

VYUŽITIE CHROMATOGRAFICKÝCH METÓD NA CHARAKTERIZÁCIU PRODUKTOV STARNUTIA CELULÓZOVÝCH MATERIÁLOV

KATARÍNA HROBOŇOVÁ, MICHAL JABLONSKÝ,
MILAN KRÁLIK a KATARÍNA VIZÁROVÁ

Slovenská technická univerzita v Bratislave, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
katarina.hrobonova@stuba.sk

Došlo 31.3.20, prijaté 12.5.20.

Kľúčové slová: celulóza, degradačné produkty, analytické metódy, chromatografické metódy

Obsah

1. Úvod
2. Degradácia papiera
3. Aplikácie chromatografických metód v analýze papiera
 - 3.1. Sacharidy
 - 3.2. Organické kyseliny
 - 3.3. Fenolové zlúčeniny
 - 3.4. Prchavé organické zlúčeniny
 - 3.5. Hodnotenie stupňa polymerizácie
4. Záver

1. Úvod

Papier je jedným z pokrokových vynálezov v dejinách ľudstva, ktorý mal veľký vplyv na spoločnosť. Hlavné historické písomné dokumenty sú ohrozené aj napriek tomu, že výroba papiera prešla vývojom v snahe splniť požiadavky knihovníkov a archivárov na zvýšenie jeho stability. V dôsledku starnutia papiera dochádza k zmenám jeho vlastností, ktoré môžu viesť k zhoršeniu čitateľnosti, zníženiu mechanickej pevnosti, až k jeho rozkladu. Starnutie papiera sa v súčasnosti podrobne študuje s cieľom prešetriť jeho mechanizmy, charakterizovať produkty rozkladu tohto celulózového produktu a minimalizovať následky degradácie. Chémia starnutia sa prešetruje pomocou experimentov urýchleného starnutia, ktoré modelujú prirodzené starnutie papiera a celulózy. Snahou mnohých výskumných skupín je vyvíjať analytické a mikroanalytické metódy na charakterizáciu stavu papiera. Využívajú sa viaceré chromatografické, spektrometrické, termické a mikroskopické techniky, ktoré sa volia na základe ich použiteľnosti na hodnotenie vybraných vlastností. Dôležitým kritériom výberu je aj malé množstvo požadovaných skúšobných vzoriek. Využitie analytických techník v analýze papiera

je zhrnuté v tab. I. Techniky kvapalinovej a plynovej chromatografie v spojení s pokročilými detektormi našli uplatnenie pri identifikácii a stanovení širokej škály zlúčenín, degradačných produktov, s rôznou polaritou, molekulovou hmotnosťou a prchavosťou. Cieľom tohto prehľadového článku je stručne popísať využiteľnosť chromatografických metód na separáciu a stanovenie hlavných produktov starnutia papiera, ako aj metód na hodnotenie polymerizačného stupňa celulózy, pričom sme vychádzali aj z vlastných skúseností. Zdokonalené a validované analytické metódy môžu byť prínosom pre oblasť ochrany nášho informačného dedičstva.

2. Degradácia papiera

Papier je multikomponentný materiál reprezentovaný najmä celulózovými vláknami, avšak v závislosti od postupu prípravy papieroviny a papiera, môže obsahovať aj zvyšky hemicelulózy a lignínu, ktoré sú viac alebo menej modifikované v technológii výroby papiera. Pre papier vyrábané v 19.–20. storočí je typická kyslosť, spôsobená prídávaním živcových glejidiel na báze hlinitých solí. Práve kyslá hydrolyza celulózy je jedným z dominantných procesov degradácie papiera. Pri práci s originálmi, ako sú historické knihy a dokumenty, nesmie dôjsť k poškodeniu objektu, preto sa vo výskume využíva urýchlené simulované starnutie modelových vzoriek, ktoré umožňuje štúdium degradácie materiálov, napomáha kvalifikovanému odhadu účinku konzervačného zásahu (aj účinnosti novovyvíjaných a aplikovaných ochranných a konzervačných technológií), umožňuje predpovedať dlhodobé účinky pôsobenia teploty, vlhkosti, žiarenia a znečisteného ovzdušia na testované materiály. Urýchlené starnutie používa náročnejšie podmienky (teplota, kyslík, slnečné a iné druhy žiarenia, vibrácie, prítomnosť polutantov, atď.) na to, aby došlo k urýchleniu normálneho procesu starnutia a degradácie zložiek materiálu alebo objektu. Existuje niekoľko metód a postupov na modelovanie urýchleného starnutia papiera, ktoré sa vykonávajú na základe noriem. Najčastejšie sa aplikuje postup pri zvýšenej teplote a relatívnej vlhkosti v hermeticky uzavretom priestore a definovanom čase (ASTM D 6819-02)¹. Napríklad postup uskutočnený pri teplote 105 °C počas 3 dní modeluje starnutie zodpovedajúce približne 25ročnému prirodzenému starnutiu pri 20 °C (resp. 18 °C)². Druh a množstvo degradačných produktov závisí od základných charakteristík papiera, podmienok starnutia a dĺžky expozície. Na základe typu zlúčenín, ich pôvodu a použitých metód na identifikáciu a stanovenie sa produkty degradácie papiera dajú zatriediť do štyroch skupín, jednoduché cukry a oligosacharidy, alifatické organické kyseliny, fenolové zlúčeniny a prchavé organické zlúčeniny³.

Tabuľka I
Analytické techniky využívané v analýze papiera

Hodnotená vlastnosť	Technika ^a
Identifikácia a stanovenie kyselín, kyslosť	HPLC, meranie pH
Degradácia celulózy, polymerizačný stupeň	SEC, viskozimetria
Degradačné produkty, identifikácia a stanovenie	HPLC, GC, MS
Prítomnosť kovov, iónov kovov	AAS
Zmeny vlastnosti materiálu v závislosti od teploty	TG, TDA, DSC, iné
Identifikácia, analýza chemických zmien, analýza povrchu materiálu	FTIR, SEM, XPS, UV/Vis, RS, iné

^a DSC – diferenčná kompenzačná kalorimetria, DTA – diferenčná termická analýza, GPC – gélová permeačná chromatografia, RS – Ramanova spektroskopia, SEC – chromatografia s vylučovaním podľa veľkosti molekúl, SEM – skenovacia elektrónová mikroskopia, TG – termogravimetria, XPS – röntgenová fotoelektrónová spektrometria

3. Aplikácie chromatografických metód v analýze papiera

3.1. Sacharidy

Vplyvom degradačných procesov v papieri dochádza ku vzniku uhlíkovodíkových fragmentov z celulózy a hemi-celulózy. Hlavnými degradačnými produktami sú monosacharidy (napr. arabinóza, xylóza, manóza, galaktóza, glukóza) a oligosachridy (hlavne celobióza, celotrióza a celotetraóza). Sacharidy boli identifikované ako produkty oboch, prirodzeného a modelovaného urýchleného starnutia^{4,5}. Na separáciu sacharidov (monosacharidov a disacharidov) sa používajú kapilárna elektroforéza⁴, chromatografické metódy (hlavne GC po derivatizácii analytov⁶) a kvapalinová chromatografia^{7,8}. HPLC využíva niekoľko typov separačných mechanizmov charakterizovaných typom použitej stacionárnej a mobilnej fázy, reverzno-fázový mód (RP) po derivatizácii sacharidov, iónovo-výmenný systém (IEX), hydrofilnú interakčnú (HILIC) a iónovo-párovú (IPC) chromatografiu. Bežné spôsoby detekcie používané pre HPLC zahŕňajú refraktometrickú, UV/Vis spektrofotometrickú a elektrochemickú (napr. pulznú ampérometrickú) detekciu, detekciu rozptylu žiarenia (ELSD – Evaporative Light Scattering Detector) a MS detekciu. Citlivosť UV a refraktometrického detektora je podobná, ale nie dosť vysoká na stanovenie stopových koncentrácií sacharidov. Jednou z možností zvýšenia citlivosti je fluorescenčná detekcia s využitím pred- alebo po-kolónovej derivatizácie činidlami ako napr. FMOC (fluorenylmethoxycarbonyl) hydrazín, dansylhydrazín, kyselina 2-aminobenzoová, 1-fenyl-3-metyl-5-pyrazolón a iné⁹.

Porovnanie troch metód na stanovenie sacharidov vo vodných extraktoch papiera po modelovom urýchlenom starnutí ukázalo možnosti ich použitia⁸. Na HPLC separáciu vybraných sacharidov sa testovali tri typy stacionárnych fáz. Iónovo-výmennou chromatografiou na kolóne Polymer IEX-H sa nedosiahla požadovaná separácia

($R_{ij} \geq 1,5$) sacharidov. Hodnoty rozlišovacích faktorov pre skupinu látok xylóza/manóza/galaktóza/metyl-D-glukopyranozid/fruktóza boli nízke ($R_{ij}=0,3-0,6$) a zvýšenie účinnosti separácie sa nedosiahlo ani zmenou koncentrácie kyseliny sírovej v mobilnej fáze (v rozsahu 0,005–0,020 mol l⁻¹). Uvedená metóda bola však vhodná na separáciu menšej skupiny sacharidov, ako sú napr. laktóza, glukóza, xylóza, fruktóza, arabinóza s časom analýzy do 15 min. Účinnjšia separácia študovanej skupiny sacharidov sa dosiahla použitím kolóny NH₂ typu (Separon SGX NH2) s mobilnou fázou acetonitril–voda (82:18, v/v). Doba analýzy bola 44 min a hodnoty R_{ij} boli v rozsahu 0,7–7,8. Táto metóda bola aplikovaná na separáciu sacharidov priamo vo vodnom extrakte papiera po procese modelovaného urýchleného starnutia. Koncentrácia sledovaných sacharidov však bola pod medzou stanovenia danej metódy ($LOQ = 0,25-1,5$ mg ml⁻¹). Na skoncentrovanie analytov v extraktoch sa testovala možnosť on-line skoncentrovania sacharidov na predkolóne so stacionárnou fázou NH₂ typu, avšak dochádzalo k vysokým stratám analytov. Tretia testovaná metóda bola založená na predkolónovej derivatizácii sacharidov s dansylhydrazínom. Toto derivatizačné činidlo bolo zvolené preto, že reakcia bola rýchla, uskutočňovala sa vo vodnom prostredí a citlivosť detekcie bola dostatočne vysoká aj pre stopové koncentrácie sacharidov, zvlášť vo vzorkách so zložitou maticou. Na separáciu derivatizačných produktov bola vhodná RP HPLC (stacionárna fáza Nucleosil 120-5 C18, mobilná fáza acetonitril/0,08 mol l⁻¹ kyselina octová, 21/79, v/v) s fluorescenčnou detekciou. Jedným z rozhodujúcich kritérií na hodnotenie testovaných metód bola medza stanovenia (predpokladaná koncentrácia sacharidov vo vodných extraktoch vzoriek papiera bola nízka, \leq ppm). Použitím metódy s derivatizáciou a fluorescenčnou detekciou sa dosiahli medze stanovenia viac ako 10krát nižšie v porovnaní s IEX metódou a metódou s on-line predkoncentraciou⁸. V tab. II sú uvedené ďalšie príklady HPLC metód použité na stanovenie sacharidov v extraktoch papiera, biomasy a iných vzoriek so zložitou maticou.

Tabuľka II
Prehľad vybraných HPLC metód na stanovenie sacharidov

Stanovované analyty	Vzorka, príprava vzorky	Podmienky separácie a detekcie ^a	Lit.
16 sacharidov	referenčné látky	SF: Nucleosil CHO 682 (Pb) MF: voda Pt: 0,4 ml min ⁻¹ TK: 85 °C Det: RI	7
Celobióza, D-arabinóza, D-fruktóza, D-galaktóza, D-glukóza, D-manóza, laktóza, D-xylóza, metyl- D-glukopyranozid	papier, extrakcia vodou	SF: Polymer IEX-H MF: 0,009 mol l ⁻¹ H ₂ SO ₄ Pt: 0,5 ml min ⁻¹ TK: 25 °C Det: RI SF: Separon SGX NH2 MF: acetonitril/voda (82/18, v/v) Pt: 0,6 ml min ⁻¹ TK: 25 °C Det: RI SF: Nucleosil 120-5 C18 MF: acetonitril/0,08 mol l ⁻¹ kyselina octová (21/79) Pt: 1,0 ml min ⁻¹ TK: 35 °C Det: fluorescenčný ($\lambda_{\text{Ex}}=360$ nm, $\lambda_{\text{Em}}=470$ nm)	8
D-xylóza, D-galaktóza, L-arabinóza, D-manóza, D-glukóza, holocelulóza	papier, hydrolýza s H ₂ SO ₄ (72%)	SF: Aminex HPX-87P MF: voda Pt: 0,6 ml min ⁻¹ TK: 80 °C Det: RI	10
D-xylóza, D-galaktóza, L-arabinóza, D-manóza, D-glukóza, D-fruktóza	biomasa, enzymatická hydrolýza	SF: Col-AMINO MF: acetonitril/voda (75/25, v/v) Pt: 1,0 ml min ⁻¹ TK: 35 °C Det: RI	11
D-xylóza, D-galaktóza, L-arabinóza, D-manóza, D-glukóza, D-celobioza	biomasa, hydrolýza s H ₂ SO ₄ (72%)	SF: Aminex HPX-87P MF: voda Pt: 0,6 ml min ⁻¹ TK: 80-85 °C Det: RI	12
L-ramnóza, D-xylóza, L-arabinóza, D-glukóza, D-celobióza sacharóza	rastlinný materiál, kvapalinová extrakcia podporená ultrazvukom	SF: Zorbax-NH2 MF: acetonitril/voda, gradientová elúcia Pt: 0,5 ml min ⁻¹ TK: 25 °C Det: ELSD	13
D-glukóza, D-fruktóza, D-manóza, D-xylóza, D-galaktóza, L-ramnóza, L-arabinóza, sacharóza, L-fukóza	nápoje, referenčná zmes	SF: YMC-Pack Polyamine II MF: voda/acetonitril/chloroform, gradientová elúcia Pt: 1 ml min ⁻¹ TK: 25 °C Det: MS	14

Tabuľka II
Pokračovanie

Stanovované analyty	Vzorka, príprava vzorky	Podmienky separácie a detekcie ^a	Lit.
D-manóza, D-ribóza, L-ramnóza, D-glukóza, D-xylóza, D-galaktóza, L-arabínóza	čaj	SF: RP-C18 MF: acetonitril/0,045% KH ₂ PO ₄ /0,05% trietylamin (pH 7,0), gradientová elúcia Pt: 1,0 ml min ⁻¹ TK: 35 °C Det: UV Derivatizačné činidlo: 1-fenyl-3-metyl-5-pyrazolon	15

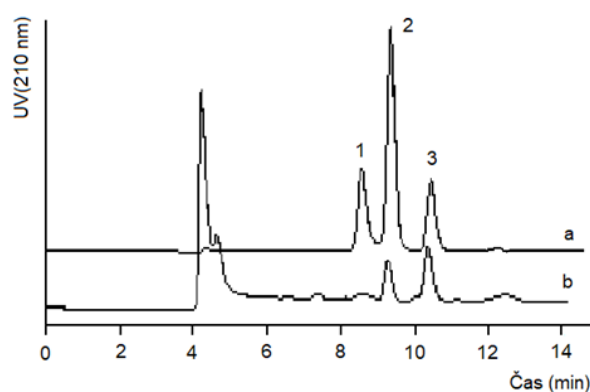
^a SF – stacionárna fáza, MF – mobilná fáza, Pt – prietok mobilnej fázy, TK – teplota kolóny, Det – detekcia, RI – refraktometrická detekcia, ELSD – detektor rozptylu žiarenia

3.2. Organické kyseliny

Táto skupina zahrňuje produkty kombinovaných procesov hydrolyzy a oxidácie a je reprezentovaná najmä kyselinami: mravčia, octová, šťaveľová, mliečna, glykolvá, jantárova a jablčn^{4,16}. Na ich stanovenie vo vodných extraktoch papiera sú vhodné viaceré analytické techniky. Metódy, ako sú elektrochemické (voltamérické) a spektrometrické, sú však málo selektívne a vyžadujú vyššie nároky na prípravu vzoriek pred analýzou (napr. extrakcia tuhou fázou s ionexom ako sorbentom). Spektrometrické metódy sú navyše založené na tvorbe derivátov absorbujúcich v UV/Vis oblasti žiarenia¹⁷. Kapilárna elektroforéza (CE) a izotachoforéza, sú vhodné hlavne vďaka vyššej účinnosti separácie, kratším časom analýzy a potrebe minimálnej úpravy vzorky. Často sa využíva aj spojenie CE-MS, ktoré je vhodné kvôli vyššej citlivosti^{4,18}. Separácia karboxylových kyselín predovšetkým alifatických karboxylových kyselín (kyselina mravčia, kyselina octová, ...) je v kvapalinovej chromatografii problematická. V RP HPLC sú tieto kyseliny slabozadržiavané, eluujú z chromatografickej kolóny s mŕtvym časom a z toho dôvodu je potrebné využiť iné LC techniky na ich separáciu. Vhodnými variantmi sú HPLC s IEX, IPC, HILIC, alebo RP (po derivatizácii analytov) mechanizmami separácie. Voľba danej HPLC techniky na separáciu zmesi organických kyselín závisí od ich druhu a tiež od typu matrice. Pri separácii alifatických karboxylových kyselín v IEX HPLC sa ako stacionárne fázy používajú silné katexy (napr. polystyrén-divinylbenzén) alebo slabé katexy (napr. Polymer IEX-H). Mobilnou fázou je najčastejšie roztok kyseliny sírovej (obr. 1)^{10,17,20,21}. V HILIC separačnej technike analyty (polárne látky vrátane alifatických karboxylových kyselín) interagujú s hydrofilnou stacionárnou fázou (napr. kolóna SeQuant ZIC-HILIC so sulfobetainovými funkčnými skupinami) a elúcia je uskutočňovaná vodnoorganickou mobilnou fázou (napr. roztok octanu amónneho/acetónitril alebo metanol^{22,23}). RP HPLC po derivatizácii analytov je volená hlavne z dôvodu zvýšenia selektivity a citlivosti detekcie. HPLC stanovenie alkylkarboxylových

kyselín po derivatizácii s 2,4-dinitrofenylhydrazínom je v analytickej komunite bežne využívaná a dobre zdokumentovaná metóda a v spojení s MS detekciou sa môže využiť na identifikáciu látok²⁴.

V odborných prácach zameraných na stanovenie degradačných produktov vo vodných extraktoch papiera sa LC s IEX mechanizmom použila na stanovenie kyseliny mravčej a kyseliny octovej. Vhodné chromatografické podmienky zahrňovali kolónu Polymer IEX-H udržiavanú pri teplote 20 °C, 0,009 mol l⁻¹ kyseliny sírovej ako mobilnú fázou pri prietoku 0,8 ml min⁻¹. Tieto podmienky umožnili separáciu sledovaných látok s rozlíšením $R_{ij} = 2,8$ v časovom intervale do 12 min (elučné časy kyseliny mravčej a kyseliny octovej boli 9,7±0,2 min a 10,7±0,1 min). Metódou s UV spektrofotometrickou detekciou bolo



Obr. 1. HPLC chromatogram referenčnej zmesi organických kyselín (a) a extraktu papiera po zrýchlenom modelovom stárnutí pri teplote 98±2 °C počas 30 dní (b) (Chromatografické podmienky: stacionárna fáza Polymer IEX-H (250 × 8 mm, 8 μm), mobilná fáza 9 mmol l⁻¹ H₂SO₄, prietok mobilnej fázy 0,8 ml min⁻¹, teplota kolóny 23 °C detekcia UV (210 nm); 1 – kyselina mliečna, 2 – kyselina mravčia, 3 – kyselina octová)

možné stanoviť kyseliny na koncentračných hladinách desiatok mg ml^{-1} ($LOQ = 42,8 \mu\text{g ml}^{-1}$ (kyselina mravčia) a $92,4 \mu\text{g ml}^{-1}$ (kyselina octová))^{25–27}.

Cieľom práce²⁸ bolo vyvinúť jednoduchú a rýchlu analytickú metódu na stanovenie zmesi organických zlúčenín, vrátane kyseliny octovej a mravčej, vo vodných extraktoch po termochemickej premene biomasy. Použitím IEX-HPLC metódy s UV (210 nm) detekciou sa dosahovali nižšie medze stanovenia ($LOQ = 17,6 \mu\text{g ml}^{-1}$ (kyselina mravčia) a $8,3 \mu\text{g ml}^{-1}$ (kyselina octová)) v porovnaní s refraktometrickou detekciou. Separácia látok však bola dosiahnutá v dlhšom časovom intervale, do 35 min. Na separáciu bola spomedzi rôznych testovaných stacionárnych fáz (C18, C18+ionex, ionex) najvhodnejšia kombinácia dvoch ionexových kolón (ROA-Oganc Acid H⁺) udržiavaná pri teplote 75 °C a mobilná fáza 0,0075 mol l⁻¹ kyselina sírová. Optimalizovali sa tiež podmienky pre extrakciu tuhou fázou (silný anex) kyselín z vodných matric. Vyvinutá metóda sa vyznačovala výťažnosťou nad 89 % pre kyselinu octovú a viac ako 91 % pre kyselinu mravčiu ($RSD \leq 4,4\%$) s LOQ 17,6 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pre kyselinu mravčiu a 8,3 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pre kyselinu octovú²⁸.

Siedlecka a spol.¹⁷ použili na stanovenie prchavých organických kyselín tri metódy, destilačnú metódu s následnou potenciometrickou titráciou, spektrometrickú a GC metódu. Hlavnou nevýhodou destilačného prístupu bola nízka výťažnosť (53–58 %) a vysoká medza stanove-

nia ($LOQ = 110 \mu\text{g ml}^{-1}$, vyhodnocované pre kyselinu octovú). Priama potenciometrická titrácia bola charakterizovaná výťažnosťou nad 97 %, presnosťou v rozmedzí 1,8 % až 15 % (RSD %) a LOQ bola 11 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Pri spektrofotometrickej metóde sa prejavoval negatívny vplyv hydrogénuhličitanových a fosfátových iónov, pričom stanovené koncentrácie kyseliny octovej boli nižšie ako nominálne. Presnosť a správnosť spektrofotometrickej metódy boli v rozsahu 1,3–14 % a 82,1–104,2 %, medza stanovenia bola 28 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Ak sa však pred analýzou vzorky prečistili a sledovaná kyselina skoncentrovala pomocou extrakcie tuhou fázou na ionexe, LOQ sa znížila na 5 $\mu\text{g ml}^{-1}$. GC metóda s FID detektorom (kapilárna kolóna DB-23, 30 m) sa vyznačovala pomerne nízkymi LOQ (5 $\mu\text{g l}^{-1}$) s výťažnosťami nad 92 % (RSD 5,7–14,8 %) ¹⁷.

Na vzorkovanie kyseliny octovej a kyseliny mravčej v ovzduší (napr. priestory knižníc) bol vyvinutý pasívny difúzny vzorkovač. Vzorkovanie sa uskutočnilo po dobu 1–2 týždňov pri vzorkovacích rýchlostiach 0,88 ml min⁻¹ pre kyselinu octovú a 1,02 ml min⁻¹ pre kyselinu mravčiu s následným stanovením analytov IEX-HPLC metódou. V podmienkach laboratórnych testov sa zistilo, že výsledky vzorkovania sú opakovateľné a reprodukovateľné; typické hodnoty RSD boli menšie ako 5 % na zber pár kyseliny octovej a kyseliny mravčej z ovzdušia v koncentračnom rozsahu 0,088–0,187 $\mu\text{g ml}^{-1}$. LOQ boli 44 a 13 $\mu\text{g ml}^{-1}$ pre kyselinu octovú a kyselinu mravčiu

Tabuľka III

Prehľad vybraných HPLC metód na stanovenie karboxylových kyselín

Stanovované analyty	Vzorka, príprava vzorky ^a	Podmienky separácie a detekcie ^b	Lit.
Kyselina mravčia, kyselina octová (voľne kyseliny, vo vode rozpustné soli)	papier, extrakcia vodou	SF: Polymer IEX-H MF: 0,009 mol l ⁻¹ H ₂ SO ₄ Pt: 0,5 ml min ⁻¹ TK: 35 °C Det: RI	10
Kyselina mravčia, kyselina octová	papier, extrakcia vodou	SF: Polymer IEX-H MF: 0,009 mol l ⁻¹ H ₂ SO ₄ Pt: 0,8 ml min ⁻¹ TK: 20 °C Det: RI	25,26,27
Kyselina mravčia, kyselina octová	biomasa extrakcia vodou, SPE	SF: Two Rezex ROA-Organic acid H ⁺ MF: 0,0075 mol l ⁻¹ H ₂ SO ₄ Pt: 0,6 ml min ⁻¹ TK: 75 °C Det: UV	28
Kyselina mravčia, kyselina octová	ovzdušie, sorpcia na disky s KOH	SF: Dionex AS4-AG4A MF: 0,005 mol l ⁻¹ tetraboritan sodný Pt: 2 ml min ⁻¹ TK: – Det: vodivostný	29

^a SPE – extrakcia tuhou fázou, ^b SF – stacionárna fáza, MF – mobilná fáza, Pt – prietok mobilnej fázy, TK – teplota kolóny, Det – detekcia, RI – refraktometrická detekcia

(vypočítané pre dvojtýždňové obdobie odberu vzoriek)²⁹.

Prehľad vybraných chromatografických metód na stanovenie alifatických organických kyselín v extraktoch papiera, biomasy a ovzdušia je uvedený v tab. III.

3.3. Fenolové zlúčeniny

V extraktoch z papiera boli identifikované aj produkty degradácie lignínu, medzi ktoré patria aj fenolové zlúčeniny vrátane kyselín (kyselina vanilová, kyselina benzoová, kyselina galová, kyselina *p*-kumarová, kyselina syringová, kyselina *p*-hydroxybenzoová, kyselina ferulová, *p*-hydro-

xybenzaldehyd, *p*-hydroxyacetofenón, a iné), čo môže poukazovať na rozsah degradácie papiera. Najčastejšie používanou technikou na stanovenie fenolových zlúčenín je RP HPLC so stacionárnou fázou typu C18, avšak v niektorých metódach boli použité aj fenyl-hexyl a polymérne styren-divinylbenzénové typy stacionárnych fáz. Vzhľadom na charakter látok, pH mobilnej fázy by malo byť v rozsahu 2–4, aby sa zabránilo disociácii látok^{30–33}. Detekcia fenolových zlúčenín sa uskutočňuje najmä pomocou UV spektrofotometrického detektora príp. detektora s diódovým poľom, keďže tieto látky sú charakteristické UV spektrami^{30,34}. HPLC s fluorescenčnou detekciou je

Tabuľka IV

Prehľad vybraných HPLC metód na stanovenie fenolových zlúčenín

Stanovované analyty	Vzorka, príprava vzorky	Podmienky separácie a detekcie ^a	Lit.
Kyselina ftalová, kyselina benzoová, <i>o</i> -metoxyfenol, 2,6-dimetoxyfenol, kyselina <i>p</i> -metoxyškoricová, iné	buničínový papier, enzymatická hydrolýza	SF: C18 MF: acetonitril/voda (70:30, v/v) Pt: 1,0 ml min ⁻¹ TK: 27 °C Det: UV (280 nm)	30
Oligofenolové látky	drevná biomasa, extrakcia s 2-butanonom alebo 2-butanolom	SF: pentafluorofenyl MF: A: 0,025% (v/v) kyselina trifluoroctová v acetonitrile, B: 0,025% kyselina trifluoroctová, gradientová elúcia Pt: 6,5 ml min ⁻¹ TK: 30 °C Det: DAD, EI-MS/MS	31
Kyselina <i>p</i> -hydroxybenzoová, kyselina ferulová, kyselina <i>p</i> -kumarová, <i>p</i> -hydroxybenzaldehyd, vanilín, <i>p</i> -hydroxyacetofenón, syringaldehyd	drevné a rastlinné vzorky, oxidácia s CuO, SPE	SF: C18 MF: A: 0,050 mol l ⁻¹ fosforečnanový tlmivý roztok (pH 2)/metanol (85:15, v/v), B: 0,050 mol l ⁻¹ fosforečnanový tlmivý roztok (pH 2)/metanol/ acetonitril (4:3:3, v/v/v), gradientová elúcia Pt: 1,0 ml min ⁻¹ TK: 22 °C Det: UV (280 nm)	34
Vanilín	rastliny, extrakcia kvapalinou	SF: C18 MF: 0,1 mol l ⁻¹ kyselina octová/metanol (65/35, v/v) Pt: – TK: – Det: amperometrický (0,925 V), kulometrický (0,5 V)	36
Vanilín, kyselina vanilínová, <i>p</i> -hydroxybenzaldehyd, kyselina syringová, kyselina ferulová, kyselina <i>p</i> -kumarová, kyselina benzoová	biomasa, extrakcia metanolom	SF: Symmetry C18 MF: A: 0,1% (v/v) kyselina octová v acetonitrile, B: 0,1% (v/v) kyselina octová, gradientová elúcia Pt: 0,8 ml min ⁻¹ TK: 30 °C Det: EI-MS/MS	37

^a SF – stacionárna fáza, MF – mobilná fáza, Pt – prietok mobilnej fázy, TK – teplota kolóny, Det – detekcia, EI-MS/MS – tandemová hmotnostná spektrometria s elektrónovou ionizáciou

vhodný spôsob charakterizácie a kvantifikácie fenolových zlúčenín, ktoré majú fluorofór. Citlivosť fluorescenčného detektora je pre mnohé zlúčeniny 10–1000krát vyššia v porovnaní s UV detekciou³³. HPLC s elektrochemickou detekciou je založená na redoxnej reakcii fenolových zlúčenín a metódy sa vyznačujú nízkymi medzami detekcie³⁵. Cantalapiedra a spol. použili na detekciu amperometrický a coulometrický detektor, pričom LOD boli v rozmedzí od 0,81 do 3,1 mg ml⁻¹, čo je porovnateľné s inými metódami, napr. GC-MS (cit.³⁶). Na identifikáciu polyfenolov sa čoraz častejšie využíva HPLC-MS (cit.^{37,38}). Vo všeobecnosti je HPLC vhodnejšia na separáciu a kvantifikáciu fenolových zlúčenín ako GC vzhľadom na to, že nevyžaduje náročné kroky čistenia vzoriek a derivatizácie analytov. HPLC-UV/Vis metóda na stanovenie fenolových zlúčenín, vypracovaná autormi Sun a spol. ukázala dobrú zhodu výsledkov s GC-MS metódou (priemerný rozdiel deviatich rôznych vzoriek pre osem oxidačných produktov bol 4,5 % s relatívnou smerodajnou odchýlkou (RSD, 23 %) ³⁴.

Tradičné chromatografické metódy na separáciu fenolových zlúčenín môžu byť časovo náročné. Sun a spol. vyvinuli metódu chromatografie s tekutinou v nadkritickom stave s detektorom s diódovým poľom na separáciu fenolových zlúčenín, zahŕňujúc vanilín, apocynín, syringaldehyd, kyselinu vanilínovú, *p*-hydroxybenzaldehyd, *p*-hydroxyacetofenon, kyselinu syringovú, kyselinu ferulovú, kyselinu *p*-hydroxybenzoovú, kyselinu *p*-kumarovú, produkovaných pri rozklade lignínu (stacionárna fáza UP-C2 HSS C18 SB, mobilná fáza nadkritický CO₂ a 0,02 mol l⁻¹ kyselina citrónová v metanole s gradientovou elúciou prietokom 1,25 ml min⁻¹, teplota 60 °C, tlak 13,5 MPa). Čas analýzy bol do 6 minút, LOQ 2,5–5,0 μmol l⁻¹ a lineárny koncentračný rozsah 5,0–200,0 μmol l⁻¹ (R²>0,997)³⁹.

Na stanovenie fenolových látok vo vodných alebo metanolových extraktoch papiera sú vhodné aj metódy kapilárnej elektroforézy⁴. Prehľad vybraných chromatografických metód použitých na analýzu papiera a biomasy je dokumentovaný v tab. IV.

3.4. Prchavé organické zlúčeniny

Prchavé organické zlúčeniny (VOC – volatile organic compounds) identifikované v extraktoch z papiera boli podľa štúdie autorov Lattuati-Derieux a spol.⁴⁰ zaradené do ôsmich tried zlúčenín: karboxylové kyseliny, alkoholy, aldehydy, alkylbenzény, deriváty benzénu, alifatické uhľovodíky, estery a polycyklické aromatické uhľovodíky. Mnohé z nich (napr. kyselina octová, kyselina mravčia, furfural, kyselina *p*-hydroxybenzoová, *p*-hydroxyacetofenón, *p*-hydroxybenzaldehyd, vanilín) sú degradačnými produktami lignínu alebo celulózy, a možno ich použiť ako markery ich chemického poškodenia^{4,16,40,41}. Vhodné metódy na stanovenie VOC sú GC s FID alebo MS detektorom^{42,43}. VOC možno vzorkovať priamo z plynnej fázy z okolitého prostredia pri starnutí papiera. Na vzorkovanie sa používajú buď aktívne vzorkovače, ktoré odobierajú vzorky priamo do zachytávacích systémov, avšak

praktickejšou alternatívou je použitie pasívnych vzorkovačov, ktoré umožňujú adsorpciu zlúčenín v relatívne krátkom časovom intervale. Mikroextrakcia tuhou fázou sa ukázala ako vhodná technika na vzorkovanie z malých priestorov napr. vo vnútri kníh, archívnych krabic atď. SPME používa vlákna špeciálne potiahnuté sorbentom, do ktorého sa môžu extrahovať prchavé zlúčeniny zo vzoriek vzduchu. Analyty sú následne tepelne desorbované do GC. Zistilo sa, že vlákno DVB/CAR/PDMS (divinylbenzén/karboxén/polydimetylsiloxán) bolo najvhodnejšie na extrakciu rôznych VOC uvoľnených z papiera^{16,44}. Preskúmali sa dve možnosti vzorkovania, a to i) statický odber vzoriek, ktorý je však deštruktívny a vyžaduje, aby sa vzorka zahrieva pri vysokej teplote (80 °C) počas niekoľkých hodín a následne sú VOC extrahované pomocou SPME; ii) kontaktný odber vzoriek, čo predstavuje nedeštruktívny postup, pri ktorom sa SPME vlákno vkladá priamo do stohu papiera na definovaný čas a následne sa po termickej desorpcii analytov uskutoční GC-MS analýza (kolóna VOCOL, 60 m)⁴⁵. Niektoré zlúčeniny, napr. alifatické kyseliny a produkty rozkladu lignínu, zaradené medzi VOC, možno tiež zahrnúť do predošlých skupín, a stanovovať ich aj HPLC metódami, ktoré boli uvedené v predošlých kapitolách.

3.5. Hodnotenie stupňa polymerizácie

Degradácia makromolekúl celulózy, hemicelulózy a lignínu sa prejavuje znížením priemerného polymerizačného stupňa. Klasická kapilárna viskozimetria a chromatografia s vylučovaním podľa veľkosti molekúl (SEC) sú najčastejšie používanými analytickými technikami na monitorovanie degradácie celulózy na molekulárnej úrovni (separácia trikarbanilátov celulózy, alebo nederivatizovanej celulózy v roztoku chlorid lítny/*N,N*-dimetylacetamid (LiCl/DMAc) alebo 1,3-dimetyl-2-imidazolidinón). Výhodou použitia SEC v degradačných štúdiách polymérov je malá spotreba vzoriek (vhodné napr. v prípade historických alebo umeleckých dokumentov), poskytnutie komplexných informácií o priamych hodnotách a distribúcii molekulovej hmotnosti a vhodnosť na sledovanie kinetiky degradácie papiera. Pri SEC analýze papiera sa využívajú bežné HPLC detektory, refraktometrický alebo UV/Vis, prípadne MALLS (multi-angl light scattering; viacosový laserový detektor rozptylu svetla) detektor (tab. V). V prípade použitia refraktometrickej alebo UV/Vis detekcie sa SEC systém kalibruje pomocou referenčných materiálov so známou distribúciou molekulových hmotností. Keďže pre celulózu nie sú komerčne dostupné, používajú sa iné polymérne štandardy a alternatívou sú aj frakcie celulózy, avšak v takom prípade sú výsledky zaťažené systematickou chybou. Kalibrácia pomocou štandardov s iným hydrodynamickým objemom ako celulóza vedie tiež k systematickým chybám a takto získané hodnoty molekulových hmotností možno považovať iba za relatívne miery. S cieľom znížiť nepresnosť sa môže na dôkladnú kvantitatívnu analýzu údajov získaných pomocou SEC-UV/Vis použiť metóda univerzálnej kalibrácie⁴⁶. Detektor MALLS je vhodný na priame hodnotenie mólo-

Tabuľka V

Prehľad vybraných metód kvapalinovej chromatografie s vylučovaním podľa veľkosti molekúl použitých na hodnotenia degradácie celulózy

Stanovovaný parameter	Vzorka, príprava vzorky	Podmienky separácie ^a a detekcie	Lit.
Distribúcia molekulových hmotností, stupeň polymerizácie	papier, derivatizácia s fenylizokyanátanom, rozpustenie v tetrahydrofuráne	SF: 2× Gel DVB kolóny MF: tetrahydrofurán Pt: 1,0 ml min ⁻¹ TK: 35 °C Det: UV (254 nm), MALLS (658 nm)	52
	Papier, derivatizácia s fenylizokyanátanom, rozpustenie v tetrahydrofuráne	SF: 2× PL gel MIXED B MF: tetrahydrofurán Pt: 1,0 ml min ⁻¹ TK: 35 °C Det: DAD (240 nm)	53
		SF: 2× PL gel MIXED C MF: tetrahydrofurán Pt: 1,0 ml min ⁻¹ TK: 35 °C Det: MALLS	
		A4F-MALLS: trubica: 490 μm MF: tetrahydrofurán Pt: 1,0 ml min ⁻¹ ; gradient priečného toku 3–0,15 ml min ⁻¹ Det: MALLS	
	bavlna	SF: kolóny zapojené v sérii: μstyragel HT 10 ³ , 10 ⁴ , 10 ⁵ Å, ultrastyragel 10 ⁶ Å MF: 0,5 % LiCl v DMAc, 50 °C Pt: 0,8 ml min ⁻¹ TK: 60 °C Det: RI, viskozimetrický	54
	papier, derivatizácia s fenylizokyanátanom, rozpustenie v tetrahydrofuráne	SF: PL gel MIXED B MF: tetrahydrofurán Pt: 1,0 ml min ⁻¹ TK: 35 °C Det: DAD (240 nm)	55

^a SF – stacionárna fáza, MF – mobilná fáza, Pt – prietok mobilnej fázy, TK – teplota kolóny, Det – detekcia, RI – refraktometrická detekcia, MALLS – viacosový laserový detektor rozptylu svetla

vých hmotností polymérov v roztokoch. Interpretácia údajov získaných zo systémov SEC-MALLS je založená na informáciách o koncentrácii rozpustenej látky (ktorú je možné stanoviť pri použití refraktometrického alebo UV/Vis detektorov) a o prírastku indexu lomu (dn/dc), ktorý sa získa kalibráciou refraktometrického detektora^{46,47}. Ak sú pre daný systém známe iba Mark-Houwinkove koeficienty (vzorka / rozpúšťadlo / teplota), viskozimetrická metóda by sa mohla považovať za priamu metódu stanovenia molekulovej hmotnosti pre polyméry, stupňa polymerizácie celulózy a viskozitnej mólovej hmotnosti. Výhodou je

jednoduchosť zariadenia a postupu, rýchlosť a metóda je tiež špecifikovaná priemyselnými normami (napr. využívajú rozpúšťanie celulózy v roztoku kuprietyléndiamínu, CED). Hlavnými nevýhodami tejto metódy je obmedzené použitie pre papierové materiály, ktoré neobsahujú ligníny⁴⁸.

V mnohých štúdiách sa porovnávali výsledky získané pomocou viskozimetrie a SEC pre papiere bez lignínu. Dupont a Mortha vo svojej štúdii zistili, že výsledky získané dvoma rôznymi technikami sa líšili v dôsledku degradácie spôsobenej rozpúšťadlom pri viskozimetrickej metóde (v kadoxéne) a v dôsledku komplexácie medzi celulózou

a zložkami rozpúšťadla pri SEC metóde (LiCl/DMAc)⁴⁹.

V prácach Strliča a Malešič porovnávali použitie SEC metódy s refraktometrickou detekciou v LiCl/DMAc a viskozimetrickú metódu v CED na stanovenie molekulových hmotností produktov degradácie celulózy. V oboch štúdiách sa ukázalo, že viskozimetrická metóda uskutočňovaná v agresívnom médiu (t.j. zásadité CED) poskytovala významne nižšie výsledky^{50,51}.

Porovnanie viskozimetrickej, SEC-UV/Vis a SEC-MALLS (kadoxén alebo CED pre viskozimetriu, LiCl/DMAc alebo trikarbaniláty celulózy/tetrahydrofurán pre SEC) metód na hodnotenie degradácie papiera ukázalo dobrú koreláciu medzi výsledkami stanovenia molekulovej hmotnosti polymérov pomocou viskozimetrickej a SEC-UV/Vis metódy. SEC-MALLS sa ukázala ako vhodnejšia metóda, pretože poskytla informácie o distribúcii molekulovej hmotnosti počas procesov depolymerizácie celulózy a poskytuje priamo hodnoty molekulových hmotností bez toho, aby bolo potrebné použiť ďalšie kalibrácie ako pri metóde SEC-UV/Vis (cit.⁵²).

V práci Kačíka a spol.⁵³ sa porovnali tri metódy analýzy celulózy v papieri podrobenému zrýchlenému starnutiu: SEC-DAD s kalibráciou pomocou polystyrénových štandardov, SEC-MALLS a frakcionácia tokom v asymetrickom tokovom poli (A4F) v spojení s MALLS. Pred separáciou boli vzorky celulózy derivatizované fenylizokyanátom na trikarbaniláty celulózy a rozpustené v tetrahydrofuráne. Každá z metód poskytla rôzne absolútne hodnoty molekulovej hmotnosti, ale korelácie medzi nimi boli s vysokými korelačnými koeficientmi ($R=0,990-0,992$). Najvyššie hodnoty molekulovej hmotnosti boli získané pomocou A4F-MALLS metódy. Metódy SEC-MALLS a SEC-UV poskytli nižšie hodnoty v dôsledku strihovej degradácie (dochádza k nej v chromatografickej kolóne, kedy sa najmä veľké molekuly „roztrhnú“, a tým skresľujú hodnotu molekulovej hmotnosti) vysokomolekulových celulóзовých reťazcov. Z toho dôvodu je A4F metóda vhodnejšia v porovnaní s SEC, keďže A4F nepoužíva kolónu⁵³.

4. Záver

V tejto práci boli zhrnuté chromatografické metódy, ktoré majú uplatnenie v analýze papiera s cieľom charakterizovať, identifikovať a stanoviť zlúčeniny vznikajúce pri degradačných procesoch. Na základe doteraz publikovaných výsledkov možno zhrnúť, že veľký potenciál má HILIC a IEX technika kvapalinovej chromatografie, hlavne pri separácii polárných látok (karboxylové kyseliny, sacharidy), prípadne po derivatizácii aj RP HPLC. RP HPLC je vhodná na separáciu fenolových zlúčeniny a iných aromatických zlúčenín, pre ktoré môže byť vhodnejšia v porovnaní s inými technikami. Vhodné metódy stanovenia VOC zahŕňujú GC s FID alebo MS detektorom. Chromatografia s vylučovaním podľa veľkosti molekúl našla uplatnenie pri monitorovaní degradácie celulózy. Vyvinuté analytické metódy sú jedným z nástrojov na pochopenie mechanizmov degradácie papiera, hodnotenie

chemickej stability papiera a účinnosti konzervačných postupov. Nezanedbateľným krokom v procese chemickej analýzy je aj príprava vzoriek, a preto v budúcich štúdiách treba pozornosť venovať aj moderným technikám prípravy vzoriek.

Táto práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe Zmluvy č. APVV-18-0155.

LITERATÚRA

1. ASTM 6819-02: *Standard Test Method for Accelerated Temperature Aging of Printing and Writing Paper by Dry Oven Exposure Apparatus* (2002).
2. Bansa H.: *Restaurator* 23, 106 (2002).
3. Zervos S., v knihe: *Cellulose: Structure and properties, derivatives and industrial uses* (Lejeune A., Deprez T., ed.) kap. 5, str. 155. Nova Science Publishers, New York 2010.
4. Dupont A. L., Egasse C., Morin A., Vasseur F.: *Carbohydr. Polym.* 68, 1 (2007).
5. Stephens C. H., Whitmore P. M., Morris H. R., Bier M. E.: *Biomacromolecules* 9, 1093 (2008).
6. Ruiz-Matute A. I., Hernandez-Hernandez O., Rodríguez-Sánchez S., Sanz M. L.: *J. Chromatogr. B* 879, 1226 (2011).
7. Weiz K., Alt M.: *Fermentation* 3, 1 (2017).
8. Hroboňová K., Lehotay J., Jablonský M., Katuščák S.: *Chem. Listy* 103, 744 (2009).
9. Yan X., v knihe: *HPLC principle, practices and procedures, Chapter: Carbohydrate analysis by HPLC* (Zou, Y., ed.) Nova Science Publishers, New York 2014.
10. Čablová I., Kačík F., Gojny J., Češek B., Milichovský M., Mikala O., Tribulová T., Đurkovič J.: *Bioresources* 12, 2618 (2017).
11. Tihomirova K., Dalecka B., Mezule L.: *Agron. Res.* 14, 1713 (2016).
12. Sluiter A., Hames B., Ruiz R., Scarlata C., Stuile, J., Templeton D., Crocker D.: *Laboratory analytical procedure (LAP), Technical report NREL/TP-510-42618* (2012).
13. Sharma U., Bhandari P., Kumar N., Singh B.: *Chromatographia* 71, 633 (2010).
14. Ricochon G., Paris C., Girardin M., Muniglia L.: *J. Chromatogr. B* 879, 1529 (2011).
15. Lv Y., Yang X., Zhao Y., Ruan Y., Yang Y., Wang Z.: *Food Chem.* 112, 742 (2009).
16. Lattuati-Derieux A., Bonnassies-Termes S., Lavédrine B.: *J. Cult. Heritage* 7, 123 (2006).
17. Siedlecka E. M., Kumirska J., Ossovski T., Glamowski P., Golebiowski M., Gajdus J., Kaczinski Z., Stepnowski P.: *Pol. J. Environ. Stud.* 17, 351 (2008).
18. Dupont A. L., Seemann A., Lavédrine B.: *Talanta* 89, 301 (2012).
19. Acikara O. B.: *Ion-exchange chromatography and its applications*. str. 29. InTech 2013. (2013). DOI: 10.5772/55744
20. Boháčová I., Nagyová A., Halko R.: *Chem. Listy* 110,

- 616 (2016).
21. Labuda J., Španík I., Tarapčík P., Hrouzková S., Vrábel V., Benická E., Hroboňová K., Sádecká J., Beinrohr E., Liptaj T.: *Analytická chémia*, 2. vyd. Slovenská chemická knižnica STU v Bratislave, Bratislava 2019.
 22. Alpert A. J.: *J. Chromatogr. A* 499, 177 (1990).
 23. Boháčová I., Halko R., Hutta M.: *Zdravotnicke Listy* 7, 11 (2019).
 24. Lewis Sr S. A., Connatser R. M., Olarte M. V., Keiser J. R.: *Biomass Bioenerg.* 108, 198 (2018).
 25. Jablonský M., Botková M., Hroboňová K.: *Wood Res.* 57, 419 (2012).
 26. Jablonský M., Hroboňová K., Katuščák S., Lehota J., Botková M.: *Cell. Chem. Technol.* 46, 331 (2012).
 27. Jablonský M., Katuščák S., Holúbková S., Hroboňová K., Lehota J.: *Restaurator* 32, 318 (2011).
 28. Tessini C., Romero R., Escobar M., Gordon A., Flores M.: *J. Chil. Chem. Soc.* 61, 2837 (2016).
 29. Gibson L. T., Cooksey B. G., Littlejohn D., Tennent N. H.: *Anal. Chim. Acta* 341, 11 (1997).
 30. Yadav S., Chandra R.: *J. Environ. Sci.* 33, 229 (2015).
 31. Rasmussen H., Tanner D., Sørensen R. H., Meyer A. S.: *Green Chem.* 19, 464 (2017).
 32. Shadab G. J., v knihe: *Extraction techniques of phenolic compounds from plants. Plant physiological aspects of phenolic compounds* (Soto-Hernández M. ed.), 2019. DOI: 10.5772/intechopen.84705
 33. Tomaz I., Maslov L.: *Food Anal. Methods* 9,401 (2016).
 34. Sun L., Spencer R. G. M., Hemes P. J., Dyda R. Y., Mopper K.: *Limnol. Oceanogr. Methods* 13, 1 (2015).
 35. Gazdik Z., Reznicek V., Adam V., Zitka O., Jurikova T., Krska B., Matuskovic J., Plsek J., Saloun J., Horna A., Kizek R.: *Molecules (Basel, Switzerland)* 13, 2823 (2008).
 36. Cantalapiedra A., Gismera M. J., Sevilla M. T., Procopio J. R.: *Phytochem. Anal.* 25, 247 (2014).
 37. Cocuron J. C., Casas M. I., Yang F., Grotewold E., Alonso A. P.: *J. Chromatogr. A* 1589, 93 (2019).
 38. La Torre-Carbot K., de Jauregui O., Gimeno E., Castellote A. I., Lamuela-Raventós R. M., López-Sabater M. C.: *J. Agric. Food Chem.* 53, 4331 (2005).
 39. Sun M., Lid en G., Sandahl M., Turner C.: *J. Sep. Sci.* 39, 3123 (2016).
 40. Lattuati-Derieux A., Bonnassies-Termes S., Lavédrine B.: *J. Chromatogr. A* 1026, 9 (2004).
 41. Gibson L. T., Ewlad-Ahmed A., Knight B., Horie V., Mitchell G., Robertson C.: *Chem. Central J.* 6, 1 (2012).
 42. Sladkovich S., Dupont A. L., Sablier M., Seghouane D., Cole R. B.: *Anal. Bioanal. Chem.* 408, 8133 (2016).
 43. Brattoli M., Cisternino E., Dambruoso P. R., Gennaro G., Giungato P., Mazzone A., Palmisani J., Tutino M.: *Sensors (Basel)* 13, 16759 (2013).
 44. Clark A. J., Calvillo J. L., Roosa M. S., Green D. B., Ganske J. A.: *Anal. Bioanal. Chem.* 399, 3589 (2011).
 45. Strlič M., Cigič I. K., Kolar J., de Bruin G., Pihlar B.: *Sensors* 7, 3136 (2007).
 46. Kostanski L. K., Keller D. M., Hamielec A. E.: *J. Biochem. Biophys. Methods* 58,159 (2004)
 47. Tétreault J., Dupont A. L., Bégin P., Paris P.: *Polym. Degrad. Stab.* 9, 98 (2013).
 48. Striegel A., Yau W. W., Kirkland J. J., Bly D. D., v knihe: *Modern size-exclusion liquid chromatography: Practice of gel permeation and gel filtration chromatography.* J. Wiley, New Jersey 2009.
 49. Dupont A. L., Mortha G.: *J. Chromatogr. A* 1026, 129 (2006).
 50. Strlič M., Kolar J., Zigon M., Pihlar B.: *J. Chromatogr. A* 805, 93 (1998).
 51. Malešič J., Kolar J., Strlič M., Kočar D., Fromageot D., Lemaire J., Haillant O.: *Polym. Degrad. Stab.* 89, 64 (2005).
 52. Lojewski T., Zieba K., Lojewska J.: *J. Chromatogr. A* 1217, 6462 (2010).
 53. Kačík F., Podzimek Š., Vizárová K., Kačíková D., Čabalová I.: *Cellulose* 23, 357 (2016).
 54. Emsley A. M., Ali M., Hezwood R. J.: *Polymer* 41, 8513 (2000).
 55. Jablonský M., Katuščák S., Kačík F., Kačíková D.: *Cell. Chem. Technol.* 45, 405 (2011).
- K. Hroboňová, M. Jablonský, M. Králik, and K. Vizárová** (*Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology, Bratislava, Slovak Republic*): **The Use of Chromatographic Methods for the Characterization of Products from Aged Cellulosic Materials**
- Typical products generated during aging/degradation of cellulosic materials are carboxylic acids (e.g. formic, acetic), esters, ketones, cyclic oxygen compounds (e.g. furfural), sugars, phenolic compounds and many other volatile organic compounds. A wide set of physico-chemical and analytical methods were applied to evaluate the degradation processes. The present work is focused on the chromatographic methods (RP-HPLC, IEX, SEC, GC coupled with advanced detectors) to separate and determine the degradation products of cellulosic materials.
- Keywords: cellulose, degradation products, analytical methods, chromatographic methods
- Acknowledgements*
This work was supported by the Slovak Research and Development Agency under the Contract no. APVV-18-0155.