

ANALÝZA NETĚKAVÉHO PODÍLU BIO-OLEJŮ Z PYROLÝZY CELULÓZY, HEMICELULÓZY A LIGNINŮ

Martin Staš^a, Aneta Závodníková^a, Miloš Auersvald^a, Josef Chudoba^b, Pavel Šimáček^a, a David Kubička^a

^a Ústav technologie ropy a alternativních paliv, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6

^b Centrální laboratoře – Laboratoř hmotnostní spektrometrie, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
email: Martin.Stas@vscht.cz

Bio-oleje z pyrolýzy biomasy představují biopaliva druhé generace, která mají kromě palivářských aplikací rovněž slibný potenciál k využití jako zdroj cenných kyslíkatých chemikálií. Další rozvoj ve využívání bio-olejů vyžaduje detailnější znalost jejich chemického složení. V této práci bylo provedeno studium chemického složení bio-olejů z pomalé a rychlé pyrolýzy základních stavebních složek biomasy, tj. celulózy, hemicelulózy a ligninu. Práce je rozdělena do dvou článků. První část (s názvem Analýza těkavého podílu bio-olejů z pyrolýzy celulózy, hemicelulózy a ligninů – Paliva 2018, 10, (2), 64–74 byla věnována prezentaci výsledků analýz pyrolýzních surovin, popisu přípravy bio-olejů a výsledkům analýz chemického složení jejich těkavých podílů. Zde, ve druhé části, je pozornost věnována charakterizaci méně těkavých a netěkavých složek připravených bio-olejů. K tomuto stanovení byla využita vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie typu orbitrap. Postupy popsány v obou článcích bylo dosaženo komplexní charakterizace připravených bio-olejů. Získané poznatky mohou usnadnit pochopení chemického složení bio-olejů z lignocelulózy biomasy jako celku a napomoci tak dosažení jejich širšího využití.

Klíčová slova: biomasa, pyrolýza, pyrolýzní bio-olej, celulóza, hemicelulóza, lignin, vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie, orbitrap

Došlo 21. 5. 2018, přijato 13. 9. 2018

1. Úvod

Bio-oleje z pyrolýzy biomasy jsou biopaliva druhé generace, jež mají slibný potenciál pro další využití jako zdroj energie ve stacionárních i mobilních aplikacích a také jako zdroj cenných kyslíkatých látek [1]. Již v současnosti jsou bio-oleje vyráběny v některých zemích (např. Finsko, Holandsko) v komerčním měřítku za účelem využití na lokální produkci tepla [1]. Přehled dalších možných využití bio-olejů, které zatím nenašly komerční uplatnění, uvádí práce [2-4].

Širší využití bio-olejů je kromě jiného podmíněno také dostatečnou znalostí jejich chemického složení. Komplexní analýza bio-olejů je velice složitá, jelikož obsahují tisíce různých, hlavně kyslíkatých složek, které se vyznačují širokým rozmezím bodů varu, různou polaritou, reaktivitou, atd. Mnohé ze složek jsou navíc zastoupeny ve velice nízkých koncentracích. K analýze chemického složení byla využita široká škála různých chromatografických, spektroskopických a jiných metod, jejichž přehled a hlavní získané výsledky jsou prezentovány v několika rešeršních článcích z nedávné doby [5-9]. Nejvíce využívanou analytickou technikou k analýze bio-olejů je GC-MS, jež umožnila poměrně dobře popsat těkavý podíl bio-olejů. Literatura [6] uvádí rozsáhlou databázi obsahující přibližně 400 látek, které byly technikou GC-MS v bio-olejích detekovány. Bio-oleje však mohou obsahovat až přibližně 50 % netěkavého podílu, který je technikou GC-MS neanalyzovatelný.

K analýze netěkavého podílu bio-olejů lze využít spektroskopické techniky jako FTIR a NMR [10-12]. Tyto techniky sice umožňují získat cenné strukturní informace, ale jenom o bio-oleji jako celku a neinformují

tak o jednotlivých složkách, jež tvoří netěkavý podíl. V poslední dekádě se v analytice bio-olejů a rovněž ropných frakcí poměrně intenzivně uplatňuje tzv. petroleomická analýza, která využívá vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrii (z angl. high-resolution mass spectrometry – HRMS). Princip charakterizace komplexních směsí technikou HRMS spočívá ve schopnosti sofistikovaných vysokorozlišovacích hmotnostních spektrometrů rozlišit a detekovat tisíce složek v komplexní směsi (vysokovroucí ropné frakce, bio-oleje, atd.) během jediné analýzy [5,13]. V rámci ionizačního procesu se využívají tzv. měkké ionizační techniky, které zajistí přítomnost molekulového nebo pseudomolekulového píku a prakticky žádnou fragmentaci. Sloučeniny jsou detekovány na základě stanovení přesné molekulové hmotnosti jejich (pseudo)molekulového píku s přesností na úrovni jednotek mDa. Z takto přesně stanovené molekulové hmotnosti lze jednotlivým detekovaným složkám přiřadit konkrétní sumární vzorec. Výsledkem je soubor tisíců sumárních vzorců, které přísluší jednotlivým složkám analyzované směsi. Ze sumárního vzorce lze posléze získat částečné informace o struktuře příslušné složky pomocí stupně nenasycenosti (viz rovnice 1), který informuje o počtu násobných vazeb a/nebo cyklických kruhů v molekule [13,14].

$$DBE (C_cH_hN_nO_oS_s) = c - (h/2) + (n/2) + 1 \quad (1)$$

Prezentací a vizualizací rozsáhlých setů petroleomických dat (přesná hmotnost sloučeniny, sumární vzorec, DBE, intenzita příslušného iontu v HRMS spektru) se díky současnému rozvoji HRMS instrumentace zabývá řada prací [15-17].

Cílem této práce byla analýza netěkavého podílu bio-olejů připravených pyrolýzou základních stavebních bloků biomasy, tj. celulózy, hemicelulózy a ligninu. Pro tyto analýzy byla využita technika vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie typu orbitrap. Výsledky detailní charakterizace těchto z hlediska chemického složení méně složitých bio-olejů mohou pomoci získat detailnější informace o chemickém složení bio-olejů připravených pyrolýzou lignocelulózy biomasy jako celku.

2. Experimentální část

2.1. Suroviny pro pyrolýzu

Jako suroviny pro pyrolýzu byly použity základní polymery obsažené v biomase, tj. celulóza, hemicelulóza a lignin, viz tab. 1. Procesy přípravy bio-olejů z těchto surovin jsou blíže specifikovány v článku „Analýza fyzikálně-chemických vlastností a těkavého podílu bio-olejů z pyrolýzy celulózy, hemicelulózy a ligninů“ – Paliva 2018, 10, 64–74, dále část 1.

Tab. 1: Označení připravených bio-olejů

Tab. 1: Specification of the prepared bio-oils

Surovina	Pyrolýza		
	pomalá	rychlá	
		katalytická	termická
Celulóza	PC	–	–
Hemicelulóza	PH	–	–
Lignin (sláma)	–	RSIK	RSIT
Lignin (smrk)	–	RSmK	RSmT
Lignin (buk)	–	RBK	RBT

2.2. Analýza surovin, jejich pyrolýza a analýza fyzikálně-chemických vlastností bio-olejů

Analýza celulózy, hemicelulózy a ligninů, příprava bio-olejů a stanovení jejich fyzikálně-chemických vlastností jsou taktéž podrobně popsány v části 1.

2.3. HRMS analýza bio-olejů

Vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie byla použita k analýze méně těkavých a netěkavých, vysokomolekulárních složek ve studovaných bio-olejích. K měření byl použit přístroj LTQ Orbitrap Velos (Thermo-Fisher Scientific) vybavený iontovým zdrojem Ion Max API s HESI-II a APCI sondami. K ovládní přístroje, ke snímání a analýze dat byl použit software Xcalibur 2.0 (Thermo-Fisher Scientific).

Spektra byla změřena při rozlišení 30 000 (m/z 400). K analýzám byly použity dvě ionizační techniky: elektro-sprej (ESI) a atmosférická chemická ionizace (APCI), obě v negativním modu ionizace. Vzorok bio-olejů byly před analýzou zředěny v methanolu (čistota LC-MS) následovně: 10 μ l oleje bylo rozpuštěno v 1 ml methanolu, čímž byl připraven zásobní roztok a 250 μ l tohoto zásobního roztoku bylo rozpuštěno v 1 ml methanolu, čímž byl

připraven finální vzorek pro analýzu. Podmínky ESI-HRMS a APCI-HRMS analýz jsou uvedeny v tab. 2.

Tab. 2: Podmínky HRMS analýz

Tab. 2: Conditions of the HRMS analyses

Ionizace	Parametr	Hodnota	
ESI (-)	sheath gas	18 AU	
	aux gas	7 AU	
	sweep gas	0 AU	
	teplota iontového zdroje	250 °C	
	napětí spreje	2,5 kV	
	rozsah skenování	100–1 000 Da	
	nástřik (přes smyčku)	5 μ l do proudu MeOH (150 μ l·min ⁻¹)	
	teplota kapiláry	300 °C	
	APCI (-)	sheath gas	40 AU
		aux gas	10 AU
sweep gas		0 AU	
teplota iontového zdroje		300 °C	
spray current		4 μ A	
rozsah skenování		100–1 000 Da	
nástřik (přes smyčku)		5 μ l do proudu MeOH (200 μ l·min ⁻¹)	
teplota kapiláry		300 °C	

Pro přiřazení elementárního složení píkům ve spektru byla použita následovná kritéria: $C_{0-35}H_{0-60}O_{0-20}N_{0-2}$, DBE 0–30, náboj -1 a maximální tolerance stanovení elementárního složení ± 3 ppm. Analyzovány byly jenom ionty se sudým počtem elektronů ($[M-H]^-$). Po přiřazení elementárních složení detekovaným píkům v Xcaliburu byla data dále zpracována v MS Excel.

3. Výsledky a diskuze

V rámci této kapitoly jsou prezentovány a diskutovány výsledky analýz méně těkavých a netěkavých složek bio-olejů. Kapitola je rozdělena na obecnou charakteristiku pro všechny analýzy a specifické závěry pro jednotlivé bio-oleje.

3.1. Obecná charakteristika HRMS analýz všech bio-olejů

Analýza méně těkavých a netěkavých složek bio-olejů byla provedena vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií typu orbitrap. K analýzám byl použit orbitrap starší generace, Orbitrap Velos s maximálním rozlišením 100 000 při m/z 400, jehož vhodnost pro analýzy tohoto druhu byla diskutována v práci Staš a kol.[18].

3.1.1 Výběr ionizačních technik pro HRMS analýzu

HRMS analýza vzorků bio-olejů byla prováděna pomocí dvou různých ionizačních technik, které jsou k dispozici v Laboratoři hmotnostní spektrometrie Centrálních laboratoří VŠCHT Praha, a to ESI a APCI. Detekovány byly záporné ionty. Kombinace dvou ionizačních technik byla zvolena z důvodu komplexní detekce slou-

čenin, jelikož žádná z měkkých ionizačních technik dosud používaných v HRMS není zcela univerzální, tj. tyto techniky neumožňují detekci všech typů sloučenin bez ohledu na jejich fyzikálně-chemické vlastnosti. Je známo, že ionizační technika ESI je vhodná pro analýzu středně až silně polárních látek s širokým rozpětím m/z a technikou APCI lze detekovat méně polární až polární látky (v porovnání s ESI je polarita detekovaných sloučenin posunuta více k nepolárním látkám) s m/z do ~1500 [5,19]. Obě tyto techniky detekují v záporném módu především kyslíkaté sloučeniny a ani jedna z nich není vhodná k analýze zcela nepolárních látek typu nearomatických uhlovodíků [5,19]. Je proto potřeba vzít do úvahy, že i kdyby takovéto látky byly v bio-olejích přítomny, nebyly by danými ionizačními technikami detekovány. Dále je potřeba zmínit, že relativní intenzity pozorované v HRMS spektrech pro jednotlivé sloučeniny případně skupiny sloučenin, neodpovídají jejich skutečnému zastoupení ve vzorku, jak bylo demonstrováno v práci Staš a kol.[19]. V praxi jsou HRMS data využívána hlavně pro semi-quantitativní porovnání mezi vzorky, které jsou analyzovány stejnou ionizační technikou a za stejných experimentálních podmínek (ředění vzorků, instrumentální podmínky, atd.).

V HRMS spektrech jednotlivých produktů naměřených dvěma různými ionizačními technikami byly pozoro-

rovány rozdíly, které souvisí s rozdílným aplikačním rozsahem obou použitých ionizačních technik, díky čemuž mohou ionizovat odlišné typy látek. Obecně lze říci, že ionizační technika ESI ionizovala lépe látky s nižším počtem kyslíkových atomů v molekule a s nižším DBE, kdežto u APCI byl trend spíše opačný, viz maxima ve spektrech z obr. 1 až 4, což je v souladu s literárními daty [5,18].

3.1.2 Distribuce molekulových hmotností složek bio-olejů

Velice důležitou informací, kterou lze pro jednotlivé bio-oleje vyčíst z HRMS spekter je informace o distribuci molekulových hmotností složek bio-olejů, resp. intervalu molekulových hmotností, viz tab. 3. Hodnoty prezentované v tab. 3 byly získány tak, že z naměřeného hmotnostního spektra byly vybrány ionty, kterým byl přiřazen konkrétní sumární vzorec. Ze vzniklého souboru dat byla provedena relativní distribuce na základě naměřených intenzit iontů, tj. součet intenzit všech iontů, pro které byl přiřazen sumární vzorec, byl normalizován na 100 %. Distribuce byla rozdělena do intervalů molekulových hmotností od 100 do 200 Da, od 200 do 300 Da, od 300 do 400 Da, od 400 do 500 Da a nad 500 Da.

Tab. 3: Distribuce molekulových hmotností složek (v % hm.) bio-olejů v (-) ESI-HRMS a (-) APCI-HRMS spektrech
Tab. 3: Distribution of molecular weights of detected compounds (in wt. %) in the (-) ESI-HRMS and (-) APCI-HRMS spectra

m/z	PC		PH		RSIT		RSIK		RBT		RBK		RSmT		RSmK	
	ESI	APCI	ESI	APCI	ESI	APCI	ESI	APCI	ESI	APCI	ESI	APCI	ESI	APCI	ESI	APCI
100–200	65	33	58	68	40	6	34	13	51	12	45	12	39	7	41	14
200–300	18	33	29	14	28	21	35	25	24	19	27	24	35	24	36	29
300–400	9	19	8	8	25	44	24	39	18	36	18	33	17	32	16	28
400–500	7	11	4	6	6	24	6	18	6	20	8	20	8	27	6	22
>500	1	4	1	4	1	5	1	5	1	13	2	11	1	10	1	7

Více než 95 % sloučenin detekovaných v ESI spektrech bio-olejů (bráno jako součet relativních intenzit) má molekulovou hmotnost menší než 500 Da, přičemž nejvyšší intenzitu mají látky s m/z do 200. Kolem 82–87 % sloučenin u bio-olejů z celulózy a hemicelulózy a kolem 68–77 % sloučenin bio-olejů z ligninů má m/z do 300. U APCI-HRMS jsou detekované hodnoty m/z posunuty k mírně vyšším hodnotám, což je dáno rozdílnou povahou obou ionizačních technik, stejně však asi 87–96 % sloučenin mají m/z nižší než 500. Nejvyšší pozorované hodnoty m/z se pohybovaly kolem 650 a byly pozorovány u vzorků z rychlé termické i katalytické pyrolýzy smrku a buku. Zjištěný rozsah molekulových hmotností je v souladu s literárními daty [5].

Jak již bylo řečeno, HRMS je technika, která v komplexních směsích umožňuje detekovat méně těkavé a také netěkavé, vysokomolekulární složky. Předchozí odstavec uvádí, že většina sloučenin detekovaných technikou HRMS měla molekulové hmotnosti v rozsahu od 100

do 500 Da. Literatura [6] uvádí rozsáhlý přehled složek, které byly v bio-olejích detekované pomocí GC-MS, a velká většina z těchto složek měla molekulové hmotnosti do 220 Da. Zejména v oblasti ~100–220 Da tedy lze očekávat překryv mezi GC-MS a HRMS daty, tj. že některé složky analyzovaných bio-olejů, které spadají do daného intervalu molekulových hmotností, jsou detekovatelné oběma metodami. Tab. 4 porovnává pro analyzované bio-oleje počet složek v rozsahu 100–220 Da detekovaných technikou GC-MS vs. počet elementárních složení detekovaných pomocí HRMS, které spadají do stejného hmotnostního intervalu. Z tabulky je patrné, že počet složek detekovaných technikou HRMS výrazně převyšuje počet látek detekovaných pomocí GC-MS. Z toho plyne, že máme značné mezery nejenom ve znalosti chemického složení netěkavého podílu bio-oleje, který nelze detekovat pomocí GC-MS, ale máme rovněž poměrně velké nedostatky ohledně znalosti struktury méně těkavých složek bio-oleje, které pomocí GC-MS analyzovat lze.

Tab. 4: Počet detekovaných sloučenin/elementárních složení technikami GC-MS a HRMS v rozsahu molekulových hmotností 100–220 Da

Tab. 4: The number of detected compounds/elemental compositions using GC-MS and HRMS in the molecular weight range of 100-220 Da

Bio-olej	Počet detekovaných sloučenin/element. složení		
	GC-MS	(-) ESI-HRMS	(-) APCI-HRMS
PC	~40	~150	~240
PH	~40	~180	~210
RSIT	~25	~280	~160
RSIK	~25	~330	~220
RBT	~30	~190	~170
RBK	~30	~180	~150
RSmT	~20	~160	~130
RSmK	~20	~160	~170

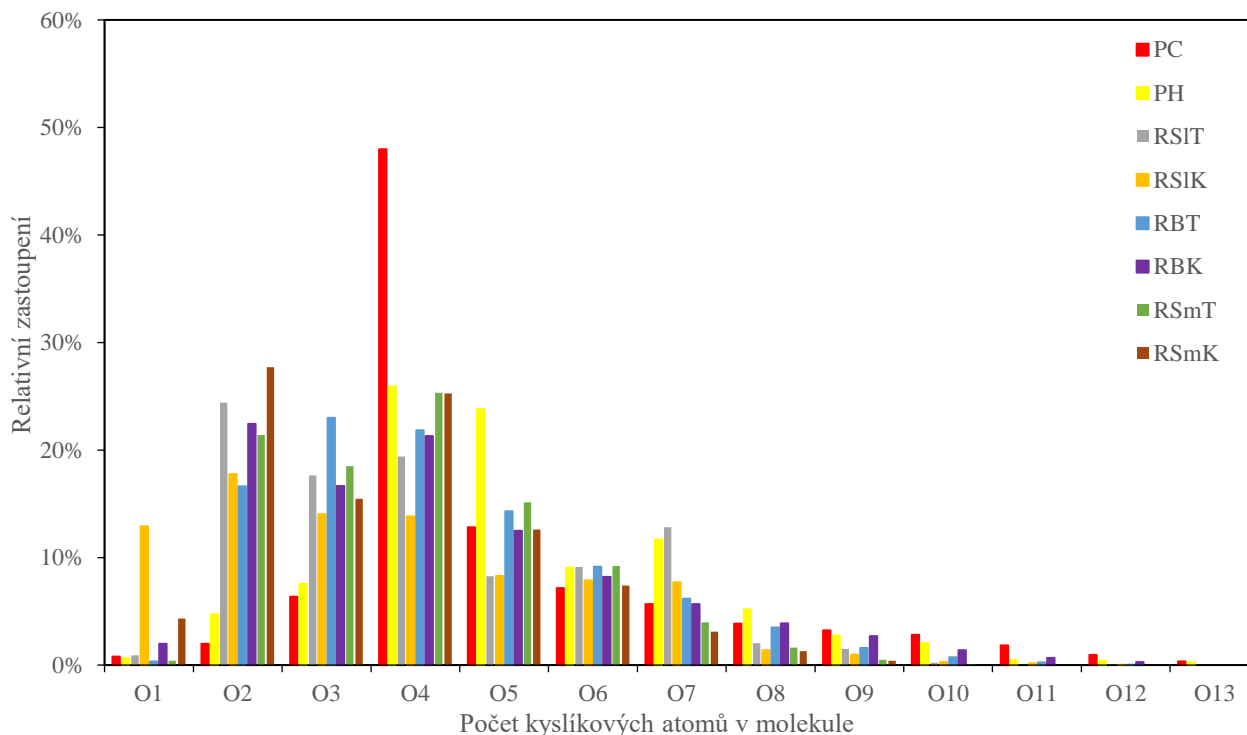
Je to způsobeno často nedostatečným chromatografickým rozlišením a nedostupností některých složek bio-olejů v MS knihovnách [6,20].

3.1.3 Presentace výsledků HRMS analýz

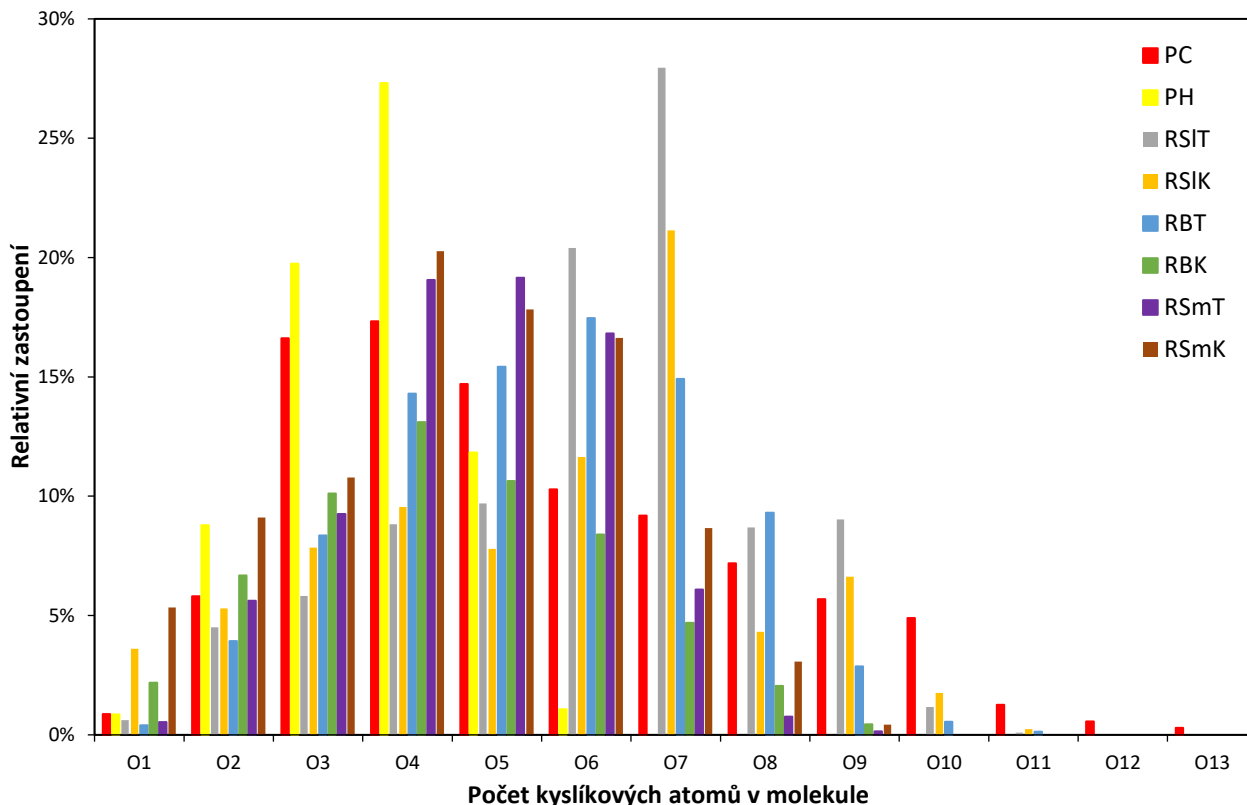
HRMS analýzou byly v jednotlivých bio-olejích detekovány stovky různých sloučenin na základě měření přesné molekulové hmotnosti, které bylo následně přiřazeno odpovídající elementární složení (sumární vzorec). Je zde nutno znovu zdůraznit, že použité ionizační techniky detekují především kyslíkaté sloučeniny.

Výsledky petroleomických (HRMS) analýz jsou často prezentovány jako relativní zastoupení jednotlivých heteroatomárních tříd, viz obr. 1 a 2. Heteroatomární třídy jsou tvořeny sloučeninami, které obsahují v molekule stejný typ a stejný počet heteroatomů, tj. např. heteroatomární třída typu O_3 je tvořena sloučeninami, jež v molekule obsahují z heteroatomů pouze kyslík a počet kyslíkových atomů v molekule je tři. Relativní zastoupení dané heteroatomární třídy se získá jako podíl součtu intenzit všech členů dané třídy a celkového součtu intenzit všech detekovaných sloučenin.

Stejným způsobem se počítá také relativní zastoupení jednotlivých DBE tříd (viz obr. 3 a 4), které informuje o stupni nenasycenosti vzorku. Smith a kol.[20] ve své práci jako první použili DBE parametr na dělení složek bio-olejů na látky sacharidové povahy a jejich deriváty (vznikající hlavně termickým rozkladem celulózy a hemicelulózy, $DBE < 4$) a látky fenolické povahy (vznikající hlavně termickým rozkladem ligninu, $DBE \geq 4$). Rozlišení vychází z rozdílné struktury těchto sloučenin. Látky sacharidové povahy se vyznačují nízkou nenasyceností a vyšším počtem kyslíkových atomů, např. levoglukosan (hlavní produkt pyrolýzy celulózy) má sumární vzorec $C_6H_{10}O_5$ a DBE 2 a celobiosan (heterodimer glukózy a levoglukosanu) má vzorec $C_{12}H_{20}O_{10}$ a DBE 3. Naopak fenolické látky se v porovnání se sacharidy a jejich deriváty vyznačují vyšší nenasyceností; minimální hodnota DBE u látek fenolické povahy je rovná čtyřem, což vyplývá ze struktury benzenového jádra, jež obsahuje tři dvojnásobné vazby a jeden kruh

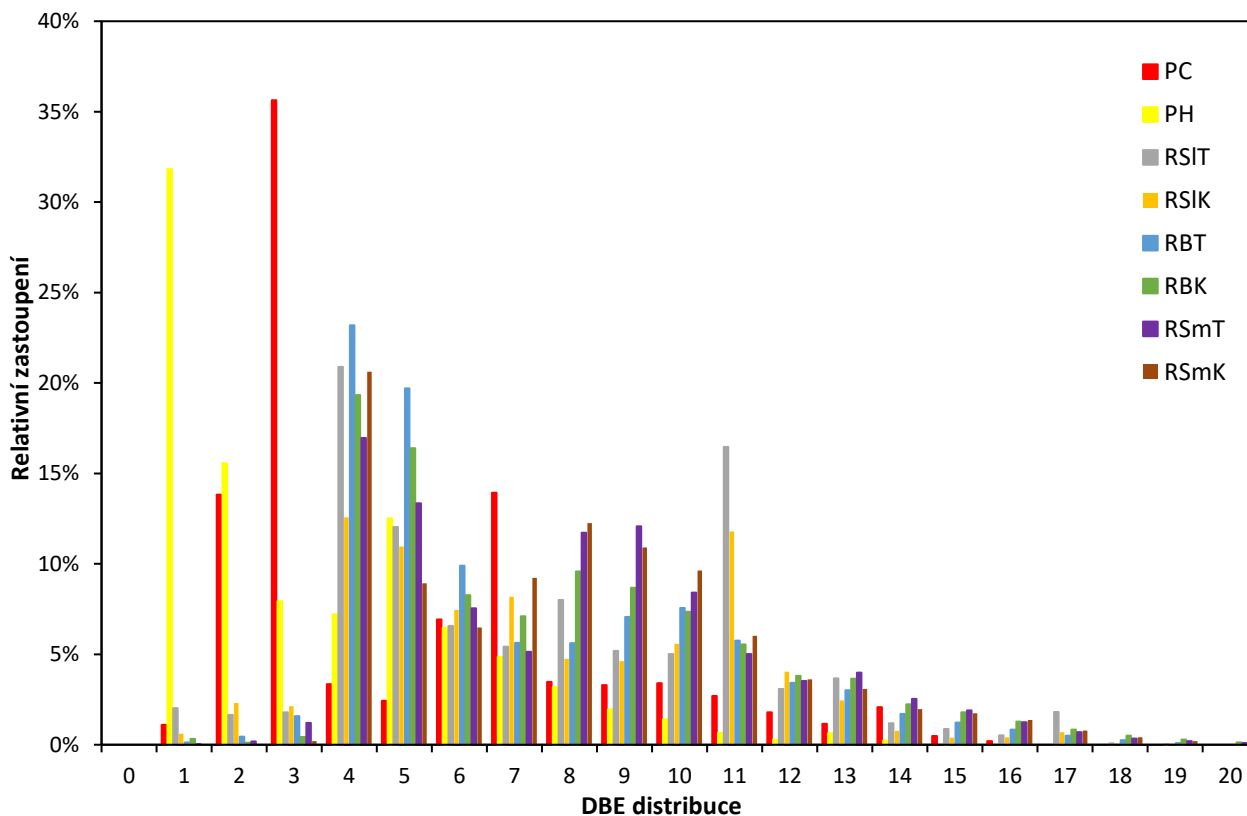


Obr. 1: Zastoupení heteroatomárních tříd, ESI-HRMS
Fig. 1: Heteroatom class distribution, ESI-HRMS



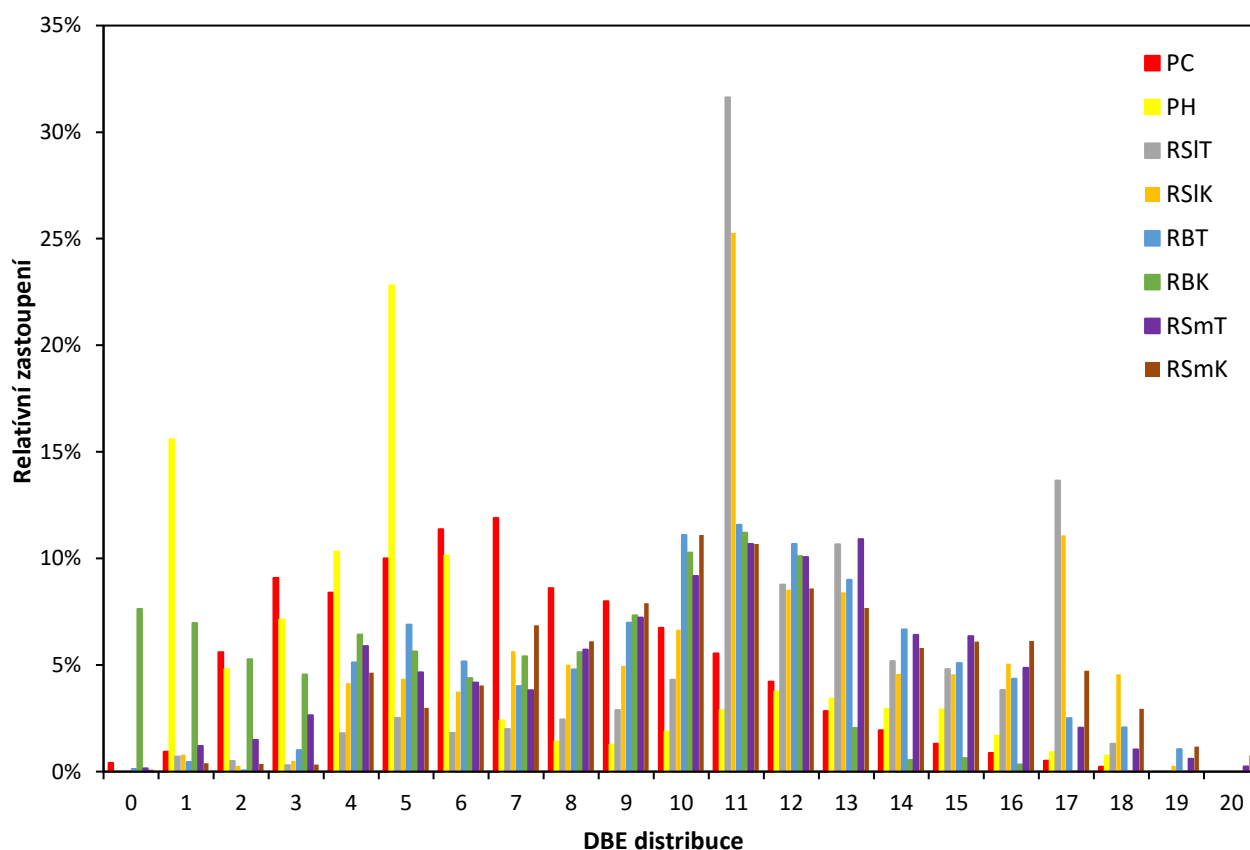
Obr. 2: Zastoupení heteroatomárních tříd, APCI-HRMS

Fig. 1: Heteroatom class distribution, APCI-HRMS



Obr. 3: Distribuce DBE ve složkách bio-olejů, ESI-HRMS

Fig. 3: DBE distribution, ESI-HRMS



Obr. 4: Distribuce DBE ve složkách bio-olejů, APCI-HRMS

Fig. 4: DBE distribution, APCI-HRMS

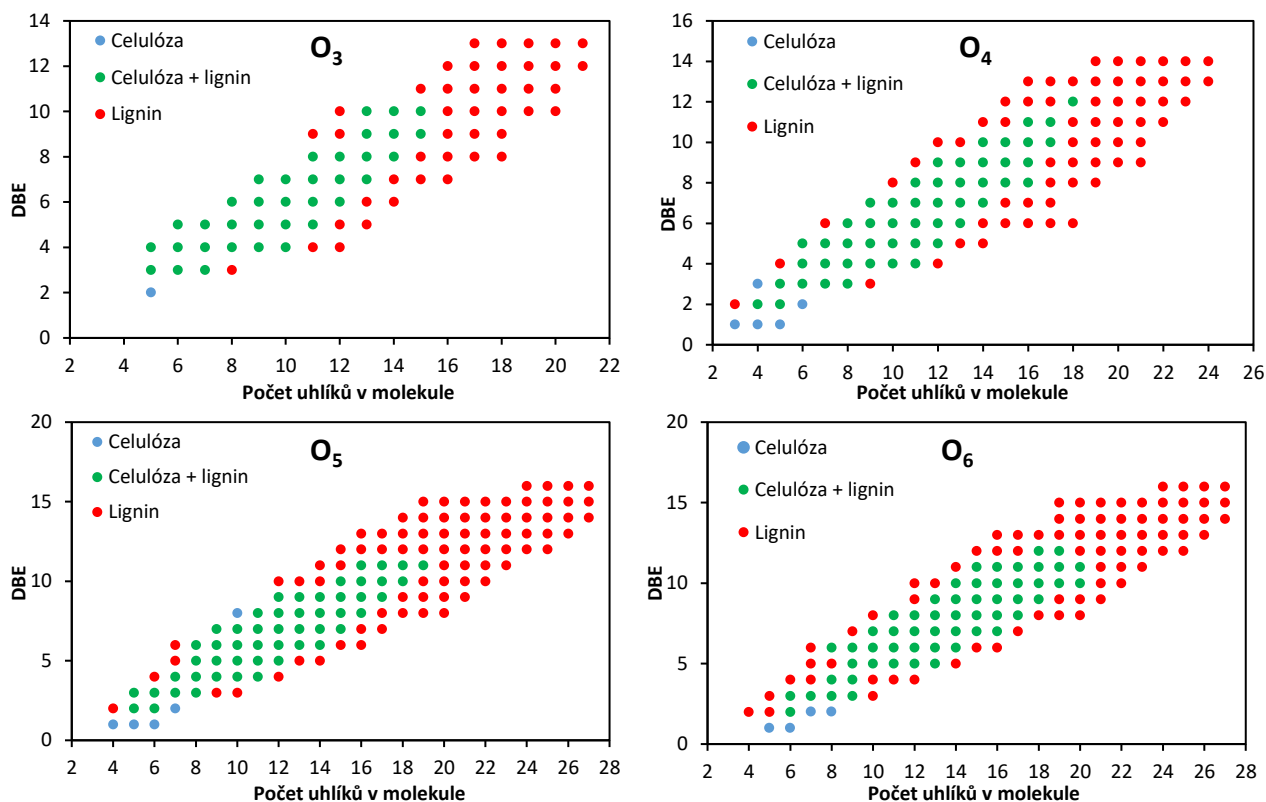
Na obr. 5 je pro ilustraci uvedeno zobrazení typu DBE vs. počet uhlíkových atomů v molekule. Toto zobrazení se prezentuje zvlášť pro každou heteroatomární třídu (zde pro O_3 až O_6 látky) a umožňuje prezentovat v prostorově úsporné formě každé detekované elementární složení zvlášť (jeden bod v grafu odpovídá jednomu elementárnímu složení). V zobrazení jsou viditelné vertikální i horizontální série. Členy horizontální série patří do stejné heteroatomární třídy a mají stejné DBE, ale liší se počtem uhlíků v molekule (inkrement CH_2). Naopak členy vertikální série patří do stejné heteroatomární třídy a mají stejný počet uhlíků v molekule, ale liší se hodnotou DBE (rozdíl dvou vodíků). Na základě znalosti počtu uhlíkových atomů, heteroatomů a hodnoty DBE lze každému bodu v zobrazení přiřadit konkrétní sumární vzorec. Na záznamu jsou barevně odlišena elementární složení detekovaná pouze v bio-oleji z pomalé pyrolýzy celulózy (modrá), elementární složení detekovaná pouze v bio-oleji z rychlé pyrolýzy bukového ligninu (červená) a elementární složení detekovaná současně v obou bio-olejích (zelená). Rozložení bodů má tvar typický pro bio-oleje, tj. nárůst počtu uhlíkových atomů v molekule je doprovázen nárůstem nenasycenosti (DBE) sloučenin. Zároveň se zvyšujícím počtem kyslíkových atomů v molekule ($O_3 \rightarrow O_6$), se maximální hodnoty DBE i počtu atomů uhlíků v molekule posouvají k vyšším hodnotám.

Námi použité 2D zobrazení vypovídá pouze o přítomnosti dané látky/skupiny látek ve vzorku. V literatuře jsou popsána také 3D zobrazení, jež nesou také informaci o relativní intenzitě pro každé prezentované elementární složení [20].

Na obr. 6 jsou pro ilustraci znázorněny van Krevelenovy diagramy pro bio-olej z celulózy a bukového ligninu. Ve van Krevelenových diagramech je ze sumárního vzorce sloučeniny na osu x grafu vynesena poměr O/C (případně také N/C nebo S/C) a na osu y poměr H/C , soubor sumárních vzorců je tak přenesen do 2D grafů. 3D Van Krevelenův graf pak zobrazuje i intenzity iontů, které odpovídají příslušným sumárním vzorcům.

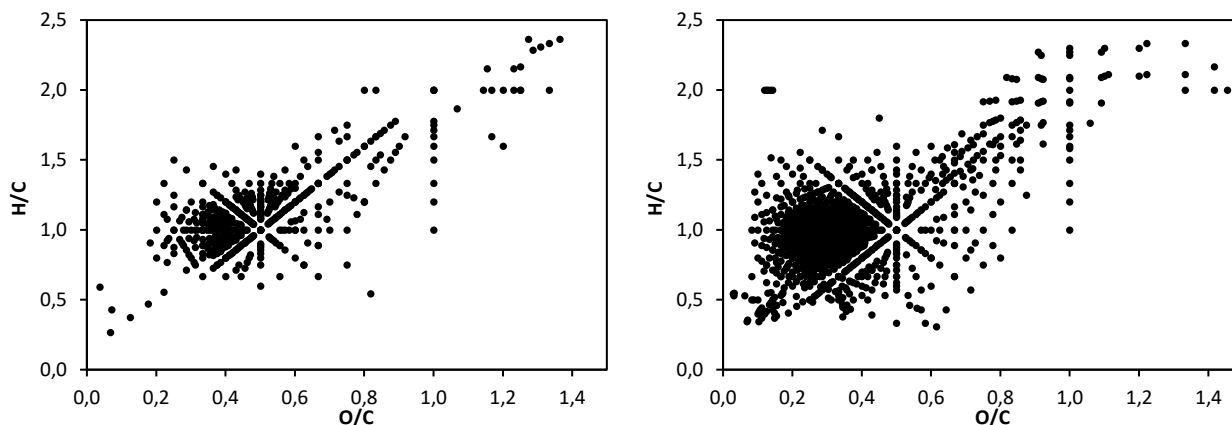
Na základě polohy bodů ve van Krevelenových diagramech lze získat částečnou informaci o struktuře příslušné sloučeniny. Ve van Krevelenových diagramech bio-olejů lze detekovat oblasti příslušící fenolickým sloučeninám odvozeným od ligninu, kondenzovaným aromatickým sloučeninám, nearomatickým sloučeninám odvozených od holocelulózy (celulózy a hemicelulózy) a lipidům, viz tab. 5.

Lze konstatovat, že van Krevelenův diagram bio-oleje RBT odpovídá zjištěním prezentovaným v části 1.



Obr. 5: Zobrazení typu DBE vs. počet uhlíků v molekule pro O_3 – O_6 látky, ESI-HRMS analýza bio-olejů z pomalé pyrolýzy celulózy (PC) a rychlé termické pyrolýzy bukového ligninu (RBT)

Fig. 5: DBE vs. carbon number plots for O_3 – O_6 compounds, (-) ESI-HRMS analysis of the PC (from slow pyrolysis of cellulose) and RBT (from fast pyrolysis of beech lignin) bio-oils



Obr. 6: Van Krevelenovy diagramy bio-olejů z pomalé pyrolýzy celulózy (vlevo) a rychlé termické pyrolýzy bukového ligninu (vpravo), (-) ESI-HRMS data

Fig. 6: Van Krevelen diagrams of bio-oils from slow pyrolysis of cellulose (left) and fast pyrolysis of beech lignin (right), (-) ESI-HRMS

V diagramu co do počtu (a rovněž co do intenzity – není zde znázorněno) zjevně dominují aromatické (fenolické) struktury odvozené od ligninu, ale jsou zde viditelné také body (sloučeniny) spadající do oblasti derivátů holocelulózy. V tomto případě se nicméně jedná o sloučeniny vzniklé štěpením aromatického jádra. Výsledky této práce tedy naznačují, že terminologie dosud

používaná při popisu van Krevelenových diagramů bio-olejů není úplně správná a vyžaduje úpravu. Závěry z van Krevelenova diagramu bio-oleje PC vůbec neodpovídají jeho skutečnému složení. Za prvé je potřeba zdůraznit, že na obr. 6 jsou zobrazeny 2D van Krevelenovy diagramy, které nenesou informaci o relativní intenzitě příslušných bodů (sloučenin).

Tab. 5: Typické oblasti sloučenin bio-olejů ve van Krevelonových diagramech. Se souhlasem držitele autor-
ských prav převzato a upraveno z ref. [5].

Copyright 2017 American Chemical Society.

Tab. 5: Typical areas of bio-oil compounds in van Krevelen diagrams. Adapted with permission from ref. 5.

Copyright 2017 American Chemical Society.

Sloučeniny	O/C	H/C
deriváty ligninu	~0,2–0,8	~0,6–1,4
kondenzované aromáty	~0,0–0,6	~0,3–0,8
deriváty holocelulózy	~0,7–1,1	~1,0–1,8
lipidy	~0,0–0,3	~1,2–2,0

Co se týče počtu bodů, oblast aromatických (fenolických) látek je zjevně početněji zastoupena v porovnání s oblastí derivátů holocelulózy. Co se týče intenzity, mírně dominuje oblast derivátů holocelulózy (~52 vs. 48 %). Z těchto výsledků vyplývá, že bio-olej z celulózy obsahuje aromatické sloučeniny, což bude podrobněji diskutováno v kap. 3.2.1. Vysoká relativní intenzita aromatických (fenolických) látek a naopak nižší intenzita derivátů holocelulózy souvisí s použitou ionizační technikou (ESI v negativním modu). V práci Staš a kol.[19] bylo na vybraných modelových látkách bio-oleje demonstrováno, že ESI v negativním modu ionizace velice dobře ionizuje methoxy- a dimethoxyfenoly, a naopak některé deriváty holocelulózy neionizuje buď vůbec anebo mnohem hůře než deriváty ligninu.

3.2. Specifické charakteristiky HRMS spekter jednotlivých bio-olejů

Cílem těchto analýz bylo stanovit elementární složení, která jsou typická pro bio-oleje z jednotlivých základních stavebních složek biomasy a získat tak informace ohledně méně těkavých a netěkavých složek těchto bio-olejů. Dále bylo provedeno přiřazení konkrétních struktur vybraným píkům (elementárním složením) s nejvyšší intenzitou ve spektru. Toto přiřazení lze spíše chápat jako odhad, jelikož bylo založeno pouze na kombinaci GC-MS (nízké rozlišení, ionizace EI, +70 eV, snímané kladné ionty) a HRMS dat (vysoké rozlišení, APCI a ESI ionizace, snímané záporné ionty); správnost přiřazení nebyla dále ověřována. Této problematice, tj. zjišťování přesných struktur příslušejících jednotlivým detekovaným elementárním složením pomocí pokročilejších analytických technik (např. MS-MS), a dále podrobným popisem HRMS spekter bio-olejů z jednotlivých stavebních složek biomasy se budeme věnovat více v dalších pracích. Je zde namísto opětovně zdůraznit, že získané relativní intenzity píků v HRMS spektru nemusí odpovídat (a většinou ani neodpovídají) skutečným koncentracím příslušných složek ve vzorku, viz kap. 3.1.1.

3.2.1 Bio-olej z celulózy

V ESI-HRMS spektru výrazně dominují O₄ látky (tj. látky obsahující kyslík jako jediný heteroatom v molekule s počtem kyslíkových atomů rovným čtyřem), viz

obr. 1 a 2. Této skupině látek dominují dvě elementární složení, a to C₅H₆O₄ (DBE 3) a C₁₀H₈O₄ (DBE 7), jejichž relativní intenzita byla 100 a 29 %. Ani jednomu z těchto elementárních složení neodpovídá žádná z látek detekovaných v GC-MS spektrech z této práce, viz část 1. Žádné z těchto elementárních složení rovněž neodpovídá ani jednomu záznamu z rozsáhlé databáze uvedené v práci [6]. Posledním elementárním složením s relativní intenzitou nad 25 % bylo elementární složení C₆H₁₀O₅ (DBE 2). Toto elementární složení odpovídá levoglukosanu a případně dalším anhydropyranózám. Všechny z těchto dominantních píků se významně projevují i v grafu znázorňujícím DBE distribuci, viz obr. 3 a 4.

Co se týče stupně nenasycenosti detekovaných složek (parametr DBE), v ESI-HRMS spektru dominují složky s DBE 3 (~36 %) a zastoupení složek s DBE < 4 je přibližně 52 %. (což dobře koresponduje s výsledky diskutovanými v kap. 3.1.3). Jedná se hlavně o lehčí kyslíkaté sloučeniny, viz obr. 5, vzniklé hlavně v důsledku štěpení pyranózového kruhu. Jsou zde přítomné i látky s DBE ≥ 4, a to v celkové relativní intenzitě ~48 %. Na základě dělení podle Smith a kol.[20] lze předpokládat, že mnohá z těchto elementárních složení (pravděpodobně velká většina) odpovídají látkám aromatické (fenolické) povahy. I když jsou fenolické látky spíše typickým produktem termického rozkladu ligninu, jejich přítomnost v pyrolýzních produktech celulózy není neočekávaná, jelikož zde mohou vznikat jako důsledek intramolekulárních dehydratačních reakcí celulózy vedoucích ke vzniku násobných C=C vazeb a následně ke tvorbě produktů aromatické povahy [21]. Předpoklad ohledně přítomnosti fenolických látek v produktech pyrolýzy celulózy lze rovněž podpořit výsledkem GC-MS analýz bio-oleje z celulózy, viz část 1, jelikož v GC-MS spektru byly aromáty a fenoly pozorovány. Navíc, jak bylo prezentováno v práci Staš a kol.[19], tyto látky ionizují v (-) ESI i APCI a jsou tedy těmito ionizačními technikami detekovatelné. Dále je třeba vzít v úvahu, že oligomerní sacharidy, které by teoreticky mohly být zodpovědné za vyšší hodnoty DBE, by se při hodnotách DBE pozorovaných ve spektru, viz obr. 3 a 4, vyznačovaly významně vyšším počtem kyslíkových atomů v molekule, viz celobiosan C₁₂H₂₀O₁₀ a DBE 3.

APCI-HRMS spektrum se svým vzhledem významně lišilo od ESI spektra, ve kterém měly jenom tři píky vyšší relativní intenzitu než 25 %. V APCI spektru bylo dominantních píků výrazně víc – 45 píků mělo relativní intenzitou větší než 20 %. Detekované hodnoty DBE naznačují rovněž přítomnost sloučenin aromatické povahy. Píky s nejvyšší intenzitou ve spektru příslušely levoglukosanu (C₆H₁₀O₅, DBE 2), celobiosnu (C₁₂H₂₀O₁₀, DBE 3), pyranům (C₅H₆O₃, DBE 3) a furanům (C₆H₈O₃, DBE 3).

Obecně lze konstatovat, že produkty pyrolýzy celulózy se vyznačovaly nižším počtem uhlíků v molekule v porovnání s produkty pyrolýzy ligninů a byly rovněž méně nenasycené, viz obr. 5.

3.2.2 Bio-olej z hemicelulózy

ESI-HRMS spektrum tvoří podobně jako v případě bio-oleje z celulózy pouze pár dominantních píků. Píku s nejvyšší intenzitou přísluší elementární složení $C_5H_{10}O_5$ (DBE 1). Toto elementární složení by mohlo odpovídat struktuře D-xylózy, což je jedna ze základních stavebních složek glukuronoxylanu, který je základní součástí hemicelulózy bukového (tvrdého) dřeva, z něhož byla hemicelulóza izolována, viz část 1. Další elementární složení s relativní intenzitou vyšší než 20 % byly $C_4H_8O_4$ a $C_5H_{10}O_4$, DBE 1 (zřejmě deriváty sacharidů nebo karboxylových kyselin) a $C_9H_{10}O_4$ a $C_{10}H_{12}O_4$, DBE 5 (dimethoxyfenoly). Mezi hlavní produkty pyrolýzy hemicelulózy tvrdých dřev patří také 4-hydroxy-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on ($C_5H_6O_3$, DBE 3) a 1,4-anhydro-D-xylopyranóza ($C_5H_8O_4$, DBE 2), jejichž elementární složení byla ve spektru nalezena.

V APCI-HRMS spektru byl píkem s nejvyšší intenzitou píku, jemuž přísluší elementární složení $C_5H_{10}O_5$ (DBE 1), které by mohlo, jak již zde bylo uvedeno, odpovídat struktuře D-xylózy. Podobně jako tomu bylo u APCI spektra bio-oleje z celulózy, APCI spektrum bio-oleje z hemicelulózy obsahuje desítky píků s vyšší relativní intenzitou. Ve spektru bylo detekováno několik píků s relativní intenzitou nad 30 %, které by odpovídaly hlavně methoxyfenolům ($C_8H_8O_3$, DBE 5; $C_9H_{10}O_3$, DBE 5 a $C_{10}H_{10}O_4$, DBE 6) a dimethoxyfenolům ($C_9H_{10}O_4$ a $C_{10}H_{12}O_4$, DBE 5). Další elementární složení detekovaná s vysokou relativní intenzitou byla stejně jako v případě ESI $C_4H_8O_4$ a $C_5H_{10}O_4$, DBE 1 (zřejmě deriváty sacharidů nebo karboxylových kyselin) a $C_5H_6O_3$, DBE 3 (zřejmě 4-hydroxy-5,6-dihydro-2H-pyran-2-on).

3.2.3 Bio-olej z ligninů

HRMS spektrům ligninů typicky dominovaly látky fenolické struktury, v minoritních množstvích byly přítomny také nearomatické sloučeniny, které vznikly rozštěpením aromatického cyklu.

ESI-HRMS spektra bio-olejů z ligninů se od spekter bio-olejů z celulózy a hemicelulózy lišily, jelikož obsahovaly výrazně vyšší počty píků s vyšší relativní intenzitou (>30 %). Ve všech ESI spektrech bio-olejů z termické pyrolýzy ligninů měl nejvyšší intenzitu píku, kterému odpovídalo elementární složení $C_7H_8O_2$ (DBE 4). Tento píku s největší pravděpodobností odpovídá guajakolu, nebo methybenzendiolum, případně všem těmto příslušným strukturám. Druhému nejintenzivnějšímu píku ve všech bio-olejích odpovídalo elementární složení $C_6H_6O_2$ (DBE 4), ke kterému lze přiřadit benzendioly. Další dominantní píky odpovídaly ethylbenzendiolum ($C_8H_{10}O_2$, DBE 4), methoxybenzendiolum ($C_7H_8O_3$, DBE 4) a methoxyfenolům ($C_8H_8O_3$ a $C_8H_8O_4$, DBE 5). Píky příslušící guajakolu příp. methylbenzendiolum měly nejvyšší intenzitu také ve spektrech bio-olejů z rychlé katalytické pyrolýzy smrkového a bukového ligninu. Další píky příslušely benzendiolum ($C_6H_6O_2$, DBE 4) a dále ethylbenzendiolum a methoxyfenolům, viz výše. V ESI spektru bio-oleje připraveného rychlou

katalytickou pyrolýzou slámového ligninu dominovaly píky příslušící pravděpodobně alkylfenolům (C_7H_8O a $C_8H_{10}O$, DBE 4) a naftolům ($C_{10}H_8O$, DBE 7).

APCI-HRMS spektra bio-olejů z rychlé termické i katalytické pyrolýzy ligninů obsahovaly v porovnání s ESI spektry větší množství dominantních píků. Tyto dominantní píky příslušely spíše oligomerním fenolickým látkám, jejichž strukturou se budeme zabývat v dalších pracích.

4. Závěr

Tato práce představuje druhou část práce, ve které byla pozornost věnována studiu složení bio-olejů z pomalé pyrolýzy celulózy a hemicelulózy a rychlé pyrolýzy ligninů z buku, slámy a smrku. V této části práce byly prezentovány výsledky analýz netěkavých podílů připravených bio-olejů metodou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie typu orbitrap. Ve vzorcích bio-olejů z jednotlivých stavebních složek biomasy byly detekovány typické sloučeniny a pro některé z nich byl na základě kombinace s GC-MS daty proveden odhad jejich struktury. Získané výsledky poslouží jako základ k hlubšímu studiu struktury netěkavých podílů bio-olejů z biomasy.

Poděkování

Práce byla realizována s podporou Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky z národního programu udržitelnosti (NPU I LO1613, MSMT-43760/2015). Autoři děkují panu Dr. Moritzi Leschinskému z centra Fraunhofer, Leuna CBP za dodání vzorků hemicelulózy a ligninů a panu Dr. Kostasi Triantafyllidisi z Aristotelové univerzity v Soluni za dodání bio-olejů z rychlé pyrolýzy ligninů.

Seznam použitých zkratk

APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
API	ionizace za atmosférického tlaku
AU	arbitrary units
C	celulóza
Da	Dalton
DBE	počet kruhů a dvojných vazeb (stupeň nenasycenosti)
GC	plynová chromatografie
EI	ionizace nárazem elektronů
ESI	ionizace v elektrospreji
FT-ICR	iontová cyklotronová resonance s Fourierovou transformací
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
H	hemicelulóza
HRMS	vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie
LC	kapalinová chromatografie
MH	molekulová hmotnost
MS	hmotnostní spektrometrie
MS-MS	tandemová hmotnostní spektrometrie
NMR	nukleární magnetická rezonance
PC	bio-olej z pomalé pyrolýzy celulózy
PH	bio-olej z pomalé pyrolýzy hemicelulózy
RBK	bio-olej z rychlé katalytické pyrolýzy bukového ligninu

RBT	bio-olej z rychlé termické pyrolýzy bukového ligninu
RSIK	bio-olej z rychlé katalytické pyrolýzy slámového ligninu
RSIT	bio-olej z rychlé termické pyrolýzy slámového ligninu
RSmK	bio-olej z rychlé katalytické pyrolýzy smrkového ligninu
RSmT	bio-olej z rychlé termické pyrolýzy smrkového ligninu

5. Literatura

- Oasmaa A., Van De Beld B., Saari P., Elliott D.C., Solantausta Y.: Norms, Standards, and Legislation for Fast Pyrolysis Bio-oils from Lignocellulosic Biomass; *Energy Fuels* 29, 2015, 2471.
- Staš M., Auersvald M., Shumeiko B., Kubička D.: Review of pyrolysis bio-oil applications. Sborník 5th International Conference on Chemical Technology, Mikulov, Czech Republic, 2017, str. 350.
- Staš M., Kubička D., Chudoba J., Pospíšil M.: Přehľad aplikácií pyrolýzneho bio-oleja; *Chem. Listy* 109, 2015, 499.
- Czernik S., Bridgwater A.: Overview of applications of biomass fast pyrolysis oil; *Energy Fuels* 18, 2004, 590.
- Staš M., Chudoba J., Kubička D., Blažek J., Pospíšil M.: Petroleomic Characterization of Pyrolysis Bio-oils: A Review; *Energy Fuels* 31, 2017, 10283.
- Staš M., Kubička D., Chudoba J., Pospíšil M.: Overview of Analytical Methods Used for Chemical Characterization of Pyrolysis Bio-oil; *Energy Fuels* 28, 2014, 385.
- Kanaujia P.K., Sharma Y., Agrawal U., Garg M.: Analytical approaches to characterizing pyrolysis oil from biomass; *Trends Anal. Chem.* 42, 2013, 125.
- Hao N., Ben H., Yoo C.G., Adhikari S., Ragauskas A.J.: Review of NMR characterization of pyrolysis oils; *Energy Fuels* 30, 2016, 6863.
- Michailof C.M., Kalogiannis K.G., Sfetsas T., Patiaka D.T., Lappas A.A.: Advanced analytical techniques for bio-oil characterization; *WIREs Energy Environ.* 5, 2016, 614.
- Mullen C.A., Strahan G.D., Boateng A.A.: Characterization of Various Fast-Pyrolysis Bio-Oils by NMR Spectroscopy†; *Energy Fuels* 23, 2009, 2707.
- Scholze B., Hanser C., Meier D.: Characterization of the water-insoluble fraction from fast pyrolysis liquids (pyrolytic lignin): Part II. GPC, carbonyl groups, and ¹³C-NMR; *J. Anal. Appl. Pyrol.* 58, 2001, 387.
- Scholze B., Meier D.: Characterization of the water-insoluble fraction from pyrolysis oil (pyrolytic lignin). Part I. PY-GC/MS, FTIR, and functional groups; *J. Anal. Appl. Pyrol.* 60, 2001, 41.
- Staš M., Chudoba J.: Petroleomika – teoretické základy a možnosti využitia pri analýze ropných frakcií a biopalív; *Chem. Listy* 111, 2017, 628.
- Marshall A.G., Rodgers R.P.: Petroleomics: The next grand challenge for chemical analysis; *Accounts of Chemical Research* 37, 2004, 53.
- Islam A., Cho Y.: Data interpretation methods for petroleomics; *Mass Spectrom. Lett.* 3, 2012, 63.
- Lobodin V.V., Rodgers R.P., Marshall A.G.: Petroleomics and the analysis of complex organic mixtures with Fourier transform ion cyclotron resonance, v knize *Comprehensive Environmental Mass Spectrometry*, A.T. Lebedev, Editor. 2012, ILM Publications: Herfordshire, UK, str. 415.
- Rodgers R.P., Schaub T.M., Marshall A.G.: Petroleomics: MS Returns to Its Roots; *Anal. Chem.* 77, 2005, 20 A.
- Staš M., Chudoba J., Kubička D., Pospíšil M.: Chemical Characterization of Pyrolysis Bio-oil: Application of Orbitrap Mass Spectrometry; *Energy Fuels* 29, 2015, 3233.
- Staš M., Chudoba J., Auersvald M., Kubička D., Conrad S., Schulzke T., Pospíšil M.: Application of orbitrap mass spectrometry for analysis of model bio-oil compounds and fast pyrolysis bio-oils from different biomass sources; *J. Anal. Appl. Pyrol.* 124, 2017, 230.
- Smith E.A., Park S., Klein A.T., Lee Y.J.: Bio-oil Analysis Using Negative Electrospray Ionization: Comparative Study of High-Resolution Mass Spectrometers and Phenolic versus Sugaric Components; *Energy Fuels* 26, 2012, 3796.
- Collard F.-X., Blin J.: A review on pyrolysis of biomass constituents: Mechanisms and composition of the products obtained from the conversion of cellulose, hemicelluloses and lignin; *Renew. Sust. Energ. Rev.* 38, 2014, 594.

Summary

Analysis of Nonvolatile Fractions of Bio-oils From Pyrolysis of Cellulose, Hemicellulose and Lignins

Martin Staš, Aneta Závodníková, Miloš Auersvald, Josef Chudoba and David Kubička

Bio-oils from biomass pyrolysis are second-generation biofuels that have, besides fuel applications, a promising potential to be used as a source of valuable oxygen-containing chemicals. A more widespread use of bio-oils requires more detailed knowledge of their chemical composition. In this work, we studied the chemical composition and the physical and chemical properties of bio-oils from slow and fast pyrolysis of the basic building components of biomass, i.e. cellulose, hemicellulose and lignin. The work is divided into two articles. The first part was devoted to (i) the presentation of the results of the analyses of pyrolysis feedstock, (ii) the description of the preparation of bio-oils and (iii) the presentation of the results of the analyses of physical and chemical properties of the bio-oils and their volatile fractions. Here, in the

second article, the attention is given to the characterization of less volatile and nonvolatile components of the prepared bio-oils. High-resolution orbitrap mass spectrometry was used for these analyses. Using the methods

described in both articles, a comprehensive characterization of the prepared bio-oils was achieved. The obtained knowledge can be helpful to understand the chemical compositions of entire bio-oils and facilitate their more widespread use.