



Marco Orlandi, Luca Zoia
Dipartimento di Scienze dell'Ambiente
e del Territorio
Università di Milano-Bicocca
marco.orlandi@unimib.it

CARATTERIZZAZIONE DELLA LIGNINA. UN PUNTO DI PARTENZA PER LA VALORIZZAZIONE DEI SIDE-STREAMS IN BIORAFFINAZIONE

Gli impianti di seconda generazione per la produzione di bioetanolo utilizzano i materiali lignocellulosici, biomassa non destinata all'alimentazione umana e/o animale. Considerando il crescente interesse in questo tipo di impianti, ingenti quantità di lignina saranno disponibili in futuro. Attualmente la lignina è un sottoprodotto scarsamente utilizzato. Evidenti ragioni economiche e ambientali impongono di valorizzare questo prodotto. Il primo passo fondamentale in questa ottica è un'approfondita caratterizzazione chimica della lignina.

Nell'ambito dello sviluppo sostenibile, è molto importante poter disporre di una risorsa conveniente e rinnovabile per l'approvvigionamento dell'industria chimica e la produzione di energia. La diminuzione delle riserve mondiali di materie fossile, la loro non rinnovabilità e il concomitante incremento dei problemi ambientali connessi alla loro estesa utilizzazione hanno recentemente spinto la comunità scientifica alla ricerca di un'adeguata e sostenibile alternativa. I materiali lignocellulosici sono principalmente composti da cellulosa, emicellulosa, lignina ed estrattivi e rappresentano un'abbondante risorsa rinnovabile "carbon-neutral", quindi a impatto nullo in relazione al bilancio atmosferico del carbonio. Pur essendo ancora lontani da una soluzione definitiva, l'uso delle risorse lignocellulosiche si è imposto come un plausibile sostituto del petrolio per la produzione di "fuels" e "chemicals" [1, 2].

I motivi risiedono nell'abbondante disponibilità annuale e nella completa rinnovabilità di questo materiale, che lo rende un ottimo candidato in termini di "low carbon economy". I materiali lignocellulosici più adatti a questo scopo possono derivare da coltivazioni di specie non destinate all'alimentazione umana o animale in terreni marginali, o provenire da scarti agroindustriali.

Questi ultimi rappresentano una fonte di materiale lignocellulosico enorme: basti pensare alla lolla di riso, alla paglia di grano e alle stoppie di mais. Il riso, in accordo con l'International Rice Research Institute, è la risorsa alimentare della metà della popolazione mondiale e la

FAO ha stimato una produzione di riso pari a 700 milioni di tonnellate annue nel 2008 [3]. Considerando che la lolla rappresenta il 20% del riso, sono annualmente disponibili ingenti quantità.

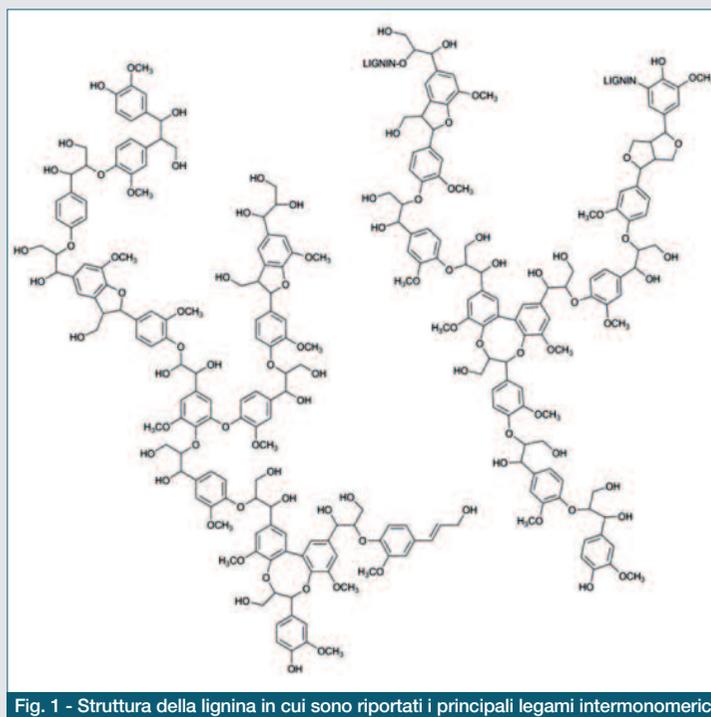


Fig. 1 - Struttura della lignina in cui sono riportati i principali legami intermonomerici

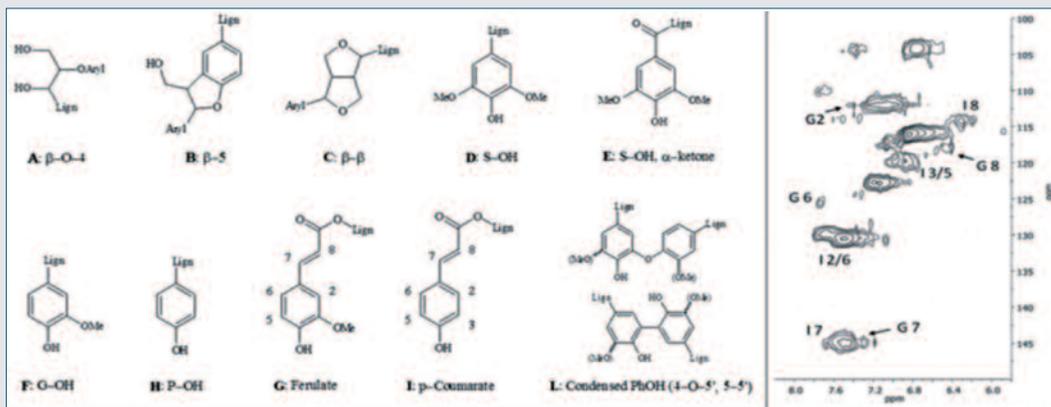


Fig. 2 - A sinistra unità intermonomeriche (A, B, C), fenoliche (D, F, H, L), e aromatiche (D, E, F, G, H, I) rilevate tramite 2D-HSQC-NMR e ^{31}P -NMR. A destra, regione aromatica dello spettro 2D-HSQC da lignina acetilata di lolla di riso in DMSO-d_6 .

A titolo esemplificativo l'Italia da sola produce circa 2 milioni di tonnellate annue di lolla concentrata in poche regioni dell'area settentrionale. Per quello che riguarda la paglia di grano e le stoppie di mais i valori sono simili, raggiungendo un totale stimabile nell'ordine di miliardi di tonnellate l'anno.

Come possono essere sfruttate queste risorse? Attualmente, l'utilizzo principale è la produzione di etanolo tramite fermentazione degli zuccheri. L'idrolisi di cellulosa ed emicellulosa, presenti in grande quantità nei materiali lignocellulosici, porta alla liberazione di zuccheri semplici che possono essere trasformati in etanolo da batteri, per produrre biocarburanti [4]. L'estrema recalcitranza delle biomasse all'idrolisi rappresenta però il punto debole del processo. La cellulosa infatti è difficilmente depolimerizzabile per due principali motivi:

- i) elevata cristallinità, con un'organizzazione in un network altamente ordinato di ponti a idrogeno;
- ii) protezione della cellulosa da parte di un "cemento" di lignina e emicellulosa chimicamente connesse nei cosiddetti LCCs (Lignin-Carbohydrates Complexes) [5, 6].

I pretrattamenti necessari per l'incremento delle rese d'idrolisi fanno quindi diminuire la competitività economica del processo. Per ovviare a questo problema, la competitività del processo è aumentabile sia da un punto di vista economico sia ambientale attraverso il recupero e la

valorizzazione dei side-streams. Infatti la lignina, come terzo costituente delle piante e secondo più abbondante polimero in natura, rappresenta, dopo la produzione di etanolo cellulosico, il maggior scarto, significativamente non sfruttato o scarsamente utilizzato come combustibile. La sostenibilità ambientale dell'intero processo di bioraffinazione, quindi, passa attraverso la valorizzazione della lignina tramite modificazioni strutturali in modo da ottenere dei prodotti ad alto valore aggiunto.

Caratterizzazione della lignina

La lignina è un complesso polimero composto da unità fenilpropanoidiche connesse da differenti legami C-C e C-O. Una struttura esemplificativa della lignina è riportata in Fig. 1. Le unità fenilpropanoidiche, che sono alla base della struttura della lignina, dipendono dal tipo di pianta, conifere, latifoglie o piante annuali, ed i legami intermonomerici ed i gruppi funzionali sono variabili a seconda dell'origine della lignina. Per questo motivo differenti lignine provenienti da *Arundo donax* e *Miscanthus sinensis* (rappresentative di piante non destinate all'alimentazione umana e/o animale, coltivabili in terreni marginali) e lolla di riso e paglia di grano (scarti agroindustriali di due delle più importanti coltivazioni a livello mondiale) sono state estesamente caratterizzate dal punto di vista della chimica.

Un'importante tecnica analitica capace di caratterizzare a livello qualitativo e quantitativo l'intricata natura della lignina è la risonanza magnetica nucleare bidimensionale 2D-HSQC [7, 8]. Dopo estrazione e acetilazione, questa tecnica permette di riconoscere i principali legami intermonomerici

β-O-4, β-5 e β-β (A, B e C in Fig. 2) che legano le varie unità fenilpropanoidiche nella lignina. Inoltre l'analisi dettagliata della regione aromatica (Fig. 2 a destra) permette di individuare particolari strutture tipiche delle piante annuali, come la presenza di esteri dell'acido ferulico e *p*-cumarico (G e I).

Da un punto di vista più pratico, è molto importante conoscere e quantificare i differenti gruppi terminali del polimero lignina, coinvolgibili nelle successive reazioni di modificazione.

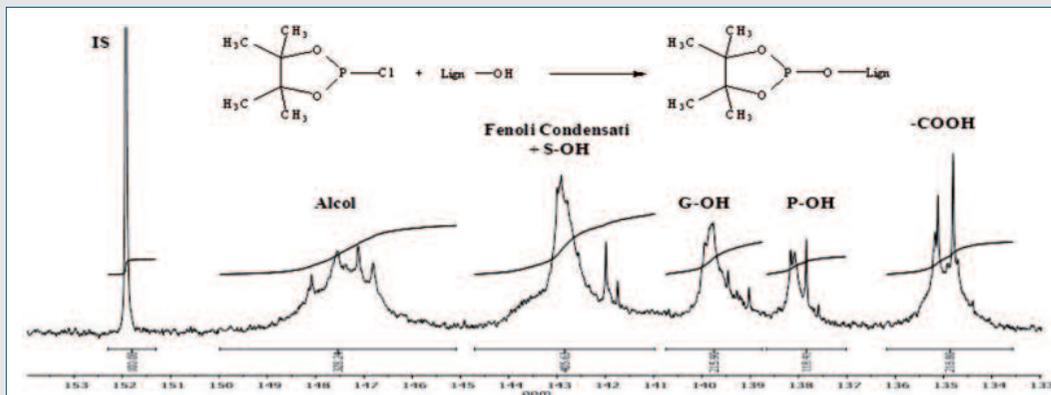


Fig. 3 - Reazione di derivatizzazione della lignina con 2-cloro-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossafosfolano e un esempio di spettro ^{31}P -NMR con relativa interpretazione. Le analisi delle lignine in esame unite ai risultati delle analisi GPC, relative alla determinazione del peso molecolare del polimero, sono riportate in Tab. 1 [8].

Tab. 1 - Risultati delle analisi GPC e NMR per le lignine estratte da lolla di riso, *Arundo donax*, paglia di grano e *Miscanthus sinensis*. Le analisi 2D-HSQC-NMR sono semiquantitative e i risultati sono riportati come abbondanza relativa (il numero dei segni + indica la quantità di unità rispetto al gruppo metossile; n.d.: non rilevato). Per le analisi ³¹P-NMR le quantità sono espresse in mmol/g di lignina estratta. Le assegnazioni sono riportate in Fig. 1

	Lolla di riso	Arundo donax	Paglia di grano	Miscanthus sinensis
GPC				
M _n (g/mol)	10.200	15.000	10.200	9.600
M _w (g/mol)	41.000	81.800	57.500	36.000
M _p (g/mol)	5.100	6.400	4.900	5.500
I	4,0	5,5	5,6	3,7
2D-HSQC-NMR				
β-O-4 ^(A)	+++	+++	+++	+++
β-5 ^(B)	++	++	+	n.d.
β-β ^(C)	n.d.	++	+	+
S-OH ^(D)	+++	+++	+++	+++
S-OH, α-chetone ^(E)	n.d.	n.d.	++	n.d.
G-OH ^(F)	+++	+++	+++	++
Ferulati ^(G)	+	+	+	n.d.
P-OH ^(H)	n.d.	++	+++	++
p-Cumarati ^(I)	+++	+++	+++	+++
³¹P NMR				
Alcol alifatici, totale (mmol/g)	2,89	4,35	3,42	3,47
Alcol alifatici, β-O-4 ^(A) (mmol/g)	1,27	1,74	1,31	1,69
Fenoli cond. ^(L) + S-OH ^(D) (mmol/g)	0,21	0,32	0,29	0,27
G-OH ^(F) (mmol/g)	0,61	0,61	0,67	0,58
P-OH ^(H) (mmol/g)	0,66	0,53	0,43	0,77
-COOH (mmol/g)	0,22	0,15	0,29	0,17

Questi gruppi funzionali sono alcoli primari e secondari, differenti fenoli e acidi carbossilici. La tecnica che attualmente permette di ottenere i migliori risultati in termini analitici è la risonanza magnetica nucleare al ³¹P [8].

Dopo derivatizzazione con un agente contenente fosforo, il 2-cloro-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossafosfolano, è possibile dallo spettro NMR riconoscere e, in presenza di uno standard interno, quantificare i differenti gruppi funzionali sopra citati. In particolare sono riconoscibili in Fig. 2 gli alcoli alifatici, i fenoli condensati (L), le unità siringiche S-OH (D), le unità guaiaciliche G-OH (F) e le unità cumariliche P-OH (H). Uno spettro esemplificativo è riportato in Fig. 3.

Il risultato più importante che si deduce dalle analisi effettuate è un'omogeneità e similarità delle proprietà chimiche delle lignine in esame. A prescindere dall'origine, queste lignine da piante annuali presentano delle caratteristiche chimiche in termini di peso molecolare, struttura e gruppi funzionali molto simili.

Questo risultato è importante e vantaggioso per il processo di bioraffinazione nell'ottica di un futuro e sistematico utilizzo di risorse lignocellulosiche, in quanto consente

di poter utilizzare diversi materiali di partenza da piante annuali ottenendo dei side-streams di lignina omogenei in composizione.

A titolo di esempio si riporta una possibile valorizzazione della lignina come filler in blend polimerici [9]. Per raggiungere questo obiettivo è stato necessario modificarne chimicamente la struttura in modo da incrementarne l'idrofobicità, e quindi la compatibilità con la matrice polimerica. Le strategie di modificazione sono basate sulla reattività dei gruppi ossidrilici (alcol e fenoli) naturalmente presenti nel biopolimero. Reazioni di esterificazione con cloruri acilici a differente lunghezza in condizioni omogenee ottenute tramite liquidi ionici, sono alcuni esempi di metodologie studiate (Fig. 4) [8]. I risultati preliminari ottenuti sono stati soddisfacenti [9].

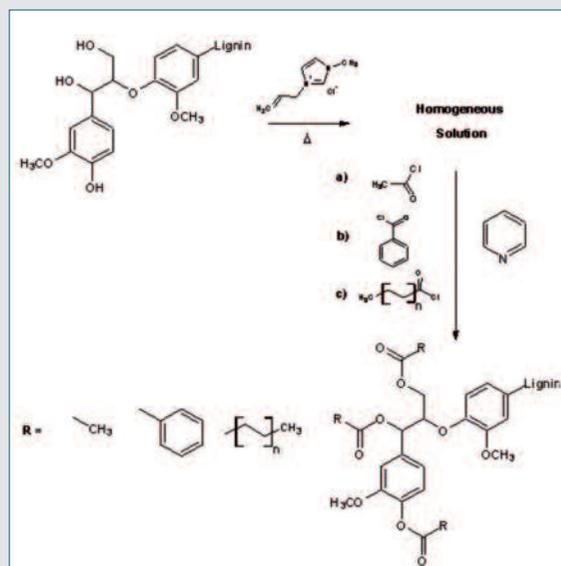


Fig. 4 - Reazione di esterificazione della lignina in liquido ionico [AMIM(Cl)] con differenti cloruri acilici e arilici

Bibliografia

- [1] J.H.J. Clark, *Chem. Technol. Biotechnol.*, 2007, **82**, 603.
 [2] Y. H. P. Zhang, *et al.*, *Biotechnol. Bioeng.*, 2007, **97**(2), 214.
 [3] www.fao.org FAOSTAT Database, 2008.
 [4] Y.-H. Percival Zhang, *Process Biochemistry*, 2011, **46**, 2091.
 [5] C.E. Wyman, *et al.*, *Biores Technol.*, 2005, **96**, 2026.
 [6] C.E. Wyman, *et al.*, *Biores Technol.*, 2005, **96**, 1959.
 [7] A. Salanti *et al.*, *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 10049.
 [8] A. Salanti *et al.*, *Biomacromolecules*, 2012, **13**, 445.
 [9] F. Bertini *et al.*, *Polymer Degradation and Stability*, 2012, DOI: 10.1016/j.polymdegradstab. 2012.03.009.

ABSTRACT

Lignin Characterisation: the First Step in the Biorefinery Process Side-Streams Upgrading

Lignocellulosic materials, biomass not destined for human and/or animal consumption, are the base of the second generation bioethanol production plants. These materials are composed primarily by cellulose, hemicellulose and lignin. After hydrolysis, the sugars from the polysaccharides can be converted into ethanol by fermentation, and the residues of the process are composed mainly of lignin. Considering the growing interest in this type of plants, large amounts of lignin will be available in the future. Currently, the lignin is a by-little used. Obvious economic and environmental reasons require to enhance this product. The first key step in this perspective is going through a chemical characterization of lignin.