

Tabelle 8 Molekulargewichte und Polymerisationsgrade von Stroh-Cellulose gebleicht, Xylan aus Birke und Strohlignin

	Mn	Mw	DP Mw
Stroh-Cellulose gebleicht	88000	660000	4100
Birken-Xylan	24000	35000	220
Stroh Lignin	990	1800	-

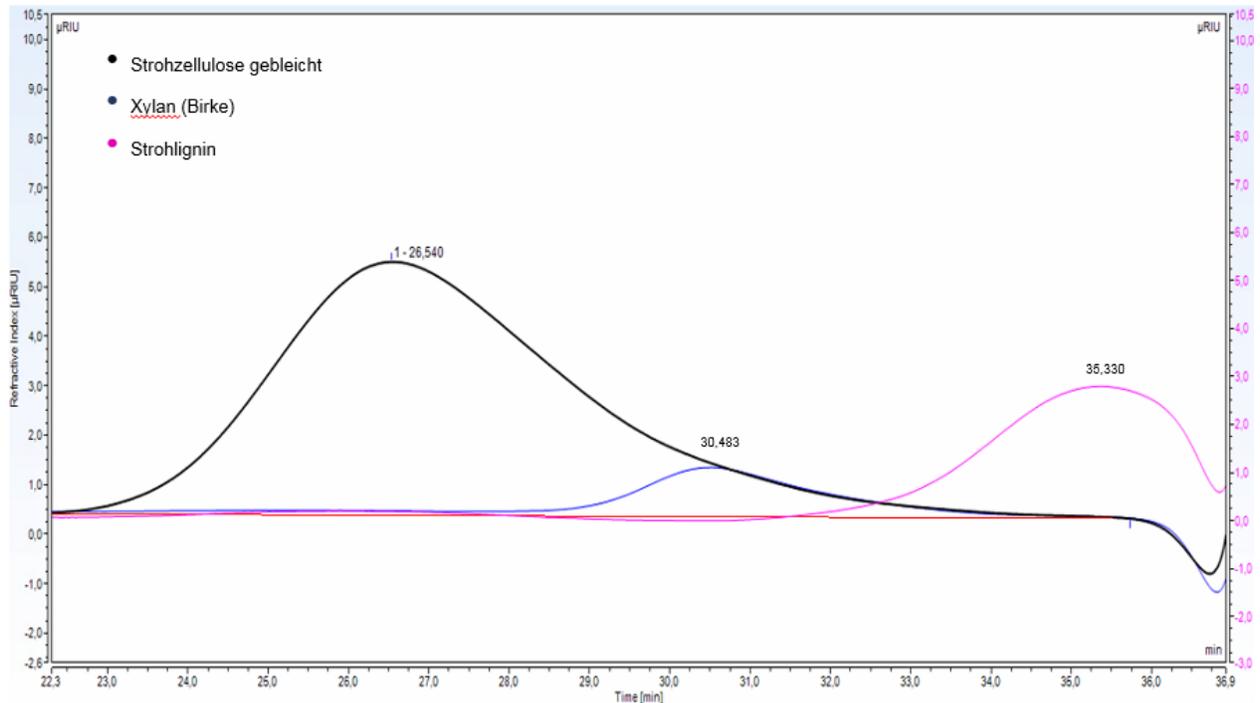


Abbildung 18 Überlagerte HPSEC-Chromatogramme von Strohcellulose, Xylan aus Birke und Strohlignin

Um festzustellen in welcher Form das Lignin der gelösten Weizenstrohproben vorliegt, ob freies Lignin oder gebunden an Hemicellulose oder Cellulose, wurde zwischen Trennsäule und RI-Detektor noch ein UV-Detektor eingebaut. Weizenstrohlignin besitzt ein Absorptionsmaximum bei  $\lambda=280 \text{ nm}$ <sup>86</sup> und Cellulose und Hemicellulose absorbieren im UV-Bereich nicht. In Abbildung 19 sind die HPSEC-Chromatogramme von einer Weizenstrohprobe und von Strohlignin überlagert. Auf der y-Achse links ist das RI-Signal und auf der y-Sekundärachse rechts die UV-Absorption bei  $\lambda=280 \text{ nm}$  aufgetragen, wobei von der Weizenstrohprobe beide Signale aufgetragen sind. Man sieht, dass die UV-Peaks der Weizenstrohprobe im Bereich der Retentionszeiten von Cellulose und Hemicellulose liegen und nur leicht in den Anfangsbereich des Strohlignins reichen. Es ist außerdem zu erkennen, dass kein freies Lignin in den gelösten Weizenstrohproben auftritt, sondern das Lignin an Cellulose und Hemicellulose gebunden zu sein

scheint, wobei der Anteil an Lignin gebunden an Hemicellulose deutlich höher ist als der an Cellulose. Bei Hemicellulosen ist bekannt, dass diese kovalente Bindungen zu Lignin ausbilden<sup>15,16</sup>. Ob Lignin an Cellulose gebunden vorliegt, wie es die UV-Messung nach HPSEC suggeriert ist zu hinterfragen (siehe Einleitung). Eventuell könnten auch kovalente Bindungen zwischen Cellulose und Hemicellulose, an der wiederum Lignin gebunden ist, vorliegen sowie Hemicellulose-Agglomerate dabei eine Rolle spielen. Zusätzlich könnten auch Abbauprodukte von Cellulose (Aldehyd-, Keton-, org. Säuregruppen...) zu dem gemessenen UV-Signal beitragen.<sup>89</sup> Eine Lignin-Kalibration, um die absolute Menge an Lignin in den gelösten Weizenstrohproben zu bestimmen, wurde nicht erstellt, da die Weizenstrohproben nicht vollständig in Lösung gebracht werden konnten und so auch die Menge an Lignin in den nichtgelösten Feststoffen unbekannt war. Zusätzlich stand nur gefälltes Lignin, aus der Organosolv-Lösung und kein Lignin, das an Hemicellulose gebunden ist zur Verfügung. Daher wurden nur die Peakflächen von Cellulose und Hemicellulose herangezogen um relative Anteile zu berechnen.

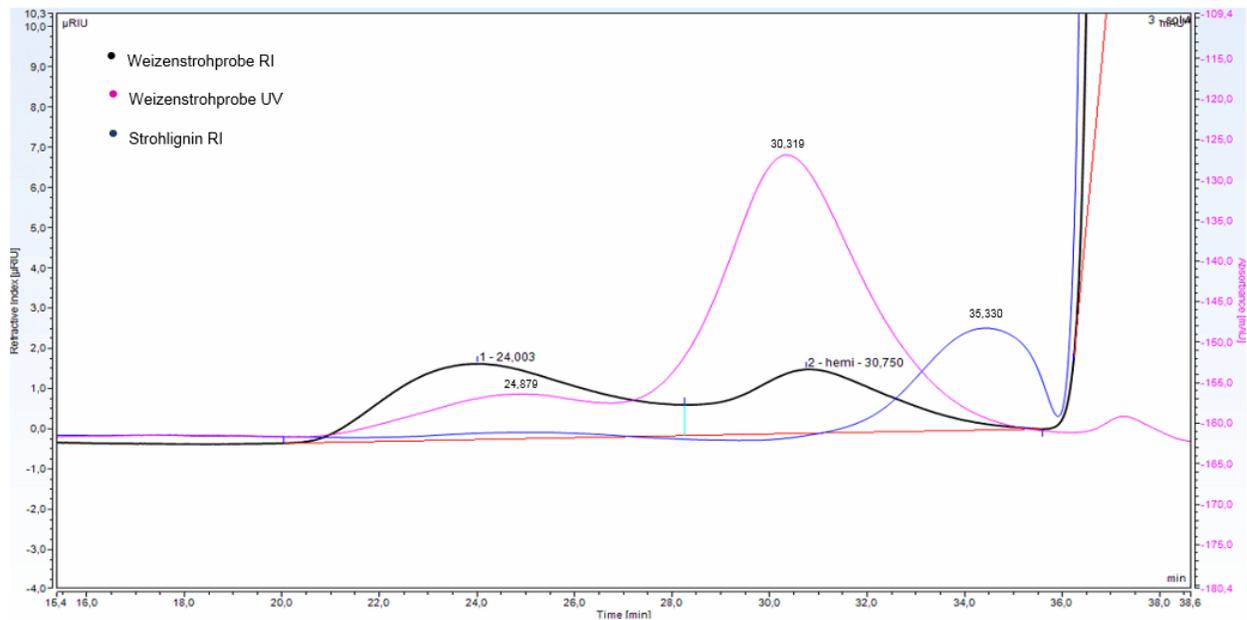


Abbildung 19 Überlagerung von HPSEC-Chromatogrammen von Weizenstroh und Strohlignin. Auf der y-Achse links ist das RI-Signal und auf der y-Sekundärachse rechts die UV-Absorption aufgetragen. Von der Weizenstrohprobe sind RI und UV-Signal aufgetragen.

### 2.3. Temperaturvariation beim Lösen in DMAc / LiCl

Zur Optimierung der Lösebedingungen wurden auch Versuche bei unterschiedlichen Temperaturen durchgeführt. Beim Lösen von Cellulose in DMAc / LiCl bei erhöhter Temperatur tritt Celluloseabbau<sup>90</sup> auf, jedoch erhöhte sich auch die Löslichkeit der Weizenstrohproben. Als Lösetemperaturen wurden 32, 54 und 80 °C gewählt und die Versuche in Klimaschränken mit einem Magnetrührer mit 15 Rührplätzen durchgeführt.

In Tabelle 9 sind Molekulargewichte, Polymerisationsgrade, Probe in Lösung und in Abbildung 20 ein Overlay der HPSEC-Chromatogramme bei den verschiedenen Temperaturen angegeben.

In Tabelle 9 und Abbildung 20 ist ein starker Abbau (niedrigeres Molekulargewicht und höhere Retentionszeit) der Cellulose beim Lösen bei 80 °C im Vergleich zu den anderen Temperaturen erkennbar. Auch beim Lösen bei 54 °C wurde ein niedrigeres Molekulargewicht, als bei der Probe die bei 30°C gelöst wurde, festgestellt. Beim Lösen bei 80 °C konnte mit 92,1 % am meisten Probe in Lösung gebracht werden. Dies ist jedoch auf den starken Abbau der Cellulose zurückzuführen, da dadurch kleinere Cellulosefragmente (kürzere Ketten) entstehen, die leichter gelöst werden können. Interessant ist, dass trotz des starken Celluloseabbaus die Hemicellulose nicht von Abbau betroffen zu sein scheint. Normalerweise ist Hemicellulose empfindlicher auf thermochemischen Abbau, sowie Hydrolyse wie z.B. durch Säuren, Basen und Enzyme als Cellulose.<sup>91,92</sup> Wie in Abbildung 19 ersichtlich liegt bei den verwendeten Weizenstrohproben das Lignin größtenteils gebunden an Hemicellulose vor. Eine mögliche Erklärung dafür, weshalb die Hemicellulose im Unterschied zur Cellulose in DMAc / LiCl bei 80 °C nicht bzw. nur wenig abgebaut wird, könnte das kovalent an Hemicellulose gebundene Lignin liefern. Lignin besitzt eine höhere thermische Stabilität als Hemicellulose und fungiert in der Pflanze neben Schutz gegen mikrobiellen Angriff auch als Schutz vor oxidativem Stress<sup>29</sup>. Lignin wird auch als Antioxidans eingesetzt<sup>93,94</sup>

Tabelle 9 Molekulargewichte, Polymerisationsgrad und Menge an Probe in Lösung der Weizenstrohprobe bei unterschiedlichen Temperaturen bei 72h Lösedauer

Temperatur [°C]	Mn	DP Mn	Mw	DP Mw	Polydispersität	Probe in Lösung [%]
80	130000	770	430000	2700	3,5	92,1
54	610000	3800	2100000	13000	3,4	77,5
32	970000	6000	3000000	19000	3,1	61,3

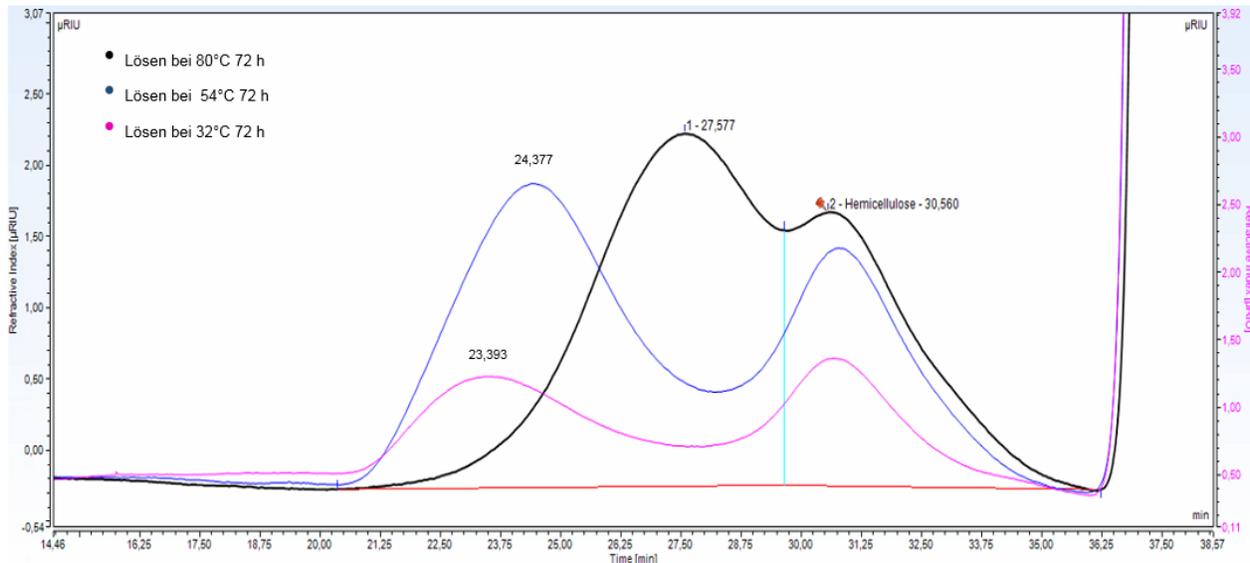


Abbildung 20 Overlay von HPSEC-Chromatogrammen von Weizenstrohproben bei unterschiedlichen Lösetemperaturen normiert auf den Hemicellulose-Peak

### 2.3.1. Celluloseabbau und Löslichkeit bei verschiedenen Temperaturen in DMAc / LiCl

Um zu überprüfen ob auch schon gelöste Weizenstrohproben von selbigem starkem Abbau bei 80 °C betroffen sind, wurde die Lösung einer bei 54°C behandelten Probe bei 80 °C für 392 Stunden gerührt. Die bei 54°C behandelte Probe wurde verwendet, da mehr Probe in Lösung ging als bei 32°C und hier nur der Abbau von schon gelöster Cellulose und Hemicellulose untersucht werden sollte. Es wurden in regelmäßigen Abständen Proben gezogen und mittels HPSEC das Molekulargewicht bestimmt. In

Tabelle 10 sind die Molekulargewichte und Polymerisationsgrade des Abbaues angegeben.

Tabelle 10 Molekulargewichte und Polymerisationsgrade einer schon bei 54°C in DMAc/LiCl gelösten Weizenstrohprobe die bei 80°C für 392 Stunden gerührt wurde.

Abbau in DMAc / LiCl bei 80°C		
Zeit [h]	Mw	DP Mw
0	2500000	15000
13	1400000	8600
23	1100000	6900
89	370000	2300
160	250000	1500
208	250000	1600
285	16000	100
392	16000	100

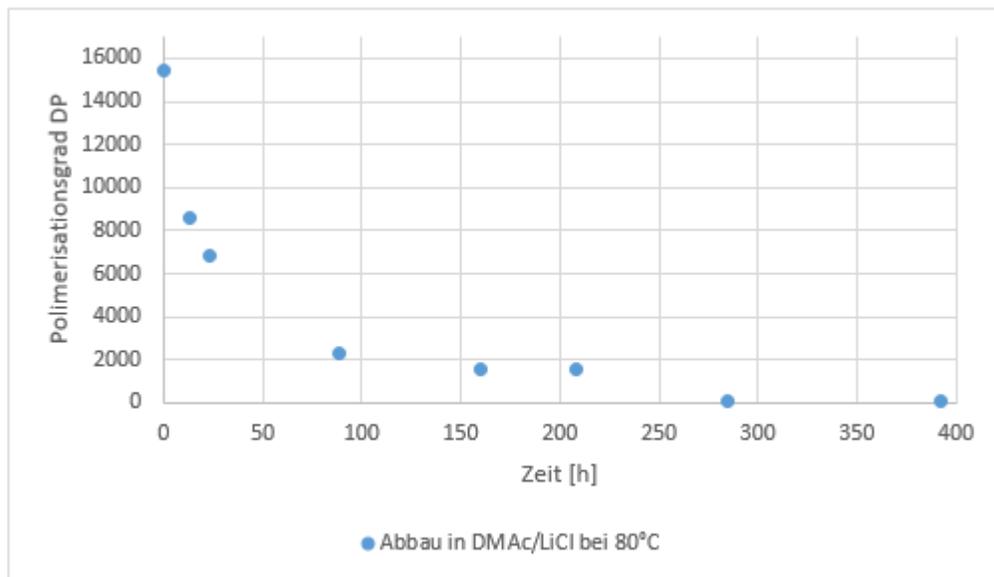


Abbildung 21 Cellulose Abbau einer schon bei 54°C in DMAc/LiCl gelösten Weizenstrohprobe, die bei 80°C für 392 Stunden gerührt wurde.

Die Daten belegen, dass bei erhöhter Temperatur (80°C) ein drastischer Abbau der bereits in Lösung befindlichen Cellulose stattfindet und sich das Ergebnis nicht dadurch erklären lässt, dass zusätzliche niedermolekulare Cellulose-Anteile aus dem Feststoff in Lösung gehen. Daher ist eine Temperatur von über 80°C beim Auflösen von Weizenstrohproben, wie sie in machen Literaturstellen<sup>95</sup> angewendet worden ist, zur Ermittlung des Polymerisationsgrades von Cellulose ungeeignet.

Obwohl aus Abbildung 20 hervorgeht, dass bereits bei einer Temperatur mit 54°C Abbauvorgängen zu rechnen ist, die den Polymerisationsgrad der Cellulose etwas vermindern, wurde ein Zeitverlauf des Lösungsverhaltens von Weizenstrohproben bei 54°C durchgeführt und mit 32°C verglichen.

In Tabelle 11 sind die Polymerisationsgrade, Polydispersität und die Menge an Probe in Lösung bei unterschiedlicher Lösedauer bei 54 °C angegeben. In Abbildung 22 sind Polymerisationsgrade und Menge an Probe in Lösung bei ansteigender Lösedauer bei 54 °C aufgetragen. Der Polymerisationsgrad DP kann entweder aus dem Zahlenmittel Mn, oder aus dem Gewichtsmittel Mw, bestimmt aus der Molekulargewichtsverteilung, durch Division durch die Anhydroglucose-Einheit berechnet werden.<sup>70</sup> Die Zusätze a und b bezeichnen die jeweiligen Einzelwerte der Doppelbestimmungen. Man sieht, dass die Menge an Probe in Lösung mit der Zeit steigt, jedoch die Polymerisationsgrade keinem erkennbaren Trend folgen.

*Tabelle 11 Polymerisationsgrade, Polydispersität und Menge an Probe in Lösung bei unterschiedlicher Lösedauer bei 54 °C*

Zeit [h]	DP Mn a	DP Mn b	DP Mn Mittelwert	DP Mw a	DP Mw b	DP Mw Mittelwert	Polydispersität	Probe in Lösung [%]
12	4300	4200	4200	14000	13000	14000	3,2	58,6
24	3400	3700	3600	14000	14000	14000	3,9	63,6
36	3600	3700	3700	13000	13000	13000	3,5	66,4
48	3300	3300	3300	11000	12000	12000	3,5	67,1
72	3800	3400	3600	13000	14000	13000	3,7	74,7

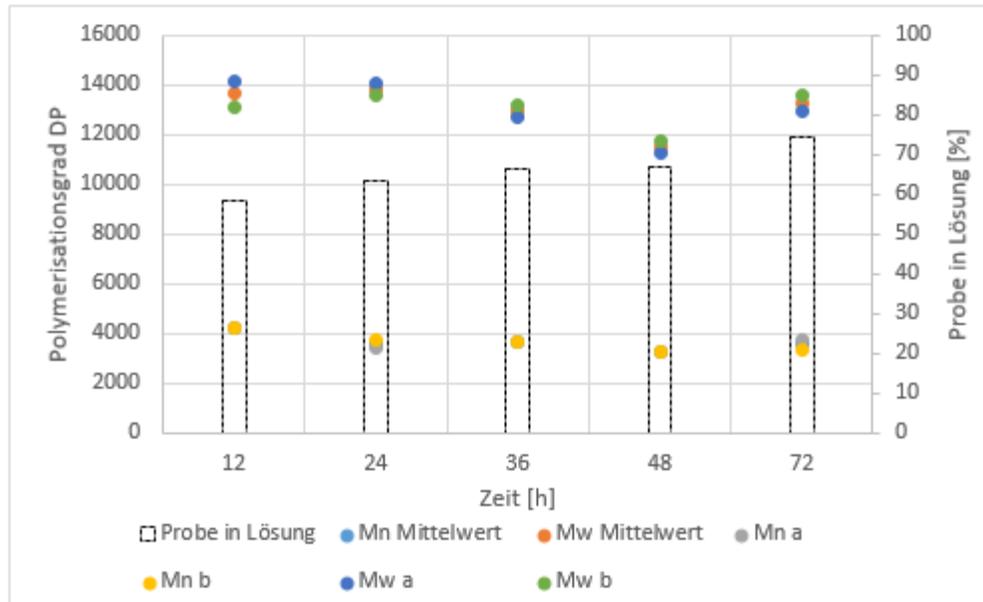


Abbildung 22 Polymerisationsgrade und Menge an Probe in Lösung bei unterschiedlicher Lösedauer bei 54 °C

In Tabelle 12 sind die Polymerisationsgrade, Polydispersität und die Menge an Probe in Lösung bei unterschiedlicher Lösedauer bei 32°C angegeben. In Abbildung 23 sind Polymerisationsgrade und Menge an Probe in Lösung bei ansteigender Lösedauer bei 32°C aufgetragen. Man sieht, dass die Menge an Probe in Lösung mit der Zeit steigt und es ist auch ein leichter Anstieg der Polymerisationsgrade mit längerer Lösedauer erkennbar. Es erscheint plausibel, dass sich höhermolekulare Cellulose langsamer löst als niedermolekulare Cellulose. Im Vergleich mit den bei 54°C gelösten Proben, sind die Polymerisationsgrade der bei 32°C gelösten Proben allesamt deutlich höher und die Menge an Probe in Lösung geringer, was auf einen Abbau beim Lösen bei 54°C hindeutet, der die höhere Löslichkeit erklären würde. Sogar im Falle eines höheren Anteils an Probe in Lösung (61,3% nach 72 Stunden bei 32°C gegenüber 58,6% nach 12 Stunden bei 54°C) ist der Polymerisationsgrad bei 32°C deutlich höher (19.000) als bei 54°C (14.000). Daher wurde entschieden die Proben 72 Stunden bei 32°C in DMAc/LiCl zu lösen um möglichst viel Cellulose bei minimalem Abbau in Lösung zu bringen. Lediglich die bei 54°C für 72 Stunden gelöste Probe widerspricht den obigen Schlussfolgerungen. Der unstetige Verlauf des Polymerisationsgrades, d.h. der plötzliche Anstieg nach vorangegangener Abnahme ist nicht plausibel. Es könnte sein, dass die Vermessung dieser einen Probe aus unbekanntem Gründen falsche Werte lieferte, was jedoch nicht weiter überprüft wurde.

Tabelle 12 Polymerisationsgrade, Polydispersität und Menge an Probe in Lösung bei unterschiedlicher Lösedauer bei 32 °C

Zeit [h]	DP Mn a	DP Mn b	DP Mn Mittelwert	DP Mw a	DP Mw b	DP Mw Mittelwert	Polydispersität	Probe in Lösung [%]
12	4900	5000	4900	16000	16000	16000	3,2	56,2
24	5200	4900	5100	18000	17000	18000	3,5	57,6
36	4900	5200	5000	18000	18000	18000	3,6	60,0
48	5500	5100	5300	18000	18000	18000	3,4	60,6
72	6000	4700	5300	19000	19000	19000	3,5	61,3

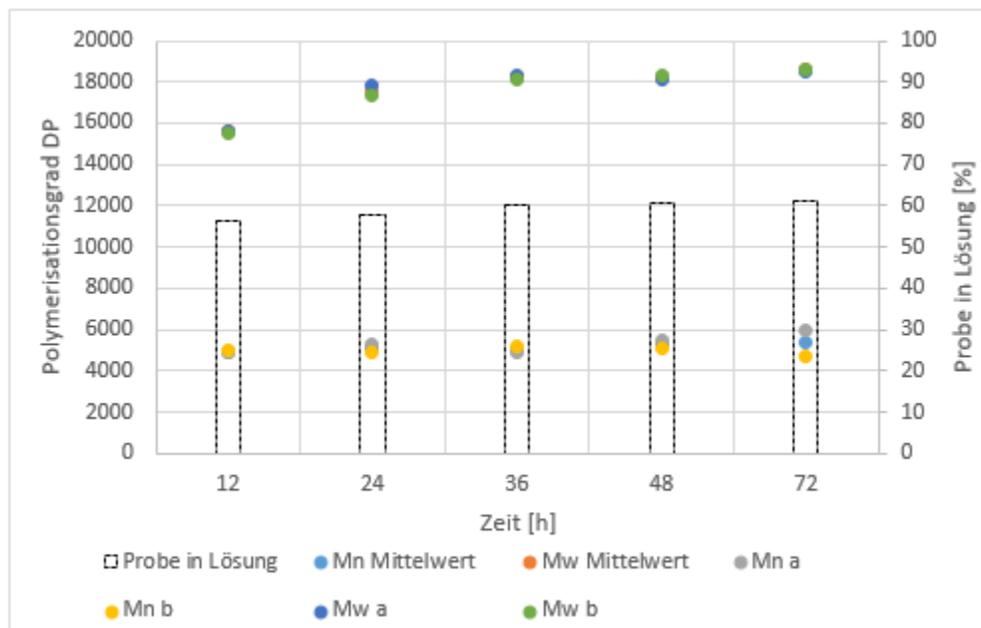


Abbildung 23 Polymerisationsgrade und Menge an Probe in Lösung bei unterschiedlicher Lösedauer bei 32 °C

## 2.4. Lösemittelaustausch

Der Lösemittelaustausch spielt eine wichtige Rolle beim Lösen von Cellulose in DMAc / LiCl. Dieser erhöht die molekulare Mobilität und entfernt maßgeblich für den Löseprozess störende Mengen an Wasser<sup>96,97,98</sup>.

Um den Lösemittelaustausch zu optimieren wurde untersucht, ob ein mehrfacher Austausch von DMAc über Nacht Auswirkungen auf die Menge an Probe in Lösung sowie den durch HPSEC bestimmten Polymerisationsgrad hat. Dafür wurde der Schritt beim Lösemittelaustausch (siehe 1.2.4), bei dem die Weizenstrohproben mit DMAc versetzt, über Nacht geschüttelt, filtriert und trockengesaugt werden 1, 2 und 3-mal durchgeführt. In Tabelle 13 sind die Polymerisationsgrade, Polydispersität und die Menge an Probe bei 1, 2 und 3-fachem Lösemittelaustausch angegeben. In Abbildung 24 sind die Polymerisationsgrade und die Menge an Probe in Lösung bei 1, 2 und 3-fachem Lösemittelaustausch aufgetragen. Die Menge an Probe in Lösung sowie auch die Polymerisationsgrade unterscheiden sich bei 1, 2 und 3-fachem Lösemittelaustausch nur geringfügig und nicht eindeutig. Die geringen Unterschiede deuten darauf hin, dass ein mehrfacher Lösemittelaustausch kaum Auswirkungen auf die Löslichkeit der Weizenstrohproben in DMAc / LiCl hat und ein einfacher Austausch ausreichend ist. Die Absolutwerte DP Mw und DP Mn sind etwas höher als in den anderen Vorversuchen, da ein weniger aufgeschlossenes Stroh verwendet wurde. (siehe Tabelle 13)

*Tabelle 13 Polymerisationsgrade, Polydispersität und Menge an Probe in Lösung bei 1,2 und 3-fachem Lösemittelaustausch bei 32 °C Lösetemperatur und 72 Stunden Lösedauer*

Lösemittel austausch	DP Mn a	DP Mn b	DP Mn Mittelwert	DP Mw a	DP Mw b	DP Mw Mittelwert	Polydispersität	Probe in Lösung [%]
1x	6600	7100	6900	23000	23000	23000	3,4	67,6
2x	6400	6500	6400	24000	24000	24000	3,7	68,4
3x	5600	6000	5800	24000	23000	24000	4,1	64,9

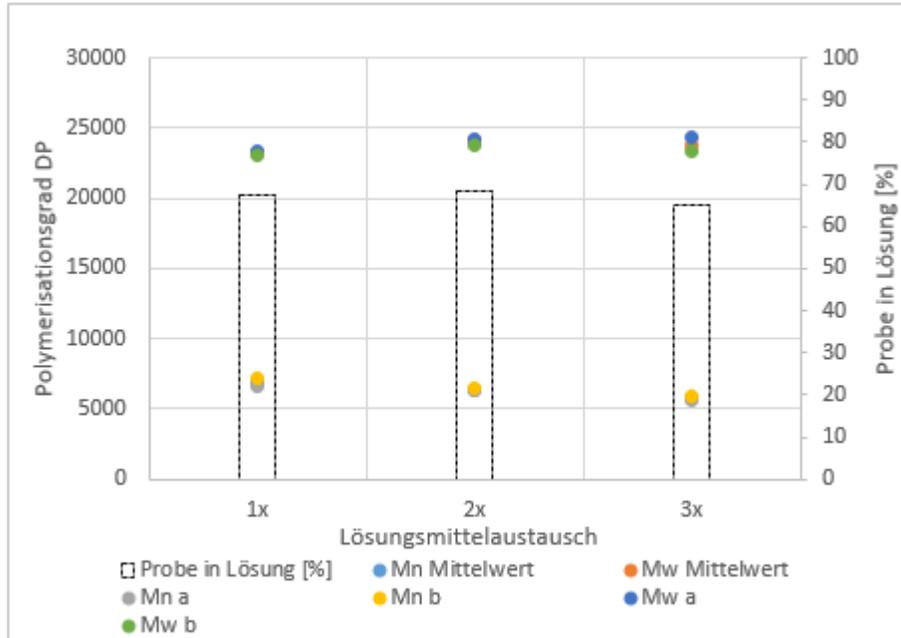


Abbildung 24 Polymerisationsgrade und Probe in Lösung bei 1,2 und 3-fachem Lösemittelaustausch, bei 32 °C Lösetemperatur und 72 Stunden Lösedauer

### 3. Einfluss von unterschiedlichen Bedingungen bei der Organosolvbehandlung auf die chemische Zusammensetzung und die Molekulargewichtsverteilung der Strohproben

Die Analysen der Weizenstrohproben wurden als Doppelbestimmungen ausgeführt. Dadurch konnte keine Standardabweichung für die Proben ermittelt sondern nur Mittelwerte aus den Doppelbestimmungen errechnet werden. Bei der Analyse der chemischen Zusammensetzung konnten mit den verwendeten Methoden nur rund 80 w % des Weizenstrohs wiedergefunden werden. Bei den Aufschlüssen, sowie im Zuge der Analyse bei der Hydrolyse können Abbauprodukte aus den Polysacchariden entstehen. Eventuell wurde der Abbau der Polysaccharide der Proben (siehe 1.1.4.1) mit den für die Bestimmung des Abbaus bei der Hydrolyse zugesetzten Monosaccharidstandards nicht hinreichend gut simuliert. Besonders die ermittelte Menge an Glucan erscheint bei den durchgeführten Bestimmungen zu niedrig im Vergleich mit Literaturwerten (siehe Tabelle 2).

Bei den Molekulargewichten wurde der Mittelwert immer zusammen mit den Einzelwerten angegeben weil diese recht unterschiedlich stark streuen. Die Einzelwerte der Doppelbestimmungen sind wiederum Mittelwerte aus 2 HPSEC-Analysen.

Bei den UV-Messungen wurden nur relative Anteile angegeben. Die absolut gemessenen Absorptionenwerte können im Anhang eingesehen werden. (siehe Tabelle 33)

Das Ziel dieser Untersuchungen war ein grober Vergleich der chemischen Zusammensetzung, Molekulargewichte, Molekulargewichtsverteilungen und Lignin-Kohlenhydratkomplexe bei unterschiedlichen Organosolv-Bedingungen. Im Anhang sind die im vorliegenden Kapitel 3 besprochenen Tabellen und Grafiken zusammenfassend in komprimierterer Form angehängt.

### 3.1. Dauer der Behandlung

#### *3.1.1. Einfluss der Behandlungsdauer auf die chemische Zusammensetzung*

Um den Einfluss der Behandlungsdauer des Organosolv-Prozesses auf die chemische Zusammensetzung zu untersuchen wurden Weizenstrohproben für 0, 15, 30, 45 und 60 min bei 160°C behandelt. ( 0 Minuten bedeutet, dass bei der Organosolvbehandlung nach der Aufheizphase sofort abgekühlt wurde und keine Haltephase durchgeführt wurde ) In Tabelle 14 sind die ermittelten Anteile an Polysacchariden (Glucan, Xylan, Arabinan, Galactan und Mannan) sowie an Asche, Lignin und Extraktstoffen angegeben. Diese Daten sind auch in Abbildung 25 im Vergleich zu der unbehandelten Weizenstrohprobe dargestellt. Wenn man die Probe 30 min außer Acht lässt, kann man den Daten entnehmen, dass der Anteil an Lignin mit steigender Behandlungsdauer abnimmt, während der Anteil an Glucan tendenziell ansteigt. Auch bei Xylan ist eine leichte Abnahme über die Zeit erkennbar, ebenso beim Arabinan. Die Weizenstrohprobe bei 30 min weicht hinsichtlich Extraktstoffen von den anderen Proben stark ab. Der Extraktstoffgehalt beträgt 5,8 %, während die anderen Proben im Bereich zwischen 2,2 und 2,7 % liegen. Dies könnte auf einen unzureichenden Waschschrift (siehe Kapitel 1.4) vor der Extraktion zurückzuführen sein. Auch die Menge an Galactan ist leicht erhöht, wogegen das Glucan vermindert ist. Dies könnte an einer Schwankung bei der Hydrolyse liegen ( Temperatur, oder Dauer der Hydrolyse), da die Probe bei 30 min und 160°C Behandlungstemperatur mit denen in 3.2.1 (Variation der Temperatur) bei 30 min Behandlungsdauer gemeinsam durchgeführt wurde und die Menge an Galactan im selben Bereich liegt. Bei den Glucan-Werten erscheinen die mit der Probe bei 30 min gemeinsam durchgeführten Proben (siehe 3.2.1) allesamt etwas zu niedrig, was auf eine unvollständige Hydrolyse hindeutet.

Tabelle 14 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung bei 160 °C für 0-60 min

Behandlungs- temperatur [°C]	Behandlungs- dauer [min]	Glucan [%]	Xylan [%]	Arabinan [%]	Galactan [%]	Mannan [%]	Asche [%]	Lignin [%]	Extraktstoffe [%]
160	0	38,9	21,3	0,3	0,0	0,1	1,2	16,3	2,1
	15	39,8	20,5	0,1	0,0	0,1	1,3	15,9	2,1
	30	36,5	19,0	0,5	0,6	0,1	1,4	15,8	5,8
	45	40,6	20,6	0,0	0,0	0,1	1,3	15,0	2,3
	60	40,7	19,9	0,0	0,0	0,0	1,3	14,0	2,7

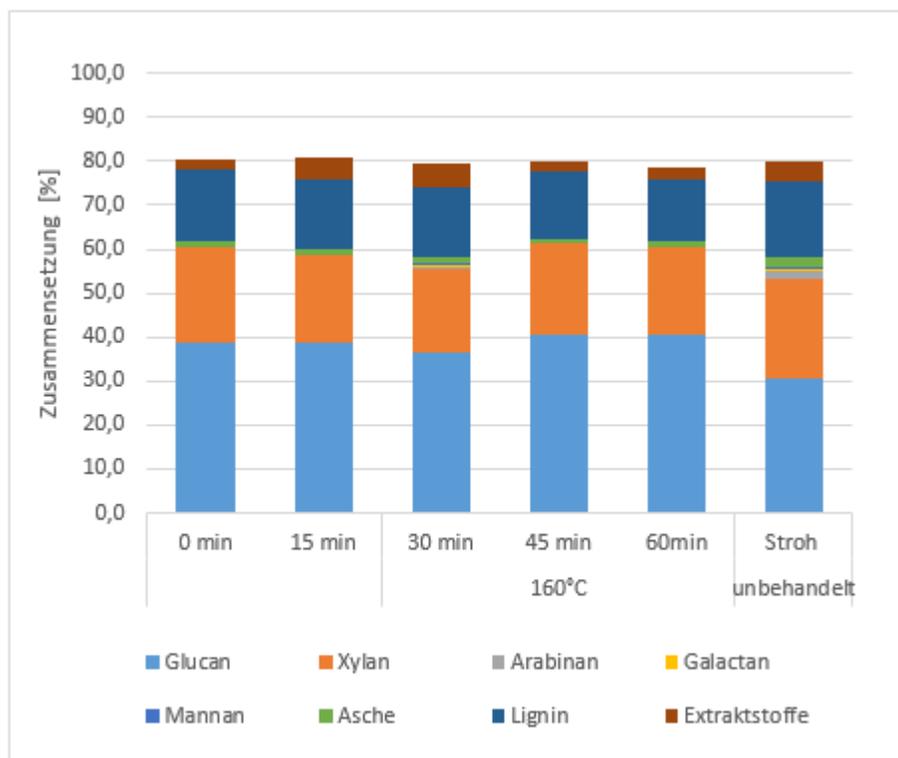


Abbildung 25 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung bei 160°C für 0-60 min sowie des unbehandelten Weizenstrohs

### 3.1.2. Einfluss der Behandlungsdauer auf die Molekulargewichtsverteilung

In Tabelle 15 und Abbildung 26 sind Polymerisationsgrade und die Menge an Weizenstrohprobe in Lösung angegeben.

Die Löslichkeit der aufgeschlossenen Strohs in DMAc/LiCl steigt mit längerer Behandlungsdauer. Die Weizenstrohprobe bei 15 min Behandlungsdauer besitzt einen höheren durchschnittlichen

DP Mw als die restlichen Proben, jedoch ist auch hier die Abweichung der einzelnen Messungen vom Mittelwert am größten. (siehe Abbildung 26) In Abbildung 27 sind Molekulargewichtsverteilungen nach Organosolvbehandlung bei 160°C bei 0-60 min Behandlungsdauer mit zugehörigen durchschnittlichen Molekulargewichten (Mn, Mw) überlagert. Da die Probe bei 30 min wie oben erwähnt nicht vergleichbar ist, müsste der Versuch wiederholt werden um zu verifizieren, ob eine sehr kurze Organosolvbehandlung tatsächlich mit einer Erhöhung der Polydispersität hin zu höheren Polymerisationsgraden korreliert.

Tabelle 15 Polymerisationsgrade, Polydispersität und Menge an Probe in Lösung nach Organosolvbehandlung bei 160°C bei 0-60 min Behandlungsdauer

Behandlungsdauer [min]	DP Mn a	DP Mn b	DP Mn Mittelwert	DP Mw a	DP Mw b	DP Mw Mittelwert	Polydispersität	Probe in Lösung [%]
0	6700	4700	5700	24000	21000	22000	3,9	39,8
15	5200	4800	5000	27000	23000	25000	5,0	43,5
30	5000	5400	5200	19000	20000	20000	3,8	42,5
45	6000	5500	5700	21000	21000	21000	3,7	47,5
60	5700	5700	5700	21000	20000	20000	3,6	50,8

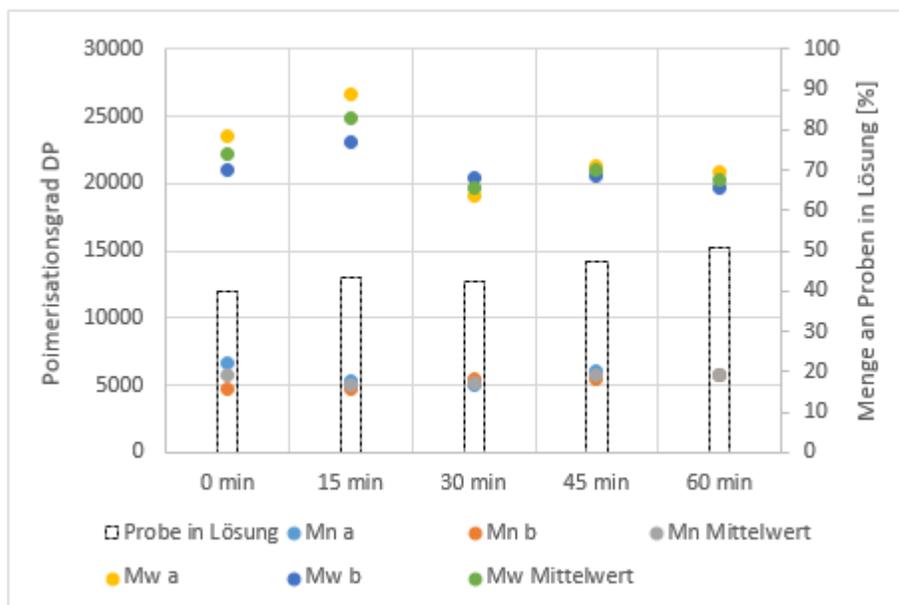


Abbildung 26 Polymerisationsgrade und Probe in Lösung nach Organosolvbehandlung bei 160 °C für 0-60 min

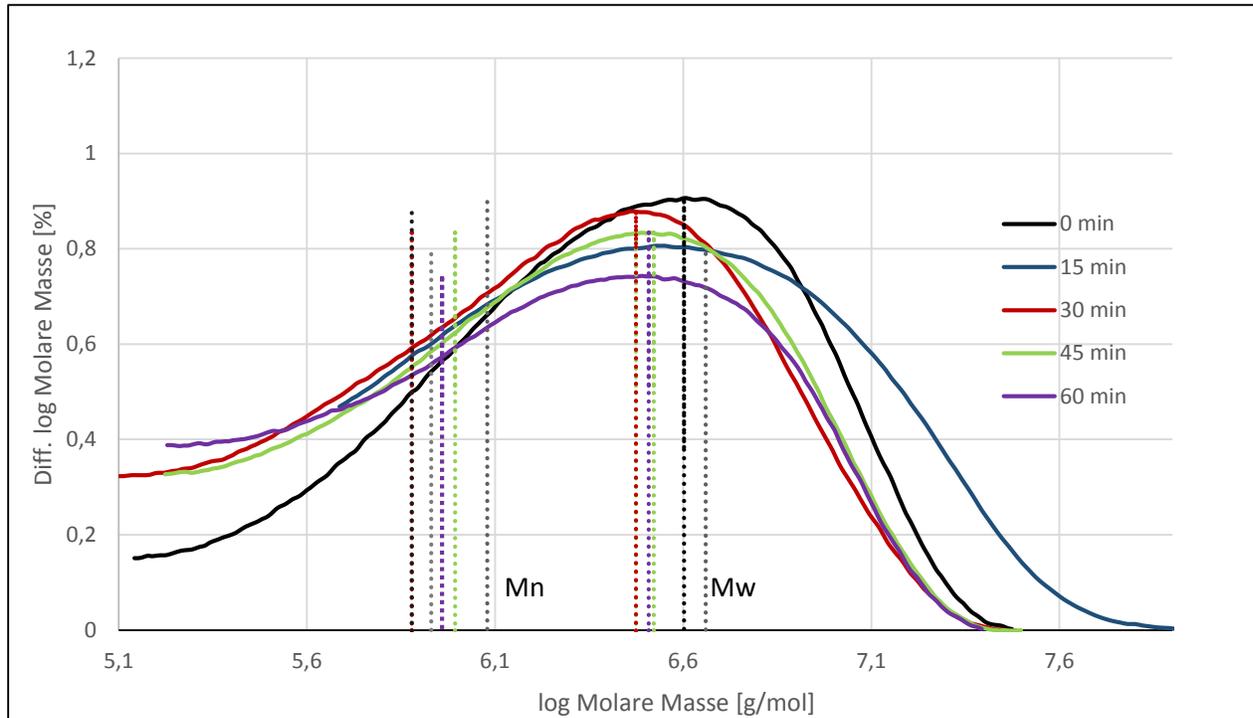


Abbildung 27 Overlay von Molekulargewichtsverteilungen und durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung bei 160 °C bei 0-60 min Behandlungsdauer

### 3.1.3. Einfluss der Behandlungsdauer auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe

In Tabelle 16 sind die mittels HPSEC ermittelten relativen Anteile von Lignin gebunden an Cellulose und Hemicellulose nach der Organosolvbehandlung bei 160 °C für 0-60 min angegeben. Man sieht, dass die steigende Behandlungsdauer kaum einen Einfluss auf das Verhältnis von Lignin gebunden an Cellulose zu Lignin gebunden an Hemicellulose hat. Ungefähr 10 % des Lignins liegt als Lignin-Cellulose-Komplex vor und 90 % als Lignin-Hemicellulose-Komplex.

Tabelle 16 Relative Anteile berechnet aus Peakflächen (UV-Absorption nach HPSEC) von Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung bei 160 °C für 0-60 min

Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	Anteil Lignin gebunden an Cellulose [%]	Anteil Lignin gebunden an Hemicellulose [%]
160°C	0	12	88
	15	10	90
	30	10	90
	45	12	88
	60	11	89

## 3.2. Temperatur

### 3.2.1. Einfluss der Temperaturvariation auf die chemische Zusammensetzung

Um den Einfluss unterschiedlicher Temperaturen beim Organosolv-Prozess auf die chemische Zusammensetzung zu untersuchen, wurden Weizenstrohproben bei 160, 180 und 200°C für 15 und 30 min behandelt. In Tabelle 17 sind die ermittelten Anteile an Polysacchariden (Glucan, Xylan, Arabinan, Galactan und Mannan) sowie an Asche, Lignin und Extraktstoffen angegeben. Diese sind in Abbildung 28 im Vergleich zu der unbehandelten Weizenstrohprobe graphisch dargestellt. Die Weizenstrohprobe die für 15 min bei 180 °C behandelt wurde fehlte als Feststoffprobe und konnte somit leider nicht analysiert werden.

Der Anteil an Lignin nimmt mit zunehmender Behandlungstemperatur ab. Während die Menge an Lignin bei einer Behandlungstemperatur von 160 °C bei 15 und 30 min Behandlungsdauer im selben Bereich von rund 16 % liegt, tritt bei 200 °C bei 30 min eine höhere Delignifizierung auf als bei 15 min. Der Anteil an Glucan steigt mit höherer Temperatur, was mit der erhöhten Delignifizierung der Proben erklärt werden könnte. Aufgrund des stärkeren Aufschlusses, bei höherer Temperatur, geht mehr Lignin und Hemicellulose in Lösung und es bleibt eine "reinere" Cellulose zurück. Wiederum passt die Probe 160°C bei 15 min aus den oben genannten Gründen nicht gut zu den restlichen Proben. Der Anteil an Extraktstoffen scheint mit höherer Behandlungstemperatur abzunehmen. Aufgrund der erhöhten Temperatur könnte die Löslichkeit bestimmter Stoffe, wie Wachse, Abbauprodukte (Furfural, Hydroxymethylfurfural) und

Kohlehydrat-Lignin-Komplexe in dem verwendeten Ethanol/H<sub>2</sub>O Gemisch erhöht worden sein, die sonst bei der Extraktion mit Aceton/H<sub>2</sub>O in Lösung gehen.

Tabella 17 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung bei 160, 180 und 200 °C bei 15 und 30 min Behandlungsdauer

Behandlungs- temperatur [°C]	Behandlungs- dauer [min]	Glucan [%]	Xylan [%]	Arabinan [%]	Galactan [%]	Mannan [%]	Asche [%]	Lignin [%]	Extraktstoffe [%]
160	30	36,5	19,0	0,5	0,6	0,1	1,4	15,8	5,8
160	15	38,7	19,9	0,1	0,0	0,1	1,3	15,8	4,8
180	30	39,7	17,2	0,9	0,6	0,0	1,6	14,4	4,8
200	30	40,3	17,9	0,6	0,6	0,0	1,7	10,0	3,4
200	15	45,6	20,4	0,0	0,4	0,5	1,4	12,4	3,7

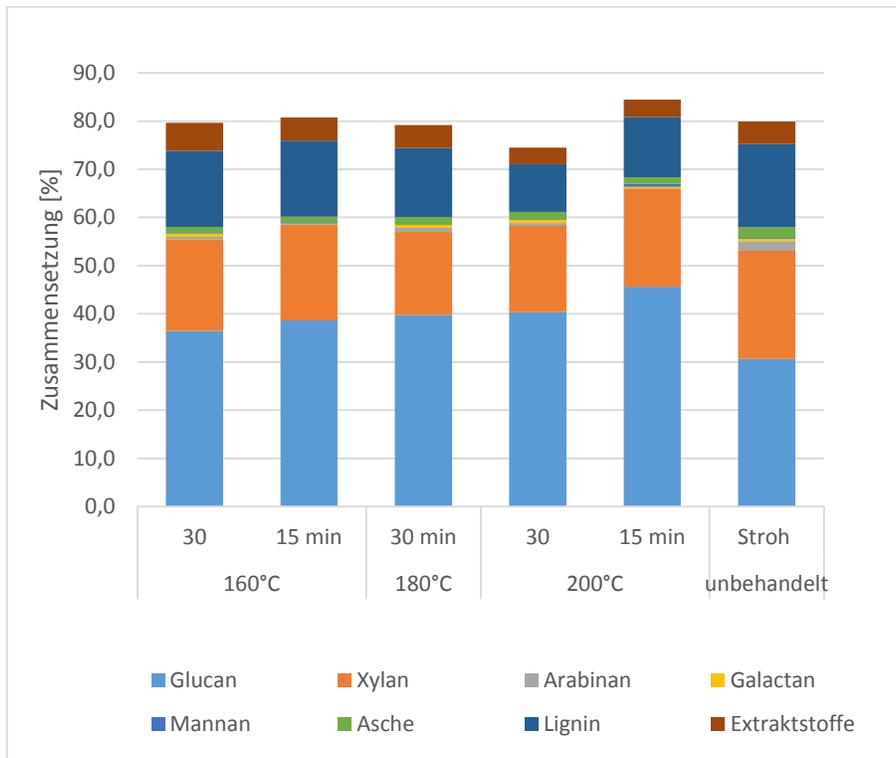


Abbildung 28 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung bei 160, 180 und 200 °C bei 15 und 30 min Behandlungsdauer, sowie des unbehandelten Weizenstrohs

### 3.2.2. Einfluss der Temperaturvariation auf die Molekulargewichtsverteilung

In Tabelle 18 und Abbildung 29 sind Polymerisationsgrade und die Menge an Weizenstrohprobe in Lösung angegeben.

Die Löslichkeit des aufgeschlossenen Strohs steigt und die durchschnittlichen Polymerisationsgrade DP Mw und Mn sinken mit höherer Behandlungstemperatur. Dies kann durch einen Abbau von Cellulose bedingt sein, die nach Spaltung eine kürzere Kettenlänge aufweist sowie auf eine erhöhte Zugänglichkeit, da bei höherer Aufschlusstemperatur eine bessere Delignifizierung und daher ein vollständigerer Aufschluss vorliegen.

Die Weizenstrohprobe die für 15 min bei 160°C behandelt wurde weist einen sehr hohen DP Mw im Vergleich zu der Probe, die für 30 min bei 160°C behandelt wurde auf. Auch bei 200°C Behandlungstemperatur weist die Probe, die für 15 min behandelt wurde einen wenn auch nur geringfügig höheren DP Mw auf als bei 30 min Behandlungsdauer. Das deutet darauf hin, dass bei längerer Behandlungsdauer ein stärkerer Abbau der Cellulose stattfindet.

Tabelle 18 Polymerisationsgrade, Polydispersität und Menge an Probe in Lösung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung bei 160, 180 und 200°C bei 15 und 30 min Behandlungsdauer

Behandlungs- temperatur [°C]	Behandlungs- dauer [min]	DP Mn Zell a	DP Mn Zell b	DP Mn Mittel- wert	DP Mw Zell a	DP Mw Zell b	DP Mw Mittel- wert	Poly- dispersität	Probe in Lösung [%]
160	30	5000	5400	5200	19000	20000	20000	3,8	42,5
160	15	5200	4800	5000	27000	23000	25000	5,0	43,5
180	30	4700	4600	4700	18000	17000	18000	3,8	64,9
200	30	3200	3400	3300	17000	17000	17000	5,1	86,5
200	15	3100	3400	3200	18000	18000	18000	5,5	77,7

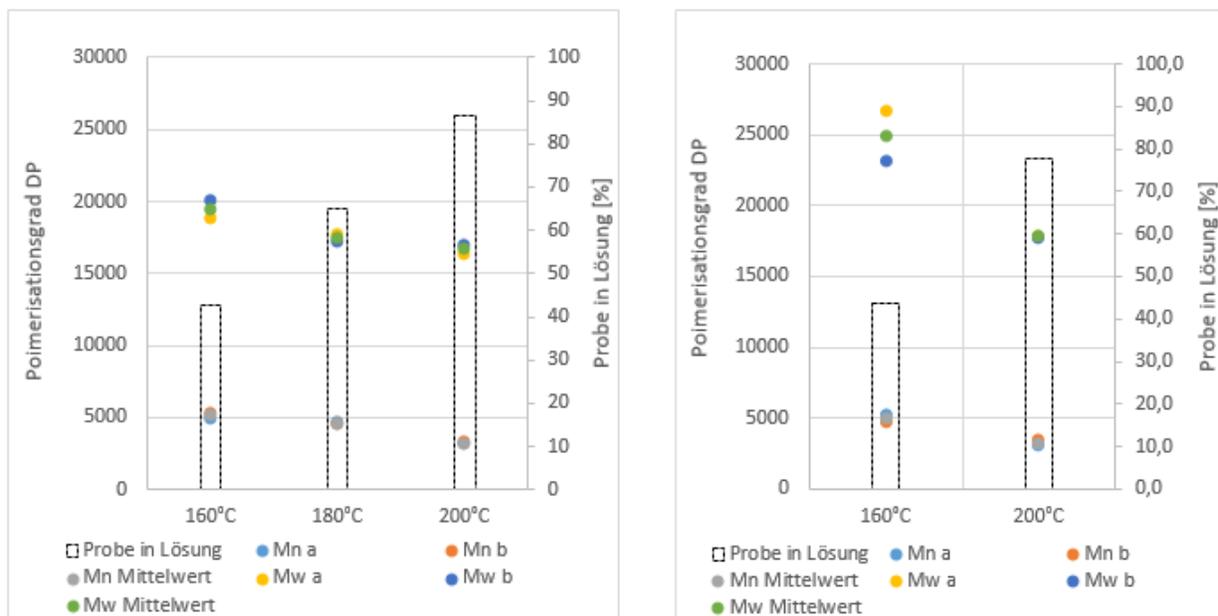


Abbildung 29 Polymerisationsgrade und Probe in Lösung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung bei 160, 180 und 200 °C bei 30 und 150 min Behandlungsdauer. (Abb. Links 30 min, Abb. Rechts 15 min Behandlungsdauer)

In Abbildung 30 sind Molekulargewichtsverteilungen nach Organosolvbehandlung bei 160, 180 und 200 °C bei 30 und in Abbildung 31 bei 15 min Behandlungsdauer mit den zugehörigen durchschnittlichen Molekulargewichten (Mn, Mw) überlagert. Man erkennt, dass die Molekulargewichtsverteilung der Weizenstrohprobe die bei 200°C behandelt wurde, im Vergleich mit der Probe die bei 160°C behandelt wurde, deutlich zu niedrigeren Molekulargewichten verschoben ist. Dies unterstützt die Annahme, dass Cellulose abgebaut wurde und dadurch mehr kürzere Ketten in Lösung gingen. In Abbildung 30 sieht man außerdem, dass die Molekulargewichtsverteilung der Probe, die bei 200°C behandelt wurde, deutlich verbreitert ist im Vergleich zu jener bei 160 und 180°C.

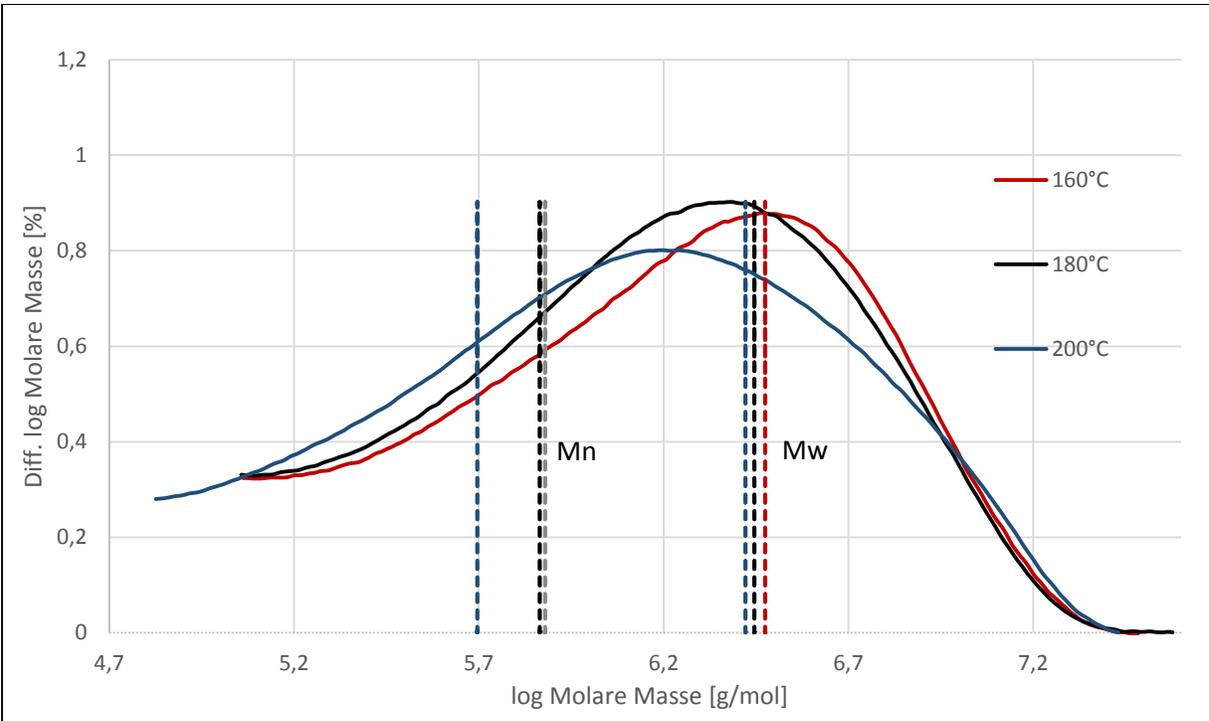


Abbildung 30 Overlay von Molekulargewichtsverteilungen und durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung bei 160, 180 und 200 °C bei 30 min Behandlungsdauer

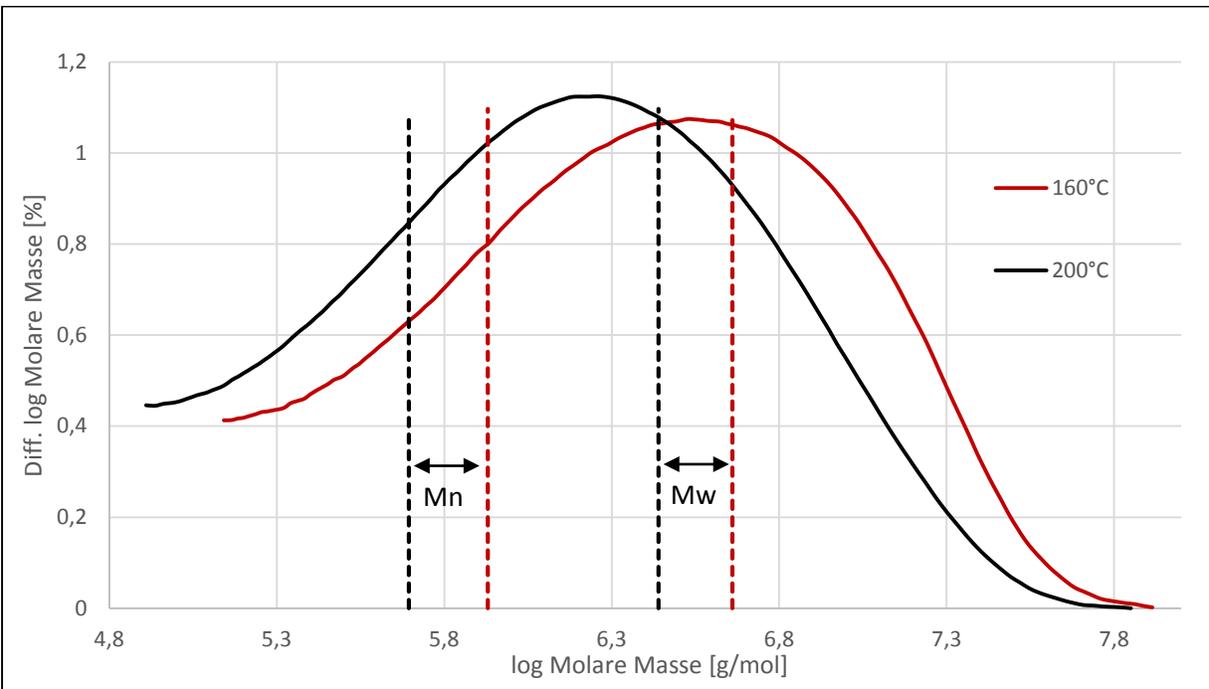


Abbildung 31 Overlay von Molekulargewichtsverteilungen und durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung bei 160, 180 und 200 °C bei 15 min Behandlungsdauer

### 3.2.3. Einfluss der Temperaturvariation auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe

In Tabelle 19 sind die relativen Anteile an Lignin gebunden an Cellulose und Lignin gebunden an Hemicellulose angegeben.

Bei den Proben die mit 160 und 180°C behandelt wurden liegen ungefähr 10% des Lignins als Lignin-Cellulose-Komplex vor und 90% als Lignin-Hemicellulose-Komplex. Mit steigender Behandlungstemperatur nimmt der Anteil an Lignin gebunden an Hemicellulose ab. Das deutet darauf hin, dass jenes Lignin, das bei höherer Temperatur beim Organosolv-Prozess zusätzlich entfernt wurde, hauptsächlich aus einem Lignin-Hemicellulose-Komplex stammt.

Tabelle 19 Relative Anteile berechnet aus Peakflächen (UV-Absorption nach HPSEC) an Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung bei 160, 180 und 200 °C bei 30 und 15 min Behandlungsdauer

Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	Anteil Lignin gebunden an Cellulose [%]	Anteil Lignin gebunden an Hemicellulose[%]
160°C	30	10	90
	15	10	90
180°C	30	11	89
200°C	30	19	81
	15	15	86

## 3.3. Essigsäuregehalt

### 3.3.1. Einfluss der Variation des Essigsäuregehalts auf die chemische Zusammensetzung

Um den Einfluss unterschiedlicher Essigsäurekonzentrationen beim Organosolv-Prozess auf die chemische Zusammensetzung zu untersuchen, wurden Weizenstrohproben mit 2 und 15 g/L Essigsäure für 15 und 30 min bei 200 °C behandelt. In Tabelle 20 sind die ermittelten Anteile an Polysacchariden (Glucan, Xylan, Arabinan, Galactan und Mannan) sowie an Asche, Lignin und Extraktstoffen angegeben. Diese sind in Abbildung 32 im Vergleich zu der unbehandelten Weizenstrohprobe graphisch dargestellt.

Bei Organosolvbehandlung mit 2 g / L Essigsäurezusatz konnte bei längerer Behandlungsdauer eine stärkere Delignifizierung beobachtet werden. Zusätzlich ist der Gehalt an Xylan bei längerer Behandlungsdauer bei 2 g / L Essigsäure deutlich geringer. Bei der Behandlung mit 15 g/L

Essigsäuregehalt konnte bis auf den Glucan-Wert keine relevante Veränderung der chemischen Zusammensetzung bei längerer Behandlungsdauer beobachtet werden. Dieser ist bei längerer Behandlung geringer was auf einen Abbau hindeutet, z.B. zu HMF (Hydroxymethylfurfural). Im Vergleich mit dem unbehandelten Stroh enthalten die mit Essigsäure behandelten Proben je nach Konzentration und Behandlungsdauer nur noch ca. 40-60% der ursprünglichen Lignin-Konzentration. Die sehr starke Delignifizierung, sowie der geringe Anteil an Xylan der Probe mit 2 g / L Essigsäure bei 30 min Behandlungsdauer erscheinen im Vergleich mit den anderen Proben nicht schlüssig. In Tabelle 21 in 3.3.2 sieht man, dass die Proben mit höherem Essigsäuregehalt geringere Polymerisationsgrade aufweisen, was auf einen Abbau der Cellulose und einen stärkeren Aufschluss hindeutet. Trotzdem ist bei der Probe mit 2 g / L Essigsäuregehalt bei 30 min eine stärkere Delignifizierung, sowie geringerer Xylan-Anteil bestimmt worden. Da bei 2 g / L und 15 min dieser Trend nicht bestätigt wird und ein höherer Xylan-Anteil und mehr Lignin in der Faser gefunden wurde als bei 15 g / L könnte die Probe mit 2 g / L Essigsäuregehalt bei 30 min Behandlungsdauer ein Ausreißer sein. Auch die Summe der analysierten Inhaltstoffe ist deutlich geringer als bei den restlichen Proben die mit Essigsäure versetzt wurden und deutet auf einen Fehler bei der nasschemischen Analyse hin.

*Tabelle 20 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Essigsäuregehalt von 2 und 15 g/L bei 15 und 30 min Behandlungsdauer*

Essig säure ge halt [g / L]	Behand lungs tempe ratur [°C]	Behand lungs dauer [min]	Glucan [%]	Xylan [%]	Arabinan [%]	Galactan [%]	Mannan [%]	Asche [%]	Lignin [%]	Extrakt stoffe [%]
2	200	30	44,6	15,5	0,4	0,4	0,7	1,6	6,6	3,1
2		15	45,9	20,7	0,0	0,3	0,4	1,5	11,0	2,4
15		30	43,4	17,4	0,6	0,6	0,0	2,1	9,5	4,4
15		15	48,4	17,9	0,3	0,5	2,3	1,3	9,1	2,7

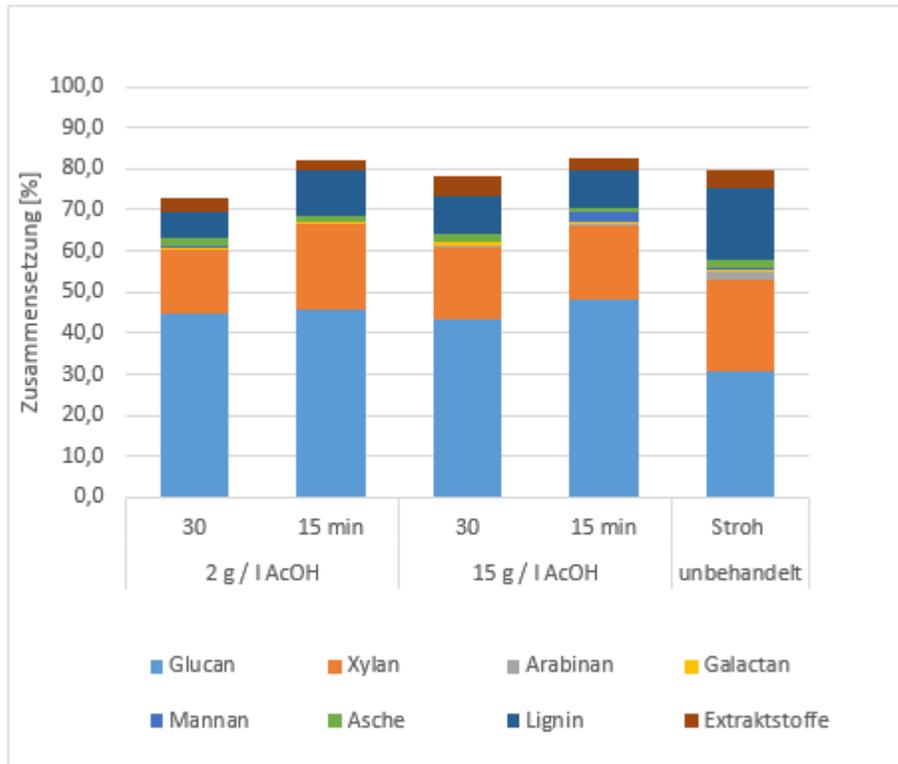


Abbildung 32 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Essigsäuregehalt von 2 und 15 g/L bei 15 und 30 min Behandlungsdauer, sowie des unbehandelten Weizenstrohs

### 3.3.2. Einfluss der Variation des Essigsäuregehalts auf die Molekulargewichtsverteilung

In Tabelle 21 und Abbildung 33 sind Polymerisationsgrade und die Menge an Weizenstrohprobe in Lösung angegeben.

Die Menge an Weizenstrohprobe in Lösung steigt und die durchschnittlichen Polymerisationsgrade DP Mw und Mn sinken mit längerer Behandlungsdauer. Dies kann durch einen vollständigeren Aufschluss, und durch Abbau von Cellulose bedingt sein. Die Proben die mit 2 g / L Essigsäuregehalt behandelt wurden weisen höhere Polymerisationsgrade DP Mn und DP Mw auf, als jene mit 15 g / L Essigsäuregehalt. Außerdem ist die Menge an Probe in Lösung bei den Proben die mit 15 g / L Essigsäuregehalt behandelt wurden höher als bei jenen die mit 2 g/L behandelt wurden sowie auch die Polydispersität was auf einen stärkeren Abbau der Cellulose schließen lässt.

Tabelle 21 Polymerisationsgrade, Polydispersität und Menge an Probe in Lösung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Essigsäuregehalt von 2 und 15 g/L bei 15 und 30 min Behandlungsdauer

Essigsäuregehalt [g/L]	Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	DP Mn Zell a	DP Mn Zell b	DP Mn Mittelwert	DP Mw Zell a	DP Mw Zell b	DP Mw Mittelwert	Polydispersität	Probe in Lösung %
2	200	30	2800	3100	2900	16000	16000	16000	5,4	85,3
2		15	4100	3700	3900	21000	20000	21000	5,3	75,3
15		30	2300	2200	2200	15000	14000	14000	6,4	92,5
15		15	2800	3000	2900	20000	18000	19000	6,6	87,2

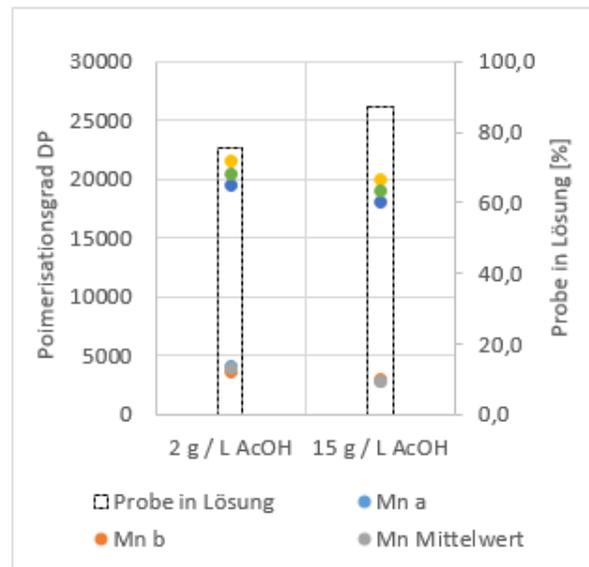
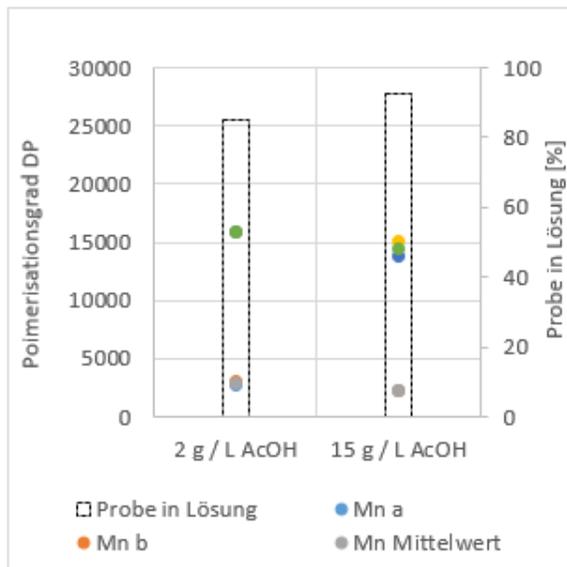


Abbildung 33 Polymerisationsgrade und Menge an Probe in Lösung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Essigsäuregehalt von 60 und 30 g/L bei 15 und 30 min Behandlungsdauer. (Abb. Links 30 min, Abb. Rechts 15min Behandlungsdauer)

In Abbildung 34 sind Molekulargewichtsverteilungen nach Organosolvbehandlung bei einem Essigsäuregehalt von 2 und 15 g / L bei 30 min und in Abbildung 35 bei 15 min Behandlungsdauer mit den zugehörigen durchschnittlichen Molekulargewichten (Mn, Mw) überlagert. Man erkennt, dass die Molekulargewichtsverteilung der Weizenstrohprobe, die bei 15g/L Essigsäuregehalt behandelt wurde, im Vergleich mit der Probe, die bei 2 g/L behandelt wurde, bei 30 sowie auch 15 min Behandlungsdauer leicht zu niedrigeren Molekulargewichten verschoben ist.

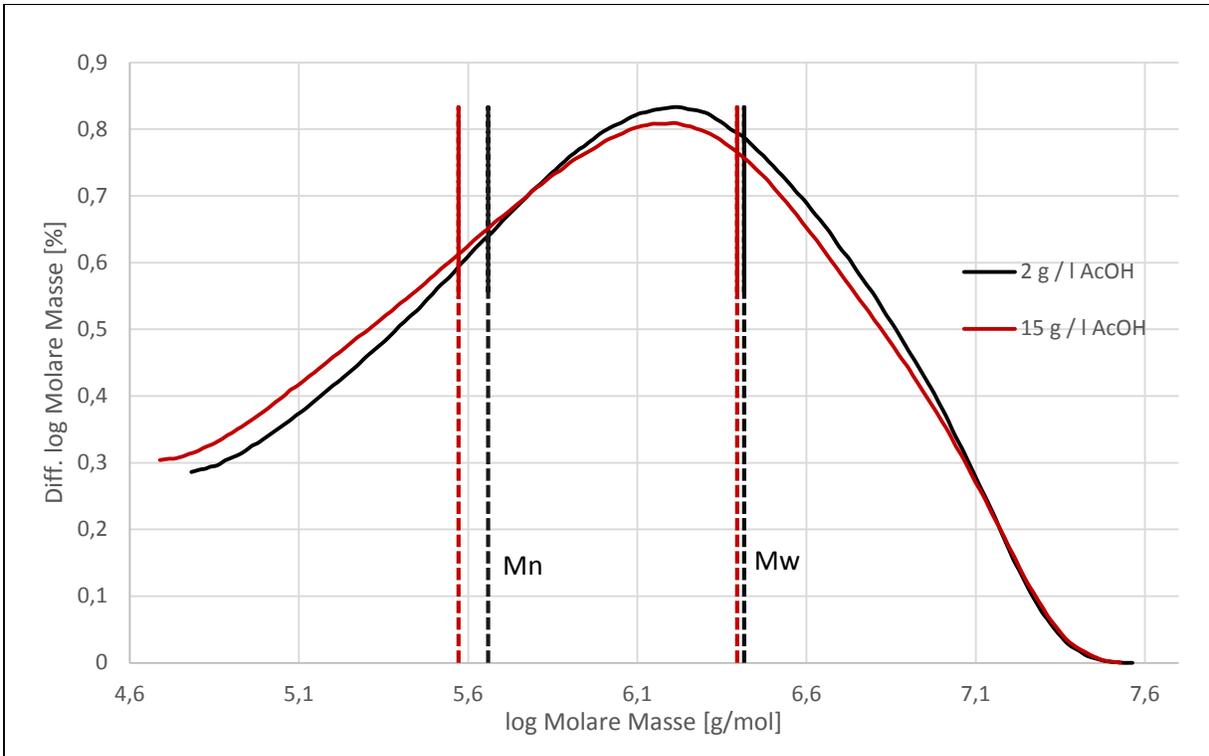


Abbildung 34 Overlay von Molekulargewichtsverteilungen und durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Essigsäuregehalt von 60 und 30 g/L bei 30 min Behandlungsdauer

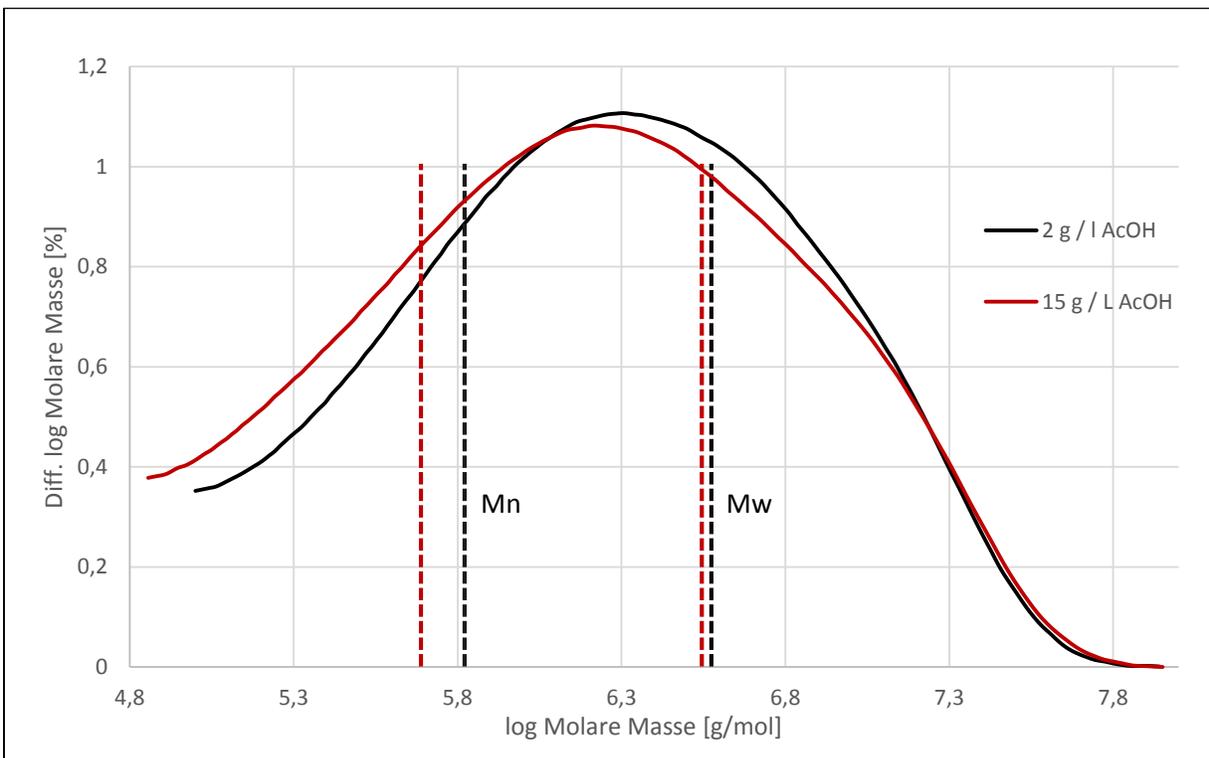


Abbildung 35 Overlay von Molekulargewichtsverteilungen und durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Essigsäuregehalt von 60 und 30 g/L bei 15 min Behandlungsdauer

### 3.3.3. Einfluss der Variation des Essigsäuregehalts auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe

In Tabelle 22 sind die relativen Anteile an Lignin gebunden an Cellulose und Lignin gebunden an Hemicellulose angegeben.

Längere Behandlungsdauer sowie höhere Essigsäurekonzentration erhöhen den Anteil an Lignin gebunden an Cellulose bei Organosolvbehandlung. Bei 15 g/L Essigsäuregehalt und 30 min Behandlungsdauer waren nur mehr etwa 70% des Lignins an Hemicellulose gebunden. Dennoch geht durch aggressivere Organosolv-Bedingungen vorwiegend der an Hemicellulose gebundene Lignin-Anteil in Lösung.

Tabelle 22 Relative Anteile berechnet aus Peakflächen (UV-Absorption nach HPSEC) an Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung mit einem Essigsäuregehalt von 60 und 30 g/L bei 15 und 30 min Behandlungsdauer

Essigsäuregehalt [g/L]	Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	Anteil Lignin gebunden an Cellulose [%]	Anteil Lignin gebunden an Hemicellulose [%]
2	200°C	30	22	78
2		15	14	86
15		30	30	70
15		15	19	81

## 3.4. Ethanolgehalt

### 3.4.1. Einfluss der Variation des Ethanolgehalts auf die chemische Zusammensetzung

Um den Einfluss unterschiedlicher Ethanolkonzentrationen beim Organosolv-Prozess auf die chemische Zusammensetzung zu untersuchen, wurden Weizenstrohproben mit 20, 60 und 90 w % Ethanolgehalt bei 200°C für 30 und 15 min behandelt. In Tabelle 23 sind die ermittelten Anteile an Polysacchariden (Glucan, Xylan, Arabinan, Galactan und Mannan) sowie an Asche, Lignin und Extraktivstoffen angegeben. Diese sind in Abbildung 36 im Vergleich zu der unbehandelten Weizenstrohprobe dargestellt.

Der Anteil an Lignin nimmt mit zunehmender Behandlungsdauer und sinkendem Ethanolgehalt stark ab. Der Anteil an Xylan ist bei den Proben mit 60 und 90 w % Ethanolgehalt relativ hoch und fällt bei 20 % drastisch ab

Auffallend hoch ist der Anteil an Extraktivstoffen bei der Behandlung mit 20 w % Ethanolgehalt sowohl bei 30 wie auch 15 min Behandlungsdauer. Dies könnte auf einen Fehler beim Waschschrift zurückzuführen sein, da die Extraktivstoffe bei den restlichen Proben im Bereich von 2-6 % liegen. Möglich wäre auch, dass aufgrund des starken Aufschlusses, bei dem mehr Xylan und Lignin in Lösung gehen und mehr lösliche Abbauprodukte wie z.B. Furfural und Hydroxymethylfurfural entstehen, bei einem unvollständigen Waschschrift deutlich mehr schon gelöste Stoffe auf der Faser verbleiben, die dann erst wieder bei der Extraktion mit Aceton/H<sub>2</sub>O in Lösung gehen.

Die effektivere Delignifizierung und Entfernung von Xylan bei 20 w % Ethanolgehalt ist auf die gute Löslichkeit der Hemicellulose und die besseren Quelleigenschaften aufgrund des höheren H<sub>2</sub>O-Gehaltes im Vergleich zu den Proben, die mit höheren Ethanolgehalten behandelt wurden, zurückzuführen. Aufgrund der guten Löslichkeit von Xylan, sowie der hohen Delignifizierung bei 20 w % Ethanolgehalt wird die Zugänglichkeit zur Cellulose erhöht und ermöglicht einen vollständigeren Aufschluss. Zusätzlich steigt auch die Konzentration an Essigsäure in Lösung von max. 200 mg/L bei dem Basis-Organosolvaufschluss (200 °C, 60 w% Ethanolgehalt, 1-5 mm Partikelgröße) auf bis zu 600 mg / L an.<sup>87</sup>

*Tabelle 23 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Ethanolgehalt von 20, 60 und 90 w% bei 15 und 30 min Behandlungsdauer*

Ethanolgehalt [w %]	Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	Glucan [%]	Xylan [%]	Arabinan [%]	Galactan [%]	Mannan [%]	Asche [%]	Lignin [%]	Extraktstoffe [%]
20	200	30	46,2	4,8	0,3	0,0	0,7	1,3	8,1	14,0
20		15	51,5	6,3	0,1	0,0	2,9	0,7	9,4	12,8
60		30	40,3	17,9	0,6	0,6	0,0	1,7	10,0	3,4
60		15	45,6	20,4	0,0	0,4	0,5	1,8	12,4	3,7
90		30	36,3	15,1	0,7	0,6	0,8	1,6	13,3	4,2
90		15	44,3	18,7	0,7	0,7	2,8	1,0	13,8	3,6

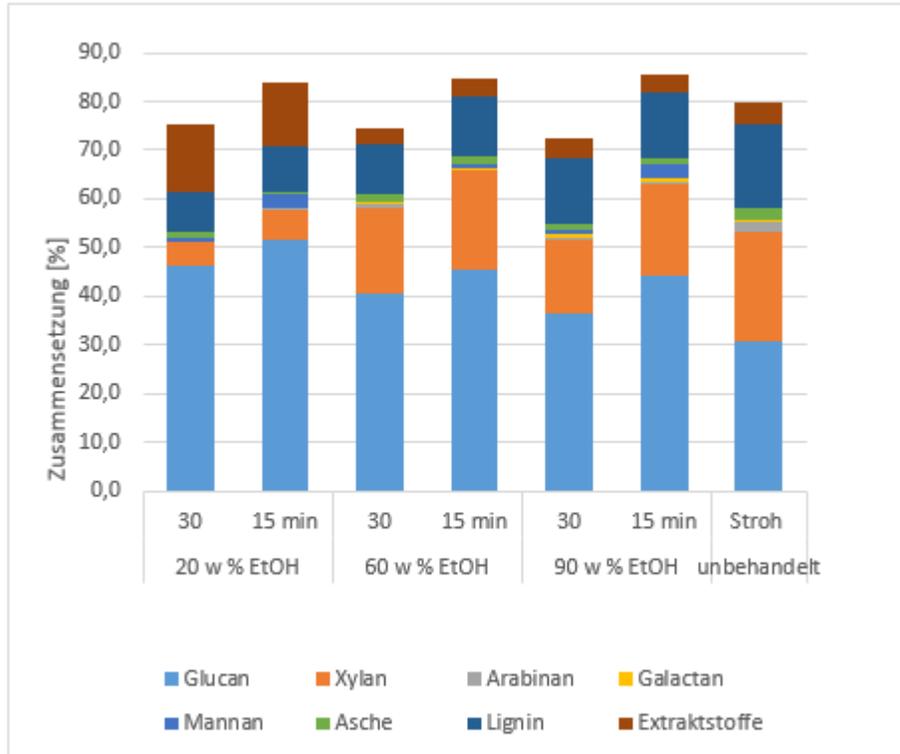


Abbildung 36 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Ethanolgehalt von 20, 60 und 90 w% bei 15 und 30 min Behandlungsdauer, sowie des unbehandelten Weizenstrohs

### 3.4.2. Einfluss der Variation des Ethanolgehalts auf die Molekulargewichtsverteilung

In Tabelle 24 und Abbildung 37 sind Polymerisationsgrade und die Menge an Weizenstrohprobe in Lösung angegeben.

Die Menge an Weizenstrohprobe in Lösung steigt und die durchschnittlichen Polymerisationsgrade DP Mw und Mn sinken mit niedrigerem Ethanolgehalt und längerer Behandlungsdauer. Dies kann durch einen Abbau von Cellulose bedingt sein, die nach Spaltung kürzere Ketten aufweist und dadurch leichter in Lösung geht. Die Proben die mit 20 w % Ethanolgehalt behandelt wurden weisen deutlich niedrigere Polymerisationsgrade Mw und Mn auf als jene Proben die mit 60 und 90 w % behandelt wurden. Die hohe Menge an Probe in Lösung sowie die niedrigen Polymerisationsgrade deuten auf einen vollständigeren Aufschluss und höheren Abbau der Cellulose hin. Aufgrund der besseren Quellbarkeit der Strohprobe und Löslichkeit der Hemicellulose, im Lösemittel mit 20 w % Ethanolgehalt sowie höherer

Delignifizierung erhöht sich die Zugänglichkeit zu den einzelnen Celluloseketten wodurch die größere Menge an Probe in Lösung, als auch der stärkerer Abbau der Cellulose erklärt werden könnten. Auch die höhere Menge an Essigsäure, die bei 20 w % Ethanolgehalt auftritt kann zu einem stärkeren Aufschluss beitragen. Die stark erhöhte Polydispersität, bei den mit 20 w % Ethanolgehalt behandelten Proben, unterstützt die Annahme, dass ein deutlich stärkerer Abbau der Cellulose stattgefunden hat.

Tabelle 24 Polymerisationsgrade, Polydispersität und Menge an Probe in Lösung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Ethanolgehalt von 20 und 90 w % bei 15 und 30 min Behandlungsdauer

Ethanolgehalt [w%]	Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	DP Mn a	DP Mn b	DP Mn Mittelwert	DP Mw a	DP Mw b	DP Mw Mittelwert	Polydispersität	Probe in Lösung (%)
20	200	30	1000	1200	1100	8400	9300	8800	7,9	90,4
20		15	1400	1500	1400	12000	12000	12000	8,5	89,5
60		30	3200	3400	3300	16600	17200	16900	5,1	86,5
60		15	3100	3400	3200	17900	17700	17800	5,5	77,7
90		30	4400	4300	4300	18000	18000	18000	4,1	53,4
90		15	4200	3000	3600	22000	18000	20000	5,5	45,8

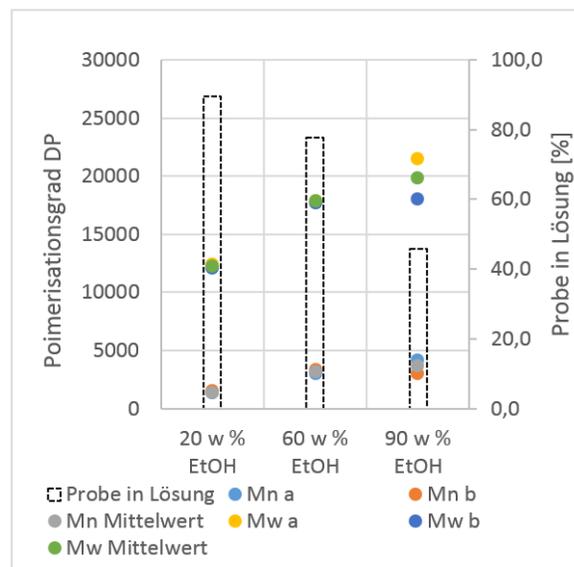
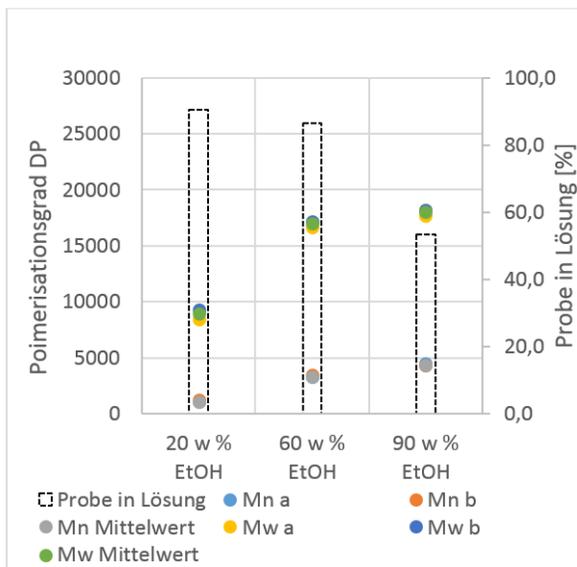


Abbildung 37 Polymerisationsgrade und Menge an Probe in Lösung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Ethanolgehalt von 20, 60 und 90 w % bei 15 und 30 min Behandlungsdauer. (Abb. Links 30 min, Abb. Rechts 15 min Behandlungsdauer)

In Abbildung 38 sind Molekulargewichtsverteilungen nach Organosolvbehandlung bei einem Ethanolgehalt von 20, 60 und 90 w % bei 30 und in Abbildung 39 bei 15 min Behandlungsdauer mit den zugehörigen durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) überlagert. Man erkennt, dass die Molekulargewichtsverteilungen der Weizenstrohproben mit sinkendem Ethanolgehalt zu geringeren Molekulargewichten verschoben werden. Außerdem kann man eine Verbreiterung der Cellulose-Molekulargewichtsverteilung mit sinkendem Ethanolgehalt erkennen, was auf einen Abbau der Cellulose hindeutet. Die Molekulargewichtsverteilungen bei Behandlung mit unterschiedlichen Ethanolgehalten bei 30 min sind im Vergleich zu jenen bei 15 min zu etwas niedrigeren Molekulargewichten verschoben.

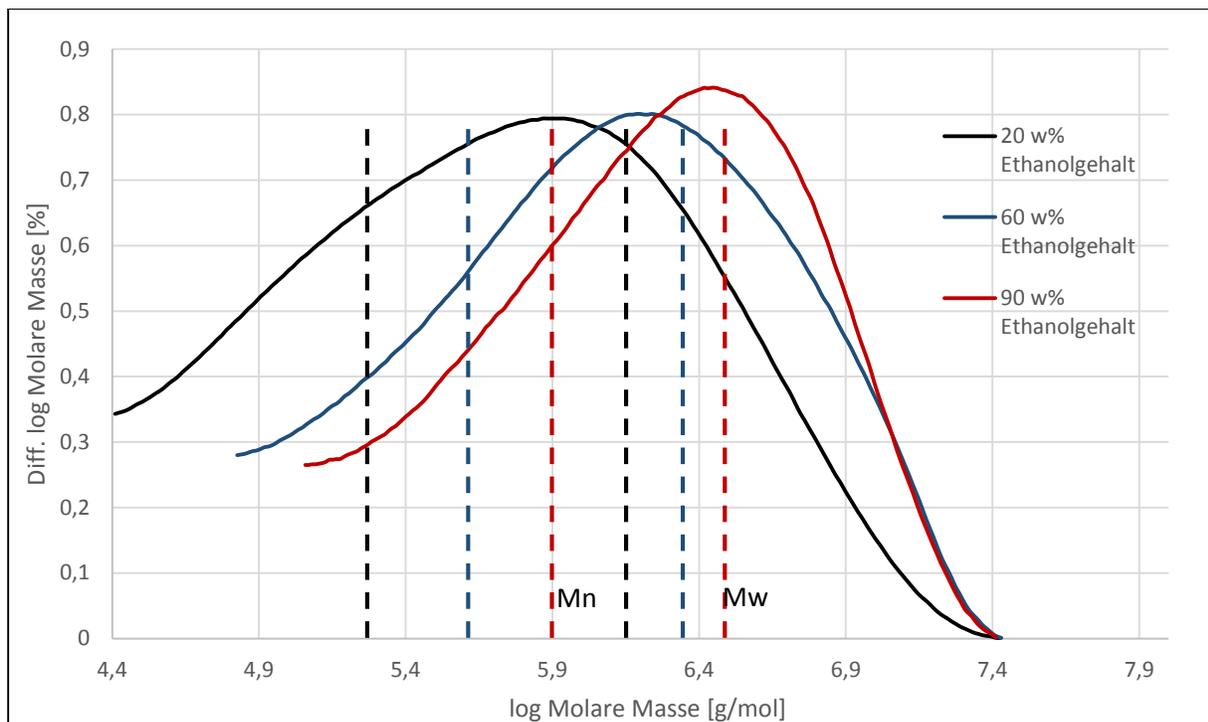


Abbildung 38 Overlay von Molekulargewichtsverteilungen und durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Ethanolgehalt von 20, 60 und 90 w% bei 30 min Behandlungsdauer

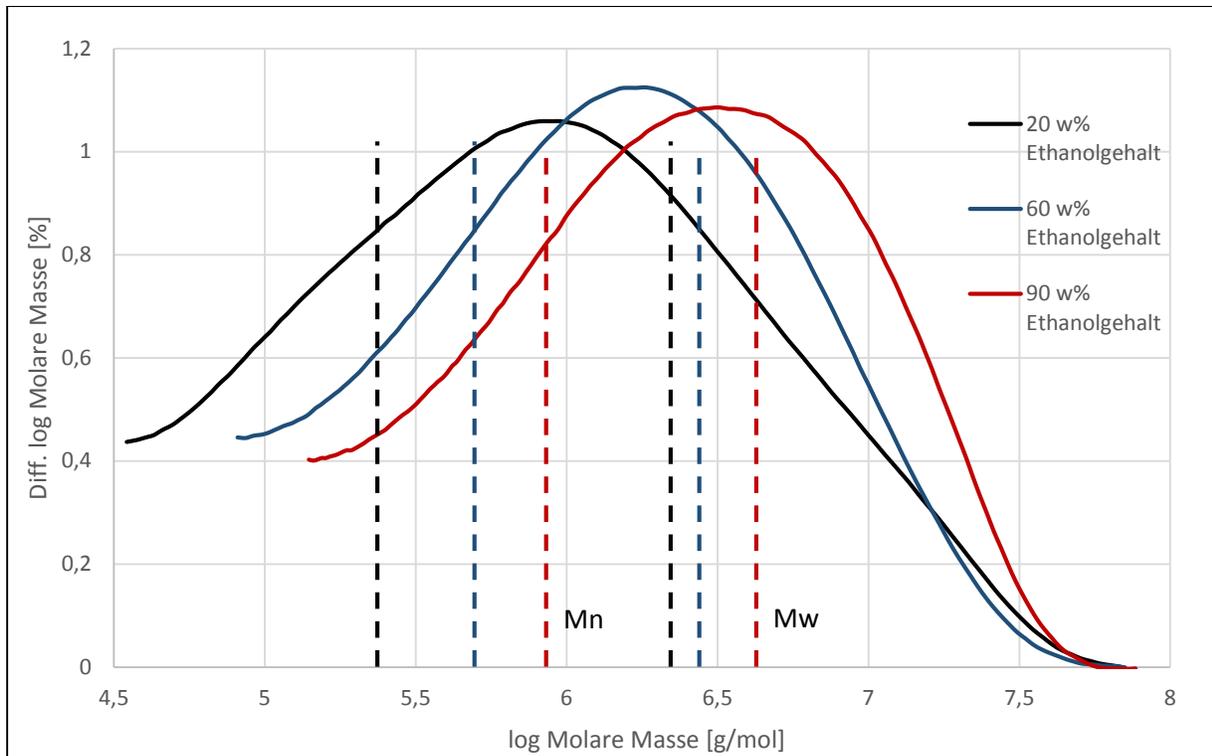


Abbildung 39 Overlay von Molekulargewichtsverteilungen und durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit einem Ethanolgehalt von 20, 60 und 90 w % bei 15 min Behandlungsdauer

### 3.4.3. Einfluss der Variation des Ethanolgehalts auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe

In Tabelle 25 sind die relativen Anteile an Lignin gebunden an Cellulose und Lignin gebunden an Hemicellulose angegeben.

Bei sinkendem Anteil an Ethanolgehalt steigt der Anteil an Lignin gebunden an Cellulose an. Bei 20 w % Ethanolgehalt und 30 min Behandlungsdauer steigt der Gehalt an Lignin gebunden an Cellulose sogar auf über 50 %. Der Anstieg des Anteils an Lignin gebunden an Cellulose ist plausibel, da bei der Organosolvbehandlung mit 20 w % Ethanolgehalt ein großer Anteil der Hemicellulose samt dem daran gebundenen Lignin entfernt wurde (siehe 3.4.1) und so vorwiegend das an Cellulose gebundene Lignin auf der Faser verbleibt.

Tabelle 25 Relative Anteile berechnet aus Peakflächen (UV-Absorption nach HPSECHPSEC) an Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung mit einem Ethanolgehalt von 20, 60 und 90 w % bei 15 und 30 min Behandlungsdauer.

Ethanolgehalt [w%]	Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	Anteil Lignin gebunden an Cellulose [%]	Anteil Lignin gebunden an Hemicellulose [%]
20	200°C	30	56	44
20		15	42	58
60		30	19	81
60		15	15	86
90		30	11	89
90		15	13	87

### 3.5. Partikelgröße

#### 3.5.1. Einfluss der Partikelgrößenvariation auf die chemische Zusammensetzung

Um den Einfluss unterschiedlicher Partikelgrößen beim Organosolv-Prozess auf die chemische Zusammensetzung zu untersuchen wurden Weizenstrohproben mit 0,1-1, 1-5 und 5-8 mm Partikelgröße bei 200°C für 15 und 30 min behandelt. In Tabelle 26 sind die ermittelten Anteile an Polysacchariden (Glucan, Xylan, Arabinan, Galactan und Mannan) sowie an Asche, Lignin und Extraktstoffen angegeben. Diese sind in Abbildung 40 im Vergleich zu der unbehandelten Weizenstrohprobe graphisch dargestellt. Die Menge an Xylan in der Faser sinkt mit steigender Behandlungsdauer, jedoch ist der Xylangehalt ebenso wie der Ligningehalt bei der mittleren Probe mit 1-5 mm am höchsten, was sich nur schwer erklären lässt. Bei den Lignin-Werten ist kein eindeutiger Trend erkennbar, jedoch sind die Anteile an Lignin in den Proben mit Partikelgröße von 5-8 mm überraschenderweise etwas niedriger als bei 0,1-1 und 1-5 mm. Nur der abnehmende Glucan-Anteil aufgrund stärkeren Abbaus bei geringerer Partikelgröße entspricht den Erwartungen. Jedoch sticht die für 15 min behandelte Probe mit 5-8 mm Partikelgröße aufgrund ihres sehr hohen Glucan-Anteils hervor, welcher nicht plausibel erklärt werden kann und ein Messfehler sein könnte. Um hier genauere Unterschiede bzw. Trends zu erkennen müssten mehr Messungen durchgeführt werden.

Tabelle 26 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit Partikelgröße von 0,1-1, 1-5 und 5-8 mm bei 15 und 30 min Behandlungsdauer

Partikelgröße [mm]	Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	Glucan [%]	Xylan [%]	Arabinan [%]	Galactan [%]	Mannan [%]	Asche [%]	Lignin [%]	Extraktstoffe [%]
0,1-1	200	30	40,2	14,6	0,5	0,5	0,9	1,4	10,1	4,2
0,1-1		15	42,1	19,4	0,6	0,6	2,5	3,6	9,0	2,9
1-5		30	40,3	17,9	0,6	0,6	0,0	1,7	10,0	3,4
1-5		15	45,6	20,4	0,0	0,4	0,5	1,4	12,4	3,7
5-8		30	44,2	15,0	0,4	0,4	0,6	1,0	8,1	4,1
5-8		15	54,5	18,0	0,3	0,5	2,6	1,3	8,9	4,5

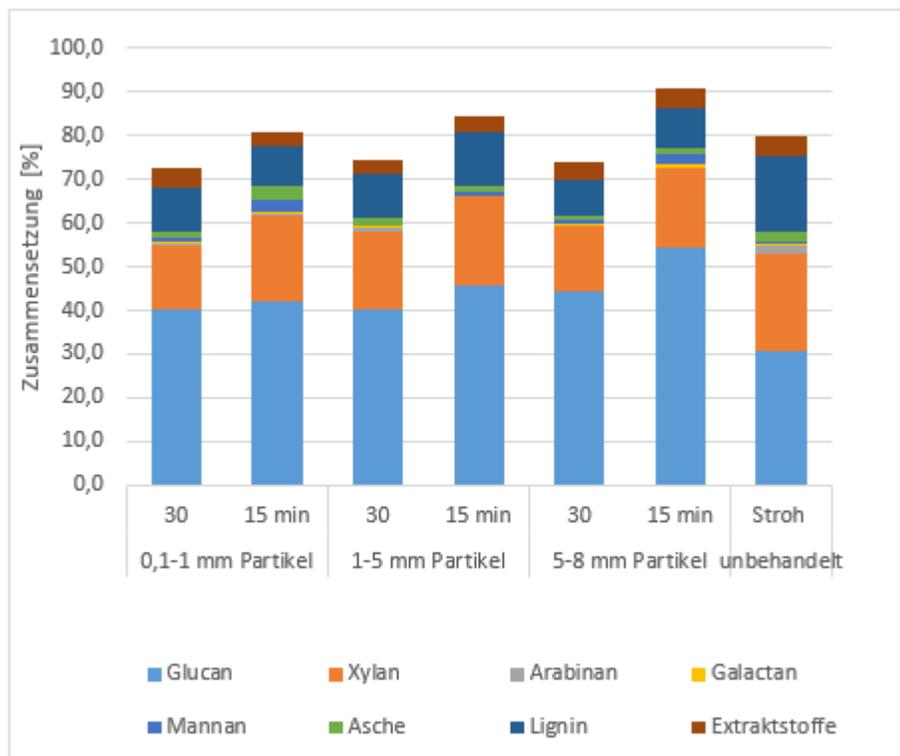


Abbildung 40 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit Partikelgrößen von 0,1-1, 1-5 und 5-8 mm bei 15 und 30 min Behandlungsdauer, sowie des unbehandelten Weizenstrohs

### 3.5.2. Einfluss der Partikelgrößenvariation auf die Molekulargewichtsverteilung

In Tabelle 24 und Abbildung 41 sind Polymerisationsgrade und die Mengen an Weizenstrohprobe in Lösung angegeben.

Anders als die chemische Zusammensetzung entsprechen Polymerisationsgrad und Menge an Probe in Lösung einigermaßen den Erwartungen. Die durchschnittlichen Polymerisationsgrade DP Mw und Mn sinken mit längerer Behandlungsdauer und mit absteigendem Partikelgröße. Auch die Menge an Probe in Lösung steigt mit sinkender Partikelgröße. Das deutet auf einen besseren Aufschluss hin, kann aber dadurch auch durch einen Abbau von Cellulose bedingt sein, die nach Spaltung kürzere Ketten aufweist und dadurch leichter in Lösung geht. Die Proben mit 0,1- 1 mm Partikelgröße weisen auch deutlich geringere Polymerisationsgrade auf als jene mit 5-8 mm Durchmesser. Das erscheint plausibel, da bei gleicher Probenmenge durch eine geringere Partikelgröße eine größere Oberfläche vorhanden ist und dadurch mehr Wechselwirkungen mit dem Lösemittel ermöglicht werden. Dadurch kann die Cellulose leichter in Lösung gebracht, jedoch auch der Abbau gefördert werden.

Tabelle 27 Polymerisationsgrade, Polydispersität und Menge an Probe in Lösung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit Partikelgrößen von 0,1-1, 1-5 und 5-8 mm bei 20 und 30 min Behandlungsdauer

Partikelgröße [mm]	Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	DP Mn Zell a	DP Mn Zell b	DP Mn Mittelwert	DP Mw Zell a	DP Mw Zell b	DP Mw Mittelwert	Polydispersität	Probe in Lösung [%]
0,1-1	200	30	2300	2500	2400	13000	16000	14000	5,9	83,0
0,1-1		15	3200	3400	3300	17000	17000	17000	5,1	86,5
1-5		30	3200	3400	3300	17000	17000	17000	5,1	86,5
1-5		15	3100	3400	3200	18000	18000	18000	5,5	77,7
5-8		30	3500	3600	3500	18000	19000	18000	5,2	73,2
5-8		15	4100	4500	4300	22000	24000	23000	5,3	69,4

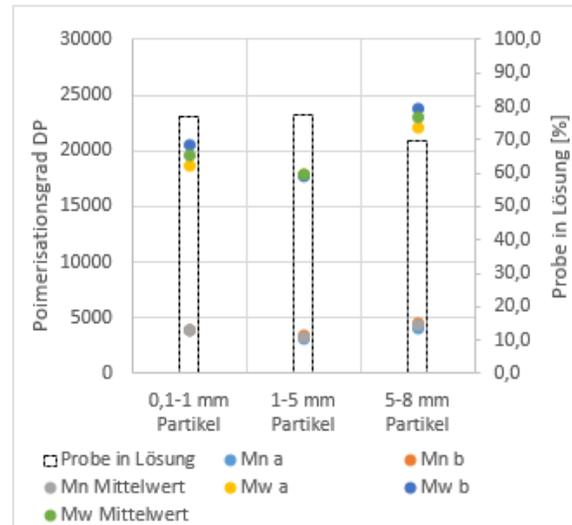
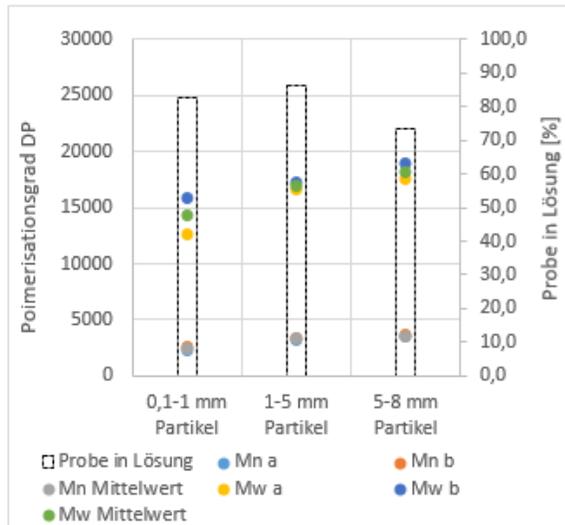


Abbildung 41 Polymerisationsgrade und Menge an Probe in Lösung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit Partikelgrößen von 0,1-1, 1-5 und 5-8 mm bei 15 und 30 min Behandlungsdauer. (Abb. Links 30 min, Abb. Rechts 15 min Behandlungsdauer)

In Abbildung 42 sind Molekulargewichtsverteilungen nach Organosolvbehandlung von Weizenstrohproben mit 0,1-1, 1-5 und 5-8 mm Partikelgröße bei 200°C bei 30 und in Abbildung 43 bei 15 min Behandlungsdauer mit den zugehörigen durchschnittlichen Molekulargewichten (Mn, Mw) überlagert. Man sieht, dass die Molekulargewichtsverteilungen bei 30 min Behandlung mit kleiner Partikelgröße zu niedrigeren Molekulargewichten verschoben werden, als jene mit höherer Partikelgröße. Dies deckt sich mit den Ergebnissen aus Tabelle 24 und Abbildung 41 und unterstreicht die Annahme, dass aufgrund der höheren Oberfläche aufgrund der kleineren Partikelgröße es zu einem stärkeren Abbau an Cellulose kommt. In Abbildung 43 bei 15 min Behandlungsdauer ist eine Verschiebung der Molekulargewichtsverteilung der Proben mit 0,1-1 und 1-5 mm im Vergleich zur Probe mit 5-8 mm Partikelgröße zu geringeren Molekulargewichten erkennbar. Zwischen den Molekulargewichtsverteilungen der Weizenstrohproben mit 0,1-1 und 1-5mm Partikelgröße ist keine eindeutige Verschiebung zu erkennen, jedoch sieht man, dass bei 0,1-1mm Partikelgröße etwas mehr Cellulose im höheren Molekulargewichtsbereich (log Mw 6,9-7,8) und bei 1-5mm bei engerer Verteilung mehr im mittleren Molekulargewichtsbereich (log Mw 5,7-6,8) in Lösung ist.

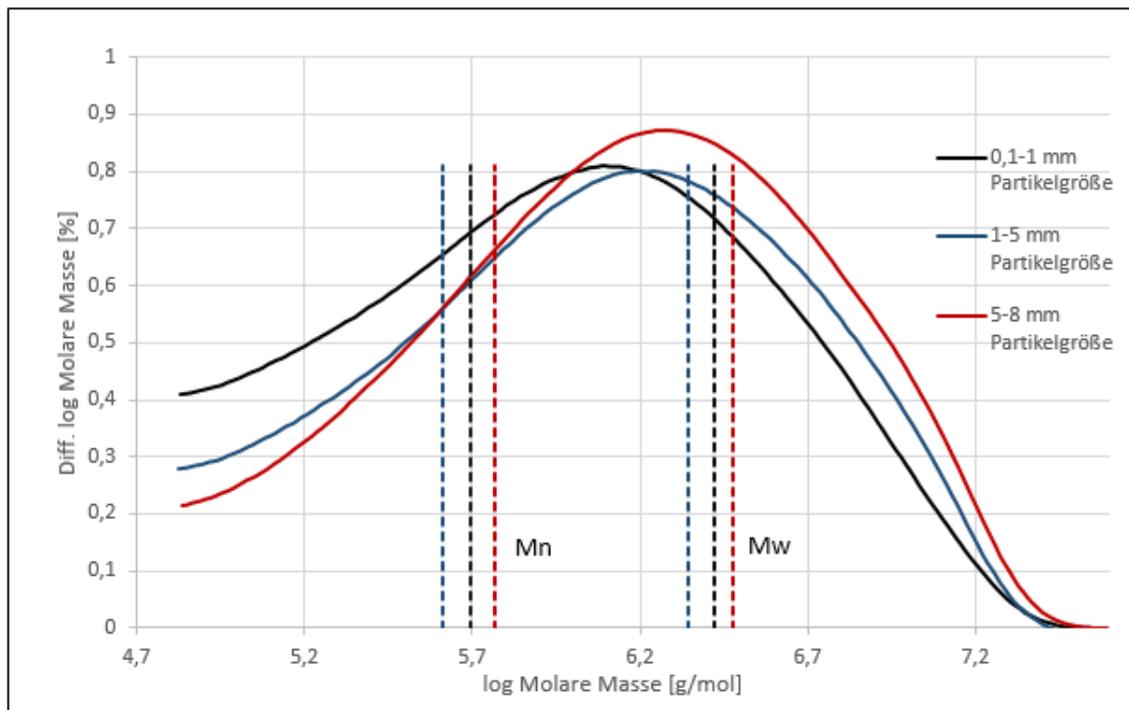


Abbildung 42 Overlay von Molekulargewichtsverteilungen und durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit Partikelgröße von 0,1-1, 1-5 und 5-8 mm bei 30 min Behandlungsdauer

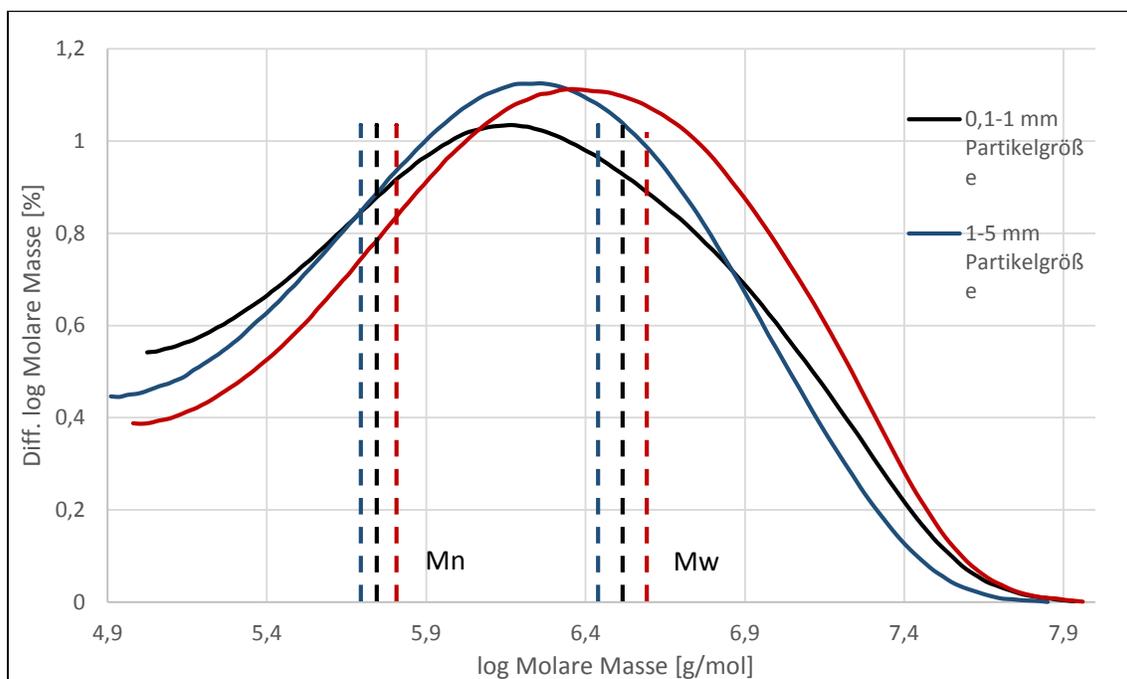


Abbildung 43 Overlay von Molekulargewichtsverteilungen und durchschnittlichen Molekulargewichten ( $M_n$ ,  $M_w$ ) der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit Partikelgrößen von 0,1-1, 1-5 und 5-8 mm bei 15 min Behandlungsdauer

### 3.5.3. Einfluss der Partikelgrößenvariation auf die Lignin-Kohlenhydrat-Komplexe

In Tabelle 28 sind die relativen Anteile an Lignin gebunden an Cellulose und Lignin gebunden an Hemicellulose angegeben.

Bei längerer Behandlungsdauer steigt der Anteil an Lignin gebunden an Cellulose an. Dies erscheint plausibel weil auch die Menge an Xylan bei längerer Behandlungsdauer bei allen verwendeten Partikelgrößen sinkt (siehe Tabelle 26) und so der Anteil an Lignin gebunden an Cellulose prozentuell mehr Gewicht erhält. Große Unterschiede zwischen den einzelnen Proben mit unterschiedlichen Partikelgrößen sind nicht ersichtlich. Lediglich die Probe mit Partikelgröße 0,1-1 mm und 15 min Behandlungsdauer besitzt einen etwas niedrigeren Anteil an Cellulose-Lignin als die beiden anderen 15 min-Proben.

*Tabelle 28 Relative Anteile berechnet aus Peakflächen (UV-Absorption nach HPSEC) an Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung mit Partikelgrößen von 0,1-1, 1-5 und 5-8 mm bei 15 und 30 min Behandlungsdauer*

Partikelgröße [mm]	Behandlungstemperatur [°C]	Behandlungsdauer [min]	Anteil Lignin gebunden an Cellulose [%]	Anteil Lignin gebunden an Hemicellulose [%]
0,1-1	200°C	30	18	82
		15	11	89
1-5		30	19	81
		15	15	86
5-8		30	18	82
		15	14	86

## 4. Kappa-Zahl

In Tabelle 29 sind die, anhand des Klason-Lignin-Gehaltes der Weizenstrohproben, berechneten Kappa-Zahlen bei unterschiedlichen Organosolv-Variationen angegeben. Die Proben befinden sich mit Kappa-Zahlen zwischen 44 und 115 im oberen Bereich und damit teilweise auch außerhalb der von 1-100 definierten Kappa-Skala. Proben mit hohem Lignin-Anteil, die in einer Kappa-Zahl von über 100 resultieren, sollten nicht analysiert werden, da die Methode außerhalb des Bereiches von 1-100 keine Gültigkeit besitzt.<sup>80</sup>

Aufgrund des hohen Restligningehaltes in den Fasern und den daraus berechneten hohen Kappa-Zahlen dürften sich Weizenstrohfäsern aus diesem Organosolv-Prozess wirtschaftlich nur für jene

Anwendungen in der Papierindustrie eignen, bei denen kein Bleichverfahren eingesetzt werden muss.

Tabelle 29 Kappa-Zahl bei unterschiedlichen Organosolv-Variationen

Partikelgröße [mm]	Ethanolgehalt [w%]	Essigsäuregehalt [g/L]	Temperatur [°C]	Behandlungsdauer <sup>1</sup> [min]	Kappa-Zahl	
1-5	60	0	160	30	105	
1-5	60	0	180		96	
1-5	60	0	200		66	
1-5	60	2	200		44	
1-5	60	15			63	
1-5	20	0			54	
1-5	60	0			66	
1-5	90	0			89	
0,1-1	60	0			68	
1-5	60	0			66	
5-8	60	0			54	
1-5	60	0	160		15	105
1-5	60	0	200			83
1-5	60	2	200	74		
1-5	60	15		61		
1-5	20	0		63		
1-5	60	0		83		
1-5	90	0		92		
0,1-1	60	0		60		
1-5	60	0		83		
5-8	60	0		59		
1-5	60	0	160	0	109	
1-5	60	0		15	106	
1-5	60	0		30	105	
1-5	60	0		45	100	
1-5	60	0		60	93	
Stroh unbehandelt			-	-	115	

<sup>1</sup> Die Behandlungsdauer entspricht der Haltezeit im Reaktor, bei der die Temperatur konstant gehalten wird.

## Zusammenfassung

Zielsetzung der Arbeit war die Charakterisierung der festen Produkte nach Organosolvbehandlung von Weizenstroh.

Zunächst wurde eine Methode zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung und des Polymerisationsgrades von Weizenstrohcellulose etabliert. Zu diesem Zweck wurde ein HPSEC- (High Performance Size Exclusion Chromatography) System mit einem RI-Detektor eingesetzt, wobei die Kalibration des Systems mit kommerziell erhältlichen Pullulan-Standards erfolgte. Zusätzlich wurde noch ein UV-Detektor verwendet, um aromatische Bestandteile wie z.B. Lignin zu detektieren. Anhand von schon gelösten Cellulose-Proben wurde die chromatographische Methode im bekannten Lösemittelsystem DMAc / LiCl (0,9 w % LiCl) optimiert und zur Vermessung von gelösten Weizenstrohproben eingesetzt. Die gemessenen Molekulargewichtsverteilungen wurden in mittlere Molekulargewichte (Mn: Zahlenmittel; Mw: Gewichtsmittel) umgerechnet und daraus Polydispersitäten und Polymerisationsgrade bestimmt.

Um den Löseprozess der Weizenstrohproben zu optimieren wurden Lösetemperatur, Lösedauer und der zur Aktivierung der Cellulose vor dem Lösen in DMAc / LiCl dienende Lösemittelaustausch variiert. Aufgrund von Abbaureaktionen, die bei erhöhter Temperatur (54 und 80°C) beim Löseprozess in DMAc / LiCl festgestellt wurden, wurden die Proben letztlich bei 32°C für 72 Stunden gelöst. Bei keiner der getesteten Lösetemperaturen lösten sich die Weizenstrohproben vollständig in DMAc / LiCl. Je nach Stärke der Organosolvbehandlung konnten 39,8 - 92,5 % der Ausgangsmenge bei 32°C in Lösung gebracht werden. Daher eignen sich die berechneten Molekulargewichte nur als relative Vergleichswerte um die Auswirkungen der unterschiedlichen Variationen der Organosolvbehandlung auf die Molekulargewichtsverteilung und den Polymerisationsgrad zu vergleichen. Das unbehandelte Weizenstroh konnte auch nach längerer Lösedauer nicht in Lösung gebracht werden.

Die chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben wurde nach bekannter Vorschrift (TAPPI) durchgeführt. Dabei wurden die Anteile an Extraktstoffen, Kohlenhydraten, Lignin und Asche in den Weizenstrohproben nach der Organosolvbehandlung bestimmt und eine Abschätzung der Kappazahl anhand des Ligningehalts durchgeführt. Es wurde der Versuch unternommen, Zusammenhänge zwischen chemischer Zusammensetzung und Molekulargewichtsverteilung bzw. Polymerisationsgrad herzustellen.

Bei der Organosolvbehandlung wurde für alle Weizenstrohproben im ersten Schritt eine Heißwasserextraktion durchgeführt. Im 2. Schritt wurde der eigentliche Organosolv-Prozess durchgeführt, bei dem verschiedene Parameter variiert wurden (Behandlungsdauer, Behandlungstemperatur, Ethanolgehalt, Essigsäuregehalt, Partikelgröße). Die Organosolv-Variationen wurden bei 15 und 30 min Behandlungsdauer untersucht. Eine erweiterte Variation der Behandlungsdauer (0-60 min) wurde bei fixer Temperatur und Ethanolgehalt durchgeführt.

Je nach Organosolv-Variation traten teils deutliche Unterschiede in chemischer Zusammensetzung und bei der Molekulargewichtsverteilung auf. Die analysierten Stroh-Proben enthielten 29,2 - 54,5 % Glucan, 4,8 - 21,4 % Xylan, 0 - 1,9 % Arabinan, 0 - 0,7 % Galactan, 0 - 2,9 % Mannan, 0,7 - 3,6 % Asche, 6,6 - 17,3 % Lignin und 2,1 - 14 % Extraktstoffe. Der Polymerisationsgrad (DP Mw) der analysierten Strohproben lag zwischen 8800 und 25000. Größeren Einfluss auf die chemische Zusammensetzung und den Polymerisationsgrad hatten die Variationen von Ethanolgehalt und Temperatur, sowie der Zusatz von Essigsäure.

Bei der Ethanol-Variation bei 30 min Behandlungsdauer konnte bei 20 w % Ethanolgehalt die größte Entfernung von Xylan (4,8% Restgehalt) und auch eine starke Delignifizierung (8,1% Restgehalt) erzielt werden. Gleichzeitig wies die Probe auch den geringsten Polymerisationsgrad und die höchste Polydispersität (7,9) auf, was auf einen starken Abbau der Cellulose schließen lässt.

Bei der Temperaturvariation, bei 30 min Behandlungsdauer, konnte mit steigender Temperatur eine steigende Delignifizierung (10-15,8% Restgehalt) und sinkende Polymerisationsgrade

(17000-20000) festgestellt werden. Auch die Polydispersität stieg mit höherer Temperatur, was wiederum auf einen Abbau der Cellulose hindeutet.

Bei der Zugabe von Essigsäure bei 30 min Behandlungsdauer war bei 15 g/L eine starke Delignifizierung erkennbar (9,5% Restgehalt). Bei beiden Essigsäurekonzentrationen wurde ein deutlicher Abbau der Cellulose festgestellt (DP 16000 bei 2 g/L und DP 14000 bei 15 g/L), der bei höherer Essigsäurekonzentrationen stärker ausfiel.

Die erhöhte Behandlungsdauer wirkte sich durchgehend verstärkend auf die durch Besonderheiten der Organosolv-Variationen bewirkten Änderungen der chemischen Zusammensetzung und den Polymerisationsgrad aus. Das bedeutet, dass bei höherer Behandlungsdauer die Delignifizierung, bzw. die Entfernung von Xylan steigt und die Polymerisationsgrade sinken. Weiters wurden Weizenstrohproben bei Organosolvbehandlung bei 160°C bei Behandlungsdauern von 0, 15, 30, 45 und 60 min gemessen. Hier wurde eine leichte Steigerung der Delignifizierung mit steigender Behandlungsdauer gemessen.

Die UV-Messung nach der HPSEC legt nahe, dass in Weizenstrohcellulose Lignin an Hemicellulose und auch an Cellulose gebunden vorliegt. Jedoch könnten auch Abbauprodukte von Cellulose (Aldehyd-, Keton-, organische Säuregruppen...) zu dem gemessenen UV-Signal beitragen. Bei erhöhter Entfernung von Xylan aus der Faser sinkt auch der Anteil an Lignin gebunden an Hemicellulose, was als grobe Kontrolle der nasschemischen Analyse des Xylans dienen kann.

Die Methode zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung von Cellulose aus Weizenstroh konnte erfolgreich etabliert und eingesetzt werden, um ein besseres Verständnis über die Menge und Verteilung der unterschiedlich langen Cellulose-Ketten nach Organosolvbehandlung zu erlangen. Sie eignet sich für den relativen Vergleich zwischen unterschiedlich behandelten Weizenstrohproben, um Polymerisationsgrade zu bestimmen und Informationen über den Abbau und die Stärke des Aufschlusses zu gewinnen. Da die Weizenstrohproben nicht vollständig gelöst werden konnten, eignet sich diese Methode nicht zur Bestimmung der absoluten Molekulargewichtsverteilungen und Polymerisationsgrade in den festen Proben.

## Anhang

Tabelle 30 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Variationen (Ethanolgehalt, Partikelgröße, Zugabe von Essigsäure), Temperaturen und Behandlungsdauern, sowie des unbehandelten Weizenstrohs.

Partikelgröße [mm]	Ethanolgehalt [w%]	Essigsäuregehalt g/L	Temperatur [°C]	Behandlungsdauer <sup>†</sup> [min]	Glucan [%]	Xylan [%]	Arabinan [%]	Galactan [%]	Mannan [%]	Asche [%]	Lignin [%]	Extraktivstoffe [%]		
1-5	60	0	160	30	36,5	19	0,5	0,6	0,1	1,4	15,8	5,8		
1-5	60	0	180		39,7	17,2	0,9	0,6	0	1,6	14,4	4,8		
1-5	60	0	200		40,3	17,9	0,6	0,6	0	1,7	10	3,4		
1-5	60	2	200		44,6	15,5	0,4	0,4	0,7	1,6	6,6	3,1		
1-5	60	15			43,4	17,4	0,6	0,6	0	2,1	9,5	4,4		
1-5	20	0			46,2	4,8	0,3	0	0,7	1,3	8,1	14		
1-5	60	0			40,3	17,9	0,6	0,6	0	1,7	10	3,4		
1-5	90	0			36,3	15,1	0,7	0,6	0,8	1,6	13,3	4,2		
0,1-1	60	0			40,2	14,6	0,5	0,5	0,9	1,4	10,1	4,2		
1-5	60	0			40,3	17,9	0,6	0,6	0	1,7	10	3,4		
5-8	60	0			44,2	15	0,4	0,4	0,6	1	8,1	4,1		
1-5	60	0			160	15	38,7	19,9	0,1	0,0	0,1	1,3	15,8	4,8
1-5	60	0			200		45,6	20,4	0	0,4	0,5	1,4	12,4	3,7
1-5	60	2	200	45,9	20,7		0	0,3	0,4	1,5	11	2,4		
1-5	60	15		48,4	17,9		0,3	0,5	2,3	1,3	9,1	2,7		
1-5	20	0		51,5	6,3		0,1	0	2,9	0,7	9,4	12,8		
1-5	60	0		45,6	20,4		0	0,4	0,5	1,4	12,4	3,7		
1-5	90	0		44,3	18,7		0,7	0,7	2,8	1	13,8	3,6		
0,1-1	60	0		42,1	19,4		0,6	0,6	2,5	3,6	9	2,9		
1-5	60	0		45,6	20,4		0	0,4	0,5	1,4	12,4	3,7		
5-8	60	0		54,5	18		0,3	0,5	2,6	1,3	8,9	4,5		
1-5	60	0		160	0		38,9	21,3	0,3	0	0,1	1,2	16,3	2,1
1-5	60	0			15		38,7	19,9	0,1	0,0	0,1	1,3	15,8	4,8
1-5	60	0	30		36,5		19	0,5	0,6	0,1	1,4	15,8	5,8	
1-5	60	0	45		40,6	20,6	0	0	0,1	1,3	15	2,3		
1-5	60	0	60		40,7	19,9	0	0	0	1,3	14	2,7		
Stroh unbehandelt					29,2	21,4	1,9	0,4	0,2	2,1	17,3	4,6		

<sup>†</sup> Die Behandlungsdauer entspricht der Haltezeit im Reaktor, bei der die Temperatur konstant gehalten wird.

Tabelle 31 Polymerisationsgrade und Menge an Probe in Lösung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Variationen (Ethanolgehalt, Partikelgröße, Zugabe von Essigsäure), Temperaturen und Behandlungsdauern. Die Zusätze a und b bezeichnen die jeweiligen Einzelwerte der Doppelbestimmungen. Der Polymerisationsgrad ist als DP abgekürzt.

Partikelgröße [mm]	Ethanolgehalt [w%]	Essigsäuregehalt g/L	Temperatur [°C]	Behandlungsdauer <sup>†</sup> [min]	DP Mn Zell a	DP Mn Zell b	DP Mn Mittelwert	DP Mw Zell a	DP Mw Zell b	DP Mw Mittelwert	Polydispersität	Probe in Lösung [%]	
1-5	60	0	160	30	5000	5400	5200	19000	20000	20000	3,8	42,5	
1-5	60	0	180		4700	4600	4700	18000	17000	18000	3,8	64,9	
1-5	60	0	200		3200	3400	3300	17000	17000	17000	5,1	86,5	
1-5	60	2	200		2800	3100	2900	16000	16000	16000	5,4	85,3	
1-5	60	15			2300	2200	2200	15000	14000	14000	6,4	92,5	
1-5	20	0			1000	1200	1100	8400	9300	8800	7,9	90,4	
1-5	60	0			3200	3400	3300	17000	17000	17000	5,1	86,5	
1-5	90	0			4400	4300	4300	18000	18000	18000	4,1	53,4	
0,1-1	60	0			2300	2500	2400	13000	16000	14000	5,9	83,0	
1-5	60	0			3200	3400	3300	17000	17000	17000	5,1	86,5	
5-8	60	0			3500	3600	3500	18000	19000	18000	5,2	73,2	
1-5	60	0			160	15	5200	4800	5000	27000	23000	25000	5,0
1-5	60	0		200	3100		3400	3200	18000	18000	18000	5,5	77,7
1-5	60	2	200	4100	3700		3900	21000	20000	21000	5,3	75,3	
1-5	60	15		2800	3000		2900	20000	18000	19000	6,6	87,2	
1-5	20	0		1400	1500		1400	12000	12000	12000	8,5	89,5	
1-5	60	0		3100	3400		3200	18000	18000	18000	5,5	77,7	
1-5	90	0		4200	3000		3600	22000	18000	20000	5,5	45,8	
0,1-1	60	0		3900	3800		3900	19000	21000	20000	5,1	77,0	
1-5	60	0		3100	3400		3200	18000	18000	18000	5,5	77,7	
5-8	60	0		4100	4500		4300	22000	24000	23000	5,3	69,4	
1-5	60	0		160	0	6700	4700	5700	24000	21000	22000	3,9	39,8
1-5	60	0			15	5200	4800	5000	27000	23000	25000	5,0	43,5
1-5	60	0	30		5000	5400	5200	19000	20000	20000	3,8	42,5	
1-5	60	0	45		6000	5500	5700	21000	21000	21000	3,7	47,5	
1-5	60	0	60		5700	5700	5700	21000	20000	20000	3,6	50,8	

<sup>†</sup> Die Behandlungsdauer entspricht der Haltezeit im Reaktor, bei der die Temperatur konstant gehalten wird.

Tabelle 32 Relative Anteile (UV-Absorption nach HPSEC; Mittelwerte aus 2 HPSEC-Analysen derselben Probe) von Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Variationen (Ethanolgehalt, Partikelgröße, Zugabe von Essigsäure), Temperaturen und Behandlungsdauern. Die Zusätze a und b bezeichnen die jeweiligen Einzelwerte der Doppelbestimmungen

Partikelgröße [mm]	Ethanolgehalt [w%]	Essigsäuregehalt g/L	Temperatur[°C]	Behandlungsdauer <sup>4</sup> [min]	Fläche rel. a [%]	Fläche rel. b [%]	Fläche rel. Mittelwert [%]	Fläche rel. a [%]	Fläche rel. b [%]	Fläche rel. Mittelwert [%]	
1-5	60	0	160	30	9,0	11,1	10,1	91,0	88,9	89,9	
1-5	60	0	180		10,8	11,4	11,1	89,2	88,6	88,9	
1-5	60	0	200		18,6	20,3	19,5	81,4	79,7	80,6	
1-5	60	2	200		21,5	22,3	21,9	78,5	77,7	78,1	
1-5	60	15			28,3	30,8	29,5	71,7	69,2	70,5	
1-5	20	0			53,3	60,0	56,6	44,8	40,1	42,4	
1-5	60	0			18,6	20,3	19,5	81,4	79,7	80,6	
1-5	90	0			11,6	11,3	11,4	88,4	88,7	88,6	
0,1-1	60	0			37,4	17,5	27,5	80,6	82,5	81,5	
1-5	60	0			18,6	20,3	19,5	81,4	79,7	80,6	
5-8	60	0			20,0	16,3	18,1	80,0	83,8	81,9	
1-5	60	0			160	15	14,6	16,2	15,4	85,6	83,6
1-5	60	0		200	10,8		10,0	10,4	89,7	89,5	89,6
1-5	60	2	200	14,2	13,6		13,9	86,4	85,7	86,1	
1-5	60	15		18,8	19,2		19,0	80,2	81,8	81,0	
1-5	20	0		42,9	41,9		42,4	57,8	57,5	57,6	
1-5	60	0		10,8	10,0		10,4	89,7	89,5	89,6	
1-5	90	0		12,8	13,4		13,1	86,4	87,5	86,9	
0,1-1	60	0		12,2	10,4		11,3	89,3	89,0	89,1	
1-5	60	0		10,8	10,0		10,4	89,7	89,5	89,6	
5-8	60	0		13,6	14,5		14,1	86,3	85,5	85,9	
1-5	60	0	160	0	15,8	13,0	14,4	84,2	87,0	85,6	
1-5	60	0		15	14,6	16,2	15,4	85,6	83,6	84,6	
1-5	60	0		30	9,0	11,1	10,1	91,0	88,9	89,9	
1-5	60	0		45	11,6	11,7	11,6	88,2	88,3	88,2	
1-5	60	0		60	10,8	10,7	10,7	89,3	89,3	89,3	

<sup>4</sup> Die Behandlungsdauer entspricht der Haltezeit im Reaktor, bei der die Temperatur konstant gehalten wird.

Tabelle 33 Peakflächen (UV-Absorption nach HPSEC; Mittelwerte aus 2 HPSEC-Analysen derselben Probe) von Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Variationen (Ethanolgehalt, Partikelgröße, Zugabe von Essigsäure), Temperaturen und Behandlungsdauern. Die Zusätze a und b bezeichnen die jeweiligen Einzelwerte der Doppelbestimmungen

Partikelgröße [mm]	Ethanolgehalt [w%]	Essigsäuregehalt g/L	Temperatur [°C]	Behandlungsdauer5 [min]	Fläche abs. a [mAu*min]	Fläche abs. b [mAu*min]	Fläche abs. Mittelwert [mAu*min]	Fläche abs. a [mAu*min]	Fläche abs. b [mAu*min]	Fläche abs. Mittelwert [mAu*min]		
1-5	60	0	160	30	10,7	11,3	11,0	108,6	90,4	99,5		
1-5	60	0	180		20,4	24,6	22,5	168,5	192,3	180,4		
1-5	60	0	200		32,8	30,8	31,8	143,8	122,5	133,2		
1-5	60	2	200		36,7	35,7	36,2	133,9	124,8	129,3		
1-5	60	15			38,5	34,9	36,7	97,9	78,7	88,3		
1-5	20	0			42,4	38,7	40,5	34,5	27,3	30,9		
1-5	60	0			32,8	30,8	31,8	143,8	122,5	133,2		
1-5	90	0			20,6	19,6	20,1	156,4	154,5	155,4		
0,1-1	60	0			35,7	27,4	31,6	136,0	128,9	132,5		
1-5	60	0			32,8	30,8	31,8	143,8	122,5	133,2		
5-8	60	0			35,5	29,9	32,7	141,8	154,1	147,9		
1-5	60	0			160	15	24,1	30,3	27,2	140,9	155,7	148,3
1-5	60	0		200	12,1		17,5	14,8	131,4	124,6	128,0	
1-5	60	2	200	27,4	29,4		28,4	178,4	173,5	175,9		
1-5	60	15		30,2	36,9		33,6	144,2	141,5	142,8		
1-5	20	0		42,6	40,5		41,5	53,6	59,1	56,3		
1-5	60	0		12,1	17,5		14,8	131,4	124,6	128,0		
1-5	90	0		18,7	25,0		21,9	149,8	139,9	144,8		
0,1-1	60	0		22,2	10,6		16,4	123,5	134,4	128,9		
1-5	60	0		12,1	17,5		14,8	131,4	124,6	128,0		
5-8	60	0		26,4	30,3		28,4	174,9	171,3	173,1		
1-5	60	0		160	0		23,7	15,5	19,6	113,7	103,8	108,7
1-5	60	0			15		24,1	30,3	27,2	140,9	155,7	148,3
1-5	60	0	30		10,7	11,3	11,0	108,6	90,4	99,5		
1-5	60	0	45		16,0	16,4	16,2	107,5	124,0	115,8		
1-5	60	0	60		13,5	14,6	14,1	112,2	122,6	117,4		

Die Behandlungsdauer entspricht der Haltezeit im Reaktor, bei der die Temperatur konstant gehalten wird.

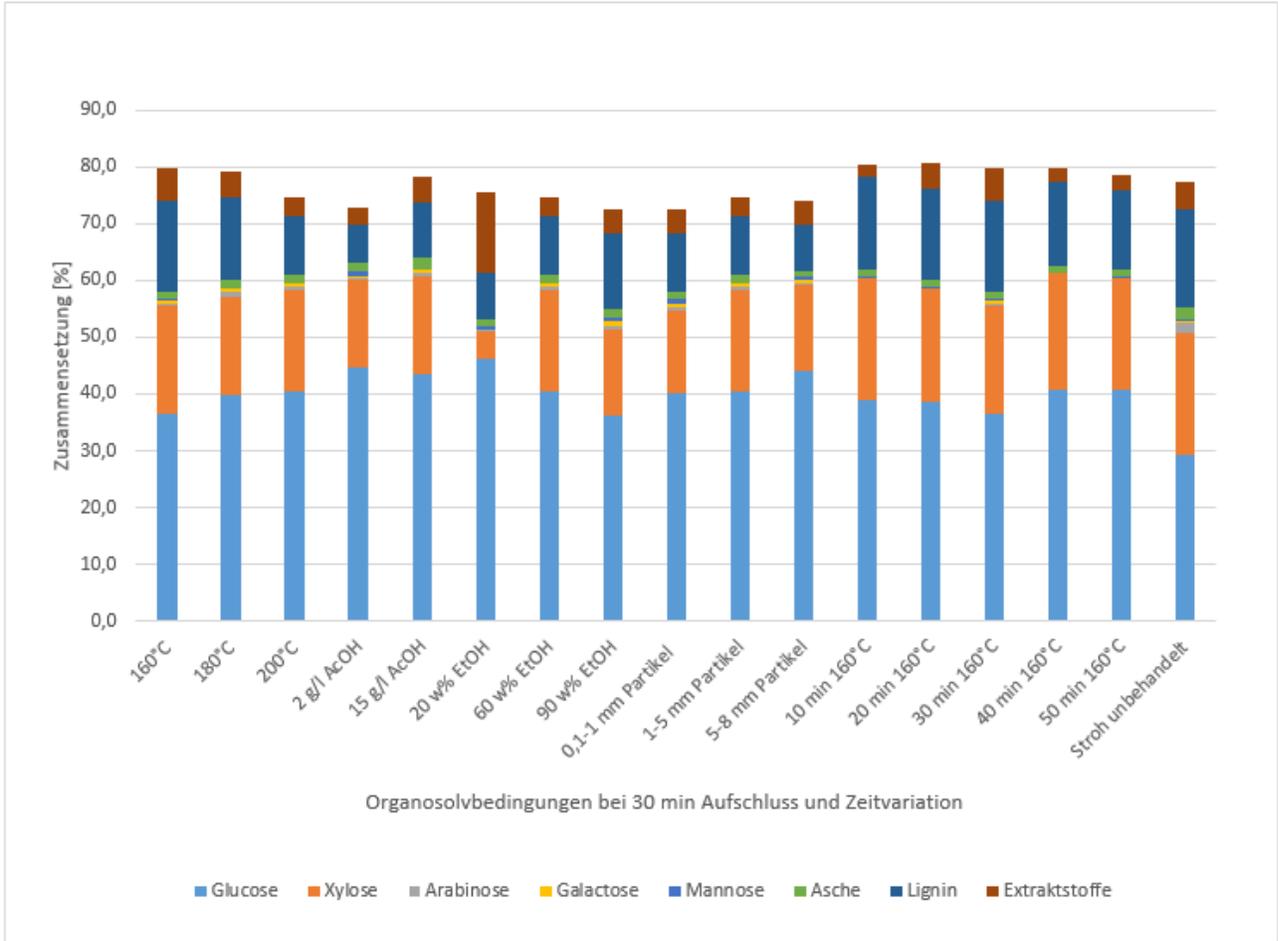


Abbildung 44 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Bedingungen bei 30 min Behandlungsdauer und Zeitvariation, sowie des unbehandelten Weizenstrohs

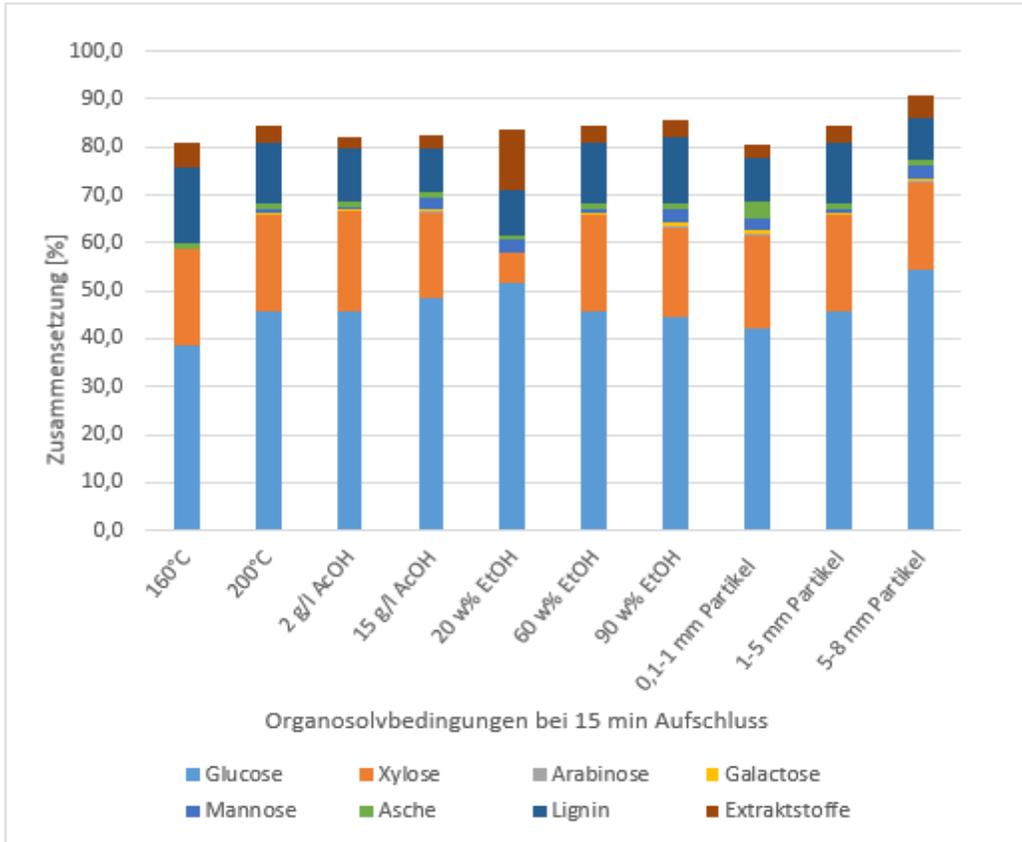


Abbildung 45 Chemische Zusammensetzung der Weizenstrohproben nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Bedingungen bei 15 min Behandlungsdauer

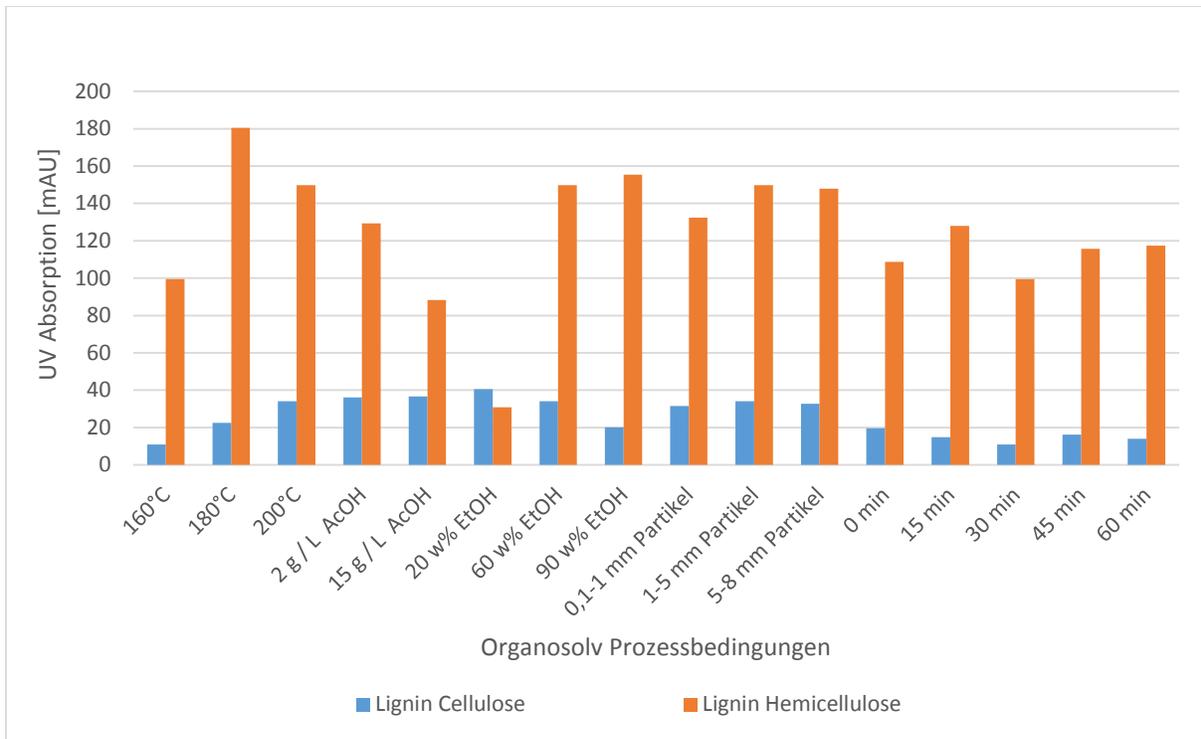


Abbildung 46 Relative Anteile (UV-Absorption nach HPSEC) von Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Bedingungen bei 30 min Behandlungsdauer und Zeitvariation

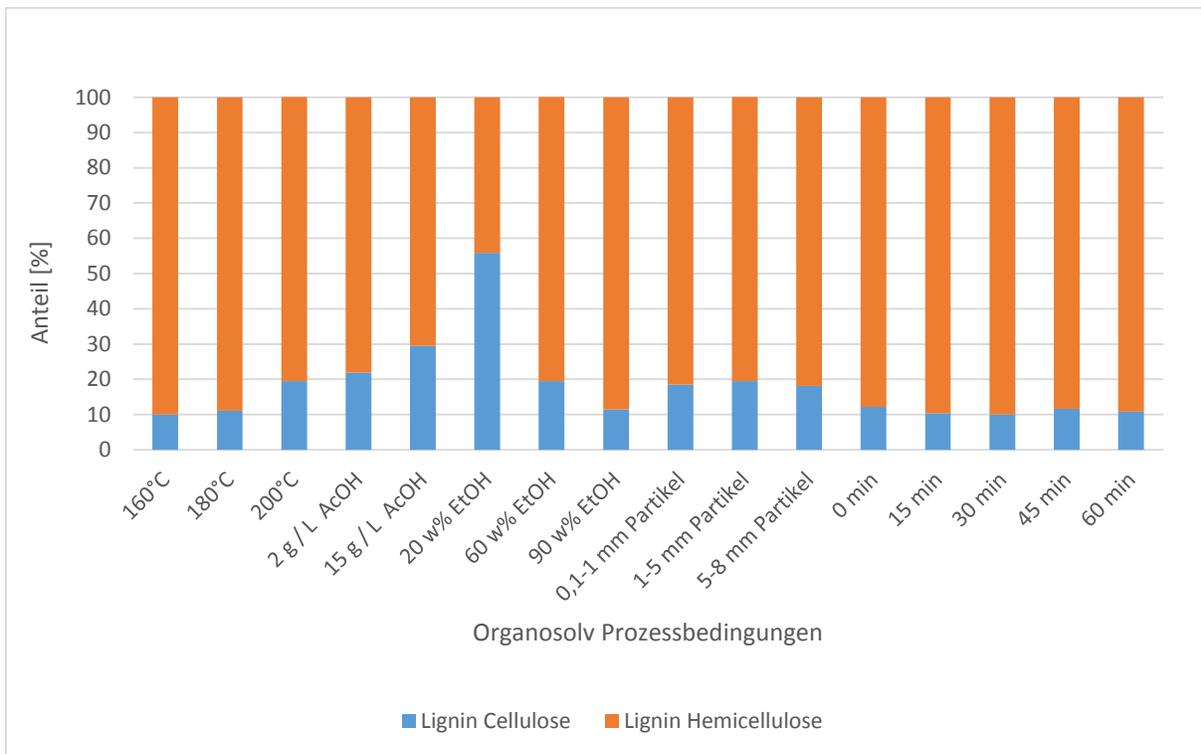


Abbildung 47 Abs. Peakflächen (UV-Absorption nach HPSEC) von Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Bedingungen bei 30 min Behandlungsdauer und Zeitvariation

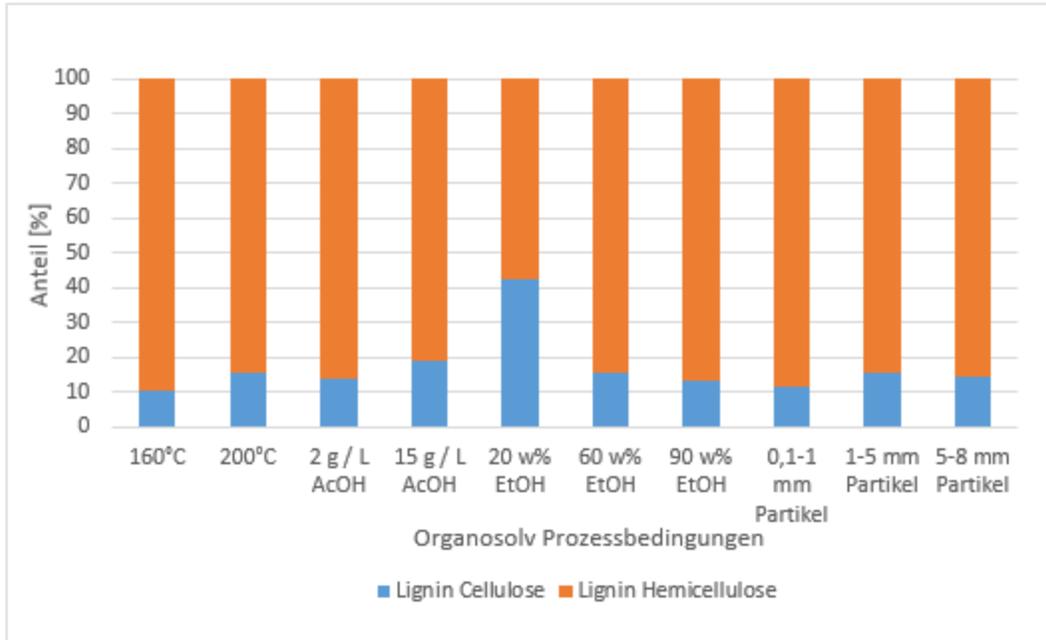


Abbildung 48 Relative Anteile (UV-Absorption nach HPSEC) von Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Bedingungen bei 15 min Behandlungsdauer

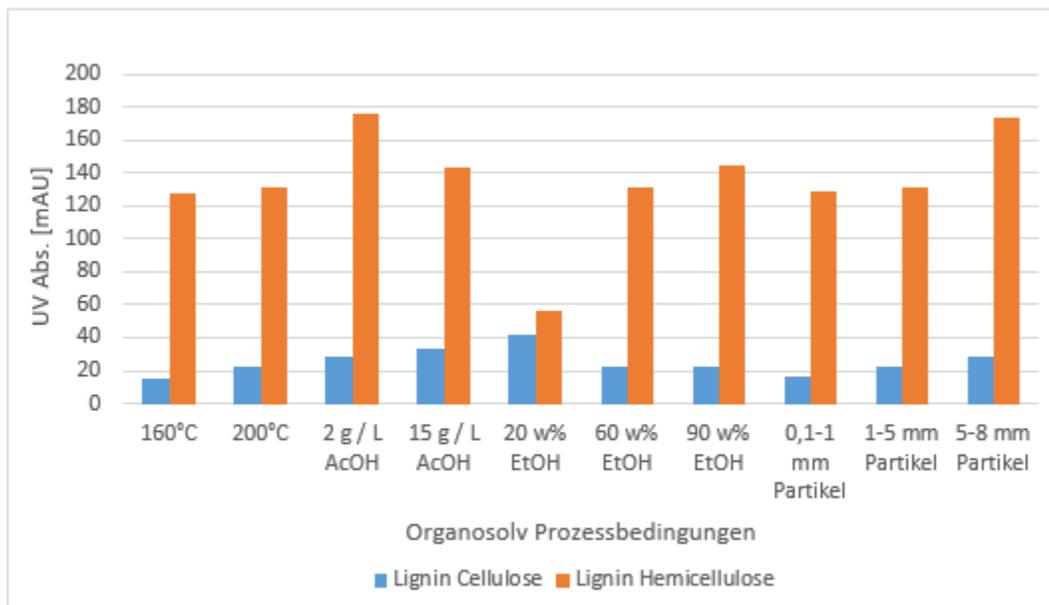


Abbildung 49 Abs. Peakflächen (UV-Absorption nach HPSEC) von Lignin gebunden an Cellulose oder Hemicellulose nach Organosolvbehandlung mit unterschiedlichen Organosolv-Bedingungen bei 15 min Behandlungsdauer

# Literaturverzeichnis

- 
- <sup>1</sup> Waldron KW. In Bioalcohol Production: Biochemical Conversion of Lignocellulosic Biomass, Volume 3. Edited by Waldron KW. Cambridge, UK Woodhead Publishing Series in Energy; **2010**, 3–23.
- <sup>2</sup> Searchinger T.; Heimlich R.; Houghton RA.; Dong F.; Elobeid A.; Fabiosa J.; Tokgoz S.; Hayes D.; Yu T-H. Use of U.S. croplands for biofuels increases greenhouse gases through emissions from land use change. *Science* **2008**, 29, 1238-1240.
- <sup>3</sup> Reddy N.; Yang YQ. Properties and potential applications of natural cellulose fibers from cornhusks. *Green Chem* **2005**, 7, 190-195.
- <sup>4</sup> Schoning, A. G. and Johansson, G. Absorptiometric determination of acid-soluble lignin in semi-chemical bisulfite pulps and in some woods and plants. *Svensk Papperstidning*, **1965**, 68, 607-13
- <sup>5</sup> Talebnia, F.; Karakashev, D.; Angelidaki, I. *Bioresour. Technol.* **2010**, 101 (13), 4744–4753.
- <sup>6</sup> Vassilev, S. V.; Baxter, D.; Andersen, L. K.; Vassileva, C. G. *Fuel* **2013**, 105, 40–76.
- <sup>7</sup> Liu L.; Ye XP.; Womac AR.; Sokhansanj S. Variability of biomass chemical composition and rapid analysis using FT-NIR techniques. *Carbohydr Polym* **2010**, 81, 820-829.
- <sup>8</sup> Larsen SU.; Bruun S.; Lindedam C. Straw yield and saccharification potential for ethanol in cereal species and wheat cultivars. *Biomass Bioenergy* **2012**, 45, 239-250.
- <sup>9</sup> Liu L.; Ye XP.; Womac AR.; Sokhansanj S. Variability of biomass chemical composition and rapid analysis using FT-NIR techniques. *Carbohydr Polym* **2010**, 81, 820-829.
- <sup>10</sup> Kamm, B.; Kamm, M.; Schmidt M.; Starke I.; Kleinpeter E. Chemical and Biochemical Generation of Carbohydrates from Lignocellulose-Feedstock (*Lupinus nootkatensis*), Quantification of Glucose, *Chemosphere* **2006**, 62 (1), 97.
- <sup>11</sup> Kamm, B. and Kamm, M. Das Konzept der Bioraffinerie – Produktion von Plattformchemikalien und Finalprodukten. *Chemie Ingenieur Technik*, **2007**, 79: 592–603.
- <sup>12</sup> Alberts, B.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. & Häcker, B. *Molekularbiologie der Zelle* Wiley-VCH-Verlag, **2011**, 19,1354.
- <sup>13</sup> Chemical Composition and Structure of Natural Lignocellulose Biotechnology of Lignocellulose: Theory and Practice, Springer Netherlands, **2014**, 25-71
- <sup>14</sup> Rubin, E. Genomics of cellulosic biofuels. *Nature* **2008**, 454, 841–845.
- <sup>15</sup> Chen HZ. Ecological high value-added theory and application of crop straws. Beijing: Chemical Industry Press; **2006**.

---

<sup>16</sup> Yang SH. Plant fiber chemistry. Beijing: China Light Industry Press; **2008**.

<sup>17</sup> M. Lawoko, Lignin Polysaccharide Networks in Softwood and Chemical Pulps: Characterisation, Structure and Reactivity; Doctoral Thesis, Royal Institute of Technology Department of Fibre and Polymer Technology Division of Wood Chemistry, Stockholm, **2005**, 34.

<sup>18</sup>Unter:

[http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=File:Production\\_of\\_cereals\\_including\\_rice%29,\\_EU-27,\\_2010\\_%28%25%29.png&oldid=67664#filelinks](http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=File:Production_of_cereals_including_rice%29,_EU-27,_2010_%28%25%29.png&oldid=67664#filelinks) unter: [Stand 15.03.2016]

<sup>19</sup> Khan, T. S. and Mubeen, U. Wheat straw: a pragmatic overview. Current Research Journal of Biological Sciences, Maxwell Science Publishing, **2012**, 4, 673-675.

<sup>20</sup> Yasin, M.; A.W. Bhutto; A.A. Bazmi and S. Karim. Efficient utilization of rice-wheat straw to produce value added composite products. Int. J. Chem. Env. Eng. **2010**, 136-143.

<sup>21</sup> H. A. Krässig Cellulose Structure, Accessibility and Reactivity, Gordon and Breach Science Publishers, **1993**, 8.

<sup>22</sup> Rao, V. S. N.; Sundararajan P. R.; Ramakrishnan C. and Ramachandranm G.N. Conformation of Biopolymers, Academic Press, London, **1957**, 721.

<sup>23</sup> Chu, S.S.C. and Jeffrey, G. The Refinement of the Crystal Structures of  $\beta$ -D-glucose and Cellobiose. Acta Crystallographica, **1968**, 24, 830-838.

<sup>24</sup> Nehls, I.; Wagenknecht, W.; Philipp, B. and Stscherbina, D. Characterization of Cellulose and Cellulose Derivatives in Solution by High Resolution <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy. Progress in Polymer Science, **1994**, 19(1), 29-78.

<sup>25</sup> Olsson, C.; Westman, G. Direct Dissolution of Cellulose: Background, Means and Applications Cellulose - Fundamental Aspects Dr. Theo G.M. Van De Ven (Ed.), ISBN: 978-953-51-1183-2, **2013**

<sup>26</sup> D. Klemm; B. Heublein; H.-P. Fink and A. Bohn, Angew. Chem., Int. Ed. Engl., **2005**, 44, 3358–3393.

<sup>27</sup> S. Kalia; A. Dufresne; B. M. Cherian; B. S. Kaith; L. Av´erous; J. Njuguna and E. Nassiopoulos, Int. J. Polym. Sci. **2011**, 1–35.

<sup>28</sup> Credou J.; Berthelot T. Cellulose: from biocompatible to bioactive material. J. Mater. Chem. B, **2014**, 4767

<sup>29</sup> Fengel, D. & Wegener, G. Wood: chemistry, ultrastructure, reactions, De Gruyter, **1983**

<sup>30</sup> Heinze, T.; Barsett, H.; Ebringerová, A.; Harding, S.; Heinze, T.; Hromádková, Z.; Muzzarelli, C.; Muzzarelli, R.; Paulsen, B. & ElSeoud, O. Polysaccharides I: Structure, Characterisation and Use Springer Berlin Heidelberg, **2005**

- 
- <sup>31</sup> Neish, A.C. Monomeric Intermediates in the Biosynthesis of Lignin. In: Constitution and Biosynthesis of Lignin. Springer-Verlag, Berlin, **1968**, 5-43
- <sup>32</sup> Ralph, J.; Lundquist, K.; Brunow, G.; Lu, F.; Kim, H.; Schatz, P. F.; Marita, J. M.; Hatfield, R. D.; Ralph, S. A.; Christensen, J. H.; Boerjan, W. Lignins: Natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphe-nylpropanoids. *Phytochem. Rev.* **2004**, 3, 29-60.
- <sup>33</sup> Hon, D. and Shiraishi, N. Wood and Cellulosic Chemistry, Second Edition, Revised, and Expanded Taylor & Francis, **2000**, 131
- <sup>34</sup> José del Río, et al. Structural Characterization of Wheat Straw Lignin as Revealed by Analytical Pyrolysis, 2D-NMR, and Reductive Cleavage Methods *J. Agric. Food Chem., Journal of Agricultural and Food Chemistry*, American Chemical Society, **2012**, 60, 5922-5935
- <sup>35</sup> Castillo M.d.P. Degradation of pesticides by *Phanerochaete chrysosporium* in solid substrate fermentation. Dissertation at Department of Microbiology, Swedish University of Agricultural Sciences, Box 7025, S-750 07 Uppsala, Sweden, **1997**
- <sup>36</sup> Sun, R.; Lawther, J. and Banks, W. A tentative chemical structure of wheat straw lignin. *Industrial Crops and Products*, **1997**, 6, 1-8
- <sup>37</sup> Christina Schober. Untersuchungen zum Einsatz technischer und mikrobiell hergestellter Enzymsysteme zur Hydrolyse der Lignocellulose in Maissilage, Logos Verlag Berlin GmbH, **2008**, ISBN: 383252049X
- <sup>38</sup> Zhuang, X.; Wang, W.; Yu, Q.; Qi, W.; Wang, Q.; Tan, X.; Zhou, G. & Yuan, Z. Liquid hot water pretreatment of lignocellulosic biomass for bioethanol production accompanying with high valuable products *Bioresource Technology, Pretreatment of Biomass*, **2016**, 199, 68-75
- <sup>39</sup> Wang, W.; Zhu, Y.; Du, J.; Yang, Y. & Jin, Y. Influence of lignin addition on the enzymatic digestibility of pretreated lignocellulosic biomasses *Bioresource Technology*, **2015**, 181, 7-12
- <sup>40</sup> Alvira, P.; Tomás-Pejó, E.; Ballesteros, M.; Negro, J. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review, *Bioresource Technol.* **2010**, 101 (13), 4851–4861
- <sup>41</sup> Wang, W.; Zhuang, X.; Yuan, Z.; Yu, Q.; Qi, W.; Wang, Q. & Tan, X. High consistency enzymatic saccharification of sweet sorghum bagasse pretreated with liquid hot water *Bioresource Technology*, **2012**, 108, 252-257
- <sup>42</sup> Bensah, E. C.; Mensah, M. Chemical Pretreatment Methods for the Production of Cellulosic Ethanol: Technologies and Innovations *International Journal of Chemical Engineering*, **2013**, 21.
- <sup>43</sup> L. Viikari; J. Vehmaanpera; and A. Koivula. Lignocellulosic ethanol: from science to industry, *Biomass Bioenergy*, **2012** vol. 46, 13–24.

- 
- <sup>44</sup> Y. H. Jung; I. J. Kim; H. K. Kim and K. H. Kim. Dilute acid pretreatment of lignocellulose for whole slurry ethanol fermentation, *Bioresource Technology*, **2013** vol. 132, 109–114.
- <sup>45</sup> R. Koppram; E. Albers, and L. Olsson. Evolutionary engineering strategies to enhance tolerance of xylose utilizing recombinant yeast to inhibitors derived from spruce biomass, *Biotechnology for Biofuels*, **2012** vol. 5, article 32.
- <sup>46</sup> Ortwin Bobleter, Hydrothermal degradation of polymers derived from plants, *Prog. Polym. Sci.*, Vol. 19, 797-841, **1994**
- <sup>47</sup> J. Li; G. Henriksson; G. Gellerstedt. Carbohydrate reactions during high temperature steam treatment of aspen wood. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, June **2005**, Volume 125, Issue 3, 175-188
- <sup>48</sup> Rasmussen, H.; Sørensen, H. R. & Meyer, A. S. Formation of degradation compounds from lignocellulosic biomass in the biorefinery: sugar reaction mechanisms *Carbohydrate Research*, **2014**, 385, 45-57
- <sup>49</sup> Klemm, D.; Philipp, B.; Heinze, T.; Heinze, U.; Wagenknecht, W. *Comprehensive Cellulose Chemistry. Volume 1: Fundamentals and Analytical Methods. 1st ed.*; Wiley-VCH: Weinheim, **1998**.
- <sup>50</sup> Henniges, U.; Vejdovszky, P.; Siller, M.; Jeong, M.-J.; Rosenau, T. & Potthast, A. Finally Dissolved! Activation Procedures to Dissolve Cellulose in DMAc/LiCl Prior to Size Exclusion Chromatography Analysis - A Review. *Current Chromatography*, Bentham Science Publishers Ltd., **2014**, 1, 52-68
- <sup>51</sup> Lindström, T.; Carlsson, G. The effect of chemical environment on fiber swelling. *Sven. Papperstidn*, **1982**, 85(3), R14-R20.
- <sup>52</sup> Röder, T.; Morgenstern, B.; Schelosky, N.; Glatter, O. Solutions of cellulose in N,N-Dimethylacetamide/lithium chloride studied by light scattering methods. *Polymer*, **2001**, 42, 6765-6773.
- <sup>53</sup> Schult, T.; Hjerde, T.; Optun, O. I.; Kleppe, P. J.; Moe, S. Characterization of cellulose by SEC-MALLS. *Cellulose*, **2002**, 9(2), 149-158.
- <sup>54</sup> Wyatt, P.J. Light scattering and the absolute characterization of macromolecules. *Anal. Chim. Acta* **1993**, 272, 1–40.
- <sup>55</sup> Berggren, R. Cellulose degradation in pulp fibers studied as changes in molar mass distributions. Doctoral thesis, Royal Institute of Technology; Department of Fibre and Polymer Technology; Division of Wood Chemistry and Pulp Technology; Stockholm **2003**
- <sup>56</sup> Potthast, A.; Rosenau, T.; Sixta, H. & Kosma, P. Degradation of cellulosic materials by heating in DMAc/LiCl. *Tetrahedron Letters*, Elsevier Science Ltd., **2002**, 43, 7757-7759

- 
- <sup>57</sup> Emsley, A.M.; Ali, M.; Heywood, R.J. A size exclusion chromatography study of cellulose degradation. *Polymer*, **2000**, 41, 8513- 8521.
- <sup>58</sup> Hasani, M.; Henniges, U.; Idström, A.; Nordstierna, L.; Westman, G.; Rosenau, T.; Potthast, A. Nano-cellulosic materials: The impact of water on their dissolution in DMAc/LiCl. *Carbohydr. Polym.*, **2013**, 98(2), 1565-1572.
- <sup>59</sup> Henniges, U.; Schiehser, S.; Rosenau, T.; Potthast, A. In: Cellulose Solvents; T.F. Liebert, T.J. Heinze, K.J. Edgar, Eds.; ACS Symposium Series, Oxford University Press: Washington D.C., **2010**; Vol. 1033, pp. 165-177.
- <sup>60</sup> Ishii, D.; Tatsumi, D.; Matsumoto, T. Effect of solvent exchange on the solid structure and dissolution behavior of cellulose. *Biomacromolecules*, **2003**, 4(5), 1238-1243.
- <sup>61</sup> Wei, Y. Cheng, F. Effect of solvent exchange on the structure and rheological properties of cellulose in LiCl/ DMAc. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2007**, 106(6), 3624-3630.
- <sup>62</sup> Ishii, D.; Kanazawa, Y.; Tatsumi, D.; Matsumoto, T. Effect of solvent exchange on the pore structure and dissolution behavior of cellulose. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2007**, 103(6), 3976-3984.
- <sup>63</sup> Ishii, D.; Tatsumi, D.; Matsumoto, T. Effect of solvent exchange on the supramolecular structure, the molecular mobility and the dissolution behavior of cellulose in LiCl/ DMAc. *Carbohydr. Res.*, **2008**, 343(5), 919-928.
- <sup>64</sup> S.E. Harding, K.M. Varum, B.T. Stokke, O. Smidsrød, *Adv. Carbohydr. Anal.* 1 (**1991**) 63
- <sup>65</sup> Conte, P. & Piccolo, A. High pressure size exclusion chromatography (HPSEC) of humic substances: Molecular sizes, analytical parameters, and column performance *Chemosphere*, **1999**, 38, 517-528
- <sup>66</sup> Grubisic Z, Rempp P, Benoit H A universal calibration for gel permeation chromatography. *J Polym Sci B*; **1996**, 34:1707–1713
- <sup>67</sup> Isaac Yasomoto, unter:  
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2a/SizeExChrom.png> [Stand: 28.03.2016]
- <sup>68</sup> S. Chen, X. Wang, C. Wang, W. Chen, G. Jiang, W. Lv, F. Jiang, *Polym. Mater. Sci. Eng.* 27 (**2011**), 56
- <sup>69</sup> DIONEX: „Analysis of Carbohydrates by High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection (HPAE-PAD)”, 10/2004, unter: [http://www.dionex.com/en-us/webdocs/5023-TN20\\_LPN032857-04.pdf](http://www.dionex.com/en-us/webdocs/5023-TN20_LPN032857-04.pdf) [Stand 11.02.2016]
- <sup>70</sup> Zhang, Y.-H. P. & Lynd, L. R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems *Biotechnol. Bioeng.*, Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2004, 88, 797-824

- 
- <sup>71</sup> TAPPI Test Methods 204 cm-07 „*Solvent extractives of wood and pulp*“, **2007**
- <sup>72</sup> IARC (in preparation). A review of human carcinogens. F. Chemical agents and related occupations. Lyon, International Agency for Research on Cancer (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 100) [summary in Baan R et al. **2009**. A review of human carcinogens—Part F: Chemical agents and related occupations. *The Lancet Oncology*, 10(12):1143–1144;
- <sup>73</sup> TAPPI Test Methods 222 Om-98 „*Acid-insoluble lignin in wood and pulp*“, **1998**
- <sup>74</sup> TAPPI Useful Methods 250 „*Acid-soluble lignin in wood and pulp*“ **1991**
- <sup>75</sup> Loras. V. and Loschbrandt. F; „*Determination of Lignin in Sulfite Pulps*“. *Norsk Skogind.* **1961**,15:302
- <sup>76</sup> Schonning, A. G. & Johansson, G. „*Absorptiometric determination of acid-soluble lignin in semi-chemical bisulfite pulps and in some woods and plants*“. *Svensk Papperstidning*, **1965**, 68, 607-13
- <sup>77</sup> Swan, B. „*Isolation of acid-soluble lignin from the Klason lignin determination*“. *Svensk Papperstidning*, **1965**, 68, 791-5
- <sup>78</sup> TAPPI T211 om-02 „*Ash in wood, pulp, paper and paperboard: combustion at 525°C*“, 2002
- <sup>79</sup> Davis, M. W. „*A rapid modified method for compositional carbohydrate analysis of lignocellulosics by high-pH anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC/PAD)*“. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, Marcel Dekker, Inc., 1998, 18, 235-252
- <sup>80</sup> Suess, H.U. “Pulp Bleaching Today”. De Gruyter. **2010**
- <sup>81</sup> TAPPI Test Methods, T236 om-99 „*Kappa number of pulp*“, **1999**
- <sup>82</sup> Dawsey TR, McCormick CL „*The lithium chloride/ dimethylacetamide solvent for cellulose: a literature review*“. *J Macromol Sci Part C Polym*, **1990**, Rev 30(3&4):405–440
- <sup>83</sup> Ishii, D.; Tatsumi, D.; Matsumoto, T. *Biomacromolecules* **2003**, 4, 1238–1243.
- <sup>84</sup> Ishii, D.; Kanazawa, Y.; Tatsumi, D.; Matsumoto, T. *J. Appl. Polym. Sci.* **2007**, 103, 3976–3984.
- <sup>85</sup> Potthast, A.; Rosenau, T.; Buchner, R.; Röder, T.; Ebner, G.; Bruglachner, H.; Sixta, H. and Kosma P. *Cellulose*, **2002**, 9, 41–53
- <sup>86</sup> Todorciuc, T.; Capraru, A.-M.; Kratochvilova, I. & Popa, V. I. Characterization of non-wood lignin and its hydroxymethylated derivatives by spectroscopy and self-assembling investigations. *Cellulose Chemistry and Technology*, Editura Academiei Romane, **2009**, 43, 399-408

- 
- <sup>87</sup> Denner, J. Untersuchung der Lignin- und Kohlenhydrate-Extraktionskinetik während der Organosolv Behandlung von Weizenstroh; Diplomarbeit an der Technischen Universität Wien, Fakultät für Maschinenwesen und Betriebswissenschaften, **2016**
- <sup>88</sup> Turk, T. Master Thesis; Liquid Hot Water Treatment of Wheat Straw Influence of Process Time, Solid to Liquid Ratio and Acetic Acid; Diplomarbeit an der Technischen Universität Wien Institut für Verfahrenstechnik, Umwelttechnik und techn. Biowissenschaften, **2016**, 86.
- <sup>89</sup> Lojewska, J.et.al Cellulose oxidative and hydrolytic degradation: In situ FTIR approach *Polymer Degradation and Stability*, 2005, 88, 519
- <sup>90</sup> Potthast, A.; Rosenau, T.; Sixta, H. & Kosma, P. Degradation of cellulosic materials by heating in DMAc/LiCl. *Tetrahedron Letters*, Elsevier Science Ltd., **2002**, 43, 7757-7759
- <sup>91</sup> V. B. Agbor, N. Cicek, R. Sparling, A. Berlin, and D. B. Levin, "Biomass pretreatment: fundamentals toward application," *Biotechnology Advances*, vol. 29, no. 6, 675–685, **2011**.
- <sup>92</sup> H. Yang, R. Yan, H. Chen, C. Zheng, D. H. Lee, and D. T. Liang, "In-depth investigation of biomass pyrolysis based on three major components: hemicellulose, cellulose and lignin," *Energy & Fuels*, vol. 20, no. 1, pp. 388–393, **2006**.
- <sup>93</sup> Dizhbite, T.; Telysheva, G.; Jurkijane, V.; and Viesturs, U. "Characterization of the radical scavenging activity of lignins -Natural antioxidants," *Biores. Technol.* 95(3), **2004**, 309-317
- <sup>94</sup> Kosikova, B., Labaj, J., Gregorova, A., and Slamenova, D. "Lignin antioxidants for preventing oxidation damage of DNA and for stabilizing polymeric composites," *Holzforschung* 60(2), **2006**, 166-170.
- <sup>95</sup> Marson, G. A. and El Seoud, O. A., Cellulose dissolution in lithium chloride/*N,N*-dimethylacetamide solvent system: Relevance of kinetics of decrystallization to cellulose derivatization under homogeneous solution conditions. *J. Polym. Sci. A Polym. Chem.*, **1999**, 37: 3738–3744.
- <sup>96</sup> Emsley, A.M.; Ali, M.; Heywood, R.J. A size exclusion chromatography study of cellulose degradation. *Polymer*, **2000**, 41, 8513- 8521.
- <sup>97</sup> Hasani, M.; Henniges, U.; Idström, A.; Nordstierna, L.; Westman, G.; Rosenau, T.; Potthast, A. Nano-cellulosic materials: The impact of water on their dissolution in DMAc/LiCl. *Carbohydr. Polym.*, **2013**, 98(2), 1565-1572.
- <sup>98</sup> Henniges, U.; Schiehser, S.; Rosenau, T.; Potthast, A. In: *Cellulose Solvents*; T.F. Liebert, T.J. Heinze, K.J. Edgar, Eds.; ACS Symposium Series, Oxford University Press: Washington D.C., **2010**; Vol. 1033, pp. 165-177.