

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

**KOKSNES PIROLĪZES KONDENSĀTU
PREPARATĪVA SADALĪŠANA UN ANALĪZE AR
ŠĶIDRUMA HROMATOGRĀFIJAS METODĒM**

Promocijas darbs

Autore: **Kristīne Meile**

Darba vadītāji: LU ĶF prof., *Dr. chem.* Arturs Vīksna

LV KĶI vadošais pētnieks, *Dr. sci. ing.* Aivars Žūriņš

RĪGA

2019

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūta Biorafinēšanas laboratorijā un Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātes Analītiskās ķīmijas katedrā no 2014. līdz 2018. gadam ar iepriekšējām iestrādnēm. Daļa pētījumu izstrādāti ar ERAF projekta „Inovatīva levoglukoza ieguves tehnoloģijas pilnveidošana un blakusproduktu izmantošana” Nr. 2010/0297/2DP/2.1.1.1.0/10/APIA/VIAA/024 finansiālu atbalstu.



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Darba forma:

Promocijas darbs ķīmijas zinātnes nozarē, analītiskās ķīmijas apakšnozarē.

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. chem., prof. Arturs Vīksna (Latvijas Universitāte)

Dr. sci. ing., vadošais pētnieks Aivars Žūriņš (Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūts)

Darba recenzenti:

asoc. prof. *Dr. chem.* Vadims Bartkevičs (Latvijas Universitāte)

Dr. chem. Oskars Bikovens (Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūts)

asoc. prof. *Dr. chem.* Sergejs Osipovs (Daugavpils Universitāte)

Promocijas darba aizstāvēšana notiks Latvijas Universitātes Ķīmijas nozares promocijas padomes atklātā sēdē 2019. gada 11. aprīlī pulksten 16:00 Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātē Rīgā, Jelgavas ielā 1, 702. auditorijā.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes Bibliotēkā Rīgā, Kalpaka bulvārī 4.

LU Ķīmijas nozares promocijas padomes

priekšsēdētājs _____ /Edgars Sūna/

padomes sekretāre _____ /Vita Rudoviča/

© Latvijas Universitāte, 2019

© Kristīne Meile, 2019

KOPSAVILKUMS

Koksnes pirolīzes kondensātu preparatīva sadalīšana un analīze ar šķidrums hromatogrāfijas metodēm. K. Meile, zinātniskie vadītāji *Dr. chem.* A. Vīksna un *Dr. sci. ing.* A. Žūriņš. Promocijas darbs, 117 lappuses, 56 attēli, 20 tabulas, 8 pielikumi, 206 literatūras avoti. Latviešu valodā.

Darbā veikta koksnes pirolīzes kondensātu ķīmiskā sastāva izpēte ar ultra augstefektīvo šķidrums hromatogrāfiju apvienojumā ar dažādiem detektoriem, kā arī veikts pētījums, lai no pirolīzes kondensātiem preparatīvi izdalītu galveno pirolīzes produktu – anhidrosaharīdu levoglikozānu. Izmantojot eksklūzijas hromatogrāfiju, noskaidrots, ka pirolīzes kondensātos dominē mazmolekulāri savienojumi ar molmasu zem $500 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Kvalitatīvā analīze ar augstas izšķirtspējas masspektrometriju ļāva identificēt dažādu ķīmisko savienojumu klašu pārstāvjus – galvenokārt anhidrosaharīdus, fenolu glikozīdus un citus fenolu atvasinājumus. Darbā salīdzinātas dažādas kvantitatīvās anhidrosaharīdu, furānu un fenolu noteikšanas metodes, kas svarīgas pirolīzes produktu kvalitātes kontrolei, izstrādājot koksnes pārstrādes tehnoloģiskos procesus. Lai izvērtētu iespēju ar preparatīvo hromatogrāfiju no pirolīzes produktiem izdalīt levoglikozānu, tika salīdzināti dažādi jonu apmaiņas sveķi. Noskaidrots, ka ar stipri bāzisku anjonu apmaiņas sveķu kolonnām iespējams viegli iegūt levoglikozāna frakciju ar $> 85 \%$ tīrību, un šī metode tiek piedāvāta kā piemērotākā levoglikozāna izdalīšanai no pirolīzes produktiem rūpnieciskos apmēros. Sekojoša kristalizācija ar etanolu ļāva iegūt līdz 99% tīru levoglikozānu.

KOKSNES PIROLĪZES PRODUKTI, LEVOGLIKOZĀNS, ANHIDROSAHARĪDI, PREPARATĪVĀ HROMATOGRĀFIJA, JONU APMAIŅAS SVEĶI, ULTRA AUGSTEFEKTĪVĀ ŠĶIDRUMA HROMATOGRĀFIJA

ABSTRACT

Preparative separation and analysis of wood pyrolysis condensates with liquid chromatography methods. Meile K., supervisors *Dr. chem.* Vīksna A. and *Dr. sci. ing.* Žūriņš A. Doctoral thesis, 117 pages, 56 figures, 20 tables, 8 appendices, 206 literature references. In Latvian.

In this work the chemical composition of wood pyrolysis condensates was studied with ultra-high performance liquid chromatography coupled with different detectors, and an investigation about the preparative separation of the main product of pyrolysis – an anhydrosugar levoglucosan – was carried out. Size exclusion chromatography showed that low molecular weight compounds with molecular mass below $500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ dominated in the pyrolysis condensates. Qualitative analysis with high resolution mass spectrometry identified compounds belonging to different chemical classes – mostly anhydrosaccharides, phenolic glucosides and other phenol derivatives. Various quantitative methods for the analysis of anhydrosaccharides, furans and phenols were compared, to enable quality control of pyrolysis products for the development of the technological processes of wood conversion. Different ion exchange resins were studied to evaluate the possibility of separating levoglucosan from pyrolysis products with preparative chromatography. It was found that the use of strongly basic anion exchange resin columns could easily give a levoglucosan fraction with $> 85 \%$ purity using aqueous solutions, therefore it has been proposed as the most suitable method for industrial scale separation of levoglucosan. Levoglucosan with up to 99% purity could be obtained by further crystallization with ethanol.

WOOD PYROLYSIS PRODUCTS, LEVOGLUCOSAN, ANHYDROSACCHARIDES, PREPARATIVE CHROMATOGRAPHY, ION EXCHANGE RESIN, ULTRA-HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

SATURS

APZĪMĒJUMU SARAKSTS.....	7
IEVADS	9
1. LITERATŪRAS APSKATS	14
1.1. Biomasas loma ilgtspējīgā attīstībā.....	14
1.2. Ātrā pirolīze – perspektīva koksnes pārstrādes metode.....	16
1.3. Pirolīzes kondensātu raksturojums	20
1.4. Levoglikozāna iegūšanas aktualitāte.....	22
1.5. Pirolīzes kondensātu frakcionēšana	23
1.6. Cukuru atdalīšana ar jonu apmaiņas sveķiem.....	24
1.7. Pirolīzes kondensātu analīzes metodes	28
1.8. Cukuru un to atvasinājumu noteikšana	31
1.9. Šķidrums hromatogrāfijas metodes cukuru analīzēm.....	32
1.10. Detektori cukuru HPLC analīzēm.....	35
1.11. Kopsavilkums par analīzes metodēm	37
2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA	39
2.1. Aparatūra un reaģenti.....	39
2.2. Pētījuma objekti	42
2.3. Pirolīzes produktu vispārīga raksturošana	43
2.4. Cukuru kvantitatīvā noteikšana ar UHPLC-MS/ELSD	46
2.5. Anhidroglikozes izomēru noteikšana ar HPLC-RI.....	47
2.6. Fenolu un furānu noteikšana ar UHPLC-UV	48
2.7. Pirolīzes produktu SEC analīze	49
2.8. Pirolīzes produktu kvalitatīvā analīze ar augstas izšķirtspējas masspektrometriju	50
2.9. Pirolīzes produktu sadalīšana, izmantojot jonu apmaiņas sveķus	50
2.9. Fenolu desorbciija no anjonu apmaiņas sveķiem.....	52
2.10. Levoglikozāna kristalizēšana	52
3. REZULTĀTU IZVĒRTĒJUMS.....	54
3.1. Cukuru atvasinājumu kvantitatīvās noteikšanas UHPLC metodes izstrāde	54
3.2. Fenolu un furānu noteikšana pirolīzes kondensātos ar apgrieztās fāzes UHPLC.....	66
3.3. Kopsavilkums par pirolīzes kondensātu kvantitatīvajām analīzēm	69
3.4. Pirolīzes kondensātu kvalitatīvais raksturojums	73
3.5. Pirolīzes kondensātu stabilitāte.....	79
3.6. Pirolīzes kondensātu preparatīva sadalīšana	81

3.7. Levoglikozāna attīrīšana	92
3.8. Kompleksa pirolīzes kondensātu frakcionēšana	94
SECINĀJUMI	100
IZMANTOTĀ LITERATŪRA	102
PIELIKUMI.....	118

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

- ACN – acetonitrils
- ADS – anhidrodisaharīdi
- AG – anhidroglukoze
- AGF – 1,6-anhidro-β-D-glikofuranoze
- API – atmosfēras spiediena jonizācija (no angļu val. *atmospheric pressure ionization*)
- APCI – atmosfēras spiediena ķīmiskā jonizācija (*atmospheric pressure chemical ionization*)
- AS – anhidrosaharīdi
- AU – absorbcijas vienība (*absorption unit*)
- α – selektivitāte
- BPI – hromatogramma ar fona korekciju (*base peak intensity*)
- CAD – uzlādētā aerosola detektors (*charged aerosol detector*)
- CAN – karboksilgrupu skābes skaitlis (*carboxylic acid number*)
- DVB – divinilbenzols
- ELSD – iztvaicēšanas gaismas izkliedes detektors (*evaporative light scattering detector*)
- ESI – elektroizsmidzināšanas jonizācija (*electrospray ionization*)
- FPhen – fluorofenil-
- GC – gāzu hromatogrāfija (*gas chromatography*)
- GSE – galluskābes ekvivalents
- HILIC – hidrofilās mijiedarbības hromatogrāfija (*hydrophilic interaction liquid chromatography*)
- HMF – 5-hidroksimetilfurfuols
- HPLC – augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija (*high performance liquid chromatography*)
- HPAEC – augstefektīvā anjonu apmaiņas hromatogrāfija (*high performance anion exchange chromatography*)
- HPTLC – augstefektīvā plānā slāņa hromatogrāfija (*high performance thin layer chromatography*)
- IC – jonu hromatogrāfija (*ion chromatography*)
- ICUMSA – Starptautiskā vienoto cukura analīžu metožu komisija (*International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis*)
- k' – izdalīšanas koeficients
- LG – levoglikozāns
- LOQ – kvantitatīvās noteikšanas robeža (*limit of quantitation*)

MALDI – matricas asistētā lāzera desorbcijas jonizācija (*matrix assisted laser desorption ionization*)

MS – masspektrometrija

M_w – molmasa

NMR – kodolmagnētiskā rezonanse (*nuclear magnetic resonance*)

PAD – impulsa amperometriskais detektors (*pulse amperometric detector*)

PDA – fotodiožu matricas detektors (*photodiode array*)

PGC – porainā grafitveida oglekļa kolonna (*porous graphitic carbon*)

PhAN – fenolgrupu skābes skaitlis (*phenolic acid number*)

PhenH – fenilheksil-

TOF – nolidojuma laika masspektrometrs (*time of flight*)

R – izšķiršana

RID – refrakcijas indeksa detektors

SEC – eksklūzijas hromatogrāfija (*size exclusion chromatography*)

SIR – atsevišķa jona detektēšana (*selected ion recording*)

S_r – relatīvā standartnovirze

SRM – fragmentācijas monitoringa režīms tandēma masspektrometrijā (*selected reaction monitoring*)

TAN – kopējais skābes skaitlis (*total acid number*)

UHPLC – ultra augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija (*ultra-high performance liquid chromatography*)

IEVADS

Pasaules mērogā ir izvirzīts mērķis īstenot bioekonomikas principus un fosilos resursus aizvietot ar atjaunojamajiem resursiem, tai skaitā, biomasu. Koksne un cita biomasa ir ne tikai enerģijas, bet arī materiālu, degvielas un ķīmisku savienojumu avots. Koksnes pirolīze ir pārstrādes veids, kas tiek uzskatīts par ekonomiski izdevīgu, viegli mērogojamu rūpnieciskiem apmēriem, kā arī tā var tikt iekļauta biorafinēšanas stratēģijā, kurā no viena izejmateriāla tiek iegūts plašs vērtīgu produktu klāsts. Starp koksnes pirolīzes produktiem jāizceļ levoglīkozāns – anhidrosaharīds ar augstu ekonomisko potenciālu. Levoglīkozāna struktūra pazīstama jau kopš 19. gs. un tā iegūšana no cietes pirmoreiz aprakstīta 1918. gadā. Mūsdienās levoglīkozāns ir atzīts par ķīmiskajā un farmācijas rūpniecībā pielietojamu savienojumu, jo tas ir pirmējais pirolīzes produkts, ko var viegli hidrolizēt par glikozi vai izmantot par izejvielu dažādu hirālu savienojumu sintēzei. Tomēr par spīti tam, ka noteiktos apstākļos koksnes pirolīzes rezultātā ir iespējams iegūt augstu levoglīkozāna iznākumu, levoglīkozāna ražošanu joprojām kavē grūtības to izdalīt no pirolīzes produktiem.

Levoglīkozāna izdalīšanu no pirolīzes šķidrājiem produktiem apgrūtina šo kondensātu sarežģītais sastāvs. Pirolīzes kondensātos atrodami vairāki simti individuālu savienojumu, turklāt to saturu ietekmē gan izejmateriāls, gan tā priekšapstrāde un pirolīzes apstākļi, tāpēc visaptverošu pirolīzes produktu analīzes metožu izstrādei veltīta liela uzmanība. Pirolīzes produktu sastāva noteikšana ir svarīga, lai noskaidrotu pirolīzes mehānismus un lai varētu optimizēt pirolīzes apstākļus vēlamu savienojumu iznākuma palielināšanai un nevēlamu blakusproduktu iznākuma samazināšanai. Pirolīzes produktu sastāva pilnīgāka apzināšana ļautu arī izstrādāt atbilstošas vadlīnijas saistībā ar darba drošību un to uzglabāšanu vai transportēšanu. Pagaidām rūpnieciskos apjomos koksnes pirolīzi realizē tikai daži uzņēmumi (piemēram, „Valmet” Somijā un „ENSYN” Kanādā), kuru mērķis ir ar bioeļļu aizstāt no naftas iegūtu degvielu, tāpēc arī pirolīzes produktu analīžu metožu standarti vairāk attiecas uz tādu fizikālu īpašību noteikšanu, kā viskozitāte, blīvums u. tml., bet ne uz specifiskām ķīmiskām analīzēm. Tomēr nākotnes perspektīvā ir paredzams, ka pirolīzes procesā tiks ražoti atsevišķi ķīmiskie savienojumi ar augstu pievienoto vērtību (kā jau pieminētais levoglīkozāns), līdz ar to tiks paplašinātas prasības pirolīzes produktu kvalitātes kontrolei.

Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūtā 2013. gadā tika realizēts Eiropas Reģionālās attīstības fonda projekts „Inovātīva levoglīkozāna ieguves tehnoloģijas pilnveidošana un blakusproduktu izmantošana”, kura ietvaros tika izstrādāta bērza koksnes priekšapstrādes un pirolīzes tehnoloģija levoglīkozāna iegūšanai. Minētajā projektā tika aizsākts šī promocijas darba pētījums par levoglīkozāna izdalīšanu no bērza koksnes pirolīzes šķidrājiem produktiem un levoglīkozāna attīrīšanu. Pētījums tika turpināts, kopš 2014. gada sadarbojoties ar *Nova*

Pangaea Technologies Ltd. (Lielbritānija) projektā ERA-net Plus BESTF „Demonstration by WSPCEL of Nova Pangaea Technologies' Lignocellulosic Conversion Technology”, lai jau rūpnieciski īstenotu biomasas pirolīzi un frakcionēšanu vērtīgu produktu iegūšanai. Līdz ar Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūta Šķidruma hromatogrāfijas centra atklāšanu 2016. gadā tika sākts darbs pie pirolīzes kondensātu kvalitatīvā un kvantitatīvā sastāva raksturošanas metožu izstrādes, nosakot ogļhidrātus jeb cukurus, kā arī furānus, fenolus un to atvasinājumus.

Darba mērķis. Darbam tika izvirzīti šādi mērķi:

- i. Izstrādāt analīzes metodes pirolīzes produktu kvalitātes kontrolei;
- ii. Izstrādāt levoglīkozāna izdalīšanas un attīrīšanas metodi rūpnieciskām vajadzībām.

Darba uzdevumi. Mērķu sasniegšanai formulēti šādi uzdevumi:

- i. Izstrādāt ultra augstefektīvās šķidruma hromatogrāfijas metodes levoglīkozāna, furfuroļa, 5-hidroksimetilfurfuroļa, vanilīna un citu savienojumu kvantitatīvai noteikšanai;
- ii. Salīdzinājumam veikt pirolīzes kondensātu analīzi, izmantojot klasiskās analīzes metodes – titrēšanu, spektrofotometriju, gravimetriju;
- iii. Izmantojot eksklūzijas hromatogrāfiju un augstas izšķirtspējas masspektrometriju, raksturot pirolīzes kondensātu kvalitatīvo sastāvu;
- iv. Salīdzināt dažādu jonu apmaiņas sveķu spēju sadalīt pirolīzes kondensātus un definēt rūpnieciskai levoglīkozāna izdalīšanai piemērotāko preparatīvās hromatogrāfijas metodi.

Rezultātu praktiskā nozīmība. Izstrādāta metode levoglīkozāna izdalīšanai no pirolīzes kondensātiem, veicinot iespējas rūpnieciskos apjomos no celulozi saturošas biomasas ražot levoglīkozānu, kā arī izvērtētas dažādas analītiskās metodes vienkāršai, bet informatīvai pirolīzes kondensātu sastāva raksturošanai. Saistībā ar pirolīzes kondensātu preparatīvo frakcionēšanu 20.08.2015. Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūtam piešķirts Latvijas Republikas patents: A. Žūriņš, B. Spince un K. Meile, Levoglīkozāna iegūšanas paņēmiens. LV15017,2015. Par šāda veida pētījuma aktualitāti liecina tas, ka tieši pēdējā gada laikā parādījusies jauna zinātniskā literatūra par levoglīkozāna izdalīšanu no pirolīzes produktiem, izmantojot preparatīvo hromatogrāfiju.

Iegūto rezultātu zinātniskā novitāte. Veikts dažādu jonu apmaiņas sveķu salīdzinājums pirolīzes kondensātu frakcionēšanai, raksturojot iespējas attīrīt levoglīkozānu un izdalīt citus vērtīgus savienojumus vai to grupas, tai skaitā, pirmoreiz aprakstīta levoglīkozāna izomēra 1,6-anhidro-β-D-glikofuranozes izdalīšanas stratēģija. Aprakstīts pirolīzes kondensātu ar augstu ūdens saturu kvalitatīvais sastāvs un stabilitāte, lai salīdzinātu ar literatūrā plaši aprakstīto

bioeļļu ar zemu ūdens saturu. Pirmoreiz veikts dažādu metožu salīdzinājums, levoglukoāna kvantitatīvai noteikšanai pirolīzes produktos.

Pētījumu rezultātu aprobācija. Darba izstrādes laikā iegūtie rezultāti prezentēti 14 zinātniskās konferencēs un aprakstīti 5 starptautiski citējamās publikācijās (atrodamas SCOPUS u.c. datubāzēs).

Publikācijas:

1. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Briede, L.; Viksna, A. Investigation of the Sugar Content in Wood Hydrolysates with Iodometric Titration and UPLC-ELSD. *Agronomy Research*, 16(1), **2018**, 167-176
2. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Viksna, A. Comparison of Photodiode Array, Evaporative Light Scattering, and Single Quadrupole Mass Spectrometric Detection Methods for the UPLC Analysis of Pyrolysis Liquids. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 8, **2017**, 369-375
3. Meile, K.; Zhurinsh, A. Preparative Solid Phase Extraction for the Purification of Levoglucosan Obtained from Lignocellulose. *Key Engineering Materials*, 721, **2017**, 82-86
4. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Dobeļe, G. Characterization of the Anhydrosugar Content in Pyrolysis Liquids with Column Chromatography and Iodometric Titration. *Enerģetika*, 60(3), **2014**, 149-164
5. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Spince, B.; Dobeļe, G. Application of Ion Exchange Resins in the Separation of Valuable Compounds from Wood Pyrolysis Liquids. *Key Engineering Materials*, 604, **2014**, 232-235

Konferences:

1. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Iljina, N. A comprehensive approach to the analysis of anhydrosaccharides in wood pyrolysis products, *3rd International EPNOE Junior Scientists Meeting - Advances in Fundamental and Applied Polysaccharide Research*, Maribor, **2018** (stenda referāts, tēzes)
2. Godina, D.; Meile, K.; Zhurinsh, A. Analysis of the Sugar Composition in Birch Wood Hydrolysates with Iodometric Titration and UPLC-ELSD, *Biosystems Engineering conference*, Tartu, **2018** (stenda referāts, tēzes)
3. Meile, K.; Godina, D.; Zhurinsh, A.; Viksna, A. Determination of the Purity of Biomass-Based Levoglucosan, *Latvijas Universitātes 76. konference*, Rīga, **2018** (mutisks referāts, tēzes)

4. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Spulis, A. Determination of High Molecular Weight Compounds in Pyrolysis Liquids Obtained from Lignocellulose, *Euroanalysis 2017*, Stockholm, **2017** (mutisks referāts, tēzes)
5. Meile, K.; Vīksna, A.; Žūriņš, A. Determination of Sugars and their Derivatives in Pyrolysis Condensates with LC-MS, *Latvijas Universitātes 75. konference*, Rīga, **2017** (mutisks referāts, tēzes)
6. Meile, K.; Zhurinsh, A. Preparative Solid Phase Extraction for the Separation of Levoglucosan Obtained from Lignocellulose, *25th International Baltic Conference of Engineering Materials and Tribology 'BALTMATTRIB 2016'*, Riga, **2016** (stenda referāts, tēzes)
7. Meile, K.; Vīksna, A.; Zhurinsh, A. Choosing a Detection Method for the UPLC Analysis of Pyrolysis Liquids, *20th International Scientific Conference 'EcoBalt 2016'*, Tartu, **2016** (stenda referāts, tēzes)
8. Meile, K.; Zhurinsh, A. Investigation of the Pyrolytic Products of Lignocellulose by UPLC/TOF-MS, *FPI306 COST Action Second Workshop & Third MC Meeting*, Dubrovnik, **2016** (stenda referāts, tēzes)
9. Meile, K.; Žūriņš, A.; Vīksna, A. Ieskats preparatīvās cietfāzes ekstrakcijas metodēs, *Latvijas Universitātes 74. konference*, Rīga, **2016** (mutisks referāts, tēzes)
10. Meile, K.; Zhurinsh, A. Aspects of Incorporating the Production of Levoglucosan into a Wood-Based Biorefinery, *12th International Conference of Young Scientists on Energy Issues 'CYSENI 2015'*, Kaunas, **2015** (mutisks referāts, paplašinātās tēzes)
11. Meile, K.; Žūriņš, A.; Vīksna, A. Levoglikozāna izdalīšana no koksnes ātrās pirolīzes produktiem, *Latvijas Universitātes 73. konference*, Rīga, **2015** (mutisks referāts)
12. Meile, K.; Zhurinsh, A. Separation of 1,6-anhydro-β-D-glucopyranose and 1,6-anhydro-β-D-glucofuranose – Wood Origin Chemicals with High Added Value, *19th International Scientific Conference 'EcoBalt 2014'*, Riga, **2014** (mutisks referāts, tēzes)
13. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Spince, B. Application of Ion Exchange Resins in the Separation of Valuable Compounds from Wood Pyrolysis Liquids, *22nd International Baltic Conference of Engineering Materials and Tribology 'BALTMATTRIB 2013'*, Riga, **2013** (stenda referāts, tēzes)
14. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Spince, B. Application of Ion Exchange Resin in the Characterization of Fast Pyrolysis Liquids, *18th International Scientific Conference 'EcoBalt 2013'*, Vilnius, **2013** (stenda referāts, tēzes)

Pateicības. Darba autore izsaka pateicību darba zinātniskajiem vadītājiem – Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūta vadošajam pētniekam *Dr. sci. ing.* Aivaram Žūriņam par aizraujošo darba tēmu un iespēju piedalīties praktiski nozīmīgā pētījumā un Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātes profesoram *Dr. chem.* Arturam Vīksnam par konsultācijām un atbalstu darba rakstīšanas procesā.

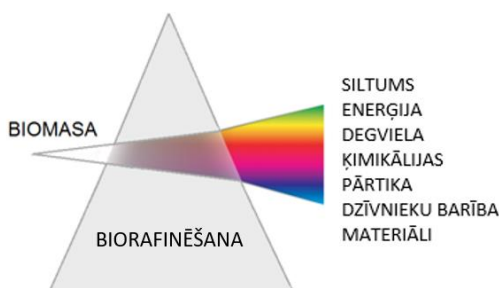
Autore pateicas arī Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūta Biorafinēšanas laboratorijas un Lignīna laboratorijas kolektīvam, īpaši Līgai Laubertei par labo kompāniju Šķidruma hromatogrāfijas centrā, Mārim Laubertam par palīdzību ar SEC-RI metodi, Gaļinai Dobelei un Vilhelmīnei Jurkjānei par iespēju salīdzināt darbā iegūtos rezultātus ar GC-MS rezultātiem, Mārim Puķem par palīdzību ar HPLC-RI metodi, kā arī Nadeždai Iljinai un Danielai Godiņai par aktīvu iesaistīšanos eksperimentālajā darbā.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Biomasas loma ilgtspējīgā attīstībā

Ilgtspējīgas attīstības jēdziens ietver drošu saimniecisko darbību, kas neapdraud nākamo paaudžu vajadzību apmierināšanu [1]. Zināms, ka viens no galvenajiem apdraudējuma avotiem ir izsīkstošo fosilo resursu izmantošana, tāpēc gan Eiropas, gan pasaules mērogā ir izvirzīts mērķis fosilos resursus – naftu, akmeņogles, dabasgāzi – aizvietot ar atjaunojamajiem resursiem un pakāpeniski pāriet uz bioekonomiku [2], kas efektīvi izmanto bioloģiskos zemes un jūras resursus, tai skaitā, atkritumus. Biomasas, piemēram, koksne ir atjaunojamo resursu veids, ko var izmantot ne tikai enerģijas, bet arī oglekli saturošu ķīmisko savienojumu un materiālu iegūšanai. Ir zināmi dažādi paņēmieni, kā no koksnes iegūt enerģiju: tieši sadedzinot, gāzificējot vai ātrās pirolīzes procesā iegūstot šķidru pirolīzes kondensātu, ko var pielietot ne tikai enerģijas ražošanai, bet arī dažādu ķīmisko savienojumu iegūšanai [3]. Tomēr enerģijas ražošanai var izmantot arī citus atjaunojamus resursus – vēja [4] vai saules enerģiju [5], tāpēc ir mērķtiecīgi biomasas izmantošanā lielāko uzsvāru likt uz ķīmisko savienojumu un materiālu ražošanu. Turklāt biomasas vien nespētu nodrošināt sabiedrības enerģētiskās vajadzības, bet tā spēj aizvietot neatjaunojamus resursus ķīmikāliju un materiālu ražošanā.

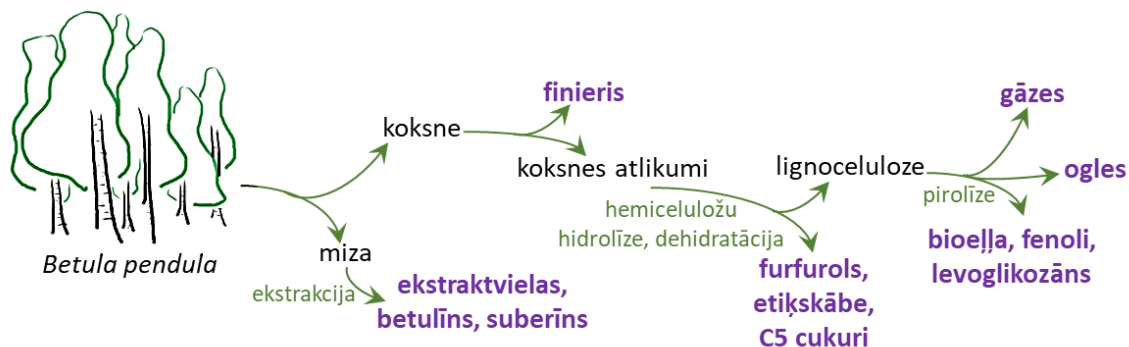
Salīdzinot ar plaši izplatīto, labi attīstīto naftas produktu rūpniecību, biomasas pielietošana ķīmisko savienojumu un materiālu ražošanā saskaras ar ekonomiskiem šķēršļiem, tāpēc ir svarīgi attīstīt biorafinēšanas jeb biomasas kompleksas pārstrādes principus. Pēc plaši pieņemtas definīcijas biorafinēšana ir ilgtspējīga biomasas pārvēršana dažādos pieprasītos produktos un enerģijā [6]. Ievērojot biorafinēšanas principus, piemēram, biodīzeļa cena var tikt samazināta par 30% [7]. 1.1. attēlā parādīta biorafinēšanas principa ilustrācija, kas uzsver no biomasas iegūstamo produktu daudzveidību.



1.1. att. Biorafinēšanas principa shematisks attēlojums [6]

Koksne ir viens no tipiskākajiem biomasas veidiem, ko visbiežāk izmanto enerģijas vai būvmateriālu ražošanai. Par spīti tam, ka pieaug vēja un saules enerģijas izmantošana, tiek prognozēts, ka līdz 2030. gadam lielākā daļa siltuma un ievērojama daļa elektrības tiks

nodrošināta, izmantojot biomasu – pamatā koksni un lauksaimniecības atkritumus [6], tomēr koksnei ir potenciāls tikt izmantotai dažādu materiālu un ķīmisko savienojumu ražošanai biorafinērijās. Šobrīd kā veiksmīgus koksnes biorafinēšanas piemērus var minēt celulozes ražotnes, bet literatūrā aprakstīti dažādi biorafinēšanas modeļi ar koksni kā galveno izejmateriālu. Dažādās pasaules vietās pārstrādei tiek izvēlētas reģionam atbilstošas koku sugas, piemēram, palma (*Elaeis guineensis*) Malaizijā [8] vai eikalipts (*Eucalyptus grandis*) Brazīlijā [9]. Savukārt šī darba pētījuma objekti ir no bērza koksnes iegūti pirolīzes produkti, jo bērzs (*Betula pendula*) ir Latvijā un Eiropā viena no izplatītākajām koku sugām [10].



1.2. att. Bērza koksnes kompleksas pārstrādes (biorafinēšanas) shēma

Bērzs izceļas ar to, ka tā mizu – it sevišķi tāsi – var izmantot vērtīgu ekstraktvielu iegūšanai [11]. Pēc tam, kad tāss ir atdalīta no iekšējās mizas, no tās var ekstrahēt betulīnu, kam ir īpaša nozīme farmācijas un kosmētikas industrijā [12]. No atlikušās mizas var ekstrahēt suberīnu, ko izmanto kā izejvielu līmju u.c. produktu ražošanai [13]. Tomēr kā pamatproduktu no bērza kokmateriāliem var minēt finieri, bet no serdeņiem un citiem finiera ražošanas laikā radītajiem koksnes atlikumiem var iegūt dažādus ķīmiskus savienojumus. Pirmkārt, koksni pakļaujot katalītiskai priekšapstrādei, var savstarpēji atdalīt ūdens ekstraktu, kurā ir tādi hemiceluložu hidrolīzes un dehidratācijas produkti kā ķīmiskajā rūpniecībā plaši izmantojamais furfurols un etiķskābe, kam ir pieprasījums pārtikas nozarē [14], un cieto koksnes frakciju – lignocelulozi. Praktisks, kopš seniem laikiem pazīstams lignocelulozes pārstrādes veids ir pirolīze. Ja izejmateriāls priekšapstrādes laikā ir apstrādāts ar sērskābi, ātrās pirolīzes laikā var iegūt augstu kondensējamo produktu jeb bioeļļas iznākumu ar ievērojamu levoglikozāna koncentrāciju (līdz pat 60 % no bioeļļas sausnes) [15]. Pirolīzes blakusprodukti ir gāzes un ogles, ko var izmantot procesa enerģētiskajām vajadzībām. No bioeļļas izdalot levoglikozānu, pāri paliek galvenokārt fenolu saturoša frakcija, ko var izmantot, piemēram, kā krāsvielu vilnai vai sintētiskām šķiedrām, atkarībā no apstrādes ilguma un šķīduma koncentrācijas iegūstot dzeltenu līdz tumši brūnu nokrāsu [16]. Tā kā pirolīzes kondensātu sastāvā ir liels skaits dažādu savienojumu, no tiem var iegūt dažādus produktus – pārtikas piedevas, specifiskus ķīmiskus savienojumus, sveķus, agro-ķīmikālijas, mēslojumu u.c. Bioeļļu ir iespējams modificēt, lai to

izmantotu kā transporta degvielu. Ķīmisko savienojumu ražošana no pirolīzes šķidrumiem ir sevišķi pievilcīga, jo tiem, salīdzinot ar degvielas un enerģijas produktiem, ir augstāka pievienotā vērtība [3].

1.2. Ātrā pirolīze – perspektīva koksnes pārstrādes metode

Koksnes pirolīzes jeb termolīzes procesā koksne tiek karsēta bez gaisa skābekļa klātbūtnes, izvadot un kondensējot gaistošos produktus. Pirolīze ir salīdzinoši nedārgs process, ko iespējams mērotot industriāliem apjomiem [17], un, kā minēts 1.1. apakšnodaļā, pirolīzi var iekļaut koksnes kompleksās pārstrādes (biorafinēšanas) stratēģijā, biomasu pirolītiski pārstrādājot kondensējamus produktus jeb bioeļļā. Bioeļļu tālāk iespējams frakcionēt, katru frakciju uzlabojot un pielāgojot specifisku produktu iegūšanai [7].

Pēc pirolīzes tehnoloģijas izšķir vairākus pirolīzes veidus. Ātrajai pirolīzei raksturīgs tas, ka process notiek pāris sekunžu laikā. Tas ir nelīdzsvara process, kura norisi ietekmē ne tikai ķīmisko reakciju kinētika, bet arī siltuma un masas pārnese un fāžu pārejas procesi. Ātrās pirolīzes rezultātā tiek iegūti līdz 75 % (no sausa izejmateriāla) šķidrie produkti jeb bioeļļa, kā arī neliels daudzums blakusproduktu – ogles un gāzes, kas tiek izmantoti paša procesa enerģētisko vajadzību nodrošināšanai, lai nerastos nevajadzīgas blakus produktu plūsmas, izņemot dūmgāzes un pelnus [3].

Vispārīgi tiek uzskatīts, ka ātrā pirolīze sastāv no šādiem procesiem: izejmateriāla žāvēšana, lai samazinātu mitrumu vismaz līdz 10 %, jo parasti vēlams iegūt bioeļļu, kuras ūdens saturs nepārsniedz 15 % (mitrums paaugstinās, jo reakcijā izdalās ūdens); izejmateriāla malšana, smalcināšana < 2 mm sīkās daļiņās, lai nodrošinātu reakcijas ātru norisi; pati pirolīzes reakcija reaktorā; cieto daļiņu (ogļu) atdalīšana; dzesēšana un kondensēšana, lai iegūtu bioeļļu; un nekondensējamo gāzu aizvadīšana. Procesā gaitā svarīgi nodrošināt pietiekoši augstu reaģētspējīgo biomasas daļiņu temperatūru, lai samazinātu ogļu veidošanos. To panāk, izmantojot sīkas biomasas daļiņas, lai tās ātrāk uzsiltu, vai arī ļoti ātri pievada siltumu tikai daļiņu virsmai. Zemās termiskās vadītspējas dēļ izejmateriāla iekšienē temperatūra būtiski nepalielinās, bet virskārtā izveidojušos produktus ātri aizvāc, pakļaujot temperatūras ietekmei nākamam slāni. Vēl tehniski svarīga ir ogļu daļiņu atdalīšana, jo ogle darbojas kā katalizators. Cieto daļiņu atdalīšanai parasti izmanto ciklonus vai dažādus filtrēšanas paņēmienus. Jāņem vērā, ka filtrēšanu apgrūtina ogļu daļiņu un pirolītiskā lignīna mijiedarbība, kas veido gēlveida fāzi, kas nobloķē filtrus. Pirolīzes šķidro produktu īpašības ietekmē gāzu izejas temperatūra no iekārtas. Pazeminoties šai temperatūrai, kondensējas vairāk gaistošo organisko savienojumu un ūdens, papildinot bioeļļas sastāvu. Šie gaistošie organiskie savienojumi pazemina bioeļļas viskozitāti un samazina tās tieksmi noslāņoties. Ja gāzu izejas temperatūra ir augstāka,

samazinās ūdens kondensēšanās, tiek iegūta bioeļļa ar mazāku iznākumu, bet lielāku viskozitāti, kas bioeļļu padara nestabilāku [3].



1.3. att. Levoglikozāna iegūšanas iekārta Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūtā [18]:
1. tvaika ģenerators, 2. ūdens sagatavošanas mezgls, 3. vadības panelis, 4. galvenais tvaika pārkarsetājs, 5. palīgpārkarsetājs, 6. barošanas bunkurs ar maisītāju, 7. termoreaktors, kurā notiek pirolīze, 8. ciklons ogļu atdalīšanai, 9. kondensators šķidro produktu savākšanai

Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūtā (LVKĶI), balstoties uz pētījumiem, kas aizsākti jau 1964. gadā, 2008. gadā uzbūvēta oriģināla eksperimentālā iekārta levoglikozāna iegūšanai ar jaudu līdz 0,4 kg koksnes stundā. Šajā iekārtā atšķirībā no klasiskās ātrās pirolīzes izejmateriāla termiskā sadalīšanās notiek ūdens tvaika vidē, tāpēc iegūtajā pirolīzes kondensātā ir augsts ūdens saturs, dominē mazmolekulārie savienojumi un tik pat kā nav ūdenī nešķīstošo darvas produktu, jo nenotiek lignīna sašķelšanās. Iegūtajā pirolīzes kondensātā starp neskaitāmajiem individuālajiem savienojumiem izceļas levoglikozāns ar augstu iznākumu – pat 60 % no celulozes masas [18]. 1.3. attēlā redzama LVKĶI pirolīzes iekārta. Kopš 2014. gada LVKĶI sadarbībā ar *Nova Pangaea Technologies Ltd.* (Lielbritānija) strādā pie pirolīzes pilotiekārtas ar jaudu līdz 15 kg lignocelulozes stundā, kā arī tiek pilnveidotas pirolīzes kondensātu analīzes metodes un levoglikozāna kā vērtīga produkta izdalīšana un attīrīšana.

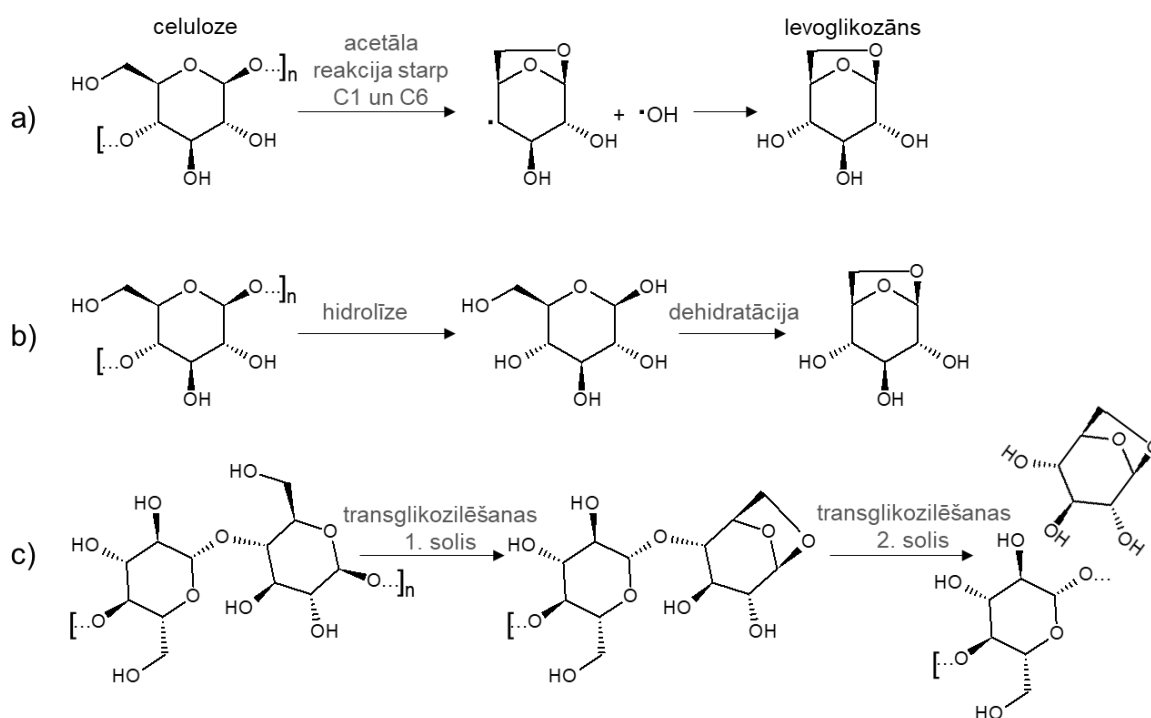
Tā kā biomasa ir sarežģīts dabas polimērs, tās pirolīze ir sarežģīts process, kas sastāv no atsevišķo biomasas komponentu – celulozes, hemiceluložu un lignīna – pirolīzes mehānismiem. Pirolīzes produktu daudzveidību ietekmē arī ekstraktvielas. Tā kā koksnes pirolīzes procesā

iesaistīts simtiem vielu, kuru rašanos ietekmē neskaitāmi faktori, nav viena ideālā pirolīzes mehānisma modeļa [2], tomēr visbiežāk biomasas pirolīzes pamatposmus raksturo pēc celulozes pirolīzes mehānisma [3].

Celuloze ir dabā visizplatītākais polimērs, kura struktūru veido ar (1→4) glikozīdiskajām saitēm savienotas glikozes vienības ar polimerizācijas pakāpi 1000-20000 (koksne 1000-2000) [19]. Atkarībā no celulozes mikrofibrillu sakārtotības izšķir kristālisko un amorfo celulozi [20]. Celulozes pirolīzi visplašāk pieņemts raksturot ar *Broido-Shafizadeh* kinētisko modeli, saskaņā ar kuru celuloze termiski sadalās divos soļos: vispirms notiek celulozes depolimerizācija, veidojot aktīvo celulozi ar polimerizācijas pakāpi 200-250 monomēru vienības, kam seko konkurējošas reakcijas, kurās veidojas ogles vai gaistošie savienojumi. Tiek piedāvātas arī šī modeļa modifikācijas, kurās notiek sekundāras gaistošo savienojumu reakcijas [21, 22].

Kopumā pie celulozes pirolīzes produktiem pieder hidroksiacetaldehīds, dažādi anhidrosaharīdi, furfuols, hidroksimetilfurfuols, furāna atvasinājumi, metanols, skudrskābe, acetons [23], bet par galveno pirmējo celulozes pirolīzes produktu tiek uzskatīts levoglīkozāns jeb 1,6-anhidro-β-D-glikopiranoze, kas rodas, depolimerizējoties celulozei – tiek sarautas (1→4) glikozīdiskās saites, kam seko iekšmolekulāra pārkārtošanās monomēru struktūrā. 1.4. attēlā redzams levoglīkozāna veidošanās brīvo radikāļu mehānisms, kurā glikozīdisko saiti šķeļ acetāla reakcija starp C-1 un C-6 atomiem, kā rezultātā no C-6 atoma rodas hidroksilradikālis, kas pievienojas sagrautajai glikozīdiskajai saitei un veido levoglīkozānu. Līdzīgi rodas arī citi anhidrosaharīdi, piemēram, anhidro-D-mannoze vai 1,6-anhidro-β-D-glikofuranoze, tomēr levoglīkozāna rašanās ir enerģētiski izdevīgāka. Levoglīkozāns, šķeļoties tā (1→6) saitei, iesaistās arī pirolīzes sekundārajās reakcijās, kā rezultātā rodas tādi savienojumi kā hidroksiacetaldehīds, formaldehīds u.c. [24], tomēr netiek noliegts, ka glikozīdisko celulozes vienību ciklu atvēršanās rezultātā hidroksiacetaldehīds rodas arī kā viens no primārajiem pirolīzes produktiem, nevis kā sekundārais pēc levoglīkozāna degradācijas [24, 25].

Bez jau pieminētā brīvo radikāļu mehānisma levoglīkozāna rašanās pirolīzes procesā aprakstīta arī ar glikozes starpsavienojuma mehānismu un levoglīkozāna ķēdes gala mehānismu. Saskaņā ar glikozes starpsavienojuma mehānismu vispirms notiek celulozes hidrolīze un rodas glikoze, no kuras dehidratācijas procesā rodas levoglīkozāns. Levoglīkozāna ķēdes gala mehānisms levoglīkozāna rašanos skaidro ar diviem transglikozilēšanas soļiem – vispirms veidojas starpsavienojums ar levoglīkozānu celulozes ķēdes galā, pēc tam levoglīkozāns atdalās no šī starpsavienojuma. Jebkurā gadījumā levoglīkozāna veidošanās no celulozes ir endotermisks process; enerģētiski visneizdevīgākais ir brīvo radikāļu mehānisms, bet visizdevīgākais – levoglīkozāna ķēdes gala mehānisms [26].



1.4. att. **Levoglikozāna veidošanās mehānismi:** a – pēc brīvo radikāļu mehānisma, b – pēc glikozes starpsavienojuma mehānisma, c – pēc ķēdes gala mehānisma [26]

Levoglikozānu iespējams iegūt ne tikai no celulozes, bet arī citiem cukuriem jeb ogļhidrātiem, un ir noskaidrots, ka levoglikozāna rašanos veicina (1→4) glikozīdiskās saites esamība izejvielas struktūrā, jo pirolīzes procesā iegūtā levoglikozāna iznākums pieaug atkarībā no izejvielas šādi: polisaharīdi > oligosaharīdi > disaharīdi > monosaharīdi. Piemēram, ja levoglikozāna iznākums no celulozes ir 59 %, tad no glikozes – tikai 10 % [27]. Jāpiebilst, ka levoglikozāna iznākumu ietekmē ne tikai izejvielas – ogļhidrāta veids, bet arī tādi faktori, kā pelnu saturs izejmateriālā, jo neorganisko sāļu – it īpaši sārmu metālus saturošu – klātbūtne veicina celulozes C-C saišu šķelšanos, tāpēc rodas vairāk dziļās degradācijas, tas ir, gāzveida produktu [16, 25]. Lai izejmateriālu atbrīvotu no pelniem, ūdenī šķīstošām ekstraktvielām, kā arī hemicelulozēm un lai novirzītu pirolīzes procesu augstāka levoglikozāna iznākuma iegūšanai, jāveic koksnes priekšapstrāde ar atšķaidītām skābēm, piemēram, sērskābi [15].

Hemicelulozes ir heterogēnu, sazarotu polisaharīdu grupa ar polimerizācijas pakāpi 100-200, tās sastāv no mannozes, glikozes, galaktozes, ksilozes un arabinozes elementārvienībām [19]. Tipiski hemiceluložu pirolīzes produkti ir etiķskābe, furfurols, furāns, furanons, metanols, formaldehīds, acetons, anhidrosaharīdi, humusvielas [23]. Salīdzinot ar celulozi, hemicelulozes ir termiski nestabilākas, jo to struktūra nav kristāliska. Glikomannānu (skujkokos) pirolīzes produkti ir līdzīgi celulozes pirolīzes produktiem, bet ksilānu pirolīzes produktiem raksturīgs augstāks ogļu iznākums, bet mazāk tipisko depolimerizācijas produktu kā levoglikozāna [25].

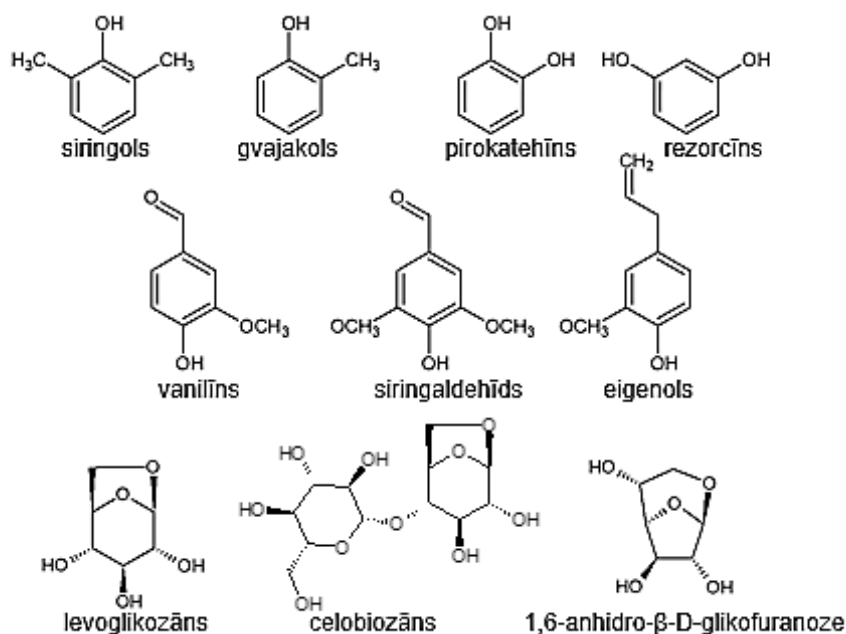
Lignīns aiz celulozes ir dabā otrs izplatītākais polimērs, tomēr tā struktūra nav skaidri zināma, jo no dabas objektiem nav iespējams izdalīt ķīmiski neizmainītu lignīnu. Lignīna makromolekulas struktūras pamatā ir ar dažādām funkcionālajām grupām atvasinātas fenilpropānvienības. Visbiežāk sastopamā funkcionālā grupa ir metoksigrupa $-OCH_3$, kuras saturs lignīnā ir atkarīgs no biomasas veida [19]. Galvenie mazmolekulārie fenola pirolīzes produkti ir 2-metoksifenoli, 2,6-dimetoksifenoli, kateholi, metanols, dažādi aromātiski savienojumi, furfurols, etiķskābe, acetons [23], bet rodas arī lieli oligomēri jeb pirolītiskais lignīns ar molmasu $650-1300 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ [25]. Lignīna pirolīze sākas ar tā termisko mīkstapšanu zemā temperatūrā jau zem $200 \text{ }^\circ\text{C}$, bet lignīna termiskā destrukcija notiek augstākā temperatūrā, nekā nepieciešams celulozei. Lignīna pirolīzes procesā rodas vairāk ogļu nekā no holocelulozes (celuloze + hemicelulozes) [25].

1.3. Pirolīzes kondensātu raksturojums

Koksnes pirolīzes kondensējamajiem produktiem atkarībā no iegūšanas procesa, pielietojuma un fizikālajām īpašībām mēdz lietot dažādus apzīmējumus, piemēram, pirolīzes šķidrums, koksnes šķidrums, pirolīzes eļļa, bioeļļa, koksnes eļļa, šķidrie dūmi, pirolītiskā darva, šķidrā koksne u.c. Neapstrādāti koksnes pirolīzes kondensējamie produkti veido tumšas krāsas (visbiežāk tumši brūnu) viskozu šķidrums ar raksturīgu skābu, dūmiem līdzīgu aromātu [25]. Atkarībā no sākotnējā izejmateriāla un pirolīzes režīma pirolīzes šķidrums krāsa var variēt no gandrīz pilnīgi melnas līdz sarkanbrūnai vai tumši zaļai, ko ietekmē mikroskopisku ogļu daļiņu klātbūtne un ķīmiskais saturs, piemēram, augsts slāpekļa saturs var radīt tumši zaļu nokrāsu. Kondensāti, ko iegūst ātrās pirolīzes gaitā, būtiski atšķiras no lēnās pirolīzes šķidrājiem produktiem, kas vairāk atgādina darvu – eļļainu, tumšu šķidrums ar asu smaku. Pirolīzes šķidrumus var uzskatīt par mikroemulsiju, kurā par dispersijas vidi kalpo holocelulozes sadalīšanās produktu ūdens šķīdums, kas, piemēram, caur ūdeņraža saitēm, stabilizē dispersijas fāzi, kura sastāv no pirolītiskā lignīna makromolekulām. Tiek uzskatīts, ka pirolīzes kondensātu novecošanās vai nestabilitāte ir šīs emulsijas sadalīšanās rezultāts. Pirolīzes kondensātus ar zemu ūdens saturu parasti sauc par bioeļļu, kas ir ūdenī nešķīstoša, bet tā jauca ar polāriem šķīdinātājiem kā metanolu, acetonu, bet nejauca ar naftas izcelsmes produktiem [3].

Pirolīzes kondensātu elementārais sastāvs ir līdzīgs izejmateriāla biomasas sastāvam – 25-45 % ogleklis, 1-6 % ūdeņradis, > 1 % slāpekļis un 45-70 % skābeklis [28-30]. Pirolīzes kondensātu sarežģīto sastāvu nosaka katra koksnes vai citas biomasas komponenta – lignīna, celulozes, hemiceluložu un ekstraktvielu – pirolīzes produkti, tāpēc kondensātos ir plašs fenolu, cukuru atvasinājumu un citu savienojumu klāsts. Iespējama arī no pelniem radušos cieto ogļu daļiņu un sārmu metālu klātbūtne [3].

Pirolīzes produktu sastāvu ietekmē par izejmateriālu izmantotās biomasas suga, siltuma pārneses ātrums un ogļu temperatūra pirolīzes laikā, ogļu atdalīšanas paņēmiena efektivitāte, šķidro produktu kondensēšanas aprīkojuma efektivitāte, kondensāta filtrēšana, ūdens klātbūtne procesā, kā arī uzglabāšanas apstākļi [31]. Starp koksnes pirolīzes produktiem atrodami daudzi vērtīgi savienojumi, tomēr to koncentrācija parasti ir tik zema, ka nav ekonomiski izdevīgi plānot individuālu savienojumu iegūšanu pirolīzes ceļā. Pirolīzes produkti pieder dažādām ķīmisko savienojumu klasēm – organiskās skābes, aldehīdi, ketoni, spirti, esteri, anhidrosaharīdi, furāni, fenoli, gvajakola un siringola atvasinājumi, slāpekli saturoši savienojumi, kā arī lielmolekulāri oligomēri (anhidro-oligosaharīdi un lignīna atvasinājumi) [25].

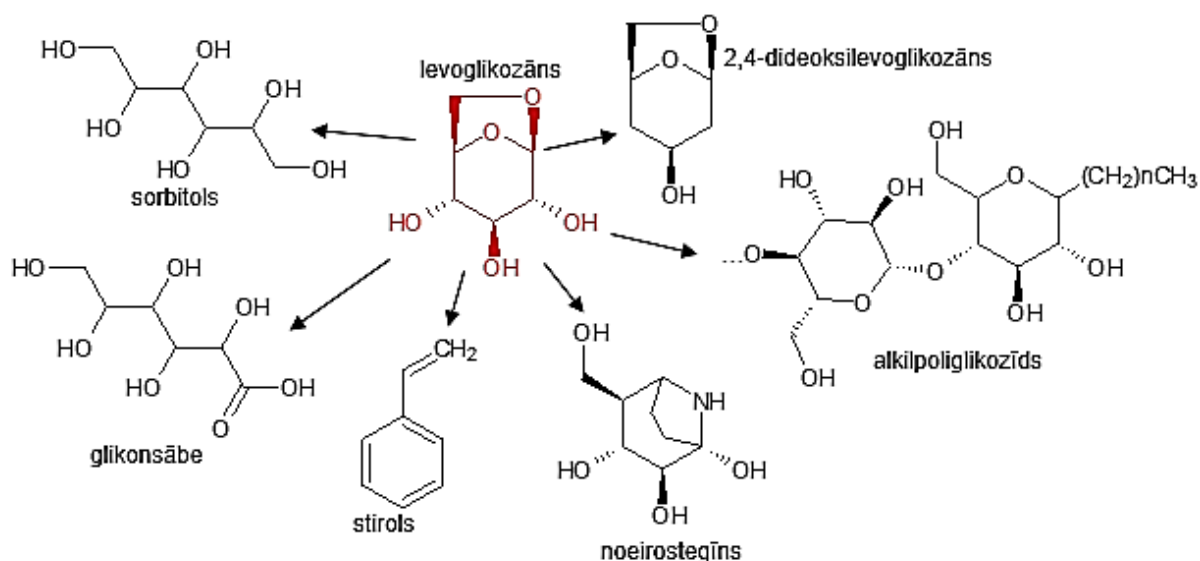


1.5. att. Pirolīzes kondensātos biežāk sastopami savienojumi

1.5. attēlā redzamas bioeļļā visbiežāk sastopamo individuālo savienojumu struktūrformulas, t.sk., fenolu atvasinājumi – gvajakols, pirokatehīns, rezorcīns, siringols, eigenols, vanilīns un siringaldehīds [32], kā arī anhidrosaharīdi – levoglukoziāns, celbioziāns un 1,6-anhidro-β-D-glikofuranoze. Vēl sastopami tādi savienojumi kā skudrskābe, etiķskābe, metanols, formaldehīds, hidroxiacetaldehīds, glioksāls, furāns, furfurols un mazākā koncentrācijā arī taukskābes (no ekstraktvielām) [3]. Lai gan levoglukoziāns viennozīmīgi ir galvenais celulozes pirolīzes produkts, ir pierādīta arī citu anhidrosaharīdu klātbūtne pirolīzes kondensātos, tai skaitā, anhidrodisaharīdi (324 Da), anhidrotrisaharīdi (486 Da) un zīmju līmenī arī anhidrotetramēri (648 Da) un pentamēri (810 Da) [21].

1.4. Levoglikozāna iegūšanas aktualitāte

Levoglikozāns jeb 1,6-anhidro- β -D-glikopiranoze ir no celulozes iegūstams anhidrosaharīds – balta, kristāliska, ūdenī šķīstoša viela ar ierobežotu šķīdību organiskos šķīdinātājos [33]. Levoglikozānu iespējams hidrolizēt un iegūt glikozi vai fermentēt, lai ražotu bioetanolu [34, 35], tomēr, pateicoties tā specifiskajai struktūrai ar vairākiem hirāliem oglekļa atomiem, levoglikozānam ir potenciāls tikt izmantotam par izejvielu dažādu „zaļo ķīmikāliju” ar augstu pievienoto vērtību ražošanā. Turklāt anhidrogrupas dēļ levoglikozāna molekula ir stabilāka, nekā glikozes molekula, tāpēc tas ir sevišķi piemērots specifisku ķīmisko produktu sintēzēm [36], piemēram, makrolīdu antibiotikās [37].



1.6 att. No levoglikozāna iegūstami vērtīgi savienojumi

Visbiežāk levoglikozānu iesaista polimerizācijas reakcijās, lai iegūtu dekstrānus vai dekstrīnus pārtikas piedevām vai kopolimērus materiālu ķīmijā (piemēram, poliols un poliuretānos), bet levoglikozāns var tikt pakļauts dažādām ķīmiskajām pārvērtībām – cikla atvēršanai, skābes vai bāzes katalizētai polimerizācijai, fermentācijai, hidrolīzei, reakcijām ar augstākajiem spirtiem vai hirālai sintēzei [23]. Pēdējos gados aprakstīti procesi, kuros no levoglikozāna iegūst saldinātāju sorbitolu [38], kosmētikā pielietojamo poliglikozīdu [39], glikozidāzes inhibitorus 2. tipa diabēta ārstēšanai [40], levoglikozāna deoksiatvasinājumu, kas izmantojams kā izejviela antibiotiku sintēzei [41], bioatjaunojamu stirolu [42] un glikonskābi [43].

Pagaidām komerciāli pieejamo levoglikozānu samērā nelielos apjomos iegūst, veicot cietes pirolīzi, tomēr šai metodei ir tehnoloģiski trūkumi – ciete kūst un reaktorā atstāj grūti atdalāmas ogļu nogulsnes, līdz ar to arī levoglikozāna – it sevišķi augstas tīrības – cena ir augsta (*Sigma-Aldrich* katalogā 1 g levoglikozāna ar tīrību 99 % maksā 85,80 eur). Ievērojami

palielinot levoglīkozāna ražošanas apjomu, samazinātos tā cena un levoglīkozāns veiksmīgi iesaistītos tirgus konkurencē ar citiem cukuriem un to atvasinājumiem [44]. Levoglīkozāns ir starp „top 30” biomasas izcelsmes savienojumiem ar augstu pievienoto vērtību [45], tāpēc augstas tīrības levoglīkozāna ražošana šobrīd ir ļoti aktuāla [46].

1.5. Pirolīzes kondensātu frakcionēšana

Lai veiktu ķīmisko savienojumu ražošanu no biomasas, ir jāatrisina savienojumu izdalīšanas problēma, pirmkārt, identificējot produktus un blakusproduktus un, otrkārt, noskaidrojot, kā šos savienojumus savstarpēji atdalīt. Biomasas pārstrādes procesā rodas plašs savienojumu klāsts, tomēr pirolīzes produktus var nosacīti iedalīt divās galvenajās daļās [32]:

- * ogļhidrāti un to atvasinājumi (cukuri);
- * fenola atvasinājumi (fenoli).

Šo savienojumu grupu atdalīšana ir būtiska pirolīzes produktu tālākai izmantošanai, jo cukuri pirolīzes kondensātu (bioeļļu) padara lipīgu, izraisa pārogļošanas un citas problēmas, savukārt fenola atvasinājumi traucē cukuru frakcijas fermentēšanu bioetanola iegūšanai, jo tie ir toksiski mikroorganismiem [32]. Jāpiemin, ka ne vienmēr nepieciešams atdalīt individuālu savienojumu, piemēram, no lignīna iegūtos monofenola atvasinājumus var izmantot, lai daļēji aizstātu fenolu fenola-formaldehīda sveķu ražošanā [25].

Tā kā šo divu savienojumu grupu šķīdība ūdenī un organiskajos šķīdinātājos ievērojami atšķiras, var veikt pirolīzes produktu sadalīšanu, pamatojoties uz to šķīdību [47]. Tipiski bioeļļā ūdens saturs ir 15-50 %, kas nodrošina stabilu vienfāzes sistēmu, bet, pievienojot noteiktu ūdens daudzumu, notiek fāžu atdalīšanās [3]. Pirolīzes produktu ūdenī nešķīstošajā frakcijā ietilpst lielmolekulārie savienojumi, kas ir galvenokārt lignīna atvasinājumi jeb pirolītiskais lignīns. Ūdenī šķīstošā daļa sastāv no mazmolekulāriem savienojumiem – karbonilskābēm, spirtiem, aldehīdiem, ketoniem, cukuriem un fenolu tipa savienojumiem [48]. Ūdenī nešķīstošos lielmolekulāros savienojumus var atdalīt skalojot [49]. LVKĶI pirolīzes produkti iegūti, kondensējot pārkarsētā ūdens tvaika plūsmu, tāpēc kondensātos ir augsts ūdens saturs un tikpat kā nav lielmolekulāro savienojumu.

Cukuru frakcijas attīrīšanai no mazmolekulārajiem piemaisījumiem ir izmantotas dažādas klasiskās metodes kā izgulsnēšana, šķīduma-šķīduma ekstrakcija, kolonnas hromatogrāfija [49], bet, piemēram, destilācija bioeļļas termiskās nestabilitātes dēļ nav piemērota metode [32]. Lai gan ekstrakcija ūdens un hloroforma šķīdumos ir klasiska metode, kas ļauj attīrīt cukuru frakciju [50], organiskā reaģenta kaitīguma dēļ tā nav vēlama. Mūsdienīgāka ekstrakcijas metode ir superkritiskā CO₂ šķīduma ekstrakcija, kas ir piemērota termiski nestabilu savienojumu atdalīšanai, turklāt CO₂ ir salīdzinoši netoksisks,

neuzliesmojošs, nekorozijs, lēts un plaši pieejams reaģents [51]. Ekstrakcija ar superkritisko CO₂ ļauj no pirolīzes produktiem atdalīt furāna, pirāna un fenola atvasinājumus [52].

Šajā darbā likts uzsvārs uz levoglīkozāna izdalīšanu no pirolīzes kondensātiem un attīrīšanu. Levoglīkozāna ražošanu kavē grūtības no pirolīzes produktiem izdalīt kristālisku levoglīkozānu. Turklāt ir grūti attīrīt ne tikai no koksnes iegūtu levoglīkozānu, bet arī no tīras celulozes iegūtu levoglīkozānu [44]. Ir aprakstīta levoglīkozāna attīrīšana ar vairākkārtēju kristalizāciju, izmantojot dažādus šķīdinātājus (n-butanols, etanols, acetons), attīrīšana ar jonītiem vai aktīvo ogli [16]. Lai levoglīkozānu izmantotu fermentatīvai cukuru iegūšanai (bioetanola ražošanai), var izmantot salīdzinoši zemas tīrības levoglīkozānu, bet speciālu ķīmisku savienojumu ražošanai nepieciešama kristāliska izejviela ar augstu tīrību [44]. Tā kā pārtikas nozarē cukura attīrīšanai ir labi zināma jonu apmaiņas sveķu metode, šajā darbā anhidrocukurs levoglīkozāns no pirolīzes kondensātiem izdalīts ar dažādām jonu apmaiņas sveķu kolonnām.

1.6. Cukuru atdalīšana ar jonu apmaiņas sveķiem

Jonu apmaiņas sveķi pieder cieto, sintētisko, organisko jonu apmaiņas sorbentu grupai. Jonu apmaiņas sorbenti jeb jonīti ir praktiski nešķīstošas vielas, kas var ar elektrolītu šķīdumiem apmainīt jonus. Jonu apmaiņa starp jonītu un šķīdumu notiek ekvivalentos daudzumos un ir apgriezeniska [53]. Par jonu apmaiņas sorbentiem var izmantot dažādus materiālus: modificētu organisko polimēru sveķus; modificētus silikagelus; neorganiskus sāļus, piemēram, polifosfātus; stiklus; ceolītus; metālu oksīdus, piemēram, Al₂O₃; celulozes atvasinājumus [54]; kā arī aktīvo ogli [53]. Jonu apmaiņas sorbentu iedalījums pēc izcelsmes un uzbūves parādīts 1.1. tabulā.

1.1. tabula

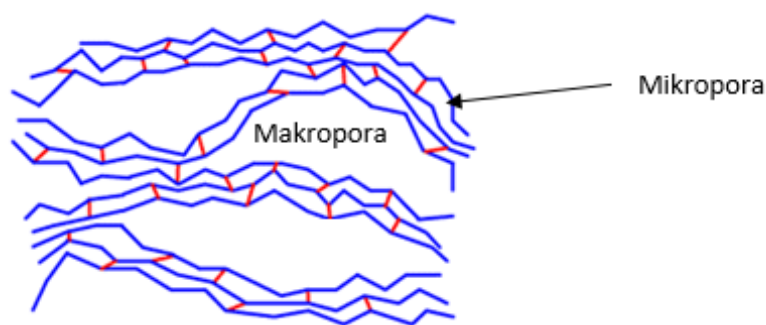
Jonītu iedalījums pēc izcelsmes un uzbūves [53]

	Dabiskie jonīti	Sintētiskie jonīti
Neorganiskie jonīti	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ceolīti ▪ mālu minerāli ▪ glaukonīti ▪ apatīti 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ kausētie ceolīti ▪ ceolīti ar regulāru kristālisku struktūru (molekulārie sieti) ▪ gēlveida ceolīti ▪ aktīvā ogle ▪ dzelzs, alumīnija vai cirkonija hidroksīdi vai oksīdi
Organiskie jonīti	<ul style="list-style-type: none"> ▪ akmeņogles ▪ celuloze ▪ ciete 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ aktivētas organiskās vielas: vilna, kokvilna, papīrs, koksne ▪ jonu apmaiņas sveķi ▪ jonu apmaiņas membrānas ▪ elektronu apmainītāji ▪ šķīdrie jonīti

Jonu apmaiņas sveķus izmanto analītiskajā ķīmijā mazu vielu daudzumu noteikšanai ar šķidrums hromatogrāfijas metodēm, kā arī vielu attīrīšanai rūpnieciskos apmēros [55]. Jonu

apmaiņas sveķu priekšrocības ir augsta ķīmiskā izturība, mehāniskā stiprība un selektivitāte uz atsevišķiem joniem. Jonu apmaiņas sveķus sintezē, radot ūdenī un citos šķīdinātajos nešķīstošu trīsdimensiju lielmolekulāro karkasu (matricu) ar aktīvajām grupām. To panāk, ar dažādu tiltiņus veidojošu vielu starpniecību sašujot lineārus lielmolekulāros savienojumus telpiskā režģī. Visbiežāk lielmolekulārā karkasa iegūšanai izmanto stirola kopolimērus ar divinilbenzola (DVB) vai citu divinilgrupu saturošu savienojumu tiltiņiem [53]. Otra tipiskā matricas veida pamatā ir akrila polimēri. Galvenā atšķirība starp stirola un akrila polimēriem ir to polaritāte: polistirola-DVB polimēri ir pilnīgi nepolāri, bet akrila polimēri ir salīdzinoši polāri [54].

Jonu apmaiņas sveķu ražošanā, polimerizējoties stirolam (vai, piemēram, akrilskābei), rodas garas polimēru molekulas. Šīs lineārās molekulu ķēdes nav fizikāli izturīgas, tāpēc, lai polimēriem piešķirtu stabilu trīsdimensionālu struktūru, polistirola ķēdes polimerizācijas gaitā tiek sašūtas ar DVB tiltiņiem. Polimerizācijā iesaistot vairāk DVB molekulu, tiek iegūti izturīgāki polimēri [56]. DVB sveķu struktūrā tiek izvietots regulāri, tāpēc starp polistirola ķēdēm veidojas tukšumi jeb poras, kuru izmērs ir daži Å. Sveķiem piemīt pseidokristāliska struktūra – līdzīga kā stiklam –, tāpēc gatavas jonu apmaiņas sveķu lodītes ir caurspīdīgas. Tā kā lielāka DVB koncentrācija polimēra struktūrā poras var samazināt līdz tādām izmēram, ka joniem tajās nav vietas, tad trīsdimensionālajā struktūrā tiek radīta mākslīga porainība (makroporas). Makroporainiem sveķiem piemīt divējāda porainība, un to lodītes ir necaurspīdīgas [56]. 1.7. attēlā shematiski parādīta makroporaino jonu apmaiņas sveķu uzbūve.

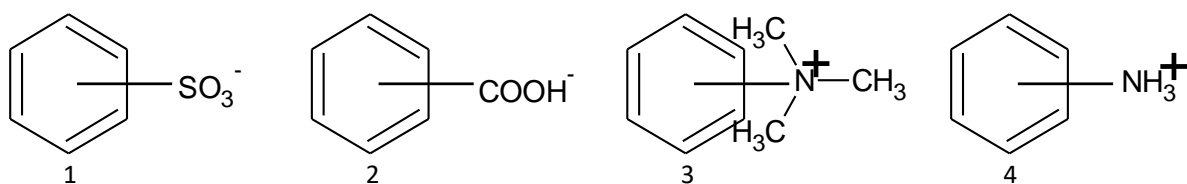


1.7. att. Shematiska jonu apmaiņas sveķu uzbūve. Zilās līnijas parāda polistirola ķēdes, bet sarkanās attēlo divinilbenzola tiltiņus [56]

Makroporaino sveķu porainība ir pastāvīga, bet mikroporainos jeb gēlveida sveķus par porainiem uzskata tikai tad, kad tie ir uzbrieduši [55]. Jo vājāk saistītas polimēru ķēdes, jo labāk sveķi uzņem ūdeni un uzbriest. Uzbriestot aktīvās grupas disociē kustīgajos apmaināmajos jonus (pretjonus) un nekustīgajos ar matricu saistītajos jonus. Pēc pretjonu tipa izšķir H^+ , Ca^{2+} , Na^+ , Cl^- , OH^- formas u. c. jonu apmaiņas sveķus. Uzbriešanas pakāpi ietekmē hidrofilo grupu klātiene un vienādi lādēto jonu savstarpējā atgrūšanās, uzbriešanu ierobežo šķērssaišu daudzums polimēra matricas trīsdimensiju režģī. Mikroporainiem jonītiem uzbriestot, to poru

efektīvais lielums atkarībā no šķērssienu daudzuma izmainās no 0,6 nm līdz 3 nm, bet makroporainiem jonu apmaiņas sveķiem šis lielums sasniedz 64,5 nm un vairāk. Lielāks poru izmērs veicina lielu organisko molekulu piekļūšanu sorbenta aktīvajām grupām. Makroporainie jonu apmaiņas sveķi sorbcijas procesā gandrīz neizmaina savu tilpumu, jo šķīdumā esošie joni brīvi iekļūst matricā, neradot vērā ņemamu karkasa izstiepšanos [53].

Lai polimēra matricu izmantotu kā jonu apmaiņas sveķus, tā jāaktivizē, pievienojot noteiktas funkcionālās grupas. Lai vielu difūzija porās nekļūtu par limitējošu faktoru, funkcionālās grupas novieto tuvu sveķu daļiņu (lodīšu) virsmai [57]. Atkarībā no pievienotajām funkcionālajām grupām sveķus iedala četrās grupās – stipri skābi katjonīti, vāji skābi katjonīti, stipri bāziski anjonīti un vāji bāziski anjonīti. Katjonītiem ir negatīvi lādētas funkcionālās grupas ar skābes īpašībām, bet anjonītiem – pozitīvi lādētas funkcionālās grupas ar bāzes īpašībām [55]. 1.8. attēlā redzamas tipiskākās jonu apmaiņas sveķu funkcionālās grupas: stipri skābiem katjonītiem sulfogrupas, vāji skābiem katjonītiem karboksilgrupas, stipri bāziskiem anjonītiem četraizvietotās amonija grupas, vāji bāziskiem anjonītiem aminogrupas.



1.8. att. **Jonu apmaiņas sveķu funkcionālās grupas.** 1 – stipri skābi katjonu apmaiņas sveķi, 2 – vāji skābi katjonu apmaiņas sveķi, 3 – stipri bāziski katjonu apmaiņas sveķi, 4 – vāji bāziski katjonu apmaiņas sveķi

Attīrīšana ar jonu apmaiņas sveķiem tiek plaši izmantota liela apjoma cukurniedru cukura (pārtikas cukura, saharozes) rūpniecībā [58-60]. Cukura rafinēšanai var izmantot arī aktīvo ogli, bet, tā kā aktīvās ogles reģenerēšanai (karsējot) ir nepieciešams liels siltumenerģijas daudzums, priekšroka tiek dota jonu apmaiņas sveķiem, ko var reģenerēt ar sāļu šķīdumiem [49,61]. Termiņš „krāsa” cukura kontekstā ir vispārīgs apzīmējums krāsainiem piemaisījumiem, kas ietver dažādas ķīmisko savienojumu klases. Vispārīgi cukura krāsu raksturo pēc ICUMSA (*International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis*) metodes, mērot gaismas absorbciju pie viļņa garuma 420 nm [62].

Lielākā daļa krāsaino pārtikas cukura piemaisījumu ir polāri, hidrofobi savienojumi. Var minēt četras galvenās piemaisījumu grupas – augu pigmenti, melanoidīni, saharozes degradācijas produkti (karamelizācija) un fruktozes degradācijas produkti [63]. Augu pigmenti pieder polifenolu un flavonoīdu klasēm ar salīdzinoši zemām molmasām ($M_w < 1000$). Melanoidīni ir Majāra reakcijas produkti, kas rodas ražošanas procesā, tiem ir augstāka

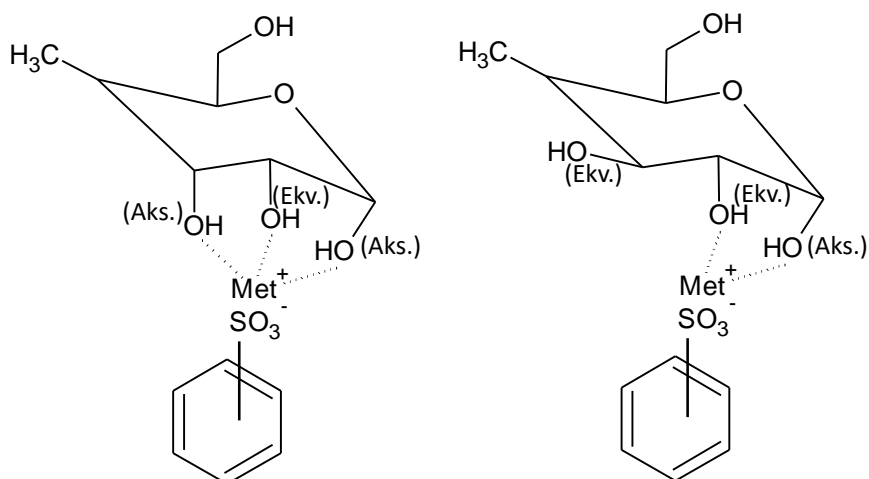
molmasa ($M_w > 2500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Piemaisījumu atdalīšanai parasti izmanto stipri bāziskos anjonu apmaiņas sveķus ar četrreizvietoto amīnu funkcionālajām grupām Cl^- formā [64, 65]. Matrica ir veidota no polistirola-DVB vai akrilskābes atvasinājumu polimēra. Polistirola sveķi parasti ir selektīvāki aromātisko grupu saturošu savienojumu atdalīšanai, bet tos ir grūtāk reģenerēt. Akrilskābes atvasinājumu polimēru saturošie sveķi ir polārāki, tiem raksturīga sliktāka selektivitāte, bet tos var vieglāk reģenerēt [59, 64]. Nav vienprātības par piemaisījumu atdalīšanas mehānismiem. Pēc jonu apmaiņas principa hlorīdjoni tiek apmainīti ar piemaisījumu anjonu tipa funkcionālajām grupām [65] vai arī hlorīdjoni vispirms tiek apmainīti ar maisījumā esošajiem neorganiskajiem joniem vai maza izmēra jonizētām organiskajām vielām, ko tikai pēc tam aizvieto lielās organiskās molekulas [66]. Tiek uzskatīts, ka par jonu apmaiņas mehānismu svarīgāka ir adsorbēcija uz sveķu matricas polimēra (hidrofobā mijiedarbība un van der Vālsa spēki) un eksklūzija atkarībā no molekulu izmēra [58], bet funkcionālo grupu uzdevums ir padarīt sveķus hidrofilākus, lai tie mijiedarbotos ar ūdens šķīdumiem [64].

Pēc ilgstošas lietošanas sveķi kļūst piesātināti ar krāsainajiem piemaisījumiem un tie jāreģenerē ar NaOH vai NaCl šķīdumu vai bāzisku saharozes šķīdumu [67]. Nav novērots, ka lietošanas un reģenerēšanas laikā sveķu lodītēm rastos būtiski fizikāli bojājumi [58]. Galvenā problēma, kas rodas, izmantojot anjonu apmaiņas sveķus, ir lielais reģenerēšanas eluāta, kurā kopā ar piemaisījumiem ir reģenerēšanas reaģents, apjoms. Ir pieejamas modificētas membrānas, ar kurām no reģenerēšanas eluāta var atdalīt NaCl [49], lai sāli atkārtoti izmantotu reģenerēšanai un meklētu praktisku pielietojumu no cukura atdalītajiem piemaisījumiem, tai skaitā dabiskajiem antioksidantiem [68].

Saistībā ar koksnes izcelsmes cukuru un citu savienojumu atdalīšanu aprakstīta gan anjonu, gan katjonu apmaiņas sveķu izmantošana [69-71], piemēram, koksnes biomasas hidrolīzes produktu gadījumā, ar anjonu apmaiņas sveķiem atdalot cukurus no furāniem [72] vai glikozi no etiķskābes un ar katjonu apmaiņas sveķiem atdalot fenolus no etiķskābes [70] vai savstarpēji atdalot dažādus monosaharīdus [73].

Koksnes izcelsmes cukuru atdalīšana ar jonu apmaiņas sveķiem balstās dažādos procesos – eksklūzija, ligandu apmaiņa, hidrofobā-hidrofilā mijiedarbība, elektrostatiskā pievilkšanās un atgrūšanās u.c. Katjonu apmaiņas sveķu gadījumā lielākā nozīme ir ligandu apmaiņas mehānismam. Ligandu apmaiņa notiek, metāliem (pretjoniem) veidojot kompleksus ar cukuriem. Cukuru savstarpējā atdalīšana notiek, pateicoties dažātajām metālu-ligandu stabilitātēm. Sadalīšanas selektivitāti ietekmē sveķos izmantotā katjona ķīmiskās īpašības [74]. Monosaharīdu maisījumu sadalīšanai var izmantot stipri skābus katjonu apmaiņas sveķus Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Y^{3+} , La^{3+} , Na^+ , K^+ formās. Turklāt kompleksu veidošanos ietekmē $-\text{OH}$ grupu

novietojums [75]. 1.9. attēlā ilustrēta metāla un cukura kompleksa veidošanās, ja atšķiras aksiāli un ekvatoriāli novietoto hidroksilgrupu skaits.



1.9. att. Metāla un cukura kompleksa veidošanās atkarībā no –OH grupu novietojuma (Aks. – aksiālais novietojums, Ekv. – ekvatoriālais novietojums) [75]

Lietojot katjonu apmaiņas sveķus H^+ formā, notiek jonu eksklūzijas procesi, kam ir nozīme, atdalot neitrālos cukurus no jonizētajiem komponentiem – skābēm un sāļiem. Arī polimēra matricas struktūrai ir būtiska ietekme uz cukuru atdalīšanu. Ir iespējams izvēlēties tādu polimēru sastāvu, kuros poru izmērs neļauj sorbēties oligosaharīdiem, bet aiztur monosaharīdus. Oligomēri izdalās molekulārmasas samazināšanās secībā [73, 76].

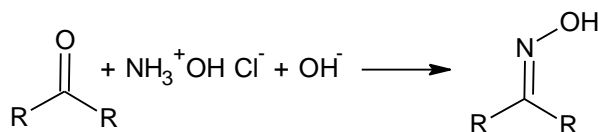
Ūdeņraža saitēm un līdz ar to vides pH nav noteiktas lomas cukuru sorbcijas procesos, it sevišķi stipri skābo katjonu apmaiņas sveķu gadījumā, jo tie parasti veidoti uz polistirola bāzes. Savukārt, vāji skābie katjonu apmaiņas sveķi biežāk ir veidoti no akrilskābes atvasinājumu polimēra, kas ir daudz hidrofilāka nekā polistirola struktūra, tāpēc cukuru atdalīšanu ar vāji skābajiem katjonu apmaiņas sveķiem var ietekmēt arī hidrofobā-hidrofilā mijiedarbība. Piemēram, aldozēs un ketozēs ir par vienu hidroksilgrupu vairāk nekā deoksicukuros, līdz ar to aldozes un ketozes ir hidrofilākas. Hidrofobākie cukuri, piemēram, deoksi- vai metilsaharīdi netiek aizturēti tik ilgi kā hidrofilāki cukuri [73]. Pavisam nesen parādījusies jauna zinātniskā literatūra par levoglukoza atdalīšanu no bioeļļas frakcijas, izmantojot adsorbcijas hromatogrāfiju, t.i., nefunkcionalizētus sveķus, kam pamatā ir fenolu spēcīgā mijiedarbība ar sveķu DVB matricu [77].

1.7. Pirolīzes kondensātu analīzes metodes

Pirolīzes kondensātu sastāva noteikšana ir būtiska gan gala patērētājiem, lai prognozētu to atbilstību noteiktam pielietojumam, piemēram, kā degvielai dzinējos vai boileros [78], gan lai izdarītu secinājumus par pirolīzes mehānismiem [79] un kontrolēt pirolīzes produktu

kvalitāti, izstrādājot jaunas termokīmiskās koksnes pārstrādes tehnoloģijas. Tā kā pirolīzes kondensātu sastāvā ir vairāki simti dažādu savienojumu, to noteikšanai nav vienotas vispusīgas analīzes metodes, bet gan katrai savienojumu klasei piemērotas atšķirīgas metodes. Gāzu hromatogrāfiju visbiežāk izmanto individuālu savienojumu noteikšanai, bet ar augstefektīvo šķidrums hromatogrāfiju analizē atsevišķas savienojumu grupas. Pirolīzes kondensātus var analizēt arī, izmantojot plānslāņa hromatogrāfiju, cietfāzes ekstrakciju, kā arī C-13 kodolmagnētisko rezonansi ($^{13}\text{C-NMR}$) vai klasiskās fizikāli ķīmiskās metodes dažādu funkcionālo grupu noteikšanai, bet molmasu sadalījumu nosaka ar gēlfiltrācijas hromatogrāfiju. Analīžu pareizību visvairāk var ietekmēt paraugu homogenitāte, kā arī tas, ka pirolīzes produktiem, kas iegūti no dažādiem izejmateriāliem var būtiski atšķirties šķīdība [78].

Karbonilgrupu noteikšanai var izmantot ķīmisko metodi, kuras pamatā ir 1.10. attēlā redzamā karbonilgrupu reakcija ar hidroksilamīna hidrohlorīdu (aprēķinos izsaka kā furfurolu). Šī reakcija ir specifiska, un to neietekmē citi pirolīzes šķidrums sastāvā esošie savienojumi [78]. Pirolīzes kondensātiem mēdz noteikt skābes skaitli (TAN), ko izsaka kā titrēšanai patērēto kālija hidroksīdu [mg] uz vienu gramu parauga. Skābes skaitlis tieši nekorelē ar organisko skābju saturu paraugā, jo arī fenola atvasinājumi tiek neitralizēti ar kālija hidroksīdu. Titrēšanai izmantojot tetrabutil amonija hidroksīdu (TBAOH), titrēšanas līknēs var novērot divus lēcienus, no kuriem pirmais atbilst kopējam karboksilgrupu skaitlim (CAN) (fenoli un skābes), bet otrs – TAN. Šajā gadījumā fenolu saturu (PhAN) rēķina kā starpību starp otro un pirmo lēcienus un arī izsaka $\text{mg KOH}\cdot\text{g}^{-1}$ [80]. Pēdējā laikā par ieteicamo pirolīzes produktu titrēšanas metodi ir izvirzīta titrēšana ar TBAOH, tomēr ir novērots, ka starplaboratoriju testos pieņemami sakrīt tikai CAN rezultāti, bet ne TAN [81], turklāt metodes pareizību būtiski ietekmē atbilstoša parauga iesvara izvēle [82].



1.10. att. Karbonilgrupu reakcija ar hidroksilamīna hidrohlorīdu

Ūdens saturu pirolīzes produktos var noteikt gravimetriski (iztvaicējot) vai ar Karla-Fišera metodi. Ūdens noteikšanai ar Karla-Fišera metodi iespējami dažādi kļūdu cēloņi, piemēram, nepilnīga parauga homogenizācija vai slikta parauga šķīdība [48]. Tā kā LVKĶI paraugos ir liels ūdens saturs, tika izmantota gravimetriska sausnes noteikšana, jo varēja ņemt lielākus un reprezentatīvākus paraugus.

Kopējai fenolu noteikšanai izmanto spektrofotometriskās metodes, piemēram, ar Folina-Čikalto (*Folin-Ciocalteu*) reaģentu, kas satur molibdēna un volframa oksīdus [32]. Bāziskā vidē fenoli reducē Folina-Čikalto reaģentu (reakciju mehānisms nav skaidri zināms), kā rezultātā

šķīdums iegūst zilu krāsu un tiek mērīta absorbcija pie 765 nm viļņa garuma. Metodes trūkums ir iespēja, ka rezultātu ietekmēs citi paraugā esoši savienojumi, piemēram, reducējošie cukuri [83]. Savukārt, cukuru kopējo saturu var noteikt pēc pārtikas ķīmijā lietotās „Brix” metodes, izmantojot hidrometru, taču pirolīzes kondensātu gadījumā iegūt pareizus rezultātus traucē hidroksilaldehīdu un hidroksilketonu klātbūtne [84].

Visplašākās pirolīzes kondensātu analīzes iespējas sniedz dažādas hromatogrāfijas metodes, tomēr arī tās nav nevainojamas, piemēram, aldehīdus, ketonus un spirtus var noteikt gan ar gāzu, gan šķidrums hromatogrāfiju, bet neviena metode nesniedz neapstrīdamus rezultātus, respektīvi, ir ziņots, ka starplaboratoriju prasmes pārbaudes testos iegūti atšķirīgi rezultāti [48].

Gāzu hromatogrāfija (GC) ir visplašāk izmantotā metode gaistošo pirolīzes produktu analīzei. Izmantojot gāzu hromatogrāfijas metodes, jāņem vērā, ka pirolīzes šķidrums nestabilitāte var izmainīt rezultātu, ja injektora temperatūra ir augstāka par istabas temperatūru [78]. Ar GC pirolīzes produktus var analizēt uzreiz vai vispirms sadalīt paraugu ķīmisko savienojumu grupās, piemēram, fenolos, aldehīdos vai skābēs, ko panāk, izmantojot šķīduma-šķīduma ekstrakciju vai cietfāzes ekstrakciju. Augstā GC izšķirtspēja ļauj noteikt līdz pat 200 savienojumu. Izšķiršanu būtiski ietekmē kolonnas stacionārās fāzes polaritāte. Tā kā pirolīzes šķīdumos ir savienojumi ar atšķirīgām polaritātēm, GC kolonnai vajadzētu būt vidēji polārai [85]. Lai ar GC noteiktu skābes, tās vēlamas vispirms derivatizēt par benzilesteriem, lai tās, ievadot hromatogrāfā, būtu labāk gaistošas, izņemot etiķskābi, kuru var pareizi noteikt arī bez derivatizācijas [48]. Derivatizācija ļauj ar GC noteikt arī tādus negaistošus savienojumus kā monosaharīdus [86], tomēr atvasinājumu iegūšana būtiski paildzina un sarežģī metodi. GC/MS instrumenti mēdz būt apvienoti ar analītiskās pirolīzes iekārtām, lai noteiktu pirolīzes gaistošos produktus [87,88].

Augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija (HPLC) ir vispiemērotākā polāru un augstmolekulāru savienojumu noteikšanai [78], bet tā spēj noteikt mazāk atsevišķu savienojumu nekā GC, to starpā celobiozānu, levoglikozānu, glioksālu, hidroksiacetaldehīdu, formaldehīdu, skudrskābi, etiķskābi, hidroksipropanonu [85]. No šķidrums hromatogrāfijas veidiem atsevišķi var pieminēt gēlfiltrācijas jeb eksklūzijas hromatogrāfiju, ar kuru raksturo pirolīzes kondensātos esošo lielmolekulāro savienojumu molmasu sadalījumu. Ar šo metodi raksturo paraugu novecošanās procesus, jo tiek uzskatīts, ka ar laiku vai paaugstinātas temperatūras iedarbībā pirolīzes kondensātos notiek mazmolekulāro savienojumu rekondensācijas reakcijas ar pirolītisko lignīnu, palielinot lielmolekulāro savienojumu daudzumu [85].

Lai vispusīgi raksturotu pirolīzes kondensātu sastāvu, nepieciešams izmantot vairākas analītiskās metodes, piemēram, sarkanā ozola koksnes pirolīzes produkti raksturoti ar gāzu hromatogrāfiju, augstefektīvo šķidrums hromatogrāfiju, jonu hromatogrāfiju, eksklūzijas hromatogrāfiju un Karla-Fišera titrēšanu, pēc masas noskaidrojot 92 % parauga sastāva, tai skaitā 52 individuālos savienojumus [89].

Šajā darbā veltīta uzmanība atsevišķu individuālo savienojumu noteikšanai, jo atsevišķi savienojumi ir ar augstāku pievienoto vērtību nekā vienas klases savienojumu maisījumi. Turklāt tiks izvērtēta likumsakarība starp individuālajiem savienojumiem (ar UHPLC) un savienojumu grupām (ar ķīmiskajām metodēm), lai noskaidrotu, vai atsevišķu savienojumu noteikšanas rezultātus var izmantot kā netiešu raksturojumu visas savienojumu klases saturam paraugos. Tā kā šajā gadījumā levoglīkozāns ir galvenais vērtīgais pirolīzes produkts, tālāk aprakstītas levoglīkozāna, kā arī citu cukuru atvasinājumu noteikšanas metodes.

1.8. Cukuru un to atvasinājumu noteikšana

Tā kā cukuri ir viena no perspektīvākajām savienojumu klasēm pirolīzes kondensātos, šajā darbā uzsvars likts galvenokārt uz ogļhidrātu atvasinājumu noteikšanu. Var teikt, ka cukuru analīzes metodes, piemēram, polarimetrija, aldehīdgrupu un ketogrupu oksidācija, fermentatīvās metodes un fotometrija, visplašāk izstrādātas pārtikas produktu kontekstā [90]. Pēdējos gados aprakstītas tādas metodes kā spektrofotometriska kopējo reducējošo cukuru noteikšana pēc Cu^{2+} savienojumu [91] vai heksacianoferāta [92] reducēšanas, gāzu hromatogrāfija apvienojumā ar liesmas jonizācijas detektoru pēc alditolu acetātu derivātu iegūšanas [93], augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfija [94], kapilārā elektroforēze apvienojumā ar netiešu UV spektrometriju [95] vai elektroķīmiskiem detektoriem [96] un, protams, augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija [97-99]. Tiek uzskatīts, ka pārtikas produktiem piemērotās metodes var pārnest cukuru noteikšanai biomasas pirolīzes paraugos [32], tomēr jāuzsver, ka pārtikā parasti tiek analizēti neatvasināti ogļhidrāti, lielākoties mono- vai disaharīdi, kamēr pirolīzes kondensātos biežāk sastopami cukuru atvasinājumi – anhidrosaharīdi un oligosaharīdi [29, 100-103].

Salīdzinoši retāk aprakstītas cukuru noteikšanas metodes tieši koksnes pirolīzes produktos. Klasiskā spektrofotometriskā fenola-sērskābes metode, kam pamatā ir dzeltenoranža krāsojuma rašanās ($\lambda = 490 \text{ nm}$), apstrādājot cukuru reducējošās funkcionālās grupas ar fenola un sērskābes šķīdumu, ir vienkārša, ātra metode ar zemām izmaksām [104]. Tā ļauj noteikt kopējo reducējošo cukuru daudzumu, bet tā nesniedz informāciju par individuālu savienojumu saturu, kā arī rezultātu pareizību negatīvi ietekmē furāni. Ņemot vērā, ka pirolīzes

produktos vairāk sastopami anhidrosaharīdi (nereducējoši), tad šī metode nav piemērota pirolīzes kondensātu analīzēm.

Ogļhidrātu noteikšanai GC parasti ir pielietojama tikai, ja tiek veikta analītu atvasināšana. Arī pirolīzes kondensātu gadījumā aprakstīta vairāku savienojumu kvantitatīvā noteikšana ar GC-MS, izmantojot oksīma-trimetilsililēšanas metodi [105]. Ar šo metodi pirolīzes produktos tika noteikts levoglikozāns un levomannoziāns, kā arī furfurols, HMF, hidroksiacetons un glikolaldehīds. Tomēr šīs metodes trūkums ir sarežģītā paraugu sagatavošana, kas ietver ekstrakciju ar dimetilformamīdu, karsēšanu hidroksilamīna hidrohlorīda klātbūtnē un trimetilsililēšanas reaģenta pievienošanu un secīgu karsēšanu dažādās temperatūrās.

Celobiozes pirolīzes produktu analīze ar masspektrometriju [106] iespējama bez iepriekšējas parauga sadalīšanas hromatogrāfijas vai elektroforēzes sistēmās, jo no celobiozes rodas salīdzinoši mazs produktu skaits. Pirolīzes produktus ar atmosfēras spiediena ķīmisko jonizāciju var analizēt gan pozitīvajā, gan negatīvajā režīmā, ja pievieno hloroformu vai amonija hidroksīdu. Negatīvajā režīmā no hloroforma rodas hlorīdijoni, kas saistās ar ogļhidrātiem un uzlabo to noteikšanu, bet pozitīvajā režīmā veidojas cukuru un amonija adukti.

Ir aprakstīta anhidrosaharīdu levoglikozāna un celobiozāna kvantitatīvā noteikšana ar augstefektīvo plānslāņa hromatogrāfiju, izmantojot silikagēla HPTLC plates ar ūdeni/ACN 20:80 kā kustīgo fāzi. Signāla attīstīšanai izmantots anilīna reaģents un skenēšana pie 520 nm [100]. Lai gan šī metode ir samērā lēta un ātra, salīdzinoši retā pielietojuma dēļ HPTLC aprīkojums ir maz izplatīts. Turklāt levoglikozāna noteikšanu traucē glikozes klātbūtne.

Tiek lēsts, ka ar šķidrums hromatogrāfiju var noteikt aptuveni 20 % no pirolīzes kondensātos esošajiem savienojumiem, tai skaitā, levoglikozānu un citus cukuru atvasinājumus. Piemēram, augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija pēc cietfāzes ekstrakcijas, izmantojot jonu apmaiņas kolonnu H⁺ formā ar 7,5 mM sērskābi kustīgajā fāzē, pirolīzes produktos ļāvusi noteikt levoglikozānu, skudrskābi, etiķskābi, glikolaldehīdu, acetolu un glioksālu (vienā injekcijā ar 50 min ilgu analīzi) [107]. HPLC analīzēs par piemērotāko atzīts refrakcijas indeksa detektors [107, 108]. Šajā darbā gan analītiskiem, gan preparatīviem mērķiem galvenokārt izmantotas šķidrums hromatogrāfijas metodes, tāpēc par šķidrums hromatogrāfiju izvērstāk rakstīts 1.9. apakšnodaļā.

1.9. Šķidrums hromatogrāfijas metodes cukuru analīzēm

Cukuru polaritātes dēļ to noteikšanai ar šķidrums hromatogrāfiju vajadzīgas speciālas kolonnas. Atsevišķi mēdz minēt augstefektīvo anjonu apmaiņas hromatogrāfiju – visbiežāk apvienojumā ar impulsa amperometrisko detektoru (HPAEC-PAD) [109]. HPAEC analīzēs kustīgā fāze satur elektrolītus – sāļus vai bāzes, tāpēc HPAEC tehnoloģiski atšķiras no citiem

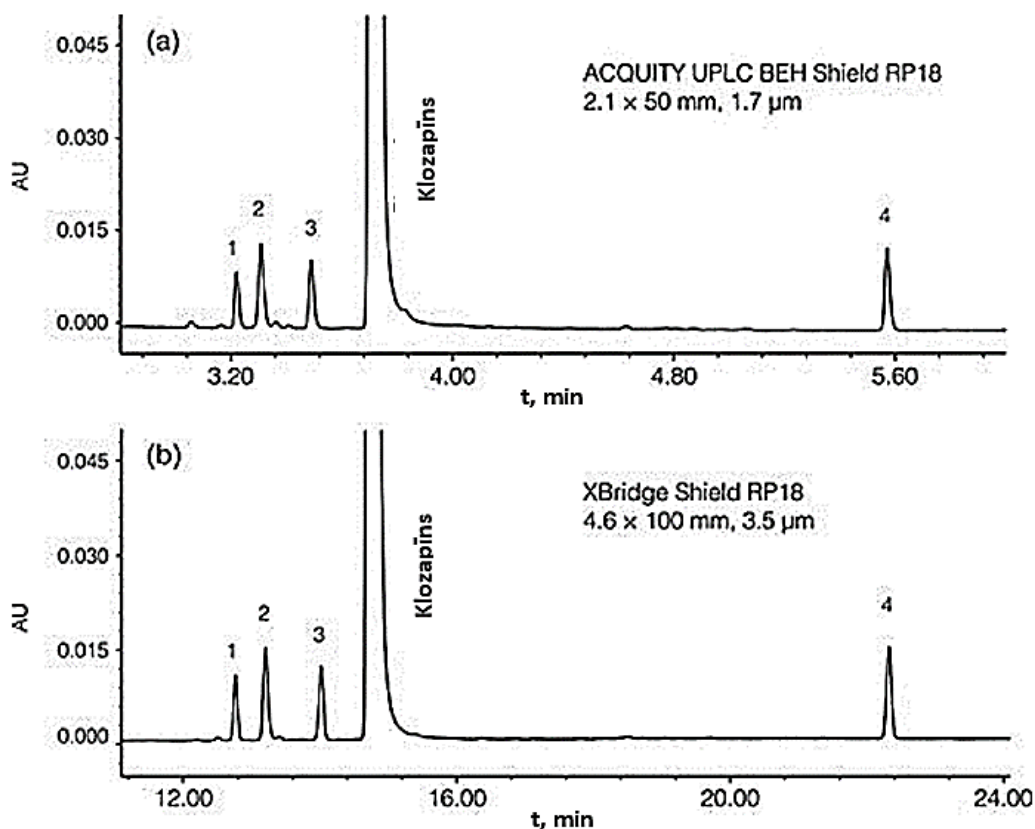
HPLC veidiem, piemēram, ar slāpējošās membrānas lietošanu [110], lai pastiprinātu analīta signālu elektroķīmisko detektoru gadījumā, vai ar atsāļotāja lietošanu, lai veiktu detektēšanu ar masspektrometru [111]. Cukuru HPAEC analīzēs parasti kustīgajā fāzē lieto NaOH, bet ir atrodama arī metode, kurā eluents ir tikai ūdens [112], savukārt vispopulārākais detektors ir impulsa amperometriskais detektors ar zelta indikatorelektrodu un Ag/AgCl references elektrodu, kam piemīt augsta jutība [62, 113].

Tipiskās apgrieztās fāzes kolonnas (kā C18) cukuru noteikšanai var izmantot tikai, veicot cukuru atvasināšanu [114]. Apgrieztās fāzes šķidrums hromatogrāfijā pamatā var minēt četrus speciālus sorbentu veidus, kas ir piemēroti cukuru analīzēm:

- * organiskie polimēri ar noteikta izmēra porām jeb sveķi, kas ļauj cukurus atdalīt pēc to molmasām,
- * jonu apmaiņas sveķi, kas ļauj atdalīt ne tikai oligomērus, bet arī izomērus, jo šie sveķi funkcionalizēti ar skābju aktīvajām grupām, kuru pretjoni (Na^+ , Ca^{2+} vai Pb^{2+}) ar cukuriem iesaistās dažādas stabilitātes kompleksu veidošanā,
- * hidrofilās mijiedarbības jeb tā sauktās „apgrieztās apgrieztās fāzes” hromatogrāfijas HILIC kolonnas, kuru sorbents atvasināts ar amino vai amīdgrupām,
- * porainā grafitveida oglekļa kolonnas.

Eksklūzijas hromatogrāfija ar hidrofila polimēra sorbentu ļauj sadalīt cukuru maisījumu ar molmasām no dažiem simtiem līdz vairākiem tūkstošiem Da. Par kustīgo fāzi parasti var izmantot ūdeni [115], un, tā kā nav gradienta sistēmas, piemērots ir refrakcijas indeksa detektors. Sorbenta pamatā ir sulfonēta polistirola sveķi, kuru H^+ pretjonu nomainot ar kādu metāla pretjonu, piemēram, Na^+ , Ca^{2+} vai Pb^{2+} , analītu atdalīšanā iesaistās arī ligandu apmaiņas mehānisms [116], padarot kolonnas selektīvākas. Ligandu apmaiņas kolonnu gadījumā cukuru maisījuma sadalīšanai kā kustīgo fāzi izmanto atšķaidītu sērskābes šķīdumu [116] vai ūdeni [117]. Ligandu apmaiņas kolonnas iespējams izmantot, lai vienlaicīgi analizētu ne tikai cukurus, bet arī organiskās skābes un atsevišķus neorganiskos sāļus [97], tomēr tām piemīt būtisks trūkums – šis sorbenta veids nav pieejams UHPLC kolonnās.

UHPLC galvenā atšķirība no HPLC ir sorbenta daļiņu izmērā – UHPLC sorbenta daļiņas ir $< 2 \mu\text{m}$ lielas, bet HPLC – $< 5 \mu\text{m}$. Praktiski tas nozīmē, ka UHPLC sistēmas var darboties augstāka spiediena apstākļos, nodrošinot īsāku analīzes laiku, mazāku šķīdinātāju patēriņu un labāku izšķiršanu. 1.11. attēlā parādīts, kā, nomainot HPLC kolonnu ar $3,5 \mu\text{m}$ lielām daļiņām pret UHPLC kolonnu ar $1,7 \mu\text{m}$ lielām daļiņām, samazinās vielu izdalīšanas laiki, bet praktiski saglabājas tā pati izšķiršana [118].

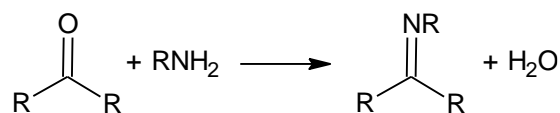


1.11. att. Klozapīna un tā piemaisījumu (joslas 1-4) hromatogrammas UHPLC (a) un HPLC (b) sistēmās [118]

Cukuru analīzēm ar apgrieztās fāzes šķidrums hromatogrāfiju jāizmanto hidrofilās mijiedarbības šķidrums hromatogrāfijas kolonnas, kas ļauj analizēt polārus, hidrofilus savienojumus. HILIC sorbcijas mehānisms ir komplekss process, bet pamatā tiek uzskatīts, ka vielu atdalīšana notiek, tām mijiedarbojoties ar pie sorbenta akumulētu ūdens slāni („pseudostacionāro fāzi”) un organisko – visbiežāk acetonitrila – kustīgo fāzi, tāpēc reproducējamus HILIC rezultātus var iegūt tikai tad, ja kustīgajā fāzē ir vismaz 2 % ūdens. Savukārt sorbenta veids vielu atdalīšanu ietekmē gan tāpēc, ka atdalāmajiem savienojumiem ir atšķirīga mijiedarbība ar dažādajām iespējamajām sorbenta funkcionālajām grupām tādām kā aminopropil-, amīdu, cviterjonu, diolu, cianopropil- u.c. grupām, gan tāpēc ka dažādi sorbenti ūdeni adsorbē atšķirīgā mērā [119]. HILIC ir ar masspektrometriju labāk savietojama metode nekā klasiskā apgrieztās fāzes šķidrums hromatogrāfija, jo HILIC izmanto kustīgo fāzi, kurā ir mazāks ūdens saturs, tāpēc tā ir gaistošāka, un tiek uzlabota MS jutība [120].

UHPLC dimensijās pieejami ar amīdu grupām funkcionizēti HILIC sorbenti, ko iesaka cukuru analīzēm [121]. Ar amīdu grupām funkcionizētās kolonnas ir izturīgas pH diapazonā no 2 līdz 11 pat 90 °C augstā temperatūrā [122], kas ir sevišķi svarīgi cukuru analīzēm, jo zemā temperatūrā mutarotācijas dēļ var notikt reducējošo cukuru hromatogrāfiskās joslas šķelšanās [123], turklāt atšķirībā no amino kolonnām starp sorbenta amīdu grupām un

analizējamajiem cukuriem neveidojas Šifa bāzes [124], kuru dēļ novēro asimetriskas hromatogrāfiskās joslas un samazinās kolonnu mūžs.



1.12. att. Šifa bāzes veidošanās starp ogļhidrātu (karbonilgrupu) un aminogrupu

Literatūrā aprakstīta ar amīdu grupām funkcionalizētu šķidrums hromatogrāfijas kolonnu izmantošana laktozes, saharozes, trehalozes, rafinozes, maltotriozes un atbilstošo fosforilēto cukuru atdalīšanai, novērojot, ka kustīgās fāzes bāziskās piedevas (NH₄OH, trietilamīns vai piperidīns) un pH maiņa tikpat kā neietekmēja nemodificēto cukuru izšķiršanu [125]. Citviet aprakstīta amīdu kolonnas izmantošana fruktozes, glikozes, saharozes, kestozes un nistozes kvantitatīvai noteikšanai apvienojumā ar tandēma masspektrometriju [126]. Praktiski UHPLC amīdu tipa kolonnas tiek izmantotas arī ogļhidrātu atvasinājumu noteikšanai dažādās bioloģiskās matricās, piemēram, pienā sastopamo glikānu analīzēm [127].

Jaunākajās hidrofilās mijiedarbības kolonnās cukuru noteikšanai apvienotas dažādas funkcionālās grupas: amīdu, silanol-, amino- un hidroksilgrupas, kuru kombinācija nodrošina augstāku selektivitāti, kā arī alifātiskās šķērssaites nekustīgās fāzes stabilitātei [128].

Porainā grafitveida oglekļa (PGC) kolonnas pēdējā laikā ir salīdzinoši maz aprakstītas zinātniskajās publikācijās¹, tomēr ir atzīts, ka tās ir izturīgākas un kalpo ilgāk nekā HILIC kolonnas [129]. PGC sorbents ir veidots no porainām lodītēm, kas sastāv no plaknēs izkārtotām heksagonālām oglekļa struktūrām. PGC kolonnas ir izturīgas plašā pH diapazonā no 1 līdz 14 un ir pielietojamas gan tiešās, gan apgrieztās fāzes hromatogrāfijas sistēmās [130]. 10 min ilgā analīzē iespējams atdalīt mono-, di- un oligosaharīdus, un cukuru spirtus, izmantojot kustīgo fāzi, kas sastāv no ūdens un acetonitrila [131]. PGC kolonnas visbiežāk tiek izmantotas apvienojumā ar masspektrometriju struktūras analīzēm un izomēru identifikācijai, jo tām piemīt laba selektivitāte, tomēr par trūkumu var minēt sliktu rezultātu atkārtojamību [132].

1.10. Detektori cukuru HPLC analīzēm

Cukuru noteikšanai svarīgi piemeklēt ne tikai atbilstošu hromatogrāfijas kolonnu, bet arī detektoru. Ar UV detektoru cukurus tieši analizēt ir tikpat kā neiespējami. Lai gan ir aprakstīta cukuru noteikšana ar UV detektoru pie 195 nm viļņa garuma [133], šie mērījumi var tikt veikti tikai tad, ja kustīgā fāze ir ūdens bez piedevām, turklāt pie nespecifiskā viļņa garuma

¹ Scopus datubāzē par periodu 2011.-2018. g. var atrast 19 rakstus par atslēgas vārdiem „carbohydrate analysis porous graphitic carbon”, bet 118 dokumentus par atslēgas vārdiem „carbohydrate analysis HILIC”.

mērījumiem ir zema jutība. Alternatīva ir iegūt cukuru atvasinājumus, kam piemīt izteikta UV gaismas absorbcija [134].

Refrakcijas indeksa detektors (RI) ir plaši pazīstams cukuru noteikšanai, tas aprakstīts neskaitāmās publikācijās, un pat tiek dēvēts par vienīgo „universālo detektoru” šķidrums hromatogrāfijā [135]. Literatūrā ir aprakstīta tā lietošana cukuru noteikšanai dažādās matricās – augļos un citās augu daļās [99, 136, 137], pienā [138, 139], asinīs [140] u.c. RI detektora darbība balstās refrakcijas indeksa mērīšanā analītus saturošajā kustīgajā fāzē pret kustīgās fāzes šķīdinātāju salīdzināšanas šūnā. Tā trūkumi ir zemā jutība, apkārtējās temperatūras traucējošā ietekme uz rezultātu atkārtotamību un nesavietojamība ar gradienta hromatogrāfiju.

No minētajiem trūkumiem var izvairīties, lietojot iztvaicēšanas gaismas izkliedes detektoru (ELSD). Tā darbība pamatojas uz to, ka nosakāmais analīts ir mazāk gaistošs, nekā kustīgā fāze, tāpēc, izsmidzinot un iztvaicējot kustīgo fāzi, pāri paliek „sausas” analīta daļiņas, kas izkliedē gaismu un šo gaismas izkliedi detektors nolasa kā analītisko signālu. Jāņem vērā, ka ELSD nevar izmantot, ja hromatogrāfiskajai sadalīšanai lietoti mazgaistoši buferšķīdumi, turklāt ELSD ir destruktīvais detektors, tāpēc, ja to lieto reizē ar citiem detektoriem, tas virknē jāliek pēdējais [141]. Svarīgi, ka ELSD mērījumi attiecībā pret analīta koncentrāciju nav lineāri, tāpēc kalibrēšanai kvantitatīvajās analīzēs ir vai nu jālieto logaritmiski vienādojumi [142], vai jāatrod šaurs lineārais apgabals [143]. Pēdējās desmitgadēs ELSD ticis atzīts par cukuru analīzei piemērotāku detektoru nekā RI detektors [144, 145].

Līdzīgi kā ELSD gadījumā uzlādētā aerosola detektors (CAD) balstās uz eluenta izsmidzināšanu un iztvaicēšanu, taču netiek veikta analīta daļiņu radītās gaismas izkliedes, bet gan daļiņu elektrisko lādiņu mērīšana. Ir minēts, ka CAD ir plašāks lineārais apgabals, augstāka jutība un labāka atkārtotamība nekā ELSD [142, 146]. Cukuru noteikšana ar CAD aprakstīta salīdzinoši reti, galvenokārt oligosaharīdu analīzēs [147, 148], tomēr ir atrodams arī levoglukozāna noteikšanas piemērs atmosfēras aerosolos [149].

Lai gan dārgāka, masspektrometrija (MS) ir plaši atzīta metode apvienojumā ar šķidrums hromatogrāfiju. MS izceļas ar augstu jutību un selektivitāti, kā arī iespēju iegūt kvalitatīvo informāciju – vai nu lai identificētu savienojumus, vai pārbaudītu hromatogrāfisko joslu tīrību. Masspektrometra galvenās uzbūves daļas ir: atmosfēras spiediena jonizācijas (API) avots, masas analizators (kvadrupola, nolidojuma laika, jonu slazda vai magnētiskā sektora analizators), kas sadala jonus atkarībā no to masas/lādiņa attiecības m/z , un detektors, kas reģistrē no masas analizatora iznākušos jonus [150].

API ietver elektroizsmidzināšanas jonizāciju (ESI), kas notiek vēl kustīgajā fāzē pirms tās iztvaikošanas, un atmosfēras spiediena ķīmisko jonizāciju (APCI), kas notiek gāzes fāzē [150], kā arī matricas asistēto lāzera desorbcijas jonizāciju (MALDI) [151]. Cukuru

analīzēs visbiežāk izmanto ESI, retāk – oligosaharīdu noteikšanai – arī maigāko MALDI. Tā kā neatvasināti cukuri ir grūti jonizējami [151], to noteikšanu mēdz veikt nevis pēc molekulārajiem joniem, bet gan cukuru aduktiem ar Na^+ vai Li^+ pozitīvajā jonizācijas režīmā vai ar Cl^- negatīvajā jonizācijas režīmā [152]. Vāji jonizējamu savienojumu noteikšanu ar MS gan ESI, gan APCI gadījumos var uzlabot pēckolonnas šķīdinātāja, piemēram, metanola vai hlороформа, pievienošana [153, 154].

Cukuru MS analīzēm tiek piedāvāti dažādi masas analizatori, tai skaitā kvadrupola, jonu slazda un nolidojuma laika (TOF) masas analizatori [155-157], tomēr visbiežāk izmanto tandēma masspektrometriju gan neitrālo ogļhidrātu gadījumā [158,159], gan to atvasinājumu, piemēram, glikozīdu, noteikšanai [160-162]. Lai gan levoglikozāns ir viens no vērtīgākajiem cukuru atvasinājumiem pirolīzes produktos, informāciju par tā noteikšanu ar MS metodēm var atrast tikai vides analīžu kontekstā. Levoglikozānu mēdz izmantot par atmosfēras piesārņojuma biomarkieri, jo tas rodas, piemēram, kurināmā sadegšanas rezultātā mājokļu apsildīšanai vai mežu ugunsgrēkos. Aprakstīta levoglikozāna noteikšana atmosfēras aerosolu daļiņās, izmantojot šķidrums hromatogrāfiju un augstas izšķirtspējas ESI-TOF masspektrometriju, papildus analizējot arī levoglikozāna izomērus mannozānu un galaktozānu ar tādu pašu deprotonētā jona m/z vērtību 161,0445 [163]. Lai atdalītu minētos anhidrosaharīdu izomērus, autori izmantoja divas virknē saslēgtas ar amīdgrupām atvasinātas UHPLC kolonnas, bet kvantificēšanai lietoja iekšējo standartu – deiterētu levoglikozānu. Līdzīgi levoglikozāns noteikts sedimentos, negatīvajā ESI-MS/MS metodē monitorējot fragmentu veidošanos ar šādām m/z vērtībām: 71, 85, 101 un 113 [164].

1.11. Kopsavilkums par analīzes metodēm

Pirolīzes produktu analītiskā raksturošana ir izaicinājumu pilna, jo: 1) pirolīzes produktu kvalitatīvais sastāvs ir grūti prognozējams, daudzveidīgs un mainīgs; 2) liels skaits atsevišķo ķīmisko savienojumu mazās koncentrācijas apgrūtina katra savienojuma kvantitatīvo noteikšanu. Līdz ar to pilnīgai pirolīzes produktu sastāva noskaidrošanai lieto daudzu analītisko metožu kombinācijas, tai skaitā, ķīmiskās metodes, spektrofotometriju, gāzu hromatogrāfiju un šķidrums hromatogrāfiju. Pasaulē tiek meklēta vienota metodoloģija pirolīzes kondensējamo produktu jeb bioeļļas analīzēm, jo pirolīzes kondensātu sastāva noteikšana ir būtiska gan gala patērētājiem, lai prognozētu to atbilstību noteiktam pielietojumam, gan lai izdarītu secinājumus par pirolīzes mehānismiem. Jāuzsver, ka Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūtā tiek izmantots oriģināli izstrādāts pirolīzes reaktors, izmantojot pārkarsēta tvaika plūsmu, kā rezultātā kondensējamie produkti tiek savākti ļoti atšķaidīta ūdens šķīduma veidā ($w_{\text{ūdens}} > 90\%$), līdz ar to šī darba pētījuma objektu – pārkarsētā tvaika plūsmā iegūto pirolīzes kondensātu fizikālās

īpašības un ķīmiskais sastāvs atšķiras no viskozās, darvai līdzīgās bioeļļas, kas aprakstīta literatūrā, tāpēc šiem paraugiem jāpielāgo vai jāizstrādā jaunas analīzes metodes.

Viena no būtiskākajām savienojumu klasēm pirolīzes kondensējamajos produktos ir ogļhidrāti jeb cukuri un to atvasinājumi. Klasiski cukuru noteikšanā ir pazīstamas tādas metodes kā titrēšana un spektrofotometrija, bet visselektīvākā pieeja ir šķidrums hromatogrāfija. Cukuru analīzēm ar HPLC ir jāizvēlas kāds no „speciālajiem” sorbentiem – eksklūzijas, jonu apmaiņas, hidrofilās mijiedarbības vai porainā grafitveida oglekļa kolonnām. Detektoru izvēle ir tikpat interesanta – sākot no vienkārši lietojamā refrakcijas indeksa detektora kvantitatīvām analīzēm līdz augstas izšķirtspējas tandēma masspektrometram kvalitatīvajām analīzēm, kas prasa rūpīgu metodes izstrādi un sarežģītu datu interpretāciju.

No aprakstītajām cukuru analīzes metodēm šajā darbā izmantota ultra augstefektīvā šķidrums hromatogrāfija ar HILIC kolonnām apvienojumā ar tandēma masspektrometru kvalitatīvajām analīzēm, kā arī gaismas izkliedes detektoru un kvadrupola masspektrometru, lai salīdzinātu cukuru atvasinājumu kvantitatīvās noteikšanas iespējas pirolīzes kondensātos. Levoglikozāna noteikšana veikta arī, izmantojot jodometrisko titrēšanu, kas vienlaicīgi ļauj noteikt anhidrosaharīdu un neatvasināto ogļhidrātu (glikozes ekvivalentu) saturu paraugā. Turklāt izmantotas gravimetriskās, spektrofotometriskās un potenciometriskās metodes, lai vispusīgi raksturotu pirolīzes kondensātus un apstiprinātu UHPLC analīžu rezultātus. Atsevišķi furāna un fenola atvasinājumi noteikti ar apgrieztās fāzes UHPLC-UV metodi. Ar analītisko eksklūzijas hromatogrāfiju raksturota lielmolekulāro savienojumu klātbūtne pirolīzes produktos.

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Aparatūra un reaģenti

Vispārīgie laboratorijas piederumi un aparatūra.

- A klases Mora pipetes: 2 mL ($\pm 0,01$ mL), 3 mL ($\pm 0,01$ mL), 5 mL ($\pm 0,015$ mL)
- A klases 5 mL mērpipete ($\pm 0,05$ mL)
- B klases 100 mL mērcilindrs ($\pm 0,5$ mL)
- A klases 500 mL mērcilindrs ($\pm 2,5$ mL)
- Automātiskā 1-5 mL pipete *Biohit Proline* ($\pm 0,01$ mL)
- Automātiskā 0,1-1 mL pipete *Biohit Proline* ($\pm 0,001$ mL)
- Taimeris *Count Down Timer* (± 1 s)
- Filtrpapīrs *Whatman 597*, 90 mm
- Automātiskā birete *ABU 80 Radiometer* 10 mL ($\pm 0,001$ mL)
- Titrators *TitraLab TIM 980* ar biretes tilpumu 10 mL ($\pm 0,0001$ mL)
- UV-Vis spektrofotometrs *PerkinElmer Lambda 25* 190-900 nm ($\pm 0,2$ nm)
- Analītiskie svāri *KERN ABS* līdz 220 g ($\pm 0,00001$ g)
- Termostatējams žāvēšanas skapis *Memmert U-100* līdz 220 °C ($\pm 0,5$ °C)
- Kušanas temperatūras noteikšanas iekārta *METTLER TOLEDO MP70* līdz 350 °C
- Polarimētis *POLAX-2L*

Šķidrums hromatogrāfijas (UHPLC, SEC, HPLC) piederumi un aparatūra.

- Sterilas vienreizlietojamās šļirces ar adatu *Medilink* (2 mL)
- Neilona membrānas filtri *Kinesis* (25 mm, 0,2 μ m)
- Paraugu pudelītes hromatogrāfijai ar skrūvējamu vāciņu *Agilent Technologies* (2 mL)
- Ultra augstefektīvās šķidrums hromatogrāfijas sistēma *Waters Acquity H-Class* (kvaternārais sūknis, autosampleris un kolonnas termostats)
- Eksklūzijas hromatogrāfijas sistēma *Waters Advanced Polymer Chromatography* (kvaternārais sūknis, autosampleris un kolonnas termostats)
- Diožu matricas detektors *Waters Acquity PDA*
- Gaismas izkliedes detektors *Waters Acquity ELS Detector*
- Kvadrupola masspektromētis *Waters Acquity QDa Detector*
- Refrakcijas indeksa detektors *Waters Acquity Advanced Polymer Chromatography RI Detector*

- Augstas izšķirtspējas tandēma (QTOF) masspektrometrs *Waters Synapt G2-Si*
- Augstefektīvās šķidrums hromatogrāfijas sistēma *SHIMADZU HPLC 10A* (kvaternārais sūknis, autosampleris un kolonnas termostats)
- Refrakcijas indeksa detektors *SHIMADZU RID-10A*
- UHPLC kolonna *Waters Acquity BEH C18* (2,1×50mm, 1,7 μm)
- UHPLC kolonna *Waters Acquity HSS C18* (2,1×100 mm, 1,7 μm)
- UHPLC kolonna *Waters Acquity CSH C18* (2,1×100 mm, 1,7 μm)
- UHPLC kolonna *Waters Acquity CSH Phenylhexyl* (2,1×100 mm, 1,7 μm)
- UHPLC kolonna *Waters Acquity CSH Fluorophenyl* (2,1×100 mm, 1,7 μm)
- UHPLC kolonna *Waters Acquity BEH Amide* (2,1×100 mm, 1,7 μm)
- UHPLC kolonna *Waters CORTECS HILIC* (2,1×100 mm, 1,6 μm)
- SEC kolonna *Waters Acquity APC XT 45* (4,6×150 mm, 1,7 μm)
- SEC kolonna *Waters Acquity APC XT 200* (4,6×150 mm, 2,5 μm)
- SEC kolonna *Waters Acquity APC XT 450* (4,6×150 mm, 2,5 μm)
- SEC kolonna *Waters Acquity APC AQ 45* (4,6×150 mm, 1,7 μm)
- SEC kolonna *Waters Acquity APC AQ 200* (4,6×150 mm, 2,5 μm)
- SEC kolonna *Waters Acquity APC AQ 450* (4,6×150 mm, 2,5 μm)
- HPLC kolonna *SHODEX SP0810* (8×300 mm)

Preparatīvās hromatogrāfijas un kristalizēšanas piederumi un aparatūra.

- Stikla kolonna ar apakšā piekausētu krānu plūsmas kontrolēšanai (60×2 cm)
- Stikla kolonna ar apakšā piekausētu krānu plūsmas kontrolēšanai (30×1 cm)
- Automatizēta preparatīvās cietfāzes ekstrakcijas iekārta *Faneks Sorbomate*
- Nefunkcionalizēti sveķi *Amberlite XAD 2*
- Anjonu apmaiņas sveķi *Levatit VPOC 1074 Cl⁻* formā
- Katjonu apmaiņas sveķi *Dowex 50WX8 H⁺* formā
- Katjonu apmaiņas sveķi *Finex CAI6GC Na⁺* formā
- Ietvaicēšanas sistēma *GeneVac Rocket* (maksimālais rotācijas ātrums 1760 rpm, vakuums < 3 mbar, maksimālais parauga tilpums 4×400 mL)

Standartvielas.

- 1,6-Anhidro-β-D-glikoze (levoglikozāns), 99 % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 316555)
- D-(+)-ksiloze, ≥ 99 % (*Aldrich*, cat. No. W360600)
- L-(+)-arabinoze, ≥ 99 % (*Sigma*, cat. No. A3256)
- D-(-)-fruktoze, ≥ 99 % (*Sigma*, cat. No. F0127)

- D-(+)-glikoze, $\geq 99,5$ % (*Sigma*, cat. No. G8270)
- D-(+)-galaktoze, ≥ 99 % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. G0750)
- D-(+)-mannoze, ≥ 99 % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. G0750)
- D-(+)-saharoze, ≥ 98 % (*Sigma*, cat. No. C7252)
- D-(+)-rafinozes pentahidrāts, $\geq 99,0$ % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 83400)
- Furfurols, 99 % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 185914)
- 5-Hidroksimetilfurfurols, ≥ 99 % (*Aldrich*, cat. No. W501808)
- Vanilīnskābe, 97 % (*Aldrich*, cat. No. H36001)
- Vanilīns, 99 % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. V1104)
- Gvajakols, oksidēšanas indikators (*Sigma*, cat. No. G5502)
- 2,6-Dimetoksifenols (siringols), 99 % (*Aldrich*, cat. No. D135550)
- Siringaldehīds, 98 % (*Aldrich*, cat. No. S7602)
- Siringilskābe, ≥ 95 % (*Sigma*, cat. No. S6881)
- 3,5-Dimetoksi-4-hidroksiacetofenons (acetosiringons), 97 % (*Aldrich*, cat. No. D134406)
- 4-Metoksi-4-metilfenols (metilgvajakols), ≥ 98 % (*Aldrich*, cat. No. W267104)
- 4-Metil-2,6-dimetoksifenols (metilsiringols), ≥ 97 % (*Aldrich*, cat. No. W370401)
- Izoegenols, 98 %, *cis* un *trans* formu maisījums (*Aldrich*, cat. No. I17206)

Šķīdinātāji un reaģenti šķidrums hromatogrāfijai.

- Acetonitrils, LC-MS LiChrosolv (EMD MILLIPORE, cat. No. 1,00029)
- Tetrahidrofurāns, $> 99,9$ % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 401757)
- Dejonizēts ūdens, *Ultrapure (Type 1)*
- Skudrskābe, LC-MS (Fisher Scientific, cat. No. A117)
- Amonija hidroksīda šķīdums ūdenī, 10 %, HPLC (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 17837)
- Leicīna enkafalīna standarts MS masas korekcijai (*Waters*, cat. No. 186006013)

Reaģenti ķīmiskajām analīzēm.

- Kālija hidroksīds, ≥ 85 % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 30603)
- Tetrabutilamonija hidroksīda šķīdums ūdenī, 40 % IC (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 86854)
- Kālija hidrogēnfalāts, $\geq 99,5$ % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 60360)
- Hidroksilamonija hlorīds, ACS, *Reag. Ph Eur* (*Merck*, cat. No. 1.04616)
- Sērskābe, $\geq 97,5$ % (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 84727)
- Nātrija (meta)perjodāts, ≥ 99 % (*Aldrich*, cat. No. 769517)
- Amonija molibdāta tetrahidrāts, $100,2$ % (*VVR Chemicals*, cat. No. 21275.262)
- Etiķskābe, $99,8-100,5$ % (*EMD MILLIPORE*, cat. No. 27225-M)

- Kālija jodīds, $\geq 99,0\%$ (*Sigma-Aldrich*, cat. No. P2963)
- Nātrija tiosulfāts, fiksānāls 1 L pagatavošanai 0,1 M (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 38200)
- Šķīstošā ciete, ACS (*Sigma-Aldrich*, cat. No. S9765)
- Salicilskābe, $\geq 99,0\%$ (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 247588)
- Kālija dihromāts, fiksānāls 1 L pagatavošanai 1/60 M (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 38100)
- Nātrija karbonāts, BioXtra $\geq 99,0\%$ (*Sigma-Aldrich*, cat. No. S7795)
- Folina-Čikalto (*Folin-Ciocalteu*) reaģents, 2 N (*Sigma-Aldrich*, cat. No. F9252)

Reaģenti levoglikozāna attīrīšanai.

- Acetons, $\geq 99,5\%$ (*Sigma-Aldrich*, cat. No. 32201)
- Metanols, $\geq 99,9\%$ (*EMD Millipore*, cat. No. 35885)
- Etanols, 95 % (SIA „Jaunpagasts plus”)
- Aktīvā ogle, *Norit* (*Fluka*, cat. No. 95681)

2.2. Pētījuma objekti

Pētījumā fracionēti un analizēti koksnes ātrās pirolīzes kondensējamie produkti, kas no pirolīzes reaktora iegūti kā atšķaidīts ūdens šķīdums ($< 6\%$ sausnes). Šie šķīdumi pieder K grupas paraugiem. Otra paraugu grupa P iekļāva pirolīzes produktus ar samazinātu ūdens saturu (aptuveni 90% sausnes). Tie bija gan kondensāti, kas ietvaicēti rotācijas ietvaicētājā jeb pirolīzes pastas, gan atsālņi, kas iegūti pēc levoglikozāna kristalizēšanas ar acetonu vai etanolu, kā arī frakcijas, kas iegūtas, izmantojot anjonu apmaiņas sveķu kolonnu. C grupas paraugi bija attīrīta, kristāliska levoglikozāna paraugi. 2.1. tabulā apkopota informācija par konkrētiem paraugiem, kas tika analizēti ar visām analītiskajām metodēm, lai tās savstarpēji salīdzinātu.

2.1. tabula

Analizēto paraugu apzīmējumi un paskaidrojumi

K1 sērija	K1-0 ātrās pirolīzes kondensāts, kas iegūts ar pārkarsētā tvaika metodi. K1-0 kondensātu izmantoja, lai pa porcijām skalotu hidrotermiski apstrādātu lignocelulozi, iegūstot K1-1, K1-2 un K1-3 paraugus, kuros secīgi palielinājās levoglikozāna koncentrācija, bet samazinājās no hemicelulozes radušos monosaharīdu koncentrācija.
K2 sērija	Kondensātu sērija, kas iegūta no ātrās pirolīzes pilotiekārtas, noteiktos laika intervālos (10, 20, 30 un 50 min) savācot kondensējamus produktus.
P1 un P2	Ietvaicēti (līdz aptuveni 10% ūdens) ātrās pirolīzes kondensējamie produkti.
P3	Atsālnis, kas iegūts pēc levoglikozāna izgulsnēšanas ar acetonu no pirolīzes produktu pastas P2.
P4	Atsālnis, kas iegūts pēc pirolīzes produktu frakcijas, kas iegūta ar anjonu apmaiņas sveķu kolonnu, pārkristalizēšanas ar etanolu.
P5	P3 atsālnis, attīrīts ar anjonu apmaiņas sveķu kolonnu.
P6	Pirolīzes produktu pasta, attīrīta ar anjonu apmaiņas sveķu kolonnu.
C1	No pirolīzes produktu pastas ar acetonu izgulsnēts kristālisks levoglikozāns.
C2	Kristālisks levoglikozāns, kas atdalīts no pirolīzes kondensāta, izmantojot anjonu apmaiņas sveķu kolonnu, un pārkristalizēts ar etanolu.
C3	Atkārtoti pārkristalizēts C2 levoglikozāns, izmantojot etanolu un aktivēto ogli.

2.3. Pirolīzes produktu vispārīga raksturošana

Pirolīzes kondensātu vispārīgai raksturošanai noteikts sausnes, kopējo skābju, aldehīdu un fenolu, kā arī levoglīkozāna un cukuru saturs. Visos gadījumos veikti trīs paralēlie mērījumi, rezultātu precizitāte raksturota ar standartnovirzi, ko aprēķināja pēc formulas:

$$S_n = \sqrt{\frac{\sum(x-x_{\text{vid.}})^2}{n-1}}, \text{ kur} \quad (2.1.)$$

S_n – standartnovirze, x – mērījuma vērtība, n – mērījumu skaits.

Turpmāk aprakstītās metodes izmantotas ne tikai pirolīzes kondensātu raksturošanai, bet arī dažādu pirolīzes produktu frakciju analīzēm.

Gravimetriska sausnes satura noteikšana.

Sausnes jeb negaistošo vielu saturu pirolīzes kondensātos noteica gravimetriski. Iepriekš nosvērtā 25 mL sverglāzītē ielēja aptuveni 10 mL parauga, nosvēra uz analītiskajiem svāriem un ievietoja termostatējamā žāvēšanas skapī 103 °C temperatūrā un žāvēja līdz konstantai masai. Sausnes saturu aprēķināja kā negaistošā atlikuma masas daļu procentos w% šķīdrajā paraugā.

Titrimetriska skābes skaitļa noteikšana.

Kopējā skābju satura noteikšanu pirolīzes kondensātos veica, potenciometriski titrējot ar kālija hidroksīdu. 50 mL vārglāzē ielēja un uz analītiskajiem svāriem nosvēra aptuveni 3 mL parauga un pievienoja 20 mL dejonizēta ūdens. Titrēja ar standartizētu 0,1 M kālija hidroksīda šķīdumu, izmantojot titratoru *TitraLab TIM 980*. Stehiometrisko punktu noteica programma *TitraMaster*. Kopējo skābes skaitli TAN aprēķināja:

$$TAN = \frac{c_{\text{titrants}} \cdot V_{\text{titrants}} \cdot M_{KOH}}{m}, \text{ kur} \quad (2.2.)$$

TAN – kopējais skābes skaitlis [mg KOH · g⁻¹], c – KOH vai TBAOH precīzā koncentrācija [mol · L⁻¹], V – KOH vai TBAOH tilpums [L], M – KOH molmasa 56,11 g · mol⁻¹, m – parauga masa [g].

Tādā pašā veidā titrēja ar TBAOH, titrēšanas līknēs atrodot divus stehiometriskos punktus, kas ļāva aprēķināt ne tikai TAN, bet arī fenolu saturu PhAN, 2.2. formulā ievietojot tilpumu starpību starp pirmo un otro stehiometrisko punktu.

Titrimetriska kopējā aldehīdu satura noteikšana.

Kopējā aldehīdu satura noteikšanu pirolīzes kondensātos veica, paraugiem pievienojot hidroksilamīna hidrochlorīdu un ar kālija hidroksīdu potenciometriski titrējot radušos sālsskābi. 50 mL sverglāzītē ielēja un uz analītiskajiem svāriem nosvēra aptuveni 2 mL kondensāta, pievienoja 5 mL 0,5 M hidroksilamīna hidrochlorīda šķīdumu un uzlika vāciņu. Pēc 90 min

pievienoja 20 mL propanola-2 un titrēja ar standartizētu 0,1 M kālija hlorīda šķīdumu, izmantojot titratoru *TitraLab TIM 980*. Stehiometrisko punktu noteica programma *TitraMaster*. Kopējo aldehīdu saturu aprēķināja furfurola ekvivalentos un izteica kā furfurola masas daļu procentos w šķīdrajā paraugā:

$$w_{\text{aldehīdi}} = 100\% \cdot \frac{c_{\text{KOH}} \cdot V_{\text{KOH}} \cdot M}{m}, \text{ kur} \quad (2.3.)$$

w – masas daļa [%], c – kālija hidroksīda precīzā koncentrācija [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$], V – kālija hidroksīda tilpums [L], M – furfurola molmasa $96,08 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, m – parauga masa [g].

Titrimetriska levoglikozāna un citu cukuru satūra noteikšana.

Levoglikozāna saturu pirolīzes produktos noteica, paraugu oksidējot ar nātrija perjodātu, radušos jodātu reducējot ar kālija jodīdu un radušos jodu titrējot ar nātrija tiosulfātu. Šī metode ļauj vienlaicīgi noteikt levoglikozāna (anhidrosaharīdu) un kopējo citu cukuru (monosaharīdu) saturu [165]. 25 mL mērkolbā uz analītiskajiem svāriem iesvēra aptuveni 5 mL kondensāta un atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni. Divās citās 25 mL mērkolbās ar Mora pipeti pārnesa 5 mL iegūtā šķīduma. Vienu no kolbām uzreiz ar dejonizētu ūdeni uzpildīja līdz atzīmei, bet otrā kolbā pirms atšķaidīšanas pievienoja 5 mL 15 % sērskābes šķīduma un 90 min hidrolizēja $120 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā. No katras kolbas ar Mora pipeti 25 mL sverglāzītēs pārnesa 2 mL šķīdumu, pievienoja 0,2 mL 15 % sērskābes šķīduma, 1 mL 0,2 M nātrija perjodāta šķīduma un ievietoja termostatējamā žāvēšanas skapī $40 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā. Pēc 4 h sverglāzītes izņēma no žāvēšanas skapja un pievienoja 5 mL 10 % amonija molibdāta šķīduma. Pēc 15 min pievienoja 1 mL etiķskābes un 1 mL 10 % kālija jodīda šķīduma, sverglāzītēm uzlika vāciņus. Pēc 15 min šķīdumu titrēja ar restandartizētu 0,1 M nātrija tiosulfāta šķīdumu. Levoglikozāna masas daļu procentos w aprēķināja pēc 2.4. formulas, bet kopējo cukuru masas daļu aprēķināja glikozes ekvivalentos pēc 2.5. formulas.

$$w_{\text{levoglikozāns}} = 100\% \cdot \frac{c_{\text{tiosulf.}} \cdot (V_{2,\text{tiosulf.}} - V_{1,\text{tiosulf.}}) \cdot M}{(5 \cdot 3 \cdot 2' - 2 \cdot 3 \cdot 2') \cdot m} \quad (2.4.)$$

$$w_{\text{cukuri}} = 100\% \cdot \frac{c_{\text{tiosulf.}} \cdot (V_{1,\text{tiosulf.}} - \frac{2 \cdot 3 \cdot 2'}{5 \cdot 3 \cdot 2' - 2 \cdot 3 \cdot 2'} \cdot (V_{2,\text{tiosulf.}} - V_{1,\text{tiosulf.}})) \cdot M}{5 \cdot 3 \cdot 2' \cdot m}, \text{ kur} \quad (2.5.)$$

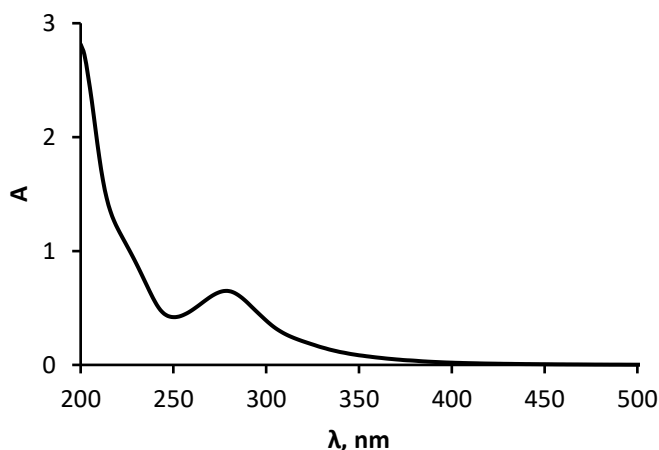
w – masas daļa [%], c – nātrija tiosulfāta precīzā koncentrācija [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$], V_1 – nātrija tiosulfāta koncentrācija nehidrolizētajam paraugam [L], V_2 – nātrija tiosulfāta koncentrācija hidrolizētajam paraugam [L], M – molmasa levoglikozānam $162,14 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ vai glikozei $181,16 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, m – parauga masa [g], 5, 2, 3 un 2' – stehiometriskie koeficienti no reakciju vienādojumiem:



Spektrofotometriska piemaisījumu noteikšana.

Pirolīzes kondensātu sastāvā ir liels skaits savienojumu ar absorbciju UV-Vis diapazonā, tāpēc nav iespējams spektrofotometriski analizēt individuālus savienojumus. 2.1. attēlā redzams atšķaidīta pirolīzes kondensāta UV-Vis absorbcijas spektrs. Šajā darbā fenolu tipa savienojumu relatīvā satura raksturošanai izmantoti mērījumi pie viļņa garuma 275 nm, kas atbilst pirolīzes kondensātu kopējās absorbcijas maksimumam. Tā kā paraugos bija daudzu fenolu tipa savienojumu maisījums, netika veikta kalibrēšana pēc kāda konkrēta savienojuma, bet rezultāti uzrādīti kā relatīvā absorbcija $AU \cdot mg^{-1}$.

Apmēram 0,1 g parauga uz analītiskajiem svāriem iesvēra 25 mL mērkolbā un atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni. Absorbciju mērīja 1 cm kvarca kivetē, par salīdzināšanas šķīdumu izmantojot dejonizētu ūdeni.



2.1. att. Pirolīzes kondensāta UV spektrs ($4,1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Attīrīto levoglīkozāna frakciju raksturošanai izmantoja ICUMSA metodi, mērot absorbciju pie 420 nm viļņa garuma, kā ierasts pārtikas cukuru nozarē [166]. ICUMSA „krāsu” aprēķināja pēc 2.6. formulas.

$$\text{krāsa} = \frac{1000 \cdot A}{b \cdot \gamma}, \text{ kur} \quad (2.6.)$$

A – absorbcija, b – kivetes garums [cm], γ – koncentrācija [$\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$].

Fenolu noteikšanai tika izmantota arī spektrofotometriskā metode ar Folina-Čikalto reaģentu. 0,5 g kondensāta iesvēra 25 mL mērkolbā, atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni. 0,5 mL šķīduma pārnesa citā 25 mL mērkolbā, pievienoja 10 mL ūdens un 0,5 mL Folina-Čikalto reaģenta un novietoja tumsā. Pēc 8 min pievienoja 1,5 mL 20 % nātrija karbonāta šķīdumu un atstāja tumsā uz 2 stundām. Uzpildīja kolbu ar dejonizētu ūdeni un mērīja absorbciju pie viļņa garuma 675 nm. Tādā pašā veidā sagatavoja tukšo paraugu un galluskābes standartšķīdumu sēriju ar koncentrācijām 0,05-0,5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Rezultātu aprēķināja pēc kalibrēšanas taisnes vienādojuma un izteica kā galluskābes ekvivalentus $\text{GSE mg} \cdot \text{g}^{-1}$.

2.4. Cukuru kvantitatīvā noteikšana ar UHPLC-MS/ELSD

Cukuru noteikšanas metodikas izstrādei izmantoja dažādu cukuru standartvielas – levoglukozi, ksilozi, arabinozi, mannozi, glikozi, galaktozi, fruktozi, saharozi, celobiozi, rafinozi un noskaidroja to izdalīšanās laikus un savstarpējo atdalīšanu ar Amīdu vai HILIC kolonnām. UHPLC analīzēm gatavoja cukuru šķīdumus ar koncentrāciju 0,1-3 mg·mL⁻¹. Levoglukozi kvantitatīvajai noteikšanai pirolīzes produktos, paraugus atšķaidīja šādi: 25 mL mērkolbā iesvēra aptuveni 5 g kondensāta (K tipa paraugi) vai 100 mg pastas (P tipa paraugi), vai 50 mL mērkolbā iesvēra aptuveni 100 mg kristāliskās vielas (C tipa paraugi) un atšķaidīja ar ūdens/acetoniātrila maisījumu 50:50 (v/v). Šķīdumus filtrēja caur neilona membrānas filtriem. Injekcijas tilpums analīzēm bija 2 μL.

Lai novērtētu UHPLC-MS/ELSD metožu jutību, precizitāti un pareizību, noteica relatīvo standartnovirzi sešiem paralēlajiem mērījumiem gan standartvielai levoglukozi, gan levoglukozi matricā (P tipa paraugos). Noteikšanas robežu LOQ aprēķināja pēc formulas [167]:

$$LOQ = \frac{10 \cdot S_6}{a}, \text{ kur} \quad (2.7.)$$

LOQ – noteikšanas robeža [mg·mL⁻¹], S₆ – standartnovirze sešiem paralēlajiem mērījumiem [mg·mL⁻¹], a – taisnes virziena koeficients kalibrēšanas grafikā.

Metožu atgūstamību noteica, P tipa paraugiem pievienojot zināmas koncentrācijas standartpieejas. Atgūstamību aprēķināja pēc formulas:

$$R = 100\% \cdot \frac{\gamma_{\text{paraugā ar standartpiejeju}} - \gamma_{\text{paraugā}}}{\gamma_{\text{standartpiejeva}}}, \text{ kur} \quad (2.8.)$$

R – atgūstamība [%], γ – koncentrācija [mg·mL⁻¹].

Cukuru klases savienojumus kvantitatīvi noteica, izmantojot divas izokrātiskas UHPLC sistēmas, kur:

1) nekustīgā fāze bija Amīdu kolonna 60 °C temperatūrā, bet kustīgā fāze bija ūdens/acetoniātrila maisījums 30:70 (v/v) ar 0,05 % amonija hidroksīda piejevu, plūsmas ātrums bija 0,15 mL·min⁻¹, analīzes laiks 10 min;

2) nekustīgā fāze bija HILIC kolonna 30 °C temperatūrā, bet kustīgā fāze bija 10 mM amonija formiāta buferšķīdums ūdens/acetoniātrila maisījumā 10:90 (v/v), plūsmas ātrums bija 0,4 mL·min⁻¹, analīzes laiks 13 min.

Tika arī izstrādātas gradienta sistēmas, lai atsevišķos gadījumos kvalitatīvajai analīzei labāk atdalītu dažādus anhidrosaharīdus. Abu kolonnu gradienta parametri raksturoti 2.2 tabulā.

Gradianta programmas Amīdu un HILIC kolonnām

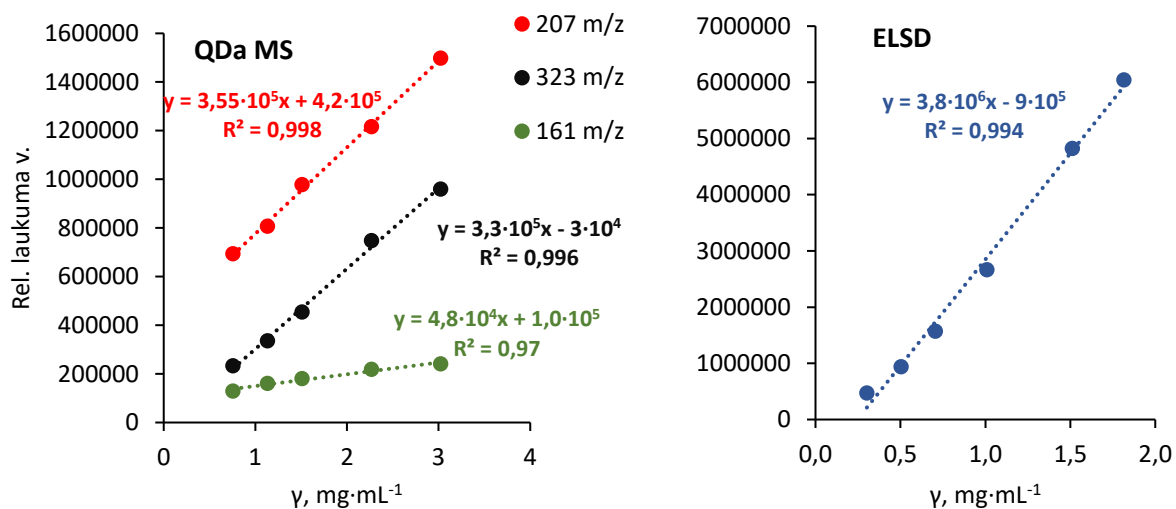
Amīdu kolonna, plūsmas ātrums 0,2 mL·min ⁻¹			HILIC kolonna, plūsmas ātrums 0,5 mL·min ⁻¹		
Laiks, min	H ₂ O/ACN 60:40 + 0,1 % NH ₄ OH	ACN	Laiks, min	10 mM amonija formiāts H ₂ O/ACN 10:90	ACN
0	30 %	70 %	0	50 %	50 %
1	30 %	70 %	0,5	50 %	50 %
12	70 %	30 %	7	100 %	0 %
13	70 %	30 %	10	100 %	0 %
15	30 %	70 %	12	50 %	50 %
20	30 %	70 %	16	50 %	50 %

Selektivitāti jeb vielu hromatogrāfisko atdalīšanu aprēķināja pēc formulas:

$$\alpha = \frac{t_{r,2} - t_0}{t_{r,1} - t_0}, \text{ kur} \quad (2.8.)$$

α – selektivitāte, t_r – savienojuma izdalīšanas laiks [min], t_0 – brīvā tilpuma izdalīšanas laiks [min].

Noteikšanai izmantoja divus detektorus: kvadrupola masspektrometru MS un gaismas izkliedes detektoru ELSD. MS detektēšanu veica 100-400 m/z diapazonā, negatīvajā ESI režīmā ar 5 V konusa spriegumu un 0,8 kV kapilāra spriegumu, levoglīkozāna kvantificēšanai izmantoja atsevišķu jonu detektēšanu (SIR) m/z vērtībām: 161, 207, 323. ELSD detektora parametri bija: pastiprinājuma koeficients 100, slāpekļa spiediens 30 psi (2,0 atm), iztvaicēšanas temperatūra 40 °C, izsmidzināšana dzesēšanas režīmā. 2.2. attēlā redzami levoglīkozāna kalibrēšanas grafiku piemēri, kas iegūti ar dažādām detektēšanas metodēm.



2.2. att. Levoglīkozāna UHPLC noteikšanas kalibrēšanas grafiki: pa kreisi – ar kvadrupola MS detektoru, pa labi – ar ELSD detektoru

2.5. Anhidroglikozes izomēru noteikšana ar HPLC-RI

Lai atdalītu anhidroglikozes izomērus – levoglīkozānu un 1,6-anhidro- β -D-glikofuranozi, bija nepieciešams izmantot hromatogrāfiju, kas balstās eksklūzijas un ligandu apmaiņas mehānismos. Tam izmantoja HPLC-RI metodi ar katjonu apmaiņas sveķu kolonnu Pb²⁺ formā.

Eluents bija dejonizēts ūdens ar plūsmas ātrumu $0,6 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Kolonnas temperatūra bija $84 \text{ }^\circ\text{C}$, injekcijas tilpums $30 \text{ }\mu\text{L}$. Refrakcijas indeksa detektora šūnas temperatūra bija $60 \text{ }^\circ\text{C}$. Gatavoja paraugu šķīdumus ūdenī ar koncentrāciju $5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Kalibrēšanai sagatavoja levoglukozāna standartvielas šķīdumu sēriju $1\text{-}5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Šķīdumus filtrēja caur neilona membrānas filtriem.

2.6. Fenolu un furānu noteikšana ar UHPLC-UV

Fenolu un furānu tipa savienojumu noteikšanai izmēģināja dažādas apgrieztās fāzes UHPLC kolonnas $30 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūrā gradienta apstākļos ar plūsmas ātrumu $0,4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Gradienta programma parādīta 2.3. tabulā.

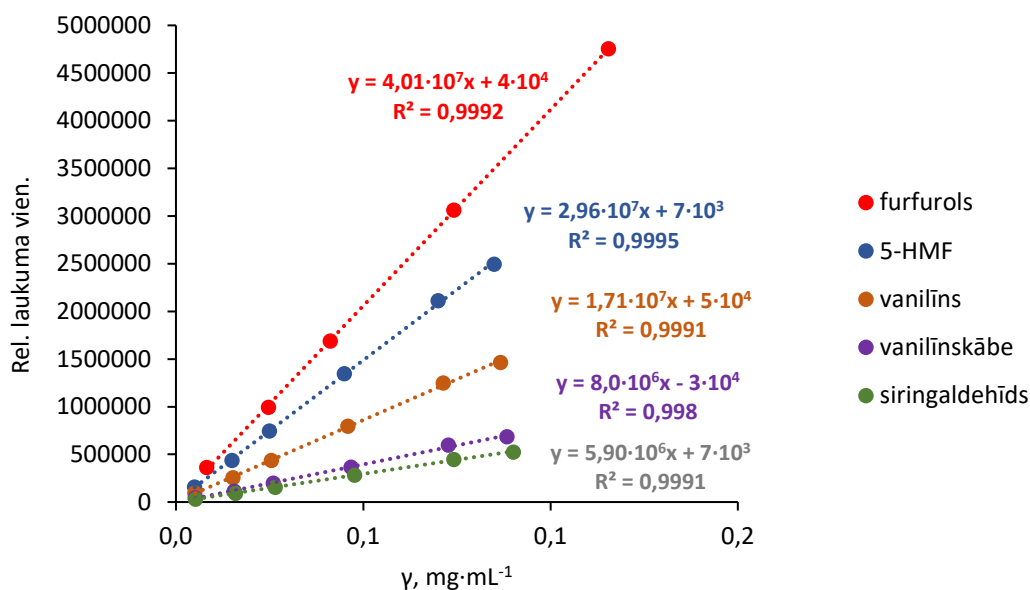
2.3. tabula

Apgrieztās fāzes UHPLC gradienta programma

Laiks, min	0,1 % skudrskābe ūdenī	ACN
0	95 %	5 %
7,0	5 %	95 %
7,5	5 %	95 %
8,0	95 %	5 %
10	95 %	5 %

Lai noteiktu atsevišķu savienojumu izdalīšanās laikus, savstarpējo atdalīšanos un uzņemtu to UV spektrus, sagatavoja šādu standartvielu šķīdumus – furfurols, 5-HMF, vanilīnskābe, vanilīns, gvajakols, siringols, metilgvajakols, metilsiringols, siringaldehīds, acetosiringons, izoeigenols. No šiem savienojumiem pirolīzes kondensātos pietiekoši varēja atdalīt un identificēt furfuroļu, HMF, vanilīnskābi, vanilīnu un siringaldehīdu, ko kvantificēja izmantojot UV mērījumus pie 275 nm viļņa garuma. Papildus savienojumu identificēšanai izmantoja kvadrupola MS detektoru $100\text{-}400 \text{ m/z}$ diapazonā, pozitīvajā ESI režīmā ar 12 V konusa spriegumu un $0,8 \text{ kV}$ kapilāra spriegumu.

Standartvielu koncentrācija kalibrēšanas šķīdumos bija $0,02\text{-}0,2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. K tipa paraugus sagatavoja, 25 mL mērkolbā iesverot apmēram 3 g kondensāta un atšķaidot ar ūdens/acetoniātrila maisījumu $50:50 \text{ (v/v)}$. Šķīdumus filtrēja caur neilona membrānas filtriem. Injekcijas tilpums bija $2 \text{ }\mu\text{L}$. 2.3. attēlā redzami furānu un fenolu kalibrēšanas grafiku piemēri.



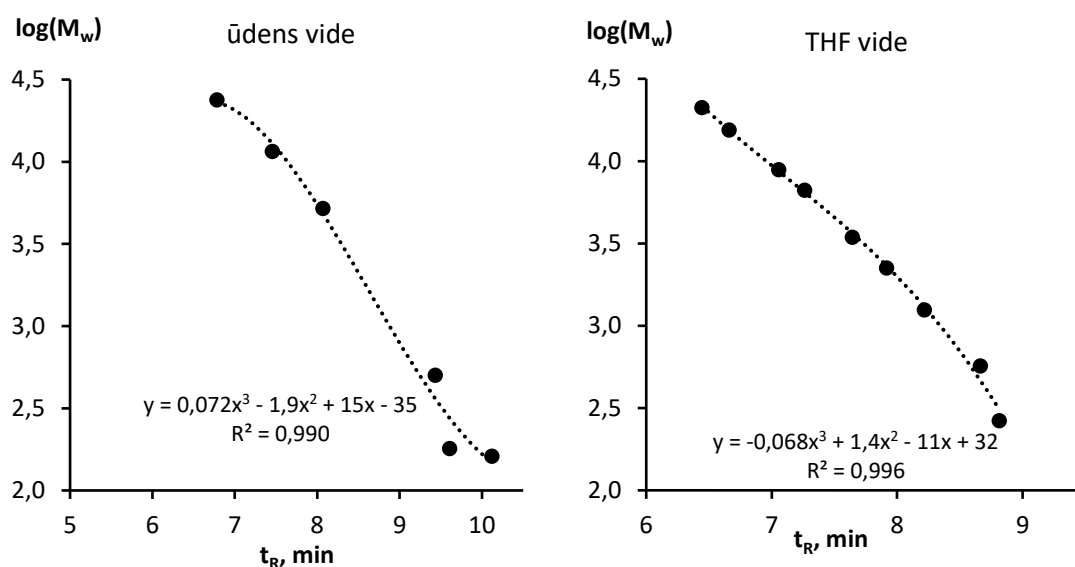
2.3. att. HMF, furfurola, vanilīnskābes, vanilīna un siringaldehīda UHPLC-UV noteikšanas kalibrēšanas grafiki

Lai novērtētu UHPLC-UV metodes precizitāti un pareizību, noteica relatīvo standartnovirzi sešiem paralēlajiem mērījumiem gan standartvielām furfurolam, HMF, vanilīnskābei, vanilīnam un siringaldehīdam, gan šiem savienojumiem matricā. Metodes atgūstamību noteica, paraugiem pievienojot standartpiedevas. Atgūstamību aprēķināja pēc 2.8. formulas.

2.7. Pirolīzes produktu SEC analīze

Izmantojot eksklūzijas hromatogrāfiju (SEC) ūdens vidē ar AQ tipa kolonnām, paraugu šķīdinātājs un eluents bija dejonizētais ūdens, plūsmas ātrums bija $0,6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, injekcijas tilpums bija $20 \mu\text{L}$, kolonnas temperatūra bija $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Sagatavoja šādu vielu standartšķīdumu sēriju ar koncentrāciju $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$: levoglīkozāns $161 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, glikoze $180 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, celbioze $342 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, dekstrāni 4400, 9900, 21400, 43500 un $12400 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Atkarībā no to koncentrācijas pirolīzes kondensātus pirms analīzes 3-10 reizes atšķaidīja ar dejonizēto ūdeni.

Ūdenī nešķīstošajām pirolīzes kondensātu frakcijām līdzīgi tika veikta SEC organiskā šķīdinātāja tetrahidrofurāna vidē, izmantojot XT tipa kolonnas. Izmantoja polistirola standartvielas ar molmasām: 266, 570, 1250, 2250, 3460, 6670, 8900, 15500, un $21200 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Ieguva 2.4. attēlā redzamās trešās pakāpes polinomu kalibrēšanas līknes.



2.4. att. SEC-RI hromatogrāfijas kalibrēšanas grafiki: ūdens vidē – cukuru un dekstrānu standarti, tetrahidrofurāna vidē – polistirola standarti

2.8. Pirolīzes produktu kvalitatīvā analīze ar augstas izšķirtspējas masspektrometriju

Pirolīzes produkti tika vispārīgi analizēti ar kvadrupola-nolidojuma laika tandēma masspektrometru 50-1200 Da diapazonā negatīvā ESI režīmā. Metodes parametri bija: skenēšanas laiks 0,1 s, kolīzijas enerģija 10 V, konusa spriegums 40 V. Jonizācijas avota temperatūra bija 120 °C, desolvatācijas temperatūra bija 400 °C un desolvatācijas gāzes (Ar) plūsma bija 600 L·h⁻¹. Analīžu laikā masas korekcijai izmantoja leicīna enkafalīna standarta fiksēto masu (ESI- m/z bija 554,2615) šķīdumā ar koncentrāciju 50 ng·mL⁻¹. Detektora izšķirtspēja bija 20000-23000. Rezultāti tika apstrādāti ar *MassLynx V 4.1.* programmatūru. Savienojumu identifikācijai izmantota programmas funkcija *Elemental composition*, ierobežojot piedāvātās struktūrformulas ar iespējamo elementu sastāvu: C, H, O, Na, un *ChemSpider* datubāze [168].

Lai selektīvi detektētu 1,6-anhidroglikozes izomērus, tika sastādīta tandēma masspektrometrijas metode SRM režīmā joniem ar m/z vērtību 161 un 221. Metodes parametri bija: negatīvā ESI, kolīzijas enerģija 7 V, konusa spriegums 30 V. Pārējie parametri tādi paši, kā aprakstīts iepriekšējā rindkopā.

2.9. Pirolīzes produktu sadalīšana, izmantojot jonu apmaiņas sveķus

Pirolīzes kondensātu sadalīšanai ar jonu apmaiņas sveķiem sagatavoja vienkāršu atvērtās kolonnas hromatogrāfijas sistēmu. Stikla kolonnā, kurai apakšā bija piekausēts krāns plūsmas regulēšanai un kuras iekšējais diametrs bija 2 cm, ievietoja vates gabaliņu un skaloja ar

dejonizētu ūdeni. Pēc tam iepildīja jonu apmaiņas sveķu suspensiju ūdenī, lai sorbenta slāņa augstums būtu 50-60 cm. Kolonna tika līdzsvarota atbilstoši sorbenta veidam, kā aprakstīts 2.4. tabulā. Mazākiem paraugu daudzumiem izmantoja kolonnu ar 1 cm diametru un 30 cm sorbenta slāni.

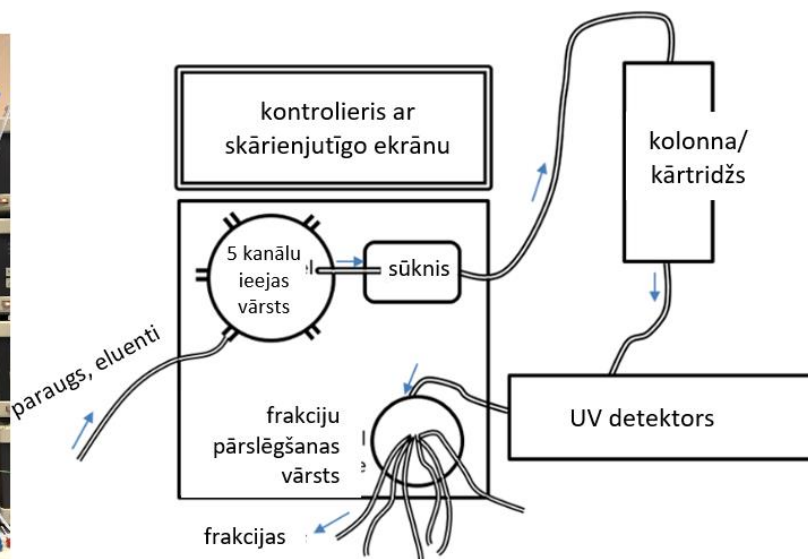
2.4. tabula

Sorbenta sagatavošana pirms pirolīzes kondensātu ievadišanas kolonnā

Sorbents	Sagatavošanas procedūra
Vāji skābi katjonu apmaiņas sveķi Na ⁺ formā	Skaloja ar 2 L dejonizēta ūdens
Stipri skābi katjonu apmaiņas sveķi H ⁺ formā	Skaloja ar 10 % Ca(OH) ₂ šķīdumu, līdz varēja novērot sveķu saraušanos visā kolonnas tilpumā, pēc tam skaloja ar 2 L dejonizēta ūdens.
Stipri bāziski anjonu apmaiņas sveķi Cl ⁻ formā	Skaloja ar 1,5 % NaOH šķīdumu, līdz eluātā ar AgNO ₃ vairs neuzrādījās Cl ⁻ joni, pēc tam skaloja ar dejonizētu ūdeni līdz neitrālam pH.
Nefunkcionalizēti polistirola sveķi	Skaloja ar 2 L dejonizēta ūdens

Pirolīzes kondensātu paraugus ar sausnes saturu < 6 % ietvaicētājā sakoncentrēja līdz ~20 %, filtrēja caur kroku filtru un 10-15 mL iepildīja kolonnā. Tika pārbaudīts, vai, filtrējot paraugus, nerodas levoglikozāna zudumi – ar jodometrisko metodi nogulsnes levoglikozāns netika konstatēts, bet paraugā pirms un pēc filtrēšanas nebija būtiskas levoglikozāna koncentrācijas izmaiņas (3 % robežās, kas iekļaujas metodes nenoteiktībā). Kad paraugs bija iepildīts kolonnā, iestatīja vienmērīgu ūdens vai ūdens/etanola maisījuma plūsmas ātrumu (0,6-1,6 mL·min⁻¹) un ik pēc 10 min savāca eluāta frakcijas, kurās noteica sausnes, levoglikozāna, kopējo cukuru un piemaisījumu saturu, kā aprakstīts 2.3. apakšnodaļā. Eksperimentus veica istabas temperatūrā 20 ± 4 °C.

Preparatīvās hromatogrāfijas eksperimenti tika turpināti, izmantojot automatizēto preparatīvās cietfāzes ekstrakcijas iekārtu „Sorbomate”, kuras fotogrāfija un shematiskais attēlojums redzami 2.5. attēlā. Pirolīzes kondensātu sadalīšanu ar „Sorbomate” veica līdzīgi, kā aprakstīts iepriekš ar atvērtās kolonnas sistēmu. 100 mL stipri bāziskos anjonu apmaiņas sveķus OH⁻ vai stipri skābos katjonu apmaiņas sveķus Ca²⁺ formā ūdens suspensijas veidā iepildīja preparatīvajā kārtridžā ar aksiālo saspiešanas ierīci. Plūsmas ātrums bija 30 mL·min⁻¹, telpas temperatūra 21 ± 1 °C, frakciju savākšanas programmu sastādīja, vadoties pēc UV absorbcijas mērījumu izmaiņām pie viļņa garuma 275 nm. Vienā eksperimentā varēja sadalīt aptuveni 1,2 L kondensāta, kas atbilst 35-40 g sausnes.



2.5. att. „Sorbomate” automatizētā preparatīvās cietfāzes ekstrakcijas iekārta: pa kreisi – iekārtas fotogrāfija LVKĶI, pa labi – iekārtas shematisks attēlojums

2.9. Fenolu desorbcija no anjonu apmaiņas sveķiem

Ar fenoliem piesātinātus anjonu apmaiņas sveķus OH^- formā izbēra no kolonnas un ļāva izžūt istabas temperatūrā. Pēc tam sauso sorbentu vienmērīgi samaisīja un piecās 50 mL sverglāzītēs iesvēra pa 3 g. Katrā sverglāzītē pievienoja pa 30 mL šķīdinātāja:

- metanolu
- metanolu/ūdeni (75:25 v/v)
- metanolu/etiķskābi (75:25 v/v)
- etanolu/etiķskābi (75:25 v/v)
- metanolu/etiķskābe/ūdeni (60:20:20 v/v/v)

Paraugus maisīja 30 min, pēc tam dekantēja šķīdumus un piecreiz atšķaidītus analizēja ar UHPLC, kā arī noteica kopējo fenolu saturu pēc Folina-Čikalto metodes. Lai apstiprinātu tendences, desorbcija ar dažādiem šķīdinātājiem tika veikta sorbentiem, kas bija piesātināti trīs dažādos pirolīzes kondensātu sadalīšanas eksperimentos.

2.10. Levoglikozāna kristalizēšana

Lai izvēlētos piemērotāko šķīdinātāju levoglikozāna kristalizēšanai, pārkristalizējot standartvielu, tika salīdzināta iegūtā produkta tīrība un iznākums, izmantojot acetonu, metanolu un etanolu. Tā kā etanols uzrādīja vislabākos rezultātus, tas tika izmantots daļēji attīrīto levoglikozāna frakciju, kas bija izdalītas no pirolīzes kondensējamajiem produktiem, pārkristalizēšanai. 10 g parauga pievienoja 20 mL etanola un maisot karsēja uz elektriskās plītiņas, līdz levoglikozāns bija izšķīdis, atdzesēja līdz istabas temperatūrai, filtrēja zem

vakuuma un kristālus divas reizes skaloja ar aukstu etanolu. Lai veicinātu krāsaino piemaisījumu atdalīšanu, karstajam levoglikozāna šķīdumam etanolā pievienoja 0,2 g aktivētās ogles, maisīja 5 min un ātri nofiltrēja, lai, šķīdumam atdziestot, levoglikozāns nesāktu kristalizēties ar ogles daļiņu ieslēgumiem. Tad šķīdumu atdzesēja un filtrēja, kristālus divreiz skalojot ar atdzesētu etanolu. Attīrītajam levoglikozānam noteica krāsu pēc UV absorbcijas pie 420 un 275 nm viļņa garumiem, kā arī kušanas temperatūru un optisko griešanas leņķi, ko aprēķināja pēc formulas:

$$\alpha_D^{20} = \frac{\alpha^t}{1 - 0,00037(t - 20^\circ\text{C})} \cdot l \cdot \gamma, \text{ kur} \quad (2.9.)$$

t – eksperimenta temperatūra [°C], α^t – eksperimentāli nomērītais griešanas leņķis temperatūrā t, l – kivetes garums [dm], γ – parauga koncentrācija [g·mL⁻¹].

3. REZULTĀTU IZVĒRTĒJUMS

Turpmāk apkopotī, apstrādāti un izvērtēti rezultāti, kas iegūti ar 2. nodaļā aprakstītajām metodēm. Aprakstīta dažādu UHPLC analītisko metožu izstrāde un pielietojamība pirolīzes kondensātu analīzēm (cukuru atvasinājumu, fenolu un furānu noteikšana), kā arī preparatīva pirolīzes kondensātu frakcionēšana ar dažādām jonu apmaiņas sveķu kolonnām, lai izdalītu un attīrītu levoglīkozānu. Augstas tīrības levoglīkozāna iegūšanai izmantota kristalizēšana etanolā un apstrāde ar aktivēto ogli. Izvērtēta iespēja no pirolīzes kondensātiem izdalīt levoglīkozāna izomēru 1,6-anhidro- β -D-glikofuranozi.

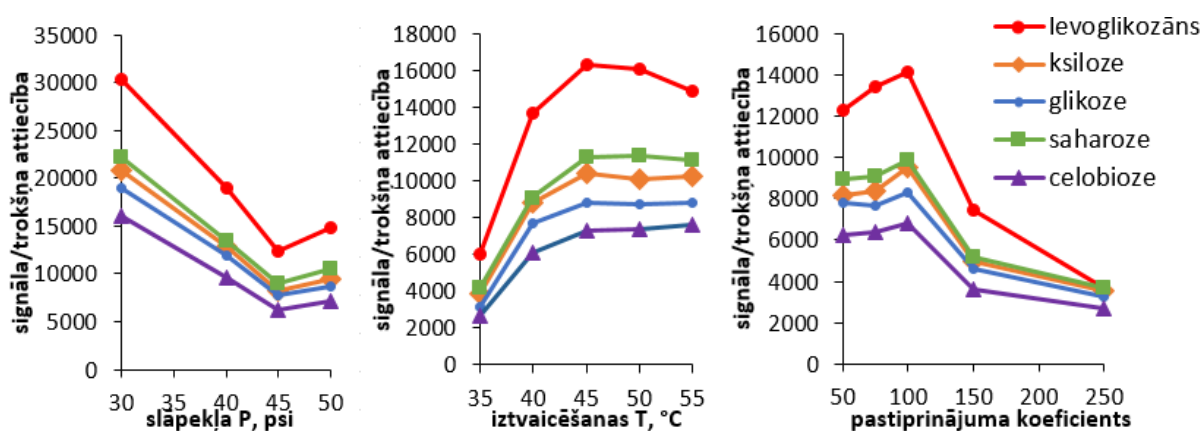
3.1. Cukuru atvasinājumu kvantitatīvās noteikšanas UHPLC metodes izstrāde

Cukuru atvasinājumu analīzēm tika izmantots gaismas izkliedes detektors un kvadrupola masspektrometrs, apskatītas divas UHPLC hidrofilās mijiedarbības kolonnas – nefunkcionalizēts HILIC sorbents, kā arī ar amīdgrupām atvasināts sorbents. Pirolīzes kondensātos galvenais cukuru analīžu mērķa savienojums ir levoglīkozāns, bet turpmāk aprakstītās metodes izstrādātas arī iespējai analizēt citus cukurus vai to atvasinājumus, piemēram, koksnes hidrolīzes produktos.

Detektori.

Lai izstrādātu cukuru noteikšanas metodi, izmantojot UHPLC, vispirms jāizvēlas piemērota detektēšanas metode. Tika izvērtēta divu detektoru – gaismas izkliedes detektora (ELSD) un kvadrupola masspektrometra (MS) – parametru maiņas ietekme uz analītu signāla/trokšņa attiecību. 3.1. attēlā redzams, ka, mainot trīs ELSD parametrus – izsmidzinātājgāzes N₂ spiedienu, iztvaicēšanas temperatūru un pastiprinājuma koeficientu, optimāla signāla/trokšņa attiecība levoglīkozāna gadījumā bija šādos apstākļos: N₂ spiediens 30 psi, iztvaicēšanas temperatūra 45 °C un pastiprinājuma koeficients 100. Šie detektēšanas apstākļi bija piemērotākie arī citu cukuru, piemēram, ksilozes, glikozes, saharozes un celobiozes, noteikšanai. Literatūrā aprakstīts [169], ka, palielinoties N₂ plūsmas ātrumam vai spiedienam, levoglīkozāna signāls samazinās, savukārt iztvaicēšanas temperatūras palielināšana sākotnēji uzlabo signāla intensitāti, jo tiek veicināta kustīgās fāzes iztvaikošana, taču pārāk augsta temperatūra var samazināt analīta signālu, kā tas novērots arī šinī gadījumā. Svarīgi pieminēt, ka visu eksperimentos izmantot cukuru kalibrēšanas grafiki bija līdzīgi – vienādā koncentrāciju diapazonā taisnes vienādojumos A loceklis visiem cukuriem sakrita 10 % robežās, bet B loceklis – 2 % robežās. Vidējais visu cukuru kalibrēšanas taisnes

vienādojums bija: $y = (2,9 \cdot 10^6 \pm 0,12 \cdot 10^6)x - (1,0 \cdot 10^6 \pm 0,03 \cdot 10^6)$. Tātad nepieciešamības gadījumā, piemēram, ja nav pieejams kāds mono- vai oligosaharīda standarts, kalibrēšanu kvantitatīvām analīzēm ar ELSD var veikt, izmantojot cita cukura standartu.



3.1. att. Gaismas izkliedes detektora izsmidzinātājgāzes N₂ spiediena, iztvaicēšanas temperatūras un pastiprinājuma koeficienta vērtības ietekme uz analītu signāla/trokšņa attiecību

MS gadījumā bija jāizvēlas gan optimāli parauga jonizēšanas apstākļi, gan m/z vērtības, pie kurām veikt atsevišķu jonu detektēšanu (SIR režīmā). Tā kā tika pētītas divas dažādas hromatogrāfiskās sistēmas un katrai kolonnai tika izmantota atšķirīga kustīgā fāze, tika novērotas cukuru jonizācijas atšķirības, ja kustīgā fāze bija:

- 1) ūdens/acetonitrils ar NH₄OH piedevu (pH 7,5-9 atkarībā no NH₄OH koncentrācijas);
- 2) amonija formiāta buferšķīdums ūdens/acetonitrila maisījumā ar pH 4,5.

1. pielikumā parādīti dažu atšķirīgu cukuru vai cukuru atvasinājumu masspektri, bet 3.1. tabulā apkopota informācija par levoglukozāna, ksilozes, fruktozes, glikozes, saharozes un celobiozes izteiktākajiem joniem. Interesanti, ka šo savienojumu molekulārie joni [M-H⁺]⁻ tikpat kā nekad nebija intensīvāki, it sevišķi kustīgajā fāzē ar buferšķīdumu. Pirmajā kustīgās fāzes variantā vienīgais izņēmums bija saharoze ar intensīvāko jonu m/z 341, celobiozes molekulārā jona intensitāte bija 50 %, bet levoglukozāna molekulārā jona m/z 161 intensitāte bija tikai 15 % un glikozes jona m/z 179 – 10 %. Visiem cukuriem raksturīga aduktu veidošana ar UHPLC sistēmā esošo skudrskābi, kas ir bieži izmantota kustīgās fāzes piedeva. Arī literatūrā minēts, ka disaharīdam laktozei negatīvajā jonizācijas režīmā uzrādīts „negaidīti intensīvs signāls 387,1 m/z” [159], kas tāpat kā celobiozes un saharozes gadījumā (3.1. tabulā) skaidrojams ar formiāta adukta veidošanos.

Levoglukozānam uzrādīts arī adukts ar ūdeni m/z 179, bet visintensīvākais jons levoglukozāna masspektā bija dimērs ar m/z 323, ja kustīgajā fāzē saturēja NH₄OH piedevu, bet ne m/z 323, ne 161 joni netika detektēti, ja kustīgajā fāzē bija buferšķīdums ar zemāku pH, tātad lielākas formiāta jona koncentrācijas gadījumā adukta veidošanās pārliecinoši izkonkurēja

molekulārā jona veidošanos un dimerizāciju jonizācijas laikā. Arī ksilozes un glikozes gadījumā bija novērojama dimerizācija un neidentificētu aduktu veidošanās. Tā kā elektroizsmidzināšanas jonizācija pieder salīdzinoši „maigajiem” jonizācijas veidiem [170], izteiktu fragmentu jonu konkrēto savienojumu masspektros nebija. Celobioze bija vienīgais savienojums, kura masspektrā bija vērā ņemams fragmenta jons ar m/z 161, kas radies, šķēļoties šī savienojuma glikozīdiskajai saitei. Glikozei, lai gan ar zemu intensitāti, bija novērojams dehidratētais jons $[M-H_2O-H^+]^-$ ar m/z 161.

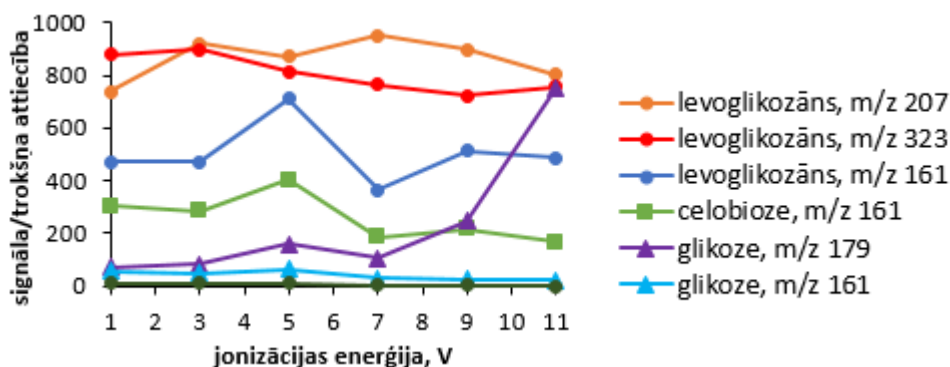
3.1. tabula

Cukuru masspektros novērotie intensīvākie joni

Savienojums, tā molmasa	Eluents ar 0,05 % NH ₄ OH piedevu			Eluents ar 10 mM amonija formiāta buferšķīdumu		
	Jons	m/z	Jona intens. %	Jons	m/z	Jona intens. %
Levoglikozāns, 162 g·mol ⁻¹	$[2M-H^+]^-$	323	100	$[M+FA-H^+]^-$	207	100
	$[M+FA-H^+]^-$	207	90	$[M+Y-H^+]^-$	285	20
	$[M-H^+]^-$	161	15			
	$[M+H_2O-H^+]^-$	179	5			
Ksiloze, 150 g·mol ⁻¹	$[M+FA-H^+]^-$	195	100	$[M+FA-H^+]^-$	195	100
	$[2M+X-H^+]^-$	307	70	$[2M+X-H^+]^-$	307	10
Fruktoze, 180 g·mol ⁻¹	$[2M+X-H^+]^-$	367	100	$[M+FA-H^+]^-$	225	100
	$[M+FA-H^+]^-$	225	10	$[2M+X-H^+]^-$	367	40
				$[M-H^+]^-$	179	20
Glikoze, 180 g·mol ⁻¹	$[M+FA-H^+]^-$	225	100	$[M+FA-H^+]^-$	225	100
	$[2M+X-H^+]^-$	367	30	$[2M+X-H^+]^-$	367	60
	$[M-H^+]^-$	179	10	$[M-H^+]^-$	179	5
	$[M-H_2O-H^+]^-$	161	5			
Saharoze, 342 g·mol ⁻¹	$[M-H^+]^-$	341	100	$[M+FA-H^+]^-$	387	100
	$[M+FA-H^+]^-$	387	95			
Celobioze, 342 g·mol ⁻¹	$[M+FA-H^+]^-$	387	100	$[M+FA-H^+]^-$	387	100
	$[M-H^+]^-$	341	50			
	$[M-Gl-H^+]^-$	161	30			

*M – savienojuma molekula, FA – skudrskābe, X,Y – nezināmi fragmenti, Gl - glikoze

MS signāla intensitāti iespējams mainīt, izvēloties jonizācijas enerģiju. 3.2. att. redzams, ka 5 V stipra negatīvā jonizācija nodrošināja lielāko signāla/trokšņa attiecību joniem ar m/z vērtību 161 gan levoglikozāna molekulārā jona gadījumā, gan glikozes un celobiozes fragmentu jonu gadījumā.



3.2. att. Kvadrupola MS jonizācijas enerģijas ietekme uz jonu signāla/trokšņa attiecību

Palielinot jonizācijas enerģiju, samazinājās levoglīkozāna dimēra jona signāla intensitāte un tajā pašā laikā palielinājās levoglīkozāna un skudrskābes adukta signāla intensitāte. Savukārt, levoglīkozāna-ūdens adukta intensitāte būtiski samazinājās, palielinot jonizācijas enerģiju augstāk par 5 V. Pretējs efekts novērojams glikozes gadījumā – molekulārā jona signāla/trokšņa attiecība pieauga, palielinot jonizācijas enerģiju. Veicot MS detektēšanu *SIR* režīmā pie 3.1. tabulā minētajām *m/z* vērtībām, tikai atsevišķos gadījumos varēja iegūt kalibrēšanas grafikus ar linearitāti $R^2 > 0,99$, lai veiktu kvantitatīvās analīzes. Jāpiebilst, ka cukuru analīzēs nav neparasti kvantificēšanai izmantot aduktu, nevis molekulāros jonus [158, 159]. 3.2. tabulā redzams, ka R^2 vismaz 0,99 bija, veicot mērījumus *m/z* vērtībām 323 un 207 levoglīkozānam, 195 ksilozei, 225 glikozei un 387 saharozei un celobiozei. Cukuru noteikšanas jutība ar MS detektoru bija aptuveni $2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Vislabāko jutību un $\text{LOQ} = 0,6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ uzrādīja levoglīkozāna noteikšana, veicot mērījumus joniem ar *m/z* 323.

3.2. tabula

Atsevišķu cukuru jonu MS detektēšanas noteikšanas robeža LOQ un linearitāte R^2

Savienojums	Jons, <i>m/z</i>	LOQ, $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	Linearitāte R^2 (0,7-3 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Levoglīkozāns	323	0,9	0,996
	161	2	0,97
	207	2	0,998
Ksiloze	195	1	0,996
Glikoze	225	2	0,990
Saharoze	387	6	0,97
Celobioze	387	3	0,990

Kontrastam 3.3. tabulā parādīta to pašu cukuru noteikšanas linearitāte un jutība ar ELSD detektoru. Atšķirībā no MS detektora, kura jutība un linearitāte var būtiski atšķirties pat līdzīgiem savienojumiem, ar ELSD detektoru visu cukuru noteikšanai linearitāte bija $R^2 > 0,99$. Tāpat arī noteikšanas robeža visu cukuru gadījumā bija līdzīga – aptuveni $0,04 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, kas ir vairāk nekā desmitreiz labāks rādītājs nekā MS detektoram. Literatūrā minēta levoglīkozāna noteikšanas robeža ar ELSD detektoru $0,009 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 10 μL injekcijā [169]. Ņemot vērā, ka šajā darbā injekcijas tilpums bija 2 μL , iegūtās cukuru LOQ vērtības ir līdzīgas vai pat zemākas par literatūras datiem.

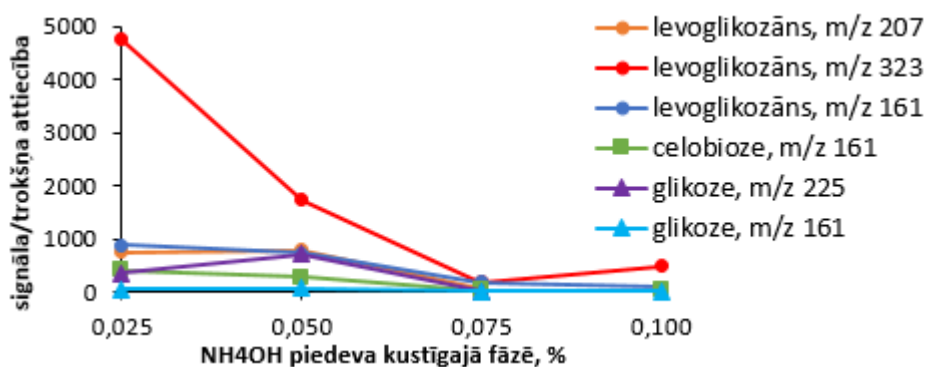
3.3. tabula

Cukuru ELSD detektēšanas noteikšanas robeža LOQ un linearitāte R^2

Savienojums	LOQ, $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	Linearitāte R^2 (0,3-2 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Levoglīkozāns	0,04	0,994
Ksiloze	0,05	0,992
Glikoze	0,02	0,991
Saharoze	0,04	0,990
Celobioze	0,04	0,990

Kolonnas.

Cukuru hromatogrāfiskajām analīzēm ar iztvaicējošajiem detektoriem, tādiem kā ELSD vai MS bieži izmanto kustīgo fāzi ar gaistošām bāziskām piedevām (amonija hidroksīdu vai trietilamīnu) [171]. Šajā darbā amīdu kolonnas gadījumā tika lietota amonija hidroksīda piedeva, jo tā ir vēlamāka, strādājot ar MS detektoru. Izvērtējot piedevas koncentrācijas ietekmi uz levoglikozāna jonizāciju, tika noskaidrots, ka vislielākā signāla/trokšņa attiecība bija ar < 0,05 % NH₄OH. 3.3. attēlā redzama NH₄OH koncentrācijas (tilpuma %) kustīgajā fāzē ietekme uz levoglikozāna un citu cukuru jonu signāla/trokšņa attiecību.

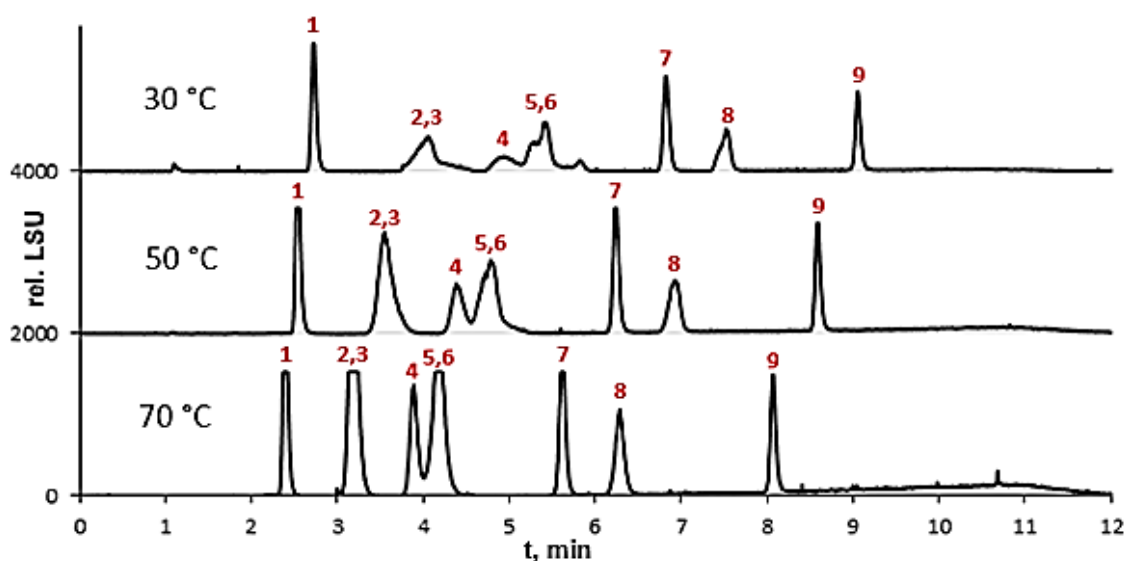


3.3. att. Kustīgās fāzes piedevas NH₄OH koncentrācijas ietekme uz analītu jonu signāla/trokšņa attiecību kvadrupola masspektrometrijā

Tā kā HILIC kolonna ir lietojama tikai līdz pH 5, tās gadījumā par kustīgo fāzi tika izvēlēts 10 mM amonija formiāta buferšķīdums ar pH 4,5. Vēl jāpiemin, ka HILIC kolonnai ir ierobežojumi ne tikai attiecībā uz eluenta pH, bet arī kolonnas temperatūru – tā nedrīkst pārsniegt 45 °C, tāpēc analīzēm tika izmantota 30 °C temperatūra. Savukārt Amīdu kolonna ir lietojama līdz pat 90 °C, līdz ar to bija iespējams pārbaudīt kolonnas temperatūras ietekmi uz dažādu cukuru šķīduma sadalīšanu. 3.4. attēlā redzamas deviņu cukuru – levoglikozāna, ksilozes, arabinozes, mannozes, glikozes, galaktozes, saharozes, celbiozes un rafinozes – šķīduma hromatogrammas, kas iegūtas pie atšķirīgām Amīdu kolonnas temperatūrām: 30, 50 un 70 °C.

Temperatūrā zemākā par 60 °C būtiski paplatinājās vai pat sašķēlās vairāku cukuru joslas. Zināms [172], ka šāda parādība raksturīga monosaharīdiem mutarotācijas dēļ. Redzams, ka tas attiecas arī uz disaharīdu celbiozi, kuras struktūrā (atšķirībā no disaharīda saharozes un trisaharīda rafinozes) ir reducējošā cukura elementārviens. Levoglikozānam ar anhidrogrupu starp C1 un C6 oglekļa atomiem raksturīgas no temperatūras neatkarīgas šauras hromatogrāfijas joslas. Salīdzinot hromatogrammas 30 °C un 70 °C temperatūrā, redzams, ka nereducējošo saharīdu – levoglikozāna, saharozes un rafinozes – joslu platumi samazinājās par < 10 %. Šajā gadījumā nebija runa par α - un β -anomēru veidošanos, bet gan masas pārnesei procesiem, jo

augstākā temperatūrā joslu platums nedaudz samazinājies līdz ar izdalīšanas laika samazināšanos. Savukārt, reducējošajiem cukuriem temperatūras ietekmē joslu platums samazinājies šādi: ksilozei par 40 %, arabinozei par 50 %, mannozei par 50 %, glikozei par 15 %, galaktozei par 50 % un celobiozei par 5 %. Lai gan reducējošo cukuru – glikozes un celobiozes joslas zemākajā temperatūrā paplatinājās salīdzinoši maz, joslu formas izmaiņa bija acīmredzama: zemākā temperatūrā joslas zaudēja augstumu un kļuva asimetriskas. Turpmākām levoglukozi un citu pirolīzes produktus atrodamo cukuru atvasinājumu analīzēm ar Amīdu kolonnu tika lietota 60 °C temperatūra.



3.4. att. Cukuru maisījuma UHPLC-ELSD hromatogrammas atkarībā no Amīdu kolonnas temperatūras: 1 – levoglukozi, 2 – ksiloze, 3 – arabinoze, 4 – mannoze, 5 – glikoze, 6 – galaktoze, 7 – saharoze, 8 – celobioze, 9 – rafinoze

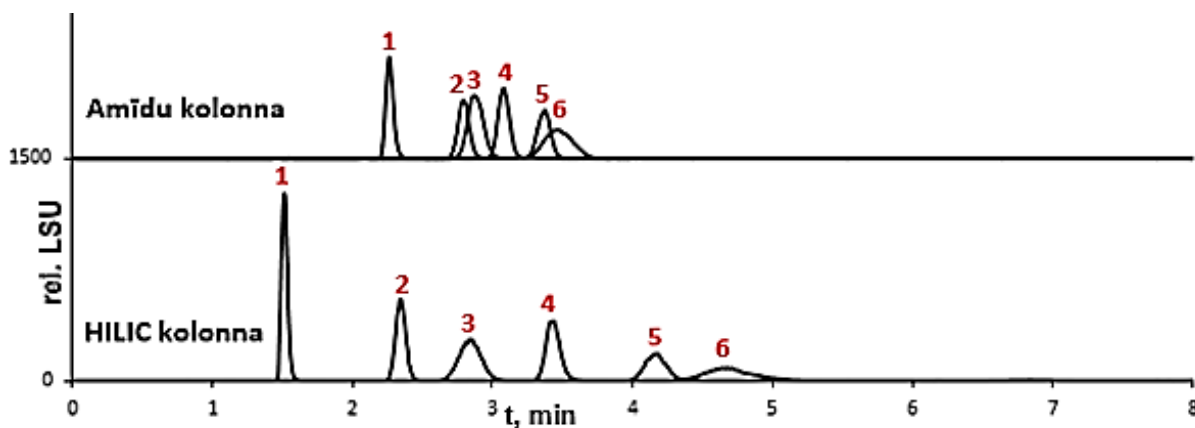
Par pamatu cukuru noteikšanas metodei ar Amīdu kolonnu ņemta „Waters” UHPLC metode [171], kas saskaņā ar literatūru piemērota ksilozes, fruktozes, mannozes, glikozes, saharozes, celobiozes un augstāku oligosaharīdu atdalīšanai. Praksē atklājās, ka dažu koksnes ķīmijā raksturīgu cukuru atdalīšana bija nepilnīga. Cukuru izdalīšanas secība – atkarībā no molekulu izmēra, hidroksilgrupu skaita un telpiskā novietojuma – bija šāda: levoglukozi, ksiloze, arabinoze, fruktoze, mannoze, glikoze, galaktoze, saharoze, celobioze, rafinoze. HILIC kolonnas gadījumā izdalīšanās secība bija tāda pati, bet lielākoties cukuru sorbcija HILIC kolonnā bija daudz spēcīgāka nekā Amīdu kolonnā – to parāda atšķirīgās izdalīšanas koeficientu k' vērtības, kas apkopotas 3.4. tabulā.

Cukuru izdalīšanas laiki t_R , izdalīšanas koeficienti k' un selektivitāte α

Savienojums	t_R , min		k'		α (pret iepriekšējo savienojumu)	
	Amīdu kolonna	HILIC	Amīdu kolonna	HILIC	Amīdu kolonna	HILIC
Levoglikozāns	2,263 ± 0,012	1,50 ± 0,02	2,7	2,1	-	-
Ksiloze	2,79 ± 0,02	2,34 ± 0,02	3,3	3,3	1,2	1,6
Arabinoze	2,89 ± 0,02	2,841 ± 0,002	3,4	4,1	1,0	1,2
Fruktoze	3,09 ± 0,02	3,426 ± 0,0012	3,6	4,9	1,1	1,2
Glikoze	3,38 ± 0,03	4,12 ± 0,04	4,0	5,9	1,1	1,2
Galaktoze	3,54 ± 0,06	4,68 ± 0,02	4,2	6,7	1,0	1,1
Saharoze	4,13 ± 0,03	6,5 ± 0,3	4,9	9,3	1,2	1,4
Celobioze	4,65 ± 0,05	12,2 ± 0,2	5,5	17	1,1	1,9

Ksilozes izdalīšanas koeficienti k' Amīdu un HILIC kolonnā bija vienādi – 3,3, bet levoglikozāna (vienīgais savienojums, kas izdalījās pirms ksilozes) k' ar Amīdu kolonnu bija gandrīz par trešdaļu lielāks nekā ar HILIC kolonnu. Tātad levoglikozāns ar mazāku OH-grupu skaitu un anhidrogrupu tā ķīmiskajā struktūrā salīdzinoši vājāk mijiedarbojās ar nefunkcionalizēto HILIC sorbentu. Pretēja tendence bija novērojama pārējiem cukuriem, kuri izdalījās pēc ksilozes – to k' ar HILIC kolonnu bija ievērojami lielāki nekā ar Amīdu kolonnu. Visvēlāk izdalītā cukura – celobiozes – k' ar HILIC kolonnu bija aptuveni trīs reizes lielāks nekā ar Amīdu kolonnu un attiecīgi arī kopējais analīzes laiks ar HILIC kolonnu bija ilgāks un eluenta patēriņš lielāks. Izmantojot Amīdu kolonnu, izdalīšanās laiku relatīvā standartnovirze gan vienas dienas ietvaros, gan dažādās dienās nepārsniedza 1 %. Ar HILIC kolonnu vienā dienā veiktās analīzēs izdalīšanās laiku relatīvā standartnovirze bija < 1 %, bet, salīdzinot dažādās dienās veiktas analīzes, izdalīšanās laiki bija atšķirīgi ar relatīvo standartnovirzi līdz pat 15 %, kas skaidrojams ar to, ka HILIC kolonnas gadījumā tika izmantota kustīgā fāze ar vairāk sastāvdaļām, kā dēļ katrā pagatavošanas reizē varēja nedaudz atšķirties eluenta sastāvs. Izdalīšanās laiku nobīdes neietekmēja savienojumu savstarpējo atdalīšanos.

3.5. attēls uzskatāmi ilustrē to, ka ar HILIC kolonnu bija iespējams atdalīt tādus savienojumu pārus, kuru atdalīšana ar Amīdu kolonnu bija nepilnīga. Amīdu kolonnas gadījumā epimēru pāriem ksiloze/arabinoze un glikoze/galaktoze selektivitāte α bija 1,0, līdz ar to ar Amīdu kolonnu var noteikt pentozes (ksiloze + arabinoze) un heksozes (glikoze + galaktoze) kā grupas, nevis individuālus cukurus. Savukārt, ar HILIC kolonnu visiem cukuru pāriem α bija > 1,1, tātad HILIC kolonnas būtiska priekšrocība ir iespēja noteikt atsevišķus monosaharīdus – pat epimērus. Lai ar Amīdu tipa nekustīgo fāzi atdalītu minētos cukuru pārus, nepieciešams palielināt teorētisko šķīvju skaitu, piemēram, virknē saslēdzot divas 15 cm garas Amīdu tipa kolonnas, kā rezultātā var atdalīt glikozi un galaktozi, bet ievērojami palielinās analīzes laiks – līdz pat 40 min [173].



3.5. att. Cukuru UHPLC-ELSD hromatogrammas, izmantojot Amīdu un HILIC kolonnu:
1 – levoglīkozāns, 2 – ksiloze, 3 – arabinoze, 4 – fruktoze, 5 – glikoze, 6 – galaktoze

Lai pastāvīgi veiktu levoglīkozāna noteikšanu praktiskāka ir Amīdu kolonnas metode, jo mazākā plūsmas ātruma ($0,15 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ Amīdu kolonnai, bet $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ HILIC kolonnai) un analīzes laika dēļ var patērēt mazāk eluenta un samazināt katras analīzes izmaksas.

Levoglīkozāna kvantitatīvai noteikšanai paraugos tika salīdzinātas šādas metodes:

- Amīdu vai HILIC UHPLC kolonna ar ELSD detektoru,
- Amīdu UHPLC kolonna ar kvadrupola MS detektoru SIR režīmā (323, 207 un 161 m/z),
- HILIC UHPLC kolonna ar kvadrupola MS detektoru SIR režīmā (207 un 285 m/z).

Izvēlēto UHPLC metožu pielietojums paraugu analīzēm.

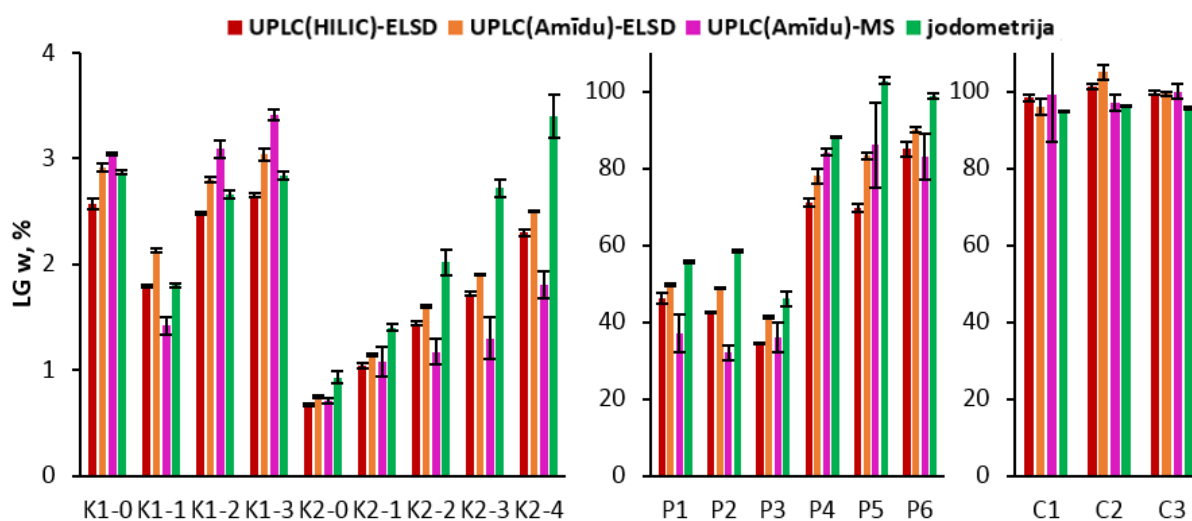
UHPLC levoglīkozāna noteikšanas metodēm tika izvērtēta pareizība un precizitāte. Pareizību raksturoja standartpiedevas atgūstamība matricā, bet precizitāti – relatīvā standartnovirze sešiem paralēlajiem levoglīkozāna mērījumiem standartšķīdumā un matricā. 3.5. tabulā apkoptie rezultāti parāda, ka visām izvēlētajām metodēm atgūstamība bija tuva 100 % (tikai divu metožu – UHPLC-MS ar Amīdu kolonnu un m/z 323 SIR režīmu, kā arī UHPLC-MS ar HILIC kolonnu un m/z 207 SIR režīmu – atgūstamības rezultātu standartnovirzes neiekļāva 100 % vērtību). Kopumā atgūstamībai gandrīz visos gadījumos bija tendence uz nedaudz paaugstinātu rezultātu, bet nevienas metodes atgūstamības vidējā vērtība nepārsniedza 110 %. Tikai metodei, izmantojot Amīdu kolonnu ar MS m/z 207 detektēšanu, atgūstamība bija ievērojami pazemināta – 91 %. ELSD detektora precizitāte bija laba abu kolonnu gadījumā, t.i., relatīvā standartnovirze pat matricā nepārsniedza 3 %. MS detektora gadījumā relatīvā standartnovirze lielākoties bija 5-10 % robežās.

Dažādu UHPLC levoglīkozāna noteikšanas metožu pareizība un precizitāte

Metode	Atgūstamība % $\pm S_6$	$S_{r,6}$ %, standartšķīdumā	$S_{r,6}$ %, matricā
UHPLC (Amīdu)-ELSD	101 \pm 3	2	0,7
UHPLC (Amīdu)-MS m/z 323	103 \pm 2	7	7
UHPLC (Amīdu)-MS m/z 161	101 \pm 4	8	4
UHPLC (Amīdu)-MS m/z 207	91 \pm 7	11	7
UHPLC (HILIC)-ELSD	99,6 \pm 1,3	2	3
UHPLC (HILIC)-MS m/z 207	107 \pm 6	5	2
UHPLC (HILIC)-MS m/z 285	100 \pm 5	14	10

Atsevišķas analītiskās metodes tika izmantotas levoglīkozāna noteikšanai pirolīzes produktu paraugos, kuros bija atšķirīgs levoglīkozāna tīrības līmenis: pirolīzes kondensāti – ļoti atšķaidīti ūdens šķīdumi (levoglīkozāna koncentrācija < 4 %); pastas (ietvaicēti kondensāti, atsāļņi, daļēji attīrīta levoglīkozāna frakcijas) – dažādu vielu maisījumi ar ūdens saturu aptuveni 10 %, (levoglīkozāna koncentrācija 40-90 %); kristālisks levoglīkozāns – ar kristalizēšanu attīrīts levoglīkozāns (levoglīkozāna koncentrācija > 90 %).

Levoglīkozāna kvantitatīvās noteikšanas rezultāti atrodami 2. pielikumā, bet grafisku kopsavilkumu var redzēt 3.6. attēlā. Salīdzināmus rezultātus varēja iegūt, izmantojot abas UHPLC kolonnas apvienojumā ar ELSD detektoru, kā arī Amīdu kolonnu ar MS (m/z 323). Bet HILIC kolonnas gadījumā ar MS matricas ietekmes dēļ tika iegūti ievērojami paaugstināti rezultāti (piemēram, levoglīkozāna koncentrācija kondensātā tika noteikta kā 4,8 %, kaut arī sausnes koncentrācija paraugā bija tikai 3,8 %, vai pastas paraugā tika noteikta 120 % levoglīkozāna koncentrācija), tāpēc šī metode atzīta par nepiemērotu un turpmāk netika izmantota. Salīdzinājumam tika izmantota jodometriskās titrēšanas metode, ar ko nosaka levoglīkozānu (anhidrosaharīdus) un kopējos cukurus (bez anhidrogrupām), ko aprēķina kā glikozes ekvivalentus.

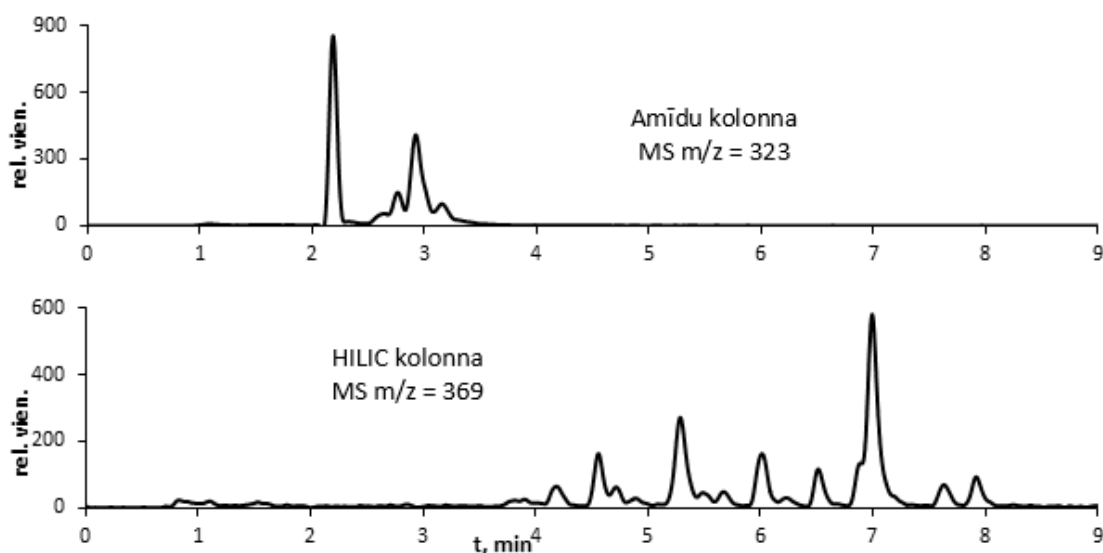


3.6. att. Levoglīkozāna noteikšanas rezultāti, izmantojot dažādas metodes: K tipa paraugi – kondensāti, P tipa paraugi – pastas, C tipa paraugi – kristāliski

Paraugu grupās K un P, kas apzīmē pirolīzes produktu kondensātus un pastas, bija izteikta tendence ar UHPLC(HILIC)-ELSD metodi iegūt 10-20 % zemākus rezultātus nekā ar UHPLC(Amīdu)-ELSD. Tas liecina par kāda savienojuma klātbūtni šajos paraugos, kura izdalīšanās laiki Amīdu kolonnas gadījumā sakrīt ar levoglīkozāna izdalīšanās laiku. C grupas paraugos, t.i. pārkristalizēta levoglīkozāna paraugos, šāda tendence netika novērota, tātad minētais piemaisījums kristalizācijas laikā ir atdalīts.

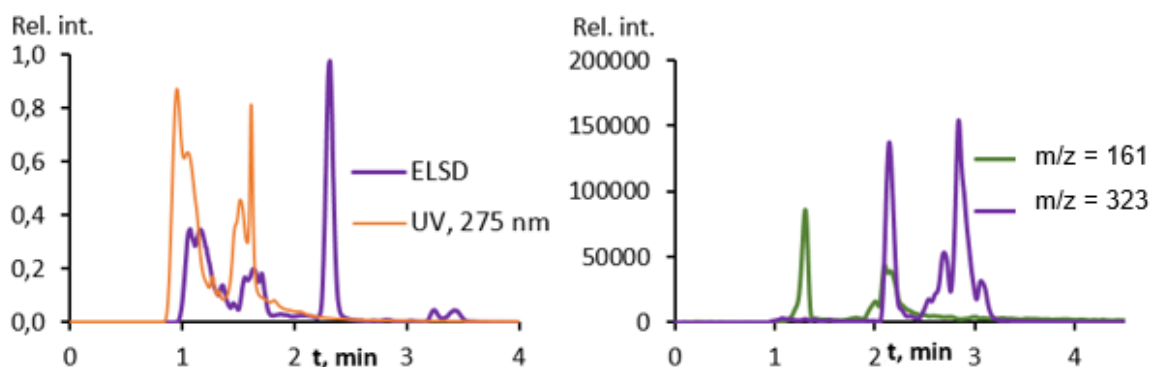
Salīdzinot rezultātus, kas iegūti ar MS un ELSD detektoriem, izmantojot Amīdu kolonnu, pirmkārt, var novērot, ka lielākajai daļai paraugu ar ELSD iegūti precīzāki rezultāti (ar mazāku standartnovirzi). Otrkārt, redzams, ka atsevišķiem paraugiem MS un ELSD rezultāti sakrīt 10 % robežās, tomēr atsevišķiem K un P grupu paraugiem ar MS iegūtie rezultāti bija par 20-30 % zemāki nekā ar ELSD iegūtie. K grupas paraugu titrēšanas rezultāti bija salīdzināmi ar UHPLC analīžu rezultātiem, bet koncentrētākajos P grupas paraugos jodometrijas rezultāti visos gadījumos bija paaugstināti, kas skaidrojams ar izteiktu levoglīkozāna izomēra 1,6-anhidro- β -D-glikofuranozes un citu anhidrosaharīdu ietekmi uz titrēšanas rezultātu. Kristāliskajos C grupas paraugos UHPLC analīzes uzrādīja 100 % tuvu levoglīkozāna koncentrāciju, bet titrēšanas rezultāti bija par 1-4 % zemāki. Jāpiebilst, ka arī komerciālā levoglīkozāna standarta (99 %) titrēšanas rezultāts bija tikai $96,5 \pm 1,3$ %. Tātad titrimetriskās metodes rezultāti bija sakrītoši, bet regulāri samazināti. To var daļēji skaidrot ar nelielu sistemātisko kļūdu titrēšanas metodē, kas rodas hidrolīzes laikā, kā arī ar levoglīkozāna ūdens piesaisti no gaisa. Karsējot kristāliska levoglīkozāna paraugus 103 °C temperatūrā, izžūstot mitrumam, tā masa samazinājās par vidēji 1,3 %.

Analizējot pirolīzes produktu paraugus, atklājās būtiska atšķirība kvalitatīvajiem rezultātiem, kas iegūti ar Amīdu vai HILIC kolonnu. 3.7. attēlā redzams, ka MS hromatogrammās anhidrosaharīdu dimēriem atbilstošajiem joniem $[M-H^+]^-$ ar m/z 323 un $[M+FA-H^+]^-$ ar m/z 369 tika atrastas vairākas joslas. Amīdu kolonnas gadījumā bija redzams, ka paraugā bez levoglīkozāna ir vēl vismaz četri savienojumi ar raksturīgo m/z 323 jonu, bet HILIC kolonnas gadījumā anhidrosaharīdu dimēru vai tiem līdzīgu savienojumu selektivitāte bija labāka – tika izšķirtas 15 daļēji atdalītas m/z 369 jona joslas. Izokrātiskā UHPLC sistēmā iespējams saīsināt analīzes laiku, jo nav jāveic sistēmas stabilizācija starp injekcijām, bet, lai ar Amīdu kolonnu labāk atdalītu anhidrosaharīdus, tika izvēlēta gradienta sistēmā, kurā anhidrosaharīdu dimēru savstarpējā selektivitāte α uzlabojās no 1,08 līdz 1,21.



3.7. att. Pirolīzes produktu parauga (P2) UHPLC-MS hromatogrammas, kas iegūtas, izmantojot Amīdu un HILIC kolonnu

Sagatavojot koncentrētākus šķīdumus, ar ELSD detektoru varēja iegūt hromatogrammas, kurās bija iespējams integrēt arī dimēru joslas. 3.8. attēlā redzams PDA-ELSD un MS hromatogrammu salīdzinājums koncentrētam pirolīzes produktu parauga šķīdumam ($4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$). PDA-ELSD hromatogrammās redzams, ka pirmajās divās minūtēs izdalījās pirolīzes produktos esošie savienojumi ar izteiktu UV absorbciju (galvenokārt furāni un fenoli, kam ir spēcīgāka mijiedarbība ar apgrieztās fāzes sorbentiem, bet kas vāji mijiedarbojas ar Amīdu kolonnu).



3.8. att. Anhidrosaharīdi pirolīzes produktu UHPLC-UV-ELSD/MS hromatogrammās, kas iegūtas, izmantojot Amīdu kolonnu

Tajā pašā hromatogrammas apgabalā arī ar ELSD detektoru novērojamas neatdalītu savienojumu joslas. Ņemot vērā, ka paraugā bija gandrīz 20 % levoglīkozāna, var pieņemt, ka to hromatogrāfisko joslu, kas izdalās pirmajās divās minūtēs, laukumu summa varētu būt četras reizes lielāka nekā levoglīkozāna joslas laukums, tomēr reālā proporcija bija 7:3 (piemaisījumi/levoglīkozāns), kas izskaidrojams ar to, ka fenolu un furānu atvasinājumi ir gaistošāki par cukuru atvasinājumiem, tāpēc konkrētajos apstākļos uzrādīja ļoti vāju ELSD

signālu. Vēl ELSD hromatogrammā var redzēt, ka pēc levoglukoza 2,5 līdz 3,3 min intervālā izdalījās jau iepriekš minētie anhidrosaharīdu dimēri, kuru joslu kopējais laukums bija 5 reizes mazāks nekā levoglukoza joslas laukums.

Diemžēl levoglukoza un pārējo anhidrosaharīdu atšķirīgo koncentrāciju dēļ nebija iespējams sagatavot tādu pirolīzes pastas šķīdumu, lai vienas hromatogrammas ietvaros ar ELSD kvantificētu gan levoglukoza, gan dimērus. Tika sagatavoti parauga šķīdumi ar dažādu koncentrāciju, lai gan levoglukoza, gan pārējo anhidrosaharīdu koncentrācija ietilptu kalibrēšanas grafikā – levoglukoza masas daļa paraugā bija 20 %, bet anhidrodisaharīdu kopējā masas daļa, kalibrējot pēc levoglukoza, bija tikai 4 %. Jāpiebilst, ka regulāri šādas analīzes nav vēlams veikt, jo parauga lielākās koncentrācijas dēļ tiek noslogota kolonna un saīsināts tās lietošanas laiks.

Salīdzinot ar ELSD detektora hromatogrammu, MS gadījumā pavērās atšķirīga aina. Detektējot jonus ar m/z 323, bija labi redzama levoglukoza josla ($t_R = 2,2$ min), kā arī anhidrodisaharīdu joslas (2,5-3,3 min) ar salīdzināmu signāla intensitāti. Respektīvi, pēc levoglukoza un dimēru joslu intensitātes MS gadījumā proporcija bija 1:2 (levoglukoza/anhidrodisaharīdi) – pilnīgi pretēja nekā ELSD detektora hromatogrammā. Tā kā ELSD detektors visiem cukuriem tādiem kā levoglukoza, monosaharīdi, disaharīdi uzrāda līdzīgu (10 % robežās) signālu, tad ar ELSD iegūtais rezultāts tika pieņemts par patieso. Tādā gadījumā var secināt, ka pirolīzes produktos atrastie anhidrodisaharīdi masspektrometrā konkrētajos analīzes apstākļos jonizējās ievērojami labāk nekā levoglukoza. Ņemot vērā levoglukoza un anhidrodisaharīdu joslu savstarpējo attiecību MS un ELSD gadījumā, var pieņemt, ka kvantitatīvais MS rezultāts labās jonizācijas dēļ anhidrosaharīdu dimēriem, kalibrējot pēc levoglukoza, ir aptuveni desmit reizes paaugstināts. Līdz ar to tajos gadījumos, kad anhidrodisaharīdu koncentrācija paraugos bija pārāk zema ELSD metodei, tie tika kvantificēti, izmantojot levoglukoza kalibrēšanas grafiku, bet joslu laukumiem piemērojot koeficientu 0,1.

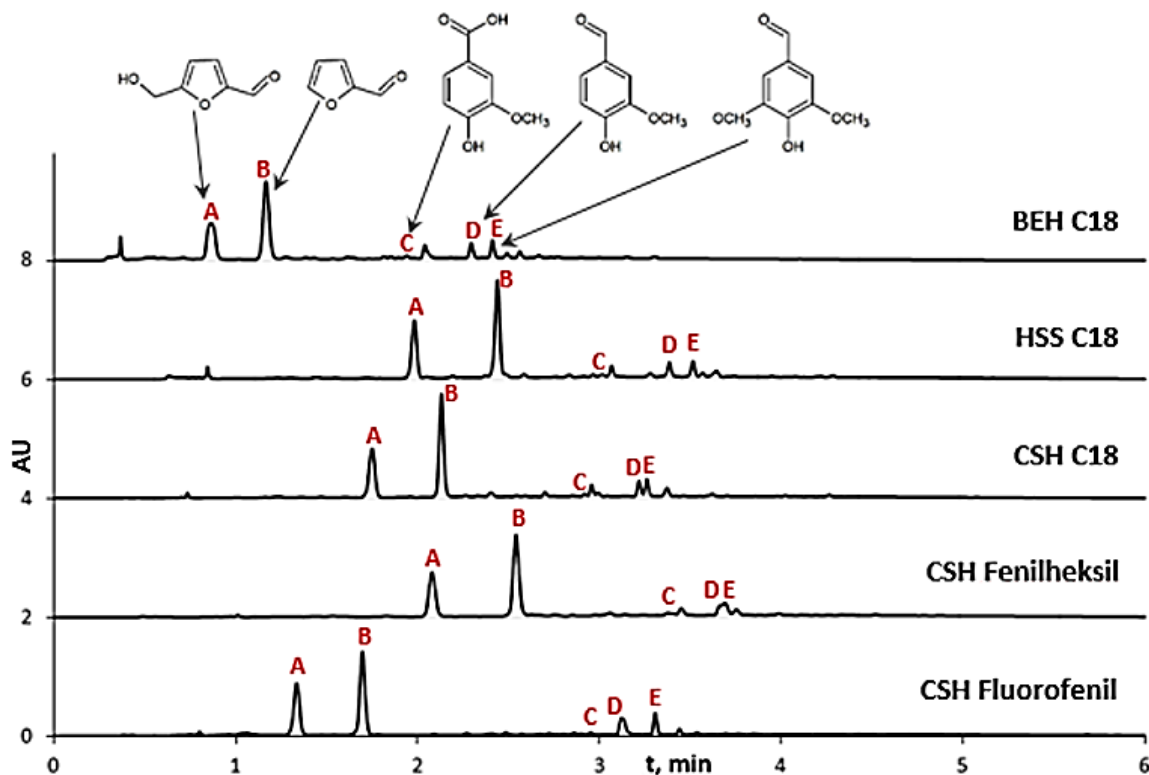
MS detektors uzrādīja vēl divu anhidrosaharīdu klātbūtni, kas redzami, detektējot jonus ar m/z 161 (ar t_R 1,1 un 2,0 min). Diemžēl levoglukoza izomēru, tādu kā 1,6-anhidro- β -D-glikofuranoze vai mannozāns, standartvielas nav komerciāli pieejamas, lai apstiprinātu šo anhidromonosaharīdu identitāti.

Turpmāk levoglukoza koncentrācijas savstarpējai salīdzināšanai paraugos tiks izmantota UHPLC(Amīdu)-ELSD metode un jodometriskā titrēšana, bet atsevišķos gadījumos anhidrodisaharīdu saturu paraugos raksturos ar UHPLC(Amīdu)-MS metodi, detektējot jonus ar m/z 323 un pēc levoglukoza kalibrēšanas grafika iegūto rezultātu pareizinot ar koeficientu

0,1, jo iepriekš tika minēts, ka MS detektors anhidrodisaharīdu uzrādīja aptuveni desmit reizes paaugstinātu rezultātu, kalibrējot pēc levoglukoza.

3.2. Fenolu un furānu noteikšana pirolīzes kondensātos ar apgrieztās fāzes UHPLC

Pirolīzes kondensātos atrodami dažādi no holocelulozes radušies furānu atvasinājumi, kā arī daudzi desmiti fenolu atvasinājumu, kas radušies lignīna termiskās destrukcijas rezultātā [174]. Literatūrā pārlicinoši aprakstīta šo abu savienojumu klašu pārstāvju noteikšana ar apgrieztās fāzes šķidrums hromatogrāfijas metodēm dažādās matricās [175-177], tomēr pirolīzes produktos furānus un fenolus nav ierasts analizēt ar šķidrums hromatogrāfiju, bet gan ar GC savienojumu lielā skaita dēļ. Pirolīzes kondensātu sarežģītā un mainīgā (atkarībā no izejmateriāla veida, priekšapstrādes un pirolīzes apstākļiem) sastāva dēļ grūti prognozēt optimālos hromatogrāfijas apstākļus atsevišķu savienojumu atdalīšanai, tāpēc pirolīzes produktu analīzēm testētas šādas UHPLC kolonnas (ar daļiņu izmēru 1,7 μm): saistītā etilēnhibrīda (*bridged ethylene hybrid*) C18 kolonna – BEH C18; augstas izturības silikagēla (*high strength silica*) C18 kolonna – HSS C18; lādētā virsmas hibrīda (*charged surface hybrid*) C18 kolonna – CSH C18; Fenilheksil- lādētā virsmas hibrīda kolonna – CSH Fenilheksil; Fluorofenil- lādētā virsmas hibrīda kolonna – CSH Fluorofenil.



3.9. att. Pirolīzes kondensējamo produktu UHPLC-UV hromatogrammas, kas iegūtas, izmantojot dažādas apgrieztās fāzes kolonnas: A – 5-hidroksimetilfurfuols, B – furfuols, C – vanilīnskābe, D – vanilīns, E – siringaldehīds

3.9. attēlā redzamajās hromatogrammās parādīts, ka ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju apvienojumā ar UV detektoru pirolīzes kondensātos varēja atrast aptuveni 15 savienojumus. Pēc UV spektriem un izdalīšanās laikiem, salīdzinot ar standartvielām, varēja identificēt 5 no šiem savienojumiem: A – 5-hidroksimetilfurfuols, B – furfuols, C – vanilīnskābe, D – vanilīns, E – siringaldehīds.

Identificēto savienojumu izdalīšanas laiki no katras kolonnas apkopoti 3.6 tabulā. Atbilstoši apgrieztās fāzes hromatogrāfijas teorijai [178] vispirms izdalījās polārākie furānu atvasinājumi – attiecīgi HMF un furfuols, bet vēlāk izdalījās fenolu atvasinājumi, sākot ar skābēm – vanilīnskābe, vanilīns, siringaldehīds. Furānu atvasinājumu k' vērtības visu kolonnu gadījumā bija < 6 . HMF un furfuola savstarpējā atdalīšana ar visām kolonnām bija līdzīga, ko raksturoja selektivitāte α 1,2-1,3. Fenolu savstarpējā atdalīšana bija sliktāka. Tā kā pirolīzes produktos ir daudz pēc struktūras līdzīgu fenolu atvasinājumu zemās koncentrācijās, to joslas bieži pārklājās. Tomēr, redzams, ka, izmantojot C18 tipa kolonnas, fenolu atdalīšana notika labāk nekā ar PhenH vai FPhen kolonnām.

3.6. tabula

Dažu furānu un fenolu izdalīšanas koeficienti k' ar dažādām UHPLC kolonnām

Savienojums	Izdalīšanas koeficients k'				
	BEH C18	HSS C18	CSH C18	CSH PhenH	CSH FPhen
HMF (A)	3,2	4,4	4,6	4,5	3,5
Furfuols (B)	4,3	5,4	5,6	5,5	4,5
Vanilīnskābe (C)	7,2	6,6	7,7	7,4	7,8
Vanilīns (D)	8,5	7,5	8,5	8,0	8,2
Siringaldehīds (E)	8,9	7,8	8,6	8,0	8,7

Salīdzinot ar iepriekš aprakstītajām anhidrosaharīdu noteikšanas metodēm, fenolu un furānu UHPLC-UV metodei raksturīga labāka jutība un linearitāte. 3.7. tabulā apkopotas noteikšanas robežas, kas visu savienojumu gadījumā bija $< 0,01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Pēc standartpiedevas metodes vislabākā atgūstamība bija HMF – 103,2 %, fenoliem atgūstamības rezultāti bija tuvu 110 %, bet furfuola atgūstamība bija vairāk nekā 150 %, kas izskaidrojams ar vairāku paraugā esošu savienojumu daļēju pārklāšanos vienā joslā.

3.7. tabula

Furānu un fenolu UHPLC-UV noteikšanas robeža LOQ, linearitāte R^2 , precizitāte $S_{r,6}$ % un atgūstamība

Savienojums	LOQ, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	Linearitāte R^2 (0,05-1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Precizitāte $S_{r,6}$ %	Atgūstamība, % (vid. $\pm S_6$)
HMF	0,002	0,9995	0,4	103,2 \pm 0,5
Furfuols	0,003	0,9992	0,4	158,4 \pm 1,3
Vanilīnskābe	0,01	0,998	2	110 \pm 2
Vanilīns	0,001	0,9991	0,3	107,7 \pm 1,2
Siringaldehīds	0,004	0,9991	0,8	107 \pm 2

Vairākos pirolīzes produktu paraugos ar UHPLC-UV tika kvantitatīvi noteikta HMF, furfurola, vanilīnskābes, vanilīna un siringaldehīda koncentrācija (visi rezultāti redzami 2. pielikumā). Dažādos P tipa paraugos 5-hidroksimetilfurfurola koncentrācija bija 0,25-0,80 % no sausnes. Furfurola koncentrācija atsevišķos paraugos bija 0,03-0,19 %, vanilīnskābes koncentrācija bija 0,12-0,13 %, vanilīna koncentrācija bija 0,16-0,17 % un siringaldehīda koncentrācija bija 0,65-0,70 %.

K tipa paraugos jeb kondensātos ar sausnes saturu 2-6 % bija 0,019-0,038 % HMF, 0,010-0,022 % furfurola, 0,0026-0,0046 % vanilīnskābes, 0,0040-0,0076 % vanilīna un 0,013-0,033 % siringaldehīda. Pārreķinot uz sausni, HMF un furfurols veidoja < 1,5 %, tāpat arī noteikto fenolu atvasinājumu masas daļa sausnē kopā bija < 1,5 %. Iepriekš tika aprakstīts, ka levoglikozāna koncentrācija kondensātos bija 2-3 % jeb 47-65 % no sausnes. Tā kā nav pieejamas citu anhidrosaharīdu standartvielas, par pārējo cukuru atvasinājumu koncentrāciju paraugos var spriest tikai aptuveni, bet tie varētu būt 5-10 %, tātad pēc masas paliek vēl vismaz 40-50 % nezināmu savienojumu no kuriem lielākā daļa ir fenolu atvasinājumi. Kondensātu UHPLC-UV hromatogrammās fenolu izdalīšanās apgabalā no 4 līdz 6 min bija redzams bāzes līnijas pacēlums (3. pielikuma 2. attēls), ko var skaidrot ar daudzu fenolu klātbūtni mazās koncentrācijās, kas hromatogrāfiski nav atdalīti. Bet, par detektoru izmantojot kvadrupola masspektrometru *SIR* režīmā, varēja iegūt katra savienojuma joslu bez citu fenolu traucējošās ietekmes. Turklāt furfurola joslai UHPLC-UV hromatogrammā bija redzami pleci, kas liecina par vairāku joslu pārklāšanos. Savukārt, UHPLC-MS (m/z 97) hromatogrammā furfurola josla bija simetriska – bez citu savienojumu kātbūtnes.

3.8. tabula

Furānu un fenolu UHPLC-MS noteikšanas robeža LOQ, linearitāte R², precizitāte S_{r,6} % un atgūstamība

Savienojums	LOQ, mg·mL ⁻¹	Linearitāte R ² (0,05-1 mg·mL ⁻¹)	Precizitāte S _{r,6} %	Atgūstamība, % (vid. ± S ₆)
HMF	0,02	0,998	3	90 ± 2
Furfurols	0,01	0,9992	2	145 ± 3
Vanilīnskābe	0,02	0,998	3	68 ± 2
Vanilīns	0,01	0,990	2	102 ± 3
Siringaldehīds	0,02	0,995	3	96 ± 2

Tā kā MS detektors nodrošināja labāku fenolu un furfurola noteikšanas selektivitāti, tika izvērtēta šo savienojumu kvantitatīvā noteikšana ar UHPLC-MS metodi. Gan UV, gan MS metodēm bija salīdzināmi lineārie apgabali, tomēr MS metodes jutība bija vājāka, un LOQ < 0,02 mg·mL⁻¹. MS metodes mērījumiem bija tendence uz lielāku izkliedi, tomēr relatīvā standartnovirze visu standartvielu gadījumos bija < 5 %. Matricas ietekmes dēļ paraugos

relatīvā standartnovirze varēja sasniegt pat 9 %. HMF, vaniļina un siringola atgūstamības iekļāvās 90-105 % robežās. Furfurolam tāpat kā UV detektora gadījumā bija paaugstināts atgūstamības rezultāts, tātad piemaisījumiem ar līdzīgu izdalīšanās laiku, bija arī līdzīga struktūra – tie vistīcāmāk bija furfurola atvasinājumi, kam jonizācijas laikā veidojās fragmenti ar m/z 97. Savukārt, vaniļīnskābes atgūstamības rezultāts bija ievērojami pazemināts – tikai 68 %, kas skaidrojams ar vaniļīnskābes salīdzinoši mazo koncentrāciju paraugā un plato, zemo joslu hromatogrammā. Savstarpēji salīdzinot furānu un fenolu noteikšanas rezultātus (2. pielikumā) kondensātos un pastās ar UV vai MS detektoriem, noskaidrots, ka visos gadījumos ar MS detektoru noteiktās savienojumu koncentrācijas bija zemākas nekā tās, kas noteiktas ar UV detektoru, lielā mērā pateicoties tam, ka UV detektora gadījumā noteikšanu traucēja slikti atdalītas blakus joslas. Tomēr MS metodes salīdzinoši lielās rezultātu izkliedes un pazeminātās atgūstamības dēļ, savstarpējai paraugu salīdzināšanai turpmāk tiks izmantota UV metode.

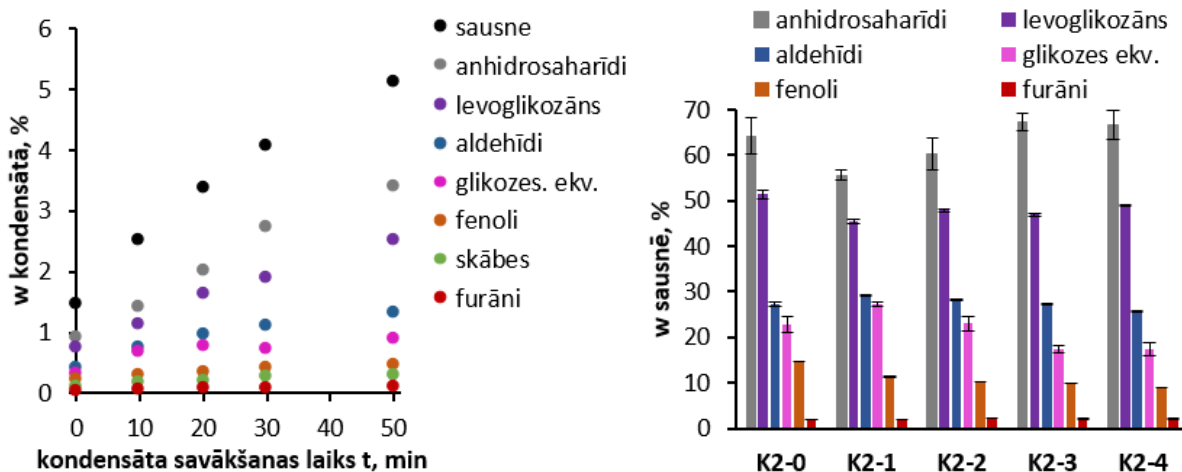
3.3. Kopsavilkums par pirolīzes kondensātu kvantitatīvajām analīzēm

Pirolīzes kondensātu sastāva kvalitātes kontrolei izmantotas šādas kvantitatīvās metodes: negaistošā atlikuma jeb sausnes satura noteikšana, anhidrosaharīdu un levoglikozāna titrēšana un UHPLC, glikozes ekvivalentu titrēšana, kopējo piemaisījumu satura raksturošana pēc UV absorbcijas, kopējo skābju titrēšana, kopējo aldehīdu titrēšana, atsevišķu furānu un fenolu noteikšana ar UHPLC. Visi analīžu rezultāti atrodami 2. pielikumā, bet 3. pielikumā apskatāmas UHPLC hromatogrammas. 3.10. attēlā grafiski parādīti galvenie rezultāti – sausnes saturs, titrējot noteiktais kopējais anhidrosaharīdu un glikozes ekvivalentu saturs, ar UHPLC-ELSD metodi noteiktā levoglikozāna koncentrācija, titrējot noteiktais kopējais skābju un aldehīdgrupu saturs, kā arī ar UHPLC-UV noteiktais kopējais fenolu un furānu tipa savienojumu saturs.

K2-0 paraugs no reaktora bija iegūts pirolīzes procesa sākumā, kad no iekārtas ar pārkarsētā tvaika plūsmu tika izskaloti pirolīzes produkti, kas pēc iepriekšējā eksperimenta bija palikuši uz reaktora sienīnām. K2-1, K2-2 un K2-3 paraugi tika ņemti ik pēc 10 min, bet K2-4 paraugs vēl pēc 20 min.

Visu nosakāmo savienojumu vai savienojumu grupu koncentrācija kondensātos ar laiku vienmērīgi pieauga, tomēr savienojumu savstarpējā proporcija paraugā mainījās. Pirolīzes laikā būtiski pieauga ar titrēšanu noteiktā kopējā anhidrosaharīdu koncentrācija – 10 min laikā ņemtajā paraugā bija 56 %, bet 50 min laikā – 67 %. Tomēr, atsevišķi apskatot levoglikozāna koncentrācijas izmaiņu, var redzēt, ka tā koncentrācija pieauga tikai par 5 %, bet anhidrosaharīdu dimēru koncentrācija samazinājās no 0,44 % līdz 0,12 %. Atsevišķu savienojumu proporcijas izmaiņu atkarībā no laika var skaidrot ar temperatūras izmaiņām

reaktorā procesa gaitā. Pēc izejmateriāla ievadīšanas iekārtā temperatūra pakāpeniski kritās par aptuveni 20 °C, tātad var secināt, ka augstāka temperatūra ir labvēlīgāka tam, lai kondensātā nonāktu anhidrodisaharīdi, bet levoglukozi koncentrāciju temperatūras izmaiņa būtiski neietekmēja.



3.10. att. K2 sērijas pirolīzes kondensātu analīžu rezultāti: pa kreisi – dažādu savienojumu vai savienojumu grupu koncentrācija kondensātā, pa labi – furānu, fenolu un cukuru atvasinājumu koncentrācija sausnē

Literatūrā kā galvenie celulozes pārkarsētā tvaika pirolīzes produkti minēti levoglukozi, glikolaldehīds, furfurols un HMF [179]. Pēdējie divi ir furāna atvasinājumi, kas ar UHPLC-UV tika noteikti arī K2 sērijas paraugos. To koncentrācija, attiecinot pret sausi, tikpat kā neizmainījās: 0,71-0,75 % HMF un 0,41-0,43 % furfurols. Lai raksturotu kopējo furānu saturu paraugos, tika integrētas visas hromatogrammas joslas, kuru izdalīšanas laiki bija līdz 4 min, un kvantificētas pēc HMF kalibrēšanas grafika. Šādi tika iegūta kopējā furāna atvasinājumu koncentrācija, kas paraugos svārstījās no 1,9 līdz 2,1 %.

Pārējās joslas, kas UHPLC-UV hromatogrammā bija redzamas pēc 4 min, tika kopīgi integrētas un kvantificētas pēc siringaldehīda kalibrēšanas grafika, iegūstot kopējo fenolu koncentrāciju, kas samazinājās no 11 % K2-1 paraugā līdz 9 % K2-4 paraugā. Tāda pati tendence bija novērojama arī atsevišķi noteiktajiem fenoliem – vanilīnskābei, vanilīnam un siringaldehīdam. Jāpiebilst, ka minētie individuālie fenoli veidoja tikai desmito daļu no kopējiem fenoliem. Pārējie fenoli ar UHPLC metodi netika atdalīti un identificēti. Zīmīgi, ka titrējot iegūtais aldehīdu grupu rezultāts pirolīzes produktos ar pirolīzes laiku samazinājās, kas liecina par karbonilgrupas saturošo fenolu (tai skaitā vanilīna un siringaldehīda) būtisko ietekmi uz šīs titrēšanas metodes rezultātu. Tā kā titrējot iegūtais aldehīdu rezultāts ir gandrīz trīs reizes augstāks nekā fenolu un furānu UHPLC-UV metodes rezultāti, var secināt, ka paraugos bija ievērojama mazmolekulāro aldehīdu, piemēram, glikolaldehīda, koncentrācija. Gaistošo

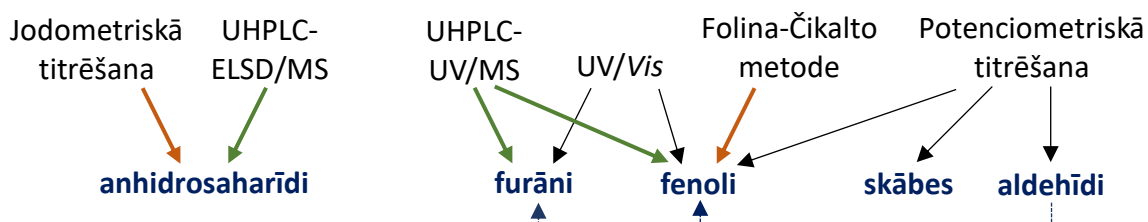
mazmolekulāro aldehīdu lielo saturu kondensātos pierādīja eksperimenti, kuros tika titrēti 103 °C izzāvēti kondensātu paraugi (negaistošais atlikums), iegūstot tieši trīs reizes zemāku rezultātu, nekā titrējot nekarsētus kondensātus.

Tā kā fenoli un furāni tika noteikti ar UV detektoru, tika apskatīta sakarība starp ar UHPLC iegūtajiem rezultātiem un tiešiem UV mērījumiem kondensātu šķīdumos. Sagrupējot visas UHPLC-UV joslas divās daļās (pirms un pēc $t_R = 4$ min), abu daļu laukumu attiecība bija aptuveni 1:1, tāpēc tiešos mērījumos iegūtās pirolīzes kondensātu A_{275} vērtības dalīja ar divi un kvantificēja pēc HMF (furāniem) un siringaldehīda (fenoliem). 3. pielikuma 7. tabulā redzams, ka šādā veidā iegūtie spektrofotometrijas rezultāti furānu gadījumā bija salīdzināmi ar UHPLC-UV rezultātiem: ar UHPLC iegūtie rezultāti bija 1,9-2,0 %, bet ar spektrofotometriju – 1,8-1,9 %. Tātad ar abām metodēm tika iegūti rezultāti ar tendenci tikai nedaudz pieaugt, tāpat kā individuāli noteikto furānu gadījumā.

Tomēr ar abām metodēm iegūtie fenolu noteikšanas rezultāti atšķīrās pat par trešdaļu, kas skaidrojams ar to, ka fenolu paraugos skaitliski bija vairāk un līdz ar katra savienojuma atšķirīgo UV absorbcijas maksimumu un absorbcijas koeficientu, bija lielāka iespēja rasties kļūdai. Kopumā kondensātu relatīvajai absorbcijai [$AU \cdot mg^{-1}$], pārrēķinot uz sausi, piemita tendence samazināties līdz ar pirolīzes laiku, tātad vispārīgi UV absorbcijas mērījumi drīzāk raksturo fenolu, nevis furānu saturu pirolīzes šķīdrajos produktos. Papildus fenolu koncentrācija tika noteikta, izmantojot Folina-Čikalto metodi. Salīdzinot visas fenolu noteikšanas metodes (2. pielikuma 7. tabulā), redzams, ka absolūtās vērtības nesakrīt nevienai no metodēm, kas skaidrojams ar to, ka katrai metodei izmantota atšķirīga kalibrācija, bet pozitīvi var vērtēt to, ka savstarpēji sakrita ar UHPLC-UV un Folina-Čikalto metodēm iegūto rezultātu tendence samazināties līdz ar pirolīzes laiku. UHPLC-UV gadījumā fenolu saturs kondensātos no 10 līdz 50 min samazinājās par 20 %, bet Folina-Čikalto metodes gadījumā – par 21 %, tātad abas metodes ir vienlīdz selektīvas attiecībā uz fenoliem. Bet tiešā UV-Vis absorbcijas mērīšana pie 275 nm viļņa garuma deva atšķirīgus rezultātus ar tendenci samazināties tikai par 5 %, jo fenolu noteikšanu traucē furānu klātbūtne.

Fenolu atvasinājumi neapšaubāmi atstāja iespaidu uz alkalimetriskās titrēšanas rezultātiem. Skābes skaitlis TAN, titrējot ar KOH, kondensātos bija 0,97 līdz 2,9 mg KOH \cdot g⁻¹, bet, titrējot paraugus, kuri bija iztvaicēti 103 °C temperatūrā, tika iegūti gandrīz trīs reizes zemāki rezultāti, kas apliecina to, ka bez gaistošajām mazmolekulārajām skābēm (etiķskābe, skudrskābe) kondensātos bija karboksilgrupas saturoši fenolu atvasinājumi, piemēram, vanilīnskābe. Titrēšanai izmantojot tributilamonija hidroksīdu, tika iegūti sakrītoši TAN rezultāti (3 % robežās), bet, titrēšanas līknēs izšķirot divus lēcienus, varēja noskaidrot, ka lielākais ieguldījums šajā rezultātā bija fenoliem (PhAN bija 0,86 līdz 2,8 mg KOH \cdot g⁻¹).

3.11. redzams shematisks salīdzināto metožu apkopojums. Kamēr notiek pirolīzes procesu izpēte un optimizēšana laboratorijas līmenī vai pilotiekārtās, vēlams izmantot pēc iespējas selektīvākas metodes, kas sniedz maksimāli daudz informācijas – UHPLC metodes gan anhidrosaharīdiem, gan furāniem un fenoliem. Tomēr jāņem vērā, ka rutīnas analīzēm rūpniecībā, kas domātas produktu kvalitātes kontrolei, nevis padziļinātai izpētei, piemērotākas varētu būt lētākās un vienkāršākās ķīmiskās metodes. Jodometriskā titrēšana var tikt izmantota, lai monitorētu kopējo anhidrosaharīdu koncentrāciju pirolīzes produktos, tomēr jāņem vērā, ka atsevišķos gadījumos AGF klātbūtnē var tikt iegūts paaugstināts rezultāts. Lai atsevišķi noteiktu 1,6-anhidroglikozi jāizmanto šķidrums hromatogrāfija, bet salīdzinoši dārgās UHPLC vietā varētu izmantot HPLC-RI ar ligandu apmaiņas kolonnu, kā aprakstīts literatūrā [180]. Vispārīgai fenolu noteikšanai UHPLC vietā var izmantot Folina-Čikalto metodi, bet furānu noteikšana bez šķidrums hromatogrāfijas nav iespējama, jo gan UV-Vis spektrometrijas, gan potenciometriskās titrēšanas metodēs furānu noteikšanu traucē fenolu klātbūtne. Pagaidām vienīgās industriālās pirolīzes rūpnīcas ražo bioeļļu kā degvielu, nevis ķīmisko savienojumu avotu, tāpēc specifiskas analīzes metodes nav bijušas nepieciešamas, tā vietā uzsvars ir uz bioeļļas fizikālajām īpašībām, kā viskozitāte, blīvums, arī ūdens un cieto daļiņu saturs u.c., tomēr, paredzot drīzu biomasas izcelsmes ķīmikāliju ražošanu biorafinērijās, skaidrs, ka būs nepieciešamas specifiskas analīzes metodes konkrētiem ķīmiskajiem produktiem.



3.11. att. **Izmantoto metožu apkopojums pirolīzes kondensātu kvantitatīvajām analīzēm:** ar zaļu krāsu – piemērotākās metodes pētniecībai (pirolīzes kondensātiem, kas iegūti laboratorijās vai pilotiekārtās), ar oranžu krāsu – piemērotākās metodes rutīnas analīzēm (rūpniecībā), ar melnu krāsu – nepiemērotas vai daļēji piemērotas metodes

Ar izmantotajām metodēm pirolīzes kondensātos nosakot atsevišķus savienojumus (levoglīkozānu, HMF, furfuroļu, vanilīnskābi, vanilīnu un siringolu), pēc masas ir izdevies kvantitatīvi raksturot aptuveni 50 % grūti gaistošo savienojumu. Bet, ja saskaita savienojumu grupu noteikšanas rezultātus – anhidrosaharīdus, glikozes ekvivalentus jeb monosaharīdu vienības, furānus un fenolus, iegūtais rezultāts pirolīzes kondensātos bija 95-103 % pēc masas, kas norāda uz to, ka kopējo ķīmisko savienojumu grupu noteikšanas metodes ir pielietojamas pirolīzes produktu sastāva kontrolei.

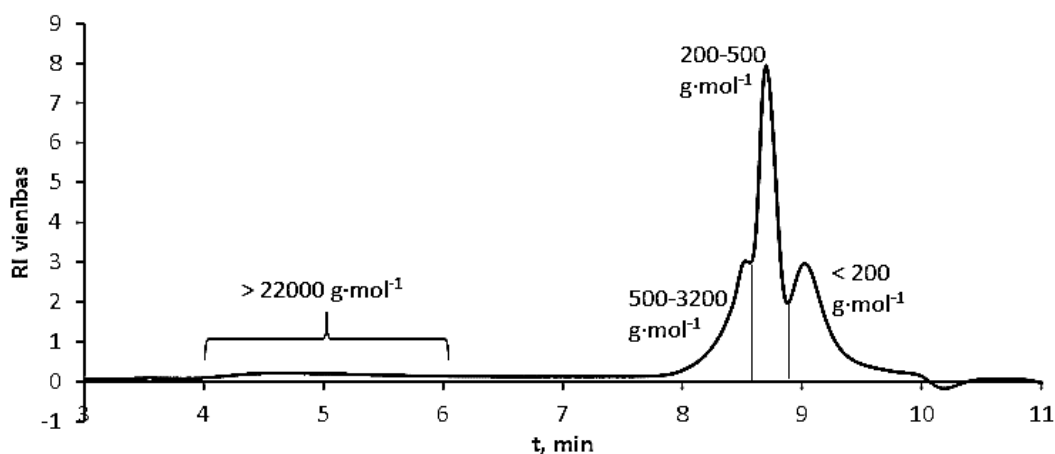
Pirolīzes kondensātos kvantitatīvi noteikto savienojumu vai to grupu summa sausnē

Paraugs	Atsevišķi savienojumi w, % (LG, HMF, furfuols, vanilīnskābe, vanilīns, siringols)	Savienojumu grupas w, % (anhidrosaharīdi, glikozes ekv., furāni, fenoli)
K2-0	54	103
K2-1	48	96
K2-2	50	96
K2-3	49	97
K2-4	51	95

Pārrēķinot rezultātus uz absolūti sausu izejmateriālu (lignocelulozi), levoglīkozāna iznākums bija 22 %, bet kopējais anhidrosaharīdu iznākums bija 30 % un kopējais heksožu vienību iznākums 7,7 %. Fenolu iznākums no lignocelulozes bija 4 %. Sausnes iznākums bija tikai 44 % no lignocelulozes, tātad liela daļa pirolīzes produktu bija gaistoši, mazmolekulāri savienojumi (organiskās skābes, aldehīdi un spirti). No negaistošajiem savienojumiem lielākā uzmanība pievēršama cukuru atvasinājumiem, kas kopumā veidoja 68 % iznākumu no celulozes, tai skaitā, levoglīkozāna iznākums bija 40 % no celulozes, kas vērtējams kā augsts un praktiski nozīmīgs rezultāts.

3.4. Pirolīzes kondensātu kvalitatīvais raksturojums

Izmantojot augstefektīvo eksklūzijas hromatogrāfiju (ūdens vidē), noskaidrots, ka pirolīzes kondensātos dominēja savienojumi ar molmasām $< 500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. SEC-RI hromatogrammā 3.12. attēlā izdalītas četras savienojumu grupas: $M_w > 22000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (mazāk par 5 % no kopējā joslu laukuma), $500\text{-}3200 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (18-21 %), $200\text{-}500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (45-50 %) un $< 200 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ (30 %). Diemžēl jāņem vērā, ka norādītais procentuālais saturs ir izmantojams, tikai lai savā starpā salīdzinātu katras frakcijas īpatsvaru dažādos paraugos, jo literatūrā aprakstīts, ka mazmolekulāro savienojumu RI signāls var būt pat par trīs kārtām zemāks nekā lielmolekulāro savienojumu signāls [181], kas nozīmē, ka paraugos tieši mazmolekulāro savienojumu ir proporcionāli pat vēl vairāk, nekā var spriest pēc hromatogrāfijas joslu laukumiem. Turklāt mazmolekulāro savienojumu grupā ietilpst arī tādi savienojumi, kas šī darba ietvaros netika noteikti ar UHPLC metodēm, t. sk., etiķskābe ($60 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) un skudrskābe ($46 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Tas, ka lielmolekulāro savienojumu grupām netika konstatēta UV absorbcija, liecina par to, ka tie bija celulozes un hemicelulozes atlikumu (nevis lignīna) termiskās destrukcijas produkti jeb oligo- un polisaharīdi.

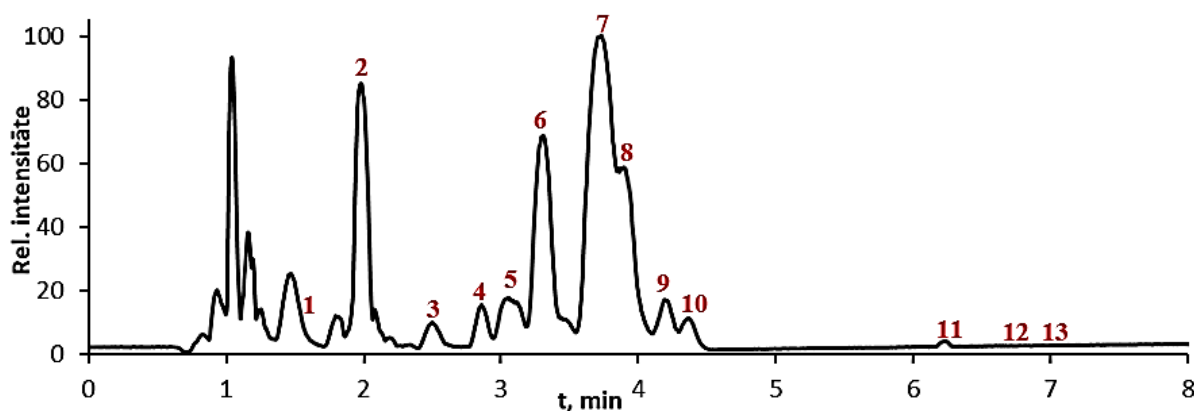


3.12. att. Pirolīzes kondensējamo produktu (K2-1) SEC-RI hromatogramma

Ar nolidojuma laika masspektrometru tika veikta atsevišķu savienojumu identifikācija, atdalīšanai izmantojot gan apgrieztās fāzes, gan hidrofilās mijiedarbības hromatogrāfiju. Ar augstas izšķirtspējas masspektrometriju bija iespējams identificēt savienojumu precīzo molmasu, vispārīgo struktūru un iespējamās funkcionālās grupas, bet ne konkrētus izomērus. 3.13. un 3.17. attēlos redzamajās hromatogrammās atzīmēti 40 savienojumi, kuru TOF/MS spektri apkopoti 4. un 5. pielikumā.

Hidrofilās mijiedarbības hromatogrāfija.

Veicot pirolīzes produktu analīzi ar nolidojuma laika masspektrometru, varēja detektēt daudz vairāk savienojumu nekā ar kvadrupola masspektrometru. Hromatogrammā 3.13. attēlā var novērot, ka ar Amīdu kolonnu gradienta apstākļos daļēji atdalīti vairāk nekā 10 savienojumi. Hromatogrammas sākumā līdz 1,5 min pārklājas tie savienojumi, kuru atdalīšana ar hidrofilās mijiedarbības kolonnām nav iespējama, piemēram, furāna un fenola atvasinājumi, ko analizē ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju. Bet 1,5-7 min laikā izdalījās vairāki cukuru atvasinājumi, no kuriem 13 tālāk raksturoti, balstoties uz TOF/MS datiem, bet 3.14.-3.16. attēlos redzamas struktūrformulas, kas atbilst dažiem no MS spektros detektētajiem fragmentjoniem.

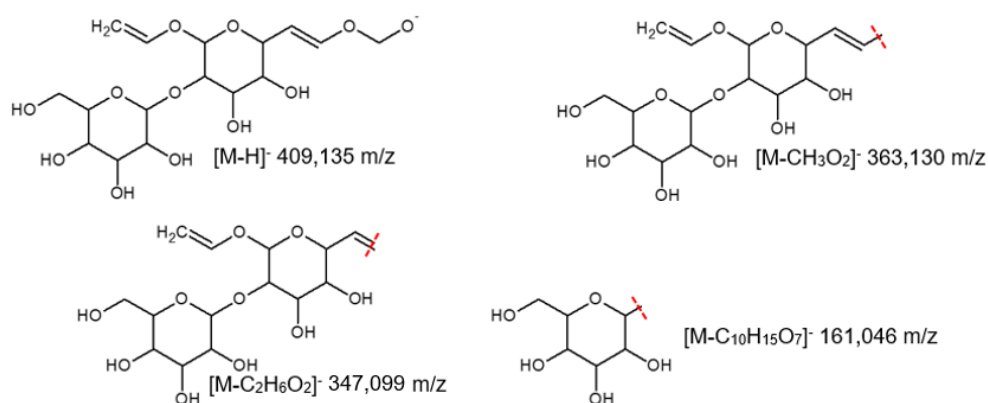


3.13. att. Pirolīzes kondensējamo produktu UHPLC-TOF/MS hromatogramma (BPI): Amīdu tipa kolonna gradienta apstākļos, ESI negatīvajā režīmā

1. savienojumam ar molekulāro jonu ($[M-H]^-$) ar m/z 409,135 atbilst struktūrformula $C_{16}H_{26}O_{12}$. Starp fragmentjoniem viens no zīmīgākajiem ir jons ar m/z 161,046, kas atbilst glikozes atlikumam $C_6H_9O_5$ [182], tātad šis savienojums ir kāds cukuru atvasinājums. Literatūrā par disaharīdu fragmentāciju minēts, ka jons ar m/z 161 raksturīgs tieši β -izomēriem, kamēr α -izomēriem raksturīgāks jons ar m/z 101 [183]. Fragmenta ar m/z 363,130 formula ir $C_{15}H_{23}O_{10}$, bet fragments 347,099 veidojies, vēl zaudējot CH_3- grupu. Jons ar m/z 727,266 varētu būt veidojies caur savienojuma molekulu dimerizāciju, tajā pašā laikā zaudējot fragmentu 91,004.

2. savienojums ir levoglukoziāns ar intensīvu molekulāro jonu ar m/z 161,046, kā arī tipisko dimerizācijas jonu 323,099. 3. savienojuma intensīvākā jona 163,026 formula ir $C_5H_7O_6$. Par spīti salīdzinoši zemajai intensitātei, molekulārais jons varētu būt 337,113 ar formulu $C_{13}H_{22}O_{10}$. Fragmentam ar m/z 293,088 atbilst formula $C_{11}H_{17}O_9$, bet fragmentam ar m/z 119,035 – $C_4H_7O_4$.

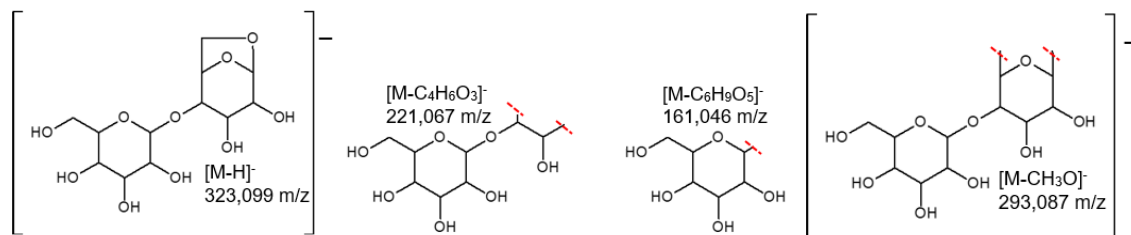
Tika detektēti vairāki savienojumi ar molekulāro jonu 323,099, kam atbilst formula $C_{12}H_{20}O_{10}$. Var uzskatīt, ka tie ir C_6 monosaharīda un anhidrosaharīda vienības saturoši dimēri, kas vai nu radušies kā pirmējie celulozes pirolīzes produkti (kā celobioziāns), vai kā sekundārie produkti, dimerizējoties levoglukoziānam (kā maltoziāns) [103]. Var novērot, ka dažiem no šiem anhidrodisaharīdiem masspektros ir atšķirīgi fragmentjoni, tomēr visos gadījumos masspektros parādās heksozes atlikuma jons 161,046, kā arī $[2M-H]^-$ jons 647,204. 161,046 jona intensitāte masspektros būtiski atšķiras, kas saistīts ar dažādu disaharīdu glikozīdiskās saites atšķirīgo spēju šķelties.



3.14. att. Disaharīda atvasinājuma (1. savienojuma) TOF/MS spektrā detektēto fragmentjonu struktūrformulas

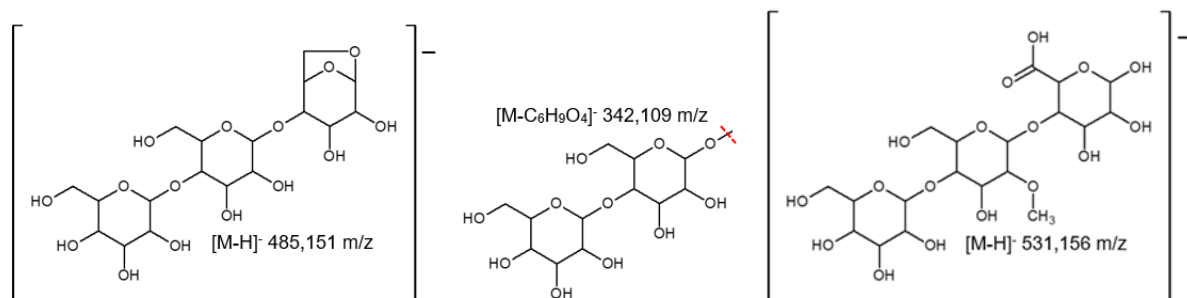
9. un 10. savienojumu masspektros heksozes atlikuma fragments tikpat kā nav novērojams. Visos masspektros parādās arī formiāta adukta $[M+FA-H]^-$ jons ar m/z 369,104, bet 10. savienojuma masspektā parādās arī jons ar m/z 383,065, kas teorētiski varētu būt acetāta adukts. Pie atšķirīgajiem joniem var minēt 221,067, kas parādījās arī levoglukoziāna

standartvielas masspektā, tāpēc apstiprina tieši glikopiranozes vienības klātbūtni šajos savienojumos. Literatūrā aprakstīta šī jona klātbūtne vairāku disaharīdu – celobiozes, maltozes, soforozes un gentobiozes – ESI spektros, tomēr jons ar m/z 221 nav ticis novērots laminaribozes (1→3 glikozīdiskā saite) MS spektā [184]. Ogļhidrātu MS spektros jons ar m/z 221 ir skaidrots kā monosaharīds, kas ar glikozīdisko saiti saistīts ar glikolaldehīda vienību [183]. Šis jons ir detektēts visu anhidrodisaharīdu, izņemot 7. un 8., masspektros. Tikai 4. un 5. savienojumu masspektros var novērot fragmentu ar m/z 293,087, kuram atbilst formula $C_{11}H_{17}O_9$. Vismazākajam detektētajam fragmentam ar m/z 101,024 atbilst formula $C_4H_5O_3$.



3.15. att. Anhidrodisaharīdu (4.-10. savienojumu) TOF/MS spektros detektēto fragmentjonu struktūrformulas

Mazās koncentrācijās varēja detektēt trisaharīdu atvasinājumus $C_{18}H_{30}O_{15}$ ar molekulārajiem joniem ar m/z 485,151 (11. un 13. savienojums). Visticamāk tie ir trisaharīdi ar vienu anhidrogrupu. 13. savienojumu masspektā labi redzams fragmentjons 341,109, kas atbilst disaharīda, piemēram, celobiozes, atlikumam. 11. savienojumam izveidojies adukta jons ar 521,127, bet 13. savienojumam – 531,156. Gan 11., gan 13. savienojuma gadījumā masspektros novērojami arī $[2M-H]^-$ joni ar m/z 971,309. Šis jons tika detektēts arī 12. savienojuma spektā, kaut arī šajā gadījumā nav molekulārā jona 485,151, bet gan 531,156, kam atbilst formula $C_{19}H_{32}O_{17}$, t.i., metiltrisaharīds.



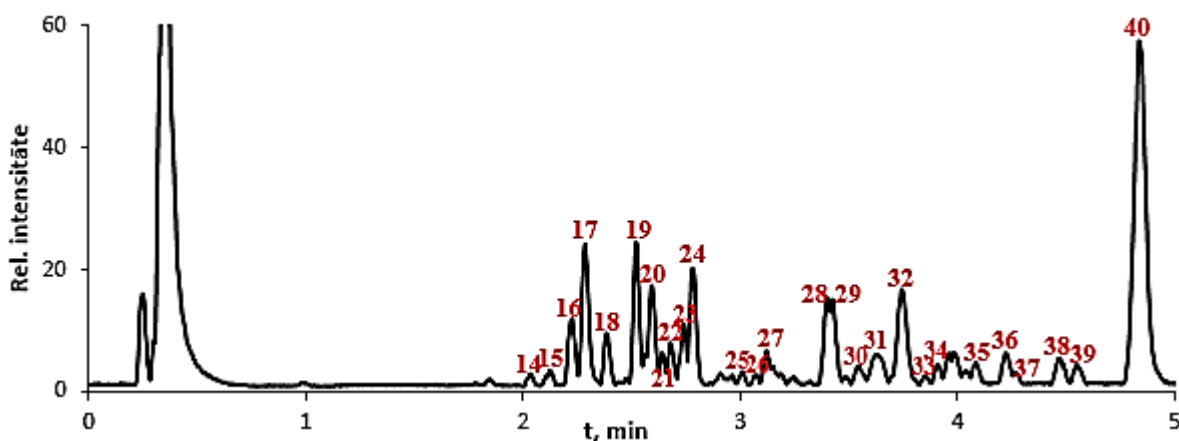
3.16. att. Trisaharīdu atvasinājumu (11.-13. savienojumu) TOF/MS spektros detektēto fragmentjonu struktūrformulas

Apgrieztās fāzes hromatogrāfija.

Jau iepriekš 3.2. apakšnodaļā minēts, ka ar apgrieztās fāzes hromatogrāfiju pirolīzes produktos varēja novērot daudz daļēji atdalītu fenolu atvasinājumu joslu, kas ietilpst

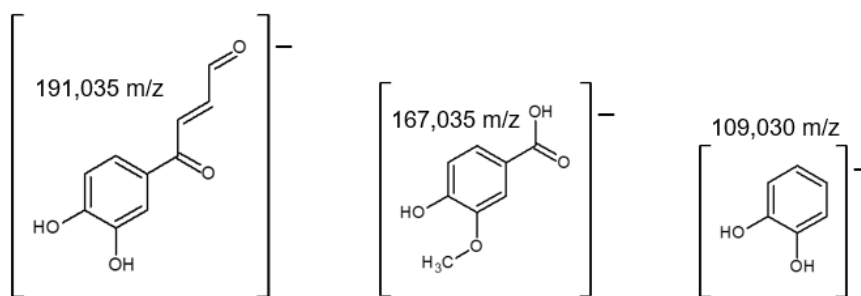
mazmolekulāro pirolīzes produktu grupā ($M_w < 200 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), un pat ar UV un kvadrupola MS varēja veikt šo savienojumu identifikāciju (spektri redzami 6. pielikumā). Salīdzinot ar standartvielām, droši apstiprināti septiņi savienojumi – HMF, furfurols, vanilīnskābe, siringilskābe, vanilīns, gvajakols un siringaldehīds. Izmantojot *NIST* datubāzi [185], trīs savienojumus varēja identificēt pēc UV spektriem un molmasām – metileigenolu (m/z 179), 3,4-dimetoksikanēļskābi (m/z 209) un 1,2,4-trimetoksibenzolu (m/z 169). Vairākos kvadrupola MS spektros varēja atrast molmasas, kas atbilst savienojumiem, kuri LVKĶI Lignīna laboratorijā K2-4 kondensātā identificēti ar GC-MS (7. pielikums) – 3-metilciklopentān-1,2-dions (m/z 113), 5-hidroksimaltols (m/z 143), 5-metilfurfurols (m/z 111), 4-etilsiringols (m/z 183), homovanilīns (m/z 167). Tomēr vairākus savienojumus nevarēja identificēt, t.sk., kādu furānkarboksilskābi ar m/z 113, kā arī fenolu atvasinājumus ar m/z vērtībām 163, 197 un 169, kuri izdalījās pēc 4,5 min.

Veicot analīzes ar daudz jutīgāko QTOF masspektrometru, tika detektēti vairāki fenolu atvasinājumi ar molmasām līdz aptuveni $200 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. 3.16. attēlā 14.-22. josla atbilst mazmolekulāro savienojumu grupas pārstāvjiem, tai skaitā, fenolu ketoniem, aldehīdiem un karboksilskābēm.



3.17. att. Pirolīzes kondensējamo produktu UHPLC-TOF/MS hromatogramma (BPI): C18 kolonna gradienta apstākļos, ESI negatīvajā režīmā

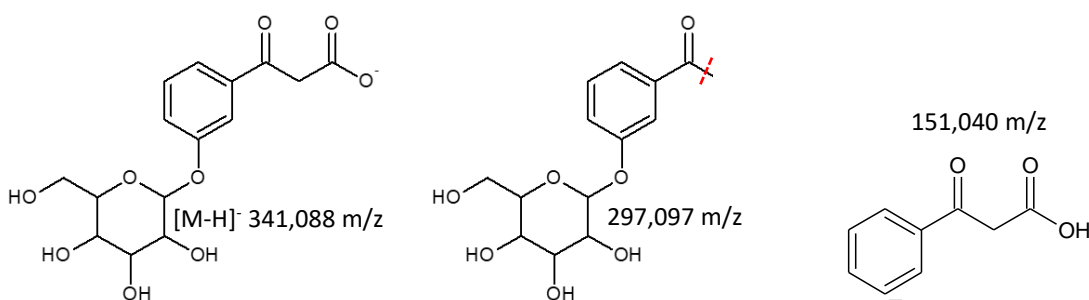
Vairāku mazmolekulāro savienojumu masspektros bija novērojami joni ar šādām m/z vērtībām: 191,035, 167,035 un 109,030. 14.-24. savienojuma struktūrformulas izdalīšanās secībā bija – $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_6$ (m/z 225,041), $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_4$ (m/z 197,082), $\text{C}_7\text{H}_9\text{O}_2$ (m/z 125,061), $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_4$ (m/z 191,035), $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_3$ (m/z 163,040), $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_4$ (m/z 167,035), $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_3$ (m/z 151,040), $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_4$ (m/z 191,035), $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_4$ (m/z 195,066), $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_5$ (m/z 197,046) un $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_4$ (m/z 181,051).



3.18. att. Fenolu TOF/MS spektros detektēto fragmentjonu struktūrformulas

Salīdzinot mazmolekulāros savienojumus, izcēlās 23. savienojums, kura masspektā atkārtoti novērojami joni $[M-H+130]$ un $[M-H+152]$. Par molekulāro jonu tiek pieņemts intensīvākais jons ar m/z 197,046. Varētu uzskatīt, ka šis ir lielmolekulārs savienojums ar molekulāro jonu 913,104, kuram jonizācijas laikā tiek vairākkārtīgi secīgi šķelti fragmenti ar m/z 130 un 152. Literatūrā minēts, ka 152 masas zudums norāda uz galluskābes vienības atšķelšanu [186], tomēr, ņemot vērā savienojuma izdalīšanās laiku, iespējamāks šķiet molekulārais jons ar m/z vērtību 197,046.

Tika detektēti arī vairāki savienojumi ar molmasām virs $200 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. 25. un 26. savienojumiem izteikti molekulārie joni ar m/z 341,088, kam atbilst formula $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{O}_9$, bet tiem bija atšķirīga fragmentācija. Spriežot pēc molmasām, šie savienojumi ir fenilglikozīdi. 25. savienojumam detektēts fragmentjons ar m/z 297,097 un formulu $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{O}_7$, kā arī var novērot fragmentjonu 151,040, kas atbilst vanilīna izomēra vienībai $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_3$. Savukārt, 26. savienojumam izteiktākie fragmentjoni bija ar m/z vērtībām 225,076 un 147,045, kam atbilst formulas $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{O}_5$ un $\text{C}_9\text{H}_7\text{O}_2$. Arī 34., 36. un 37. savienojumus var ierindot fenilglikozīdu grupā ar molmasu virs $380 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.



3.19. att. Fenilglikozīda (25. savienojums) TOF/MS spektrā detektēto fragmentjonu struktūrformulas

Vairāku savienojumu (30.-32.) masspektros parādījās joni ar m/z 401,123, kam atbilst fenolu kondensācijas produktu formula $\text{C}_{21}\text{H}_{21}\text{O}_8$. Vēl izplatītākie fenolu fragmentjoni bija ar m/z vērtībām 123,045 (28., 29., 32., 33.) jeb $\text{C}_7\text{H}_7\text{O}_2$, 165,056 (33., 35.) jeb $\text{C}_9\text{H}_9\text{O}_3$ un 177,056 (31., 38.) jeb $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{O}_3$.

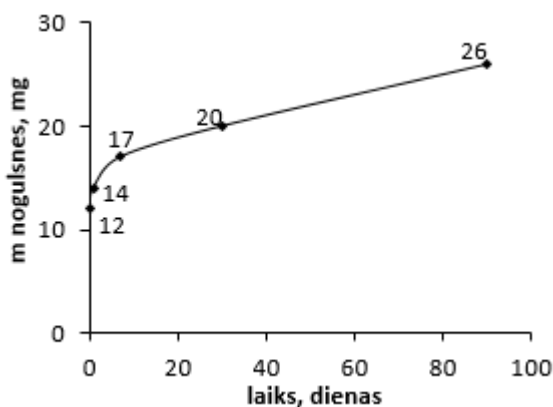
Hromatogrammā 3.17. attēlā redzams, ka lielā furānu un fenolu skaita dēļ, lielākā daļa joslu pārklājas, tāpēc ir apgrūtināta šo savienojumu viennozīmīga identifikācija. Turklāt nav pamata domāt, ka izvēlētie MS apstākļi ir vienlīdz piemēroti visiem savienojumiem, lai iegūtu molekulāros jonus un identifikācijai atbilstošus fragmentjonus, tāpēc pētījumi par pirolīzes kondensātos atrodamo furānu un fenolu atvasinājumu identifikāciju tiks turpināt ārpus šī promocijas darba ietvariem, vispirms veicot paraugu sadalīšanu frakcijās.

3.5. Pirolīzes kondensātu stabilitāte

Saistībā ar pirolīzes šķidrājiem produktiem plaši pazīstama problēma ir to novecošana, kas visvairāk problēmas rada bioeļļas kā degvielas kontekstā. Klasiski bioeļļas novecošanos raksturo ar viskozitātes [187], aldehīdu satura [188] vai molmasu sadalījuma [189] izmaiņām. Praktiski bioeļļas novecošanos novēro kā divu savstarpēji nešķīstošu slāņu veidošanos. Šī darba ietvaros runa ir par pārkarstētā tvaika plūsmā iegūtiem pirolīzes kondensātiem ar augstu ūdens saturu, ko nav paredzēts izmantot par degvielu, bet gan par vērtīgu ķīmisko savienojumu avotu. Atšķirībā no bioeļļas LVKĶI pirolīzes kondensātos nav novērojama divu slāņu veidošanās, bet notiek nogulšņu veidošanās uz trauka sienām. Nogulsnes sevišķi strauji veidojas tikko savāktā kondensātā, kas skaidrojams ar dažādu savienojumu šķīdības samazināšanos, kondensātam atdziestot līdz istabas temperatūrai (tikko savākta kondensāta temperatūra ir 70-80 °C). Tiek uzskatīts, ka laika gaitā pirolīzes produktos notiek kondensācijas un polimerizācijas procesi, kā rezultātā rodas lielmolekulāri savienojumi [189]. Veicot kondensāta šķīduma daļas un trīs mēnešu laikā izkritušo nogulšņu SEC-RI analīzes (THF vidē), noskaidrots, ka nogulšņu molmasa galvenokārt bija 200-4500 g·mol⁻¹ ar maksimumu pie 800 g·mol⁻¹, kamēr šķīdumā esošo savienojumu molmasa nepārsniedza 3200 g·mol⁻¹ ar maksimumu pie 400 g·mol⁻¹, tātad izgulsnējās galvenokārt savienojumi ar vidēji lielām molmasām. Gan kondensātā, gan nogulsnēs bija detektējami savienojumu grupa ar molmasām > 20000 g·mol⁻¹, bet šo savienojumu īpatsvars abos gadījumos bija tikai 5-7 % no kopējā joslu laukuma RI hromatogrammās. Tas nozīmē, ka savienojumu molmasa nav noteicošais faktors to šķīdībai ūdenī. Turklāt lielmolekulārajiem savienojumiem nepiemita UV absorbcija, tātad tie bija celulozes nevis lignīna termiskās destrukcijas produkti. Salīdzinot ar literatūras datiem par zema ūdens satura bioeļļām [189], kondensātos M_w izmaiņa bija gandrīz neievērojama.

Lai pārbaudītu, vai kondensātos nogulsnes laika gaitā veidojas arī neatkarīgi no temperatūras izmaiņām, atdzisis kondensāts tika turēts istabas temperatūrā un ik pēc noteiktiem laika intervāliem tika nosvērtas uz trauku sienām izveidojušās nogulsnes. 3.20. attēlā redzams, ka trīs mēnešu laikā no 10 mL kondensāta izgulsnējās 28 mg nogulšņu. Puse no šīm nogulsnēm bija izkritušas jau pirmajā dienā (14 mg 24 h laikā), bet pēc tam izgulsnēšanās ātrums

ievērojami samazinājās. Nogulšņu sastāvā bija atrodams līdz 20 % levoglīkozāns, tātad trīs mēnešu laikā var tikt zaudēti aptuveni 2 % levoglīkozāna, kas sākotnēji ir kondensātā.



3.20. att. Nogulšņu veidošanās pirolīzes kondensātā, uzglabājot istabas temperatūrā

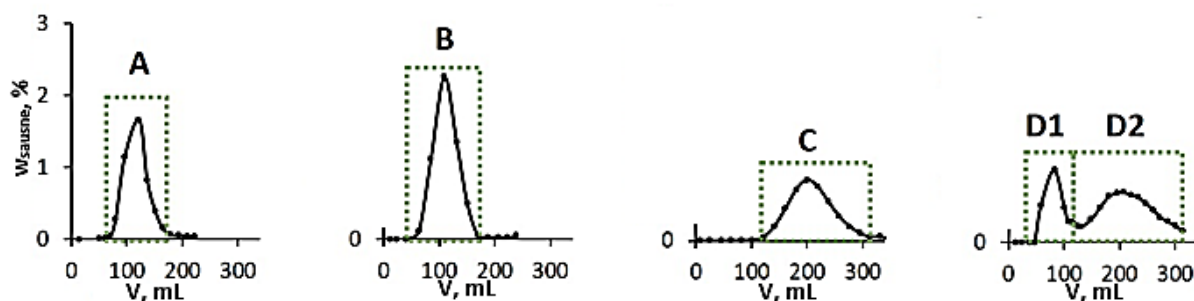
Ar SEC-RI (THF vidē) analizēm tika noskaidrots, ka nogulsnēs dominēja savienojumi ar molmasu $360 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, neatkarīgi no laika, cik ilgi tās bija veidojušās, tomēr, salīdzinot vienas dienas un trīs mēnešu laikā veidojušās nogulsnes, varēja konstatēt maksimālās detektētās molmasas pieaugumu no 1800 līdz $2300 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Kopumā tika novērots, ka istabas temperatūrā trīs mēnešu laikā kondensāta sausnes saturs samazinājās par 7 %, aldehīdu saturs samazinājās par 5 %, UV absorbcija samazinājās par 34 %, bet anhidrosaharīdu un skābju saturs palielinājās par attiecīgi 8 % un 23 %. Īsākā laika posmā, t.i., vienas diennakts laikā būtiskas izmaiņas tika konstatētas tikai UV absorbcijas mērījumos, kas samazinājās par 8 %. Ar UHPLC-UV metodi tika novērots, ka laika gaitā samazinājās tikai dažu fenolu atvasinājumu koncentrācija, kas sakrīt ar literatūrā aprakstīto zema ūdens satura bioeļļas gadījumu, kurā novecošanās laikā dažu fenolu atvasinājumu, piemēram, 1,2-dihidroksibenzola, koncentrācija nemainījās, kamēr 1,3-dihidroksibenzola koncentrācija laika gaitā ievērojami samazinājās [190].

Veicot paātrinātās novecošanas eksperimentu 80°C tika novērota tā pati tendence pieaugt skābju koncentrācijai un samazināties aldehīdu koncentrācijai un UV absorbcijai. Paaugstinātā temperatūrā visstraujākā izmaiņa bija novērojama skābju koncentrācijā: 80° temperatūrā 6 stundu laikā bija notikušas gandrīz tādas pašas izmaiņas kā istabas temperatūrā trīs mēnešu laikā. Savukārt levoglīkozāna koncentrācija nebija mainījusies, kas sakrīt ar literatūras datiem par to, ka bioeļļā anhidrosaharīdi ir stabili [190]. Jāsecina, ka levoglīkozāna iegūšanas kontekstā pirolīzes kondensātu novecošanās procesam nav būtiskas nozīmes, tomēr, lai pareizi raksturotu pirolīzes produktu iznākumu, jāpievērš uzmanība tam, cik ātri pēc kondensātu savākšanas tiek veiktas kopējo skābju, fenolu vai aldehīdu analīzes. Laikam ejot, pirolīzes kondensātu analīžu rezultāti vairs nereprezentē pirolīzes procesa produktus un nesniedz pareizu priekšstatu par pirolīzes mehānismiem.

3.6. Pirolīzes kondensātu preparatīva sadalīšana

Pirolīzes kondensātu sadalīšanai tika izmantotas preparatīvās kolonnas, kas pildītas ar dažādiem sorbentiem: vāji skābi katjonu apmaiņas sveķi Na^+ formā (ar DVB šķērssaistīta akrila polimēra matrica ar karboksilskābes funkcionālajām grupām), stipri skābi katjonu apmaiņas sveķi Ca^{2+} formā (ar DVB šķērssaistīta polistirola matrica ar sērskābes funkcionālajām grupām), neitrāli DVB-polistirola sveķi, stipri bāziski anjonu apmaiņas sveķi Cl^- vai OH^- formā (ar DVB šķērssaistīta polistirola matrica ar četrreizvietotā amīna funkcionālajām grupām).

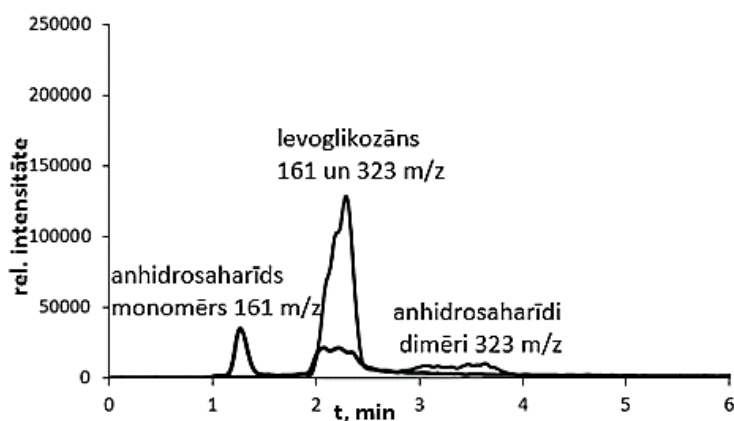
3.21. attēlā parādītas galvenās tendences pirolīzes kondensātu sadalīšanā ar minētajiem sorbentiem. Viena un tā paša pirolīzes produktu parauga sadalīšanai izmantoja vienāda izmēra kolonnu, pildītu ar atšķirīgiem sveķiem. Līdz ar to eksperimentos vienīgais mainīgais bija sorbenta veids, un varēja izdarīt secinājumus par katra sveķu veida mijiedarbību ar pirolīzes produktu maisījumu. No kolonnām, kuras bija pildītas ar neitrālajiem sveķiem, kā arī anjonu apmaiņas sveķiem Cl^- vai OH^- formā izdalījās tikai viena frakcija – 3.21. attēlā A, B un C. Šajās frakcijās bija samazināts fenolu atvasinājumu saturs, jo tie tika spēcīgi aizturēti kolonnās. Savukārt, no katjonu apmaiņas kolonnas viena pēc otras izdalījās divas frakcijas D1 un D2. Frakcijas A, B un D1 izdalījās ar aptuveni vienādu eluenta tilpumu – 100 mL, tātad šīs frakcijas vāji mijiedarbojās ar attiecīgajiem sorbentiem. D2 frakcija izdalījās tieši pēc D1 frakcijas, un arī C frakcija tika mēreni aizturēta un izdalījās ar 200 mL eluenta tilpuma.



3.21. att. Pirolīzes kondensātu frakcijas, kas iegūtas ar: A – neitrālu sveķu kolonnu, B – anjonu apmaiņas sveķu kolonnu Cl^- formā, C – anjonu apmaiņas sveķu kolonnu OH^- formā, D1 un D2 – katjonu apmaiņas sveķu kolonnu Ca^{2+} formā

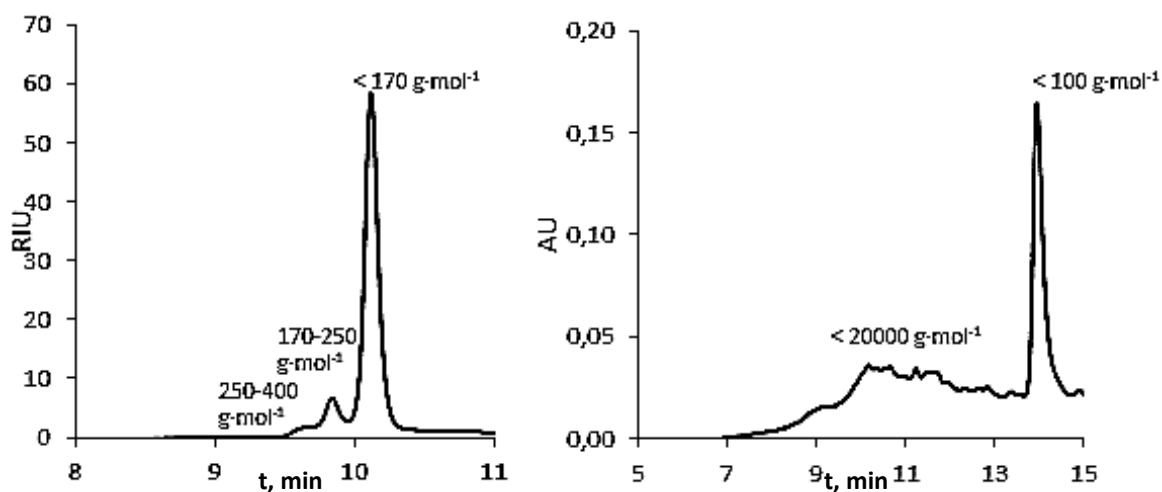
Gan nefrakcionēto pirolīzes produktu maisījumu, gan iegūtās frakcijas analizēja ar dažādām metodēm, ko var iedalīt pēc pielietojamības cukuru vai fenolu atvasinājumiem, balstoties uz šo savienojumu atšķirīgajām īpašībām. Tāpēc fenolu saturu paraugos raksturoja tieši UV absorbcijas mērījumi pie 275 nm viļņa garuma, kā arī UHPLC (C18 kolonna) un SEC ar UV detektoru, bet cukuru atvasinājumu saturu raksturoja jodometriskās titrēšanas rezultāti, kā arī UHPLC (Amīdu kolonna) ar MS un SEC ar RI detektoru.

Kā jau iepriekš aprakstīts, izmantojot apgrieztās fāzes UHPLC-UV metodes, pirolīzes kondensātos atrodami neskaitāmi fenolu atvasinājumi, un šajā pētījumu sadaļā netika identificēti un kvantificēti individuāli savienojumi, bet gan pēc visu hromatogrāfisko joslu laukumu summas tika izvērtēts kopējā fenolu satura izmaiņa frakcijās, salīdzinot ar sākotnējo paraugu. Sākotnējam paraugam kopējā UV absorbcija pie 275 nm bija $4,0 \text{ AU} \cdot \text{mg}^{-1}$. Jodometriskā titrēšana paraugā uzrādīja 55 % anhidrosaharīdu un 11 % glikozes ekvivalentu. UHPLC-MS ar Amīdu kolonnu uzrādīja vairākus anhidrosaharīdus (3.21. att.). Divas hromatogrāfiskās joslas atbilda anhidrosaharīdu monomēriem – levoglīkozānam ($t_R = 2,3 \text{ min}$) un tā izomēram ($t_R = 1,2 \text{ min}$), bet 3-4 min laikā izdalījās savienojumi ar m/z vērtībām 323, kas atbilst anhidrosaharīdu dimēriem.



3.22. att. Pirolīzes kondensāta UHPLC-MS (Amīdu kolonna) hromatogramma, atlasot MS mērījumus m/z vērtībām 161 un 323

SEC-RI analīzes parādīja (3.23. att.), ka pirolīzes produktos dominēja savienojumi ar molmasu līdz $400 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$, tomēr jutīgākais UV detektors [191] uzrādīja tādu savienojumu klātbūtni, kuru molmasas sasniedza $20000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ un kam piemita spēcīga UV absorbcija arī zemās koncentrācijās.



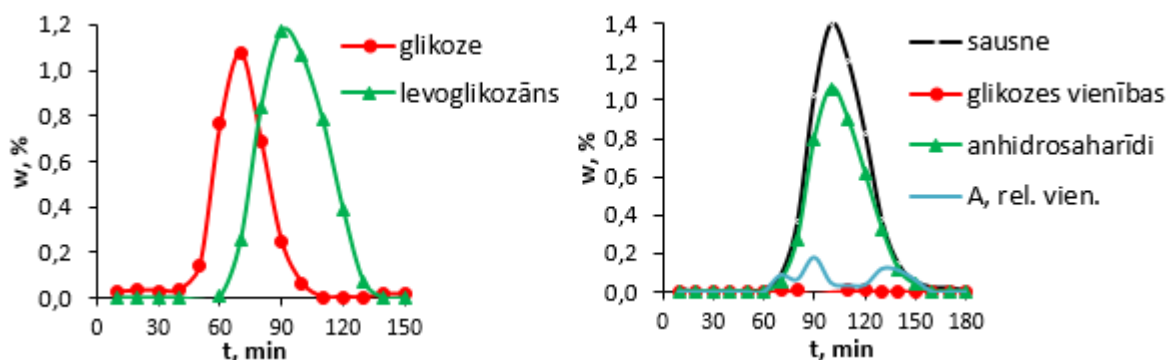
3.23. att. Pirolīzes produktu SEC-RI (pa kreisi) un SEC-UV (pa labi) hromatogrammas

Turpmāk aprakstīta katra sorbenta mijiedarbība ar pirolīzes produktiem. Katras frakcijas UHPLC un SEC chromatogrammas atrodamas 8. pielikumā.

Neitrālie sveķi.

Izmantojot neitrālo sveķu kolonnu, tika izdalīta viena pirolīzes kondensātu frakcija, kas pēc ūdens iztvaicēšanas bija brūna, kristāliska. Pēc masas no kolonnas izdalītajā frakcijā bija aptuveni 70 % parauga komponentu. Pēc UV spektrofotometriskajiem mērījumiem pie 275 nm viļņa garuma fenolu saturs paraugā bija samazinājies par 95 %. Līdzīgu tendenci parādīja arī SEC-UV analīzes: fenolu ar $M_w < 100 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ samazinājums bija par 90 % un ar $M_w 100\text{-}20000 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ – par 80 %. Iegūtajā frakcijā bija ievērojami palielinājusies anhidrosaharīdu koncentrācija, salīdzinot ar sākotnējo paraugu: no 55 % uz 88 %. Pēc UHPLC-MS datiem anhidrosaharīdu monomēru koncentrācija pēc fracionēšanas paraugā bija dubultojusies, bet anhidrosaharīdu dimēru koncentrācija palielinājās vēl vairāk. Tomēr ar titrēšanu noteikto glikozes ekvivalentu koncentrācija samazinājās no 11 % līdz 1,5 %. Tas nozīmē, ka kolonnā tika aizturēti ne tikai fenoli, bet arī kādi glikozīdi. Visticamāk šo glikozīdu struktūrās bija arī salīdzinoši nepolārākās fenolu vienības, tāpēc fenoli un glikozīdi pēc viena un tā paša adsorbcijas mehānisma mijiedarbojās ar sorbenta polistirola divinilbenzola materiālu. Tā kā fenoli ar lielākām molmasām bija sliktāk atdalīti, var secināt, ka arī eksklūzijas mehānismam bija ietekme uz pirolīzes produktu sadalīšanu ar neitrālo sveķu kolonnu.

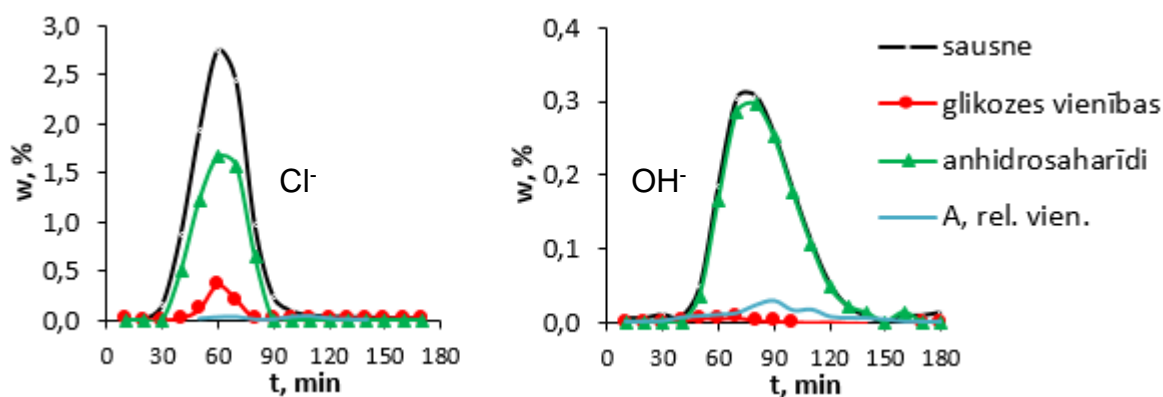
Izmantojot standartvielas – glikozi un levoglukozi – noskaidrots, ka monosaharīdu un anhidrosaharīdu izdalīšanās laiki no neitrālo sveķu kolonnas atšķiras. 3.24. attēlā pa kreisi redzams, ka glikoze kā polārākais savienojums izdalījās pirms levoglukozi. Tomēr pirolīzes produktu gadījumā (3.24. attēlā pa labi) tika novērota tika viena josla, kas sastāvēja galvenokārt no anhidrosaharīdiem, tai skaitā levoglukozi, bet monosaharīdu josla netika detektēta. Tas vēlreiz liecina par to, ka pirolīzes produktos glikozes vienības eksistē saistītā veidā glikozīdos, nevis kā brīvi monosaharīdi.



3.24. att. Glikozes un levoglukozi maisījuma (pa kreisi) un pirolīzes kondensāta (pa labi) sadalīšana ar nefunkcionalizēto sveķu kolonnu: kustīgā fāze dejonizēts ūdens ar plūsmas ātrumu $1,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$

Anjonu apmaiņas sveķi.

Stipri bāziski anjonu apmaiņas sveķi pirolīzes kondensātu sadalīšanai tika izmantoti gan Cl^- , gan OH^- formā. Cl^- forma ir stabilāka, tāpēc šī tipa sveķi parasti tiek uzglabāti un piegādāti Cl^- formā, turklāt pārtikas cukuru attīrīšanā parasti izmanto Cl^- formu, bet šādā veidā pastāv iespēja piesārņot paraugu ar hlorīdjoniem, tāpēc tika izmēģināta arī sveķu OH^- forma. 3.25. attēlā redzams, ka OH^- formas sveķu kolonna ļāva iegūt tīrāku anhidrocukuru frakciju. Ar Cl^- formas sveķu kolonnu tika iegūta brūna amorfa frakcija, kas saturēja 58 % levoglīkozāna, bet 31 % parauga tika aizturēts kolonnā, savukārt, OH^- formas sveķu kolonnā palika 54 % parauga, ļaujot savākt gaišākas krāsas kristālisku frakciju ar > 95 % levoglīkozāna. Turklāt Cl^- formas gadījumā savāktajā frakcijā joprojām tika notitrētas heksozes elementārvienības (18 %), kamēr OH^- formas gadījumā to saturs samazinājās līdz 1 %.



3.25. att. Pirolīzes kondensāta sadalīšana ar stipri bāzisku anjonu apmaiņas sveķu kolonnām Cl^- vai OH^- formā: kustīgā fāze dejonizēts ūdens ar plūsmas ātrumu $1,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$

Ar OH^- formas sveķiem fenolu atdalīšana no pirolīzes produktiem notika līdzīgi kā neitrālo sveķu gadījumā. Gan tiešā UV metode, gan UHPLC-UV uzrādīja fenolu satura samazinājumu par 99 %. SEC-UV uzrādīja 99 % samazinājumu mazmolekulārajiem savienojumiem ($< 100 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$), bet tikai 90 % samazinājumu savienojumiem ar molmasu $100\text{--}20000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Visticamāk šie lielmolekulārie savienojumi ar UV absorbciju ir fenolu un saharīdu, ko raksturo glikozes ekvivalentu saturs, kondensācijas produkti. Tā kā ar OH^- formas sveķiem iegūtajā frakcijā nesamazinājās glikozes ekvivalentu saturs, bet samazinājās fenolu saturs, var secināt, ka no kolonnas izdalīto fenolu glikozīdu struktūrās uz vienu fenolu elementārvienību bija vairākas cukuru elementārvienības.

Izmantojot anjonu apmaiņas sveķus Cl^- formā, tika iegūti sliktāki rezultāti – tika atdalīti tikai 50 % fenolu. Notekūdeņu attīrīšanā fenolu atdalīšana ar jonu apmaiņas sveķiem parasti tiek piedēvēta adsorbcijas mehānismam gan anjonu apmaiņas, gan neitrālajiem sveķiem [192]. Labākus fenolu atdalīšanas rezultātus ar Cl^- formas sveķiem varētu iegūt, optimizējot kustīgās

fāzes pH [193], tomēr buferšķīdumu lietošana levoglikozāna frakcijā varētu ieviest jaunu piesārņojumu un kopumā sadārdzināt metodi.

Salīdzinot ar citiem sorbentiem, anjonu apmaiņas sveķi OH^- formā ļāva iegūt vistīrāko levoglikozānu, turklāt par eluentu izmantojot tikai ūdeni. Tomēr šo sveķu gadījumā aktualizējās jautājums par sorbenta reģenerāciju un lietošanas ilgumu, jo, daļai parauga paliekot kolonnā, tās efektivitāte strauji samazinās, līdz sveķi vairs nav lietojami. Eksperimentāli tika noskaidrots, ka ar 100 g sorbenta no 1,2 L pirolīzes kondensātu (24 g sausnes) varēja iegūt 15 g kristāliska levoglikozāna. Pēc šī parauga daudzuma sveķi bija pilnībā piesārņoti un tos vajadzēja reģenerēt. Lai pilnībā attīrītu kolonnu, to vajadzēja skalot ar 5 % nātrija hlorīda šķīdumu un pēc tam kondicionēt ar nātrija hidroksīda šķīdumu, lai atkal iegūtu nepieciešamo OH^- formu. 3.10. tabulā parādīts, ka arī pēc reģenerēšanas, anjonu apmaiņas sveķu kolonna nezaudēja spēju atdalīt levoglikozāna frakciju ar salīdzināmu tīrību. Pirolīzes kondensāta paraugā levoglikozāna saturs bija $50,0 \pm 1,0$ % no sausnes, bet pēc attīrīšanas tas palielinājās līdz aptuveni 90 % neatkarīgi no reģenerācijas ciklu skaita. Piemaisījumu klātbūtni raksturoja ar relatīvajām absorbcijas vienībām pie 275 nm viļņa garuma uz 1 g sausnes ($\text{AU} \cdot \text{mg}^{-1}$). Sākotnēji paraugā piemaisījumu līmenis bija $7,64 \pm 0,02 \text{ AU} \cdot \text{mg}^{-1}$, bet pēc attīrīšanas – apmēram $0,7 \text{ AU} \cdot \text{mg}^{-1}$. Tāpat novēroja, ka pēc reģenerēšanas nemainījās sorbenta kapacitāte, t.i., arī pēc 3. reģenerācijas, ar 100 g sorbenta varēja attīrīt 1,2 L pirolīzes kondensātu.

3.10. tabula

Levoglikozāna frakcijas tīrība atkarībā no sorbenta reģenerēšanas reizes

Sorbents	Levoglikozāns, w%	Piemaisījumi, $\text{AU} \cdot \text{mg}^{-1}$
1. lietošanas reize	88 ± 3	$0,59 \pm 0,10$
Pēc 1. reģenerācijas	$89,0 \pm 1,1$	$0,73 \pm 0,04$
Pēc 2. reģenerācijas	90 ± 4	$0,61 \pm 0,11$
Pēc 3. reģenerācijas	88 ± 3	$0,85 \pm 0,10$

Reģenerēšanas procesā no kolonnas tika izskalots nātrija hlorīda šķīdums, kas saturēja ievērojamu daudzumu fenolu un furānu atvasinājumu. Tā kā šajā šķīdumā nav individuālu savienojumu ar vērā ņemamu koncentrāciju, pagaidām praktiski netiek izskatītas metodes tā sadalīšanai un tālākai izmantošanai. Zināms, ka nātrija hlorīda atdalīšanai rūpniecībā tiek piedāvāti membrānu filtri [194], lai cikliski izmantotu vienu un to pašu nātrija hlorīdu, kā arī iegūtu pirolīzes kondensātu frakciju bez levoglikozāna, ko var izmantot, piemēram, tekstilmateriālu krāsošanai [16].

Tā kā literatūrā [195] aprakstīta ogļhidrātu un polifenolu sadalīšana ar līdzīgiem sorbentiem, izmantojot fenolu desorbciju ar etanola šķīdumu, kā alternatīva NaCl šķīdumam reģenerācijas procesā var būt dažādi organiskie šķīdinātāji. 3.11. tabulā salīdzināta desorbēto savienojumu koncentrācija dažādās šķīdinātāju sistēmās, ko raksturo kopējo fenolu un

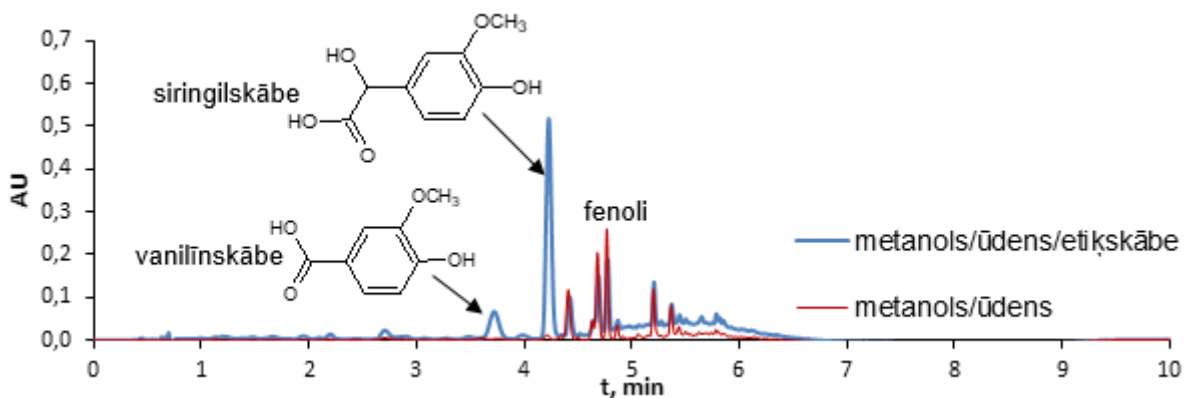
individuālu savienojumu koncentrācijas. Viszemākā desorbēto fenolu koncentrācija bija metanolā $1,21 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Metanolam pievienojot ūdeni, desorbēcija uzlabojās līdz $2,1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, savukārt etiķskābes pievienošana desorbēciju palielināja līdz $2,7 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ fenolu. Jāpiebilst, ka, aizvietojojot metanolu ar etanolu, desorbēcijas efektivitāte samazinājās no $2,7$ līdz $2,3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Kopumā skābes klātbūtnei bija vislielākā ietekme uz desorbēciju.

3.11. tabula

Fenolu koncentrācija reģenerēšanas šķīdinātājos

Šķīdinātājs	$w_{\text{fenoli}}, \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	$w_{\text{vanilīns}}, \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	$w_{\text{vanilīnsk.}}, \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$	$w_{\text{siringilsk.}}, \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$
Metanols	$1,21 \pm 0,08$	$0,0077 \pm 0,003$	$0,0062 \pm 0,0004$	$0,0081 \pm 0,0009$
Metanols/ūdens	$2,1 \pm 0,3$	$0,0080 \pm 0,004$	$0,018 \pm 0,002$	$0,041 \pm 0,005$
Etanols/etiķskābe	$2,3 \pm 0,6$	$0,0061 \pm 0,0014$	$0,040 \pm 0,004$	$0,095 \pm 0,010$
Metanols/etiķskābe	$2,7 \pm 0,2$	$0,0062 \pm 0,0006$	$0,039 \pm 0,004$	$0,099 \pm 0,008$
Metanols/etiķsk./ūdens	$2,7 \pm 0,2$	$0,0063 \pm 0,0008$	$0,041 \pm 0,004$	$0,106 \pm 0,009$

Tika novērotas ne tikai kvantitatīvās, bet arī kvalitatīvās atšķirības desorbētajiem savienojumu maisījumiem atkarībā no tā, vai reģenerācijas šķīdumiem bija pievienota etiķskābe. 3.26. attēlā parādītas dažādu reģenerēšanas šķīdumu hromatogrammas. Bija atsevišķi savienojumi, kuri desorbējās etiķskābes klātbūtnē, bet palika fiksēti uz sorbenta bez etiķskābes, kas teorētiski nozīmē, ka ir iespējams sveķus vispirms reģenerēt ar šķīdinātāju, kurā nav etiķskābes un desorbēt lielāko daļu fenolu, bet pēc tam ar etiķskābi saturošo šķīdinātāju selektīvi desorbēt atlikušos skābju tipa savienojumus, starp kuriem bija vanilīnskābe un siringilskābe.

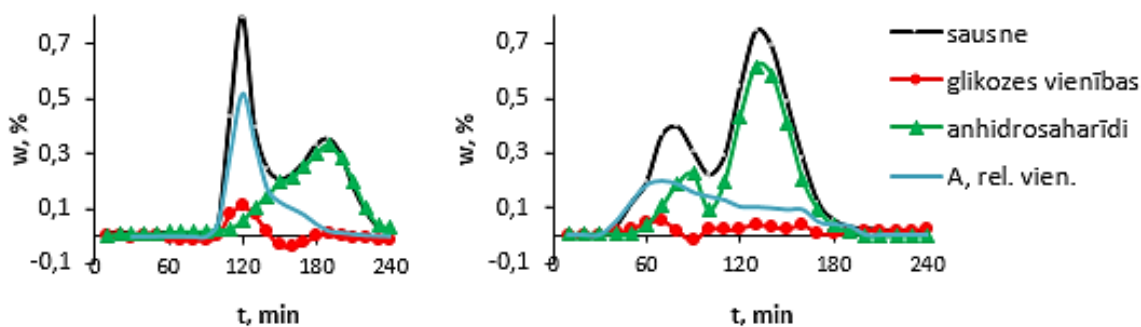


3.26. att. Anjonu apmaiņas sveķu reģenerēšanas šķīdumu UHPLC-UV hromatogrammas

Praktiski veicot eksperimentu kolonnā, ar fenoliem piesātinātu kolonnu skalojot vispirms ar metanolu/ūdeni, bet pēc tam ar metanolu/ūdeni/etiķskābi, tika iegūta pirmā fenolu frakcija, kurā nebija fenolu skābju. Savukārt, otrajā fenolu frakcijā bija vanilīnskābe un siringilskābe, bet arī zemākā koncentrācijā citi fenoli. Tas nozīmē, ka, lai pilnīgi desorbētu fenolus ar metanolu/ūdeni, šķīdinātājam ar sorbentu nepieciešams ilgāks kontakta laiks, nekā tas ir, ar plūsmu skalojot kolonnu.

Katjonu apmaiņas sveķi.

Izmantojot vāji skābu (Na^+ formā) vai stipri skābu (Ca^{2+} formā) katjonu apmaiņas sveķu kolonnas, bija iespējams savākt divas frakcijas. Abos gadījumos vispirms izdalījās blakusproduktu frakcija, bet pēc tam pamatprodukta levoglīkozāna frakcija. 3.27. attēlā redzama pirolīzes produktu pastas sadalīšana ar vāji un stipri skābiem katjonu apmaiņas sveķiem. Galvenā atšķirība novērojama anhidrosaharīdu sadalījumā – ar stipri skābajiem sveķiem levoglīkozāns labāk atdalīts no pirmās anhidrosaharīdu frakcijas.

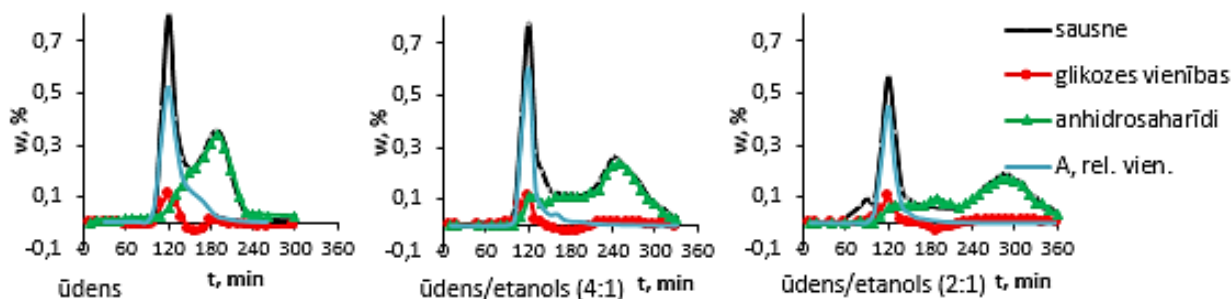


3.27. att. Pirolīzes produktu sadalīšana ar vāji un stipri skābu katjonu apmaiņas sveķu kolonnām: pa kreisi – vāji skābi katjonu apmaiņas sveķi Na^+ formā, ūdens $0,6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, pa labi – stipri skābi katjonu apmaiņas sveķi Ca^{2+} formā, ūdens $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$

Ar katjonu apmaiņas sveķu kolonnā Ca^{2+} formā iegūtajā levoglīkozāna frakcijā fenolu saturs bija samazinājies par vismaz 75 %, padarot to līdzīgu frakcijām, kas bija attīrītas ar neitrālajiem sveķiem un anjonu apmaiņas sveķiem OH^- formā. Anhidrosaharīdu, galvenokārt, levoglīkozāna koncentrācija šajā frakcijā bija 92 %, bet glikozes ekvivalentu koncentrācija bija tikai 2,5 %. Savukārt, pirmajā frakcijā bija koncentrēti fenoli, kas UV absorbciju palielināja par 60 %. Pirmajā frakcijā bija arī vērā ņemams anhidrosaharīdu saturs – 37 %, kā arī 10 % glikozes ekvivalentu, jo eksklūzijas mehānisma dēļ ātrāk izdalījās lielmolekulārie savienojumi – glikozīdi un anhidrosaharīdu dimēri. SEC-UV analīzes apstiprināja eksklūzijas mehānisma lomu, jo pirmajā frakcijā lielmolekulāro savienojumu saturs bija palielinājies piecas reizes, bet otrajā (levoglīkozāna) frakcijā tikpat kā nebija ar RI detektoru detektējamu savienojumu ar molmasām $> 170 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Spriežot pēc UHPLC-MS hromatogrammām, detektējot jonus ar m/z 161, pirmajā frakcijā bija arī citi anhidromonosaharīdi, tātad ar katjonu apmaiņas sveķu kolonnā Ca^{2+} formā pēc ligandu apmaiņas mehānisma tika atdalīti anhidroglikozes izomēri.

Lai uzlabotu pirolīzes produktu atdalīšanu katjonu apmaiņas kolonnā, tika veikti eksperimenti, kustīgajai fāzei pievienojot etanolu. Neatkarīgi no eluenta sastāva visos gadījumos pirmā josla jeb frakcija izdalījās aptuveni vienādā laikā, tātad hidrofobajām/hidrofilajām mijiedarbībām šajā gadījumā nebija būtiskas nozīmes. Tā kā levoglīkozāna šķīdība etanolā ir daudz zemāka nekā ūdenī, līdz ar etanola tilpuma daļas

palielināšanu palielinājās levoglīkozāna izdalīšanas laiks. Kā redzams 3.28. attēlā, tas ļoti labi bija novērojams vāji skābo sveķu gadījumā. Pievienojot eluentam etanolu, tika atdalīta ne tikai viena anhidrosaharīdu josla, bet izveidojās gara anhidrosaharīdu fronte, kas sākas jau pie 120 min. 120 min laikā, visticamāk, izdalījās anhidrocukuru dimēri vai augstāki oligomēri, bet laikā starp oligomēriem un lielāko levoglīkozāna joslu, izdalījās levoglīkozāna izomēri.



3.28. att. **Pirolīzes kondensāta sadalīšana:** sorbents – vāji skābi katjonu apmaiņas sveķi Na^+ formā, eluents – dejonizēts ūdens vai ūdens/etanola maisījums, plūsmas ātrums – $0,6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$

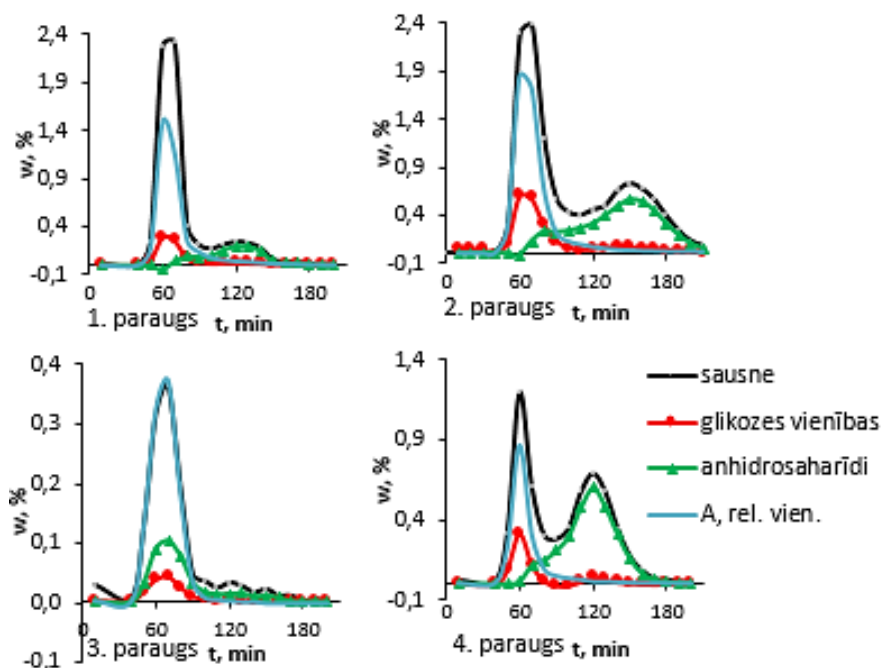
3.12. tabulā redzamas 1. un 2. frakcijas selektivitātes koeficienti un izšķiršanu vērtības atkarībā no eluenta sastāva. Etanola pievienošana eluentam būtiski uzlaboja gan selektivitāti, gan izšķiršanu, bet tajā pašā laikā arī ievērojami palielināja kopējo atdalīšanas ilgumu. Kā piemērotākais eluenta sastāvs tika izvēlēts ūdens/etanola maisījums tilpumu attiecībā 4:1, kas ļāva pietiekoši atdalīt levoglīkozānu no pārējiem pirolīzes kondensāta komponentiem, kā arī nevajadzīgi nepaildzināja atdalīšanu. Sadalot pirolīzes kondensātu divās daļās, varēja iegūt pēc masas aptuveni vienādas frakcijas, no kurām otrajā bija līdz 90 % tīrs levoglīkozāns.

3.12. tabula

Pirmās un otrās frakcijas izdalīšanas laiks t_R un izdalīšanas koeficients k , kā arī šo joslu pāra selektivitātes koeficients α un izšķiršana R , izmantojot vāji skābu katjonu apmaiņas sveķu kolonnu ar dažādiem eluentiem

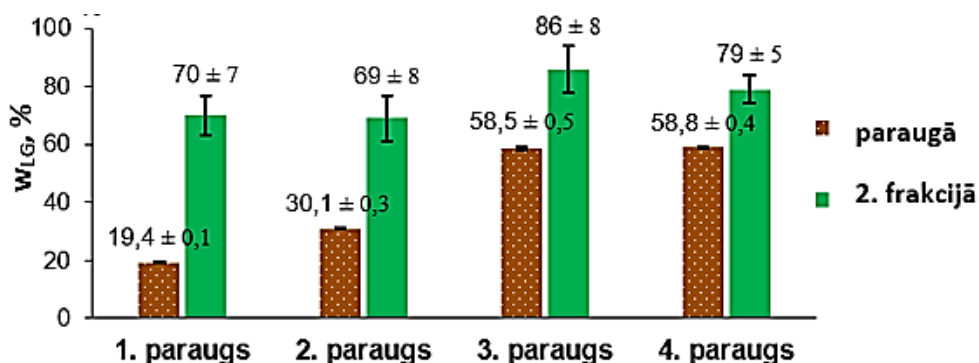
Eluents	t_R , min		k		α	R
	1. fr.	2. fr.	1. fr.	2. fr.		
Ūdens	118	191	0,57	1,6	2,7	0,94
Ūdens/etanols (4:1)	118	245	0,57	2,3	4,0	1,8
Ūdens/etanols (2:1)	120	291	0,60	2,9	4,8	1,9

3.29. attēlā redzamas četru dažādu pirolīzes kondensātu hromatogrammas, kas iegūtas ar vāji skābo katjonu apmaiņas sveķu kolonnu un ūdens/etanola maisījumu (4:1). Visos gadījumos apstiprinājās iepriekš aprakstītā tendence paraugiem sadalīties divās frakcijās, no kurām pirmajā bija fenoli, furāni, oligosaharīdi, bet otrajā – galvenokārt levoglīkozāns. Otrajās frakcijās (pēc 90 min) tika iegūts levoglīkozāns ar 70-90 % tīrību, atgūstamība bija virs 70 %.



3.29. att. **Dažādu pirolīzes kondensātu sadalīšana:** sorbents – vāji skābi katjonu apmaiņas sveķi Na^+ formā, eluents – dejonizēts ūdens vai ūdens/etanola maisījums, plūsmas ātrums – $1,2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$

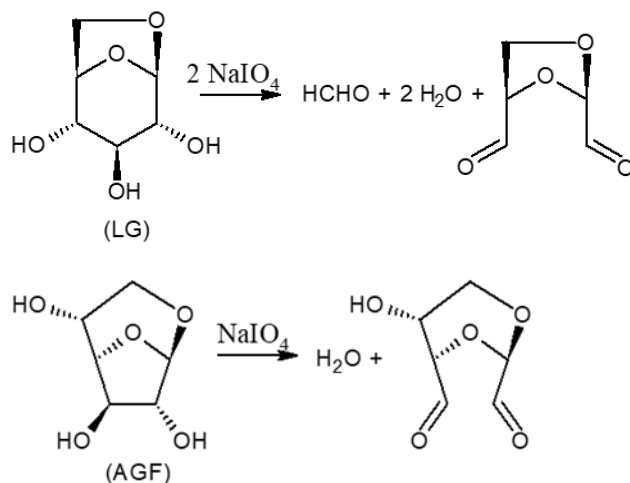
3.30. attēlā redzams, ka neatkarīgi no sākotnējās levoglikozāna masas daļas paraugā (w% no sausnes) savāktajās otrajās frakcijās levoglikozāna tīrība bija salīdzināma. Pat no pirolīzes kondensātiem, kuros bija salīdzinoši zema levoglikozāna koncentrācija bija iespējams iegūt viegli kristalizējamu levoglikozāna frakciju, tātad šo metodi var uzskatīt par stabilu un robustu, salīdzinot ar klasisko „acetona metodi”, ar kuru levoglikozānu var attīrīt tikai atsevišķos gadījumos [196] – atkarībā no sākotnējās levoglikozāna koncentrācijas un piemaisījumu dabas.



3.30. att. **Levoglikozāna koncentrācija dažādos pirolīzes kondensātos (no sausnes) pirms un pēc attīrīšanas ar vāji skābajiem katjonu apmaiņas sveķiem**

3.29. attēlā redzams, ka visos paraugos bez levoglikozāna bija arī citi anhidrosaharīdi. Aprēķinot otrajā frakcijā savāktā levoglikozāna masas daļu no visiem atrastajiem anhidrocukuriem (pirmās un otrās frakcijas anhidrosaharīdu satura summa), tika noskaidrots, ka pirolīzes kondensātos levoglikozāna un citu anhidrosaharīdu attiecība bija līdzīga. No kopējiem anhidrosaharīdiem levoglikozāns bija 70-80 %.

Kustīgajai fāzei pievienojot 20 % etanolu, palielinājās selektivitāte starp pirmo un otro frakciju (α 2,8 \rightarrow 3,7), tomēr praktiski tas neietekmēja iespēju atdalīt anhidrosaharīdu frakcijas, tāpēc turpmākos eksperimentos stipri skābos sveķus lietoja ar ūdeni kā kustīgo fāzi. Tā kā stipri skābie katjonu apmaiņas sveķi nodrošināja labu sadalījumu starp pirmo anhidrocukuru frakciju un levoglikozānu, tie tika izmantoti, lai sadalītu Latvijas Organiskās sintēzes institūtā iegūto paraugu, kurš saturēja no pirolīzes kondensātiem izdalītu anhidrosaharīdu frakciju². Saņemto anhidrosaharīdu paraugu sadalot ar stipri skābo katjonu apmaiņas sveķu kolonnu, tika iegūtas divas izteiktas hromatogrāfijas joslas. Zīmīgi, ka, arī šī parauga frakcijas jodometriski titrējot pēc levoglikozāna/kopējo cukuru noteikšanas metodes, pirmajā hromatogrāfijas joslā pie 60 min tika iegūti negatīvi heksožu rezultāti (3.32. attēlā pa kreisi). Saskaņā ar literatūrā atrodamo informāciju [59, 121] un OSI veiktajām NMR analīzēm, tika pieņemts, ka hromatogrammas pirmā josla atbilst 1,6-anhidro- β -D-glikofuranozei (AGF), un tika koriģētas 2.4 un 2.5. formulas, pēc kurām aprēķina levoglikozāna un monosaharīdu saturu paraugos.



3.31. att. Levoglikozāna (LG) un 1,6-anhidro- β -D-glikofuranozes (AGF) oksidēšana ar nātrija perjodātu

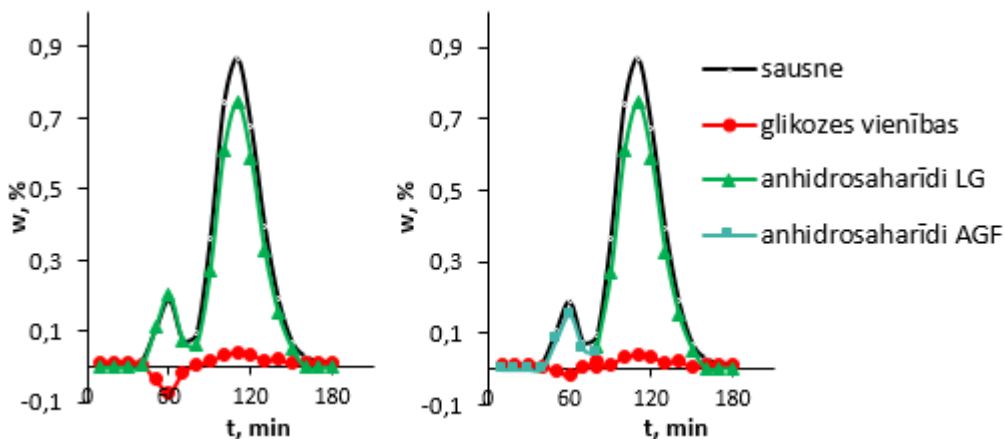
3.31. attēlā redzams, kā atšķiras levoglikozāna un AGF oksidēšanas reakcijas: levoglikozāna un nātrija perjodāta stehiometriskā attiecība ir 1:2, bet AGF un nātrija perjodāta stehiometriskā attiecība ir 1:1. Līdz ar to 2.3. un 2.4. formulās tika ievesti AGF oksidēšanas reakcijai atbilstošie stehiometriskie koeficienti un iegūtas šādas formulas:

$$w\%_{AGF} = 100\% \cdot \frac{c_{tiosulfāts} \cdot (V_{1,tiosulfāts} - V_{2,tiosulfāts}) \cdot M_{AGF}}{(30-6) \cdot m_{paraugs}} \quad (3.1.)$$

$$w\%_{heksozes} = 100\% \cdot \frac{c_{tiosulfāts} \cdot (V_2 - \frac{6}{30-6} \cdot (V_1 - V_2)) \cdot M_{glikoze}}{30 \cdot m_{paraugs}} \quad (3.2.)$$

² 2013. gadā Latvijas Organiskās sintēzes institūtā Dr. chem. Pēteris Trapenciera vadībā pēc Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūta pasūtījuma tika veikts pētījums par pirolīzes organiskajiem produktiem, kā ietvaros tika identificēti daži savienojumi, kā arī ar tiešās fāzes šķīduma hromatogrāfiju izdalīta anhidrocukuru frakcija.

AGF atbilstošās 3.1. un 3.2. formulas tika izmantotas, lai pārrēķinātu pirmās frakcijas analīžu rezultātus, bet otrās frakcijas rezultāti joprojām tika rēķināti pēc levoglīkozānam atbilstošajām 2.3. un 2.4. formulām. 3.32. attēls parāda, ka 3.1. un 3.2. formulas ir ticamas, jo vairs netiek iegūti izteikti negatīvi heksožu rezultāti.



3.32. att. Levoglīkozāna (LG) un 1,6-anhidro-β-D-glikofuranozes (AGF) atdalīšana: pa kreisi – hromatogramma, kura iegūta izmantojot 2.4. un 2.5. formulas, pa labi – hromatogramma, kurā kombinētas 2.3., 2.4. un 3.1. un 3.2. formulas

Pirolīzes kondensātu frakcionēšanas mērogošana ar iekārtu „Sorbomate”.

No iepriekš aprakstītajiem pirolīzes kondensātu frakcionēšanas variantiem, par derīgākajiem jāatzīst sadalīšanu ar stipri skābiem katjonu apmaiņas sveķiem Ca^{2+} formā un stipri bāziskiem anjonu apmaiņas sveķiem OH^- formā. Abi varianti sniedz atšķirīgus, bet vienlīdz interesantus rezultātus, tāpēc tika izskatīta to izmantošana lielākiem paraugu apjomiem ar lielāku plūsmas ātrumu ($20\text{-}30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), ko nodrošināja automatizētā iekārta „Sorbomate”. 3.13. tabulā salīdzināta pirolīzes kondensātu frakcionēšana ar anjonu vai katjonu apmaiņas sveķu kolonnām.

3.13. tabula

Pirolīzes kondensātu frakcionēšana ar stipri skābiem katjonu apmaiņas sveķiem vai stipri bāziskiem anjonu apmaiņas sveķiem iekārtā „Sorbomate”

Sorbents	Parauga sagatavošana	Kolonnas kondicionēšana	Parauga ievadīšana kolonnā	Frakciju savākšana	Kolonnas reģenerēšana
Stipri skābi katjonu apmaiņas sveķi Ca^{2+} formā	Kondensāta ietvaicēšana līdz 20 % sausnes saturam, filtrēšana	Metanols, 5 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$ šķ., ūdens	Nelielās porcijās (pa 3-5 g sausnes)	Tiek atdalītas un savāktas divas frakcijas	Reti ar 5 % $\text{Ca}(\text{OH})_2$ šķ.
Stipri bāziski anjonu apmaiņas sveķi OH^- formā	Kondensāta filtrēšana	Metanols, 2 % NaOH šķ., ūdens	Nepārtraukti (līdz 24 g sausnes uz 100 g sorbenta)	Tiek savākta levoglīkozānu saturoša frakcija	Bieži ar 5 % NaCl un 2 % NaOH šķ.

Lai pirolīzes kondensātus sadalītu divās frakcijās ar katjonu apmaiņas sveķiem, paraugs vispirms jāietvaicē, līdz sausnes saturs ir aptuveni 20 %, pretējā gadījumā hromatogrāfijas joslas paplatinās un pasliktinās frakciju atdalīšana. Ar spektrofotometrisko detektoru novērojot pirmās frakcijas beigas, var atrast brīdi, kurā jāsāk vākt otro frakciju, kas satur galvenokārt levoglikozānu. Levoglikozāna koncentrācija otrajā frakcijā bija > 70 %, bet pirmajā frakcijā tika savākti pārējie pirolīzes produkti. Šīs metodes priekšrocība ir tā, ka levoglikozāns bija labi atdalīts no AGF, kas palika pirmajā frakcijā, tāpēc varēja ne tikai savākt kristālisko levoglikozāna frakciju, bet arī turpināt eksperimentus ar pirmo frakciju, lai izdalītu AGF. Lai šādu pirolīzes paraugu fracionēšanu realizētu rūpnieciskos apmēros, būtu jāveic būtiski finansiāli ieguldījumi aprīkojumā, kas nepārtrauktā hromatogrāfijas procesā ļautu iegūt maksimālu levoglikozāna iznākumu (*simulated moving bed*) [197].

Anjonu apmaiņas sveķi bija vislabāk piemēroti apjomīgai, bet vienkāršai levoglikozāna izdalīšanai no pirolīzes produktiem. Pirmkārt, ar anjonītu kolonnu tika iegūta kristāliska levoglikozāna frakcija ar visaugstāko tīrību (> 80 %). Otrkārt, šos sveķus bija visvienkāršāk lietot – nebija nepieciešams ietvaicēt pirolīzes kondensātus, bet tos varēja ievadīt kolonnā atšķaidītā veidā. Līdz ar to pats paraugs kalpoja kā eluents un nevajadzēja izmantot papildus ūdeni. Paraugu varēja ievadīt kolonnā, līdz sorbenta pilnīgai piesārņošanai, ko bija viegli detektēt pēc eluāta krāsas izmaiņas, respektīvi ar spektrofotometru. Par zināmu trūkumu var uzskatīt to, ka sorbents samērā bieži jāreģenerē ar NaCl šķīdumu, tomēr, kā jau iepriekš aprakstīts, pozitīvi ir tas, ka sorbenta spēja attīrīt levoglikozānu nemazinās arī pēc atkārtotas reģenerēšanas. Pēc būtības var uzskatīt, ka levoglikozāna attīrīšana ar anjonītu kolonnu notika pēc cietfāzes ekstrakcijas, nevis hromatogrāfijas principiem, jo šajā gadījumā sadalīšana bija tikai līdzsvara process, nevis kombinētais līdzsvara un kinētiskais process kā šķidrums hromatogrāfijā [198]. Anjonu apmaiņas sveķi jau ir sevi pierādījuši kā pieņemamu metodi pārtikas cukura atkrāsošanai [58, 199, 200], tāpēc šī pētījuma noslēgumā rūpnieciskai levoglikozāna attīrīšanai tiek piedāvāta anjonu apmaiņas sveķu (OH^- formā) metode.

3.7. Levoglikozāna attīrīšana

Neatkarīgi no izvēlēto jonu apmaiņas sveķu veida (anjonu apmaiņas OH^- formā vai katjonu apmaiņas Ca^{2+} formā) no pirolīzes kondensātiem varēja atdalīt frakciju, kurā levoglikozāna koncentrācija nepārsniedza 90 %, tāpēc bija nepieciešams vēl viens attīrīšanas solis, lai iegūtu augstas tīrības levoglikozānu. Piemaisījumu satura puskvantitatīvai raksturošanai izmantota UV/Vis spektrofotometrija. Starptautiski pieņemts cukuru tīrības rādītājs ir krāsa, ko raksturo absorbcija pie 420 nm viļņa garuma, bet koksnes pirolīzes gadījumā blakusproduktu absorbcijas maksimums ir pie 275 nm viļņa garuma.

Pārkristalizējot levoglikozāna (95 %) paraugu trīs dažādos šķīdinātājos – acetona, metanolā un etanolā, noskaidrots, ka vistīrāko produktu ar augstāko iznākumu iegūst no etanola, t.i., 88 % iznākums ar parauga krāsu (A_{420}) 280 vienības. Metanola gadījumā iznākums bija 85 % ar krāsu 570 vienības, bet acetona gadījumā – 77 % ar krāsu 330 vienības.



3.33. att. Pirolīzes produktu un attīrīta levoglikozāna fotogrāfijas

Pārkristalizējot levoglikozānu saturošās pirolīzes produktu frakcijas no etanola, varēja iegūt 95-98 % tīru levoglikozānu ar 50-60 % iznākumu. Zudumi radās levoglikozāna šķīdības etanolā dēļ (aptuveni $10\text{g}\cdot 100\text{mL}^{-1}$), kā arī blakusproduktu mijiedarbības dēļ. 3.14. tabulā salīdzināta piemaisījumu koncentrācija levoglikozāna paraugiem, kas secīgi iegūti trīs pārkristalizācijās, pēdējā pievienojot aktivēto ogli.

3.14. tabula

Piemaisījumu saturs attīrīta levoglikozāna paraugos

Attīrīšana	Levoglikozāns w, %	Krāsa ₄₂₀ (pēc ICUMSA)	Krāsa ₂₇₅
Vienreiz pārkristalizēts	95 ± 2	7500 ± 200	108500 ± 400
Atkārtoti pārkristalizēts	97,1 ± 1,1	2220 ± 50	13890 ± 50
Atkārtoti pārkristalizēts, izmantojot aktivēto ogli	97,5 ± 0,9	230 ± 40	2770 ± 50

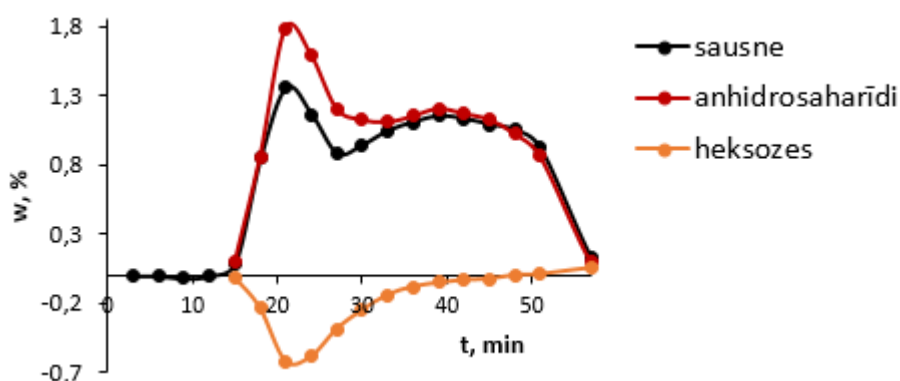
Atkārtota pārkristalizācija palielināja levoglikozāna tīrību par vismaz 2 %. Apstrāde ar aktivēto ogli neatstāja būtisku ietekmi uz levoglikozāna koncentrāciju, tomēr UV/Vis absorbcijas mērījumi parādīja ievērojamu krāsaino piemaisījumu daudzuma samazinājumu, kas liecina par to, ka piemaisījumu masas koncentrācija bija neliela, bet to absorbēja intensīva. Ar ogli apstrādātā parauga krāsa (A_{420}) bija 230 vienības, kas ir vairākas reizes zemāks rezultāts nekā paraugam, kas bija pārkristalizēts, neizmantojot ogli, tomēr komerciāli pieejamajam levoglikozānam krāsa bija < 2 vienībām. Par piemaisījumi klātbūtni ar ogli attīrītajā levoglikozāna paraugā liecināja arī nelielās kušanas temperatūras un optiskā griešanas leņķa

atšķirības, salīdzinot ar standartvielu. Iegūtajam paraugam kušanas temperatūra bija $180,6 \pm 0,3$ °C un optiskais griešanas leņķis bija -69 ± 2 ° (standartam attiecīgi $181,5 \pm 0,4$ °C un -65 ± 2 °).

3.8. Kompleksa pirolīzes kondensātu frakcionēšana

Lai gan levoglīkozāns ir galvenais lignocelulozes pirolīzes produkts ar vislielāko iznākumu, ir interese izdalīt un valorizēt arī citus savienojumus vai to grupas, jo tādā veidā tiktu nodrošināti biorafinēšanas principi un palielināts ražošanas kopējais ekonomiskais izdevīgums. Citu pirolīzes produktu starpā jāmin 1,6-anhidro- β -D-glikofuranoze, kas ir literatūrā bieži aprakstīts no biomasas iegūstamais savienojums – pēc levoglīkozāna tas ir nākamais anhidrosaharīds ar lielāko koncentrāciju pirolīzes produktos [201], tāpēc ir liela interese izdalīt AGF ne tikai kā ekonomiski nozīmīgu produktu ar augstu pievienoto vērtību, bet arī lai to izmantotu par standartvielu analīzēm, jo pagaidām AGF pirolīzes kondensātos tiek kvantificēta pēc levoglīkozāna, ļaujot iegūt tikai aptuvenus rezultātus.

Iepriekšējās apakšnodaļās aprakstīts, ka levoglīkozānu vispraktiskāk izdalīt un attīrīt, veicot kondensāta sadalīšanu ar anjonu apmaiņas sveķu (OH⁻ formā) kolonnu un sekojošu kristalizāciju. Tomēr kristalizācijas procesā daļa levoglīkozāna paliek atsālnī, tāpēc savā ziņā efektīvāk pēc anjonu apmaiņas sveķu kolonnas veikt levoglīkozānu saturošās frakcijas sadalīšanu ar katjonu apmaiņas sveķu kolonnu, pirmajā frakcijā savācot anhidrosaharīdus bez levoglīkozāna. 3.34. attēlā redzama anhidrosaharīdu frakcijas sadalīšana ar katjonu apmaiņas sveķu Ca²⁺ formā kolonnu, kur pirmajā frakcijā atkal redzams zīmīgais negatīvais heksožu jeb glikozes ekvivalentu titrēšanas rezultāts, kas, kā iepriekš aprakstīts, liecina par anhidrosaharīdu klātbūtni, kurus oksidē viena perjodāta molekula (nevis divas, kā levoglīkozānu).



3.34. att. No pirolīzes kondensāta izdalītas anhidrosaharīdu frakcijas sadalīšana ar katjonu apmaiņas sveķu Ca²⁺ formā kolonnu

Lai detalizētāk izpētītu pirmo anhidrosaharīdus saturošo frakciju, kas iegūta ar katjonu apmaiņas sveķu kolonnu, tika veikta rūpīga frakciju analīze, izmantojot gan 3.1. apakšnodaļā

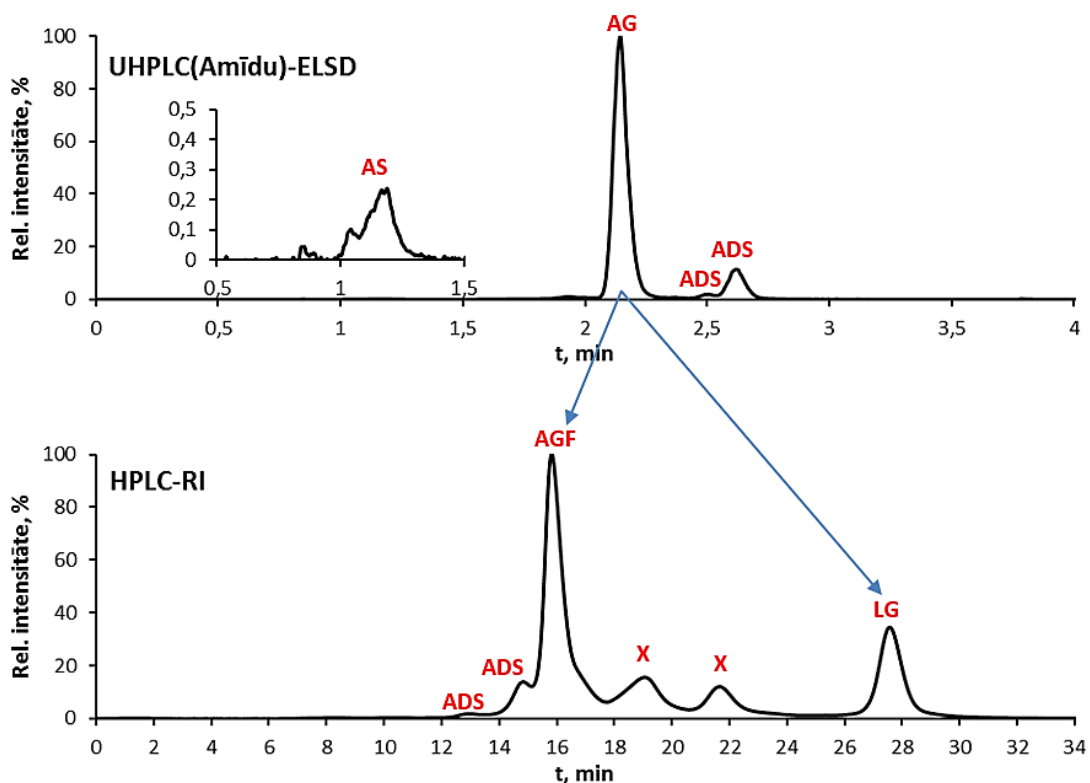
aprakstītās UHPLC metodes, gan HPLC metodi ar Pb²⁺ formas kolonnu. Tika kvantificēti (kalibrējot pēc levoglīkozāna) vairāki atsevišķi savienojumi, kuri raksturoti 3.15. tabulā.

3.15. tabula

Savienojumi anhidrosaharīdu frakcijā

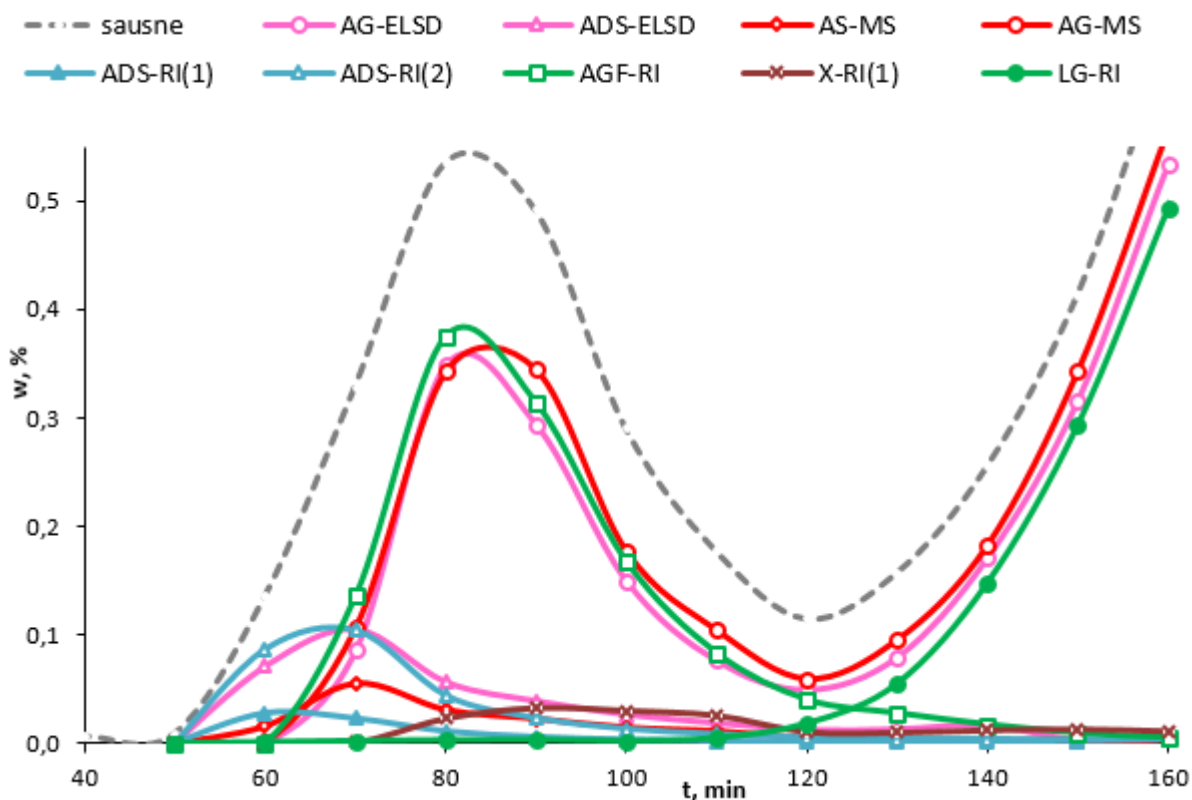
Metode	Pazīmes	Identitāte, apzīmējums
UHPLC(Amīdu)-ELSD	t _R = 2,1 min	Anhidroglikoze (LG un AGF), AG-ELSD
	t _R = 2,6 min	Anhidrodisaharīdi, ADS-ELSD
UHPLC(Amīdu)-MS	t _R = 1,1 min, m/z = 161	Anhidrosaharīds, AS-MS
	t _R = 2,1 min, m/z = 323	Anhidroglikoze (LG un AGF), AG-MS
HPLC-RI	t _R = 12,9 min	Anhidrodisaharīdi, ADS-RI(1,2)
	t _R = 14,8 min	
	t _R = 15,8 min	1,6-Anhidro-β-D-glikofuranoze, AGF-RI
	t _R = 18,5 min	Nezināmi savienojumi (cukuri), X-RI(1,2)
	t _R = 21,6 min	
t _R = 27,6 min	Levoglīkozāns, LG-RI	

Izmantojot UHPLC Amīdu kolonnu, gan ar ELSD, gan kvadrupola MS varēja noteikt levoglīkozānu, bet tika apstiprināts, ka ar šo metodi netiek atdalīts levoglīkozāna izomērs AGF, tāpēc josla ar t_R 2,1 min atbilst anhidroglikozei AG, kas ietver abas formas (furanozī un piranozī). Ar ELSD metodi varēja noteikt arī anhidrodisaharīdus ADS, savukārt MS detektors parādīja kāda anhidrosaharīda AS klātbūtni, kas izdalījās salīdzinoši agri – 1,1 min laikā. Lai atdalītu anhidroglikozes izomērus (3.35. att.), tika izmantota HPLC-RI metode, kuras gadījumā levoglīkozāna izdalīšanas laiks bija 27,6 min, bet AGF izdalīšanās laiks bija 15,8 min.



3.35. att. Anhidrosaharīdu UHPLC(Amīdu)-ELSD un HPLC-RI hromatogrammas: paraugs ņemts uz 1. un 2. frakcijas robežas, t.i., pie 120 min 3.36. attēlā (apzīmējumus skat. 3.15. tabulā)

Par minēto savienojumu identitāti var spriest, kopā apskatot gan analītiskās šķidrums hromatogrāfijas, gan preparatīvās sadalīšanas ainu. 3.36. attēlā anhidrosaharīdu frakcijas preparatīvajā hromatogrammā ievietoti ar analītiskajām metodēm noteiktie savienojumi (attēlā pietuvināta 1. frakcija, jo otrajā frakcijā tika detektēts tikai levoglīkozāns). Pirmkārt, jāievēro, ka 1. frakcijā dominē savienojums ar izdalīšanās maksimumu pie 80-90 min. Šis savienojums tikpat kā vienādi kvantificēts ar trim metodēm – HPLC-RI ($t_R = 15,8$ min), UHPLC(Amīdu)-ELSD un –MS ($t_R = 2,1$ min). Analītiski šī savienojuma t_R un intensīvākā jona m/z vērtība UHPLC gadījumā sakrīt ar levoglīkozānu, kas liecina par līdzīgu ķīmisko struktūru, respektīvi, liecina, ka šis savienojums ir AGF. HPLC gadījumā gan šis savienojums izdalījās daudz ātrāk nekā levoglīkozāns, kas varētu likt domāt, ka tas ir anhidrodisaharīds, kura ātro izdalīšanos nosaka eksklūzijas mehānisms [202]. Bet dimērs nevarētu vienlaicīgi ar levoglīkozānu izdalīties no Amīdu kolonnas, tātad jāsecina, ka AGF izdalīšanos no katjonu apmaiņas sveķu kolonnām (gan analītiskām, gan preparatīvām) galvenokārt nosaka ligandu apmaiņas mehānisms, kas nodrošina augstu selektivitāti starp AGF un levoglīkozānu. Jāpiebilst, ka šis savienojums, jodometriski titrējot, pazemina glikozes ekvivalentu rezultātu (negatīvās vērtības), kas papildus liecina par to, ka tas ir AGF, vienlaicīgi izslēdzot iespēju, ka tas ir kāds piranozes formas izomērs, piemēram, 1,6-anhidro- β -D-mannopiranoze.



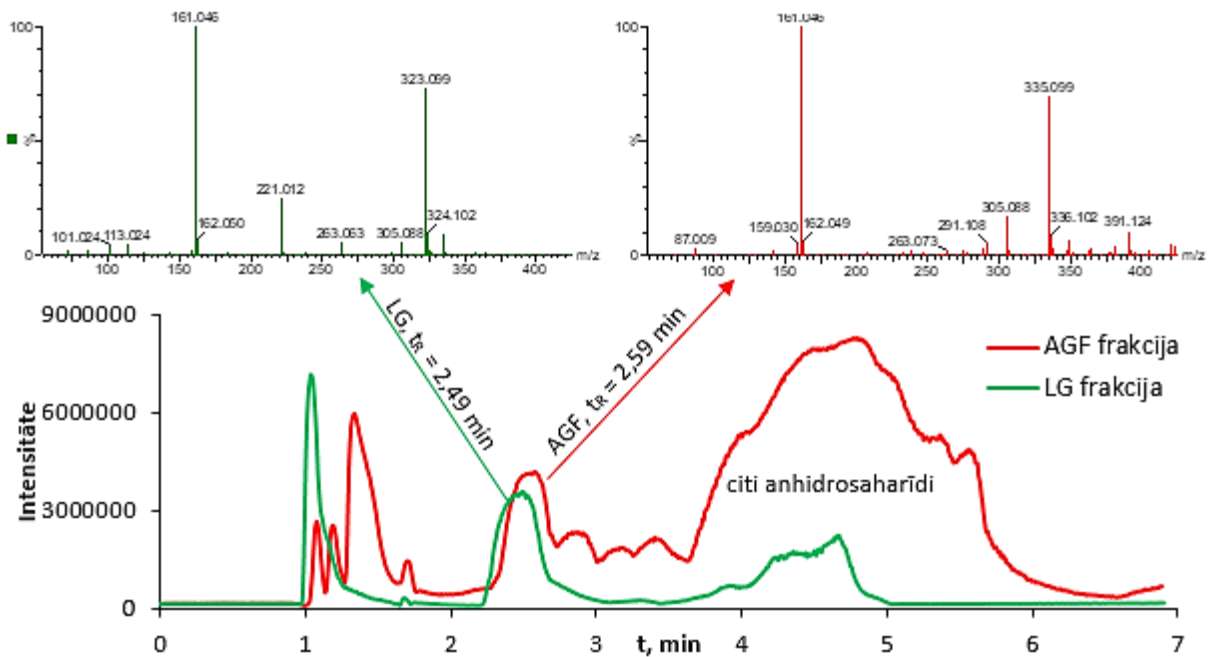
3.36. att. Anhidrosaharīdu (apzīmējumus skat. 3.15. tabulā) frakcijas preparatīvā hromatogramma (katjonu apmaiņas sveķi Ca^{2+} formā) (apzīmējumus skat. 3.15. tabulā)

Tā kā trīs detektēšanas metodes uzrādīja salīdzināmu AGF rezultātu, var pieņemt, ka kalibrēšana pēc levoglīkozāna ļauj atbilstoši novērtēt AGF kvantitatīvo saturu frakcijās. Pēc iegūtajiem datiem 1. frakcijā (60-120 min 3.36. attēlā) AGF saturs bija apmēram 50 % (54 % ar HPLC-RI, 48 % ar UHPLC-ELSD, 55 % ar UHPLC-MS). Pārējos aptuveni 50 % 1. frakcijā veidoja anhidrodisaharīdi un citi cukuru atvasinājumi. HPLC-RI rezultāti tiek pārskatīti ar hidrofilās mijiedarbības UHPLC metodēm iegūtos levoglīkozāna noteikšanas rezultātus, jo pēc HPLC-RI rezultātiem novērots, ka pirolīzes kondensātos AGF saturs bija 20-25 % no kopējā anhidroglīkozes daudzuma.

Ar UHPLC-ELSD metodi noteiktais anhidrodisaharīdu (ADS-ELSD) saturs frakcijās sakrīt ar savienojuma ADS-RI(2) koncentrāciju, bet ar HPLC metodi vēl tika noteikts kāds cits anhidrodisaharīds ADS-RI(1), kā arī nezināmi savienojumi, kuru izdalīšanās laiks bija starp AGF un levoglīkozānu. Tā kā tie no preparatīvās kolonnas izdalījās salīdzinoši vēlāk (80-110 min laikā), var secināt, ka runa ir par monosaharīdu atvasinājumiem, piemēram, mannozānu vai galaktozānu, nevis disaharīdiem.

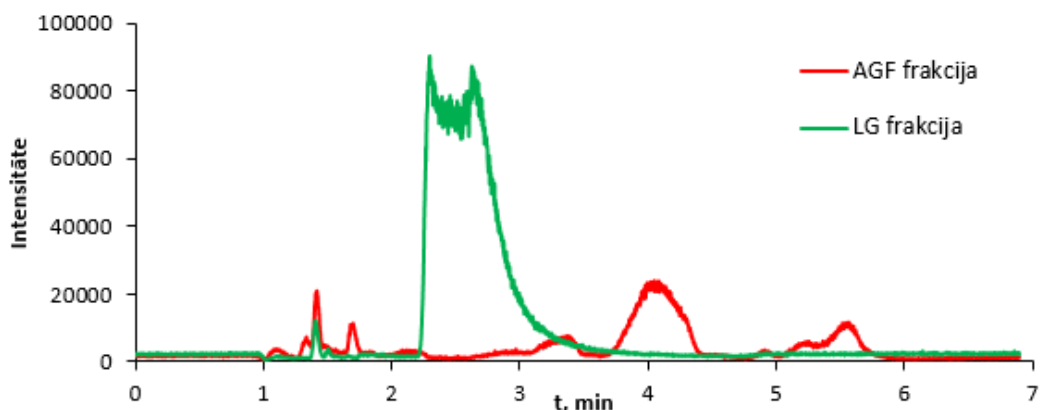
Ar UHPLC-MS metodi preparatīvās hromatogrammas sākumdaļā (ap 70 min 3.36. attēlā) tika atrasts savienojums, kura intensīvākā jona m/z vērtība bija 161, kas atbilst anhidroheksozes molekulārajam jonam, tomēr agrais izdalīšanās laiks no Amīdu kolonnas liecina par to, ka šis cukura atvasinājums bija saistīts ar kādu nepolārāku struktūru.

Izmantojot nolidojuma laika masspektrometriju, tika pētīta iespēja selektīvi identificēt levoglīkozānu un AGF UHPLC gadījumā. Lai gan ne Amīdu, ne HILIC kolonna nenodrošināja pietiekamu 1,6-anhidroglīkozes izomēru savstarpējo atdalīšanu ($\alpha < 1,1$), TOF/MS apstākļos levoglīkozānam un AGF novēroti atšķirīgi masspektri, kas redzami 3.37. attēlā. Līdz ar to paveras iespējas šos savienojumus selektīvi detektēt ar tandēma masspektrometriju SRM režīmā. Gan levoglīkozāna, gan AGF masspektros bija molekulārie joni $[M-H]^-$ ar m/z vērtību 161,046, kā arī dimerizācijas produktu $[2M-H]^-$ joni ar m/z 323,099. Kā būtiskāko atšķirību šo anhidrosaharīdu spektros var minēt jonu ar m/z vērtību 221,012, kas raksturīgs tikai levoglīkozānam, bet ne tā furanozes formas izomēram. Attiecīgi tika sastādīta tandēma masspektrometrijas programma SRM režīmā detektējot jonu ar m/z 161 un 221 veidošanos.

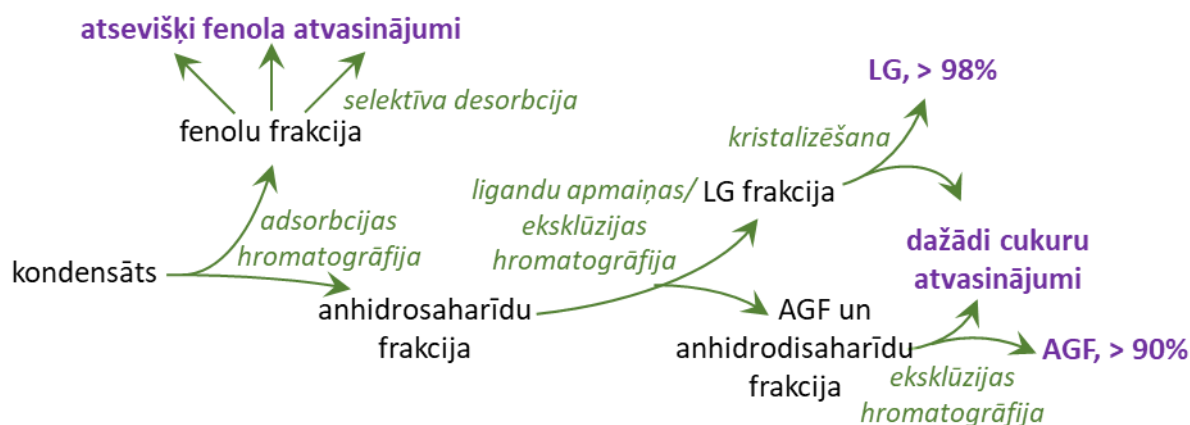


3.37. att. Anhidrosaharīdu frakciju UHPLC-TOF/MS hromatogrammas, kā arī levoglīkozāna (LG) un 1,6-anhidro- β -D-glikofuranozes (AGF) TOF/MS spektri: ESI- MS BPI; atdalīšana ar Amīdu kolonnu gradienta apstākļos

3.38. attēlā redzams, ka levoglīkozānu saturošajā frakcijā ar MS SRM metodi tika atrasts savienojums ar $t_R = 2,5$ min, bet AGF saturošajā frakcijā šajā laikā josla nav detektēta, tātad ir iespējams selektīvi noteikt levoglīkozānu AGF klātbūtnē, pat ja šos izomērus nevar atdalīt ar hidrofilās mijiedarbības UHPLC kolonnām. Tomēr kvantitatīvu levoglīkozāna noteikšanu traucē SRM detektēšanas metodes zemā jutība, kā arī levoglīkozāna joslas forma – plata, sašķelta josla. Jāpiebilst, ka joslas sašķelšana notika tieši detektēšanas ietvaros, jo, izvēloties citas m/z vērtības, piemēram, 323, levoglīkozāna josla netika sašķelta un bija simetriska. Joslas, kas iegūta detektējot jonu ar m/z vērtību 221, sašķelšanos iespējams skaidrot ar to, ka, veidojoties aduktam, tiek sašķelts 1,6-anhidro tiltiņš, un kļūst iespējama α - un β -formu izomerizācija C1 pozīcijā kā jebkuram reducējošam cukuram.



3.38. att. Anhidrosaharīdu frakciju UHPLC-TOF/MS hromatogrammas: ESI- SRM (m/z 161 un 221) BPI; atdalīšana ar Amīdu kolonnu gradienta apstākļos



3.39. att. **Kompleksas pirolīzes kondensātu frakcionēšanas shēma**

Kopumā var sastādīt kompleksas pirolīzes kondensātu frakcionēšanas shēmu (3.39. att.), kas kā pirmo ietver kondensāta sadalīšanu ar adsorbcijas hromatogrāfiju, izmantojot anjonu apmaiņas sveķus OH⁻ formā, kā rezultātā šķīduma veidā tiek iegūta anhidrosaharīdu frakcija, bet uz sveķiem adsorbētā veidā paliek fenolu frakcija, ko tālāk, veicot selektīvu desorbciju ar dažādiem šķīdinātājiem, varētu sadalīt atsevišķās fenola atvasinājumu frakcijās, balstoties uz to funkcionālajām grupām, piemēram, atsevišķi izdalot fenolkarboksilskābes (vanilīnskābi, siringilskābi), kuru potenciālais pielietojums medicīnā aprakstīts jaunākajā literatūrā [203, 204]. Savukārt, anhidrosaharīdu frakciju tālāk var sadalīt pēc kombinētā ligandu apmaiņas/eksklūzijas mehānisma, ko nodrošina katjonu apmaiņas sveķi Ca²⁺ formā un kā rezultātā tiek savākta levoglīkozāna frakcija, ko pārkristalizējot iegūst levoglīkozānu ar tīrību virs 98 %. Pēc kristalizēšanas atslānī paliek dažādi cukuru atvasinājumi un citi piemaisījumi zemās koncentrācijās. Frakcija, kas paliek pēc levoglīkozāna atdalīšanas ar katjonu apmaiņas sveķu kolonnu, satur AGF un citus anhidrosaharīdus, ko varētu sadalīt, piemēklējot atbilstošu eksklūzijas hromatogrāfijas sorbentu, lai pēc molekulu izmēru atšķirībām atdalītu AGF no oligomēriem. Var prognozēt, ka šādā veidā tiks iegūta AGF ar tīrību virs 90 %, bet atlikušos blakusproduktus var apvienot ar atslāni, kas palicis pēc levoglīkozāna kristalizēšanas, un šo cukuru atvasinājumu maisījumu hidrolizēt, lai iegūtu glikozi, kas ir pieprasīta izejviela biomasas izcelsmes pienskābes [205] un bioetanolā [206] ražošanā. Tādā veidā arī pirolīzes kondensātu sadalīšanā tiek ievērots biorafinēšanas princips, no viena izejmateriāla iegūstot pēc iespējas vairāk izmantojamu produktu.

SECINĀJUMI

1. Levoglīkozāna noteikšanu ar UHPLC hidrofilās mijiedarbības kolonnām atsevišķās paraugu grupās traucē levoglīkozāna izomēra 1,6-anhidro-β-D-glikofuranozes klātbūtne, ko iespējams novērst, detektēšanai izmantojot tandēma masspektrometriju specifiskā SRM režīmā. Rutīnas analīzēm piemērotākā levoglīkozāna noteikšanas metode ir HPLC ar ligandu apmaiņas kolonnu, kas nodrošina levoglīkozāna un tā izomēra atdalīšanu.

2. Fenolu un furānu vienlaicīgai noteikšanai pirolīzes kondensātos izmantojama viena un tā pati apgrieztās fāzes UHPLC metode. Lielā savienojumu skaita dēļ tos visus nav iespējams pietiekami atdalīt un selektīvi noteikt ar UV detektēšanu, bet ir iespējams tos noteikt kā atsevišķas grupas. Starp individuāli noteiktajiem savienojumiem augstākā koncentrācija bija 5-hidroksimetilfurfurolam, furfurolam, vanilīnam un siringaldehīdam.

3. Izpētes posmā (laboratorijas apstākļos vai pilotiekārtās) pirolīzes produktu sastāva raksturošanai vēlams izmantot pēc iespējas specifiskākas analītiskās metodes, t.i., šķidrums hromatogrāfiju apvienojumā ar masspektrometriju, bet rutīnas analīzēm rūpniecībā, lai vispārīgi monitorētu pirolīzes produktu kvalitāti, var izmantot vienkāršākās un lētākās ķīmiskās metodes – jodometrisko titrēšanu anhidrosaharīdu noteikšanai un Folina-Čikalto metodi fenolu noteikšanai, kas ļauj savstarpēji salīdzināt viena tipa paraugus.

4. Pētītajos pirolīzes kondensātos galvenokārt atrodami savienojumi ar molmasu 200-500 g·mol⁻¹, t.sk., fenilglikozīdi un anhidrosaharīdu dimēri, kā arī mazmolekulāri savienojumi ar molmasu < 200 g·mol⁻¹, galvenokārt anhidrosaharīdu monomēri, fenoli un furāni.

5. Pirolīzes kondensātu uzglabāšanas laikā neveidojas būtiski levoglīkozāna zudumi, bet ir novērojamas kondensātu novecošanās pazīmes – samazinās kopējais furānu un fenolu saturs un veidojas nogulsnes.

6. Pirolīzes produktu sadalīšana ar kolonnas hromatogrāfiju iespējama, izmantojot dažādus sorbentus. Neitrālo un anjonu apmaiņas sveķu gadījumā adsorbcijas mehānisms nodrošina fenolu uzkrāšanos kolonnā, kamēr ūdens frakcijā izdalās cukuru atvasinājumi. Visefektīvākā fenolu adsorbcija notiek, izmantojot anjonu apmaiņas sveķus OH⁻ formā, parādot pretjona lomu fenolu atdalīšanā. Savukārt, izmantojot katjonu apmaiņas sveķus, eksklūzijas un ligandu apmaiņas mehānismu dēļ no kolonnas secīgi izdalās divas frakcijas, no kurām pirmajā atrodami fenoli, kā arī lielmolekulārie savienojumi un tādi cukuru atvasinājumi kā 1,6-anhidro-β-D-glikofuranoze un anhidrodisaharīdi, bet otrajā – galvenokārt levoglīkozāns.

7. Darba rezultātā levoglīkozāna rūpnieciskai izdalīšanai no koksnes ātrās pirolīzes produktiem tiek piedāvāta preparatīvās hromatogrāfijas metode, izmantojot anjonu apmaiņas sveķus OH⁻ formā. Ar šo metodi iegūst ~ 90 % tīru levoglīkozāna frakciju ar vairāk nekā 70 %

augstu iznākumu. Veikta preparatīvās frakcionēšanas metodes pārnese no atvērtās kolonnas sistēmas uz jauno Latvijā izstrādāto automatisko preparatīvās cietfāzes ekstrakcijas iekārtu „Sorbomate” (Faneks, Latvija), bet tālāks apstiprinājums iespējai metodi mērogot iegūts *Bio Base Europe Pilot Plant* (Beļģija) demonstrējumos, ko *SuperBIO* projekta ietvaros organizēja uzņēmums *Nova Pangaea Technologies Ltd* (Lielbritānija).

8. Kombinējot dažādas metodes, ir sastādīta kompleksa pirolīzes produktu frakcionēšanas shēma, kas atbilstoši biorafinēšanas principiem ļauj no kondensātiem izdalīt vairākus vērtīgus savienojumus un savienojumu grupas.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Brizga, J. *Attīstība, ilgtspējība un Latvija*. PROVIDUS Domnīca, 2002
2. Papari, S.; Hawboldt, K. A review on the pyrolysis of woody biomass to bio-oil: Focus on kinetic models. *Renew Sust Energ Rev*, **2015**, 52, 1580-1595
3. Bridgwater, A.V.; Czernik, S.; Piskorz J. The status of biomass fast pyrolysis. *Fast Pyrolysis of Biomass: A Handbook* (Bridgwater, A.V.). CPL Press, 2002, 1-22
4. *Wind Energy: A Vision for Europe in 2030*. TPWind Advisory Council, 2006
5. *Global Market Outlook for Solar Power/2015-2019*. Solar Power Europe, 2015
6. *Joint European Biorefinery Vision for 2030*. Star-COLIBRI, 2011
7. Ed de Jong, A.H.; Walsh, P.; Wellisch, M. *Bio-Based Chemicals. Value Added Products from Biorefineries*. IEA Bioenergy Task 42, Biorefinery, 2012
8. Sadhukhan, J.; Martinez-Hernandez, E.; Murphy, R.J.; Ng Denny, K.S.; Hassim, M.H.; Ng Siew, K.; Yoke Kin, W.; Jaye, I.F.; Leung Pah Hang, M.Y.; Andiappan, V. Role of bioenergy, biorefinery and bioeconomy in sustainable development: Strategic pathways for Malaysia. *Renew Sust Energ Rev*, **2018**, 81, 1966-1987
9. Pighinelli, A.L.M.T.; Schaffer, M.A.; Boateng, A.A. Utilization of eucalyptus for electricity production in Brazil via fast pyrolysis: A techno-economic analysis. *Renewable Energy*, **2018**, 119, 590-597
10. *Betula pendula*. Tiešsaistē (10.09.2018.): <http://www.euforgen.org/species/betula-pendula/>
11. Koptelova, E.N.; Kutakova, N.A.; Tretyakov, S.I.; Isolation of the extractives and betulin from birch bark exposed to a microwave field. *Russ J Bioorg Chem+*, **2014**, 40, 791-795
12. Šiman, P.; Filipova, A.; Ticha, A.; Niang, M.; Bezrouk, A.; Haveleš, R. Effective method of purification of betulin from birch bark: The importance of its purity for scientific and medicinal use. *PLoS ONE*, **2016**, 11, e0154933
13. Rižikovs, J.; Zandersons, J.; Pāže, A.; Tardenaka, A.; Spince, B. Isolation of suberinic acids from extracted outer birch bark depending on the application purposes. *Baltic For*, **2014**, 20, 98-105
14. Xing, R.; Qi, W.; Huber, G.W. Production of furfural and carboxylic acids from waste aqueous hemicellulose solutions from pulp and paper and cellulosic ethanol industries. *Energ Environ Sci*, **2011**, 4, 791-795
15. Zhurins, A.; Dobeles, G.; Rizhikovs, J.; Zandersons, J.; Grigus, K. Effect of pre-treatment conditions on the analytical pyrolysis products from birch wood lignocellulose. *J Anal Appl Pyrol*, **2013**, 103, 227-231

16. Dobele, G. Production, properties and use of wood pyrolysis oil – a brief review of the work carried out at research and production centres of the former USSR from 1960 to 1990. *Fast Pyrolysis of Biomass: A Handbook* (Bridgwater, A.V.). CPL Press, 2002, 147-204
17. Li, Q.; Steele, P.H.; Yu, F.; Mitchell, B.; Hassan, E.M. Pyrolytic spray increases levoglucosan production during fast pyrolysis. *J Anal Appl Pyrol*, **2013**, *100*, 33-40
18. Zurins, A.; Zandersons, J.; Spince, B. Producing levoglucosan from deciduous tree wood. *Substantiation of deciduous trees cultivation and rational utilisation, new products and technologies. State research programme 2005 – 2009*. LSIWC, 2009, 160-164
19. Zaķis, G. *Koksnes ķīmijas pamati*. LVKĶI, 2008, 199
20. Ruel, K.; Nishiyama, Y.; Joseleau, J.P. Crystalline and amorphous cellulose in the secondary walls of Arabidopsis. *Plant Sci*, **2012**, *193-194*, 48-61.
21. Patwardhan, P.R.; Dalluge, D.L; Shanks, B.H.; Brown, R.C. Distinguishing primary and secondary reactions of cellulose pyrolysis. *Bioresource Technol*, **2011**, *102*, 5265-5269
22. Varhegyi, G.E.; Jakab, E.; Jr, M.J.A. Is the Broido-Shafizadeh Model for Cellulose Pyrolysis True? *Energy Fuels*, **1994**, *8*, 1345-1352
23. Wild, P.d. *Biomass Pyrolysis for Chemicals*. Rijksuniversiteit, 2011, 173
24. Shen, D.K.; Gu, S. The mechanism for thermal decomposition of cellulose and its main products. *Bioresource Technol*, **2009**, *100*, 6496-6504
25. Zhu, X.F.; Lu, Q. Production of Chemicals from Selective Fast Pyrolysis of Biomass. *Biomass* (Momba, M.N.B.), Sciyo, 2010, 202
26. Zhang, X.; Yang, W.; Dong, C. Levoglucosan formation mechanisms during cellulose pyrolysis. *J Anal Appl Pyrol*, **2013**, *104*, 19-27
27. Patwardhan, P.R.; Satrio, J.A.; Brown, R.C.; Shanks, B.H. Product distribution from fast pyrolysis of glucose-based carbohydrates. *J Anal Appl Pyrol*, **2009**, *86*, 323-330
28. Oyebanji, J.A.; Okekunle, P.O.; Lasode, O.A., Oyedepo, S.O. Chemical composition of bio-oils produced by fast pyrolysis of two energy biomass. *Biofuels*, **2017**, *1*, 1-9
29. Muley, P.D.; Henkel, C.; Abdollahi, K.K.; Marculescu, C.; Boldor, D. A critical comparison of pyrolysis of cellulose, lignin, and pine sawdust using an induction heating reactor. *Energ Convers Manage*, **2016**, *117*, 273-280
30. Cai, J.; He, Y.; Yu, W.; Banks, S.W.; Yang, Y.; Zhang, X.; Yu, Y.; Liu, R.; Bridgwater, A.V. Review of physicochemical properties and analytical characterization of lignocellulosic biomass. *Renew Sust Energ Rev*, **2017**, *76*, 309-322
31. Diebold, J.P. A review of the chemical and physical mechanisms of the storage stability of fast pyrolysis bio-oils. *Fast Pyrolysis of Biomass: A Handbook* (Bridgwater, A.V.). CPL Press, 2002, 243-292

32. Rover, M.R. *Analysis of sugars and phenolic compounds in bio-oil*. Iowa State University, 2013, 134
33. *Levoglucosan. Chemical and Physical Properties*. Tiešsaistē (11.09.2018.): <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/79029#section=Information-Sources>
34. Luque, L.; Westerhof, R.; Rossum, G.v.; Oudenhoven, S.; Kersten, S.; Berruti, F.; Rehmann, L. Pyrolysis based bio-refinery for the production of bioethanol from demineralized ligno-cellulosic biomass. *Bioresource Technol*, **2014**, *161*, 20-28
35. Dai, J.; Yu, Z.; He, Y.; Zhang, L.; Bai, Z.; Dong, Z.; Du, Y.; Zhang, H. Cloning of a novel levoglucosan kinase gene from *Lipomyces starkeyi* and its expression in *Escherichia coli*. *World J Microb Biot*, **2009**, *25*, 1589-1595
36. Chen, L.; Zhao, J.; Pradhan, S.; Brinson, B.E.; Scuseria, G.E.; Zhang, Z.C.; Wong, M.S. Ring-locking enables selective anhydrosugar synthesis from carbohydrate pyrolysis. *Green Chem*, **2016**, *18*, 5438-5447
37. Sviridov, A.F.; Borodkin, V.S.; Ermolenko, M.S.; Yashunsky, D.V.; Kochetkov, N.K. Stereocontrolled synthesis of erythronolides A and B in a (C5-C9) + (C3-C4) + (C1-C2) + (C11-C13) sequence from 1,6-anhydro- β -D-glycopyranose (levoglucosan). Part 1. Synthesis of C1-C10 and C11-C13 segments. *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 2291-2316
38. Yin, W.; Tang, Z.; Venderbosch, R.H.; Zhang, Z.; Cannilla, C.; Bonura, G.; Frusteri, F.; Heeres, H.J. A One-Step Synthesis of C6 Sugar Alcohols from Levoglucosan and Disaccharides Using a Ru/CMK-3 Catalyst. *ACS Catalysis*, **2016**, *6*, 4411-4422
39. Kobayashi, Y.; Horie, Y.; Honjo, K.; Uemura, T.; Kitagawa, S. The controlled synthesis of polyglucose in one-dimensional coordination nanochannels. *Chem Commun*, **2016**, *52*, 5156-5159
40. Salamone, S.; Clement, L.L.; Viuff, A.H.; Andersen, O.J.; Jensen, F.; Jensen, H.H. Synthesis and evaluation of galacto-noeurostegine and its 2-deoxy analogue as glycosidase inhibitors. *Organic and Biomolecular Chemistry*, **2015**, *13*, 7979-7992
41. Ermolenko, M.S. Convenient and Efficient Synthesis of 2,4-Dideoxy-levoglucosan. *Synthetic Commun*, **2013**, *43*, 2841-2845
42. Lian, J.; McKenna, R.; Rover, M.R.; Nielsen, D.R.; Wen, Z.; Jarboe, L.R. Production of biorenewable styrene: utilization of biomass-derived sugars and insights into toxicity. *J Ind Microbiol Biot*, **2016**, *43*, 595-604
43. Santhanaraj, D.; Rover, M.R.; Resasco, D.E.; Brown, R.C.; Crossley, S. Gluconic acid from biomass fast pyrolysis oils: Specialty chemicals from the thermochemical conversion of biomass. *Chem Sus Chem*, **2014**, *7*, 3132-3137

44. Radlein, D. Study of levoglucosan production – a review. *Fast Pyrolysis of Biomass: A Handbook* (Bridgwater, A.V.). CPL Press, 2002, 205-242
45. Werpy, T.; Petersen, G. *Top Value Added Chemicals from Biomass. Volume I—Results of Screening for Potential Candidates from Sugars and Synthesis Gas*. US Department of Energy, 2004
46. *Chemical engineers explore market for pure levoglucosan*. Tiešsaistē (11.09.2018.): <https://phys.org/news/2016-08-chemical-explore-pure-levoglucosan.html>
47. Fonts, I.; Navarro-Puyuelo, A.; Ruiz-Gomes, N.; Atienza-Martines, M.; Wisniewsky, A.; Gea, G. Assessment of the Production of Value-Added Chemical Compounds from Sewage Sludge Pyrolysis Liquids. *Energy Technol*, **2016**, 5, 151-171
48. Oasmaa, A.; Meier, D. Pyrolysis liquids analyses. The results of IEA_EU round robin. *Fast Pyrolysis of Biomass: A Handbook* (Bridgwater, A.V.). CPL Press, 2002, 41-58
49. Rover, M.R.; Johnston, P.A.; Jin, T.; Smith, R.G.; Brown, R.C.; Jarboe, L. Production of clean pyrolytic sugars for fermentation. *Chem Sus Chem*, **2014**, 7, 1662-1668
50. Hu, X.; Mourant, D.; Gunawan, R.; Wu, L.; Wang, J.; Lievens, C.; Li, C.Z. Production of value-added chemicals from bio-oil via acid catalysis coupled with liquid-liquid extraction. *RSC Advances*, **2012**, 2, 9366-9370
51. Wang, J.; Cui, H.; Wei, S.; Zhuo, S.; Wang, L.; Li, Z.; Yi, W. Separation of Biomass Pyrolysis Oil by Supercritical CO₂ Extraction. *Smart Grid and Renewable Energy*, **2010**, 1, 98-107
52. Naik, S.; Goud, V.V.; Rout, P.K.; Dalai, A.K. Supercritical CO₂ fractionation of bio-oil produced from wheat-hemlock biomass. *Bioresource Technol*, **2010**, 101, 7605-7613
53. Korol'kovs, N.; Mihailovs, J. *Masas apmaiņa šķidrumsorbciijā*. Zvaigzne, 1975, 250
54. Eith, C.; Kolb, M.; Seubert, A. *Practical Ion Chromatography: An Introduction*. Metrohm Ltd., 2001, 73
55. Tiihonen, J. *Influence of Stationary Phase and Eluent Properties on Chromatographic Separation of Carbohydrates*. Acta Universitatis Lappeenrantaensis, 2002
56. Dardel, F.d. *Ion Exchange Resin Types*. Tiešsaistē (11.09.2018.): http://dardel.info/IX/resin_types.html
57. Grant, R.A. A New Ion Exchange Process for Removing Colour Bodies and Colloidal Impurities from Cane Sugar. *Proceedings of the 34th Annual Congress of the South African Sugar Technologists' Association*, **1960**, 74-77
58. Kochergin, V.; Jacob, W.; Kearney, M.; Bornak, W. Ion exchange decolorization - possibility of resin rejuvenation. *ASSBT Proceedings*, **2007**

59. Shaik, S.M.; Sharratt, P.N.; Tan, R.B.H. Influence of selected mineral acids and alkalis on cellulose pyrolysis pathways and anhydrosaccharide formation. *J Anal Appl Pyrol*, **2013**, *104*, 234-242
60. Yu, Q.; Xu, C.; Zhuang, X.; Yuan, Z.; He, M.; Zhou, G. Xylo-oligosaccharides and ethanol production from liquid hot water hydrolysate of sugarcane bagasse. *Bioresources*, **2015**, *10*, 30-40
61. Yu, S.J.; Zhang, X.L.; Long, W.; Yang, Y.J.; Regeneration-promoting mechanism of decalcification resins in sugar industry using alcohol-soluble pigments. *Modern Food Science and Technology*, **2016**, *32*, 59-65
62. Lima, R.B.; Aguiar, C.L.d.; Galaverna, R.; Baptista, A.S.; Eberlin, M.N.; Arthur, V. Sucrose and color profiles in sugarcane (*Saccharum* sp.) juice analyzed by UFLC-ELSD and Synapt High-Definition Mass Spectrometry during radiation treatment. *Radiat Phys Chem*, **2016**, *121*, 99-105
63. Marton, G.; Herseczki, Z.; Marion, Z.; Vigh, S. Preparation of green anion exchangers with low lignin content from agricultural wastes for the decolourisation of sugar processing solutions. *CHISA 2006 - 17th International Congress of Chemical and Process Engineering*, **2006**
64. Davis, S.B. The Chemistry of Colour Removal: a Processing Perspective. *Proc S Afr Sug Technol Ass*, **2001**, *75*, 328-336
65. Bazri, M.M.; Mohseni, M. Impact of natural organic matter properties on the kinetics of suspended ion exchange process. *Water Res*, **2016**, *91*, 147-155
66. Vender, M. The role of composition of liquor ash and the ionic form of the resin in decolourization of refinery sirups. *Proc Cane Sug Refining Res*, **1977**, 131-142
67. Rocha, S.M.B.L., *Process for regeneration of ion-exchange resins used for sugar decolorization*. 2001, Google Patents: Spain, EP19950941248
68. Caderby, E.; Baumberger, S.; Hoareau, W.; Fargues, C.; Decloux, M.; Maillard, M.N. Sugar cane stillage: A potential source of natural antioxidants. *J Agr Food Chem*, **2013**, *61*, 11494-11501
69. Wang, X.; Zhuang, J.; Jiang, J.; Fu, Y.; Qin, M.; Wang, Z. Separation and purification of hemicellulose-derived saccharides from wood hydrolysate by combined process. *Bioresource Technol*, **2015**, *196*, 426-430
70. Chen, K.; Hao, S.; Lyu, H.; Luo, G.; Zhang, S.; Chen, J. Ion exchange separation for recovery of monosaccharides, organic acids and phenolic compounds from hydrolysates of lignocellulosic biomass. *Sep Purif Technol*, **2017**, *172*, 100-106

71. Nobre, C.; Suvarov, P.; Weireld, G.d. Evaluation of commercial resins for fructo-oligosaccharide separation. *New Biotechnol*, **2014**, *31*, 55-63
72. Ijzer, A.C.; Vrizelkolk, E.; Rolevink, E.; Nijmeijer, K. Performance analysis of aromatic adsorptive resins for the effective removal of furan derivatives from glucose. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **2015**, *90*, 101-109
73. Saari, P. *Industrial Scale Chromatographic Separation of Valuable Compounds from Biomass Hydrolysates and Side Streams*. Aalto University, 2011, 64
74. Tiihonen, J.; Markkanen, I.; Paatero, E. Complex stability of sugars and sugar alcohols with Na⁺, Ca²⁺, and La³⁺ in chromatographic separations using poly(styrene-co-divinylbenzene) resins and aqueous organic eluents. *Chem Eng Commun*, **2002**, *189*, 995-1008
75. *Explanation on Ligand Exchange Mode*. Tiešsaistē (11.09.2018.): <https://www.shodex.com/en/dc/03/0104.html#!>
76. Vente, J.A.; Bosch, H.; Haan, A.B.d.; Bussmann, P.J.T. Comparison of sorption isotherms of mono- and disaccharides relevant to oligosaccharide separations for Na, K, and Ca loaded cation exchange resins. *Chem Eng Commun*, **2005**, *192*, 23-33
77. Stanford, J.P.; Hall, P.H.; Rover, M.R.; Smith, R.G.; Brown, R.C. Separation of sugars and phenolics from the heavy fraction of bio-oil using polymeric resin adsorbents. *Sep Purif Technol*, **2018**, *194*, 170-180
78. Oasmaa, A.; Meier, D. Analysis, characterization and test methods of fast pyrolysis liquids. *Fast Pyrolysis of Biomass: A Handbook* (Bridgwater, A.V.). CPL Press, 2002, 23-35
79. Shi, X.; Wang, J. A comparative investigation into the formation behaviors of char, liquids and gases during pyrolysis of pinewood and lignocellulosic components. *Bioresource Technol*, **2014**, *170*, 262-269
80. Ferrell, J.; Olarte, M.V.; Padmaperuma, A. *DOE BETO 2015 Project Peer Review: Conversion R&D Development and Standardization of Techniques for Bio-oil Characterization*. NREL, PNNL, 2015
81. Ferrell, J.R.; Olarte, M.V.; Christensen, E.D.; Padmaperuma, A.B.; Connatser, R.M.; Stankovikj, F.; Meier, D.; Paasikallio, V.; Standardization of chemical analytical techniques for pyrolysis bio-oil: history, challenges, and current status of methods. *Biofuel Bioprod Bior*, **2016**, *10*, 496-507
82. Christensen, E.; Alleman, T.L.; McCormick, R.L. Total acid value titration of hydrotreated biomass fast pyrolysis oil: determination of carboxylic acids and phenolics with multiple end-point detection. *ACS National Meeting*, 2013

83. Sanchez-Rangel, J.C.; Benavides, J.; Heredia, J.B.; Cisneros-Zevallos, L.; Jacobo-Velazquez, D.A. The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Anal Methods*, **2013**, *5*, 5990-5999
84. Oasmaa, A.; Kuoppala, E. Solvent Fractionation Method with Brix for Rapid Characterization of Wood Fast Pyrolysis Liquids. *Energ Fuel*, **2008**, *22*, 4245-4248
85. Meier, D. Pyrolysis liquids analyses. Summary of the analytical methods available for chemical analysis of pyrolysis liquids. *Fast Pyrolysis of Biomass: A Handbook* (Bridgwater, A.V.). CPL Press, 2002, 59-67
86. Blakeney, A.B.; Harris, P.J.; Henry, R.J.; Stone, B.A. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr Res*, **1983**, *113*, 291-299
87. Almeida, H.N.; Calixto, G.Q.; Chagas, B.M.E.; Melo, D.M.A.; Resende, F.M.; Melo, M.A.F.; Braga, R.M. Characterization and pyrolysis of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis*: potential of bio-oil and chemical production by Py-GC/MS analysis. *Environ Sci Pollut R*, **2017**, *1*, 1-9
88. Suriapparao, D.V.; Vinu, R. Effects of Biomass Particle Size on Slow Pyrolysis Kinetics and Fast Pyrolysis Product Distribution. *Waste Biomass Valori*, **2017**, 1-13
89. Choi, Y.S.; Johnston, P.A.; Brown, R.C.; Shanks, B.H.; Lee, K.H. Detailed characterization of red oak-derived pyrolysis oil: Integrated use of GC, HPLC, IC, GPC and Karl-Fischer. *J Anal Appl Pyrol*, **2014**, *110*, 147-154
90. Matiseks, R.; Šnēpels, F.M. *Pārtikas analītiskā ķīmija*. Latvijas Univeristāte, 1998
91. Baskan, K.S.; Tutem, E.; Akyuz, E.; Ozen, S.; Apak, R. Spectrophotometric total reducing sugars assay based on cupric reduction. *Talanta*, **2016**, *147*, 162-168
92. Aimo, J.; Promancio, E.; Damiani, P.C. Determination of reducing sugars in foodstuff applying multivariate second-order calibration. *Anal Methods*, **2016**, *8*, 4617-4631
93. Ma, J.; Adler, L.; Srzednicki, G.; Arcot, J. Quantitative determination of non-starch polysaccharides in foods using Gas Chromatography with flame ionization detection. *Food Chem*, **2017**, *220*, 100-107
94. Lucia, D.d.; Manfredini, S.; Vertuani, S.; Bernardi, T. New insights into sugar characterization in complex plant matrices by high-performance thin-layer chromatography. *J Liq Chromatogr R T*, **2016**, *39*, 607-612
95. Navarro-Pascual-Ahuir, M.; Lerma-Garcia, M.J.; Simo-Alfonso, E.F.; Herrero-Martinez, J.M. Rapid differentiation of commercial juices and blends by using sugar profiles obtained by capillary zone electrophoresis with indirect UV detection. *J Agr Food Chem*, **2015**, *63*, 2639-2646

96. Liang, P.; Sun, M.; He, P.; Zhang, L.; Chen, G. Determination of carbohydrates in honey and milk by capillary electrophoresis in combination with graphene-cobalt microsphere hybrid paste electrodes. *Food Chem*, **2016**, *190*, 64-70
97. Zaky, A.S.; Pensupa, N.; Andrade-Eiroa, A.; Tucker, G.A.; Du, C. A new HPLC method for simultaneously measuring chloride, sugars, organic acids and alcohols in food samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, **2017**, *56*, 25-33
98. Ni, C.; Zhu, B.; Wang, N.; Wang, M.; Chen, S.; Zhang, J.; Zhu, Y. Simple column-switching ion chromatography method for determining eight monosaccharides and oligosaccharides in honeydew and nectar. *Food Chem*, **2016**, *194*, 555-560
99. Filip, M.; Vlassa, M.; Coman, V.; Halmagyi, A. Simultaneous determination of glucose, fructose, sucrose and sorbitol in the leaf and fruit peel of different apple cultivars by the HPLC-RI optimized method. *Food Chem*, **2016**, *199*, 653-659
100. Tessini, C.; Vega, M.; Muller, N.; Bustamante, L.; Baer, D.v.; Berg, A.; Mardones, C. High performance thin layer chromatography determination of cellobiosan and levoglucosan in bio-oil obtained by fast pyrolysis of sawdust. *J Chromatogr A*, 2011, 1218, 3811-3815
101. Roux, E.I.; Diouf, P.N.; Stevanovic, T. Analytical pyrolysis of hot water pretreated forest biomass. *J Anal Appl Pyrol*, **2015**, *111*, 121-131
102. Liu, Q.; Wang, S.R.; Wang, K.G.; Guo, X.J.; Luo, Z.Y.; Cen, K.F. Mechanism of formation and consequent evolution of active cellulose during cellulose pyrolysis. *Wuli Huaxue Xuebao/ Acta Physico - Chimica Sinica*, **2008**, *24*, 1957-1963
103. Radlein, D.; Grinshpun, A.; Piskorz, J.; Scott, D.S. On the presence of anhydro-oligosaccharides in the sirups from the fast pyrolysis of cellulose. *J Anal Appl Pyrol*, **1987**, *12*, 39-49
104. Rover, M.R.; Johnston, P.A.; Lamsal, B.P.; Brown, R.C. Total water-soluble sugars quantification in bio-oil using the phenol-sulfuric acid assay. *J Anal Appl Pyrol*, **2013**, *104*, 194-201
105. Hosoya, T.; Kawamoto, H.; Saka, S. Oxime-trimethylsilylation method for analysis of wood pyrolysate. *J Anal Appl Pyrol*, **2006**, *77*, 121-126
106. Hurt, M.R.; Degenstein, J.C.; Gawecki, P.; Borton, D.J.; Vinueza, N.R., Yang, L.; Agrawal, R.; Delgass, W.N.; Ribeiro, F.H.; Kenttamaa, H.I. On-line mass spectrometric methods for the determination of the primary products of fast pyrolysis of carbohydrates and for their gas-phase manipulation. *Anal Chem*, **2013**, *85*, 10927-10934

107. Tessini, C.; Romero, R.; Escobar, M.; Gordon, A.; Flores, M. Development of an analytical method for the main organic compounds derived from thermochemical conversion of biomass. *J Chil Chem Soc*, **2016**, *61*, 2837-2842
108. Johnston, P.A., Brown, R.C. Quantitation of sugar content in pyrolysis liquids after acid hydrolysis using high-performance liquid chromatography without neutralization. *J Agr Food Chem*, **2014**, *62*, 8129-8133
109. Yu, Y.; Chua, Y.W.; Wu, H. Characterization of Pyrolytic Sugars in Bio-Oil Produced from Biomass Fast Pyrolysis. *Energ Fuel*, **2016**, *30*, 4145-4149
110. Zakaria, P.; Hutchinson, J.P.; Avdalovic, N.; Liu, Y.; Haddad, P.R. Latex-coated polymeric monolithic ion-exchange stationary phases. 2. Micro-ion chromatography. *Anal Chem*, **2005**, *77*, 417-423
111. Poinso, V.; Carpenne, M.A.; Couderc, F. Coupled Mass Spectrometric Strategies for the Determination of Carbohydrates at Very Low Concentrations: The Case of Polysaccharides Involved in the Molecular Dialogue Between Plants and Rhizobia. *The Complex World of Polysaccharides* (D.N. Karunaratne), IntechOpen, 2012
112. Rambo, M.K.D.; Schmidt, F.L.; Ferreira, M.M.C. Analysis of the lignocellulosic components of biomass residues for biorefinery opportunities. *Talanta*, **2015**, *144*, 696-703
113. Monti, L.; Negri, S.; Meucci, A.; Stroppa, A.; Galli, A.; Contarini G. Lactose, galactose and glucose determination in naturally “lactose free” hard cheese: HPAEC-PAD method validation. *Food Chem*, **2017**, *220*, 18-24
114. Bank, S.; Kapkova, P. Liquid Chromatography – Mass Spectrometry of Carbohydrates Derivatized with Biotinamidocaproyl Hydrazide. *Carbohydrates - Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology* (Chang, C.F.), InTech, 2012
115. Corradini, C.; Canali, G.; Galanti, R.; Nicoletti, I. Determination of alditols and carbohydrates of food interest using a sulfonated monodisperse resin-based column, coupled with pulsed amperometric detection (PAD) and postcolumn pH adjustment. *J Liq Chromatogr R T*, **2001**, *24*, 1073-1088
116. Ball, S.; Bullock, S.; Lloyd, L.; Mapp, K. Analysis of carbohydrates, alcohols, and organic acids by ion-exchange chromatography. *Agilent Hi-Plex Columns Applications Compendium*. Agilent Technologies, 2011
117. Brereton, K.R.; Green, D.B. Isolation of saccharides in dairy and soy products by solid-phase extraction coupled with analysis by ligand-exchange chromatography. *Talanta*, **2012**, *100*, 384-390

118. Fountain, K.J.; Hewitson, H.; Morrison, D. Method Transfer between HPLC and UPLC using ACQUITY UPLC H-Class and Method Transfer Kits. *The Application Notebook*, Waters Cooperation, 2010, 43
119. Jandera, P.; Janas, P. Recent advances in stationary phases and understanding of retention in hydrophilic interaction chromatography. A review. *Anal Chim Acta*, 2017, 967, 12-32
120. Lurie, I.S.; Li, L.; Toske, S.G. Hydrophilic interaction chromatography of seized drugs and related compounds with sub 2 μ m particle columns. *J Chromatogr A*, **2011**, 1218, 9336-9344
121. Hetrick, E.M.; Kramer, T.T.; Risley, D.S. Evaluation of a hydrophilic interaction liquid chromatography design space for sugars and sugar alcohols. *J Chromatogr A*, **2017**, 1489, 65-74
122. *Exceed Expectations. Acquity UPLC Columns*. Waters Corporation, 2015
123. McCabe, D.; Hudalla, C. *Overcoming Challenges in Carbohydrate Separations*. 2015
124. Brons, C.; Olieman, C. Study of the high-performance liquid chromatographic separation of reducing sugars, applied to the determination of lactose in milk. *J Chromatogr A*, **1983**, 259, 79-86
125. Mathon, C.; Barding, G.A.; Larive, C.K. Separation of ten phosphorylated mono- and disaccharides using HILIC and ion-pairing interactions. *Anal Chim Acta*, **2017**, 972, 102-110
126. Ghfar, A.A.; Wabaidur, S.M.; Ahmed, A.Y.B.; Alothman, Z.A.; Khan, M.R.; Al-Sharaan, N.H. Simultaneous determination of monosaccharides and oligosaccharides in dates using liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chem*, **2015**, 176, 487-492
127. Santos-Fandila, A.; Zafra-Gomez, A.; Vazques, E.; Navalon, A.; Rueda, R.; Ramirez, M. Ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of soluble milk glycans in rat serum. *Talanta*, **2014**, 118, 137-146
128. Layne, J. *Enhanced simple sugar retention and resolution using an innovative and robust HILIC phase*. LCGC Webcast, 2018
129. West, C.; Elfakir, C.; Lafosse, M. Porous graphitic carbon: A versatile stationary phase for liquid chromatography. *J Chromatogr A*, **2010**, 1217, 3201-3216
130. *Hypercarb™ HPLC Columns Technical Guide*. Thermo Electron Corporation
131. Antonio, C.; Pinheiro, C.; Chaves, M.M.; Ricardo, C.P.; Ortuno, M.F.; Thomas-Oates, J. Analysis of carbohydrates in *Lupinus albus* stems on imposition of water deficit, using

- porous graphitic carbon liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A*, **2008**, *1187*, 111-118
132. Melmer, M.; Stangler, T.; Premstaller, A.; Lindner, W. Comparison of hydrophilic-interaction, reversed-phase and porous graphitic carbon chromatography for glycan analysis. *J Chromatogr A*, **2011**, *1218*, 118-123
133. Rahman, N.A. Determination of Glucose and Fructose from Glucose Isomerization Process by High-Performance Liquid Chromatography with UV Detection. *Modern Applied Science*, **2008**, *2*, 151-154
134. You, J.; Sheng, X.; Ding, C.; Sun, Z.; Suo, Y.; Wang, H.; Li, Y. Detection of carbohydrates using new labeling reagent 1-(2-naphthyl)-3-methyl-5-pyrazolone by capillary zone electrophoresis with absorbance (UV). *Anal Chim Acta*, **2008**, *609*, 66-75
135. *The refractive index detector*. Tieššasitē (11.09.2018.): http://hplc.chem.shu.edu/NEW/HPLC_Book/Detectors/det_ri.html
136. Jakopic, J.; Zupan, A.; Schmitzer, V.; Stampar, F.; Veberic, R. Sugar and phenolics level dependent on the position of apple fruitlet in the cluster. *Sci Hortic*, **2016**, *201*, 362-369
137. Guimaraes, R.; Barros, L.; Carvalho, A.M.; Ferreira, I.C. Studies on chemical constituents and bioactivity of rosa micrantha: An Alternative antioxidants source for food, pharmaceutical, or cosmetic applications. *J Agr Food Chem*, **2010**, *58*, 6277-6284
138. Costa, M.P.d.; Silva Frasao, B.d.; Costa Lima, B.R.C.d.; Rodrigues, B.L.; Conte Junior, C.A. Simultaneous analysis of carbohydrates and organic acids by HPLC-DAD-RI for monitoring goat's milk yogurts fermentation. *Talanta*, **2016**, *152*, 162-170
139. Chavez-Servin, J.L.; Castellote, A.I.; Lopez-Sabater, M.C. Analysis of mono- and disaccharides in milk-based formulae by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. *J Chromatogr A*, **2004**, *1043*, 211-215
140. Hu, O.Y.; Hu, T.M.; Tang, H.S. Determination of galactose in human blood by high-performance liquid chromatography: Comparison with an enzymatic method and application to the pharmacokinetic study of galactose in patients with liver dysfunction. *J Pharm Sci*, 1995, *84*, 231-235
141. *2424 Evaporative Light Scattering Detector. Operator's Guide*. Waters Corporation, 2009
142. Eom, H.Y.; Park, S.Y.; Kim, M.K.; Suh, J.H.; Yeom, H.; Min, J.W.; Kim, U.; Lee, J.; Youm, J.R.; Han, S.B. Comparison between evaporative light scattering detection and charged aerosol detection for the analysis of saikosaponins. *J Chromatogr A*, **2010**, *1217*, 4347-4354

143. Shaodong, J.; Lee, W.J.; Ee, J.W.; Park, J.H.; Kwon, S.W.; Lee, J. Comparison of ultraviolet detection, evaporative light scattering detection and charged aerosol detection methods for liquid-chromatographic determination of anti-diabetic drugs. *J Pharmaceut Biomed*, 2010, 51, 973-978
144. Clement, A.; Ypng, D.; Brechet, C. Simultaneous identification of sugars by HPLC using evaporative light scattering detection (ELSD) and refractive index detection (RI). Application to plant tissues. *J Liq Chromatogr*, **1992**, 15, 805-817
145. Steinike, S.M. Comparison of refractive index detection (RID) to evaporative light scattering detection (ELSD) for analysis of sugars in presweetened cereals. *LC-GC North America*, **2003**, 21, 39
146. Vehovec, T.; Obreza, A. Review of operating principle and applications of the charged aerosol detector. *J Chromatogr A*, **2010**, 1217, 1549-1556
147. Inagaki, S.; Min, J.Z.; Toyooka, T. Direct detection method of oligosaccharides by high-performance liquid chromatography with charged aerosol detection. *Biomed Chromatogr*, **2007**, 21, 338-342
148. Jing, H.Y.; Shi, J.; Cui, N.; Jia, T.Z. Fingerprints of oligosaccharides in *Morinda officinalis* before and after processing by HPLC-CAD. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, **2014**, 45, 1412-1417
149. Dixon, R.V.; Baltzell, G.; Determination of levoglucosan in atmospheric aerosols using high performance liquid chromatography with aerosol charge detection. *J of Chromatogr A*, **2006**, 1109, 214-221
150. Chromacademy. *E-learning for the analytical chemistry community*. Tiešsaistē (11.09.2018.): www.chromacademy.com
151. Zaikin, V.G.; Halket, J.M. Derivatization in mass spectrometry - 8. Soft ionization mass spectrometry of small molecules. *Eur J Mass Spectrom*, 2006, 12, 79-115
152. Raessler, M. Sample preparation and current applications of liquid chromatography for the determination of non-structural carbohydrates in plants. *TrAC Trend Anal Chem*, **2011**, 30, 1833-1843
153. *Quantitative Analysis of Carbohydrates by LC-MS. Application News*. Shimadzu Corporation
154. Raina, R.; Etter, M.L. Liquid Chromatography with Post-Column Reagent Addition of Ammonia in Methanol Coupled to Negative Ion Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry for Determination of Phenoxyacid Herbicides and their Degradation Products in Surface Water. *Analytical Chemistry Insights*, **2010**, 5, 1-14
155. Fountain, K.J. *UPLC-MS Analysis of Carbohydrates*. Waters Corporation, 2009

156. Salman, M.; Abed-Hameed, E.S.; Bazaid, S.A.; Al-Shamrani, M.G.; Mohamed, H.F. Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) method for the determination of sugars in fresh pomegranate juices. *Der Pharma Chemica*, **2014**, *6*, 320-333
157. Ikegami, T.; Horie, K.; Saad, N.; Hosoya, K.; Fiehn, O.; Tanaka, N. Highly efficient analysis of underivatized carbohydrates using monolithic-silica-based capillary hydrophilic interaction (HILIC) HPLC. *Anal and Bioanal Chem*, **2008**, *391*, 2533-2542
158. Gabbanini, S.; Lucchi, E.; Guidugli, F.; Matera, R.; Valgimigli, L. Anomeric discrimination and rapid analysis of underivatized lactose, maltose, and sucrose in vegetable matrices by U-HPLC-ESI-MS/MS using porous graphitic carbon. *J Mass Spectrom*, **2010**, *45*, 1012-8
159. Trani, A.; Gambacorta, G.; Loizzo, P.; Cassone, A.; Fasciano, C.; Zambrini, A.V.; Faccia, M. Comparison of HPLC-RI, LC/MS-MS and enzymatic assays for the analysis of residual lactose in lactose-free milk. *Food Chem*, **2017**, *233*, 385-390
160. Molina-Calle, M.; Sanchez de Medina, V.; Delgado de la Torre, M.P.; Priego-Capote, F.; Luque de Castro, M.D. Development and application of a quantitative method based on LC-QqQ MS/MS for determination of steviol glycosides in Stevia leaves. *Talanta*, **2016**, *154*, 263-269
161. March, R.E.; Lewars, E.G.; Stadey, C.J.; Miao, X.S.; Zhao, X.; Metcalfe, C.D. A comparison of flavonoid glycosides by electrospray tandem mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom*, **2006**, *248*, 61-85
162. Zhou, J.; Qi, Y.; Ritho, J.; Zhang, Y.; Zheng, X.; Wu, L.; Li, Y.; Sun, L. Flavonoid glycosides as floral origin markers to discriminate of unifloral bee pollen by LC-MS/MS. *Food Control*, **2015**, *57*, 54-61
163. Schreuder, T.L.; Hopmans, E.C.; Stuut, J.B.W.; Sinninghe Damste, J.S.; Schouten, S. Transport and deposition of the fire biomarker levoglucosan across the tropical North Atlantic Ocean. *Geochim Cosmochim Acta*, **2018**, *227*, 171-185
164. Hopmans, E.C.; Santos, R.A.L.d.; Mets, A.; Sinninghe Damste, J.S.; Schouten, S. A novel method for the rapid analysis of levoglucosan in soils and sediments. *Org Geochem*, **2013**, *58*, 86-88
165. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Spince, B. Aspects of periodate oxidation of carbohydrates for the analysis of pyrolysis liquids. *J Carbohydr Chem*, **2014**, *33*, 105-116
166. *ICUMSA Color. Application Note No. 3.01 Sugar*. Kemtrak
167. *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. Validation and analytical procedures*. ICH-Q2B, 1996
168. *Chemspider*. Tiešsaistē (12.09.2018.): <http://www.chemspider.com>

169. Wang, J.Q.; Zheng, J.L.; Wang, J.T.; Lu, Z.M.; A separation and quantification method of levoglucosan in biomass pyrolysis. *Ind Crop Prod*, **2018**, *113*, 266-273
170. Kailemia, M.J.; Ruhaak, L.R.; Lebrilla, C.B.; Amster, I.J. Oligosaccharide Analysis by Mass Spectrometry: A Review of Recent Developments. *Fundamental and Applied Reviews in Analytical Chemistry*, **2014**, *86*, 196-212
171. *Acquity UPLC BEH Amide Columns. Application Notebook*. Waters Corporation
172. Ortner, F.; Wiemeyer, H.; Mazzotti, M. Interconversion and chromatographic separation of carbohydrate stereoisomers on polystyrene-divinylbenzene resins. *J Chromatogr A*, **2017**, *1517*, 54-65
173. *Evaluation of Animal Feeds: Carbohydrate Analysis on BEH Amide Prototypes*. Waters Corporation, 2010
174. Wilde, P.d.; Reith, H.; Heeres, E. Biomass pyrolysis for chemicals. *Biofuels*, **2011**, *2*, 185-208
175. Kolniak-Ostek, J.; Oszmianski. Characterization of phenolic compounds in different anatomical pear (*Pyrus communis* L.) parts by ultra-performance liquid chromatography photodiode detector-quadrupole/time of flight-mass spectrometry (UPLC-PDA-Q/TOF-MS). *Int J Mass Spectrom*, **2015**, *392*, 154-163
176. Wu, J.; Fang, X.; Yuan, Y.; Dong, Y.; Liang, Y.; Xie, Q.; Ban, J.; Chen, Y.; Lu, Z. UPLC/Q-TOF-MS profiling of phenolics from *Canarium pimela* leaves and its vasorelaxant and antioxidant activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **2017**, *27*, 716-723.
177. Serra-Cayuela, A.; Castellari, M; Bosch-Fuste, J.; Riu-Aumatell, M.; Buxaderas, S. Lopez-Tamames, E. Identification of 5-hydroxymethyl-2-furfural (5-HMF) in Cava sparkling wines by LC-DAD-MS/MS and NMR spectrometry. *Food Chem*, **2013**, *141*, 3373-3380
178. *Reversed Phase Chromatography*. Crawford Scientific
179. Sagehashi, M.; Miyasaka, N.; Shishido, H.; Sakoda, A. Superheated steam pyrolysis of biomass elemental components and Sugi (Japanese cedar) for fuels and chemicals. *Bioresource Technol*, **2006**, *97*, 1272-1283
180. Linger, J.G.; Hobdey, S.E.; Franden, M.A.; Fulk, E.M.; Beckham, G.T. Conversion of levoglucosan and cellobiosan by *Pseudomonas putida* KT2440. *Metabolic Engineering Communications*, **2016**, *3*, 24-29
181. Hoekstra, E.; Kersten, S.R.A.; Tudos, A.; Dietrich, M.; Hogendoorn, K.J.A. Possibilities and pitfalls in analyzing (upgraded) pyrolysis oil by size exclusion chromatography (SEC). *J Anal and Appl Pyrol*, **2011**, *91*, 76-88

182. Araujo, A.S.; Rocha, L.L.d.; Tomazela, D.M.; Sawaya, A.C.; Almeida, R.R.; Catharino, R.R.; Eberlin, M.N. Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of beer. *Analyst*, **2005**, *130*, 884-9
183. Konda, C. *Structural Analysis of Carbohydrates by Mass Spectrometry*. Purdue University, 2013
184. Garozzo, D.; Impallomeni, G.; Spina, E.; Green, B.N.; Hutton, T. Linkage analysis in disaccharides by electrospray mass spectrometry. *Carbohydr Res*, **1991**, *221*, 253-257
185. NIST Chemistry WebBook, SRD 69. Tiešsaistē (12.09.2018.): <https://webbook.nist.gov/chemistry/mw-ser/>
186. Saldanha, L.L.; Vilegas, W.; Dokkedal, A.L. Characterization of flavonoids and phenolic acids in *Myrcia bella* Cambess. using FIA-ESI-IT-MS(n) and HPLC-PAD-ESI-IT-MS combined with NMR. *Molecules*, **2013**, *18*, 8402-8416
187. Boucher, M.E.; Chaala, A.; Pakdel, H.; Roy, C. Bio-oils obtained by vacuum pyrolysis of softwood bark as a liquid fuel for gas turbines. Part II: Stability and ageing of bio-oil and its blends with methanol and a pyrolytic aqueous phase. *Biomass Bioenerg*, **2000**, *19*, 351-361
188. Black, S.; Ferrell, J.R. Determination of Carbonyl Functional Groups in Bio-oils by Potentiometric Titration: The Faix Method. *J Vis Exp*, **2017**, *120*
189. Ren, S.; Ye, X.P. Stability of crude bio-oil and its water-extracted fractions. *J Anal Appl Pyrol*, **2018**, *132*, 151-162
190. Joseph, J.; Rasmussen, M.J.; Fecteau, J.P.; Kim, S.; Lee, H.; Tracy, K.A.; Jensen, B.L.; Frederick, B.G.; Stemmler, E.A. Compositional Changes to Low Water Content Bio-oils during Aging: An NMR, GC/MS, and LC/MS Study. *Energ Fuel*, **2016**, *30*, 4825-4840
191. Niessen, W.M.A.; Greef, J.V.D. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: Principles and Applications*. *Chromatographic Science*. Vol. 58., Marcel Dekker Inc, 1992
192. Caetano, M.; Valderrama, C.; Farran, A.; Cortina, J.L. Phenol removal from aqueous solution by adsorption and ion exchange mechanisms onto polymeric resins. *J Colloid Interf Sci*, **2009**, *338*, 402-409
193. Schmitt, D.; Beiser, N.; Regenbrecht, C.; Zirbes, M.; Waldvogel, S.R. Adsorption and separation of black liquor-derived phenol derivatives using anion exchange resins. *Sep Purif Technol*, **2017**, *181*, 8-17
194. *Brine Recovery in Sugar Refinery*, Diva Envitec, 2014
195. Pinto, P.R.; Mota, I.F.; Pereira, C.M.; Ribeiro, A.M.; Loureiro, J.M.; Rodrigues, A.E. Separation and recovery of polyphenols and carbohydrates from Eucalyptus bark extract

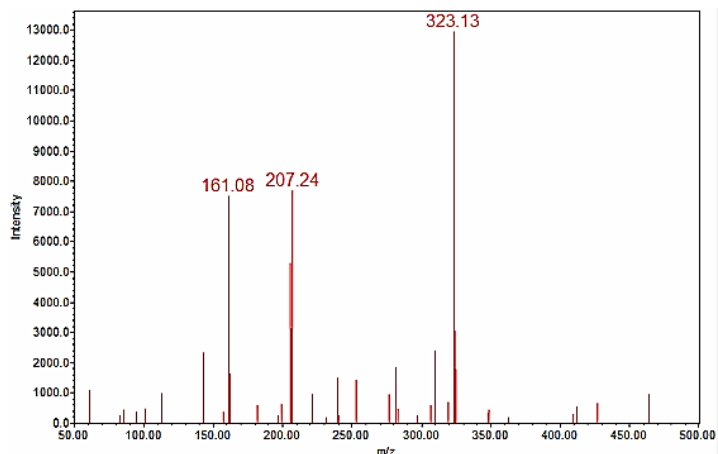
- by ultrafiltration/diafiltration and adsorption processes. *Sep Purif Technol*, **2017**, *183*, 96-105
196. Pāže, A. *Levoglikozāna iegūšana celulozes un lignocelulozes ātrajā pirolīzē pārkarstētā tvaika vidē*. Rīgas Tehniskā universitāte, 2011
197. Jupke, A.; Epping, A.; Schmidt-Traub, H. Optimal design of batch and simulated moving bed chromatographic separation processes. *J Chromatogr A*, **2002**, *944*, 93-117
198. Jansons, E. *Analītiskās ķīmijas teorētiskie pamati*. Latvijas Universitāte, 2006
199. *Ion Exchange Resins for Cane Sugar Decolorization*. Dow, 2016
200. Susanto, H.A.; Roihatin, A.; Widiassa, I.N. Production of colorless liquid sugar by ultrafiltration coupled with ion exchange. *Food Bioprod Process*, **2016**, *98*, 11-20
201. Sasaki, M.; Takahashi, K.; Haneda, Y.; Satoh, H.; Sasaki, A.; Narumi, A.; Satoh, T.; Kakuchi, T.; Kaga, H. Thermochemical transformation of glucose to 1,6-anhydroglucose in high-temperature steam. *Carbohydr Res*, **2008**, *343*, 848-854
202. *Saccharides and Sugar Alcohols. SP0810*. Shodex Applications
203. Rasheeda, K.; Bharathy, H.; Nishad Fatima, N. Vanillic acid and syringic acid: Exceptionally robust aromatic moieties for inhibiting in vitro self-assembly of type I collagen. *Int J Biol Macromol*, **2018**, *113*, 952-960
204. Ha, S.J.; Lee, J.; Park, J.; Kim, Y.H.; Lee, N.H.; Kim, Y.E.; Song, K.M.; Chang, P.S.; Jeong, C.H.; Jung, S.K. Syringic acid prevents skin carcinogenesis via regulation of NoX and EGFR signaling. *Biochem Pharmacol*, **2018**, *154*, 435-445
205. Duo, J.; Zhang, Z.; Yao, G.; Huo, Z.; Jin, F. Hydrothermal conversion of glucose into lactic acid with sodium silicate as a base catalyst. *Catal Today*, **2016**, *263*, 112-116
206. Salim, T.; Ratnawati, L.; Agustina, W.; Bioethanol Production from Glucose by Thermophilic Microbes from Ciater Hot Springs. *Procedia Chem*, **2015**, *16*, 503-510

PIELIKUMI

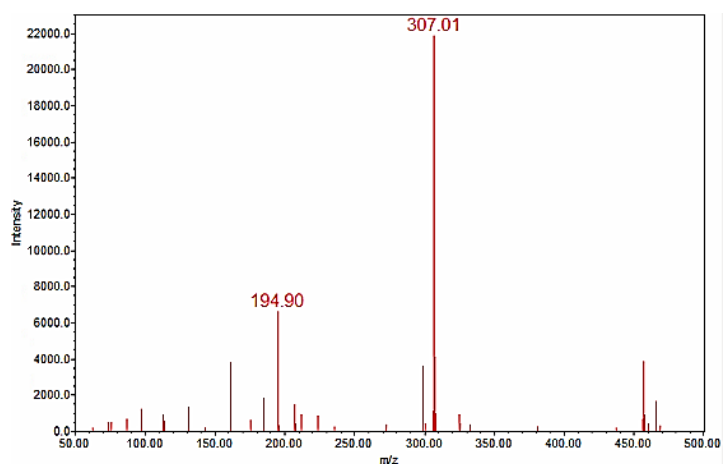
1. pielikums

Cukuru masspektri

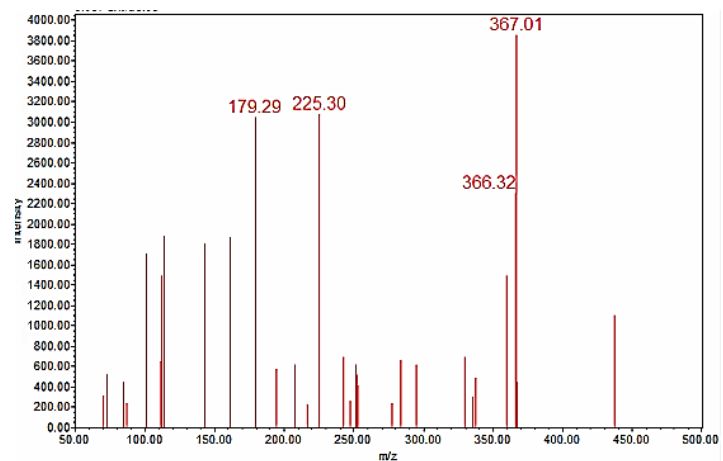
Pielikumā parādīti cukuru masspektri, kas iegūti ar kvadrupola MS.



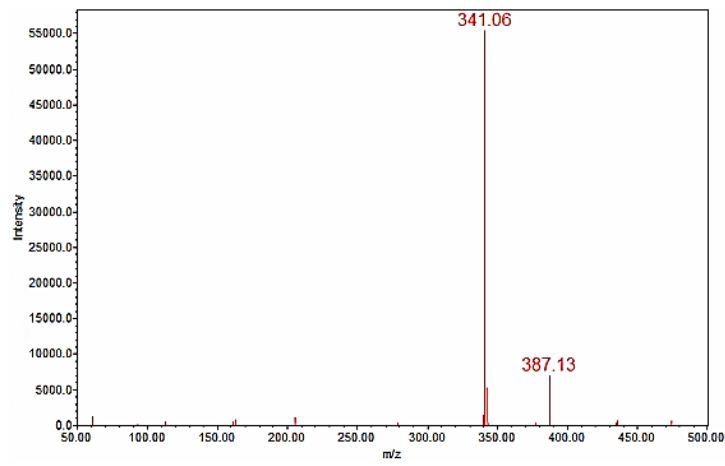
1. att. Levoglikozāna masspektrs (QDa, ESI- 5V)



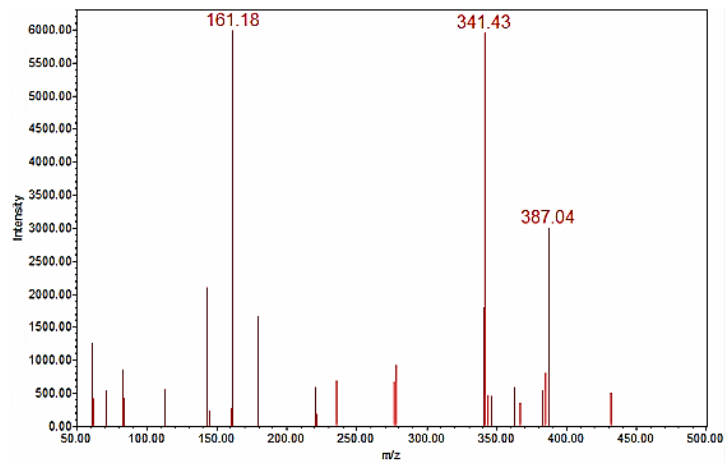
2. att. Ksilozes masspektrs (QDa, ESI- 5V)



3. att. Glikozes masspektrs (QDa, ESI- 5V)



4. att. Saharozes masspektrs (QDa, ESI- 5V)



5. att. Celobiozes masspektrs (QDa, ESI- 5V)

2. pielikums

Pirolīzes produktu analīžu rezultāti

1. tabula

Sausnes saturs, kopējo skābju un aldehīdu koncentrācija pirolīzes kondensātos ($x_{\text{vid.}} \pm S_3$)

Paraugs	Sausne, %	Aldehīdi, %	Skābes, mg KOH·g ⁻¹			
			TAN		CAN	PhAN
			ar KOH	ar TBAOH		
K1-0	4,661 ± 0,005	1,18 ± 0,03	1,85 ± 0,03	-	-	-
K1-1	6,09 ± 0,06	1,82 ± 0,03	10,15 ± 0,08	-	-	-
K1-2	5,36 ± 0,04	1,38 ± 0,04	4,27 ± 0,02	-	-	-
K1-3	5,3 ± 0,2	0,85 ± 0,03	2,55 ± 0,03	-	-	-
K2-0	1,45 ± 0,06	0,397 ± 0,008	0,97 ± 0,02	1,04 ± 0,09	0,18 ± 0,09	0,864 ± 0,009
K2-1	2,52 ± 0,05	0,737 ± 0,003	1,697 ± 0,005	1,727 ± 0,014	0,114 ± 0,006	1,61 ± 0,05
K2-2	3,353 ± 0,009	0,945 ± 0,004	2,077 ± 0,010	2,069 ± 0,011	0,128 ± 0,007	1,94 ± 0,04
K2-3	4,051 ± 0,009	1,105 ± 0,002	2,63 ± 0,02	2,64 ± 0,04	0,117 ± 0,012	2,53 ± 0,02
K2-4	5,13 ± 0,06	1,316 ± 0,009	2,873 ± 0,014	2,89 ± 0,04	0,113 ± 0,013	2,78 ± 0,05

2. tabula

Aldehīdu un skābju koncentrācija pirolīzes kondensātos, kas ietvaicēti 103 °C ($x_{\text{vid.}} \pm S_3$)

Paraugs	Aldehīdi, %	TAN (ar KOH), mg KOH·g ⁻¹
K2-0	0,15 ± 0,02	0,24 ± 0,04
K2-1	0,24 ± 0,03	0,488 ± 0,014
K2-2	0,30 ± 0,02	0,645 ± 0,013
K2-3	0,37 ± 0,02	0,78 ± 0,06
K2-4	0,457 ± 0,006	1,08 ± 0,02

3. tabula

Levoglukoza kvantitatīvās noteikšanas rezultāti, masas daļa % paraugā ± S₃

Paraugs	UHPLC (Amīdu kolonna)-		UHPLC (HILIC)-	Jodometriskā titrēšana	
	MS 323 m/z	ELSD	ELSD	anhidrosaharīdi	glikozes ekv.
K1-0	3,04 ± 0,10	2,92 ± 0,04	2,57 ± 0,05	2,87 ± 0,02	0,871 ± 0,007
K1-1	1,42 ± 0,08	2,13 ± 0,02	1,799 ± 0,013	1,80 ± 0,02	3,162 ± 0,008
K1-2	3,09 ± 0,08	2,80 ± 0,03	2,481 ± 0,013	2,66 ± 0,04	1,53 ± 0,02
K1-3	3,41 ± 0,05	3,04 ± 0,06	2,65 ± 0,02	2,84 ± 0,04	1,09 ± 0,02
K2-0	0,71 ± 0,03	0,748 ± 0,014	0,670 ± 0,010	0,93 ± 0,06	0,33 ± 0,03
K2-1	1,08 ± 0,14	1,143 ± 0,011	1,04 ± 0,02	1,40 ± 0,03	0,684 ± 0,013
K2-2	1,17 ± 0,12	1,604 ± 0,010	1,44 ± 0,02	2,02 ± 0,12	0,77 ± 0,05
K2-3	1,3 ± 0,2	1,902 ± 0,012	1,72 ± 0,02	2,72 ± 0,08	0,71 ± 0,04
K2-4	1,81 ± 0,13	2,507 ± 0,007	2,30 ± 0,03	3,4 ± 0,2	0,89 ± 0,07
P1	37 ± 5	49,7 ± 0,4	46,1 ± 1,3	55,6 ± 0,3	10,6 ± 0,2
P2	32 ± 2	48,8 ± 0,3	42,5 ± 0,9	58,4 ± 0,4	11,7 ± 0,2
P3	36 ± 4	41,2 ± 0,3	34,4 ± 0,2	46 ± 2	16,5 ± 0,9
P4	84,2 ± 0,8	78 ± 2	71,1 ± 1,0	88,01 ± 0,09	0,23 ± 0,04
P5	86 ± 11	83,3 ± 0,9	69,7 ± 1,0	102,8 ± 0,8	-11,9 ± 0,4
P6	83 ± 6	89,9 ± 0,7	85 ± 2	98,7 ± 0,8	-4,1 ± 0,4
C1	99 ± 12	96 ± 2	98,4 ± 0,9	94,7 ± 0,3	1,24 ± 0,13
C2	97 ± 2	105 ± 2	101,4 ± 0,7	96,02 ± 0,14	1,22 ± 0,06
C3	100 ± 2	99,4 ± 0,6	99,6 ± 0,5	95,7 ± 0,4	1,9 ± 0,2

Anhidrosaharīdu dimēru saturs pirolīzes produktos ($x_{\text{vid.}} \pm S_3$)

Paraugs	Anhidrosaharīdu dimēri, %
K2-0	0,0072 ± 0,0003
K2-1	0,0112 ± 0,0014
K2-2	0,0124 ± 0,0012
K2-3	0,0042 ± 0,0008
K2-4	0,0062 ± 0,0005

Atsevišķu furānu kvantitatīvās UHPLC noteikšanas rezultāti, masas daļa % paraugā ± S_3

Paraugs	HMF, %		Furfurols, %	
	UV	MS, 127 m/z	UV	MS, 97 m/z
K1-0	0,0554 ± 0,0002	0,0504 ± 0,0009	0,030 ± 0,002	0,0233 ± 0,0012
K1-1	0,0389 ± 0,0002	0,038 ± 0,002	0,1701 ± 0,0006	0,185 ± 0,011
K1-2	0,0321 ± 0,0002	0,031 ± 0,002	0,0985 ± 0,0004	0,085 ± 0,002
K1-3	0,0305 ± 0,0002	0,0274 ± 0,0011	0,050 ± 0,003	0,0411 ± 0,0002
K2-0	0,01137 ± 0,00005	0,0106 ± 0,0005	0,00439 ± 0,00002	0,0030 ± 0,0003
K2-1	0,01796 ± 0,00005	0,0167 ± 0,0005	0,01029 ± 0,00006	0,0086 ± 0,0003
K2-2	0,02428 ± 0,00003	0,0220 ± 0,0003	0,01416 ± 0,00007	0,0117 ± 0,0002
K2-3	0,03048 ± 0,00008	0,0269 ± 0,0012	0,01754 ± 0,00008	0,0139 ± 0,0005
K2-4	0,03849 ± 0,00007	0,0323 ± 0,0011	0,0216 ± 0,0002	0,0172 ± 0,0003

Atsevišķu fenolu kvantitatīvās UHPLC noteikšanas rezultāti, masas daļa % paraugā ± S_3

Paraugs	Vanilīnskābe, %		Vanilīns, %		Siringaldehīds, %	
	UV	MS, 169 m/z	UV	MS, 153 m/z	UV	MS, 183 m/z
K2-0	0,00096 ± 0,00002	0,00079 ± 0,00003	0,00704 ± 0,00014	0,0024 ± 0,0002	0,01348 ± 0,00003	0,0081 ± 0,0008
K2-1	0,00154 ± 0,00004	0,0014 ± 0,0004	0,0093 ± 0,0003	0,0044 ± 0,0004	0,0191 ± 0,0008	0,0110 ± 0,0006
K2-2	0,00196 ± 0,00008	0,00205 ± 0,00010	0,0107 ± 0,0002	0,0052 ± 0,0003	0,0240 ± 0,0008	0,0141 ± 0,0007
K2-3	0,00243 ± 0,00002	0,0029 ± 0,0005	0,0125 ± 0,0002	0,0065 ± 0,0002	0,02808 ± 0,00013	0,0149 ± 0,0003
K2-4	0,00268 ± 0,00010	0,00322 ± 0,00013	0,0128 ± 0,0004	0,00621 ± 0,00005	0,0326 ± 0,0012	0,0168 ± 0,0006

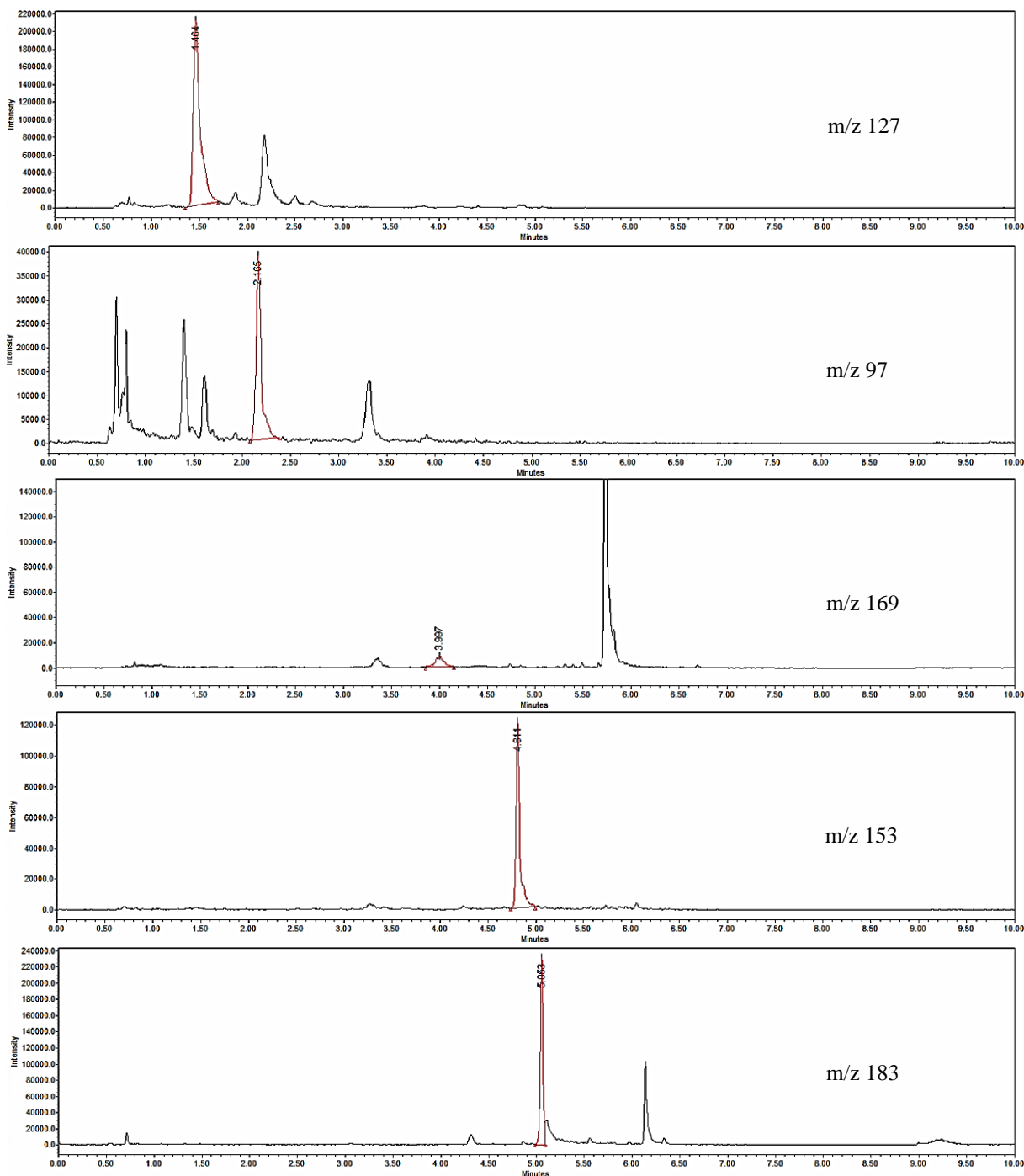
Kopējā furānu un fenolu sastāva noteikšanas rezultāti, masas daļa % parauga ± S_3

(pārrēķinot uz sausni)

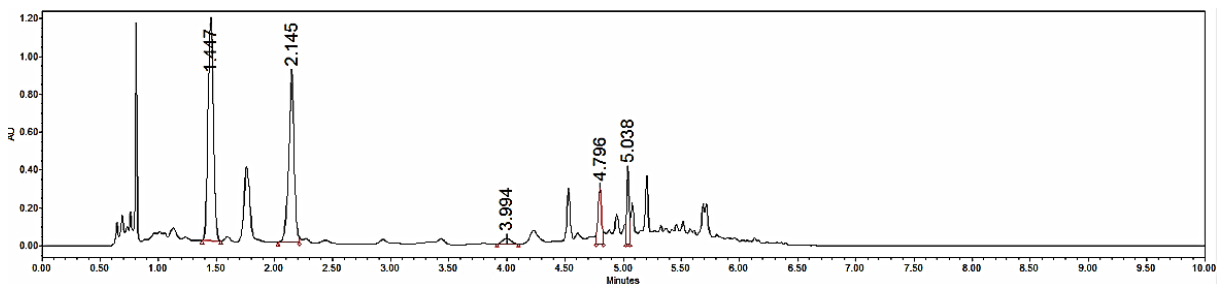
Paraugs	Furāni, %		Fenoli, %			Kopējā A_{275} , rel. AU/mg
	UHPLC-UV	A_{275}	UHPLC-UV	A_{275}	GSE mg·100 mg ⁻¹	
K2-0	1,874 ± 0,009	1,3 ± 0,2	14,72 ± 0,05	13,5 ± 0,6	21,1 ± 0,5	7,248 ± 0,005
K2-1	1,855 ± 0,008	1,8 ± 0,3	11,27 ± 0,08	12,2 ± 0,3	20,9 ± 0,4	6,433 ± 0,003
K2-2	2,14 ± 0,02	2,2 ± 0,2	10,17 ± 0,04	13,0 ± 0,2	18,8 ± 0,5	6,682 ± 0,012
K2-3	2,10 ± 0,05	2,0 ± 0,4	9,96 ± 0,09	12,8 ± 0,4	17,1 ± 0,3	6,516 ± 0,014
K2-4	2,04 ± 0,09	1,9 ± 0,2	9,03 ± 0,06	11,6 ± 0,2	16,4 ± 0,3	6,066 ± 0,011

3. pielikums Paraugu hromatogrammu piemēri

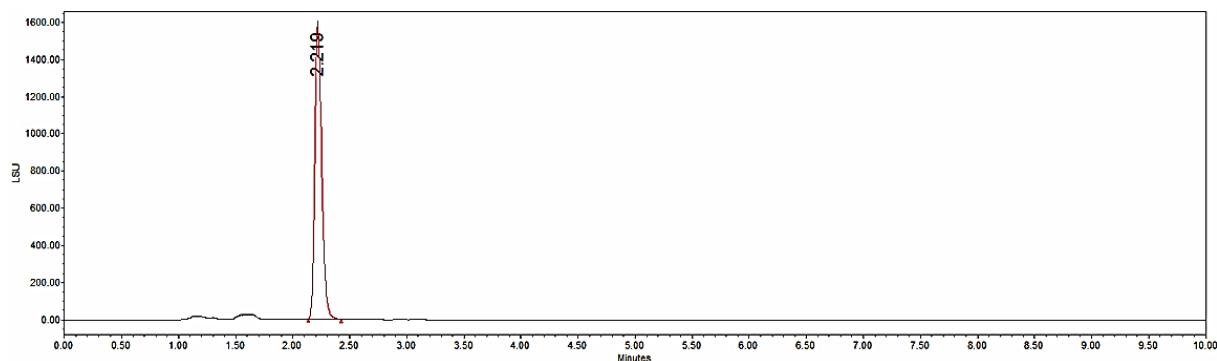
Pielikumā redzamas no *Empower* programmas izkopētas pirolīzes kondensāta UHPLC hromatogrammas, kur atzīmētas integrētās joslas.



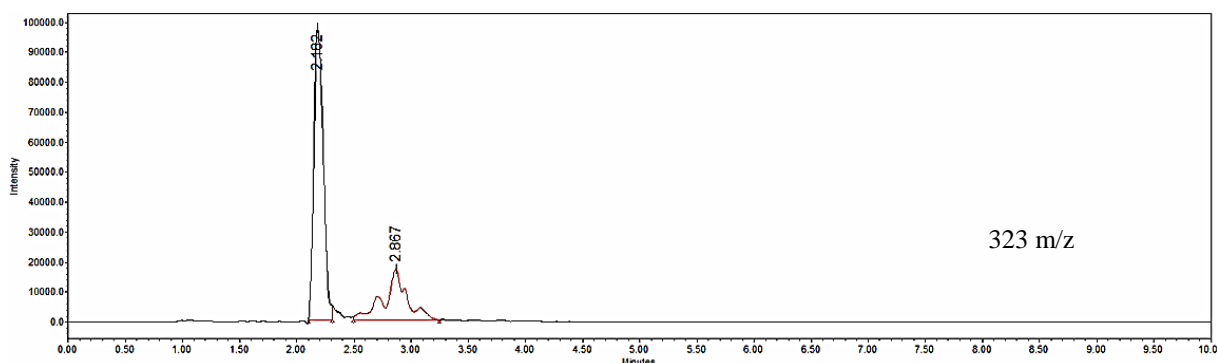
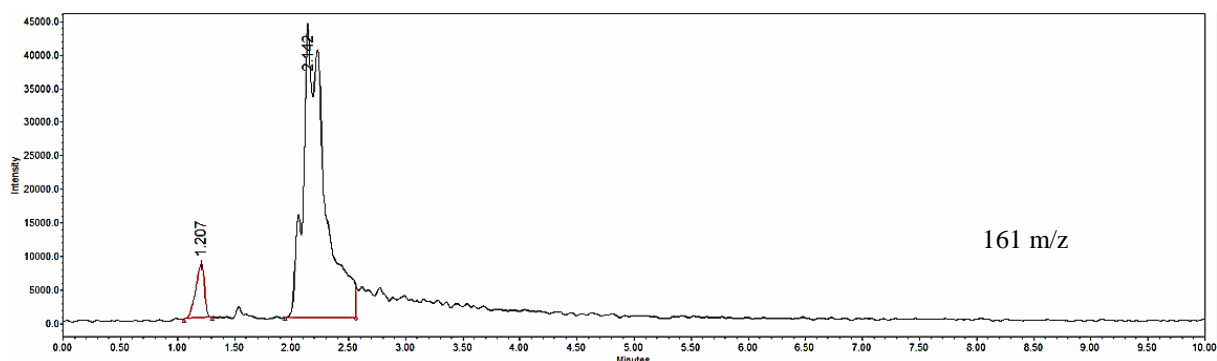
1. att. K2-4 parauga UHPLC-MS hromatogrammas (HSS C18 kolonna, kvadrupola masspektrometrs ESI+ ar SIR m/z: 127, 97, 169, 153 un 183, 31 datu punkta nogludināšana pēc *Savitzky-Golay* modeļa): 1,46 min – furfurols, 2,17 min – 5-HMF, 4,00 min – vanilīnskābe, 4,81 min – vanilīns, 5,05 min – siringaldehīds



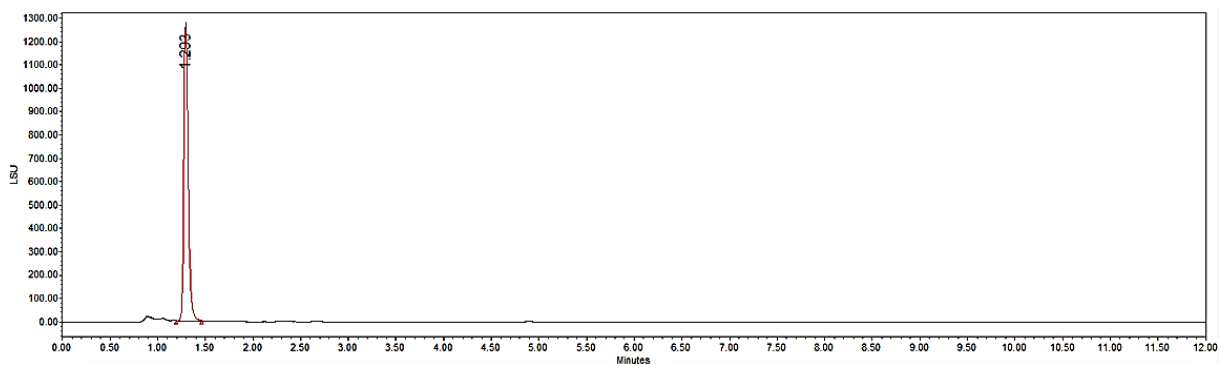
2. att. K2-4 parauga UHPLC-UV hromatogramma (HSS C18 kolonna, fotodiožu detektors ar $\lambda = 275 \text{ nm}$): 1,45 min – furfurols, 2,15 min – 5-HMF, 3,99 min – vanilīnskābe, 4,80 min – vanilīns, 5,04 min – siringaldehīds



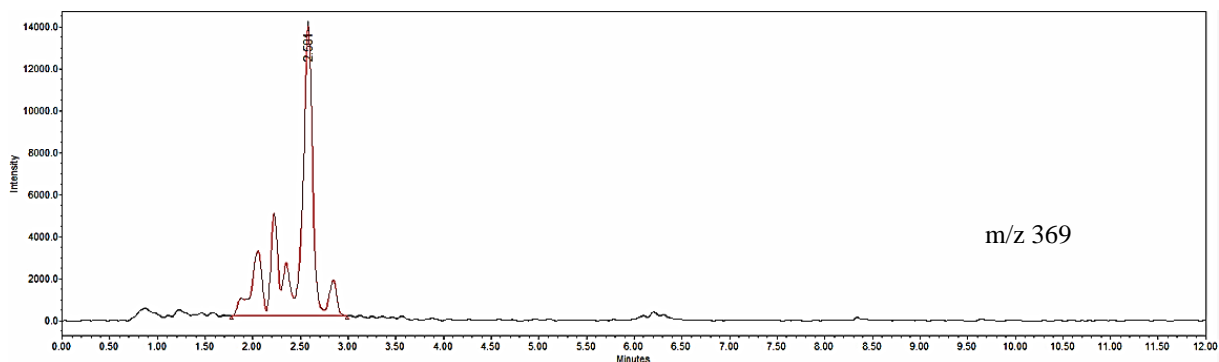
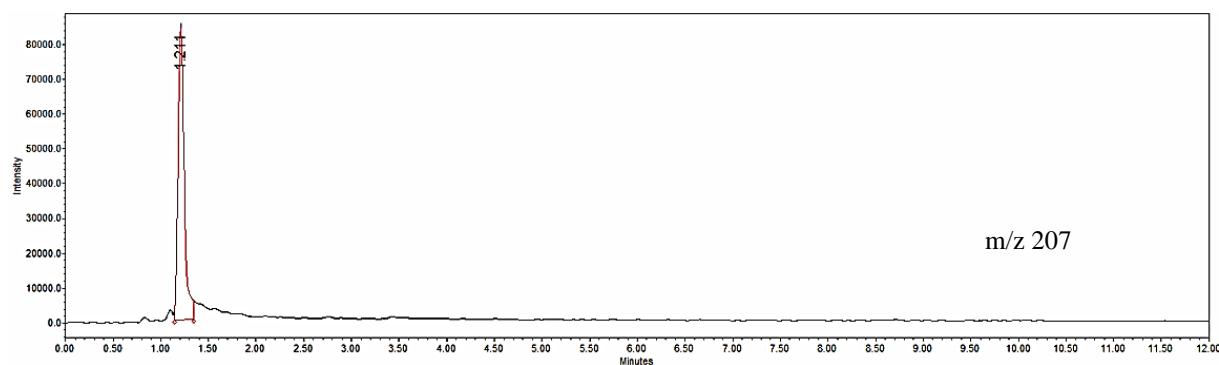
3. att. K2-4 parauga UHPLC-ELSD hromatogramma (BEH Amide kolonna): 2,22 min – levoglīkozāns



4. att. K2-4 parauga UHPLC-MS hromatogrammas (BEH Amide kolonna, kvadrupola masspektrometrs ESI- ar SIR m/z 161 un 323, 99 datu punkta nogludināšana pēc *Savitzky-Golay* modeļa): 1,21 min – anhidromonosaharīds, 2,14 min – levoglīkozāns (m/z 161), 2,18 min – levoglīkozāns (m/z 323), 2,87 min – anhidrosaharīdu dimēri



5. att. K2-4 parauga UHPLC-ELSD hromatogramma (HILIC kolonna): 1,29 min – levoglīkozāns

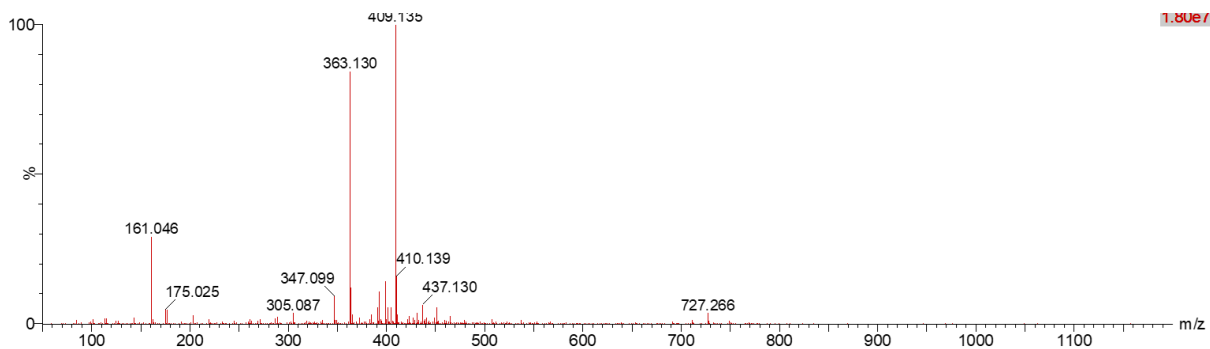


6. att. K2-4 parauga UHPLC-MS hromatogrammas (HILIC kolonna, kvadrupola masspektrometrs ESI- ar SIR m/z 207 un 369, 99 datu punkta nogludināšana pēc *Savitzky-Golay* modeļa): 1,21 min – levoglīkozāns, 2,59 min – anhidrosaharīdu dimēri

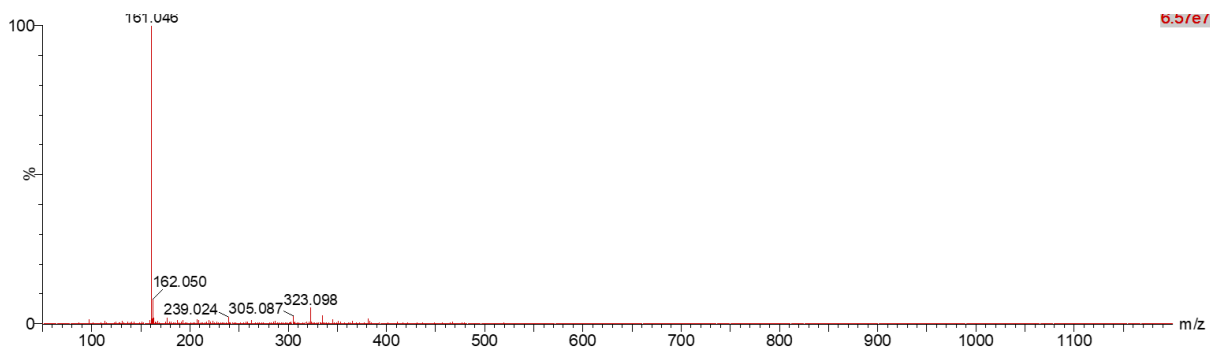
4. pielikums

Ar nolidojuma laika masspektrometriju detektēti savienojumi pirolīzes produktos (hidrofilās mijiedarbības hromatogrāfija)

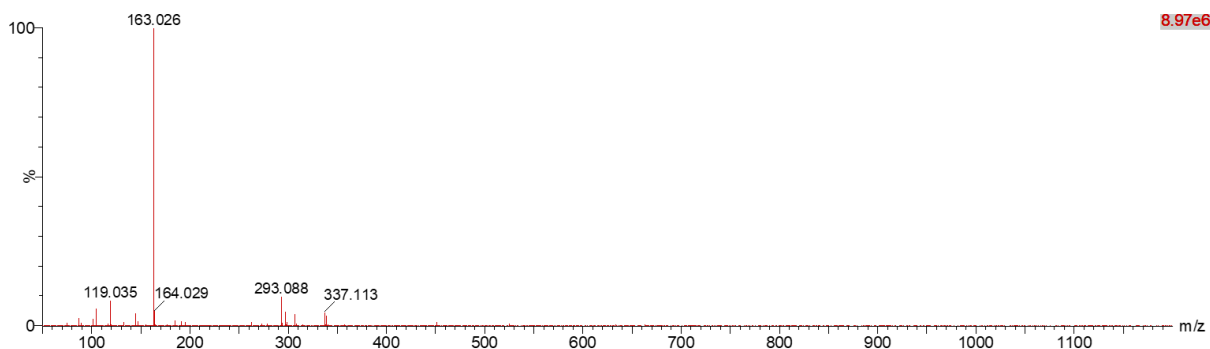
Attēlos redzami masspektri joslām, kas atdalītas, izmantojot Amīdu kolonnu gradienta apstākļos.



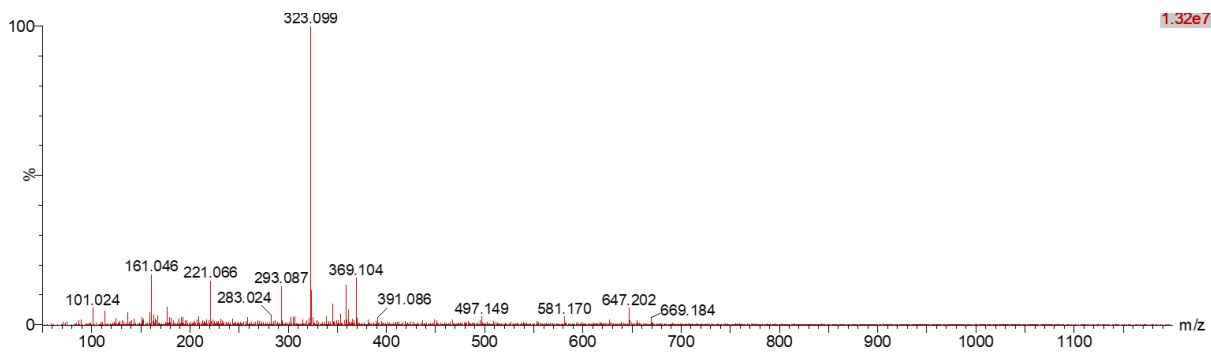
1. att. 1. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



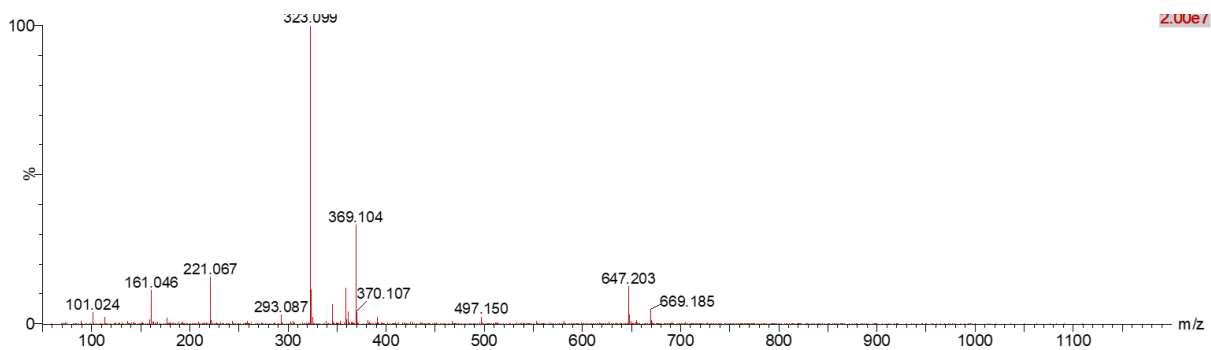
2. att. 2. savienojuma (levoglikozāns) TOF-MS (ESI-) spektrs



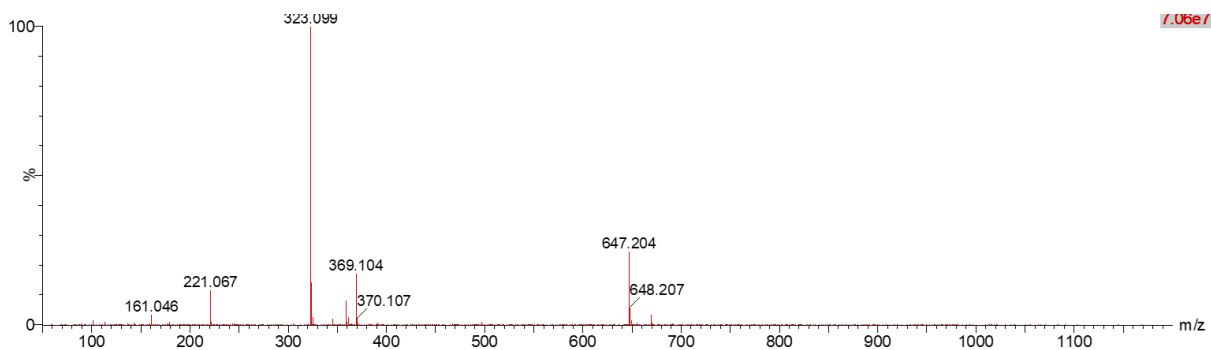
3. att. 3. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



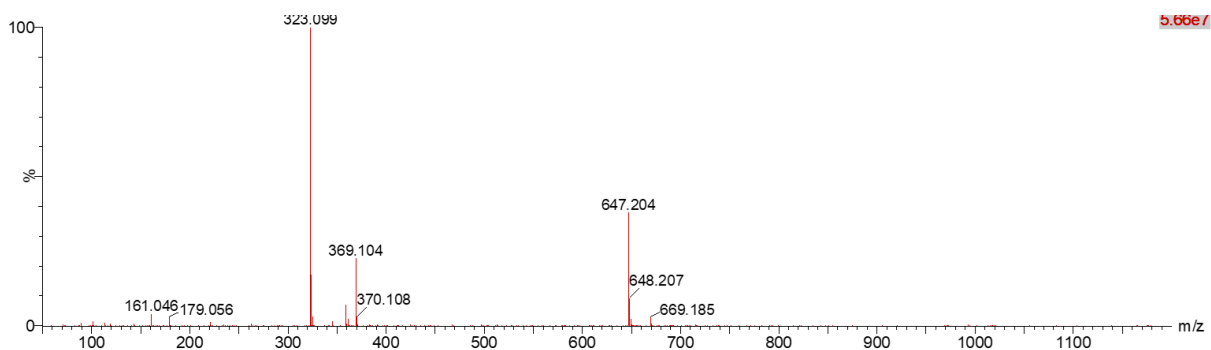
4. att. 4. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



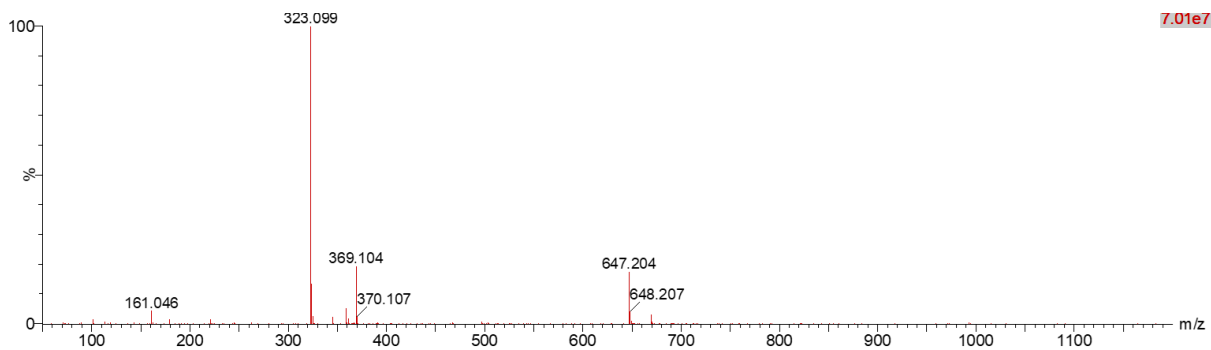
5. att. 5. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



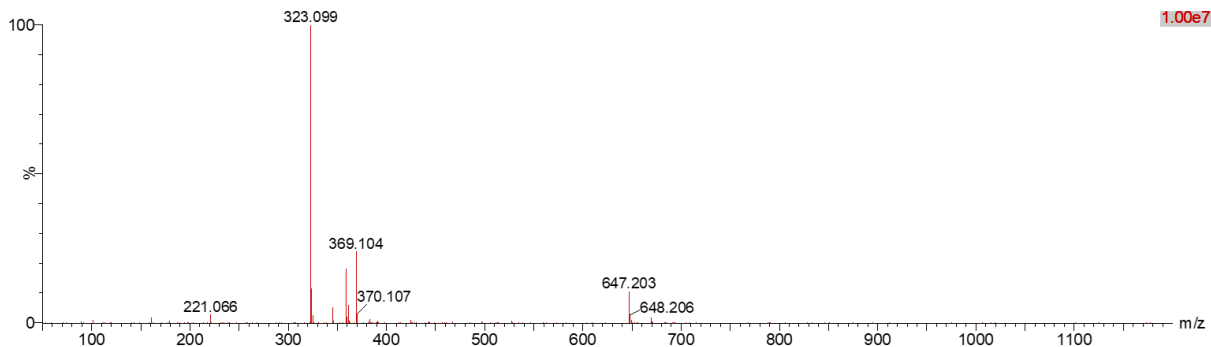
6. att. 6. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



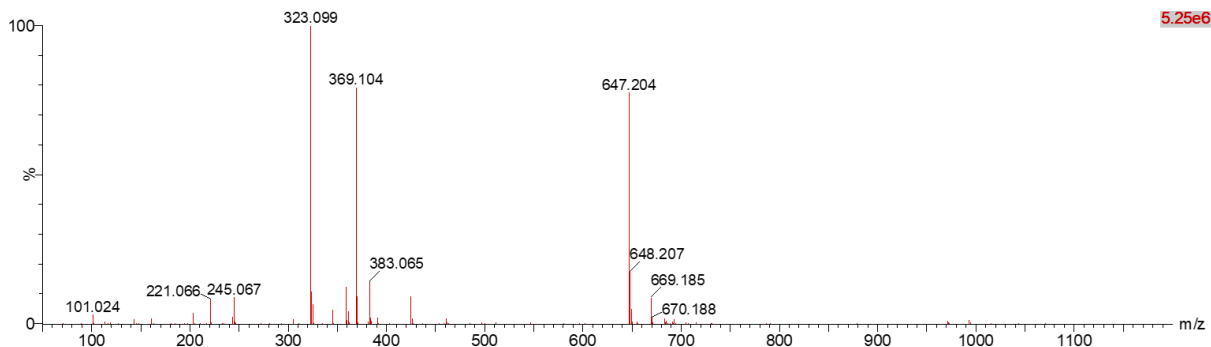
7. att. 7. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



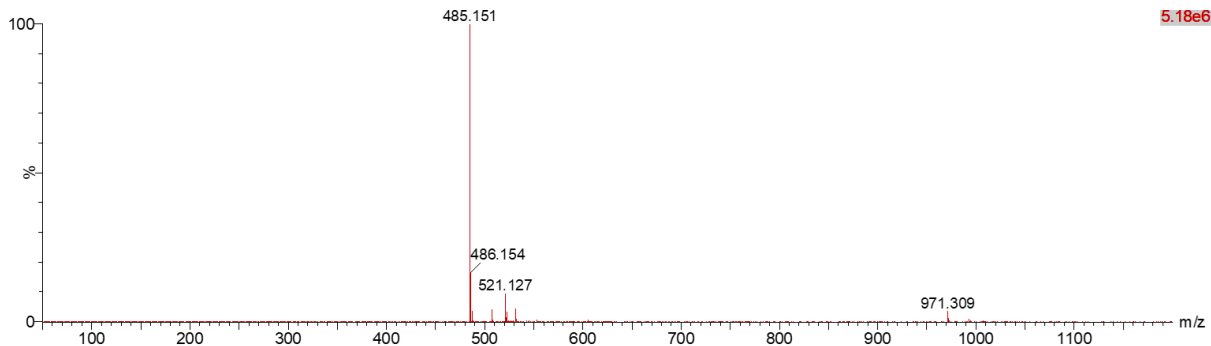
8. att. 8. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



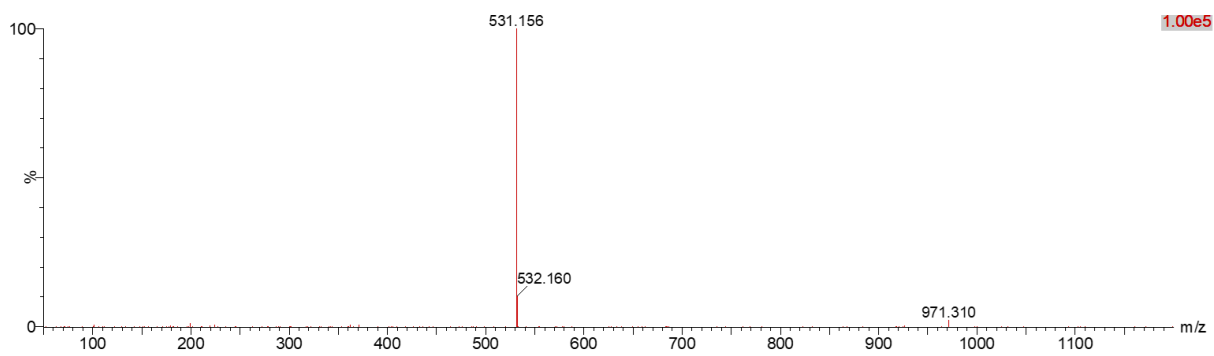
9. att. 9. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



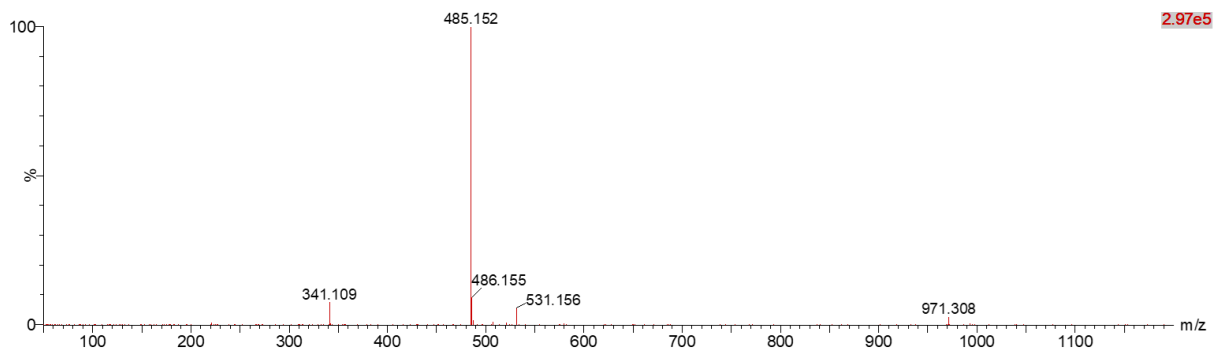
10. att. 10. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



11. att. 11. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



12. att. 12. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

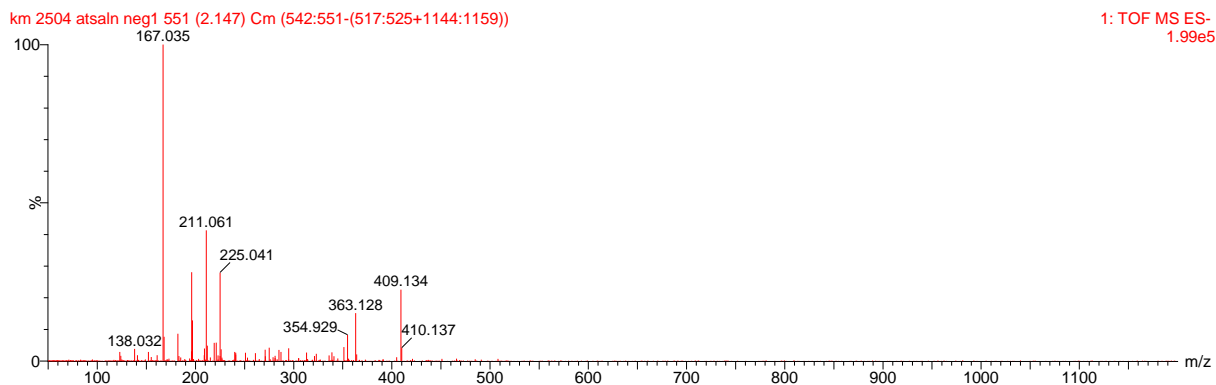


13. att. 13. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

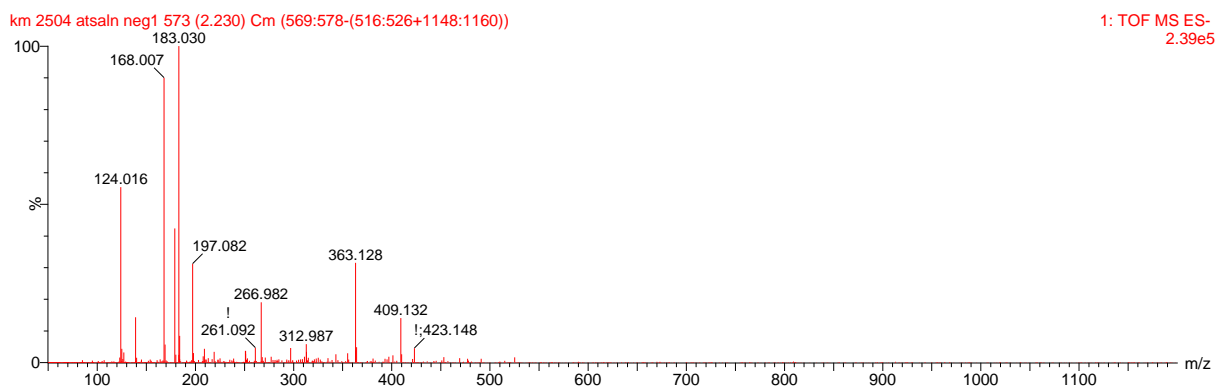
5. pielikums

Ar nolidojuma laika masspektrometriju detektēti savienojumi pirolīzes produktos (apgrieztās fāzes hromatogrāfija)

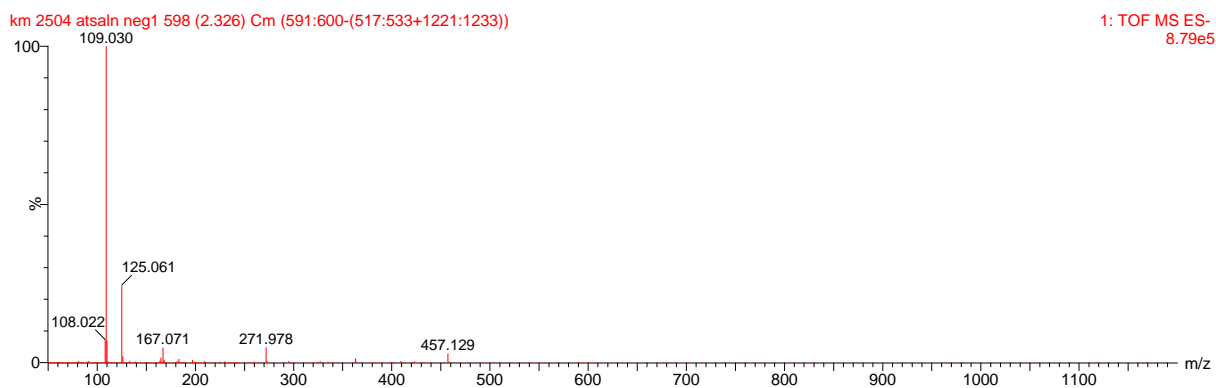
Attēlos redzami masspektri joslām, kas atdalītas, izmantojot BEH C18 kolonnu gradienta apstākļos.



1. att. 14. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



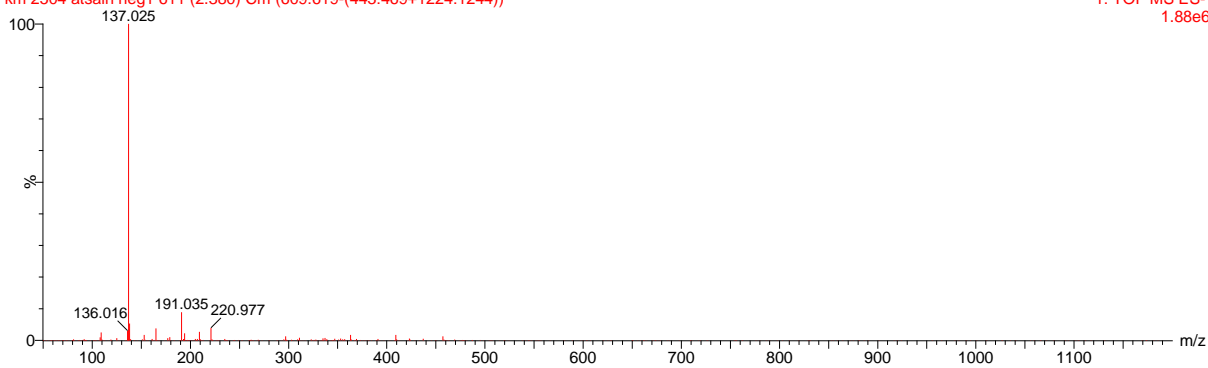
2. att. 15. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



3. att. 16. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 611 (2.380) Cm (609:619-(443:469+1224:1244))

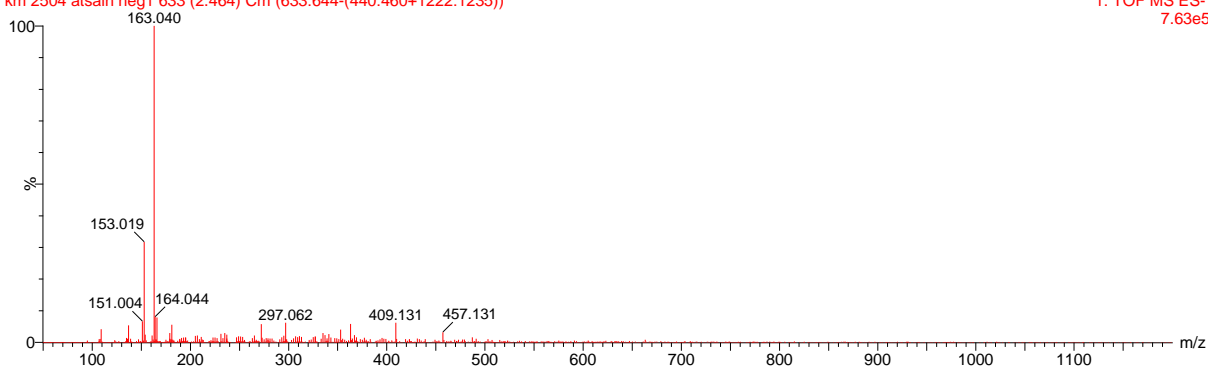
1: TOF MS ES-
1.88e6



4. att. 17. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 633 (2.464) Cm (633:644-(440:460+1222:1235))

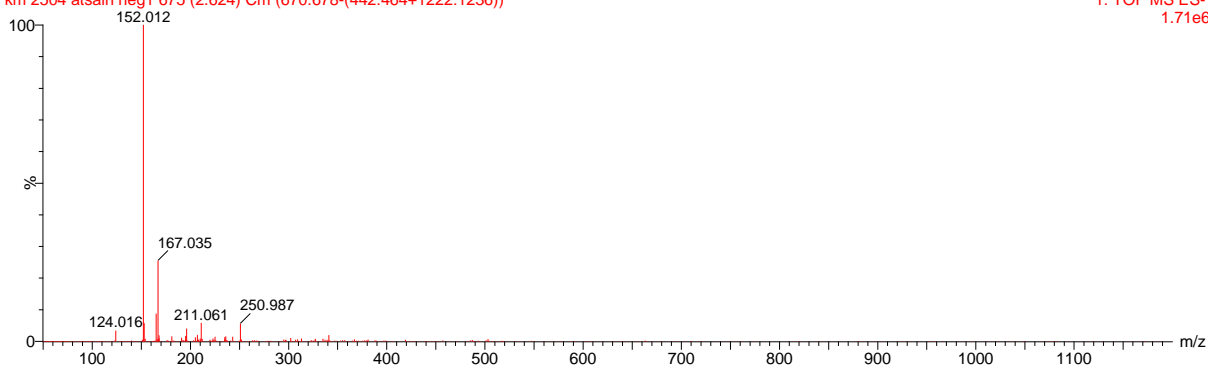
1: TOF MS ES-
7.63e5



5. att. 18. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 675 (2.624) Cm (670:678-(442:464+1222:1236))

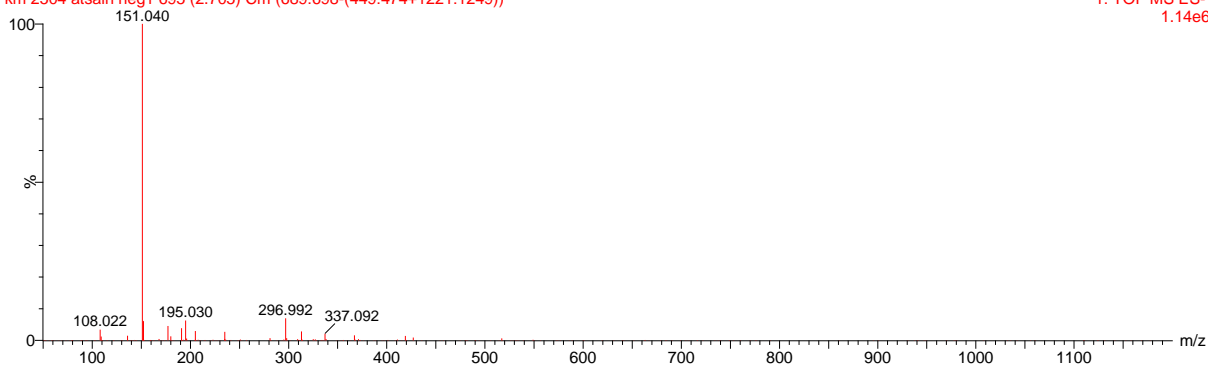
1: TOF MS ES-
1.71e6



6. att. 19. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 695 (2.705) Cm (689:698-(449:474+1221:1249))

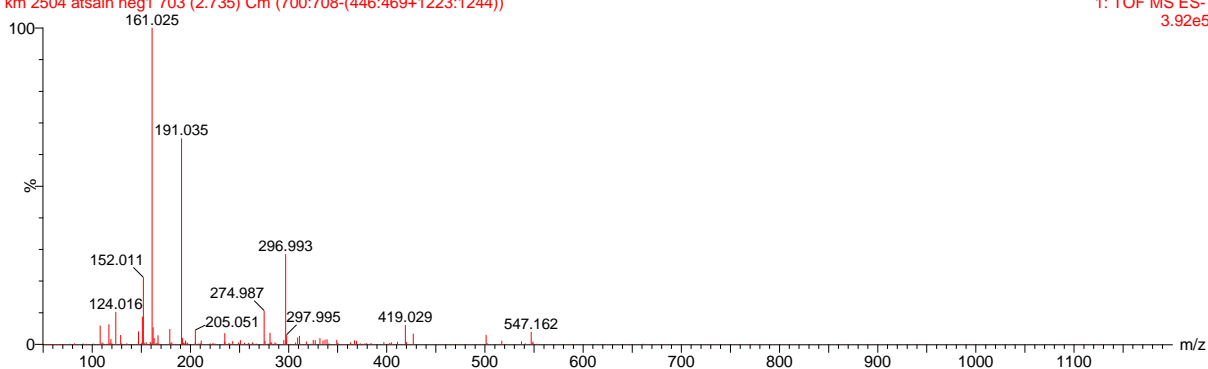
1: TOF MS ES-
1.14e6



7. att. 20. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 703 (2.735) Cm (700:708-(446:469+1223:1244))

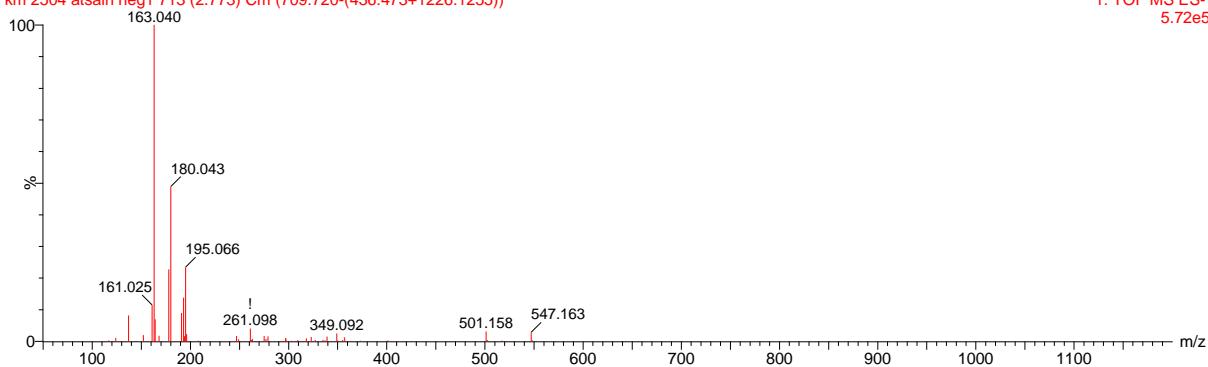
1: TOF MS ES-
3.92e5



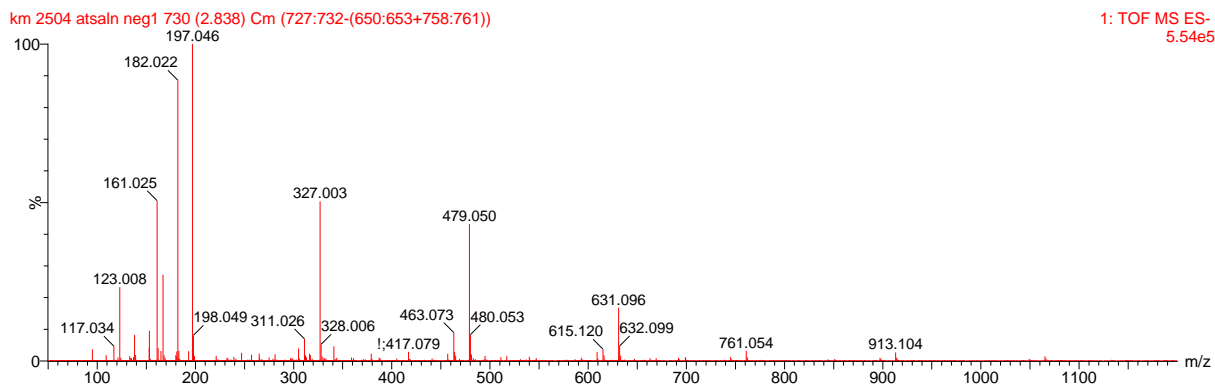
8. att. 21. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 713 (2.773) Cm (709:720-(436:473+1226:1255))

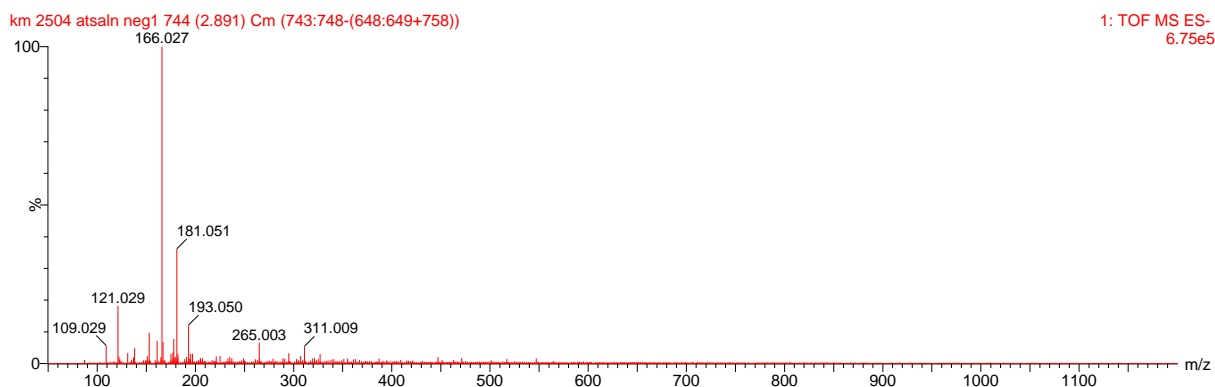
1: TOF MS ES-
5.72e5



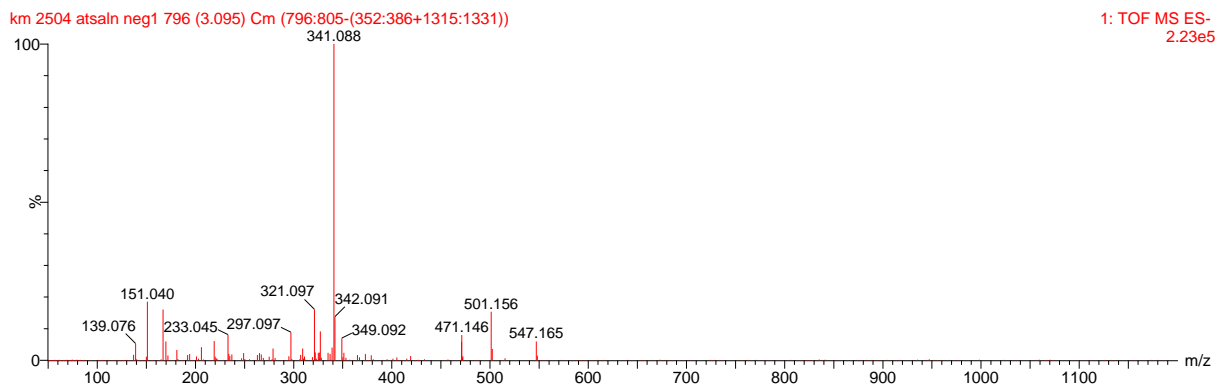
9. att. 22. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



10. att. 23. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



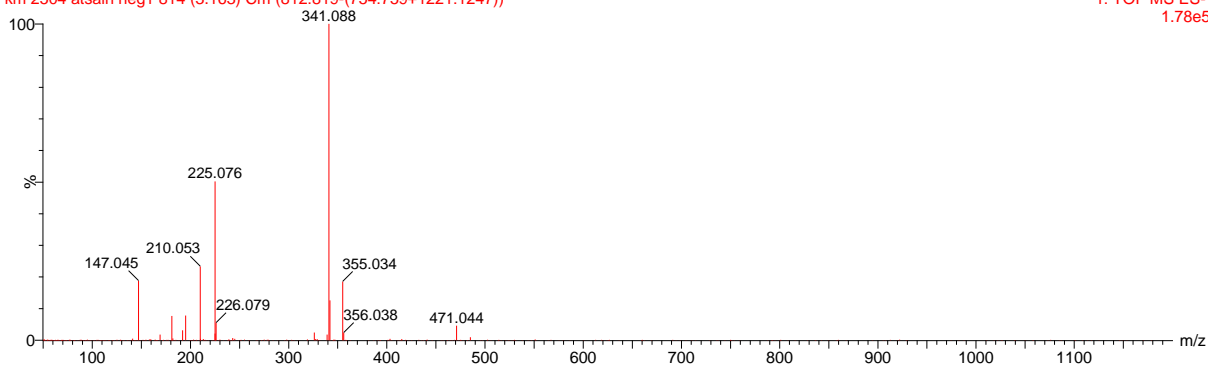
11. att. 24. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs



12. att. 25. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 814 (3.163) Cm (812:819-(754:759+1221:1247))

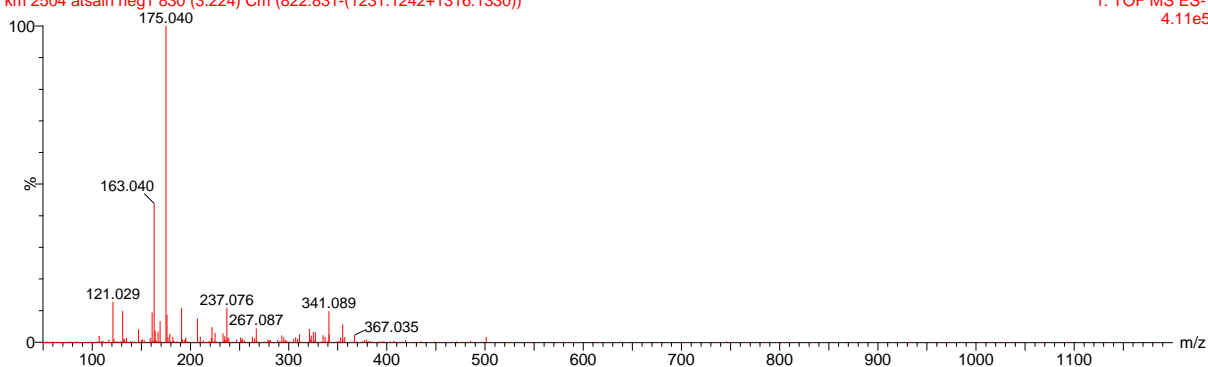
1: TOF MS ES-
1.78e5



13. att. 26. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 830 (3.224) Cm (822:831-(1231:1242+1316:1330))

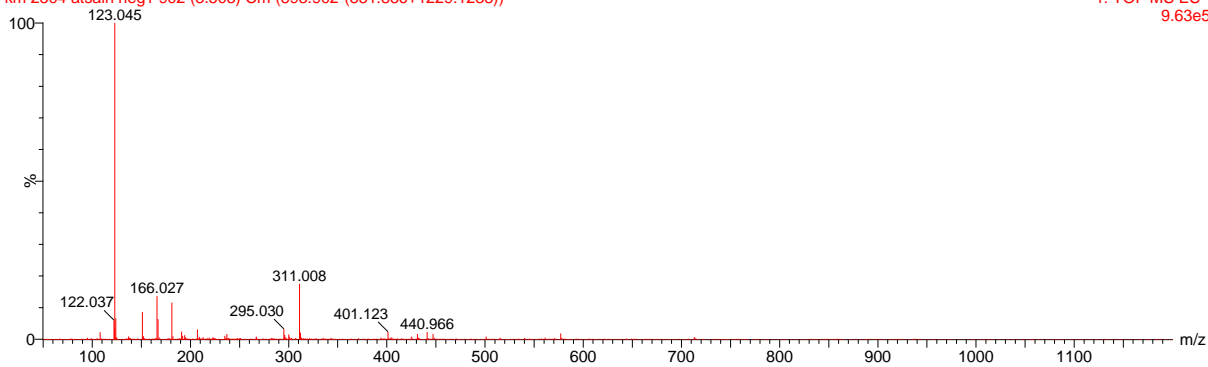
1: TOF MS ES-
4.11e5



14. att. 27. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 902 (3.503) Cm (893:902-(881:886+1229:1238))

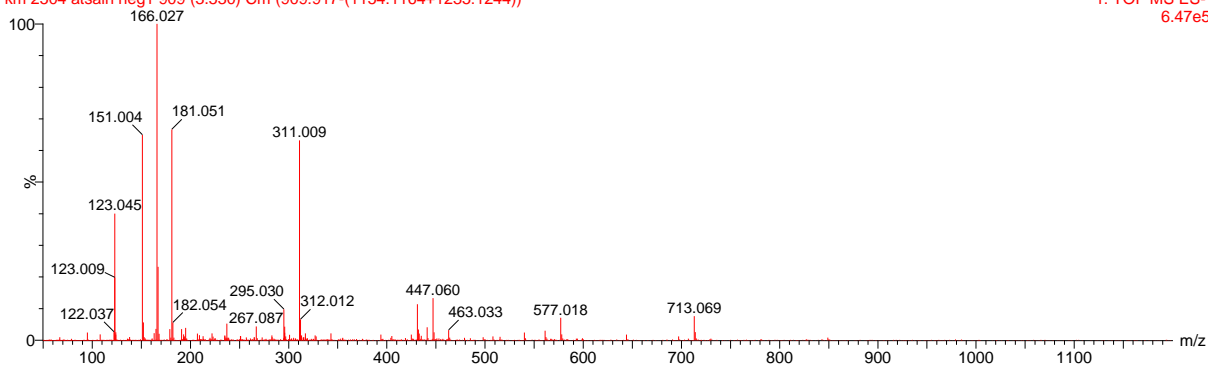
1: TOF MS ES-
9.63e5



15. att. 28. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 909 (3.530) Cm (909:917-(1154:1164+1235:1244))

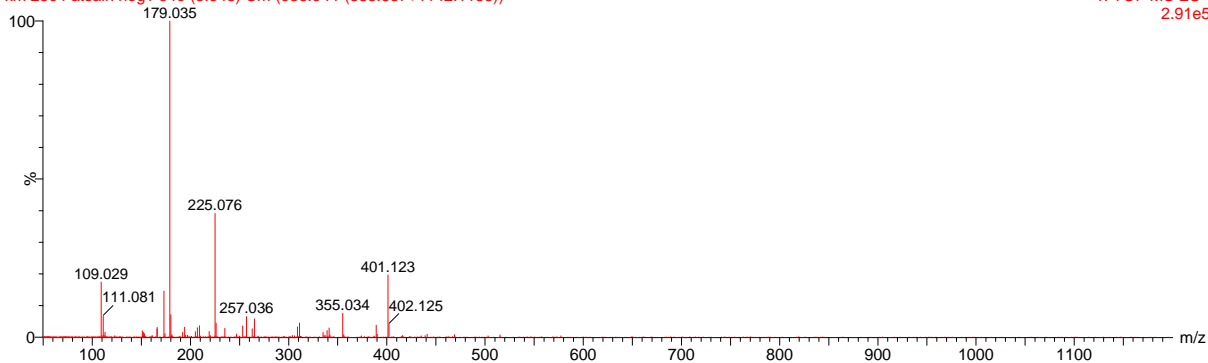
1: TOF MS ES-
6.47e5



16. att. 29. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 940 (3.648) Cm (936:944-(883:887+1142:1155))

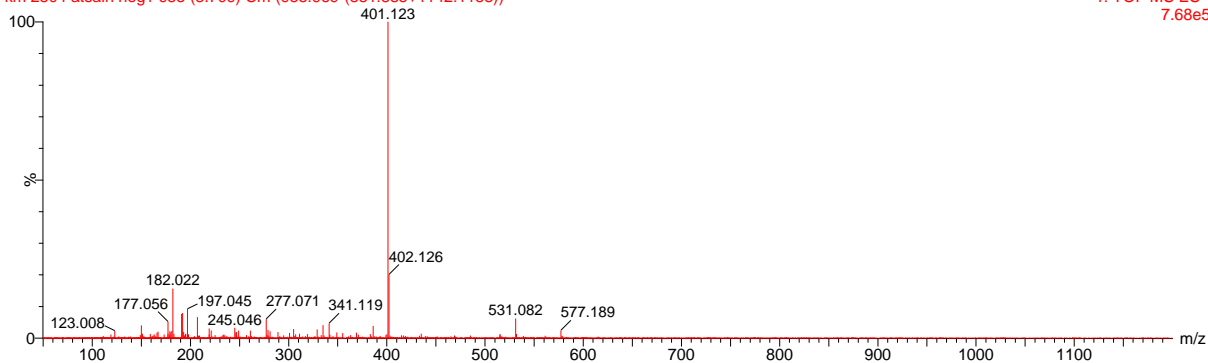
1: TOF MS ES-
2.91e5



17. att. 30. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 955 (3.709) Cm (955:969-(881:885+1142:1153))

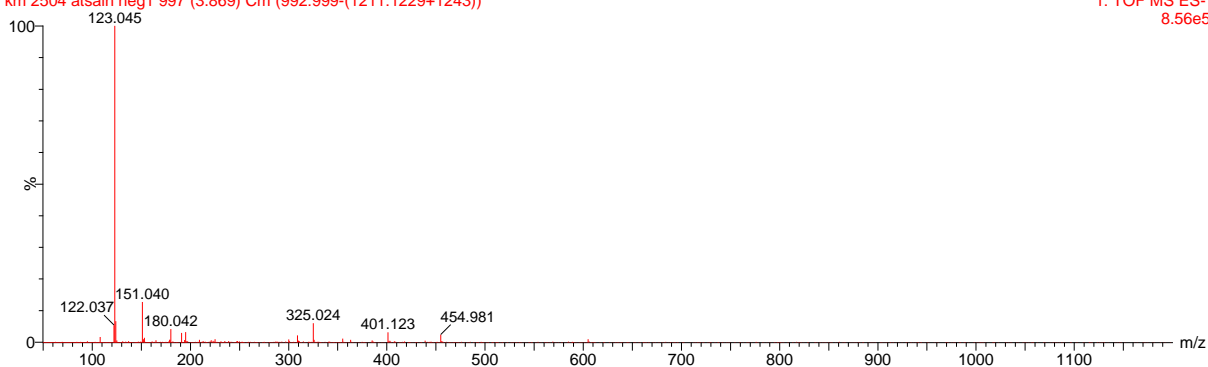
1: TOF MS ES-
7.68e5



18. att. 31. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 997 (3.869) Cm (992:999-(1211:1229+1243))

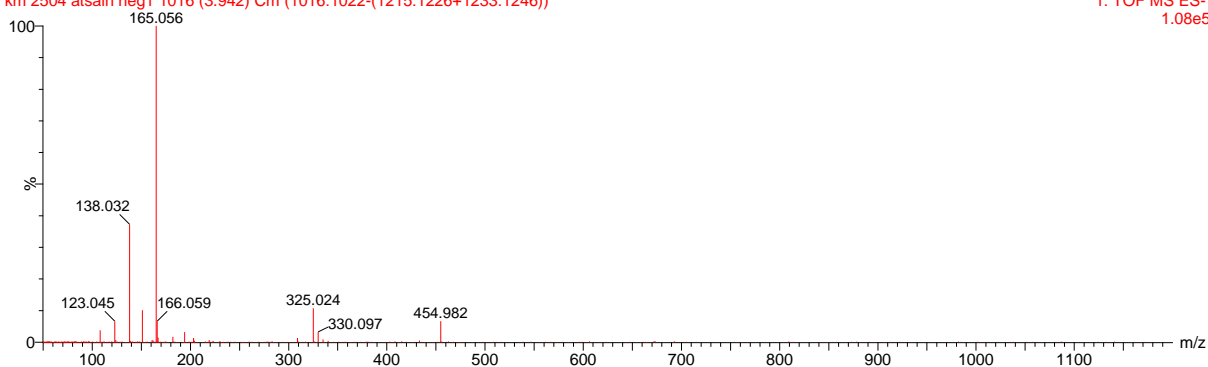
1: TOF MS ES-
8.56e5



19. att. 32. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 1016 (3.942) Cm (1016:1022-(1215:1226+1233:1246))

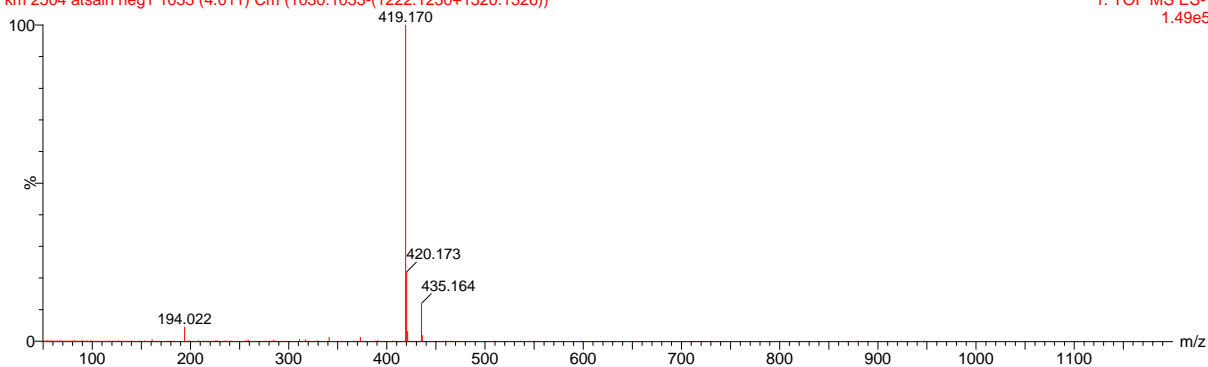
1: TOF MS ES-
1.08e5



20. att. 33. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 1033 (4.011) Cm (1030:1033-(1222:1230+1320:1326))

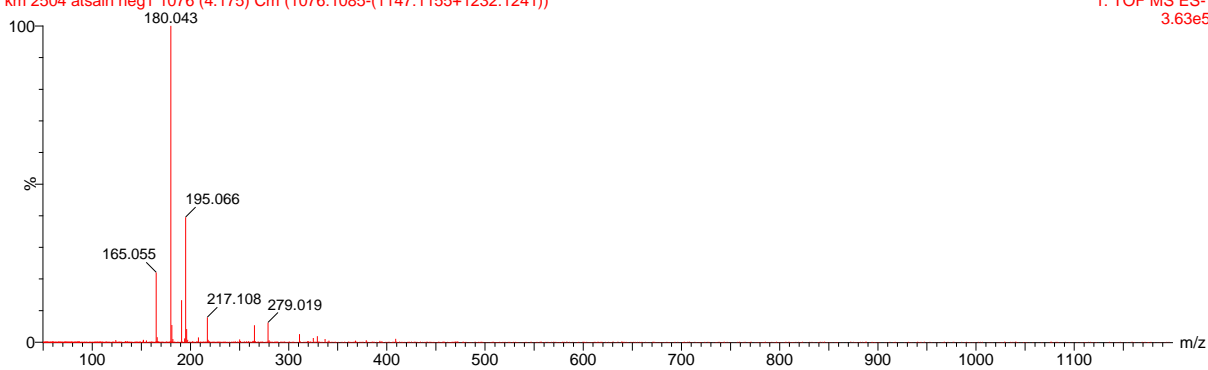
1: TOF MS ES-
1.49e5



21. att. 34. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 1076 (4.175) Cm (1076:1085-(1147:1155+1232:1241))

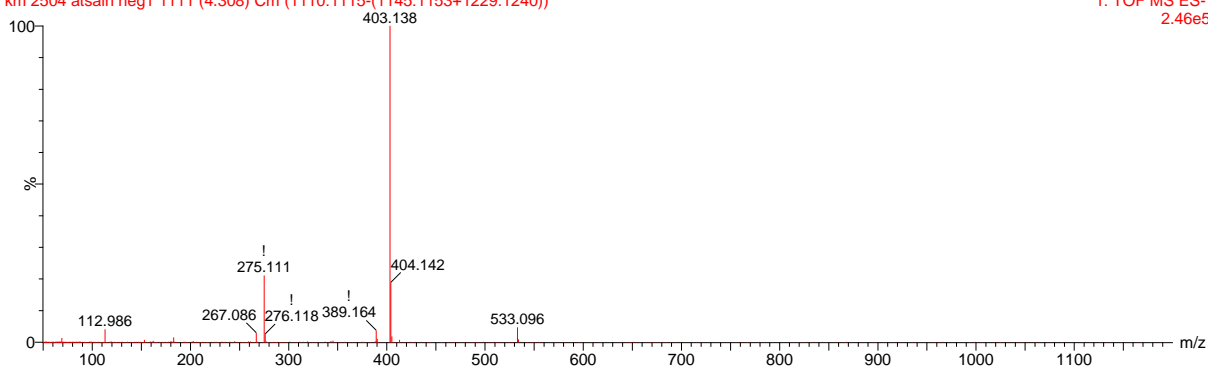
1: TOF MS ES-
3.63e5



22. att. 35. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 1111 (4.308) Cm (1110:1115-(1145:1153+1229:1240))

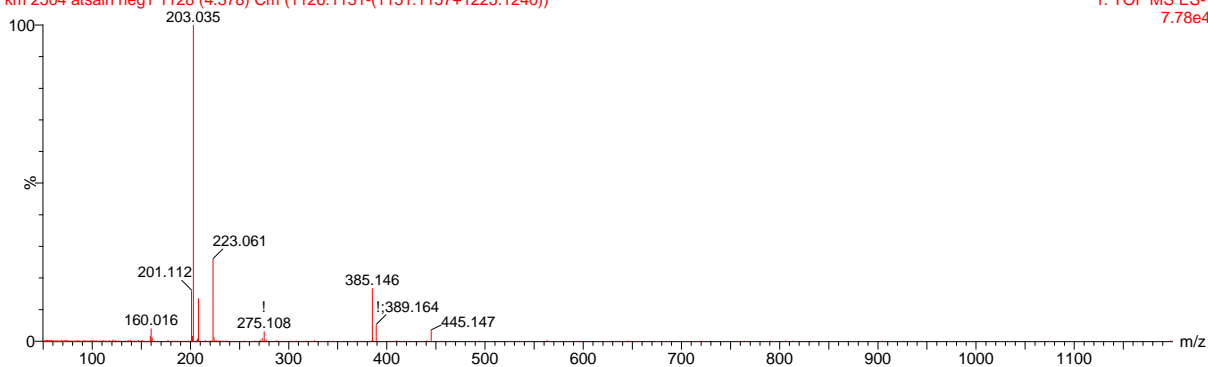
1: TOF MS ES-
2.46e5



23. att. 36. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 1128 (4.378) Cm (1126:1131-(1151:1157+1225:1240))

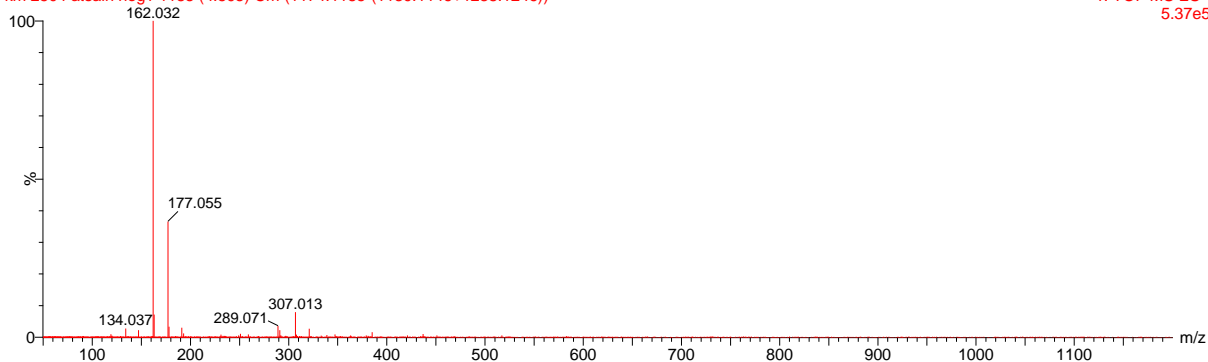
1: TOF MS ES-
7.78e4



24. att. 37. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 1185 (4.595) Cm (1174:1185-(1139:1146+1238:1246))

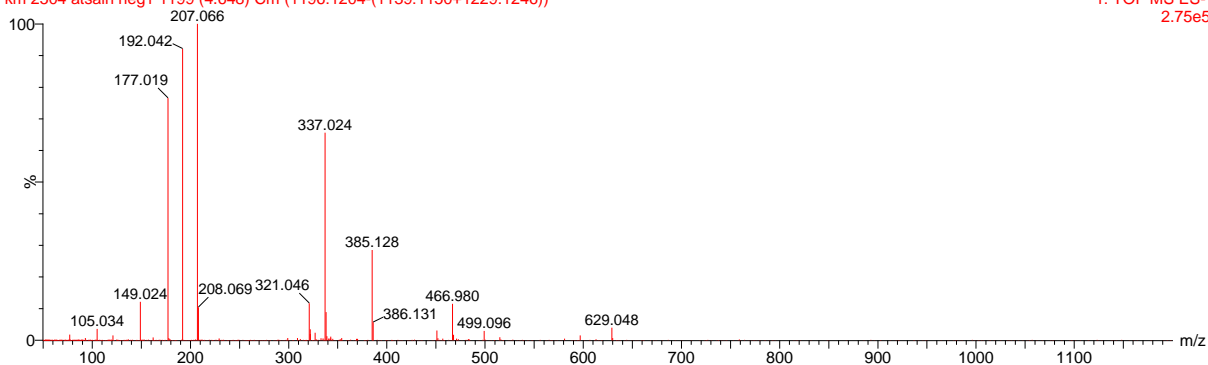
1: TOF MS ES-
5.37e5



25. att. 38. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 1199 (4.648) Cm (1196:1204-(1139:1150+1229:1246))

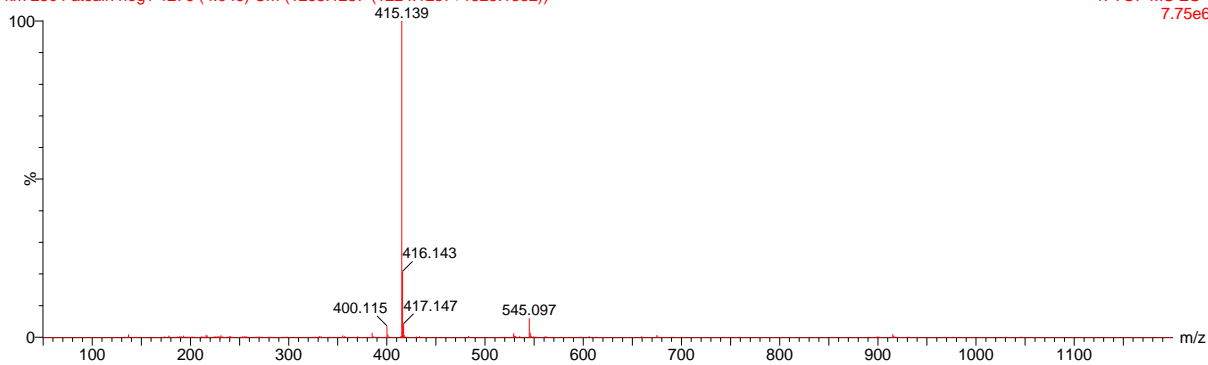
1: TOF MS ES-
2.75e5



26. att. 39. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

km 2504 atsaln neg1 1276 (4.946) Cm (1268:1287-(1224:1237+1325:1332))

1: TOF MS ES-
7.75e6

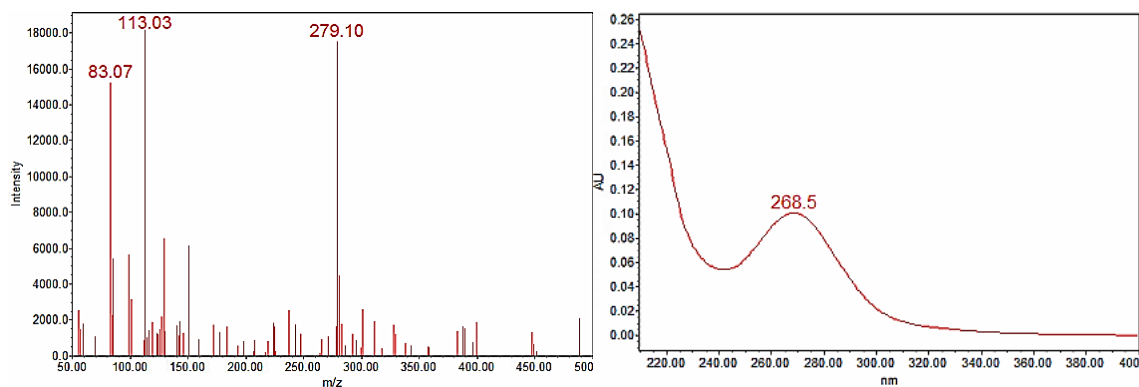


27. att. 40. savienojuma TOF-MS (ESI-) spektrs

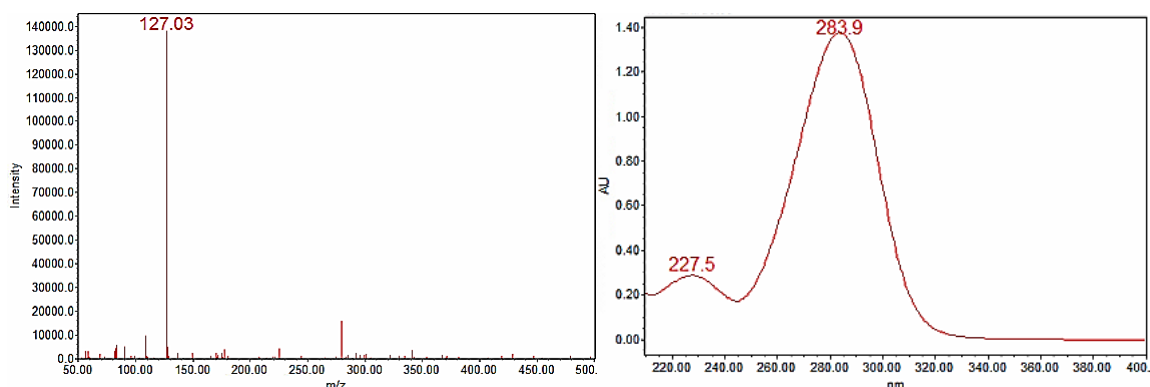
6. pielikums

Pirolīzes kondensātos atrasto furānu un fenolu atvasinājumu MS un UV spektri

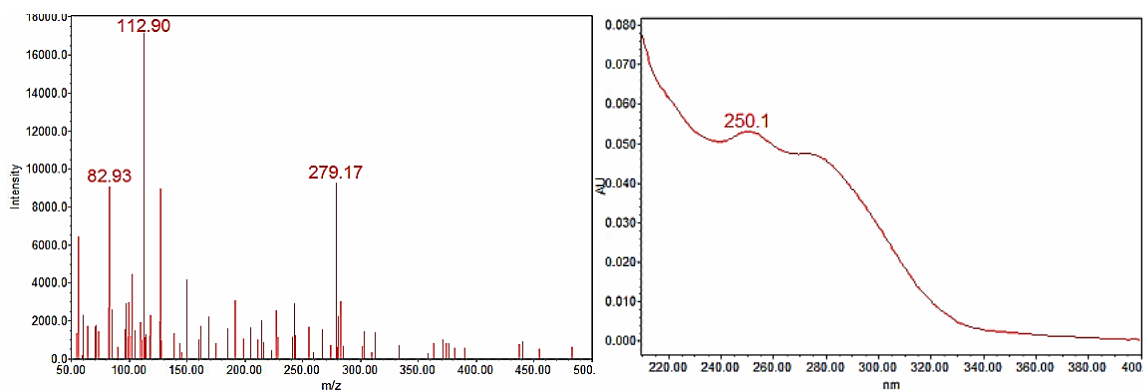
Attēlos redzami K2-4 paraugā atrasto savienojumu MS un UV spektri (izmantota HSS C18 kolonna un fotodiožu detektors UV spektru iegūšanai un kvadrupola MS savienojumu molekulāro vai fragmentjonu molmasas noteikšanai).



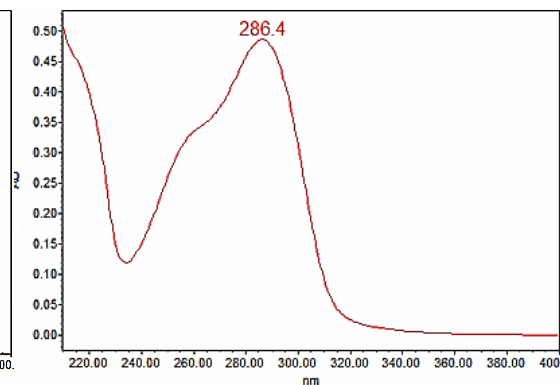
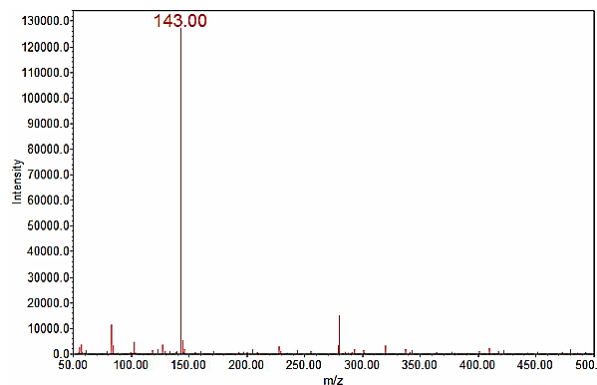
1. att. Savienojuma ar $t_R = 1,13$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



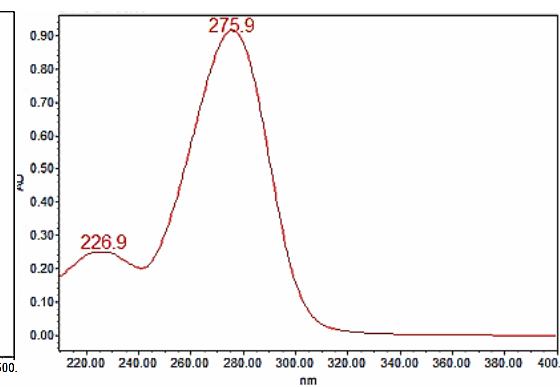
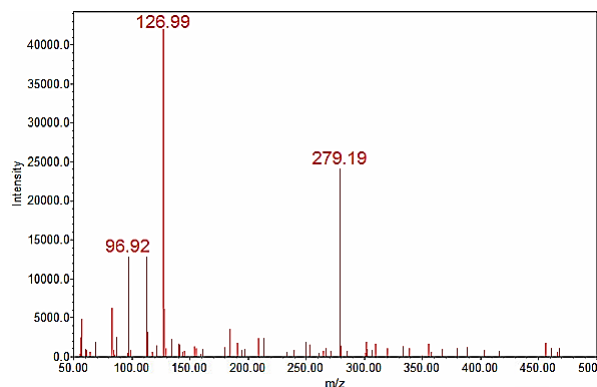
2. att. Savienojuma ar $t_R = 1,45$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



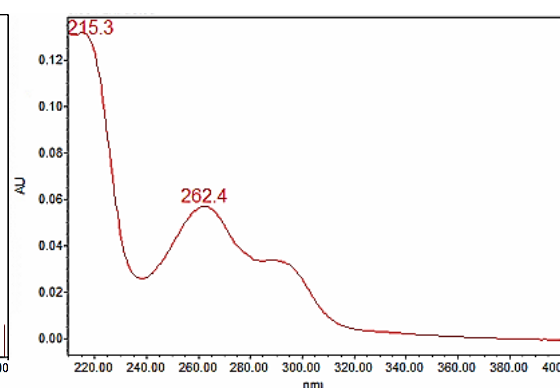
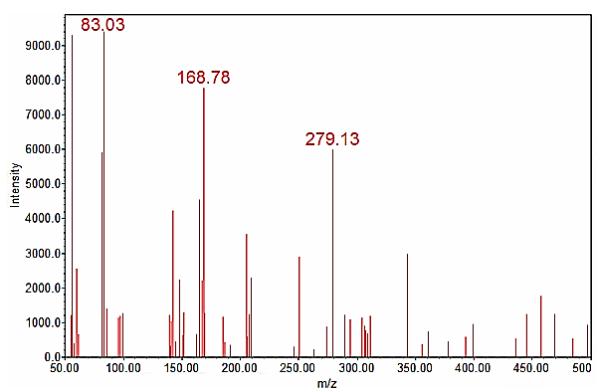
3. att. Savienojuma ar $t_R = 1,59$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



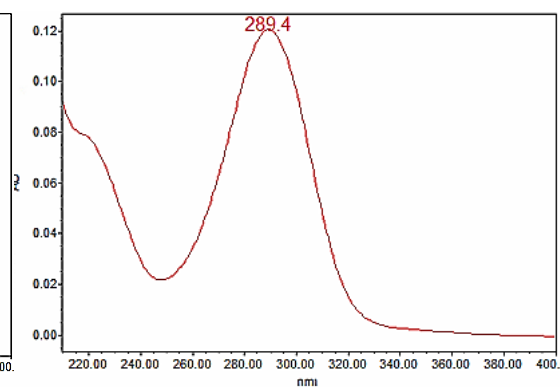
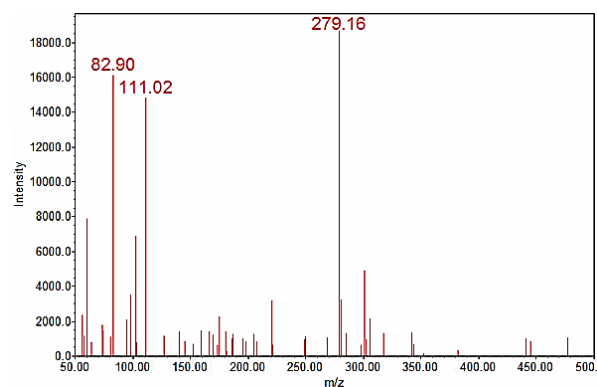
4. att. Savienojuma ar $t_R = 1,76$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



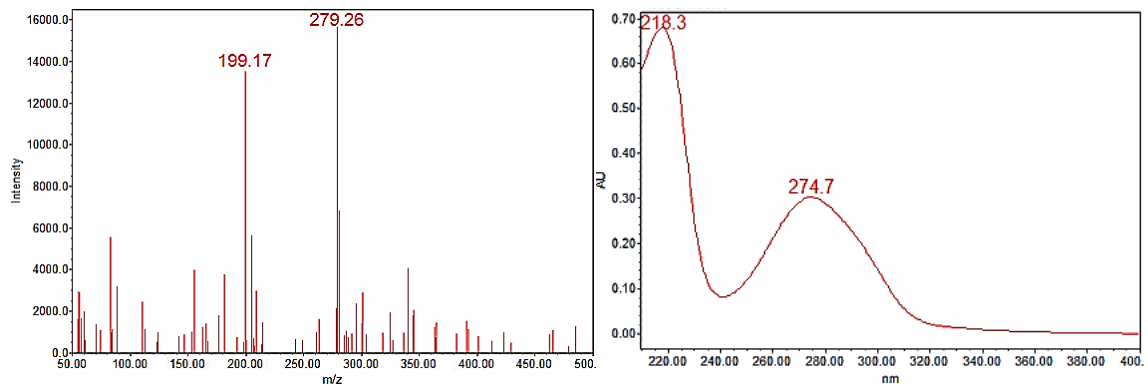
5. att. Savienojuma ar $t_R = 2,15$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



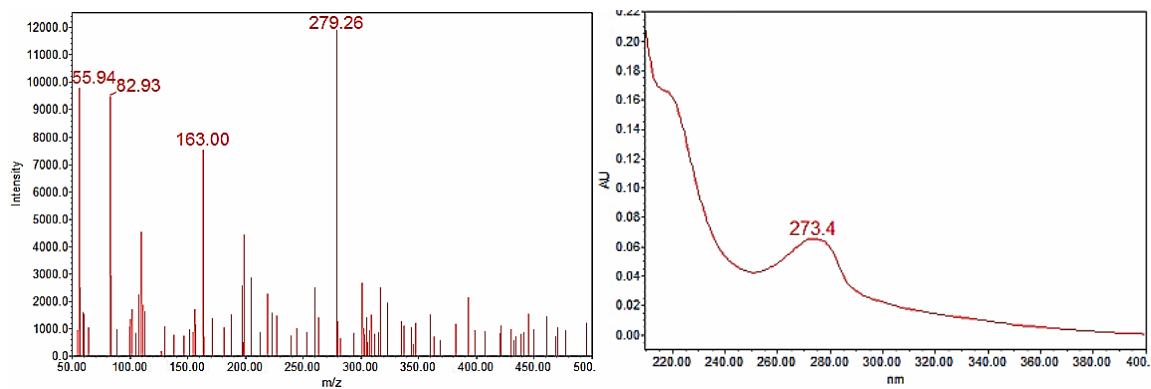
6. att. Savienojuma ar $t_R = 3,99$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



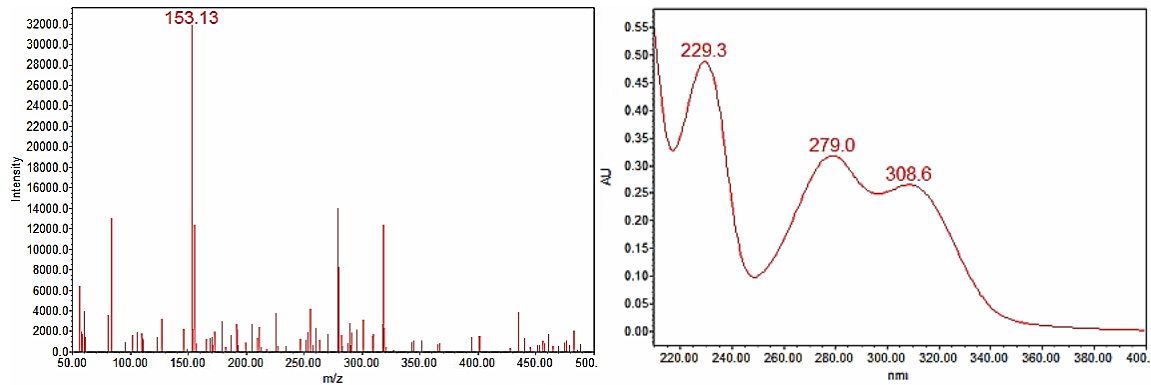
7. att. Savienojuma ar $t_R = 4,23$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



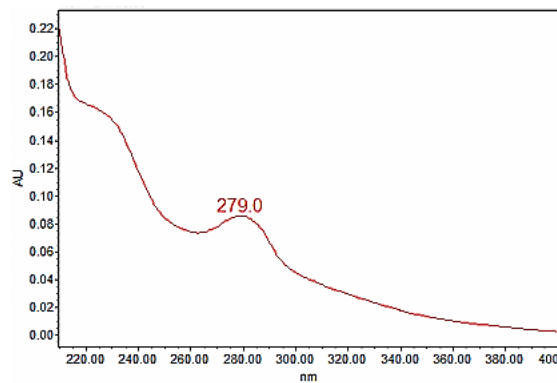
8. att. Savienojuma ar $t_R = 4,53$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



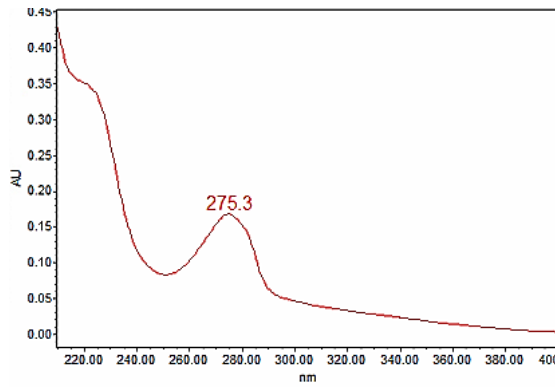
9. att. Savienojuma ar $t_R = 4,61$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



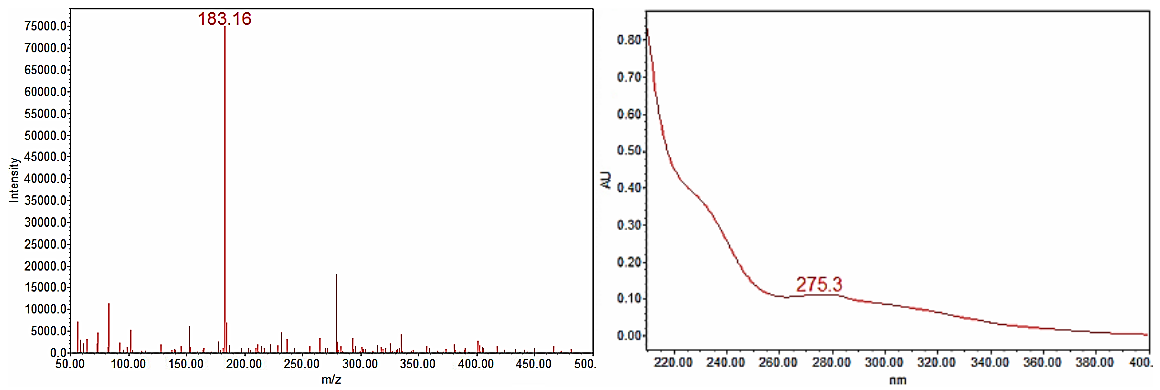
10. att. Savienojuma ar $t_R = 4,80$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



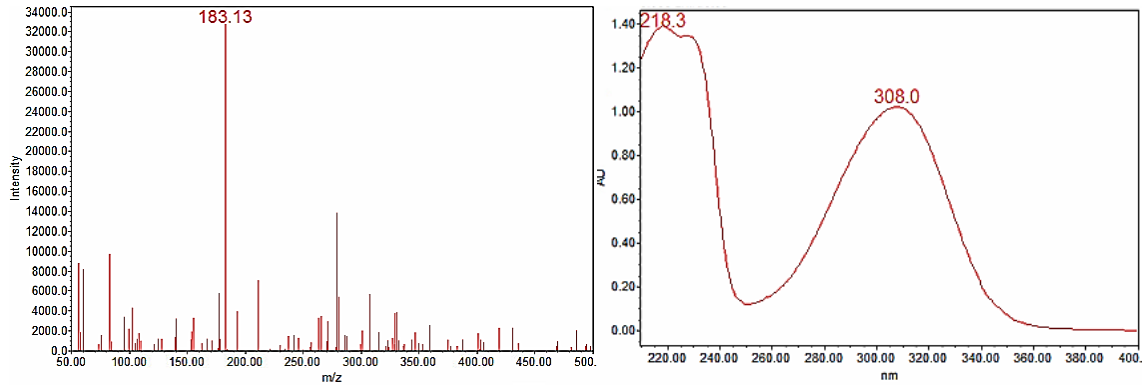
11. att. Savienojuma ar $t_R = 4,88$ min UV spektrs



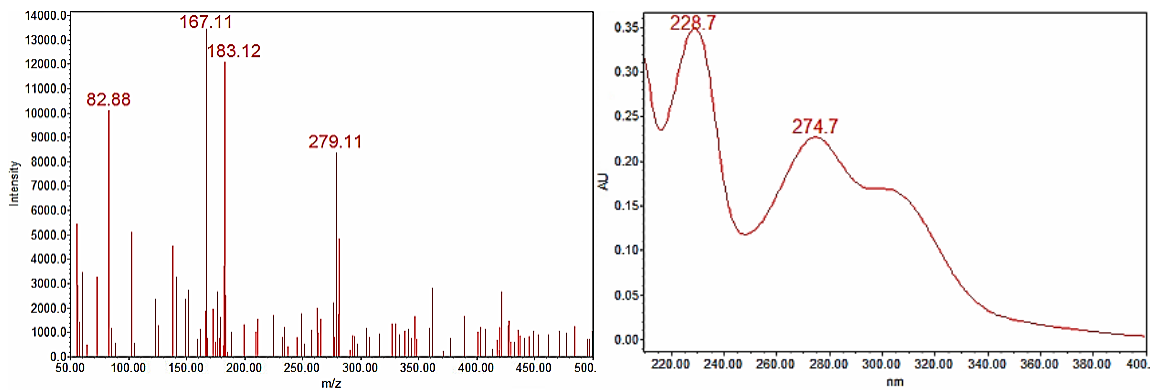
12. att. Savienojuma ar $t_R = 4,94$ min UV spektrs



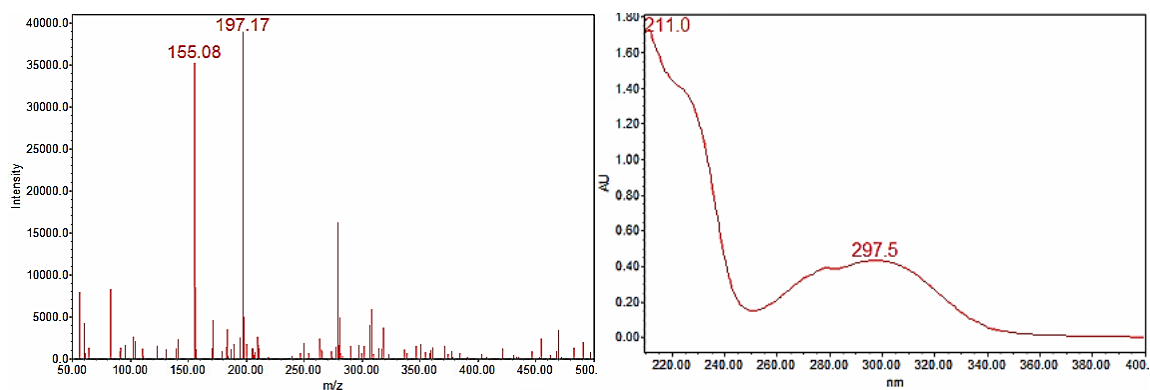
13. att. Savienojuma ar $t_R = 5,02$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



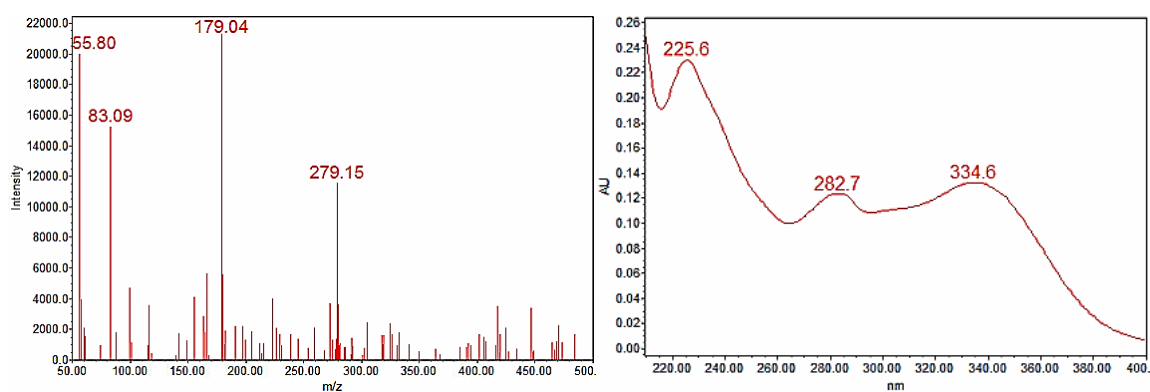
14. att. Savienojuma ar $t_R = 5,04$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



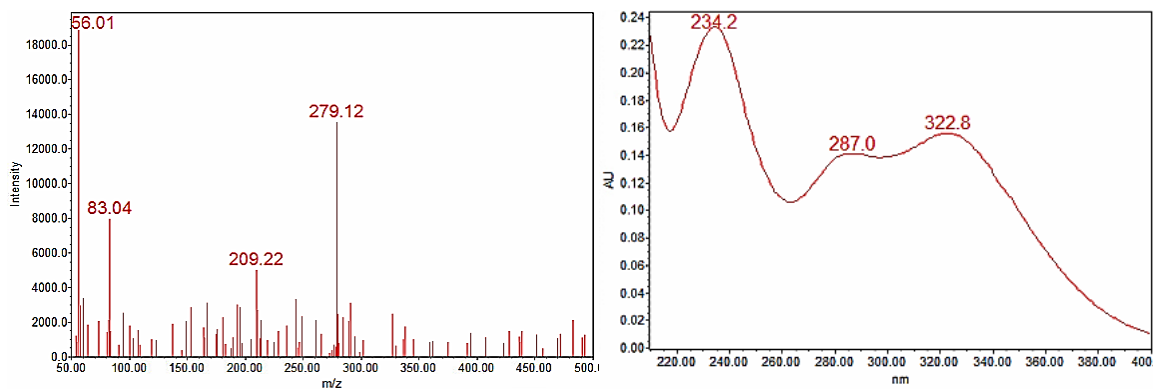
15. att. Savienojuma ar $t_R = 5,08$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



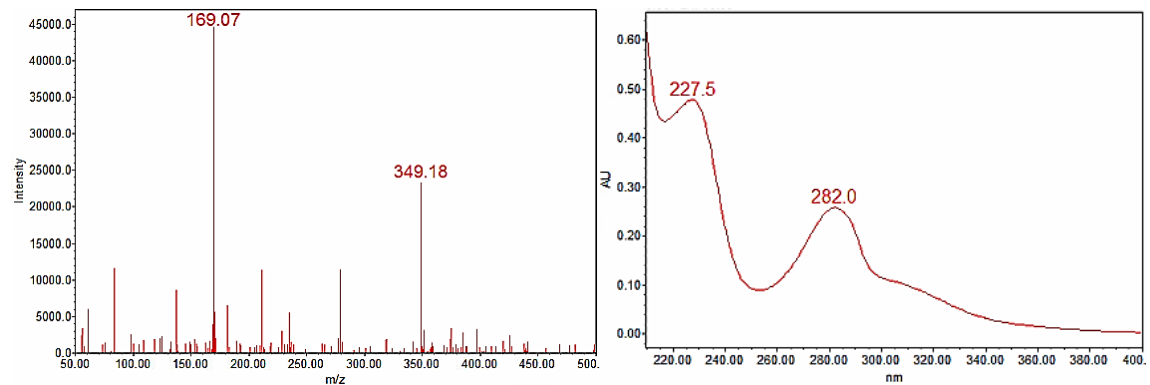
16. att. Savienojuma ar $t_R = 5,20$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



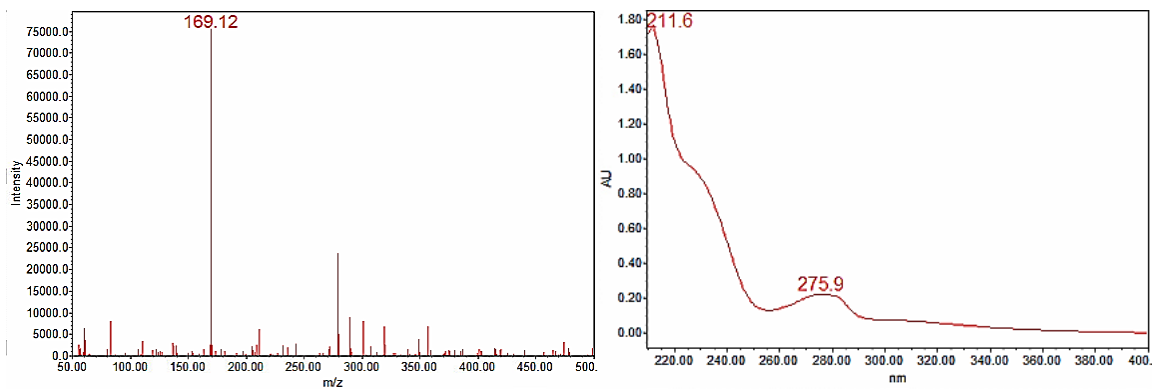
17. att. Savienojuma ar $t_R = 5,46$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



18. att. Savienojuma ar $t_R = 5,51$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri



19. att. Savienojuma ar $t_R = 5,69$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri

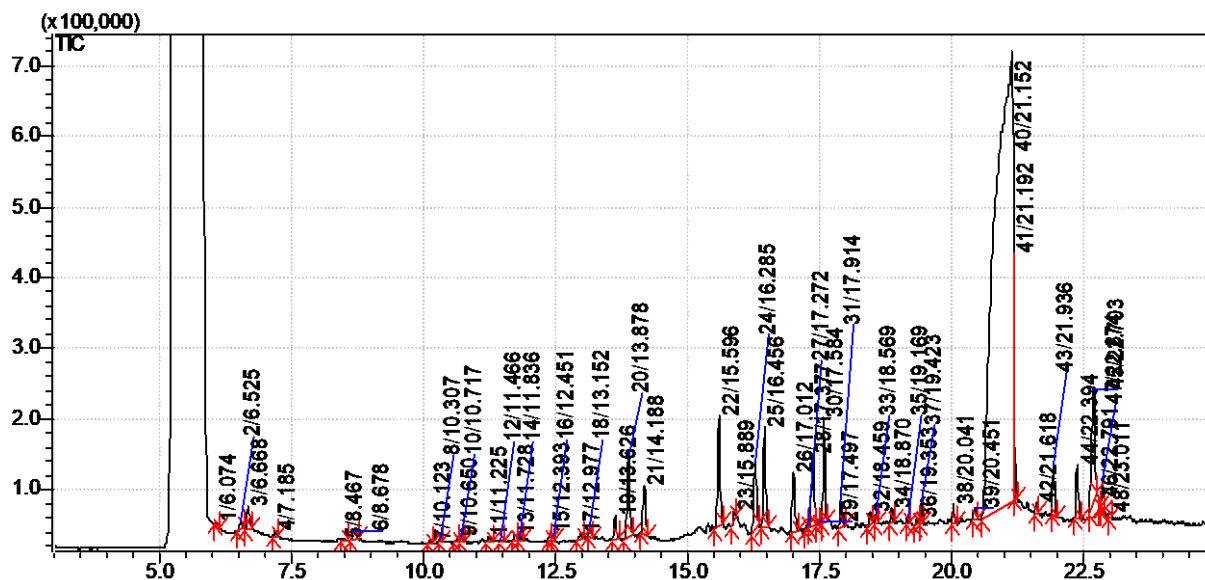


20. att. Savienojuma ar $t_R = 5,71$ min MS (pa kreisi) un UV (pa labi) spektri

7. pielikums

Pirolīzes kondensāta GC-MS hromatogramma

LVKĶI Lignīna laboratorijā pirolīzes produktus analizē ar GC-MS. Attēlā redzama K2-4 kondensāta hromatogramma, kurā detektēti vairāk nekā 40 savienojumi. Savienojumu identifikācija redzama 1. tabulā.



1. att. Pirolīzes kondensāta K2-4 GC-MS hromatogramma (LVKĶI Lignīna laboratorijas rezultāti)

1. tabula

Ar GC-MS pirolīzes kondensātā K2-3 atrastie savienojumi (no NIST datubāzes)

M _w : Nosaukums	t _r , min	Laukums	Laukuma %
72: Metilglioksāls	6,08	18671	0,09
46: Skudrskābe	6,53	38953	0,19
60: Etiķskābe	6,67	102786	0,50
74: 2-Propanons, 1-hidroksi-	7,19	19734	0,10
bp*54 84	8,47	18229	0,09
96: Furfuols	8,68	66661	0,33
102: 2(3H)-Furanons, dihidro-4-hidroksi-	10,12	22095	0,11
98: 1,2-Ciklopentāndions	10,31	14453	0,07
110: 2-Furānkarboksaldehīds, 5-metil-	10,65	27817	0,14
bp55 86	10,72	20352	0,10
84: 2(5H)-Furanons	11,23	25395	0,12
114: 4-Hidroksi-,5,6-dihidro-(2H)-piran-2-ons	11,47	12377	0,06
112: 1,2-Ciklopentāndions, 3-metil-	11,73	29889	0,15
112: 2-Ciklopentēn-1-ons, 2-hidroksi-3-metil-	11,84	15385	0,08
124: Gvajakols	12,39	32988	0,16
128: 3(2H)-Furanons, 4-hidroksi-2,5-dimetil-	12,45	10188	0,05
126: Metil 2-furoāts	12,98	36738	0,18
bp126 128	13,15	53053	0,26
116: Pentānskābe, 4-okso-; Levulīnskābe	13,63	103404	0,50
126: Levoglikozēnons	13,88	411221	2,00
142: 4H-Piran-4-ons, 3,5-dihidroksi-2-metil-	14,19	247728	1,21
144: 1,4:3,6-Dianhidro- α -d-glikopiranoze	15,60	532112	2,59

1. tabulas turpinājums

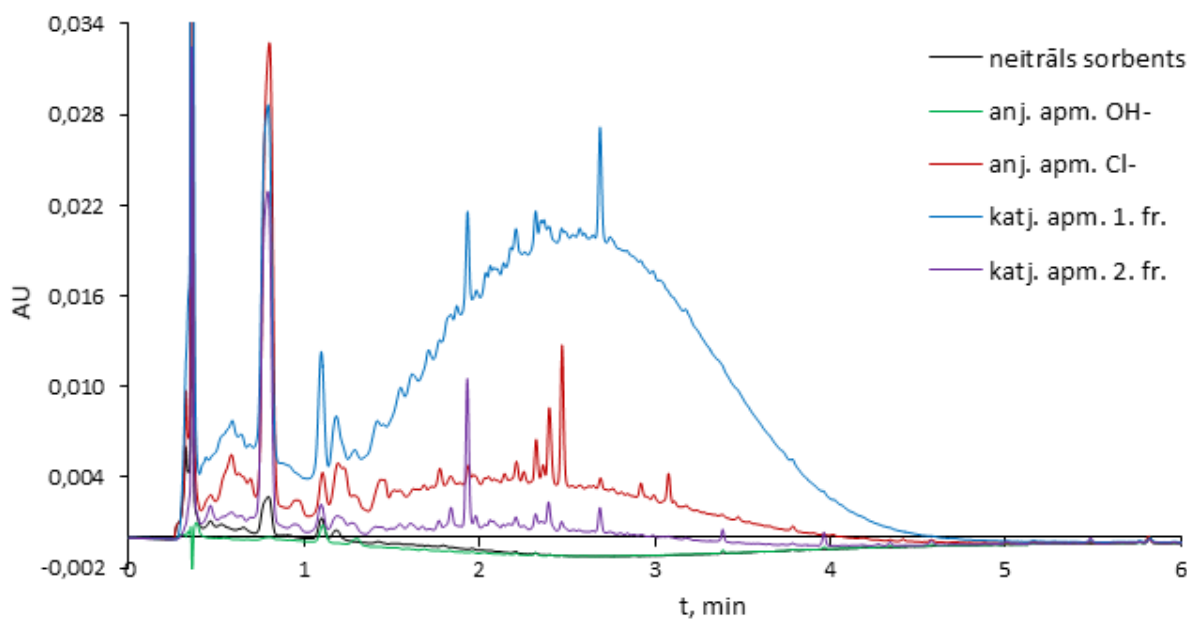
140: 1,2-Benzīndiols, 3-metoksi-	15,89	51443	0,25
126: 2-Furānkarboksaldehīds, 5-(hidroksimetil)-	16,29	322006	1,57
154: Siringols	16,46	446716	2,18
88: 2-Butēn-1,4-diols, (Z)-	17,01	287457	1,40
bp29 57 85	17,27	16769	0,08
144: 2-Hidroksimetil-5-hidroksi-2,3-dihidro-(4H)-piran-4-ons	17,38	366523	1,79
bp57	17,50	18067	0,09
168: Siringols, 4-metil-	17,59	399250	1,95
152: Vanilīns	17,91	107300	0,52
182: Siringols,4-etil-	18,46	45841	0,22
166: Homovanilīns	18,57	31421	0,15
166: Acetogvajakons	18,87	52761	0,26
180: Siringols, 4-vinil-	19,17	22187	0,11
194/196: Siringols, 4-allil- un 4-propil-	19,35	16037	0,08
180: Gvajacilacetons	19,42	59762	0,29
194: Propiogvajakons, α -oksi-	20,04	66549	0,32
bp43	20,45	69637	0,34
162: 1,6-Anhidro- β -D-glikopiranoze	21,15	14781624	72,06
182: Siringaldehīds	21,19	179683	0,88
196: Homosiringaldehīds	21,62	38708	0,19
196: Acetosiringons	21,94	191883	0,94
210: Siringilacetons	22,39	220103	1,07
162: 1,6-Anhidro- β -D-glikofuranoze	22,70	718345	3,50
180: Propiogvajakons	22,79	12793	0,06
224: Propiosiringons, α -oksi-	22,87	105830	0,52
bp167	23,01	21395	0,10
			100 %

*bp – base peak

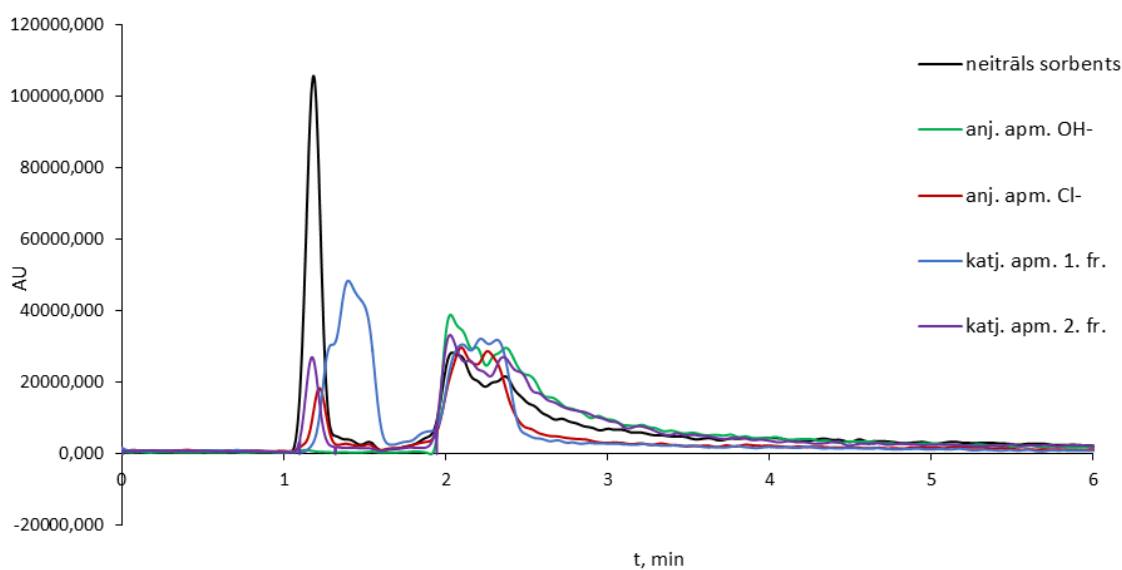
8. pielikums

No pirolīzes produktiem ar dažādām preparatīvās hromatogrāfijas kolonnām izdalītās frakcijas

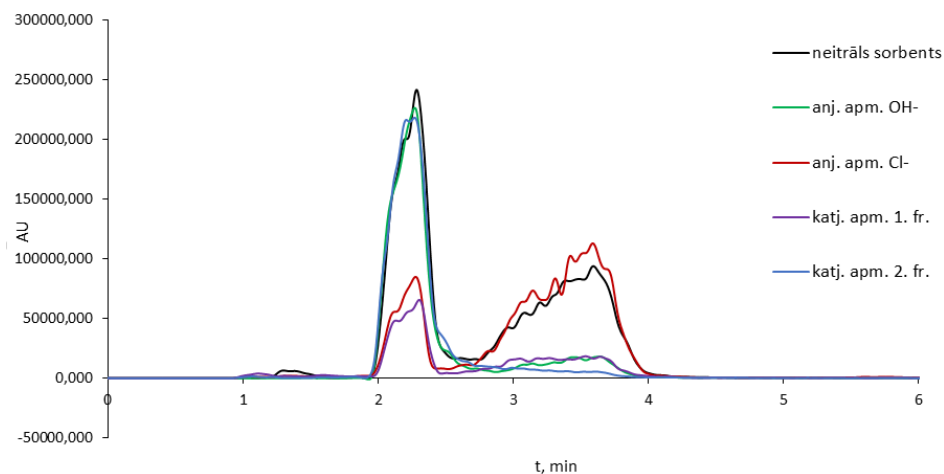
Attēlos redzamas SEC un UHPLC hromatogrammas frakcijām, kas iegūtas no viena un tā paša pirolīzes produktu parauga, izmantojot preparatīvo hromatogrāfiju ar dažādiem polimēru sveķu sorbentiem – neitrālus sveķus, anjonu apmaiņas sveķus OH⁻ vai Cl⁻ formā un katjonu apmaiņas sveķus Ca²⁺ formā (katjonu apmaiņa sveķu gadījumā tika iegūtas divas frakcijas).



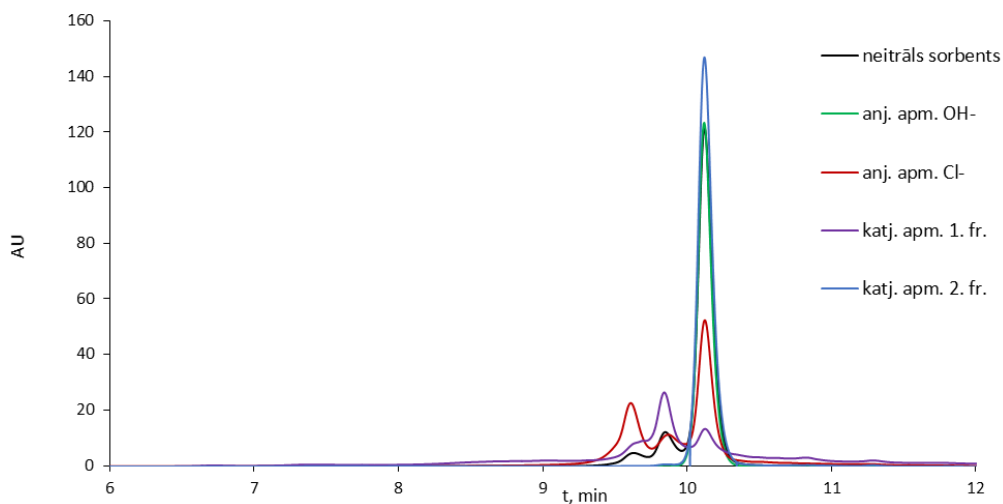
1. att. Frakciju UHPLC-UV hromatogrammas, kas raksturo galvenokārt fenolu saturu



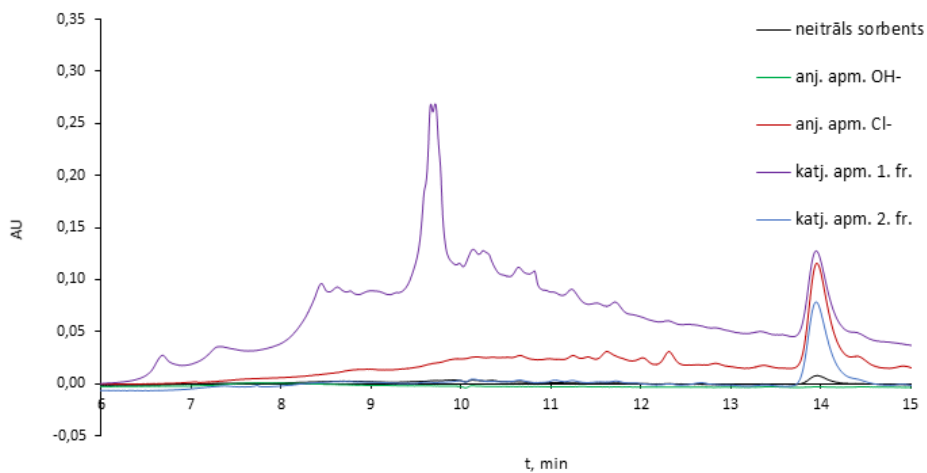
2. att. Frakciju UHPLC(Amīdu)-MS hromatogrammas, kas raksturo anhidrosaharīdu saturu ar m/z 161 ESI- režīmā



3. att. Frakciju UHPLC(Amīdu)-MS hromatogrammas, kas raksturo anhidrosaharīdu saturu ar m/z 323 ESI- režīmā



4. att. Frakciju SEC-RI hromatogrammas, kas raksturo savienojumu sadalījumu paraugos pēc molmasām



5. att. Frakciju SEC-UV hromatogrammas, kas raksturo UV absorbējošo savienojumu sadalījumu paraugos pēc molmasām

Dokumentārā lapa

Promocijas darbs „Koksnes pirolīzes kondensātu preparatīva sadalīšana un analīze ar šķidrums hromatogrāfijas metodēm” izstrādāts Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūta Biorafinēšanas laboratorijā un Latvijas Universitātes Ķīmijas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autore: _____/Kristīne Meile/ _____
(paraksts) (datums)

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai:

Vadītājs: _____/prof., *Dr. chem.* Arturs Vīksna/ _____
(paraksts) (datums)

Vadītājs: _____/*Dr. sci. ing.* Aivars Žūriņš/ _____
(paraksts) (datums)

Darbs aizstāvēts LU Ķīmijas fakultātes Promocijas padomes sēdē:

11.04.2019. protokols Nr. _____

Padomes sekretāre: _____/*Dr. chem.* Vita Rudoviča/

Ar promocijas darba tēmu saistītās publikācijas

1. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Spince, B.; Dobele, G. Application of Ion Exchange Resins in the Separation of Valuable Compounds from Wood Pyrolysis Liquids. *Key Eng Mat*, **2014**, *604*, 232-235
2. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Dobele, G. Characterization of the Anhydrosugar Content in Pyrolysis Liquids with Column Chromatography and Iodometric Titration. *Energetika*, **2014**, *60*, 149-164
3. Meile, K.; Zhurinsh, A. Preparative Solid Phase Extraction for the Purification of Levoglucosan Obtained from Lignocellulose. *Key Eng Mat*, **2017**, *721*, 82-86
4. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Viksna, A. Comparison of Photodiode Array, Evaporative Light Scattering, and Single Quadrupole Mass Spectrometric Detection Methods for the UPLC Analysis of Pyrolysis Liquids. *J Liq Chromatogr R T*, **2017**, *8*, 369-375
5. Meile, K.; Zhurinsh, A.; Briede, L.; Viksna, A. Investigation of the Sugar Content in Wood Hydrolysates with Iodometric Titration and UPLC-ELSD. *Agronomy Research*, **2018**, *16*, 167-176