



HAL
open science

Valorisation d'une lignine alcaline industrielle : vers le développement de nouveaux synthons et oligomères bio-sourcés issus de la lignine

Olivia Condassamy

► To cite this version:

Olivia Condassamy. Valorisation d'une lignine alcaline industrielle : vers le développement de nouveaux synthons et oligomères bio-sourcés issus de la lignine. Polymères. Université de Bordeaux, 2015. Français. NNT : 2015BORD0265 . tel-01256622

HAL Id: tel-01256622

<https://theses.hal.science/tel-01256622>

Submitted on 15 Jan 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE PRÉSENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

École Doctorale des Sciences Chimiques

Spécialité : POLYMÈRES

Par **Olivia Condassamy**

Valorisation d'une lignine alcaline industrielle
Vers le développement de nouveaux synthons et oligomères
bio-sourcés issus de lignine

Sous la direction des Prs Stéphane Grelier & Henri Cramail
Co-encadrante : Frédérique Pichavant

Soutenue le 1^{er} décembre 2015

Membres du jury :

M. SOL, Vincent

Mme QUIGNARD, Françoise

M. BROSSE, Nicolas

Mme MICHAUD, Christelle

Mme PICHAVANT, Frédérique

M. CRAMAIL, Henri

M. GRELIER, Stéphane

Professeur Université de Limoges

Directeur de recherche Université de Montpellier

Professeur Université de Lorraine

Docteur Responsable R&D Tembec

Docteur Université de Bordeaux

Professeur Université de Bordeaux

Professeur Université de Bordeaux

Président

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

Directeur de thèse

*« Dans la nature, tout a toujours une raison. Si vous comprenez cette raison,
vous n'avez plus besoin de l'expérience. »*

Léonard De Vinci

Remerciements

C'est avec l'enthousiasme le plus sincère que je tiens à remercier toutes les personnes qui ont, de près ou de loin, contribué à la bonne réalisation de mon projet de thèse.

Je remercie tout d'abord mes directeurs de thèse et encadrants : Pr. Stéphane Grelier, Dr. Frédérique Pichavant et Pr. Henri Cramail pour avoir cru en moi et pour m'avoir fait confiance dans la réalisation de cette étude, ainsi que pour m'avoir permis de présenter mes travaux lors de divers congrès.

Je remercie le Pr. Henri Cramail, directeur du LCPO et co-directeur de cette thèse pour m'avoir accordée sa confiance et pour m'avoir recommandée pour ce projet. Merci d'avoir su voir en moi une chimiste/polymériste et de m'avoir suivie depuis le début de mes études.

Merci également au Dr. Frédérique Pichavant, qui m'a encadrée pendant cette thèse, en particulier pour m'avoir accompagnée dans mes débuts et initiée au « monde » papetier. Merci pour vos corrections, vos conseils et vos remarques positives qui ont été un réel soutien.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance au Pr. Stéphane Grelier, mon directeur de thèse, pour ses conseils avisés et l'influence de sa rigueur scientifique. Votre expérience et votre savoir ont été précieux. Merci pour votre confiance réconfortante et pour votre grande disponibilité qui permettait à tout moment de cogner à la porte de votre bureau pour discuter de résultats nouveaux. Aussi, je garderai en mémoire votre capacité très amusante à vous énerver contre les objets de bon matin ! Je vous remercie également pour vos qualités humaines : votre humour, votre enthousiasme et votre sympathie font de vous un chef d'équipe exceptionnel. Je suis extrêmement heureuse et fière d'avoir travaillé avec vous. Votre humilité et votre force de caractère resteront pour moi un exemple à suivre.

La collaboration avec mes correspondants industriels de Tembec, le Dr. Christelle Michaud et le Dr. Denis Sens a été très enrichissante et agréable. Je souhaite remercier vivement Christelle pour la qualité de nos échanges, son suivi régulier et son encadrement dans ce projet. Merci pour votre personnalité chaleureuse et bienveillante, ainsi que vos remarques positives qui arrivaient toujours au bon moment pour me redonner le souffle nécessaire pour poursuivre ces recherches.

Remerciements

Je remercie les membres de mon jury, le Pr. Vincent Sol, le Pr. Nicolas Brosse et le Dr. Françoise Quinard pour avoir accepté de juger ce travail et pour la qualité de la discussion que nous avons eue à l'issue de ma présentation.

J'ai eu la chance de rencontrer et de collaborer avec des personnes admirables lors de cette thèse :

Mes premières pensées vont à Eric Virol à qui je souhaite exprimer toute ma gratitude. Eric, tu as toujours été présent pour m'aider à apprivoiser cette indomptable SEC (mais aussi HPLC, autoclave, réacteur, ...). Toujours volontaire et prêt à aider au moindre souci, tu es un véritable pilier pour l'équipe et le labo. Crois-moi que ton absence se fait ressentir lorsque tu es en congé ! Merci pour le temps et l'énergie consacrés à la réparation des appareils lorsqu'il y avait des problèmes (et tu sais qu'ils ont été nombreux ...). Beaucoup d'analyses de ce manuscrit ont été rendues possible grâce à ton aide et à ta patience. En effet, ton aptitude à ne jamais t'énerver est assez impressionnante ! Enfin, merci de partager ma passion pour la nourriture car, grâce à toi je ne passais pas pour la (seule) gloutonne de l'équipe lors des goûters.

Un grand merci à Anne-Laure Wirotius pour m'avoir fait profiter de son expertise RMN, à Christelle Absalon du CESAMO pour son temps et son aide sur les analyses GC/MS, à Gérard Dimier et Cédric Le Coz pour leurs conseils sur les analyses thermiques. Un petit clin d'œil à Gérard, un de mes acolytes du No : merci pour ta joie de vivre et ton humour qui égayaient mes journées.

J'adresse également ma plus vive sympathie aux membres de la « woody team » du rez-de-chaussée : Georges et Valentina, vous étiez là à mes débuts et m'avez tous les deux beaucoup apporté. Merci pour vos précieux conseils et encouragements. Grâce à vous, je me suis sentie moins seule dans le monde de la chimie de la lignine !

Alex, mon besty, ton arrivée dans l'équipe a marqué un renouveau. Je pense que la palme d'or du courage devrait te revenir pour m'avoir supportée quotidiennement... Quelle aventure ! Merci pour tous ces échanges, les lunettes anti-déprime, les séances coiffure (que tu subissais), les combats à mains nues, les crises de démences, les dédicaces sur ma verrerie ou mes cahiers... Merci également pour nos collaborations scientifiques, car oui, il y en a eu aussi ! Tu m'as appris que, souvent « c'était dans la tête » et que tout « allait bien se passer » car dans tous les cas ici « on était mieux qu'en prison ». Et tu avais raison ! J'ai trouvé en toi un binôme et je suis ravie de t'avoir côtoyé ces deux dernières années.

Remerciements

Jérémie (Jer, Brandou, électro, sentinelle...), merci pour ta disponibilité, ta gentillesse et ta détermination pour dompter la technologie. Je garderai en mémoire cette fameuse synthèse que nous avons réalisée ensemble, que du bonheur ! Merci également pour toutes les discussions scientifiques (ou pas d'ailleurs, et surtout pas en fait). Ton « humour » et ton « aigritude » me manqueront. Tu as une personnalité exemplaire, un sens du respect et de la justice imparable, je te souhaite le meilleur.

Mes remerciements à Christian Gardrat pour ses conseils à la fin de ma thèse. Je n'oublie pas toutes les personnes qui ont partagé mon bureau : Vincent (désolée d'avoir volé tes clémentines, oui c'était moi...), Thibaud (nos pauses thouns, notre affrontement face à la tempête et nos aventures avec la chambre du lyoph), Benjamin (mon camarade de kudoro, et plus récemment de M&M's), Maud, Emilie, Adrien, Daniela, Cédric et Mayssa.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à ceux qui assurent le bon fonctionnement quotidien du laboratoire : Catherine, Dominique, Claude, Nicole, Bernadette, Corinne et Loïc. Vous nous facilitez grandement la vie.

Je remercie aussi chaleureusement toutes les personnes rencontrées au LCPO qui ont fait de ces trois années une succession de souvenirs impérissables.

Je commence par une mention spéciale à Kévin, mon « camarade de galère » mais surtout ami. Tu as rendu mon quotidien particulièrement agréable. Ta présence rassurante et réconfortante, ton sens du partage, tes conseils (parfois insolites) ont été un véritable soutien. Merci pour les rires, les fous rires, les larmes de rire, les crampes au ventre de rire... Je te remercie pour m'avoir écoutée, tirée vers le haut et supportée et pour m'avoir transmis ta sérénité. Notre complicité inégalable, notre facilité à communiquer ou à se comprendre a d'ailleurs souvent étonné. Mais sache que tu as été pour moi un pilier, et que, grâce à toi, même les moments les plus difficiles ont été allégés. Je suis extrêmement heureuse d'avoir vécu cette aventure dans le même labo que toi et je garderai en tête de nombreuses anecdotes (le benzène D6, la punaise du CAES, la pissette de dichlo, les monomères qui font grève, be souchi souk, etc.). Merci d'être toi et que nous soyons nous, tout simplement !

Merci également à Geoffrey pour nos délires et nos interminables discussions où nous nous tirions vers le haut (heu... pas vraiment en fait). Tant de souvenirs, de moments passés à rigoler, se plaindre, se moquer et surtout à manger ! Je suis ravie de t'avoir rencontrée et que nous nous soyons liés d'amitié. Promis, je t'apprendrai à danser le zouk (un jour).

Remerciements

Un grand merci à Winnie pour ton soutien et tes conseils qui ont perduré après ton départ et à Jérémie pour nos duos de chants et de danse (balance, balance, balance), pour les passages originaux (escrime, crabe, nuage de fumée, vague...) et nos mimes d'explosifs divers et variés. Merci aussi à Edgar pour ton optimisme et tes encouragements, à Elise pour ta gentillesse, à Samira pour m'avoir accompagnée, encouragée et soutenue au début, à Yannick pour ton aide en général et surtout en informatique, à Charlotte pour tes précieux conseils sur comment appréhender une thèse (je n'oublie pas que cette histoire a débuté à tes côtés) et à Océane pour nos partages de névroses (ah ah, toujours sympa). Enfin je remercie toutes les autres personnes avec qui j'ai pu échanger scientifiquement et humainement : Audrey, Mikaël, Clément, Floraine, Arthur, Camille, Pierre, Pierre-Luc, Jani-Markus, Julien, Paul, Romain, Ana, An, Véronique, Margot, Emilie, Gaëtanne, Hugo, Déborah, Guillaume, Nicolas, Quentin, Enrique, Matthieu, Prakash, Dounia ... et tous ceux que j'ai oubliés.

Un immense merci à tous mes amis extérieurs au laboratoire qui m'ont été d'un grand soutien ces trois dernières années. Marjorie, Héléa et Mathias : vous êtes les meilleurs. C'est avec émotion que je vous remercie de m'avoir écoutée, conseillée, tempérée... Vous avez toujours été là et je pense que nous pourrions écrire un livre avec toutes les anecdotes que j'ai partagées avec vous autour de ce doctorat ! Merci pour votre réconfort et votre amitié.

Merci aussi à Morguen (pour tous les partages...), Célya, Hugo, Jason, Joël, Eric, Pascal, Gilles, Carine, Christelle, Ludovic, Jenny, Priscille, Olivier, Yoann et Asma.

Enfin, je remercie de tout mon cœur ma famille : mes frères Frédéric et Johan et mes parents Evelyne et Rico. Merci de m'avoir permis de devenir ce que je suis aujourd'hui. Et merci infiniment pour votre éternel soutien et pour tout votre amour.

Olivia.

Table des matières

Liste des abréviations & acronymes.....	1
Résumé.....	2
Abstract.....	3
Introduction générale.....	5
Chapitre 1 : Mise au point bibliographique.....	11
I. Le bois, un assemblage complexe.....	15
I.1. Structure et composition du bois	15
I.1.1. Structure du bois	15
I.1.2. Composition chimique du bois	17
I.1.3. Les Polysaccharides.....	18
I.2. La lignine : Ciment organique du bois	21
I.2.1. Importance de la lignine dans le bois.....	21
I.2.2. Aspect chimique des lignines.....	21
I.2.3. Classification et hétérogénéité des lignines	25
I.2.4. Réactivité des lignines	26
II. Obtention d'échantillons de lignine à partir du bois	26
II.1. Lignines extraites industriellement : Procédés papetiers	27
II.1.1. Les lignines Kraft	28
II.1.2. Les lignosulfonates.....	29
II.1.3. Les procédés non conventionnels.....	30
II.2. Les autres méthodes d'extraction des lignines	31
II.2.1. Lignines moulues ou « Milled Wood Lignin » (MWL)	31
II.2.2. Les nouvelles méthodes d'extraction des lignines.....	31
III. Caractérisation des lignines	32
III.1. Détermination de la structure des lignines par dégradation chimique	32
III.2. Caractérisation des lignines par des méthodes spectroscopiques	33
III.2.1. Spectroscopie UV	33

III.2.2. Spectroscopie infrarouge (IRFT)	33
III.2.3. Spectroscopie RMN.....	35
III.3. Pyrolyse couplée à la chromatographie en phase gazeuse	38
III.4. Caractérisations thermiques des lignines	39
III.5. Détermination de la masse molaire et de la dispersité des lignines	40
III.6. Détermination de la composition chimique des échantillons de lignine	40
III.6.1. Détermination de la pureté en lignine par la méthode de Klason et « Acid Soluble Lignin » (ASL)	41
III.6.2. Détermination du taux de cendres.....	41
III.6.3. Analyses des sucres résiduels	42
III.6.4. Analyse élémentaire (AE).....	42
III.7. Analyse des groupements fonctionnels présents dans les lignines	42
III.7.1. Les groupements méthoxyle	42
III.7.2. Les groupements hydroxyle	43
III.7.3. Les groupements carbonyle	44
III.7.4. Les groupements carboxyliques.....	45
III.7.5. Les positions C ₃ et C ₅ libres.....	45
IV. Voies de valorisation des lignines	46
IV.1. Dépolymérisation et conversion des lignines	46
IV.2. Dépolymérisation des lignines par voie oxydante	47
IV.2.1. Oxydation des lignines en milieu alcalin catalysée par des sels de métaux	48
IV.2.2. Catalyse organométallique : Autres systèmes catalytiques efficaces pour l'oxydation des lignines.....	57
IV.2.3. Oxydation des lignines par catalyse enzymatique	58
IV.3. Utilisation des lignines sans dépolymérisation préalable	59
IV.3.1. Utilisation directe des lignines (sans modification chimique).....	59
IV.3.2. Utilisation des lignines en tant que « macromonomère » dans les matériaux polymères	61
IV.4. Commercialisation de polymères issus de lignine.....	63
V. Conclusion.....	64
VI. Références bibliographiques.....	67

Chapitre 2 : Séparation & purification de la lignine à partir de la liqueur alcaline.....85

I. La liqueur alcaline de Tembec	87
I.1. Tembec & le procédé bisulfite.....	87
I.2. Caractérisation des liqueurs alcalines et choix de la base de travail.....	88
II. Protocoles d'extraction de la lignine	91
II.1. Précipitation en milieu acide des lignines à partir des liqueurs.....	91
II.1.1. Précipitation en milieu acide : point bibliographique.....	91
II.1.2. Précipitation en milieu acide appliquée à la liqueur alcaline.....	91
II.2. Extraction & purification par « acidolyse » douce	94
II.2.1. Traitement de la « lignine Ins. HCl ».....	94
II.2.2. Traitement de la liqueur alcaline	97
II.3. Traitement à l'éthanol de la liqueur alcaline.....	97
II.3.1. Analyse de la fraction « Soluble EtOH ».....	99
II.3.2. Analyse de la fraction « Insoluble EtOH ».....	101
II.4. Conclusion	101
III. Purification de la lignine précipitée (lignine Ins. HCl) par des solvants sélectifs	102
III.1. Purification à l'éthanol de la lignine « Insoluble HCl ».....	102
III.2. Purification à l'eau acidifiée de la lignine « Insoluble HCL – Insoluble EtOH ».....	105
IV. Optimisation des différentes étapes du protocole.....	107
IV.1. Pré-traitement en autoclave de la liqueur alcaline	107
IV.2. Optimisation de l'étape de précipitation.....	111
IV.2.1. Précipitation classique vs précipitation inverse	111
IV.2.2. Précipitation sélective.....	113
IV.3. Optimisation de la purification à l'éthanol et de la purification à l'eau acidifiée	115
IV.4. Conclusion & validation du protocole.....	116
V. Application du protocole pour l'extraction d'une grande quantité de lignine pure.....	117
V.1. Ajout d'une étape de purification	119
V.2. Conclusion	121
VI. Conclusion sur l'extraction & la purification de la lignine alcaline.....	121
VII. Références bibliographiques.....	123

Chapitre 3 : Elucidation de la structure de la lignine alcaline... 125

I. Introduction	127
II. Détermination de la pureté en lignine.....	127
III. Détermination de la distribution molaire des lignines	128
IV. Caractérisations structurales des lignines.....	130
IV.1. Analyse élémentaire (CHONS)	130
IV.2. Analyse des lignines par spectroscopie infrarouge	132
IV.3. Analyse des lignines par spectroscopie RMN.....	133
IV.3.1. RMN du phosphore (^{31}P).....	133
IV.3.2. RMN 2D-HSQC et ^{13}C	137
V. Acétylation des lignines	141
VI. Analyses thermiques des lignines	142
VI.1. Analyse enthalpique différentielle (DSC)	142
VI.2. Analyse thermogravimétrique (TGA) des lignines	143
VII. Caractérisations structurales de la fraction « sucre » (soluble éthanol ou soluble eau).....	147
VIII. Conclusion sur la structure de la lignine alcaline	150
IX. Références bibliographiques.....	153

Chapitre 4 : Oxydation & fonctionnalisation de la lignine alcaline fragmentée..... 157

I. Stratégie employée	159
I.1. Effet du blanchiment à l'oxygène sur la lignine.....	159
I.2. Présentation détaillée du protocole appliqué.....	162
II. Caractérisation des composés oxydés obtenus.....	163
II.1. Suivi de l'évolution des masses molaires par SEC	163
II.2. Caractérisations structurales	165
II.2.1. Suivi de la fonctionnalisation de la « lignine précipitée » et des composés « hydrosolubles » par spectroscopie infrarouge et RMN ^{31}P	165
II.2.2. Mise en évidence de la modification de la structure de la « lignine précipitée » par spectroscopie RMN 2D et ^{13}C	168

II.3. Caractérisation des composés « organosolubles » par GC/MS	171
II.4. Mise en évidence de la formation de CO ₂	172
II.5. Conclusion	172
III. Influence des paramètres de réaction.....	173
III.1. Evolution du pH et de la formation de « volatils » en fonction du temps.....	173
III.2. Influence de l'apport en soude et de l'apport en oxygène	174
III.3. Influence du temps et de la température	177
III.4. Influence de la nature des catalyseurs et des agents d'oxydations.....	178
III.5. Conclusion	184
IV. Optimisation de la réaction d'oxydation & validation du protocole	185
IV.1. « Recyclage » de la lignine précipitée.....	185
IV.2. Tests de répétabilité	188
V. Application des conditions d'oxydation à différents types de lignine	189
VI. Etude de l'oxydation de molécules phénoliques et benzéniques	192
VI.1. Mise en évidence de l'ouverture de cycle.....	194
VI.2. Oxydation sans ouverture de cycle	197
VI.3. Conclusion	199
VII. Conclusion sur l'oxydation de la lignine alcaline.....	199
VIII. Références bibliographiques	201

Conclusion générale & perspectives.....205

Partie expérimentale.....211

II. Matériels.....213

II. Techniques d'analyses (normes Tappi).....214

II.1. Détermination de la teneur en lignine des liqueurs..... 214

II.2. Détermination du taux de cendre (Tappi 413 om-11).....214

II.3. Détermination de la matière sèche de la liqueur alcaline.....214

II.4. Méthode de la lignine de « klason » (Tappi 222, om-02).....215

II.5. Détermination de l'Acid Soluble Lignin (ASL) (Tappi, UM250 um-83).....215

III. Techniques de caractérisation.....216

III.1. Chromatographie d'exclusion stérique (SEC).....	216
III.2. Spectroscopie infrarouge (IRFT)	216
III.3. Analyse élémentaire (AE).....	216
III.4. Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	216
III.5. Analyse de chromatographie gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS)	218
III.6. Analyses thermiques.....	218
IV. Chapitre 2 : Extraction et purification de la lignine alcaline.....	219
IV.1. Précipitation en milieu acide.....	219
IV.2. Extraction par « acidolyse douce ».....	219
IV.3. Purification à l'éthanol et à l'eau acidifiée de la lignine.....	219
IV.4. Pré-traitement en autoclave.....	220
V. Chapitre 4 : Oxydation de la lignine alcaline.....	220
V.1. Oxydation de la lignine alcaline.....	220
V.2. Oxydation de molécules phénoliques & benzéniques.....	221
VI. Références bibliographiques.....	223
Annexes.....	225

Liste des abréviations & acronyme

Les lignines

BV- Basse viscosité

HV- Haute viscosité

LAF- Lignine alcaline fragmentée

LANF- Lignine alcaline non fragmentée

MWL- Milled wood lignin

Les techniques d'analyse et de caractérisation

AE- Analyse élémentaire

ASL- Acid soluble lignin

DMA- Analyse mécanique dynamique

DSC- Analyse enthalpique différentielle

GC- Chromatographie en phase gazeuse

HMBC-Heteronuclear multiple-bond correlation

HSQC- Heteronuclear single-quantum correlation

IRFT- Infrarouge à transformée de fourrier

MS- Spectrométrie de masse

RMN- Résonnance magnétique nucléaire

SEC-Chromatographie d'exclusion stérique

TGA- Analyse thermogravimétrique

Les solvants

DMF- Diméthyl formamide

DMSO- Diméthyl sulfoxide

HCl- Acide chlorhydrique

EtOH- Ethanol

MeOH- Méthanol

THF- Tétrahydrofurane

Les autres abréviations

Đ- Dispersité

INS- Insoluble

\bar{M}_n - Masse molaire moyenne en nombre

\bar{M}_w - Masse molaire moyenne en masse

M_p- Masse molaire au pic

SOL- Soluble

T_g- Température de transition vitreuse

Résumé

Dans un contexte où l'épuisement des ressources fossiles est continu, l'utilisation de matières renouvelables comme nouvelles sources de produits chimiques devient primordiale. La structure phénolique de la lignine ainsi que sa disponibilité lui confèrent un grand potentiel comme matière première pour remplacer les produits issus du pétrole. Cependant, la structure complexe de ce polymère naturel, comparée à celle de la cellulose, ainsi que la diversité des procédés d'obtention, limitent sa valorisation en tant que matériau. Ainsi, l'isolation, la purification et la caractérisation des lignines constituent de nos jours un réel défi. La thèse présentée propose une nouvelle voie de valorisation d'une lignine industrielle pour l'obtention d'oligomères fonctionnalisés pouvant servir à l'élaboration de nouveaux polymères bio-sourcés.

La première partie de ce projet consiste à isoler la lignine à partir de liqueurs industrielles et à la purifier pour s'affranchir des sucres, des minéraux et autres constituants. Pour cela, un protocole efficace en 3 étapes a été proposé. Il permet d'obtenir des échantillons de lignine de pureté satisfaisante (95%) et de récupérer 68% de la lignine initialement présente dans la liqueur alcaline de départ. La lignine alcaline purifiée a ensuite été caractérisée d'un point de vue moléculaire (AE, IRFT, RMN, SEC) et par analyses thermiques (DSC, TGA). L'élucidation de la structure de la lignine alcaline a permis d'appréhender sa modification chimique par oxydation. Les analyses SEC de la lignine après oxydation ont montré une diminution des masses molaires qui a confirmé le clivage de la lignine. Trois fractions différentes ont été isolées après l'oxydation de la lignine selon le solvant d'extraction ; d'une part des oligomères de lignine (plus ou moins fonctionnalisés) et d'autre part des molécules aromatiques (dont 15% de vanilline) caractérisées par GC/MS. La fonctionnalisation des oligomères a été mise en évidence par analyse RMN ^{31}P où il a été vu que la formation d'acides carboxyliques pendant l'oxydation pouvait aller jusqu'à 93 fonctions acide carboxylique pour 100 unités C_6 . Enfin, une étude sur l'oxydation de composés benzéniques et phénoliques a permis d'expliquer la formation de composés dit « volatiles » pendant la réaction d'oxydation de la lignine alcaline.

Finalement, ce travail de thèse aura abouti à la synthèse de composés aromatiques à haute valeur ajoutée (vanilline) et d'oligomères fonctionnalisés par des fonctions acide carboxylique issus de lignine. Les applications envisageables de ces « polyacides » issus de lignine sont nombreuses : il sera nécessaire d'étudier leur réactivité pour la formation de nouveaux polymères bio-sourcés tels que des polyesters, polyamides ou encore polyuréthanes.

Mots clés

Lignine, purification, extraction, caractérisation de la lignine, oxydation de la lignine, bio-ressources, bio-polymères, valorisation de la lignine, valorisation de la biomasse, énergie renouvelable, valorisation co-produit, fonctionnalisation, oligomères

Abstract

With the gradual depletion of fossil fuels, the use of renewable raw material as a source of chemicals, materials and polymers is expected. Lignin, after to cellulose, is one of the most abundant natural macromolecules. Due to its aromatic structure, lignin has the potential to serve as an important raw material for replacing petroleum-based products. In the pulp and paper industry a large amount of lignin is obtained in the delignification process. It has for a long time been viewed as an energy source. The difficulty of valuing lignin is due to its complex, irregular and variable structure. Those observations make lignin isolation, purification and characterization very challenging. In this context, a valorization of alkaline lignin from an industrial pulping liquor is proposed for this project.

Before considering any chemical modification or potential applications, the lignin structure has been elucidated. An efficient 3-steps protocol for extraction and purification of lignin from industrial liquor has been established. This protocol leads to high purity sample of lignin (95%) and allows the recovery 68% of the lignin initially present in the alkaline liquor. Alkaline lignin has been characterized utilizing chemical analytical methods: elemental analysis, infrared spectroscopy (FTIR), size exclusion chromatography (SEC), NMR analysis (^{31}P , 2D-HSQC, ^{13}C) and thermal analysis: differential scanning calorimetry (DSC) and thermogravimetric analysis (TGA). This precise structure elucidation was primordial to proceed to chemical modification of alkaline lignin. Chemical modification of alkaline lignin has been done by oxidation in alkaline media. Three major oxidized products have been isolated depending on the extraction solvent: oligomers and aromatic molecules. The SEC analyses have shown a decrease of molar mass confirming the cleavage of lignin during oxidation reaction. The ^{31}P NMR analyses have shown a large carboxylic acid formation (functionalization). This functionalization could be very important for hydrosoluble compounds (93 carboxylic acid functions for 100 C_9 units). Aromatic oxidized compounds were analysed by GC-MS. This mixture contained mainly vanillin (15%). Finally, studies on aromatic and phenolic compounds gave explanations concerning the formation of “volatiles compounds” during lignin oxidation reaction.

This thesis work led to the synthesis of value-added bio-sourced chemicals and functionalized oligomers. The polyacids from lignin obtained should be studied to form new bio-based polymers such as polyesters, polyamids or polyurethanes.

Keywords

Lignin, waste valuation, biomass conversion, bio-based polymers, lignin purification, lignin characterization, lignin oxidation, functionalization, oligomers, bio-based polymers, bio-resources

Introduction générale

Les polymères, appelés communément « matières plastiques », sont indissociables de notre environnement et de notre vie pratique. Ils se sont imposés dans tous les domaines de nos activités, des objets les plus banals (emballages), jusqu'à des applications techniques (transport,...), sans oublier leur utilisation dans les cosmétiques ou l'alimentaire. Leur production est passée de 2 millions de tonnes en 1950 à 300 millions de tonnes en 2013 et ce chiffre continue d'augmenter. La production des polymères synthétiques représente environ 7% de la consommation mondiale de pétrole¹. Face à l'augmentation avérée des gaz à effet de serre dans l'atmosphère et l'épuisement des réserves fossiles annoncé, le développement des ressources renouvelables devient une nécessité pour l'avenir. Cette stratégie relève du concept de développement durable, défini comme étant «un développement qui répond aux besoins actuels sans compromettre la capacité des générations futures à répondre aux leurs.» (Définition proposée en 1987 par la Commission mondiale sur l'environnement). La biomasse lignocellulosique (cellulose, hémicelluloses, lignine et tanins) et les huiles végétales constituent les principales matières premières biosourcées pour le développement d'une nouvelle industrie chimique. En particulier, la disponibilité de la biomasse lignocellulosique permet de croire en l'émergence de l'agrochimie qui contrebalancera à terme la pétrochimie sans entrer en concurrence avec les besoins alimentaires. C'est dans ce contexte qu'est né le principe des bioraffineries qui tentent de répondre à certaines de ces attentes en proposant des méthodes d'extraction et de séparation qui permettent de valoriser séparément l'ensemble des composés de la biomasse lignocellulosique^{2,3,4}.

¹ Mülhaupt, R., *Macromolecular Chemistry and Physics*, **2013**

² R. A. Sheldon, *Green Chemistry*, **2014**

³ <http://www.nrel.gov/biomass/biorefinery.html>

⁴ P. Gallezot, *Chemical Society Reviews*, **2012**,

La valorisation de la lignine, suscite un intérêt croissant depuis quelques années. La lignine est après la cellulose, le second bio-polymère le plus abondant de la biomasse et représente environ 30% de la matière organique dans la biosphère. Sa production annuelle est estimée à 70 Mt/an⁵. Aujourd'hui, les applications principales de la lignine se rapportent à une utilisation en tant que combustible d'appoint et seulement 2% des lignines produites sont commercialisées (sous forme d'agent tensioactif ou pour la production de vanilline)⁶. Pourtant la lignine est, à ce jour, le seul polymère naturel possédant un squelette phénolique, elle représente donc une source non négligeable de matière première en chimie organique pouvant remplacer les molécules issues de la pétrochimie. Les domaines d'applications envisageables pour la lignine sont larges : sans modifications préalables, elle pourrait être utilisée comme additif (tensioactif, stabilisant UV ou anti-oxydant)^{7,8} ou comme renfort dans les matrices polymères. Après modifications chimiques ou biologiques, provoquant principalement sa dépolymérisation et sa fonctionnalisation, elle est considérée comme une source variée de molécules aliphatiques et aromatiques et d'oligomères. Malgré le grand potentiel de la lignine, son développement limité peut en partie s'expliquer par le fait qu'il y a autant de lignines que de sources et de modes d'obtention. La structure complexe de ce polymère naturel, comparée à celle de la cellulose, ainsi que la diversité des procédés d'obtention, limitent sa valorisation en tant que matériau. Ainsi, l'isolation, la purification et la caractérisation des lignines en vue de leur valorisation constituent de nos jours un réel défi. De plus, sachant que les lignines techniques sont exclusivement issues des liqueurs papetières (sous-produit de l'industrie papetière), il en résulte que la structure chimique des lignines étudiées en est fortement altérée. Dans un monde où le retraitement des déchets et l'épuisement et le coût croissant des ressources en pétrole sont devenus un vrai problème, ce bio-polymère pourrait intéresser de nombreux industriels. Par exemple, l'augmentation de la production des pâtes cellulosiques à haute

⁵ Laskar, D.D., et al., . *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2013

⁶ Berlin, et al., *Bioenergy Research: Advances and Applications*, 2014

⁷ Lora, J. et al., *Journal of Polymers and the Environment*, 2002

⁸ Vinardell, M., et al., *Industrial Crops and Products*, 2008

pureté en cellulose chez Tembec (bioraffinerie spécialisée dans la production de cellulose de spécialités), partenaire de ce projet, conduit à une augmentation importante de la quantité de lignines produites dont la valorisation actuelle est principalement la production d'énergie sur d'autres sites industriels.

L'objectif de ce travail de thèse s'inscrit dans ce contexte et vise à la valorisation de la lignine dans le domaine des matériaux macromoléculaires, l'un des domaines les plus prometteurs parmi ceux envisageables pour valoriser la lignine. A travers une étude des phénomènes chimiques entrant en jeu dans l'extraction, la purification et la fragmentation de la lignine, ce projet a dans un premier temps pour but de définir et d'adapter de nouvelles méthodes de purification de la lignine issue d'une liqueur industrielle fournie par Tembec. Celle-ci sera ensuite caractérisée structuralement et thermiquement. Le second axe de recherche du projet se concentre sur l'élaboration d'une stratégie de fragmentation et fonctionnalisation de la lignine par oxydation dans le but d'utiliser ces fragments en tant que monomères et/ou oligomères conduisant à la formation de nouveaux bio-polymères.

La première partie de ce manuscrit est donc consacrée à une étude bibliographique sur les lignines, de leurs origines aux procédés en développement pour leur valorisation industrielle. Dans un deuxième temps, les résultats expérimentaux seront présentés : en premier lieu, l'extraction et la purification de la lignine à partir de la liqueur industrielle, ensuite l'élucidation précise de la structure de la lignine et enfin sa dépolymérisation et fonctionnalisation par oxydation. Ces travaux ont conduit à la formation d'oligomères fonctionnalisés issus de lignine pouvant servir de synthons bio-sourcés pour la formation de nouveaux bio-polymères.

Ce projet de thèse rassemble un industriel producteur de cellulose, le groupe Tembec, et un laboratoire universitaire, le Laboratoire de Chimie des Polymères organiques (LCPO), de l'Université de Bordeaux.

Chapitre 1 :

Mise au point bibliographique

Table des matières

I. Le bois, un assemblage complexe	15
I.1. Structure et composition du bois	15
I.1.1. Structure du bois.....	15
I.1.2. Composition chimique du bois	17
I.1.3. Les Polysaccharides	18
I.2. La lignine : Ciment organique du bois	20
I.2.1. Importance de la lignine dans le bois	20
I.2.2. Aspect chimique des lignines	21
I.2.3. Classification et hétérogénéité des lignines.....	25
I.2.4. Réactivité des lignines	26
II. Obtention d'échantillons de lignine à partir du bois.....	26
II.1. Lignines extraites industriellement : Procédés papetiers	27
II.1.1. Les lignines Kraft.....	28
II.1.2. Les lignosulfonates	29
II.1.3. Les procédés non conventionnels	30
II.2. Les autres méthodes d'extraction des lignines	30
II.2.1. Lignines moulues ou « Milled Wood Lignin » (MWL).....	30
II.2.2. Les nouvelles méthodes d'extraction des lignines	31
III. Caractérisation des lignines.....	31
III.1. Détermination de la structure des lignines par dégradation chimique	32
III.2. Caractérisation des lignines par des méthodes spectroscopiques	33
III.2.1. Spectroscopie UV.....	33
III.2.2. Spectroscopie infrarouge (IRFT).....	33
III.2.3. Spectroscopie RMN	35
III.3. Pyrolyse couplée à la chromatographie en phase gazeuse	38
III.4. Caractérisations thermiques des lignines	39
III.5. Détermination de la masse molaire et de la dispersité des lignines.....	40
III.6. Détermination de la composition chimique des échantillons de lignine	40

III.6.1. Détermination de la pureté en lignine par la méthode de Klason et « Acid Soluble Lignin » (ASL)	41
III.6.2. Détermination du taux de cendres	41
III.6.3. Analyses des sucres résiduels.....	42
III.6.4. Analyse élémentaire (AE)	42
III.7. Analyse des groupements fonctionnels présents dans les lignines	42
III.7.1. Les groupements méthoxyle	42
III.7.2. Les groupements hydroxyle.....	43
III.7.3. Les groupements carbonyle.....	44
III.7.4. Les groupements carboxyliques	45
III.7.5. Les positions C3 et C5 libres	45
IV. Voies de valorisation des lignines.....	46
IV.1. Dépolymérisation et conversion des lignines	46
IV.2. Dépolymérisation des lignines par voie oxydante.....	47
IV.2.1. Oxydation des lignines en milieu alcalin catalysée par des sels de métaux.....	48
IV.2.2. Catalyse organométallique : Autres systèmes catalytiques efficaces pour l'oxydation des lignines	57
IV.2.3. Oxydation des lignines par catalyse enzymatique.....	58
IV.3. Utilisation des lignines sans dépolymérisation préalable	59
IV.3.1. Utilisation directe des lignines (sans modification chimique)	59
IV.3.2. Utilisation des lignines en tant que « macromonomère » dans les matériaux polymères.....	61
IV.4. Commercialisation de polymères issus de lignine	63
V. Conclusion	64
VI. Références bibliographiques	67

I. Le bois, un assemblage complexe

I.1. Structure et composition du bois

I.1.1. Structure du bois

Un tronc d'arbre est constitué de six couches concentriques allant de l'extérieur vers l'intérieur[1] (Figure 1) :

- L'écorce externe assure la protection du tronc et contribue à limiter l'évaporation de l'eau hors de l'arbre.
- L'écorce interne, à travers laquelle les sucres produits lors de la photosynthèse au niveau des feuilles sont transportés vers les racines où les zones en croissance de l'arbre.
- Le cambium, situé entre l'écorce et le bois, qui produit ces deux derniers.
- L'aubier qui transporte l'eau et la sève des racines aux feuilles.
- Le cœur du bois qui croît et s'épaissit tout au long de la vie de l'arbre.
- La moelle, située au centre, correspond aux restes de la croissance du tronc avant que le bois ne soit formé.

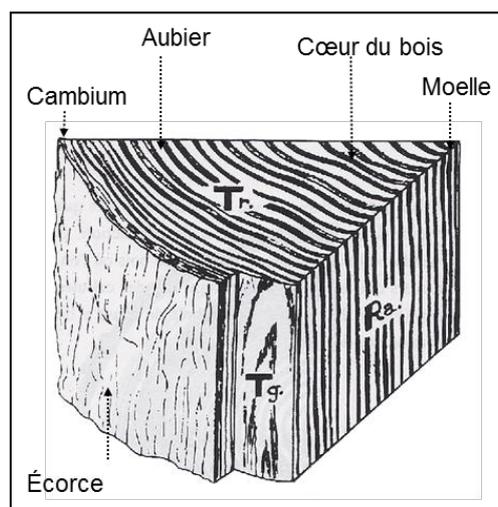


Figure 1: Structure macroscopique du bois[2]

A l'échelle microscopique, la paroi cellulaire du bois est également constituée de plusieurs couches (Figure 2) : la lamelle mitoyenne (ou LM) qui assure la jonction entre deux cellules en faisant l'interface entre deux parois primaires. La paroi primaire, couche mince principalement constituée de fibres de cellulose enchevêtrées qui tapissent la LM. Puis la paroi secondaire, composée de fibres de cellulose alignées et parallèles entre elles. Cette dernière se décompose en trois sous-couches (la couche externe S₁, la couche centrale S₂ et la couche interne S₃) [3, 4].

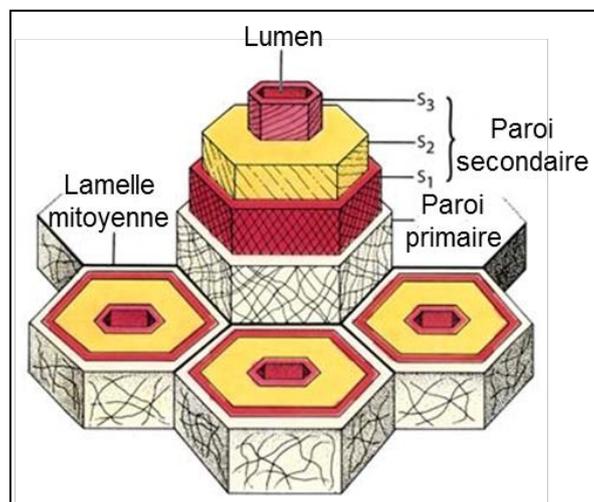


Figure 2: Structure microscopique du bois[5]

A l'échelle supramoléculaire, le bois est un assemblage complexe de fibres de cellulose dont la cohésion est assurée par un ciment organique, la lignine (Figure 3). La liaison entre les fibres de cellulose et la lignine se fait par les hémicelluloses, polysaccharides ramifiés. Les hémicelluloses présentent des interactions avec la cellulose et la lignine (type liaisons hydrogène et forces de Van der Waals) ainsi que des liaisons covalentes avec la lignine (type éthers)[6]. Les autres constituants du bois, qui représentent entre 1 et 10% en masse, sont principalement des minéraux et des composés organiques de faibles masses molaires comme des résines, des terpènes ou des tanins[7].

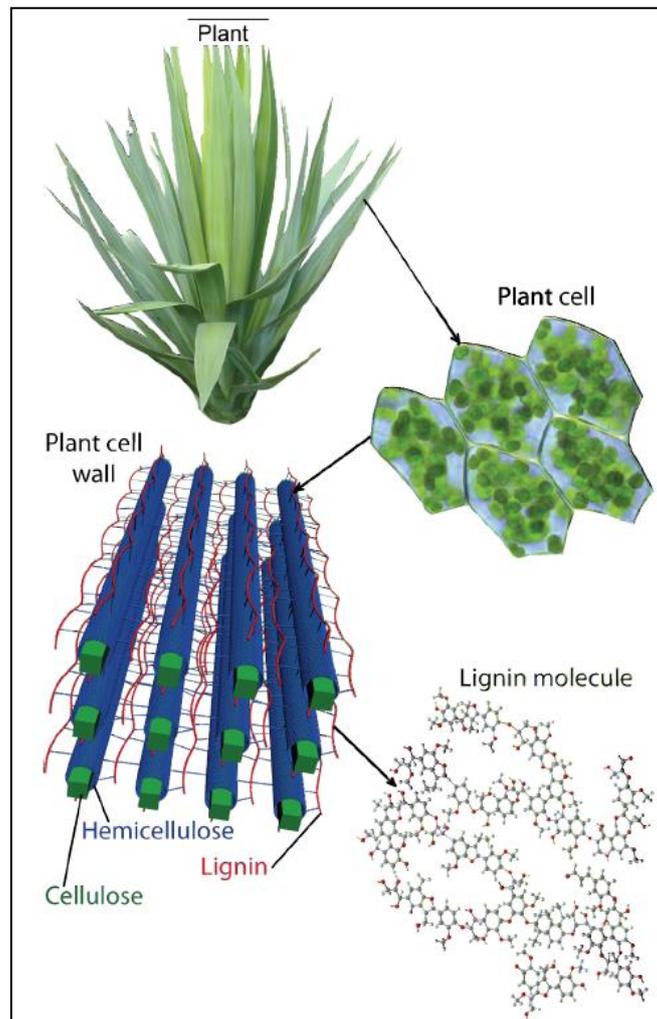


Figure 3: Représentation schématique de la localisation et de la structure de la lignine dans les matériaux lignocellulosiques[8]

I.1.2. Composition chimique du bois

Le bois est un matériau organique composé de trois principaux éléments : carbone (49%), hydrogène (6%), oxygène (44%) ainsi que de moins de 1% d'azote et d'éléments inorganiques (Na, K, Ca, Mg et Si)[9]. Trois familles de macromolécules constituent majoritairement le bois : la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. Il n'est pas possible de définir exactement la composition chimique du bois car celle-ci varie avec l'espèce et la nature du bois : feuillu (angiosperme) ou résineux (gymnosperme)[10], l'anatomie du bois (racine, tronc ou branche), la localisation géographique, le climat, la nature du sol et

l'effet de contraintes mécaniques ou hydriques exercées au cours de la croissance de l'arbre (bois normal, bois de tension chez les feuillus ou bois de compression chez les résineux) [11]. Le Tableau 1 donne quelques indications sur la distribution des principaux composants chimiques dans le bois en fonction des espèces[12]. La composition chimique du bois varie également au sein de la paroi végétale. Citons à titre d'exemple, la composition chimique des diverses couches de la paroi cellulaire des pins écossais selon Rowell[13] :

- Paroi primaire + lamelle mitoyenne : 80% lignine, 6.7% cellulose, 13.3% hémicelluloses
- S₁ : 51.7% lignine, 30% cellulose, 18.3% hémicelluloses
- S₂ : 15.1% lignine, 54.3% cellulose, 30.6% hémicelluloses
- S₃ : peu ou pas de lignine, 13% cellulose, 87% hémicelluloses

Tableau 1: Distribution des composants chimiques du bois[12]

	Cellulose	Lignine	Hémicelluloses
Feuillus	40-44%	23-30%	15-35%
Résineux	40-44%	26-34%	20-32%

I.1.3. Les Polysaccharides

Les polysaccharides du bois : cellulose et hémicelluloses, sont des polymères qui font partie de la famille des glucides et qui représentent environ 65 à 70% de la matière sèche du bois[1].

La cellulose (Figure 4), composé majoritaire de la cellule végétale (principalement située au niveau de la paroi secondaire), est le biopolymère le plus important de la biomasse (50%). Il s'agit d'un homopolymère linéaire dont l'unité de répétition est la cellobiose, dimère du glucose. Ces unités sont liées entre elles par des liaisons glucosidiques de type

$\beta(1\rightarrow4)$). Le degré de polymérisation (DP) varie de 10000 à 15000 pour la cellulose native. Après extraction et purification, la cellulose issue du bois aura généralement un DP inférieur à 3500[14].

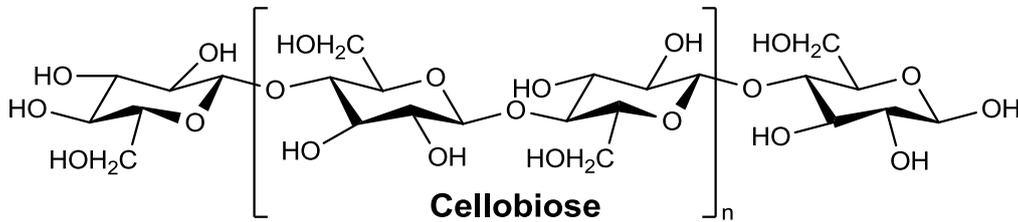


Figure 4: Structure de la cellulose

Les hémicelluloses sont des oligosaccharides linéaires ou ramifiés représentant entre 15 et 30% du bois et majoritairement présents au niveau des parois primaire et secondaire de la cellule végétale[4]. Ces polysaccharides peuvent être des homopolymères ou des hétéropolymères et leurs structures varient suivant la nature du bois (feuillus ou résineux)[1, 12]. Les monomères constituant les hémicelluloses sont représentés à la Figure 5. Les hémicelluloses ont un DP inférieur à celui de la cellulose (entre 100 et 200) et sont généralement classés en fonction des unités saccharidiques qui les composent[15]. Les unités mannose sont majoritaires dans les résineux alors que dans les bois feuillus, ce sont les unités xylose qui sont majoritaires. Les résineux sont constitués de 5 à 15% de galactoglucomannane (Figure 6), de 7 à 10% d'arabinoglucuronoxylane et de 5 à 35% d'arabinogalactane alors que dans les feuillus, les principales hémicelluloses sont composées de 15 à 30% de glucuronoxylane et de 2 à 5% de glucomanannane[1].

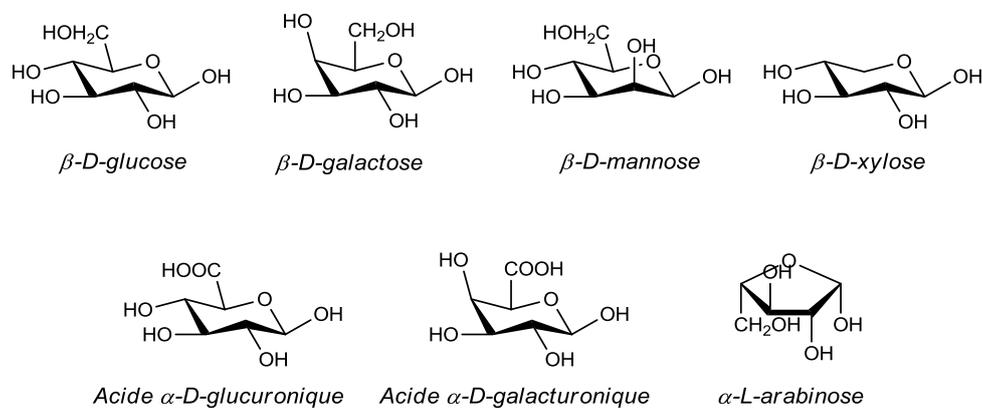


Figure 5: Monomères des hémicelluloses du bois

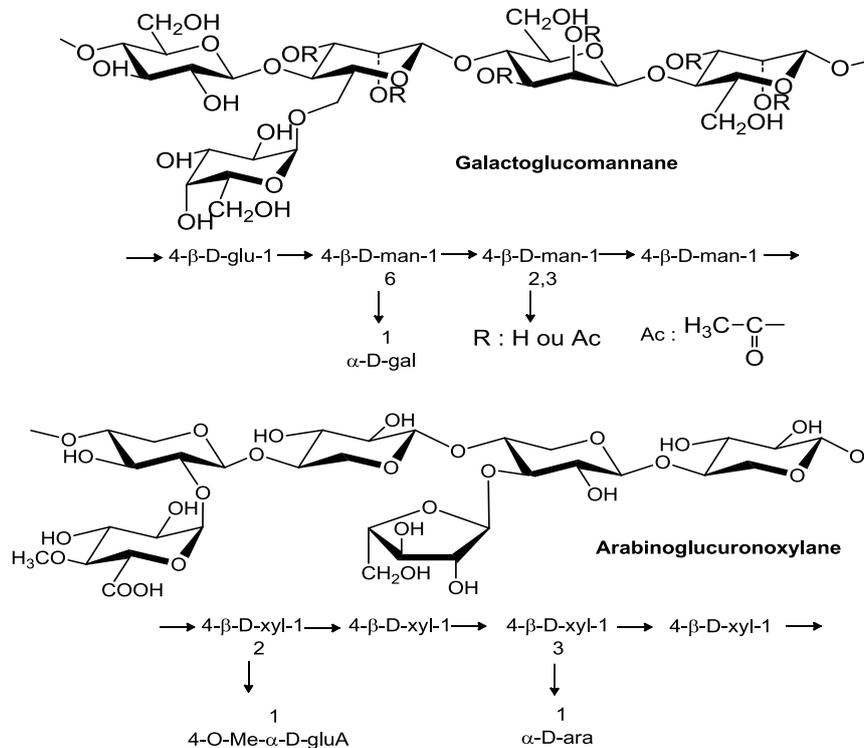


Figure 6: Structure partielle des unités galactoglucomanne et arabinoglucuronoxylane dans les résineux

1.2. La lignine : Ciment organique du bois

1.2.1. Importance de la lignine dans le bois

La lignine constitue la fraction non saccharidique du bois et représente environ un quart des tissus des végétaux vasculaires. Principalement située au niveau des lamelles mitoyennes, elle assure la cohésion entre les fibres de cellulose et constitue l'élément régulateur du transport de l'eau et des métabolites dans les cellules de la plante. La lignine est également présente dans les parois secondaires des tissus, formant une matrice avec les hémicelluloses afin d'assurer la rigidité de l'ensemble de la plante et l'imperméabilité du bois[15]. Elle permet ainsi à la plante de résister face aux fortes contraintes de la nature en entravant, par exemple, la pénétration d'enzymes destructrices dans les parois cellulaires afin de résister aux attaques microbiennes[16].

1.2.2. Aspect chimique des lignines

La lignine est le terme générique d'un vaste groupe de polymères phénoliques. Les lignines sont des polymères tridimensionnels irréguliers et sont constituées de trois unités principales qui se distinguent par leur degré de méthylation en position 3 et 5 : l'unité para-hydroxylophényle (H), l'unité guaiacyle (G) et l'unité syringyle (S) provenant du couplage radicalaire et oxydant des alcools para-coumarylique, coniférylique et sinapylique respectivement (Figure 7). La proportion de ces trois unités monolignol dans les lignines varie selon la nature de l'arbre. Ces unités sont liées entre elles par deux types de liaisons différentes (Figure 8). D'une part les liaisons alkyl-aryl éther (β -O₄ et α -O₄) et diaryléther (4-O-5), hydrolysables, et qui permettent la délignification dans les procédés papetiers par exemple. Le deuxième type de liaisons dites « condensées » ou carbone-carbone (phénylcoumarane [β -5], résinol[β - β], diarylpropane [β -1] et biphényle [5-5]) sont plus récalcitrantes à la dégradation. Elles nécessitent un traitement plus drastique afin d'être rompues.

La Figure 9 représente un modèle de structure de lignine de feuillus, qui contient différentes liaisons entre les unités phénylpropane, proposé par Boerjan[17] et la Figure 10 représente un modèle de structure de lignine de résineux proposé par Brunow[18].

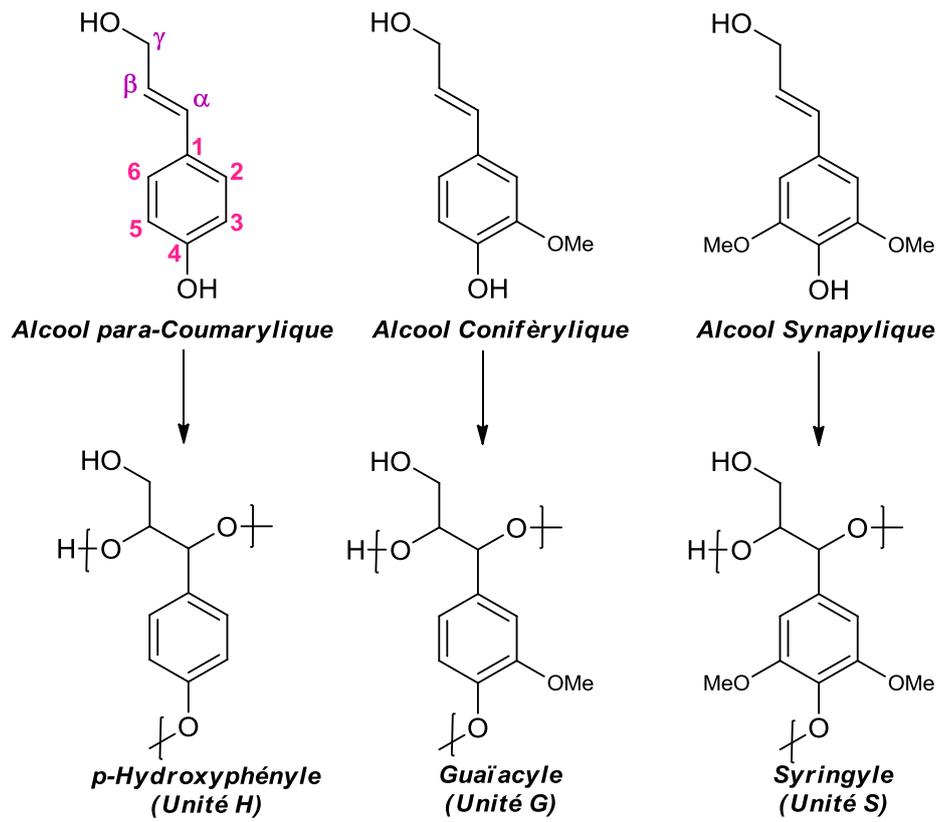


Figure 7: Unités de bases de la lignine

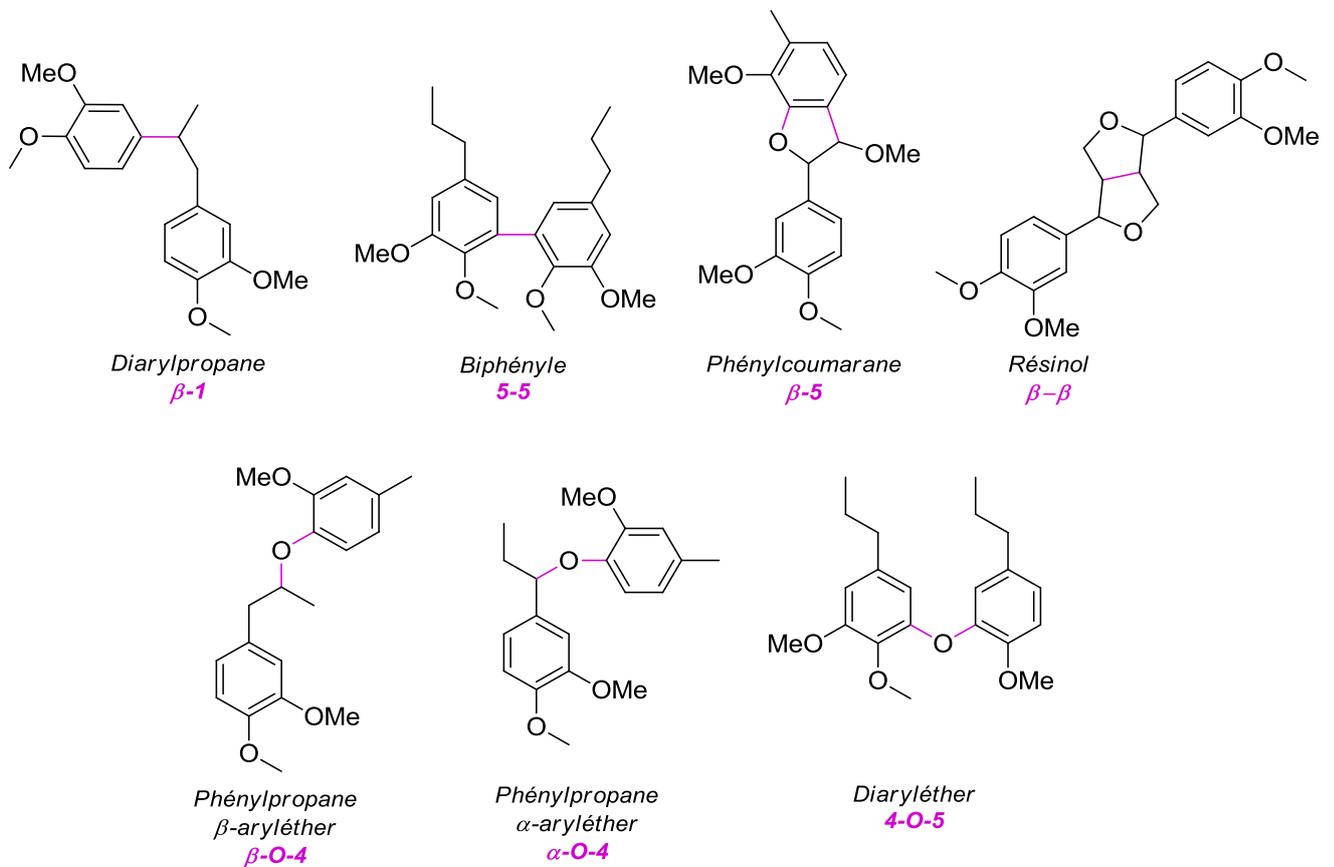


Figure 8: Principales liaisons entre les unités phénylpropane dans la lignine

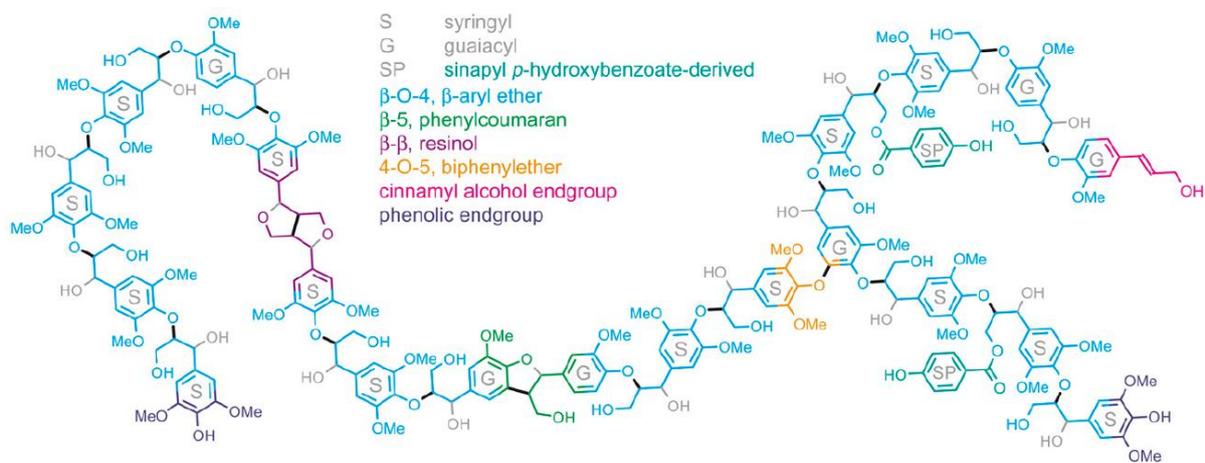


Figure 9: Modèle d'une structure de lignine de feuillus selon Boerjan[17]

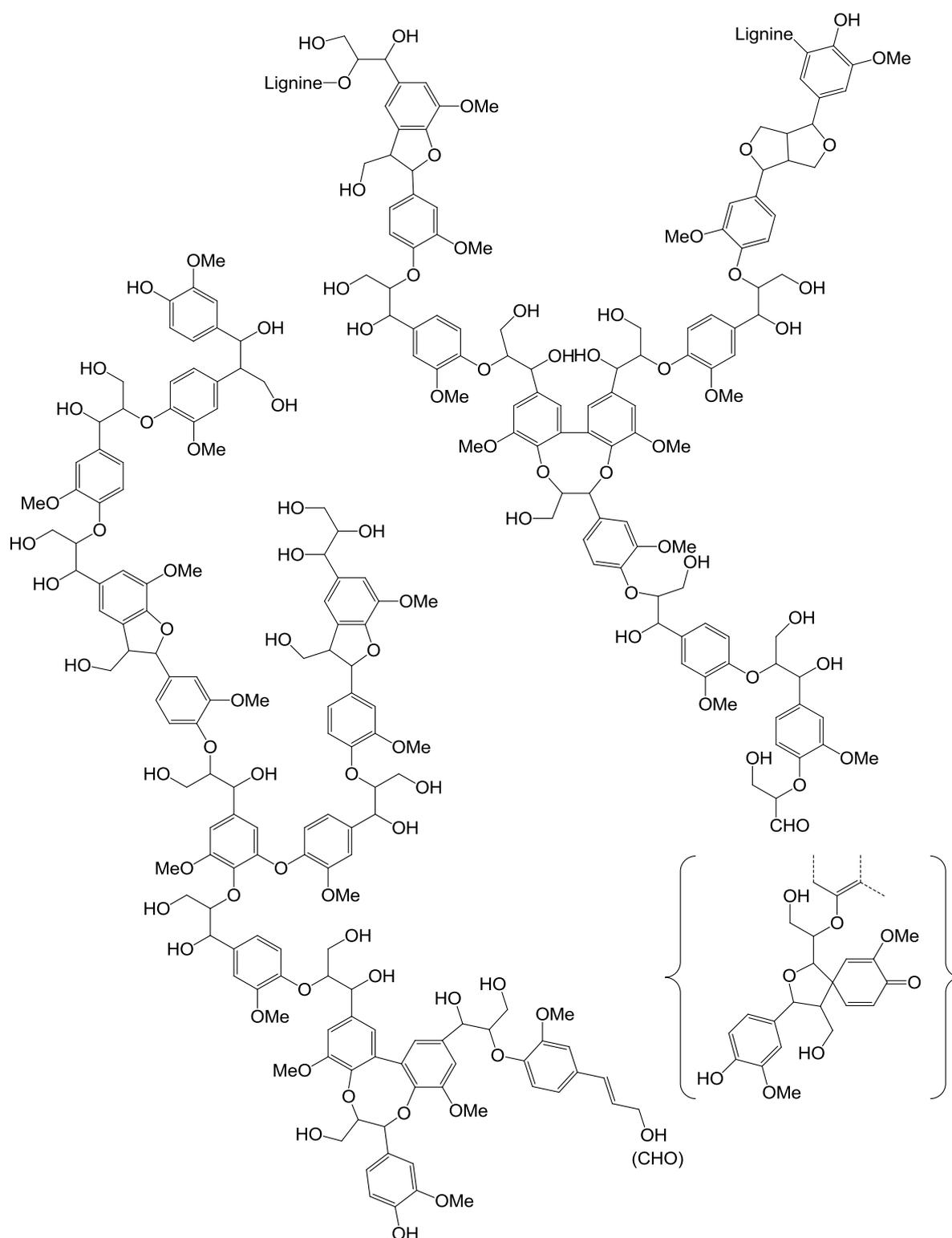


Figure 10: Modèle d'une structure de lignine de résineux selon Brunow[18]

1.2.3. Classification et hétérogénéité des lignines

Les lignines natives diffèrent en fonction de la nature botanique, de l'environnement, de la maturation des plantes et de l'organe sélectionné. Cependant, à ce jour, il est impossible d'extraire les lignines sans altérer leur structure : les lignines natives ne sont jamais obtenues et étudiées. La distinction la plus généralement admise est celle de bois feuillus (angiosperme), les lignines de bois résineux (gymnospermes) et les lignines des herbacées. Cette classification se base sur le fait que la nature des unités constitutives des lignines est différente selon la nature du bois. Les lignines possèdent trois types d'unités monomères (Cf §1.2.2), celles des résineux sont majoritairement composées d'unités guaiacyle (95%) alors que les lignines de feuillus sont constituées à la fois d'unités guaiacyle et syringyle. Les lignines des herbacées sont également considérées comme des lignines « guaiacyle-syringyle » mais, contrairement aux feuillus, elles contiennent également des petites proportions d'unités *p*-hydroxyphényle.

De nombreux autres facteurs peuvent expliquer l'hétérogénéité des lignines. Par exemple, la présence de plusieurs types de liaisons au sein de sa structure, principalement des liaisons C-C dites condensées et des liaisons éther[17] évoquées dans le paragraphe précédent. Le type et les proportions des différentes liaisons retrouvées dans les feuillus et les résineux sont répertoriés dans le Tableau 2. De plus, la structure des lignines varie également au sein du matériau suivant sa localisation dans la paroi cellulaire [19].

Tableau 2: Proportion (%) des différentes liaisons retrouvées dans les lignines de feuillus et résineux[20]

	β -O-4	α -O-4	β 5	β 1	5-5	4-O-5	$\beta\beta$
Feuillus	65	-	6	15	2,3	1,5	5,5
Résineux	49-51	6-8	9-45	2	9,5	3,5	2

I.2.4. Réactivité des lignines

La réactivité des lignines est influencée par la présence des différents groupes fonctionnels qu'elles contiennent (carbonyles, hydroxyphényles, ...) et par la nature des liaisons entre unités. En effet, les liaisons éther et les systèmes conjugués seront plus sensibles que la cellulose aux attaques des oxydants, des nucléophiles et des acides[14]. Lors des procédés de cuisson du bois (§II.1), les ions nucléophiles HS⁻(procédé kraft) et acides H⁺(procédé bisulfite) vont réagir avec la lignine et provoquer principalement la rupture des liaisons éther (β -O-4 et α -O-4). Ces réactions sont détaillées dans le paragraphe suivant.

Le choix des réactions qui seront mises en œuvre pour la modification des lignines dépend de leur nature, des différents groupements fonctionnels qui les constituent et de leur structure chimique, qui n'est malheureusement pas totalement élucidée.

II. Obtention d'échantillons de lignine à partir du bois

De par leurs structures complexes, les lignines ont une très faible solubilité dans la plupart des solvants usuels. Il existe plusieurs approches pour isoler les lignines à partir du bois, de la farine de bois, des pâtes à papier ou des liqueurs de cuisson (issues des procédés chimiques, physiques, biologiques, etc.). Ces prétraitements des lignocelluloses sont classés en quatre catégories selon Dale[21] et al. : les prétraitements mécaniques (MWL), les extractions par solvant (dont organosolv), les prétraitements chimiques (industrie papetière) et les prétraitements enzymatiques (principalement d'origine fongique). Il faut noter que toute opération physique ou chimique portant sur les lignines affecte de façon plus ou moins importante leur structure originelle. Par exemple, la variabilité des lignines industrielles, obtenues par les industries papetières, va dépendre à la fois de la nature du végétal traité et des techniques d'extraction employées. C'est pourquoi il existe des recherches en cours visant à extraire les lignines par des méthodes qui limitent l'altération de leur structure. On distingue donc les modes d'extraction industriels de modes d'extraction non conventionnels, en cours de développement, visant à limiter la dégradation des lignines pendant leur extraction.

II.1. Lignines extraites industriellement : Procédés papetiers

La préoccupation principale dans l'industrie papetière est la récupération des fibres de cellulose et par opposition, l'élimination la plus complète de la lignine. Pour ce faire, les lignines subissent des modifications structurales importantes afin de les rendre solubles (procédé Kraft) ou de les transformer sous forme de dérivés solubles (procédé bisulfite). Les lignines obtenues se présentent sous des formes diverses sans grand rapport avec les lignines natives de départ. La délignification est causée par deux types de changements structuraux dans la lignine : la rupture des liaisons entre unités de la lignine et l'introduction de groupements hydrophiles dans le polymère.

Dans les conditions de délignification alcaline (procédé kraft), les principales réactions de fragmentation de la lignine sont la rupture des liaisons β -aryl éther dans les unités phénoliques et non-phénoliques[3]. Les mécanismes réactionnels sont présentés à la Figure 11. La première réaction fait intervenir les motifs possédant des groupements phénoliques libres. Ce type de réaction intervient en premier dans le processus de délignification[10]. Ceci conduit à une augmentation du caractère hydrophile des fragments de lignine suite à la libération de groupements phénoliques permettant la dissolution dans la liqueur de cuisson basique sous forme de phénolates de sodium. Le deuxième type de réactions intervient sur les composés ne possédant pas de groupements phénoliques libres. Ces réactions nécessitent des conditions (température, alcalinité) beaucoup plus dures que le premier type de réaction et se produisent lorsque la température du milieu avoisine les 140°C [3, 22].

La délignification dans les conditions acides (procédé bisulfite), est attribuée à l'hydrolyse préférentielle des liaisons α -benzyl éther et aux réactions de sulfonation[23] permettant la solubilisation de la lignine en milieu aqueux. La réaction de sulfonation est décrite à la Figure 12 : le milieu acide favorise la formation de cations benzyliques qui réagissent à leur tour avec l'ion nucléophile HSO_3^- [24].

Les lignines industrielles (ou lignines techniques) obtenues suite à ces deux procédés sont décrites dans les paragraphes ci-dessous.

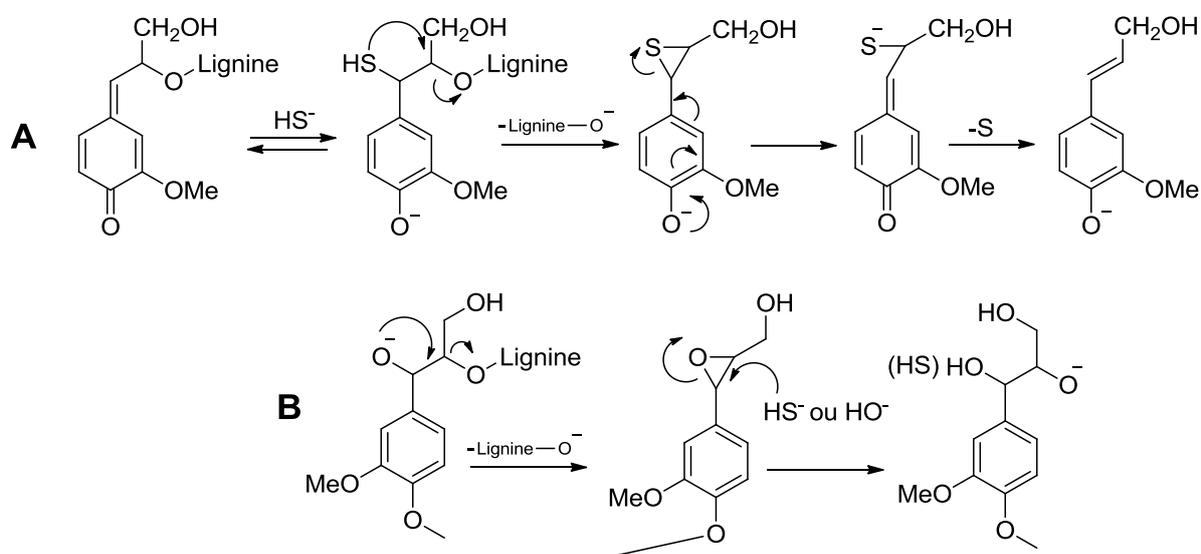


Figure 11: Rupture des liaisons β-aryl éther lors du procédé kraft, A: mécanisme impliquant les unités phénoliques, B: mécanisme impliquant les unités non phénoliques

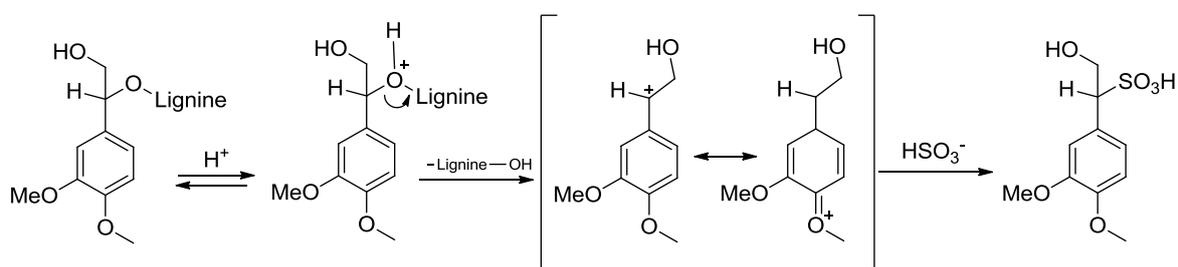


Figure 12: Rupture des liaisons α-O-4 et sulfonation de la lignine lors du procédé bisulfite

II.1.1. Les lignines Kraft

Les lignines issues du procédé Kraft représentent 85% du total des lignines industrielles produites dans le monde[25, 26] soit une production estimée entre 30 à 75 tonnes de lignine kraft par jour[27]. Durant ce procédé, les copeaux de bois sont traités à température élevée (entre 150 et 180°C) pendant deux à cinq heures par des solutions aqueuses de soude (NaOH) et de sulfure de sodium (Na₂S)[28]. Les ions hydroxyle et hydrogénosulfure entraînent la rupture des liaisons ester entre lignines et polysaccharides ainsi que les liaisons alkyle-aryle éther des lignines. La liqueur extraite en

fin de cuisson est appelée « liqueur noire » et contient la lignine sous forme de phénolate de sodium de masses molaires (Mw) comprises entre 2000 et 3000 g/mol[29], des polysaccharides, des sels inorganiques et des acides résiniques. Cette liqueur est majoritairement utilisée comme combustible : elle est concentrée puis brûlée afin de régénérer les réactifs après caustification et produire de l'énergie. Les lignines kraft peuvent être isolées de la liqueur noire par précipitation en milieu acide[30].

Des études ont été faites afin de générer des produits à haute valeur ajoutée à partir des lignines Kraft tels que la vanilline, des polyuréthanes, des fibres de carbone et les adhésifs pour panneaux[31-33]. Parmi les procédés se développant pour extraire la lignine, on peut citer celui de Metso (Suède, Bäckhammar), qui détient le procédé LignoBoost®. Ce procédé permet d'obtenir de la lignine de haute qualité par précipitation de la liqueur noire avec du dioxyde de carbone puis un acide minéral. Cette lignine pourra être utilisée comme matière première dans diverses applications[33].

II.1.2. Les lignosulfonates

Les lignosulfonates sont issus du procédé de délignification par le bisulfite. Lors du traitement, les copeaux de bois sont traités par l'acide sulfureux ($\text{SO}_2, \text{H}_2\text{O}$) et du bisulfite (de sodium, de magnésium ou d'ammonium,...)[34] à une température de 120-140°C. Les lignines sont rendues solubles en milieu aqueux par sulfonation en position α ou β et la liqueur extraite en fin de cuisson est aussi appelée « liqueur noire ». Le fort degré de sulfonation des lignines permet de solubiliser des fragments de hautes masses molaires (Mw) comprises entre 20 000 et 50 000 g/mol[29]. Les lignosulfonates sont les seuls dérivés de lignine valorisés en quantité actuellement. La présence de groupements acide sulfonique confère à ces dérivés de lignine des propriétés de surface, des propriétés amphiphiles et une bonne solubilité dans l'eau qui leur permettent d'être utilisés comme tensioactifs, émulsifiants et résines échangeuses d'ions[35]. A l'échelle industrielle, la principale application de conversion des lignosulfonates réside dans la production de vanilline[32] (Borregaard, Norvège).

II.1.3. Les procédés non conventionnels

D'autres procédés permettent de séparer la lignine de la biomasse lignocellulosique. On peut citer le procédé « organosolv » où la délignification est réalisée en utilisant divers solvants organiques[29] en conditions acides ou alcalines et en présence ou non d'un additif comme l'antraquinone[36]. Ces méthodes permettent une bonne solubilisation des lignines et une bonne séparation des trois composants de la biomasse. La dissolution des lignines est précédée d'une étape de dépolymérisation. Parmi les procédés existant on peut citer le procédé Organocell® (soude/méthanol), Alcell® (éthanol/eau), Acetosolv® (acide acétique), ASAM® (méthanol), CIMV® (acide acétique/acide formique/eau) et Milox® (acide formique/acide performique). Ces procédés présentent l'avantage de ne pas émettre de composés soufrés et, théoriquement, de permettre un recyclage des solvants par distillation. Cependant, de nombreuses études ont été menées mais peu d'entre elles ont eu des résultats comparables à la cuisson kraft (qualité moindre des pâtes « organosolv » par exemple[37-39]).

Les lignines alcalines, appelées « soda lignin » sont obtenues par un procédé qui utilise la soude et l'antraquinone (AQ) pour dépolymériser les lignines. En effet, l'AQ permet d'augmenter les rendements de délignification : ce composé est soluble dans les solutions alcalines sous sa forme réduite (9,10-dihydroxyanthracène)[10]. Ce procédé utilise de la biomasse issue de plantes annuelles et parfois quelques feuillus.

Enfin, l'explosion à la vapeur[40] qui se réalise entre 200 et 250°C par une imprégnation de vapeur sous pression suivie d'une rapide détente de la pression, permet de séparer les trois composés lignocellulosiques avec des rendements élevés[34, 41].

II.2. Les autres méthodes d'extraction des lignines

II.2.1. Lignines moulues ou « Milled Wood Lignin » (MWL)

Les MWL sont considérées comme les plus représentatives des lignines natives. Elles sont obtenues par un broyage fin du bois jusqu'au stade de « farine » de bois à l'aide de billes de porcelaine. Il s'en suit soit une étape d'extraction de type « acidolyse » avec une

solution de dioxane/eau en présence d'acide chlorhydrique [42] soit un traitement enzymatique[43] visant à éliminer les polysaccharides. La lignine extraite présente une pureté généralement faible (dans cet exemple inférieur à 50%[42]) due à la présence de sucre. Une autre étude, qui compare les deux modes d'extraction[43] montre que l'extraction par acidolyse permet d'obtenir 40% de lignine d'une pureté de 99% mais le rendement reste faible. Le traitement enzymatique permet de récupérer 83% de lignine mais celle-ci contient des impuretés (environ 6% de sucres et 5% de protéines).

II.2.2. Les nouvelles méthodes d'extraction des lignines

Une nouvelle méthode d'isolement de lignines a été présentée par Argyropoulos et al[44]. Cette méthode combine l'hydrolyse acide et enzymatique et permet de récupérer des échantillons de lignine d'une pureté voisine de 96% (contenant encore près de 4% de carbohydrate et de protéines) avec un rendement moyen de 70%.

Enfin, des recherches ont montré qu'il était possible d'extraire les lignines par des liquides ioniques[45, 46]. Cette voie offre une alternative pour le prétraitement de la biomasse lignocellulosique par des solvants respectueux de l'environnement et théoriquement recyclables. Il a été montré que certains liquides ioniques solubilisait fortement les lignines et très peu les autres constituants du bois. Cette propriété permet d'isoler sélectivement les lignines sans grandes altérations de leur structure. A titre d'exemple il a été montré que l'acetate 1-ethyl-3-methylimidazolium ($[Emim]^+[CH_3COO]^-$) permet d'extraire 40% de lignine d'une farine de bois (pureté non précisée) sans altération visible de la structure de la lignine[47].

III. Caractérisation des lignines

L'utilisation des lignines techniques dans la fabrication de nouveaux produits à haute valeur ajoutée est freinée par plusieurs facteurs tels que la structure complexe, non-uniforme et mal connue des lignines. On retiendra également la faible réactivité chimique ainsi que la difficulté à obtenir des échantillons purs (présence d'impuretés organiques (sucres & dérivés) et inorganiques (minéraux))[26]). La première étape de toute étude

concernant les lignines doit être la détermination des caractéristiques structurales de l'échantillon. En vue d'une valorisation, la caractérisation porte essentiellement sur les propriétés au niveau macromoléculaire et moléculaire.

Il existe plusieurs méthodes analytiques décrites dans la littérature qui permettent de caractériser les lignines. On distingue les méthodes chimiques dites « destructives » des méthodes analytiques, plus récentes, non destructives.

III.1. Détermination de la structure des lignines par dégradation chimique

La détermination de la structure des lignines en termes de nature et de proportion des trois monolignols et de fréquence des différentes liaisons inter-unités est actuellement un défi majeur en raison de l'hétérogénéité considérable des échantillons. Les méthodes de dégradation chimique ont longtemps été les seuls moyens permettant d'accéder à ces informations. Ces méthodes ont été listées par Lin & Dence[48]; on retrouve par exemple les méthodes d'hydrolyse ou solvolysse (acidolyse, thioacidolyse et hydrogenolyse), les dégradations oxydantes (oxydation au permanganate, au nitrobenzène et à l'oxyde de cuivre), le clivage réductif, les réactions par échange de noyau et l'ozonolyse. Les résultats obtenus à partir de ces techniques ont permis de reconstruire de façon statistique des lignines modèles de résineux[49, 50] ou de feuillus[51]. Ces lignines modèles ont longtemps été supposées comme étant représentatives des lignines natives. Cependant ces méthodes par dégradation chimique engendrent des réactions secondaires conduisant à des produits issus de réarrangements. Il est donc délicat d'établir des modèles de structure de lignine par ces méthodes destructives. De nos jours, grâce aux évolutions des techniques spectroscopiques non destructives (par exemple la RMN 2D), des structures proches de celles pouvant exister chez les lignines natives, ont été proposées[52]. Ces techniques sont décrites dans le paragraphe suivant.

III.2. Caractérisation des lignines par des méthodes spectroscopiques

III.2.1. Spectroscopie UV

L'analyse spectroscopique UV-Visible permet de déterminer le nombre de groupements hydroxyle phénoliques par la méthode $\Delta\varepsilon$ [53]. Cette méthode est basée sur la différence d'absorption à 300-305 nm (unités phénoliques libres non conjuguées) et 350-370 nm (unités phénoliques libres conjuguées) entre les unités phénoliques des lignines en solution alcaline et neutre. Le contenu total des groupements hydroxyle phénoliques ionisés est déterminé quantitativement en comparant les valeurs $\Delta\varepsilon$ des lignines étudiées à certaines longueurs d'onde avec celle des composés modèles respectifs [54, 55] (Figure 13). Selon El Mansouri et Salvado, les lignines Kraft ont un taux d'hydroxyles phénoliques de 4,5 % m/m sur les matières sèches[56], tandis que les valeurs présentées par Faix[57] pour les « milled wood lignins » sont comprises entre 2,2 et 4%.

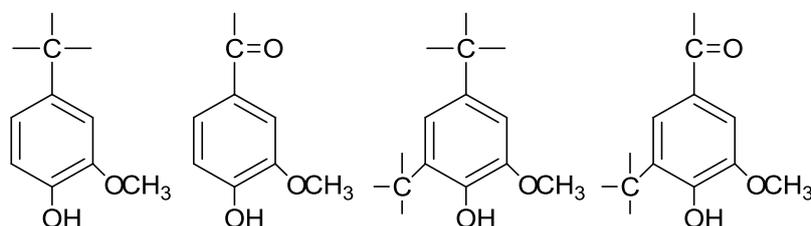


Figure 13: Différents types de structures phénoliques dans les lignines[58]

III.2.2. Spectroscopie infrarouge (IRFT)

La spectroscopie infrarouge IRFT des lignines est une analyse permettant de mettre en évidence la présence de groupements fonctionnels dans les lignines (l'utilisation des pastilles de KBr en spectroscopie à transmission est plus recommandée que les techniques basées sur la réflectance). La bande d'absorption à 3400 cm^{-1} est attribuée aux groupements hydroxyle. La région entre $3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ correspond aux élongations C-H des groupements méthyle et méthylène, avec la bande à 2900 cm^{-1} qui correspond à la vibration C-H des groupements méthoxy. La vibration d'élongation du groupement

carbonyle C=O est située entre 1740 et 1700 cm^{-1} pour les carbonyles non-conjugués et acides carboxyliques et entre 1650 et 1675 cm^{-1} pour les carbonyles situés sur des structures conjuguées. Les bandes de vibration du squelette aromatique pour toutes les lignines indépendamment de leur origine sont observées à 1600, 1511 et 1420 cm^{-1} . Enfin, la région entre 1300-1000 cm^{-1} correspond aux vibrations des diverses liaisons C-O, C-H [59, 60] [20]. La Figure 14 montre des exemples de spectre IRFT obtenus pour différentes lignines.

La spectroscopie IRFT est parfois utilisée comme méthode semi- quantitative qui permet de classer les différentes lignines selon leurs origines [61-63].

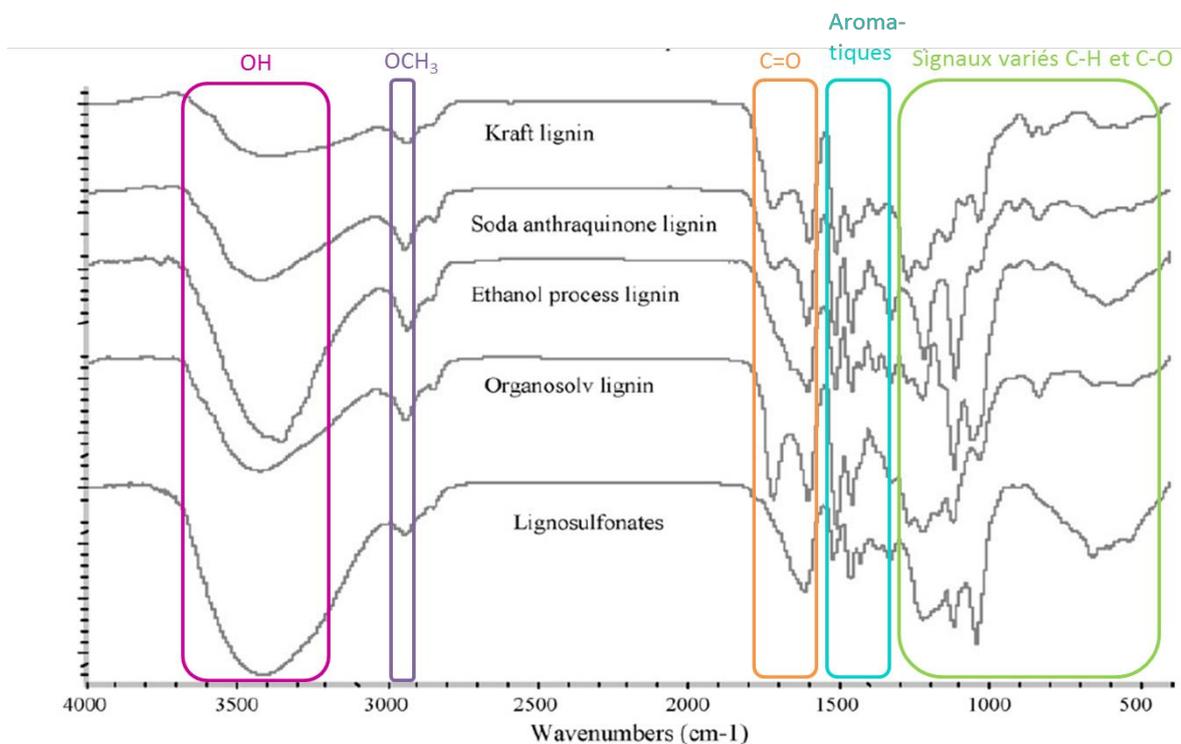


Figure 14: Exemple de spectre IRFT de lignines non acétylées (adapté de El Mansouri[60])

III.2.3. Spectroscopie RMN

Acétylation des lignines

La solubilisation de la lignine dans différents solvants organiques généralement utilisés pour la RMN ou la chromatographie d'exclusion stérique (SEC) est très limitée et partielle. Il est souvent nécessaire de pratiquer au préalable une acétylation. L'acétylation de la lignine avec un mélange pyridine/anhydride acétique (1/1, v/v) [56] est la méthode la plus couramment employée. Malheureusement, cette technique ne permet pas une acétylation totale de la lignine et par conséquent une partie de l'échantillon n'est pas prise en compte pour l'analyse. Récemment, Argyropoulos[64] a développé une méthode utilisant un mélange acide acétique/bromure d'acétyle (92 :8, v/v) permettant l'acétylation complète de la lignine et donc sa solubilisation à 100%.

RMN ¹H des lignines acétylées

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique réputée pour la détermination de la structure chimique des composés organiques. La RMN ¹H des lignines acétylées[56] dans le CDCl₃ permet de déterminer la quantité relative des groupements méthoxyle (3,10-4,10 ppm), des protons méthyle dans les groupements acétyle aromatiques (2,17-2,50 ppm), des protons méthyle dans les groupements acétyle aliphatiques (1,70-2,17 ppm) et des protons aromatiques (6-7.10 ppm) en se référant à un standard interne tel que le *p*-nitrobenzaldéhyde [58]. La Figure 15 montre un exemple de spectre RMN ¹H obtenu après acétylation d'une lignine Kraft. Notons que les signaux obtenus en RMN ¹H sont larges et mal définis à cause des structures complexes des lignines.

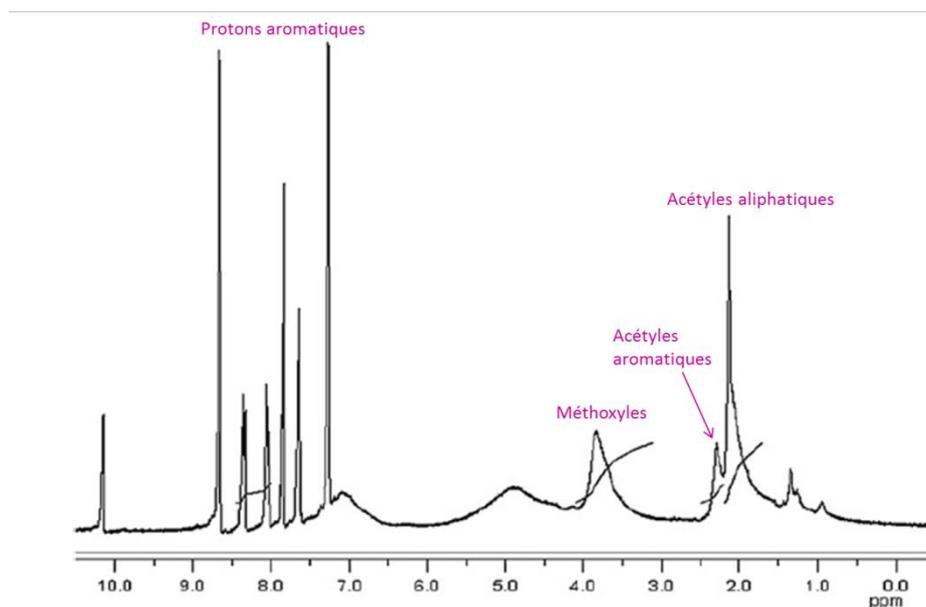


Figure 15: Exemple d'une analyse RMN ^1H d'une lignine Kraft acétylée (adapté de Mancera[58])

RMN ^{13}C

La résonance magnétique nucléaire du carbone (RMN ^{13}C) est une technique qui permet de révéler la présence de carbones aryl ether, aromatique et aliphatique [65-68] dans les structures des lignines. Un exemple de RMN ^{13}C est présenté à la Figure 16. La zone entre 60 et 80 ppm est attribuée aux carbones aliphatiques oxygénés (carbones qui portent les fonctions alcool par exemple), les signaux des carbones aromatiques sortent entre 100 et 160 ppm et enfin la zone entre 160 et 180 ppm correspond aux carbones des acides carboxyliques. Les attributions sont faites par comparaison avec les nombreuses bases de données existantes [20, 48, 69, 70] qui ont été réalisées grâce à l'analyse de molécules modèles. L'inconvénient majeur de cette technique est dû à sa faible sensibilité : les échantillons doivent être très concentrés (entre 400 et 600 mg de lignine pour 2 ml de solvant) et les temps d'acquisition sont longs. La RMN ^{13}C quantitative des lignines peut également être réalisée [71, 72]. Cette technique requiert des conditions particulières : une séquence inverse « inverse gate découpling » (IGD) avec impulsion à 90° [73] et avec un délai de 11 secondes[74]. Le temps d'acquisition doit être long ($\sim 72\text{H}$) et le nombre de scans doit être au minimum entre 8000 et 10000 et peut parfois atteindre 20000

scans[75]. De plus, l'échantillon doit être le plus pur possible (absence de sucres et/ou protéines) et concentré au maximum pour optimiser le signal. Pour éviter les problèmes liés à la viscosité, lorsque le DMSO est utilisé comme solvant, l'analyse est réalisée à température élevée (entre 50 et 100°C)[68, 74]. Le meilleur moyen de quantifier la lignine par RMN du carbone peut être l'utilisation d'un standard interne[71].

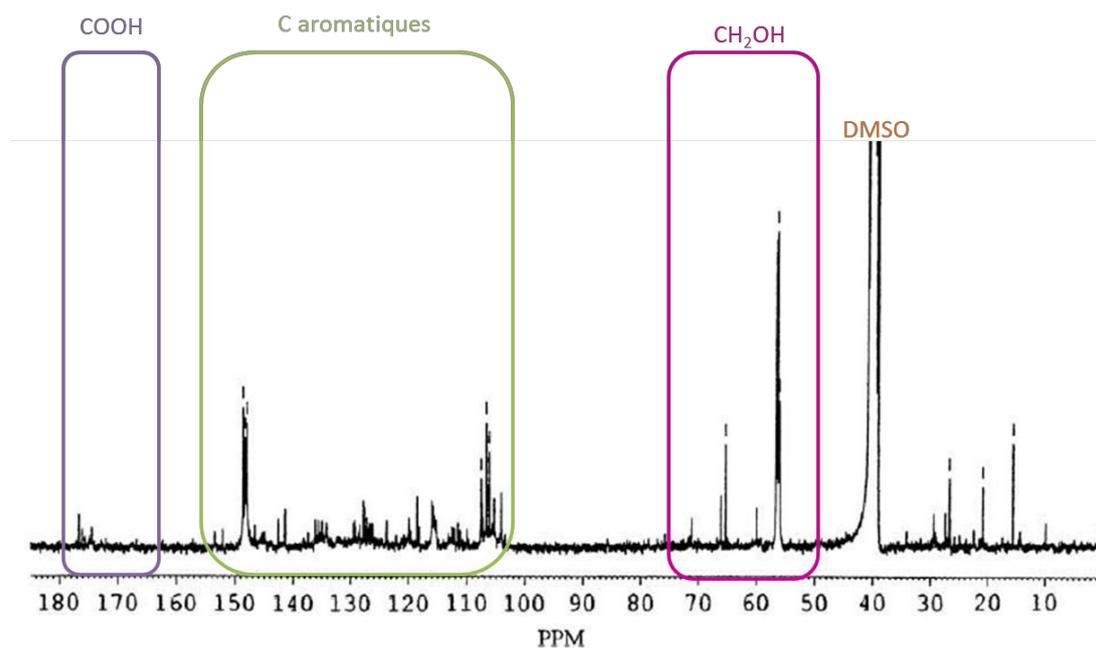


Figure 16: Exemple d'une analyse RMN ¹³C de lignine de feuillus (adapté de Sun[76])

RMN 2D

Afin de mieux différencier certains protons ou carbones superposés dans les spectres RMN 1D, des techniques de résonance magnétique nucléaire 2D (COSY, TOCSY, HMQC, HSQC, HMBC) ont été employées. Ces techniques permettent de déterminer la nature des différentes liaisons et structures présentes dans les lignines telles que les β-O-4, dibenzodioxocine, pinoresinole, phénylcoumarane, α-O-4, β-5, β-1, 5-5, 4-O-5 [20, 72]. Les attributions se font par comparaison avec des signaux obtenus après analyse de molécules modèles.

RMN ^{31}P

Enfin, la spectrométrie RMN ^{31}P quantitative[77, 78] permet de déterminer et de quantifier la nature des groupements hydroxyle et acide carboxylique présents dans l'échantillon de lignine analysé. Cette méthode consiste à phosphoryler les hydroxyles portant des protons labiles de la lignine avec le 2-chloro-4,4,5,5-tétraméthyl-1,2,3-dioxaphospholane dans une solution de pyridine/ CDCl_3 (1,6/1 v/v) anhydre. Selon la nature du groupement hydroxyle (aliphatique, unité condensée, unité syringyle, unité guaiacyle et unité *p*-hydroxyphényle) ou acide carboxylique le déplacement chimique sera différent sur le spectre RMN- ^{31}P du produit phosphorylé. L'ajout d'une référence interne (endo-N-hydroxy-5-norbornène-2,3-dicarboximide[79] ou acide benzoïque[80]) permet de quantifier les différentes contributions par intégration du signal correspondant. Il a été montré que la lignine kraft contient 3,8 mmol d'hydroxyle phénolique/g lignine et 2,4 mmol d'hydroxyle aliphatique/g lignine [79]. La Figure 17 montre un exemple de spectre obtenu après analyse RMN ^{31}P d'une lignine Kraft phosphorylée.

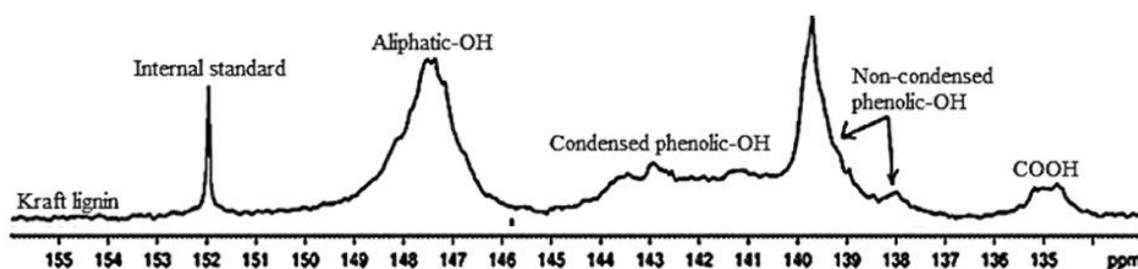


Figure 17: Exemple d'un spectre RMN ^{31}P d'une lignine Kraft[79]

III.3. Pyrolyse couplée à la chromatographie en phase gazeuse

L'analyse par pyrolyse est souvent employée pour la caractérisation des macromolécules complexes présentes dans le bois[81, 82], des matériaux lignocellulosiques non issus du bois[83, 84] (blé, herbe...) et des lignines isolées[85]. Cette méthode, comparée aux méthodes fastidieuses de dégradation par voie chimique, permet une analyse simple et rapide de la composition en unités monolignol des échantillons de lignines[86]. En effet,

elle nécessite peu de produit (moins d'un milligramme) et il n'est pas nécessaire qu'il soit purifié des polysaccharides des plantes. Après pyrolyse, les composés séparés par chromatographie gazeuse sont identifiés *via* leur spectre de masse comme étant dérivé d'unités p-hydroxyphényle, syringyle ou guaiacyle. L'intégration des pics du chromatogramme permet de déterminer les ratios H/S/G des échantillons de lignine.

III.4. Caractérisations thermiques des lignines

Les analyses thermiques sont indispensables pour établir les relations structure-propriétés des polymères. Les techniques fréquemment utilisées permettent de mettre en évidence les modifications chimiques ou physiques des polymères en fonction de la température.

La stabilité thermique des lignines est mise en évidence par l'analyse thermogravimétrique (TGA) et l'analyse enthalpique différentielle (DSC). La TGA permet de mettre en évidence la perte de masse liée à la dégradation thermique de la lignine pendant que celle-ci est chauffée, refroidie ou maintenue à une température fixe, tandis que la DSC permet de déterminer la température de transition vitreuse et l'enthalpie des lignines ainsi que des changements d'état. Cette dernière méthode est la plus reconnue pour la détermination des températures de transition vitreuse (T_g) des lignines et des lignines modifiées[87].

La T_g des lignines, déterminée par DSC, est comprise entre 110-160°C pour les Milled Wood Lignin tandis que pour les lignines kraft, elle est comprise entre 124-174°C[87]. La T_g est influencée par plusieurs facteurs tels que la structure aromatique qui apporte la rigidité dans la chaîne principale, les interactions type liaisons hydrogène, la masse molaire, le type de liaisons inter-unités et le degré de réticulation. En ce qui concerne la TGA, pour la plupart des lignines, trois étapes de perte de masse sont observées lorsque l'analyse est réalisée sous atmosphère inerte (N_2): Le séchage (20-150°C), la pyrolyse (200-500°C) et la carbonisation (500-900°C). La méthode de TGA couplée à la spectroscopie infrarouge (TG-IRFT) permet de déterminer la nature des gaz formés durant chaque étape et ainsi, établir quel type de dégradation est préférentielle à une température

donnée[88]. De façon générale, une très faible perte de masse est observée durant l'étape de séchage (20-150°C) correspondant à l'évaporation de l'eau et l'eau liée. La dégradation des lignines débute aux alentours de 200°C et on observe une vitesse maximale de perte massique entre 300°C et 400°C [89, 90]. C'est pendant cette phase de pyrolyse (entre 150 et 300°C) qu'un maximum de gaz est formé (CO, CO₂, CH₄) causée par la rupture des liaisons C-C et C-O des chaînes latérales[91], liaisons qui semblent être les plus faciles à rompre. L'étape de pyrolyse est également caractérisée par l'élimination d'unités phénoliques de différentes natures entre 370 et 500°C : à ces températures se produisent les ruptures des liaisons éther[88] et des liaisons condensées[92] inter-unités. Enfin, la carbonisation se produit entre 500-900°C conduisant à la formation de résidu amorphe de carbone[91, 93] appelé « char » ou « charcoal ».

III.5. Détermination de la masse molaire et de la dispersité des lignines

La chromatographie d'exclusion stérique est une technique qui permet de séparer les composés en fonction de leur taille (volume hydrodynamique), et de déterminer la dispersité des échantillons analysés. La masse molaire relative est déterminée en utilisant des standards de masse molaire connue. L'éluant le plus utilisé est le tétrahydrofurane (THF). La masse molaire des lignines kraft acétylées obtenues à partir de diverses liqueurs noires varie dans la gamme 200 à 200000 g/mol [26] avec des valeurs entre 2000 et 3000 g/mol pour la majorité des cas[29].

III.6. Détermination de la composition chimique des échantillons de lignine

Il est difficile, voir quasi-impossible, d'obtenir des échantillons de lignine pur à 100%. C'est pourquoi il existe des analyses normées permettant d'établir la teneur en lignine, et en impuretés minérales ou organiques.

III.6.1. Détermination de la pureté en lignine par la méthode de Klason et « Acid Soluble Lignin » (ASL)

La méthode dite « lignine de Klason » (norme TAPPI **222 om-02**, [94]) associée à la méthode par spectroscopie UV[95] appelée « Acid Soluble Lignin » ou ASL permettent d'établir la pureté en lignine d'un échantillon.

L'hydrolyse des polysaccharides par l'acide sulfurique en solution concentrée à 72% laisse un résidu de lignine, appelé « lignine de Klason »[96] isolé, totalement insoluble et dont la structure est très altérée[97]. En effet, l'action de l'acide sulfurique se traduit par des processus de condensation débouchant sur la formation de réseaux complexes. Cette méthode d'extraction présente l'intérêt majeur de quantifier le taux de lignine présente dans l'échantillon étudié car le réseau condensé de lignine est considéré comme pur. Le taux de Klason est déterminé par gravimétrie. La partie soluble après hydrolyse est récupérée pour déterminer l'ASL.

La méthode dite « Acid Soluble Lignin » est une méthode UV (TAPPI, **UM250 um-83**) [95, 98]. Cette technique permet de quantifier le contenu en lignine dans la fraction soluble obtenue par la méthode de « lignine de Klason ». L'absorbance de l'échantillon est notée à 203 nm, et la concentration en lignine est calculée grâce à la loi de Beer-Lambert : $Abs = C \times \epsilon \times l$ (avec ϵ = coefficient d'extinction molaire de la lignine = 128 g/L/cm à 203 nm).

La pureté en lignine de l'échantillon étudié est déterminée par addition des valeurs obtenues pour la lignine de Klason et pour l'ASL.

III.6.2. Détermination du taux de cendres

Le contenu en cendres ou minéraux est obtenu par la méthode gravimétrique après calcination au four à moufle à 900°C (norme TAPPI **413 om-11**) [99, 100] pendant 3 heures. Après cuisson, les lignines kraft obtenues à partir du bois résineux contiennent un taux en cendres assez élevé (jusqu'à 30 %) qui diminue la réactivité des lignines. Ce taux peut être diminué par lavage des lignines à l'eau acidifiée (1% en acide sulfurique) jusqu'à un contenu en cendres allant de 1 à 5 %[58].

III.6.3. Analyses des sucres résiduels

L'analyse des sucres résiduels se fait selon la norme TAPPI T249 cm-85[101] par chromatographie haute performance par échanges d'anions (HPAEC) : les échantillons de lignine, de bois ou de pâte à papier sont hydrolysés une première fois par une solution d'acide sulfurique à 72% à 30°C pendant 1 heure. Après dilution (x20), une seconde hydrolyse est réalisée à 120°C pendant 1h. Après cette étape la solution est filtrée sur verre fritté. Enfin, les échantillons sont solubilisés dans de l'eau osmosée (concentration connue) et injecté dans la colonne préalablement calibrée par des solutions standard de L-rhamnose, L-arabinose, D-glucose, D-xylose, D-mannose, D-galactose, acide glucuronique et acide galacturonique par exemple[102].

III.6.4. Analyse élémentaire (AE)

L'analyse élémentaire des lignines permet de déterminer leur contenu en carbone, hydrogène, oxygène, soufre et azote. D'autres informations sont également données par cette analyse telles que le taux de protéine et de doubles liaisons (présence de structures aromatiques et degré de condensation de la lignine)[56]. La masse molaire d'une formule empirique $C_9H_xO_yS_zN_w$ (pour une unité de répétition) de la lignine kraft résineux est de 184 g/mol[103].

III.7. Analyse des groupements fonctionnels présents dans les lignines

Les principaux groupements fonctionnels présents dans les lignines sont les groupements méthoxyle, hydroxyle, carbonyle et carboxylique[60]. La proportion de ces différents groupes dépend de l'origine du bois d'où la lignine est issue et des procédés d'extraction. L'analyse des groupements fonctionnels est une étape vers la détermination de la structure des lignines.

III.7.1. Les groupements méthoxyle

Le contenu en groupements méthoxyle est déterminé par la méthode proposée par Vasquez en 1997[104] qui est une modification de méthode initiale de Zeisel (1885). Les lignines sont traitées à l'acide sulfurique concentré à reflux. Au bout de 10 minutes, le

milieu est refroidi et de l'eau distillée est ajoutée en excès. Le méthanol produit lors de la réaction est alors distillé sous vide et quantifié par chromatographie en phase gazeuse.

III.7.2. Les groupements hydroxyle

Les méthodes décrites dans la littérature permettent essentiellement de quantifier les groupements phénoliques présents dans les lignines, cependant ne perdons pas de vue que des groupements hydroxyle de type aliphatiques sont également présents dans les lignines.

Les différentes méthodes pour déterminer le contenu en groupements hydroxyle phénoliques des lignines sont mises en revue par Faix et son équipe[57]. Parmi ces méthodes, il n'en existe aucune qui permet de déterminer de manière exacte et précise la quantité de groupements hydroxyle phénoliques.

L'aminolyse est la procédure la plus ancienne qui permet de déterminer le contenu en groupes hydroxyle phénoliques des lignines. Initialement développée par Mansson[105], elle est modifiée par Gellersted[106] afin d'être adaptée aux matériaux lignocellulosiques. La lignine acétylée est mise à réagir avec la pyrrolidine (Figure 18) pour former de l'acétylpyrrolidine (équivalent des groupements hydroxyle). Des prélèvements sont effectués à différents temps de réaction et analysés par chromatographie en phase gazeuse. La quantité d'acétylpyrrolidine formée est suivie en fonction du temps. En extrapolant la quantité d'acétylpyrrolidine formé à $t=0$, le contenu en groupements hydroxyle phénoliques est déterminé[60].

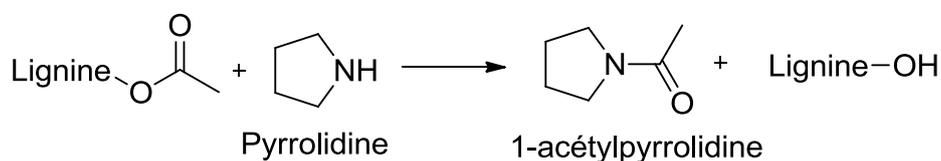


Figure 18: Aminolyse de la lignine acétylée

La dégradation des lignines par oxydation avec le permanganate de potassium, la thioacidolyse avec des réactifs soufrés (EtSH) et l'oxydation au nitrobenzène permettent

également d'estimer les groupements hydroxyle aromatiques mais ce sont des méthodes longues et souvent fastidieuses. *A noter que la thioacidolyse est une méthode initialement développée pour quantifier les liaisons β -O-4.*

L'analyse spectroscopique UV-Visible permet de déterminer le nombre des groupes hydroxyle phénoliques par la méthode $\Delta\varepsilon$ (cf §III.2.1). Une autre méthode qui permet de déterminer le contenu en groupements hydroxyles phénoliques et aliphatiques est la spectrométrie RMN ^{31}P quantitative (décrite au §III.2.3).

Pour conclure, les résultats obtenus après application des techniques qui permettent de déterminer le contenu en groupements hydroxyle ne sont pas complètement comparables. Concernant les méthodes nécessitant une acétylation des lignines, cette réaction est incomplète à cause de l'encombrement stérique des groupements méthoxyle ce qui fausse les résultats tandis que la spectroscopie UV sous-estime le contenu total en hydroxyle phénoliques[60, 107]. L'une des meilleures alternatives semblent être l'analyse par RMN ^{31}P qui permet à la fois de quantifier et de déterminer la nature des groupements hydroxyle.

III.7.3. Les groupements carbonyle

Les carbonyles présents dans les lignines peuvent être déterminés en utilisant des réactifs réagissant communément avec les carbonyles[108] tels que la phenylhydrazine, la thiobenzylhydrazide ou l'hydrochloride d'hydroxylamine. Ces méthodes sont limitées ; par exemple la thiobenzylhydrazide aurait tendance à réagir également avec des alcools de type benzylique (groupements phénoliques). D'autres méthodes peuvent être utilisées pour la détermination des groupements carbonyle comme la méthode d'oximation modifiée décrite par Faix[109] ou la méthode UV développée par Alder et Marton (1966) et rapportée par Zakis[53]. Cette dernière est basée sur la différence d'absorption entre les carbonyles et leurs formes correspondantes réduites (en alcool benzylique).

III.7.4. Les groupements carboxyliques

Les différents traitements, en particulier les traitements oxydants (rupture des cycles phénoliques) appliqués aux lignines ont tendance à augmenter le taux (initialement très faible dans les lignines natives) de groupements carboxyliques[48]. Leur détermination permet de donner des informations sur la dégradation qu'a subi la lignine et, dans le cas des pâtes, sur les propriétés mécaniques de ces dernières. Classiquement, le taux de groupements carboxyliques est déterminé par une méthode de titration potentiométrique en milieu non-aqueux développée par Pobiner[110]. La lignine est titrée avec de l'hydroxyde de tetra-*n*-butyl ammonium en présence d'une référence interne (l'acide *p*-hydroxybenzoïque) dans le DMF. Cette méthode a pour avantage de déterminer en plus des groupements carboxyliques, les groupements hydroxyle phénoliques qui ont un caractère acide faible. Combinée à un traitement par échange d'ions, cette méthode de titration est également utilisée pour déterminer les acides forts tels que les groupements sulfonates dans les lignosulfonates.

D'autres méthodes peuvent être utilisées, par exemple la détermination d'indice d'acide ou la méthode de titration en milieu aqueux[111].

III.7.5. Les positions C₃ et C₅ libres

La réaction de Mannich décrite par Pan et Yoshihiro[112] permet de déterminer les positions 3 et 5 actives (libres) sur le noyau aromatique des unités phénylpropane des lignines. Ces positions jouent un rôle important dans la réactivité de la lignine car plus leur nombre est élevé et plus la lignine sera réactive pour la synthèse de mélanges collants. Les positions C₃ et C₅ libres de la lignine sont mises à réagir avec le paraformaldéhyde et la diéthylamine. Le produit obtenu est analysé par analyse élémentaire et la teneur en azote donne le nombre des positions libres. Les lignines kraft de résineux contiennent environ 40% de positions actives (0,4/unité phénylpropane)[56].

IV. Voies de valorisation des lignines

Grâce à leurs structures phénoliques uniques, les lignines sont considérées comme une source potentielle de molécules aliphatiques et aromatiques pouvant être obtenues après leur conversion. Les stratégies de valorisation des lignines se détachent en deux voies. Premièrement, la fonctionnalisation pour la formation de composites, copolymères, résines phénoliques, renforts ou additifs. La seconde voie est la dépolymérisation pour conduire à la conversion des lignines en molécules aliphatiques et aromatiques et en synthons fonctionnels pouvant être utilisés comme monomères bio-sourcés en alternative aux monomères issus de la pétrochimie.

IV.1. Dépolymérisation et conversion des lignines

L'intérêt pour les travaux de recherche portant sur la dépolymérisation des lignines n'a cessé de grandir depuis 1992 (Figure 19). De nombreuses stratégies de dépolymérisation ont été étudiées. On peut distinguer trois grandes catégories : la dépolymérisation thermochimique (pyrolyse et gazification), la dépolymérisation réductrice et la dépolymérisation oxydante. La dépolymérisation des lignines par voie thermochimique a largement été étudiée et compilée sous forme de revues[29, 113-115]. On distingue la pyrolyse qui est une technique de conversion des lignines à des températures comprises entre 300 °C et 1000 °C sous atmosphère non oxydante. Les proportions relatives des trois types de produits (gaz, huile, charbon) peuvent être influencées par les paramètres tels que la pression, la nature de la matière première, l'atmosphère et la nature de la catalyse[116]. La fraction « huile » est un mélange d'alcane, d'alcool et d'alcène, généralement instable. Le principal inconvénient de cette technique est la formation d'une fraction solide « char » due à une condensation radicalaire des produits réactifs. La gazification est une méthode qui permet de convertir les lignines ou la biomasse en gaz[117]. Les produits principaux obtenus sont H₂, CO, CO₂ et CH₄[118, 119]. Les voies de dépolymérisations réductrices et oxydantes ont été revues par Zakseski[120]. La valorisation réductrice des lignines consiste en une pyrolyse en milieu réducteur pour l'obtention de composés benzéniques et phénoliques avec de bons rendements[120]

(jusqu'à 70%). La majorité des systèmes décrits dans la littérature utilise l'hydrogène comme réducteur en présence d'un catalyseur hétérogène mono ou bimétallique[121-125]. Les conditions généralement employées sont drastiques: pressions en hydrogène comprises entre 4 et 22 bars et des températures comprises entre 250 et 450°C.

Les travaux de cette thèse se sont orientés vers la valorisation oxydante des lignines qui nécessite des conditions énergétiques plus faibles.

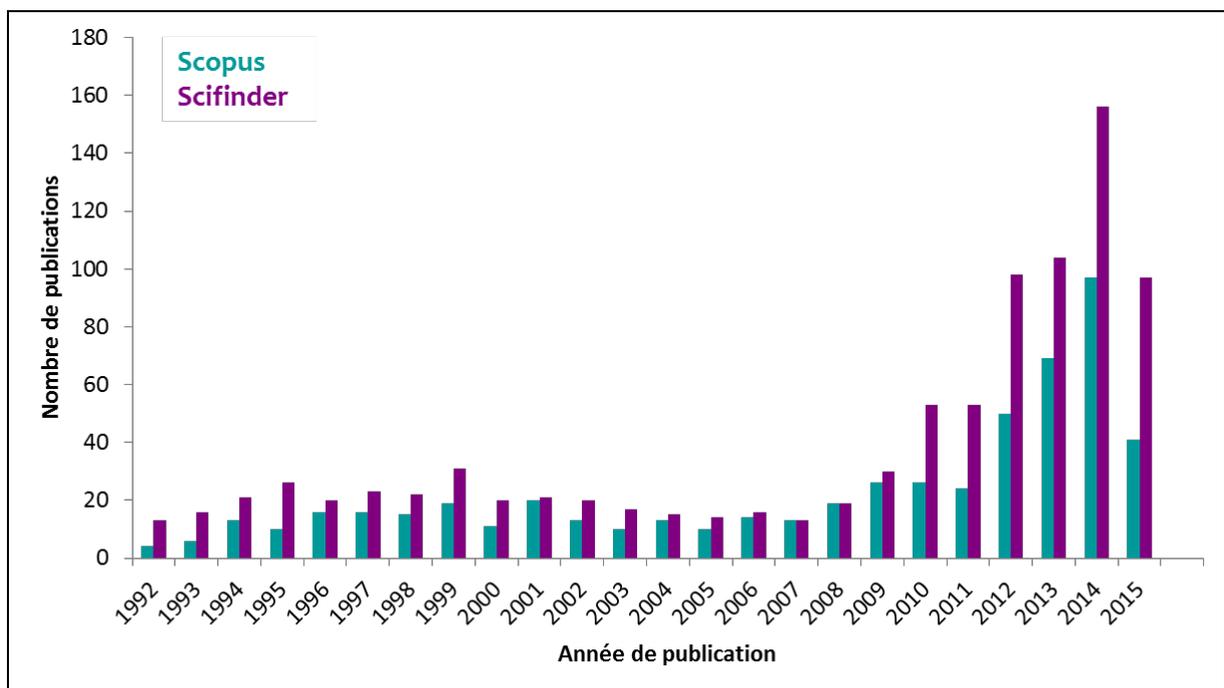


Figure 19: Nombre de publications concernant la dépolymérisation de la lignine depuis les dernières années (Sources: Scopus, Scifinder ; Mots clés de recherche : *Lignin Depolymerization*)

IV.2. Dépolymérisation des lignines par voie oxydante

Une des voies les plus prometteuses pour la valorisation de la lignine est la dépolymérisation par voie oxydante. Par la présence de nombreux groupements hydroxyle dans les structures des lignines, les réactions d'oxydation induisent la rupture des liaisons éther ou autres liaisons condensées ainsi que la destruction des cycles aromatiques. L'oxydation alcaline de la lignine, déjà utilisée pour le blanchiment des pâtes

à papier, est connue pour dégrader la lignine en formant des groupements fonctionnels tels que les quinones et les acides carboxyliques[126]. Ces stratégies permettent également d'obtenir des monomères ou oligomères fonctionnalisés par des fonctions aldéhyde ou acides carboxyliques pouvant servir de monomères pour le développement de matériaux fonctionnels. Enfin, l'oxydation alcaline des lignines conduit à la formation de composés phénoliques simples tels que la vanilline, l'acide vanillique pour les résineux et de syringaldéhyde ou acide syringique pour les feuillus par exemple. La vanilline est actuellement l'un des seuls composés produit industriellement par oxydation en milieu alcalin de lignosulfonates (production estimée à 1500 tonnes par an)[127].

On distingue l'oxydation par voie chimique de l'oxydation par voie biologique (enzymatique). La littérature offre un large choix concernant le type d'oxydants ou le type de catalyseurs dans le cadre de la valorisation des lignines. Les travaux de cette thèse se sont orientés vers l'utilisation de sels de métaux en milieu alcalin en vue de la « simplicité du procédé » et d'une potentielle industrialisation et reflète les recherches bibliographiques présentées dans ce mémoire. Toutefois, d'autres types de catalyseurs ont été étudiés ; parmi les plus actifs, on trouve les catalyseurs organométalliques : méthyltrioxorhénium, métallo-salens et polyoxo-métallates.

IV.2.1. Oxydation des lignines en milieu alcalin catalysée par des sels de métaux

L'utilisation de molécules modèles (couramment des dimères) mimant les liaisons présentes dans les lignines est souvent rapportée pour tester l'efficacité des systèmes catalytiques employés. Cette stratégie permet de mettre en évidence les mécanismes mis en jeu, les cinétiques et les sélectivités sur la rupture ou la fonctionnalisation des modèles. Cependant, ils ne sont pas suffisants pour anticiper la réactivité des lignines, beaucoup plus complexes pendant les réactions d'oxydation. Les quelques résultats obtenus après application directe sur les lignines sont décevants, peu reproductibles et non discutés de façon détaillés. La dépolymérisation directe des lignines est moins « maitrisable » et les problèmes rencontrés sont liés à la solubilité et aux mélanges complexes de produits d'oxydation obtenus qui rendent la séparation, les analyses et les caractérisations difficiles. L'utilisation de molécules modèles pour l'étude de l'oxydation

de la lignine n'a pas été réalisée lors de ce projet. Ainsi les publications citées traitent des systèmes catalytiques appliqués directement à la dépolymérisation des lignines ou de la biomasse en milieu alcalin. En termes d'agents oxydants, la majorité des travaux portant sur l'oxydation des lignines seules utilisent l'oxygène ; quelques rares publications traitent l'effet de l'ozone, du peroxyde d'hydrogène ou de nitrobenzène.

Oxydation par l'oxygène

L'oxydation par l'oxygène des lignines en milieu alcalin est la méthode qui a permis d'obtenir les meilleurs résultats en terme de production de molécules phénoliques (vanilline, acide vanillique, syringaldéhyde, etc.). L'oxydation nécessite des températures élevées (entre 120 et 180°C). Les travaux rapportés au Tableau 3 font état des résultats obtenus après oxydation alcaline des lignines par l'oxygène. Il est difficile de comparer ces résultats en raison des différences de conditions (température, pression, système catalytique) et des origines différentes des lignines étudiées. Néanmoins, on distingue tout de même les oxydations sans catalyseurs (Tableau 3, entrées 1, 2 et 3) des oxydations catalysées par les sels de métaux (Tableau 3, entrées 4, 5 et 6). Les lignines traitées (lignine de résineux (pin)[128] ou de feuillus (eucalyptus)[129]) sans catalyseurs donnent des rendements en composés phénoliques entre 10 et 20%. Pour la lignine kraft de résineux, le rendement en vanilline (10%) est prometteur compte tenu des conditions tout à fait abordables (133°C, 35 minutes). Le traitement de la lignine d'eucalyptus donne un rendement global en monomères phénoliques de près de 20%. L'apport d'un catalyseur ne permet pas d'améliorer les rendements en produits d'oxydation de manière significative. García-Ochoa et al.[130] ont appuyé cette affirmation en montrant que l'apport de CuSO_4 ou CoCl_2 pendant l'oxydation d'une lignine kraft de feuillus ne permettait pas d'augmenter la production de molécules aromatiques par rapport aux réactions d'oxydation effectuées sans catalyseur. L'oxydation d'unités phénoliques serait même réduite en présence de cobalt (II). Cette même équipe a proposé en 2004 un mécanisme pour la formation de la vanilline à partir de l'oxydation des lignines avec ou sans catalyseur[131] (Figure 20). Ces mécanismes impliquent l'intervention d'intermédiaires méthylène-quinone et dioxéthane. Enfin, l'oxydation alcaline des lignines conduit

également à la formation d'oligomères de lignine fonctionnalisés (masses molaires non précisées) pouvant représenter jusqu'à 95% du rendement (Tableau 3, entrée 1). La fonctionnalisation des oligomères de lignine est mise en évidence par analyse RMN ^{31}P qui montre une augmentation de la proportion des fonctions acide carboxylique après oxydation et une diminution des groupements hydroxyle aliphatiques et phénoliques. Gierer[132] a proposé un mécanisme radicalaire pouvant expliquer l'augmentation de groupements acide carboxylique pendant l'oxydation alcaline de la lignine kraft de résineux (Figure 21). Malheureusement, bien qu'ils présentent un potentiel de valorisation non négligeable, peu de travaux sont rapportés au sujet des oligomères issus de l'oxydation des lignines car les structures toujours complexes, rendent l'extraction et les caractérisations difficiles par la suite.

Tableau 3: Comparaison des différentes conditions et rendements en produits d'oxydation des lignines par l'oxygène

Entrées	Biomasse	Pression (O ₂)	Catalyseur	Solvant	Température/ Temps	Produits	Rendement (%)	Ref
1	Lignine kraft de feuillus	0,68 MPa	sans	H ₂ O/ NaOH	80-140°C/ 20-80 min	Lignine fonctionnalisé (acides carboxyliques)	75-95	[126]
2	Lignine kraft de pin	3 bars	sans	H ₂ O/ NaOH	133°C/ 35min	Vanilline	10	[128]
3	Lignine Kraft d'eucalyptus	3 bars	sans	H ₂ O/ NAOH	120°C/ 110min	Vanilline Acide vanillique Syringaldéhyde Acide syringique	20	[129]
4	Lignine précipitée de feuillus	14 bars	CuSO ₄ / FeCl ₃	H ₂ O/ NaOH	180°C/30 min	Syringaldéhyde Vanilline Acétovanillone Acéto-syringone	20-25%	[133]
5	Ligno-sulfonates	2 bars	Cu(OH) ₂	H ₂ O/ NaOH	160°C/ 40 min	Vanilline	14%	[131]
6	Lignine Kraft de feuillus	15 bars	CuSO ₄ CoCl ₂	H ₂ O/ NaOH	180°C/120 min	Syringaldéhyde Vanilline Acide syringique Acide vanillique	4%	[130]

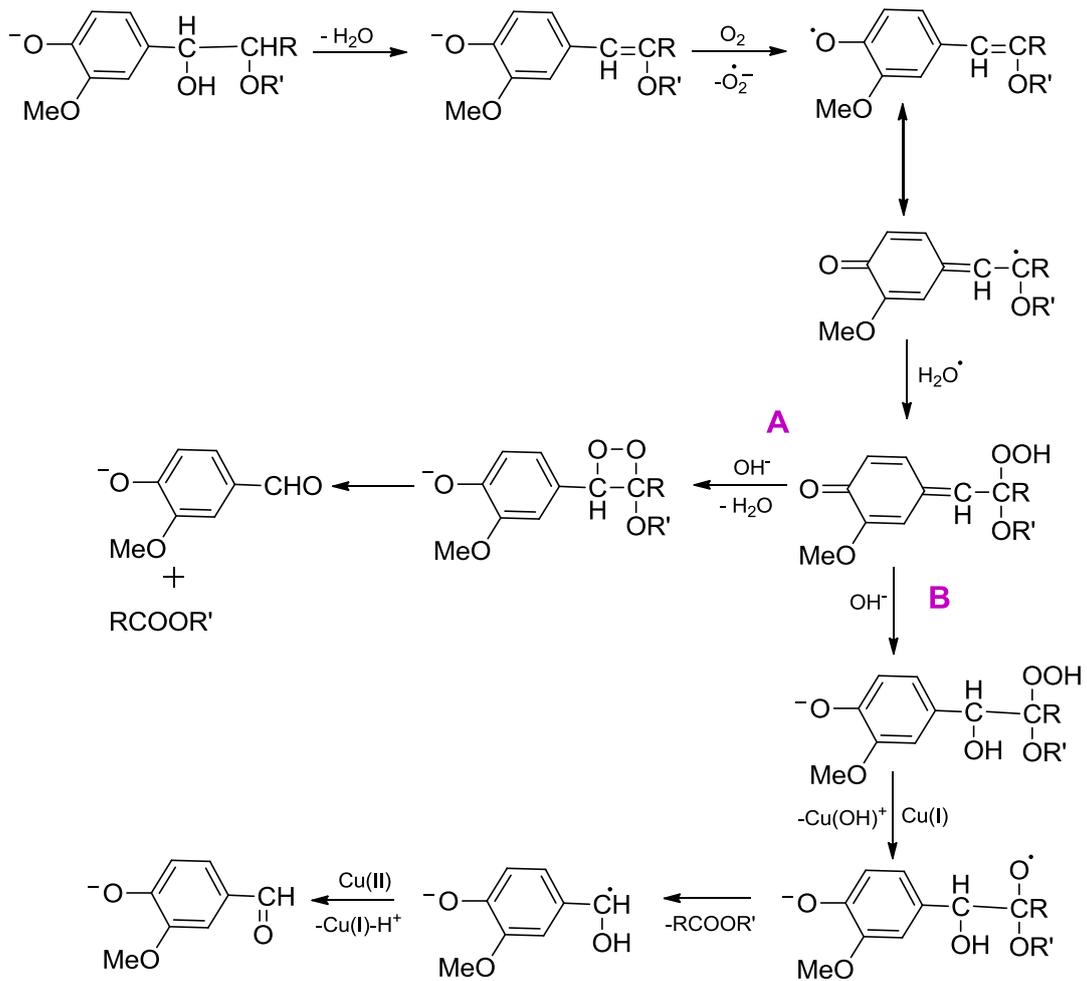


Figure 20: Mécanisme proposé par García[131] pour la formation de vanilline par oxydation à l'oxygène des lignines sans catalyseur (A), avec catalyseur (B)

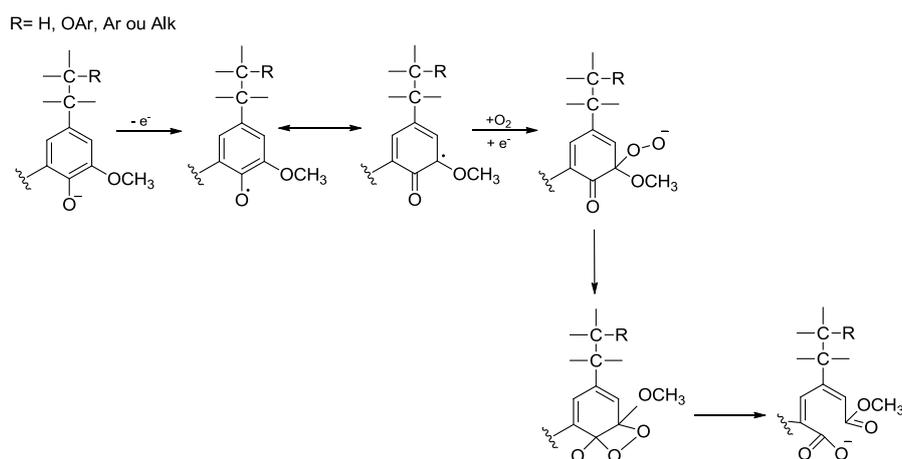


Figure 21: Mécanisme possible, pour l'ouverture de molécules phénoliques lors de l'oxydation par l'oxygène en milieu alcalin proposé par Gierer[132]

Oxydation par l'ozone

L'ozone est utilisé dans le traitement de la biomasse grâce à sa capacité à rompre les liaisons carbone-carbone (doubles ou triples). Dans le cas des lignines, sa capacité à rompre les unités phénoliques ou non phénoliques des structures modèles a été démontrée [134, 135]. Sous l'action de l'ozone, la lignine se dépolymérise facilement et rapidement en composés de faibles masses molaires[48, 136, 137]. L'oxydation par l'ozone des lignines est le plus souvent étudiée pour élucider les mécanismes d'oxydation ou effectuer des études cinétiques sur la dépolymérisation des lignines. Les échantillons de lignine ou de la biomasse sont traités sous forme de particules et la concentration en eau doit être ajustée pour optimiser la diffusion de l'ozone dans les chaînes polymères de lignine. Les composés oxydés formés sont souvent des oligomères fonctionnalisés par des fonctions acide carboxylique ou des aldéhydes (Tableau 4, entrées 1, 3, 4 et 5). Les caractérisations de ces oligomères sont généralement succinctes et les rendements non renseignés car ils ne sont pas l'objet principal de ces études. Les composés volatils formés sont analysés par spectroscopie de masse (Tableau 4, entrée 2) et confirment les hypothèses émises sur les mécanismes d'oxydation[138] comme l'ouverture du cycle aromatique. Les conditions sont douces (température ambiante) et ne nécessitent pas de

catalyseur mais l'action de l'ozone est difficile à maîtriser et les structures des composés formés sont rarement analysées.

Tableau 4: Comparaison des différentes conditions et rendements en produits d'oxydation des lignines par l'ozone

Entrée	Biomasse	Catalyseur	Solvant	Température/ Temps	Produits	Rendement (%)	Référence
1	Paille de blé	-	H ₂ O	Amb/2H	Fonctionnalisation (acides carboxyliques)	19-21	[139]
2	Lignine de bagasse de canne à sucre	-	H ₂ O	Amb/4H	Volatiles : CO O ₂ H ₂ O HCOOH CO ₂	13	[138]
3	Lignine de klason modifiée	-	Acide acétique- Eau- méthanol	0°C/ 4H	Fonctionnalisation (acides carboxyliques et esters) Destruction cycle aromatique	Non précisé	[140]
4	Lignosulfonates	H ₂ O ₂	H ₂ O	Amb/Non précisé	Fonctionnalisation (acides carboxyliques et esters)	Non précisé	[141]
5	Lignosulfonates	-	H ₂ O	Amb 5-15min	Fonctionnalisation (acides carboxyliques et aldéhydes)	Non précisé	[142]

Oxydation au peroxyde d'hydrogène

L'oxydation à l'oxygène et au peroxyde d'hydrogène sont parents car certaines espèces oxygénées formées sont communes. Par exemple, l'étape de réduction de l'oxygène (biradicalaire) permet la formation de radicaux hydroperoxy et de peroxyde d'hydrogène (Figure 22). Le peroxyde d'hydrogène est alors lui-même réduit pour former des radicaux hydroxy et de l'eau[143, 144]. Ces espèces sont très réactives et réagiront avec les différents groupements fonctionnels des lignines mais peuvent aussi réagir entre elles (Figure 23)[145] en présence ou non de catalyseur (sels de métaux simples).

Le peroxyde d'hydrogène présente un fort taux d'oxygène actif (41%). Cet agent oxydant a été étudié pour le blanchiment des pâtes à papier. En effet, son action est de détruire les groupements chromophores des lignines telles que les quinones ou les carbonyles par des réactions de Dakin[146]. Peu de recherches sont consacrées à l'utilisation du peroxyde d'hydrogène pour la valorisation des lignines car les rendements de dépolymérisation sont modestes. Il a été montré que l'utilisation du peroxyde d'hydrogène seul sur une lignine kraft de feuillus permet d'obtenir un mélange de molécules aliphatiques[147] (acide oxalique, acide formique, acide acétique, acide malonique...) sans sélectivité. L'ajout d'un catalyseur (sulfate de manganèse) permet la formation de vanilline avec un rendement très faible (1%) (Borthakur, N, 2007. Patent N° WO 2007/094013 A1) mais ce résultat est obtenu après traitement direct de la paille de blé. Enfin, lorsque la lignine est oxydée par le peroxyde d'hydrogène à température ambiante, une importante dégradation de la lignine est observée par analyse spectroscopique UV/visible (disparition des signaux caractéristiques des lignines à 207, 230 et 276 nm) et aucun phénol n'est formé[148]. Une formation de fonctions acides carboxyliques est également observée par analyse RMN ^{31}P [149].

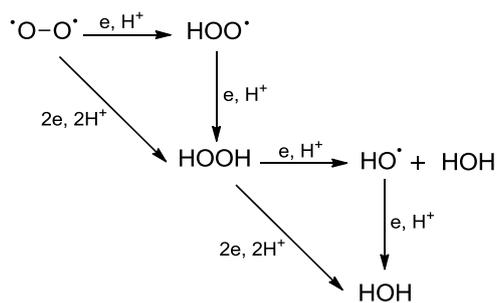


Figure 22: Etape de réduction de l'oxygène moléculaire (biradicalaire) lors de l'oxydation à l'oxygène de la lignine[126]

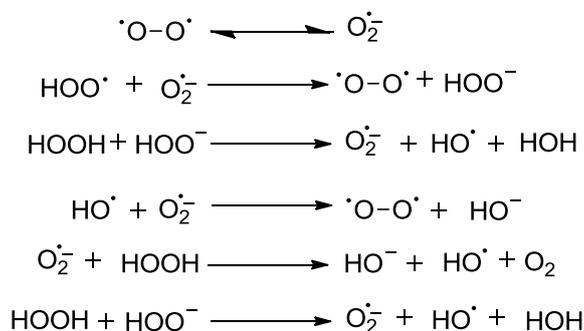


Figure 23: Réactions pouvant se produire entre les espèces formées après réduction de l'oxygène (biradicalaire) en présence ou absence de sels de métaux simples[126]

Oxydation au nitrobenzène

L'oxydation au nitrobenzène est utilisée depuis 1939 ; introduite par Freudenberg[48], elle avait pour but premier la caractérisation structurale des lignines. En effet, cette méthode d'analyse chimique permet de remonter à la structure des lignines par l'analyse des phénols formés. Le nitrobenzène est l'oxydant le plus efficace pour la formation de vanilline à partir de lignosulfonates (20%)[127]. Bank[150] et al. ont montré que l'oxydation au nitrobenzène permettait la formation de composés phénoliques en proportion deux fois plus importante qu'en utilisant l'oxyde de cuivre(II). Cependant, la quantité de nitrobenzène requise, pouvant être jusqu'à 7,5 fois plus importante que la masse de lignine[151], fût un frein à une éventuelle industrialisation. Pour cette raison, cette méthode n'est utilisée que dans un but analytique[152-154] en vue de déterminer la

proportion en unités H, S et G des lignines[155] et aucune publication récente existe à ce sujet pour la valorisation des lignines.

IV.2.2. Catalyse organométallique : Autres systèmes catalytiques efficaces pour l'oxydation des lignines

L'efficacité des nouveaux catalyseurs organométalliques pour l'oxydation de la lignine a fait récemment l'objet de revues par Crestini et al. (en 2010[156] et en 2013[157]). L'efficacité de ces systèmes a été démontrée sur des modèles de lignine de type monomère ou dimère [158, 159]. Le méthyltrioxorhenium (MTO) est un composé organométallique contenant le rhénium sous son degré d'oxydation (VII). Activé par le peroxyde d'hydrogène [160, 161], le MTO a été testé sur des lignines d'origine variée (bagasse de canne à sucre, lignine kraft de feuillus ou résineux). Les résultats ont montré une dépolymérisation des lignines et une importante fonctionnalisation : rupture des liaisons éther inter-unités suivie de leur oxydation (diminution des groupements hydroxyles aliphatiques) et oxydation du cycle aromatique (diminution des hydroxyles phénoliques et augmentation des fonctions acide carboxylique) caractérisées par RMN ^{31}P . Les complexes métallo-salens¹ et en particulier les salens de cobalt ont souvent été utilisés pour l'oxydation de molécules modèles de lignine en présence d'oxygène[159, 162]. Leur avantage est basée sur leur versatilité (variation de réactivité en fonction du ligand)[163]. Cependant les quantités nécessaires sont élevées (entre 2 et 10 mol%), ce qui explique peut-être que très peu de travaux rapportent les résultats obtenus après application directe sur les lignines. A titre d'exemple, Morazzoni et al. ont testé l'oxydation, en présence d'un Co-salen[164] et d'oxygène, de différentes molécules modèles dimères (type β -5 et β -O-4) et phénoliques. Malgré les bons résultats obtenus, cette méthode n'a pas été appliquée à l'oxydation de la lignine. Enfin, les polyoxométalates (POMs) sont décrits comme des composés pouvant être développés dans une optique d'oxydation respectueuse de l'environnement pour la valorisation des lignines [165-167]. Les POMs de type « keggings » qui ont pour formule générale $[\text{PM}^1_x\text{M}^2_{12-x}\text{O}_{40}]$ (ou M^1 et M^2 sont les métaux responsables de l'activité catalytique) sont reconnus

¹ Salen : N,N'-bis(salicylidène)éthylènediamine

comme les plus adaptés[168] .En présence d'oxygène, le POMs type HPA-5, de formule $[PMo_7V_5O_{40}]$ s'est montré efficace pour dépolymériser les lignines (feuillus et résineux) ou des modèles dimères et monomères de lignine [169-172]. Il a été vu que l'oxydation était plus efficace sur les unités guaiacyle que sur les unités syringyle. La délignification induit la rupture des liaisons $C_\alpha-C_\beta$ et C_1-C_α , la déméthylation et la formation d'intermédiaires « quinone ». L'oxydation du cycle aromatique a également été proposée [171].

IV.2.3. Oxydation des lignines par catalyse enzymatique

Dans la nature, les lignines sont dégradées par certains champignons de la moisissure blanche en employant une combinaison d'enzymes[173]. Parmi les plus actives, on retrouve les laccases et les peroxidases, intéressantes de par leur faible spécificité aux substrats et leur activité sur une large gamme de pH. Il a été montré que les liaisons éther (β -O-4) de modèles de lignines sont hydrolysées de façon efficace par dégradation enzymatique[174]. Les laccases sont des oxydases, ayant pour co-facteur le cuivre, capables de produire des radicaux phénoliques libres à partir de substrats divers[175]. Il n'a pas été encore prouvé que les laccases étaient capables d'oxyder directement les structures non-phénoliques. Cependant l'ajout de médiateur de faible masse molaire (le Rémozole bleu[176], le 2,2'-azino bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS))[176] ou le 1-hydroxybenotriazole (HBT)[177]) a permis d'augmenter le spectre d'action des laccases en attaquant dans certaines conditions ces structures non-phénoliques. La Figure 24 propose un schéma simplifié de l'action des laccases (aussi valable pour les systèmes laccase-médiateur) sur le clivage des liaisons aryle-alkyle ou carbone-carbone sur un modèle dimère type β 1 de lignine. La première étape est la réduction de la laccase qui permet la formation d'un radical de lignine stabilisé par résonance. La plus grande limitation de ces procédés est liée aux conditions réactionnelles strictes associées à l'action de ces enzymes et aux temps de réaction importants[178].

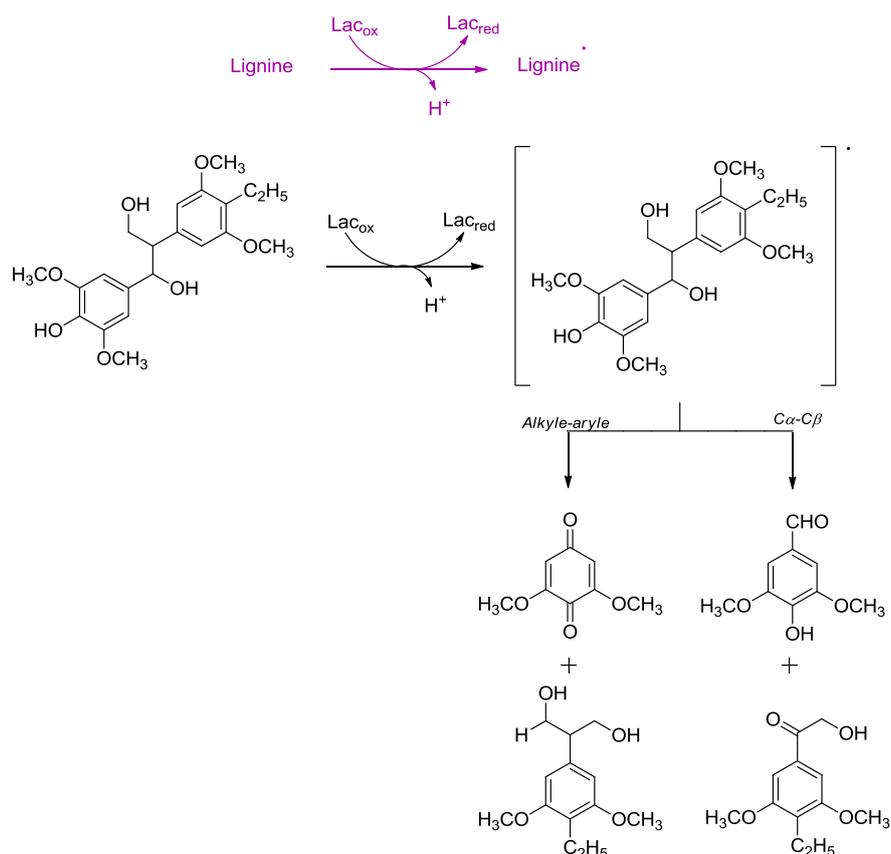


Figure 24: Représentation schématique de l'action de la laccase sur la rupture des liaisons alkyle-aryle et carbone-carbone de la lignine et de molécule modèle selon Munk[179]

IV.3. Utilisation des lignines sans dépolymérisation préalable

IV.3.1. Utilisation directe des lignines (sans modification chimique)

Adsorbant de métaux lourds

Les lignines possèdent des propriétés chélatantes de différents métaux multivalents comme le chrome (trivalent Cr(III) ou hexavalent Cr(VI)[180, 181]), le cuivre, le cadmium[182, 183], le plomb, le zinc, le nickel[183], le cobalt ou le mercure[184] et peuvent être utilisées pour la purification des eaux [183, 185-190]. Les propriétés chélatantes des lignines dépendent de leurs structures, plus précisément du nombre de sites acide (fonctions phénol et acide carboxylique) qu'elles possèdent, du pH (optimum entre 5 et 6) et du degré d'oxydation du métal chélaté[191]. Peu de travaux ont étudié

l'effet chélatant des lignines dans des solutions contenant plusieurs métaux différents. Mohan[182] et al. ont montré que les résultats obtenus pour le traitement de solutions à multiples composés (Cu(II) et Cd(II)) étaient tout à fait comparables à ceux obtenus pour les solutions simples correspondantes. Enfin, une étude[192] a montré que la lignine pouvait purifier les eaux usées du Cr(III), en éliminant près de 90% de celui-ci.

Précurseur de fibre de carbone

La proportion élevée en carbone des lignines (entre 55 et 65%)[56] justifie son utilisation comme précurseurs de matériaux poreux activés à base de carbone [193-195] en tant que substituants de noir de carbone[196] et surtout en tant que précurseurs pour la production de fibres de carbone. L'intérêt pour le développement de fibres de carbone à partir de lignine a débuté dans les années 1990 ; Sudo et al.[197, 198] ont préparé des fibres de carbone à partir d'une lignine extraite à l'explosion de vapeur. Cette méthode, dite « melt spinning » a été appliquée à une lignine organosolv [199, 200]. Des nanofibres de carbone peuvent être synthétisées de manière efficace par électrospinning[201, 202]. Enfin, l'apport de lignine permet d'améliorer les propriétés mécaniques des matériaux[203]. Cependant les valeurs de module de Young (30 à 60 GPa) et de résistance à la traction (300 à 600 MPa) obtenues[204-207] restent faibles, en comparaison à celles des fibres de carbones commerciales préparées à partir de polyacrylonitrile (entre 200 et 400 GPa et environ 1500 MPa respectivement). Malgré cela, la diminution des coûts de production qu'apporterait l'utilisation de lignines dans la synthèse de fibres de carbone est un argument plus qu'encourageant pour un développement futur.

Incorporation dans les matrices polymères

L'incorporation de lignine dans les matériaux polymères en tant que renfort ou additif est une autre voie de valorisation de la lignine[208-210]. Les propriétés anti-oxydantes apportées par les groupements phénol des lignines lui permettent d'agir comme stabilisant contre la dégradation photochimique (UV) ou la thermo-oxydation dans les matrices polymères tels que le polyéthylène, le polypropylène ou le polystyrène[211-214].

D'autres études se focalisent sur l'incorporation de lignine dans des bio-polymères (amidon de maïs, protéine de soja, de poisson, gluten...) pour former des matériaux 100% renouvelables. Il semblerait que les lignines kraft améliorent la rigidité et diminuent la sensibilité à l'eau des matériaux finaux tandis que les lignosulfonates agissent comme plastifiants[215-218]. La proportion en lignine varie entre 20 et 30% en masse dans tous les cas étudiés, cette proportion pouvant être augmentée lorsque les lignines sont préalablement modifiées pour améliorer leur réactivité.

IV.3.2. Utilisation des lignines en tant que « macromonomère » dans les matériaux polymères

Les lignines peuvent être utilisées comme précurseurs de matrices polymères thermoplastiques ou thermodurcissables. La présence de nombreux groupements fonctionnels (phénol, hydroxyle aliphatique, acide carboxylique) offre un large choix de possibilités. Parmi elles : le remplacement du phénol par la lignine dans les résines phénol-formaldéhyde ou l'élaboration de polyesters ou polyuréthanes à base de lignine. L'incorporation de lignine dans les matrices polymères des thermoplastiques industriels permet de réduire les coûts de production[208, 219].

Résines thermodurcissables

La lignine, source la plus abondante de phénols issus de ressource renouvelable[209, 220, 221], a été sujette à de nombreuses études dans le but de remplacer le phénol dans les résines phénol-formaldéhyde utilisées comme adhésifs. Pour augmenter leur réactivité face au formaldéhyde, les lignines doivent être modifiées[222]. Plusieurs stratégies sont employées[223]: la déméthylation de la lignine en présence de dérivés soufrés ou l'introduction d'un groupement méthylol (-CH₂OH) en position C₅. Des résines contenant jusqu'à 50% de lignine ont ainsi été synthétisées. La lignine peut aussi être partiellement dérivatisée par le formaldéhyde et le phénol[224, 225].

Polyuréthanes

Les polyuréthanes (PU) sont des polymères retrouvés dans de nombreuses applications, la plus courante est la formation de mousses isolantes. Ils sont issus de la polyaddition entre un monomère possédant une ou plusieurs fonctions isocyanate et un autre monomère contenant une ou plusieurs fonctions alcool. Selon la fonctionnalité des monomères utilisés, une grande variété de PUs, aux propriétés différentes (élastomères, thermoplastiques, thermodurcissables), peuvent être produits. Les lignines peuvent être utilisées comme sources de fonctions hydroxyle pouvant réagir avec des diisocyanates pour former des PU. Cependant, la réactivité des fonctions hydroxyle de la lignine est inférieure à celle des polyols couramment utilisés[226, 227]. Pour augmenter cette réactivité, les lignines, sont souvent oxypropylées[228]. De plus, la polyfonctionnalité des lignines favorise la formation de réseaux tridimensionnels. Pour limiter le degré de réticulation, un polyol (polyéthylène glycol[229, 230], polybutadiène glycol[231] ou polycaprolactone[227]) peut être utilisé comme co-monomère. L'utilisation d'un polydiisocyanate (oxyde d'éthylène diisocyanate[226] ou le polybutylène diisocyanate[232]) est également possible. L'incorporation de ces chaînes polymères moins « rigides » assure la diminution des Tg des PUs formés[230, 231]. Ainsi, des thermoplastiques[233], des mousses isolantes[234] et des élastomères[235] à partir de lignine ont pu être synthétisés. Récemment, Avérous[236] a étudié la formation d'un « macropolyol » à base de lignine organosolv et d'acide oléique pour la formation de PU. Dans un premier temps, les fonctions hydroxyle de la lignine sont estérifiées avec l'acide oléique préalablement chloré. Les polyols sont ensuite formés par une réaction préalable d'époxydation des insaturations de l'acide oléique, suivie de l'ouverture des fonctions époxyde. Enfin, la formation de PUs est étudiée par polycondensation entre ces « macropolyols » issus de la lignine avec des polydiisocyanates de masse molaire variées.

Polyesters

Les polyesters sont des polymères issus de la polycondensation entre un monomère possédant une ou plusieurs fonctions hydroxyle et un monomère contenant une ou plusieurs fonctions acide carboxylique, chlorure d'acyle, ester méthylique ou anhydride

d'acide. Les lignines contiennent de nombreuses fonctions hydroxyle qui peuvent réagir avec ces diacides ou dichlorures d'acyle pour former des polyesters[237, 238]. La réactivité des fonctions hydroxyle phénoliques peut être optimisée par l'ajout de triéthylamine dans le milieu réactionnel tandis que l'utilisation de pyridine augmente la réactivité des fonctions hydroxyle aliphatiques. Ici encore la fonctionnalité importante de la lignine conduit à la formation de réseaux tridimensionnels, l'utilisation de polyéthylène glycol (PEG) comme co-monomère permet de limiter le degré de réticulation et d'obtenir des polyesters de Tg entre -45 et -60°C en fonction de la longueur de chaîne du PEG utilisé[238, 239]. Les travaux rapportant la synthèse de polyesters à partir de lignine sont nombreux, cependant peu d'informations sur les caractérisations des structures (thermoplastiques ou réseaux tridimensionnels) ou propriétés mécaniques sont données[240]. La formation de polyesters à partir de lignines semble encore être un défi à relever.

IV.4. Commercialisation de polymères issus de lignine

Tecnaro (Allemagne) a développé et commercialisé un polymère thermoplastique composé de lignine nommé Arboform®[241] depuis novembre 2000. Ce matériau est composé de lignine associée à des résines naturelles : des fibres de lin, de chanvre et autres additifs naturels (comme de la cire végétale). Les propriétés obtenues sont comparables voire supérieures à celles des plastiques issus de la pétrochimie. Arboform® se présente sous la forme de granulés. Ceux-ci sont transformés en une pâte liquide qui est injectée dans des moules pour obtenir la forme voulue. Ainsi, ses applications sont multiples : casques, jouets, ameublement, équipement automobile... Ce thermoplastique 100% issu de ressources bio-renouvelables finit par se décomposer en eau, humus et CO₂, ce qui est hautement plus propre que les fumées toxiques dégagées par l'incinération de certains polymères issus du pétrole (dégagement de monoxyde de carbone, acide chlorhydrique gazeux, oxydes d'azote ou de soufre, formaldéhyde,...). L'une des barrières qui pourrait limiter le développement de ce type de nouveau matériau est son prix : entre 2 et 5 euros par kilo (contre 1-5 euros pour un plastique classique) mais compte-tenu des avantages apportés, ce prix reste raisonnable. Les différences de

propriétés (optiques, mécaniques,...) peuvent également être un facteur limitant au développement de ce type de matériau. Dans tous les cas, la demande, en constante augmentation, en polymères issus de bio-ressources et les résultats prometteurs apportés par ces nouveaux thermoplastiques encouragent à poursuivre les recherches pour la valorisation de la lignine dans le développement de nouveaux matériaux polymères.

V. Conclusion

Les lignines sont des biopolymères largement disponibles par l'industrie papetière mais complexes. La variabilité de leurs structures est considérée aujourd'hui comme une trop grande source d'incertitude pour un développement industriel. Cependant ces biopolymères représentent une source non négligeable de composés aromatiques, phénoliques, aliphatiques et oligomères fonctionnalisés bio-sourcés. L'hétérogénéité des structures apporte la possibilité à un large choix d'applications potentielles pour les lignines, utilisées telles quelles en tant que chélatants pour purifier les eaux usées, en tant que précurseurs pour la formation de fibres de carbone ou comme renforts dans les matrices polymères pour apporter la rigidité. Après leurs modifications chimiques en vue d'augmenter la réactivité, des polymères (polyuréthanes, polyesters) peuvent également être formés. L'industrialisation naissante de thermoplastiques issus de lignine a montré que les propriétés obtenues étaient comparables à celles des plastiques classiques. Ces thermoplastiques, certes plus coûteux, répondent aux besoins actuels en préservant les ressources fossiles. De plus ils sont non toxiques et biodégradables.

Avant de considérer les applications potentielles des lignines, les premiers défis constituent l'extraction, la purification et la caractérisation des lignines issues des liqueurs de cuisson de l'industrie papetière (principale source de lignine à l'heure actuelle). Ces axes de recherche sont les principaux objectifs de cette étude.

Les techniques d'extraction, de purification et de caractérisation des lignines sont souvent limitées à cause des problèmes rencontrés principalement par l'hétérogénéité des lignines et la présence d'unités condensées dans les structures (solubilité, viscosité,

...). Cependant, les méthodes actuelles d'extraction des lignines à partir des liqueurs, comme la précipitation en milieu acide, sont tout à fait abordables. Les normes Tappi existantes permettent de déterminer la composition chimique des lignines (pureté en lignine, taux de minéraux et taux de sucres). De plus, il a été vu que grâce aux évolutions des techniques spectroscopiques non destructives (par exemple la RMN 2D), les lignines pouvaient être caractérisées efficacement au niveau macromoléculaire et moléculaire. Ainsi il est possible d'établir les unités et types de liaisons majoritaires ou la nature des groupements fonctionnels constituant les lignines. La nature des groupements hydroxyle des lignines peut être quantifiée par RMN ^{31}P , les masses molaires relatives sont déterminées par SEC et enfin les propriétés thermiques peuvent être établies par DSC et TGA. Ces aspects seront abordés dans les chapitres 2 et 3.

Le dernier axe de recherche de cette étude est la valorisation de la lignine par voie oxydante. La dépolymérisation des lignines a été étudiée depuis près de 80 ans. Les méthodes de pyrolyse/gazéification entraînent principalement la formation de composés aliphatiques, tandis que les systèmes de réduction et d'oxydation catalytiques permettent l'obtention de composés aromatiques. Ce travail a été focalisé sur les études précédemment décrites d'oxydations catalytiques de la lignine et de molécules modèles. Par la présence de nombreux groupements hydroxyle dans les structures des lignines, les réactions d'oxydation induisent la rupture des liaisons éther ou autres liaisons condensées, la destruction des cycles aromatiques et l'incorporation de groupements fonctionnels tels que les quinones, les aldéhydes et les acides carboxyliques au sein des structures des lignines. Les études portant sur la dépolymérisation oxydante des lignines sont surtout axées sur l'amélioration du rendement en molécules phénoliques (principalement la vanilline). La majorité des catalyseurs organométalliques (MTO, métallo-salens, POMs) et enzymatiques (laccases, peroxidases) n'a été testée que sur la dépolymérisation de molécules modèles de lignine. Il est possible que le manque d'évaluation de ces systèmes sur la lignine puisse être expliqué par de faibles activités de dépolymérisation. Il a été vu dans la bibliographie que les meilleurs résultats obtenus avec la lignine impliquent des systèmes de sels métalliques et d'oxygène sous pression (entre 3

et 15 bars) et hautes températures (entre 120 et 180 °C). Dans ces conditions, les rendements en monomères sont compris entre 4 et 25%. Ces réactions induisent également la formation d'oligomères fonctionnalisés, rarement analysés dans la littérature mais valorisables. C'est pourquoi, l'analyse des oligomères formés par oxydation de la lignine a été un des objectifs de ce travail de thèse (chapitre 4). En effet, un défi repose aujourd'hui sur la valorisation de ces oligomères fonctionnalisés pour le développement de matériaux fonctionnels issus de lignine.

VI. Références bibliographiques

1. Rowell, R.D., ed. *Handbook of wood chemistry and wood composites*. 2005, CRC Press.
2. Keller, R., ed. *Le bois, matériau d'ingénierie*. Chapitre I. 1984, Association pour la Recherche sur le Bois en Lorraine (ARBOLOR): Nancy.
3. Sjöstrom, E., *Wood Chemistry: Fundamentals and application, 2nd edition*, ed. A. Press. 1993, USA.
4. Fengel, D. and G. Wegener, *Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions*, ed. D. Kessel. 1989, Berlin.
5. Raven, P., R. Evert, and S. Eichhorn, eds. *Biology of Plants* 6th ed. ed. 1999, W.H. Freeman: New York.
6. Sun, R., *Cereal straw as a resource for sustainable biomaterials and biofuels: chemistry, extractives, lignins, hemicelluloses and cellulose*. 2010: Elsevier.
7. P. Vallette, C.d.C., *Le bois, la pâte, le papier*. 1989.
8. Ritter, S.K., *Lignocellulose: A Complex Biomaterial*. Chemical & Engineering News Archive, 2008. **86**(49): p. 10-17.
9. Pettersen, R.C., *The Chemical Composition of Wood*, in *The Chemistry of Solid Wood*. 1984, American Chemical Society. p. 57-126.
10. Koch, G., *Handbook of pulp*. Vol. 1. 2006.
11. Jourez, B., *Le bois de tension. 1. Définition et distribution dans l'arbre*. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 1997. **1**(2): p. 100-112.
12. Pu, Y., M. Kosa, U.C. Kalluri, G.A. Tuskan, and A.J. Ragauskas, *Challenges of the utilization of wood polymers: how can they be overcome?* Applied Microbiology and Biotechnology, 2011. **91**(6): p. 1525-1536.
13. Rowell, R.M., ed. *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites*. 2005, CRC Press.
14. Rydholm, S.A., ed. *Pulping Processes*. 1965, John Wiley&Sons, Inc.: New York. 1269.
15. Menachen Lewin, I.S.G., *Wood structure and composition*. 1991.
16. C. P. Vance, T.K.S., R. T. Sherwood,, *Lignification as a Mechanism of Disease Resistance*. Annual Review of Phytopathology, 1980. **18**: p. 259-288.
17. Vanholme, R., B. Demedts, K. Morreel, J. Ralph, and W. Boerjan, *Lignin Biosynthesis and Structure*. Plant Physiology, 2010. **153**(3): p. 895-905.
18. Brunow, G., I. Kilpeläinen, J. Sipilä, K. Syrjänen, P. Karhunen, H. Setälä, and P. Rummakko, *Oxidative Coupling of Phenols and the Biosynthesis of Lignin*, in *Lignin and Lignan Biosynthesis*. 1998, American Chemical Society. p. 131-147.

19. Saka, S. and D.A.I. Goring, *CHAPTER 3 - Localization of Lignins in Wood Cell Walls*, in *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*, H. Takayoshi, Editor. 1985, Academic Press. p. 51-62.
20. Heitner, C., D. Dimmel, and J. Schmidt, eds. *Lignin and Lignans: Advances in Chemistry*. 2010, CRC Press, Taylor & Francis Group: USA.
21. da Costa Sousa, L., S.P.S. Chundawat, V. Balan, and B.E. Dale, 'Cradle-to-grave' assessment of existing lignocellulose pretreatment technologies. *Current Opinion in Biotechnology*, 2009. **20**(3): p. 339-347.
22. Gierer, J., *Chemical aspects of kraft pulping*. *Wood Science and Technology*, 1980. **14**(4): p. 241-266.
23. Phillips, M., *Benjamin Chew Tilghman, and the origin of the sulfite process for delignification of wood*. *Journal of Chemical Education*, 1943. **20**(9): p. 444.
24. D.W. Clayton, D.B. Easty, D.W. Einspahr, and W. Lonsky, eds. *Pulp and paper manufacture. Alkaline pulping*, ed. Vol.5. 1985.
25. Tejado, A., C. Peña, J. Labidi, J.M. Echeverria, and I. Mondragon, *Physico-chemical characterization of lignins from different sources for use in phenol-formaldehyde resin synthesis*. *Bioresource Technology*, 2007. **98**(8): p. 1655-1663.
26. Vishtal, A. and A. Kraslawski, *Challenges in industrial applications of technical lignins*. *Bioresources*, 2011. **6**(3): p. 3547-3568.
27. Berlin, A. and M. Balakshin, *Chapter 18 - Industrial Lignins: Analysis, Properties, and Applications*, in *Bioenergy Research: Advances and Applications*, V.K. Gupta, M.G.T.P. Kubicek, and J.S. Xu, Editors. 2014, Elsevier: Amsterdam. p. 315-336.
28. Kleppe, P.J., *Kraft pulping*. *Tappi*, 1970. **53**(1): p. 35-47.
29. Holladay, J.E., J.F. White, J.J. Bozell, and D. Johnson, *Top Value-Added Chemicals from Biomass - Volume II—Results of Screening for Potential Candidates from Biorefinery Lignin*. 2007. p. Medium: ED; Size: PDFN.
30. Merewether, J.W.T., *Tappi*. 1962. **45**: p. 159.
31. Araújo, J.D.P., C.A. Grande, and A.E. Rodrigues, *Vanillin production from lignin oxidation in a batch reactor*. *Chemical Engineering Research and Design*, 2010. **88**(8): p. 1024-1032.
32. Silva, E.A.B.d., M. Zabkova, J.D. Araújo, C.A. Cateto, M.F. Barreiro, M.N. Belgacem, and A.E. Rodrigues, *An integrated process to produce vanillin and lignin-based polyurethanes from Kraft lignin*. *Chemical Engineering Research and Design*, 2009. **87**(9): p. 1276-1292.
33. Tomani, P., N. Berglin, and P. Axegård. *The lignoboost process & use of lignin as a new bio-fuel*. 2009.
34. Kadla, J.F. and Q. Dai, *Pulp*, in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. 2000, John Wiley & Sons, Inc.

35. Zoumpoulakis, L. and J. Simitzis, *Ion exchange resins from phenol/formaldehyde resin-modified lignin*. Polymer International, 2001. **50**(3): p. 277-283.
36. Muurinen, E., *Organosolv pulping. A review and distillation study related to peroxyacid pulping*, T.U.o. Oulu, Editor. 2000, Acta Universitatis Ouluensis Technica.
37. Stockburger, P., *An overview of near-commercial and commercial solvent-based pulping processes*. Tappi Journal, 1993. **76**(6): p. 71-74.
38. Zimmermann, M., R. Patt, O. Kordsachia, and W.D. Hunter, *ASAM pulping of Douglas-fir followed by a chlorine-free bleaching sequence*. Tappi Journal, 1991. **74**(11): p. 129-134.
39. Young, R.A., *Comparison of the properties of chemical cellulose pulps*. Cellulose, 1994. **1**(2): p. 107-130.
40. Avellar, B.K. and W.G. Glasser, *Steam-assisted biomass fractionation. I. Process considerations and economic evaluation*. Biomass and Bioenergy, 1998. **14**(3): p. 205-218.
41. Ramos, L.P., *The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials*. Química Nova, 2003. **26**: p. 863-871.
42. Bjorkman, A., *Lignin and Lignin-Carbohydrate Complexes*. Industrial & Engineering Chemistry, 1957. **49**(9): p. 1395-1398.
43. Jaaskelainen, A.S., Y. Sun, D.S. Argyropoulos, T. Tamminen, and B. Hortling, *The effect of isolation method on the chemical structure of residual lignin*. Wood Science and Technology, 2003. **37**(2): p. 91-102.
44. Argyropoulos, D.S., Y. Sun, and E. Palus, *Isolation of residual kraft lignin in high yield and purity*. Journal of Pulp and Paper Science, 2002. **28**(2): p. 50-54.
45. Kim, J.-Y., E.-J. Shin, I.-Y. Eom, K. Won, Y.H. Kim, D. Choi, I.-G. Choi, and J.W. Choi, *Structural features of lignin macromolecules extracted with ionic liquid from poplar wood*. Bioresource Technology, 2011. **102**(19): p. 9020-9025.
46. Pu, Y., N. Jiang, and A.J. Ragauskas, *Ionic liquid as a green solvent for lignin*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 2007. **27**(1): p. 23-33.
47. Lee, S.H., T.V. Doherty, R.J. Linhardt, and J.S. Dordick, *Ionic Liquid-Mediated Selective Extraction of Lignin From Wood Leading to Enhanced Enzymatic Cellulose Hydrolysis*. Biotechnology and Bioengineering, 2009. **102**(5): p. 1368-1376.
48. Dence, S.W., ed. *Methods in Lignin Chemistry*. 1992. 458-464.
49. Adler, E., *Lignin chemistry—past, present and future*. Wood Science and Technology, 1977. **11**(3): p. 169-218.
50. Sakakibara, A., *A structural model of softwood lignin*. Wood Science and Technology, 1980. **14**(2): p. 89-100.
51. Nimz, H.H., Tappi J, 1973. **56**: p. 124.

52. Ralph, J., G. Brunow, and W. Boerjan, *Lignins*, in eLS. 2001, John Wiley & Sons, Ltd.
53. Zakis, G.F., ed. *Functional Analysis of Lignins and Their Derivatives*. 1994, TAPPI PRESS: Atlanta GA.
54. Liitiä, T. and T. Tamminen, *Direct method for the determination of phenolic hydroxyl groups in pulp*, in *Holzforschung*. 2007. p. 623.
55. Gartner, A., G. Gellerstedt, and T. Tamminen, *Determination of phenolic hydroxyl groups in residual lignin using a modified UV-method*. *Nordic Pulp & Paper Research Journal*, 1999. **14**(2): p. 163-170.
56. El Mansouri, N.-E.E. and J. Salvadó, *Structural characterization of technical lignins for the production of adhesives: Application to liginosulfonate, kraft, soda-anthraquinone, organosolv and ethanol process lignins*. *Industrial Crops and Products*, 2006. **24**(1): p. 8-16.
57. Faix, O., C. Grünwald, and O. Beinhoff, *Determination of Phenolic Hydroxyl Group Content of Milled Wood Lignins (MWL's) from Different Botanical Origins Using Selective Aminolysis, FTIR, 1H-NMR, and UV Spectroscopy*, in *Holzforschung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*. 1992. p. 425.
58. Mancera, C., F. Ferrando, J. Salvadó, and N.E. El Mansouri, *Kraft lignin behavior during reaction in an alkaline medium*. *Biomass and Bioenergy*, 2011. **35**(5): p. 2072-2079.
59. Lin, S.Y. and C.W. Dence, eds. *Methods in Lignin Chemistry*. 1992. 83-106.
60. El Mansouri, N.-E. and J. Salvadó, *Analytical methods for determining functional groups in various technical lignins*. *Industrial Crops and Products*, 2007. **26**(2): p. 116-124.
61. Faix, O., *Classification of Lignins from Different Botanical Origins by FT-IR Spectroscopy*, in *Holzforschung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*. 1991. p. 21.
62. Pandey, K.K., *A study of chemical structure of soft and hardwood and wood polymers by FTIR spectroscopy*. *Journal of Applied Polymer Science*, 1999. **71**(12): p. 1969-1975.
63. Boeriu, C.G., D. Bravo, R.J.A. Gosselink, and J.E.G. van Dam, *Characterisation of structure-dependent functional properties of lignin with infrared spectroscopy*. *Industrial Crops and Products*, 2004. **20**(2): p. 205-218.
64. Cui, C., R. Sun, and D.S. Argyropoulos, *Fractional Precipitation of Softwood Kraft Lignin: Isolation of Narrow Fractions Common to a Variety of Lignins*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2014.
65. Pan, D.-r., D.-s. Tai, C.-L. Chen, and D. Robert, *Comparative studies on chemical composition of wood components in recent and ancient woods of Bischofia*

- polycarpa*. *Holzforschung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, 1990. **44**(1): p. 7-16.
66. Wang, K., F. Xu, and R. Sun, *Molecular Characteristics of Kraft-AQ Pulping Lignin Fractionated by Sequential Organic Solvent Extraction*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010. **11**(8): p. 2988-3001.
67. Santos, R.B., E.A. Capanema, M.Y. Balakshin, H.-m. Chang, and H. Jameel, *Lignin Structural Variation in Hardwood Species*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012. **60**(19): p. 4923-4930.
68. Kringstad, K.P. and R. Mörck, *¹³C-NMR spectra of kraft lignins*. *Holzforschung-International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, 1983. **37**(5): p. 237-244.
69. Morck, R., H. Yoshida, K. Kringstad, and H. Hatakeyama, *Fractionation of Kraft Lignin by Successive Extraction with Organic-Solvents. 1. Functional-Groups, C-13-Nmr-Spectra and Molecular-Weight Distributions*. *Holzforschung*, 1986. **40**: p. 51-60.
70. Sun, R., J. Tomkinson, and G.L. Jones, *Fractional characterization of ash-AQ lignin by successive extraction with organic solvents from oil palm EFB fibre*. *Polymer Degradation and Stability*, 2000. **68**(1): p. 111-119.
71. Xia, Z., L.G. Akim, and D.S. Argyropoulos, *Quantitative ¹³C NMR Analysis of Lignins with Internal Standards*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001. **49**(8): p. 3573-3578.
72. Capanema, E.A., M.Y. Balakshin, and J.F. Kadla, *A comprehensive approach for quantitative lignin characterization by NMR spectroscopy*. Vol. 52. 2004, Washington, DC, ETATS-UNIS: American Chemical Society. 11.
73. Gellerstedt, G., J. Pranda, and E.L. Lindfors, *Structural and Molecular Properties of Residual Birch Kraft Lignins*. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 1994. **14**(4): p. 467-482.
74. Robert, D. and C.-L. Chen, *Biodegradation of Lignin in Spruce Wood by Phanerochaete chrysosporium: Quantitative Analysis of Biodegraded Spruce Lignins by ¹³C NMR Spectroscopy*, in *Holzforschung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*. 1989. p. 323.
75. Capanema, E.A., M.Y. Balakshin, and J.F. Kadla, *A Comprehensive Approach for Quantitative Lignin Characterization by NMR Spectroscopy*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004. **52**(7): p. 1850-1860.
76. Yuan, T.-Q., J. He, F. Xu, and R.-C. Sun, *Fractionation and physico-chemical analysis of degraded lignins from the black liquor of Eucalyptus pellita KP-AQ pulping*. *Polymer Degradation and Stability*, 2009. **94**(7): p. 1142-1150.
77. Pu, Y.Q., S.L. Cao, and A.J. Ragauskas, *Application of quantitative P-31 NMR in biomass lignin and biofuel precursors characterization*. *Energy & Environmental Science*, 2011. **4**(9): p. 3154-3166.

78. Argyropoulos, D.S., *Quantitative Phosphorus-31 NMR Analysis of Lignins, a New Tool for the Lignin Chemist*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 1994. **14**(1): p. 45-63.
79. Sadeghifar, H., C. Cui, and D.S. Argyropoulos, *Toward Thermoplastic Lignin Polymers. Part 1. Selective Masking of Phenolic Hydroxyl Groups in Kraft Lignins via Methylation and Oxypropylation Chemistries*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2012. **51**(51): p. 16713-16720.
80. Faix, O., S. Argyropoulos Dimitris, D. Robert, and V. Neirinck, *Determination of Hydroxyl Groups in Lignins Evaluation of ¹H-, ¹³C-, ³¹P-NMR, FTIR and Wet Chemical Methods*, in *Holzforschung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*. 1994. p. 387.
81. Saiz-Jimenez, C., J.J. Boon, J.I. Hedges, J.K.C. Hessels, and J.W. De Leeuw, *Chemical characterization of recent and buried woods by analytical pyrolysis: Comparison of pyrolysis data with ¹³C NMR and wet chemical data*. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 1987. **11**(0): p. 437-450.
82. del Río, J.C., A. Gutiérrez, M. Hernando, P. Landín, J. Romero, and Á.T. Martínez, *Determining the influence of eucalypt lignin composition in paper pulp yield using Py-GC/MS*. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2005. **74**(1-2): p. 110-115.
83. del Río, J.C., A. Gutiérrez, and Á.T. Martínez, *Identifying acetylated lignin units in non-wood fibers using pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2004. **18**(11): p. 1181-1185.
84. Gutiérrez, A., I.M. Rodríguez, and J.C. del Río, *Chemical Characterization of Lignin and Lipid Fractions in Kenaf Bast Fibers Used for Manufacturing High-Quality Papers*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004. **52**(15): p. 4764-4773.
85. Camarero, S., P. Bocchini, G.C. Galletti, and A.T. Martínez, *Pyrolysis-gas chromatography/Mass spectrometry analysis of phenolic and etherified units in natural and industrial lignins*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 1999. **13**(7): p. 630-636.
86. del Río, J.C., A. Gutiérrez, I.M. Rodríguez, D. Ibarra, and Á.T. Martínez, *Composition of non-woody plant lignins and cinnamic acids by Py-GC/MS, Py/TMAH and FT-IR*. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2007. **79**(1-2): p. 39-46.
87. Glasser Wolfgang, G., *Classification of Lignin According to Chemical and Molecular Structure*, in *Lignin: Historical, Biological, and Materials Perspectives*. 1999, American Chemical Society. p. 216-238.
88. Liu, Q., S. Wang, Y. Zheng, Z. Luo, and K. Cen, *Mechanism study of wood lignin pyrolysis by using TG-FTIR analysis*. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2008. **82**(1): p. 170-177.
89. Fenner, R.A. and J.O. Lephardt, *Examination of the thermal decomposition of kraft pine lignin by Fourier transform infrared evolved gas analysis*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1981. **29**(4): p. 846-849.

90. Gardner, D.J., T.P. Schultz, and G.D. McGinnis, *The Pyrolytic Behavior of Selected Lignin Preparations*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 1985. **5**(1): p. 85-110.
91. Cao, J., G. Xiao, X. Xu, D. Shen, and B. Jin, *Study on carbonization of lignin by TG-FTIR and high-temperature carbonization reactor*. Fuel Processing Technology, 2013. **106**(0): p. 41-47.
92. Balat, M., *Mechanisms of Thermochemical Biomass Conversion Processes. Part 1: Reactions of Pyrolysis*. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 2008. **30**(7): p. 620-635.
93. OREN, #160, M. J., NASSAR, M. M., MACKAY, and G.D. M., *Infrared study of inert carbonization of spruce wood lignin under helium atmosphere*. Vol. 29. 1984: Multiscience Publications.
94. TAPPI, *Test Method T 222 om-02, in Acid-insoluble lignin in wood and pulp*. 2002, Technical Association of the Pulp and Paper Industry. p. 5.
95. Maekawa, E., T. Ichizawa, and T. Koshijima, *An evaluation of acid soluble lignin determination in analyses of lignin by the sulfuric acid method*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 1989. **9**: p. 549-567.
96. Ibáñez, A.B. and S. Bauer, *Downscaled method using glass microfiber filters for the determination of Klason lignin and structural carbohydrates*. Biomass and Bioenergy, 2014. **68**(0): p. 75-81.
97. Yasuda, S., K. Fukushima, and A. Kakehi, *Formation and chemical structures of acid-soluble lignin I: sulfuric acid treatment time and acid-soluble lignin content of hardwood*. Journal of Wood Science, 2001. **47**(1): p. 69-72.
98. UM250, T., *Acid-Soluble Lignin in Wood and Pulp*. TAPPI Useful Methods, 1991, Tappi, Atlanta, GA, USA, 1991.
99. TAPPI, *T 244 cm-1. Acid-insoluble ash in wood, pulp, paper, and paperboard* 2011.
100. Sluiter, Hames, Ruiz, Scarlata, Sluiter, and Templeton, *Determination of ash in biomass*. Laboratory Analytical Procedure (LAP), 2005.
101. TAPPI, *Test method T249 cm-85, in Carbohydrate composition of extractive free wood and wood pulp by gas-liquid chromatography*. 1999, TAPPI press: Atlanta, USA.
102. Sun, S.-N., M.-F. Li, T.-Q. Yuan, F. Xu, and R.-C. Sun, *Sequential extractions and structural characterization of lignin with ethanol and alkali from bamboo (Neosinocalamus affinis)*. Industrial Crops and Products, 2012. **37**(1): p. 51-60.
103. Lebo, S.E., J.D. Gargulak, and T.J. McNally, *Lignin*, in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. 2000, John Wiley & Sons, Inc. p. p. 298.

104. Vázquez, G., G. Antorrena, J. González, and S. Freire, *The Influence of Pulping Conditions on the Structure of Acetosolv Eucalyptus Lignins*. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 1997. **17**(1-2): p. 147-162.
105. Mansson, P., *Quantitative determination of phenolic and total hydroxyl groups in lignins*. *Holzforschung*, 1983. **37**: p. 143-146.
106. Gellerstedt, G. and E.L. Lindfors, *Structural changes in lignin during kraft cooking Part 4. Phenolic hydroxyl groups in wood and kraft pulps*. *Holzforschung*, 1984. **38**: p. 151-158.
107. Tiainen, E., T. Drakenberg, T. Tamminen, K. Kataja, and A. Hase, *Determination of Phenolic Hydroxyl Groups in Lignin by Combined Use of ¹H NMR and UV Spectroscopy*. *Holzforschung*, 1999. **53**(5): p. 529.
108. Y.Lin, S. and C.W. Dence, eds. *Methods in lignin Chemistry. Determination of Carbonyl Groups*, ed. C.L. Chen. 1992. 446-457.
109. Faix, O., B. Anderson, and G. ZAKis, *Determination of carbonyl groups of six round robin lignins by modified oximation and FTIR spectrscopy* *Holzforschung*, 1998. **52**: p. 268-274.
110. Pobiner, H., *Improved inflection points in the non-aqueous potentiometric titration of acid functionalities in lignin chemicals by using internal standardization and ion exchange*. *Analytica Chimica Acta*, 1983. **155**(0): p. 57-65.
111. Gosselink, R.J.A., A. Abächerli, H. Semke, R. Malherbe, P. Käuper, A. Nadif, and J.E.G. van Dam, *Analytical protocols for characterisation of sulphur-free lignin*. *Industrial Crops and Products*, 2004. **19**(3): p. 271-281.
112. X. J. Pan and S. Yoshihiro, *Atmospheric acetic acid pulping of rice straw. IV. Physico-chemical characterization of acetic acid lignins from rice straw and woods*. *Holzforschung*, 1999. **53**: p. 590-596.
113. Joffres, B., D. Laurenti, N. Charon, A. Daudin, A. QUIGNARD, and C. Geantet, *Thermochemical Conversion of Lignin for Fuels and Chemicals: A Review*. *Oil and Gas Science and Technology*, 2013. **68**: p. 753-763.
114. Pandey, M.P. and C.S. Kim, *Lignin Depolymerization and Conversion: A Review of Thermochemical Methods*. *Chemical Engineering & Technology*, 2011. **34**(1): p. 29-41.
115. Liu, W.-J., H. Jiang, and H.-q. Yu, *Thermochemical conversion of lignin for functional materials: A review and future direction*. *Green Chemistry*, 2015.
116. Azadi, P., O.R. Inderwildi, R. Farnood, and D.A. King, *Liquid fuels, hydrogen and chemicals from lignin: A critical review*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2013. **21**(0): p. 506-523.
117. Huber, G.W., S. Iborra, and A. Corma, *Synthesis of Transportation Fuels from Biomass: Chemistry, Catalysts, and Engineering*. *Chemical Reviews*, 2006. **106**(9): p. 4044-4098.

118. Sricharoenchaikul, V., *Assessment of black liquor gasification in supercritical water*. Bioresource Technology, 2009. **100**(2): p. 638-643.
119. Elliott, D.C., R.T. Hallen, and L.J. Sealock Jr, *Alkali catalysis in biomass gasification*. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 1984. **6**(3): p. 299-316.
120. Zakzeski, J., P.C.A. Bruijnincx, A.L. Jongerius, and B.M. Weckhuysen, *The Catalytic Valorization of Lignin for the Production of Renewable Chemicals*. Chemical Reviews, 2010. **110**(6): p. 3552-3599.
121. Harris, E.E., J. D'Ianni, and H. Adkins, *Reaction of Hardwood Lignin with Hydrogen*. Journal of the American Chemical Society, 1938. **60**(6): p. 1467-1470.
122. Ratcliff, M.A., D.K. Johnson, F.L. Posey, and H.L. Chum, *Hydrodeoxygenation of lignins and model compounds*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1988. **17**(1-3): p. 151-160.
123. Oasmaa, A. and A. Johansson, *Catalytic hydrotreating of lignin with water-soluble molybdenum catalyst*. Energy & Fuels, 1993. **7**(3): p. 426-429.
124. Oasmaa, A., R. Alén, and D. Meier, *Catalytic hydrotreatment of some technical lignins*. Bioresource Technology, 1993. **45**(3): p. 189-194.
125. Meier, D., R. Ante, and O. Faix, *Catalytic hydrolysis of lignin: Influence of reaction conditions on the formation and composition of liquid products*. Bioresource Technology, 1992. **40**(2): p. 171-177.
126. Asgari, F. and D.S. Argyropoulos, *Fundamentals of oxygen delignification. Part II. Functional group formation/elimination in residual kraft lignin*. Canadian Journal of Chemistry, 1998. **76**(11): p. 1606-1615.
127. Bjørsvik, H.-R. and F. Minisci, *Fine Chemicals from Lignosulfonates. 1. Synthesis of Vanillin by Oxidation of Lignosulfonates*. Organic Process Research & Development, 1999. **3**(5): p. 330-340.
128. Fargues, C., Á. Mathias, and A. Rodrigues, *Kinetics of Vanillin Production from Kraft Lignin Oxidation*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 1996. **35**(1): p. 28-36.
129. Pinto, P.C.R., C.E. Costa, and A.E. Rodrigues, *Oxidation of Lignin from Eucalyptus globulus Pulping Liquors to Produce Syringaldehyde and Vanillin*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2013. **52**(12): p. 4421-4428.
130. Villar, J.C., A. Caperos, and F. García-Ochoa, *Oxidation of hardwood kraft-lignin to phenolic derivatives with oxygen as oxidant*. Wood Science and Technology, 2001. **35**(3): p. 245-255.
131. Tarabanko, V.E., D.V. Petukhov, and G.E. Selyutin, *New Mechanism for the Catalytic Oxidation of Lignin to Vanillin*. Kinetics and Catalysis, 2004. **45**(4): p. 569-577.
132. Gierer, J., *Chemistry of delignification*. Wood Science and Technology, 1986. **20**(1): p. 1-33.

133. Xiang, Q. and Y.Y. Lee, *Production of Oxychemicals from Precipitated Hardwood Lignin*, in *Twenty-Second Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, B. Davison, J. McMillan, and M. Finkelstein, Editors. 2001, Humana Press. p. 71-80.
134. Kaneko, H., S. Hosoya, K. Iiyama, and J. Nakano, *Degradation of Lignin with Ozone: Reactivity of Lignin Model Compounds Toward Ozone*. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 1983. **3**(4): p. 399-411.
135. Eriksson, T. and J. Gierer, *Studies on the Ozonation of Structural Elements in Residual Kraft Lign Ins*. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 1985. **5**(1): p. 53-84.
136. Binder, A., L. Pelloni, and A. Fiechter, *Delignification of straw with ozone to enhance biodegradability*. *European journal of applied microbiology and biotechnology*, 1980. **11**(1): p. 1-5.
137. Mbachu, R.A.D. and R.S.J. Manley, *Degradation of lignin by ozone. I. The kinetics of lignin degradation of ozone*. *Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition*, 1981. **19**(8): p. 2053-2063.
138. Souza-Corrêa, J.A., M.A. Ridenti, C. Oliveira, S.R. Araújo, and J. Amorim, *Decomposition of Lignin from Sugar Cane Bagasse during Ozonation Process Monitored by Optical and Mass Spectrometries*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2013. **117**(11): p. 3110-3119.
139. Bule, M.V., A.H. Gao, B. Hiscox, and S. Chen, *Structural Modification of Lignin and Characterization of Pretreated Wheat Straw by Ozonation*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013. **61**(16): p. 3916-3925.
140. Aimi, H., Y. Kurimoto, and S. Yamauchi, *Development of an acid soil conditioning agent from lignin by ozone treatment III: improvement of ability of lignin to form an aluminum complex and to reduce aluminum toxicity after ozone treatment*. *Journal of Wood Science*, 2011. **57**(4): p. 338-342.
141. Ksenofontova, M.M., A.N. Mitrofanova, N.A. Mamleeva, and V.V. Lunin, *The ozonation of sodium lignosulfonate in the presence of hydrogen peroxide*. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2007. **81**(5): p. 706-710.
142. Khudoshin, A.G., A.N. Mitrofanova, and V.V. Lunin, *Lignin transformations and reactivity upon ozonation in aqueous media*. *Russian Journal of Physical Chemistry A*, 2012. **86**(3): p. 360-365.
143. Kratzl, K., P. Claus, W. Lonsky, and J.S. Gratzl, *Model studies on reactions occurring in oxidations of lignin with molecular oxygen in Alkaline Media*. *Wood Science and Technology*, 1974. **8**(1): p. 35-49.
144. Gierer, J. and F. Imsgard, *The reactions of lignins with oxygen and hydrogen peroxide in alkaline media*. *Svensk papperstidning*, 1977. **80**(16): p. 510-518.
145. Gierer, J., *International symposium of wood and pulping chemistry, Paris*. 1987: p. 279.

146. Gellerstedt, G. and I. Pettersson, *Chemical Aspects of Hydrogen Peroxide Bleaching. Part II the Bleaching of Kraft Pulps*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 1982. **2**(3): p. 231-250.
147. Xiang, Q. and Y.Y. Lee, *Oxidative cracking of precipitated hardwood lignin by hydrogen peroxide*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2000. **84-86**(1-9): p. 153-162.
148. Bentivenga, G., C. Bonini, M. D'Auria, and A. De Bona, *Degradation of steam-exploded lignin from beech by using Fenton's reagent*. Biomass and Bioenergy, 2003. **24**(3): p. 233-238.
149. Savy, D., A. Nebbioso, P. Mazzei, M. Drosos, and A. Piccolo, *Molecular composition of water-soluble lignins separated from different non-food biomasses*. Fuel Processing Technology, 2015. **131**: p. 175-181.
150. Sun, R., J.M. Lawther, and W.B. Banks, *The effect of alkaline nitrobenzene oxidation conditions on the yield and components of phenolic monomers in wheat straw lignin and compared to cupric(II) oxidation*. Industrial Crops and Products, 1995. **4**(4): p. 241-254.
151. Pew, J.C., *Nitrobenzene Oxidation of Lignin Model Compounds, Spruce Wood and Spruce "Native Lignin"*. Journal of the American Chemical Society, 1955. **77**(10): p. 2831-2833.
152. Pinto, P.C.R., C. Oliveira, C.A. Costa, A. Gaspar, T. Faria, J. Ataíde, and A.E. Rodrigues, *Kraft delignification of energy crops in view of pulp production and lignin valorization*. Industrial Crops and Products, 2015. **71**: p. 153-162.
153. Ikeda, T. and K. Magara, *Chemical Properties of Softwood Soda-Anthraquinone Lignin*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 2015. **35**(3): p. 167-177.
154. Norzita Ngadi, Noor Amirah Abdul Halim, and M.N.M. Ibrahim, *Isolation and Characterization of Vanillin from Coconut Husk Lignin via Alkaline Nitrobenzene Oxidation*. Jurnal teknologi, 2014. **67**(4): p. 19-23.
155. Prozil, S.O., D.V. Evtuguin, A.M.S. Silva, and L.P.C. Lopes, *Structural Characterization of Lignin from Grape Stalks (Vitis vinifera L.)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014. **62**(24): p. 5420-5428.
156. Crestini, C., M. Crucianelli, M. Orlandi, and R. Saladino, *Oxidative strategies in lignin chemistry: A new environmental friendly approach for the functionalisation of lignin and lignocellulosic fibers*. Catalysis Today, 2010. **156**(1-2): p. 8-22.
157. Lange, H., S. Decina, and C. Crestini, *Oxidative upgrade of lignin – Recent routes reviewed*. European Polymer Journal, 2013. **49**(6): p. 1151-1173.
158. Crestini, C., M.C. Caponi, D.S. Argyropoulos, and R. Saladino, *Immobilized methyltrioxo rhenium (MTO)/H₂O₂ systems for the oxidation of lignin and lignin model compounds*. Bioorganic and Medicinal Chemistry, 2006. **14**(15): p. 5292-5302.

159. Drago, R.S., B.B. Corden, and C.W. Barnes, *Novel cobalt(II)-catalyzed oxidative cleavage of a carbon-carbon double bond*. *Journal of the American Chemical Society*, 1986. **108**(9): p. 2453-2454.
160. Hermann, W.A. and R.W. Fischer, *Multiple Bonds between Main-Group Elements and Transition Metals*. 136. "Polymerization" of an Organometal Oxide: The Unusual Behavior of Methyltrioxorhenium(VII) in Water. *Journal of the American Chemical Society*, 1995. **117**(11): p. 3223-3230.
161. Genin, H.S., K.A. Lawler, R. Hoffmann, W.A. Herrmann, R.W. Fischer, and W. Scherer, *Multiple Bonds between Main-Group Elements and Transition Metals*. 138. *Polymeric Methyltrioxorhenium: Some Models for Its Electronic Structure*. *Journal of the American Chemical Society*, 1995. **117**(11): p. 3244-3252.
162. Biannic, B. and J.J. Bozell, *Efficient Cobalt-Catalyzed Oxidative Conversion of Lignin Models to Benzoquinones*. *Organic Letters*, 2013. **15**(11): p. 2730-2733.
163. Cedeno, D. and J.J. Bozell, *Catalytic oxidation of para-substituted phenols with cobalt-Schiff base complexes/O₂—selective conversion of syringyl and guaiacyl lignin models to benzoquinones*. *Tetrahedron Letters*, 2012. **53**(19): p. 2380-2383.
164. Canevali, C., M. Orlandi, L. Pardi, B. Rindone, R. Scotti, J. Sipila, and F. Morazzoni, *Oxidative degradation of monomeric and dimeric phenylpropanoids: reactivity and mechanistic investigation*. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, 2002(15): p. 3007-3014.
165. Bujanovic, B., R.S. Reiner, S.A. Ralph, and R.H. Atalla, *Polyoxometalate delignification of birch kraft pulp and effect on residual lignin*. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 2011. **31**(2): p. 121-141.
166. Tonucci, L., F. Coccia, M. Bressan, and N. d'Alessandro, *Mild Photocatalysed and Catalysed Green Oxidation of Lignin: A Useful Pathway to Low-Molecular-Weight Derivatives*. *Waste and Biomass Valorization*, 2012. **3**(2): p. 165-174.
167. Lv, H., Y.V. Geletii, C. Zhao, J.W. Vickers, G. Zhu, Z. Luo, J. Song, T. Lian, D.G. Musaev, and C.L. Hill, *Polyoxometalate water oxidation catalysts and the production of green fuel*. *Chemical Society Reviews*, 2012. **41**(22): p. 7572-7589.
168. Vladimir, A.G., L.H. Craig, and A.W. Ira, *Polyoxometalate Oxidation of Phenolic Lignin Models*, in *Oxidative Delignification Chemistry*. 2001, American Chemical Society. p. 297-312.
169. Evtuguin, D.V. and C.P. Neto, *Lignin Degradation Reactions in Aerobic Delignification Catalyzed by Heteropolyanion [PMo₇V₅O₄₀]⁸⁻*, in *Oxidative Delignification Chemistry*. 2001, American Chemical Society. p. 327-341.
170. Evtuguin, D.V., A.I.D. Daniel, A.J.D. Silvestre, F.M.L. Amado, and C.P. Neto, *Lignin aerobic oxidation promoted by molybdovanadophosphate polyanion [PMo₇V₅O₄₀]⁸⁻. Study on the oxidative cleavage of β-O-4 aryl ether structures using*

- model compounds. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2000. **154**(1–2): p. 217-224.
171. Evtuguin, D.V., C. Pascoal Neto, and J. Rocha, *Lignin degradation in oxygen delignification catalysed by [PMo7V5O40]8- polyanion. Part I. Study on wood lignin*. *Holzforschung*, 2000. **54**: p. 381-389.
 172. Evtugin, D.V., C. Pascoal Neto, Carapuca H., and J. Soares, *Lignin degradation in oxygen delignification catalysed by [PMo7V5O40]8- Polyanion: Part II. Study on lignin monomeric model compounds*. *Holzforschung*, 2000. **54**: p. 511-518.
 173. Ferm R., K.P. Kringstad, and Cowling EB., *Formation of free radicals in milled wood lignin and syringaldehyde by phenol-oxidizing enzymes*. *Sven Papperstidn*, 1972. **75**(21): p. 859-865.
 174. Reiter, J., H. Strittmatter, L.O. Wiemann, D. Schieder, and V. Sieber, *Enzymatic cleavage of lignin [small beta]-O-4 aryl ether bonds via net internal hydrogen transfer*. *Green Chemistry*, 2013. **15**(5): p. 1373-1381.
 175. Mayer, A.M. and R.C. Staples, *Laccase: new functions for an old enzyme*. *Phytochemistry*, 2002. **60**(6): p. 551-565.
 176. Bourbonnais, R. and M.G. Paice, *Oxidation of non-phenolic substrates. An expanded role for laccase in lignin biodegradation*. *FEBS Letters*, 1990. **267**(1): p. 99-102.
 177. Call, H.P. and I. Mücke, *History, overview and applications of mediated lignolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozym®-process)*. *Journal of Biotechnology*, 1997. **53**(2–3): p. 163-202.
 178. Berglund, G.I., G.H. Carlsson, A.T. Smith, H. Szoke, A. Henriksen, and J. Hajdu, *The catalytic pathway of horseradish peroxidase at high resolution*. *Nature*, 2002. **417**(6887): p. 463-468.
 179. Munk, L., A.K. Sitarz, D.C. Kalyani, J.D. Mikkelsen, and A.S. Meyer, *Can laccases catalyze bond cleavage in lignin?* *Biotechnology Advances*, 2015. **33**(1): p. 13-24.
 180. Lalvani, S.B., T.S. Wiltowski, D. Murphy, and L.S. Lalvani, *Metal Removal from Process Water by Lignin*. *Environmental Technology*, 1997. **18**(11): p. 1163-1168.
 181. O'Connell, D.W., C. Birkinshaw, and T.F. O'Dwyer, *Heavy metal adsorbents prepared from the modification of cellulose: A review*. *Bioresource Technology*, 2008. **99**(15): p. 6709-6724.
 182. Mohan, D., C.U. Pittman Jr, and P.H. Steele, *Single, binary and multi-component adsorption of copper and cadmium from aqueous solutions on Kraft lignin—a biosorbent*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2006. **297**(2): p. 489-504.
 183. Guo, X., S. Zhang, and X.-q. Shan, *Adsorption of metal ions on lignin*. *Journal of Hazardous Materials*, 2008. **151**(1): p. 134-142.

184. Demirbas, A., *Adsorption of Co(II) and Hg(II) from Water and Wastewater onto Modified Lignin*. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 2007. **29**(2): p. 117-123.
185. He, Z.-W., Q.-F. Lü, and J.-Y. Zhang, *Facile Preparation of Hierarchical Polyaniline-Lignin Composite with a Reactive Silver-Ion Adsorbability*. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2012. **4**(1): p. 369-374.
186. He, Z.-W., L.-H. He, J. Yang, and Q.-F. Lü, *Removal and Recovery of Au(III) from Aqueous Solution Using a Low-Cost Lignin-Based Biosorbent*. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2013. **52**(11): p. 4103-4108.
187. Yang, J., J.-X. Wu, Q.-F. Lü, and T.-T. Lin, *Facile Preparation of Lignosulfonate-Graphene Oxide-Polyaniline Ternary Nanocomposite as an Effective Adsorbent for Pb(II) Ions*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2014. **2**(5): p. 1203-1211.
188. Yao, Q., J. Xie, J. Liu, H. Kang, and Y. Liu, *Adsorption of lead ions using a modified lignin hydrogel*. *Journal of Polymer Research*, 2014. **21**(6): p. 1-16.
189. Yang, Y., Z. Wei, C. Wang, and Z. Tong, *Lignin-based Pickering HIPes for macroporous foams and their enhanced adsorption of copper(ii) ions*. *Chemical Communications*, 2013. **49**(64): p. 7144-7146.
190. Fierro, C.M., J. Górka, J.A. Zazo, J.J. Rodriguez, J. Ludwinowicz, and M. Jaroniec, *Colloidal templating synthesis and adsorption characteristics of microporous-mesoporous carbons from Kraft lignin*. *Carbon*, 2013. **62**(0): p. 233-239.
191. Demirbaş, A., *Adsorption of Cr(III) and Cr(VI) Ions from Aqueous Solutions on to Modified Lignin*. *Energy Sources*, 2005. **27**(15): p. 1449-1455.
192. Wu, Y., S. Zhang, X. Guo, and H. Huang, *Adsorption of chromium(III) on lignin*. *Bioresource Technology*, 2008. **99**(16): p. 7709-7715.
193. Suhas, P.J.M. Carrott, and M.M.L. Ribeiro Carrott, *Lignin - from natural adsorbent to activated carbon: A review*. *Bioresource Technology*, 2007. **98**(12): p. 2301-2312.
194. Rodriguez-Mirasol, J., T. Cordero, and J.J. Rodriguez, *Activated carbons from carbon dioxide partial gasification of eucalyptus kraft lignin*. *Energy & Fuels*, 1993. **7**(1): p. 133-138.
195. Fierro, V., V. Torné-Fernández, and A. Celzard, *Methodical study of the chemical activation of Kraft lignin with KOH and NaOH*. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2007. **101**(3): p. 419-431.
196. Snowdon, M.R., A.K. Mohanty, and M. Misra, *A Study of Carbonized Lignin as an Alternative to Carbon Black*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2014. **2**(5): p. 1257-1263.
197. Chatterjee, S., E.B. Jones, A.C. Clingenpeel, A.M. McKenna, O. Rios, N.W. McNutt, D.J. Keffer, and A. Johs, *Conversion of Lignin Precursors to Carbon Fibers with Nanoscale Graphitic Domains*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2014. **2**(8): p. 2002-2010.

198. Sudo, K., K. Shimizu, N. Nakashima, and A. Yokoyama, *A new modification method of exploded lignin for the preparation of a carbon fiber precursor*. *Journal of Applied Polymer Science*, 1993. **48**(8): p. 1485-1491.
199. Uraki, Y., S. Kubo, N. Nigo, Y. Sano, and T. Sasaya, *Preparation of Carbon Fibers from Organosolv Lignin Obtained by Aqueous Acetic Acid Pulping*, in *Holzforchung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*. 1995. p. 343.
200. Kubo, S., Y. Uraki, and Y. Sano, *Preparation of carbon fibers from softwood lignin by atmospheric acetic acid pulping*. *Carbon*, 1998. **36**(7-8): p. 1119-1124.
201. Lallave, M., J. Bedia, R. Ruiz-Rosas, J. Rodríguez-Mirasol, T. Cordero, J.C. Otero, M. Marquez, A. Barrero, and I.G. Loscertales, *Filled and Hollow Carbon Nanofibers by Coaxial Electrospinning of Alcell Lignin without Binder Polymers*. *Advanced Materials*, 2007. **19**(23): p. 4292-4296.
202. Ruiz-Rosas, R., J. Bedia, M. Lallave, I.G. Loscertales, A. Barrero, J. Rodríguez-Mirasol, and T. Cordero, *The production of submicron diameter carbon fibers by the electrospinning of lignin*. *Carbon*, 2010. **48**(3): p. 696-705.
203. Lin, L., Y. Li, and F.K. Ko, *Fabrication and properties of lignin based carbon nanofiber*. *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics*, 2013. **6**(4): p. 335-347.
204. Kadla, J.F., S. Kubo, R.A. Venditti, R.D. Gilbert, A.L. Compere, and W. Griffith, *Lignin-based carbon fibers for composite fiber applications*. *Carbon*, 2002. **40**(15): p. 2913-2920.
205. Qin, W. and J.F. Kadla, *Carbon fibers based on pyrolytic lignin*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2012. **126**(S1): p. E204-E213.
206. Kubo, S. and J.F. Kadla, *Lignin-based Carbon Fibers: Effect of Synthetic Polymer Blending on Fiber Properties*. *Journal of Polymers and the Environment*, 2005. **13**(2): p. 97-105.
207. Qin, W. and J.F. Kadla, *Effect of Organoclay Reinforcement on Lignin-Based Carbon Fibers*. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2011. **50**(22): p. 12548-12555.
208. Pouteau, C., S. Baumberger, B. Cathala, and P. Dole, *Lignin-polymer blends: evaluation of compatibility by image analysis*. *Comptes Rendus Biologies*, 2004. **327**(9-10): p. 935-943.
209. Doherty, W.O.S., P. Mousavioun, and C.M. Fellows, *Value-adding to cellulosic ethanol: Lignin polymers*. *Industrial Crops and Products*, 2011. **33**(2): p. 259-276.
210. Thakur, V.K., M.K. Thakur, P. Raghavan, and M.R. Kessler, *Progress in Green Polymer Composites from Lignin for Multifunctional Applications: A Review*. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2014. **2**(5): p. 1072-1092.
211. Gregorova, A., B. Košíková, and A. Staško, *Radical scavenging capacity of lignin and its effect on processing stabilization of virgin and recycled polypropylene*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2007. **106**(3): p. 1626-1631.

212. Gregorová, A., Z. Cibulková, B. Košíková, and P. Šimon, *Stabilization effect of lignin in polypropylene and recycled polypropylene*. *Polymer Degradation and Stability*, 2005. **89**(3): p. 553-558.
213. Alexy, P., B. Košíková, and G. Podstránska, *The effect of blending lignin with polyethylene and polypropylene on physical properties*. *Polymer*, 2000. **41**(13): p. 4901-4908.
214. Košíková, B., A. Gregorová, A. Osvald, and J. Krajčovičová, *Role of lignin filler in stabilization of natural rubber-based composites*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2007. **103**(2): p. 1226-1231.
215. Baumberger, S., C. Lapiere, B. Monties, D. Lourdin, and P. Colonna, *Preparation and properties of thermally moulded and cast lignosulfonates-starch blends*. *Industrial Crops and Products*, 1997. **6**(3-4): p. 253-258.
216. Duval, A., S. Molina-Boisseau, and C. Chirat, *Comparison of Kraft lignin and lignosulfonates addition to wheat gluten-based materials: Mechanical and thermal properties*. *Industrial Crops and Products*, 2013. **49**: p. 66-74.
217. Pucciariello, R., M. D'Auria, V. Villani, G. Giammarino, G. Gorrasi, and G. Shulga, *Lignin/Poly(ϵ -Caprolactone) Blends with Tuneable Mechanical Properties Prepared by High Energy Ball-Milling*. *Journal of Polymers and the Environment*, 2010. **18**(3): p. 326-334.
218. Lemes, A.P., M.A. Soto-Oviedo, W.R. Waldman, L.H. Innocentini-Mei, and N. Durán, *Effect of Lignosulfonate on the Thermal and Morphological Behavior of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)*. *Journal of Polymers and the Environment*, 2010. **18**(3): p. 250-259.
219. Bismarck, A., A. Baltazar-Y-Jimenez, and K. Sarikakis, *Green Composites as Panacea? Socio-Economic Aspects of Green Materials*. *Environment, Development and Sustainability*, 2006. **8**(3): p. 445-463.
220. Wang, J., R.S.J. Manley, and D. Feldman, *Synthetic polymer-lignin copolymers and blends*. *Progress in Polymer Science*, 1992. **17**(4): p. 611-646.
221. Lora, J. and W. Glasser, *Recent Industrial Applications of Lignin: A Sustainable Alternative to Nonrenewable Materials*. *Journal of Polymers and the Environment*, 2002. **10**(1-2): p. 39-48.
222. Gandini, A. and M.N. Belgacem, *Chapter 11 - Lignins as Components of Macromolecular Materials*, in *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, M.N.B. Gandini, Editor. 2008, Elsevier: Amsterdam. p. 243-271.
223. Hu, L., H. Pan, Y. Zhou, and M. Zhang, *Methods to improve lignin's reactivity as a phenol substitute and as replacement for other phenolic compounds: A brief review*. *Bioresources*, 2011. **6**(3): p. 3515-3525.
224. Muller, P.C. and W.G. Glassert, *Engineering Plastics from Lignin. VIII. Phenolic Resin Prepolymer Synthesis and Analysis*. *The Journal of Adhesion*, 1984. **17**(2): p. 157-173.

225. Muller, P.C., S.S. Kelley, and W.G. Glasser, *Engineering Plastics from Lignin. IX. Phenolic Resin Synthesis and Characterization*. The Journal of Adhesion, 1984. **17**(3): p. 185-206.
226. Evtuguin, D.V., J.P. Andreaty, and A. Gandini, *Polyurethanes based on oxygen-organosolv lignin*. European Polymer Journal, 1998. **34**(8): p. 1163-1169.
227. Cateto, C.A., M.F. Barreiro, A.E. Rodrigues, and M.N. Belgacem, *Kinetic study of the formation of lignin-based polyurethanes in bulk*. Reactive and Functional Polymers, 2011. **71**(8): p. 863-869.
228. Mozheiko, L.N., M.F. Gromova, L.A. Bakalo, and V.N. Sergeyeva, *Polyurethanes prepared from oxypropylated lignin*. Polymer Science U.S.S.R., 1981. **23**(1): p. 141-149.
229. Vanderlaan, M.N. and R.W. Thring, *Polyurethanes from Alcell® lignin fractions obtained by sequential solvent extraction*. Biomass and Bioenergy, 1998. **14**(5-6): p. 525-531.
230. Reimann, A., R. Mörck, H. Yoshida, H. Hatakeyama, and K.P. Kringstad, *Kraft lignin in polyurethanes. III. Effects of the molecular weight of PEG on the properties of polyurethanes from a kraft lignin-PEG-MDI system*. Journal of Applied Polymer Science, 1990. **41**(1-2): p. 39-50.
231. Saraf, V.P., W.G. Glasser, and G.L. Wilkes, *Engineering plastics from lignin. VII. Structure property relationships of poly(butadiene glycol)-containing polyurethane networks*. Journal of Applied Polymer Science, 1985. **30**(9): p. 3809-3823.
232. Saito, T., J.H. Perkins, D.C. Jackson, N.E. Trammel, M.A. Hunt, and A.K. Naskar, *Development of lignin-based polyurethane thermoplastics*. RSC Advances, 2013. **3**(44): p. 21832-21840.
233. Faruk Omar and S. Mohimi, *Continuous Extrusion Foaming of Lignin Enhanced Thermoplastic Polyurethane (TPU)* Journal of biobased materials and bioenergy, 2013. **7**(3): p. 309-314.
234. Cinelli, P., I. Anguillesi, and A. Lazzeri, *Green synthesis of flexible polyurethane foams from liquefied lignin*. European Polymer Journal, 2013. **49**(6): p. 1174-1184.
235. Ciobanu, C., M. Ungureanu, L. Ignat, D. Ungureanu, and V.I. Popa, *Properties of lignin-polyurethane films prepared by casting method*. Industrial Crops and Products, 2004. **20**(2): p. 231-241.
236. Laurichesse, S., C. Huillet, and L. Averous, *Original polyols based on organosolv lignin and fatty acids: new bio-based building blocks for segmented polyurethane synthesis*. Green Chemistry, 2014. **16**(8): p. 3958-3970.
237. Guo, Z.-X., A. Gandini, and F. Pla, *Polyesters from lignin. 1. The reaction of kraft lignin with dicarboxylic acid chlorides*. Polymer International, 1992. **27**(1): p. 17-22.
238. Evtugin, D.V. and A. Gandini, *Polyesters based on oxygen-organosolv lignin*. Acta Polymerica, 1996. **47**(8): p. 344-350.

239. Guo, Z.-X. and A. Gandini, *Polyesters from lignin—2. The copolyesterification of kraft lignin and polyethylene glycols with dicarboxylic acid chlorides*. *European Polymer Journal*, 1991. **27**(11): p. 1177-1180.
240. Saito, T., R.H. Brown, M.A. Hunt, D.L. Pickel, J.M. Pickel, J.M. Messman, F.S. Baker, M. Keller, and A.K. Naskar, *Turning renewable resources into value-added polymer: development of lignin-based thermoplastic*. *Green Chemistry*, 2012. **14**(12): p. 3295-3303.
241. Inone-Kauffmann, E.R., *ARBOFORM® - A lignin-based thermoplastic*. *International Sugar Journal*, 2009. **111**(1321): p. 10-11.

Chapitre 2 :

Séparation & purification de la lignine
à partir de la liqueur alcaline

Table des matières

I. La liqueur alcaline de Tembec	87
I.1. Tembec & le procédé bisulfite	87
I.2. Caractérisation des liqueurs alcalines et choix de la base de travail	88
II. Protocoles d'extraction de la lignine.....	91
II.1. Précipitation en milieu acide des lignines à partir des liqueurs	91
II.1.1. Précipitation en milieu acide : point bibliographique	91
II.1.2. Précipitation en milieu acide appliquée à la liqueur alcaline	91
II.2. Extraction & purification par « acidolyse » douce	94
II.2.1. Traitement de la « lignine Ins. HCl »	94
II.2.2. Traitement de la liqueur alcaline	97
II.3. Traitement à l'éthanol de la liqueur alcaline	97
II.3.1. Analyse de la fraction « Soluble EtOH »	99
II.3.2. Analyse de la fraction « Insoluble EtOH »	101
II.4. Conclusion.....	101
III. Purification de la lignine précipitée (lignine Ins. HCl) par des solvants sélectifs	102
III.1. Purification à l'éthanol de la lignine « Insoluble HCl »	102
III.2. Purification à l'eau acidifiée de la lignine « Insoluble HCl – Insoluble EtOH »	105
IV. Optimisation des différentes étapes du protocole	107
IV.1. Pré-traitement en autoclave de la liqueur alcaline	107
IV.2. Optimisation de l'étape de précipitation	111
IV.2.1. Précipitation classique vs précipitation inverse.....	111
IV.2.2. Précipitation sélective	113
IV.3. Optimisation de la purification à l'éthanol et de la purification à l'eau acidifiée ...	115
IV.4. Conclusion & validation du protocole	116
V. Application du protocole pour l'extraction d'une grande quantité de lignine pure	117
V.1. Ajout d'une étape de purification.....	119
V.2. Conclusion.....	121
VI. Conclusion sur l'extraction & la purification de la lignine alcaline	121
VII. Références bibliographiques	123

I. La liqueur alcaline de Tembec

Les premiers objectifs de la thèse ont été d'extraire et de purifier la lignine issue de la liqueur alcaline fournie par Tembec. Plusieurs « lots » de liqueur ont été fournis, se différenciant par le temps de cuisson au bisulfite d'ammonium, la concentration finale en lignine et par le taux de matière sèche. Le but étant de les caractériser en termes de composition chimique et distribution molaire pour choisir une base de travail et maximiser la reproductibilité et la répétabilité des résultats obtenus.

I.1. Tembec & le procédé bisulfite

Le procédé d'extraction de fibres cellulosiques, à partir de copeaux de bois de pin maritime, utilisé par le groupe Tembec à Tartas est un procédé au bisulfite d'ammonium à des pH variant entre 1 et 2 (Figure 25). Lors de la cuisson, la lignine est hydrolysée et est rendue soluble par sulfonation. Les lignosulfonates et hémicelluloses hydrolysés sont récupérés dans la liqueur noire qui est soit brûlée pour produire de l'énergie soit valorisée pour les propriétés tensio-actives des lignosulfonates. La pâte écrue récupérée à la suite de la cuisson subit une extraction alcaline à chaud afin d'éliminer la lignine et les hémicelluloses résiduelles ayant résisté au traitement. A l'issue de cette étape, la pâte extraite est envoyée au blanchiment et la liqueur alcaline est concentrée. Cette liqueur alcaline (ou effluent alcalin) contient une lignine appelée « **lignine alcaline** » dont la structure est inconnue car peu étudiée. De plus, les méthodes d'extraction de cette lignine alcaline diffèrent des méthodes pour obtenir les lignines techniques courantes (lignine kraft, lignine organosolv,...). Notre travail a donc consisté dans un premier temps à extraire, purifier et caractériser avec précision la lignine alcaline de Tembec pour mieux la valoriser dans un deuxième temps.

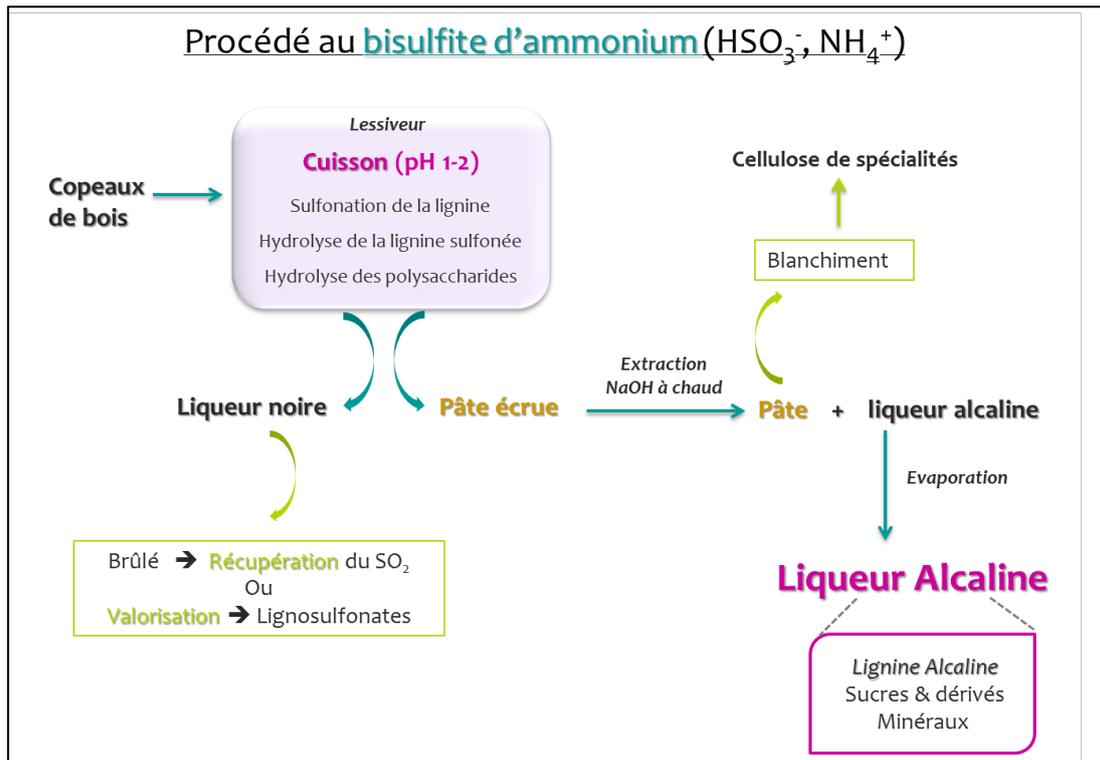


Figure 25: Procédé d'extraction de fibres cellulosiques à Tembec-Tartas

1.2. Caractérisation des liqueurs alcalines et choix de la base de travail

Deux types de liqueurs ont été fournies par Tembec : les liqueurs alcalines issues de la production de cellulose de haute viscosité et de basse viscosité qui diffèrent par rapport au temps de l'étape de cuisson. Pour simplifier, ces liqueurs seront notées liqueur HV et liqueur BV respectivement. Ces liqueurs alcalines contiennent :

- de la lignine (dont la structure a été modifiée par le traitement de cuisson et d'extraction alcaline)
- des minéraux majoritairement présents sous forme de sels de sodium (apportés par la soude lors du procédé d'extraction)
- des sucres présents sous formes dérivés ou non (les structures peuvent être modifiées par le traitement alcalin)
- des auxiliaires de fabrication (composés sans intérêt pour l'étude)

Avant de choisir les liqueurs qui serviront de base de travail pour la durée de la thèse, celles-ci ont été caractérisées en termes de matière sèche, de teneur en lignine (méthode

UV), de contenu en minéraux (méthode des « cendres ») [1, 2] et de masse molaire (masse au pic déterminée par SEC [détection UV]). Ces valeurs sont répertoriées dans le Tableau 5 et les représentations des chromatogrammes SEC à la Figure 26. Les principales différences entre ces deux liqueurs se situent au niveau des teneurs en lignine et sur la répartition des masses molaires. En effet, la liqueur alcaline BV présente une masse au pic de 2800 g/mol et une teneur en lignine de 23.1% contre respectivement 5700 g/mol et 34.8% pour la liqueur HV. (NB : La dispersité des liqueurs et des lignines étant très larges, la valeur de la masse au pic (M_p) est donnée à titre de repère bien que cette valeur ne représente pas réellement la masse molaire de la lignine). Les chromatogrammes SEC présentés sont multimodaux. Ceci peut s'expliquer par la présence d'autres composés (sucres & dérivés, auxiliaires de fabrication) qui possèdent des groupements chromophores dans la liqueur alcaline. On note également la large dispersité de la lignine (valeurs de \mathcal{D} supérieures à 1). La teneur en lignine de la liqueur HV (34,8%) est similaire à celle d'une liqueur noire issue d'une cuisson alcaline [3].

A la suite de ces analyses, il a été convenu que la liqueur HV serait la base de travail de ce projet. En effet, bien que la lignine présente dans cette liqueur ait une masse molaire plus élevée que celle présente dans la liqueur BV, la liqueur HV contient moins des autres constituants (minéraux, auxiliaires de fabrication et sucres) considérés comme des impuretés. De plus, la production de l'usine de Tembec à Tartas concerne majoritairement les pâtes de cellulose de haute viscosité. La liqueur HV représente donc la majorité de l'effluent alcalin à valoriser. Des essais ont également été réalisés à partir d'une liqueur HV plus concentrée (50% en matière sèche au lieu de 32%) mais cette liqueur ne donnait pas de résultats reproductibles lors de l'application du protocole d'extraction qui est décrit au §III.

Tableau 5 : Récapitulatif des caractérisations macroscopiques des liqueurs HV et BV

*Valeurs exprimées par rapport à la matière sèche de la liqueur

	Matière sèche (%)	Teneur en lignine* (%)	Teneur en minéraux* (%)	Autre (auxiliaires de fabrication + sucres & dérivés)* (%)	M _p (g/mol)	D
Liqueur alcaline de Basse Viscosité	32	23,1	43,8	33,1	2800	1,7
Liqueur alcaline de Haute viscosité	31,8	34,8	39,4	25,8	5700	2,9

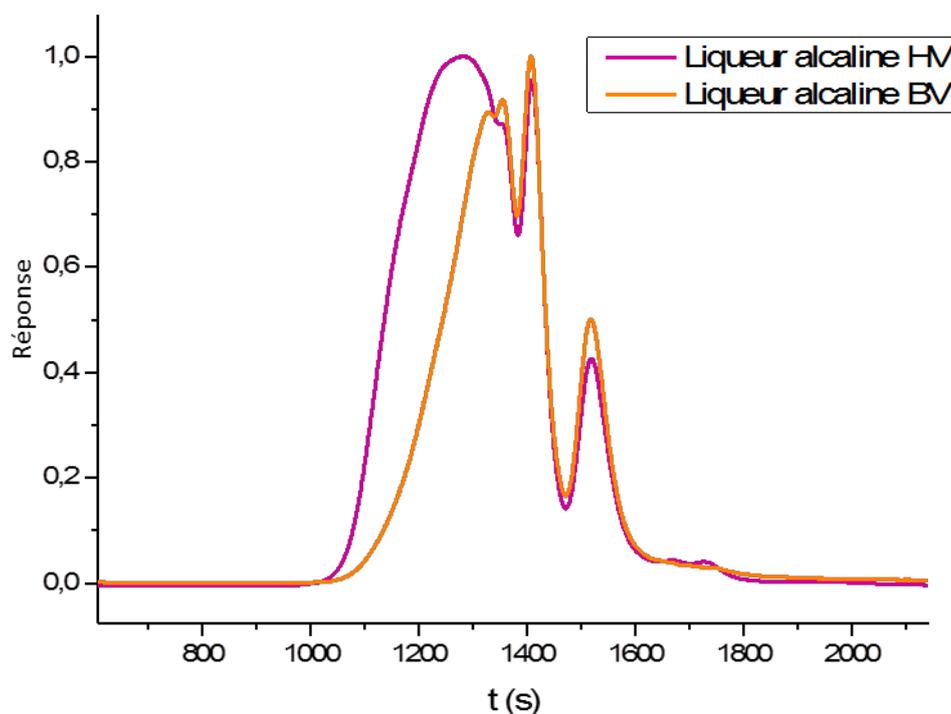


Figure 26: Chromatogrammes SEC des liqueurs HV et BV (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

II. Protocoles d'extraction de la lignine

Un protocole a été choisi pour l'obtention d'échantillons de lignine répondant aux critères suivants : haute pureté en lignine et faibles masses molaires.

Après chaque étape d'extraction et de purification, la lignine récupérée est caractérisée en termes de pureté en lignine et de masse molaire. La pureté est obtenue par addition de la valeur donnée par la méthode de « lignine de Klason » [4] (norme Tappi **222 om-02**) et celle donnée par la méthode par spectroscopie UV [5] appelée « Acid Soluble Lignin » ou ASL (norme Tappi **UM250 um-83**). La masse au pic est déterminée par SEC. La quantité de lignine récupérée par rapport à la lignine initialement présente dans la liqueur alcaline est également calculée (cette valeur est nommée « % par rapport à la lignine alcaline initiale »).

II.1. Précipitation en milieu acide des lignines à partir des liqueurs

II.1.1. Précipitation en milieu acide : point bibliographique

Les lignines kraft sont généralement extraites par précipitation acide via deux étapes : le dioxyde de carbone est utilisé pour réduire le pH de la liqueur à 10 (initialement d'une valeur de 12) puis le pH est réduit à 2 par un acide minéral [6]. Cette méthode permet d'obtenir près de 80% de lignine pure (klason + ASL =98%) [7]. L'acide utilisé peut être l'acide sulfurique concentré [8-10], l'acide chlorhydrique [3, 11] ou l'acide phosphorique [12]. Généralement lorsque l'acide sulfurique est utilisé, la lignine récupérée est d'une pureté importante (entre 80 et 97%) [10, 13, 14] contre 60-75% dans le cas de l'acide chlorhydrique [3, 11]. Cependant, Santos et al. [15] ont montré que cette tendance pouvait être inversée en comparant les deux acides ; la lignine obtenue par précipitation avec HCl a une pureté de 59% tandis que celle précipitée avec H₂SO₄ a une pureté de 42%. L'acide chlorhydrique sera utilisé dans notre cas car des études préliminaires (travaux internes) ont montré que l'élimination du chlorure de sodium formé était plus facile que celle du sulfate de sodium.

II.1.2. Précipitation en milieu acide appliquée à la liqueur alcaline

Dans la liqueur alcaline, la lignine est soluble sous forme de sels de sodium. Sa précipitation est réalisée par ajout d'une solution d'HCl (1M) qui provoque l'acidification

des fonctions phénolates et carboxylates de la lignine. Le pH initial de la liqueur est de 13, l'ajout de HCl est fait jusqu'à atteindre une valeur de pH comprise entre 1 et 2 pour optimiser le rendement en lignine. Une première précipitation est observée aux alentours de pH= 8 correspondant à l'acidification des fonctions phénolates ($pK_a \sim 9-10$) et une seconde à pH= 6 correspondant à celle des fonctions carboxylates ($pK_a \sim 4-5$) [16]. La lignine précipitée à partir de la liqueur alcaline HV est appelée « lignine Insoluble HCl » ou « lignine Ins. HCl ».

La pureté en lignine et la valeur de la masse molaire au pic de la « lignine Ins. HCl » sont présentées dans le Tableau 6 et le chromatogramme SEC associé est représenté à la Figure 27. Par ces résultats, il a été démontré que l'étape de précipitation permet d'augmenter la pureté en lignine des échantillons en s'affranchissant principalement des minéraux (qui restent solubles en milieu aqueux) et de précipiter en majorité les composés de masse molaire élevée ($M_p = 9700 \text{ g/mol}$). Cette étape de purification permet de récupérer 74% de la lignine initialement présente dans la liqueur alcaline. Les 26% restant sont vraisemblablement des populations de lignine de faible masse molaire solubles en milieux aqueux donc difficilement récupérables. La pureté obtenue (75%) est en accord, voire supérieure, aux résultats décrits dans la littérature [3, 11]. Le chromatogramme de la « lignine Ins. HCl » est monomodal (mis à part un petit épaulement à 1400 s), les populations éluées aux temps de rétention longs de la liqueur alcaline ont donc été éliminées lors de l'étape de précipitation. Ces populations peuvent représenter des fractions de lignines de faible masse molaire ou des « impuretés » (sucres & dérivés et auxiliaires de fabrication). La large dispersité de la « lignine Ins. HCl » ($D=4$) témoigne de la diversité des masses molaires des composés.

Le soluté n'a pas été caractérisé dans le cadre de cette thèse mais des travaux préliminaires ont montré que cette fraction contenait majoritairement des sucres sous forme de dérivés solubles en milieu aqueux (Frédérique Pichavant, 2012, travaux internes). A partir de ces résultats, une hypothèse selon laquelle les populations de faible masse molaire observées sur le chromatogramme SEC de la liqueur HV (temps de rétention entre 1400 et 1600 secondes) correspondent aux sucres et sucres dérivés a été

proposée. Cette hypothèse sera vérifiée par la suite, lors du protocole de purification (§III.1).

Tableau 6 : Pureté en lignine et masse au pic de la liqueur HV et de la lignine Ins. HCl

	Pureté en lignine (%)	Teneur en minéraux (%)	M_p (g/mol)	\bar{D}	%/ Lignine alcaline initiale
Liqueur alcaline HV	34.8	39.4	5700	2,9	
Lignine Ins. HCl	75	0.8	9700	4	74

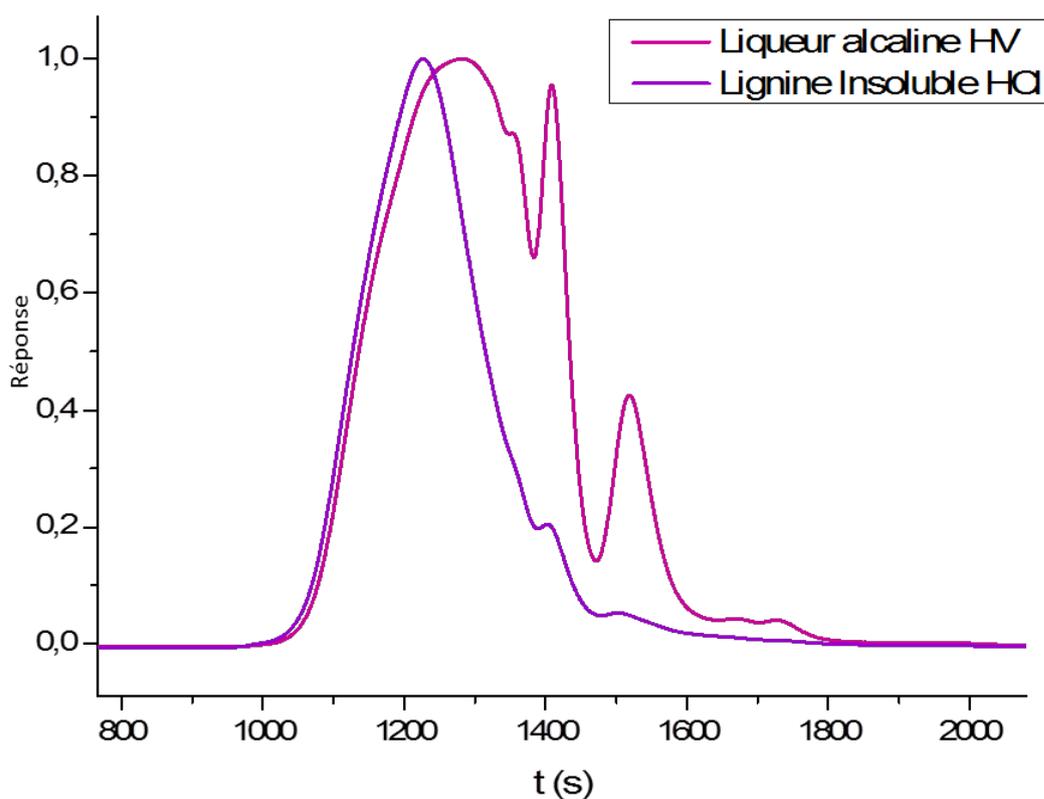


Figure 27: Chromatogrammes SEC de la liqueur HV & de la lignine Ins. HCl (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

II.2. Extraction & purification par « acidolyse » douce

II.2.1. Traitement de la « lignine Ins. HCl »

Le traitement effectué est une « acidolyse » douce à reflux, dans un mélange acide chlorhydrique/Ethanol, réalisée sur la lignine précipitée en milieu HCl. Ce traitement a été initié par Gellerstedt [17] dans un mélange acide chlorhydrique/dioxane afin d'extraire la lignine kraft résiduelle d'une pâte écrue de bouleau. Ainsi, il a été possible d'extraire 40% de lignine pure d'une pâte écrue kraft [18] ou 74% de lignine pure à partir d'une liqueur noire [3]. La présence d'acide chlorhydrique permettrait de fragmenter la lignine et donc de diminuer sa masse molaire pour la rendre soluble dans l'éthanol ou le dioxane afin d'en faciliter l'extraction. Pour des raisons de coût et de toxicité, l'éthanol sera utilisé dans notre cas. Il a été montré que ce solvant permettait de solubiliser des fragments de lignine de faibles masses molaires [19, 20].

Deux protocoles qui diffèrent selon la proportion éthanol/acide et la concentration en acide ont été étudiés (Figure 28). Les fractions (A, A', B et B') récupérées à l'issue de ces protocoles sont caractérisées par SEC. Les teneurs en lignine sont déterminées par les méthodes Klason et ASL et la quantité de lignine récupérée par rapport à la lignine initialement présente dans la liqueur alcaline calculée (Tableau 7). Il a été montré que ces protocoles conduisaient à l'obtention de fractions riches en lignine (fractions A et B) allant de 81,7 à 88,8 % en pureté en lignine et permettaient de récupérer jusqu'à 41,9% de la lignine initialement présente dans la liqueur alcaline. Cependant, il semblerait que la présence d'HCl conduirait à des réactions de condensation/repolymérisation qui ont pour effet d'augmenter la masse molaire de la lignine. Ce phénomène est représenté sur le chromatogramme SEC à la Figure 29 et se traduit par la présence d'épaulements et de nouveaux signaux aux temps de rétention courts (entre 900 et 1100 s). Ainsi, ces protocoles permettent d'extraire des fractions riches en lignine mais de masse molaire élevée. Or, l'un de nos objectifs étant d'obtenir de la lignine de faible masse molaire, il est nécessaire d'optimiser ces protocoles.

Les fractions A', B et B' pour le protocole 1 et A' et B' pour le protocole 2 sont également étudiées par SEC mais les valeurs de teneur en lignine n'ont pas été calculées en raison des faibles rendements (Tableau 8).

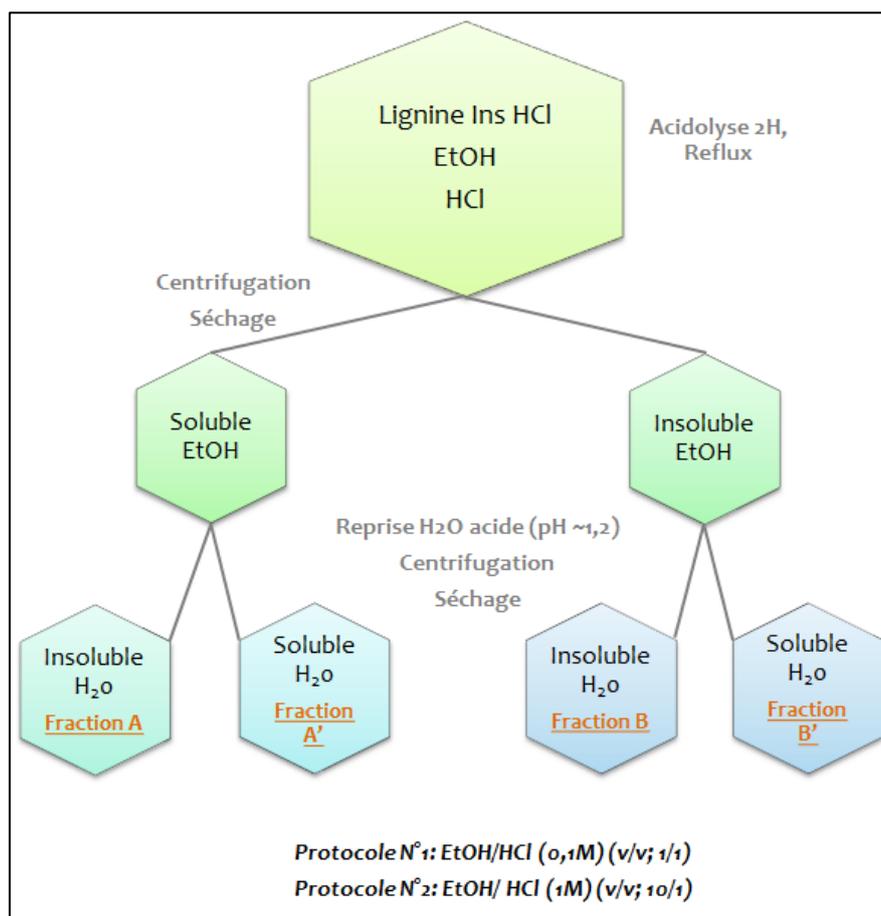


Figure 28: Protocoles d'acidolyse douce appliquée à la lignine Ins. HCl

Tableau 7: Caractérisation des fractions riches en lignine obtenues à partir des protocoles d'acidolyse

Protocole	Fractions	Rendement massique (%)	Teneur en lignine (%)	%/ Lignine alcaline initiale
1	A	62,5	88,8	41,9
2	A	20,5	81,7	12,4
2	B	55,7	85,1	35,6

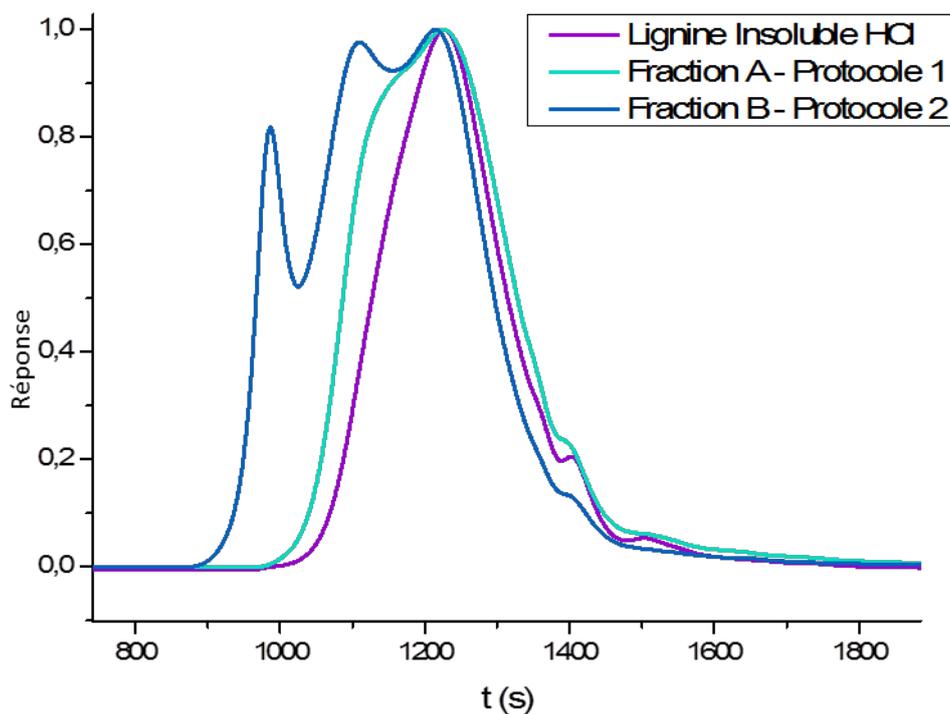


Figure 29: Chromatogrammes SEC de la lignine Ins HCl, de la fraction A issue du protocole d'acidolyse 1 et de la fraction B issue du protocole d'acidolyse 2 (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

Tableau 8: Caractérisation des fractions pauvres en lignine obtenues à partir des protocoles d'acidolyse

Protocole	Fractions	Rendement massique (%)	Teneur en lignine (%)	%/ Lignine alcaline initiale
1	A'	21,8	15,4	ND
1	B	9,4	ND	ND
1	B'	2,2	ND	ND
2	A'	14,4	ND	ND
2	B	7,3	ND	ND

II.2.2. Traitement de la liqueur alcaline

En parallèle, les protocoles d'acidolyse (§II.2.1) ont été appliqués directement sur la liqueur alcaline pour étudier l'influence de l'ordre des étapes d'extraction (NB : *Précipitation en milieu acide de la lignine à partir de la liqueur puis acidolyse de la « lignine Ins HCl » vs acidolyse de la liqueur puis précipitation de la lignine en milieu acide*). Dans ce cas également, une augmentation de la masse molaire des fractions récupérées est observée (cf Figure 30). Cette étude ne sera donc pas poursuivie.

Il semblerait qu'à l'inverse du résultat souhaité et attendu, l'acide chlorhydrique provoque des réactions de condensation au lieu de fragmenter la lignine. Cependant, la solubilité dans l'éthanol de ces fractions riches en lignine a permis de les récupérer. Il a semblé judicieux de traiter la liqueur uniquement à l'éthanol et de s'affranchir de l'acide chlorhydrique afin d'éviter les réactions de condensation.

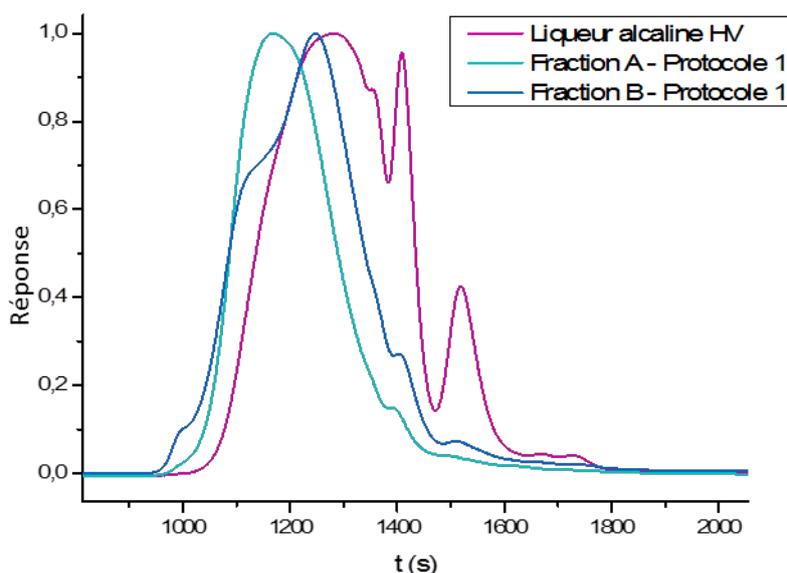


Figure 30: Chromatogrammes SEC de la liqueur HV et des fractions A et B issues du protocole d'acidolyse 1 appliqué à la liqueur alcaline (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

II.3. Traitement à l'éthanol de la liqueur alcaline

Le traitement à l'éthanol de la liqueur HV a permis de récupérer deux fractions: une fraction « Soluble EtOH » et une fraction « Insoluble EtOH ». Les chromatogrammes SEC de ces fractions sont représentés à la Figure 31. Les profils SEC montrent que ce

traitement entraîne une bonne séparation des populations en fonction de leur masse molaire. En effet, les populations de faible masse molaire se retrouvent dans la fraction « Soluble EtOH » tandis que les populations de fortes masse se retrouvent dans la fraction « Insoluble EtOH ». Il est important de noter qu'aucune réaction de condensation n'a lieu, ce qui confirme que la présence d'acide chlorhydrique lors des traitements décrits précédemment entraîne ces réactions secondaires. Les contenus en lignine et en minéraux de ces fractions ont été déterminés ; les valeurs sont répertoriées dans le Tableau 9. La faible constitution en lignine (13%) et en minéraux (2%) de la fraction « Soluble EtOH » signifie que cette fraction contient majoritairement des sucres et/ou des dérivés de sucres et certainement des auxiliaires de fabrication. Concernant la fraction « Insoluble EtOH », elle contient un mélange de lignine (37,7%), de minéraux (24,7%) et de sucres dérivés et auxiliaires de fabrication (37,6% calculé par différence). Afin de vérifier les hypothèses émises, plusieurs analyses structurales ont été effectuées sur les fractions soluble et insoluble dans l'éthanol.

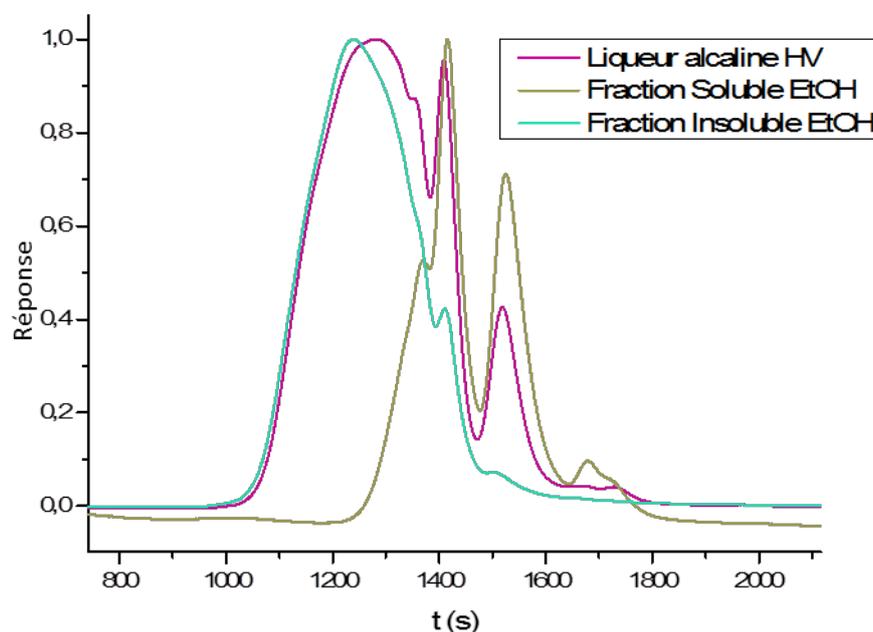


Figure 31: Chromatogrammes SEC de la liqueur alcaline et des fractions « Soluble » et « Insoluble EtOH » après traitement à l'éthanol de la liqueur (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

Tableau 9: Contenu en lignine et en minéraux des fractions « Soluble » et « Insoluble EtOH »

*Valeur calculée par différence

Fractions	Rendement massique (%)	Teneur en lignine (%)	Teneur en minéraux (%)	Autre (auxiliaires de fabrication + sucres & dérivés)* (%)
Soluble EtOH	46,2	13	2	85
Insoluble EtOH	53	37,7	24,7	37,6

II.3.1. Analyse de la fraction « Soluble EtOH »

La fraction « Soluble EtOH » contenant les faibles masses molaires a été analysée par RMN ^1H et IRFT. La RMN ^1H (Figure 32) montre la présence de nombreux signaux entre 3,5 et 4,5 ppm, caractéristiques des sucres. On note l'absence de signaux dans la zone des protons aromatiques (entre 6 et 8 ppm). Le signal à 8,5 ppm pourrait correspondre au signal d'un proton type aldéhyde. L'analyse IRFT (Figure 33) montre la présence d'un signal important à 1593 cm^{-1} qui se déplace après acidification à 1736 cm^{-1} . Ce phénomène est caractéristique des fonctions carboxylates qui après acidification se retrouvent sous forme d'acide carboxylique. Ici encore, l'absence des bandes de vibration caractéristiques du squelette aromatique (1400 , 1510 et 1600 cm^{-1}) est notée. Enfin, la région entre 1300 et 1000 cm^{-1} correspond aux vibrations diverses C-O, C-H et C=O retrouvées dans les sucres. Ces résultats confirment l'hypothèse selon laquelle la fraction « Soluble EtOH » est riche en sucres et que ceux-ci peuvent être présents sous formes dérivées tels que les acides sacchariniques [21], composés souvent rencontrés lors des cuissons papetières alcalines (Figure 34). Des analyses approfondies de cette fraction soluble dans l'éthanol sont décrites au chapitre 3, §VII.

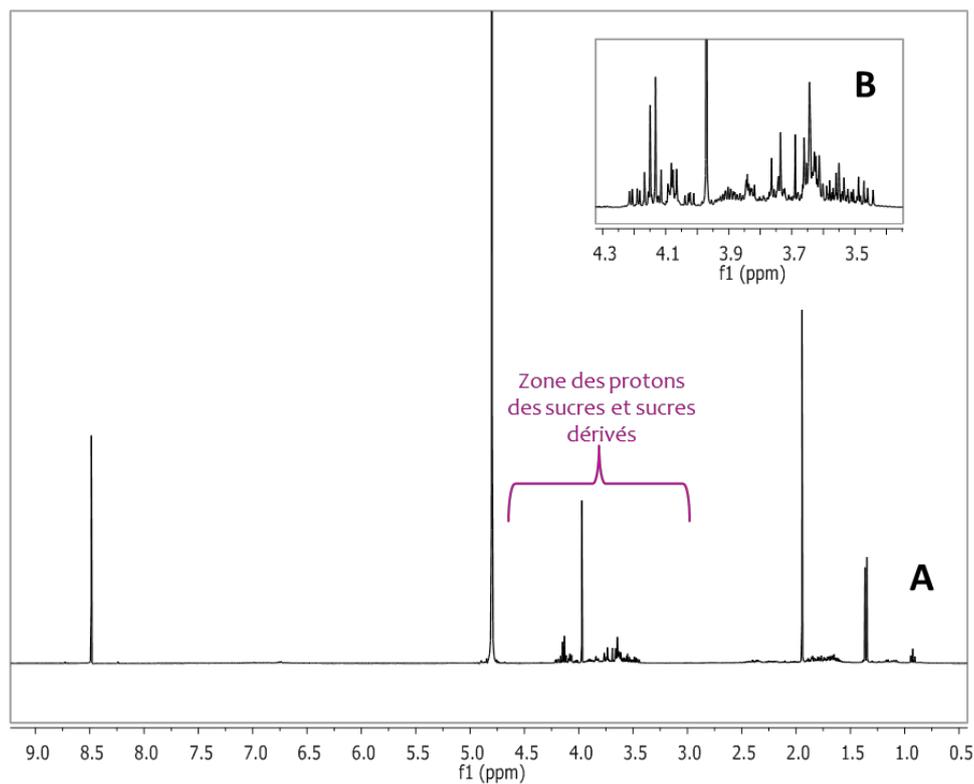


Figure 32: Analyse RMN ¹H dans le D₂O de la fraction « Soluble EtOH » après traitement de la liqueur alcaline à l'éthanol (A) et agrandissement de la zone entre 3 et 4,3 ppm (B)

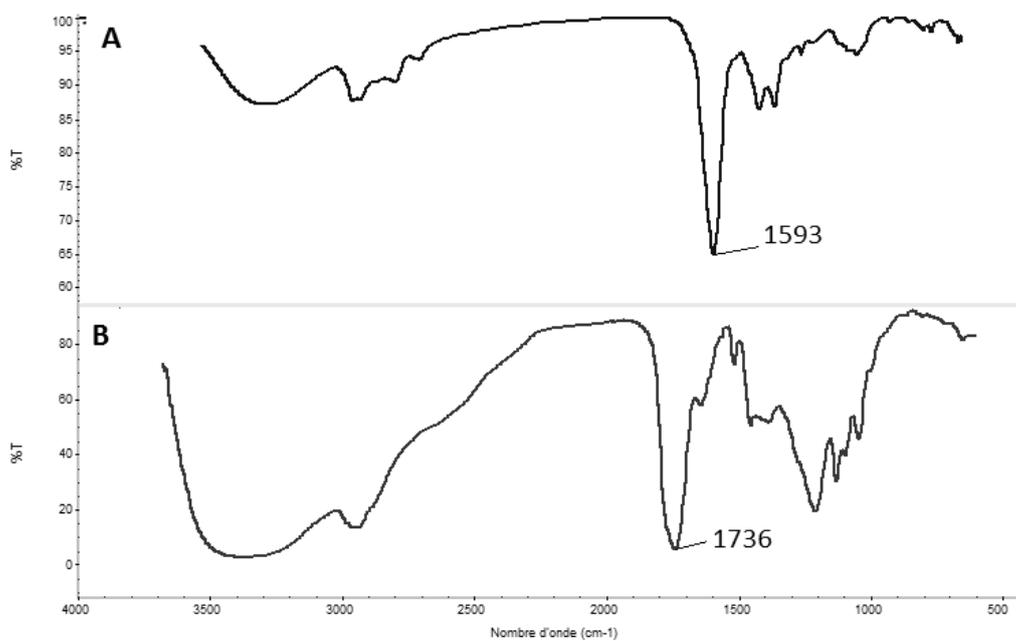


Figure 33: Analyse IRFT de la fraction « Soluble EtOH » après traitement de la liqueur alcaline à l'éthanol.
A : Avant acidification, B : Après acidification

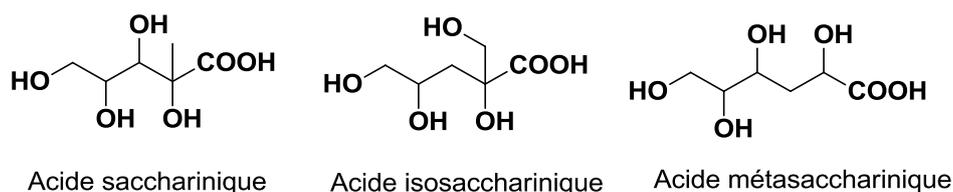


Figure 34: Exemple de structures de dérivés de sucres sous forme d'acides sacchariniques rencontrées lors des cuissons papetières

II.3.2. Analyse de la fraction « Insoluble EtOH »

La fraction « Insoluble EtOH » qui contient les hautes masses molaires a également été caractérisée (RMN ^1H , IRFT, teneur en lignine et taux de cendres). Cette fraction contient un mélange de lignine (37,7%), de sucres dérivés (37,6%) (détectables par RMN ^1H et IRFT comme précédemment pour la fraction « Soluble EtOH ») et de minéraux (24,7%). La séparation de ces trois composés est difficile car l'acidification du milieu jusqu'au pH $\sim 1-2$ n'entraîne pas de précipitation de la lignine. Il est également possible que la dilution du milieu soit une des causes de la non-précipitation de la lignine.

II.4. Conclusion

Le traitement par un mélange éthanol/acide chlorhydrique entraîne des réactions de condensation qui ont pour effet d'augmenter la masse molaire de la lignine. De ce fait, les fractions obtenues sont riches en lignine (environ 88%) mais celles-ci ont une masse molaire supérieure à celle présente dans la fraction obtenue après traitement à l'éthanol. Le traitement à l'éthanol de la liqueur a permis de séparer les populations de fortes masses molaires et de faibles masses (qui sont majoritairement des sucres et sucres dérivés) sans augmentation de la masse molaire de la lignine. Cependant les fractions obtenues sont pauvres en lignine, riches en impuretés (minéraux et sucres) et difficiles à manipuler (viscosité, solubilité).

Il a semblé judicieux d'appliquer un traitement à l'éthanol seul (afin d'éviter les réactions de condensation) à la lignine précipitée en milieu HCl (car la lignine précipitée est déjà purifiée des minéraux et de certains sucres présents dans la liqueur). Les fractions

obtenues contiendront alors moins d'impuretés. De plus, un traitement à l'éthanol de la « lignine Ins HCl » permettra d'augmenter la valeur de la pureté en lignine en séparant les sucres et sucres dérivés restants.

III. Purification de la lignine précipitée (lignine Ins. HCl) par des solvants sélectifs

III.1. Purification à l'éthanol de la lignine « Insoluble HCl »

Compte tenu des résultats du traitement à l'éthanol sur la liqueur HV, celui-ci a été appliqué sur la lignine précipitée en milieu HCl car cette étape permet d'éliminer la totalité des minéraux ainsi qu'une partie des sucres et sucres dérivés. Le protocole suivi est le même que celui réalisé sur la liqueur HV. Les deux fractions obtenues « soluble EtOH » et « insoluble EtOH » (ou « insoluble HCl – insoluble EtOH ») ont été analysées. A nouveau, les chromatogrammes SEC montrent que l'éthanol permet une bonne séparation des différentes populations en fonction de leur masse molaire (Figure 35). Les caractérisations chimiques de la fraction « Soluble EtOH », comprenant les populations de faible masse molaire, ont montré la présence de sucres et sucres dérivés. En effet, la RMN ^1H (Figure 36) dans le DMSO- d_6 montre la présence des signaux caractéristiques des sucres entre 3,5 et 4,5 ppm et des signaux correspondant aux protons aromatiques entre 6,5 et 7,5 ppm avec un rapport d'intégration protons sucres/ protons aromatiques = 9. Cela signifie que cette fraction contient majoritairement des sucres et sucres dérivés. Les signaux à 7,75 et 8,25 ppm correspondent aux signaux d'auxiliaires de fabrication. Le signal à 1745 cm^{-1} de l'analyse IRFT (Figure 37) montre que les sucres sont présents sous forme de dérivés contenant des fonctions acide carboxylique. La fraction « Insoluble HCl - Insoluble EtOH » représente 90% en bilan massique par rapport à la masse de lignine « Insoluble HCl » et ces deux dernières sont de masse molaire égale. Cette fraction est caractérisée en termes de pureté en lignine (Klason & ASL) et de teneur en minéraux dont les valeurs sont répertoriées dans le Tableau 10. Cette fraction est pure à 78,2% en lignine et contient 68,8% de la lignine initialement présente dans la liqueur alcaline. Les 5,2 % de lignine perdu correspondent certainement à de la lignine de faible masse molaire soluble dans l'éthanol. Ce solvant a été reconnu comme pouvant solubiliser des fragments de lignine de faibles masses molaires [19, 20].

En résumé, ce traitement est pertinent car il permet une augmentation de la pureté en lignine de l'échantillon obtenu (Ins HCl – Ins EtOH) en séparant les sucres et sucres dérivés et les auxiliaire de fabrication qui se retrouvent solubles dans l'éthanol. Le traitement à l'éthanol permet de récupérer des échantillons en lignine pure à 78,2% correspondant à 68,8% de la lignine présente dans la liqueur alcaline de départ. Afin d'augmenter la pureté en lignine de cet échantillon, une étape supplémentaire de purification est nécessaire. Dans l'hypothèse où les impuretés restantes seraient des sucres et sucres dérivés, l'eau acidifiée (pH=2) est la mieux adaptée pour cette purification supplémentaire afin de solubiliser les « impuretés » tout en limitant les pertes en lignine.

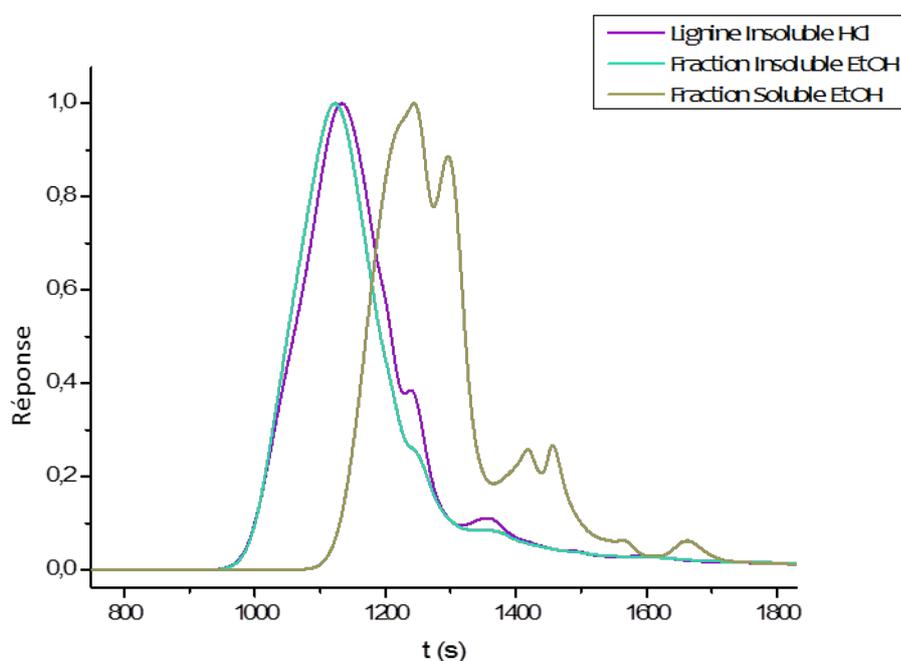


Figure 35: Chromatogrammes SEC des fractions « Solubles » et « Insolubles EtOH » après traitement à l'éthanol de la lignine insoluble HCl (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

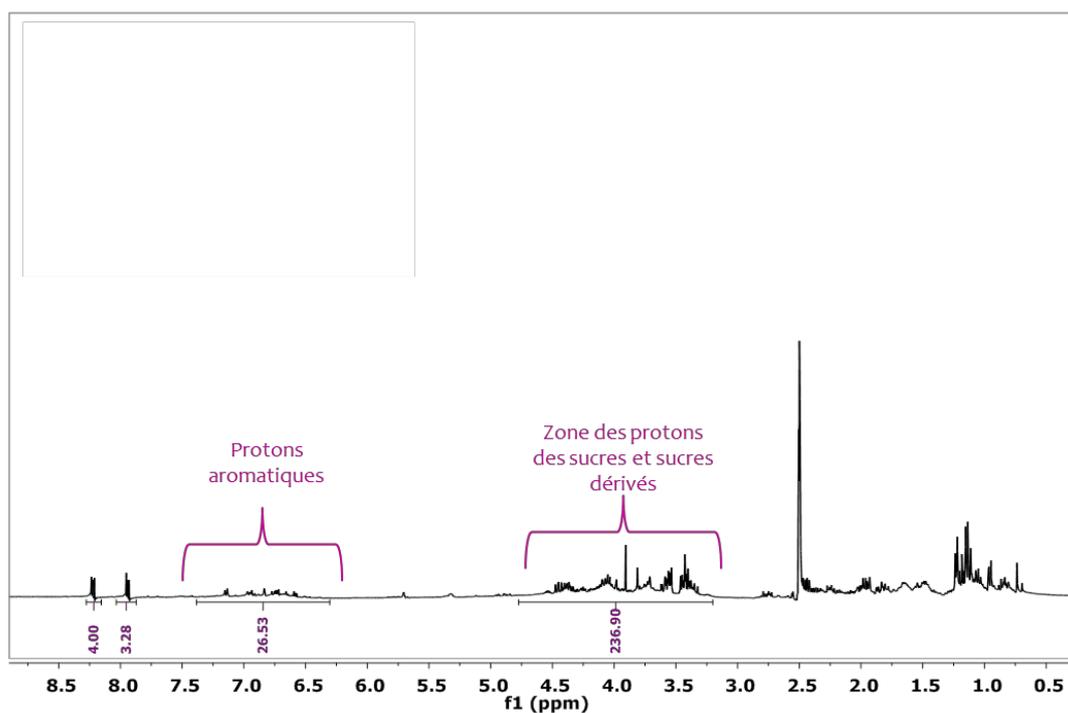


Figure 36: RMN ¹H de la fraction « Soluble EtOH » après traitement à l'éthanol de la lignine « Insoluble HCl » dans le DMSO-d₆

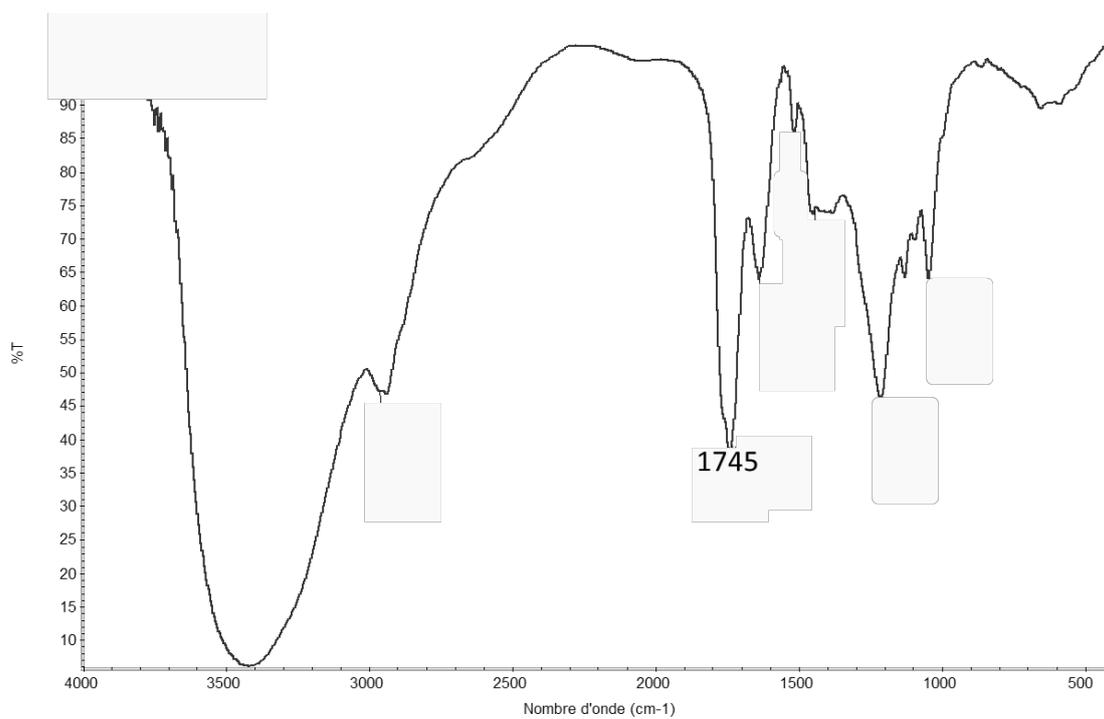


Figure 37: IRFT de la fraction « Soluble EtOH » après traitement à l'éthanol de la lignine « Insoluble HCl »

Tableau 10: Caractéristiques de la lignine Ins HCl - Ins EtOH issue du traitement à l'éthanol de la lignine Ins HCl

	Pureté en lignine (%)	Teneur minéraux (%)	M _p (g/mol)	%/ Lignine alcaline initiale
Liqueur alcaline HV	34.8	39.4	5700	100
Lignine Ins. HCl	75	0.8	9700	74
Lignine Ins. HCl – Ins. EtOH	78,2	0.8	9700	68,8

III.2. Purification à l'eau acidifiée de la lignine « Insoluble HCl – Insoluble EtOH »

La fraction « Ins. HCl- Ins. EtOH » a été purifiée par lavage à l'eau acidifiée. L'utilisation d'eau acidifiée (pH=2) permet d'éviter au maximum que les populations de lignine de faible masse soient solubilisées. Ici encore, deux fractions ont été obtenues: une fraction « Soluble Eau » et une fraction « Insoluble Eau » (ou Ins. HCl- Ins. EtOH- Ins H₂O). La superposition des chromatogrammes SEC (Figure 38) montre que ce traitement a permis de séparer les molécules en fonction de leur masse molaire ; les composés de faible masse se retrouvent dans la fraction « Soluble Eau », il s'agit, comme attendu, de sucres et sucres dérivés (déterminé par RMN ¹H et IRFT comme précédemment). Les fortes masses molaires se retrouvent dans la fraction « Insoluble Eau » qui représente 89% en bilan massique. Cette dernière fraction, riche en lignine (Klason & ASL : 95%) représente 68,1% de la lignine initialement présente dans la liqueur alcaline de départ. Ces valeurs sont répertoriées dans le Tableau 11. Le traitement à l'eau acidifiée a, comme attendu, permis d'augmenter la pureté en lignine de l'échantillon en séparant les sucres & sucres dérivés restants. La valeur de pureté (95%) est très satisfaisante. Il est possible que les 5% restant correspondent à des sucres dérivés ayant une structure insaturée et/ou qu'ils

soient liés de façon covalente à la lignine. Ceci expliquerait pourquoi ils ne sont pas éliminés par le traitement à l'eau acidifiée.

Avant de valider ce protocole d'extraction et purification, il est nécessaire d'optimiser les différentes étapes, en particulier l'étape de précipitation en milieu acide qui est l'étape où la perte en lignine de la liqueur est la plus importante (26%).

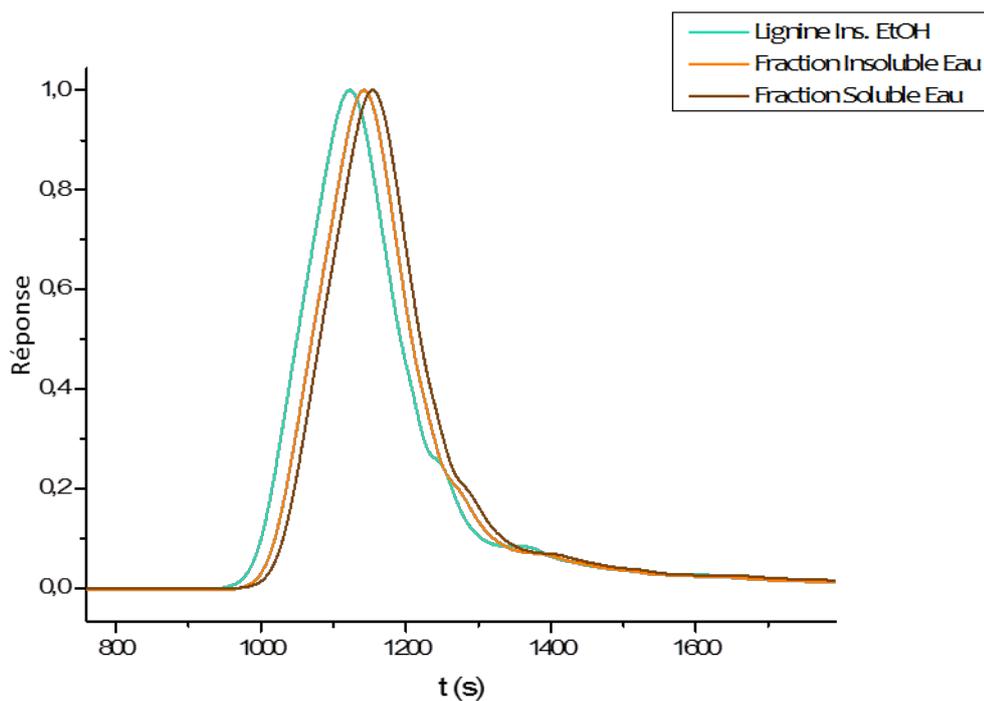


Figure 38: Chromatogrammes SEC des fractions « Soluble » et « Insoluble Eau » après traitement à l'eau acidifiée de la fraction « Insoluble Ethanol » (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

Tableau 11: Caractéristiques de la lignine Ins HCl - Ins EtOH – Ins Eau issue du traitement à l'eau acidifiée de la lignine Ins EtOH

	Pureté en lignine (%)	Teneur minéraux (%)	M _p (g/mol)	%/ Lignine alcaline initiale
Liqueur alcaline HV	34.8	39.4	5700	100
Lignine Ins. HCl	75	0.8	9700	74
Lignine Ins. HCl – Ins EtOH	78,2	0.8	9700	68,8
Lignine Ins HCl- Ins EtOH- Ins H ₂ O	95	0	9700	68,1

IV. Optimisation des différentes étapes du protocole

Le protocole permettant l'extraction de la lignine à partir de la liqueur alcaline est maintenant établi :

1. Précipitation en milieu acide (HCl, 1M) à partir de la liqueur alcaline → *Ins. HCl* (pureté en lignine 75%)
2. Traitement à l'éthanol de l'*Ins. HCl* → *Ins. EtOH* (pureté en lignine 78,2%)
3. Traitement à l'eau acidifiée de l'*Ins EtOH* → *Ins. H₂O* (pureté en lignine 95%)

Cependant, il est encore possible d'optimiser certaines étapes pour améliorer la qualité et/ou le rendement en lignine extraite.

IV.1. Pré-traitement en autoclave de la liqueur alcaline

Puisque la liqueur alcaline contient de la lignine, des sucres, de la soude et des auxiliaires de fabrication (tous les réactifs nécessaires à la délignification), il a semblé intéressant d'étudier le comportement de la liqueur en condition de cuisson par un traitement en autoclave, à 150°C. Le but est de réaliser une fragmentation des liaisons éther inter-unités

résiduelles. Ceci aurait comme conséquence une diminution de la masse molaire de la lignine.

Les chromatogrammes SEC des lignines précipitées à partir de liqueurs traitées ou non en autoclave à 150° sont présentés à la Figure 39. Comme attendu, une diminution de la masse molaire de la lignine pré-traitée en autoclave est observée ($M_p=2500$ g/mol). Le pré-traitement en autoclave permet donc de fragmenter la lignine présente dans la liqueur. L'ajout d'oxygène lors de ce pré-traitement n'apporte rien de plus. Il a été donc convenu que la liqueur alcaline serait désormais pré-traitée en autoclave, à 150°C avant l'étape de précipitation en milieu acide.

Un suivi cinétique de l'évolution des masses molaires en fonction du temps a ensuite été réalisé afin de déterminer un optimum du traitement en autoclave pour la fragmentation de lignine. Les courbes obtenues (Figure 40) montrent que ce temps est de 10 heures ; au delà, il se produit des réactions de condensation qui ont pour conséquence une augmentation des masses molaires. Cependant, plus le temps passé en autoclave est long, plus il y a fragmentation et plus la formation **d'un résidu carboné solide et insoluble** est observée. Ce résidu, représentant environ 10% en bilan massique, contient une teneur en minéraux de 29% et est difficilement caractérisable car il est insoluble dans les solvants usuels. Après mise en présence de D₂O pendant plusieurs jours sous agitation, une infime partie de ce résidu a été analysable par RMN ¹H qui a révélé la présence de sucres et sucres dérivés (signaux entre 3,5 et 4,5 ppm) (Figure 41). La teneur en lignine de la liqueur pré-traitée après filtration a donné une valeur de 24%, soit 10% en moins en comparaison à la liqueur non pré-traitée (cf §I.2). Ces 10% se retrouvent donc dans le **résidu solide**. Toutes ces caractérisations ont montré que le résidu solide formé est vraisemblablement composé d'un mélange de minéraux, de sucres et d'un réseau condensé de lignine. Il a été montré que lorsque le bois est chauffé à des températures supérieures à 120°C, la lignine subissait des réactions de condensations [22]. Selon Van de Klashorst [23], en milieu alcalin, les groupements hydroxyle en position α des intermédiaires de type méthylène-quinone réagissent avec d'autres fragments de lignine pour former une liaison méthylène stable. Il a également été montré que lors des réactions de dépolymérisation de la lignine, la formation de radicaux [24, 25] et/ou la formation de liaisons C-C [26]

conduisait à des structures complexes aromatiques de lignine auto-condensées [27]. A ce stade, un compromis doit être trouvé pour le pré-traitement en autoclave de la liqueur alcaline HV afin d'obtenir une bonne fragmentation de la lignine tout en évitant la formation de résidus carbonés. Après plusieurs essais à différents temps, l'optimum est établi à **3 heures** pour cette liqueur. Ce pré-traitement permet d'obtenir des échantillons de lignine de masse molaire de **7000 g/mol** inférieure à celle de la lignine présente dans la liqueur alcaline.

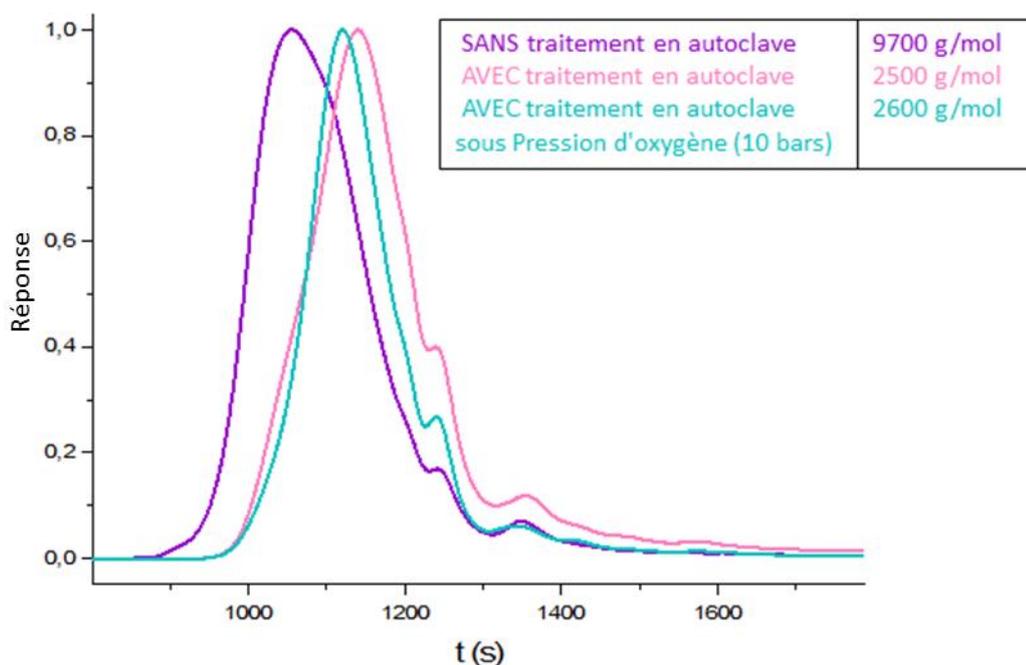


Figure 39: Chromatogrammes SEC des lignines Ins. HCl après traitement de la liqueur alcaline en autoclave sous pression d'oxygène ou non et valeurs des masses molaires au pic (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

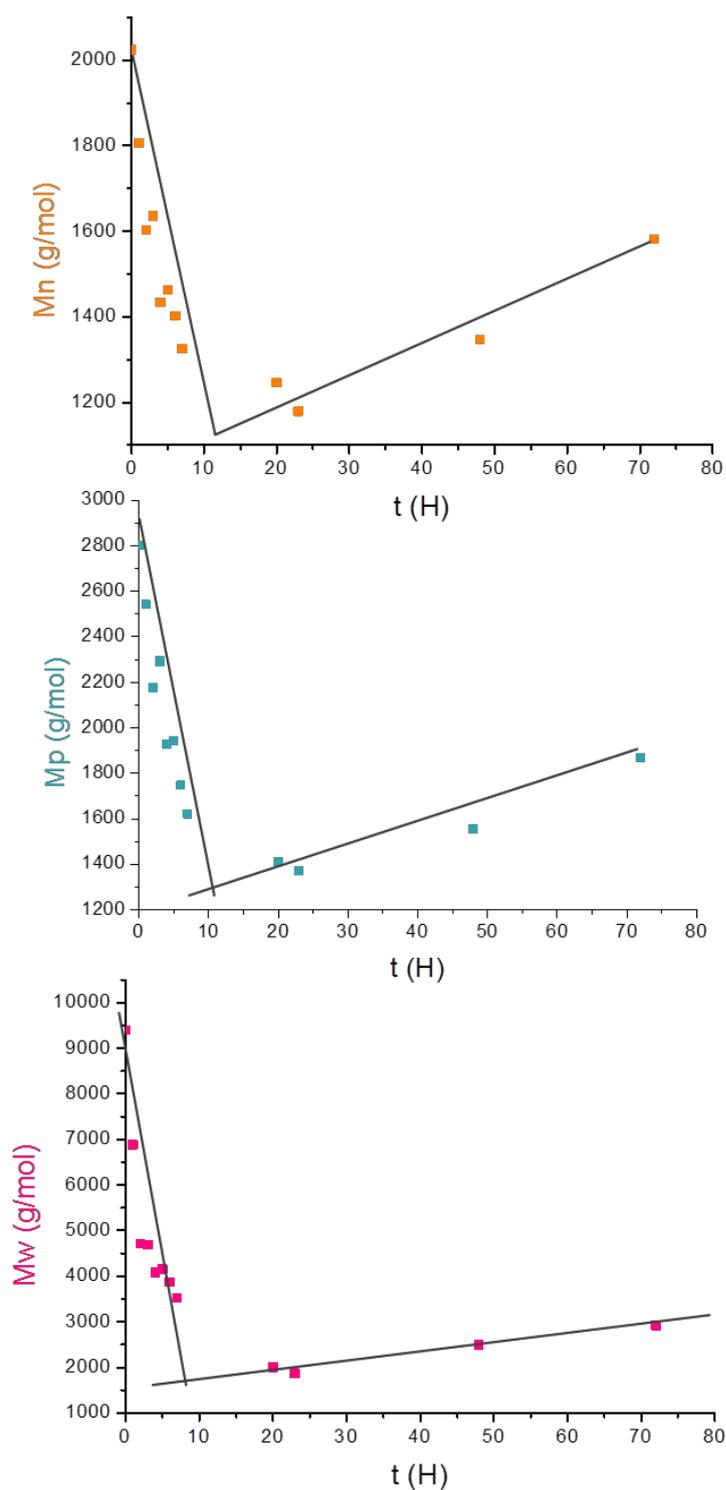


Figure 40: Evolution des valeurs de \bar{M}_n , M_p et \bar{M}_w de la liqueur alcaline traitée en autoclave en fonction du temps.

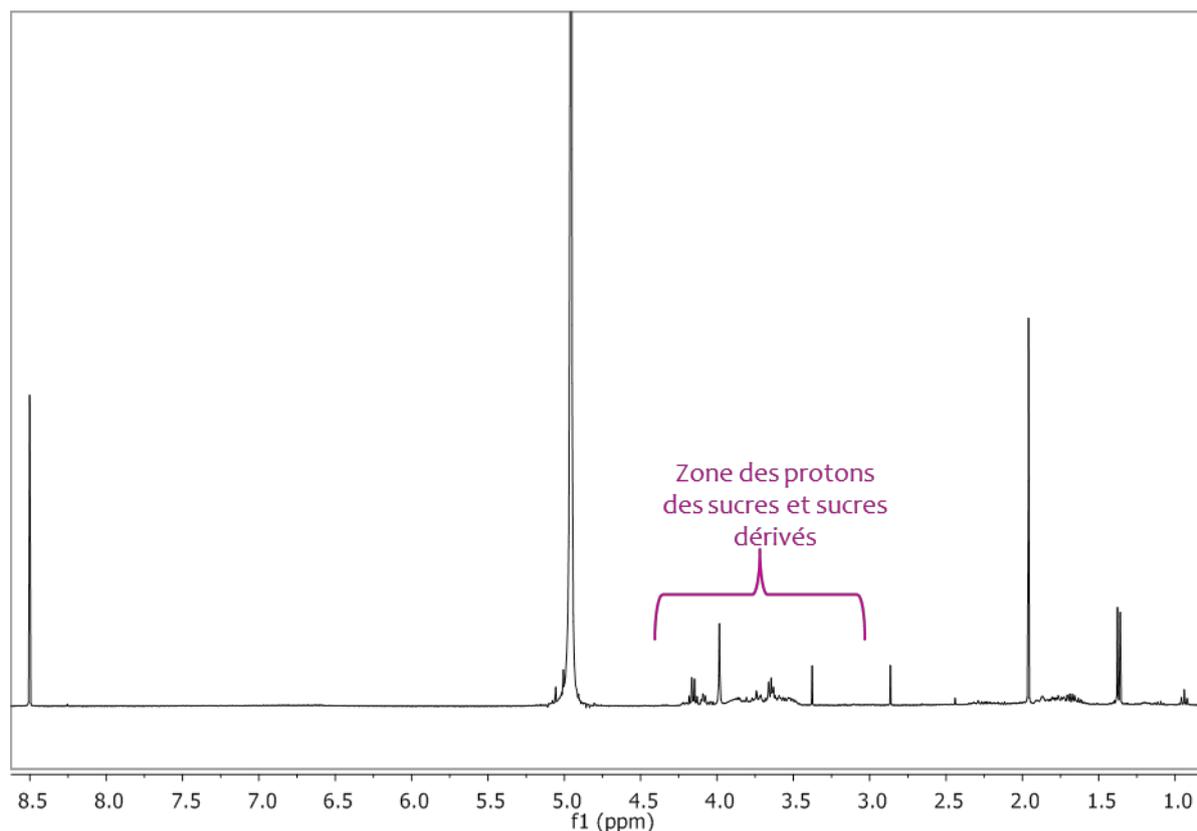


Figure 41: RMN ¹H dans D₂O de la partie soluble des résidus carbonés récupérés après traitement en autoclave de la liqueur alcaline

IV.2. Optimisation de l'étape de précipitation

Un contrôle de l'étape de précipitation en milieu acide a été réalisé afin de limiter les pertes en lignine lors de l'extraction. Il a été proposé de réaliser une précipitation en sens inverse (liqueur dans acide) ainsi qu'une précipitation sélective (caractérisation des fractions obtenues à différents pH).

IV.2.1. Précipitation classique vs précipitation inverse

Afin d'optimiser le rendement en lignine, une étude sur le sens d'ajout de l'acide lors de l'étape de précipitation a été établie.

Classiquement, l'étape de précipitation se fait en ajoutant progressivement une solution d'acide chlorhydrique (1M) à la liqueur sous agitation jusqu'à ce que le pH atteigne une valeur entre 1 et 2. Cette méthode est comparée à la méthode dite « inverse » qui consiste à ajouter la liqueur dans l'acide. Cette étude permet de mettre en évidence si la

précipitation de la lignine est favorisée (en entraînant moins d'impuretés) selon que l'acide soit ajouté dans un sens ou dans l'autre. Si tel est le cas, une différence sera notée au niveau du rendement par rapport à la lignine initialement présente dans la liqueur et au niveau de la pureté en lignine des fractions précipitées. Le chromatogramme SEC (Figure 42) ainsi que les valeurs de teneur en lignine (Tableau 12) ne montrent aucune différence pour les deux méthodes. Il a donc été convenu que la précipitation sera toujours réalisée par voie classique car il s'agit de la méthode la moins contraignante.

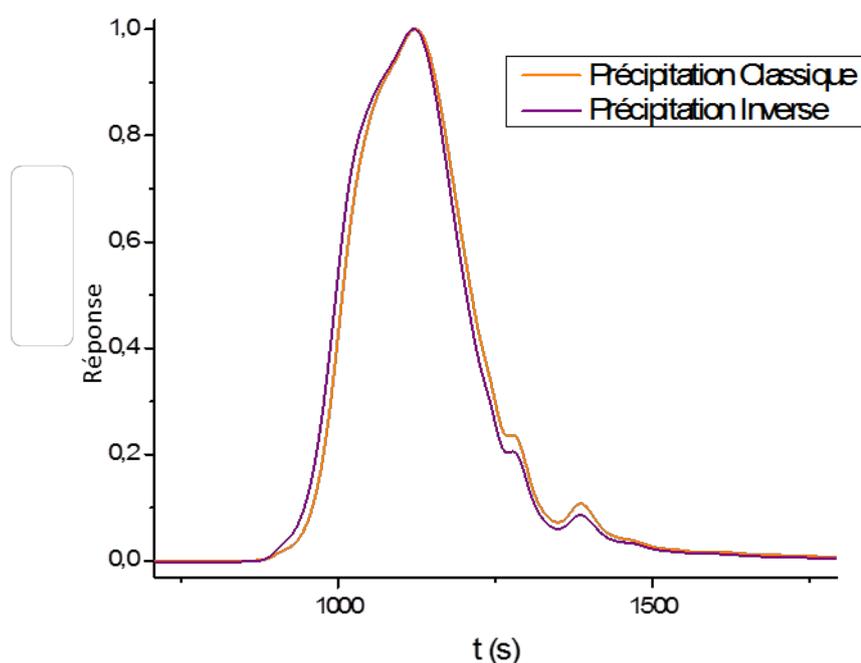


Figure 42: Chromatogrammes SEC des lignines précipitées par voie classique et par voie inverse (solvant, H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

Tableau 12: Caractérisation des lignines précipitées par voie classique et par voie inverse

Protocole	Masse au pic (g/mol)	Pureté en lignine (%)	Teneur en minéraux (%)
Précipitation classique de la liqueur non traitée	5500	75	0,8
Précipitation inverse de la liqueur non traitée	5500	74	1

IV.2.2. Précipitation sélective

Lors de la précipitation en milieu acide, une première précipitation est observée aux alentours de pH=8 correspondant à la transformation des fonctions phénol ($pK_a \sim 9-10$) et une seconde à pH=6 correspondant à celle des fonctions acide carboxylique ($pK_a \sim 4-5$) [16]. La séparation suivie de la caractérisation des fractions obtenues après précipitation à pH ~ 7 (fraction 1) puis à pH $\sim 1,3$ (fraction 2) permettra d'établir si les espèces présentes dans la liqueur alcaline peuvent être précipitées de façon sélective (fractions de lignine riches en phénols vs fractions de lignine riches en acides carboxyliques).

Les chromatogrammes SEC montrent que la précipitation sélective n'a pas d'influence sur les masses molaires des deux fractions obtenues (Figure 43). Les rendements et valeurs des masses au pic sont répertoriés dans le Tableau 13. La nature des groupements hydroxyle de chaque fraction n'a pas pu être déterminée à cause de problèmes rencontrés lors de l'analyse RMN ^{31}P . Cependant, il n'a pas semblé judicieux de poursuivre cette étude en raison du rendement très faible de la fraction 2 ($r=1,7\%$). Ce rendement faible laisse supposer que la présence de phénol dans la lignine entraîne une précipitation majoritaire de celle-ci lors de l'acidification jusqu'au pH=7 (fraction 1) malgré la présence

de fonctions acide carboxylique. Les populations précipitées à la fraction 2 ne contiennent certainement pas de phénols.

Dans la littérature, quelques rares publications traitent de la précipitation par l'acide sulfurique, à différents pH, des lignines à partir de liqueur kraft. Les échantillons obtenus sont caractérisés pour déterminer la pureté et non leur structure (différence de couleurs, IRFT et analyses thermiques) [9]. Parfois, les analyses SEC sont effectuées et montrent que plus le pH de précipitation est bas, plus les masses molaires sont élevées [8] (\bar{M}_n entre 2000 et 3000 g/mol). Enfin, une étude a montré que la proportion en groupements carboxyliques (déterminé par dosage) n'avait pas d'évolution linéaire avec le pH de précipitation [15]. Cependant, les proportions de groupements carboxyliques sont tout de même plus importantes pour les fractions précipitées à pH=2 que celles précipitées à pH=6 (0,2% contre 0,1% respectivement). Les fractions précipitées à pH acide sont donc celles qui contiennent le plus de groupements acides carboxyliques.

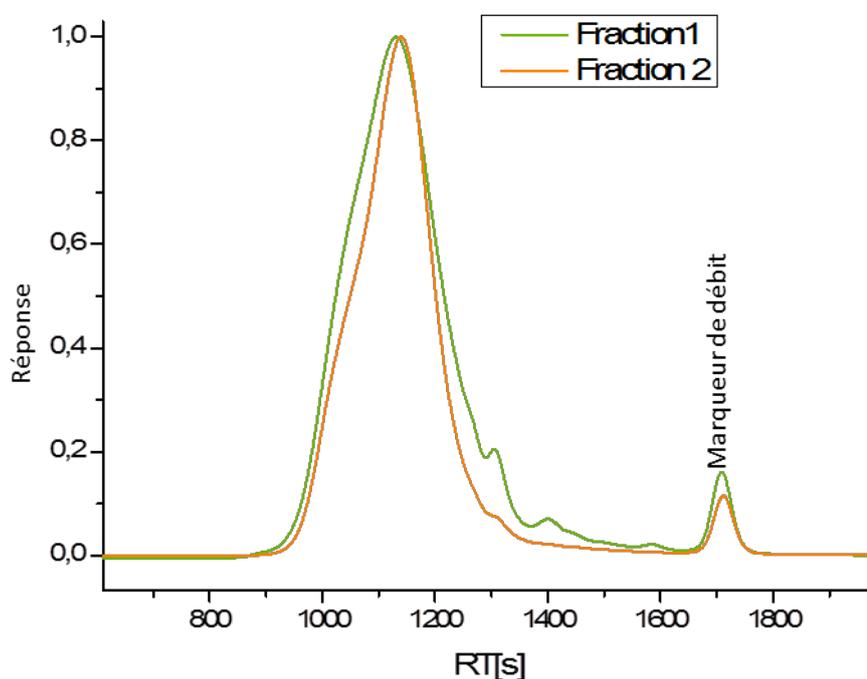


Figure 43: Chromatogrammes SEC des lignines récupérées après précipitation sélective (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

Tableau 13: Caractérisation des fractions obtenues après précipitation sélective de la lignine à partir de la liqueur alcaline

	Masse au pic (g/mol)	Rendement massique (%)
Fraction 1 (précipitée pH=7)	5600	60,9
Fraction 2 (précipitée pH=1,3)	4900	1,3

IV.3. Optimisation de la purification à l'éthanol et de la purification à l'eau acidifiée

L'optimisation de la purification à l'éthanol de la « lignine Ins. HCl » est réalisée en faisant varier deux paramètres : le temps et la température. Dans un premier temps, l'influence de la température du traitement est établie. Pour cela, le temps d'agitation est fixé à 1 heure. Les résultats en termes de rendement massique et de pureté en lignine de la « lignine Ins HCl- Ins EtOH » sont répertoriés dans le Tableau 14. Le traitement à température ambiante semble être le plus approprié car il permet d'obtenir un échantillon plus pur en lignine (78%) avec un rendement massique plus important que pour le traitement effectué à 78°C. Dans un second temps, afin d'évaluer l'influence du temps de traitement, la température est fixée à l'ambiante et les fractions sont analysées après 30 minutes et 1 heure de traitement. Le Tableau 15 répertorie les valeurs obtenues. Au bout de 30 minutes, le rendement massique est plus important mais la pureté en lignine est plus faible que pour le traitement effectué en 1 heure (75% contre 78%). Les conditions optimales pour obtenir des échantillons les plus purs possible en lignine sont de réaliser ce traitement pendant 1 heure à température ambiante.

Concernant l'étape de purification à l'eau acidifiée, les conditions appliquées ont été les mêmes que pour la purification à l'éthanol : 1 heure à température ambiante. Ces conditions ont permis d'obtenir des échantillons en lignine purs à 95% (§III.2). Ce résultat peut difficilement être amélioré.

Tableau 14: Optimisation de l'étape de purification à l'éthanol: Variation de la température

Température	Rendement (%)	Pureté en lignine (%)
T° ambiante	76	78
78°C	72	71

Tableau 15: Optimisation de l'étape de purification à l'éthanol: Variation du temps

Température	Rendement (%)	Pureté en lignine (%)
1 heure	76	78
30 minutes	83	75

IV.4. Conclusion & validation du protocole

Le protocole permettant l'extraction de la lignine à partir de la liqueur alcaline HV (32% en matière sèche) est maintenant établi :

1. Pré-traitement en autoclave de la liqueur alcaline (3H, 150°C)
 - Diminution de la masse molaire de la lignine
2. Précipitation en milieu acide (HCl, 1M) à partir de la liqueur alcaline
 - Ins. HCl (pureté en lignine 74%)
3. Traitement à l'éthanol de l'Ins. HCl (1H, T°amb)
 - Ins. EtOH (pureté en lignine 78,2%)
4. Traitement à l'eau acidifiée de l'Ins EtOH (1H, T°amb)
 - Ins. H₂O (pureté en lignine 95%)

Le pré-traitement en autoclave de la liqueur permet de diminuer la masse molaire de la lignine en rompant certainement les liaisons les moins stables : les éthers de type β -0-4 ou

α -o-4 résiduelles. La précipitation en milieu acide à partir de la liqueur permet d'extraire la lignine de la liqueur en éliminant la grande majorité des minéraux ainsi que certains sucres & dérivés considérés comme des impuretés. La purification à l'éthanol permet d'éliminer, par solubilisation, certains sucres & dérivés ainsi que des auxiliaires de fabrication. Enfin, la purification à l'eau acidifiée permet d'éliminer les sucres et sucres dérivés restants. Ce protocole d'extraction et de purification permet d'obtenir des échantillons purs à 95% en lignine et de récupérer 68% de la lignine présente dans la liqueur alcaline de départ. Le protocole global est résumé à la Figure 44.

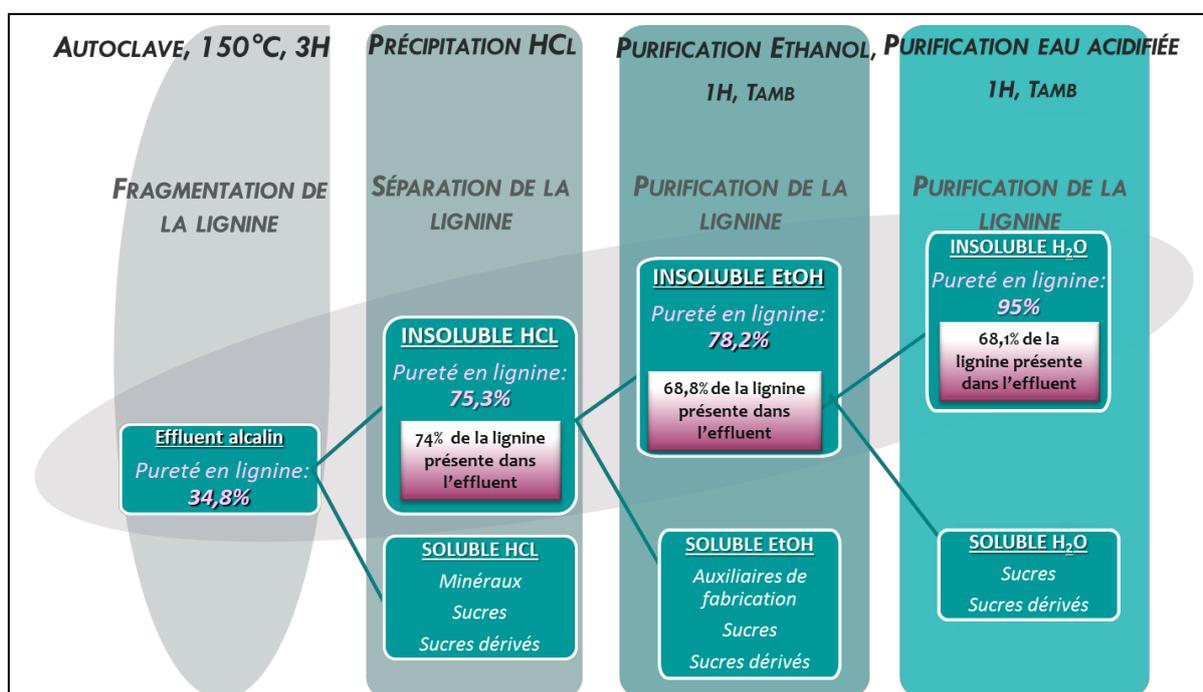


Figure 44: Protocole d'extraction et purification de la lignine à partir de la liqueur alcaline

V. Application du protocole pour l'extraction d'une grande quantité de lignine pure

Le protocole d'extraction et de purification de la lignine à partir de la liqueur alcaline HV étant optimisé et validé, il est nécessaire de l'appliquer à différents lots et à plus grande échelle afin d'extraire et purifier une quantité de lignine suffisante pour mener à bien les travaux de recherche pendant la thèse.

La capacité maximale de l'autoclave étant d'environ 500 ml, 6 « lots » de liqueur alcaline (soit 6 fois 580g de liqueur ou 6 fois 182g exprimé en matière sèche) provenant d'un

même bac de prélèvement ont été traités à la suite pendant 3 heures à 150°C puis la lignine a été précipitée en milieu acide. Avant de rassembler les 6 « lots » de lignine précipitée en milieu acide, un contrôle par SEC dans le THF après acétylation des lignines (Figure 45) a été réalisé, le signal à 1780 s correspond aux auxiliaires de fabrication. Le profil des 6 échantillons étant similaires, les 6 lots ont été rassemblés afin de procéder à la purification à l'éthanol puis à l'eau acidifiée. Ces purifications ont été effectuées dans un réacteur de 6 litres muni d'une agitation mécanique à hélice. 3,5 litres d'éthanol et 3 litres d'eau acidifiée ont été nécessaires. La lignine finale a été mise à sécher pendant 5 jours sous vide en présence de P₂O₅ (régulièrement changé) jusqu'à atteindre une siccité de 95%. Sur un total de 3 litres de liqueur, 184g de lignine ont été récupérés à la fin du procédé, soit un rendement massique de 20% par rapport à la matière sèche de la liqueur et 50% par rapport à la lignine alcaline de départ. Cette valeur est inférieure à celle obtenue lors de l'application du protocole à échelle analytique (68%) ; les pertes en lignine ont donc été plus importantes lors de l'application du protocole à large échelle.

La pureté de la lignine obtenue a été contrôlée à partir de trois prélèvements. (Tableau 16). Les valeurs sont différentes pour les trois prélèvements allant d'une pureté de 83,6 à 93,6%. Une moyenne de 88% peut être faite ce qui est bien inférieur à la pureté en lignine obtenue à échelle analytique (95%). L'élimination des impuretés a semblé être moins efficace à large échelle, l'ajout d'une étape de purification a donc été nécessaire.

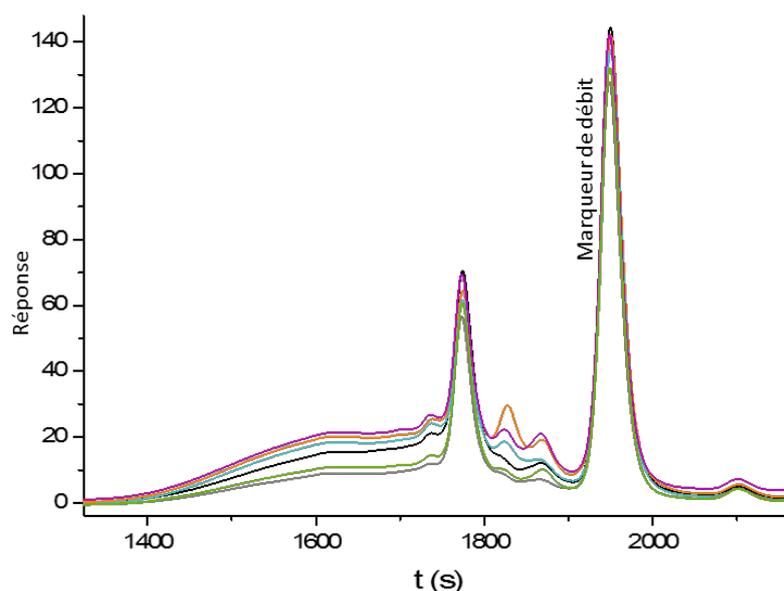


Figure 45: Chromatogrammes SEC dans le THF des lignines précipitées après acétylation (solvant : THF; T= 25°C, détection : UV)

Tableau 16: Valeur de la pureté en lignine de la lignine extraite à large échelle

Prélèvement	Pureté en lignine (%)
1	83,6
2	88,6
3	93,6

V.1. Ajout d'une étape de purification

Pour cette étape supplémentaire, 3 essais ont été réalisés : un traitement à l'eau osmosée, un traitement à l'eau acidifiée et un traitement à l'eau basique. Les fractions insolubles ont été caractérisées en termes de teneur en lignine (Tableau 17) et les fractions solubles analysées par RMN ^1H (Figure 46). Les puretés en lignine des fractions insolubles sont tout à fait comparables quels que soient les traitements. La RMN ^1H n'est pas une technique particulièrement adaptée pour la lignine : les spectres sont mal résolus avec des pics larges difficiles à interpréter quelles que soient les conditions d'analyse.

Cependant il est possible, à titre indicatif, d'observer les signaux correspondant aux protons aromatiques et aux groupes méthoxyles. Aussi, l'analyse des fractions solubles montre la présence de signaux entre 3,5 et 4,5 ppm pour les trois traitements. Il est envisageable qu'il s'agisse bien de sucres et sucre dérivés éliminés lors du traitement. Dans le cas du traitement à l'eau acidifiée, la fraction soluble présente des signaux dans la zone des protons aromatiques (entre 6,5 et 7,5 ppm) avec un rapport d'intégration protons aromatiques/protons sucres = 1,15. Il est possible que l'eau acidifiée solubilise des populations de lignine de faible masse, entraînant une perte visible sur le rendement et la pureté de la fraction insoluble (Tableau 17). Le choix s'est alors porté sur le traitement à l'eau osmosée car ce traitement permet de séparer efficacement les sucres & dérivés en limitant la perte en lignine. Ce traitement montre un rendement (97%) et une pureté (99,7%) plus élevés. De plus, l'utilisation de l'eau osmosée permet un « lavage » de la lignine en la ramenant à neutralité.

Tableau 17: Teneur en lignine des fractions Insolubles après traitement à l'eau osmosée, à l'eau acidifiée ou à l'eau basique de la lignine alcaline

Fractions Insolubles	Rendement (%)	Pureté en lignine (%)
Eau osmosée	97	99,7
Eau acidifiée	80,6	95,7
Eau basique	89,8	98,3

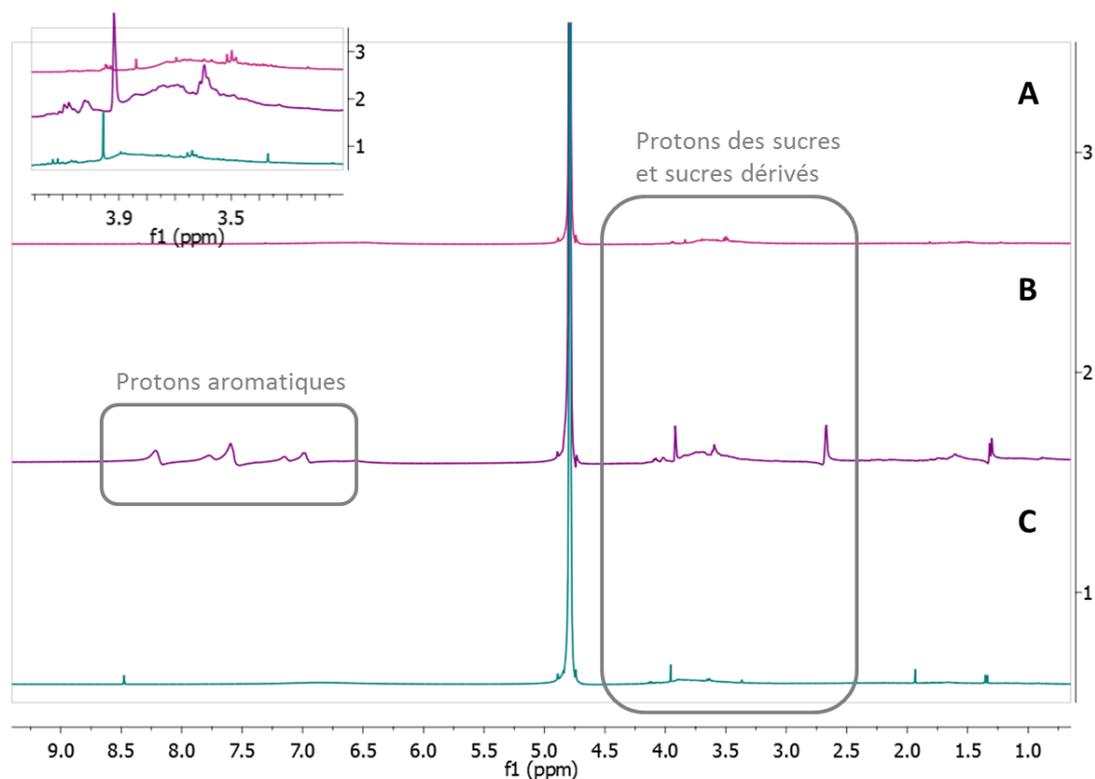


Figure 46: RMN ^1H dans D_2O des fractions solubles après traitement à l'eau osmosée (A), à l'eau acidifiée (B) ou à l'eau basique (C) de la lignine alcaline et agrandissement de la zone entre 3 et 4 ppm

V.2. Conclusion

L'application à large échelle du protocole d'extraction et purification de la lignine à partir de la liqueur alcaline a montré qu'une étape de purification supplémentaire était nécessaire afin d'obtenir un taux de pureté comparable à celui obtenu à échelle analytique. Le choix s'est porté sur un traitement de la lignine extraite et purifiée à l'eau osmosée pendant une heure à température ambiante. Les impuretés restantes sont solubilisées dans l'eau et séparées par centrifugation. La Lignine récupérée après ce traitement supplémentaire présente une pureté de 93%.

VI. Conclusion sur l'extraction & la purification de la lignine alcaline

Il a été vu que lorsqu'un traitement d'extraction est directement appliqué à la liqueur alcaline (sans précipitation de la lignine au préalable), les fractions obtenues étaient riches en minéraux et en sucres et difficiles à manipuler (viscosité, solubilité, etc.). La

précipitation en milieu acide de la lignine est une étape indispensable car cette étape permet d'éliminer la totalité des minéraux et certains sucres & dérivés de l'effluent alcalin. L'extraction dans un mélange acide chlorhydrique/éthanol de la lignine précipitée donne des fractions riches en lignine (environ 88%) mais de masse molaire importante. En effet, la présence d'acide chlorhydrique semble provoquer des réactions de condensation de la lignine. Ce traitement a été optimisé par l'utilisation de l'éthanol seul car son utilisation comme solvant d'extraction a permis de séparer les constituants de l'effluent alcalin en fonction de leur masse molaire.

A la suite de ces observations, un protocole en trois étapes pour l'extraction et la purification de la lignine alcaline à partir de l'effluent alcalin a été établi. La première étape : le pré-traitement en autoclave de la liqueur en condition de « cuisson » permet de dépolymériser, donc de diminuer la masse molaire de la lignine en la divisant par un facteur 3.8. La lignine est ensuite extraite de l'effluent par précipitation en milieu acide. Enfin les purifications à l'éthanol et à l'eau acidifiée permettent d'éliminer, par solubilisation, les sucres & dérivés ainsi que des auxiliaire de fabrication. Chaque étape du protocole a été optimisée : la durée du pré-traitement en autoclave, à 150°C, est fixée à trois heures pour maximiser la dépolymérisation de la lignine en évitant la formation de résidus charbonneux. La précipitation en milieu acide est faite par voie directe et les conditions de purification (éthanol et eau acidifiée) sont fixées pour une durée de une heure à température ambiante. Ce protocole d'extraction et de purification de la lignine alcaline permet d'obtenir des échantillons purs à 95% en lignine et de récupérer 68,1% de la lignine présente dans la liqueur alcaline de départ.

Enfin, lorsque le protocole a été appliqué à large échelle, une étape de purification supplémentaire à l'eau osmosée s'est avérée nécessaire pour obtenir un taux de pureté comparable à celui obtenu à échelle analytique. La lignine alcaline extraite et purifiée selon ce protocole sera appelée **lignine alcaline fragmentée (LAF)** tout au long de ce manuscrit et elle constituera la base de travail pour la suite du projet. La prochaine étape du projet a nécessité l'élucidation précise de la structure de la LAF en vue de sa modification chimique.

VII. Références bibliographiques

1. TAPPI, T 244 cm-1. Acid-insoluble ash in wood, pulp, paper, and paperboard 2011.
2. Sluiter, Hames, Ruiz, Scarlata, Sluiter, and Templeton, *Determination of ash in biomass*. Laboratory Analytical Procedure (LAP), 2005.
3. Tian, Z., L. Zong, R. Niu, X. Wang, Y. Li, and S. Ai, *Recovery and characterization of lignin from alkaline straw pulping black liquor: As feedstock for bio-oil research*. Journal of Applied Polymer Science, 2015. **132**(25): p. n/a-n/a.
4. TAPPI, Test Method T 222 om-02, in *Acid-insoluble lignin in wood and pulp*. 2002, Technical Association of the Pulp and Paper Industry. p. 5.
5. Maekawa, E., T. Ichizawa, and T. Koshijima, *An evaluation of acid soluble lignin determination in analyses of lignin by the sulfuric acid method*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 1989. **9**: p. 549-567.
6. Lebo SE, J.D. Gargulak, and T.J. McNally, eds. *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology*. Lignin. Vol. 15. 2001, Wiley-Interscience: New-York. 1-32.
7. Alekhina, M., J. Erdmann, A. Ebert, A. Stepan, and H. Sixta, *Physico-chemical properties of fractionated softwood kraft lignin and its potential use as a bio-based component in blends with polyethylene*. Journal of Materials Science, 2015. **50**(19): p. 6395-6406.
8. Toledano, A., L. Serrano, A. Garcia, I. Mondragon, and J. Labidi, *Comparative study of lignin fractionation by ultrafiltration and selective precipitation*. Chemical Engineering Journal, 2010. **157**(1): p. 93-99.
9. García, A., A. Toledano, L. Serrano, I. Egüés, M. González, F. Marín, and J. Labidi, *Characterization of lignins obtained by selective precipitation*. Separation and Purification Technology, 2009. **68**(2): p. 193-198.
10. Sun, R. and J. Tomkinson, *Fractional separation and physico-chemical analysis of lignins from the black liquor of oil palm trunk fibre pulping*. Separation and Purification Technology, 2001. **24**(3): p. 529-539.
11. Yuan, T.-Q., J. He, F. Xu, and R.-C. Sun, *Fractionation and physico-chemical analysis of degraded lignins from the black liquor of Eucalyptus pellita KP-AQ pulping*. Polymer Degradation and Stability, 2009. **94**(7): p. 1142-1150.
12. Sun, R., J. Tomkinson, and J. Bolton, *Effects of precipitation pH on the physico-chemical properties of the lignins isolated from the black liquor of oil palm empty fruit bunch fibre pulping*. Polymer Degradation and Stability, 1999. **63**(2): p. 195-200.
13. Mussatto, S.I., M. Fernandes, and I.C. Roberto, *Lignin recovery from brewer's spent grain black liquor*. Carbohydrate Polymers, 2007. **70**(2): p. 218-223.
14. Gosselink, R.J.A., A. Abächerli, H. Semke, R. Malherbe, P. Käuper, A. Nadif, and J.E.G. van Dam, *Analytical protocols for characterisation of sulphur-free lignin*. Industrial Crops and Products, 2004. **19**(3): p. 271-281.
15. Santos, P.S.B.d., X. Erdocia, D.A. Gatto, and J. Labidi, *Characterisation of Kraft lignin separated by gradient acid precipitation*. Industrial Crops and Products, 2014. **55**(0): p. 149-154.
16. Helander, M., H. Theliander, M. Lawoko, G. Henriksson, L. Zhang, and M.E. Lindström, *Fractionation of technical lignin: Molecular mass and pH effects*. Bioresources, 2013. **8**(2): p. 2270-2282.

17. Gellerstedt, G., J. Pranda, and E.L. Lindfors, *Structural and Molecular Properties of Residual Birch Kraft Lignins*. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 1994. **14**(4): p. 467-482.
18. Jaaskelainen, A.S., Y. Sun, D.S. Argyropoulos, T. Tamminen, and B. Hortling, *The effect of isolation method on the chemical structure of residual lignin*. *Wood Science and Technology*, 2003. **37**(2): p. 91-102.
19. El Hage, R., L. Chrusciel, L. Desharnais, and N. Brosse, *Effect of autohydrolysis of Miscanthus x giganteus on lignin structure and organosolv delignification*. *Bioresource Technology*, 2010. **101**(23): p. 9321-9329.
20. Pan, X., C. Arato, N. Gilkes, D. Gregg, W. Mabee, K. Pye, Z. Xiao, X. Zhang, and J. Saddler, *Biorefining of softwoods using ethanol organosolv pulping: Preliminary evaluation of process streams for manufacture of fuel-grade ethanol and co-products*. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005. **90**(4): p. 473-481.
21. Reintjes, M. and G.K. Cooper, *Polysaccharide alkaline degradation products as a source of organic chemicals*. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development*, 1984. **23**(1): p. 70-73.
22. Funaoka, M., T. Kako, and I. Abe, *Condensation of lignin during heating of wood*. *Wood Science and Technology*, 1990. **24**(3): p. 277-288.
23. Klashorst, V.d., ed. *Wood adhesives Chemistry and technology*. Lignin-formaldehyde wood adhesives, ed. Dekker. 1989, Pizzi A.: New-york.
24. Pandey, M.P. and C.S. Kim, *Lignin Depolymerization and Conversion: A Review of Thermochemical Methods*. *Chemical Engineering & Technology*, 2011. **34**(1): p. 29-41.
25. Wang, H., M. Tucker, and Y. Ji, *Recent Development in Chemical Depolymerization of Lignin: A Review*. *Journal of Applied Chemistry*, 2013. **2013**: p. 9.
26. Li, C., M. Zheng, A. Wang, and T. Zhang, *One-pot catalytic hydrocracking of raw woody biomass into chemicals over supported carbide catalysts: simultaneous conversion of cellulose, hemicellulose and lignin*. *Energy & Environmental Science*, 2012. **5**(4): p. 6383-6390.
27. Zakzeski, J., P.C.A. Bruijninx, A.L. Jongerius, and B.M. Weckhuysen, *The Catalytic Valorization of Lignin for the Production of Renewable Chemicals*. *Chemical Reviews*, 2010. **110**(6): p. 3552-3599.

Chapitre 3 :

Elucidation de la structure de la lignine
alcaline

Table des matières

I. Introduction.....	127
II. Détermination de la pureté en lignine	127
III. Détermination de la masse molaire des lignines	128
IV. Caractérisations structurales des lignines.....	130
IV.1. Analyse élémentaire (CHONS).....	130
IV.2. Analyse des lignines par spectroscopie infrarouge.....	132
IV.3. Analyse des lignines par spectroscopie RMN	133
IV.3.1. RMN du phosphore (^{31}P)	133
IV.3.2. RMN 2D-HSQC et ^{13}C	137
V. Acétylation des lignines	141
VI. Analyses thermiques des lignines.....	142
VI.1. Analyse enthalpique différentielle (DSC).....	142
VI.2. Analyse thermogravimétrique (TGA) des lignines	143
VII. Caractérisations structurales de la fraction « sucre » (soluble éthanol ou soluble eau)	147
VIII. Conclusion sur la structure de la lignine alcaline.....	150
IX. Références bibliographiques	153

I. Introduction

Ce chapitre décrit les caractérisations effectuées sur la lignine alcaline afin d'élucider avec précision sa structure. S'agissant d'une lignine industrielle encore inconnue en termes de structure et de propriétés, les résultats ont été comparés à ceux obtenus pour une **lignine kraft** extraite par précipitation à l'acide sulfurique (origine : pin maritime) provenant de Smurfit-Kappa (Usine de Facture). La lignine alcaline analysée, appelée « **lignine alcaline fragmentée** » (**LAF**), est obtenue suivant le protocole d'extraction et de purification décrit précédemment (cf chapitre 2). Ce protocole a pour première étape un traitement en autoclave à 150°C pour procéder à la fragmentation (diminution de la masse molaire) de la lignine. Afin d'avoir une vue d'ensemble, les résultats obtenus ont également été comparés aux résultats d'une lignine alcaline extraite et purifiée suivant le même protocole **sans** l'étape de fragmentation, appelée par la suite « **lignine alcaline non fragmentée** » (**LANF**). Toutes les caractérisations de la lignine kraft ont été réalisées au sein du laboratoire dans les mêmes conditions et aux mêmes moments que les caractérisations effectuées pour les lignines alcalines fragmentée et non fragmentée.

II. Détermination de la pureté en lignine

Au sein de la paroi cellulaire végétale, la lignine est fortement enchevêtrée et liée de façon covalente à la cellulose et aux hémicelluloses. Les traitements d'extraction appliqués ne permettent pas toujours de rompre efficacement ces liaisons [1-3]. Par conséquent, il est difficile d'isoler la lignine, et d'obtenir des échantillons parfaitement purs. La première caractérisation à effectuer sur un échantillon de lignine est la détermination de sa pureté. Cette valeur est indispensable à l'interprétation des caractérisations structurales et thermiques et à la compréhension de la réactivité de la lignine. La méthode dite « lignine de Klason » [4] (norme TAPPI 222 om-02) associée à la méthode par spectroscopie UV [5] appelée « Acid Soluble Lignin » ou ASL (norme Tappi, UM250 um-83) permettent d'établir la pureté en lignine d'un échantillon.

Le Tableau 18 répertorie les valeurs obtenues pour la lignine kraft, la lignine alcaline non fragmentée et la lignine alcaline fragmentée. Ces valeurs (95% pour les lignines kraft et LAF et 93% pour la LANF) sont très satisfaisantes et assez proches pour pouvoir comparer ces trois lignines de façon pertinente. Les 5 et 7% restant peuvent être des sucres toujours liés de façon covalente à la lignine et donc, difficilement séparables de celle-ci. Des valeurs similaires de pureté sont retrouvées dans la littérature [6-9].

Tableau 18 : Valeurs des puretés en lignine des lignines kraft, LAF et LANF

	Klason (%)	ASL (%)	Pureté (%) (Klason + ASL)
Lignine kraft	86.2	9.1	95,3
Lignine alcaline non fragmentée	88.3	4.9	93,2
Lignine alcaline fragmentée	87.1	8.1	95,2

III. Détermination de la distribution molaire des lignines

Les masses molaires apparentes des lignines ont été déterminées par chromatographie d'exclusion stérique (SEC en détection UV) dans l'eau basique (NaOH, pH=12). Les chromatogrammes présentés à la Figure 47 sont normalisés par rapport au signal le plus intense et calibrés par rapport au marqueur de débit (styrène sulfoné). Ces analyses ont montré que la LANF possède une masse molaire plus importante que la LAF. Ceci confirme que le traitement de la liqueur en autoclave permet une fragmentation de la lignine, en rompant certainement les liaisons les moins stables : les éthers de type β -0-4 ou α -0-4 résiduelles. La lignine kraft présente une masse molaire plus faible que la lignine alcaline (fragmentée ou non). Le procédé kraft, qui cible les liaisons β -0-4 permet de fragmenter les lignines d'une façon plus poussée car ces liaisons sont majoritaires dans les résineux (~60%) [10], tandis que le procédé bisulfite appliqué chez Tembec cible en priorité les liaisons α -0-4, présentes en moins grande quantité (~6%). De plus, la lignine alcaline est issue des extractions alcalines servant à éliminer les fragments ayant résisté à la cuisson acide (donc non clivés). Par conséquent, les lignines alcalines de Tembec possèdent une masse molaire plus importante que la lignine kraft. Ces observations sont confirmées par les valeurs des masses (masse au pic [M_p], masse molaire moyenne en

nombre [\bar{M}_n] et masse molaire moyenne en masse [\bar{M}_w]) répertoriées dans le Tableau 19. Les masses molaires sont relatives car le calibrage est fait avec des calibrants de polystyrène sulfoné. Les distributions molaires (\mathcal{D}) très polydisperses (Tableau 19) pour les lignines alcalines (entre 3 et 5) sont une des raisons de la difficulté à obtenir des spectres bien résolus en spectroscopie RMN (cf §IV.3.2).

Lors des cuissons, les lignines sont dégradées en fragments de masses molaires différentes. Il est difficile d'interpréter l'influence du type de cuisson sur les masses observées car la gamme de masses molaires peut être très large : entre 1500 et 25000 g/mol pour les lignines kraft, 1000 et 15000 g/mol pour les lignines issues d'une cuisson à la soude, entre 500 et 5000 pour les lignines organosolv et entre 1000 et 150000 g/mol pour les lignosulfonates [11]. Les masses molaires des lignines sont dépendantes des réactions de repolymérisation (ou condensation) pouvant se produire lors des cuissons en milieu alcalin [12]. Les conditions sévères appliquées lors des cuissons kraft et au bisulfite d'ammonium peuvent expliquer les masses molaires importantes obtenues pour les lignines kraft et les lignosulfonates. Des masses plus faibles sont observées pour les lignines organosolv et les lignines issues d'une cuisson à la soude. En effet, ces deux procédés provoquent la dégradation des lignines en fragments de faibles masses molaires [13-16]. Une corrélation entre les masses molaires et l'origine des lignines peut également être faite : les liaisons C-C impliquant le carbone en position 5 (C_5) des unités phénylpropanoïques se retrouvent uniquement dans les lignines contenant des unités guaïacyle (résineux) car les unités syringyle sont substituées en positions 3 et 5 par des groupements méthoxy. Ces liaisons stables ne sont pas rompues lors des cuissons, par conséquent la masse molaire des lignines de résineux est susceptible d'être supérieure à celle des feuillus qui possèdent moins d'unités guaïacyle [17].

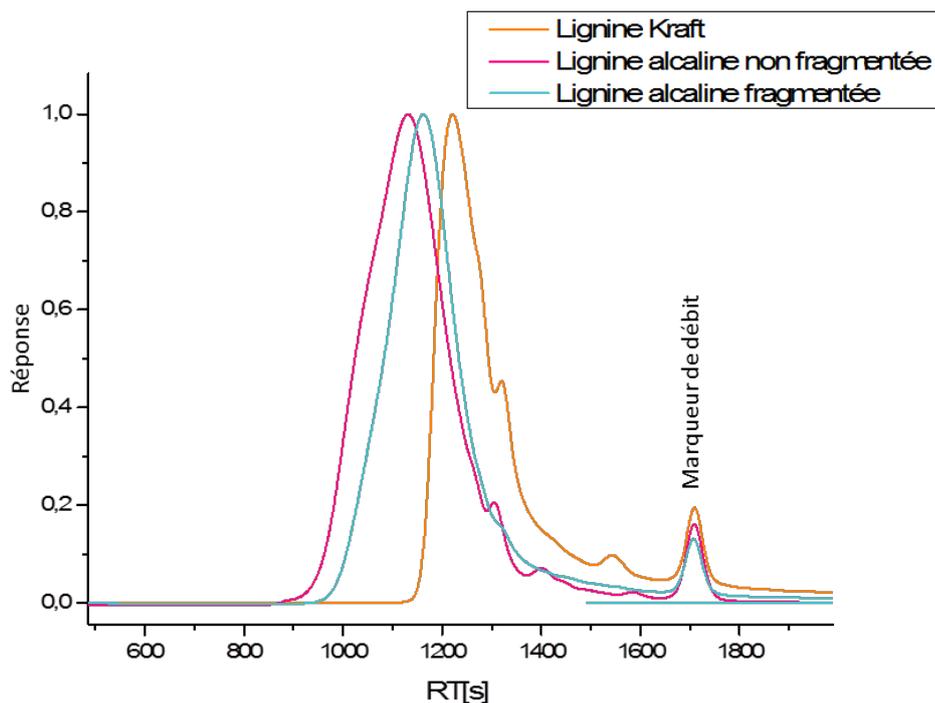


Figure 47: Superposition des chromatogrammes SEC des différentes lignines étudiées (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

Tableau 19: Valeurs des masses molaires et dispersité des différentes lignines étudiées

	M_p (g/mol)	\bar{M}_n (g/mol)	\bar{M}_w (g/mol)	\mathcal{D}
Lignine kraft	920	490	850	1.7
Lignine alcaline non fragmentée	9700	3000	14800	4.8
Lignine alcaline fragmentée	2500	1200	4550	3.5

IV. Caractérisations structurales des lignines

IV.1. Analyse élémentaire (CHONS)

L'analyse élémentaire des lignines permet de déterminer leur contenu en carbone, hydrogène, oxygène, soufre et azote. Les résultats des analyses élémentaires CHONS, les

masses théoriques (M_{th}) et les formules ramenées par unité phénylpropane C_9 sont répertoriées dans le Tableau 20. Les pourcentages en atomes sont comparables pour les lignines alcalines (fragmentée ou non). Une petite différence est observée au niveau de la masse théorique : 164 g/mol pour la LAF et 174 g/mol pour la LANF. Des réactions de déshydratation semblent se produire lors du pré-traitement en autoclave qui pourraient expliquer cette différence. En effet, une diminution de la proportion en oxygène est aussi observée pour la LAF. Pour comparaison, la masse molaire d'une formule empirique $C_9H_xO_yS_zN_w$ du poly- β -O-4 d'alcool coniférylique est 178 g/mol. El Mansouri [15] a comparé les analyses élémentaires et masses théoriques de lignines de différentes origines : 176 g/mol pour une lignine kraft, 186 g/mol pour une lignine issue d'une cuisson soude, 184 g/mol pour une lignine organosolv, 220 g/mol pour des lignosulfonates et 187 g/mol pour une milled wood lignin (MWL). Ces différences s'expliquent par l'origine des lignines différentes et la variabilité des méthodes d'extraction. Concernant la lignine kraft étudiée, la principale différence se fait au niveau du pourcentage en soufre (3.9%) qui est plus élevé que pour les lignines alcalines. Ce résultat peut s'expliquer car la lignine kraft est directement extraite de la liqueur noire obtenue après cuisson tandis que la lignine alcaline résulte d'un stade d'extraction visant à éliminer la lignine restée liée aux fibres de cellulose après cuisson. Le soufre issu de la cuisson kraft est donc entraîné avec la précipitation de la lignine. La présence d'azote peut être due à la formation de complexes lignine-protéine lors des procédés de délignification [18]. Pour avoir plus d'informations sur les structures étudiées il est essentiel d'effectuer des analyses spectroscopiques.

Tableau 20: Analyse élémentaire CHONS des différentes lignines étudiées

	C (%)	H (%)	N (%)	O (%)	S (%)	M _{th} C ₉ (g/mol)	Formule C ₉ H _x O _y N _z S _w
Lignine Kraft	60,1	5,2	0,14	30,4	3,9	179	C ₉ H _{9,36} O _{3,42} N _{0,02} S _{0,22}
Lignine alcaline non fragmentée	61	5,32	0,75	28,92	2,55	174	C ₉ H _{9,42} O _{3,2} N _{0,09} S _{0,14}
Lignine alcaline fragmentée	64,8	5,66	0,66	25,96	1,86	164	C ₉ H _{9,43} O _{2,7} N _{0,08} S _{0,1}

IV.2. Analyse des lignines par spectroscopie infrarouge

Les groupements fonctionnels présents dans les lignines sont déterminés par spectroscopie infrarouge (utilisation des pastilles de KBr en spectroscopie à transmission). Les spectres infrarouge des lignines étudiées à la Figure 48 sont parfaitement superposables et possèdent les mêmes groupements fonctionnels. La bande d'absorption à 3400 cm⁻¹ est attribuée aux groupements hydroxyle. Le signal à 2900 cm⁻¹ correspond aux elongations C-H caractéristiques des groupements méthyle et méthylène. La vibration d'elongation du groupement carbonyle C=O est située à 1717 cm⁻¹ pour les carbonyles non-conjugués et acides carboxyliques et à 1596 cm⁻¹ pour les carbonyles situés sur des structures conjuguées. Le signal à 1717 cm⁻¹ représente majoritairement les fonctions acide carboxylique car en milieu basique, de par la formation de fonctions carboxylates, ce signal se déplace à 1600 cm⁻¹ (Cf chapitre 2). Les bandes de vibration du squelette aromatique sont observées à 1596, 1511 et 1460 cm⁻¹. Enfin, la région entre 1300-1000 cm⁻¹ correspond aux vibrations des diverses liaisons C-O, C-H et C=O. Ces attributions ont de nombreuses fois été répertoriées dans la littérature [8, 10, 19-21]. Bien que ces résultats soient intéressants, la spectroscopie infrarouge donne des informations structurales limitées. Pour une élucidation plus précise, des analyses des spectroscopies RMN ont été effectuées.

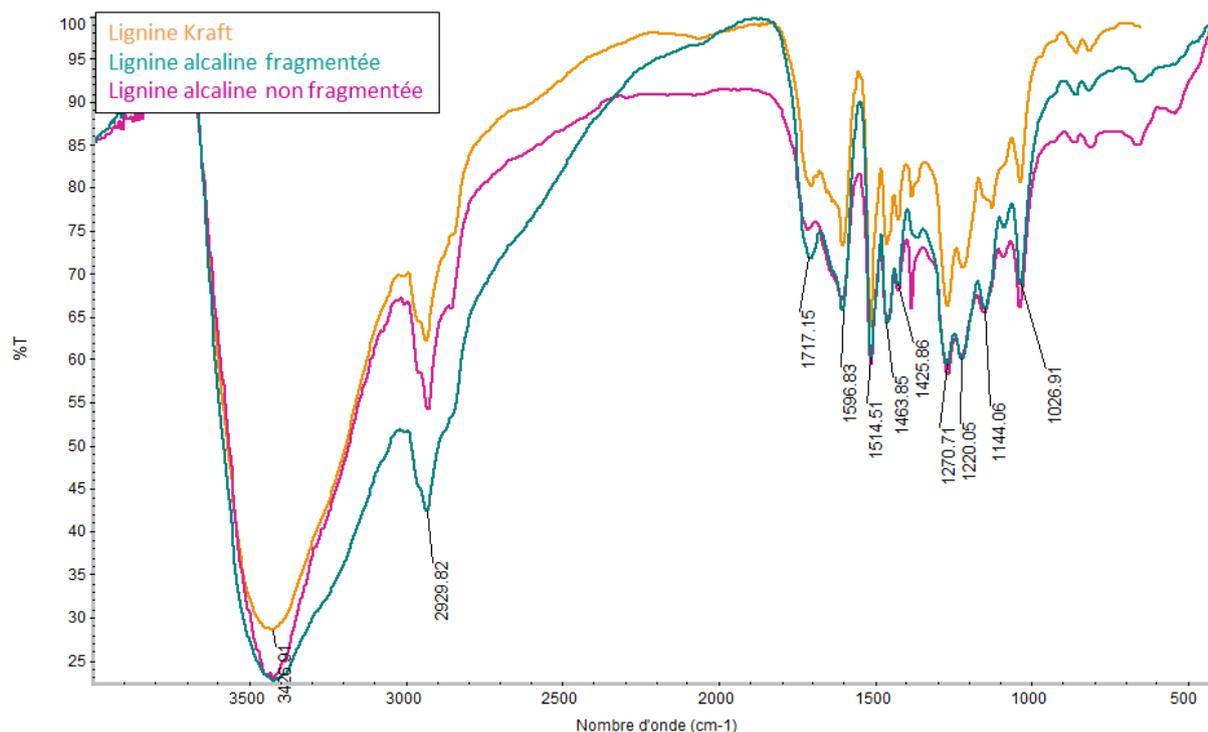


Figure 48: Spectroscopie infrarouge des lignines étudiées

IV.3. Analyse des lignines par spectroscopie RMN

IV.3.1. RMN du phosphore (^{31}P)

Les groupements hydroxyle (aliphatiques et phénoliques) et acides carboxyliques étant impliqués dans les propriétés et la réactivité des lignines, il est nécessaire de suivre leur évolution après modifications chimiques. Les groupements hydroxyle et acide carboxylique des lignines analysées ont été quantifiés et identifiés par spectrométrie RMN ^{31}P quantitative [22, 23] après phosphorylation. Chaque type de groupement hydroxyle (aliphatique, unités condensées, unité syringyle, unité guaiacyle et unité *p*-hydroxyphényle) et acide carboxylique a été quantifié par intégration par rapport à la référence (le 2-chloro-4,4,5,5-tétraméthyl-1,2,3-dioxaphospholane, $\delta = 152$ ppm). Pour pouvoir les comparer, il est important que chaque échantillon de lignine analysé présente la même pureté car la présence de sucre a un impact sur la proportion d'hydroxyle aliphatique.

Un exemple de spectre obtenu par cette analyse est présenté à la Figure 49. Pour chaque lignine, l'expérience est réalisée trois fois pour établir une valeur moyenne et de déterminer un écart type. Le graphique présenté à la Figure 50 présente le comparatif des proportions des groupements hydroxyle et acide carboxylique pour chaque lignine étudiée. Les valeurs en mmol/g de lignine et en pourcentages relatifs sont répertoriées dans les Tableau 21 et Tableau 22 respectivement. La principale différence entre la LAF et la LANF se fait au niveau de la proportion en hydroxyles aliphatiques et hydroxyles d'unités condensées. En effet, une augmentation de la proportion en unités condensées et une diminution de la proportion en hydroxyle aliphatique pour la LAF sont observées. Ceci laisse supposer que le traitement en autoclave, en plus de fragmenter la lignine, favorise la formation d'unités condensées et une potentielle déshydratation. Ce qui est en accord avec les résultats obtenues en AE. La dépolymérisation en autoclave induit en premier lieu une augmentation de fonctions hydroxyle (aliphatique et phénolique). Dans un deuxième temps, la condensation de quelques unités sous forme de « biphényle », par exemple, explique l'augmentation de la proportion en unité condensée sur la LAF.

De plus, une augmentation en fonctions acide carboxylique pour la LAF est observée par rapport à la LANF ce qui laisse supposer que lors du pré-traitement en autoclave (milieu basique), des réactions d'oxydation se produisent sur les structures aromatiques conduisant à la formation de fonctions acide carboxylique [24]. La lignine kraft possède des proportions d'hydroxyle aliphatique et phénolique comparables à celles de la LAF. Ces valeurs sont comparables avec celles obtenues pour différentes lignines techniques [25].

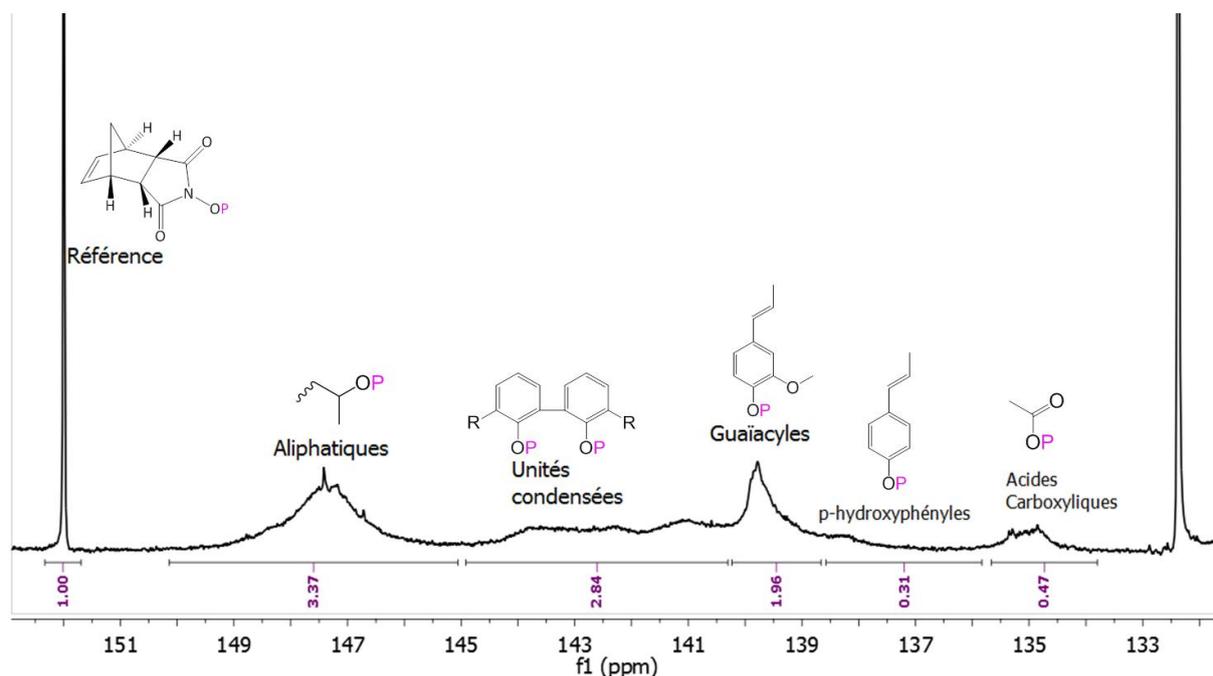


Figure 49: Analyse RMN ^{31}P de la lignine alcaline fragmentée

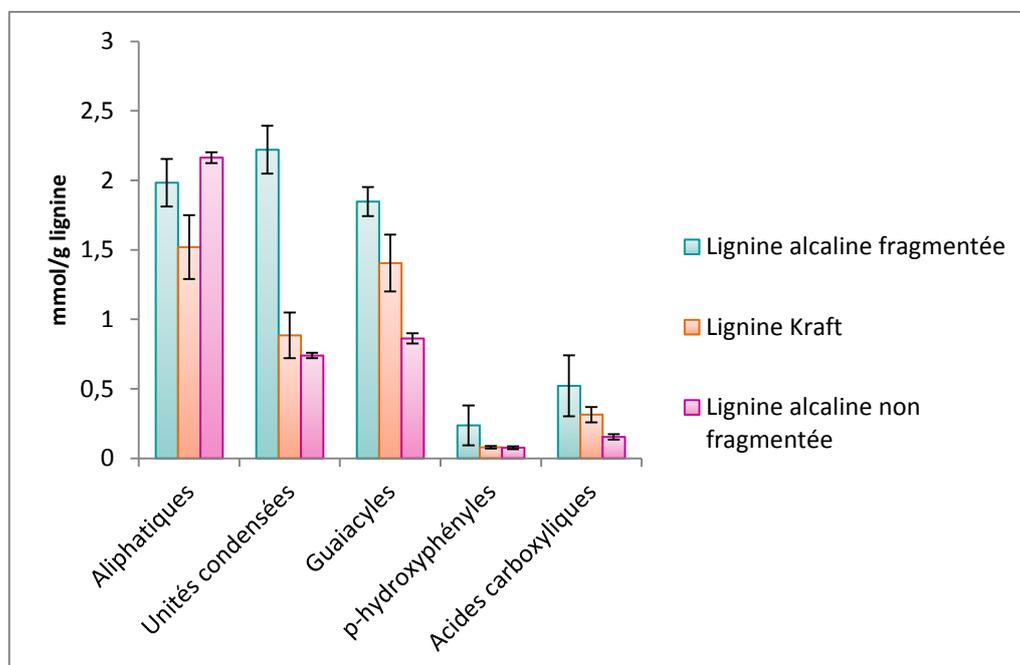


Figure 50: Représentation graphique de la proportion des différents groupements hydroxyle et acide carboxylique présents dans les lignines étudiées

Tableau 21: Proportion, en mmol/g de lignine, des différents groupements hydroxyle et acide carboxylique des lignines étudiées

$n_{\text{hydroxyle}}$ (mmol/g)	Aliphatiques	Unités condensées	Guaiacyles	<i>p</i> - hydroxyphényles	Acides carboxyliques
Lignine Kraft (écart – type)	1.52 (0,25)	0.89 (0,17)	1.41 (0,21)	0.08 (0,01)	0.32 (0,06)
Lignine alcaline non fragmentée (écart – type)	2.16 (0,04)	0.74 (0,02)	0.86 (0,003)	0.08 (0,01)	0.15 (0,01)
Lignine alcaline fragmentée (écart – type)	1.98 (0,17)	2.22 (0,17)	1.85 (0,1)	0.23 (0,14)	0.52 (0,22)

Tableau 22: Proportion, en pourcentages relatifs, des différents groupements hydroxyle et acide carboxylique des lignines étudiées

(%)	Aliphatiques	Unités condensées	Guaiacyles	<i>p</i> - hydroxyphényles	Acides carboxyliques
Lignine Kraft	35	24	33	2	7
Lignine alcaline non fragmentée	54	18	22	2	4
Lignine alcaline fragmentée	29	33	27	3	8

IV.3.2. RMN 2D-HSQC et ^{13}C

La grande dispersité des lignines rend les analyses RMN ^1H et ^{13}C difficilement interprétables (pics larges, spectres mal résolus) quelles que soient les conditions d'analyses. L'étalement de l'information sur deux dimensions rend les spectres plus exploitables. Dans cette optique, des analyses HSQC des lignines (dans le $\text{DMSO-}d_6$) ont été réalisées. Ces analyses permettent de corréler des signaux du proton ^1H et celui du carbone qui le porte ^{13}C (J^1).

Les attributions des signaux HSQC, (Figure 51 pour la région aliphatique et Figure 52 pour la région aromatique) sont faites en corrélation par rapport aux attributions faites dans la littérature sur des Milled Wood Lignin (MWL) ou des lignines acétylées [2, 26-28]. Généralement, les cartes RMN 2D sont déterminées par corrélation avec des analyses de modèles de lignine. Les analyses pour la LAF et la LANF donnent exactement les mêmes résultats en RMN HSQC et ^{13}C . Le traitement en autoclave n'a donc pas provoqué de changement qualitatif dans la structure, plus précisément, dans les liaisons inter-unités de la lignine alcaline. Les déplacements chimiques sont retrouvés dans le Tableau 23 pour la LAF. La Figure 53 répertorie les différentes unités identifiées dans la lignine alcaline : Liaison β -O-4, β - β (ou motif résinol) et β -5 (ou motif phénylcoumarane), les motifs présents en fin de chaîne : alcool et aldéhyde cinnamique ainsi que les unités guaiacyle et *p*-hydroxyphényle. Ces signaux sont couramment rencontrés lors des analyses HSQC des lignines de pin [29, 30]. L'analyse HSQC de la lignine Kraft (Figure 54) présente les mêmes signaux que ceux de la lignine alcaline. La lignine kraft analysée, tout comme la lignine alcaline de Tembec, provient de pin maritime (résineux), ce qui explique que les liaisons soient les mêmes. Les attributions figurant sur le spectre ^{13}C de la LAF à la Figure 55 ont été faites par corrélation avec l'analyse HSQC. Les signaux des groupements carbonyle sont retrouvés entre 160 et 200 ppm. Les analyses RMN sont cependant non quantitatives, très complexes et difficiles à interpréter mais restent de bons outils pour le suivi de transformations structurales par comparaison des cartes 2D HSQC.

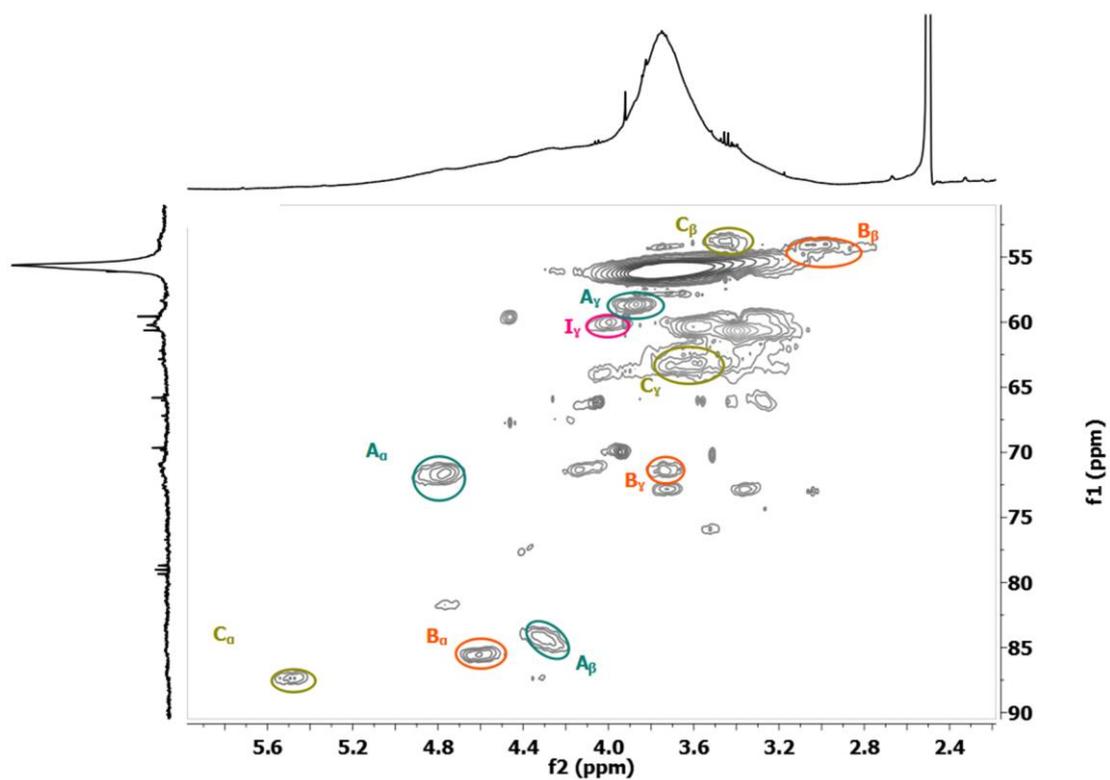


Figure 51: HSQC dans le DMSO de la lignine alcaline fragmenté, région aliphatique

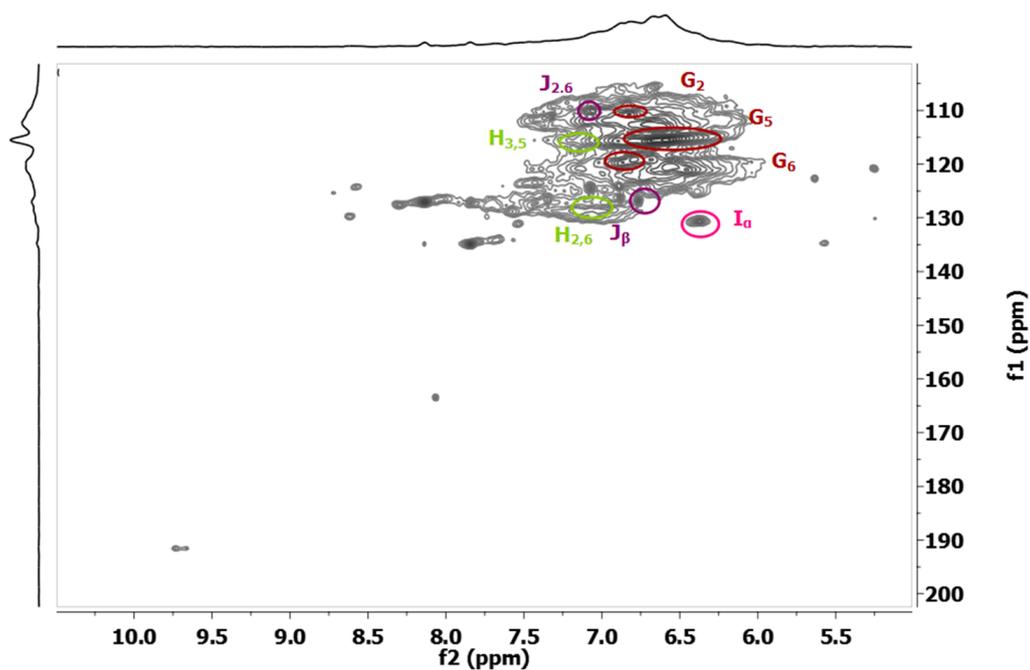


Figure 52: HSQC dans le DMSO de la lignine alcaline fragmentée, région aromatique

Tableau 23: Déplacements chimiques des signaux correspondant aux unités constituant la lignine alcaline en HSQC

Désignation des unités		Déplacements chimiques ¹³ C/ ¹ H (ppm)
	OCH ₃	55,99/3,69
Phénylcoumarane	C _α	87,36/5,47
	C _β	53,78/3,46
	C _γ	63,37/3,68
β-O-4 alkyle-aryle ether	A _α	71,73/4,82
	A _β	84,07/4,30
	A _γ	58,57/3,94
Résinol	B _α	85,56/4,61
	B _β	54,07/3,05
	B _γ	71,39/3,74
Alcool cinnamique	I _α	130,61/6,44
	I _γ	61,02/4,03
Aldéhyde cinnamique	J _β	126,9/6,85
	J _{2,6}	110,2/7,14
Unité guaiacyle	G ₂	110,86/6,88
	G ₅	115,7/6,66
	G ₆	119,98/6,95
Unité p-Hydroxyphényle	H _{2,6}	128,68/7,21
	H _{3,5}	115,87/6,98

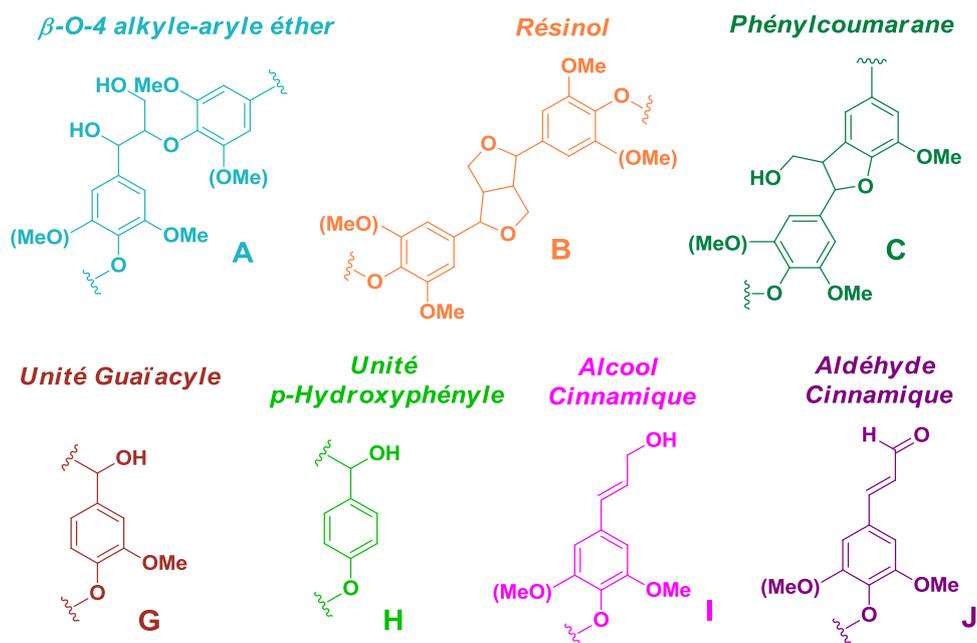


Figure 53: Principales unités constituant la lignine alcaline

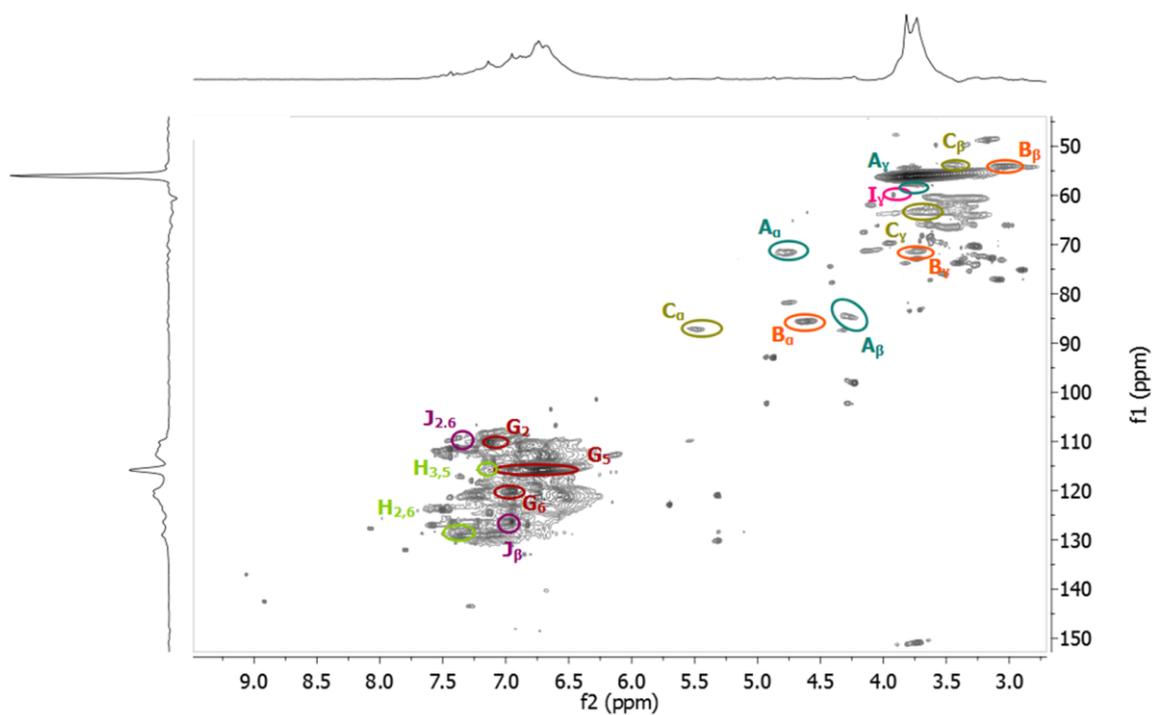


Figure 54: HSQC dans le DMSO de la lignine Kraft

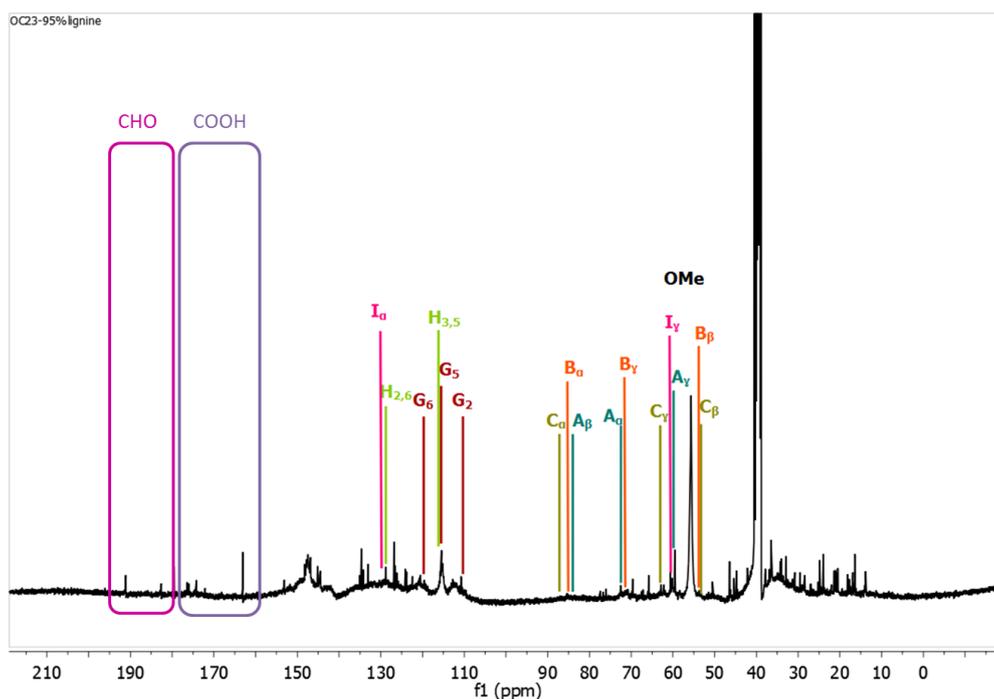


Figure 55: RMN ^{13}C dans le DMSO de la lignine alcaline fragmentée

V. Acétylation des lignines

L'acétylation des lignines est généralement réalisée pour augmenter leur solubilité dans les solvants d'analyse pour la SEC et la RMN. Cette méthode est indispensable lorsque les lignines utilisées sont insolubles dans les solvants usuels. La lignine alcaline, étant parfaitement soluble dans le DMSO- d_6 (pour la RMN) et dans l'eau basique (pour la SEC), cela permet de s'affranchir de l'étape d'acétylation. Cependant, des essais ont été réalisés en suivant deux protocoles à titre de comparaison. La première méthode classique se fait en présence d'anhydride acétique et de pyridine [15]. La seconde méthode, plus rapide, est une amélioration décrite par Argyropoulos [31] utilisant un mélange acide acétique-bromure d'acétyle. Malheureusement, dans les deux cas, les résultats obtenus se sont avérés très insatisfaisants, certainement dû au fait que la réaction d'acétylation n'était pas totale. Cette étude n'a pas été poursuivie étant donné que les analyses des lignines sans modification apportent des informations précises et suffisantes.

VI. Analyses thermiques des lignines

La stabilité thermique des lignines est mise en évidence par l'analyse thermogravimétrique (TGA) et l'analyse enthalpique différentielle (DSC). Ces analyses sont essentielles pour identifier la stabilité thermique sous air des lignines pour la formation de matériaux de type résines ou colles par exemple. Dans notre cas, elles peuvent compléter les données concernant le type de liaisons inter-unité et, par la même occasion, donner des informations sur leur transformation lors de l'étape de pré-traitement à l'autoclave.

VI.1. Analyse enthalpique différentielle (DSC)

L'analyse DSC est la méthode la plus reconnue pour la détermination des températures de transition vitreuse (T_g) des polymères. Cependant, la T_g est difficilement observable dans le cas des lignines[32]. Ceci peut s'expliquer par la grande rigidité des structures des lignines. Dans notre cas, après de nombreux essais, une T_g (autour de 124°C) a été observée pour la lignine alcaline fragmentée (DSC en mode modulée, de 20 à 200°C à une vitesse de montée en température de $5^\circ\text{C}/\text{min}$). Malheureusement, ce résultat n'a pas pu être comparé à la lignine alcaline non fragmentée et à lignine kraft car, selon les mêmes conditions, aucune T_g n'a été observée pour ces lignines. Des essais malheureusement non fructueux ont également été réalisés en DMA (modes compression et flexion 3 points par la formation d'une pastille compacte de lignine). La Figure 56 montre le résultat obtenu après analyse DSC de la lignine alcaline fragmentée. Elle présente une valeur de $T_g = 124^\circ\text{C}$. Cette valeur élevée peut s'expliquer par la structure aromatique qui apporte la rigidité à la chaîne principale, les interactions type liaisons hydrogène et la masse molaire. Cette valeur est comparable avec celles de la littérature où les T_g des lignines kraft sont comprises entre 124 - 174°C [32]. Cet écart s'explique principalement par la différence des masses molaires des lignines.

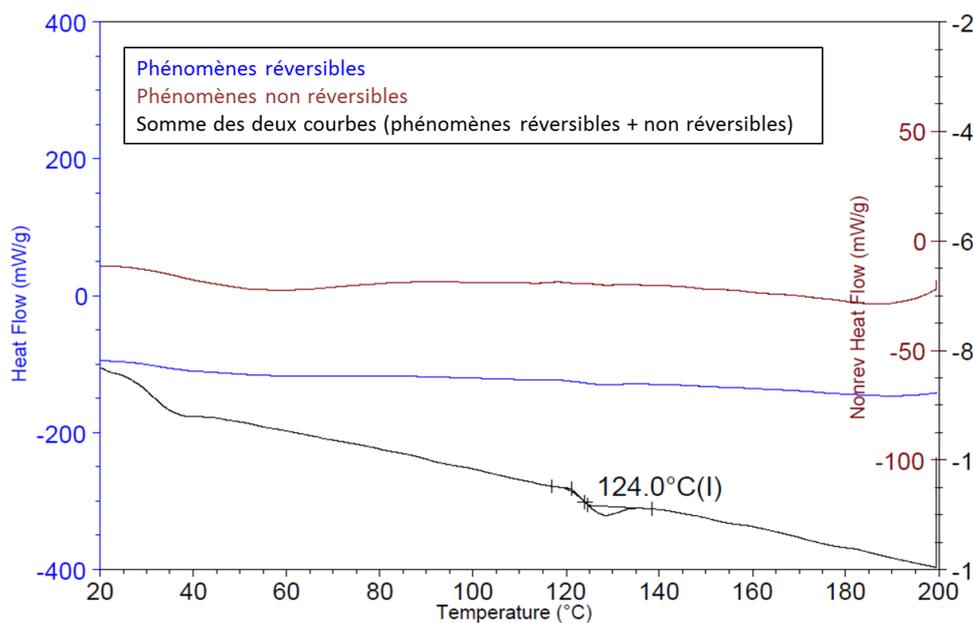


Figure 56: DSC en mode modulé de la lignine alcaline fragmentée (vitesse 5°C/min)

VI.2. Analyse thermogravimétrique (TGA) des lignines

L'analyse thermogravimétrique est réalisée sous air (Figure 57) et sous atmosphère d'azote (Figure 58). Les températures de début, de maximum de décomposition et les pourcentages de résidus sont répertoriées au Tableau 24. La principale différence se fait au niveau du pourcentage de résidus restant après 900°C : environ 40% sous azote et entre 2 et 0.7% sous air. Comme décrit dans la littérature pour les lignines kraft [33-36], trois principales étapes de perte de masses sont observées pour les trois lignines : Le séchage (20-200°C) avec évaporation de l'eau et de l'eau liée, la pyrolyse (200-600°C) avec, dans un premier temps, la rupture des liaisons C-C et C-O des chaînes latérales [33], suivie de la rupture des liaisons éther [34] et des liaisons condensées [35] inter-unités. Enfin la carbonisation (600-900°C) conduisant à la formation de résidu amorphe de carbone [36] appelé « char » ou « charcoal ». Le maximum de dégradation pour les trois lignines est observé entre 400 et 490 °C sous azote et 330 et 370°C sous air. Il a été vu qu'à ces températures (entre 300 et 500°C), la rupture des liaisons inter-unités (liaisons éther[34] et liaisons condensées[35]) se produisait. Le maximum de dégradation est plus important pour la LAF. La température de début de dégradation est également plus

élevée pour la LAF (271°C sous azote et 294°C sous oxygène). Pour la LANF ces valeurs sont : 235°C sous azote et 213°C sous oxygène. Il a été vu que le pré-traitement en autoclave provoquait la formation d'unités condensées (cf RMN ^{31}P). La présence de ces liaisons, thermiquement stables, expliquent que les valeurs de début et de maximum de décomposition soient plus élevées pour la LAF malgré que sa masse molaire soit moins importante que celle de la LANF. Cependant, ces valeurs sont proches et montrent que les trois types de lignines sont stables jusqu'à des températures élevées. Cette stabilité est apportée par le squelette aromatique des polymères. La proportion de résidu carboné (environ 40% pour les trois lignines) est également en accord avec les valeurs dans la littérature [33, 37]. Cette valeur élevée rend la lignine intéressante pour la formation de charbon ou de carbone activé [38-41], étant donné que le pourcentage en résidu carboné pour les autres composés du bois est beaucoup plus faible (20% pour les hémicelluloses et 6% pour la cellulose) [37, 38, 42].

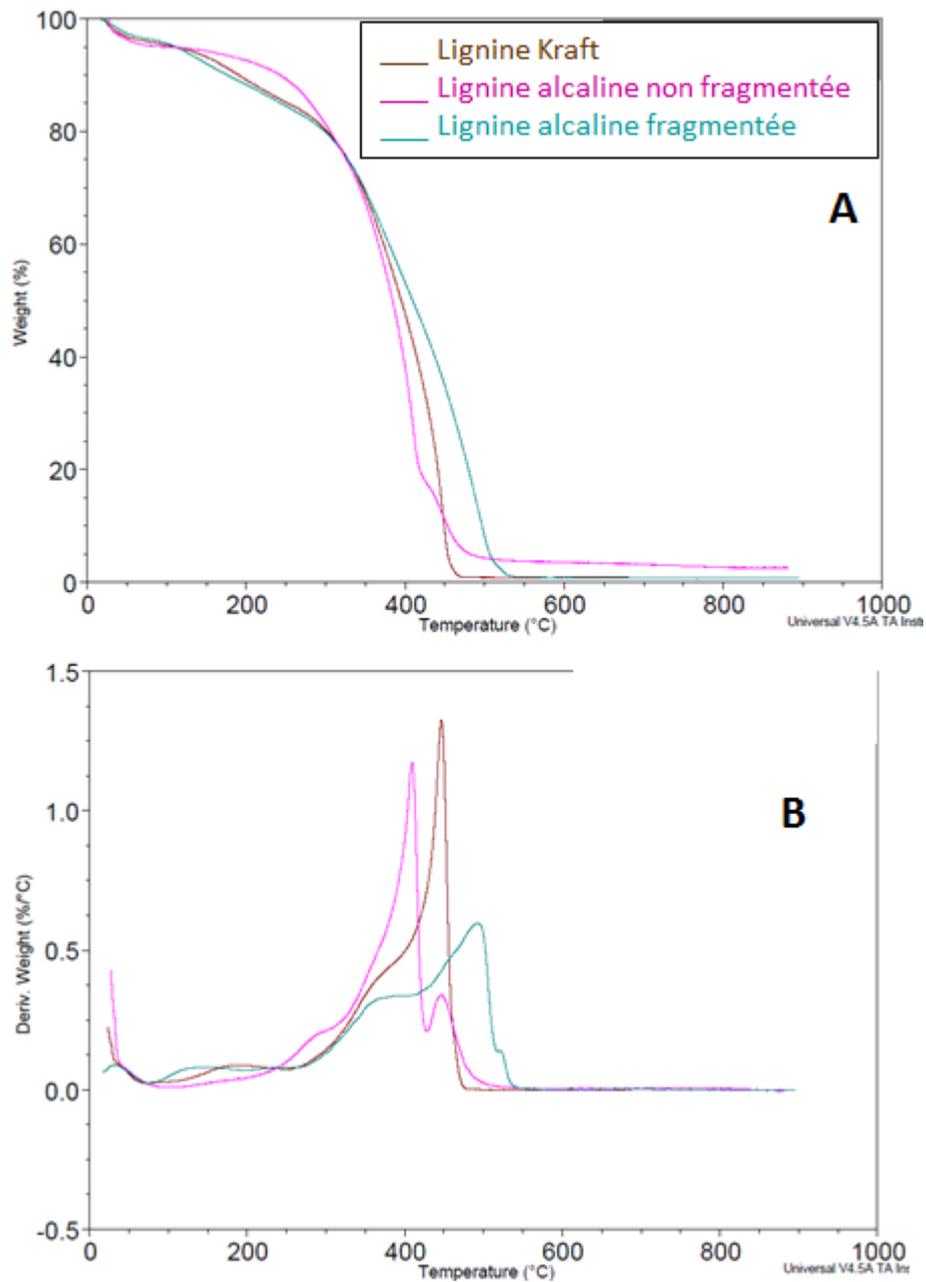


Figure 57: Stabilité thermique des lignines étudiée sous air, perte de masse en fonction de la température (A), dérivée de la perte de masse en fonction de la température (B)

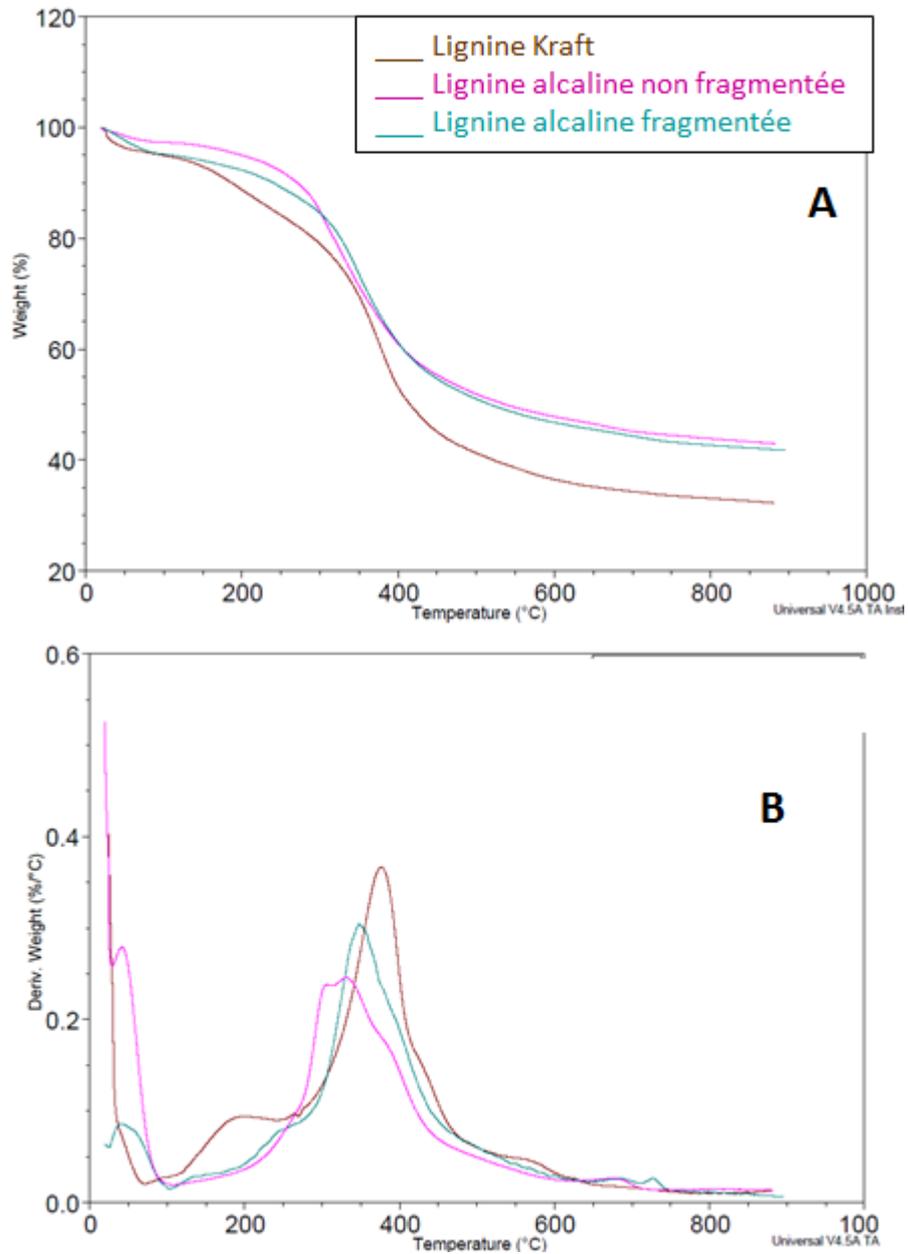


Figure 58: Stabilité thermique des lignines étudiée sous azote, perte de masse en fonction de la température (A), dérivée de la perte de masse en fonction de la température (B)

Tableau 24: Températures de début, de maximum de décomposition et pourcentages de résidus obtenues après analyses TGA des lignines sous air et sous azote

Air	T° début de décomposition (°C)	T° max de décomposition (°C)	Résidus (%)
Lignine Kraft	154	447	0,9
Lignine alcaline non fragmentée	235	409	2,5
Lignine alcaline fragmentée	175	493	0,7
Azote	T° début de décomposition (°C)	T° max de décomposition (°C)	Résidus (%)
Lignine Kraft	175	376	32
Lignine alcaline non fragmentée	214	332	43
Lignine alcaline fragmentée	179	373	36

VII. Caractérisations structurales de la fraction « sucre » (soluble éthanol ou soluble eau)

Les fractions « soluble eau » (chapitre 2, §II.3.1.) ont été analysées par différentes méthodes de spectroscopie RMN pour tenter de déterminer la nature des composés présents dans ces fractions. La RMN ^1H a été effectuée dans deux solvants différents, le DMSO et le $\text{D}_2\text{O} + \text{NaOD}$ (Figure 59). Comme attendu, de nombreux signaux entre 3,5 et 4,5 ppm, caractéristiques des protons des sucres, sont présents. Les différences majeures entre les deux spectres sont le large signal observé sur le spectre dans le DMSO de 4 à 5 ppm correspondant au signal de l'eau liée par interaction hydrogène aux sucres et les

quelques signaux entre 8 et 9 ppm correspondant à des signaux aromatiques de petits fragments de lignine solubles dans l'eau. Ces signaux aromatiques ne sont pas visibles dans le spectre réalisé dans D₂O car ils n'y sont vraisemblablement pas solubles. Il n'est pas étonnant de retrouver des signaux de protons aromatiques car étant donné que ces composés absorbent en UV (Cf chromatogramme SEC, chapitre 2) ils possèdent des groupements chromophores. L'analyse COSY (Figure 60) est complexe, mais donne comme information que les protons ne sont pas indépendants mais bien corrélés entre eux. Les analyses des spectres de RMN-2D HSQC et HMBC (Figure 61 et Figure 62) permettent de déterminer la présence de nombreux signaux correspondant à des protons CH et CH₂ couplés entre eux. L'absence de signaux entre 90 et 100 ppm en HSQC (caractéristiques du carbone anomérique des sucres) laisse supposer que les sucres sont présents sous formes dégradées. Cette hypothèse est confirmée par la présence de 4 signaux correspondant à des liaisons C=O à 178,5 ; 177 ; 174,7 ; et 172,6 ppm en HMBC. Ces carbonés (C=O) corrélient avec les hydrogènes des différents CH₂ (autour de 60 ppm). Ces analyses confirment que cette fraction contient un mélange complexe de sucres dégradés certainement sous forme d'acides sacchariniques [43].

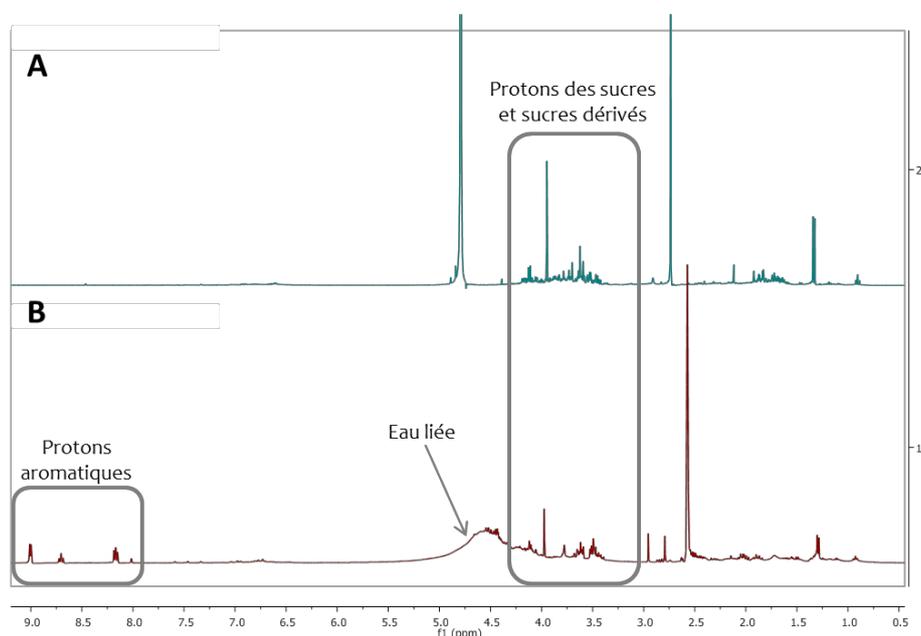


Figure 59: RMN 1H de la fraction "sucre" dans D₂O (A), dans le DMSO (B)

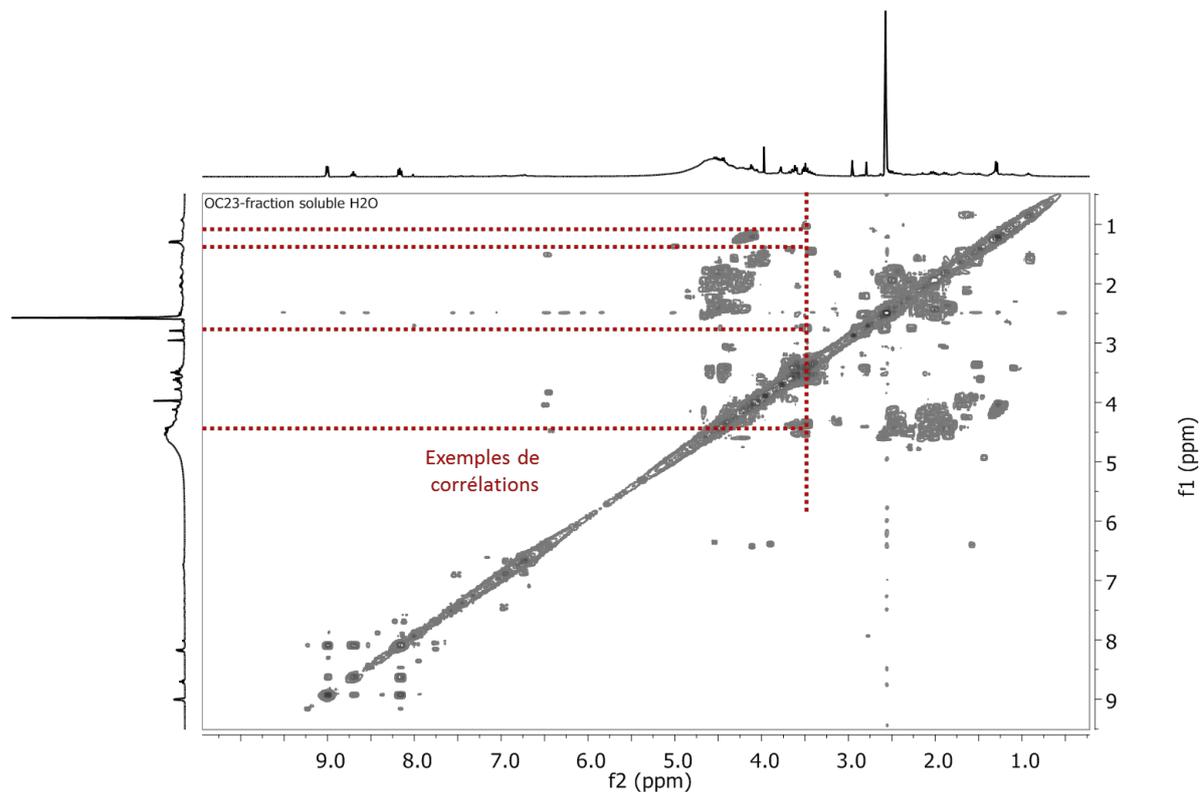


Figure 60: COSY dans le DMSO de la fraction « sucre »

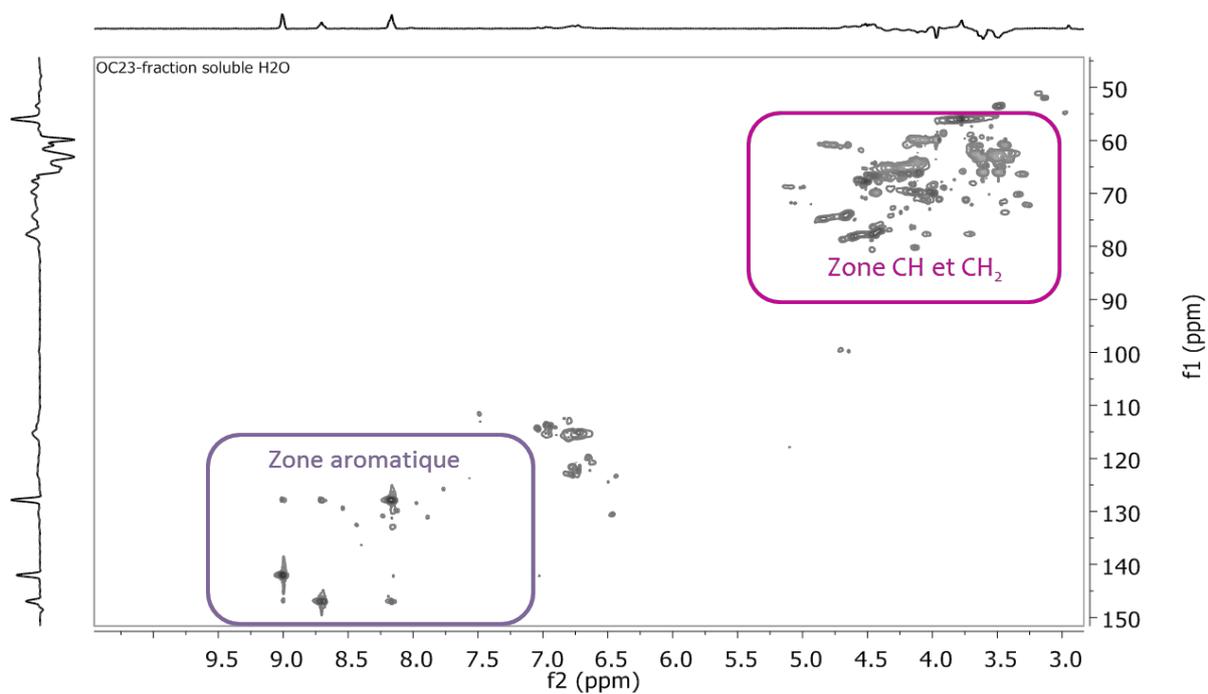


Figure 61: HSQC dans le DMSO de la fraction "sucre"

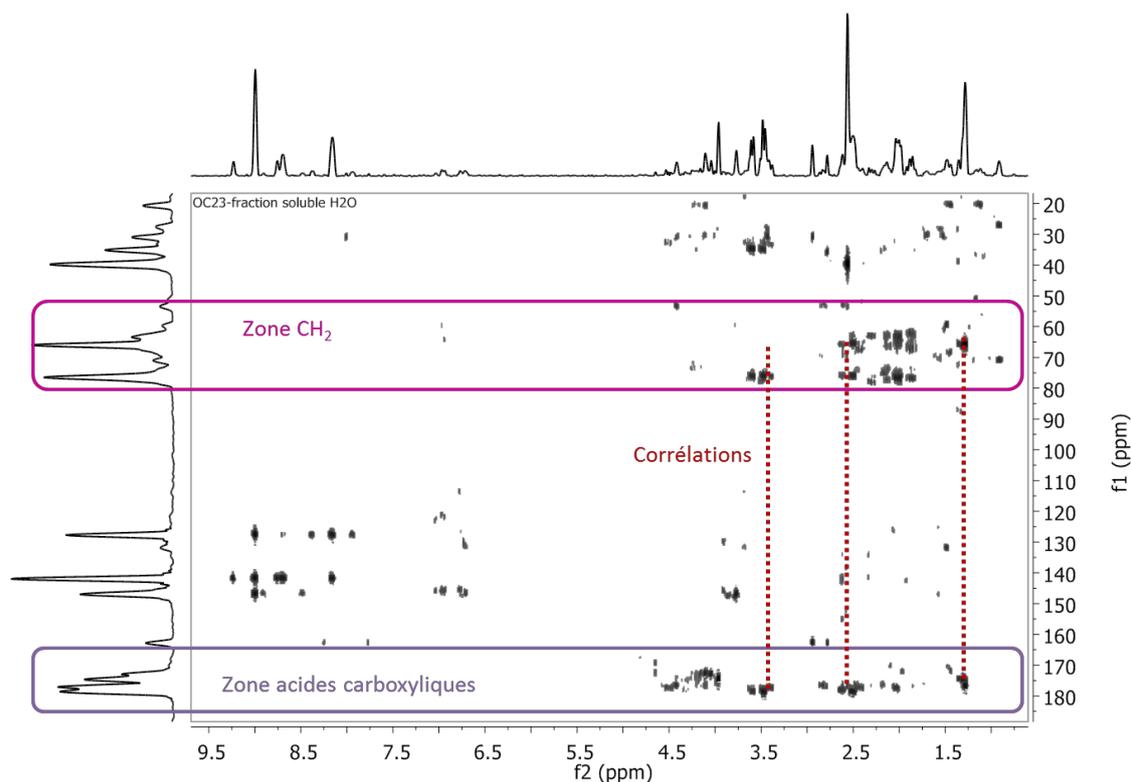


Figure 62: HMBC dans le DMSO de la fraction "sucre"

VIII. Conclusion sur la structure de la lignine alcaline

Etant donné que la lignine alcaline est encore inconnue en termes de structure et de propriétés, les résultats obtenus ont été comparés à ceux obtenus pour une lignine kraft de même pureté. Ainsi, il a été mis en évidence que les différences principales entre ces deux lignines sont : la quantité en soufre (supérieure pour la lignine kraft) et la masse molaire (plus faible pour la lignine Kraft). Les autres caractéristiques : nature et proportion des groupements hydroxyle et acide carboxylique en RMN ^{31}P , groupements fonctionnels par IRFT et nature des principaux motifs présents en RMN HSQC sont tout à fait comparables pour la lignine alcaline fragmentée et la lignine Kraft. Une valeur élevée (124°C) pour la température de transition vitreuse de la lignine alcaline a été trouvée s'expliquant par la structure aromatique, les interactions type liaison hydrogène et la masse molaire. Le profil de dégradation thermique observé en TGA est comparable à ceux décrits dans la littérature avec la présence de trois étapes : séchage, pyrolyse et carbonisation.

Les caractérisations de la lignine alcaline fragmentée ont également été comparées à celles obtenues pour la lignine alcaline non fragmentée (extraite et purifiée suivant le même protocole sans l'étape de fragmentation) pour étudier l'influence de l'étape de pré-traitement en autoclave sur la structure de la LAF. Une différence a été notée, en analyse RMN ^{31}P , au niveau de la proportion des groupements hydroxyle : pour la lignine alcaline fragmentée, la proportion d'hydroxyles d'unités condensées est plus importante et la proportion en hydroxyles aliphatiques plus faible que pour la lignine non fragmentée. Ceci signifie que le chauffage a conduit à la formation d'unités condensées au sein de la lignine alcaline et explique que les températures de décomposition observées en TGA soient plus élevées pour la LAF. On suppose également des réactions de déshydratation durant le pré-traitement en autoclave, cette hypothèse est appuyée par l'analyse élémentaire qui montre une proportion en oxygène et une masse théorique moins importante pour la LAF. Enfin, les analyses pour la LAF et la LANF donnent exactement les mêmes résultats en RMN HSQC et ^{13}C . Le traitement en autoclave n'a donc pas provoqué de changement visible dans la structure, plus précisément, dans les liaisons inter-unités de la lignine alcaline.

Pour conclure, la LAF présente une masse molaire relative de 1200 g/mol (\bar{M}_n). Elle contient un faible pourcentage d'azote (0.66%), probablement dû à la formation de complexes lignine-protéine et de soufre (1.86%) résultant du procédé de délignification. Les analyses structurales ont permis de donner des renseignements sur la structure de la LAF. Les techniques de RMN 2D ont montré la présence d'unités guaiacyle et *p*-hydroxyphényle, caractéristiques des lignines des résineux. Les motifs en fin de chaîne sont principalement présents sous forme d'alcool et d'aldéhyde cinnamique et le type de liaisons inter-unités sont les suivantes : liaison β -O-4, β - β (ou motif résinol) et β -5 (ou motif phénylcoumarane). Ces données sont qualitatives, la HSQC ne permet pas de quantifier les liaisons et motifs désignés. En ce qui concerne les groupements hydroxyle : ceux-ci sont majoritairement présents sous forme aliphatiques (1.98 mmol/g) et d'unités condensées (2.22 mmol.g) formés pendant l'étape du pré-traitement en autoclave. La proportion en acides carboxyliques est relativement faible (0.52 mmol/g). Les informations apportées par l'étude de la structure de la LAF vont permettre le suivi des

transformations structurales de la LAF suite à sa modification chimique qui est discutée dans le prochain chapitre. La stratégie employée est l'oxydation à l'oxygène en milieu basique pour la formation d'oligomères fonctionnalisés de lignine.

IX. Références bibliographiques

1. Lawoko, M., G. Henriksson, and G. Gellerstedt, *Structural Differences between the Lignin–Carbohydrate Complexes Present in Wood and in Chemical Pulps*. *Biomacromolecules*, 2005. **6**(6): p. 3467-3473.
2. Yuan, T.-Q., S.-N. Sun, F. Xu, and R.-C. Sun, *Characterization of Lignin Structures and Lignin–Carbohydrate Complex (LCC) Linkages by Quantitative ¹³C and 2D HSQC NMR Spectroscopy*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011. **59**(19): p. 10604-10614.
3. Ghaffar, S.H. and M. Fan, *Structural analysis for lignin characteristics in biomass straw*. *Biomass and Bioenergy*, 2013. **57**: p. 264-279.
4. TAPPI, *Test Method T 222 om-02, in Acid-insoluble lignin in wood and pulp*. 2002, Technical Association of the Pulp and Paper Industry. p. 5.
5. Maekawa, E., T. Ichizawa, and T. Koshijima, *An evaluation of acid soluble lignin determination in analyses of lignin by the sulfuric acid method*. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 1989. **9**: p. 549-567.
6. Santos, P.S.B.d., X. Erdocia, D.A. Gatto, and J. Labidi, *Characterisation of Kraft lignin separated by gradient acid precipitation*. *Industrial Crops and Products*, 2014. **55**(0): p. 149-154.
7. Sun, R. and J. Tomkinson, *Fractional separation and physico-chemical analysis of lignins from the black liquor of oil palm trunk fibre pulping*. *Separation and Purification Technology*, 2001. **24**(3): p. 529-539.
8. Gosselink, R.J.A., A. Abächerli, H. Semke, R. Malherbe, P. Käuper, A. Nadif, and J.E.G. van Dam, *Analytical protocols for characterisation of sulphur-free lignin*. *Industrial Crops and Products*, 2004. **19**(3): p. 271-281.
9. Alekhina, M., J. Erdmann, A. Ebert, A. Stepan, and H. Sixta, *Physico-chemical properties of fractionated softwood kraft lignin and its potential use as a bio-based component in blends with polyethylene*. *Journal of Materials Science*, 2015. **50**(19): p. 6395-6406.
10. Heitner, C., D. Dimmel, and J. Schmidt, eds. *Lignin and Lignans: Advances in Chemistry*. 2010, CRC Press, Taylor & Francis Group: USA.
11. Vishtal, A. and A. Kraslawski, *Challenges in industrial applications of technical lignins*. *Bioresources*, 2011. **6**(3): p. 3547-3568.
12. Klashorst, V.d., ed. *Wood adhesives Chemistry and technology*. Lignin-formaldehyde wood adhesives, ed. Dekker. 1989, Pizzi A.: New-york.
13. El Hage, R., L. Chrusciel, L. Desharnais, and N. Brosse, *Effect of autohydrolysis of *Miscanthus x giganteus* on lignin structure and organosolv delignification*. *Bioresource Technology*, 2010. **101**(23): p. 9321-9329.
14. Pan, X., C. Arato, N. Gilkes, D. Gregg, W. Mabee, K. Pye, Z. Xiao, X. Zhang, and J. Saddler, *Biorefining of softwoods using ethanol organosolv pulping: Preliminary evaluation of process streams for manufacture of fuel-grade ethanol and co-products*. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005. **90**(4): p. 473-481.
15. El Mansouri, N.-E.E. and J. Salvadó, *Structural characterization of technical lignins for the production of adhesives: Application to lignosulfonate, kraft, soda-anthraquinone, organosolv and ethanol process lignins*. *Industrial Crops and Products*, 2006. **24**(1): p. 8-16.

16. Brosse, N., M.N. Mohamad Ibrahim, and A. Abdul Rahim, *Biomass to Bioethanol: Initiatives of the Future for Lignin*. ISRN Materials Science, 2011. **2011**: p. 10.
17. Tejado, A., C. Peña, J. Labidi, J.M. Echeverria, and I. Mondragon, *Physico-chemical characterization of lignins from different sources for use in phenol–formaldehyde resin synthesis*. *Bioresource Technology*, 2007. **98**(8): p. 1655-1663.
18. Zhao, X., L. Dai, and D. Liu, *Characterization and comparison of Acetosolv and Milox lignin isolated from crofton weed stem*. *Journal of Applied Polymer Science*, 2009. **114**(2): p. 1295-1302.
19. Lin, S.Y. and C.W. Dence, eds. *Methods in Lignin Chemistry*. 1992. 83-106.
20. El Mansouri, N.-E. and J. Salvadó, *Analytical methods for determining functional groups in various technical lignins*. *Industrial Crops and Products*, 2007. **26**(2): p. 116-124.
21. Faix, O., *Classification of Lignins from Different Botanical Origins by FT-IR Spectroscopy*, in *Holzforschung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*. 1991. p. 21.
22. Pu, Y.Q., S.L. Cao, and A.J. Ragauskas, *Application of quantitative P-31 NMR in biomass lignin and biofuel precursors characterization*. *Energy & Environmental Science*, 2011. **4**(9): p. 3154-3166.
23. Argyropoulos, D.S., *Quantitative Phosphorus-31 NMR Analysis of Lignins, a New Tool for the Lignin Chemist*. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 1994. **14**(1): p. 45-63.
24. Asgari, F. and D.S. Argyropoulos, *Fundamentals of oxygen delignification. Part II. Functional group formation/elimination in residual kraft lignin*. *Canadian Journal of Chemistry*, 1998. **76**(11): p. 1606-1615.
25. Boeriu, C.G., F.I. Fițigău, R.J.A. Gosselink, A.E. Frissen, J. Stoutjesdijk, and F. Peter, *Fractionation of five technical lignins by selective extraction in green solvents and characterisation of isolated fractions*. *Industrial Crops and Products*, 2014. **62**(0): p. 481-490.
26. Rencoret, J., G. Marques, A. Gutierrez, L. Nieto, J.I. Santos, J. Jimenez-Barbero, A.T. Martinez, and J.C. del Rio, *HSQC-NMR analysis of lignin in woody (Eucalyptus globulus and Picea abies) and non-woody (Agave sisalana) ball-milled plant materials at the gel state 10(th) EWLP, Stockholm, Sweden, August 25-28, 2008*. *Holzforschung*, 2009. **63**(6): p. 691-698.
27. ZHANG, L., GELLERSTEDT, #160, #246, and ran, *Achieving quantitative assignment of lignin structure by combining [13]C and HSQC NMR techniques*.
28. Wu, M., J. Pang, F. Lu, X. Zhang, L. Che, F. Xu, and R. Sun, *Application of new expansion pretreatment method on agricultural waste. Part I: Influence of pretreatment on the properties of lignin*. *Industrial Crops and Products*, 2013. **50**(0): p. 887-895.
29. Yelle, D.J., J. Ralph, and C.R. Frihart, *Characterization of nonderivatized plant cell walls using high-resolution solution-state NMR spectroscopy*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 2008. **46**(6): p. 508.
30. Balakshin, M.Y., E.A. Capanema, C.-L. Chen, and H.S. Gracz, *Elucidation of the structures of residual and dissolved pine kraft lignins using an HMQC NMR technique*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003. **51**(21): p. 6116-6127.

31. Cui, C., R. Sun, and D.S. Argyropoulos, *Fractional Precipitation of Softwood Kraft Lignin: Isolation of Narrow Fractions Common to a Variety of Lignins*. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2014.
32. Glasser Wolfgang, G., *Classification of Lignin According to Chemical and Molecular Structure*, in *Lignin: Historical, Biological, and Materials Perspectives*. 1999, American Chemical Society. p. 216-238.
33. Cao, J., G. Xiao, X. Xu, D. Shen, and B. Jin, *Study on carbonization of lignin by TG-FTIR and high-temperature carbonization reactor*. Fuel Processing Technology, 2013. **106**(0): p. 41-47.
34. Liu, Q., S. Wang, Y. Zheng, Z. Luo, and K. Cen, *Mechanism study of wood lignin pyrolysis by using TG-FTIR analysis*. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2008. **82**(1): p. 170-177.
35. Balat, M., *Mechanisms of Thermochemical Biomass Conversion Processes. Part 1: Reactions of Pyrolysis*. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, 2008. **30**(7): p. 620-635.
36. OREN, #160, M. J., NASSAR, M. M., MACKAY, and G.D. M., *Infrared study of inert carbonization of spruce wood lignin under helium atmosphere*. Vol. 29. 1984: Multiscience Publications.
37. Yang, H., R. Yan, H. Chen, D.H. Lee, and C. Zheng, *Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis*. Fuel, 2007. **86**(12-13): p. 1781-1788.
38. Cagnon, B., X. Py, A. Guillot, F. Stoeckli, and G. Chambat, *Contributions of hemicellulose, cellulose and lignin to the mass and the porous properties of chars and steam activated carbons from various lignocellulosic precursors*. Bioresource Technology, 2009. **100**(1): p. 292-298.
39. Zhou, H.L., G. Xiao, R.B. Wu, L. Huang, M.J. Ni, X. Gao, and K.F. Cen, *Influence of temperature on the structure of lignin conductive charcoal graphitization*. Zhejiang Daxue Xuebao (Gongxue Ban)/Journal of Zhejiang University (Engineering Science), 2014. **48**(11): p. 2066-2071.
40. Wu, R.B., G. Xiao, D. Chen, H.L. Zhou, M.J. Ni, X. Gao, and K.F. Cen, *Characteristics of electrically conductive charcoal prepared by high temperature carbonization of lignin*. Zhejiang Daxue Xuebao (Gongxue Ban)/Journal of Zhejiang University (Engineering Science), 2014. **48**(10): p. 1752-1757.
41. Bu, Q., H. Lei, L. Wang, Y. Wei, L. Zhu, X. Zhang, Y. Liu, G. Yadavalli, and J. Tang, *Bio-based phenols and fuel production from catalytic microwave pyrolysis of lignin by activated carbons*. Bioresource Technology, 2014. **162**: p. 142-147.
42. Li, J., Y. Li, Y. Wu, and M. Zheng, *A comparison of biochars from lignin, cellulose and wood as the sorbent to an aromatic pollutant*. Journal of Hazardous Materials, 2014. **280**: p. 450-457.
43. Reintjes, M. and G.K. Cooper, *Polysaccharide alkaline degradation products as a source of organic chemicals*. Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development, 1984. **23**(1): p. 70-73.

Chapitre 4:
Oxydation & fonctionnalisation de la
lignine alcaline fragmentée

Table des matières

I. Stratégie employée	159
I.1. Effet du blanchiment à l'oxygène sur la lignine.....	159
I.2. Présentation détaillée du protocole appliqué.....	162
II. Caractérisation des composés oxydés obtenus	163
II.1. Suivi de l'évolution des masses molaires par SEC	163
II.2. Caractérisations structurales	165
II.2.1. Suivi de la fonctionnalisation de la « lignine précipitée » et des composés « hydrosolubles » par spectroscopie infrarouge et RMN ³¹ P.....	165
II.2.2. Mise en évidence de la modification de la structure de la « lignine précipitée » par spectroscopie RMN 2D et ¹³ C	168
II.3. Caractérisation des composés « organosolubles » par GC/MS.....	171
II.4. Mise en évidence de la formation de CO ₂	172
II.5. Conclusion.....	172
III. Influence des paramètres de réaction	173
III.1. Evolution du pH et de la formation de « volatils » en fonction du temps.....	173
III.2. Influence de l'apport en soude et de l'apport en oxygène	174
III.3. Influence du temps et de la température	177
III.4. Influence de la nature des catalyseurs et des agents d'oxydations.....	178
III.5. Conclusion.....	184
IV. Optimisation de la réaction d'oxydation & validation du protocole	185
IV.1. « Recyclage » de la lignine précipitée.....	185
IV.2. Tests de répétabilité	188
V. Application des conditions d'oxydation à différents types de lignine	189
VI. Etude de l'oxydation de molécules phénoliques et benzéniques	192
VI.1. Mise en évidence de l'ouverture de cycle	194
VI.2. Oxydation sans ouverture de cycle.....	197
VI.3. Conclusion	199
VII. Conclusion sur l'oxydation de la lignine alcaline	199
VIII. Références bibliographiques	201

I. Stratégie employée

I.1. Effet du blanchiment à l'oxygène sur la lignine

L'oxydation catalytique de la lignine en vue d'obtenir des molécules à haute valeur ajoutée [1-3] ou pour la délignification des pâtes à papier [4, 5] a déjà fait l'objet de nombreux travaux. L'oxydation de la lignine par l'oxygène en milieu basique est industriellement utilisée par les industries papetières pour le blanchiment des pâtes à papier [6-8].

Le blanchiment est un procédé chimique visant à augmenter la blancheur des pâtes à papier en éliminant ou modifiant certains composés colorés de la pâte écrue comme la lignine et ses produits de dégradation. Jusqu'au début des années 1990, le chlore, le dioxyde de chlore et l'hypochlorite étaient principalement utilisés pour l'étape de blanchiment [9]. Ces composés sont peu chers et efficaces mais non respectueux de l'environnement. L'utilisation de l'oxygène, sans composés chlorés, pour l'étape de blanchiment a été considérée par le milieu industriel afin de limiter la toxicité des pâtes à papier et des effluents [6]. On distingue le blanchiment ECF (Elementary Chlorine Free) qui s'affranchit du chlore élémentaire ou gazeux en le remplaçant par du dioxyde de chlore du blanchiment TCF (Totally Chlorine Free) qui n'utilise plus du tout de chlore.

Argyropoulos [10] a rassemblé les travaux de recherche présentant l'intérêt de l'utilisation de l'oxygène ou du peroxyde d'hydrogène pour la délignification. Le blanchiment à l'oxygène s'effectue en milieu alcalin (NaOH) et permet l'élimination de la lignine présente dans la pâte écrue par solubilisation après modification chimique. Lors de ce procédé, la pâte écrue est traitée avec une solution alcaline de NaOH, ajoutée au réacteur sous flux constant pour maintenir le pH entre 13 et 12 [8]. Cette réaction s'effectue sous pression d'oxygène. Gierer [7] a discuté des principales réactions se produisant sur la lignine pendant l'oxydation. La variété des intermédiaires de réactions associée à la complexité de la structure de la lignine rend l'élucidation des mécanismes de réaction assez difficile. La première étape de la délignification concerne les fonctions phénolates de la lignine, en milieu alcalin, qui sont converties en radicaux phénoxy stabilisés par résonance (Figure 63). Une réaction de couplage s'effectue ensuite avec

un composé accepteur d'électrons qui peut être l'oxygène ou un autre radical phénoxy de lignine pour former un intermédiaire hydroperoxyde [11]. Selon la position de la fonction hydroperoxyde (sur le cycle aromatique ou la chaîne latérale des unités de lignine), la réaction d'oxydation conduira à la formation de structures type oxirane, carbonyle ou acide muconique (Figure 64). Ces réactions ont pour effet d'augmenter la solubilité de la lignine en milieu alcalin pour faciliter son extraction.

Les analyses structurales (en particulier la RMN ^{31}P) après oxydation permettent d'élucider les changements structuraux se produisant sur la lignine pendant la délignification. Une importante augmentation (entre 48 et 159%) des fonctions acide carboxylique est observée ainsi qu'une diminution des hydroxyles phénoliques [8]. La formation d'acides carboxyliques peut être expliquée par deux principales réactions : la rupture des liaisons inter-unités conduisant à la formation de composés monomères de type «vanilline» si elle se produit en fin de chaîne ou de composés carbonylés et l'ouverture du cycle aromatique formant des composés de type «acide muconique» [12]. Ces changements structuraux sont également observés lorsque les conditions de délignification à l'oxygène des pâtes à papier sont directement appliquées à la lignine [6, 13].

Pour résumer, le traitement de la lignine par l'oxygène en milieu basique conduit à la fois à la formation de composés monomères comme la vanilline et à la formation d'oligomères fonctionnalisés [6]. Ce traitement est relativement simple à mettre en œuvre et permet à la fois la fragmentation et la fonctionnalisation de la lignine.

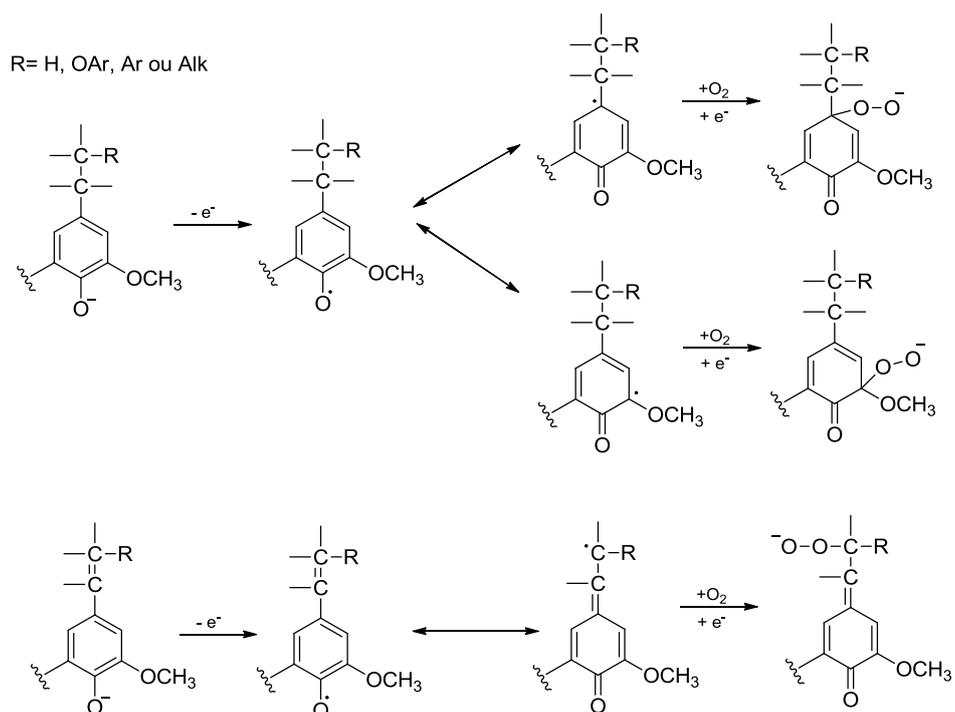


Figure 63 : Premières étapes de réaction lors de la délignification à l'oxygène : Formation d'un radical phénoxy suivie de la formation d'intermédiaire hydroperoxyde[11]

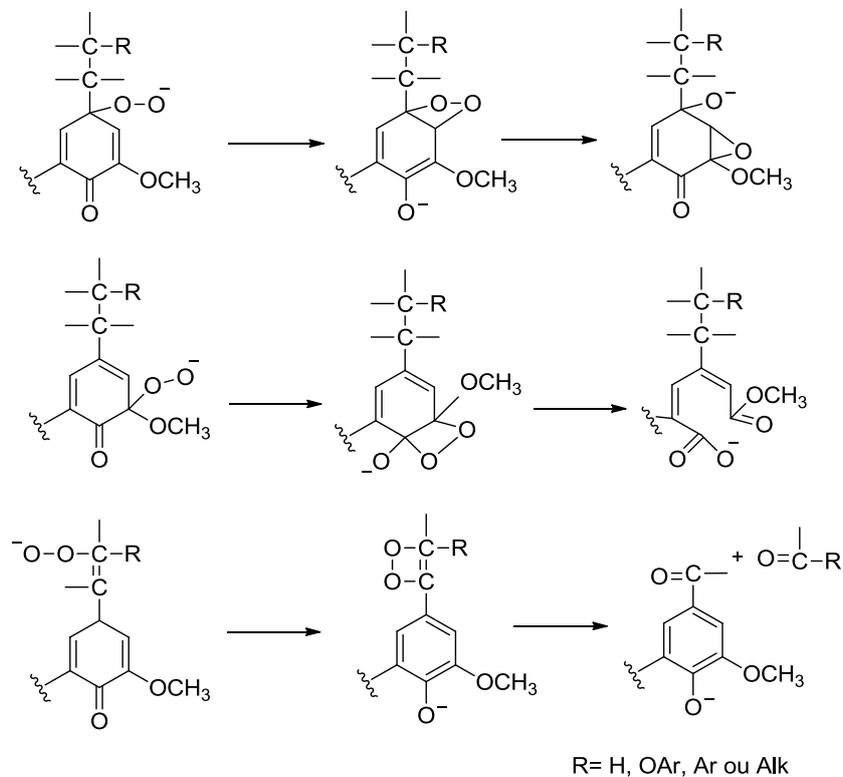


Figure 64: Réaction des intermédiaires hydroperoxyde pendant la délignification à l'oxygène[11]

1.2. Présentation détaillée du protocole appliqué

La lignine alcaline utilisée dans ce chapitre est celle ayant subi l'étape de pré-traitement en autoclave lors du protocole d'extraction et purification décrit au chapitre 2, elle est nommée « lignine alcaline fragmentée » ou LAF. La modification chimique de la LAF a été réalisée par oxydation en milieu basique. Les choix des réactifs et solvants ont été faits de façon à rendre ce protocole éventuellement industrialisable. L'oxygène, peu cher, abondant et respectueux de l'environnement est un agent oxydant attrayant [14].

Plusieurs paramètres d'optimisation ont été testés et décrits au §III. Les étapes du protocole optimisé sont présentées à la Figure 65. La LAF est mise en solution dans de l'eau distillée ($C_{\text{Lignine}}^{\circ} = 40 \text{ g/L}$), en présence de soude ($R_{\text{massique}} [\text{NaOH/Lignine}] = 0,6$) et **sans catalyseur** dans un autoclave. La réaction est portée à 180°C , pendant une heure, sous une pression d'oxygène de 10 bars. Le pH évolue tout au long de la réaction, il passe de 13 à 7 en fin de traitement, ce qui laisse supposer la formation de fonctions acide carboxylique. La lignine résiduelle est récupérée par précipitation en ajoutant au milieu réactionnel une solution d'acide chlorhydrique à 1M, jusqu'à obtenir une valeur de pH compris entre 1 et 2. Le précipité est appelé « lignine précipitée » et représente environ 15% en bilan massique. La fraction soluble est extraite au dichlorométhane (4x20 ml) pour séparer les molécules phénoliques de faible masse, susceptibles d'être formées. Cette fraction est appelée « organosoluble » et représente moins de 3% en bilan massique. Enfin, la phase aqueuse est évaporée à l'évaporateur rotatif puis re-dispersée dans le méthanol pour séparer les sels (NaCl formé pendant l'étape de précipitation) et récupérer la fraction de composés « hydrosolubles » qui représente 40% en bilan massique. Les sels ont été calcinés à 900°C et ne contiennent quasiment pas de matière carbonée ; 98% de la matière est récupérée. La formation de composés « volatils » est supposée, en raison de la perte de masse observée (pouvant représenter jusqu'à 60% massique). Dans la littérature cette perte de masse est également observée mais les gaz formés ne sont jamais analysés ou quantifiés [15-18] et leur proportion est déterminée par différence [19]. Ces composés ne sont pas formés pendant la réaction en autoclave car lorsque le milieu réactionnel a directement été récupéré puis évaporé, aucune perte de masse n'a été observée. C'est pendant l'étape d'acidification que la formation de gaz est observée (formation de mousse et de bulles). Ceci laisse supposer la formation de carbonates

pendant la réaction d'oxydation qui se décomposent sous forme de gaz carbonique pendant l'étape d'acidification. Cette hypothèse est confirmée au §II.4. Le protocole établi a permis de récupérer tous les composés oxydés formés pendant la réaction d'oxydation malgré leur solubilité différente. Ces composés oxydés (« lignine précipitée », composés « organosolubles » et composés « hydrosolubles ») ont été caractérisés et comparés à la LAF de départ.

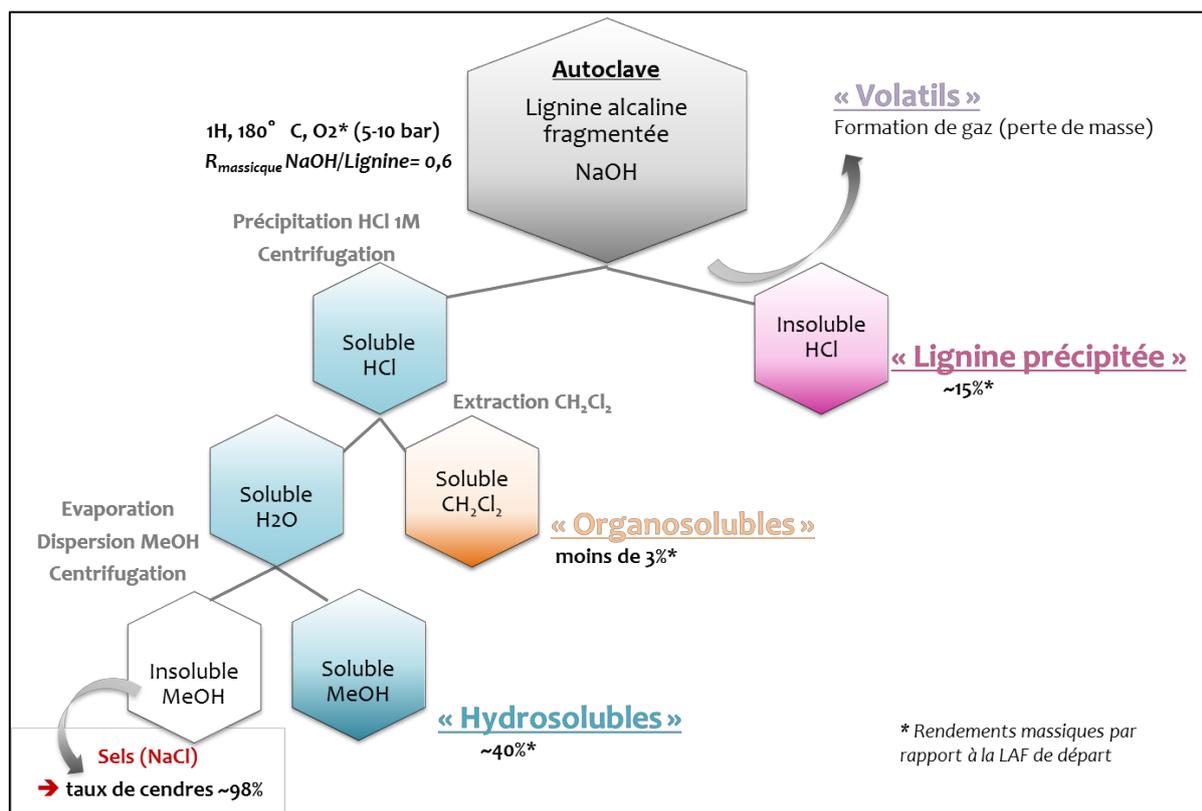


Figure 65: Protocole d'oxydation appliqué à la lignine alcaline fragmentée

II. Caractérisation des composés oxydés obtenus

II.1. Suivi de l'évolution des distributions molaires par SEC

Le suivi de la réaction d'oxydation a, avant tout, été fait par chromatographie d'exclusion stérique afin de contrôler les masses molaires apparentes des composés oxydés. Les chromatogrammes sont représentés à la Figure 66 et les valeurs de masses molaires et de dispersités au Tableau 25. La fraction « organosoluble » contient, comme attendu, les molécules phénoliques telles que la vanilline identifiée à un temps d'éluion de 1500 secondes. Une légère diminution de la masse molaire apparente est observée pour la

« lignine précipitée » et les composés « hydrosolubles » par rapport à la LAF de départ. Ceci signifie qu'une dépolymérisation a bien lieu lors de la réaction d'oxydation. Ces deux fractions ont une masse molaire apparente similaire mais des solubilités différentes, leurs structures sont vraisemblablement différentes. En effet, deux types de réaction d'oxydation principales peuvent se produire lors de la réaction, celles-ci sont représentées et simplifiées à la Figure 67 : l'oxydation de l'hydroxyle benzylique qui conduit à un clivage et donc, une diminution de la masse molaire avec peu (ou pas) d'effet sur la solubilité et l'oxydation du cycle aromatique [20] qui provoque l'ouverture du cycle et la formation de deux fonctions acide carboxylique. Dans ce dernier cas, une augmentation de la solubilité en milieu aqueux est observée et pas d'effet sur la masse molaire car cette réaction ne conduit pas à un clivage. Ces hypothèses devront être confirmées par des caractérisations structurales et par l'étude du comportement de molécules phénoliques simples dans les mêmes conditions.

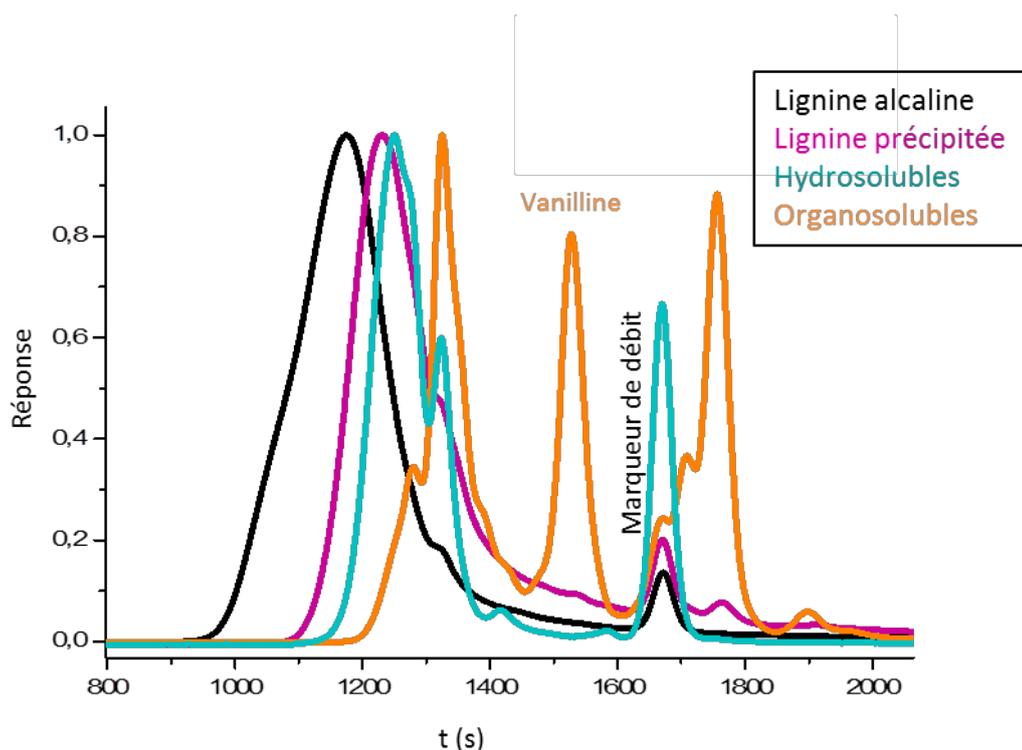


Figure 66: Chromatogrammes SEC des composés oxydés après réaction de la lignine alcaline fragmentée (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

Tableau 25 : Masses molaires (\bar{M}_n , \bar{M}_w et M_p) et dispersité (\mathcal{D}) de la lignine alcaline fragmentée et des composés oxydés

	M_p (g/mol)	\bar{M}_n (g/mol)	\bar{M}_w (g/mol)	\mathcal{D}
Lignine alcaline fragmentée	2500	1200	4550	3,5
Lignine précipitée	1100	580	1000	1.8
Hydrosolubles	1000	450	980	2
Organosolubles	Hors courbe de calibrage (faibles masses)			

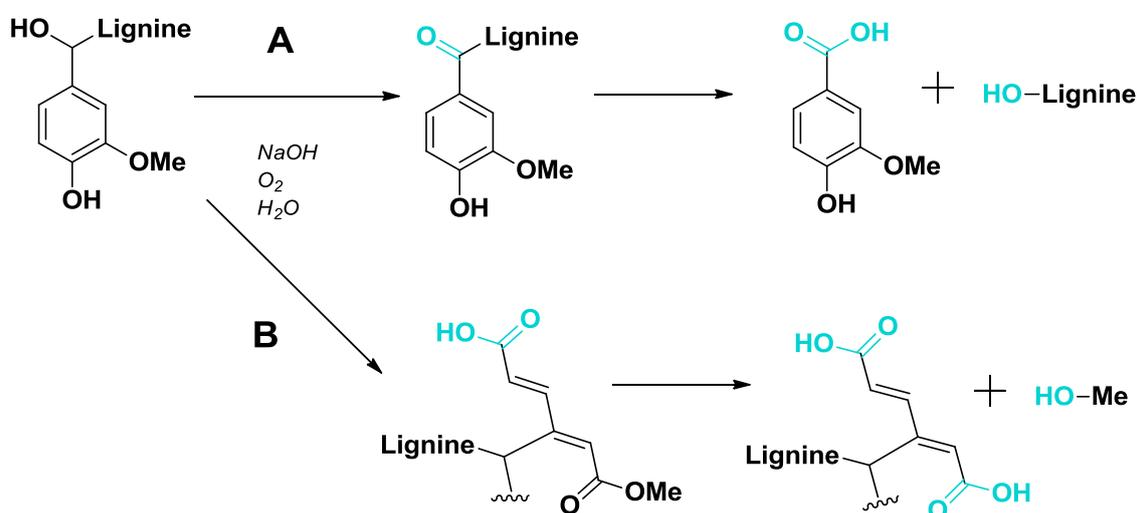


Figure 67: Réactions d'oxydation possibles lors du traitement de la lignine. Oxydation de l'hydroxyle benzylique (A), oxydation du cycle aromatique (B)

II.2. Caractérisations structurales

II.2.1. Suivi de la fonctionnalisation de la « lignine précipitée » et des composés « hydrosolubles » par spectroscopie infrarouge et RMN ^{31}P

L'analyse IRFT des composés oxydés (Figure 68) met en évidence une augmentation du signal à 1713 cm^{-1} caractéristique de l'élongation $\text{C}=\text{O}$ des fonctions carbonyle non conjuguées et des fonctions acide carboxylique. Ce phénomène est également observé dans la littérature [21]. La réaction d'oxydation permet vraisemblablement une fonctionnalisation de la LAF par la formation de fonctions acide carboxylique. Cette

affirmation est confirmée par analyse RMN ^{31}P . Les proportions des différents groupements hydroxyle et acide carboxylique en mmol/g sont répertoriées dans le Tableau 26. La Figure 69 est une représentation graphique des résultats obtenus convertis en OH/100 unités C_9 . Les résultats montrent une diminution des groupements hydroxyle (aliphatiques et phénoliques) pour les composés oxydés par rapport à la lignine alcaline fragmentée et la formation de fonctions acide carboxylique. Cette fonctionnalisation est d'autant plus importante pour les composés « hydrosolubles », ce qui explique leur solubilité et appuie l'hypothèse de l'oxydation du cycle aromatique. Ces résultats sont en accord avec la littérature [6, 8]. La destruction des cycles aromatiques n'est pas totale pour les composés « hydrosolubles » comme le montre l'analyse RMN HSQC à la Figure 70. En effet, de nombreux signaux dans la région aromatique y sont présents.

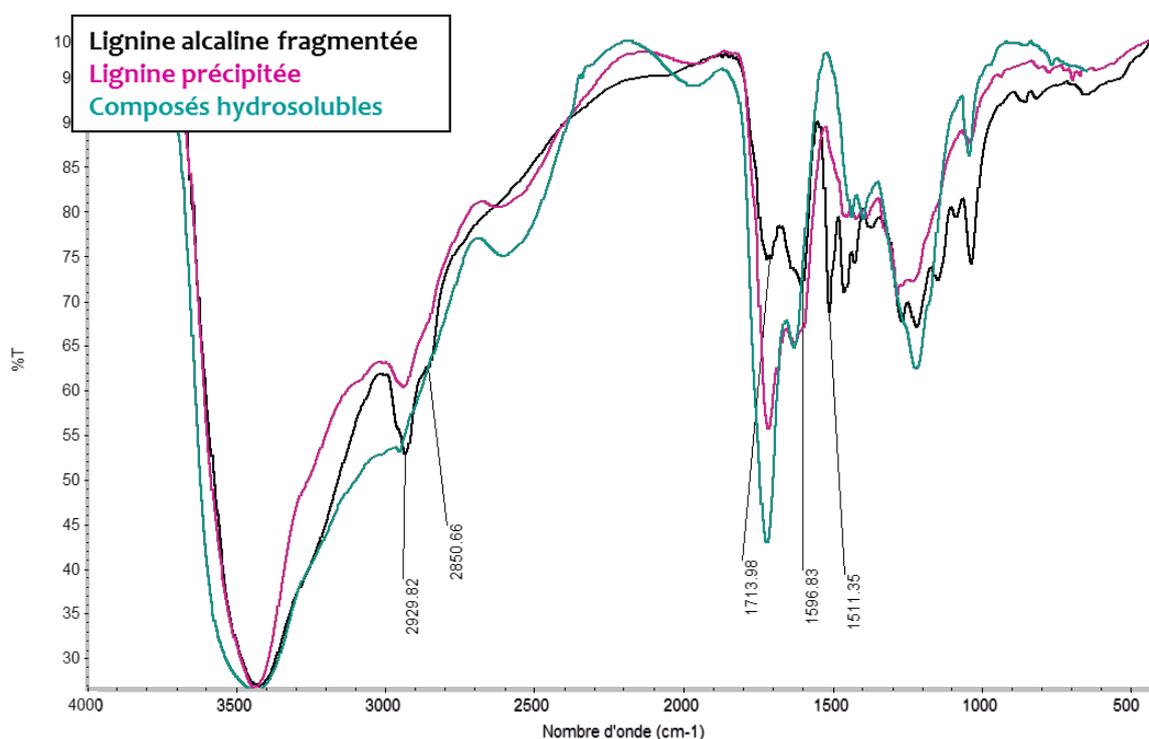


Figure 68: Analyse IRFT de la lignine alcaline fragmentée, de la « lignine précipitée » et des composés « hydrosolubles »

Tableau 26: Proportion en mmol/g de lignine des différents groupements hydroxyle et acide carboxylique des composés oxydés déterminée par RMN ³¹P

$n_{\text{hydroxyle}}$ (mmol/g)	Aliphatiques	Unités condensées	Guaïacyles	<i>p</i> - hydroxyphényles	Acides carboxyliques
Lignine alcaline fragmentée	1.98	2.22	1.85	0.23	0.52
Lignine précipitée	0.58	0.19	0.07	0.20	2.90
Hydrosolubles	0.49	0.21	0.02	0.71	5.27

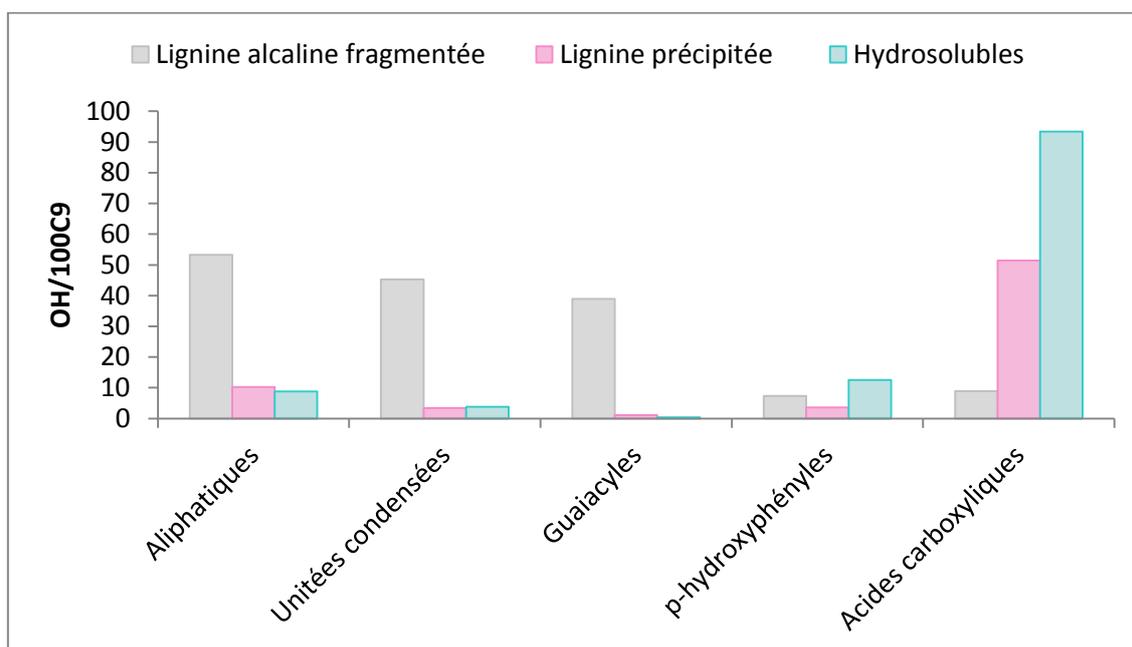


Figure 69: Proportion des groupements hydroxyle et acide carboxylique (en OH/100 unités C9) de la lignine alcaline fragmentée, de la « lignine précipitée » et des composés « hydrosolubles » identifiés par analyse RMN ³¹P

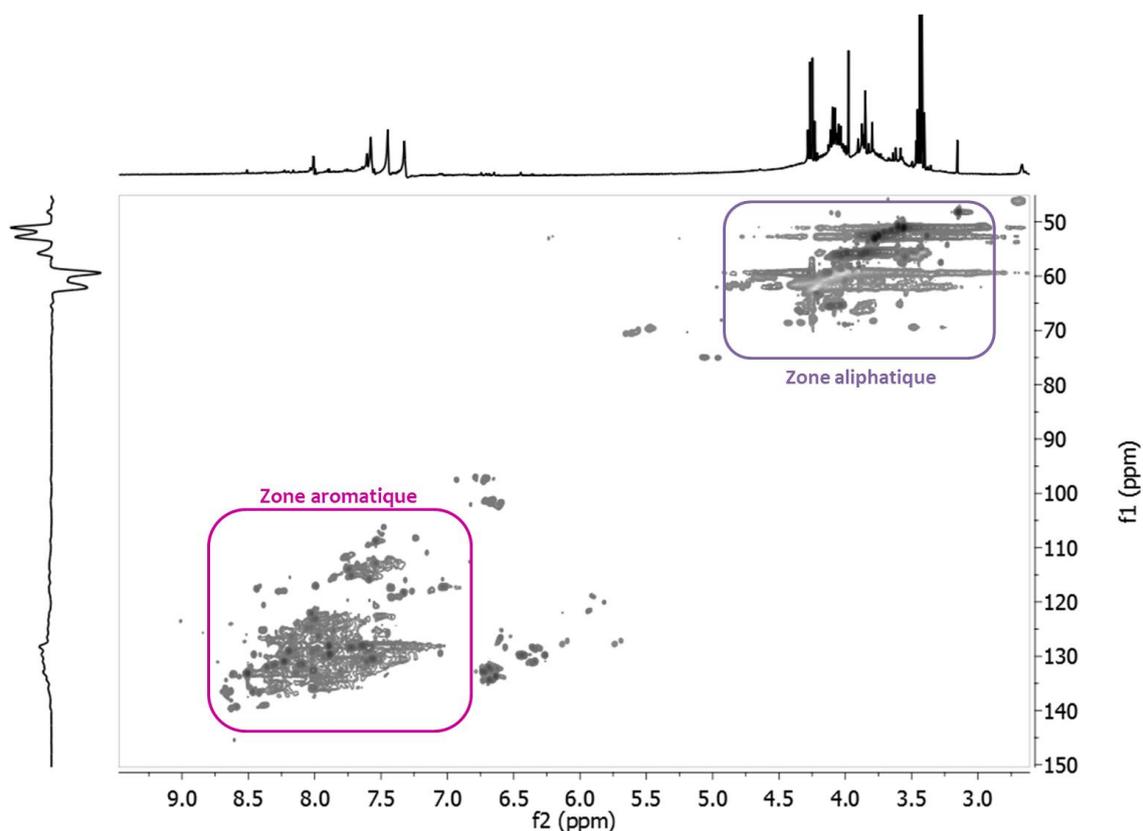


Figure 70: HSQC dans le DMSO des composés "hydrosolubles"

II.2.2. Mise en évidence de la modification de la structure de la « lignine précipitée » par spectroscopie RMN 2D et ^{13}C

Pour déterminer les changements structuraux se produisant lors de la réaction d'oxydation, la « lignine précipitée » a été analysée par différentes méthodes de spectroscopie RMN. L'analyse ^{13}C (Figure 71), donne des signaux mal définis pour la LAF mais semble être plus claire pour la lignine précipitée. En effet, les signaux sont mieux définis et la résolution est meilleure, signe de structures moins complexes suite à la fragmentation. La fonctionnalisation de la « lignine précipitée » est mise en évidence par la présence de signaux dans la zone des aldéhydes (185-195 ppm) et des acides carboxyliques (155-180 ppm) qui sont tous les deux non présents pour la LAF. Cependant la présence de ces signaux peut aussi être due à la meilleure résolution du spectre. L'analyse HSQC de la « lignine précipitée » présentée à la Figure 72 montre une disparition totale des signaux correspondant aux liaisons β -O-4, β - β (ou motif résinol) et β -5 (ou motif phénylcoumarane) dans la zone aliphatique. Ces liaisons ont donc été rompues

pendant la réaction, ce qui est en accord avec la diminution des masses molaires observée en SEC. La fonctionnalisation de la « lignine précipitée » est visible dans la zone aromatique, par le déplacement chimique des signaux vers des valeurs plus hautes que pour la LAF ; signe de la présence de structures oxydées. Ceci est confirmé par l'attribution des signaux correspondant aux unités guaiacyle oxydées (Figure 73). Elles sont retrouvées sous forme d'aldéhyde (X_1), d'acide carboxylique (X_2) et d'aldéhyde cinnamique (X_3). Les signaux ont été déterminés par corrélation avec les analyses HSQC et HMBC des phénols correspondants : vanilline, acide vanillique et aldéhyde cinnamique. D'autres expériences (HMBC) ont également été utilisées, qui corrélient le signal d'un proton avec les carbones voisins de celui qui le porte (J^2) et surtout, permettent d'avoir des informations sur les carbones quaternaires exclus des analyses HSQC. Les spectres HMBC de la LAF et de la « lignine précipitée », présentés à la Figure 74, montrent que les fonctions acide carboxylique et aldéhyde corrélient avec les protons du cycle aromatique, confirmant ainsi que ces fonctions sont bien portées par la lignine.

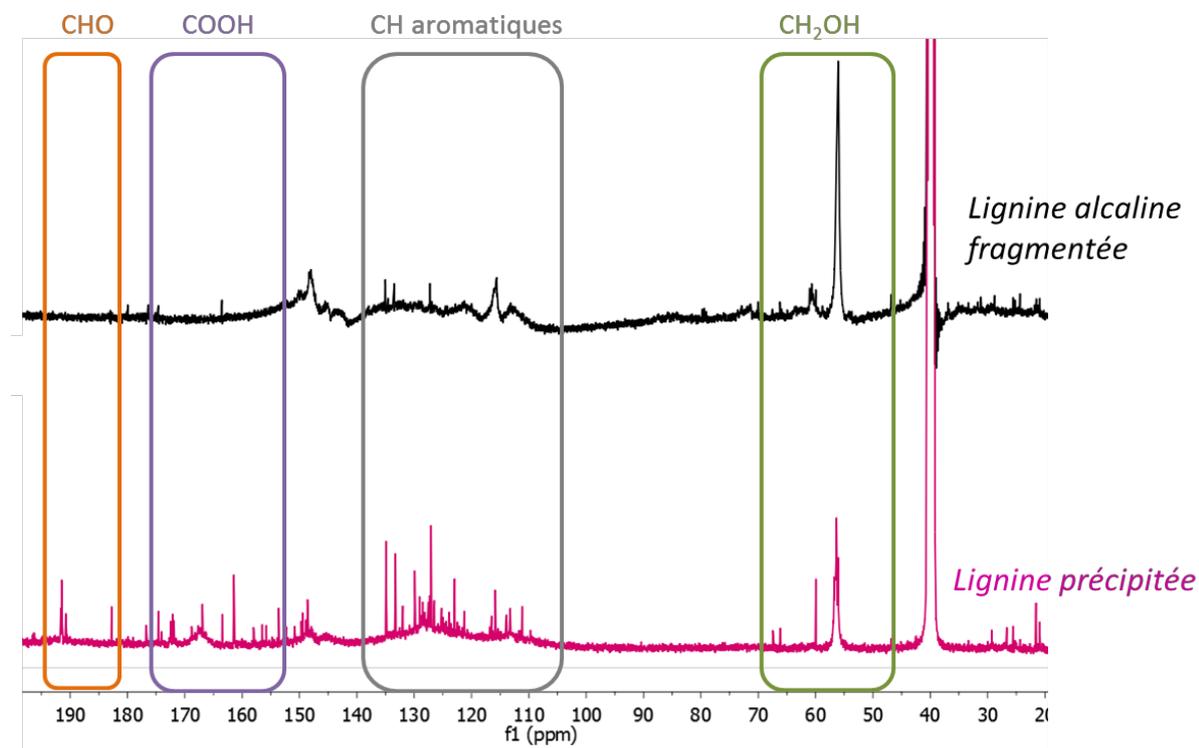


Figure 71: RMN ^{13}C de la lignine alcaline fragmentée et de la « lignine précipitée » dans le DMSO

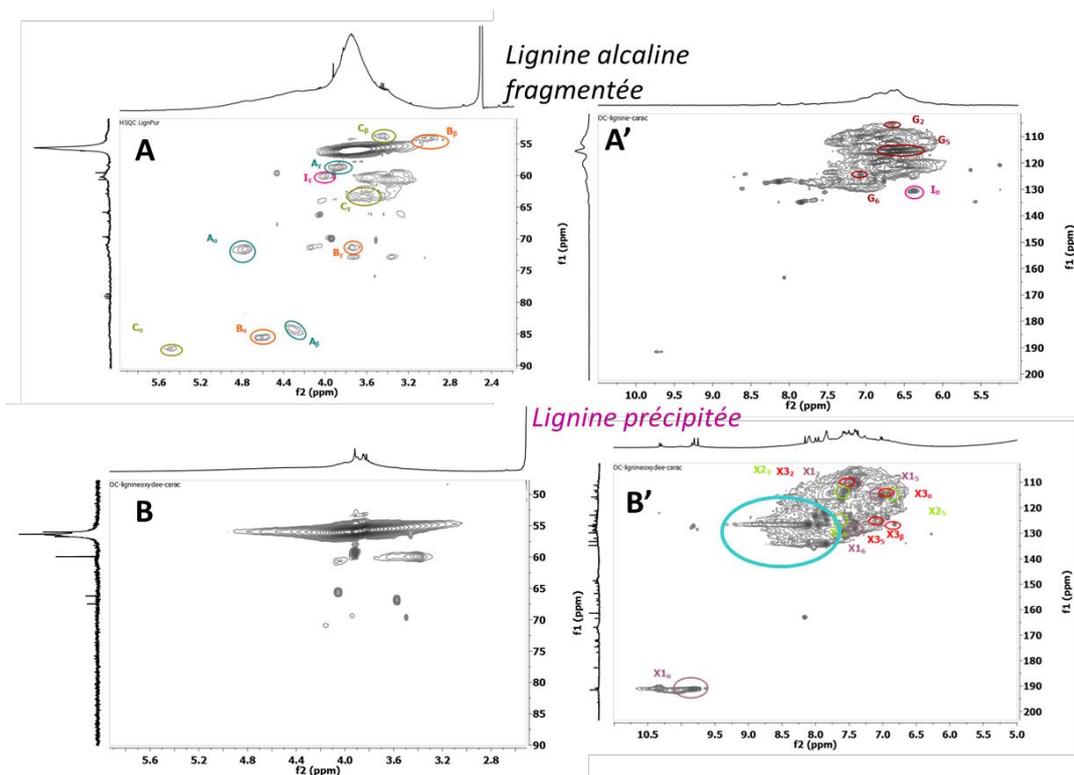


Figure 72: HSQC dans le DMSO de la lignine alcaline fragmentée [zone aliphatique (A), zone aromatique (A')] et de la « lignine précipitée » [zone aliphatique (B) et zone aromatique (B')]

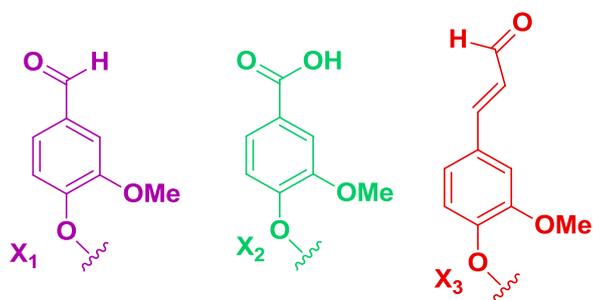


Figure 73: Unités oxydées déterminées par HSQC de la « lignine précipitée » dans la zone aromatique

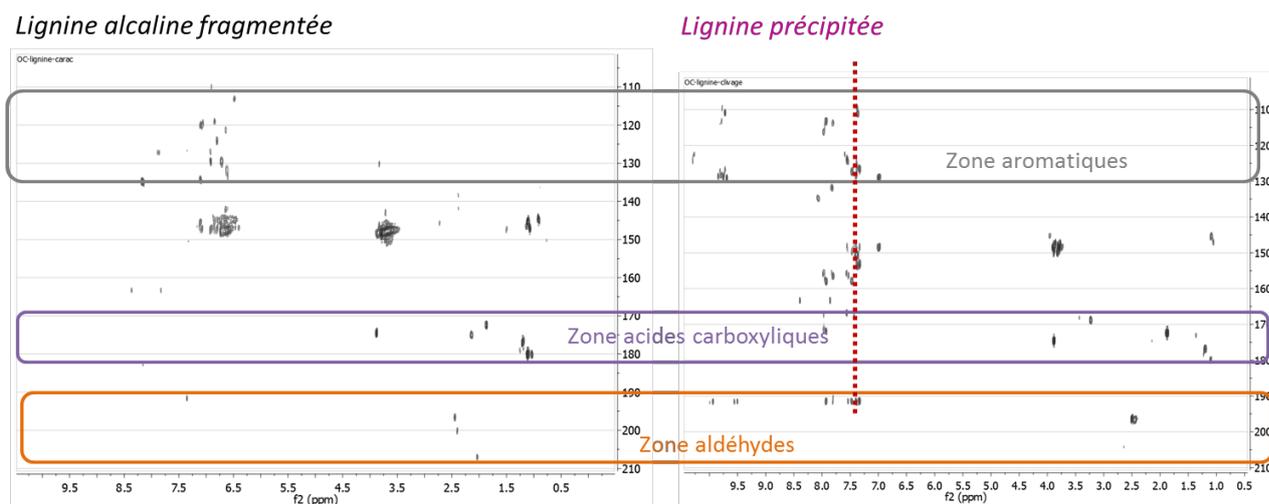


Figure 74: HMBC dans le DMSO de la lignine alcaline fragmentée et de la « lignine précipitée »

II.3. Caractérisation des composés « organosolubles » par GC/MS

La fraction « organosolubles » représente un faible pourcentage massique, moins de 3% par rapport à la LAF de départ. Cette fraction est analysée par chromatographie gazeuse associée à la spectrométrie de masse (GC/MS). Cette technique est souvent utilisée pour identifier les composés monomères formés après conversion des lignines [22-24]. Les composés majoritaires sont caractérisés d'après la base de données **NIST 2008**. Les probabilités de correspondance entre les spectres de masse des composés étudiés et ceux proposés par la bibliothèque de données sont considérées comme étant fiables lorsque les valeurs de « match » (MF) et « reverse match » (RMF) sont supérieures à 800 (idéalement autour de 900). Les composés identifiés et présentés tout au long de cette étude répondent à cette exigence. Le chromatogramme de la fraction « organosolubles » présenté à la Figure 75 montre de nombreux signaux qui témoignent de la diversité des molécules formées. Parmi elles, la vanilline (15%), des dérivés benzéniques et les auxiliaires de fabrication et leurs dérivés oxydés.

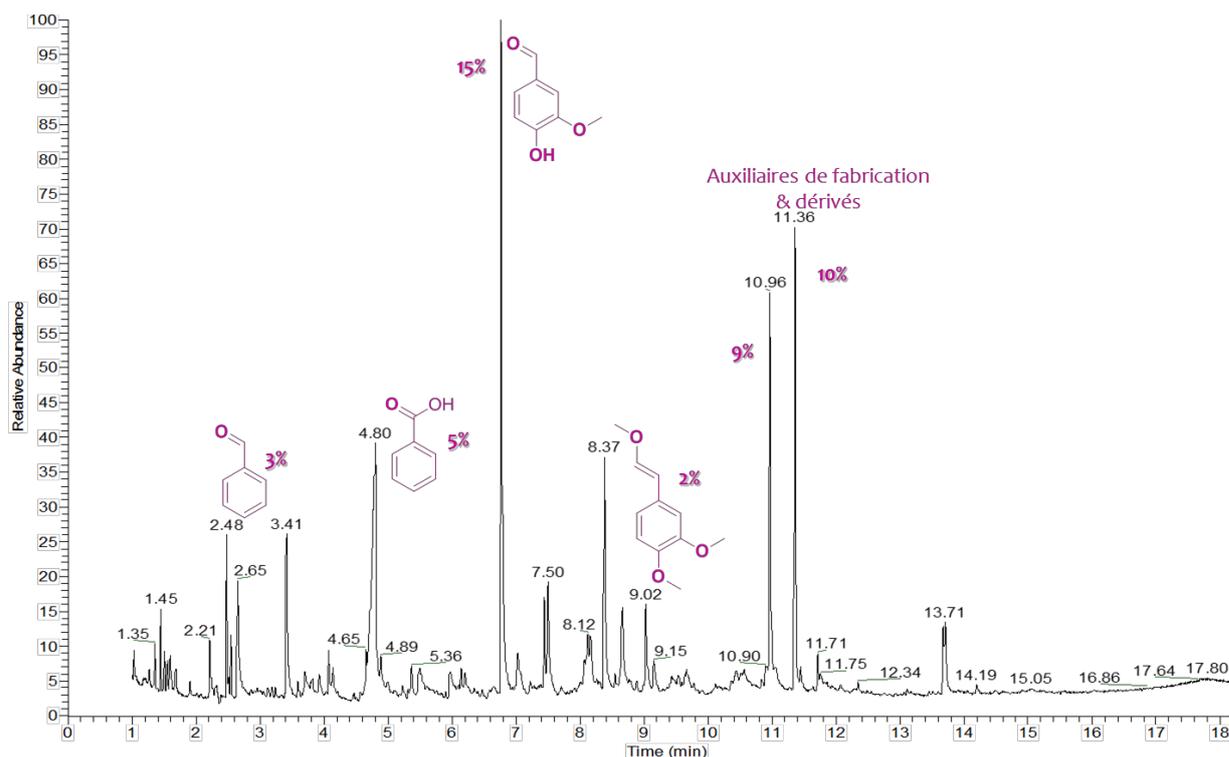


Figure 75: Analyse GC/MS de la fraction « organosolubles »

II.4. Mise en évidence de la formation de CO₂

Le gaz formé lors de l'étape d'acidification a été mis à buller dans de l'eau de chaux. Au contact du gaz, l'eau de chaux est devenue turbide ce qui témoigne de la présence de gaz carbonique. Ces gaz ont certainement été formés pendant la réaction d'oxydation puis transformés en milieu basique en carbonates. Ceux-ci sont re-transformés en CO₂ lors du traitement acide pour précipiter la lignine.

II.5. Conclusion

L'oxydation de la lignine alcaline fragmentée en milieu basique entraîne la formation de molécules phénoliques (fraction « organosolubles ») identifiées par analyse GC/MS et provoque la diminution de la masse molaire, confirmée par SEC, en formant des composés fonctionnalisés de façon plus ou moins importante (« lignine précipitée » et fraction « hydrosoluble »). La fonctionnalisation se traduit essentiellement par la formation de fonctions acide carboxylique, visible en RMN ³¹P mais aussi d'aldéhydes comme les aldéhydes cinnamiques visibles en RMN 2D. Il est essentiel d'étudier plusieurs paramètres pouvant influencer les résultats obtenus. Par exemple, l'apport d'un

catalyseur ou la variation de l'agent oxydant pour déterminer si une oxydation et/ou fonctionnalisation sélective est possible. Mais aussi, le temps et la température de réaction pour déterminer leur influence sur la perte de masse observée, qui peut aller jusqu'à 60% par la formation de composés « volatils ». Enfin, il sera intéressant de voir si les paramètres étudiés ont une influence sur les proportions des différents composés oxydés obtenus.

III. Influence des paramètres de réaction

Dans le but d'optimiser la réaction d'oxydation, plusieurs paramètres ont été étudiés. Le suivi des réactions a été fait par analyse SEC, par le calcul des rendements et par le contrôle du pH de fin de réaction. Les conditions de référence pour comparaison sont : 180°C, 1H, P_{O₂} (10 bars), soude ($R_{\text{massique}} [\text{NaOH/Lignine}] = 0,6$).

III.1. Evolution du pH et de la formation de « volatils » en fonction du temps

Une étude sur l'évolution du pH et la formation de « volatils » a été effectuée (Figure 76). Une relation entre ces deux paramètres semble se dessiner : le pH diminue avec l'augmentation de la formation de volatils. La formation de fonctions acide carboxylique semble donc être directement liée à la formation de composés « volatils ». L'évolution débute à partir de 30 minutes de réaction et se stabilise à partir d'une heure. La fonctionnalisation a donc atteint son maximum au bout d'une heure de réaction. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés dans la littérature qui montrent que la cinétique de la réaction d'oxydation de la lignine peut se définir en deux phases. Une première phase qui correspond à une rapide dépolymérisation, entre 20 et 40 minutes [6, 13] suivie d'une « stabilisation » où la dépolymérisation est plus lente, voir inexistante. Il a été montré qu'au bout d'une heure de réaction dans des conditions similaires à celles utilisées dans notre travail le système n'évoluait plus [6, 8, 13].

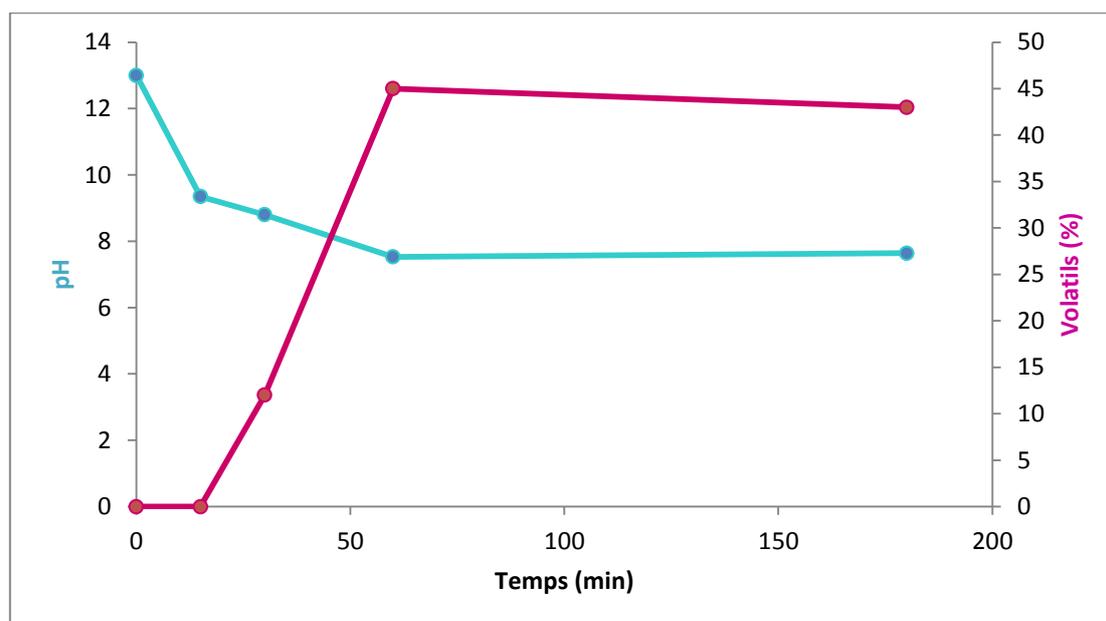


Figure 76: Evolution du pH de réaction et de la formation de « volatils » en fonction du temps de réaction

III.2. Influence de l'apport en soude et de l'apport en oxygène

Les paramètres clés de la réaction d'oxydation sont l'apport en soude et en oxygène. Ainsi, l'influence de l'apport de ces réactifs a été étudiée. Le rapport massique NaOH/Lignine est appelé **Rm**. Les rendements massiques et les pH de fin de réaction sont répertoriés à la Figure 77. Lorsque la réaction a été réalisée sans soude, le pH de début (2) est resté inchangé tout au long de la réaction. L'acidification jusqu'à pH=1 n'a entraîné aucune précipitation et l'extraction au dichlorométhane n'a pas été possible suite à la formation d'une émulsion stable malgré l'ajout de sel. Conjointement, la formation d'un résidu carboné insoluble, non analysable, représentant 50% massique, a été observée ainsi que 40% de volatils ont été formés. L'apport en soude est donc primordial pour l'oxydation de la lignine. Dans un second temps, l'influence de la quantité de soude a été étudiée. Une tendance apparaît : plus la quantité de soude est faible, plus la proportion en « lignine précipitée » est importante. Afin d'optimiser le rendement en composés « hydrosolubles », le cas du $R_m=0.6$ semble le plus approprié. La formation de composés « volatils » ne semble pas dépendre de la quantité de soude. Dans le cas du $R_m=1,2$, une diminution de la masse molaire plus importante est observée pour la « lignine précipitée » et pour les composés « hydrosolubles » (Figure 78) mais il n'est pas souhaitable d'un point de vue industriel de travailler avec des quantités aussi importantes en soude. Enfin,

l'apport en oxygène est, comme attendu, également essentiel à la réaction d'oxydation car lorsque celle-ci a été réalisée sous azote, 95% de lignine résiduelle est récupérée après acidification. Il semblerait qu'il y ait un léger effet de la température justifiant les 5% de composés « hydrosolubles » formés. Aucune diminution de pH n'a été observée, donc, pas de fonctionnalisation visible dans ce cas. L'analyse IRFT de la « lignine précipitée » à la Figure 79 confirme cette affirmation, le signal de l'élongation des acides C=O à 1710 cm^{-1} est d'intensité similaire à celui de la LAF de départ. La proportion en composés « organosolubles » reste faible pour toutes les conditions étudiées.

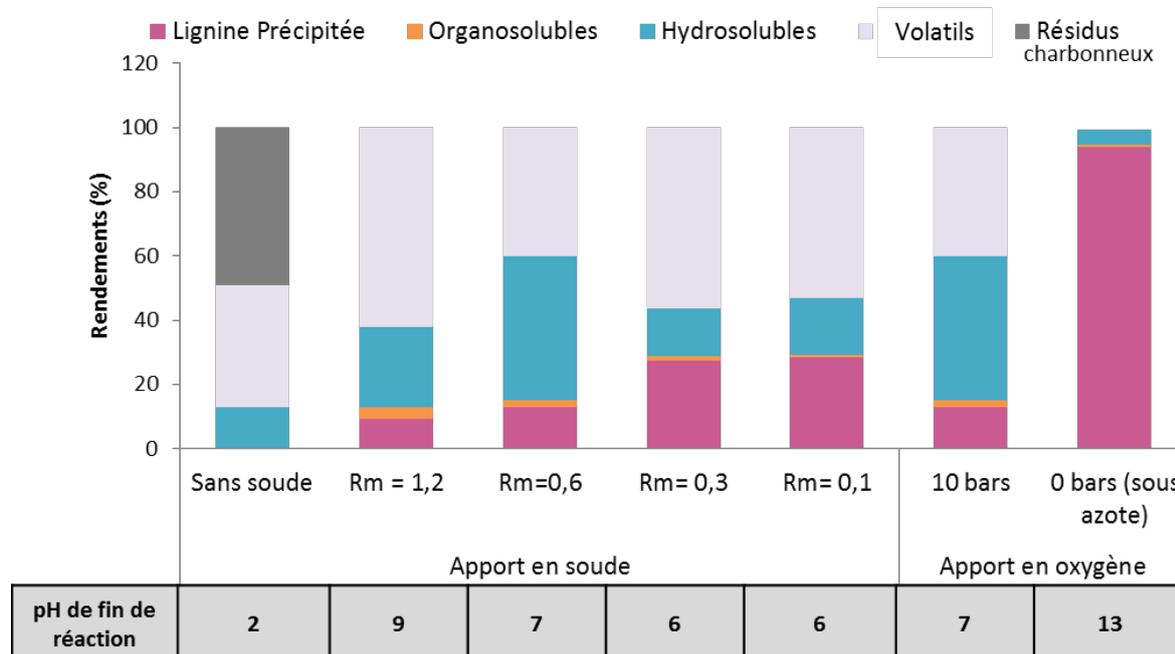


Figure 77: Proportions des composés oxydés et pH de fin de réaction pour l'étude de l'influence de l'apport en soude et en oxygène

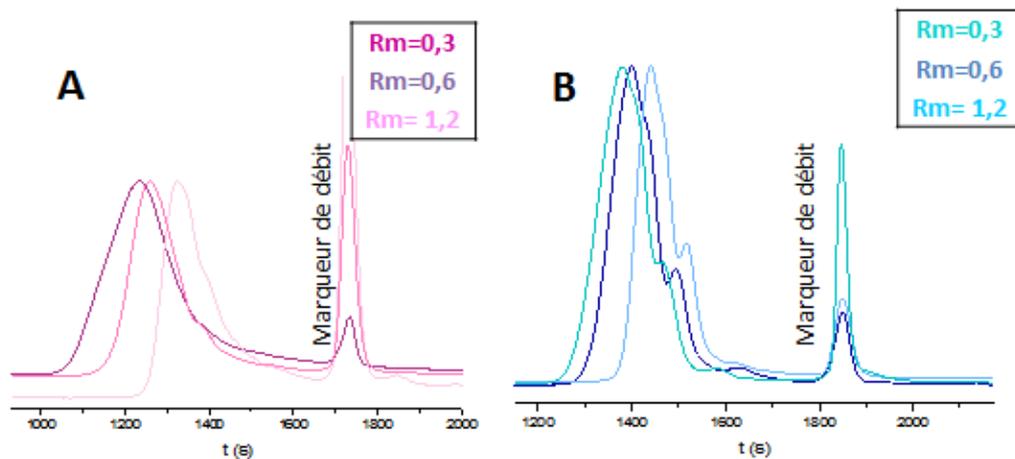


Figure 78: Chromatogrammes SEC des composés oxydés pour l'étude de l'influence de l'apport en soude : « lignine précipitée » (A) et composés « hydrosolubles » (B) (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

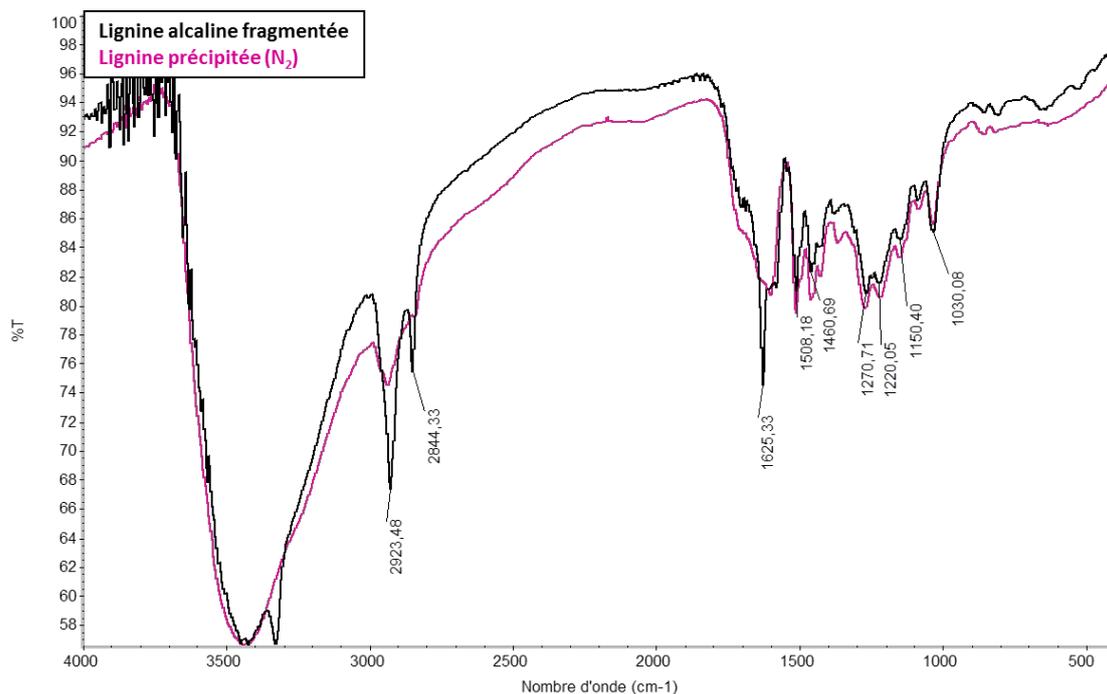


Figure 79: IRFT de la lignine alcaline fragmentée et de la « lignine précipitée » issue de l'oxydation sous azote

III.3. Influence du temps et de la température

Le temps et la température de réaction sont des paramètres qui peuvent influencer les proportions en composés oxydés formés. La réaction a été réalisée pendant 1 et 3H puis à 100, 150 et 180°C. Les rendements et pH de fin de réaction sont présentés à la Figure 80. Là encore, la proportion en composés « organosolubles » est constante. Aucune différence majeure n'est observée dans la proportion des composés oxydés entre la réaction à 1H et à 3H. Les chromatogrammes SEC (Figure 81) sont également similaires. Une légère diminution de la masse molaire a été observée au bout de 3H pour la « lignine précipitée » mais celle-ci n'est pas assez importante pour justifier une augmentation du temps de réaction. La température de réaction semble avoir une influence sur la proportion de « lignine précipitée » et la formation de « volatils ». Plus la température diminue, plus la proportion en « lignine précipitée » augmente et celle en « volatils » diminue. Il est intéressant de limiter la perte de masse engendrée par la formation de volatils, cependant l'augmentation de la proportion en « lignine précipitée » est à éviter. Les masses molaires des produits oxydés restent dans les mêmes gammes (Figure 82). Pour la « lignine précipitée », une diminution des fortes masses est observée avec l'augmentation de la température. La fragmentation de la lignine est donc favorisée aux températures élevées.

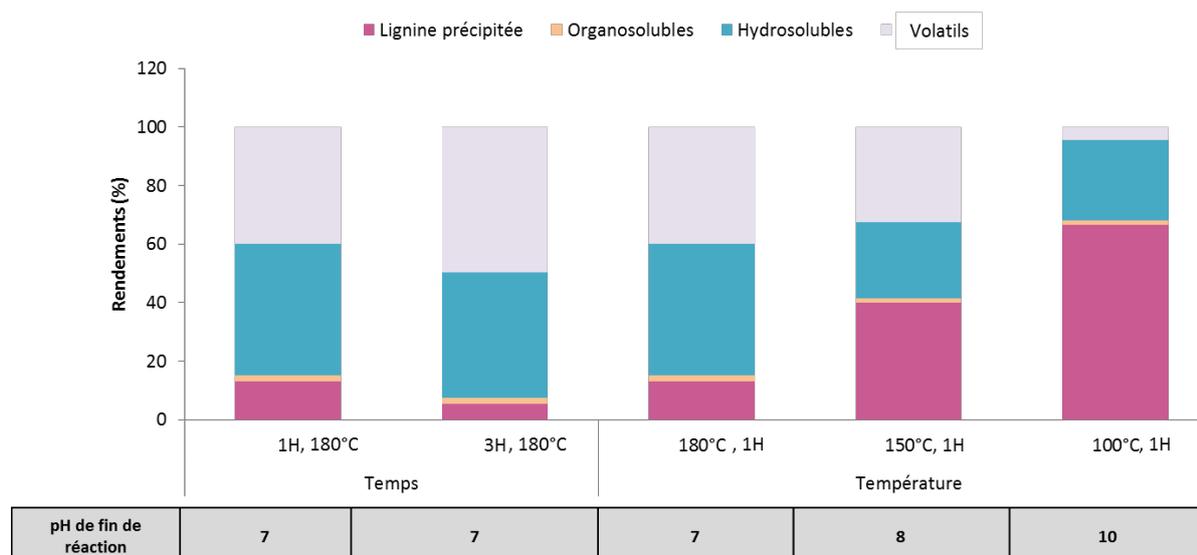


Figure 80: Proportions des composés oxydés et pH de fin de réaction pour l'étude de l'influence de la température et du temps de réaction

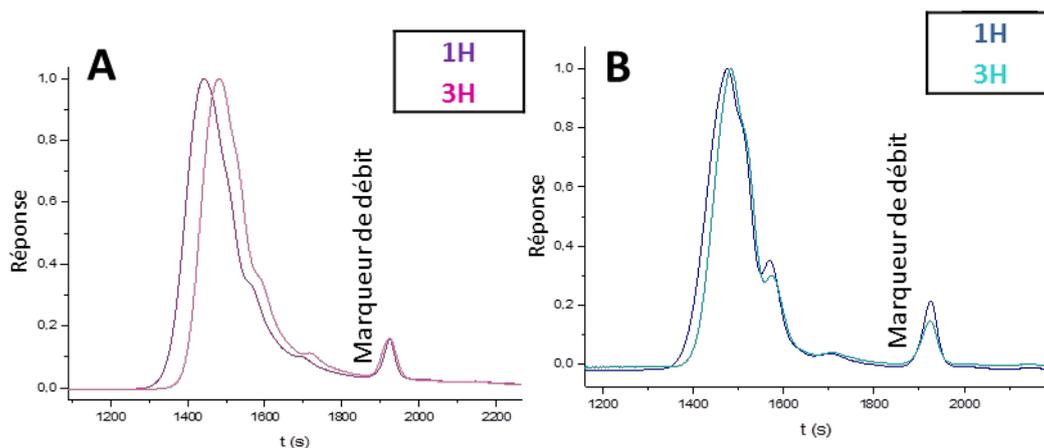


Figure 81: Chromatogrammes SEC des composés oxydés pour l'étude de l'influence du temps de réaction : « lignine précipitée » (A) et composés « hydrosolubles » (B) (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

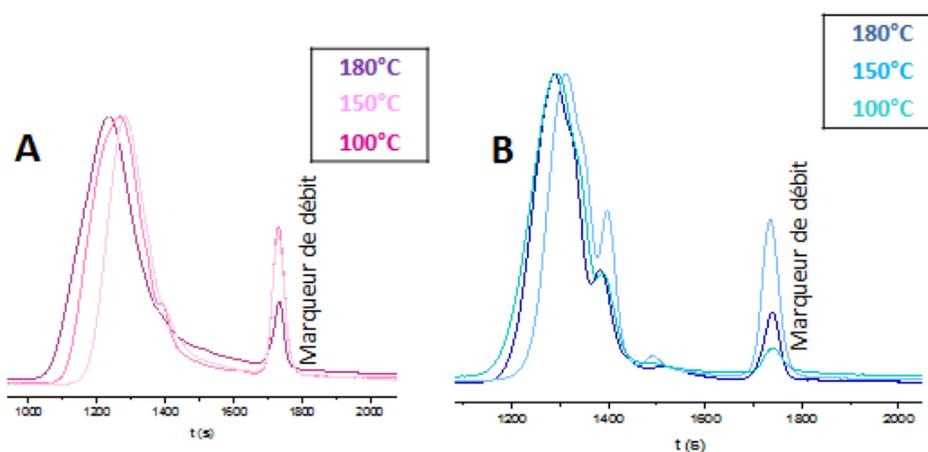


Figure 82: Chromatogrammes SEC des composés oxydés pour l'étude de l'influence de la température de réaction : « lignine précipitée » (A) et composés «hydrosolubles» (B) (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

III.4. Influence de la nature des catalyseurs et des agents d'oxydations

L'ajout d'un catalyseur et/ou le changement de l'agent d'oxydation peuvent avoir une influence sur les proportions des composés oxydés (augmentation de la fraction « organosolubles » par exemple) ou la sélectivité de l'oxydation et de la fonctionnalisation. Les différentes conditions étudiées sont présentées dans le Tableau 27. Comme agent d'oxydation, le nitrobenzène et l'oxygène ont été utilisés. Le

nitrobenzène est classiquement utilisé à des fins analytiques pour renseigner sur la structure de la lignine[25] tandis que l’oxygène est utilisé par les industries papetières pour le blanchiment des pâtes à papier[7]. Les catalyseurs testés sont le sulfate de cuivre [26] (utilisé industriellement pour la production de vanilline), le chlorure de cuivre associé à un complexant (EDTA) [27], le 4-acétamido-tempo (TEMPO) [3] (connu pour oxyder sélectivement les alcools primaires), et l’acide tungstophosphorique associé aux sels de manganèse (POMs) (Grelier S. et. al Patent WO2014096357 A2). Dans tout les cas, le pH de début de réaction est de 13.

Tableau 27: Récapitulatif des agents d’oxydation et catalyseurs utilisés pour l’oxydation de la lignine alcaline fragmentée et pH de fin de réaction

	Agent d’oxydation	Catalyseur	pH de fin
Contions A	Nitrobenzène	CuSO ₄	13
Contions B	Oxygène	CuSO ₄	7
Contions C	Oxygène	CuCl ₂ +EDTA	7
Contions D	Oxygène	TEMPO	5
Contions E	Oxygène	POMs	7
Contions F	Oxygène	Aucun	7

Chaque réaction a été effectuée pendant 1H et 3H. Les proportions en composés oxydés obtenus sont rassemblées à la Figure 83. Les résultats ont été comparés à ceux obtenus pour la réaction sans catalyseur (conditions F) présentés au §I. de ce chapitre. Lorsque le nitrobenzène a été utilisé en tant qu’agent oxydant (conditions A), le pH de réaction est resté inchangé et la proportion en « lignine précipitée » est supérieure à 90%. L’analyse IRFT de la « lignine précipitée » dans les conditions A (Figure 84) montre que la fonctionnalisation par formation de fonctions acide carboxylique n’a pas eu lieu, ce résultat est confirmé par analyse RMN ³¹P (Figure 87). L’utilisation du nitrobenzène comme agent d’oxydation ne permet pas la fonctionnalisation de la LAF par des fonctions acide carboxylique.

Lorsque l’oxygène est utilisé comme agent oxydant, quel que soit le catalyseur utilisé (conditions B, C, D, E et F), la fonctionnalisation se manifeste par la diminution du pH de

réaction. En terme de proportion, l'ajout de catalyseur, quel qu'il soit, ne semble pas influencer sur la quantité de « volatils » formée. Et, surtout, la fraction « organosolubles » est toujours très faible (inférieure à 3%). Pour les conditions B (CuSO_4) et E (POMs), la proportion en « lignine précipitée » est plus importante que pour la réaction sans catalyseur (F). Pour les conditions C ($\text{CuCl}_2 + \text{EDTA}$), les proportions en composés « hydrosolubles » sont plus faibles qu'en l'absence de catalyseur (F). Ces observations rendent ces protocoles inadaptés aux buts recherchés dans cette étude. Dans les conditions D (TEMPO), des résultats similaires aux conditions F (sans catalyseur) sont obtenus. Des caractérisations structurales ont été réalisées sur les « lignines précipitées » des conditions B et D pour déterminer si la nature du catalyseur avait une influence sur les structures obtenues. Ces résultats ont été comparés à ceux des « lignines précipitées » dans les conditions A (nitrobenzène) et F (sans catalyseur). Les analyses des composés oxydés issus des conditions C et E ne sont pas représentés car elles sont comparables à celles obtenues pour les composés issus des conditions B.

Les analyses SEC (Figure 85) montrent que pour toutes les conditions, les masses molaires des « lignines précipitées » et des composés « hydrosolubles » sont comparables. Il n'y a pas d'effet du catalyseur sur la fragmentation. Les résultats des analyses élémentaires sont répertoriés dans le Tableau 28. La présence de sels (Na) dans les échantillons est traduite par un total des pourcentages en atomes inférieur à 100%. Dans les conditions A, l'analyse élémentaire de la « lignine précipitée » ne présente aucune différence avec celle de la LAF de départ, ce qui confirme qu'aucune modification n'a été produite en présence de nitrobenzène. En présence d'oxygène, pour toutes les conditions analysées (B, D et F), une augmentation des pourcentages en oxygène et azote, une diminution du pourcentage d'hydrogène et enfin une augmentation de la masse théorique M_{th} montrent la formation d'insaturations (doubles liaisons, fonctions acide et/ou fonctions aldéhyde) dans les structures oxydées. La fonctionnalisation dans les conditions B et D est confirmée par analyse IRFT à la Figure 86 (augmentation de l'élongation $\text{C}=\text{O}$ des acides à 1710 cm^{-1}) et les analyses RMN ^{31}P à la Figure 87 (formation d'acides carboxyliques). Notons que dans les conditions A, aucune formation d'acides carboxyliques n'est observée. Enfin, les analyses RMN HSQC des « lignines précipitées » dans les conditions B et D (Figure 88) montrent une disparition totale des signaux

correspondant aux liaisons β -O-4, β - β (ou motif résinol) et β -5 (ou motif phénylcoumarane) dans la zone aliphatique ainsi qu'un déplacement chimique des signaux vers des ppm plus hauts que pour la lignine alcaline fragmentée dans la zone aromatique : signe de la présence de structures oxydées. Les spectres sont parfaitement superposables avec celui obtenu pour les conditions F présenté au §II.2.2. D'après ces résultats, la présence d'un catalyseur quel qu'il soit n'a d'effet ni sur les proportions en composés oxydés ni sur la fonctionnalisation ou la sélectivité de l'oxydation.

Pour finir cette étude, des tests ont également été faits avec un mélange de catalyseurs ($\text{CUSO}_4 + \text{TEMPO}$) en présence d'oxygène ou de nitrobenzène (conditions G et H, cf partie expérimentale, §V.1. Tableau 31). Dans les deux cas, le mélange de catalyseurs n'a produit aucune différence par rapport aux résultats obtenus avec un des catalyseurs seuls.

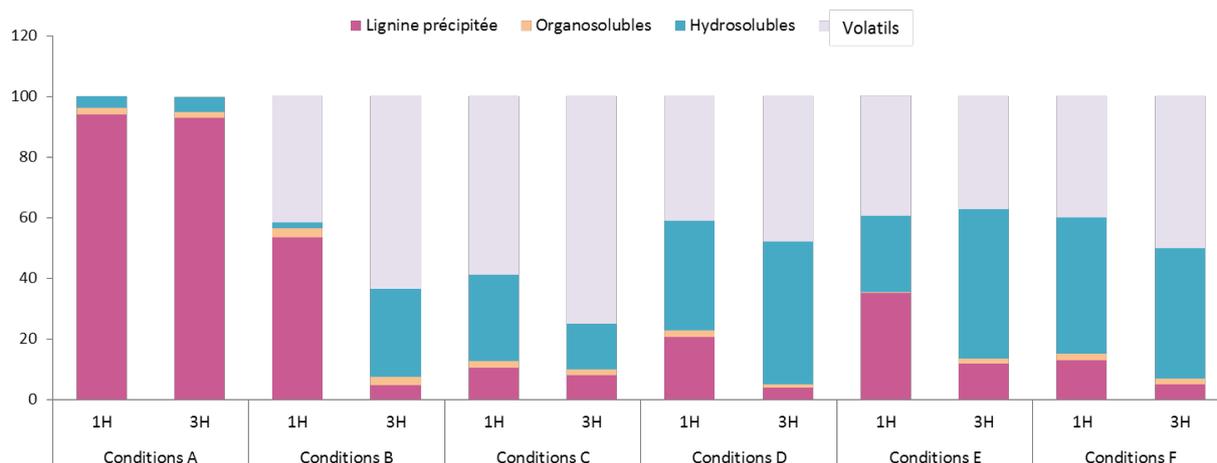


Figure 83: Rendements (%massique) des produits oxydés pour les différentes conditions appliquées pour l'oxydation de la lignine alcaline fragmentée à 1 et 3H de réaction

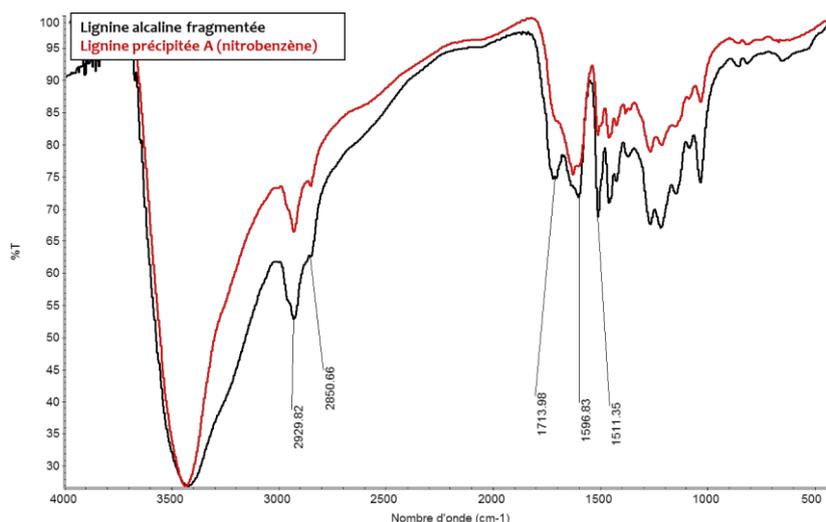


Figure 84: IRFT de la « lignine précipitée » dans les conditions A et de la lignine alcaline fragmentée

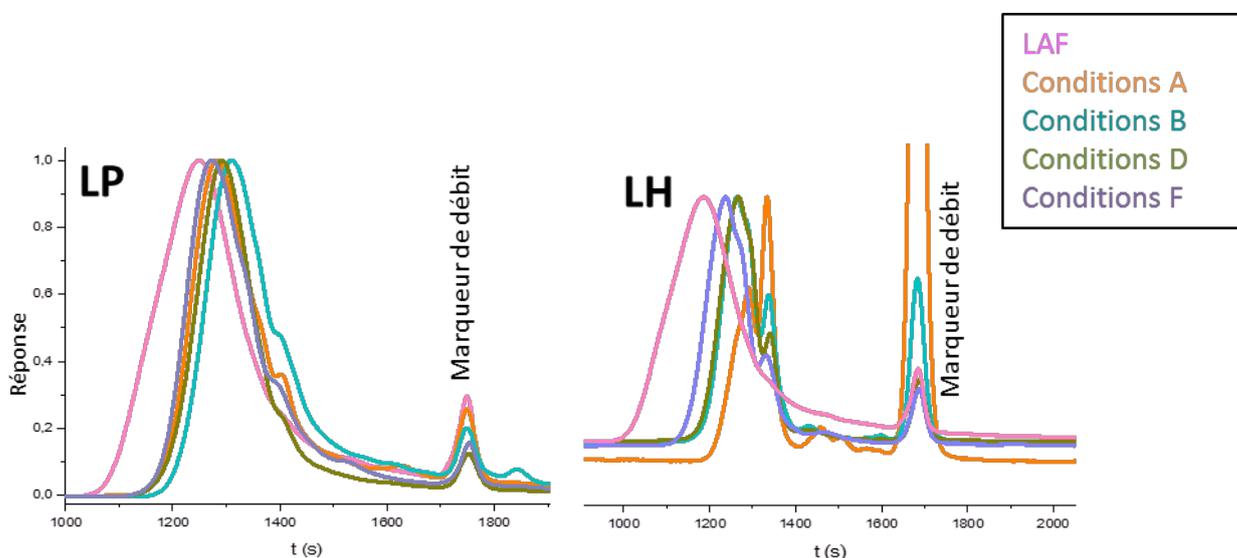


Figure 85: SEC des composés oxydés pour les conditions A, B, D et F. « lignines précipitées » (LP), composés « hydrosolubles » (LH) (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C)

Tableau 28: Analyse élémentaire CHONS des « lignines précipitées » dans les conditions A, B, D et F

	C (%)	H (%)	N (%)	O (%)	S (%)	M _{th} C ₉ (g/mol)	Formule C ₉ H _x O _y N _z S _w
LAF	64,8	5,66	0,66	25,96	1,86	164	C ₉ H _{9,43} O _{2,7} N _{0,08} S _{0,1}
Lignine précipitée A	49,6	3,89	0,88	19,6	0,96	163	C ₉ H _{8,47} O _{2,67} N _{0,14} S _{0,06}
Lignine précipitée B	51,6	3,07	0,88	25,44	0,66	170	C ₉ H _{6,42} O _{3,32} N _{0,13} S _{0,04}
Lignine précipitée D	57,1	3,19	1,72	33,81	0,7	182	C ₉ H _{6,03} O _{3,99} N _{0,23} S _{0,04}
Lignine précipitée F	49,7	3,25	1,01	26,94	0,74	177	C ₉ H _{7,06} O _{3,66} N _{0,16} S _{0,05}

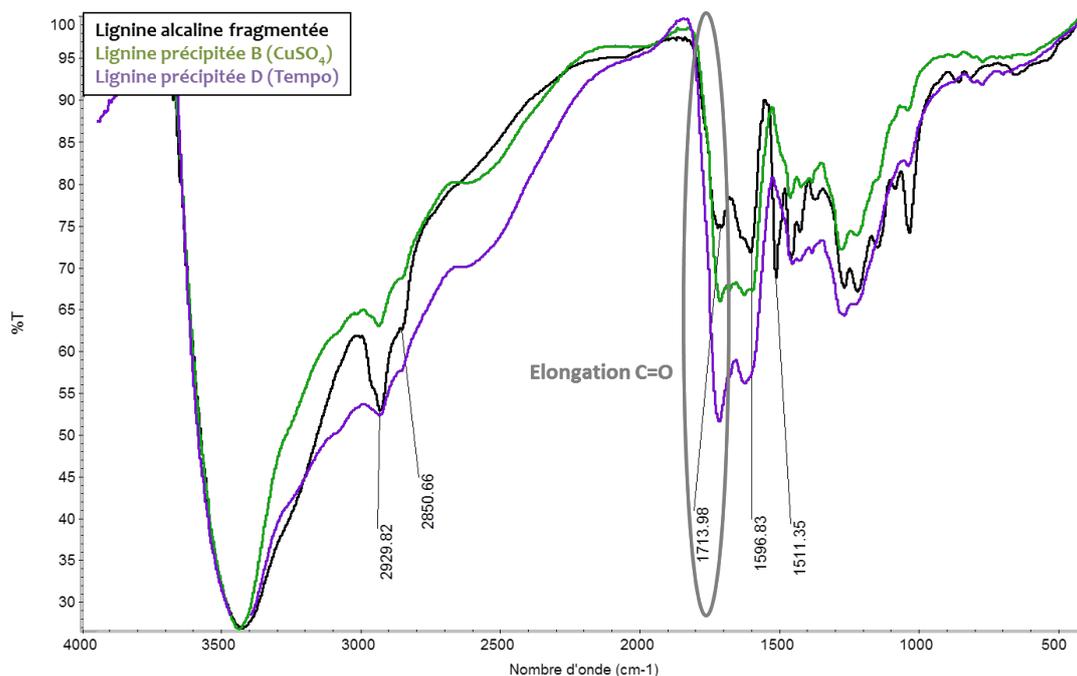


Figure 86: IRFT des « lignines précipitées » dans les conditions B et D et de la lignine alcaline fragmentée

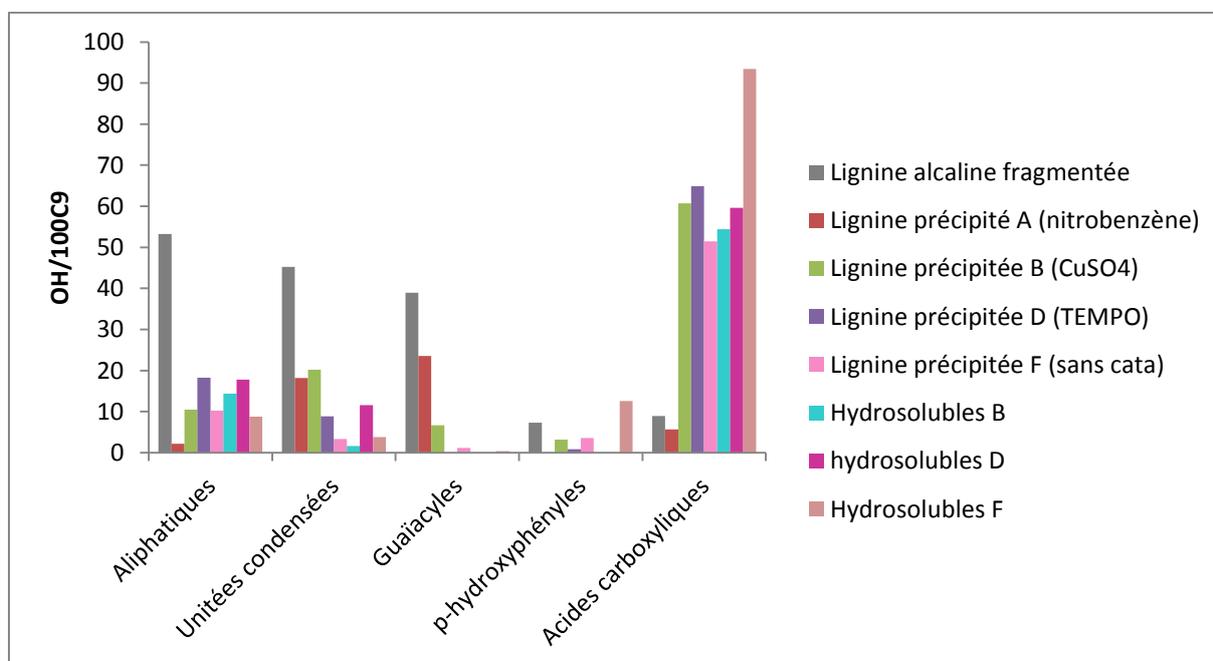


Figure 87: Proportion des groupements hydroxyle et acide carboxylique (en OH/100 unités C₉) des composés oxydés dans les conditions A, B, D et F identifiés par analyse RMN ³¹P

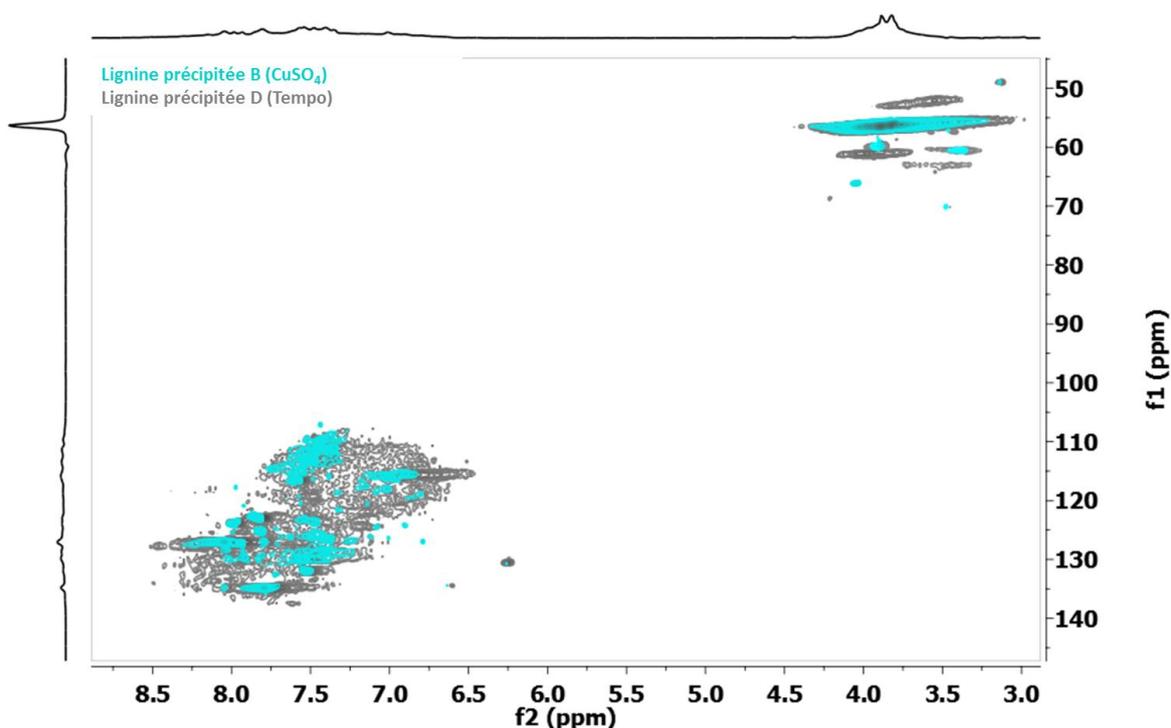


Figure 88: HSQC des « lignines précipitées » dans les conditions B et D

III.5. Conclusion

La présence d'oxygène et de soude s'est révélée indispensable pour l'oxydation et la fonctionnalisation de la lignine alcaline fragmentée. Le rapport massique NaOH/lignine est fixé à 0,6 pour optimiser la formation de composés « hydrosolubles » et limiter la formation de « lignine précipitée » sans utiliser une quantité trop importante de soude. L'augmentation de la réaction au-delà d'une heure ne semble pas nécessaire. La température est fixée à 180°C car en dessous de celle-ci, les proportions en « lignine précipitée » sont trop importantes. Lorsque le nitrobenzène a été utilisé comme agent d'oxydation, le pH est resté constant et la fonctionnalisation n'a pas semblé se faire (IRFT, RMN ³¹P). De plus, aucune modification structurale n'a été observée (AE, et HSQC) pour la « lignine précipitée » dans ces conditions. L'oxygène est donc retenu comme agent d'oxydation. Sous oxygène, l'ajout de plusieurs catalyseurs a été testé ; quelles que soient les conditions, les masses molaires des « lignines précipitées » et des composés « hydrosolubles » restent dans les mêmes gammes. Les caractérisations structurales ne

montrent pas de différence avec celles obtenues pour les composés oxydés sans catalyseur et les proportions obtenues sont également comparables. Il semblerait que la fragmentation et la fonctionnalisation de la lignine alcaline fragmentée ne soit pas dépendante de ces paramètres ou bien que les conditions retenues nivellent les résultats. L'ajout d'un catalyseur n'est pas nécessaire pour atteindre les buts recherchés. Enfin, dans toutes les conditions étudiées, la formation de composés « volatils » est directement liée à l'oxydation et ce phénomène ne semble pas contrôlable. La proportion de composés « organosolubles » reste très faible quels que soient les paramètres de réaction. Ceci signifie que leur formation est directement liée à la structure de la LAF. En effet, pour que des composés phénoliques soient libérés lors de la réaction d'oxydation, il faut que la liaison entre la dernière et l'avant dernière unité de la chaîne polymère soit rompue. Si cette liaison est trop stable (condensée par exemple), la rupture ne se produira pas.

IV. Optimisation de la réaction d'oxydation & validation du protocole

IV.1. « Recyclage » de la lignine précipitée

La lignine résiduelle après une première oxydation (lignine précipitée) a été récupérée et remise dans les mêmes conditions d'oxydation (180°C, 1h, PO₂ (10 bars), soude ($R_{\text{massique}} [\text{NaOH}/\text{produit}] = 0,6$). Bien que déjà fonctionnalisée, il a été intéressant de vérifier si celle-ci pouvait être à nouveau oxydée. Rappelons que le pH de fin de réaction de la première oxydation était de 7. L'oxydation ayant lieu en milieu basique, il est important de ramener celui-ci à 13 pour procéder au recyclage de la lignine précipitée. A la fin de la réaction d'oxydation en « recyclage » de la lignine précipitée, la faible diminution du pH (de 13 à 12) semblait supposer que l'oxydation et la fonctionnalisation étaient limitées ou inexistantes. Mais les caractérisations structurales qui suivent démontrent le contraire. Les rendements présentés à la Figure 89 confirment que l'oxydation a bien lieu. Après une première oxydation, il est possible de reformer des composés « hydrosolubles » en réajustant le pH de début à 13. Par contre, les chromatogrammes de la Figure 90 montrent que la masse molaire de la « lignine précipitée » recyclée et des « hydrosolubles » recyclés restent dans la même gamme que la masse molaire de la « lignine précipitée ». L'oxydation du cycle aromatique semble donc prédominer. La

fonctionnalisation est confirmée par analyse RMN ^{31}P (Figure 91). La formation d'acides carboxyliques est visible pour les composés oxydés recyclés. Cependant la proportion de groupements hydroxyle aliphatiques et phénoliques ne diminue pas contrairement à ce que l'on observe lors d'une première oxydation. Ainsi, il est possible de recycler la « lignine précipitée » après une première oxydation pour optimiser le rendement en composés « hydrosolubles ». Enfin, la fraction « organosolubles » recyclée a été analysée par GC/MS (Figure 92). Le chromatogramme est moins chargé que pour la fraction « organosolubles » issue d'une première oxydation (§II.3), moins de composés phénoliques différents sont formés et on note que le signal correspondant à la vanilline (6,84 minutes) est beaucoup moins intense (0,7%) que lors d'une première oxydation.

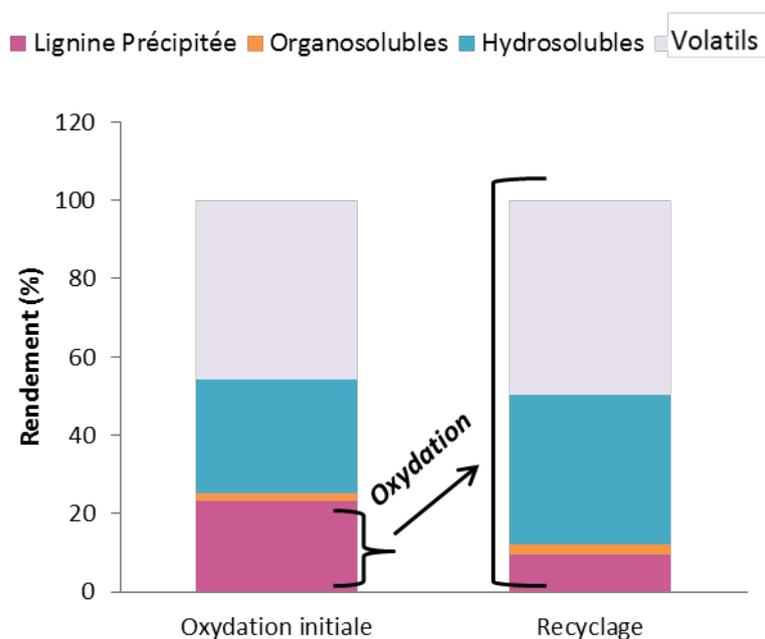


Figure 89: Proportions (rendement massique) des produits d'oxydation après oxydation de la LAF et de la lignine précipitée

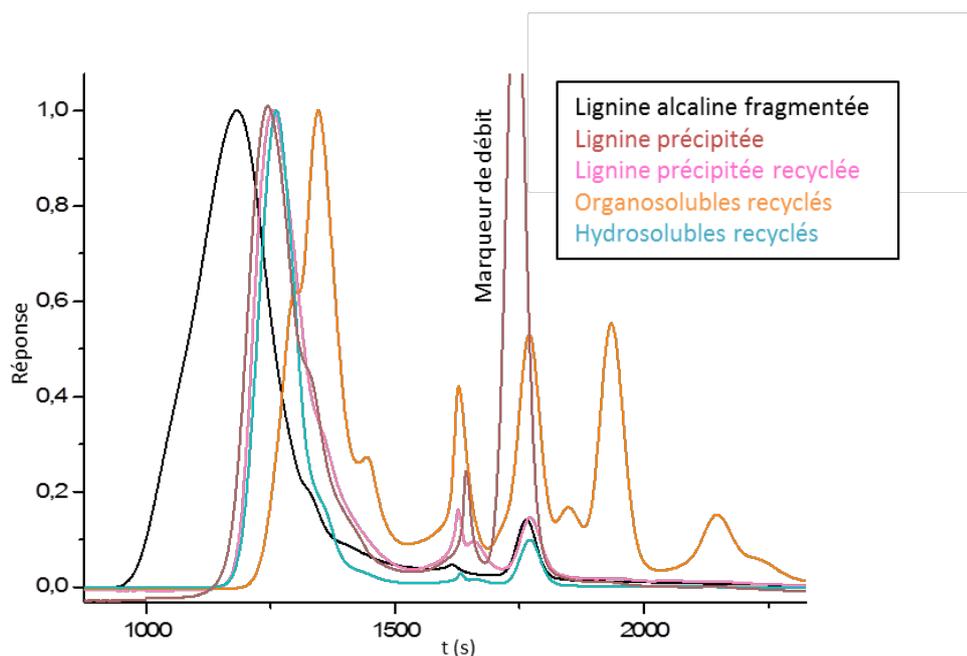


Figure 90: SEC des composés oxydés pour la lignine précipitée (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

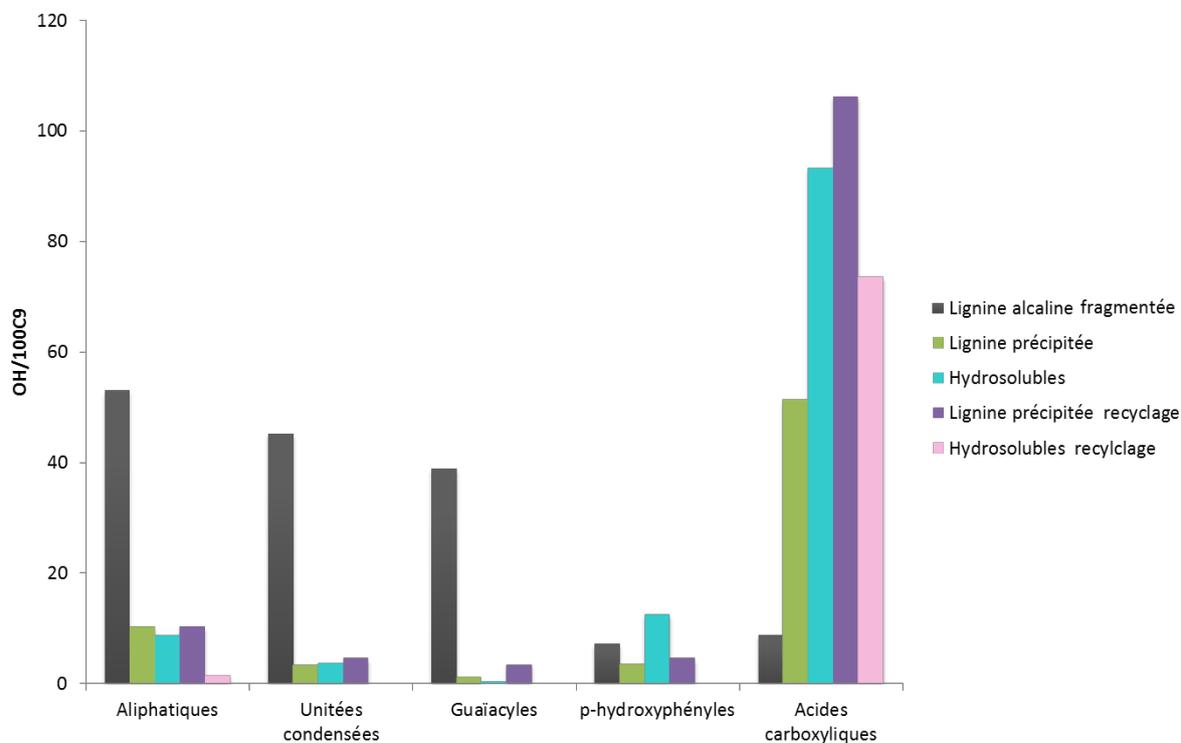


Figure 91: Proportion des groupements hydroxyle et acide carboxylique (en OH/100 unités C₉) des composés d'oxydation de la lignine alcaline fragmentée et des composés d'oxydation issus du recyclage de la lignine précipitée identifiés par analyse RMN ³¹P

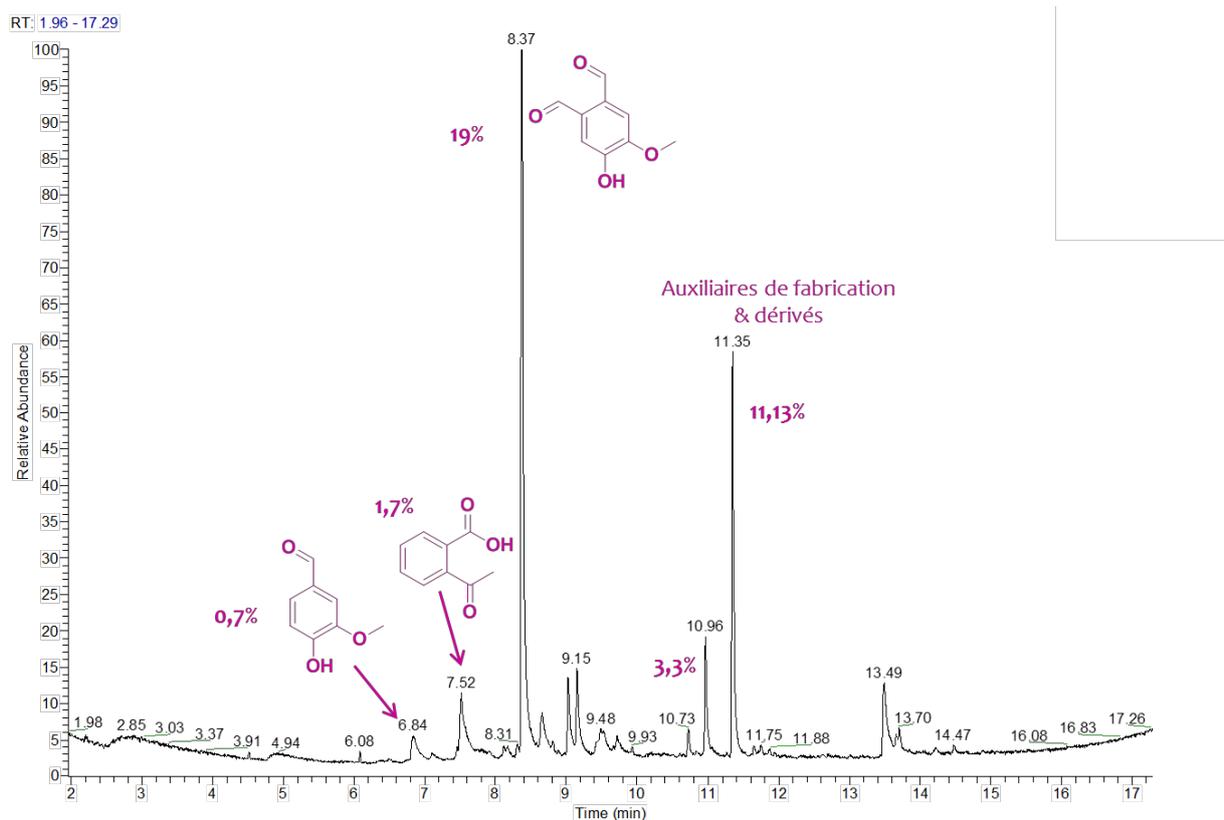


Figure 92: Analyse GC/MS de la fraction « organosolubles » recyclée

IV.2. Tests de répétabilité

Avant de valider les conditions d'oxydation sélectionnées : 180°C, 1h, PO₂ (10 bars), soude ($R_{\text{massique}} [\text{NaOH}/\text{Lignine}] = 0,6$), des tests de reproductibilité sans catalyseur ont été effectués. Ces tests ont été contrôlés par SEC (Figure 93), rendements (Figure 94) et pH de fin réaction. Les pH de fin de réaction sont égaux à 7 pour les 3 essais. La proportion de fonctions acide carboxylique formée semble constante. Les chromatogrammes des composés oxydés montrent une légère diminution de la masse molaire par rapport à la LAF de départ. Les composés phénoliques sont retrouvés dans la fraction « organosolubles », ce mélange est difficilement caractérisable par SEC. Les rendements sont également répétables, la fraction « organosolubles » ne représente jamais plus de 3%, la « lignine précipitée » entre 10 et 15% et la fraction « hydrosoluble », toujours majoritaire, entre 30 et 40%. L'essai 3 montre que la perte de masse n'est pas contrôlée. Ainsi, une proportion variable en composés « volatils » est observée (généralement 40%

mais pouvant atteindre jusqu'à 60%). D'après les résultats obtenus, ce protocole est considéré comme répétable.

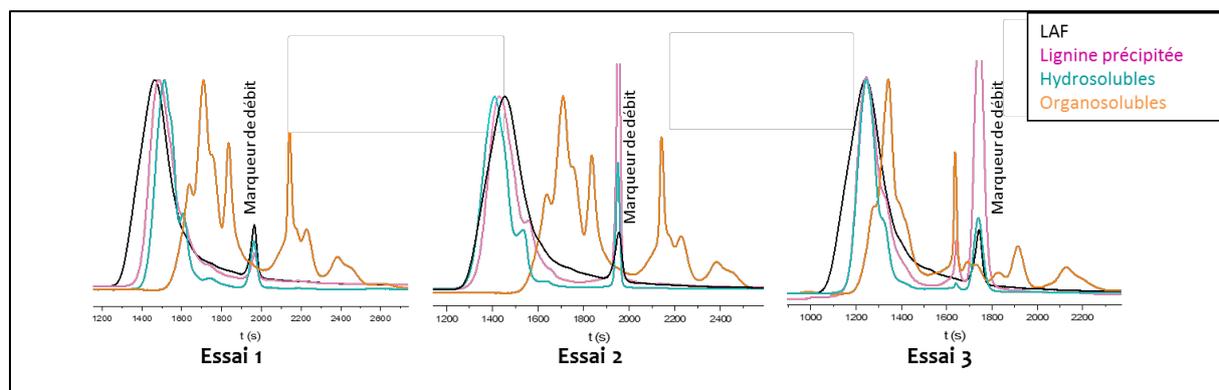


Figure 93: SEC des composés oxydés pour les 3 essais d'oxydation de la lignine alcaline fragmentée (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

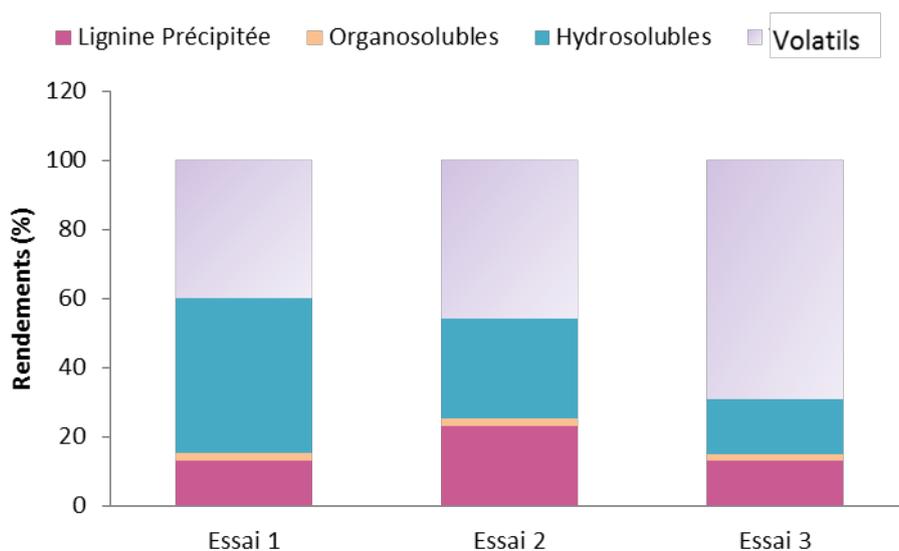


Figure 94: Proportions (rendement massique) des produits d'oxydation pour les 3 essais d'oxydation de la lignine alcaline fragmentée

V. Application des conditions d'oxydation à différents types de lignine

Dans le but de vérifier la pertinence des conditions d'oxydation choisies, celles-ci ont été appliquées à différentes lignines : une lignine kraft issue de pin maritime, une lignine organosolv issue de feuillus et une lignine alcaline également fournie par Tembec mais ayant été extraite et purifiée selon un protocole différent du nôtre (nommée **lignine alcaline 2**). Les proportions des composés obtenus sont représentées à la Figure 95. Le

pH de fin de réaction est de 7 pour les 3 cas. La formation de composés « hydrosolubles » prédomine dans le cas de la lignine organosolv alors que pour la lignine kraft, il s'agit de la « lignine précipitée » qui est récupérée en plus grande quantité. Ces proportions doivent dépendre de la structure de la lignine de départ car dans le cas de la lignine alcaline 2, les proportions sont comparables à celles obtenues pour la LAF. Les chromatogrammes SEC (Figure 96) montrent une légère diminution de la masse molaire pour les composés oxydés par rapport à la lignine de départ dans les trois cas. La fonctionnalisation est montrée par les résultats des analyses RMN ^{31}P dont les valeurs (en mmol/g de lignine) sont rassemblées au Tableau 29 et représentées graphiquement (en OH/100C9) à la Figure 97. Dans les trois cas, comme dans le cas de la LAF, une diminution des groupements hydroxyle aliphatiques et phénoliques et une augmentation de fonctions acide carboxylique est visible. Ici encore, cette augmentation est plus prononcée pour les composés « hydrosolubles ». Les fractions « organosolubles » ont été caractérisées par GC/MS et les composés majoritaires sont représentés à la Figure 98. Ces résultats prouvent que ce protocole est applicable à des lignines d'origines différentes.

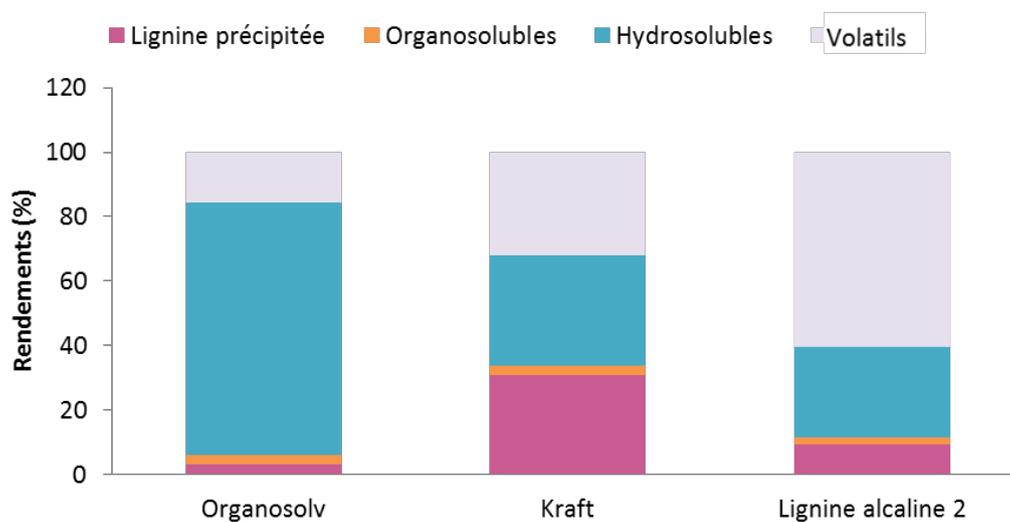


Figure 95: Proportions (rendement massique) des produits d'oxydation après oxydation de la lignine organosolv, de la lignine kraft et de la lignine alcaline 2

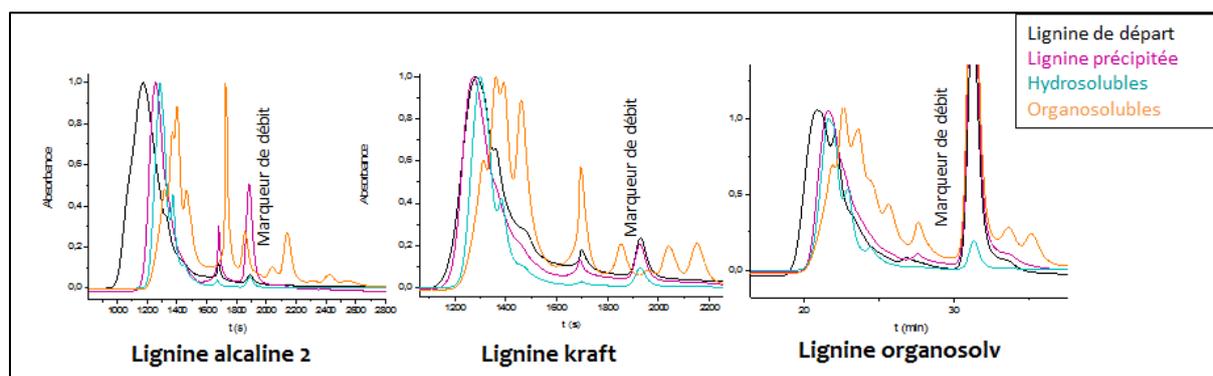


Figure 96: SEC des composés oxydés après réaction de la lignine alcaline 2, de la lignine kraft et de la lignine organosolv (solvant : H₂O+ NaOH pH=12 ; T= 25°C, détection UV)

Tableau 29: Proportions des différents groupements hydroxyle et acide carboxylique (en mmol/g) déterminées par RMN ³¹P des composés oxydés après réaction de la lignine alcaline 2, de la lignine kraft et de la lignine organosolv

Désignation des zones intégrés	Lignine alcaline 2			Lignine kraft			Lignine organosolv		
	Lignine de départ	Lignine précipitée	Hydrosolubles	Lignine de départ	Lignine précipitée	Hydrosolubles	Lignine de départ	Lignine précipitée	Hydrosolubles
Aliphatiques	3,07	0,35	1,01	1,52	0,07	0,42	1,13	0,66	0,73
Unités condensées	1,87	0,43	0,23	0,89	0,43	0,76	0	0	0
Syringyles	-	-	-	-	-	-	1,07	0,22	0,12
Guaiacyles	2,60	0,04	0,00	1,41	0,14	2,36	0,81	0,00	0,00
p-hydroxy-phényles	0,00	0,23	0,39	0,08	0,07	1,04	0,84	0,00	0,12
Acides carboxyliques	1,39	3,01	5,44	0,32	2,48	5,52	0,27	2,88	3,78

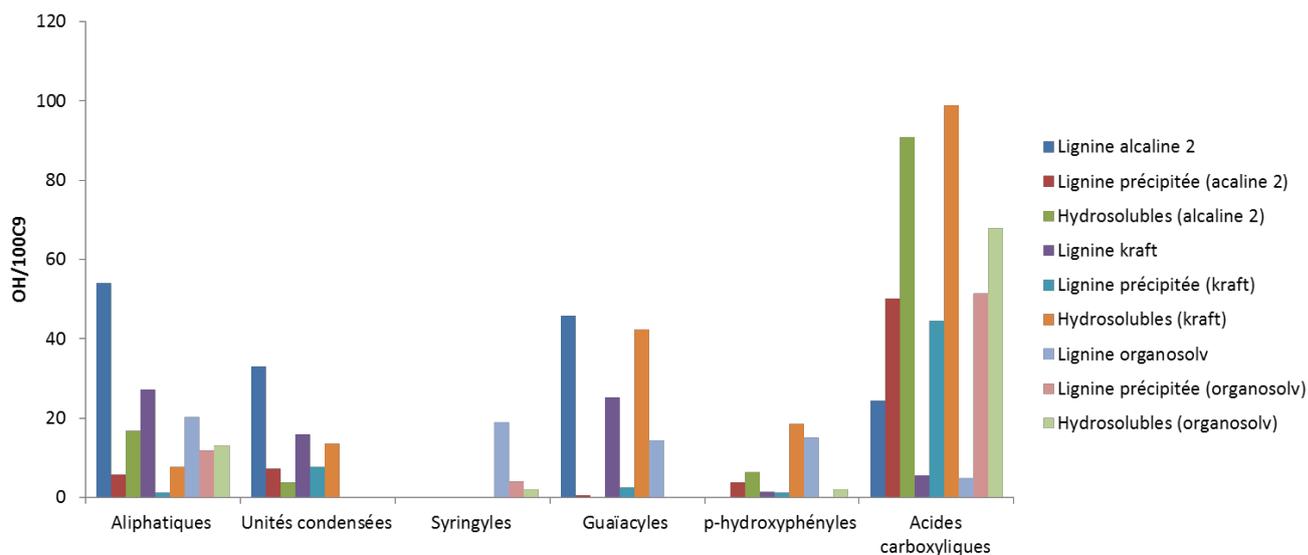


Figure 97: Proportion des groupements hydroxyle et acide carboxylique (en OH/100 unités C₉) des composés d'oxydation de la lignine alcaline 2, de la lignine kraft et de la lignine organosolv identifiés par analyse RMN ³¹P

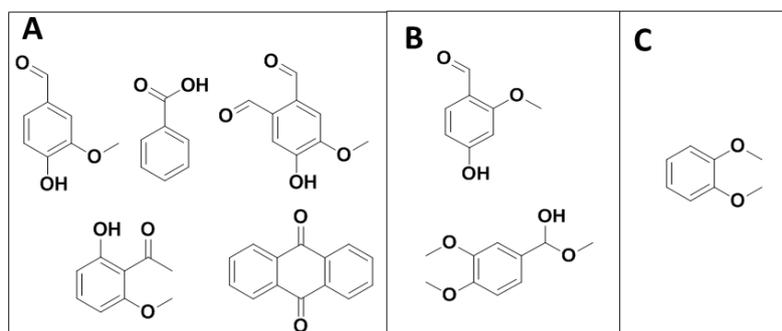


Figure 98: Composés majoritaires des fractions «organosolubles» après oxydation de la lignine alcaline 2 (A), de la lignine organosolv (B) et de la lignine kraft (C) déterminés par GC/MS

VI. Etude de l'oxydation de molécules phénoliques et benzéniques

L'oxydation (180°C, 1h, PO₂ (10 bars), soude (R_{massique} [NaOH/produit]= 0,6), sans catalyseur) de molécules simples a été étudiée pour vérifier l'hypothèse de l'oxydation du cycle aromatique présent dans la lignine. En effet, l'utilisation de molécules moins complexes que la lignine rend les caractérisations moléculaires possibles. Les résultats de ces études aideront à la compréhension du comportement de la LAF pendant la réaction d'oxydation. Des études similaires, traitant de l'oxydation de modèles dimères ou

monomères sont trouvées dans la littérature [12, 17, 28-33]. La liste des molécules modèles étudiées est présentée à la Figure 99. Le Tableau 30 récapitule les proportions en composés oxydés, les volatils formés et le pH de fin de réaction pour chaque molécule étudiée. La colonne « transformation » rassemble la proportion de composés oxydés récupérés dans la fraction « hydrosoluble », « précipitée » et « organosoluble » (cf partie expérimentale, Tableau 32 pour les proportions détaillées de chaque fraction). Aucune transformation, ni diminution de pH n'ont été observées dans le cas du vétratole (diméthoxy-1,2-benzène) et de l'acide benzoïque. L'absence de fonction phénol disponible empêche l'oxydation de ces composés et les acides carboxyliques aromatiques (et non phénoliques) de type acide benzoïque semblent stables dans nos conditions. L'acide muconique n'a également subi aucune modification après réaction, la stabilité de ce type de composé est donc prouvée dans les conditions utilisées. Si des acides de type « acide muconique » sont formés dans le cas de l'oxydation de la lignine, ceux-ci resteront inchangés. Les produits d'oxydation des autres molécules ont été analysés par GC/MS et RMN ¹H et les résultats sont discutés dans les paragraphes suivants.

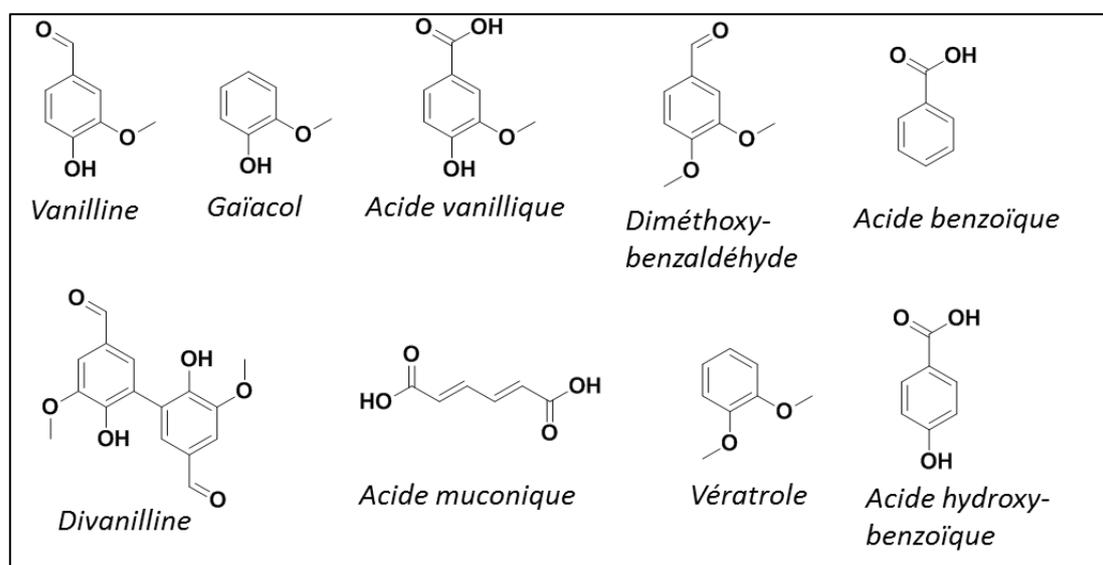


Figure 99: Liste des molécules étudiées dans les conditions d'oxydation

Tableau 30: Pourcentage de transformation et pH de fin de réaction après oxydation des molécules phénoliques et benzéniques (*Valeurs calculées par différence)

Molécule	Transformation (%)	Volatils* (%)	Récupération de la molécule de départ (%)	pH de fin
Gaïacol	54	46	0	7
Vanilline	18	53	29	10
Acide Vanillique	32	68	0	7
Divanilline	17	0	83	10
Diméthoxy-Benzaldéhyde	61	18	21	10
Acide hydroxybenzoïque	26	57	17	10
Acide muconique	0	0	100	12
Vératrole	0	0	100	12
Acide benzoïque	0	0	100	13

VI.1. Mise en évidence de l'ouverture de cycle

L'oxydation du cycle aromatique a été démontrée avec l'oxydation du gaïacol, de la vanilline, de l'acide vanillique et de la divanilline. L'analyse GC/MS des composés oxydés dans les quatre cas donne des chromatogrammes complexes, un exemple pour l'oxydation du gaïacol est donné à la Figure 100. Les composés majoritaires ont été identifiés et sont répertoriés à la Figure 101 (les chromatogrammes et proportions de chaque fraction sont présentés en annexes 1 à 5). L'ouverture de cycle est démontrée par ces analyses cependant des composés diesters sont majoritaires. Malgré la présence de quelque monoester, la formation d'acide carboxylique n'est pas flagrante. Ceci est surprenant car les analyses RMN ^{31}P de ces mêmes composés révèlent des signaux majoritairement dans la zone des acides carboxyliques (Figure 102). La perte de masse est également démontrée, de par la présence de nombreux composés possédant une chaîne carbonée entre de 2 à 4 atomes. Cependant, il faut rester vigilant quant à l'interprétation de ces résultats car certaines de ces molécules, comme la vanilline ou le gaïacol sont

dégradées à 180°C. En effet, la température maximum de dégradation est atteinte à 123°C pour le gaïacol et à 170°C pour la vanilline (cf annexe 6). Les chromatogrammes GC/MS après oxydation de ces composés contiennent donc des produits de dégradation en plus des produits d'oxydation.

Une étude récente [34] a montré que l'oxydation du gaïacol à 80°C, en milieu alcalin (pH=13) et en présence de peroxyde d'hydrogène et de titanium silicate (TS1) conduisait à la formation d'acide maléique (entre 20 et 30%). Les analyses GC des produits d'oxydation montrent la présence de diacides comme l'acide maléique, l'acide fumarique et l'acide oxalique et de monoacides (l'acide acrylique et l'acide acétique). Le catéchol et la benzoquinone sont identifiés comme étant des intermédiaires de réaction. La formation de catéchol implique la libération de méthanol (Figure 103). Il est alors probable que dans nos conditions de pression et de température, l'estérification des acides se produise *in situ* par le méthanol formé en excès (Figure 104). Les réactions d'estérification sont envisageables lorsque le pH du milieu est autour de 7. Cette hypothèse sera à vérifier en réalisant, par exemple, l'oxydation du catéchol en présence de méthanol dans nos conditions.

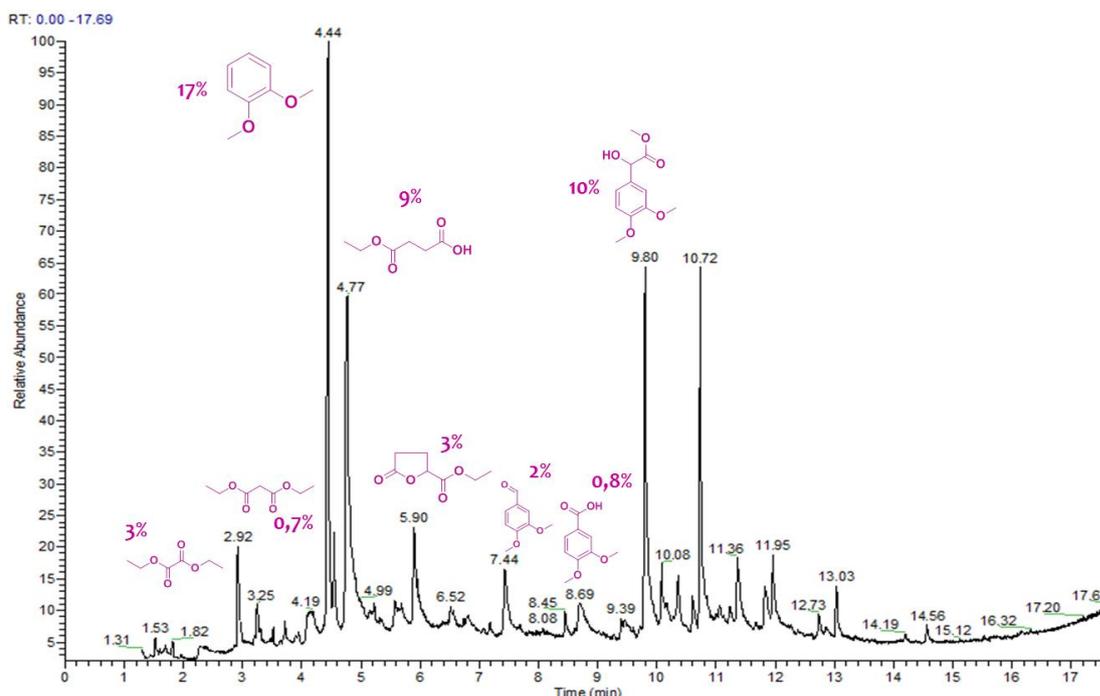


Figure 100: Chromatogramme GC/MS de la fraction « précipitée » récupérée après oxydation du gaïacol

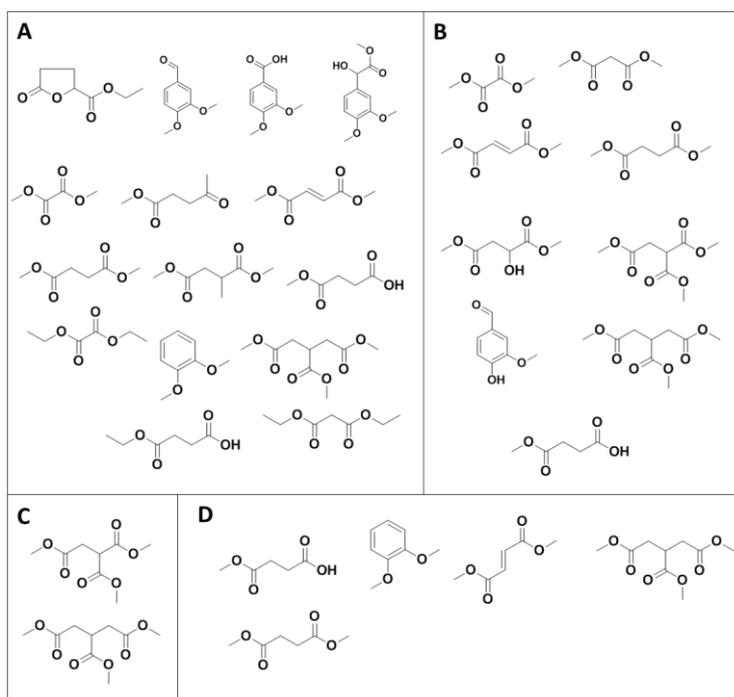


Figure 101: Composés majoritaires après oxydation du gaïacol (A), de la divanilline (B), de la vanilline (C) et de l'acide vanillique (D) déterminés par GC/MS

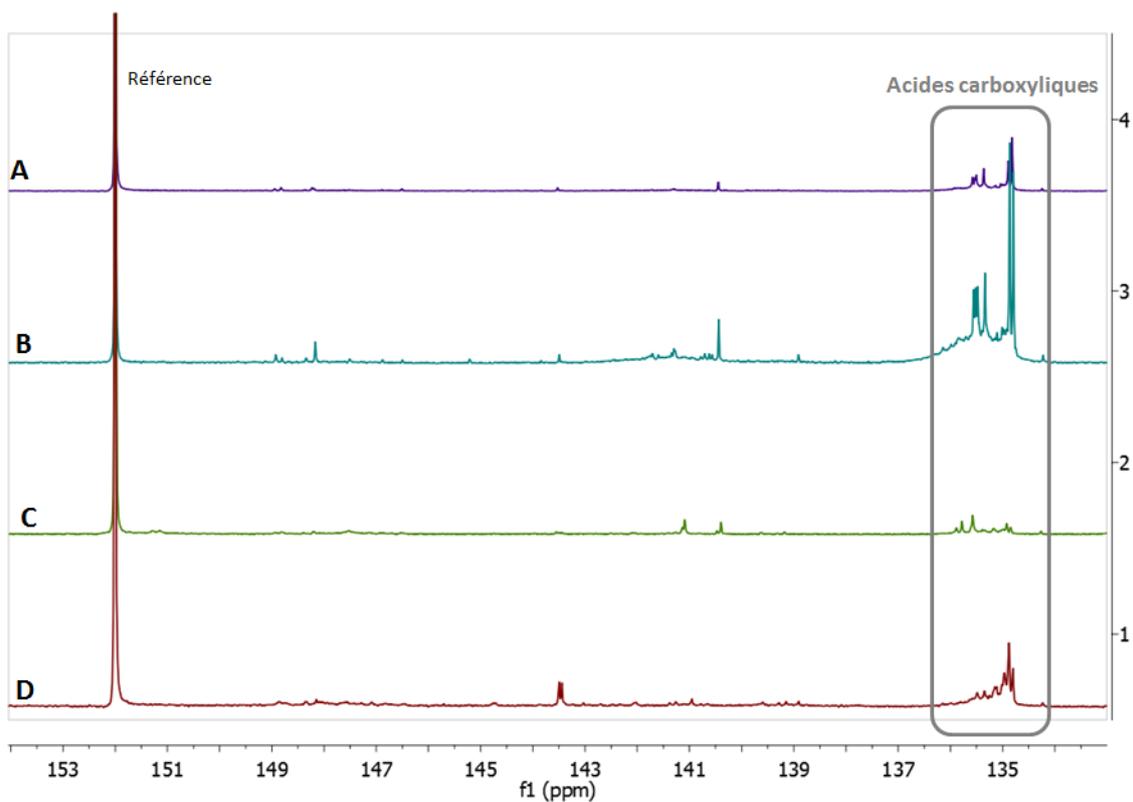


Figure 102: RMN ^{31}P des composés issus de l'oxydation de l'acide vanillique (A), du gaïacol (B), de la divanilline (C) et de la vanilline (D)

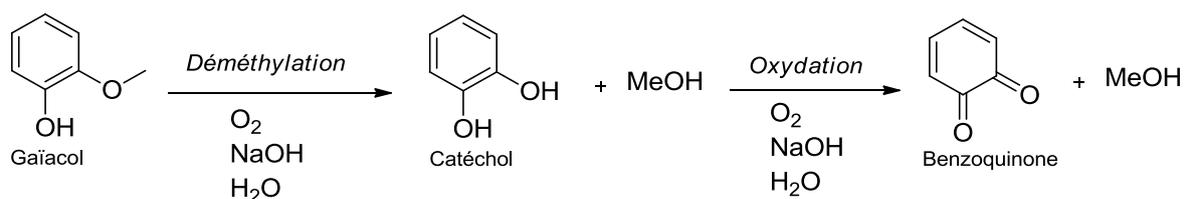


Figure 103: Représentation simplifiée de l'oxydation de gaïacol et de la formation du catéchol et de la benzoquinone

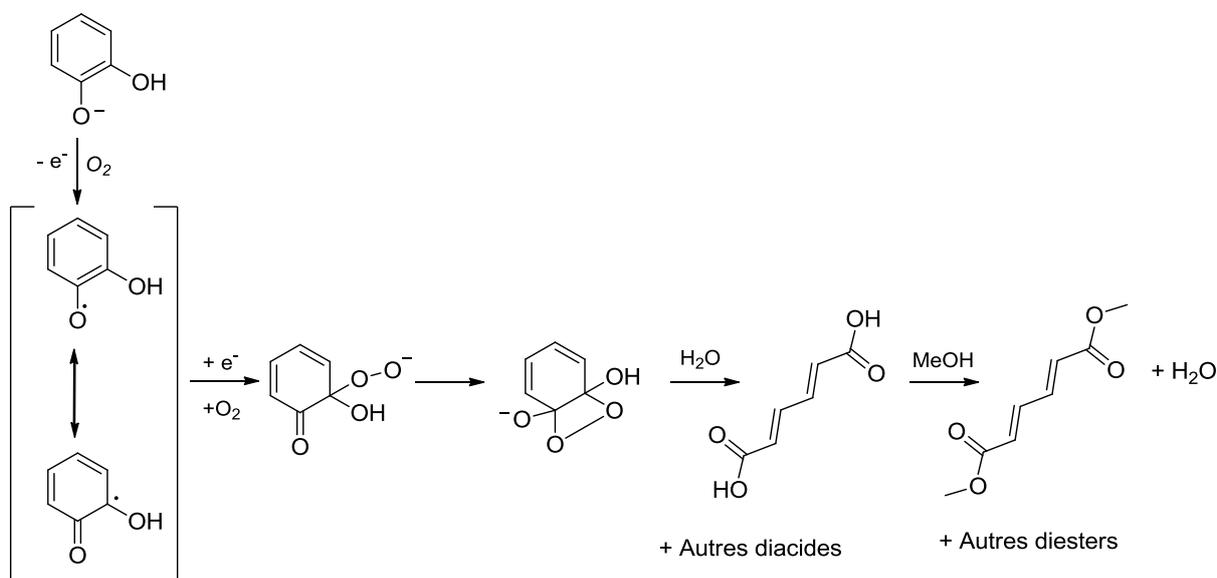
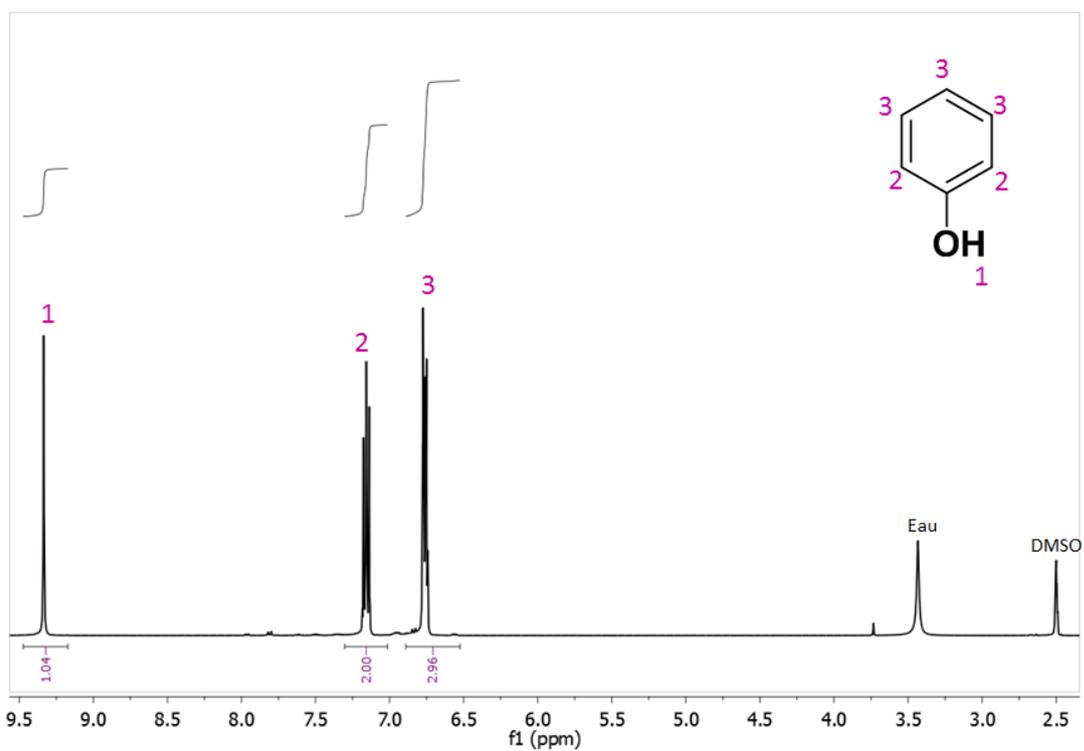
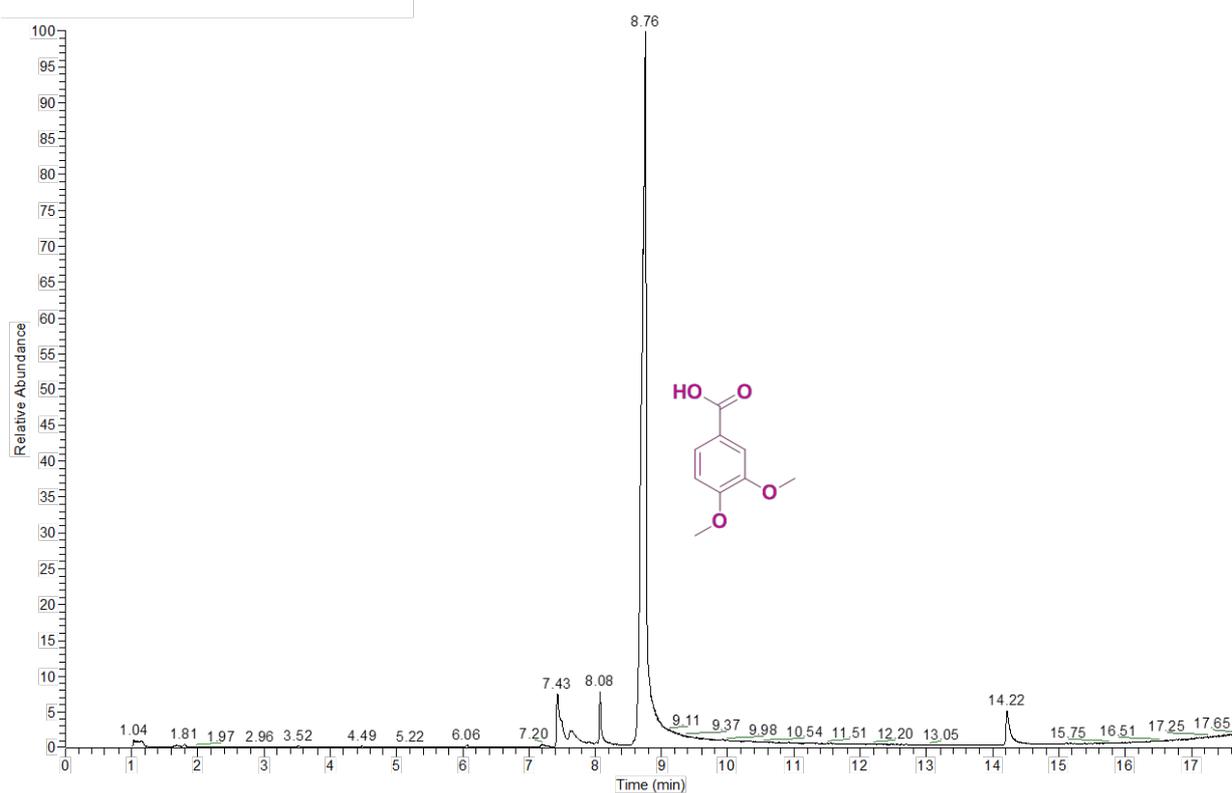


Figure 104: Représentation simplifiée de la formation de diesters lors de l'oxydation du catéchol par l'oxygène en présence de méthanol

VI.2. Oxydation sans ouverture de cycle

Le diméthoxybenzaldéhyde a principalement été oxydé sous forme d'acide carboxylique correspondant (bilan massique : 61%) comme vu sur le chromatogramme GC/MS (Figure 105). L'acide hydroxybenzoïque est modifié sous forme de phénol (26% en bilan massique) comme le montre la RMN ^1H du substrat après réaction (Figure 106). La décarboxylation est évidente pour ce composé. Les résultats pour ces deux molécules n'ont pas montré d'ouverture de cycle, certainement en raison de l'absence de fonction phénol disponible. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus pour le vétratole et l'acide benzoïque.



VI.3. Conclusion

L'étude de molécules phénoliques et benzéniques dans les conditions d'oxydation appliquées à la lignine alcaline fragmentée a permis de prouver l'oxydation du cycle aromatique. Celui-ci se produit uniquement dans le cas où les phénols sont disponibles (non protégés). L'oxydation sans ouverture de cycle (chaîne latérale) a également été démontrée dans le cas du diméthoxybenzaldéhyde. Enfin, une proportion non négligeable en composés volatils a été observée pour chaque oxydation, ce facteur ne semble pas contrôlable. Dans le cas de l'acide hydroxybenzoïque, la formation de CO₂ par décarboxylation a été prouvée.

VII. Conclusion sur l'oxydation de la lignine alcaline

L'oxydation de la lignine alcaline fragmentée en milieu basique provoque la diminution de sa masse molaire apparente en formant des composés fonctionnalisés de façon plus ou moins importante (« lignine précipitée » représentant ~15% en bilan massique et fraction « hydrosoluble » qui représente ~40%). La fonctionnalisation se traduit essentiellement par la formation de fonctions acide carboxylique (RMN ³¹P), mais aussi d'aldéhydes comme les aldéhydes cinnamiques visibles en RMN 2D. La différence de solubilité de ces deux fractions s'explique par leur différence de structure, en effet, l'oxydation du cycle aromatique semble être prédominante pour les composés « hydrosolubles ». Des composés aromatiques, dont la vanilline, sont également formés suite à ce traitement.

Les paramètres de la réaction d'oxydation ont été étudiés et optimisés. L'apport en oxygène et en soude est un paramètre clé pour l'oxydation et la fonctionnalisation de la lignine alcaline fragmentée. La température de réaction est établie à 180°C, la durée à une heure et le rapport massique NaOH/lignine est fixé à 0,6. L'ajout de plusieurs catalyseurs a été testé. Les caractérisations structurales ne montrent pas de différence avec celles obtenues pour les composés oxydés sans catalyseur et les proportions obtenues sont également comparables. Enfin, dans toutes les conditions étudiées, la formation de composés « volatils » est directement liée à l'oxydation et ce phénomène ne semble pas contrôlable et la proportion de composés « organosolubles » reste très faible (moins de 3%).

Il a été montré que la fraction « lignine précipitée », produit d'une première oxydation, pouvait être recyclée lorsque celle-ci est remise dans les mêmes conditions d'oxydation. Ceci permet de reformer des composés « hydrosolubles » (~40% en bilan massique) sans diminution de la masse molaire; l'oxydation des cycles aromatiques est donc prédominante pendant ce second traitement. Les analyses RMN ^{31}P confirment la fonctionnalisation des oligomères « hydrosolubles » par des fonctions acide carboxylique. Il a également été vu que le protocole d'oxydation de la lignine donnait des résultats répétables en termes de rendements massiques, gamme de masse molaire et nature de la fonctionnalisation des produits oxydés. Enfin, ce protocole est applicable à des lignines différentes (lignines kraft et organosolv).

Les fractions « lignine précipitée » et « hydrosolubles » correspondent à des oligomères de lignine fonctionnalisés (par des fonctions acide carboxylique majoritairement mais aussi aldéhydes et aldéhydes cinnamiques). Il sera intéressant, pour la suite du projet, d'étudier la réactivité de ces oligomères fonctionnalisés pour la formation de copolymères par exemple.

La totalité des traitements (extraction, purification et oxydation de la lignine) permet de récupérer une fraction valorisable de près de **39%** de la lignine initialement présente dans l'effluent alcalin (Figure 107).

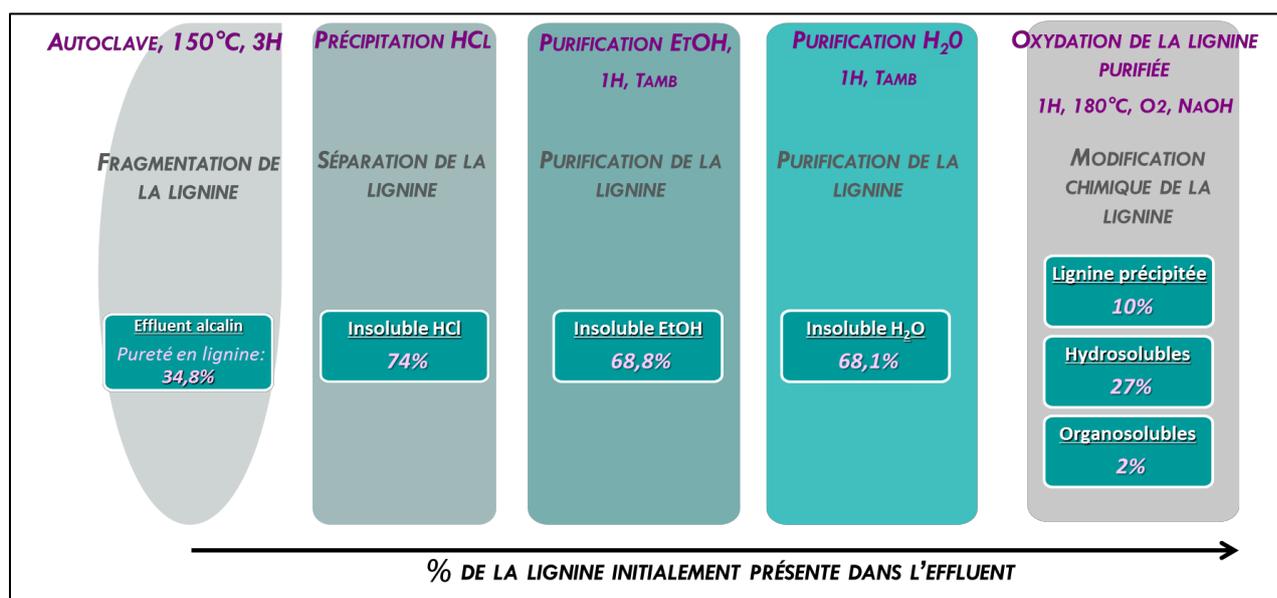


Figure 107: Pourcentage de la lignine initialement présente dans l'effluent alcalin à chaque étape de la valorisation de la lignine

VIII. Références bibliographiques

1. Zakzeski, J., P.C.A. Bruijninx, A.L. Jongerius, and B.M. Weckhuysen, *The Catalytic Valorization of Lignin for the Production of Renewable Chemicals*. *Chemical Reviews*, 2010. **110**(6): p. 3552-3599.
2. Das, L., P. Kolar, and R. Sharma-Shivappa, *Heterogeneous catalytic oxidation of lignin into value-added chemicals*. *Biofuels*, 2012. **3**(2): p. 155-166.
3. Rahimi, A., A. Azarpira, H. Kim, J. Ralph, and S.S. Stahl, *Chemoselective Metal-Free Aerobic Alcohol Oxidation in Lignin*. *Journal of the American Chemical Society*, 2013. **135**(17): p. 6415-6418.
4. Gaspar, A.R., J.A.F. Gamelas, D.V. Evtuguin, and C. Pascoal Neto, *Alternatives for lignocellulosic pulp delignification using polyoxometalates and oxygen: a review*. *Green Chemistry*, 2007. **9**(7): p. 717-730.
5. Germer, E., *Production of bleachable pulp through catalytic oxygen-alkaline delignification of high-yield mechanical pulp*. *TAPPI J* 78, 1995. **11**: p. 121-124.
6. Asgari, F. and D.S. Argyropoulos, *Fundamentals of oxygen delignification. Part II. Functional group formation/elimination in residual kraft lignin*. *Canadian Journal of Chemistry*, 1998. **76**(11): p. 1606-1615.
7. Gierer, J., *Chemistry of delignification*. *Wood Science and Technology*, 1986. **20**(1): p. 1-33.
8. Jafari, V., S.R. Labafzadeh, A. King, I. Kilpelainen, H. Sixta, and A. van Heiningen, *Oxygen delignification of conventional and high alkali cooked softwood Kraft pulps, and study of the residual lignin structure*. *RSC Advances*, 2014. **4**(34): p. 17469-17477.
9. Smook, G.A., ed. *Handbook for pulp & paper technologists 3rd edition*. 2002, Angus wilde publication Inc.: vancouver.
10. Dimitris, S.A., *Oxidative Delignification Chemistry*. ACS Symposium Series. Vol. 785. 2001: American Chemical Society. 548.
11. Dence, C.W. and D. Reeve, W., eds. *Pulp bleaching principles and practice*. 1996, TAPPI press: Atlanta.
12. Gierer, J. and F. Imsgard, *The reactions of lignins with oxygen and hydrogen peroxide in alkaline media*. *Svensk papperstidning*, 1977. **80**(16): p. 510-518.
13. Kalliola, A., S. Kuitunen, T. Liitiä, S. Rovio, T. Ohra-aho, T. Vuorinen, and T. Tamminen, *Lignin oxidation mechanisms under oxygen delignification conditions. Part 1. Results from direct analyses*. *Holzforschung*, 2011. **65**(4): p. 567-574.
14. Campbell, A.N. and S.S. Stahl, *Overcoming the "Oxidant Problem": Strategies to Use O₂ as the Oxidant in Organometallic C-H Oxidation Reactions Catalyzed by Pd (and Cu)*. *Accounts of Chemical Research*, 2012. **45**(6): p. 851-863.
15. Azarpira, A., J. Ralph, and F. Lu, *Catalytic Alkaline Oxidation of Lignin and its Model Compounds: a Pathway to Aromatic Biochemicals*. *BioEnergy Research*, 2014. **7**(1): p. 78-86.
16. Dutta, S., K.C.W. Wu, and B. Saha, *Emerging strategies for breaking the 3D amorphous network of lignin*. *Catalysis Science & Technology*, 2014. **4**(11): p. 3785-3799.
17. Constant, S., M. Robitzer, F. Quignard, and F. Di Renzo, *Vanillin oligomerization as a model of side reactions in lignin fragmentation*. *Catalysis Today*, 2012. **189**(1): p. 123-128.

18. Pew, J.C., *Nitrobenzene Oxidation of Lignin Model Compounds, Spruce Wood and Spruce "Native Lignin"*. Journal of the American Chemical Society, 1955. **77**(10): p. 2831-2833.
19. Beauchet, R., F. Monteil-Rivera, and J.M. Lavoie, *Conversion of lignin to aromatic-based chemicals (L-chems) and biofuels (L-fuels)*. Bioresource Technology, 2012. **121**(0): p. 328-334.
20. Dmitry, V.E., R. Graça, and J.G. Brian, *Detection of muconic acid type structures in oxidised lignins using 2D NMR spectroscopy 10th EWLP, Stockholm, Sweden, August 25–28, 2008*. Holzforschung, 2009. **63**(6): p. 675-680.
21. Gonçalves, A.R. and P. Benar, *Hydroxymethylation and oxidation of Organosolv lignins and utilization of the products*. Bioresource Technology, 2001. **79**(2): p. 103-111.
22. Bauer, S., H. Sorek, V.D. Mitchell, A.B. Ibáñez, and D.E. Wemmer, *Characterization of Miscanthus giganteus lignin isolated by ethanol organosolv process under reflux condition*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012. **60**(33): p. 8203-8212.
23. Kaiser, K. and R. Benner, *Characterization of lignin by gas chromatography and mass spectrometry using a simplified CuO oxidation method*. Analytical chemistry, 2011. **84**(1): p. 459-464.
24. Takada, D., K. Ehara, and S. Saka, *Gas chromatographic and mass spectrometric (GC-MS) analysis of lignin-derived products from Cryptomeria japonica treated in supercritical water*. Journal of Wood Science, 2004. **50**(3): p. 253-259.
25. Sun, R., J.M. Lawther, and W.B. Banks, *The effect of alkaline nitrobenzene oxidation conditions on the yield and components of phenolic monomers in wheat straw lignin and compared to cupric(II) oxidation*. Industrial Crops and Products, 1995. **4**(4): p. 241-254.
26. Bjørsvik, H.-R. and F. Minisci, *Fine Chemicals from Lignosulfonates. 1. Synthesis of Vanillin by Oxidation of Lignosulfonates*. Organic Process Research & Development, 1999. **3**(5): p. 330-340.
27. Nanayakkara, S., A.F. Patti, and K. Saito, *Chemical depolymerization of lignin involving the redistribution mechanism with phenols and repolymerization of depolymerized products*. Green Chemistry, 2014. **16**(4): p. 1897-1903.
28. Johansson, E. and S. Ljunggren, *The Kinetics of Lignin Reactions During Oxygen Bleaching. IV. The Reactivities of Different Lignin Model Compounds and the Influence of Metal Ions on the Rate of Degradation*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 1994. **14**(4): p. 507-525.
29. Ohmura, S., T. Yokoyama, and Y. Matsumoto, *Progress of oxidation of non-phenolic lignin moiety in an oxygen bleaching process via the conversion of non-phenolic into phenolic lignin moiety*. Journal of Wood Science, 2012. **58**(3): p. 243-250.
30. Imai, A., I. Tomoda, T. Yokoyama, Y. Matsumoto, and G. Meshitsuka. *Accurate measurement of oxygen consumption during oxygen-alkali treatment of kraft lignin, pulp and lignin model compounds*. in Appita Annual Conference. 2005.
31. Bogolitsyn, K.G., N.R. Popova, A.N. Pryakhin, V.V. Lunin, and A.E. Kosheleva, *Homogeneous catalytic oxidation of vanillin in ethanolic-aqueous-alkaline media*. Russian Journal of Physical Chemistry A, 2005. **79**(3): p. 389-394.
32. Crestini, C., P. Pro, V. Neri, and R. Saladino, *Methyltrioxorhenium: a new catalyst for the activation of hydrogen peroxide to the oxidation of lignin and lignin model compounds*. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2005. **13**(7): p. 2569-2578.

33. Hiremath, D.C., T.S. Kiran, and S.T. Nandibewoor, Oxidation of vanillin by diperiodatocuprate(III) in aqueous alkaline medium: A kinetic and mechanistic study by stopped flow technique. *International Journal of Chemical Kinetics*, 2007. **39**(4): p. 236-244.
34. Su, J., L. Yang, R.N. Liu, and H. Lin, Low-temperature oxidation of guaiacol to maleic acid over TS-1 catalyst in alkaline aqueous H₂O₂ solutions. *Chinese Journal of Catalysis*, 2014. **35**(5): p. 622-630.

Conclusion générale

&

Perspectives

La nécessité de trouver une alternative aux ressources fossiles nous a amené à nous inspirer de la nature. Pour ne pas concurrencer la chaîne alimentaire, la matière lignocellulosique et en particulier le bois, composé de trois grandes familles de bio-polymères (la cellulose, la lignine et les hémicelluloses) est une source de choix. Notre intérêt s'est porté sur la lignine, largement disponible par l'industrie papetière, qui possède un squelette phénolique ramifié et se présente comme une source potentielle de matière première en chimie organique. L'industrie papetière se focalise sur la fragmentation du bois pour extraire la cellulose et éliminer la lignine qui se retrouve sous forme de co-produit soluble dans les « liqueurs de cuisson » qui sont, par la suite, utilisées comme combustible d'appoint. Dans ce contexte, ce projet de thèse est motivé par la valorisation des sous-produits de l'industrie papetière et la recherche d'une solution face à l'épuisement des ressources en pétrole. L'objectif de ces travaux était par conséquent de trouver une nouvelle voie de valorisation de la lignine contenue dans une liqueur alcaline, co-produit de la bioraffinerie Tembec (producteur de pâtes cellulosiques), par la synthèse de nouveaux synthons et oligomères bio-sourcés. La conception de nouveaux matériaux polymères issus de lignine présente un fort intérêt en raison de la variabilité des applications envisageables et du caractère biocompatible et biodégradable de ce bio-polymère. Ces travaux ont permis de synthétiser des oligomères fonctionnalisés, représentant au total 39% de la lignine présente dans la liqueur alcaline initiale. Le potentiel de ces oligomères devra être étudié pour évaluer leurs voies d'application.

La première étape de cette thèse a été d'extraire et de purifier la lignine alcaline à partir de la liqueur alcaline de Tembec. Une nouvelle méthode d'extraction et de purification en trois étapes de la lignine a été définie et adaptée. Cette méthode comprend un pré-traitement en autoclave à 150°C de la liqueur qui permet de fragmenter la lignine et ainsi de diviser sa masse molaire par 3.8. La séparation de la lignine s'est effectuée par précipitation en milieu acide à partir de la liqueur et a permis l'élimination de la grande majorité des minéraux ainsi

que certains sucres & dérivés considérés comme des impuretés. Enfin, deux purifications successives, une à l'éthanol et l'autre à l'eau acidifiée (pH=2) ont permis d'éliminer, par solubilisation, les sucres & dérivés ainsi que les auxiliaires de fabrication résiduels. Ce protocole d'extraction et de purification de la lignine a permis d'obtenir des échantillons purs à 95% en lignine et de récupérer 68,1% de la lignine présente dans la liqueur alcaline de départ. Lors de l'application à large échelle de ce protocole, une étape supplémentaire de purification à l'eau osmosée à été nécessaire pour atteindre une valeur de pureté similaire.

La seconde partie de cette thèse est consacrée à l'élucidation de la structure de la lignine alcaline purifiée, étape essentielle pour appréhender sa modification chimique. La lignine alcaline a été caractérisée par des techniques d'analyse classiques telles que la chromatographie d'exclusion stérique ou encore la spectroscopie RMN. Les résultats ont été comparés à ceux obtenus pour une lignine kraft de même pureté. Il a été montré que la nature et la proportion des groupements hydroxyle et acide carboxylique en RMN ^{31}P , les groupements fonctionnels visibles en IRFT et la nature des principaux motifs présents en RMN HSQC sont tout à fait comparables pour la lignine alcaline fragmentée et la lignine Kraft, toutes deux provenant de pin maritime. Les caractérisations de la lignine alcaline fragmentée ont également été comparées à celles obtenues pour la lignine alcaline non fragmentée (extraite et purifiée suivant le même protocole sans l'étape de fragmentation en autoclave) afin d'étudier l'influence de l'étape de pré-traitement en autoclave sur la structure de la lignine. Il a été montré par AE, analyse RMN ^{31}P et TGA que le pré-traitement en autoclave en plus de provoquer la dépolymérisation de la lignine, conduisait à la formation d'unités condensées au sein de la structure de la lignine alcaline. La RMN ^{31}P a aussi montré que des réactions d'oxydation se produisaient sur les structures aromatiques conduisant à la formation de fonctions acide carboxylique. Enfin, des réactions de déshydratation sont également supposées par les résultats obtenus en AE.

Dans la dernière partie de cette thèse, la lignine alcaline a été oxydée et fonctionnalisée par l'oxygène en milieu alcalin à 180°C. Ce traitement a conduit à la formation d'oligomères de lignine (plus ou moins fonctionnalisés) et de molécules aromatiques oxydées (contenant 15%

de vanilline). Une perte de masse pouvant atteindre 50% par la formation de composés « volatils » a également été observée et l'étude de l'oxydation de molécules simples benzéniques et phénoliques a permis de mettre en évidence que ce facteur n'était pas contrôlable. La diminution des masses molaires apparentes des fractions oxydées a été démontrée par SEC. Cette diminution résulte de la rupture des liaisons inter-unités observée en RMN HSQC. La fonctionnalisation se traduit essentiellement par la formation de fonctions acide carboxylique, visible en RMN ^{31}P mais aussi d'aldéhydes comme les aldéhydes cinnamiques détectés en RMN 2D. Cette fonctionnalisation est d'autant plus importante pour les composés « hydrosolubles » (pouvant aller jusqu'à 93 fonctions acides carboxyliques pour 100 unités C_9) due principalement à l'oxydation du cycle aromatique. L'oxydation de la lignine alcaline a permis de synthétiser des oligomères fonctionnalisés par des fonctions acide carboxylique qui pourront être utilisés tels quels (en tant qu'additifs par exemple) ou pour la formation de nouveaux co-polymères.

Des méthodes simples et économiques ont été privilégiées tout au long de ces travaux en vue d'une industrialisation potentielle. Dans cette optique, l'obtention de rendement les plus élevés possibles a été privilégiée. Il a été montré que la totalité des traitements (extraction, purification et oxydation de la lignine) permettait d'obtenir une fraction valorisable de **39%** de la lignine initialement présente dans l'effluent alcalin. Les pertes observées pendant l'extraction et la purification sont dues à la solubilisation des populations de lignine de faible masse molaire dans les solvants de purification. La perte due à l'étape d'oxydation s'explique par la formation de composés volatils. Les oligomères (lignine précipitée et composés hydrosolubles) synthétisés par oxydation sont hautement fonctionnalisés par des fonctions acide carboxylique. Leur réactivité doit désormais être étudiée pour la formation de nouveaux copolymères bio-sourcés. La présence de fonctions acide carboxylique laisse place à une large variabilité d'applications potentielles. En effet, il est possible d'envisager la formation de polyesters, polyamides ou polyuréthanes. Pour débiter cette prochaine étude il serait intéressant, par exemple, d'estérifier les fonctions acide carboxylique des oligomères pour tester leur réactivité.

Ce travail propose une méthodologie globale pour la valorisation des co-produits issus de l'industrie papetière. Les dérivés de lignine constituent bien une alternative prometteuse pour l'obtention de polymères bio-sourcés et pourraient, dans un avenir proche, être présents dans notre quotidien sous de nombreuses formes.

Partie expérimentale

Table des matières

I. Matériels	213
II. Techniques d'analyses (normes Tappi)	214
II.1. Détermination de la teneur en lignine des liqueurs.....	214
II.2. Détermination du taux de cendre (Tappi 413 om-11)	214
II.3. Détermination de la matière sèche de la liqueur alcaline.....	214
II.4. Méthode de la lignine de « klason » (Tappi 222, om-02).....	215
II.5. Détermination de l'Acid Soluble Lignin (ASL) (Tappi, UM250 um-83).....	215
III. Techniques de caractérisation	216
III.1. Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)	216
III.2. Spectroscopie infrarouge (IRFT).....	216
III.3. Analyse élémentaire (AE)	216
III.4. Résonance magnétique nucléaire (RMN)	216
III.5. Analyse de chromatographie gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS).....	218
III.6. Analyses thermiques.....	218
IV. Chapitre 2 : Extraction et purification de la lignine alcaline.....	219
IV.1. Précipitation en milieu acide	219
IV.2. Extraction par « acidolyse douce »	219
IV.3. Purification à l'éthanol et à l'eau acidifiée de la lignine	219
IV.4. Pré-traitement en autoclave	220
V. Chapitre 4 : Oxydation de la lignine alcaline.....	220
V.1. Oxydation de la lignine alcaline	220
V.2. Oxydation de molécules phénoliques & benzéniques	221
VI. Références bibliographiques	223

I. Matériels

Sigma Aldrich

L'acide chlorhydrique (37%), l'acide sulfurique (95-98%), l'éthanol (96%), le *N-N*-diméthyle formamide (99%), le dichlorométhane (99%), le sulfate de cuivre(II) pentahydraté, le chlorure de cuivre(II) , l'acétate de manganèse(II) tétrahydraté (99+%), le 2-chloro-4,4,5,5-tetraméthyl-1,3,2-dioxaphospholane (95%) et l'acétylacétonate de chrome(III) sont fournis par Sigma Aldrich.

Alfa Aesar

La soude en pastille (97%) et l'endo-*N*-hydroxy-5-norbornene-2,3-dicarboximide sont fournis par Alfa Aesar.

Acros

L'acide éthylène diamine tétraacétique est fourni par Acros.

ABCR

Le 4-acetamido-TEMPO est fourni par ABCR.

Baker

Le nitrobenzène est fourni par Baker.

Fisher

La pyridine anhydre (99,8%) et l'acide phosphotungstique hydraté sont fournis par Fisher.

Air liquide

L'azote et l'oxygène sont fournis par air liquide.

Tembec innovation

Les liqueurs alcalines haute et basse viscosité sont gracieusement fournies par TEMBEC innovation.

Tous les réactifs et solvants sont utilisés sans purification supplémentaire sauf les solvants utilisés pour l'analyse RMN ^{31}P (DMF et pyridine) qui sont séchés sur tamis moléculaire (3Å) avant utilisation.

II. Techniques d'analyses (normes Tappi)

II.1. Détermination de la teneur en lignine des liqueurs

La pureté en lignine des liqueurs est déterminée par une méthode de spectroscopie UV [1] sur un spectromètre PERKIN ELMER (modèle Lambda 18) en utilisant des cuves en quartz de 1 cm d'épaisseur (100-QS, Hellma® Analytcs). 0,05% (w/w par rapport à la matière sèche) de liqueur alcaline est pesé dans une fiole jaugée de 50 ml et le volume est complété par de l'eau distillée. Après une dilution x 50, l'absorbance (Abs) de l'échantillon est notée à 280 nm. Cette analyse est réalisée trois fois pour un même échantillon. La moyenne des valeurs est calculée et la concentration en lignine de la liqueur alcaline est déterminée grâce à la loi de Beer-Lambert : $\text{Abs} = C \times \epsilon \times l$ (avec l = épaisseur de la cuve et ϵ = coefficient d'extinction molaire de la lignine = 25 g/L/cm à 280 nm).

II.2. Détermination du taux de cendre (Tappi 413 om-11)

Le taux de minéraux des lignines est déterminé en carbonisant les lignines à 890 ± 5 °C dans un four à moufle [2, 3]. Une masse de lignine ou de liqueur connue (entre 1 et 2 g) est mise dans un creuset en platine préalablement pesé. Le creuset est calciné au chalumeau, pour éliminer un maximum de matière organique, jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumée. Le tout est placé dans le four à moufle pendant 4H minimum. Après ce temps, le creuset est directement mis à refroidir dans un dessiccateur pendant 45 min avant d'être pesé. Le taux de cendre se calcule par différence de masse avant et après calcination à 900°C des lignines. Chaque mesure est réalisée minimum deux fois et les moyennes sont reportées.

II.3. Détermination de la matière sèche de la liqueur alcaline

Une masse connue de liqueur (entre 8 et 10g) est placée dans une coupelle en verre contenant du sable préalablement pesé. Le tout est placé dans une étuve à 110 °C pendant

une nuit. Le taux de matière sèche est déterminé par différence de masse avant et après séchage à l'étuve. Chaque mesure est réalisée deux fois.

II.4. Méthode de la lignine de « klason » (Tappi 222, om-02)

A 1g de lignine contenu dans un bécher est lentement ajouté 15mL d'acide sulfurique (72%) (placé dans un bain de glace) sous agitation manuelle [4]. A la fin de l'ajout, le bécher est recouvert d'un verre de montre et retiré du bain de glace et est mis à réagir pendant 2H sans agitation. Après ce temps, le mélange est transféré dans un erlenmeyer de 2L et 575 mL d'eau distillée sont ajoutés pour obtenir une concentration finale en acide sulfurique de 3%. Le tout est porté à reflux pendant 4H puis laissé à refroidir jusqu'à obtenir un dépôt au fond de l'erlenmeyer (parfois une nuit entière est nécessaire). Le mélange est ensuite filtré sur verre fritté (N°4) préalablement séché et pesé. Le précipité est rincé à l'eau chaude (90°C) puis le verre fritté contenant le résidu, qui est considéré pure en lignine, est mis à sécher à l'étuve à 110°C pendant une nuit. Le taux de lignine de klason est déterminé par gravimétrie. La partie soluble est récupérée pour déterminer l'ASL (cf paragraphe ci-dessous).

II.5. Détermination de l'Acid Soluble Lignin (ASL) (Tappi, UM250 um-83)

La méthode dite « Acid Soluble Lignin » est une méthode UV [5, 6] réalisée sur un spectromètre PERKIN ELMER (modèle Lambda 18) en utilisant des cuves en quartz de 1 cm d'épaisseur (100-QS, Hellma® Analytics). Cette technique permet de quantifier la contenance en lignine dans la fraction soluble récupérée par la méthode de « lignine de Klason ». La fraction soluble est ramenée à 1 L avec de l'eau distillée. L'absorbance de l'échantillon est notée à 203 nm. Et la concentration en lignine est calculée grâce à la loi de Beer-Lambert : $Abs = C \times \epsilon \times l$ (avec l = épaisseur de la cuve et ϵ = coefficient d'extinction molaire de la lignine = 128 g/L/cm à 203 nm). Le pourcentage final est corrigé (-0,2%) pour ajuster la valeur en fonction des sucres présents susceptibles d'absorber à cette longueur d'onde[7]. Lorsque les solutions sont trop concentrées, elles sont diluées 10 fois. Chaque analyse est réalisée 3 fois et la valeur moyenne est reportée.

III. Techniques de caractérisation

III.1. Chromatographie d'exclusion stérique (SEC)

Les distributions molaires des lignines sont déterminées par SEC en milieu basique [8] (éluant : NaOH pH=12). L'appareil utilisé est équipé de 3 colonnes TSK gel G3000+G4000+G3000PW fournies par Tosoh Bioscience et d'un détecteur UV réglé à 280 nm. La calibration est effectuée avec des calibrants de polystyrène sulfoné. Pour chaque analyse, 10 mg de lignine est mis à solubiliser dans 2 ml d'une solution de NaOH (pH=12) contenant 1% wt. de marqueur de débit (styrène sulfoné). Le tout est filtré sur acétate de cellulose (22 μ m). Le temps d'analyse est de 50 min et le débit est 1 ml/min. Les valeurs de M_p (masse molaire au pic), \bar{M}_n (masse molaire moyenne en nombre), \bar{M}_w (masse molaire moyenne en masse) et de dispersité (\mathcal{D}) sont données par le logiciel Cirrus.

III.2. Spectroscopie infrarouge (IRFT)

Les spectres IR des lignines sont enregistrés sur un spectromètre IRFT *Thermo Nicolet* (modèle Avatar 370 FT-IR). Les spectres sont acquis en mode transmission à partir de pastilles KBr. Pour chaque spectre : 32 scans, fenêtre spectrale : entre 4000-400 cm^{-1} et résolution 4 cm^{-1} .

III.3. Analyse élémentaire (AE)

Les analyses élémentaires des lignines ont été effectuées par le laboratoire SGS Multilab. Les contenances en carbone, hydrogène et azote sont déterminées par la méthode de conductivité thermique et les proportions en oxygène et soufre sont obtenues par méthode infrarouge.

III.4. Résonance magnétique nucléaire (RMN)

RMN 2D (HSQC et HMBC)

Toutes les analyses RMN 2D sont calibrées grâce au signal du DMSO à 298 K ($\delta C/\delta H$ 39.5/2.50). Les spectres sont ensuite traités par le logiciel Mnova. Pour chaque analyse, 70mg de lignine non modifiée sont dissous dans 0.65 mL de DMSO (Eurisotop ; 99,8 atom%D). Les analyses sont réalisées sur un appareil Bruker AVANCE III HD équipé d'une

cryosonde directe 5 mm qui opère à 400.3 MHz et 100.7 MHz respectivement pour ^1H et ^{13}C . Les spectres obtenus par HSQC éditée (proton-detected Heteronuclear Single-Quantum Correlation) sont acquis sur une largeur spectrale de 24,000 Hz pour le carbone et 4800 Hz pour le proton avec 1024 points de données ; 256 incréments collectés et un délai D_1 de 1,5 s. L'acquisition a été faite avec le programme d'impulsion *hsqcedetgpsisp2.3* de la base de données Bruker Topspin. Les spectres obtenus par HMBC (Heteronuclear Multiple-Bond Correlation) sont acquis sur une largeur spectrale de 22000 Hz pour le carbone et 4800 Hz pour le proton avec 2048 points de données ; 128 incréments collectés et un délai D_1 de 0.8 s. L'acquisition a été faite avec le programme d'impulsion *hmbcgp1pndqf* de la base de données Bruker Topspin. La valeur de constante de couplage pour le transfert de polarisation correspond à la valeur moyenne JC-H de 145Hz.

RMN ^{31}P

Les analyses quantitatives RMN ^{31}P sont réalisées en utilisant le 2-chloro-4,4,5,5-tetraméthyl-1,3,2-dioxaphospholane (TMDP) comme agent de phosphorylation [9] et le endo-N-hydroxy-5-norbornene-2,3-dicarboximide comme référence interne [10]. Une quantité connue de lignine préalablement séchée (entre 40 et 45 mg), entre 2 et 10 mg de référence interne et 1 mg d'agent de relaxation (acétylacétonate de chrome(III)) sont dissous dans 500 μL d'un mélange anhydre de pyridine/ CDCl_3 (1.6:1, v/v). 500 μL de DMF sec sont ajoutés pour assurer la solubilité de la lignine. Lorsque le milieu est homogène, 250 μL d'agent de phosphorylation (TMDP) est ajouté et le milieu est agité pendant 1 heure. Enfin, 400 μL du mélange réactionnel plus 200 μL de CDCl_3 sont transférés dans un tube RMN pour procéder à l'analyse. Les analyses ^{31}P sont réalisées à 298 K sur un appareil Bruker AVANCE I équipé d'une sonde directe 5 mm qui opère à 162.0 MHz. L'acquisition a été faite avec le programme « inverse Gate » *zgOig* de la base de données Bruker Topspin. La fenêtre spectrale a été optimisée à 10000 HZ avec un temps d'acquisition de 1,6s et un délai D_1 de 5s. Les proportions en groupements hydroxyles des lignines étudiées sont obtenues par intégration des zones suivantes : hydroxyles aliphatiques (150,0-145,5 ppm), unités condensées (144,7-140 ppm), unités guaiacyles (140,2-138,6 ppm), unités *p*-hydroxyphényles (138,4-136,4 ppm) et acides carboxyliques (136-134 ppm). Pour cette analyse, le milieu doit être anhydre ; avant

utilisation, les solvants sont séchés sur tamis moléculaire (3Å) et la verrerie est mise à l'étuve à 110°C une nuit.

III.5. Analyse de chromatographie gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS)

Les analyses GC-MS ont été effectuées au laboratoire CESAMO sur un chromatographe *Thermo Trace GC ultra gas* couplé à un détecteur de masse *Thermo ISQ*. Les composés n'ont subi aucune modification chimique avant analyse. Les analyses en chromatographie capillaire sont réalisées à l'aide d'une colonne TG-SQC (15m×0.25mm i.d., 0.25µm; 5% phénylméthylpolysiloxane, 95% diméthylpolysiloxane) sous hélium. Pour chaque analyse : solvant : méthanol, concentration : 1 mg/ml, débit du gaz (He) : 1,2 mL/min, température d'injection : 230°C en « split mode ». L'échantillon est maintenu à 50°C pendant 1 minute puis porté à 300°C à une vitesse de 15°C/min, et enfin maintenu à 300°C pendant 1 min. L'acquisition du spectre de masse par ionisation électronique (EI) est effectuée à 70 eV dans une gamme entre 32-800 (m/z). Les composés majoritaires sont caractérisés d'après la base de données **NIST 2008**. Les probabilités de correspondance entre les spectres de masse des composés étudiés et ceux proposés par la bibliothèque de données sont considérées comme étant fiables lorsque les valeurs de « match » (MF) et « reverse match » (RMF) sont supérieures à 800 (idéalement autour de 900). Les composés identifiés et présentés tout au long de cette thèse répondent à cette exigence

III.6. Analyses thermiques

Analyse thermogravimétrique (TGA)

Les analyses TGA sont réalisées sur un appareil TGA-Q50 (TA Instruments) de 10 à 800°C à une vitesse de 10°C/min sous atmosphère inerte (azote) et sous air.

Analyse enthalpique différentielle (DSC)

Les analyses DSC sont réalisées sur un appareil Q100 (TA Instruments). Les échantillons sont analysés entre 20 et 170°C à une vitesse de 5°C/min en mode « modulé ». Pour chaque échantillon, deux montées et une descente en température ont été réalisées. Les

températures de transition vitreuse ont été calculées à partir du thermogramme obtenu lors de la seconde montée.

IV. Chapitre 2 : Extraction et purification de la lignine alcaline

IV.1. Précipitation en milieu acide

La lignine alcaline est extraite de la liqueur alcaline par précipitation en milieu acide [1, 11, 12]. Une solution d'acide chlorhydrique (1M) est lentement ajoutée à la liqueur alcaline (pH=13) sous agitation magnétique jusqu'à l'obtention d'une valeur de pH entre 1 et 2. Le surnageant est séparé par centrifugation (4500 tour/min, 15 min, 10°C). La lignine précipitée est lavée 2 fois à l'eau acidifiée (HCl, pH=2), re-centrifugée puis séchée au lyophilisateur pendant 24H.

IV.2. Extraction par « acidolyse douce »

Le traitement par « acidolyse » douce est réalisé sur la lignine précipitée (Insoluble HCl) en présence d'un mélange HCl/éthanol (C° en lignine : 0,1g/ml) à température de reflux de l'éthanol pendant 2H. Ce protocole est adapté de celui proposé par Gellersted [13]. Après réaction, la fraction insoluble est récupérée par centrifugation (4500 tour/min, 15 min, 10°C) puis dispersée dans l'eau acidifiée (pH=2) avant d'être re-centrifugée (3 fois). Les fractions solubles et insolubles (A et A') sont mises à sécher au lyophilisateur (24H) avant d'être analysées. Le surnageant est évaporé à sec à l'évaporateur rotatif puis repris à l'eau acidifiée (3 fois). Les fractions solubles et insolubles (B et B') sont séparées par centrifugation et séchées au lyophilisateur avant d'être analysées. Deux protocoles qui diffèrent selon la proportion éthanol/acide et la concentration en acide ont été étudiés : **Protocole N°1**: EtOH/HCl (0,1M) (v/v; 1/1) et **Protocole N°2**: EtOH/ HCl (1M) (v/v; 10/1).

IV.3. Purification à l'éthanol et à l'eau acidifiée de la lignine

La lignine précipitée est purifiée en deux étapes. Premièrement la lignine est lavée à l'éthanol (C° en lignine : 0,1g/ml) sous agitation pendant 1 heure. La lignine est récupérée après centrifugation (4500 tour/min, 15 min, 10°C) et séchée dans une étuve à vide à 45°C pendant une nuit. Dans un second temps, le même protocole est appliqué en utilisant de

l'eau acidifiée (pH=2). La lignine alcaline purifiée est séchée au lyophilisateur pendant 24H avant d'être caractérisée. Des tests ont été réalisés en faisant varier la température (température ambiante et 78°C) et le temps (30 min et 1H) et les meilleurs résultats ont été obtenus pour un traitement à température ambiante pendant 1H.

IV.4. Pré-traitement en autoclave

L'autoclave utilisé est de la marque PARR (volume max : 600 mL, pression max : 200 bar) associé au moniteur de contrôle de température 4836 CONTROLLER. Le temps optimal a été déterminé afin d'assurer au mieux la dépolymérisation de la lignine sans formation de résidus carbonés. Les tests ont été réalisés de 1 à 70H avec ou sans pression d'oxygène (10 bars). Les résultats sont suivis par SEC. Les conditions optimales pour le pré-traitement en autoclave de la liqueur alcaline sont : 3H sans pression d'oxygène, à 150°C.

V. Chapitre 4 : Oxydation de la lignine alcaline

V.1. Oxydation de la lignine alcaline

Le protocole détaillé pour l'oxydation de la lignine alcaline est décrit au chapitre 4 (§ 1.2.). Les conditions appliquées pour l'étude de l'influence de la nature de l'agent oxydant et du catalyseur sont rassemblées dans le Tableau 31. Pour chaque réaction, 2g de lignine, 1.23g de NaOH et 50 ml d'eau sont utilisés. Chaque condition a été étudiée à 180°C pour une durée de 1H et 3H.

Tableau 31: Conditions expérimentales pour l'étude de l'influence de la nature du catalyseur et de l'agent oxydant pour l'oxydation de la lignine

	Agent d'oxydation		Catalyseur	
	Nature	Quantité	Nature	Quantité (mg)
Contions A	Nitrobenzène	0,15 ml	CuSO ₄	80
Contions B	Oxygène	10 bars	CuSO ₄	29,2
Contions C	Oxygène	10 bars	CuCl ₂	278
			EDTA	478
Contions D	Oxygène	10 bars	TEMPO	50
Contions E	Oxygène	10 bars	H ₃ Pw ₁₂ O ₄	302
			Mn(CH ₃ CO ₂) ₂	59.4
Contions F	Oxygène	10 bars	Aucun	-
Conditions G	Oxygène	10 bars	CuSO ₄	29.7
			TEMPO	52
Conditions H	Nitrobenzène	0,15 ml	CuSO ₄	29.1
			TEMPO	50

V.2. Oxydation de molécules phénoliques & benzéniques

L'oxydation des molécules phénoliques et benzéniques s'effectue en autoclave (180°C, 1h, PO₂ (10 bars), soude ($R_{\text{massique}} [\text{NaOH}/\text{produit}] = 0,6$), sans catalyseur). La partie insoluble est récupérée par précipitation en milieu acide en utilisant une solution d'HCl à 1M, jusqu'à un pH entre 1 et 2. Le précipité est lyophilisé puis mis à sécher à l'étuve à vide pendant une nuit à 45°C. Le soluble est extrait au dichlorométhane (4x 20 ml). La phase organique, appelée « organosoluble », est évaporée à l'évaporateur rotatif et séchée à l'étuve à vide une nuit à 45°C. Enfin, la phase aqueuse est évaporée à l'évaporateur rotatif puis re-dispersée dans le méthanol pour séparer les sels (NaCl formés pendant l'étape de précipitation) et récupérer la fraction de composés « hydrosolubles ». Chaque fraction est séchée à l'étuve à vide (45°C pendant la nuit) avant d'être analysée par SEC, GC/MS, RMN ³¹P et RMN ¹H. Les rendements de chaque fraction pour les molécules étudiées sont calculés et rassemblés dans le Tableau 32.

Tableau 32: Rendements de chaque fraction pour l'étude de l'oxydation de molécules phénoliques et benzéniques (*calculée par différence)

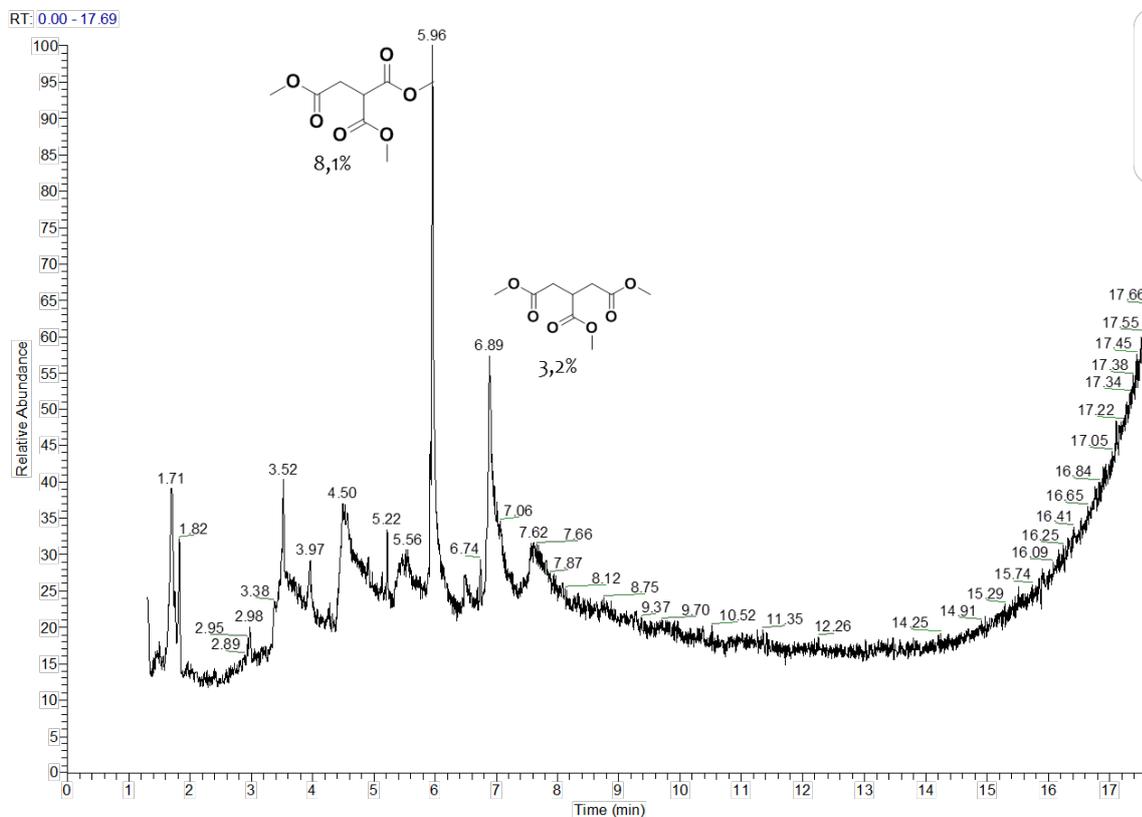
R (%)	Précipité	Organosolubles	Hydrosolubles	Volatils*
Vanilline	0,7	29	16	48
Gaïacol	5,6	17	31	46,6
Acide vanillique	0	0,7	31	68,3
Diméthoxy- benzaldéhyde	54	20	7	19
Acide benzoïque	100	0	0	0
Divanilline	85	0	15	0
Acide muconique	90	0	10	0
Vératrol	0	100	0	0
Acide hydroxy- benzoïque	0,7	26	16	57,3

VI. Références bibliographiques

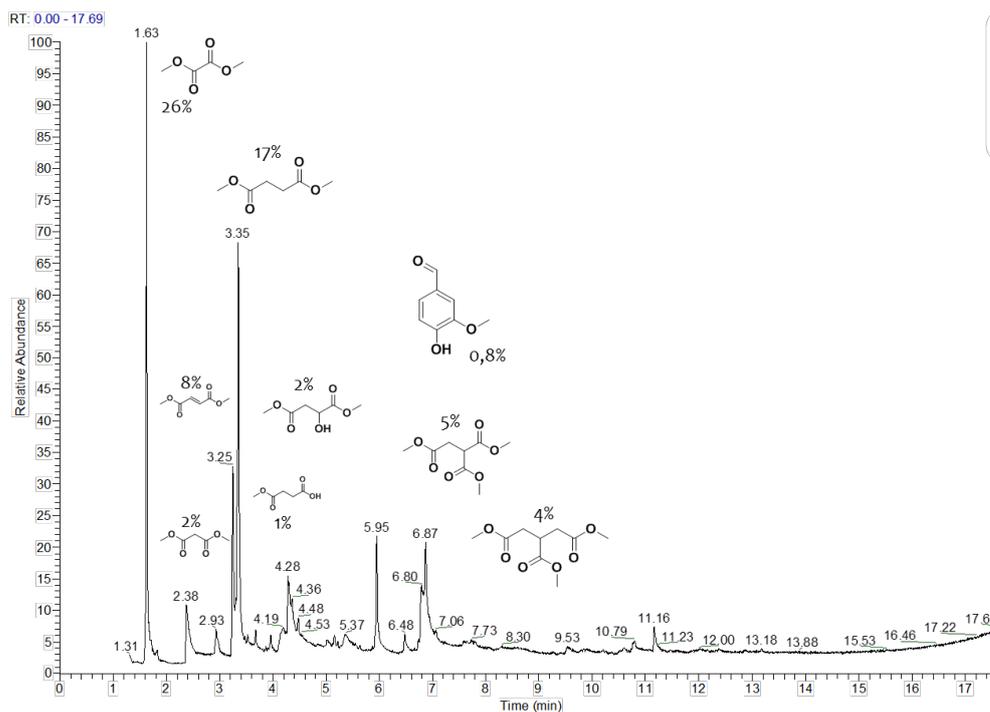
1. Tian, Z., L. Zong, R. Niu, X. Wang, Y. Li, and S. Ai, *Recovery and characterization of lignin from alkaline straw pulping black liquor: As feedstock for bio-oil research*. Journal of Applied Polymer Science, 2015. **132**(25): p. n/a-n/a.
2. TAPPI, T 244 cm-1. Acid-insoluble ash in wood, pulp, paper, and paperboard 2011.
3. Sluiter, Hames, Ruiz, Scarlata, Sluiter, and Templeton, *Determination of ash in biomass*. Laboratory Analytical Procedure (LAP), 2005.
4. TAPPI, Test Method T 222 om-02, in *Acid-insoluble lignin in wood and pulp*. 2002, Technical Association of the Pulp and Paper Industry. p. 5.
5. UM250, T., *Acid-Soluble Lignin in Wood and Pulp*. TAPPI Useful Methods, 1991, Tappi, Atlanta, GA, USA, 1991.
6. Maekawa, E., T. Ichizawa, and T. Koshijima, *An evaluation of acid soluble lignin determination in analyses of lignin by the sulfuric acid method*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 1989. **9**: p. 549-567.
7. Raikila, S., M. Pulkkinen, T. Laakso, K. Fagerstedt, M. Loija, R. Mahlberg, L. Paajanen, A.-C. Ritschkoff, and P. Saranpaa, *FTIR spectroscopic prediction of Klason and acid soluble lignin variation in Norway spruce cutting clones*. Silva Fennica, 2007. **41**(2): p. 351.
8. Gosselink Richard, J.A., E.G. van Dam Jan, E. de Jong, L. Scott Elinor, P.M. Sanders Johan, J. Li, and G. Gellerstedt, *Fractionation, analysis, and PCA modeling of properties of four technical lignins for prediction of their application potential in binders*, in *Holzforschung*. 2010. p. 193.
9. Granata, A. and D.S. Argyropoulos, *2-Chloro-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaphospholane, a reagent for the Accurate DEtermination of the Uncondensed and Condensed Phenolic Moieties in Lignins*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995. **43**(6): p. 1538-1544.
10. Sadeghifar, H., C. Cui, and D.S. Argyropoulos, *Toward Thermoplastic Lignin Polymers. Part 1. Selective Masking of Phenolic Hydroxyl Groups in Kraft Lignins via Methylation and Oxypropylation Chemistries*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2012. **51**(51): p. 16713-16720.
11. Yuan, T.-Q., J. He, F. Xu, and R.-C. Sun, *Fractionation and physico-chemical analysis of degraded lignins from the black liquor of Eucalyptus pellita KP-AQ pulping*. Polymer Degradation and Stability, 2009. **94**(7): p. 1142-1150.
12. Santos, P.S.B.d., X. Erdocia, D.A. Gatto, and J. Labidi, *Characterisation of Kraft lignin separated by gradient acid precipitation*. Industrial Crops and Products, 2014. **55**(0): p. 149-154.
13. Gellerstedt, G., J. Pranda, and E.L. Lindfors, *Structural and Molecular Properties of Residual Birch Kraft Lignins*. Journal of Wood Chemistry and Technology, 1994. **14**(4): p. 467-482.

Annexes

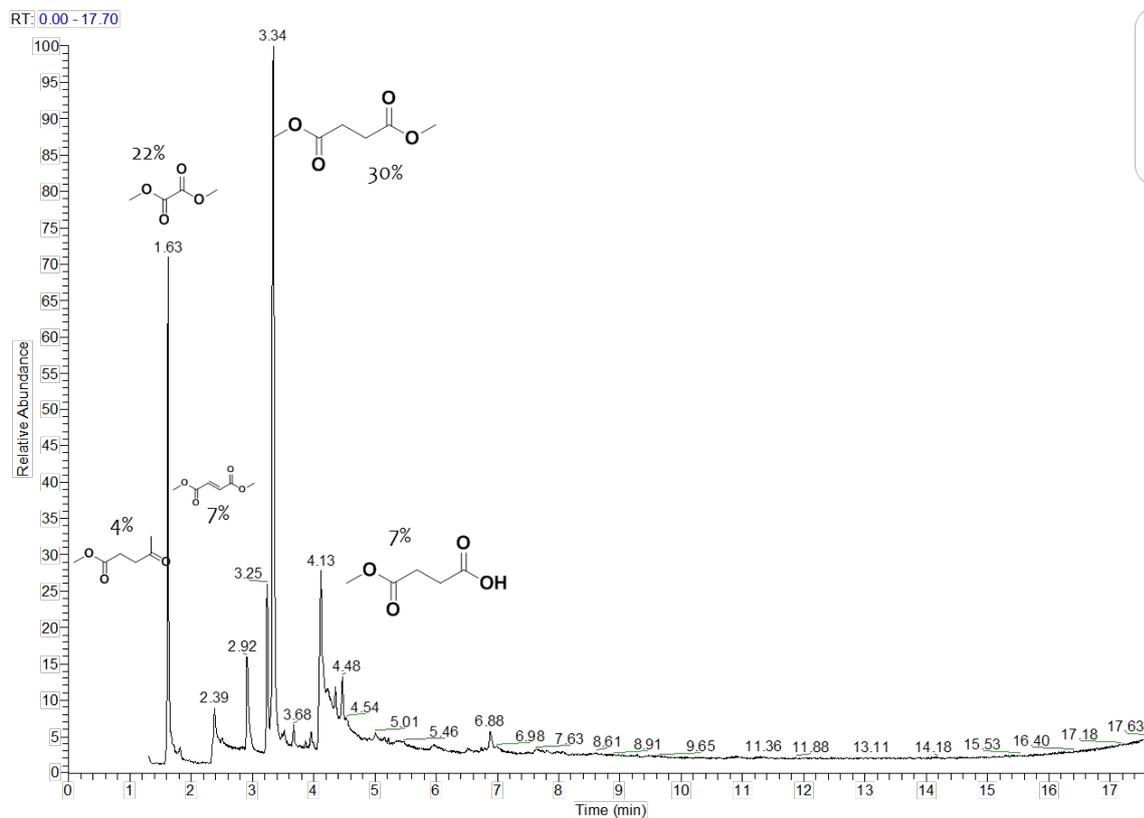
Annexe 1 : Chromatogramme GC/MS de la fraction « hydrosoluble » après oxydation de la vanilline



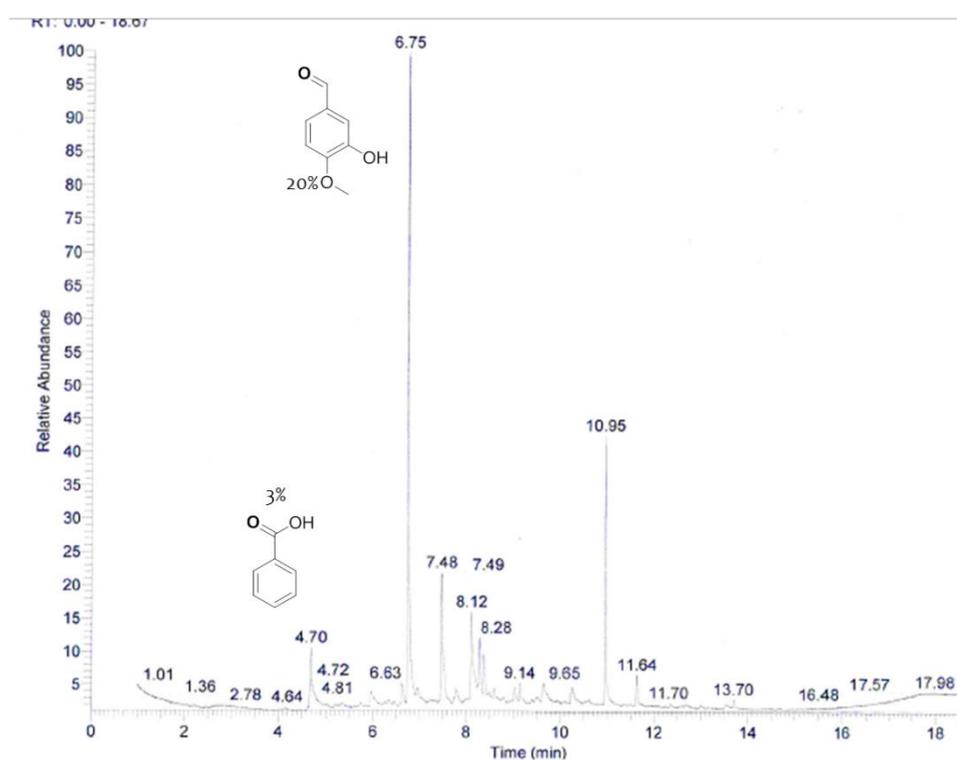
Annexe 2 : Chromatogramme GC/MS de la fraction « hydrosoluble » après oxydation de la divanilline



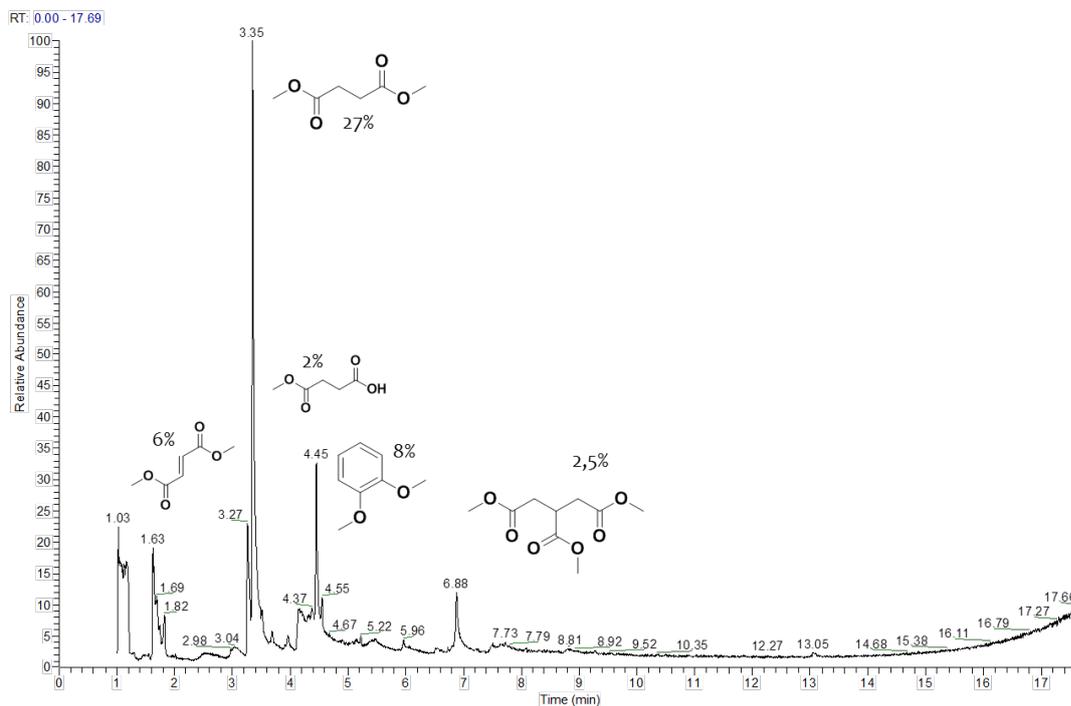
Annexe 3 : Chromatogramme GC/MS de la fraction « hydrosoluble » après oxydation du gáiacol



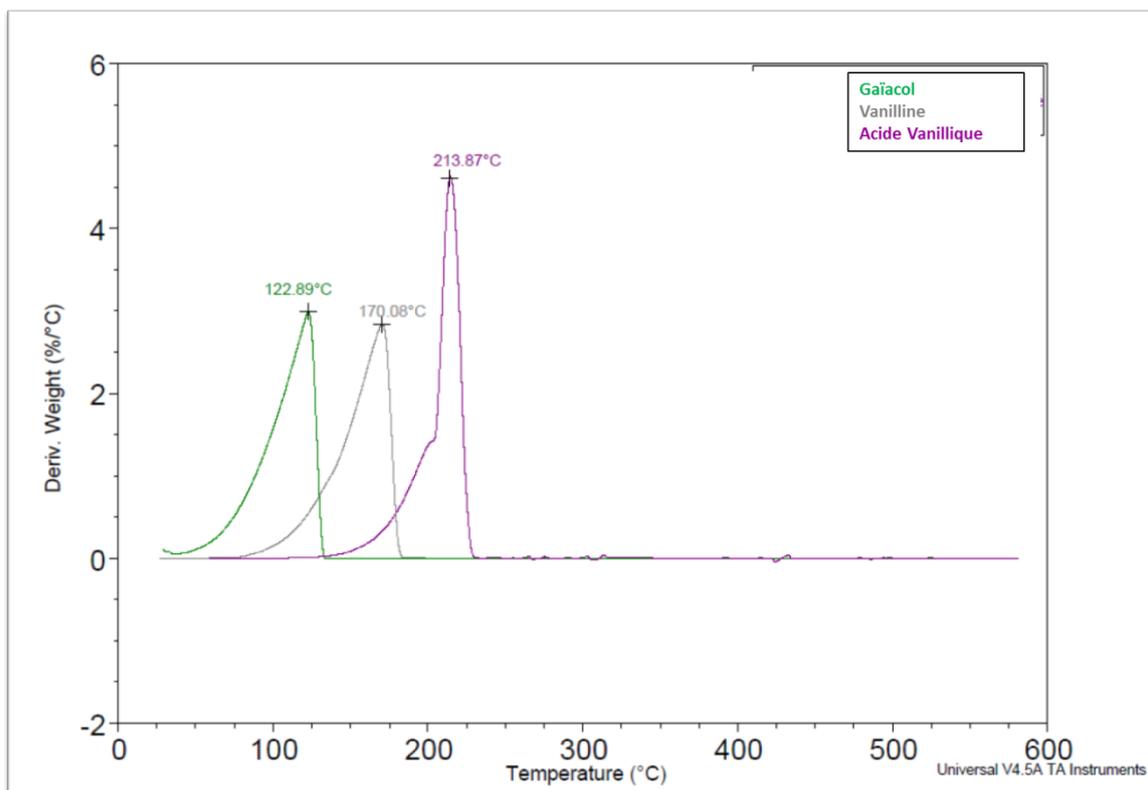
Annexe 4 : Chromatogramme GC/MS de la fraction « organosoluble » après oxydation du gáiacol



Annexe 5 : Chromatogramme GC/MS de la fraction « hydrosoluble » après oxydation de l'acide vanillique



Annexe 6 : Stabilité thermique de la vanilline, du gaïacol et de l'acide vanillique étudiée sous air : dérivée de la perte de masse en fonction de la température déterminée par TGA



Valorisation d'une lignine alcaline industrielle: Vers le développement de nouveaux synthons et oligomères bio-sourcés issus de lignine

Résumé :

La première partie de ce projet a consisté à isoler la lignine à partir de liqueurs industrielles et à la purifier pour s'affranchir des sucres, des minéraux et autres constituants. Pour cela, un protocole efficace en trois étapes a été proposé pour obtenir des échantillons de lignine avec une pureté satisfaisante (95%) et pour récupérer 68% de la lignine initialement présente dans la liqueur alcaline de départ. La lignine alcaline purifiée a ensuite été caractérisée d'un point de vue moléculaire et par analyses thermiques. L'élucidation de la structure de la lignine alcaline a permis d'appréhender sa fonctionnalisation par oxydation. Les analyses par chromatographie d'exclusion stérique de la lignine après oxydation ont montré une diminution de la masse molaire confirmant ainsi le clivage. Trois fractions différentes ont été isolées après l'oxydation de la lignine selon le solvant d'extraction ; d'une part des oligomères (plus ou moins fonctionnalisés) et d'autre part des molécules aromatiques (dont 15% de vanilline). Ce travail de thèse aura abouti à la synthèse de composés aromatiques à haute valeur ajoutée (vanilline) et d'oligomères de lignine fonctionnalisés par des fonctions acide carboxylique. Les applications envisageables de ces « polyacides » issus de lignine sont nombreuses pour la formation de nouveaux polymères bio-sourcés tels que des polyesters, polyamides ou encore polyuréthanes.

Mots clés : Lignine, purification, extraction, oxydation de la lignine, bio-ressources, bio-polymères, valorisation de la lignine, valorisation de la biomasse, fonctionnalisation, oligomères

Valorization of an industrial alkaline lignin: Towards the development of new bio-based aromatic building units from lignin

Abstract:

A valorization of alkaline lignin from an industrial pulping liquor has been proposed for this project. Before considering any chemical modification or potential applications, the lignin structure has been elucidated. An efficient three-steps protocol for extraction and purification of lignin from industrial liquor has been established. This protocol leads to high purity sample of lignin (95%) and allows the recovery (68%) of the lignin initially present in the alkaline liquor. Alkaline lignin has been characterized utilizing analytical methods and thermogravimetric analysis. This precise structure elucidation was critical for proceeding to chemical modification of alkaline lignin. Chemical modification of alkaline lignin has been done by oxidation in alkaline media. Three major oxidized products have been isolated depending on the extraction solvent: oligomers bearing carboxylic groups and aromatic molecules. This thesis work led to the synthesis of value-added bio-sourced chemicals and functionalized oligomers. The polyacids from lignin obtained should be studied to form new bio-based polymers such as polyesters, polyamids or polyurethanes.

Keywords: Lignin, biomass conversion, bio-based polymers, lignin purification, lignin characterization, lignin oxidation, functionalization, oligomers, bio-based polymers, bio-resources

Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques
16 Avenue Pey-Berland
F-33607 Pessac

