



## บทความวิจัย

## การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินที่ได้จากการแยกลำดับส่วนด้วยสารละลายเอทานอลผสมน้ำ

ฐิตาภรณ์ ชะนะ และ พิลาสินี ลิ้มสุวรรณ\*

สาขาวิชาเทคโนโลยีวิศวกรรมกระบวนการเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

วิวัฒน์ ตัณฑะพานิชกุล

สำนักวิทยาศาสตร์ ราชบัณฑิตยสภา

ดวงพร เยี่ยมสวัสดิ์

ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

\* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 06 1415 1966 อีเมล: pilasinee.l@eat.kmutnb.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2023.07.019

รับเมื่อ 12 มกราคม 2566 แก้ไขเมื่อ 15 พฤษภาคม 2566 ตอบรับเมื่อ 12 มิถุนายน 2566 เผยแพร่ออนไลน์ 27 กรกฎาคม 2566

© 2023 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาคุณสมบัติของลิกนินจากการแยกลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายเอทานอลต่อหน้า ที่ความเข้มข้นต่างกัน งานวิจัยส่วนที่ 1 แยกตะกอนของลิกนิน (Ln) ออกจากน้ำดำซึ่งเป็นของเสียจากโรงงานผลิตน้ำตาลด้วยแก๊ส CO<sub>2</sub> แล้วล้างตะกอนด้วยกรดซัลฟิวริก จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณและสมบัติของตะกอนทั้งสองแบบ ส่วนที่ 2 ศึกษาการสกัด Ln เกรดต่างๆ ออกจากตะกอนสะอาดด้วยการแยกแบบลำดับส่วนโดยใช้เอทานอล (EtOH) ผสมน้ำที่อัตราส่วนต่างๆ จากนั้นวิเคราะห์สมบัติของ Ln เกรดต่างๆ ที่แยกได้ดังนี้ โครงสร้างและสมบัติทางเคมีโดย FTIR, สมบัติทางความร้อนโดย TGA/DTG, สัดส่วนธาตุ C, H, N และ S, ปริมาณหมู่ไฮดรอกซิลและคาร์บอกซิลิกโดยการไตเตรท น้ำหนักโมเลกุล Ln โดย GPC, ปริมาณ Acid soluble lignin โดยสเปกโตรสโคปี UV-Vis และปริมาณ Na โดย AAS ผลการวิเคราะห์โลหะปนเปื้อนใน Ln ทุกเกรดด้วย AAS ไม่พบ Na ตกค้าง ผลวิเคราะห์ FTIR พบหมู่ฟังก์ชัน phenolic และ Hydroxyl, Aromatic Structure, Syringyl และ Guaiacyl Substructures ใน Ln ทุกเกรด ผลของ GPC พบว่า ตะกอนสะอาดมีขนาดโมเลกุลเฉลี่ยเชิงน้ำหนัก ( $M_w$ ) ของ Ln ที่ 3,770 ดัลตัน ส่วน  $M_w$  เฉลี่ยของ Ln ที่ละลายออกครั้งแรกด้วย EtOH บริสุทธิ์ คือ 2,390 ดัลตัน แต่เมื่อผสมน้ำซึ่งทำหน้าที่ Cosolvent จำนวน 20 องศาเซลเซียส ในครั้งสองสามารถละลาย Ln เพิ่มอีกจนมี  $M_w$  เฉลี่ยสูงขึ้นไปถึง 3,623 ดัลตัน แต่เมื่อเพิ่มสัดส่วน Cosolvent เป็น 40 องศาเซลเซียส ในครั้งสามพบ Cosolvent Effect เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ขณะที่การกระจายของ  $M_w$  ขยายกว้างขึ้นเมื่อสัดส่วนของน้ำใน EtOH เพิ่มขึ้น

**คำสำคัญ:** น้ำดำ ลิกนิน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ การแยกแบบลำดับส่วน เอทานอล

การอ้างอิงบทความ: ฐิตาภรณ์ ชะนะ, พิลาสินี ลิ้มสุวรรณ, วิวัฒน์ ตัณฑะพานิชกุล และ ดวงพร เยี่ยมสวัสดิ์, “การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของลิกนินที่ได้จากการแยกลำดับส่วนด้วยสารละลายเอทานอลผสมน้ำ,” วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, ปีที่ 35, ฉบับที่ 1, หน้า 1–15, เลขที่บทความ 251-096730, ม.ค.-มี.ค. 2568.



## Study of Physicochemical Properties of Purified Lignins Obtained by Fractionation with Aqueous Ethanol Solution

Titapron Chana and Pilasinee Limsuwan\*

Department of Chemical Process Engineering Technology, Faculty of Engineering and Technology, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, Rayong Campus, Rayong, Thailand

Wiwut Tanthapanichakoon

Academy of Science, Royal Society of Thailand, Bangkok, Thailand

Doungporn Yiamsawas

National Nanotechnology Center, National Science and Technology Development Agency, Pathum Thani, Thailand

\* Corresponding Author, Tel. 06 1415 1966, E-mail: pilasinee.l@eat.kmutnb.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2023.07.019

Received 12 January 2023; Revised 15 May 2023; Accepted 12 June 2023; Published online: 27 July 2023

© 2023 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

### Abstract

This work studied the properties of lignin from ethanol/water fraction at different concentrations. Research Part 1 encompassed the precipitation of lignin in black liquor which is waste from a sugar factory using CO<sub>2</sub> gas and washing of the precipitate with sulfuric acid. The quantity and property of both precipitates were analyzed. Part 2 encompassed the soluble extraction of different lignin grades from the clean precipitate by a fractionation method using ethanol mixed with water at different ratios. Structural and chemical analysis by FTIR, thermal property by TGA/DTG, elemental C, H, N and S analysis, hydroxyl and carboxylic group contents by titration, molecular weight ( $M_w$ ) of the fractionated lignin by GPC, acid soluble lignin content by UV-Vis spectroscopy and Na content by AAS. Analysis for metal contamination by AAS detected no residual Na. FTIR analysis of all lignin grades revealed phenolic and hydroxyl functional groups, aromatic structure as well as syringyl and guaiacyl substructures. GPC results revealed that the starting clean precipitate had a mean molecular weight ( $M_w$ ) of lignin at 3770 Da, while the mean  $M_w$  of the first lignin extract fractionated with pure ethanol was 2390 Da. However, when mixed with 20% water as cosolvent, the second fractionation could extract additional lignin with an increased mean  $M_w$  up to 3623 Da. However, when the cosolvent ratio became 40% water, the cosolvent effect increased only slightly. Concurrently, the broadness of the lignin  $M_w$  distribution widened as the proportion of water in ethanol increased

**Keywords:** Black Liquor, Lignin, Carbon Dioxide Gas, Fractionation, Ethanol

Please cite this article as: T. Chana, P. Limsuwan, W. Tanthapanichakoon, and D. Yiamsawas, "Study of physicochemical properties of purified lignins obtained by fractionation with aqueous ethanol solution," *The Journal of KMUTNB*, vol. 35, no. 1, pp. 1–15, ID. 251-096730, Jan.–Mar. 2025 (in Thai).

## 1. บทนำ

ลิกนิน (Lignin) เป็นสารที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนรวมกันเป็นสารอะโร-มาติกส์ไม่ละลายน้ำ เป็น 1 ใน 3 ของส่วนประกอบของผนังเซลล์พืช และเป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่มากที่สุดเป็นอันดับที่ 2 ของโลกรองจากเซลลูโลส ลิกนินมีองค์ประกอบของ 3 หน่วยย่อยที่สำคัญ คือ คูมาริล-แอลกอฮอล์ โคนิเฟอรอลแอลกอฮอล์ และไซนาพิล-แอลกอฮอล์ [1] ที่มาต่อกันเป็นโครงร่างเชื่อมขวางเป็นโมเลกุลใหญ่ที่มีความซับซ้อน โดยทั่วไปลิกนินที่เป็นผลพลอยได้จากโรงงานผลิตเยื่อกระดาษ เนื่องจากลิกนิน

ประกอบด้วยกลุ่มอะโรมาติก/ฟีนอลิกจำนวนมาก ซึ่งงานวิจัยจำนวนมากมุ่งเน้นไปที่การใช้ประโยชน์จากลิกนินเพื่อเป็นทางเลือกในการเปลี่ยนแหล่งวัสดุจากปิโตรเลียมเป็นวัสดุที่สามารถทดแทนได้ รวมทั้งการใช้ประโยชน์ของลิกนินเป็นสารคงตัวสำหรับวัสดุพอลิเมอร์ หรือเป็นเส้นใยคาร์บอน เป็นต้น [2]-[5] อย่างไรก็ตามโครงสร้างของลิกนินมีความแตกต่างกันอย่างมากเนื่องจากการเชื่อมต่อหน่วยย่อยซึ่งแตกต่างกันในต้นไม้นี้แต่ละชนิดและแต่ละชั้นของผนังเซลล์ [6] ความไม่สม่ำเสมอในเชิงโครงสร้างของลิกนินเป็นสิ่งที่ท้าทาย เมื่อใช้ลิกนินในการใช้งานวัสดุที่ต้องการขนาดโมเลกุล และหมู่ฟังก์ชันที่มีความคงที่ หลายงานวิจัยได้มีการปรับปรุงความเป็นเนื้อเดียวกันและลดความไม่สม่ำเสมอเชิงโมเลกุลของลิกนินด้วยวิธีการต่างๆ เช่น เจลเพอร์มิเอชันโครมาโตกราฟี [7] และอัลตราฟิลเตรชัน [8] ในบรรดากระบวนการเหล่านี้พบว่า การแยกลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสำหรับการทำให้ลิกนินมีความสม่ำเสมอเชิงโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันเพิ่มมากขึ้น งานวิจัยของ Schuerch [9] แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการละลายของลิกนินในตัวทำละลายอินทรีย์ถูกกำหนดโดยทั้งพารามิเตอร์การละลายของ Hildebrand และสามารถในการสร้างพันธะไฮโดรเจนของตัวทำละลาย ต่อมาที่งานวิจัยของ Mörcks [10] ประสบความสำเร็จในการแยกส่วนกราฟที่ลิกนิน ด้วยการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ผสม เมื่อไม่นานมานี้ได้มีการแยกส่วนกราฟที่ลิกนินจากไม้เนื้ออ่อนที่ผลิตจากกระบวนการ LignoBoost หรือกระบวนการโซดา

โดยใช้ระบบตัวทำละลายแบบตัวทำละลายอินทรีย์สองชนิด ทำให้ได้ค่าเฉลี่ยและการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยแคบลงได้

ลิกนินทางเทคนิคมีอยู่หลายชนิด และแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันอย่างมากระหว่างกันเนื่องจากมีต้นกำเนิดและวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ความสามารถในการละลายของตัวทำละลายอินทรีย์ของลิกนินแต่ละชนิด ยังแตกต่างกันไปตามน้ำหนักโมเลกุลและหมู่ฟังก์ชัน จึงเป็นเรื่องสำคัญที่การแยกส่วนของลิกนินชนิดต่างๆ ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และจะต้องอธิบายลักษณะโครงสร้างของเศษส่วนลิกนินที่ได้มาเพื่อให้ข้อมูลพื้นฐาน

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมทางการเกษตรโดยเฉพาะอุตสาหกรรมน้ำตาลจากอ้อย เป็นส่วนสำคัญของอุตสาหกรรมของประเทศไทย แต่การผลิตน้ำตาลจากอ้อยทำให้เกิดวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร คือขานอ้อย [11] และขานอ้อยถูกนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์มูลค่าต่ำ มีนักวิจัยจำนวนมาก [12]-[14] พยายามนำขานอ้อยมาใช้ประโยชน์ให้ได้มากที่สุด คือ การแยกเส้นใยเซลลูโลสด้วยสารละลายต่าง ซึ่งกระบวนการนี้จะย่อยและละลายลิกนินและเฮมิเซลลูโลสไปอยู่ในสารละลายต่าง ซึ่งต้องทิ้งและบำบัด ซึ่งเรียกว่า น้ำดำ มาแยกเอาลิกนินออกมาใช้โดยอาศัยกระบวนการตกตะกอนด้วยกรด โดยทั่วไปจะใช้กรดซัลฟิวริก หรือใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ แล้วนำลิกนินที่ได้มาใช้ในงานด้านพลังงานปิโตรเคมี การแพทย์ รวมถึงเป็นสารเติมเต็มในอุตสาหกรรมเคมี เช่น โพลิเมอร์และเส้นใยคาร์บอน [15] ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของเสียที่เกิดจากอุตสาหกรรมน้ำตาลให้มีมูลค่าสูงขึ้น

ในงานวิจัยนี้ที่มิได้ศึกษาสมรรถนะของการแยกลิกนินจากน้ำดำด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นการทำให้ น้ำดำมีสภาพเป็นกรด โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างคาร์บอนไดออกไซด์และไอออนของไฮดรอกไซด์ในน้ำดำทำให้เกิดไบคาร์บอเนตและคาร์บอเนตขึ้น ซึ่งมีสภาพเป็นกรดอ่อน แล้วเกิดการ protonation ของโมเลกุลลิกนิน ทำให้ลิกนินไม่มีเสถียรภาพแขวนลอยในน้ำดำได้อีกต่อไป จึงตกตะกอนออกมา แล้วทำความสะอาดตะกอนที่มีลิกนินให้สะอาดด้วยกรดซัลฟิวริก จากนั้นทำการแยกแบบลำดับส่วน

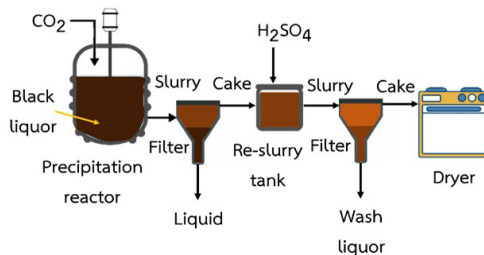
ของลิกนินออกจากตะกอนสะอาด โดยการใช้ตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำ เพื่อศึกษาสมรรถนะในการแยกเกรดของลิกนินตามลำดับสัดส่วนของน้ำ (ในฐานะ Cosolvent) ที่เพิ่มขึ้นในเอทานอล [16] ในขณะที่เดียวกันก็ศึกษาโครงสร้างและลักษณะสมบัติของลิกนินที่แยกได้ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานไปต่อยอดใช้งานในฐานะไบโอพอลิเมอร์ ข้อดีของงานวิจัยนี้คือ เกิดของเสียปริมาณน้อย ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียจากโรงงาน และมีศักยภาพในการขยายสเกลในเชิงอุตสาหกรรม อนึ่ง เอทานอลใช้งานง่าย ราคาไม่แพง และที่สำคัญอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น นอกจากนั้น เอทานอลยังเป็นตัวทำละลายมีขั้วและมีความสามารถในการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับลิกนิน ซึ่งส่งผลให้ละลายลิกนินได้ดี [16]

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 เป็นการแยกตะกอนของลิกนินออกจากน้ำดำด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์โดยการตกตะกอน แล้วทำตะกอนให้สะอาดขึ้นด้วยกรดซัลฟิวริก พร้อมทั้งวิเคราะห์ปริมาณและลักษณะสมบัติของตะกอนทั้งสองแบบที่ได้ ส่วนที่ 2 ทำการศึกษาการละลายสกัดลิกนินเกรดต่างๆ ออกจากตะกอนสะอาดด้วยการแยกแบบลำดับสัดส่วนโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำที่อัตราส่วนต่างๆ ลิกนินเกรดต่างๆ จะได้รับการวิเคราะห์โครงสร้างและลักษณะสมบัติทางเคมี โดยฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม-อินฟราเรด สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (FTIR) ทดสอบสมบัติทางความร้อนโดยเทอร์โมกราวิเมตริก (TGA) วิเคราะห์ธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์โดยเทคนิคการวิเคราะห์ธาตุ วิเคราะห์ปริมาณหมู่ไฮดรอกซิลและคาร์บอกซิลิกโดยเทคนิคไตเตรท และวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของลิกนินโดยเทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC) อนึ่ง จะวิเคราะห์หาปริมาณ Acid Soluble Lignin Content ในของเหลวโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริก UV-Vis และวิเคราะห์ปริมาณโลหะ Na โดยเทคนิค Atomic Absorption Spectroscopy (AAS)

## 2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

### 2.1 วัสดุและสารเคมี

น้ำดำโดยกระบวนการโซดาจากขานอ้อย (บริษัท



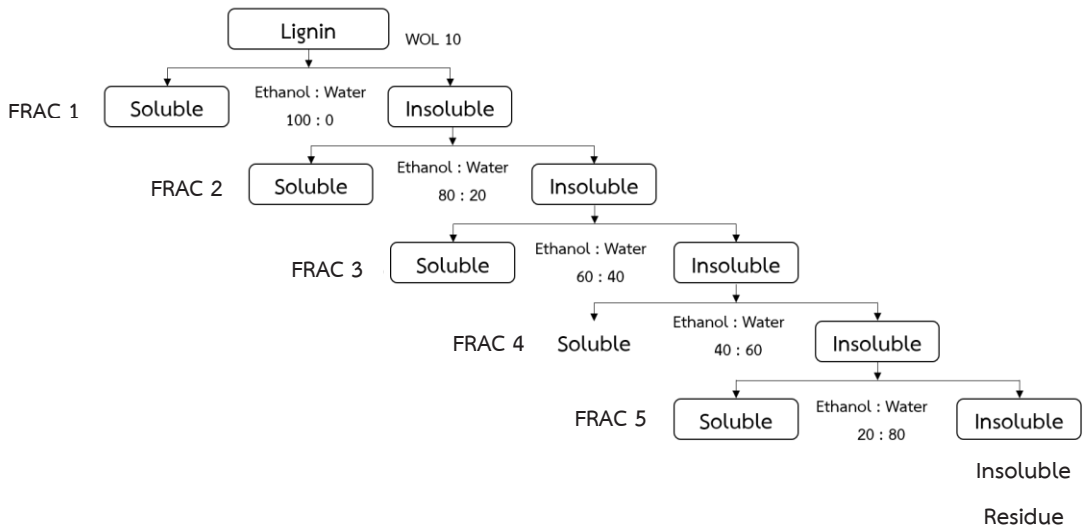
รูปที่ 1 กระบวนการแยกลิกนินออกจากน้ำดำ [17]

เอ็นไวรอนเม้นท์พัลฟ์ แอนด์ เปเปอร์ จำกัด นครสวรรค์) แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 99.5 องศาเซลเซียส (เกรดทางการค้า บริษัท Praxair (Thailand) จำกัด) น้ำปราศจากไอออน (DIW) (Barnstead™ LabTower™ EDI Water Purification System, Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, U.S) กรดซัลฟิวริก (Loba Chemie, 95–97%) ลิกนินอัลคาไลน์ (Sigma Aldrich, Lot No.MKCD3898) และเอทานอล (Duksan, Absolute (Denatured) 99.5% GR Grade)

### 2.2 วิธีการทดลอง วิเคราะห์และวิจัย

2.2.1 กระบวนการแยกตะกอนของลิกนินออกจากน้ำดำด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และทำให้สะอาดด้วยกรดซัลฟิวริก

กระบวนการแยกตะกอนของลิกนินออกจาก น้ำดำด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นดังรูปที่ 1 ทำการตวงน้ำดำปริมาตร 400 มิลลิลิตรใส่ในเครื่องปฏิกรณ์แบบกึ่งกะ (Semi-batch Reactor) ขนาด 500 มิลลิลิตร และป้อนแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่เครื่องปฏิกรณ์ เพื่อตกตะกอนโดยใช้อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความดัน 8 บาร์ และเวลา 30 นาที แล้วพักตัวอย่างให้เย็น ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นปั่นแยกตัวอย่างด้วยเครื่องเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ส่วนที่ตกตะกอนจะถูกทำให้แห้งด้วยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง และส่วนที่เป็นของเหลวถือว่าเป็นของเสีย จากนั้นส่วนที่เป็นตะกอนแห้งจะถูกทำให้สะอาดขึ้นโดยการล้างด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ เนื่องจากกรดมีไอออนที่เข้าไปจับตะกอน ซึ่งสามารถเร่งการตกตะกอนได้ แล้วล้างด้วยน้ำ DI ก่อนนำไป



รูปที่ 2 การแยกแบบลำดับส่วนของลิกนินโดยการใช้ตัวทำละลายผสมของเอทานอลน้ำ

ปั่นเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 8,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง ปริมาณผลผลิตของลิกนินจากตะกอนคำนวณหาด้วยสมการที่ (1)

$$Lignin\ yield\ (\%) = ((WP \times AILP) / (WBL \times SC \times AILBL)) \times 100\% \quad (1)$$

โดยที่ *WP* (Weight of Precipitate) คือ น้ำหนักของตะกอนสะสม *AILP* (Acid Insoluble Lignin in Precipitate) คือ สัดส่วนลิกนินในตะกอนที่ไม่ละลายในกรด *WBL* (Weight of Black Liquor) คือ น้ำหนักของน้ำดำ (400 กรัม), *SC* (Solid Content) คือ สัดส่วนของแข็งในน้ำดำ *AILBL* (Acid Insoluble Lignin of Solid Content) คือ สัดส่วนลิกนินในส่วนของแข็งที่ไม่ละลายในกรด

### 2.2.2 การแยกแบบลำดับส่วนของลิกนินโดยการใช้ตัวทำละลายผสมของเอทานอลในน้ำ

ในการแยกแบบลำดับส่วนของลิกนินโดยการใช้ตัวทำละลายผสมของเอทานอลในน้ำ ดังในรูปที่ 2 และตารางที่ 1 แสดงความหมายของชื่อตัวอย่าง โดยนำตะกอนสะสม (WOL10) ของลิกนินจาก 2.2.1 มาใช้ในการแยกแบบลำดับส่วน โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำที่อัตราส่วนต่างๆ (100 : 0, 80 : 20, 60 : 40, 40 : 60, 20 : 80 ตามลำดับ)

ตารางที่ 1 ความหมายของชื่อตัวอย่าง

ชื่อ	แหล่งที่มา
WOL10	ตะกอนสะสมที่ได้จากน้ำดำ
FRAC1	ลิกนินจากการละลายสกัดด้วย เอทานอลความเข้มข้น 100% : น้ำ 0%
FRAC2	ลิกนินจากการละลายสกัดตะกอนที่เหลือจากการแยก FRAC1 แล้วมาละลายสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 80% : น้ำ 20%
FRAC3	ลิกนินจากการละลายสกัดตะกอนที่เหลือจากการแยก FRAC1 แล้วมาละลายสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 60% : น้ำ 40%
Insoluble Lignin*	ลิกนินส่วนที่ไม่ละลายทั้งหมดจากทั้ง 5 Fractions

\*หมายเหตุ: เนื่องจากตัวอย่าง FRAC4 และ 5 มีจำนวนน้อย ในการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีจึงนำรวมกันและเรียกเป็นตัวอย่างใหม่ คือ Insoluble Lignin รวมกันและเรียกเป็นตัวอย่างใหม่ คือ Insoluble Lignin

เริ่มต้นจากใส่ตัวทำละลาย(100 : 0) ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมตะกอนสะสม (WOL10) 10 กรัม แล้วคนให้เข้ากันที่ 500 รอบต่อนาที 40 องศาเซลเซียส 120 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงแยกที่ความเร็วรอบ 100รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาที ส่วนของเหลวที่ละลายสกัดลิกนินจะถูกนำไประเหยเป็นผงแข็งในเครื่องกลั่นภายใต้สุญญากาศแบบหมุน

120 รอบต่อนาที 50 องศาเซลเซียสแล้วรวบรวมเป็น FRAC 1 เพื่อการศึกษาวิเคราะห์ นำส่วนตะกอนที่มีลิกนินเหลืออยู่ไปเข้าอบในเครื่องอบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตะกอนดังกล่าวไปทำการละลายสกัดลิกนินโดยใช้ตัวทำละลายผสมของเอทานอลในน้ำในสัดส่วน 80 : 20 จนแยกได้ FRAC 2 และตะกอนที่ยังมีลิกนินเหลือ จากนั้นทำการละลายสกัดลิกนินซ้ำโดยใช้ตัวทำละลายผสมของเอทานอลในน้ำในสัดส่วน 60 : 40, 40 : 60 และ 20 : 80 ตามลำดับ จนแยกได้ FRAC 3, FRAC 4, FRAC 5 และตะกอนส่วนท้ายสุดหรือ Insoluble Lignin ตามลำดับ [16] เปรียบเทียบการละลายของลิกนินในการสกัดแยกแต่ละครั้งหรือแต่ละ FRAC คำนวณได้ด้วยสมการที่ (2)

$$(\%) \text{ละลายของลิกนิน} = \left( \frac{\text{น้ำหนักลิกนินที่ละลาย} / \text{น้ำหนักผงตะกอนก่อนละลาย}}{\text{น้ำหนักผงตะกอนก่อนละลาย}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

โดยที่ น้ำหนักลิกนินที่ละลายจากผงตะกอน (กรัม)  
น้ำหนักผงตะกอนก่อนละลาย (กรัม)

2.2.3 วิธีวิเคราะห์ลักษณะสมบัติของน้ำดำและลิกนิน (Characterization)

#### 2.2.3.1 Solid Content

เทคนิคหา Solid Content ทำตามมาตรฐาน TAPPI T650om-09 เริ่มจากชั่งน้ำหนักน้ำดำ 15 กรัม แล้วนำไปอบแห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปชั่งและบันทึกน้ำหนัก แล้วนำกลับไปอบแห้ง ทำซ้ำจนกว่าน้ำหนักของผงจากน้ำดำจะไม่เปลี่ยนแปลง แล้วคำนวณ Solid Content ด้วยสมการที่ (3)

$$\text{Solid content (\%)} = (W_2 - W_1) \times 100 / W \quad (3)$$

โดยที่  $W_1$  คือ น้ำหนักของภาชนะเปล่า (กรัม)

$W_2$  คือ น้ำหนักของน้ำดำที่แห้งรวมกับน้ำหนักภาชนะ (กรัม)

$W$  คือ น้ำหนักของน้ำดำก่อนอบซึ่งยังไม่รวมน้ำหนักภาชนะ (กรัม)

#### 2.2.3.2 UV-vis spectroscopy

ลิกนินที่ละลายอยู่ในส่วนของเหลวที่ได้จากการกรองข้างต้น จะถูกวิเคราะห์หา Acid Soluble Lignin Content โดย UV-VIS Spectrophotometer (Perkin Elmer รุ่น Lambda 650) โดยใช้ตัวอย่างของเหลวลงในคิวเวทขนาด 3 มิลลิลิตร แล้วตรวจวัดการดูดกลืนแสง UV ในช่วง 400 ถึง 200 นาโนเมตร แบบลำแสงคู่ในเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยเทียบกับกรณีของเฉพาะตัวทำละลาย [18]

#### 2.2.3.3 Ash Content

เทคนิคหา Ash content ทำตามมาตรฐาน TAPPI T211 om-02 เริ่มจากชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม ลงในถ้วย Crucible ที่ทราบน้ำหนักแล้ว จากนั้นนำไปเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปลดทิ้งไว้ให้เย็นลง และนำไปชั่งน้ำหนัก ซึ่งสมการคำนวณ Ash Content แสดงดังต่อไปนี้

$$\text{Ash content (\%)} = (W_a / W_o) \times 100 \quad (4)$$

โดยที่  $W_a$  คือ น้ำหนักของขี้เถ้า (กรัม)

$W_o$  คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

2.2.3.4 วิเคราะห์ปริมาณธาตุ C,H,N และ S ด้วยเทคนิค Elemental Analysis

CHN Element Analysis ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.05 กรัม ใส่ใน Tin Foil Cups และจัดรูปทรงให้เหมือนหยดน้ำ จากนั้นใส่ตัวอย่างลงในเครื่อง Elemental Analyzer (ยี่ห้อ LECO รุ่น CHN628) แล้ววิเคราะห์ผลโดยใช้ CHN628 Series Software และ S Element Analysis ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.05 กรัม ใส่ใน crucible จากนั้นใช้แท่งเหล็กดัน Crucible เข้าเครื่อง Elemental Analyzer (ยี่ห้อ LECO รุ่น 628S) แล้ววิเคราะห์ผลโดยใช้ 628S Series Software

#### 2.2.3.5 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR

วิเคราะห์ตัวอย่างลิกนินโดยใช้เครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Thermo Scientific รุ่น Nicolet™ iS50) ช่วงความยาวคลื่น 4,000–400  $\text{cm}^{-1}$ , Resolution 4  $\text{cm}^{-1}$ , 32 Scan แล้ววิเคราะห์โครงสร้างด้วย OMNIC

FT-IR Software

2.2.3.6 วิเคราะห์ปริมาณหมู่คาร์บอกซิลและฟีนอลิกไฮดรอกซิลด้วยเทคนิคไตเตรท

หมู่คาร์บอกซิลและฟีนอลิกไฮดรอกซิลของลิกนินถูกวัดโดยใช้เครื่อง Automatic potentiometric titrator (METTLER TOLEDO รุ่น Excellence T5) เริ่มจากเติมตัวอย่างลิกนินแห้งประมาณ 0.03 กรัม ลงในบีกเกอร์ 150 มิลลิลิตร ที่ใส่น้ำ DI 100 มิลลิลิตร ที่มีโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.2 โมล/ลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร กวนผสมด้วยความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม Para-hydroxy- benzoic Acid 0.5% ปริมาตร 4 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทสารละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมล/ลิตร ในระหว่างการไตเตรทจนกระทั่ง pH ของสารละลายตัวอย่างลดลงเพียงพอ จุดสิ้นสุดสามจุดจะปรากฏที่ปริมาตร  $V_1'$ ,  $V_2'$  และ  $V_3'$  (มิลลิลิตร) ตามลำดับ อนึ่ง จุดสิ้นสุดสามจุดที่ตรงกันในเส้นโค้งการไตเตรทของ Blank จะระบุเป็น  $V_1$ ,  $V_2$  และ  $V_3$  (มิลลิลิตร) ตามลำดับ สมการคำนวณปริมาณกลุ่มไฮดรอกซิลและกลุ่มคาร์-บอิกซิล [19] แสดงดังต่อไปนี้

กลุ่มไฮดรอกซิล (มิลลิโมล/กรัม) =

$$\frac{C_{HCl} [(V_2' - V_1') - (V_2 - V_1)]}{m} \quad (5)$$

กลุ่มคาร์บอกซิล (มิลลิโมล/กรัม) =

$$\frac{C_{HCl} [(V_3' - V_2') - (V_3 - V_2)]}{m} \quad (6)$$

โดยที่  $C_{HCl}$  คือ ความเข้มข้นของสารละลาย,  $HCl$  (0.1 โมล/ลิตร) ที่เป็นไทแทนด์ และ  $m$  คือ มวล (กรัม) ของตัวอย่าง

2.2.3.7 วิเคราะห์การสลายตัวด้วยความร้อนโดยเทคนิค TGA

การวิเคราะห์ทางความร้อนของตัวอย่างลิกนินจะใช้เครื่อง Thermogravimetric Analysis (NETZSCH รุ่น STA 449 F5 Jupiter) ภายใต้บรรยากาศก๊าซไนโตรเจน ตัวอย่าง

ประมาณ  $1.0 \pm 0.5$  มิลลิกรัม ถูกทำให้ร้อนใน Porcelain Crucible ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 30–600 องศาเซลเซียสอัตราการให้ความร้อนอยู่ที่ 10 องศาเซลเซียส/นาที (เส้นโค้ง TG คือ แสดงผลการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักต่ออุณหภูมิ ส่วนเส้นโค้ง DTG แสดงผลการวัดอัตราที่มวลเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับอุณหภูมิ อนึ่ง  $T_d(\max)$  คือ อุณหภูมิที่เกิดอัตราการสลายตัวทางความร้อนสูงสุด)

2.2.3.8 วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยด้วยเทคนิค GPC เนื่องจากตัวอย่างลิกนินไม่สามารถละลายใน THF ได้หมด จึงเพิ่มปริมาณหมู่ฟังก์ชันฟีนอลิกและคาร์บอกซิลิกให้กับตัวอย่าง ใช้ตัวอย่างลิกนิน 100 มิลลิกรัม, Pyridine 0.1 มิลลิลิตร และ Acetyl Chloride 1 มิลลิลิตร ละลายในตัวทำละลาย Tetrahydrofuran ในอัตราส่วน 1 มิลลิกรัมลิกนิน : 1 มิลลิลิตร THF กรองผ่านกระดาษขนาด 0.22 ไมโครเมตร แล้ววิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง Gel Permeation Chromatograph (GPC) (Waters รุ่น WATWAT081142) โดยใช้อัตราการไหลของ THF 1 มิลลิลิตร/นาที, อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส, Polymer Standard = Polystyrene (มวลโมเลกุล 500, 2,000, 10,000, 70,000 และ 150,000)

2.2.3.9 วิเคราะห์ปริมาณโซเดียมด้วยเทคนิค AAS

นำตัวอย่างไปย่อยด้วยเครื่องไมโครเวฟที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง รอให้ตัวอย่างเย็นลง และปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.5 ppm จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณโซเดียมด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (PerkinElmer รุ่น PinAAcle 900F)

### 3. ผลการทดลอง

#### 3.1 คุณสมบัติของน้ำดำ

จากการวิเคราะห์สมบัติของตัวอย่างน้ำดำ (ปริมาตร 400 กรัม) พบว่า ค่า pH ของน้ำดำก่อนการตกตะกอนเท่ากับ 13.37 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่มีรายงานอยู่ในช่วง 11–13 [20]–[22], ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Solid Content) ในตัวอย่างน้ำดำ 15 กรัมหรือ 37.08 องศาเซลเซียส ปริมาณลิกนินที่ละลายในกรด (Acid-soluble Lignin) จากของเหลวที่ได้จากการกรองในหัวข้อ 2.2.3.2 มีค่าเท่ากับ 5.61 องศาเซลเซียส

ปริมาณลิกนินที่ไม่ละลายในกรด (Acid-insoluble Lignin) ของแข็งที่กรองได้ในหัวข้อมีค่าเท่ากับ 45.10% ส่วนปริมาณขี้เถ้า (Ash Content) จากของแข็งที่ได้จากการอบแห้งน้ำด้ามีค่าเท่ากับ 67.00% และปริมาณธาตุโซเดียมจากของแข็งดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 33.99%

### 3.2 ศึกษาลักษณะสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของลิกนินที่แยกได้จากตะกอนของน้ำด้าซึ่งตกตะกอนด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

#### 3.2.1 ผลผลิตของลิกนิน (Lignin Yield)

ผลผลิตลิกนินที่ได้มาจากปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำด้า (Solid Content) คำนวณด้วยสมการที่ (1) เท่ากับ 56.57%

#### 3.2.2 ปริมาณลิกนินทั้งหมด (Total Lignin)

ในการวิเคราะห์หาปริมาณลิกนินที่ไม่ละลายในกรด (Acid insoluble Lignin) จากตัวอย่างตะกอนของน้ำด้าซึ่งตกตะกอนด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ก่อนและหลังการล้างตะกอนด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ เพื่อให้สะอาดบริสุทธิ์ขึ้น ในหัวข้อ 2.2.1 นั่นคือ WOL10 Unpurify และ WOL10 Purify พบว่า มีค่าเท่ากับ 36.27% และ 90.10% การหาปริมาณลิกนินที่ละลายในกรด (Acid soluble lignin) โดย UV-VIS Spectroscopy พบว่า มีลิกนินในตัวอย่าง WOL10 Unpurify และ WOL10 Purify เท่ากับ 5.55% และ 3.35% เมื่อนำผลมารวมกัน สามารถบอกได้ว่า ตัวอย่าง WOL10 Unpurify และ WOL10 Purify มีลิกนินทั้งหมดเท่ากับ 41.83% และ 93.45% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการล้างด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 2 โมลาร์ สามารถเพิ่มปริมาณของลิกนิน เนื่องจากกรดซัลฟิวริกสามารถลดปริมาณเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส [23] ทำให้ลิกนินมีความบริสุทธิ์ได้อย่างมีนัยสำคัญ

#### 3.2.3 ปริมาณธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุ C, H, N และ S ในตะกอนของน้ำด้าซึ่งตกตะกอนด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์พบว่า ตัวอย่างตะกอน WOL10 Unpurify และ WOL10

Purify มีองค์ประกอบธาตุ C, H, N และ S ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การล้างตะกอนด้วยกรดซัลฟิวริกช่วยกำจัดสิ่งสกปรกที่ไม่ใช่ลิกนิน เช่น เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ซึ่งโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก จึงทำให้มีปริมาณคาร์บอนสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งโดยทั่วไปแล้วปริมาณคาร์บอนได้จากลิกนินที่มาจากซานอ้อยสูงประมาณร้อยละ 60 [24]–[27] ปริมาณไนโตรเจนที่พบทั้งในตัวอย่งลิกนินนั้น เกิดจากการเกิดสารประกอบระหว่างโปรตีน-ลิกนิน ในระหว่างขั้นตอนการปรับสภาพจึงทำให้มีการตรวจพบไนโตรเจนได้ เพราะในส่วนใหญ่ที่เป็นโปรตีนอิสระนั้นจะสามารถกำจัดออกไปได้ในขั้นตอนการตกตะกอนด้วยกรดเพราะโปรตีนละลายได้ดีในกรด [24]

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์ในตกตะกอนของน้ำด้าซึ่งตกตะกอนด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

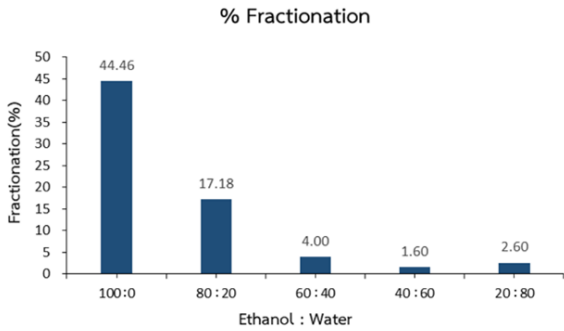
ชื่อตัวอย่าง	% N	% C	% H	% S
WOL10 Un	0.58	33.16	3.80	0.29
WOL10 Pu	0.68	54.31	5.84	1.40

### 3.3 ศึกษาลักษณะสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของลิกนินที่ได้จากการแยกแบบลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายผสมของเอทานอลในน้ำ

#### 3.3.1 กระบวนการแยกแบบลำดับส่วนของลิกนิน ด้วยตัวทำละลายผสมของเอทานอลในน้ำ

หลักการของการแยกแบบลำดับส่วน คือ การละลายพอลิเมอร์ในตัวทำละลายที่เป็นตัวทำละลายที่ดี ตามด้วยการเติมเศษส่วนของตัวทำละลายที่ไม่เป็นตัวทำละลายเพื่อให้ได้การกระจายของน้ำหนักโมเลกุลที่แคบลง หรือเพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายให้กับส่วนประกอบของพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายในตัวทำละลายที่ดี เนื่องจากลิกนินมีความสามารถในการละลายสูงในเอทานอล [16] ตัวทำละลายอินทรีย์นี้จึงถูกเลือกเป็นตัวกลางการแยกแบบลำดับส่วน ตารางที่ 3 และรูปที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์ลิกนินที่ละลายสกัดได้โดยการแยกแบบลำดับส่วน ตลอดจนน้ำหนักภาคที่เหลือ





**รูปที่ 3** เปอร์เซ็นต์ลิกนินที่ละลายสกัดได้โดยการแยก แบบ ลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายเอทานอลต่อน้ำที่สัดส่วน แตกต่างกัน

หลังจากการละลายสกัดห้าครั้ง (30.17%) ซึ่งค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับปริมาณที่ละลายได้ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น คาดว่า กากที่เหลือน่าจะเป็นลิกนินส่วนที่มีโครงสร้างวงแหวน อะโรมาติกส์ที่มีขนาดใหญ่และซับซ้อนมาก (Polyaromatic Structure) จึงไม่ละลายในเอทานอลและเอทานอลผสมน้ำที่ สัดส่วนต่างๆ การละลายสกัดครั้งที่ 1 ด้วยเอทานอลอย่างเดียว (99.5% purity) สามารถละลายลิกนินได้ถึง 44.46% ใน FRAC 1 เนื่องจากเอทานอลจะสามารถสร้างพันธะ ไฮโดรเจนกับโมเลกุลลิกนิน ซึ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการ ละลาย [16] เมื่อผสมน้ำ 20% ปรากฏว่า FRAC 2 สามารถ ละลายสกัดลิกนินได้เพิ่มอีก 17.18% เนื่องจากน้ำทำหน้าที่ ตัวทำละลายร่วม (Cosolvent) และส่งผลให้เกิด Cosolvent Effect [6] นั่นคือทำให้ส่วนประกอบในลิกนินที่มีความมีขั้วสูง

ขึ้นสามารถละลายได้มากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของผล การใช้ Cosolvent เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายให้กับ ส่วนประกอบของพอลิเมอร์ที่มีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว [28] แต่เมื่อผสมน้ำเพิ่มเป็น 40% และ 60% สามารถละลายสกัด ลิกนินได้ลดลงเป็น 4% ใน FRAC 3 และ 1.6% ใน FRAC 4 ตามลำดับ ซึ่งเกิดจากส่วนประกอบของลิกนินที่มีขั้วมากนั้น ไม่สามารถละลายออกมาได้ในส่วนของสัดส่วนที่มีเอทานอล สูงอยู่ และส่วนที่มีขั้วน้อยนั้นได้ละลายออกไปแล้วในส่วนแรก แต่เมื่อมีปริมาณน้ำเพิ่มเป็น 80% ใน FRAC 5 พบว่า มี ลิกนินละลายได้เพิ่มขึ้นเป็น 2.6% ซึ่งเกิดจาก ส่วนประกอบ ของลิกนินที่มีความมีขั้วสูงละลายออกมาเพิ่มมากขึ้นนั่นเอง

### 3.3.2 ปริมาณธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และซัลเฟอร์

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบธาตุ C, H, N และ S จาก ลิกนินที่ผ่านการแยกแบบลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายผสม ของเอทานอลและน้ำเป็นดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าตัวอย่าง FRAC1, FRAC2, FRAC3 และ Insoluble Lignin มีองค์ประกอบ C เท่ากับ 65.33, 62.32, 49.97 และ 42.29% ซึ่งลดลงตามลำดับ

ในขณะที่เดียวกับที่เปอร์เซ็นต์รวมของธาตุทั้งสี่ชนิดลดลง เช่นกันเป็น 73.63, 71.82, 58.85 และ 48.91 ตามลำดับ จึงสันนิษฐานได้ว่า ลิกนินที่ละลายสกัดได้ใน FRAC 1 และ 2 นั้น มีองค์ประกอบของส่วนที่เป็นวงอะโรมาติกมาก ทำให้ พบว่า มีปริมาณ C ในปริมาณสูง มีความมีขั้วต่ำกว่าซึ่งสามารถ ละลายออกมาได้ดีในสัดส่วนที่เอทานอลสูงมากกว่าน้ำนั่นเอง

**ตารางที่ 3** เปอร์เซ็นต์ลิกนินส่วนที่ละลายสกัดได้โดยการแยกแบบลำดับส่วน

Fractionation Step	Ethanol : water	น้ำหนักก่อน ละลายสกัด (g)	น้ำหนักหลังละลายสกัด (กรัม)				% Fractionation
			น้ำหนักที่ไม่ละลาย (g)	% ไม่ละลาย	น้ำหนักลิกนิน ที่ละลาย (g)	% ละลาย	
1	100 ; 0	10.01	5.56	55.54	4.45	44.46	44.46
2	80 ; 20	5.56	3.84	38.36	1.72	17.18	17.18
3	60 ; 40	3.84	3.44	34.37	0.40	4.00	4.00
4	40 ; 60	3.44	3.28	32.77	0.16	1.60	1.60
5	20 ; 80	3.28	3.02	30.17	0.26	2.60	2.60
6	20 ; 80	3.28	3.02	30.17	0.26	-	30.17

**ตารางที่ 4** เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ไฮโดรเจน ไนโตรเจน และ ซัลเฟอร์ของลิกนินที่ผ่านการแยกแบบลำดับส่วน ด้วย ตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำ

ชื่อตัวอย่าง	% N	% C	% H	% S
FRAC1	0.81	65.33	6.22	1.27
FRAC2	0.82	62.32	5.90	2.78
FRAC3	0.87	49.97	5.06	2.95
Insoluble Lignin	0.62	42.29	5.66	0.34

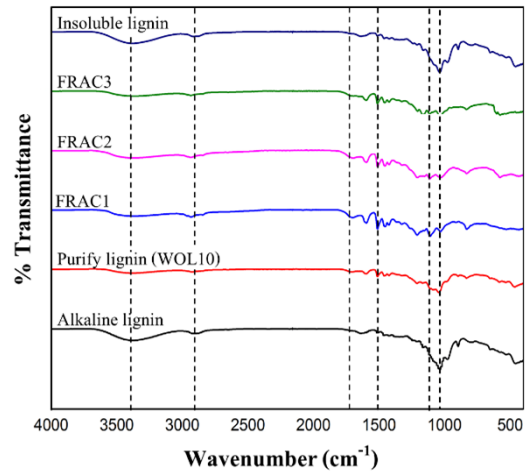
### 3.3.3 วิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FTIR

รูปที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง FRAC1, FRAC2, FRAC3, Insoluble lignin และ Alkaline lignin (ซึ่งใช้เปรียบเทียบ) ด้วย FTIR โดยใช้แถบสัญญาณที่สอดคล้องกันสำหรับหมู่ฟังก์ชันของลิกนิน ตามการรายงานของ Faix [29] และ Hergert [30] สำหรับโครงสร้างลิกนิน 3 แบบ ได้แก่ หน่วยย่อย Syringyl, Guaiacyl และ Hydroxylphenyl ที่ Wavenumber 3,235–3,382  $\text{cm}^{-1}$  ซึ่งตรงกับการสั่นสะเทือนของ O-H stretching ของโครงสร้าง Phenolic และ Aliphatic ที่ 2,917–2,935  $\text{cm}^{-1}$  ตรงกับ C-H Stretching ของ Aromatic Methoxy, Methyl และ Methylene Group ส่วนที่ 1,511–1,513  $\text{cm}^{-1}$  ของตัวอย่าง FRAC1, 2, 3 มีพีคที่ชัดเจน เพราะตัวอย่างเหล่านี้มี Aromatic Structure ที่เห็นชัดกว่าตัวอย่างอื่น, ที่ 1,205–1,212  $\text{cm}^{-1}$  นั้นตรงกับ C-O Stretching ของ Syringyl และ Guaiacyl Structure และที่ 1,029–1,037  $\text{cm}^{-1}$  ตรงกับ Aromatic C-H Linkages ใน Guaiacyl Substructure

อนึ่งการเปรียบเทียบผลข้างต้นกับของ Alkaline Lignin แสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างทั้งหมดมีหมู่ฟังก์ชันที่คล้ายคลึงกับ Alkaline Lignin ในเชิงการค้าที่มีความบริสุทธิ์สูงจาก Sigma Aldrich ที่ได้จากไม้เนื้อแข็ง

### 3.3.4 ปริมาณหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอกซิลิกด้วยเทคนิคไตเตรท

ผลการวิเคราะห์หมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอกซิลิกในตัวอย่างต่างๆ เป็นดังแสดงในตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่า Alkaline Lignin ซึ่งเปรียบเสมือนสารมาตรฐาน จะมีทั้งหมู่ฟีนอลิก ไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอกซิลิกใน



**รูปที่ 4** FTIR สเปกตรัมของ Alkaline lignin ทางการค้า และลิกนินที่ผ่านการแยกแบบลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำ

ปริมาณที่สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ ทั้งหมดในทำนองเดียวกัน ตัวอย่าง FRAC1 ซึ่งมีความเป็นด่าง (Alkalinity) โกล้มมากที่สุดกับ Alkaline Lignin มีทั้งหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิล และหมู่คาร์บอกซิลิกในปริมาณที่สูงกว่าตัวอย่างอื่นที่เหลือทั้งหมดโดยทั่วไปแล้ว Alkaline Lignin จาก Sigma Aldrich มาจากกระบวนการกราฟท์ มีรายงานปริมาณหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิล 1.2 mmol/g [31] เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำในตัวทำละลายเอทานอลพบว่า มีปริมาณหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิลลดลง อย่างไรก็ตามปริมาณหมู่คาร์บอกซิลิกในลิกนินแต่ละส่วนที่ได้มีปริมาณไม่แตกต่างกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าที่สัดส่วนที่มีปริมาณน้ำมากขึ้น จะได้ลิกนินที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นจากหมู่คาร์บอกซิลิกเมื่อเทียบกับลิกนินส่วนอื่นๆ

### 3.5 การสลายตัวทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA

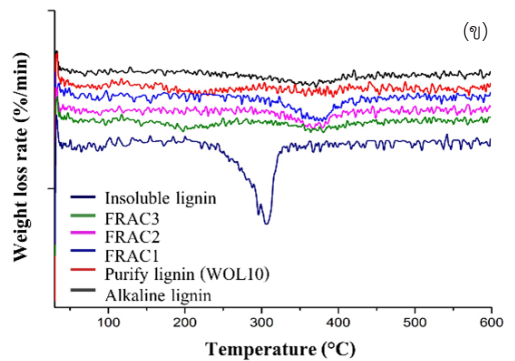
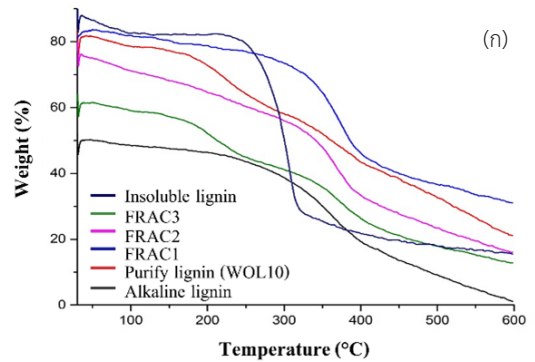
ในรูปที่ 5 แสดงเส้นโค้ง TG และ DTG ของตัวอย่างลิกนินที่ผ่านการแยกแบบลำดับส่วนด้วยอัตราส่วนเอทานอล-น้ำที่แตกต่างกันตลอดจน Alkaline Lignin และตะกอนสะอาด (WOL 10 Purify) ซึ่งสรุปได้ดังตารางที่ 6 จะเห็นว่าตัวอย่าง FRAC1, FRAC2, FRAC3 และ Alkaline Lignin มีช่วงอุณหภูมิในการสลายตัวช่วงเดียวกันคือ 300–400 องศา

เซลเซียส แต่ FRAC3 มีช่วงอุณหภูมิในการสลายตัวเพิ่มขึ้น ด้านต่ำอีกหนึ่งช่วง คือ ช่วง 200–300 องศาเซลเซียส ส่วนตัวอย่าง Insoluble Lignin มีช่วงอุณหภูมิในการสลายตัวคือ 250–320 องศาเซลเซียส [32]

**ตารางที่ 5** ปริมาณหมู่ฟีนอลิกไฮดรอกซิลและหมู่คาร์บอกซิลิกของ ตัวอย่างต่างๆ ที่ผ่านการแยกแบบลำดับส่วน ตลอดจน Alkaline Lignin และตะกอนสะอาด

ชื่อตัวอย่าง	Phenolic -OH (mmol/g)	Carboxylate -COO (mmol/g)
Alkaline Lignin	0.99	0.74
WOL10 Purify	0.44	0.63
FRAC1	0.68	0.64
FRAC2	0.54	0.52
FRAC3	0.34	0.59
Insoluble Lignin	0.15	0.46

เมื่อพิจารณาจากรายงานที่ว่าพันธะอะริลอีเธอร์ถูกแยกออกที่อุณหภูมิต่ำกว่า 310 องศาเซลเซียส [33] และในช่วงอุณหภูมิ 300–500 องศาเซลเซียส จะเกิดการสูญเสียของหมู่อะโรมาติก หมู่คาร์บอนิล และอัลคีน [34] สามารถบอกได้ว่า ตัวอย่าง Insoluble Lignin มีพันธะอะริลอีเธอร์จำนวนพอควร เนื่องจากมีการสลายตัวในช่วงอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 310 องศาเซลเซียสส่วน FRAC1, FRAC2, FRAC3 และ Alkaline Lignin มีหมู่อะโรมาติก หมู่คาร์บอนิล และอัลคีน เนื่องจากมี



**รูปที่ 5** เส้นโค้ง TG และ DTG ของตัวอย่างลิกนินต่างๆ ที่ผ่านการแยกแบบลำดับส่วนตลอดจน Alkaline Lignin และตะกอนสะอาด (ก) TG และ (ข) DTG

การสลายตัวอยู่ในช่วง 300–500 องศาเซลเซียส อนึ่ง FRAC3 ยังมีพันธะอะริลอีเธอร์จำนวนหนึ่งด้วย เนื่องจากมีการสลายตัวใน 2 ช่วง

**ตารางที่ 6** อุณหภูมิการสลายตัวของ Alkaline Lignin และลิกนินที่ผ่านการแยกแบบลำดับส่วน และกากที่เหลือเหนือ 500 °C

ชื่อตัวอย่าง	First Stage			Second Stage			Residue (%)
	Decomposition Temperature Range (°C)	Td(max) (°C)	Weight Loss (%)	Decomposition Temperature Range (°C)	Td(max) (°C)	Weight Loss (%)	
Alkaline Lignin	300–400	370.78	19.44	-	-	-	49.12
FRAC1	300–400	378.85	27.32	-	-	-	53.04
FRAC2	300–400	368.21	22.62	-	-	-	36.03
FRAC3	200–300	220.25	10.97	300–400	380.42	14.89	48.84
Insoluble Lignin	250–320	306.95	60.37	-	-	-	23.48

### 3.3.5 การสลายตัวทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA

ในรูปที่ 5 แสดงเส้นโค้ง TG และ DTG ของตัวอย่างลิกนินที่ผ่านการแยกแบบลำดับส่วนด้วยอัตราส่วนเอทานอล-น้ำที่แตกต่างกัน ตลอดจน Alkaline Lignin และตะกอนสะอาด (WOL 10 Purify) ซึ่งสรุปได้ดังตารางที่ 6 จะเห็นได้ว่าตัวอย่าง FRAC1, FRAC2, FRAC3 และ Alkaline Lignin มีช่วงอุณหภูมิในการสลายตัวช่วงเดียวกัน คือ 300–400 องศาเซลเซียส แต่ FRAC3 มีช่วงอุณหภูมิในการสลายตัวเพิ่มขึ้นด้านต่ำอีกหนึ่งช่วง คือ ช่วง 200–300 องศาเซลเซียส ส่วนตัวอย่าง Insoluble Lignin มีช่วงอุณหภูมิในการสลายตัว คือ 250–320 องศาเซลเซียส [32]

เมื่อพิจารณาจากรายงานที่ว่าพันธะอะริลอี-เธอร์ถูกแยกออกที่อุณหภูมิต่ำกว่า 310 องศาเซลเซียส [33] และในช่วงอุณหภูมิ 300–500 องศาเซลเซียส จะเกิดการสูญเสียของหมู่อะโรมาติก หมู่คาร์บอนิล และอัลคีน [34] สามารถบอกได้ว่าตัวอย่าง Insoluble Lignin มีพันธะอะริลอีเธอร์จำนวนพอควร เนื่องจากมีการสลายตัวในช่วงอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 310 องศาเซลเซียส ส่วน FRAC1, FRAC2, FRAC3 และ Alkaline Lignin มีหมู่อะโรมาติก หมู่คาร์บอนิล และอัลคีน เนื่องจากมีการสลายตัวอยู่ในช่วง 300–500 องศาเซลเซียส อนึ่ง FRAC3 ยังมีพันธะอะริล-อีเธอร์จำนวนหนึ่งด้วย เนื่องจากมีการสลายตัวใน 2 ช่วง

### 3.3.6 น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยด้วยเทคนิค GPC

ตารางที่ 7 แสดงผลการวิเคราะห์ GPC ของตัวอย่าง WOL 10 Purify, FRAC1, FRAC2 และ FRAC3 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าตัวอย่างมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามน้ำหนัก ( $M_w$ ) เท่ากับ 3770, 2390, 3623 และ 3634 ดัลตัน ตามลำดับ

**ตารางที่ 7** น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามน้ำหนัก ( $M_w$ ) น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยตามจำนวน ( $M_n$ ) และค่าการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (Polydispersity)

ชื่อตัวอย่าง	$M_w$ (Da)	$M_n$ (Da)	Polydispersity
WOL10 Pu	3770	1117	3.37
FRAC1	2390	843	2.84
FRAC2	3623	990	3.66
FRAC3	3634	978	3.72

นั่นคือสารตั้งต้น WOL10 Purify ก่อนการนำมาทำการแยกแบบลำดับส่วนด้วยตัวทำละลายเอทานอล-น้ำ มีขนาดโมเลกุลเฉลี่ยตามน้ำหนักของลิกนินสูงสุด และมีการกระจายตัวของน้ำหนักสูงเช่นกันพบว่า เอทานอลบริสุทธิ์มีความสามารถในการทำละลายลิกนินที่น้ำหนักโมเลกุลต่ำที่สุด โดยละลายออกมาใน FRAC1 มีขนาด 2,390 ดัลตัน แต่มีการกระจายตัวของขนาด หรือค่า Polydispersity =  $M_w/M_n$  ต่ำที่สุด เมื่อผสมน้ำซึ่งทำหน้าที่ Cosolvent จำนวน 20% ความสามารถในการทำละลายลิกนินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ทำให้ลิกนินมีขนาดโมเลกุลเฉลี่ยโตขึ้นจนถึง 3,623 ดัลตัน ใน FRAC2 แต่เมื่อเพิ่มสัดส่วน Cosolvent เป็นเท่าตัวที่ 40% พบว่า Cosolvent Effect เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ผลการทดลองนี้แตกต่างจากรายงานที่ผ่านมา [16], [31] ดังนั้นแสดงให้เห็นว่านอกจากน้ำหนักโมเลกุลหรือขนาดของลิกนินจะส่งผลต่อการแยกส่วนแล้ว หมู่ฟังก์ชันของลิกนินยังส่งผลอย่างมากต่อคุณลักษณะของลิกนินที่แยกได้ในแต่ละส่วน

## 4. สรุป

ลิกนินจากน้ำดำโดยการตกตะกอนด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของลิกนินเท่ากับ 41.83% โดยมีธาตุคาร์บอน 33.16% ซึ่งหลังจากผ่านการล้างตะกอนให้สะอาดด้วยกรดซัลฟิวริก มีสัดส่วนลิกนินทั้งหมดสูงถึง 93.45% และมีธาตุคาร์บอนเพิ่มขึ้นเป็น 54.31%

สำหรับการแยกแบบลำดับส่วนของลิกนิน เปอร์เซ็นต์ตัวทำละลายผสมของเอทานอลและน้ำ พบว่า การมีน้ำทำหน้าที่ Cosolvent จะเพิ่มความสามารถในการแยกทำให้ได้ลิกนินที่มีความแตกต่างในเชิงของขนาดและหมู่ฟังก์ชันที่ลดลง จากการวิเคราะห์ลิกนินที่ได้จากการแยกแบบลำดับส่วนพบว่า ตัวอย่างลิกนินทั้งหมดที่แยกได้ ไม่มีปริมาณ Na ตกค้างอยู่เลย จากการวิเคราะห์ตัวอย่างลิกนินทุกตัวด้วย FTIR ต่างแสดงผลของ Methyl Group, Phenolic Hydroxyl Group, Aromatic Structure, Syringyl Substructure และ Guaiacyl Substructure อนึ่ง จากผลการวิเคราะห์ GPC พบว่า สารตั้งต้น WOL10 Purify ก่อนการแยกแบบลำดับส่วน มีขนาดโมเลกุลเฉลี่ยตามน้ำหนักของลิกนินสูงสุด ถึงแม้ว่า

เอทานอลบริสุทธิ์จะมีความสามารถในการทำละลายสูงกว่า น้ำมาก แต่ขนาดโมเลกุลเฉลี่ยของลิกนินที่ละลายออกมาใน FRAC1 ลดลงมาที่ 2390 ดัลตัน และมีความกว้างของการกระจายขนาดโมเลกุล หรือค่า Polydispersity ลดลง แต่เมื่อผสมน้ำซึ่งทำหน้าที่ Cosolvent เป็นตัวทำละลายที่ไม่ดีของลิกนิน แต่กลับทำให้ความสามารถในการทำละลาย ลิกนินที่มีขนาดใหญ่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ พร้อมกับมีการกระจายตัวของขนาดที่เพิ่มสูงขึ้น ที่น่าสังเกต คือ ลิกนิน จากขานอ้อยที่ทำการแยกแบบลำดับส่วนที่เอทานอล 100% (FRAC 1) และ 80% (FRAC 2) ต่างแสดงอุณหภูมิสลายตัวใกล้เคียงกับ Alkaline Lignin ทางการค้าที่มาจากไม้เนื้อแข็ง ซึ่งมีอุณหภูมิสลายตัวสูงสุด คือ 378.85 องศาเซลเซียส ดังนั้นในงานวิจัยนี้ทำให้เห็นได้ว่าการผสมแบบตาม ลำดับส่วนของตัวทำละลายช่วยให้สามารถเลือกขั้นตอนแยก ลิกนินได้อย่างอิสระ ขึ้นอยู่กับความต้องการการใช้งานใน เชิงเทคนิคของลิกนินในด้านความบริสุทธิ์ ขนาดโมเลกุล หมู่ ฟังก์ชัน และความสามารถในการละลาย ซึ่งสามารถต่อยอด ในระดับอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องได้

## 5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติและ มหาวิทยาลัย เทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือที่สนับสนุนสถานที่ และเครื่องมือในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- [1] M. Ayyachamy, F. E. Cliffe, J. M. Coyne, J. Collier, and M. G. Tuohy, "Lignin: untapped biopolymers in biomass conversion technologies," *Biomass Conversion and Biorefinery*, vol. 3, no. 3, pp. 255–269, 2013.
- [2] W. Mu, H. Ben, A. Ragauskas, and Y. Deng, "Lignin pyrolysis components and upgrading— technology review," *BioEnergy Research*, vol. 6, no. 4, pp. 1183–1204, 2013.
- [3] S. Domenek, A. Louaifi, A. Guinault and S. Baumberger, "Potential of lignins as antioxidant additive in active biodegradable packaging materials," *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 21, no. 3, pp. 692–701, 2013.
- [4] A. J. Ragauskas, G. T. Beckham, M. J. Bidy, R. Chandra, F. Chen, M. F. Davis, B. H. Davison, R. A. Dixon, P. Gilna, M. Keller, P. Langan, A. K. Naskar, J. N. Saddler, T. J. Tschaplinski, G. A. Tuskan and C. E. Wyman, Lignin valorization: improving lignin processing in the biorefinery, Newyork, America Association for the Advancement of Science, 2014, pp. 1246843.
- [5] J. H. Lora and W. G. Glasser, "Recent industrial applications of lignin: A sustainable alternative to nonrenewable materials," *Journal of Polymers and the Environment*, vol. 10, no. 1, pp. 39–48, 2002.
- [6] R. Vanholme, B. Demedts, K. Morreel, J. Ralph, and W. Boerjan, "Lignin biosynthesis and structure," *Plant Physiology*, vol. 153, no. 3, pp. 895–905, 2010.
- [7] T. K. Kirk, W. Brown, and E. B. Cowling, "Preparative fractionation of lignin by gel-permeation chromatography," *Biopolymers*, vol. 7, no. 2, pp. 135–153, 1969.
- [8] O. Wallberg, A.-S. Jönsson, and R. Wimmerstedt, "Fractionation and concentration of kraft black liquor lignin with ultrafiltration," *Desalination*, vol. 154, no. 2, pp. 187–199, 2003.
- [9] C. Schuerch, "The solvent properties of liquids and their relation to the solubility, swelling, isolation and fractionation of lignin," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 74, no. 20, pp. 5061–5067, 1952.



- [10] R. Mörck, A. Reimann and K.P. Kringstad, "Fractionation of kraft lignin by successive extraction with organic solvents. III. fractionation of kraft lignin from birch," *Holzforschung*, vol. 42, no. 2, pp. 111–116, 1988.
- [11] Siamrath online. (2019, September 17). The amount of bagasse waste. [Online]. Available: <https://www.ryt9.com/s/prg/3042685>
- [12] J. X. Sun, X. F. Sun, H.Zhao, and R. C Sun, "Isolation and characterization of cellulose from sugarcane bagasse," *Polymer Degradation and Stability*, vol. 84, pp. 331–339, 2004.
- [13] B. J. Collier, J. R.Collier, P. Agarwal, and Y.-W. Lo, "Extraction and evaluation of fibers from sugar cane," *Textile Research Journal*, vol. 62, pp. 741–748, 1992.
- [14] E. S. Abdel-Halim, "Chemical modification of cellulose extracted from sugarcane bagasse: Preparation of hydroxyethyl cellulose," *Arabian Journal of Chemical*, vol. 7, pp. 362–371, 2014.
- [15] L. Liampeecha, P. Jutakridsada, K. Kamwilaisak, "The Properties of Extracted Lignin from Black Lqour," in *Proseeding of 1st National Conference of Farm Engineering and Automation Technology*, 2014, pp. 21–26
- [16] A.S. Jääskeläinen, T. Liitiä, A. Mikkelson, and T. Tamminen, "Aqueous organic solvent fractionation as means to improve lignin homogeneity and purity," *Industrial Crops and Products*, vol. 103, pp. 51–58, 2017.
- [17] O. Ajao, J. Jeaidi, M. Benali, A. M. Restrepo, N. El Mehdi, and Y. Boumghar, "Quantification and variability analysis of lignin optical properties for colour-dependent industrial applications," *Molecules*, vol. 23, no. 2, pp. 377–392, 2018.
- [18] E. Maekawa, T. Ichizawa, and T. Koshijima, "An evaluation of the acid-soluble lignin determination in analyses of lignin by the sulfuric acid method," *Journal of Wood Chemistry and Technology*, vol. 9, no. 4, pp. 549–567, 1989.
- [19] F. G. Kong, S. J. Wang, W. J. Gao, and P. Fatehi, "Novel pathway to produce high molecular weight kraft lignin-acrylic acid polymers in acidic suspension systems," *RSC Advances*, vol. 8, no. 22, pp. 12322–12336, 2018.
- [20] Q. Wang, K. Chen, S. Liu, J. Li, and J. Xu, "Kinetics of bagasse delignification by using high-boiling solvent," *BioResources*, vol. 6, no. 3, pp. 2366–2374, 2011.
- [21] H. R. Ghatak, P. P. Kundu, and S. Kumar, "Thermochemical comparison of lignin separated by electrolysis and acid precipitation from soda black liquor of agricultural residues," *Thermochimica Acta*, vol. 502, no. 1, pp. 85–89, 2010.
- [22] F. Yue, K.-L. Chen, F. Lu, "Low Temperature Soda-Oxygen Pulping of Bagasse," *Molecules*, vol. 21, no. 1, pp. 85–97, 2016.
- [23] W. Kingkaew, P.Srinophakun, A. Thanapimmetha, and M. Saisriyoot, "Optimization of Lignin Production from Agricultural Waste," in *Proceedings of 58th Kasetsart University Annual Conference: Science*, 2015, pp. 158–165.
- [24] P. Mousavioun and W. O. S. Doherty, "Chemical and thermal properties of fractionated bagasse soda lignin," *Industrial Crops and Products*, vol. 31, no. 1, pp. 52–58, 2010.

- [25] D. R. Naron, F. X. Collard, L. Tyhoda, and J. F. Görgens, "Characterisation of lignins from different sources by appropriate analytical methods: Introducing thermogravimetric analysis-thermal desorption-gas chromatography-mass spectroscopy," *Industrial Crops and Products*, vol. 101, pp. 61–74, 2017.
- [26] S. Imman, P. Khongchamnan, W. Wanmolee, N. Laosiripojana, T. Kreetachat, C. Sakulthaew, C. Choekjaroenrat, and N. Suriyachai, "Fractionation and characterization of lignin from sugarcane bagasse using a sulfuric acid catalyzed solvothermal process," *RSC Advances*, vol. 11, no. 43, pp. 26773–26784, 2021.
- [27] S. Pongchaiphol, C. Chotirotukon, M. Raita, V. Champreda, and N. Laosiripojana, "Two-stage fractionation of sugarcane bagasse by a flow-through hydrothermal/ethanosolv process," *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 60, no. 34, pp. 12629–12639, 2021.
- [28] F. A. Nico and N. Divya, "The Hydrophobic Effect and Role of Cosolvent," *Journal of Physical Chemistry*, vol. 121, no. 43, pp. 9986–9998, 2017.
- [29] O. Faix, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 1992, pp. 233–241.
- [30] H. Erdtman, "Lignins: Occurrence, formation, structure and reactions, K. V. Sarkanen, and C. H. Ludwig, Eds., John Wiley & Sons, Inc., New York, 1971. pp. 916," *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Letters Edition*, vol. 10, no. 3, pp. 228–230, 1972.
- [31] A. S. Jääskeläinen, 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*, vol. 37, no. 2, pp. 91–102, 2003.
- [32] H. S. Kim, S. Kim, H. J. Kim, and H. S. Yang, "Thermal properties of bio-flour-filled polyolefin composites with different compatibilizing agent type and content," *Thermochimica Acta*, vol. 451, no.1–2, pp. 181–188, 2006.
- [33] M. Brebu and C. Vasile, "Thermal degradation of lignin - a review," *Cellulose Chemistry and Technology*, vol. 44, no. 9, pp. 353–363, 2010.
- [34] M. Zhang, F. L. P. Resende, A. Moutsoglou, and D.E. Raynie, "Pyrolysis of lignin extracted from prairie cordgrass, aspen, and Kraft lignin by Py-GC/MS and TGA/FTIR," *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, vol. 98, pp. 65–71, 2012.