

LAPPEENRANNAN TEKNILLINEN KORKEAKOULU
Kemiantekniikan osasto
Teknillisen kemian laboratorio

DIPLOMITYÖ

**ALIKRIITTISEN VEDEN KÄYTTÖ
KROMATOGRAFISESSA EROTUKSESSA**

Diplomityön aihe on hyväksytty kemiantekniikan osaston osastoneuvoston kokouksessa 14.02.2001

Työn tarkastaja: Prof. Erkki Paatero

Työn ohjaajat: DI Marja Talvila-Ruonala
DI Jari Tiihonen
DI Heikki Heikkilä

Kotka 04.03.2002

Sirpa Silander
Matkakuja 6 A 4
48600 Karhula
p. 040-5774827

ALKUSANAT

Kiitän työni tarkastajaa Erkki Paateroa, työni ohjaajia Jari Tiihosta, Marja Talvila-Ruonala ja Heikki Heikkilää. Kiitän myös Irina Turkua ja Anne Hyrkkästä. Erityiskiitos Markku Laatikaiselle avusta ja asiantuntemuksesta.

Kiitän erityisesti vanhempiani, ystäviäni ja sukulaisiani, jotka ovat tukeneet ja kannustaneet minua vaikeinakin aikoina. Erityiskiitos Pirrelle, Katriinalle ja Villelle!
Also special thanks to Itai and Virginie –thanks for being there for me!

Sirpa Silander

TIIVISTELMÄ

Tekijä: Sirpa Silander
Työn nimi: Alikriittisen veden käyttö kromatografisessa erotuksessa
Osasto: Kemiantekniikan osasto
Vuosi: 2002
Paikka: Lappeenranta

Diplomityö. Lappeenrannan teknillinen korkeakoulu, teknillisen kemian laboratorio. 82 sivua, 31 kuvaa, 16 taulukkoa, 4 liitettä. Tarkastaja prof. Erkki Paatero.

Hakusanat: Alikriittinen vesi, paineistettu kuuma vesi, nestekromatografia, sokeri, sokerialkoholi, kationinvaihtohartsit.

Alikriittisellä vedellä tarkoitetaan paineistettua vettä, joka on kriittisen lämpötilansa (374 °C) alapuolella nestemäisessä tilassa. Veden tiheys pienenee lämpötilan kasvaessa. Veden liuotinominaisuuksia voidaan säädellä lämpötilan avulla. Veden pintajännitys, viskositeetti, tiheys ja polaarisuus pienenevät lämpötilan kasvaessa, ja alikriittisen veden aineominaisuudet muuttuvat lähemmäksi orgaanista liuotinta. Alikriittisen veden dielektrisyysvakion aleneminen johtuu pääasiassa lämpötilan vaikutuksesta ja vain vähän paineen vaikutuksesta. Alikriittistä vettä on käytetty liuottimena uutossa, mutta nyt myös alikriittinen kromatografia on kehityksessä oleva erotusmenetelmä.

Työn kokeellisessa osassa kehitettiin kromatografinen laitteisto alikriittiselle vedelle, jolla tutkittiin sokerialkoholien ja sokerien kromatografista erotusta alikriittisen veden avulla. Lisäksi tutkittiin sokerialkoholien, sokereiden ja stationäärifaasien termistä kestävyttä. Tutkittavina komponentteina olivat sorbitoli, mannitoli, ksylitoli, arabiinoini, mannoosi, ksyloosi, maltoosi ja ramnoosi. Stationäärifaaseina käytettiin makrohuokoista funktionalisoimatonta polystyreenidivinylibentseenikopolymeeriä, sekä vahvoja ja heikkoja divinylibentseenillä ristosilloitettuja kationinvaihtohartseja, jotka olivat joko Na⁺- tai Ca²⁺-ionimuodoissa.

Veden lämpötilan nostaminen vaikuttaa sekä kromatografisen stationäärifaasin tilavuusmuutoksiin että näytekomponenttien ominaisuuksiin. Vahvoilla kationinvaihtimilla havaittiin termisten tilavuusmuutosten riippuvan ionimuodosta: Na⁺-muotoiset hartsit turpoavat ja Ca²⁺-muotoiset kutistuvat lämpötilan noustessa. Heikot kationinvaihtimet kutistuvat molemmilla ionimuodoissa, mutta Ca²⁺-muoto kutistuu Na⁺-muotoa voimakkaammin. Näytekomponenteista sokerialkoholien havaittiin kestävän paremmin korkeita lämpötiloja kuin sokerien. Sokerialkoholeista kestävimmäksi havaittiin ksylitoli ja sokereista ramnoosi.

Tutkittavien komponenttien piikkien havaittiin kapenevan, häntämisen vähenevän, ja piikkien eluoituvan aikaisemmin riippuen käytettävästä stationäärifaasista. Ca²⁺-muotoisen vahvan kationinvaihtimen kompleksinmuodostuskyky heikkeni lämpötilan kasvaessa. Näytekomponenttien erotus ei kuitenkaan parantunut lämpötilan noustessa tutkituilla stationäärifaaseilla.

ABSTRACT

Author: Sirpa Silander
Title: Use of Subcritical Water in Chromatographic Separation
Department: Department of Chemical Technology
Year: 2002
Place: Lappeenranta

Master's Thesis. Lappeenranta University of Technology, Laboratory of Industrial Chemistry. 82 pages, 31 pictures, 16 tables, 4 appendixes. Supervisor Prof. Erkki Paatero.

Key words: Subcritical water, pressurized hot water, liquid chromatography, sugar, sugar alcohol, cation exchange resin.

Heated water under enough pressure to keep it in liquid state is called subcritical water. The critical temperature of water is 374 °C. Several physical properties of water are influenced by heating. Surface tension, viscosity, density and dielectric constant of water decrease with increasing temperature. At elevated temperatures the solvent properties of water become closer to those of organic solvents. This enables the use of subcritical water for the extraction of nonpolar compounds. Subcritical chromatography is a new and developing separation method.

In the experimental part of the present work an apparatus was developed for chromatographic separation of sugars and sugar alcohols. Also the thermal behavior of the components and the stationary phases were investigated. The components were sorbitol, mannitol, xylitol, arabinose, mannose, xylose, rhamnose and maltose. The stationary phases were a non-functionalized macroporous polystyrene divinylbenzene copolymer, as well as both weak and strong cation exchange resins in sodium or calcium form.

Raising of the water temperature had influence on both the volume changes of stationary phases as well as the properties of the components. When the temperature was elevated volume changes were found to depend on the ionic form of the resin. The strong cation exchangers in Na⁺-form swelled when the temperature was raised but the strong cation exchangers in Ca²⁺-form shrank when the temperature was raised. For weak cation exchangers there was no such dependence, both Na⁺- and Ca²⁺-forms shrank with increasing temperature. Sugar alcohols were found to be thermally more stable than sugars. Among sugar alcohols the most thermally stable component was xylitol and among sugars rhamnose. The peaks of the studied compounds became narrower with elevated temperature compared to the peaks eluted at room temperature. The complex formation capacity of the strong cation exchange resin in the Ca²⁺-form decreased with increasing temperature. The separation of sugar alcohols and sugars were not found to be improved.

SISÄLLYSLUETTELO

SYMBOLILUETTELO	3
1 JOHDANTO	5
2 ALIKRIITTINEN VESI	6
2.1 Veden liuotinominaisuudet	7
2.2 Alikriittisen veden käyttösovellukset.....	10
2.2.1 Uutto alikriittisellä vedellä	11
2.2.2 Alikriittiset kromatografiasovellukset	12
3 SOKERIT JA SOKERIALKOHOLIT.....	15
3.1 Sokerien ominaisuuksia	15
3.2 Sokerialkoholien ominaisuuksia.....	18
3.3 Sokerien ja sokerialkoholien kompleksinmuodostus	20
4 LÄMPÖTILASTABIILISUUS	24
4.1 Sokerien ja sokerialkoholien terminen kestävyys	24
4.2 Stationäärifaasin terminen kestävyys.....	28
4.2.1 Ioninvaihtohartsit.....	28
4.2.2 Zeoliitit.....	33
5 KROMATOGRFISEEN EROTTAMISEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT	34
5.1 Seoseluenttien vaikutus	34
5.2 Lämpötilan vaikutus.....	38
6 KOKEELLISEN TYÖN TARKOITUS	39
7 KOEJÄRJESTELYT	40
7.1 Materiaalit	40
7.2 Kromatografia koelaitteistot.....	41
7.2.1 Kokeissa käytetty kromatografialaitteisto.....	42
7.2.2 Uusi kromatografialaitteisto	43
7.3 Kromatografiset kokeet.....	44
7.4 Kromatografisen mittaustiedon käsittely	45
7.5 Hartsien lämpökäyttäytyminen.....	48
7.6 Hartsien palloskoon ja kapasiteetin määrittäminen.....	49
7.7 Näyteaineiden terminen kestävyden määrittäminen	49

8	TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU	50
8.1	Lämpötilan vaikutus stationäärifaasien ominaisuuksiin	50
8.2	Näyteaineiden terminen kestävyys.....	53
8.3	Kromatografia-ajojen tulokset	56
8.3.1	Lämpötilan vaikutus retentiotilavuuteen.....	58
8.3.2	Lämpötilan vaikutus retentiotekijään	62
8.3.3	Lämpötilan vaikutus HETP:hen	63
8.3.4	Lämpötilan vaikutus jakaantumisvakioon	66
8.3.5	Lämpötilan vaikutus diffuusiokertoimeen	68
8.3.5	Lämpötilan vaikutus erotustekijään.....	71
9	YHTEENVETO	73
	LÄHDELUETTELO	76
	LIITTEET	82

SYMBOLILUETTELO

$\overline{C_p^o}$	Komponentin moolinen lämpökapasiteetti	,J·mol ⁻¹
c	Moolinen konsentraatio	,mol·m ⁻³
D_{eff}	Tehollinen diffuusiokerroin	,m ² s ⁻¹
D_L	Aksiaalisen dispersiokertoimen	,-
d	Kolonnin halkaisija	,m
ΔH_{Na}^0	Na ⁺ -ionin affiniteetti	,J/mol
ΔH_I	Hilaenergia	,J
ΔH_S	Solvataatioenergia	,J
ΔH_V	Höyrystymisentalpia	,J·kg ⁻¹
$HETP$	Kolonnin pohjaluku	,m
M	Moolimassa	,kg·mol ⁻¹
N	Kolonnin pohjaluku	,m
n	Ainemäärä	,mol
$n(M^X)$	metalli-ionin ainemäärä stationäärifaasissa	,mol
K	Tasapainovakio	,-
K_d	Tilavuusjakaantumsvakio	,-
K_{stab}	Pysyvyysvakio	,-
K_w	Veden ionitulo	,-
k	Retentiotekijä	,-
k_f	Nestefilmin aineensiirto-kerroin	,W·m ⁻³ ·K ⁻¹
L	Kolonnin pituus	,m
l	Toistokokeiden lukumäärä	,-
OR	Ominaisrotaatio	,°
p_c	Kriittinen paine	,bar
Q_L	Liukoisuusenergia	,J·kg ⁻¹
R	Kaasuvakio	,J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹
R_p	Partikkelin säde	,m
R_s	Resoluutio	,-
SM	Suhteellinen makeus	,-
s	Keskihajonta	,m ³
T	Lämpötila	,°C
T_c	Kriittinen lämpötila	,°C
T_m	Sulamispiste	,°C
V	Eluointilavuus	,m ³
V_0	Kolonnin partikkelien välinen tilavuus	,m ³
V_m	Komponentin moolitilavuus	,m ³ ·mol ⁻¹
V_c	Kolonnin tilavuus	,m ³
V_{HR}	Hiilihydraatin retentiotilavuus	,m ³
V_{loop}	Näytteensyöttösilmukan tilavuus	,m ³
V_M	Viivetilavuus	,m ³
V_{part}	Ei-kompleksoivan komponentin retentiotilavuus	,m ³
V_{ret}	Komponentin retentiotilavuus	,m ³
$\overline{V}_{ret,i}$	Komponentin i retentiotilavuuden keskiarvo	,m ³
V_S	Stationäärifaasin tilavuus	,m ³
VL	Vesiliukoisuus	,kg·m ⁻¹
w_b	Piikin leveys	,m ³
z	Petikorkeus	,m

α	Erotustekijä	,-
α_p	Polaarisuus	,m ³
ε	Dielektrisyysvakio	,-
ε_p	Huokoisuus	,-
φ	Lasin lämpölaajenemiskerroin	,K ⁻¹
ρ	Tiheys	,kg·m ⁻³
σ^2	Toinen momentti	,m ³
σ	Pintajännitys	,N·m ⁻¹
δ	Liukoisuusparametri	,(J·m ⁻³) ^{1/2}
μ	Dipolimomentti	,D

Muut työssä käytetyt lyhenteet:

CA	Chemical Abstract, kemiallisten aineiden tietokanta
DVB	Divinyylibentseeni
PAH	Polysyklinen aromaattinen hiilivety
PCB	Polyklooribifenyylä
PS	Polystyreeni

1 JOHDANTO

Yli- ja alikriittisten fluidien teollisia sovelluksia on tutkittu jo 1930-luvulta lähtien /1/. Öljynjalostusteollisuudessa on tutkittu mm. raskaiden hiilijakeiden erotusta alikriittisen propaanin avulla. Ylikriittistä hiilidioksidia on tutkittu paljon elintarviketeollisuuden prosessisovellutuksissa, koska sillä on suhteellisen alhainen kriittinen lämpötila (31,1 °C). Alhainen lämpötila mahdollistaa termisesti labiilien komponenttien uuttamisen. Hiilidioksidi on lisäksi myrkytön, ympäristölle vaaraton, suhteellisen halpa, eivätkä sen liuotinjäämät ole terveydelle vaarallisia. Ylikriittistä hiilidioksidia käytetään teollisesti kofeiinin, humalan, mausteiden ja luonnontuotteiden uutossa, lääketeollisuuden uuttoprosesseissa ja erikoiskemikaalien valmistuksessa /1/. Vaikka ylikriittistä hiilidioksidia käytetään yleisesti uuttoliuottimena, sillä on vain muutama sovellus kromatografisena ajoliuoksena.

Alikriittisellä vedellä tarkoitetaan vettä, joka on kriittisen lämpötilansa (374 °C) alapuolella nestemäisessä tilassa. Yli- ja alikriittisen veden avulla tapahtuvaa orgaanisen jätteen hapetusta on tutkittu paljon /1-6/. Ylikriittisen veden vaikutuksesta klooratut hiilivedyt haptuvat nopeasti hiilimonoksidiksi, vedeksi ja suolahapoksi. Ylikriittisen veden ongelmana on kuitenkin laitteiden voimakas korroosio. Lisäksi ylikriittinen vesi ei poolittomana liuottimena liuota suoloja, jolloin ne kertyvät putkiin ja pumppuihin aiheuttaen tukoksia. Alikriittisellä vedellä ei ole samoja haittavaikutuksia, ja siitä syystä sitä on alettu tutkia vastaavissa uuttoprosesseissa. Alikriittisen veden avulla voidaan uuttaa mm. fenoleja ja amiineja 50–100 °C:een lämpötilassa, PAH- ja PCB-yhdisteitä 200-250 °C:een lämpötilassa, kasvimyrkkyjä 75 °C:en ja 90 °C:een lämpötiloissa /1, 4/.

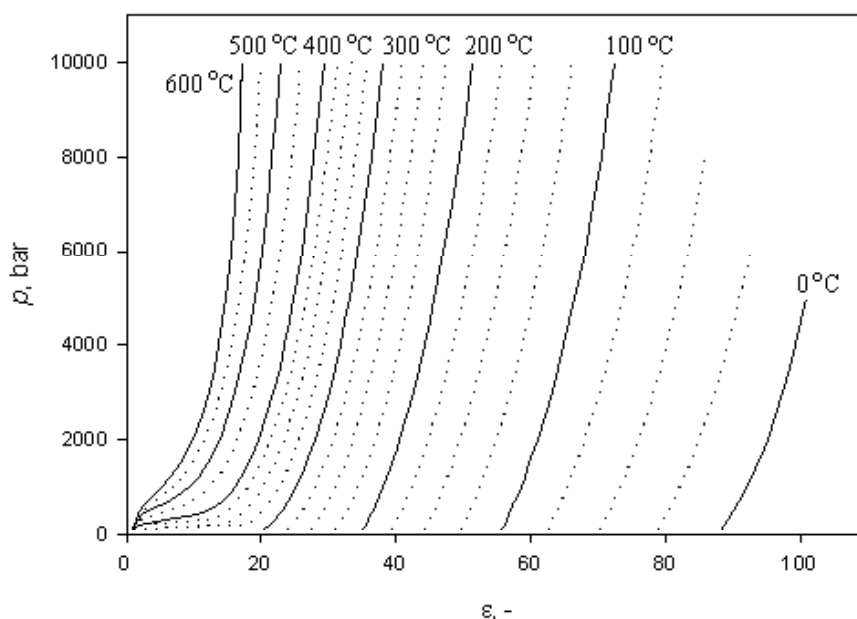
Alikriittisen veden kromatografian tutkimuksen uranuurtajia ovat Smith, Miller, Hawthorne ja Yang. He ovat tutkineet orgaanisten ympäristömyrkköjen ja PAH-yhdisteiden kromatografista erotusta analyttisessä mittakaavassa /4, 7-11/. Myös useiden muiden yhdisteiden /12-16/ kromatografista erotusta alikriittisen veden avulla on tutkittu. Räsänen /15/ tutki sorbitolin ja mannitolin kromatografista erotusta alikriittisen veden avulla.

Tämä diplomityö on osa TEKES:in Elintarvikkeet ja Terveys ohjelmaan kuuluvaa tutkimushanketta: ”Alikriittisen veden käyttö uutossa ja kromatografisessa erotuksessa”. Tämän työn tarkoituksena on tutkia alikriittisen veden soveltuvuutta sokerien ja sokerialkoholien kromatografiseen erotukseen, ja tutkia erotusilmiötä yli 100 °C:een lämpötilassa.

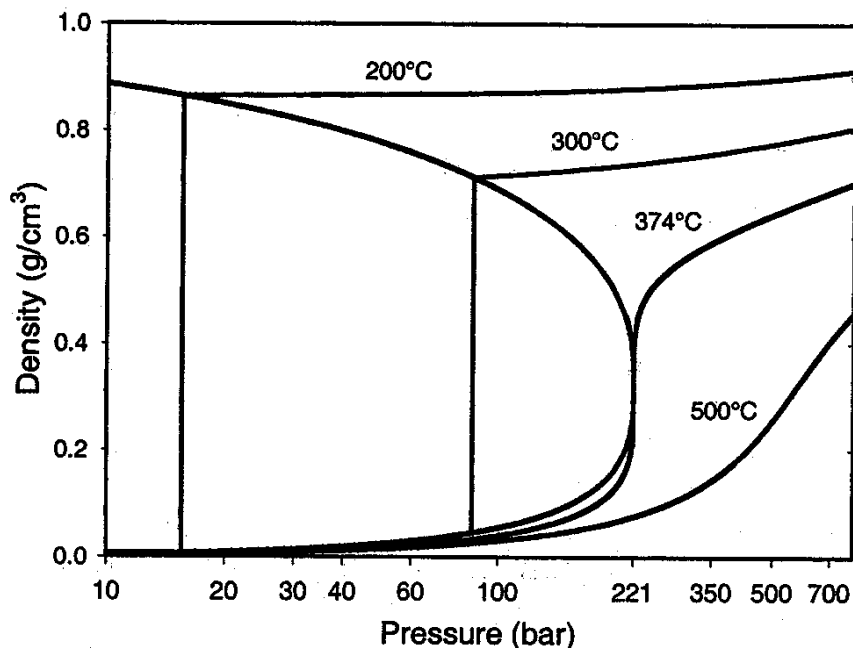
Tutkittavia sokereita ja sokerialkoholeja ovat arabinoosi, mannoosi, ksyloosi, ramnoosi, maltoosi, sorbitoli, mannitoli ja ksylitoli. Työssä kehitettiin myös alikriittistä kromatografilaitteistoa. Kirjallisuudessa käsitellään alikriittisen veden ominaisuuksia ja sen soveltuvuutta eri erotusprosesseihin. Lisäksi tutkitaan näyteaineiden ja stationääri faasien ominaisuuksia ja niiden termistä kestävyttä.

2 ALIKRIITTINEN VESI

Puhtaan veden kriittinen piste on lämpötilassa 374,2 °C ja paineessa 22,05 MPa. Näissä olosuhteissa veden tiheys on 0,32 g cm⁻³. Alikriittisellä vedellä tarkoitetaan vettä, joka on kriittisen lämpötilansa (374 °C) alapuolella nestemäisessä tilassa. Nestemäinen tila on saavutettu paineen avulla. Veden dielektrisyysvakio pienenee veden lämpötilan noustessa ilman että vedellä tapahtuu faasimuutosta (kuva 1). Esimerkiksi veden dielektrisyysvakio on huoneenlämpötilassa 80 ja 250 °C:en lämpötilassa 24 paineen ollessa vähintään 5 MPa. Alikriittisen veden dielektrisyysvakion aleneminen johtuu pääasiassa lämpötilan vaikutuksesta ja vain vähän paineesta /17/. Lämpötilan kasvaessa 25 °C:een lämpötilasta 200 °C:eseen veden tiheys pienenee noin 25 % alkuperäisestä (kuva 2) /18/.



Kuva 1. Veden dielektrisyysvakio eri lämpötiloissa. Piirretty kirjallisuudelta /16/ perusteella.

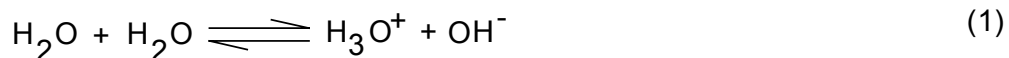


Kuva 2. Veden faasidiagrammi /18/.

2.1 Veden liuot ominaisuudet

Vesimolekyylissä vetyatomit muodostavat happiatomin kanssa $104,5^\circ$:een sidoskulman. Happi sitoo elektronegatiivisena atomina elektronit lähemmäksi itseään ja saa heikosti negatiivisen osittaisvarauksen. Vedyt jäävät heikosti positiivisiksi. Muodostunut sähköinen dipoli mahdollistaa veden ominaispiirteet. Vetysidosten muodostumisen johdosta vesimolekyylit ovat vielä nestemäisessä olomuodossakin assosioituneet useamman molekyylin muodostamiksi ryhmiä. Assosioitumisaste riippuu lämpötilasta /18/. Vetysidokset riippuvat voimakkaasti lämpötilasta ja molekyylin orientaatiosta. Vesi luokitellaan voimakkaasti vetysidoksia muodostavaksi liuottimeksi, ja korkean dielektrisyysvakion, ϵ , dipolimomentin, μ , ja liukoisuusparametrin, δ , vuoksi vesi on huoneenlämpötilassa hyvä liuotin polaarille ja ionisille yhdisteille /19/.

Vesi ionisoituu hieman nestemäisessä olomuodossa, jolloin muodostuu oksonium- ja hydroksidi-ioni (yhtälö 1). Veden autoionisaatiolla on tärkeä merkitys veden liuot ominaisuuksiin /19/.



Lämpötilan kasvu tehostaa veden dissosioitumista. Siirryttäessä 25 °C:een lämpötilasta 250 °C:eseen veden ionitulo K_w kasvaa yli kolminkertaiseksi. Tästä syystä alkriittinen vesi soveltuu hyvin kemiallisten reaktioiden katalysoimiseen /18/.

Kiinteiden aineiden liuetessa nesteeseen kidehila hajoaa. Entalpiamuutos on yhtä suuri kuin hilaenergia ΔH_l . Molekyylit tai ionit sekoittuvat liuottimen kanssa. Tätä ilmiötä kutsutaan yleisesti solvataatioksi. Prosessiin liittyy entalpiamuutos, jota kutsutaan solvataatioenergiaksi ΔH_s . Solvataation voimakkuuteen vaikuttaa liuottimen vetysidokset, liuottimen ja liuotettavan aineen molekyylikoot, sekä liukoisuusparametrit, δ , dipolimomentin μ , ja polaarisuuden, α_p , suuruus. Kemiallisesti samanlaisten yhdisteiden liukoisuus vähenee, kun liuotettavan aineen molekyyli massa kasvaa. Liuotettava aine on liukoinen liuottimeen jos komponenttien vetovoimat ovat saman suuruisia. Tässä pätee myös perussääntö: ”samanlainen liuottaa samanlaista”. Jos liuotettavan aineen ja liuottimen vetovoimilla on hyvin suuri ero, ne eivät liukene toisiinsa. Jos kuitenkin halutaan liuottaa yhdisteet toisiinsa, täytyy liuokseen lisätä energiaa molekyylien sidosenergioiden suuruinen määrä. Veden solvataatiota kutsutaan hydrataatioksi, ja veden toimiessa liuottimena sen muodostavat molekyyli sidokset voivat olla ioni-, dipoli-dipoli-, induktiivisia-, dispersio- ja vetysidoksia /19, 20/.

Ioniset (Coulombin) voimat tulevat merkityksellisiksi, kun ioniyhdisteitä liuotetaan polaariseen liuottimeen. Tällöin ionien vetovoimat ovat kääntäen verrannollisia liuottimen (veden) dielektrisyysvakioon ϵ , ja ionien vetovoimat vähenevät uusien ioni-dipoli –sidosten muodostuessa. Dielektrisyysvakio on yksi oleellisimmista parametreista tutkittaessa liuotettavan aineen ja liuottimen välisiä vuorovaikutuksia. On kuitenkin muistettava, että dielektrisyysvakio on bulkkioinaisuus eikä yksittäisen molekyylin ominaisuus. Veden korkea ϵ :n arvo suosii ionisten ja polaaristen yhdisteiden liukoisuutta huoneenlämpötilassa /19/. Taulukossa I on verrattu useiden eri yhdisteiden ominaisuuksia veteen.

Taulukko I Puhtaan komponentin kriittinen lämpötila (T_c), kriittinen paine (p_c), dielektrisyysvakio (ϵ), dipolimomentti (μ), polaarisuus (α) ja liukoisuusparametri (δ , 25 °C:ssa) /19/.

	T_c °C	p_c atm	ϵ -	μ D	α 10^{-24} cm ³	δ (cal/cm ³) ^{1/2}
NH ₃	132,5	112,5	16,9 (25 °C)	1,47	2,3	16,3
Ar	-122,3	48,0	1,5 (-191 °C)	0	1,6	5,3
CO ₂	31,0	72,9	1,6 (20 °C)	0	2,9	6,0
CCl ₂ F ₂	111,5	39,6	2,0 (25 °C)	0,51	7,8	5,5
CH ₂ Cl ₂	237,0	60,0	9,1 (20 °C)	1,60	6,5	9,7
C ₆ H ₆	32,2	48,2	1,4 (22 °C)	0	4,4	6,0
C ₂ H ₆ O	243,2	63,0	24,3 (25 °C)	1,69	5,4	10,0
C ₂ H ₄	9,9	50,5	1,5 (-3 °C)	0	4,3	6,1
CH ₄ O	240,0	78,5	32,6 (25 °C)	1,70	3,3	14,5
CClF ₃	28,9	38,2	2,5 (-100 °C)	0,50	5,6	6,6 * (-30 °C)
CH ₃ F	44,6	58,0	8,2 (26 °C)	1,85	3,0	9,4 * (-60 °C)
C ₅ H ₁₂	196,6	33,3	1,8 (20 °C)	0	10,0	7,0
C ₃ H ₈	96,8	42,0	1,3 (25 °C)	0,08	6,3	6,4
CF ₄	-45,7	41,4	1,6 (-132 °C)	0	3,8	6,3* (-80 °C)
H ₂ O	374,1	218,3	78,5 (25 °C)	1,85	1,5	23,5* (20 °C)

* δ on tässä laskettu seuraavasta yhtälöstä: $\delta = \{[\rho(\Delta H_v - RT)]/M\}^{1/2}$, jossa ρ on tiheys, ΔH_v höyrystymisenergia, R kaasuvakio, T lämpötila ja M moolimassa.

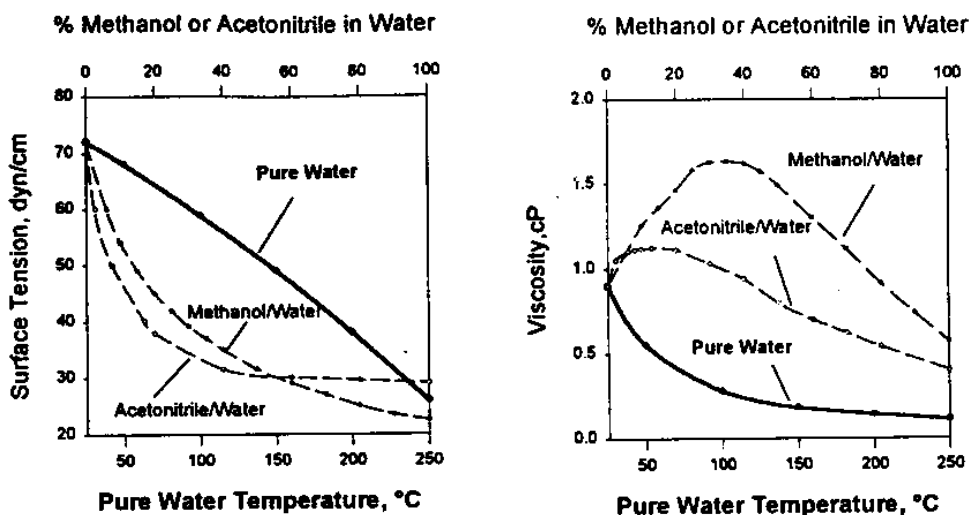
Dipoli-dipoli –vetovoimat esiintyvät polaarilla molekyyleillä, joilla on pysyvä dipolimomentti. Toisin kuin ioniset vetovoimat, dipoli-dipoli –vetovoimat riippuvat suuresti lämpötilasta ja vähenevät voimakkaasti lämpötilan kasvaessa. Kun polaarittomia yhdisteitä liuotetaan polaariseen liuottimeen, ovat kyseessä induktiovoimat. Polaarisen liuottimen pysyvän dipolin elektronikenttä voi indusoida dipolin viereiseen molekyyliin vääristämällä molekyylin elektronikenttää ja ytimen asentoa. Induktiovoimien suuruus riippuu pysyvästä dipolista ja poolittomien molekyylien polarisaatiosta. Elektromagneettisessa kentässä muodostuneiden dipolien väliset voimat ovat nimeltään dispersiovoimia. Dispersiovoimat ovat läsnä kaikissa atomeissa ja molekyyleissä. Sekä induktio- että dispersiovoimat ovat vain vähän lämpötilasta riippuvia /19/.

Veden lämpötilan kasvaessa vesimolekyylien vetysidosten muodostuminen, ioniset ja dipoli-dipoli –vuorovaikutukset vähenevät. Korkeat lämpötilat muuttavat huomattavasti veden liuotinominaisuuksia, jolloin vesimolekyylien vetovoimat muuttuvat lähemmäksi poolittomien aineiden ominaisuuksia. Tämä lisää huomattavasti poolittomien yhdisteiden liukoisuutta veteen /21/. Veden liuotinominaisuudet riippuvat suuresti vesimolekyylien kyvystä muodostaa vetysidoksia keskenään. Veden kriittisessä pisteessä (374,2 °C) on enustettu vesimolekyylien välisten vetysidosten vähenevän. Silti ylikriittiselläkin vedellä on havaittu vetysidoksia lämpötilassa 450-500 °C /22/. Instrumenttien korrosio, yhdisteiden

hajoaminen ja reaktioiden intensiteetti lisääntyy lämpötilan kasvaessa yli veden kriittisen pisteen /19/.

2.2 Alikriittisen veden käyttösovellukset

Veden liuotinominaisuuksia voidaan säädellä lämpötilan avulla. Veden pintajännitys, viskositeetti ja polaarisuus pienenevät lämpötilan kasvaessa, ja alikriittisen veden aineominaisuudet muuttuvat lähemmäksi orgaanista liuotinta (kuva 3). Jos tutkittavat komponentit ovat termisesti stabiileja, voidaan lämpötilaa nostamalla hajottaa näytteen labiilit yhdisteet. Joissain tapauksissa näytteet voivat reagoida selektiivisesti veden kanssa (hydrolyysi) uuton aikana, ja lopputuote saadaan tällä tavalla haluttuun muotoon. Lämpötilaa nostamalla voidaan myös parantaa orgaanisten molekyylien liukoisuutta. Tällä tavalla voidaan erottaa hyvin selektiivisesti näytteen eri komponentteja sekä uuttamalla että kromatografisella erotuksella /17, 23/.



Kuva 3. Veden, metanolin ja asetonitriilin pintajännityksen ja viskositeetin muutos lämpötilan vaikutuksesta. Paine on säädetty 5,07 MPa:in. Liuotin-vesi -seokset on mitattu huoneenlämpötilassa /23/.

Paineella on vain pieni vaikutus nestemäisen veden dielektrisyysvakioon ja sen liuotinominaisuuksiin. Käytännössä paine asetetaan riittävän suureksi, jotta vesi pysyy nestemäisessä olotilassaan. Esimerkiksi uutossa jotkut näytteet saattavat tarvita korkeamman paineen, jotta vesi pääsee tunkeutumaan tehokkaasti näytteen läpi, eli liuottimen tulee voittaa näytteen aiheuttama vastapaine /19/.

Taulukosta II nähdään kolmen hydrofobisen orgaanisen tojunta-aineen liukoisuus veteen lämpötilavälillä 25-200 °C. Propatsiini eli 6-kloro-N,N'-bis(1-metyylietyyli)-1,3,5-triatsiini-2,4-diamiini on rikkakasvihävyte, endosulfaani II eli 6,7,8,9,10,10-heksakloro-1,5,5a,6,9,9a-heksahydro-6,9-metaani-2,4,3-bentsodioksoathiepiini 3-oksidi on hyönteis- myrkky, ja klorotaloniili eli 1,3-disyano-2,4,5,6-tetraklorobentseeni on sienimyrkky /24/.

T, °C	Liukoisuus veteen, µg/L		
	Propatsiini	Endosulfaani II	Klorotaloniili
25	6,3	0,27	0,18
50	13,7	1,1	0,80
100	106	30	28
150	2560	720	950
200	26800	4500	23400

Taulukosta II voidaan havaita, että veden lämpötilan noustessa 25 °C:sta 200 °C:seen liukenee propatsiinia ja endosulfaani II:ta noin 10000-kertainen määrä verrattuna liukoisuuteen huoneenlämpötilassa. Klorotaloniilin liukoisuus kasvaa samalla lämpötilavälillä yli 100000-kertaiseksi /24/.

2.2.1 Uutto alikriittisellä vedellä

Uuttoa alikriittisellä vedellä on alettu tutkia vasta 1990-luvulla ja aihepiiristä on julkaisuja vielä rajoitetusti. Uuttoa alikriittisellä vedellä ovat tukineet mm. Hartonen, Riekkola, Crescenzi, Di Cordia, Pawlowski, Hawthorne, Yang ja Miller. Menetelmä perustuu analyttisen ylikriittisen uuton kehitykseen /19, 25/.

Orgaanisten ympäristömyrkkyjen, kuten PAH-, PCB-, fenoliyhdisteiden ja lannoitejäämien uuttoa maaperästä on tutkittu alikriittisellä vedellä /19, 23, 26/. Poolisia yhdisteitä uutettaessa veden lämpötila tulee nostaa lähes 300 °C:een. Selektiivisyyttä saadaan lisättyä käyttäen kiinteän faasin mikroekstraktiota (SPE- ja SPME-menetelmää) /19, 23/. Maaperän lannoitejäämien uutossa havaittiin alikriittisen vesiutun olevan tehokkaampi kuin perinteisen Soxhlet-uuton /26/.

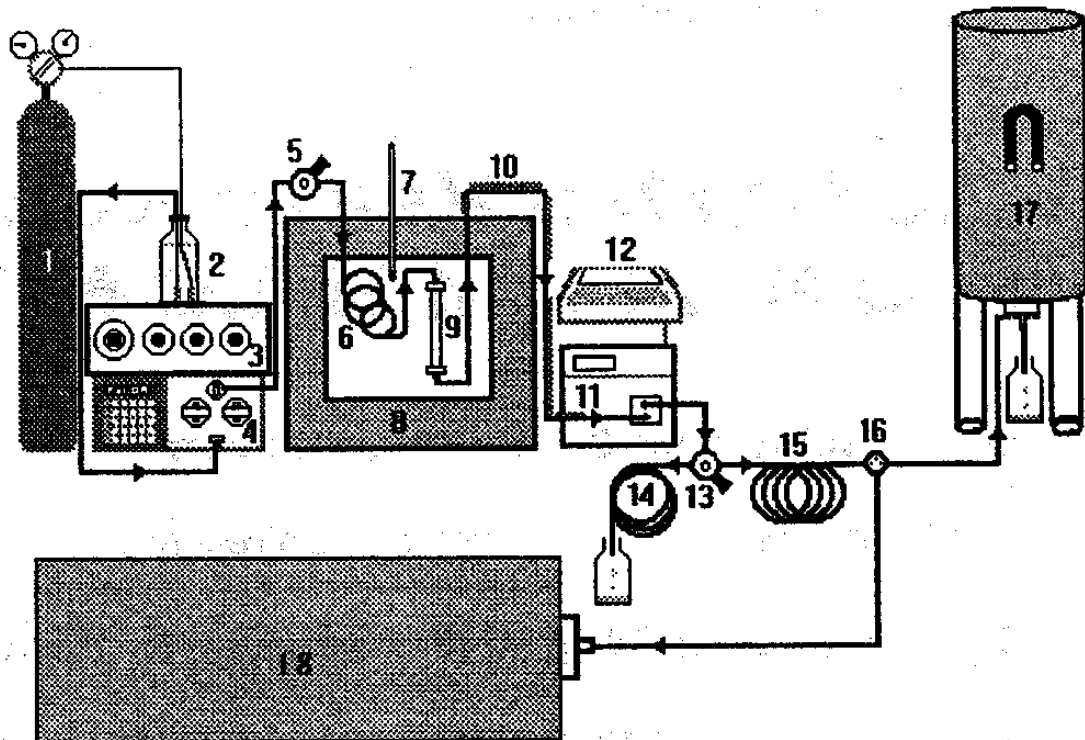
Marjojen ja niiden jalosteiden uuttoa alikriittisen veden avulla on tutkittu vastikään /27, 28/. Basiele *et al.* /28/ tutkivat ruusunmarjojen alikriittistä vesiuttoa. He havaitsivat läm-

pötilan nostamisen parantavan uuttautumista ja lisäksi kasvattavan reaktionopeutta. Esimerkiksi lämpötilan kasvaminen 125 °C:esta 150 °C:eseen kasvatti uuttonopeutta lähes kaksinkertaisesti. Inoue *et al.* /29/ tutkivat polyflavonoidien uuttoa männyn kaarnasta alikriittisen veden avulla. He havaitsivat polyflavonoidien ja puun uuteaineiden saannon pienenevän alikriittisellä vedellä uutettaessa verrattuna vesihöyryllä tapahtuvaan uuttoon. Lisäksi he havaitsivat 1 %:sen NaOH-vesiliuoksen uuttavan polyflavonoideja ja puun uuteaineita huomattavasti paremmin 140 °C:een lämpötilassa ja 1 MPa:n paineessa.

2.2.2 Alikriittiset kromatografiasovellukset

Ylikriittisen CO₂:n kromatografiaan kohdistuneen mielenkiinnon hiipuessä useat tutkijat, mm. Smith, Hawthorne, Yang ja Miller, havaitsivat alikriittisen veden mukanaan tuomat mahdollisuudet /7, 21/. Ylikriittisten kromatografia- ja uuttomenetelmien ohella on kehitetty menetelmiä, joissa eluenttia tai liuotinta käytetään normaalien ja ylikriittisten olosuhteiden välissä nk. alikriittisessä tilassa. Näissä olosuhteissa veden liuotinominaisuudet ovat voimakkaammat kuin normaalitilassa. Alikriittinen kromatografia on vasta kehitymässä oleva erotusmenetelmä, jonka kaikkia mahdollisuuksia ja sovelluskohteita ei ole vielä löydetty /10, 12, 14, 23/. Toistaiseksi sovellukset ovat olleet analyttisessä kemiassa.

Smith *et al.* /30/ tutkivat salisyylimidin, salisyylihapon, asetyyლისalisyylihapon, fenasetiinin, kofeiinin ja parasetamolin kromatografista erottusta alikriittisen veden avulla (kuva 4). HPLC-kolonnin (150 x 4,6 mm) stationäärifaasina käytettiin sekä PS-DVB –hartsia että ODS-silloitettua silikaa. Smith *et al.* /30/ havaitsivat PS-DVB –stationäärifaasin olevan termisesti stabiilimpi kuin ODS-silloitetun silikan. He havaitsivat lisäksi 190 °C:en lämpötilassa parasetamolin (2,5 min), kofeiinin (5,77 min) ja fenasetiinin (14,04 min) erottuvan hyvin toisistaan alikriittisessä vedessä. Asetyyლისalisyylihapon havaittiin kuitenkin hydrolysoituvan salisyylihapoksi alikriittisen 190 °C:isen veden vaikutuksesta. Kuvassa 4 on esitetty Smith *et al.* /30/ kehittämä alikriittisen raskaan veden (D₂O) kromatografilaitteisto, joka oli lähtökohtana tässä diplomityössä käytetylle alikriittisen veden kromatografilaitteistolle.

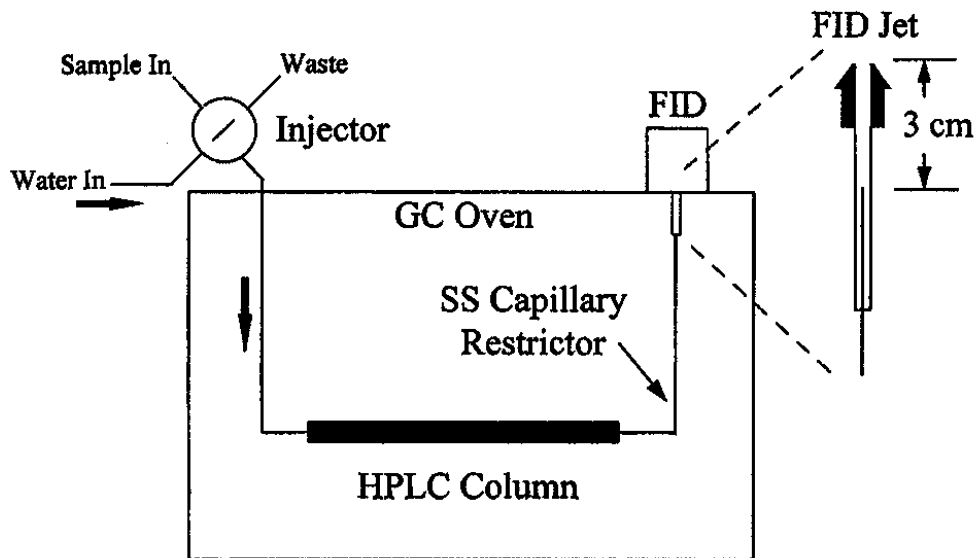


Kuva 4. Kromatografilaitteisto alikriittiselle raskaalle vedelle (D₂O). 1) N₂-säiliö, 2) eluenttipullo, 3) lämpötilan säätäjä, 4) pumppu, 5) näytteensyöttösilmukka, 6) esilämmityskierrukka, 7) lämpömittari, 8) GC-uuni, 9) HPLC-kolonne (150x4,6 mm), 10) jäähdytysvaippa, 11) UV/VIS-detektori, 12) UV-integraattori, 13) säätöventtiili, 14 ja 15) paineensäätösilmukka, 16) kolmitieyhde, 17) NMR-analysaattori ja 18) massaspektrometri /30/.

Muuttamalla alikriittisen veden lämpötilaa voidaan vaikuttaa veden pintajännitykseen ja viskositeettiin. Veden viskositeetin pienentyessä saadaan parannettua aineensiirtoa ja kromatografista tehokkuutta. Lämmittämällä vettä 250 °C:een saadaan veden pintajännitys laskemaan samalle tasolle kuin 100 %:sen metanolin ja asetonitriilin lämpötilassa 21 °C (kuva 3). Vastaavasti 250 °C:isen veden viskositeetti on 100 %:sen metanolin ja asetonitriilin viskositeettia pienempi. Yang *et al.* /31/ tutkivat fenolien, amiinien, n-alkaanien ja PAH-yhdisteiden kromatografista erotusta alikriittisen veden avulla. Stationäärifaasina käytettiin lasihelmiä ja aluminaa, sekä C₁₈ silika- ja XAD-4 divinyylibentseenillä ristisilloitettua polystyreenihartsia. Käytettäessä lasihelmiä ja aluminaa Yang *et al.* /31/ havaitsivat orgaanisten yhdisteiden eluutiolämpötilan riippuvan yhdisteen vesiliukoisuudesta huoneenlämpötilassa. Mitä alhaisempi liukoisuus veteen yhdisteellä on huoneenlämpötilassa sitä korkeamman lämpötilan se vaatii eluoituakseen tehokkaasti. PAH-yhdisteet vaativat 150-200 °C:een lämpötilan ja n-dekaani 200-250 °C:een lämpötilan eluoituakseen. C₁₈ silika- ja XAD-4 PS-DVB -hartseilla orgaaniset yhdisteet vaativat vielä korkeamman

lämpötilan eluoiuakseen. PAH-yhdisteet vaativat eluoiuakseen 200-250 °C:een lämpötilan, ja n-dekaani vaatii vesihöyryltä 250 °C:een lämpötilan.

Miller ja Hawthorne /10/ tutkivat alikriittisen veden avulla alkoholien kromatografista erottumista (kuva 5). Tutkittavina alkoholeina oli metanoli, etanoli, n-propanoli, isopropanoli, n-butanoli, 2-butanoli ja isobutanoli, sekä alkoholijuomista 50,5 til-%:nen viski, 40 til-%:nen rommi, 13 til-%:nen punaviini ja 5,6 til-%:nen kanadalainen olut. Analyyttisen HPLC-kolonnin (PRP-1, 150 x 2 mm) stationäärifaasina oli PS-DVB –hartsi. FI-detektorin lämpötila oli 400 °C. Miller ja Hawthorne havaitsivat lämpötilan noston lyhentävän alkoholien retentioaikoja ja kaventavan alkoholipiikkejä. Lämpötilassa 140 °C eluoiuivat kaikki seitsemän alkoholia alle kymmenessä minuutissa. HPLC-FID –menetelmällä mitattiin myös em. alkoholijuomien alkoholipitoisuus, ja verrattiin saatua tulosta valmistajan ilmoittamaan alkoholipitoisuuteen. Tuloksista havaittiin Millerin ja Hawthornen /10/ kehittämän HPLC-FID –menetelmän soveltuvan hyvin myös alkoholipitoisuuksien kvantitatiiviseen määrittämiseen.



Kuva 5. Alikriittisen veden kromatografilaitteisto analyttisessä mittakaavassa /10/.

3 SOKERIT JA SOKERIALKOHOLIT

Tässä diplomityössä keskitytään tutkimaan sokereista ksyloosia, mannoosia ja arabinoosia, sekä sokerialkoholeista ksylitolia, sorbitolia ja mannitolia. Kokeellisessa osassa on lisäksi tarkasteltu ramnoosia ja maltoosia. Taulukossa III on esitetty sokerien ja sokerialkoholien fysikaalisia ja kemiallisia ominaisuuksia.

Taulukko III Sokerien ja sokerialkoholien fysikaalisia ja kemiallisia ominaisuuksia. Taulukossa merkittyjen symbolien selitys: sulamispiste (T_m), vesiliukoisuus (VL) 25 °C:ssa, liukoisuusenergia (Q_L), moolimassa (M), ominaisrotaatio (OR) 20 °C:ssa, suhteellinen makeus (SM) ja tiheys (ρ).

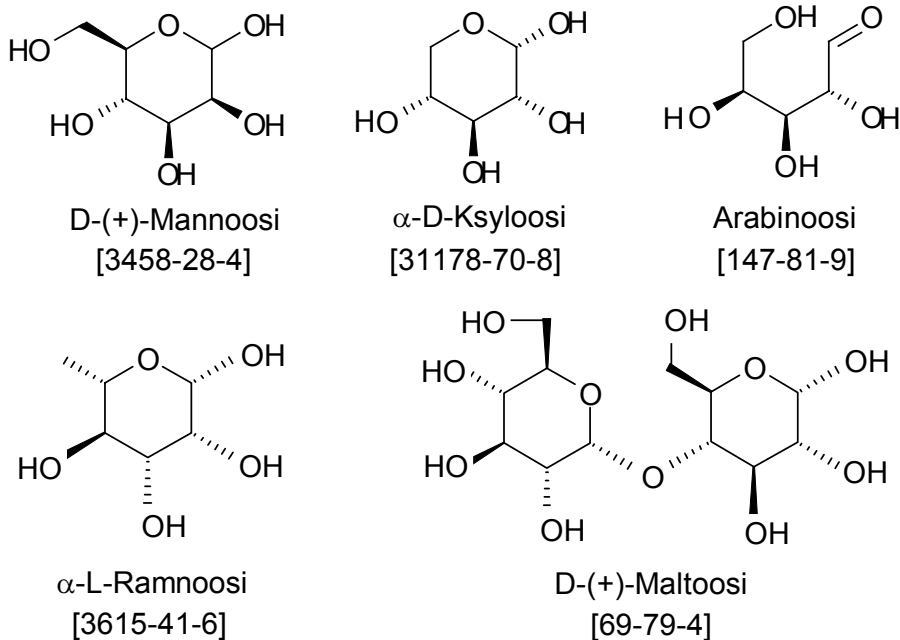
Nimi	Rakenne kaava	T_m^a , °C	VL^b , g/100mL	Q_L , cal/g	M^c , g/mol	OR^a , °	SM^d , -	ρ^f , kg/m ³
DL-arabinoosi	C ₅ H ₁₀ O ₅	164-165			150	-		1,58
D-riboosi	C ₅ H ₁₀ O ₅	87			150	-23,1		
α -D-ksyloosi	C ₅ H ₁₀ O ₅	145			150	+18,8 ^e		
α -D-glukoosi	C ₆ H ₁₂ O ₆	146			180	+52,7	0,6-0,7	
α -D-mannoosi	C ₆ H ₁₂ O ₆	133			180	-14,1 ^e		1,54
L-sorboosi	C ₆ H ₁₂ O ₆	159-161			180	-43,1		
α -L-ramnoosi	C ₆ H ₁₂ O ₅	93-95			164			
D-maltoosi	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	110			342			
L-arabinitoli	C ₅ H ₁₂ O ₅	101-102			152	-32		
Ribitoli	C ₅ H ₁₂ O ₅	102			152	-		
D-glusitoli (sorbitoli)	C ₆ H ₁₄ O ₆	112	235	-26,5	182	-1,8	0,5-0,6	
Ksylitoli	C ₅ H ₁₂ O ₅	95-97 ^c	200	-36,6	152		0,9-1,0	
D-mannitoli	C ₆ H ₁₄ O ₆	166	22	-5,5	182	-0,21	0,6-0,7	

kirjallisuusviite ^a /32/, ^b /33/, ^c /34/, ^d /35/, ^e /36/, ^f /37/.

3.1 Sokerien ominaisuuksia

Sokereilla, kuten glukoosilla, fruktoosilla, maltoosilla, sakkaroosilla ja laktoosilla on kaikilla samantyyppisiä ominaisuuksia. Niitä kaikkia käytetään makeutusaineena, ne ovat vesiliukoisia ja muodostavat siirappeja. Niiden vesiliuosta haihdutettaessa ne kaikki muodostavat kiteitä. Mikro-organismit käyttävät niitä ravinnokseen, suurina pitoisuuksina ne ehkäisevät mikro-organismien kasvun, ja lämmitettäessä ne karamellisoituvat. Sokerien on tiedetty myös kasvattavan veden pintajännitystä /38/.

Kokeellisessa osassa tutkittujen sokereiden, mannoosin, ksyloosin, arabinoosin, ramnoosin ja maltoosin rakenne on esitetty kuvassa 6.



Kuva 6. Sokerien rakenne ja CA-numero /34/.

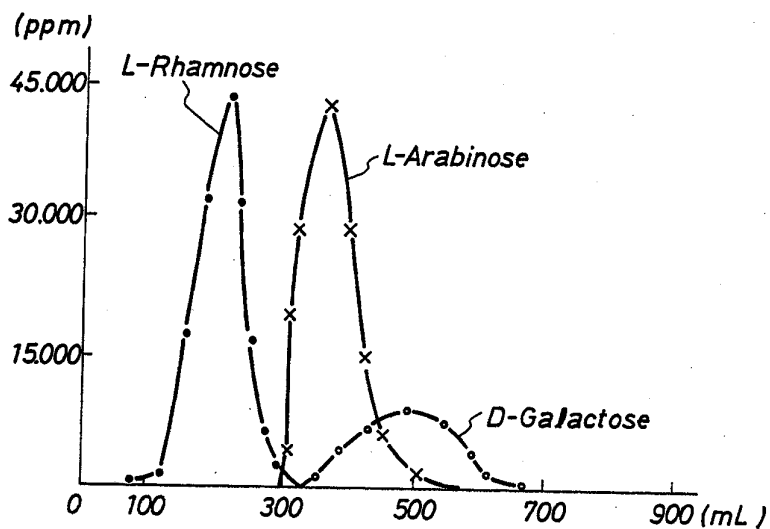
Mannoosia voidaan valmistaa mm. Slodki /39/ *et al.* kehittämän hiivafermentaation avulla. *Hansenula capsulata* NRRL Y-1842 hiivan käymisliemi sisältää 5 p-% glukoosia, 0,15 p-% maissin liotusvettä ja 0,10 p-% tryptonia laimessa vesiliuoksessa aerobisessa fermentaattorissa 25 °C:een lämpötilassa. Fermentaation päätyttyä mannoosipitoinen tuote erotetaan sentrifugoimalla kasvusolustosta ja uutetaan metanolilla. Saatu sakka uutetaan uudelleen vesimetanoliliuoksella ja dialysoidaan 8 tunnin ajan 25 °C:een lämpötilassa. Saatu liuos sentrifugoidaan, selkeytetään ja pakastekuivataan. Tämän jälkeen tuote hydrolysoidaan 2 N HCl-liuoksella tunnin ajan. Paperikromatografian avulla analysoitu tuote sisälsi vain D-mannoosia.

Ksyloosia voidaan erottaa mm. Melajan ja Hämäläisen /40/ kehittämän menetelmän avulla paperin valmistuksessa saatujen koivun uuteaineiden joukosta. Pentosaanien hydrolyysituotteena saatu 25 p-%:nen pentoosiliuos puhdistetaan kromatografisesti vahvan PS-DVB (3,5 p-% DVB) Sr^{3+} - tai Ca^{2+} -muotoisen kationinvaihtohartsin avulla, jolloin saadaan 89 %:sti puhdasta ksyloosia. Näin saatu ksyloosiliuos voidaan vielä edelleen puhdistaa kiteytämällä.

Arabinoosi esiintyy arabinoksylaanina useiden kasvien osissa. Esimerkiksi maissitähkän kuoret sisältävät 23 p-%, sokerijuurikkaan kuidut 21 p-% ja omenamehun haihdutussakka-

jäännös 55 p-% arabinoosia. Susumu /41/ *et al.* ovat kehittäneet L-arabinoosin valmistusmenetelmän happohydrolyysin avulla. Raaka-aineena voidaan käyttää mitä tahansa kasvia, joka sisältää yli 10 p-% arabinoosia, ja vastaavasti happona voidaan käytetään vahvaa epäorgaanista tai orgaanista happoa konsentraatiovälillä 0,1-0,5 N. Hydrolyysi tapahtuu suljetussa astiassa kiehuvaan vesihauteeseen 80-150 °C:n lämpötilassa tunnin ajan. Tämän jälkeen liuos neutralisoidaan Ba(OH)₂:lla ja jäädytetään jääkaapissa. Jäähtynyt liuos suodatetaan Ba(OH)₂:n poistamiseksi ja suodos puhdistetaan dialyysin, geelisuodatuksen tai kromatografisen erotuksen avulla. Tuotteen puhtaus riippuu käytetystä erotusmenetelmästä.

Ramnoosi on kuusihiilinen monosakkaridi, joka esiintyy luonnossa osana glykosidisakkarideja sekä D- että L-muodossa. Rutiini sisältää 26,8 p-%, hesperidiini 29,5 p-% ja kversestiini 40 p-% ramnoosia. Myös myrisetiini, nariginiini ja babulakaasiasta saatava arabikumi sisältävät ramnoosia. Hatanaka /42/ *et al.* kehittivät ramnoosin valmistusmenetelmän, jossa arabikumia hydrolysoidaan 0,2-0,4 N rikkihapolla, neutraloidaan Ca(OH)₂:lla ja kondensoidaan. Tämän jälkeen vesiliuokseen lisätään orgaanista liuotinta, kuten asetonia, etanolia, isopropyylialkoholia tai asetonitriiliä, joka saostaa tuotteen. Saatu tuote sentrifugoidaan ja tislataan orgaanisen liuottimen poistamiseksi. Tämän jälkeen ramnoosi erotetaan arabinoosista ja galaktoosista vahvan kationinvaihtohartsin (kuva 7) ja aktiivihiilen avulla. Saatu ramnoosi on puhtaudeltaan yli 99 %.



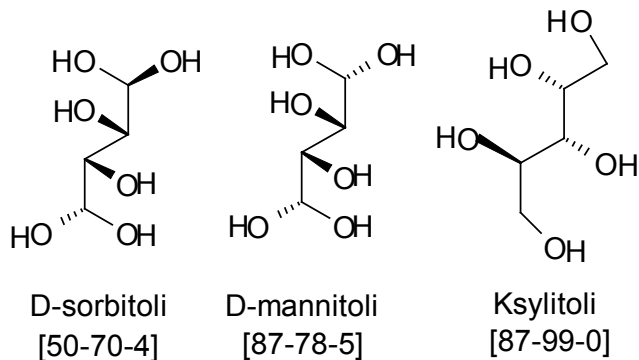
Kuva 7.

Ramnoosin erotus Rohm & Haas'in AMBERLITE® CS-120 H (Na⁺)-muotoisella kationinvaihtohartsilla. Kolonnin pituus on 600 mm ja halkaisija 25 mm. Eluentina on (75:25 til-%:nen) asetonitriilivesiliuos 10 mL/min virtausnopeudella 20 °C:en lämpötilassa /42/.

Maltoosi on kahdesta kuusihilisestä monosakkaridista koostunut disakkaridi. Maltoosia saadaan tärkkelyksen ja hapon vesiliuoksen hydrolyysillä tai tärkkelyksen ja etanolin käymisreaktiolla *diastaasi*-entsyymillä. Maltoosi pelkistää Tollens'in ja Fehling'in reagensseja, jolloin se on pelkistävä sokeri. Bromipitoinen vesi hapettaa sen monokarboksyylihapoksi, maltobioonihapoksi. Maltoosi esiintyy sekä α - (OR = +168°) että β -muodossa (OR = +112°), ja näiden muotojen seos mutarotatoituu (OR = +136°). Maltoosia hydrolysoitaessa saadaan kaksi D-(+)-glukoosiyksikköä /43/.

3.2 Sokerialkoholien ominaisuuksia

Sokerialkoholeja, kuten sorbitolia, mannitolia ja ksylitolia, käytetään yleisesti purukumeissa ja sekamehuissa sekä lääketieteellisuuden että leipomateollisuuden tuotteissa /44/. Ne ovat noin 50-75 % vähemmän makeita kuin sakkaroosi, riippuen sokerialkoholista /38/. Sokerialkoholien käyttö on kasvanut viimeaikoina suuresti johtuen yhä lisääntyvien laihdutustuotteiden ja sokerin korvikkeiden käytöstä. Sokerialkoholeilla on laksatiivinen vaikutus jos niitä nautitaan ylimäärin /44/. Sokerialkoholien on havaittu kasvattavan veden pintajännitystä huoneenlämpötilassa /45/.



Kuva 6. Sokerialkoholien rakenne ja CA-numero /34/.

Sorbitoli (D-glusitoli) on sokerialkoholi, joka saadaan hydraamalla glukoosimolekyylin aldehydiryhmä. Sorbitolia saadaan myös mannitolin valmistuksen sivutuotteena sokeriteollisuudessa. Se eristettiin ensimmäisen kerran vuoristosaarnin (*Sorbus aucuparia*) marjoista. Sorbitolia käytetään useissa makeutusaineissa /46/.

Mannitolia saadaan mannoosin tai fruktoosin katalyyttisen hydrauksen avulla. Mannitoli eristettiin ensimmäisen kerran mannasta, josta johtuu myös sen nimitys. Sitä saadaan myös mannaaarnista (*Fraxinus ornus*) halkaisemalla puun oksat ja keräämällä oksista tiheä neste. Mannitolia on löydetty myös useista maataloustuotteista, kuten idänplantaanin lehdistä, oliiveista, merilevästä, persiljasta, sienistä, sipuleista, mansikoista, vesimeloo-neista ja heinistä /47/. Mannitolia käytetään makeutusaineena, ja se on yleinen mm. Purukumeissa. Mannitoli liukenee veteen ainoastaan rajoitetusti ja säilyy jauhemaisena tai rakeisena pitkänkin varastoinnin ajan /46/.

Kaikilla mannitolin valmistusmenetelmillä on haittapuolensa. Sekä mannoosin että fruktoosin pelkistyksessä saadaan sivutuotteena sorbitolia, jota ei saada poistettua normaalin tislauksen avulla. Fruktoosin hydrauksessa tarvitaan kallista metallikatalyyttiä tai pelkistintä, kuten natriumborohydraattia ja korkeita lämpötiloja. Nämä olosuhteet tekevät prosessissa lisäksi kalliin. Mannan uuttoprosessissa käytetään uuttoreagenssina normaalisti heksaania, joka aiheuttaa ympäristö- ja turvallisuusongelmia. Mannitolin puhdistukseen tarvitaan vakuumitislausta, ja siitä huolimatta lopputuotteen puhtaus ei saavuta 100 %. Koska mannitolia käytetään paljon myös lääketeollisuudessa, on tuotteen puhtaus erittäin tärkeää. Liuottimena käytetyn heksaanin myrkylliset ja palavat ominaisuudet tekevät siitä vähemmän miellyttävän uuttokemikaalin. Tästä syystä on tarvetta turvallisempaan ja tehokkampaan menetelmään tuottaa mannitolia. Ghoresihi ja Sharifi /47/ tutkivat mannitolin uuttoa ylikriittisen hiilidioksidin avulla idänplantaanin lehdistä.

Melaja ja Hämäläinen /40/ ovat patenteineet ksylitolin valmistusprosessin, jossa muita sokerialkoholeja saadaan ksylitolin kromatografisen erotuksen sivutuotteena. Puun uuteaineista puhdistettu pentoosiliuos hydrataan Raney-Ni –katalyytin avulla 135 °C:een lämpötilassa 2,5 tunnin ajan 40,5 bar:n paineessa, jolloin ksyloosi pelkistyy ksylitoliksi. Tuotteena saadaan sokerialkoholien seos. Melaja ja Hämäläinen /40/ tutkivat sokerialkoholien erottumista neljällä vahvalla kationinvaihtohartsilla, joka olivat Ca^{2+} -, Sr^{2+} -, Fe^{3+} - ja Al^{3+} -ionimuodoissa. Eluenttina käytettiin ionivaihdettua vettä huoneenlämpötilassa. Tutkimuksessa havaittiin Ca^{2+} - ja Sr^{2+} -muotoisen hartsin olevan muita parempi vertailtaessa ksylitolin, mannitolin ja sorbitolin erottumista. Ca^{2+} -muotoisella hartsilla saatiin ksylitolin piikki kaikkein terävimmäksi, jolloin sen erottuminen oli tehokkainta. Mannitolin ja sorbitolin erotuksessa Sr^{2+} -muotoinen hartsi osoittautui kaikkein tehokkaimmaksi.

Kaushik ja Bhat /45/ tutkivat polyolivesiliuosten vaikutusta proteiinien termiseen stabiiliisuuteen. He tutkivat mannitolin, sorbitolin, ksylitolin, adonitolin ja inositolin vaikutusta veden pintajännityksen alenemiseen ja täten proteiinien termisen stabiilisuuden kasvamiseen. He havaitsivat, että polyolien hydroksyyliiryhmien kasvaessa proteiinien stabiloituminen myös kasvoi. Täten parhaiten proteiineja stabiloi inositoli, tämän jälkeen mannitoli ja sorbitoli, ja viimeiseksi ksylitoli ja adonitoli. Kaushik ja Bhat /45/ havaitsivat myös liuoksen pH:n vaikuttavan proteiinien stabiilisuuteen. Polyolit stabiloivat proteiineja parhaiten pH:ssa 2,5.

Taulukossa IV on esitetty polyolivesiliuosten pisaramenetelmällä mitattu pintajännitys. Tuloksista voidaan havaita polyolien lisäävän veden pintajännitystä polyolien kasvavan hydroksyyliiryhmien lukumäärän perusteella (inositoli > mannitoli \approx sorbitoli > ksylitoli \approx ribitoli) /45/.

Taulukko IV Polyolivesiliuosten pisaramenetelmällä mitattu moolitilavuus (V_m), lämpökapasiteetti ($\overline{C_p^o}$) ja pintajännitys (σ) lämpötilassa 25 °C /45/.

Polyoli	V_m , cm ³ /mol	$\overline{C_p^o}$, kJ/mol	σ , kN·m ⁻¹
Ksylitoli	102,14	326	110,8 \pm 0,30
Ribitoli	103,11	354	110,7 \pm 0,32
Mannitoli	119,71	461	133,1 \pm 0,13
Sorbitoli	119,16	424	133,1 \pm 0,35
Inositoli		369	133,6 \pm 0,47

Polyolivesiliuoksen suuren lämpökapasiteetin (taulukko IV) on arveltu johtuvan polyolien ja sokereiden hydroksyyliiryhmien sekä vesimolekyylien välisistä vetysidoksista. Tämä on havaittu kokeellisesti spektroskopisten ja termodynaamisten menetelmien avulla. Komponenttien moolitilavuuden kasvaminen viittaa vesimolekyylien uudelleen järjestäytymiseen polyolien vaikutuksesta (erikoishydrataatio) /45/.

3.3 Sokerien ja sokerialkoholien kompleksinmuodostus

Tutkittaessa hiilihydraattien erotusta kationinvaihtohartsin avulla erotus saadaan aikaan usean mekanismin avulla. H⁺-muotoisella hartsilla hiilihydraattien erotusmekanismi perustuu ioni- ja kokoeksklusion sekä hydrofobiseen adsorptioon. Tällöin suurimolekyyliset hiilihydraatit eluoituvat ennen pienimolekyylisiä, happamat hiilihydraatit ennen neutraaleja ja polaariset sokerit ennen poolittomia. Na⁺-muotoisella hartsilla hiilihydraattien ero-

tus perustuu ioni- ja kokoekskluusion vaikutuksesta tapahtuvaan hiilihydraattien jakautumiseen hartsi- tai liuosfaasiin. Ca^{2+} -, Pb^{2+} - ja Ag^+ -muotoiset hartsit erottavat hiilihydraatteja samaan tapaan kuin H^+ -muotoinenkin, mutta sillä erolla että niillä tapahtuu myös kompleksinmuodostusta hiilihydraattien ja hartsifaasin välillä /48/.

Sokerien kompleksinmuodostuksen selvittämiseen on käytetty useita fysikaalisia metodeja. Näistä tavanomaisimpia ovat liukoisuuden, optisen rotaation ja höyrynpaineen määrittäminen, sekä elektroforeesi ja NMR-analyysi. NMR:n avulla päästään tutkimaan muodostuneen kompleksin rakennetta ja konformaatiota, ja siitä syystä se onkin tavallisin sokerikompleksien määrittämenetelmä /49/.

Orgaanisten komponenttien kompleksinmuodostuskykyä käytetään hyväksi ligandinvaihtokromatografiassa (LEC). Ligandinvaihdolla on erotettu esimerkiksi monosakkarideja ja niitä vastaavia sokerialkoholeja. Kaikkein tunnetuin ligandinvaihto teollisessa mittakavassa on glukoosin ja fruktoosin erotus Ca^{2+} -muotoisella sulfonidulla PS-DVB -hartsilla /49/. Glukoosi ei muodosta kompleksia, mutta fruktoosi muodostaa Ca^{2+} -kompleksin hartsi- sissa.

Liuottimen vaikutusta kompleksin muodostukseen on tutkittu paljon. Angyal *et al.* /50/ ovat havainneet orgaanisen liuottimen solvatoivan ionia vähemmän verrattuna veden kykyyn stabiloida sokereita ja polyolikomplekseja. Kompleksin voimakkuus riippuu kationin ja hiilihydraatin ominaisuuksista. Univalettiset kationit muodostavat yleensä hyvin heikkoja komplekseja ja niitä pidetään ei-kompleksoivina kationeina. Di- ja tri-valenttiset kationit muodostavat komplekseja ja yleensä kolmivalenttinen kationi kompleksoi voimakkaammin kuin divalenttinen kationi. Angyal *et al.* /51/ ovat havainneet myös ionin säteen olevan tärkeä tekijä kompleksin stabiilisuutta selvitettäessä.

Kationi-hiilihydraatti -kompleksin stabiilisuuteen vaikuttaa voimakkaasti OH-ryhmien lukumäärä ja järjestys. Angyal *et al.* /50/ havaitsivat stabiilisuuden noudattavan seuraavaa järjestystä (voimakkaammasta heikompaan, jossa ax=pystysuora, eq=vaakasuora): 1,3,5-ax-ax-ax -trioli (harvinainen) > ax-eq-ax -trioli kuusiatomisessa renkaassa > cis-cis -trioli viisiatomisessa renkaassa > asyklinen threo-threo -trioli > asyklinen threo-pari primäärisen OH-ryhmän vieressä > asyklinen erythro-threo -trioli > asyklinen erythro-pari primäärisen OH-ryhmän vieressä > asyklinen erythro-erythro -trioli > cis-dioli viisiatomisessa ren-

kaassa > cis-dioli kuusiatomisessa renkaassa > trans-dioli kuusiatomisessa renkaassa. Yleensä kompleksi muodostuu vierekkäisten hydroksyyli ryhmien välille.

Kompleksin muodostumista voidaan kuvata yhtälön (2) mukaisesti.



Goulding /52/ ovat muodostaneet yhtälön (yht. (3)), jonka avulla voidaan laskea kompleksin stabiilisuus kromatografia-ajoista.

$$K_{\text{stab}} = \frac{c(\overline{M^{X+}R})}{c(R)c(\overline{M^{X+}})} = \frac{K_d}{c(\overline{M^{X+}})} \quad (3)$$

missä c moolinen konsentraatio.
 K_d tilavuusjakautumisvakio kompleksin R määrää kohti
 K_{stab} pysyvyysvakio
 M, R kationi, jolla on varaus x , viiva symbolin päällä kuvaa hartsifaasia.

K_d määritellään yhtälön (4) mukaisesti.

$$K_d = \frac{V_R - V_{\text{part}}}{V_s} \quad (4)$$

missä V_{part} ei-kompleksoivan komponentin retentiotilavuus
 V_R hiilihydraatin retentiotilavuus
 V_s stationäärifaasin tilavuus.

Metalli-ionien molaarinen konsentraatio hartsifaasissa on määritelty yhtälössä (5).

$$c = \frac{n(\overline{M^X})}{V_s} \quad (5)$$

missä $n(\overline{M^X})$ metalli-ionien määrä hartsifaasissa.

Yhdistämällä yhtälöt (2) ja (3) saadaan yhtälö (6), josta voidaan laskea kompleksin stabiilisuus.

$$K_{\text{stab}} = \frac{V_R - V_{\text{part}}}{n \left(\overline{M}^{X+} \right)} \quad (6)$$

Ei-spesifistä jakautumista voidaan minimoida käyttämällä ei-kompleksoivan komponentin retentiotilavuutta (esim. glukoosi) kuvaamaan ei-kompleksista sorptiota ja laskemalla hiilihydraattien jakautumisvakio kompleksoitumisen jälkeen (yhtälö 6) /53/.

Cerda ja Wesdemiotis /54/ tutkivat pentoosien, heksoosien ja heksoosirunkoisten disakkaridien kompleksimuodostusta Na^+ -ionien kanssa. Analyysimenetelmänä käytettiin tandem-massaspektrometriaa. Tutkittavia pentooseja olivat arabinoosi, ksyloosi ja riboosi, heksooseja olivat glukoosi, galaktoosi ja mannoosi, sekä disakkarideja melibioosi, gentiobioosi ja laktoosi. Vesiliuoksessa monosakkaridit esiintyvät stabiileimmillaan rengasmuodossa. Mono- ja disakkaridien kompleksimuodon $[\text{Sac} + B_i]\text{Na}^+$ saavuttamiseksi käytettiin nukleotiiniemäksistä adenosiniä, sytosiiniä ja guaniinia, tai vastaavasti dipeptideistä glysiilglysiiniä, glysiilalaniinia ja alanyylialaniinia. Cerda ja Wesdemiotis /54/ havaitsivat Na^+ -ioniaffiniteetin kasvavan seuraavassa järjestyksessä: arabinoosi < ksyloosi < glukoosi < riboosi < galaktoosi < mannoosi << melibioosi < gentiobioosi < laktoosi. Na^+ -ionin affiniteetti, $\Delta H_{\text{Na}^+}^0$, on monosakkaridi-isomereilla 170–179 kJ/mol, ja disakkaridiisomeereilla 198–204 kJ/mol. Nämä arvot ovat huomattavasti suurempia verrattaessa tavallisiin mono- ja dihapaisiin O-ligandeihin, kuten metanoliin (111 kJ/mol), dimetyylieetteriin (93 kJ/mol), tai dimetoksietaaniin (161 kJ/mol). Tämä paljastaa sakkariidien koordinoituvan Na^+ -ionin kanssa monihampaisessa (≥ 2) muodossa. Lisäksi Na^+ -ionin affiniteetin havaittiin olevan riipumaton käytetystä emäksestä. Jokainen sakkaridi solvatoi Na^+ -ionin eri tavalla riippuen käytettävissä olevasta donoripaikasta. Verrattaessa pentooseja heksooseihin, voidaan havaita heksoosien muodostavan voimakkaamman Sac- Na^+ -sidoksen, johon tuen heksoosien hydroksimetyyliryhmien suuremmasta rakenteellisesta joustavuudesta ja suuremmasta induktiivisesta efektistä Na^+ -ioniin. Na^+ -ionin affiniteetin on havaittu olevan herkkä sakkariidien stereokemian muutoksille. Na^+ -ionin affiniteettiero on kuitenkin melko pientä. Teoreettisten laskujen avulla on pystytty osoittamaan sakkaridi- Na^+ -sidoksen voimakkuuden riippuvan ensi sijassa muodostuneen kompleksin pysyvyydestä. Kullekin stereoisomeerille ominaista Na^+ -ionin affinitettia voidaan käyttää eri isomeerien tunnistamiseen /54/.

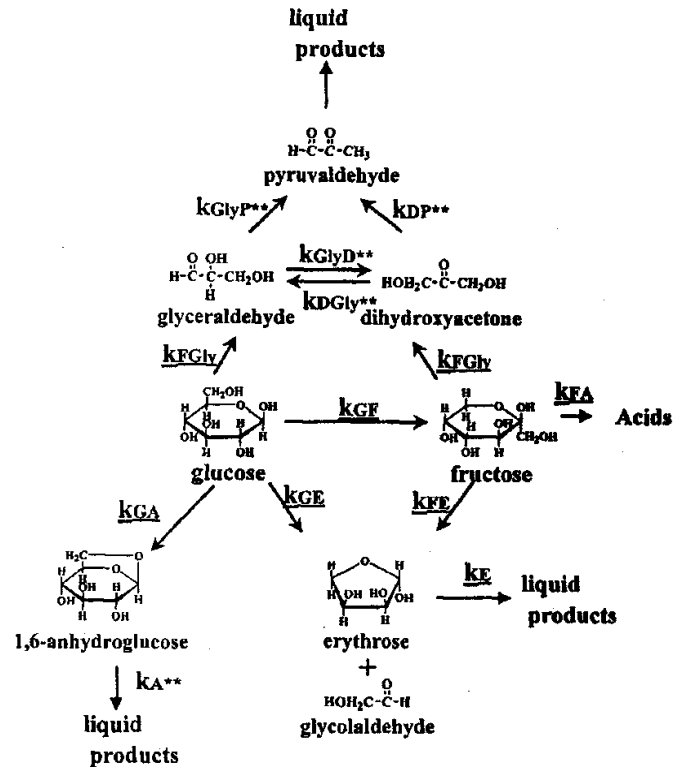
4 LÄMPÖTILASTABIILISUUS

4.1 Sokerien ja sokerialkoholien terminen kestävyys

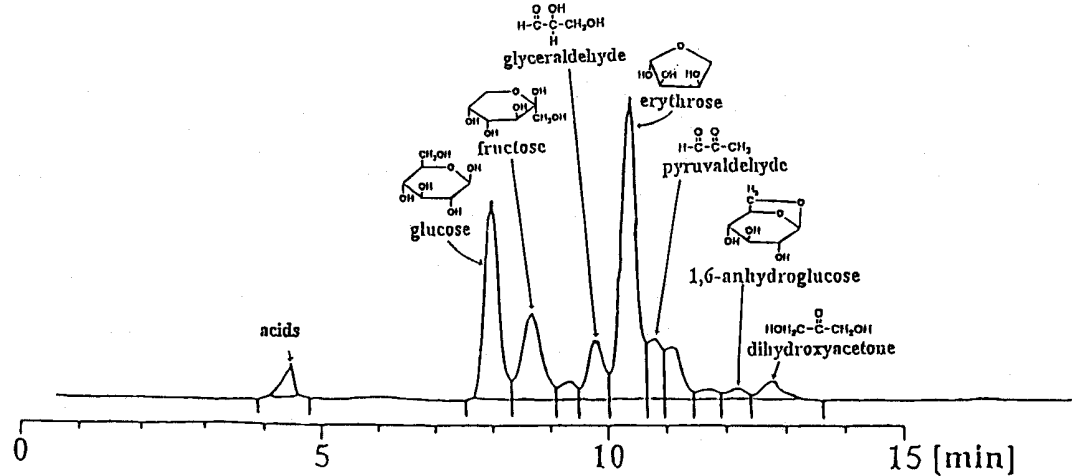
Sokerien terminen hydrolyysi tapahtuu yli 150 °C:en lämpötiloissa ilman vahvojen happojen lisäystä. Näissä olosuhteissa sokereilla tapahtuu myös hajoamista. Polysakkarideilla ketjun lopussa oleva monosakkaridiyksikkö hajoaa herkemmin kuin muualla molekyyliässä olevat yksiköt. Vesiliuoksessa olevat monosakkaridiyksiköt esiintyvät aldehydi- ja hemiasetaalimuodon seoksena. Monosakkaridien rengasmuoto on stabiilimpi kuin avoketjuinen muoto, ja huoneenlämpötilassa rengasmuoto on vallitseva. Sokerien hajoamisaste riippuu suuresti liuoksessa olevien avoketjuisten monosakkaridien määrästä. Polysakkaridien monosakkaridiyksiköillä rengasmuoto on vallitseva ja ainoastaan ketjun päässä olevilla monosakkaridiyksiköillä voi tapahtua ketjun aukeamista. Polysakkaridimolekyylin pelkistäväksi osaksi kutsutaankin ketjun päässä sijaitsevaa monosakkaridiyksikköä helppopääsyisten aldehydiryhmiensä vuoksi /55/.

Kun sokeria lämmitetään riittävästi, se hajoaa ts. karamellisoituu. Sokerin väri muuttuu ensin keltaiseksi ja sitten ruskeaksi. Karamellisoituneella sokerilla on hyvin tunnusomainen väri ja aromi. Keitettäessä sokeria ja proteiineja vesiliuoksessa, ne reagoivat muodostaen ruskeaa väriä. Tämä reaktio on nimeltään Maillard-reaktio /56/.

Kabyemela *et al.* /57, 58/ ovat tutkineet glukoosin ja fruktoosin hajoamismekanismeja alijäykissä vesissä. He havaitsivat glukoosin hajoavan fruktoosiksi, erytroosiksi, glykoaldehydiksi, dihydroksiasetoniksi, glyseraldehydiksi, 1,6-anhydroglukoosiksi ja asetyyliformaldehydiksi (kuva 9). Fruktoosin havaittiin hajoavan lähinnä glyseraldehydiksi, dihydroksiasetoniksi ja erytroosiksi veden lämpötilassa 300-400 °C ja paineessa 25-40 MPa, kontaktiajan ollessa 0,02-2 s /57/. He tutkivat glukoosin hajoamista HPLC-analyysin avulla (kuva 8) /58/. Reaktio-olosuhteet vaikuttavat suuresti hajoamistuotteisiin. Lämpötilassa 600 °C kontaktiajan ollessa 6 s, glukoosin on havaittu hajoavan lähinnä vedyksi, hiilidioksidiksi, hiilimonoksidiksi, metaaniksi, etikkahapoksi, asetaldehydiksi ja 5-HMF:ksi /59/.

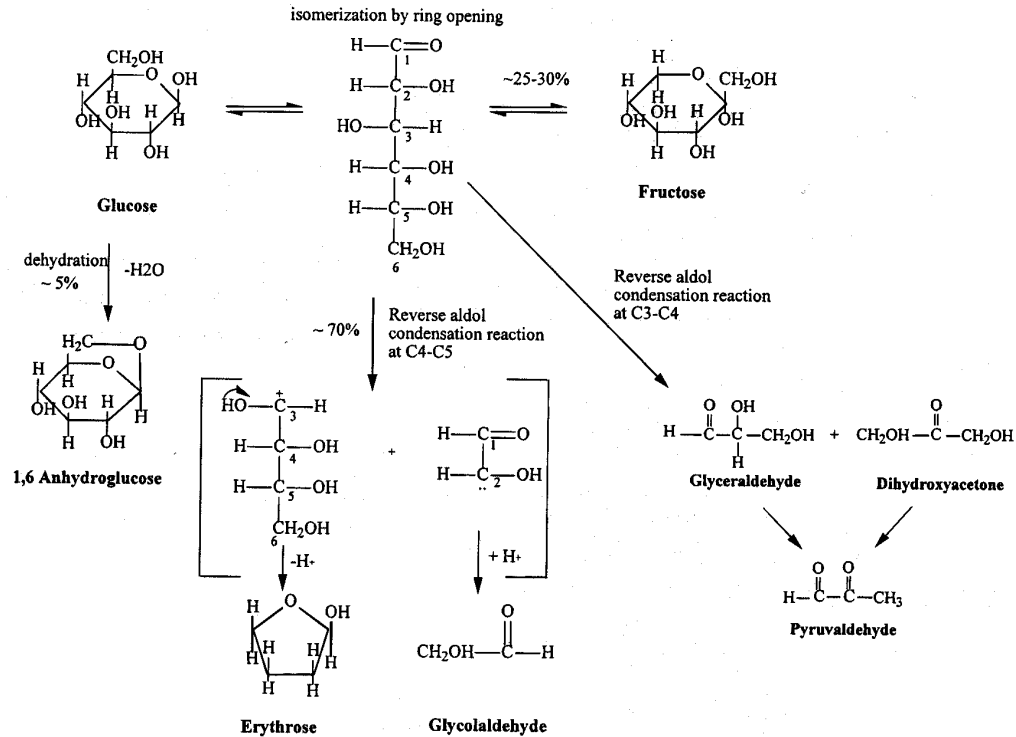


Kuva 9. Glukoosin ja fruktoosin hajoamistuotteet /57/.



Kuva 10. HPLC-analyysi glukoosin hajoamisesta. Tutkitun reaktion lämpötila oli 400 °C, paine 30 MPa ja kontaktiaika 0,12 s. Glukoosiliuoksen pitoisuus alussa oli 0,12 p-% /59/.

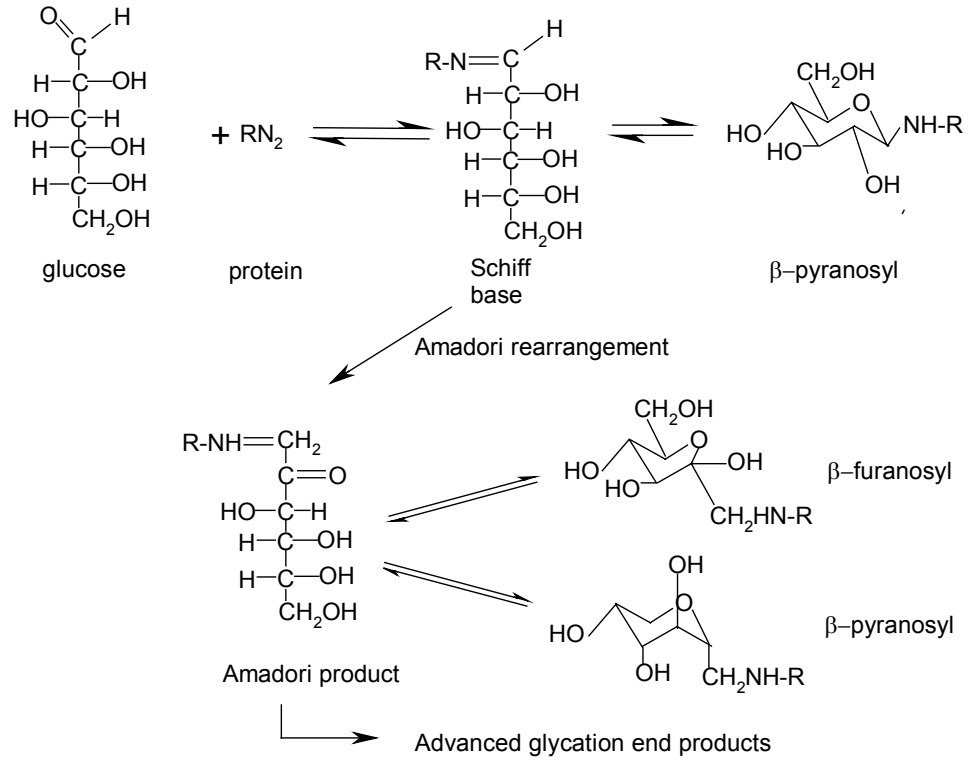
Kabemela *et al.* /59/ ehdottivat glukoosin hajoavan kuvassa 11 esitetyn mekanismin mukaisesti. Auenneesta glukoosirenkaasta muodostuu käänteisen aldolikondensaation avulla joko erythroosia ja glykolialdehydiä, tai sitten glyseraldehydiä ja dihydroksiasetonia.



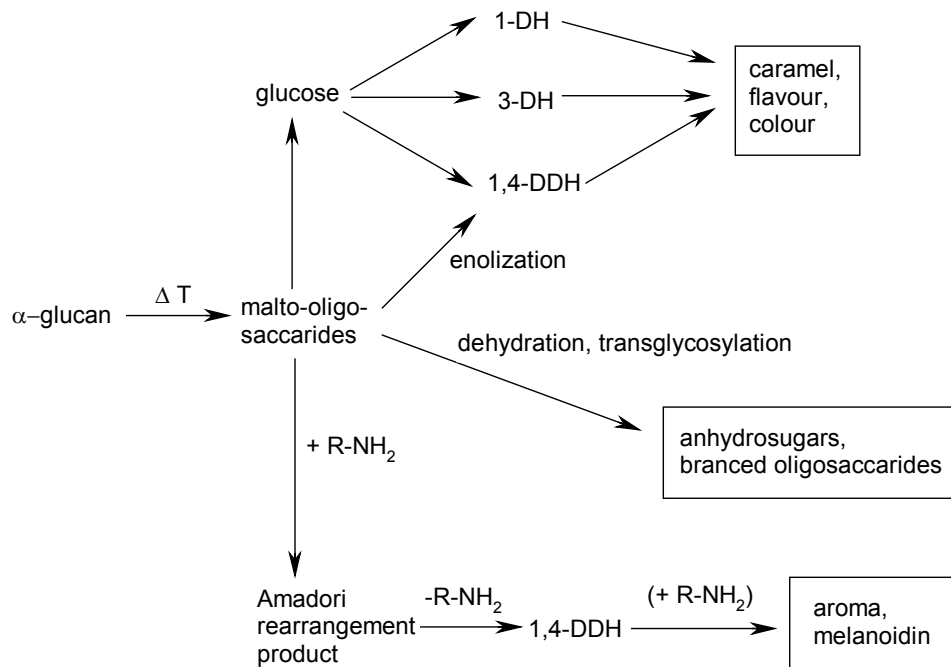
Kuva 11. Glukoosin hajoamismekanismi. Tutkitun reaktion lämpötila oli 400 °C, paine 30 MPa ja kontaktiaika 0,12 s. Glukoosiliuoksen alkupitoisuus oli 0,12 p-% /59/.

Kabymela *et al.* /60/ tutkivat lisäksi sellobioosin hajoamista yli- ja alikriittisen veden vaikutuksesta. He havaitsivat sellobioosin hydrolyysi- ja pyrolyysituotteina syntyvän glukosia, erythroosia, glykolialdehydiä, glykosyylierythroosia ja glykosyyliyglykoaldehydiä.

Hollnager ja Kroh /61/ tutkivat oligosakkaridien karamellisoitumista ja Maillard-reaktiota O-fenyleenidiamiinilisäyksen avulla koeputkikokeilla 100 °C:en lämpötilassa kahdeksan tunnin ajan. He havaitsivat sokerien hajoavan α -dikarboonyyleiksi, isomerisaatiotuotteiksi ja lyhyketjuisiksi hiilihydraateiksi (kuvat 12 ja 13). Monosakkaridien hajoaminen oli paljon nopeampaa kuin di- ja trisakkaridien. Maillard-reaktion ensimmäisen vaiheen hajoamistuotteet vaikuttavat tuotteen väriin, aromiin ja antioksidatiivisiin ominaisuuksiin. O-fenyleenidiamiinilisäyksen tiedettiin inhiboivan Maillard-reaktion browning-ilmiötä. Isomeroituminen on karamellisoitumisen tärkein välivaihe.



Kuva 12. Glukoosin ei-entsyymattainen browning-ilmio Maillard-reaktiomekanismilla /63/.



Kuva 13. Malto-oligosakkaridien karamellisoituminen ja Maillard-reaktio 100 °C:n lämpötilassa. Kuvassa käytetyt lyhenteet: 1-DH tarkoittaa 1-deoksiheksosuloosia, 3-DH 3-deoksiheksosuloosia ja 1,4-DDH 1,4-dideoksiheksosuloosia /61/.

4.2 Stationäärifaasin terminen kestävyys

Tässä osassa keskitytään tarkastelemaan ioninvaihtohartsien ja zeoliittien termistä kestävyttä. Ioninvaihtohartsien termisen kestävyuden tiedetään olevan alhaisempi kuin zeoliittien termisen kestävyuden. Lisäksi kuvataan lyhyesti myös näiden materiaalien yleisiä ominaisuuksia.

4.2.1 Ioninvaihtohartsit

Ioninvaihtohartseja käytetään nykyisin mm. veden puhdistuksessa, ruoka- ja alkoholijuomateollisuudessa, lääketeollisuudessa ja biologisten fluidien puhdistuksessa. Nämä käyttökohteet vaativat hartseilta erityisiä turvallisuustakeita, ts. hartseista ei saa uuttautua mitään komponentteja, jotka saattaisivat pilata hartsin avulla valmistettavan tuotteen. Tästä syystä hartsien fysikaalisten ja kemiallisten ominaisuuksien tunteminen myös ääriolosuhteissa on tärkeää /63/.

Ioninvaihtohartsi koostuu polymeerimatriisista ja funktionaalisista ryhmistä, jotka ovat vuorovaikutuksessa ionien kanssa. Hartsit voidaan luokitella polymeerimatriisiin kiinnittyneiden funktionaalisten ryhmien, matriisipolymeerin, sekä polymeerimatriisin huokoisuuden mukaan. Funktionalisuus voidaan jakaa neljään päätyyppiin: vahva happo, heikko happo, vahva emäs ja heikko emäs. Polymeerimatriisin huokoisuus voidaan jakaa mikro- ja makrohuokoisuuteen. Mikrohuokoiset hartsit eivät ole huokoisia kuivana, vaan huokoisuus muodostuu hartsin turvotessa vedessä. Tästä syystä mikrohuokoisia hartseja kutsutaan geelihartseiksi /64/.

Ioninvaihtohartsit ovat turvonneena elastisia ja ristisilloitusasteen nostaminen vähentää hartsin elastisuutta. Korkeammin ristisilloitetut hartsit kestävät paremmin hapettavia olosuhteita, jotka hajottavat hartsin ristisilloitusta. Korkeat divinyylibentseenin pitoisuudet tiivistävät polymeerimatriisia ja siten pienentävät ionien ja muiden liukoisten aineiden tunkeutumiskykyä hartsin sisälle /64/.

Makrohuokoiset hartsit kestävät geelimäisiä paremmin fysikaalista ja osmoottista rasitusta. Siksi niitä käytetäänkin systeemeissä, joissa mekaaninen ja osmoottinen rasitus kuluttaisi geelihartsin nopeasti /64/.

Dow Chemicals Company /65/ ilmoittaa Dowex-hartsiansa maksimikäyttölämpötiloiksi suolamuotoiselle kationinvaihtohartsille 120-150 °C ja hydroksidimuotoiselle anioninvaihtimelle 30-60 °C. Valmistaja täsmentää nämä arvot kuitenkin vain ohjearvoiksi. Lisäksi tulee ottaa huomioon, että terminen hajoaminen on verrannollinen sekä käytettyyn lämpötilaan että käyttöaikaan. Ohjeelliset maksimikäyttölämpötilat voidaan ylittää lyhyiksi ajoiksi ilman, että hartsin suorituskyky huononee. Jos prosessin käyttökustannukset sallivat hartsin vaihdon lyhyiden käyttökertojen jälkeen, voidaan lämpötilamaksimi ylittää ilman katastrofaalista vaikutusta. Taulukossa V on esitetty valmistajan suosittelevat maksimikäyttölämpötilat Dowexin ioninvaihtohartseille /65/.

Taulukko V Esimerkkejä Dowexin ioninvaihtohartsien termisestä kestävydestä /65/.

Tuotekoodi	Tyyppi ^a	Maksimilämpötila, °C
XZ 87480,00	X	85
CCR-2 (E)	hhKG	120
HCR-S (E)	vhKG	120
C-10	vhKG	130
HBR-W2 (E)	vhKG	150
CM-12	vhKM	130
88	vhKM	150
WGR	heAG	60
MWA-1	heAM	60 vapaana emäksenä, 100 HCl
SBR-P	veAG	60 OH,
	(tyyppi I)	100 Cl
SAR	veAG	35 OH
	(tyyppi II)	70 Cl
CCR-3 UG	hhKE	120
C-9 S UG	vhKE	120
CM-15 UG	vhKE	150
MWA-1 UG	heAE	60 vapaana emäksenä, 100 HCl
SBR-P UG	veAE	60 OH, 100 Cl
IF-56 UG	I	100

^a A = anioninvaihtohartsi, K = kationinvaihtohartsi, X = kelatoiva hartsi, M = makrohuokoinen, G = geelimäinen, E = elintarvikestandardit täyttävä hartsi, I = inertti hartsi, hh = heikko happo, vh = vahva happo, he = heikko emäs, ve = vahva emäs.

Pertuzzelli *et al.* /63/ ovat tutkineet hartsien lämpötilankestävyyttä hapettomassa tilassa ja ovat analysoineet hartseista vapautuvat yhdisteet GC-MS:lla (taulukko VI). Funktionaalisten ryhmien termisen kestävyuden tiedetään olevan paljon heikompi kuin polymeerimatriisin termisen kestävyuden, joten yleensä juuri funktionaliset ryhmät irtoavat ensimmäiseksi. Pertuzzelli *et al* /63/ havaitsivat tutkimuksessaan, että hartseista vapautuvat komponentit ovat usein juuri samoja, joista polymeerimatriisi on alunperin muodostunut.

Taulukko VI Hartsien lämpötilakestävyyden määrittäminen. Pyrolyysikokeissa määritetyt yhdisteet analysoitiin GC-MS:lla. Hartsit olivat H⁺-muodossa /63/.

Hartsi	130 °C ^a	200 °C ^a	250 °C ^a	300 °C ^a	350 °C ^a
PS-DVB 10 % (-SO ₃ ⁻), geelim.	-	SO ₂	SO ₂	SO ₂ , C ₆ H ₆	SO ₂ , C ₆ H ₆ , C ₇ H ₈ , C ₈ H ₁₀ , C ₈ H ₈
PS-DVB 20 % (-SO ₃ ⁻), makroh.	-	SO ₂	SO ₂	SO ₂ , C ₆ H ₆ , C ₇ H ₈ , C ₈ H ₁₀ , C ₈ H ₈	SO ₂ , C ₆ H ₆ , C ₇ H ₈ , C ₈ H ₁₀ , C ₈ H ₈
Polyakryyli (-COO ⁻), geelim.	CO ₂	CO ₂	CO ₂ , HCl	CO ₂ , HCl, C ₇ H ₈ , C ₈ H ₁₀	ei tehty
Polyakryyli 12 % (-COO ⁻), makroh.	CO ₂	CO ₂	CO ₂	CO ₂ , C ₇ H ₈	CO ₂ , C ₇ H ₈
Polyakryyli 20 % (-COO ⁻), makroh.	CO ₂	CO ₂	CO ₂ , C ₃ H ₄ O ₂	CO ₂ , C ₃ H ₄ O ₂ , C ₁₀ H ₁₂	CO ₂ , C ₁₀ H ₁₂
Polymetakryyli (-COO ⁻), makroh.	CO ₂	CO ₂	CO ₂	CO ₂ , C ₄ H ₆ O ₂ , C ₁₀ H ₁₂	CO ₂ , C ₄ H ₆ O ₂ , C ₁₀ H ₁₂ , C ₁₀ H ₁₀

^a bruttokaavaa vastaavat yhdisteet: C₆H₆ bentseeni, C₇H₈ tolueni, C₈H₁₀ etylibentseeni, C₈H₈ styreeni, C₃H₄O₂ akryylihapo, C₄H₆O₂ β-metyyliakryylihapo, C₁₀H₁₂ etyyli-vinylibentseeni, C₁₀H₁₀ divinylibentseeni.

Pertuzelli /63/ *et al.* havaitsivat, että hajoamistuotteiden syntyessä hartsissa tapahtuu massahäviötä ja polymeerin funktionaalisten ryhmien pilkkoutumista johtaen hartsin kapasiteetin alenemiseen. Vahvojen kationinvaihtajien defunktionalisoituessa vapautuu SO₂:a ja heikoilla kationinvaihtajilla CO₂:a. Vastaavasti anioninvaihtajien defunktionalisoituessa vapautuu amiinijohdannaisia.

Vahvat sulfonoidut kationinvaihtimet kestävät 250 °C:een lämpötilan ennen polymeerimatriisin hajoamista. Taulukossa VI esitetyistä tuloksista voidaan havaita myös heikkojen akrylaattirunkoisten kationinvaihtajien funktionaalisen ryhmän lohkeamisen jälkeen (250 °C:een lämpötilassa) polymeerimatriisin hajoavan. Heikon kationinvaihtimen terminen hajoaminen on vähäisempää kuin vahvan kationinvaihtimen /63/.

Tutkittaessa funktionaalisten ryhmien pilkkoutumista, anioninvaihtimien havaittiin olevan termisesti vähemmän kestäviä kuin kationinvaihtimien. Anioninvaihtohartseista vapautuneet komponentit ovat yksiselitteisesti peräisin hartsin defunktionalisoitumisesta. Heikkojen anioninvaihtimien havaittiin lisäksi hajoavan helpommin kuin vahvojen anioninvaihtimien /63/.

Vertailtaessa anionin- ja kationinvaihtohartsien polymeerimatriisin termistä kestävyyttä voidaan havaita polystyreenihartsien olevan selvästi termisesti heikompia kuin polyakryylihartsien riippumatta niitten kationisesta tai anionisesta luonteesta. Polyakryylirunkoisten hartsien havaittiin puolestaan olevan termisesti kestävämpiä sekä defunktionalisoinen että depolymerisoinen kannalta /63/.

Kationinvaihtohartsien havaittiin defunktionalisoituvan yli 100 °C:een lämpötilassa ja depolymerisoituvan noin 300 °C:essa, kun taas anioninvaihtohartsit hajosivat jo alle 100 °C:essa /63/. Saman ilmiön havaitsivat myös Marinov ja Mitov /66/.

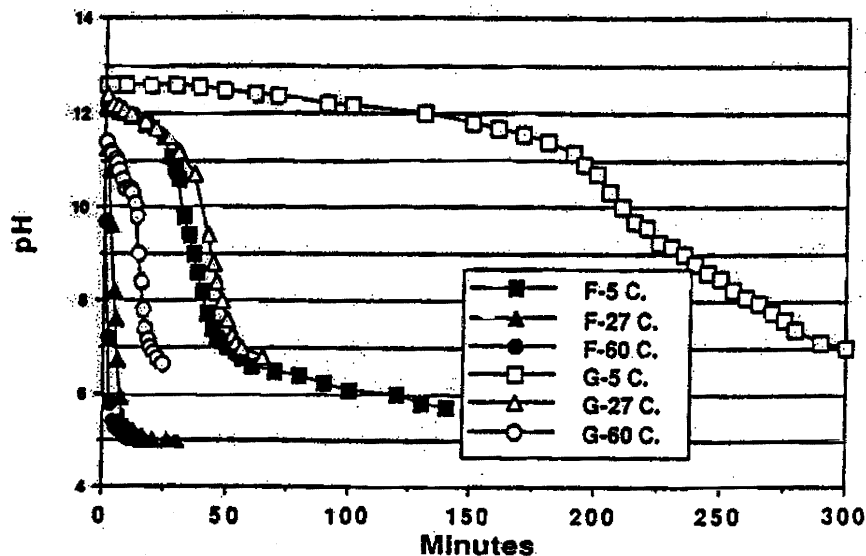
Fisher /67/ on kehittänyt menetelmän, jolla neutraloitumisnopeuden avulla voidaan karakterisoida polymeerien lämpötilakäyttäytymistä. Menetelmässä punnittiin koeputkeen 10 meqv kutakin polymeeriä (taulukko VII), lisättiin 50 mL 2 M:sta NaCl:a ja annettiin seoksen tasapainottua koelämpötilassa 1 h ajan. Tämän jälkeen näytteeseen lisättiin 50 mL 0,100 N NaOH:a ja seurattiin pH:n neutralisoitumiseen (pH=7) kuluvaa aikaa. Fisher /67/ havaitsi kaikkien tutkittujen polymeerien osoittavan huomattavaa eroa neutraloitumisnopeudessa lämpötilan eri arvoilla (kuva 14).

Taulukko VII Polymeeri	Fisherin /67/ tutkimien hartsien neutraloitumisajat.					Puolineutralisoitumisaika, min		
	Mono-meeri ^a	Polymeerin tyyppi ^b	H ₂ O % retentio		5 °C	27 °C	60 °C	
			H ⁺ -muoto	Na ⁺ -muoto				
A	AA	G	80,92	93,75	53	20	7	
B	AA	G	67,84	85,30	75	13	5	
C	AA	M	56,33	66,93	75	20	7,5	
D	AA	G	50,47	61,81	60	14	5	
E	MAA	M	47,85	64,22	150	38	11	
F	AA	G	44,67	59,26	35	45	2	
G	AA	M	44,13	53,97	275	40	14	
H	AA	G	32,68	48,61	1040	105	8	

^a AA = ristosilloitettu akryylihapo, MAA = ristosilloitettu metakryylihapo

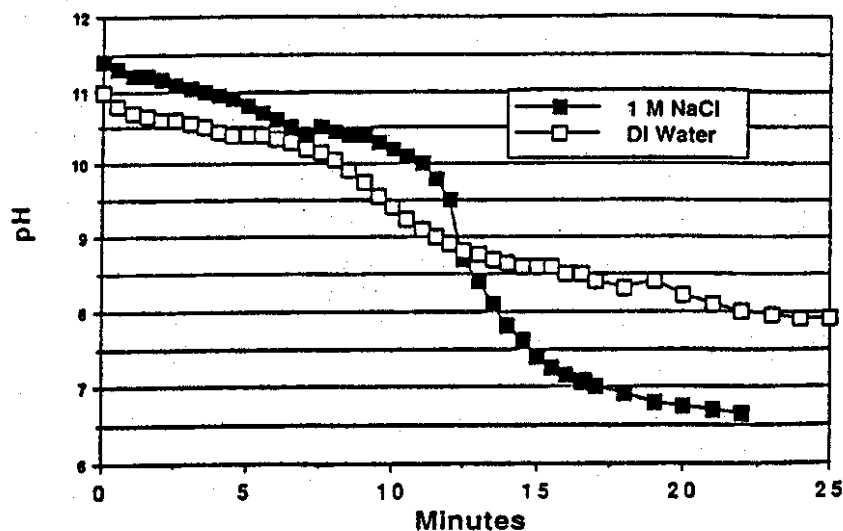
^b G = geelimäinen hartsi, M = makrohuokoinen hartsi, valmistajan ilmoittama.

Kuvasta 14 voidaan havaita, että sekä geelimäisen hartsin että makrohuokoisin hartsin neutraloitumisnopeus on samankaltainen kussakin lämpötilassa. Lisäksi voidaan havaita, että kummatkin polymeerit toimivat paremmin 60 °C:essa kuin huoneenlämpötilassa /67/.



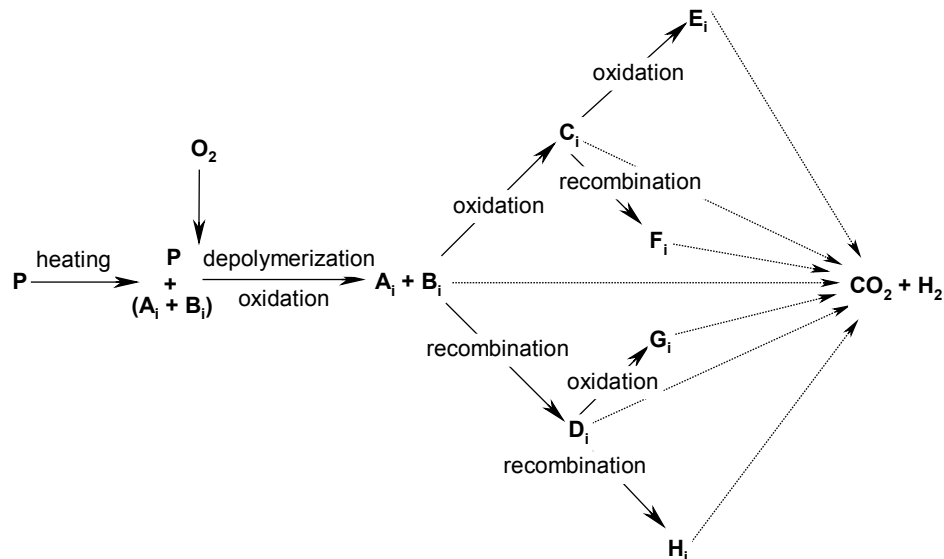
Kuva 14. Polymeerien F ja G puolineutralisoitumisnopeudet kolmessa eri lämpötilassa 1 mol/L NaCl:ssa /67/.

Fisher /67/ havaitsi makrohuokoisen polymeerin käyttäytyvän 60 °C:een lämpötilassa hyvin erikoisesti (kuva 15). Makrohuokoisen polymeerin loppu-pH on huomattavasti suurempi kuin geelimäisen polymeerin pH. Koska aikaisempien tutkimusten perusteella on havaittu karboksyyli-polymeerin happamuuden alenevan ristosilloitusasteen kasvaessa, on todennäköistä, että tämä johtuu polymeerin suuresta DVB:n määrästä. Alhaisempi loppu-pH mahdollistaa geelipolymeerin soveltuvan makrohuokoisia polymeereja paremmin korkeita lämpötiloja vaativiin käyttöolosuhteisiin.



Kuva 15. Makrohuokoisen polymeerin neutraloitumisnopeus ionivaihdetussa vedessä ja NaCl-liuoksessa lämpötilassa 60 °C /67/.

Dubois *et al.* /68/ ovat tutkineet ioninvaihtohartsin hajoamistuotteita ylikriittisen veden (380 °C ja 25,5 MPa) vaikutuksesta. Tutkittavina hartseina olivat Rohm & Haas:n PS-DVB –runkoiset Duolite C20 (Na⁺)-kationinvaihdin ja Duolite A 101 (OH⁻)-anioninvaihdin. He havaitsivat hartsien depolymerisoituvan ensin hydrolyysillä ja sitten hapettumalla (kuva 16). Vahvan kationinvaihtimen sulfoniryhmästä havaittiin muodostuvan sulfaatteja ja vastaavasti anioninvaihtimen ammoniumryhmästä trimetyyliamiinia.



Kuva 16. Polystyreenidivinylibentseenihartsien depolymerisoituminen ja hajoaminen ylikriittisen veden (380 °C ja 25,5 MPa) vaikutuksesta /68/.

4.2.2 Zeoliitit

Zeoliitit ovat huokoisia kiteisiä alumiinisilikaatteja. Ne koostuvat pii- tai alumiiniatomin ympärille sitoutuneista neljästä happiatomista, jolloin muodostuu SiO₄- ja AlO₄-tetraedrejä. Nämä tetraedit sitoutuvat vuorotellen toisiinsa happisillan välityksellä. Zeoliittimolekyylin kullakin happiatomilla on –2:n arvoinen varaus, ja vastaavasti piillä +4:n sekä alumiinilla –1:n arvoinen varaus. Tästä syystä [(AlO₄)_x(SiO₄)_y]_z-molekyylille tarvitsee +1:n suuruisen varauksen jokaista alumiiniatomia kohden. Zeoliittimolekyyliin sitoutunut kationi on useimmiten natriumioni /69/.

Zeoliitin ominaisuudet muuttuvat systemaattisesti alumiinipitoisuuden myötä. Suuren alumiinipitoisuuden omaavat zeoliitit adsorboivat hyvin voimakkaasti vettä ja muita polaarisia molekyylejä. Vastaavasti suuren piipitoisuuden omaavat zeoliitit ovat hydrofobisia, ja

ne adsorboivat esimerkiksi n-parafiinia paremmin kuin vettä. Muutos hydrofiilisestä hydrofobiseen tapahtuu yleensä Si/Al-suhteen ollessa 8-10 /69, 70/.

Zeoliitin lämpöstabiilisuuteen vaikuttaa suuresti sen avaruus rakenne. Mitä tiheämpi rakenne sitä stabiilimpi zeoliitti on korkeissa lämpötiloissa. Poikkeuksena voidaan esittää faujasiitti, jolla on suuret huokokset ja avoin rakenne. Si/Al-suhteen on havaittu vaikuttavan zeoliittien termiseen stabiilisuuteen. Mitä suurempi piipitoisuus sitä stabiilimpi yhdiste. Termisesti stabiileja zeoliitteja ovat esimerkiksi mordeniitti, klinoptiloliitti ja erioniitti /71/. Lämpötila vaikuttaa myös zeoliittien happamuuteen ja siten ioninvaihto- ja adsorptioominaisuuksiin. Teollisuudessa zeoliitteja on jo pitkään käytetty katalyytteinä ja kaasuaSORBENTTEINA lämpötiloissa, jotka ovat yli 300 °C. Tästä syystä zeoliitit soveltuvat myös alkriittisen kromatografian stationääri faaseiksi.

5 KROMATOGRAFISEEN EROTUKSEEN VAIKUTTAVAT TEKIJÄT

5.1 Seoseluenttien vaikutus

Nestekromatografiaa on käytetty pitkään sokerien erottamiseen. Ajoliuksena eli eluentina on käytetty yleensä vettä tai vesipitoisia eluenteja. Jos erotettava komponentti on veteen niukkaliukoinen, joudutaan käyttämään muita eluenteja.

Veden lämpötilaa nostettaessa sen dielektrisyysvakio alenee, ja vesi alkaa muistuttaa polaarisia orgaanisia liuottimia. Tästä syystä tarkastellaan seuraavaksi orgaanisten vesiliuosten vaikutusta kromatografiseen erotukseen.

Orgaanisten vesiliuosten käyttö parantaa vähemmän poolisten yhdisteiden kromatografista erottumista. Tämä johtuu komponenttien erilaisesta liukoisuudesta hartsifaasin ja liuosfaasin välillä. Jos tutkittava komponentti on poolinen, sen affiniteetti pooliseen liuottimeen on suurempi kuin hartsifaasiin. Jos tutkittava komponentti on pooliton, sen affiniteetti hartsifaasiin on vuorostaan suurempi /72/.

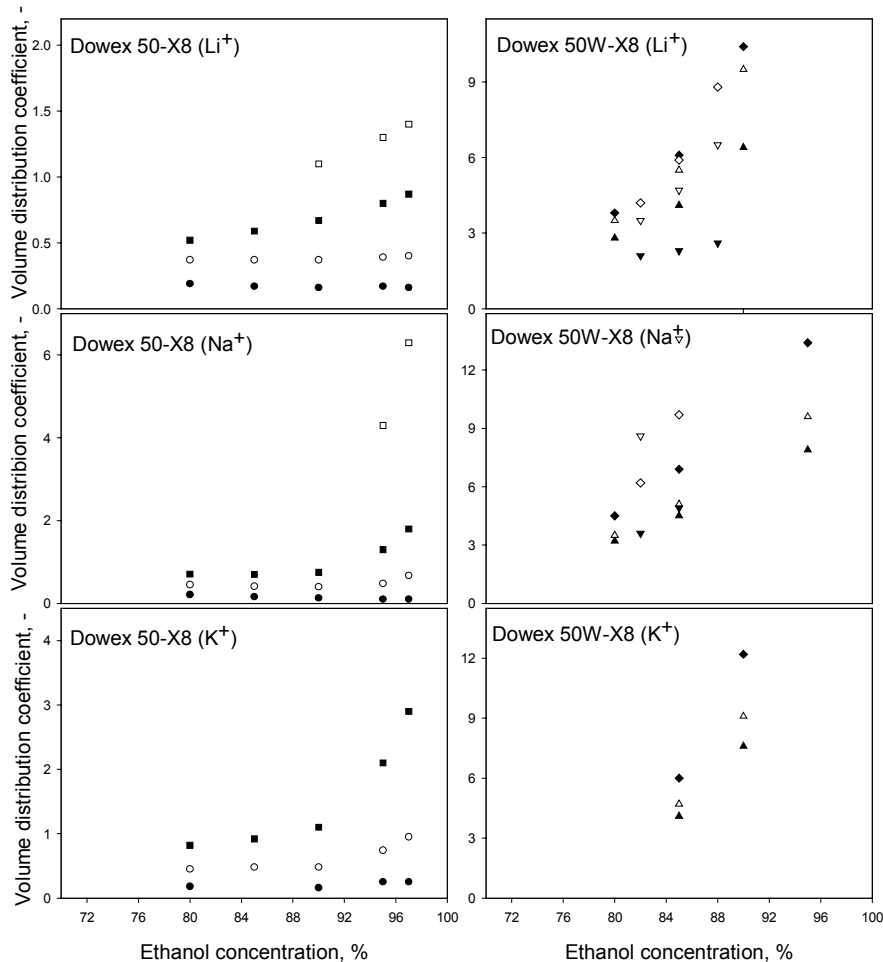
Kromatografisesta näkökulmasta voidaan todeta, että etanolin lisäys vesieluontiin parantaa sokerien erotusta, koska se kasvattaa sokerien välisiä sorptioeroja. Tämän johtuu sokerien erilaisesta liukoisuudesta etanoliin ja veteen /73/. Lisättäessä vesieluontiin joukkoon

etanolia hartsin turpoaminen vähenee. Lisäksi hartsi on vesi-etanoliliuoksissa selektiivinen vedelle, mikä lisää hydrofiilisten sokereiden ja sokerialkoholien sorptiota hartsiin. Turpoamisasteen muuttumiseen vaikuttavat voimakkaasti vastaionin luonne ja jonkin verran myös hartsin ristosilloitusaste /72/.

Jandera ja Churáček /72/ tutkivat etanolipitoisuuden vaikutusta formaldehydin, glykolialdehydin, glyseraldehydin ja dihydroksiasetonin erotukseen vahvalla Dowex 50-X8 –kationinvaihtohartsilla, sekä ksylitolin, mannitolin, sorbitolin, arabinoosin, maltoosin ja sakkaroosin erotusta vahvalla Dowex 50W-X8 -kationinvaihtohartsilla (kuva 17). He havaitsivat kaikkien komponenttien piikkien terävöityvän 75°C:en lämpötilassa. Formaldehydin erotus oli parempi Na⁺-muotoisella hartsilla kuin Li⁺-muotoisella hartsilla. Erotettaessa polyolien ja sokerien seoksia, Li⁺-muotoinen hartsi on parempi johtuen sen kyvystä muodostaa komplekseja polyolien ja sokerien kanssa. Polyolien sorptio vesiliuoksissa pienenee molekyylin hydroksyyliyhymien lukumäärän kasvaessa, ts. glykoli > glyseroli > sorbitoli.

Hartsin ionimuoto vaikuttaa merkittävästi komponenttien eluutiojärjestykseen. Vesieluenteilla 60 °C:een lämpötilassa erotettiin sorbitolin, ksylitolin, erythritolin, glyserolin, etyleeniglykolin ja 1,2-propaanidiolin seosta vahvalla Dowex 50-X-12 –kationinvaihtimella useissa eri ionimuodoissa. H⁺-muotoisella hartsilla saatiin keskimäärin paras resoluutio. Ca²⁺-muotoisella hartsilla komponenttien eluutiojärjestys muuttui. Ksylitoli sorboitui voimakkaasti Ca²⁺-muotoiseen hartsiin, ja eluotui viimeisenä. Polyolien desorptio tutkitussa Ca²⁺-muotoisessa hartsissa vesieluenteissa on hidasta ja erottuminen tehotonta /72/.

Tiihonen *et al.* /53/ havaitsivat vastaionin ja eluutin koostumuksen vaikuttavan huomattavasti sokerien kromatogrammeihin. He tutkivat etanolin ja asetonitriilin lisäyksen vaikutusta vesieluenteihin pintasulfonoidulla PS-DVB –hartsilla. He havaitsivat kaikkien piikkien leviävän ja korkeuden pienenevän lisättäessä toista ajoeluenttia. Lisättävä orgaaninen aine kutistaa hartsia ja hidastaa hiilihydraattien diffuusionopeutta hartsifaasiin. Lisäksi havaittiin, että retentiotilavuuserot ei-kompleksoivien komponenttien ja retentoitumattoman komponentin välillä kasvavat eluutin orgaanisen osuuden kasvaessa. Tällöin ei-kompleksoiva jakautumisefekti kasvaa orgaanisen komponentin osuuden eluenteissa kasvaessa.



Kuva 17. Vahvojen kationinvaihtimien Dowex 50-X8- ja Dowex 50W-X8 –hartsien tilavuusjautumiskerroin eri etanoli-vesipitoisuuksilla 75°C lämpötilassa. Hartsin partikkelikoko on 14-75 μm . ● Formaldehydi, ○ glykolaldehydi, ■ glyseraldehydi, □ dihydroksiasetoni, ▲ ksylitoli, △ mannitoli, ◆ sorbitoli, ▼ arabinoosi, ▽ maltoosi ja ◇ sak-karoosi. Piirretty kirjallisuusviitteen /72/ aineistosta.

Rückert ja Samuelson /74/ ovat tutkineet sokereiden sorptiota Dowex 2 anioninvaihtimeen ja Dowex 50 kationinvaihtimeen vesi-etanoliseoksissa. Tutkittavaina sokereina heillä oli glukoosi ja sakkaroosi. He havaitsivat sokerien sorption kasvavan etanolipitoisuuden kasvaessa. Sokerien sorptioon vaikuttaa suuresti hartsin ionimuoto. Glukoosin sorptio Dowex 2 (SO_4^{2-})-anioninvaihtajaan on 20-kertaa suurempi kuin vastaavaan (CNS^- -anioninvaihtajaan. Samansuuruinen ero havaitaan myös H^+ - ja Na^+ -muotoisella Dowex 50-kationinvaihtimella, kuten taulukosta X voidaan havaita.

Taulukko X Glukoosin jakaantumiskerroin 88 p-%:ssa etanoli-vesiliuoksessa Dowex kationin- ja anioninvaihtohartsilla /75/.

Dowex 50		Dowex 2	
Ionimuoto	<i>K</i>	Ionimuoto	<i>K</i>
H ⁺	0,21	ClO ₄ ⁻	0,10
Li ⁺	1,37	CNS ⁻	0,51
NH ₄ ⁺	3,10	Cl ⁻	1,88
Na ⁺	4,50	Fe(CN) ₆ ⁴⁻	3,30
K ⁺	8,00	SO ₄ ²⁻	10,9
Rb ⁺	9,00		
Cs ⁺	9,10		
Mg ²⁺	0,81		
Ca ²⁺	2,60		
Sr ²⁺	5,00		
Ba ²⁺	5,10		

Polaarisen molekyylin adsorptio liuotimessa kasvaa liuottimen muuttuessa poolittomammaksi. Näin tapahtuu etanolin osuuden kasvaessa vesi-etanoliseoksessa. Polaariseissa adsorptiossa attraktiovoimat kasvavat aineen polaaristen ryhmien lukumäärän kasvaessa. Sokereilla nämä polaariset ryhmät ovat hydroksyyliiryhmiä. Esimerkkinä polaaristen ryhmien vaikutuksesta on sakkaroosin glukoosia suurempi sorptio Dowex (SO₄²⁻)-anioninvaihtimeen /74/.

Mattisson ja Samuelson /75/ ovat tutkineet sokerialkoholien sorptiota Dowex 50 PS-DVB (8 p-% DVB) –kationinvaihtohartsilla useissa eri ionimuodoissa vesi-etanoliseoksissa. He havaitsivat sokerialkoholien sorption kasvavan 12,5 p-%:ssa vesi-etanoliseoksessa seuraavasti: glykoli > glyseroli > mannitoli > sorbitoli kaikilla tutkituilla ionimuodoilla. Kuten jo edellä on mainittu, hydroksyyliiryhmien lukumäärällä on oleellinen merkitys sorboituneiden molekyylien jakautumiskertoimeen. Myös sokerialkoholien hydroksyyliiryhmien järjestys vaikuttaa sorptioon. Esimerkkinä tästä sorbitoli ja mannitoli, joilla on sama molekyyli massa, mutta hieman eri rakenne. Tutkittaessa sorbitolin ja mannitolin sorptiota Dowex 50 (K⁺)-hartsilla 12,5 p-%:ssa vesi-etanoliseoksessa havaitaan sorbitolin sorboituvan mannitolia voimakkaammin. Tutkittaessa liuottimen ja hartsifaasin vuorovaikutusta havaittiin vesipitoisuuden olevan suurempi hartsifaasissa kuin sen ulkopuolisessa liuoksessa ja tästä syystä polaaristen sokerialkoholien attraktio hartsin sisäpuoliseen liuosfaasiin on suurempi kuin hartsin ulkopuoliseen liuottimeen. Liuottimen alkoholipitoisuuden kasvattaminen kasvattaa sokerialkoholien ja hartsin välistä erotustekijöitä ja parantaa kromatografista erotusta. Tästä syystä on mielekästä käyttää korkeita alkoholipitoisuuksia polaaristen ei-elektrolyyttisten yhdisteiden kromatografisessa erotuksessa.

Armstrong ja Jin /76/ tutkivat useiden hiilihydraattien erotusta orgaanisen eluentin ja veden seoksista analyttisessä HPLC-kolonnissa. Taulukossa IX on esitetty useiden hiilihydraattien retentioaika sekä jakautumiskerroin tutkittaessa erotusta asetonitriili-vesi- ja asetoniviesieluenteilla α - ja β -syklodekstriinistationäärifaasilla. He havaitsivat pienimolekyylisten sakkariidien eluoituvan ennen suurimolekyyllisiä sakkarideja. He havaitsivat lisäksi hydroksiryhmien lukumäärän vaikuttavan retentioaikaan. Tästä syystä deoxy-sokerit retentoituvat vähemmän kuin suoraketjuiset sokerit, ja niitä vastaavat sokerialkoholit retentoituvat eniten.

Taulukko IX Sakkariidien ja sokerialkoholien retentioaika sekä jakaantumiskerroin eri eluenteilla β - ja α -syklodekstriinirunkoisella (5 μ m) HPLC-kolonnilla (250x4,6 mm) lämpötilassa 22 °C. Suluissa olevat luvut kertovat asetonitriili-vesi- (C₂H₃N-H₂O) tai asetoniviesieluenteiden (C₃H₆O-H₂O) suhteen tilavuusosuuksina. /76/.

Hiilihydraatti	β -syklodekstriini				α -syklodekstriini			
	C ₂ H ₃ N-H ₂ O (85:15)		C ₃ H ₆ O-H ₂ O (90:10)		C ₂ H ₃ N-H ₂ O (80:20)		C ₃ H ₆ O-H ₂ O (85:15)	
	<i>t_r</i> , min	<i>k_s</i> , -	<i>t_r</i> , min	<i>k_s</i> , -	<i>t_r</i> , min	<i>k_s</i> , -	<i>t_r</i> , min	<i>k_s</i> , -
Ramnoosi	3,63	0,73	-	-	-	-	4,81	0,32
Ksyloosi	4,12	0,96	4,97	0,66	7,32	1,20	5,33	0,46
Arabinoosi	4,30	1,05	5,15	0,72	7,87	1,35	5,73	0,57
Fruktoosi	4,73	1,25	5,43	0,81	8,32	1,50	5,84	0,60
Sorboosi	4,81	1,29	5,44	0,81	8,38	1,52	5,62	0,53
Mannoosi	4,91	1,34	-	-	8,47	1,54	5,79	0,59
Glukoosi	5,36	1,55	5,87	0,96	9,04	1,74	6,20	0,70
Galaktoosi	5,57	1,65	6,17	1,06	9,75	1,83	-	-
Ksylitoli	4,88	1,33	-	-	8,48	1,54	6,01	0,65
Sorbitoli	5,77	1,75	-	-	9,56	1,86	6,43	0,77
Mannitoli	5,80	1,76	-	-	9,62	1,88	-	-
Sakkaroosi	7,79	2,71	6,99	1,33	11,31	2,40	6,63	0,82
Sellobioosi	9,02	3,30	8,23	1,60	12,27	2,64	7,85	1,16
Maltoosi	9,09	3,33	7,87	1,62	12,33	2,70	7,30	1,01
Laktoosi	10,16	3,84	8,85	1,95	13,23	2,97	8,22	1,26
Raffinoosi	17,20	7,19	12,29	2,88	17,58	4,26	9,25	1,54

5.2 Lämpötilan vaikutus

Hiilihydraatteja erotettaessa vahvan kationinvaihtimen avulla hartsikolonnissa tulisi ajaa korotetussa lämpötilassa. Huoneenlämpötilassa hiilihydraattien jakautumista liikkuvan- ja stationäärifaasin välillä rajoittaa diffuusio. Nostamalla kolonnin lämpötilaa hiilihydraattien jakautuminen nopeutuu ja teoreettisen pohjan korkeus pienenee. Huoneenlämpötilassa useimpien pelkistävien sokerien mutarotaatio on hidasta, ja nostamalla lämpötilaa 85 °C:eseen sokerien mutarotaatio kasvaa, ja sokerit eluoituvat yhtenä terävänä piikkinä.

Hicks /48/ suosittelee Ca^{2+} -, Pb^{2+} -, ja Ag^+ -muotoisia kolonneja ajettavaksi 75 – 85 °C:een lämpötiloissa kolonnin parhaan hyötysuhteen ja resoluution saavuttamiseksi.

Paavilainen /77/ tutki vesi-etanolieluettien vaikutusta maltolin kromatografiseen erotukseen lämpötiloissa 25 ja 60 °C. Stationäärifaasina käytettiin Finexin vahvoja kationinvaihtohartseja CS11G ja CS16G. Lämpötilan nostaminen paransi maltolin erotusta kaventamalla piikkejä ja pienentämällä retentiotilavuutta. Lämpötilan nosto kasvatti myös maltolin vesiliukoisuutta.

Kuumaan paineistettuun veteen kohdistuva mielenkiinto kromatografisena eluettina johdetaan sen liuotinominaisuuksien muuttumisesta lämpötilan vaikutuksesta. Veden dielektrisyysvakion pienentyessä sen liuotinominaisuudet muuttuvat lähemmäksi orgaanista liuotinta, jolloin huoneenlämpötilassa niukkaliukoisten aineiden liukoisuus veteen paranee. Alikriittinen vesi on hyvä kromatografinen eluentti, koska se on helposti saatavilla, halpaa, myrkytöntä ja ympäristöystävällistä /4, 7-16/.

6 KOKEELLISEN TYÖN TARKOITUS

Työn taustalla oli useissa kromatografisissa tutkimuksissa /74-77/ havaittu orgaanisten vesiliuosten, erityisesti vesi-etanoliliuosten, avulla saavutettu parempi sokerien kromatografinen erotuskyky, sekä erityisesti vesiliuosten lämpötilan noston avulla saavutettu parempi kromatografinen erottuminen sokerialkoholeilla /15, 16/ ja sokereilla verrattuna huoneenlämpötilassa tapahtuvaan erotukseen.

Työn kokeellisessa osassa kehitettiin koelaitteistoa sekä tutkittiin sokerialkoholien ja sokereiden kromatografista erotusta paineistetun kuumen veden, eli alikriittisen veden, avulla. Kromatografisten kokeiden ohessa tutkittiin sokerialkoholien, sokereiden ja stationäärifaasien termistä kestävyyttä.

7 KOEJÄRJESTELYT

Kaikki kromatografia-ajot suoritettiin LTKK:ssa teknillisen kemian laboratorioon rakennetulla alikriittisellä laitteistolla. Myös uusi laitteisto suunniteltiin ja rakennettiin teknillisen kemian laboratoriossa.

7.1 Materiaalit

Alikriittisen laitteiston kromatografia-ajoissa käytettiin stationääri faaseina makrohuokoista polymeeriä, heikkoja kationinvaihtohartseja eri ristosilloitusasteilla ja eri ionimuodoissa, sekä vahvoja kationinvaihtimia eri ionimuodoissa (taulukko XI). Vahvat hartsit olivat polystyreeni-divinylibentseeni (PS-DVB) runkoisia ja heikot hartsit DVB:llä ristosilloitettuja akryylihartseja. Kaikki hartsit olivat Finex Oy:n valmistamia.

Erä	Tuote*	Koodi	Ristosilloitusaste, % DVB	Ionimuoto
21.01.2000	P	PS-DVB 24M	12 %	-
03.01.2000	WAC	CA12GC	6 %	Na ⁺
06.04.2001	WAC	CA16GC	8 %	Na ⁺
06.04.2001	WAC	CA16GC	8 %	Ca ²⁺
21.06.1995	SAC	CS16GC	8 %	Na ⁺
21.06.1995	SAC	CS16GC	8 %	Ca ²⁺

* P = polymeeri, WAC = heikko kationinvaihdin, SAC = vahva kationinvaihdin, M= makrohuokoinen hartsi ja G = geelimäinen hartsi.

Taulukossa XII on esitetty kromatografia-ajoissa ja näytekomponenttien termisen kestävyyden mittauksissa käytetyt kemikaalit. Kaikissa mittauksissa käytettiin Millipore® -vettä (johtokyky < 0,1 µS/cm), josta ilma oli poistettu voimakkaan vesi-imun ja myöhemmin Jour:in VacCap™ ja MultiVac™-kaasunpoistolaitteiston avulla.

Kemikaali	Puhtaus	Valmistaja
Blue Dextran 2000	> 99,0 %	Pharmacia Biotech
Polyetyleeniglykoli	sp. 60-66 °C	J.T. Baker
D(-)-Arabiinosisi	99,0 % (HPLC)	Fluka BioChemica
D(+)-Mannosisi	mixed anomers	SIGMA®
D(-)-Mannitoli	99,0 %	Riedel-deHaën
Ksylitoli	> 98,0 % (HPLC)	Fluka BioChemica
D(+)-Ksyyloosi	99,0 %	SIGMA®
L-Ramnoosi	sp. 91,5 °C *	Kaden Biochemicals GMBH
D-Sorbitoli		SIGMA®

* mitattu /78/.

Stationäärifaasin termistä käyttäytymistä tutkittiin pitämällä hartseja vesiliuoksessa sulje-
tuissa koeputkissa. Taulukossa XIII on esitetty näissä mittauksissa käytetyt hartsit.

Taulukko XIII Stationäärifaasin termisen käyttäytymisen tutkimisessa käytetyt hartsit (Finex Oy).				
Erä	Tuote*	Koodi	Ristisilloitusaste, % DVB	Ionimuoto
04.01.1994	P	PS-DVB 10G	5,5 %	-
21.01.2000	P	PS-DVB 32M	16 %	-
21.01.200	P	PS-DVB 36M	18 %	-
21.01.2000	SAC	CS24M	12 %	H ⁺
03.01.2000	WAC	CA06GC	3 %	Na ⁺
03.01.2000	WAC	CA06GC	3 %	Ca ²⁺
16.03.1999	WAC	WACH1	Tuntematon	H ⁺
16.03.1999	WAC	WACH1	Tuntematon	Na ⁺
16.03.1999	WAC	WACH1	Tuntematon	Ca ²⁺
s. 1597	SAC	CS11G	5,5 %	Na ⁺
s. 1597	SAC	CS11G	5,5 %	Ca ²⁺
s. 2310	SAC	CS19G	9,5 %	H ⁺
s. 2310	SAC	CS19G	9,5 %	Na ⁺
s. 2310	SAC	CS19G	9,5 %	Ca ²⁺

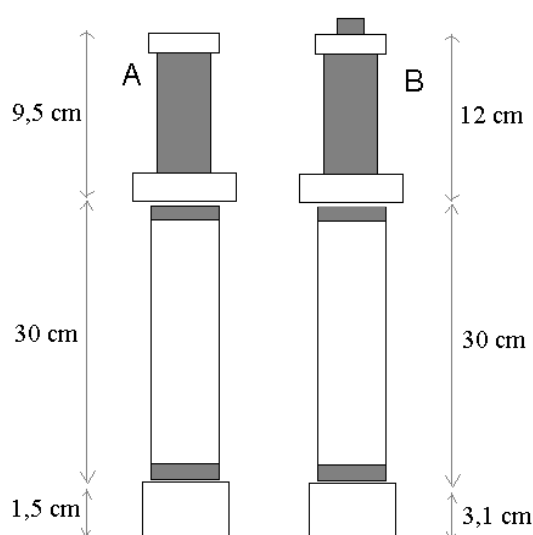
* P = polymeeri, WAC = heikko kationinvaihdin, SAC = vahva kationinvaihdin, M = makrohuokoinen hartsi ja G = geelimäinen hartsi.

7.2 Kromatografiset koelaitteistot

Taulukossa XIV ja kuvassa 19 on esitetty työssä käytetyn kromatografialaitteiston kompo-
nentit ja niiden dimensiot. Lisäksi taulukossa XV ja kuvassa 19 on esitetty työn loppupuol-
lella rakennettuun uuteen kromatografialaitteistoon lisätyt komponentit ja niiden dimen-
siot.

Taulukko XIV Kokeessa käytetyn alikriittisen kromatografialaitteiston komponentit.		
Nimi	Valmistaja	Dimensiot
HPLC -pumppu	Waters 515	-
Putkisto	Swagelok	1/16"
Ruiskusuodatin	Spartan 30/0,45 RC	0,45 µm
Näytteenyöttöventtiili	VICI Valco Instruments 2C6UW	-
Syöttösilmukka	VICI Valco Instruments	5 mL 1/16"
Lämpökaappi	Memmert ULP 500	-
Kolonni	VICI Jour SS Preparative Column	2 x 30 cm
Vastapaineen säätöventtiili	VICI Jour Backpressure Regulator	-
Detektor	Schanbeck SFD GmbH RI2000F	-

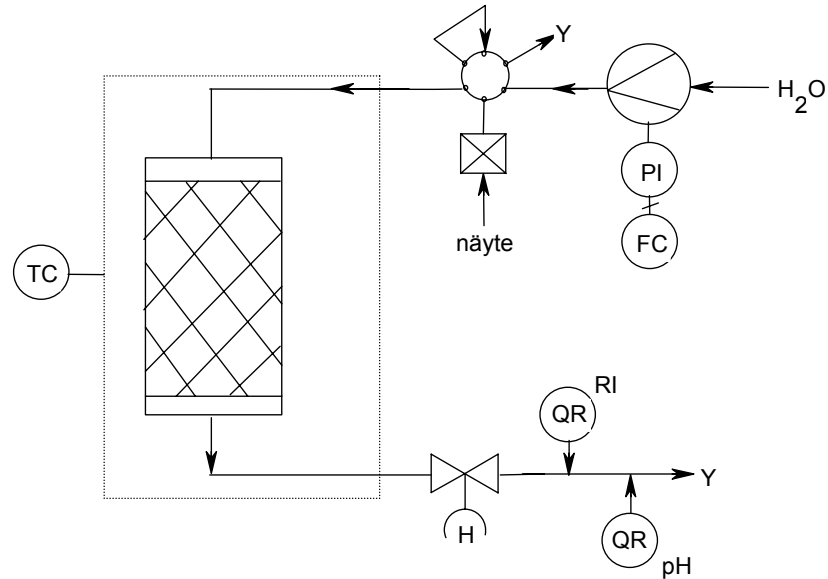
Taulukko XV Uuteen alikriittiseen kromatografialaitteistoon lisätyt komponentit.		
Nimi	Valmistaja	Dimensiot
Kaasunpoistaja	Jour Research VacCap ja MultiVac	-
Ruiskusuodatin	Spartan 30/0,45 RC	0,45 μm
Suodatin	VICI Jour SS In-Line Solvent & Precolumn Inlet Filter	2 μm
Suodatin	VICI Jour PEEK Inlet Filter 68250	5 μm
Kuusitieventtiili	Varian Valco 4C6WE	-
Kolonne	Valmistettiin itse	2,2 x 30 cm
Painemittari	Beamex PI-P	-
pH-mittari	Scott Geräte CG822	-
pH-anturi	Sensorex Corboration Flow Cell FC49K Combined	50 μL
Paineanturi	Schott Geräte pH Electrode	-
Termoelementti	Kyowa PVL-50 KD	-
	K-tyyppi	-



Kuva 19. Kolonnin mittasuhteet. **A**) Kokeissa käytetty kolonne (2,0x30 cm). Alamutterissa oli Teflon-tiiviste, yläruuvissa Viton-tiiviste. Sintterien huokoskoko oli 5 μm . Lineaarivirtausnopeus tyhjää kolonnia kohden on 0,64 cm/min. **B**) Uusi kolonne (2,2x30 cm). Alamutterissa Teflon-tiiviste, yläruuvissa Viton-tiiviste. Sintterien huokoskoko oli 10 μm .

7.2.1 Kokeissa käytetty kromatografialaitteisto

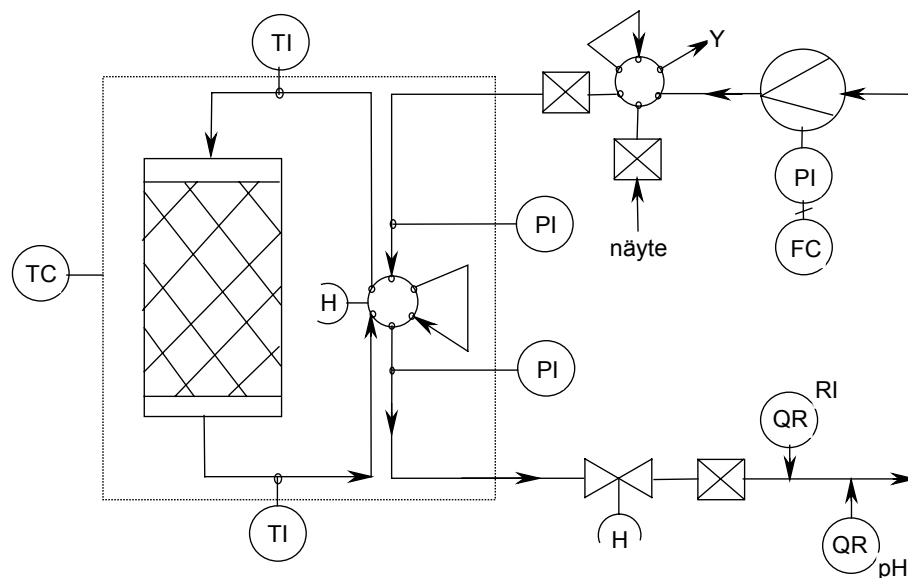
Alikriittisissä kromatografiajoissa käytetty koelaitteisto on esitetty kuvassa 20. Laitteistoa käytettiin seuraavasti. Vettä pumpattiin näytteensyöttöventtiilin läpi kolonnein ja hartsipedin läpi detektorille. Näyte syötettiin 0,45 μm :n ruiskusuodattimen läpi näytteensyöttöventtiilin 5 mL:n näytesilmukkaan, josta näyte kulkeutui esilämmityskierukan läpi lämpökaapissa olevaan kolonnein (kuva 19A). Kolonnista näyte virtasi jäähdytyskierukan ja vastapaineen säätöventtiilin läpi taitekerroindetektorille, josta mitta-arvo tallennettiin tietokoneelle. Laitteiston paine oli asetettu 10 bar:in kokeiden ajaksi.



Kuva 20. Kokeissa käytetty laitteisto. Kolonnin korkeus oli 30 cm ja sisähalkaisija 2,0 cm. Koko systeemin paineen mittaus tapahtui pumpun painemittarin avulla. Paine oli säädetty 10 bar:ksi vastapaineen säätöventtiilin avulla.

7.2.2 Uusi kromatografialaitteisto

Kolonnin ohituslinjasto toteutettiin uuteen koelaitteistoon kuusitieventtiilin avulla. Laitteistoon lisättiin kaksi suodatinta, kaksi paineanturia ja kaksi termoelementtiä kuvan 21 mukaisesti. Kolmas paineanturi lisättiin linjaan vastapaineen säätöventtiilin ja detektorin väliin, pH-mittari detektorin jälkeen. Vakuumointijärjestelmä lisättiin eluenttipullon yhteyteen, jolloin eluentin jatkuvatoiminen kaasunpoisto oli mahdollista.



Kuva 21. Uusi laitteisto. Kolonnin korkeus on 30 cm ja sisähalkaisija 2,2 cm. Kuusitieventtiilin avulla toteutettiin ohivirtauslinjasto. Paineen ja lämpötilan mittaus on sekä ennen kolonnia että sen jälkeen.

Taulukko XVII Kromatografikokeissa tutkittujen hartsiens petihuokoisuus eri lämpötiloissa.

	25°C	50°C	75°C	100°C	125°C	150°C	175°C
CS16GC (Na ⁺)	0,40	0,39	0,48	0,38	0,42	0,38	-
CS16GC (Ca ²⁺)	0,42	0,42	0,43	0,41	0,43	0,42	0,63
CA16GC (Na ⁺)	0,43	-	0,43	0,39	0,41	-	-
CA16GC (Ca ²⁺)	0,76	-	0,76	-	0,91	-	-
CA12GC (Na ⁺)	0,70	0,70	0,70	0,70	0,44	0,44	0,44
CS16GC (Na ⁺), toistokoe	-	-	0,40	0,40	0,40	-	-
PS-DVB 24-polymeeri	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53

7.4 Kromatografisen mittaustiedon käsittely

Kromatografisen datan käsittely aloitettiin kalibroimalla saadut piikit *Excel*:issä ohjelmoidun *Visual Basic*-kielisen ohjelman (Liite IV) avulla konsentraatioasteikolle seuraavasti. Koska PS-DVB 24M-polymeerin ja CA12GC (Na⁺)-hartsin kromatografajoissa saadut piikit menivät lineaarialueen ulkopuolelle, piikkejä ei voitu laskea suoraan momenttimenetelmällä. PS-DVB 24M-polymeerin ja CA12GC (Na⁺)-hartsin kromatografista dataa käsiteltiin ensin *Jandel Scientific Peak Fit v4*-ohjelmalla, jonka avulla taattiin käyrien pohjaviiva ja määritettiin 25 °C:een lämpötilassa ajettujen piikkien pinta-ala. Tämän jälkeen data vietiin *Excel*:iin ja simuloitiin *Ricefit*-ohjelman (Liite IV) avulla. Tämä ohjelma painottaa piikkien kantaa ja pinta-alaa, sekä sovittaa alkuarvausten perusteella *Simplex*-optimointirutiinin avulla piikeille uuden muodon käyttäen *Rice*-menetelmää (Liite IV). Näin saatuja piikkejä käsiteltiin seuraavaksi momenttimenetelmän avulla.

Kromatografisten parametrien laskemiseen käytettiin *SigmaPlot*:iin ohjelmoitua momenttimenetelmää (Liite IV). Momenttimenetelmä perustuu saadun informaation tilastolliseen käsittelyyn. Se soveltuu symmetrisille piikeille. Ensimmäinen momentti (yhtälö 7) kuvaa näytekomponentin retentiotilavuutta, V_{ret} . Sen avulla voidaan laskea ulkoinen huokoisuus ε ja tasapainovakio K /79/.

$$V_{ret} = \frac{\int_0^{\infty} Vc(V)dV}{\int_0^{\infty} c(V)dV} \quad (7)$$

jossa c detektorin vaste
 V eluointitilavuus.

Toinen momentti, σ^2 , kuvaa dispersiovuorovaikutuksia kolonnissa (yhtälö 8). Sen avulla voidaan arvioida aksiaalisen dispersiokertoimen, D_L , ja nestefilmin aineensiirtokertoimen, k_f , suuruutta /79/.

$$\sigma^2 = \frac{\int_0^{\infty} (V - V_{ret})^2 c(V) dV}{\int_0^{\infty} c(V) dV} \quad (8)$$

Symmetristen piikkien leveydelle w_b ja toisen momentin välille on olemassa yhtälössä (9) esitetty riippuvuus /79/.

$$w_b = 4\sqrt{\sigma^2} \quad (9)$$

Pakatun kolonnin partikkelien välinen huokoisuus ε_p lasketaan yhtälön (10) mukaisesti /79/.

$$\varepsilon_p = \frac{V_0}{V_c} \quad (10)$$

jossa V_0 kolonnin partikkelien välinen tilavuus
 V_c kolonnin tilavuus.

Kolonnin suorituskykyä kuvataan pohjaluvulla N /80/.

$$N = 16 \left(\frac{V_{ret}}{w_b} \right)^2 \quad (11)$$

Teoreettinen pohjan korkeusekvivalentti (HETP eli Height Equivalent of Theoretical Plate) ottaa huomioon myös kolonnin pituuden L , jolloin erilaisia kolonneja voidaan vertailla (yhtälö (12)). Korkean erotuskyvyn kolonneilla teoreettisen pohjan korkeusekvivalentti on yleensä välillä 0,3-1,0 mm /80/.

$$HETP = \frac{\sigma^2}{V_{ret}^2} L \quad (12)$$

Retentiotekijä k ilmaisee kuinka kauan stationäärifaasi pidättää näytekomponenttia verrattuna viivetilavuuteen V_M (yhtälö (13)). Kun retentiotekijän arvo on pieni, komponenttien retentoituminen on vähäistä, ja ne eluotuvat lähellä retentoitumatonta komponenttia. Suuret retentiotekijän arvot ilmentävät tehokasta erotusta, mutta eluutioajat ovat yleensä pitkiä /80/.

$$k = \frac{V_{ret} - V_M}{V_M} \quad (13)$$

Jakaantumismvakio K on näytekomponentin stationäärifaasissa olevan konsentraation suhde näytekomponentin konsentraatioon liikkuvassa faasissa (yhtälö (14)). Jakaantumismvakio on riippuvainen lämpötilasta sekä eluentin ja stationäärifaasin ominaisuuksista. Kun jakaantumismvaktion arvo on suuri, on tutkittavan komponentin affiniteetti stationäärifaasin voimakasta ja komponentti retentoituu tehokkaasti. Gibbs-Donnan teorian mukaan jakaantumiskertoimen arvo pienenee, kun komponentin partiaalinen moolitilavuus kasvaa, ja kun stationäärifaasin turpoamispaine lisääntyy /80/.

$$K = \frac{V_{ret} - V_M}{V_S} \quad (14)$$

jossa V_S kolonnissa olevan stationäärifaasin tilavuus.

Tehollinen diffuusiokerroin D_{eff} kuvaa diffuusiota stationäärifaasin ja eluentin välillä (yhtälö (15)). Se riippuu partikkelin huokoisuudesta, huokosten tortuisiteesista eli mutkittelevuudesta, partikkelikoosta ja diffundoituvien aineiden luonteesta. Vesiliuksilla partikkelin sisäinen diffuusio määrää adsorptioreaktion /81/.

$$D_{eff} = 1,33 \cdot 10^{-8} \frac{z\pi d^2 K R_p (1 - \varepsilon)}{12\sigma^2 - V_{loop}^2} \quad (15)$$

jossa

d	kolonnin halkaisija
R_p	partikkelin säde
z	petikorkeus
V_{loop}	näytteensyöttösilmukan tilavuus.

Resoluution, R_s , avulla tutkitaan kahden komponentin erottumista (yhtälö (16)). Komponenttien katsotaan erottuvan toisistaan täydellisesti jos resoluutio on suurempi tai yhtäsuuri kuin $1,5 / 82/$.

$$R_s = \frac{2(V_{ret2} - V_{ret1})}{w_{b2} + w_{b1}} \quad (16)$$

jossa V_{ret1} vähemmän retentoituvan komponentin retentioaika
 V_{ret2} enemmän retentoituvan komponentin retentioaika
 w_{b1} vähemmän retentoituvan komponentin piikin leveys
 w_{b2} enemmän retentoituvan komponentin piikin leveys.

Kolonnin tehokkuutta voidaan kuvata myös erotustekijällä α . Määritelmän mukaan erotustekijä on aina suurempi kuin yksi $/82/$.

$$\alpha = \frac{V_{ret2} - V_M}{V_{ret1} - V_M} = \frac{k_2}{k_1} \quad (17)$$

jossa k_1 vähemmän retentoituvan komponentin retentiotekijä
 k_2 enemmän retentoituvan komponentin retentiotekijä.

7.5 Hartsien terminen käyttäytyminen

Ionivaihdetussa vedessä olevaa hartsia pakattiin 20 mL lasisiin asteikolla varustettuihin koeputkiin, jonka jälkeen koeputket täytettiin vedellä ja suljettiin tiiviisti. Jokaista hartsi- tai polymeerinäytettä tutkittiin vähintään kahden rinnakkaisnäytteen avulla. Hartsia pidettiin kussakin koelämpötilassa 12 tunnin ja eräillä hartseilla 2 tunnin ajan. Hartsin turpoamista tai kutistumista arvioitaessa referenssitilana käytettiin hartsien tilavuutta 25 °C:een lämpötilassa. Kokeissa ei huomioitu lasin lämpölaajenemista, koska sen havaittiin olevan hyvin pieni, ($\varphi = 3,3 \cdot 10^{-6} \text{ K}^{-1}$).

7.6 Hartsien palloskoon ja kapasiteetin määrittäminen

Digitaalikameran ja mikroskoopin avulla tutkittiin kromatografia-ajoissa käytettyjen ja käyttämättömien hartsipallojen kokoa vedessä ilmakeivana sekä täysin kuivana. Hartsien palloskoot määritettiin teknillisen kemian laboratoriolle teetetyt (Tuomas Karjalainen ja Kalle Rönkkö) CirCa ver.1,0 –ohjelman avulla. Taulukossa XVIII on esitetty palloskoko- mittauksissa käytetyn laitteiston komponentit.

Taulukko XVIII	Palloskokomittauksissa käytetty laitteisto.
Nimi	Valmistaja
Mikroskooppi	Olympus B201
Digitaalikamera	Olympus Camedia C-3030ZOOM
Teleputki	Olympus C3030-ADU

Kromatografia-ajoissa käytettyjen ja käyttämättömien hartsien (taulukko XI) kapasiteetteja tutkittiin, jotta voitaisiin saada selville tapahtuuko hartseissa selvää defunktionalisoitumista korkeissa lämpötiloissa. Kationinvaihtohartsien kapasiteetit mitattiin Äänismaan /78/ diplomityössä esitetyllä tavalla. Vahvojen hartsien kapasiteetit määritettiin H^+ -muodossa ja heikkojen hartsien Na^+ -muodossa.

7.7 Näyteaineiden termisen kestävyyden määrittäminen

Sokerialkoholien ja sokerien vesiliuosten termistä kestävyyttä tutkittiin panoskokein koeputkissa. Lisäksi tutkittiin näytenäyteiden vaikutusta näytteiden termiseen kestävyyteen. Tutkittavia aineita olivat sorbitoli, mannitoli, ksylitoli, arabinoosi, mannoosi, ksyloosi, ramnoosi ja maltoosi. Taulukossa XIX on esitetty näyteaineiden termisen kestävyyden tutkimisessa käytetty HPLC –laitteiston komponentit.

Taulukko XIX	HPLC-ajoissa käytetty laitteisto
Nimi	Valmistaja
HPLC-laitteisto	HP Series 1100
Kolonne	Chrompack Carbohydrates (Pb^{2+}), 300x7,8 mm
Kolonne	BIO-RAD Carbohydrate Analysis Column Aminex HPX-87N, 300x7,8 mm
Detektori	G1362A RID

Koeputkia säilytettiin uunissa 25, 50, 75, 100, 125, 150 ja 175 °C:een lämpötilassa 12 tunnin ajan. Tämän jälkeen koeputkista otettiin näytteet, jotka laimennettiin noin 2 p-%:iin, ja analysoitiin HPLC –laitteistolla. Ramnoosi ja maltoosi analysoitiin BIO-RAD:n kolon-

nilla ja muut näytekomponentit Chrompack:n Pb^{2+} -kolonnilla. Näytteiden analysointi tapahtui RI-detektorilla $80^{\circ}C$:en lämpötilassa virtausnopeudella 0,4 mL/min.

8 TULOKSET JA TULOSTEN TARKASTELU

Työn kokeellisen osan tarkoituksena oli tutkia sokerialkoholien ja sokerien kromatografista erotusta paineistetun kuumen veden, eli alikriittisen veden, avulla. Kromatografisten kokeiden ohessa tutkittiin stationäärifaasien käyttäytymistä eri lämpötiloissa, sekä tutkittiin stationäärifaasien, sokerialkoholien ja sokereiden termistä kestävyyttä. Tutkittavia stationäärifaaseja olivat Finexin funktionalisoimattomat PS-DVB 11G ja 24M-polymeerit sekä funktionalisoidut CA12GC-, CA16GC-, ja CS16GC-hartsit Na^{+} - ja Ca^{2+} -muodoissa ja CS24M Na^{+} -muodossa. Sokerialkoholeista tutkittiin sorbitolia, mannitolia ja ksylitolia, ja sokereista arabinoosia, mannoosia, ksyloosia, ramnoosia ja maltoosia.

8.1 Lämpötilan vaikutus stationäärifaasien ominaisuuksiin

Hartsien termistä käyttäytymistä tutkittiin makrohuokoisten polymeerien, makrohuokoisen vahvan kationinvaihtimen, heikkojen geelimäisten kationinvaihtimien, sekä vahvojen geelimäisten kationinvaihtimien avulla. Taulukoissa XX ja XXI on esitetty koeputkikokeiden avulla tutkitut polymeerien ja hartsien tilavuusmuutokset eri lämpötiloissa. Koeputkikokeissa havaittu hartsien turpoaminen tai kutistuminen otettiin huomioon kaikkien muiden hartsien paitsi PS-DVB 24M-polymeerin kromatografia-ajoissa.

Taulukko XX Hartsien ja polymeerien tilavuusmuutokset eri lämpötiloissa. Tulokset on esitetty prosentteina. Mittausten välinen aika oli 12 h.

	25°C	50°C	75°C	100°C	125°C	150°C	175°C
PS-DVB 24M	0	0,0	3,2	3,2	3,2	3,2	3,2
CS 24M (Na^{+})	0	0,5	1,0	0,5	0,5	-1,0	-2,3
CA06GC (Na^{+})	0	2,0	1,7	-1,5	-1,5	-5,2	-9,2
CA06GC (Ca^{2+})	0	-15,0	-15,5	-15,5	-15,5	-15,5	-15,5
CA12GC (Na^{+})	0	0,0	0,0	0,0	-3,0	-3,0	-3,0
CA16GC (Na^{+})	0	0,0	0,0	-2,5	-5,0	-5,0	-9,0
CA16GC (Ca^{2+})	0	-9,6	-22,0	-29,5	-30,9	-32,1	-38,2
CS11G (Na^{+})	0	1,5	4,5	5,5	5,5	5,5	5,5
CS11G (Ca^{2+})	0	0,0	0,8	-1,5	-3,1	-5,4	-7,7
CS16GC (Na^{+})	0	1,0	3,8	5,0	5,0	5,0	5,0
CS16GC (Ca^{2+})	0	0,0	0,0	-2,5	-2,5	-7,6	-7,6

Taulukko XXI Hartsien ja polymeerien tilavuusmuutokset eri lämpötiloissa. Tulokset ovat esitetty prosentteina. Mittausten välinen aika oli 2 h.

	25°C	50°C	75°C	100°C	125°C	150°C	175°C
PS-DVB 11G	0	0	0	0,5	2,5	2,5	-
CS19G (Na ⁺)	0	2,5	3,5	4,5	5,0	5,3	-
CS19G (Ca ²⁺)	0	0	-1,0	-2,5	-4,5	-5,0	-
WAC H1 (H ⁺)	0	4,0	6,5	9,0	10,0	14,0	-
WAC H1 (Na ⁺)	0	0	0	-2,5	-4,0	-5,0	-
WAC H1 (Ca ²⁺)	0	-19,0	-30,0	-35,0	-37,5	-38,5	-

Ristisilloitetun polymeerin ja hartsien tilavuusmuutoksia tarkasteltaessa on tunnettava turpoamiseen vaikuttavat parametrit. Turpoaminen on kullekin hartsille ominainen piirre, joka riippuu hartsin polymeerirungosta ja ristisilloitusasteesta, ioninvaihtokapasiteetista, ionisten ryhmien luonteesta, sekä liuottimen koostumuksesta ja lämpötilasta. Hartsin polyvalenttiset ioninryhmät lisäävät hartsin sisäistä ristisilloitusta ja tästä syystä polyvalenttisen ioninryhmän omaava hartsi turpoaa vähemmän kuin monovalenttisen ioninryhmän omaava hartsi, ts. turpoamisjärjestys eri ionimuodoilla $Al^{3+} < Ca^{2+} < Na^{+}$. Veden aikaansaama hartsimatriisin turpoaminen johtuu sekä vesimolekyylien aiheuttamasta hartsin ionisten ryhmien hydrataatiosta että ei-hydratoituneesta, ns. vapaasta vedestä /83/. Liuottimen polaarisuuden vähentyessä hartsin turpoaminen pienenee elektrostaattisen solvataation vähentyessä. Hartsimatriisin hiilivetyrungolla on kuitenkin affiniteettia vähemmän poolisiin yhdisteisiin. Esimerkiksi H⁺-muotoinen heikko kationinvaihdin turpoaa enemmän alkoholissa kuin vedessä. Tällöin heikkojen ioniryhmien elektrostaattisella solvataatiolla on vähemmän merkitystä ja hartsin turpoamisen määräävä tekijä on karboksyyli-ryhmien ja alkoholin välinen affiniteetti /49/.

Taulukoiden XX ja XXI tuloksista voidaan havaita neutraalien PS-DVB –polymeerien turpoavan hieman yli 50 °C:een lämpötiloissa. Hartsimatriisin turpoamisen arvellaan johtuvan veden aineominaisuuksien muuttumisesta lähemmäksi orgaanista liuotinta, sekä veden ja polymeerimatriisin välisen hydrofobisen vuorovaikutuksen pienentymisestä. Vahvoilla kationinvaihtajilla havaitaan termisen käyttäytymisen riippuvan ionimuodosta. Na⁺-muotoiset hartsit turpoavat ja Ca²⁺-muotoiset hartsit kutistuvat lämpötilaa nostettaessa 25 °C:esta 175 °C:een lämpötilaan. Heikoilla kationinvaihtimilla havaitaan hartsin kutistumista molemmissa ionimuodoissa, mutta Ca²⁺-muotoisen hartsin kutistuminen on paljon suurempaa kuin Na⁺-muotoisen. Hartsien ristisilloitusasteen kasvattaminen vähentää turpoamista hartsimatriisin jäykistyessä /49/. Taulukoiden XVIII ja XIX tuloksista havaitaan kuitenkin hartsin ristisilloitusasteella olevan vähän vaikutusta hartsien turpoamis-

käyttäytymiseen tutkituissa lämpötiloissa. Ionimuodolla vaikuttaa olevan ratkaiseva merkitys hartsi- ja polymeeripallojen termisessä käyttäytymisessä.

Taulukossa XXII on esitetty huoneenlämpötilassa tehtyjen pallokokomittauksen tulokset käyttämättömille ja lämpökäsitellyille hartseille. Lämpökäsittelyllä tarkoitetaan tässä kromatografia-ajoa alikriittisen veden avulla. Mikroskoopilla määritettyjen hartsi- ja polymeeripallojen halkaisijoiden avulla laskettiin märkien ja kuivien hartsi- ja polymeeripallojen tilavuuden muutos. Taulukossa XXIII on esitetty hartsipallojen rikkoutumisasteet ja liitteessä III hartsipallojen mikroskooppikuvat käyttämättömille ja käytetyille hartseille. Käyttöajalla tarkoitetaan kromatografiakokeiden kestoa. Taulukossa XXIV on esitetty käytettyjen ja käyttämättömien hartsi- ja polymeeripallojen kapasiteettimittaukset.

Taulukko XXII Polymeeri- ja hartsipallojen tilavuusmuutoksen keskiarvo (%).				
	d_p , µm	Käyttöaika, vrk	Käyttämätön hartsi	Lämpökäsitelty hartsi
			$\frac{V_{märkä} - V_{kuiva}}{V_{märkä}}$, %	$\frac{V_{märkä} - V_{kuiva}}{V_{märkä}}$, %
PS-DVB 24	748	24	26.2	
CA12GC (Na ⁺)	275	32	65.4	82.1
CS16GC (Na ⁺)	342	14	62.3	53.5
CS16GC (Ca ²⁺)	292	27	48.8	45.4
CA16GC (Na ⁺)	487	20	74.4	65.6
CA16GC (Ca ²⁺)	264	12	53.0	38.8

Taulukko XXIII Mikroskooppimittauksista lasketut epämuodostuneiden ja rikkoutuneiden hartsipallojen suhteellinen määrä (%) ennen kromatografisia kokeita ja niiden jälkeen.						
Hartsi	Epämuodostuneet		Rikkoutuneet		Ehjät	
	käyttämätön, %	käytetty, %	käyttämätön, %	käytetty, %	käyttämätön, %	käytetty, %
PS-DVB 24	71	73	0	0	29	27
CS16GC (Na ⁺)	0	0,5	0	0,5	100	99
CS16GC (Ca ²⁺)	0	0	0	3	100	97
CA12GC (Na ⁺)	0	0	0	3	100	97
CA16GC (Na ⁺)	0	1	1	0	99	99
CA16GC (Ca ²⁺)	1	0,3	1	2	98	97,6

Taulukko XXIV Kapasiteettimittaukset. Kapasiteetit ilmoitettu Na ⁺ -muodossa.				
Hartsi	Q, mekv/L		Q, mekv/g	
	käyttämätön	käytetty	käyttämätön	käytetty
CS16GC (Na ⁺)	1,7	1,6	5,0	5,0
CS16GC (Ca ²⁺)	1,7	1,4	5,0	-
CA12GC (Na ⁺)	2,1*	-	9,3*	-
CA16GC (Na ⁺)	2,6	2,7	9,3	9,5
CA16GC (Ca ²⁺)	2,4	2,7	9,0	9,5

* kirjallisuudesta /79/

Tutkittaessa taulukoiden XXII, XXIII ja XXIV tuloksia näyttäisi hartsipallojen tilavuus pienentyvän lämpökäsittelyssä. Hartsien tilavuuskapasiteetti pieneni kuitenkin vain hieman. Näiden tulosten perusteella voidaan arvioida hartsipallojen todellisen pienenemisen olevan hyvin vähäistä ja johtuvan lähinnä ionimuodon vaihtumisesta korkeissa yli 120 °C:een lämpötiloissa. Käyttöajalla ei myöskään havaittu olevan vaikutusta ioninvaihtokapasiteettiin. Mikroskooppimittausten tuloksista (taulukko XXIII ja liite III) voidaan havaita PS-DVB 24-polymeerin hartsipallojen olevan hyvin epämääräisen muotoisia. Koska makrohuokaisen polymeerin pallot olivat harvoin täysin pallomaisia, on tästä saattanut aiheutua jonkin verran virhettä tuloksiin. Lämpökäsittelyn vaikutuksen pallosten muotoon ja pallojen särkymiseen havaitaan olevan hyvin pieni.

8.3 Näyteaineiden terminen kestävyys

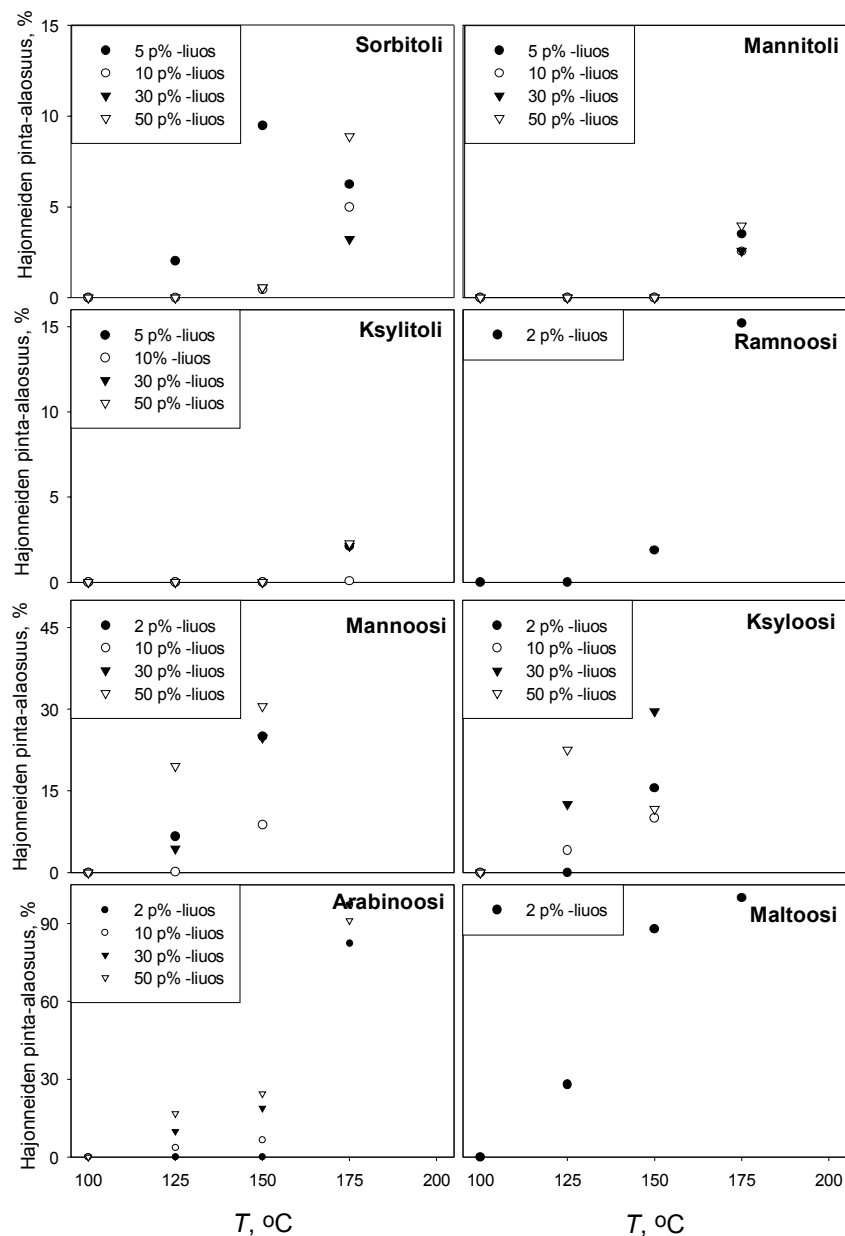
Sokerialkoholien ja sokerien termistä kestävyyttä ja näytepitoisuuden vaikutusta komponenttien termiseen kestävyteen tutkittiin koeputkikokein 12 tunnin ajan kussakin mittauslämpötilassa, jonka jälkeen näytteet laimennettiin noin 2 p-%:in ja analysoitiin HPLC:lla (kuva 22 ja liite II). Tutkittavia sokerialkoholeja olivat sorbitoli, mannitoli ja ksylitoli. Sokereista tutkittiin arabinoosia, mannoosia, ksyloosia, ramnoosia ja maltoosia. Komponenttien hajoamisaste laskettiin alkuperäisen komponentin ja hajoamistuotteiden piikkien pinta-alaosuuksina.

Kuvan 22 tuloksista havaitaan sokerialkoholien kestävänsä paremmin korkeita lämpötiloja kuin sokerien. Komponenttien pitoisuuden kasvaessa hajoamistuotteiden osuus kasvaa lähes poikkeuksetta. Sokeri- ja sokerialkoholivesiliuosten havaittiin kestävänsä hajoamatta 100 °C:een lämpötilaan saakka. Ksylitoli oli sokerialkoholeista kaikkein kestävin. Sorbitolilla ja mannitolilla havaittiin tapahtuvan hajoamista vasta 150 °C:een lämpötilan jälkeen. Sokereilla havaittiin hajoamistuotteita 125 °C:een lämpötilan jälkeen. Arabinoosi ja maltoosi hajosivat lähes täysin 175 °C:een lämpötilassa. Mannoosin ja ksyloosin terminen kestävyys oli hyvin samankaltainen, ja ne kestivät korkeita lämpötiloja paremmin kuin arabinoosi ja maltoosi. Ramnoosi oli tutkituista sokereista kaikkein kestävin.

Vesiliuoksessa olevat monosakkaridiyksiköt esiintyvät aldehydi- ja hemiasetaalimuotojen seoksena. Monosakkaridien rengasmuoto on stabiilimpi kuin avoketjuinen muoto, ja huoneenlämpötilassa rengasmuoto on vallitseva. Sokerien hajoamisaste riippuu suuresti liuoksessa olevien avoketjuisten monosakkaridien määrästä /56/. Lämpötilan noustessa sokerien ja sokerialkoholien terminen hydrolyysi voimistuu ja komponenttien rakenne alkaa hajota. Sokerialkoholien avoketjuinen rakenne on termisesti stabiilimpi kuin sokerien rengasmuoto. Sokerialkoholeista ksyliitolin, ja sokereista ramnoosin havaittiin olevan termisesti kaikkein kestävimpiä kuten yllä on jo mainittu. Vertailtaessa ramnoosia muihin sokereihin havaitaan ramnoosilla olevan vähiten OH-ryhmiä suhteutettuna rakennehiilien määrään (kuva 6). Arabinoosin suurempi hajoaminen verrattaessa toiseen tutkittuun pentoosiin, ksyloosiin, voitaneen selittää arabinoosin avoketjuisella rakenteella, joka on epästabiilimpi ja herkempi hajoamiselle kuin ksyloosin rengasrakenne. Maltoosi oli ainut tutkittu disakkaridi, ja se hajoaakin ensin monosakkarideiksi ja sen jälkeen glukoosin hydrolyysin hajoamistuotteiksi (kuva 10). Mannoosia ja ksyloosia vertailtaessa voidaan havaita niiden rengashiili-hydroksyyliiryhmien suhteen olevan samaa suuruusluokkaa. Tämä selittää niiden hajoamistuotteiden samansuuruisen määrän. Vastaavaa johtopäätelmiä rakennehiilien ja hydroksyyliiryhmien lukumäärän suhteesta ei voida tehdä sokerialkoholien kohdalla, koska kaikilla polyoleilla rakennehiilien ja hydroksyyliiryhmien suhde on sama (kuva 8). Ksyliitoli oli ainut tutkittu pentoli. Vertailtaessa sorbitolin ja mannitolin hajoamistuotteiden määrää, voidaan havaita sorbitolin hajoamistuotteiden määrän olevan hieman suurempi kuin mannitolin. Mannitolin ja sorbitolin ainut rakenteellinen ero on yhden hydroksyyliiryhmän stereokemia.

Tehdyissä kromatografiajoissa havaittiin Na^+ -muotoisella heikoilla kationinvaihtohartsilla odottamaton kemiallinen ilmiö. Lämpötilassa $125\text{ }^\circ\text{C}$ havaittiin Na^+ -muotoisen heikon kationinvaihtimen hajottavan sokereita ja muodostavan ruskeaa, palavalta sokerilta haisevaa liuosta. Heikon kationinvaihtimen tiedetään olevan selektiivinen H^+ -ioneille liuoksen pH:sta riippuen. Ioninvaihdon tapahtuessa Na^+ -muotoisella heikoilla kationinvaihtohartsilla, vapautuu eluenttiin Na^+ -ioneja, jotka muodostavat veden vapaiden OH⁻-ryhmien kanssa NaOH:a. Ilmiötä tutkittiin edelleen koeputkikokein. Sama ilmiö havaittiin tapahtuvan uudelleen koeputkikokeessa hartsin ja 3 p-%:sen sokeriliuoksen välillä yhdessä tunnissa $125\text{ }^\circ\text{C}$:een lämpötilassa. Sama ilmiö havaittiin samoissa olosuhteissa myös 3 p-%:sen sokeriliuoksen ja 1 mM NaOH:n, 3 M CH_3COONa :n ja 2 M Na_2CO_3 :n panoskoikeissa. Na^+ -muotoisen hartsin pääteltiin katalysoivan sokerien browining-ilmiötä. Cerda ja

Wesdemiotis /54/ tutkivat Na^+ -ionien ja sokerien kompleksinmuodostusta käyttäen emäksenä dipeptidiä tai nukleoniiniemästä. He raportoivat heksoosien muodostavan voimakkaamman kompleksin kuin pentoosien. Heikon kationinvaihtimen täytyy tässä tapauksessa käyttäytyä kuten Maillard-reaktion dipeptidi ja hajottaa sokereita α -dikarbonyyleiksi ja isomerisaatiotuotteiksi (kuva 10 ja 11). Muodostuvat Amadori-reaktiotuotteet voivat olla syy havaitun tuotteen ruskeaan väriin ja palaneen sokerin hajuun.



Kuva 22.

Sokerien ja sokerialkoholien terminen hajoaminen HPLC-analyysin perusteella.

8.3 Kromatografia-ajojen tulokset

Sokerien ja sokerialkoholien kromatografista erotusta tutkittiin lämpötilavälillä 25-175 °C. Kromatografia-ajot aloitettiin makrohuokoisella PS-DVB 24M-polymeerilla. Funktionalisoimattomalta polymeerilta odotettiin hyvää termistä kestävyttä. Polymeerin termisestä käyttäytymisestä ei ollut kuitenkaan mittaustuloksia ennen kokeita. Hartsipedin elämistä ei osattu ottaa oikein huomioon ensimmäisissä kromatografisissa kokeissa. Tästä johtuen PS-DVB 24M-polymeerilla 150 ja 175 °C:een lämpötiloissa tehdyt kokeet epäonnistuivat ja mittaustuloksia ei tästä syystä otettu mukaan tulosten käsittelyyn.

Vahvaa kationinvaihdinta, CS16GC, tutkittiin heikkojen kationinvaihtimien rinnalla. Vahvan kationinvaihtimien soveltuvuutta sokerien kromatografiseen erotukseen eri seoseluen-teilla 25-70 °C:een lämpötilassa on tutkittu paljon /16, 74-77/. Heikkoja kationinvaihtimia, CA12GC ja CA16GC, päätettiin tutkia Äänismaan /78/ diplomityössä saatujen lupaavien tulosten perusteella. Heikkojen kationinvaihtimien on havaittu /75/ kestävän hyvin korkeita lämpötiloja. CA12GC (Na⁺)-hartsilla tehdyissä mittauksissa oli ongelmia kolonnin tuk-keutumisen takia. Kolonnin alasintterin tukkeutuminen havaittiin systeemin paineiden nousuna ja putkiston liitososien peittämisellä. Tukkiutumisen syynä oli esikäsittelemättö-mästä hartsimatriisista irronnut suurimolekyylinen orgaaninen aines. CA12GC (Na⁺)-hart-silla tehdyt mittaukset poikkeavat tästä syystä suuresti muista mittauksista, joten on syytä epäillä mittaustulosten luotettavuutta.

Kuvassa 23 on esitetty esimerkki lämpötilan vaikutuksesta mannitolin ja mannoosin eluoi-tumiseen käytettäessä stationäärifaasina vahvaa kationinvaihdinta CS16GC Na⁺- ja Ca²⁺-ionimuodoissa. Vastaava kromatografinen data muille hartseille ja näytekomponenteille on esitetty liitteessä I. Kuvassa 24 on esitetty esimerkki sokerien ja sokerialkoholien erot-tumisesta eri lämpötiloissa. Hartsina kuvassa 24 on CS16GC Na⁺-muodossa. Kuvissa 25-31 on esitetty tutkituilla hartseilla tehdyistä kromatografisista kokeista lasketut kromato-grafiset parametrit. Tuloksia tulkitessa on syytä ottaa huomioon useita asioita. Tärkeimpänä se, että käytetyn laitteiston näytteensyöttösilmukan tilavuus (5 mL) oli suuri verrattuna kolonnin pettilavuuteen (n. 88 mL). Tämä teki pienten retentiotilavuuden muutosten ha-vaitsemisen vaikeaksi. Lisäksi kuvien 25-31 kromatografisia parametrejä tulkittaessa on

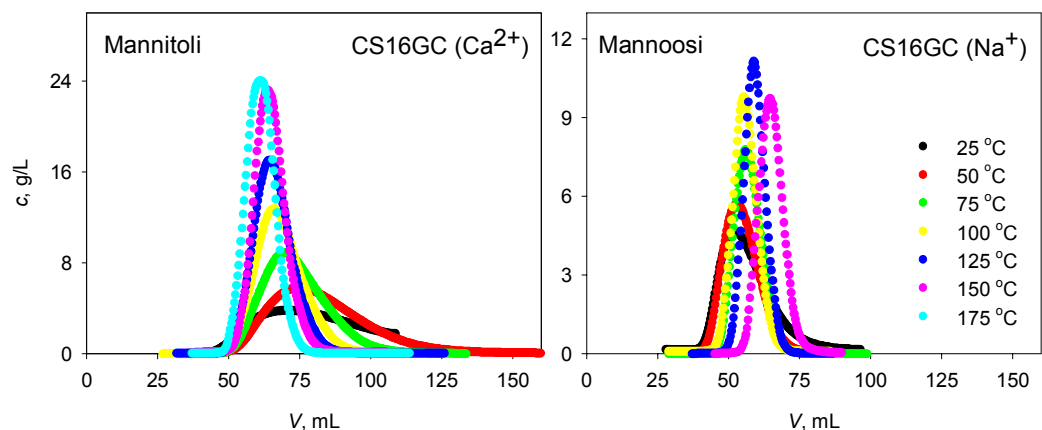
huomioitava laskentamenetelmän soveltuvuus vain symmetrisille piikeille. Se aiheuttaa virhettä laskettaessa parametreja häntiville piikeille, joita esiintyi erityisesti alhaisissa lämpötiloissa. Lämpötilan nostaminen kuitenkin kaventaa piikkejä ja palauttaa niiden symmetrisen muodon, joten momenttimenetelmä soveltuu hyvin niiden kohdalla. Alikriittisen veden avulla saavutettavasta kromatografisen erotuksen hyvyydestä tai huonoudesta ei tämän työn mittausaineiston perusteella voida vielä tehdä kattavia johtopäätöksiä. Taulukossa XXV on havainnollistettu ajojen toistettavuutta tilastollisen keskihajonnan (yhtälö 18) avulla /84/. Taulukon XXV tuloksista havaitaan CA12GC-hartsin keskihajonnan olevan suuri ja tulosten olevan tästä syystä vähemmän luotettavia.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (V_{ret,i} - \bar{V}_{ret,i})^2}{l-1}} \quad (18)$$

jossa l toistokokeiden lukumäärä
 s keskihajonta
 $\bar{V}_{ret,i}$ komponentin i retentiotilavuuden keskiarvo

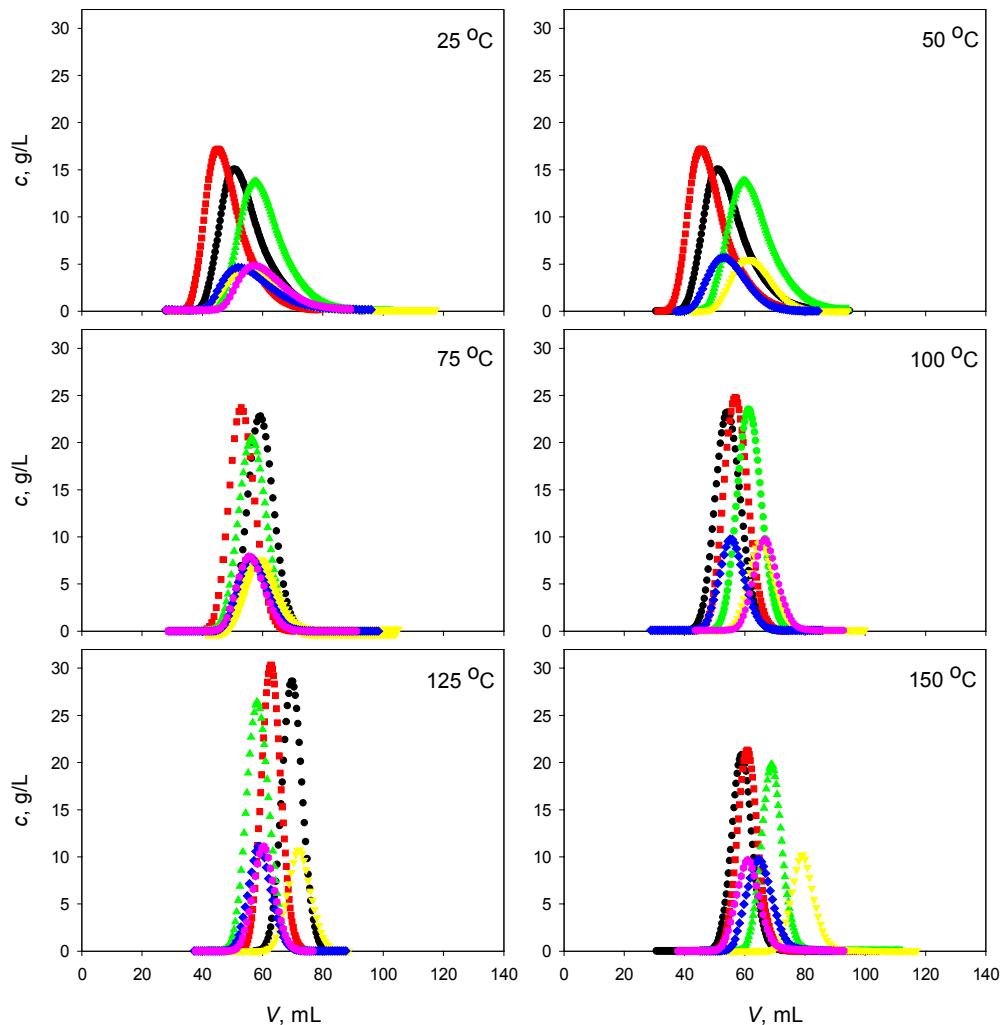
Taulukko XXV Kromatografiajojen toistettavuus eri lämpötiloissa tilastollisen keskihajonnan avulla laskettuna.

	25°C	50°C	75°C	100°C	125°C	150°C	175°C
CS16GC (Na ⁺)	1,49	1,01	1,32	1,18	0,81	1,63	
CS16GC (Ca ²⁺)	2,30	1,58	0,90	0,93	0,56	0,62	0,63
CA16GC (Na ⁺)	2,00		1,52	140,4			
CA16GC (Ca ²⁺)	1,91		1,27		1,34		
CA12GC (Na ⁺)	1,25	4,79	3,10	2,90	0,83	0,67	0,67
CS16GC (Na ⁺), toistokoe			1,08	1,27	0,35		
PS-DVB 24M	0,47	0,59	0,52	0,46	0,58		



Kuva 23. Lämpötilan vaikutus mannitolin ja mannoosin eluotumiseen samalla vahvalla katio-

ninvaihtimella eri ionimuodoissa. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 25,1–27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,63. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näyteaineiden pitoisuudet olivat 50 ja 20 g/L. Näytetilavuus oli 5 mL.



Kuva 24. Tutkittujen sokereiden ja sokerialkoholien erottuminen CS16GC Na⁺-hartsilla eri lämpötiloissa. Kromatografiakokeissa tutkitut komponentit olivat: ● sorbitoli, ■ mannitoli, ▲ ksylitoli, ▼ arabinoosi, ◆ mannoosi ja ● ksyloosi. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 26,8-27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38-0,40. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näyteaineiden pitoisuudet olivat 50 ja 20 g/L. Näytetilavuus oli 5 mL.

8.3.1 Lämpötilan vaikutus retentiotilavuuteen

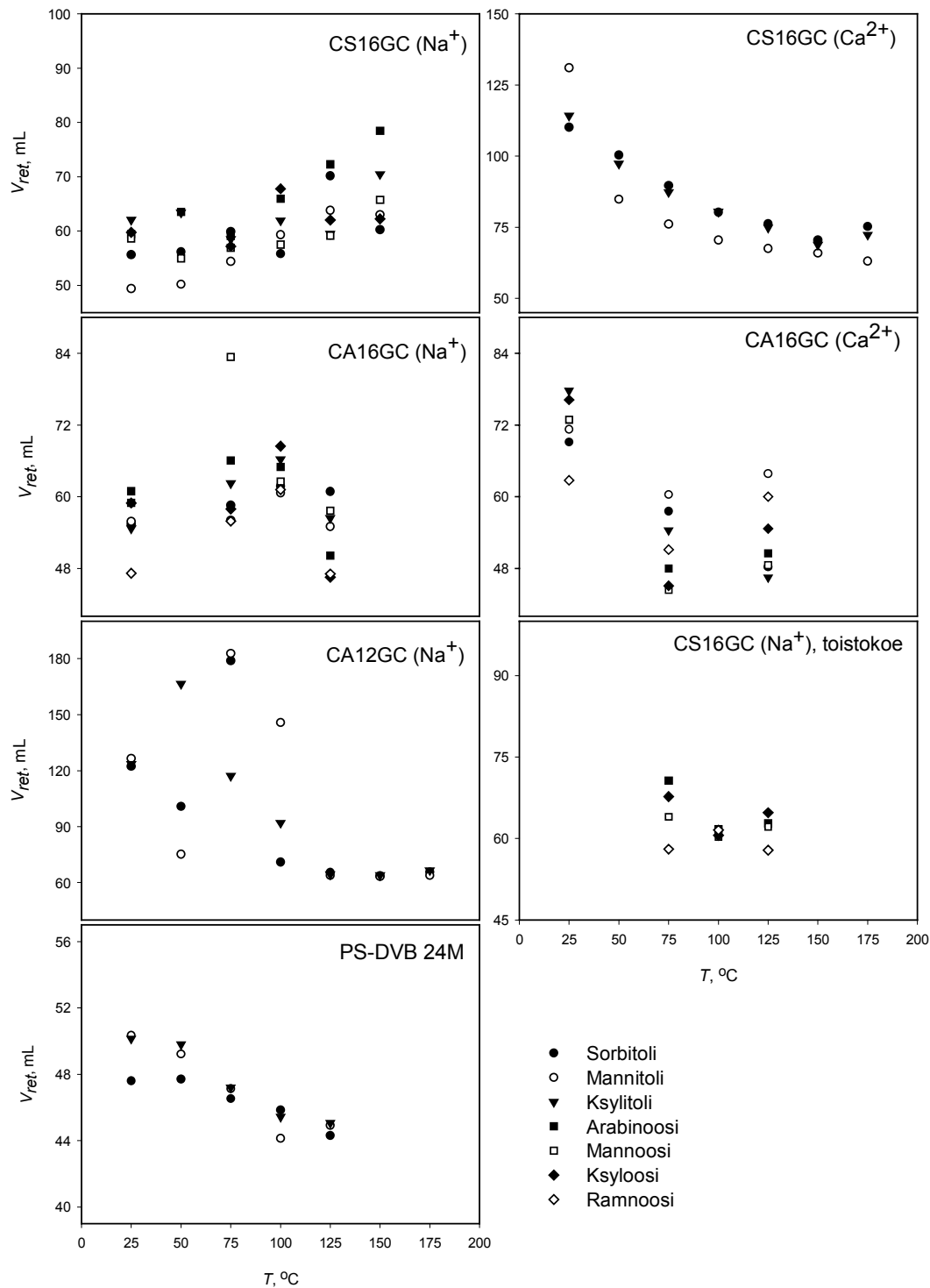
Kromatografiakokeissa havaittiin retentiotilavuuden muuttuvan näytekomponentista ja stationäärifaasista riippuen (kuva 25). Ainoastaan CS16GC (Ca²⁺)-hartsin ja PS-DVB 24M-

polymeerin kohdalla havaittiin selvä retentiotilavuuden pieneneminen kaikilla komponenteilla lämpötilan noustessa. CS16GC (Na⁺)-hartsin kohdalla retentiotilavuuden kasvu lämpötilan noustessa vaikutti olevan yleinen suuntaus, vaikka poikkeuksiakin oli. CA16GC (Na⁺)-hartsilla näytekomenttien retentiotilavuus kasvoi 100 °C:een lämpötilaan saakka, mutta 125 °C:een lämpötilassa komponenttien retentiotilavuus pieneni. CA16GC (Ca²⁺)-hartsilla havaittiin retentiotilavuuden pienenevän, kunnes 125°C:een lämpötilassa se jälleen kasvoi. CA12GC (Na⁺)-hartsin retentiotilavuuden kasvamisesta tai pienenemisestä ei voida tehdä johtopäätöksiä mittaustulosten suuren hajonnan johdosta. Poikkeavuudet odotetusta käyttäytymisestä johtuivat kolonnin tukkeutumisesta kromatografisten mittausten kuluessa.

Verrattaessa retentiotilavuuden muutoksia (kuva 25) ja hartsipedin käyttäytymistä (taulukko XX) lämpötilan noustessa, voidaan havaita CS16GC (Ca²⁺) ja CA16GC (Ca²⁺)-hartsilla komponenttien retentiotilavuuden pienenevän ja hartsipedin kutistuvan. Lämpötilan noustessa CS16GC (Na⁺)- ja CA16GC (Na⁺)-hartsit turposivat ja komponenttien retentiotilavuus kasvoi. PS-DVB 24M-polymeerillä havaitaan komponenttien retentiotilavuuden pienenevän pedin turvotessa. CA12GC (Na⁺)-hartsilla voidaan olettaa komponenttien retentiotilavuuden pienenevän ja hartsin kutistuvan lämpötilan noustessa. Heikoilla kationinvaihtajilla havaitaan yli 100 °C:een lämpötiloissa retentiotilavuuden poikkeavan alle 100 °C:ssa havaittavasta käyttäytymistrendistä. Yli 100 °C:een lämpötilassa havaitaan CA16GC (Ca²⁺)-hartsilla retentiotilavuuden kasvavan ja CA16GC (Na⁺)-hartsilla retentiotilavuuden pienenevän.

Verrattaessa vahvoja kationinvaihtimia CS16GC Na⁺- ja Ca²⁺-muodossa voidaan havaita Ca²⁺-muotoisen hartsin retentiotilavuuden olevan suurempi kuin Na⁺-muotoisen hartsin retentiotilavuuden erityisesti alhaisissa lämpötiloissa. Ca²⁺-muotoisen hartsin tiedetään muodostavan komplekseja sokerien ja sokerialkoholien kanssa /48/. Kompleksinmuodostus parantaa komponenttien erotusta, mutta se myös pidentää retentioaikaa ja kasvattaa piikin leveyttä, jolloin kromatografinen erotus ei välttämättä ole kovin tehokasta. Sokerien ja sokerialkoholien piikkien leveys pienenee lämpötilan noustessa. Tämä johtuu veden ominaisuuksien muuttumisesta lämpötilan noustessa, erityisesti veden dielektrisyysvakion pienenemisestä. Sama ilmiö havaitaan myös heikoilla CA12GC- ja CA16GC –kationinvaihtimilla. Taulukossa XXVI on esitetty sokerien ja sokerialkoholien retentiojärjestys eri

lämpötiloissa. Mixoosilla tarkoitetaan tässä työssä arabiinoin, mannoosin ja ksyloosin 2 p-%:sta liuosta, ja mixolilla sorbitolin, mannitolin ja ksyloosin 5 tai 3 p-%:sta liuosta.



Kuva 25.

Lämpötilan vaikutus retentiotilavuuteen. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–28,7 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,91. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus

oli 2 mL/min. Sokerialkoholien pitoisuudet olivat 50 g/L CS16GC (Na⁺)-, CA12GC (Na⁺)-hartsilla ja PS-DVB 24M-polymeerilla, sekä 30 g/L CS16GC (Ca²⁺)-, CA16GC (Na⁺)-, CA16GC (Ca²⁺)-hartsilla. Sokerien pitoisuudet olivat 20 g/L kaikilla tutkituilla staionäärifaaseilla. Näytetilavuus oli 5 mL.

Taulukko XXVI Sokerien ja sokerialkoholien eluutiojärjestys eri stationäärifaaseilla.

CS16GC (Na⁺)	
25 °C	Mixoli > ksylitoli > ksyloosi ≈ arabinoosi > mannoosi > sorbitoli ≈ mixoosi > mannitoli
50 °C	Mixoli > arabinoosi ≈ ksylitoli > sorbitoli > mannoosi > mannitoli
75 °C	Mixoosi > mixoli > sorbitoli > arabinoosi > ksylitoli ≈ mannoosi > ksyloosi > mannitoli
100 °C	Mixoosi > arabinoosi > ksyloosi > ksylitoli > mannitoli > mannoosi > mixoli > sorbitoli
125 °C	Arabinoosi > sorbitoli > mixoli > mixoosi > mannitoli > ksyloosi > ksylitoli ≈ mannoosi
150 °C	Arabinoosi > mixoli > ksylitoli > mannoosi > mannitoli > ksyloosi > sorbitoli > mixoosi
CS16GC (Ca²⁺)	
25 °C	Mannitoli > ksylitoli > sorbitoli > mixoli
50 °C	Sorbitoli > ksylitoli > mixoli > mannitoli
75 °C	Sorbitoli > ksylitoli > mixoli > mannitoli
100 °C	Ksylitoli ≈ sorbitoli > mixoli > mannitoli
125 °C	Sorbitoli > ksylitoli > mixoli > mannitoli
150 °C	Mixoli > sorbitoli > ksylitoli > mannitoli
175 °C	Sorbitoli > ksylitoli > mixoli > mannitoli
CA16GC (Na⁺)	
25 °C	Mixoosi > arabinoosi > mannoosi ≈ ksyloosi ≈ mixoosi > mannitoli ≈ sorbitoli > ksylitoli > ramnoosi
75 °C	Mannoosi >> arabinoosi > mixoosi > ksylitoli > sorbitoli > ksyloosi > mixoli > mannitoli > ramnoosi
100 °C	Ksyloosi > ksylitoli ≈ mixoosi > arabinoosi > mannoosi > sorbitoli > ramnoosi ≈ mixoosi > mannitoli
125 °C	Sorbitoli ≈ mixoli > mannoosi > ksylitoli > mannitoli > arabinoosi > ramnoosi > ksyloosi
CA16GC (Ca²⁺)	
25 °C	Ksylitoli ≈ mixoosi > ksyloosi > mannoosi ≈ arabinoosi > mannitoli > mixoli > sorbitoli > ramnoosi
75 °C	Mannitoli > mixoli ≈ sorbitoli > mixoosi ≈ ksyloosi > ramnoosi > arabinoosi > ksyloosi > mannoosi
125 °C	Mannitoli > ramnoosi > mixoli > ksyloosi > mixoosi > arabinoosi > mannoosi > sorbitoli > ksylitoli
CA12GC (Na⁺)	
25 °C	Mannitoli > sorbitoli > ksylitoli
50 °C	Ksylitoli >> sorbitoli >> mannitoli
75 °C	Mannitoli >> sorbitoli >> ksylitoli
100 °C	Mannitoli >> ksylitoli >> sorbitoli
125 °C	Sorbitoli > ksylitoli > mannitoli
150 °C	Mixoli ≈ ksylitoli ≈ sorbitoli ≈ mannitoli
175 °C	Ksylitoli > mixoli > sorbitoli > mannitoli
CS16GC (Na⁺), toistokoe	
75 °C	Arabinoosi > ksyloosi > mixoosi > mannoosi > ramnoosi
100 °C	Arabinoosi ≈ ramnoosi > mixoosi > ksyloosi ≈ mannoosi
125 °C	Mixoosi > ksyloosi > arabinoosi ≈ mannoosi > ramnoosi
PS-DVB 24M	
25 °C	Mannitoli ≈ ksylitoli > sorbitoli
50 °C	Ksylitoli > mannitoli > sorbitoli
75 °C	Ksylitoli ≈ mannitoli > sorbitoli
100 °C	Sorbitoli > ksylitoli > mannitoli
125 °C	Ksylitoli ≈ mannitoli > sorbitoli

Tarkasteltaessa eluutiojärjestystä eri lämpötiloissa (taulukko XXVI ja liite I) havaittiin sokerien ja sokerialkoholien retentiojärjestyksen muuttuvan lämpötilan noustessa.

Varsinkin 100 °C:een lämpötilassa useimmilla hartseilla tapahtuu muutos eluutiojärjestyksessä. Sokerien eluutiojärjestystä tutkittiin CS16GC (Na⁺)-hartsilla kahdesti 75, 100 ja 125 °C:een lämpötiloissa. Toistokokeessa 75 °C:een lämpötilassa eluutiojärjestys oli sama kuin ensimmäiselläkin kerralla, ja ramnoosi sijoittui viimeiseksi. 100 °C:een lämpötilassa sokerien eluutiojärjestys oli myöskin sama kuin ensimmäiselläkin kerralla, ja ramnoosi eluutui heti ksyloosin jälkeen. 125 °C:een lämpötilassa eluutiojärjestys oli poikkeuksellisen: ksyloosi eluutui ennen arabinoosia, mannoosia ja ramnoosia. Sokerien ja sokerialkoholien seoksen, mixoosin ja mixolin, tulisi eluotua siitä muodostuneiden komponenttien eluutiojärjestyksen keskivaiheille. Näin ei kuitenkaan tapahtunut, vaan mixoli ja mixoosi eluoutuivat usein ennen sokeri- ja sokerialkoholikomponentteja. Sen voi selittää näytteensyöttösilmukan suurella näytetilavuudella verrattuna kolonnin petitilavuuteen (n. 6%). Myös komponenttien mittausten toistettavuudesta (taulukko XXV) oli toivomisen varaa.

Mussalo ja Tiihonen (LTKK, Teknillisen kemian laboratorio) mittasivat ramnoosin, ksyloosin ja ksylitolin kromatografista erotusta uuden koelaitteiston (kuva 19B ja kuva 21) avulla tämän diplomityön kokeiden päätyttyä. He havaitsivat piikkien kapenevan lämpötilan noustessa, mutta komponenttien retentiojärjestyksen säilyvän ennallaan lämpötilavälillä 25–150 °C.

8.3.2 Lämpötilan vaikutus retentiotekijään

Kuvassa 26 on esitetty retentiotekijän muutokset eri stationäärifaaseilla lämpötilan noustessa. Ca²⁺-muotoisen vahvan kationinvaihtimen kompleksinmuodostuskyvyn havaittiin heikkenevän. Tämä näkyy retentiotekijän pienenemisenä lämpötilan noustessa. Ca²⁺-muotoisella hartsilla sokerialkoholien retentiotekijän pieneni 25 °C:een lämpötilasta 150 °C:een lämpötilaan jopa noin 1,4 yksikköä. Vastaavasti Na⁺-muotoisella vahvalla kationinvaihtajalla retentiotekijän havaittiin keskimäärin hieman kasvavan lämpötilan noustessa, noin 0,2 yksikköä. 75 °C:een lämpötilassa havaittiin Na⁺-muotoisella vahvalla kationinvaihtajalla olevan retentiotekijän paikallinen minimi, jossa komponenttien eluutiojärjestys muuttui. Toistokokeessa minimi havaittiin 100 °C:n lämpötilassa. Verrattaessa retentiotilavuuden hajontaan (taulukko XXV) voidaan päätellä paikallisen minimin johtuvan mittaustulosten hajonnasta.

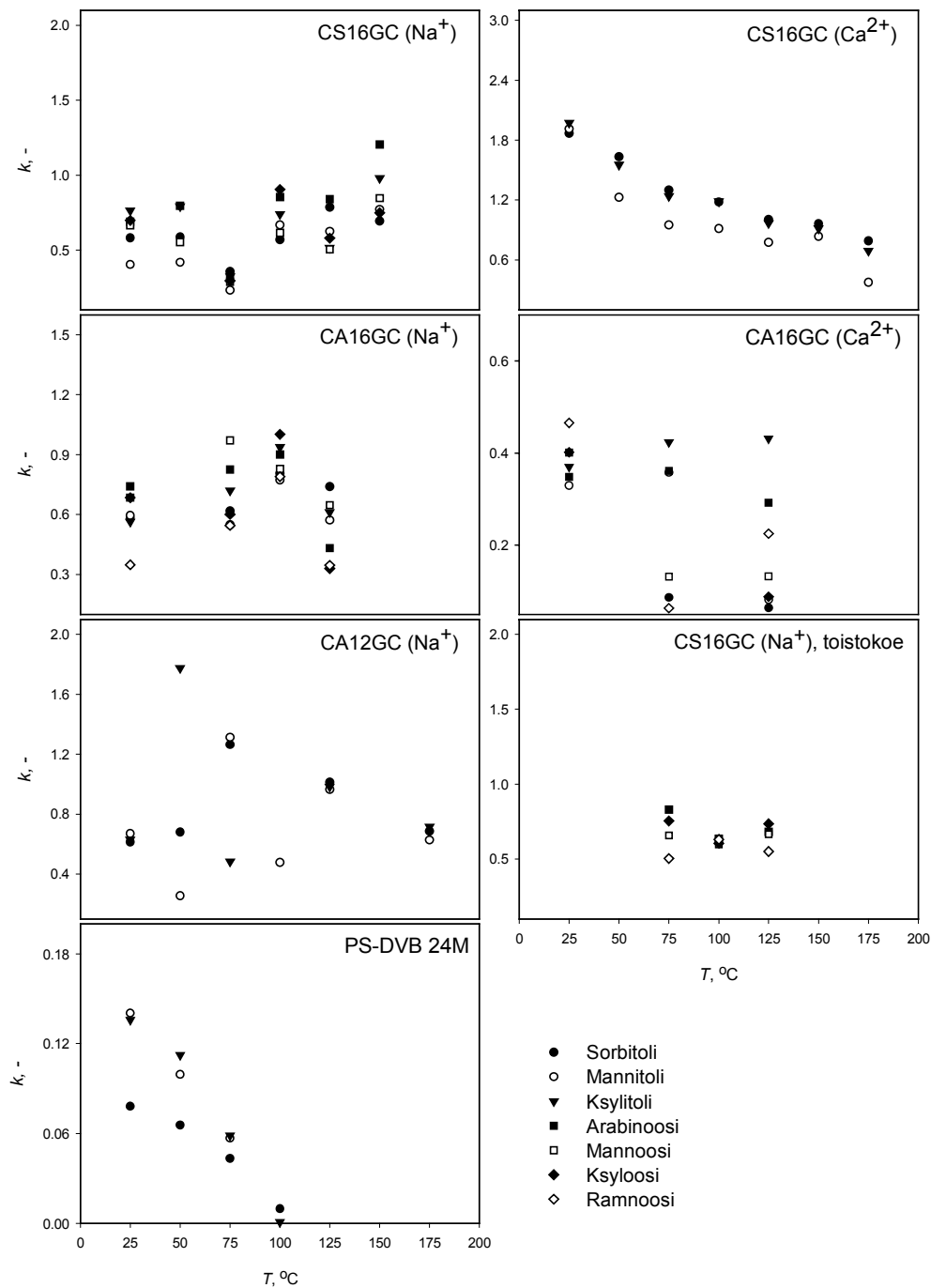
Heikolla Ca^{2+} -muotoisella kationinvaihtimella havaittiin sokerialkoholien retentiotekijän pienentyvän noin 0,2 yksikköä lämpötilan noustessa 25 °C:esta 125 °C:een lämpötilaan. Mannitoli oli poikkeus, sen retentiotekijä kasvoi kyseisellä lämpötilavälillä. Vastaavasti Na^+ -muotoisella hartsilla havaittiin sorbitolin ja ksylitolin retentiotekijän pienenevän ja mannitolin retentiotekijän kasvavan. Tämänkin käyttäytymisen voidaan olettaa johtuvan mittaushajonnasta.

PS-DVB 24M-polymeerilla havaittiin sokerialkoholien retentiotekijän pienenevän lämpötilan noustessa. Verrattaessa muihin hartseihin havaittiin PS-DVB 24M-polymeerin sokerialkoholien retentiotekijän olevan hyvin pieni. Sokerialkoholit eluotuvat tällöin hyvin lähelle retentoitumatonta komponenttia, ja niiden erotus on tehotonta.

Suuret retentiotekijän arvot ilmentävät tehokasta retentoitumista. Retentiotekijän optimin katsotaan olevan välillä 1,5-4 /64/. Sekä vahvoilla että heikoilla kationinvaihtajilla retentiotekijän arvo jää alle optimin.

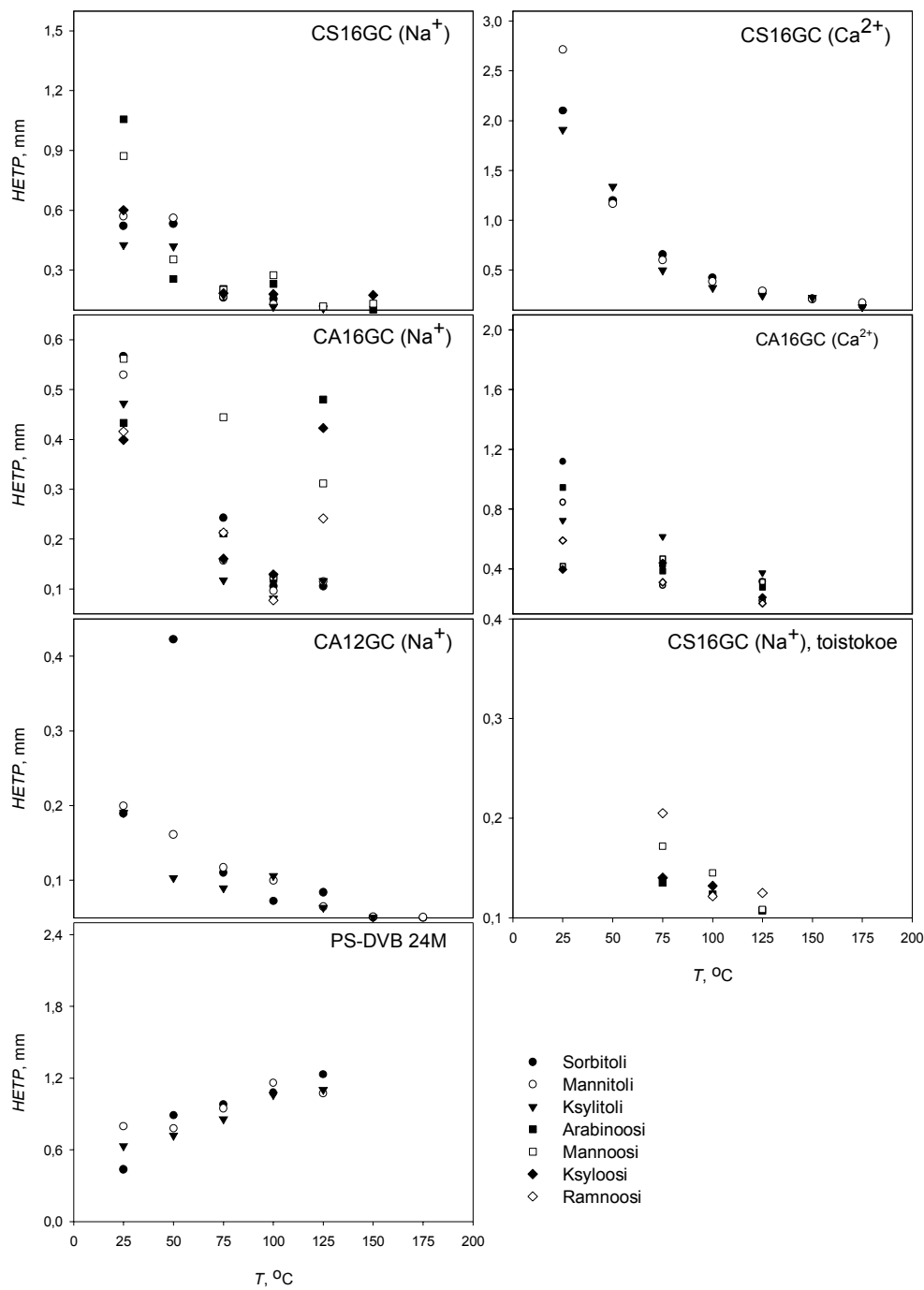
8.3.3 Lämpötilan vaikutus teoreettisen pohjan korkeusekvivalenttiin

Teoreettinen pohjan korkeusekvivalentti (HETP) mahdollistaa erilaisten kromatografisten kolonnien vertailun (yhtälö 12). Teoreettinen pohjaluku, kolonnin pituus jaettuna HETP:lla, kuvaa sellaisen kolonnin pituutta, jossa hartsin ulkopuolisessa liuoksessa oleva komponentti on tasapainossa hartsin sisäpuolisessa liuoksessa olevan komponentin kanssa /49/. Kuvasta 27 havaittiin HETP:n pienenevän lämpötilan noustessa kaikilla kationinvaihtohartseilla. Vertailtaessa eri ionimuotoja havaittiin Ca^{2+} -muotoisten kationinvaihtohartsien HETP:n olevan paljon suurempi kuin vastaavien Na^+ -muotoisten kationinvaihtohartsien. Tämä johtui Ca^{2+} -muotoisen kationinvaihtohartsin kompleksinmuodostuksesta sokerien ja sokerialkoholien kanssa, jolloin näytekomponenttien elutioajat kasvoivat. Tällöin lämpötilan nostaminen paransi sokerien ja sokerialkoholien erotustehokkuutta kationinvaihtohartseilla. Vahvojen kationinvaihtohartsien HETP:n havaittiin olevan heikkojen kationinvaihtohartsien HETP:tä suurempi. PS-DVB 24M-polymeerin teoreettisen pohjan korkeusekvivalentin havaittiin kasvavan lämpötilan noustessa.



Kuva 26.

Lämpötilan vaikutus retentiotekijän arvoon. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7-28,7 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,91. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Sokerialkoholien pitoisuudet olivat 50 g/L CS16GC (Na^+)-, CA12GC (Na^+)-hartsilla ja PS-DVB 24M-polymeerilla, sekä 30 g/L CS16GC (Ca^{2+})-, CA16GC (Na^+)-, CA16GC (Ca^{2+})-hartsilla. Sokerien pitoisuudet olivat 20 g/L kaikilla tutkituilla staionäärifaaseilla. Näytetilavuus oli 5 mL.

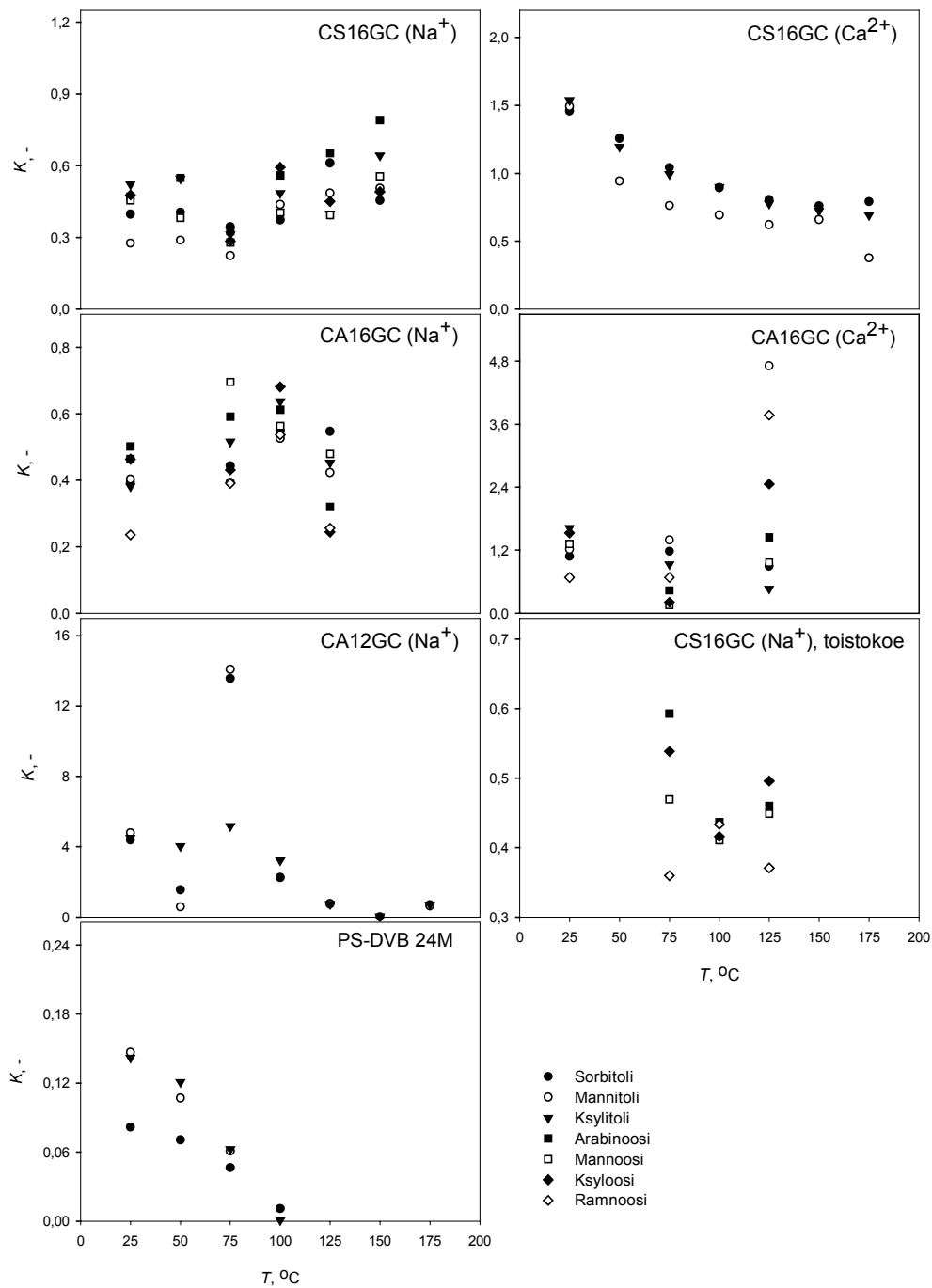


Kuva 27.

Lämpötilan vaikutus teoreettisen pohjan korkeusekvivalenttiin (HETP). Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–28,7 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,91. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Sokerialkoholien pitoisuudet olivat 50 g/L CS16GC (Na⁺)-, CA12GC (Na⁺)-hartsilla ja PS-DVB 24M-polymeerilla, sekä 30 g/L CS16GC (Ca²⁺)-, CA16GC (Na⁺)-, CA16GC (Ca²⁺)-hartsilla. Sokerien pitoisuudet olivat 20 g/L kaikilla tutkituilla staionääri faaseilla. Näytetilavuus oli 5 mL.

8.3.4 Lämpötilan vaikutus jakaantumismvakioon

Jakaantumismvakio kuvaa komponentin jakautumista stationääriin ja liikkuvaan faasiin (yhtälö (14)). Se on riippuvainen lämpötilasta, sekä eluentin ja stationääriin ominaisuuksista /80/. Kuvasta 28 havaittiin näytekomponenttien jakaantumismvakioiden kasvavan lämpötilan noustessa CS16GC (Na⁺)- ja CA16GC (Na⁺)-hartseilla. Kuvan 28 tuloksista havaittiin sokerialkoholien ja sokerien jakaantumismvakion kasvavan yhtä paljon lämpötilan noustessa CS16GC (Na⁺)- ja CA16GC (Na⁺)-hartseilla. CA16GC (Na⁺)-hartsilla havaittiin jakautumismvakion pienenevän 100 °C:en jälkeen. Tarkasteltaessa CS16GC (Ca²⁺)- ja CA16GC (Ca²⁺)-hartsia havaittiin sokerialkoholien jakautumismvakion pienenevän lämpötilan noustessa. Tämä voidaan pääosin selittää kompleksoituvien komponenttien kompleksin muodostuksen heikkenemisenä lämpötilan noustessa. Taulukosta XX havaittiin Ca²⁺-muotoisten kationinvaihtimien kutistuvan lämpötilan noustessa. Tällöin myös hartsin huokostilavuus pienenee, ja näytekomponenttien konsentraatio huokosissa pienenee. CA16GC (Ca²⁺)-hartsia tarkasteltaessa havaittiin lisäksi osalla näyteaineista jakaantumismvakion kasvavan voimakkaasti 125 °C:en lämpötilassa. Tämä on hieman yllättävää, ja syynä saattaa olla pedin eläminen. Tarkasteltaessa PS-DVB 24M-polymeeriä havaittiin sokerialkoholien jakautumismvakion pienenevän lämpötilan noustessa.

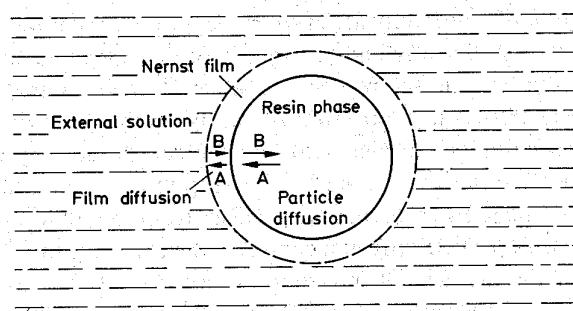


Kuva 28.

Lämpötilan vaikutus jakaantumsvakioon. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–28,7 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,91. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Sokerialkoholien pitoisuudet olivat 50 g/L CS16GC (Na^+)-, CA12GC (Na^+)-hartsilla ja PS-DVB 24M-polymeerilla, sekä 30 g/L CS16GC (Ca^{2+})-, CA16GC (Na^+)-, CA16GC (Ca^{2+})-hartsilla. Sokerien pitoisuudet olivat 20 g/L kaikilla tutkituilla staionäärifaaseilla. Näytetilavuus oli 5 mL.

8.3.5 Lämpötilan vaikutus diffuusiokertoimeen

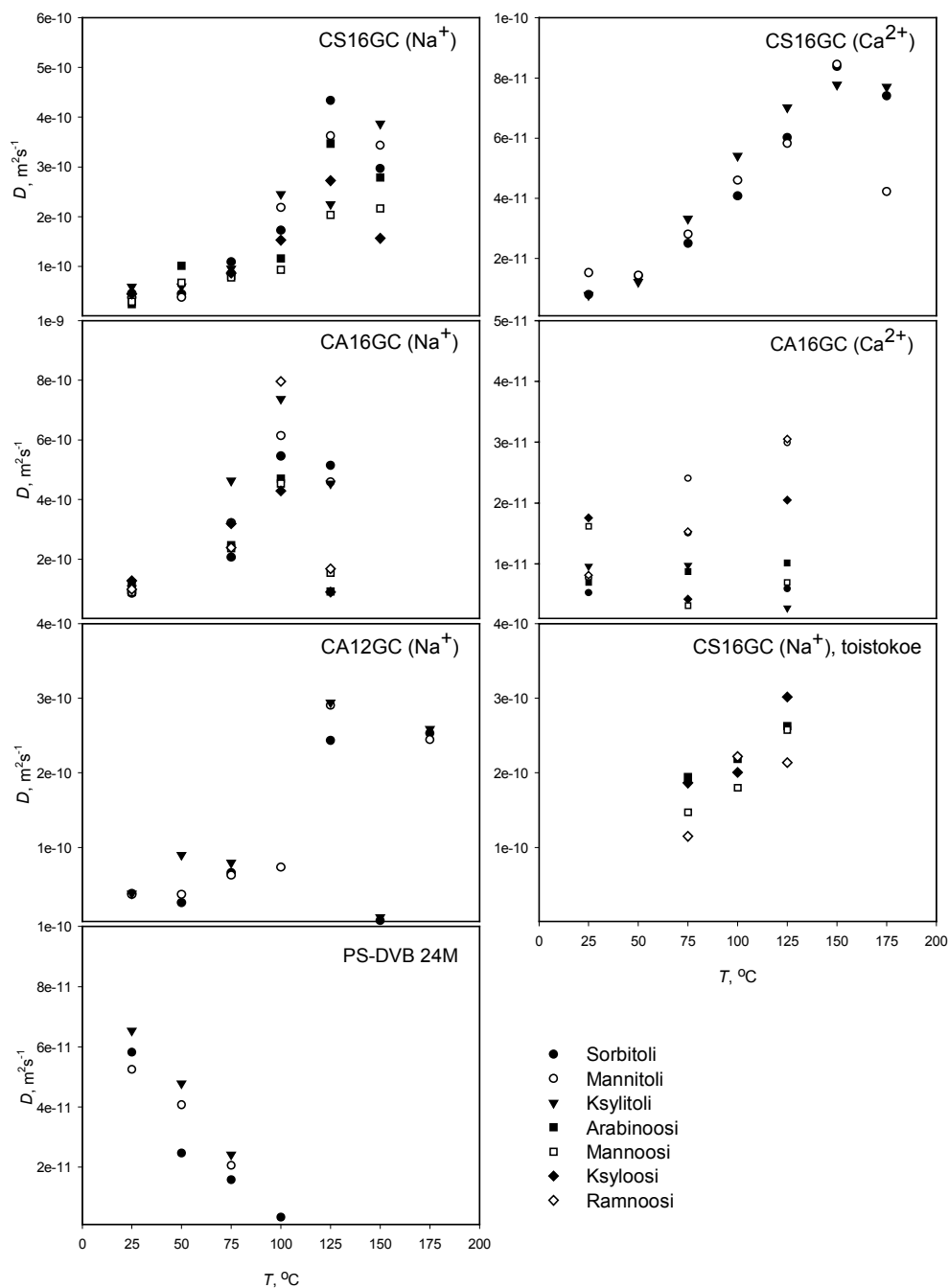
Diffuusioprosessien tunteminen on tärkeää ioninvaihtoilmiöitä tutkittaessa. Ioninvaihtopeutta määritettäessä on tunnettava diffuusiomekanismi: joko partikkelin sisäinen diffuusio (geelidiffuusio) tai filmidiffuusio (kuva 29). Hartsin ulkopuolisen liuoksen konsentraation ollessa alhainen, noin 0,001 N, liuoksen komponentit diffundoituvat partikkelin pintafilmiin eli kyseessä on filmidiffuusio. Hartsin ulkopuolisen liuoksen konsentraation ollessa korkea, noin 0,3 N, ionit diffundoituvat hartsipartikkelin huokosiin ja kyseessä on partikkelin sisäinen diffuusio. Ioninvaihdossa liuoksessa olevien ionien diffuusioista aiheutuu sähköinen potentiaali, diffuusiopotentiaali, joka toimii diffuusion ajavana voimana /49/. Diffuusion vaikuttaa diffundoituvien komponenttien konsentraation lisäksi partikkelin huokoisuus, huokosten tortuisiteetti, partikkelikoko, sekä diffundoituvien aineiden luonne ja koko /81/. Kvasihomogeeninen tehollisen diffuusiokertoimen malli ottaa huomioon edellä mainitut diffuusioparametrit (yhtälö 15).



Kuva 29. Diffuusiomekanismit: filmidiffuusio ja partikkelin sisäinen diffuusio /49/.

Kuvassa 30 on esitetty lämpötilan noston vaikutus diffuusiokertoimen käyttäytymiseen. Diffuusiokertoimen havaittiin kasvavan kaikilla funktionalisoiduilla kationinvaihtohartsilla lämpötilan vaikutuksesta. Hartsin turvotessa hartsin sisäinen vesimäärä kasvaa ja komponenttien diffuusio hartsin huokosiin tehostuu. Hartsimatriisin turpoaminen johtuu veden aineominaisuuksien muuttumisesta lähemmäksi orgaanista liuotinta, sekä veden ja polymeerimatriisin välisen hydrofobisen vuorovaikutuksen pienentymisestä. Vahvoilla kationinvaihtajilla havaittiin termisen käyttäytymisen riippuvan ionimuodosta (taulukko XX): Na^+ -muotoiset hartsit turpoavat ja Ca^{2+} -muotoiset hartsit kutistuvat lämpötilaa nostettaessa 25 °C:sta 175 °C:en lämpötilaan. Hartsin ristosilloitusasteen kasvattaminen vähentää turpoamista hartsimatriisin jäykistyessä. Tällöin myös tehollinen diffuusiokerroin pienenee. Vertailtaessa CS16GC- ja CA16GC-hartsia Na^+ - ja Ca^{2+} -ionimuodoissa havaittiin diffuusiokertoimen olevan suurempi Na^+ -ionimuodossa. Myös Dorfner /87/ on havain-

nut saman ilmiön Dowexin kationinvaihtimilla: vastaionin valenssin kasvaessa tehollisen diffuusiokertoimen arvo pienenee. Diffuusiokertoimen havaitaan kuitenkin pienenevän korkeissa lämpötiloissa: CS16GC (Na⁺)-hartsilla 150 °C:een lämpötilassa, CS16GC (Ca²⁺)-hartsilla 175 °C:een lämpötilassa ja CA16GC (Na⁺)-hartsilla 125 °C:een lämpötilassa. Tämä diffuusiokertoimen pieneneminen johtunee vahvan kationinvaihtohartsin defunktionalisoitumista tai vastaionin vaihtumisesta korkeissa lämpötiloissa. Heikolla kationinvaihtimella diffuusiokertoimen pienenemisen syynä saattaa olla kemiallinen reaktio: hartsin katalysoi sokerien browning-ilmiötä. Myös hartsin partikkelikoko vaikuttaa diffuusionopeuteen.



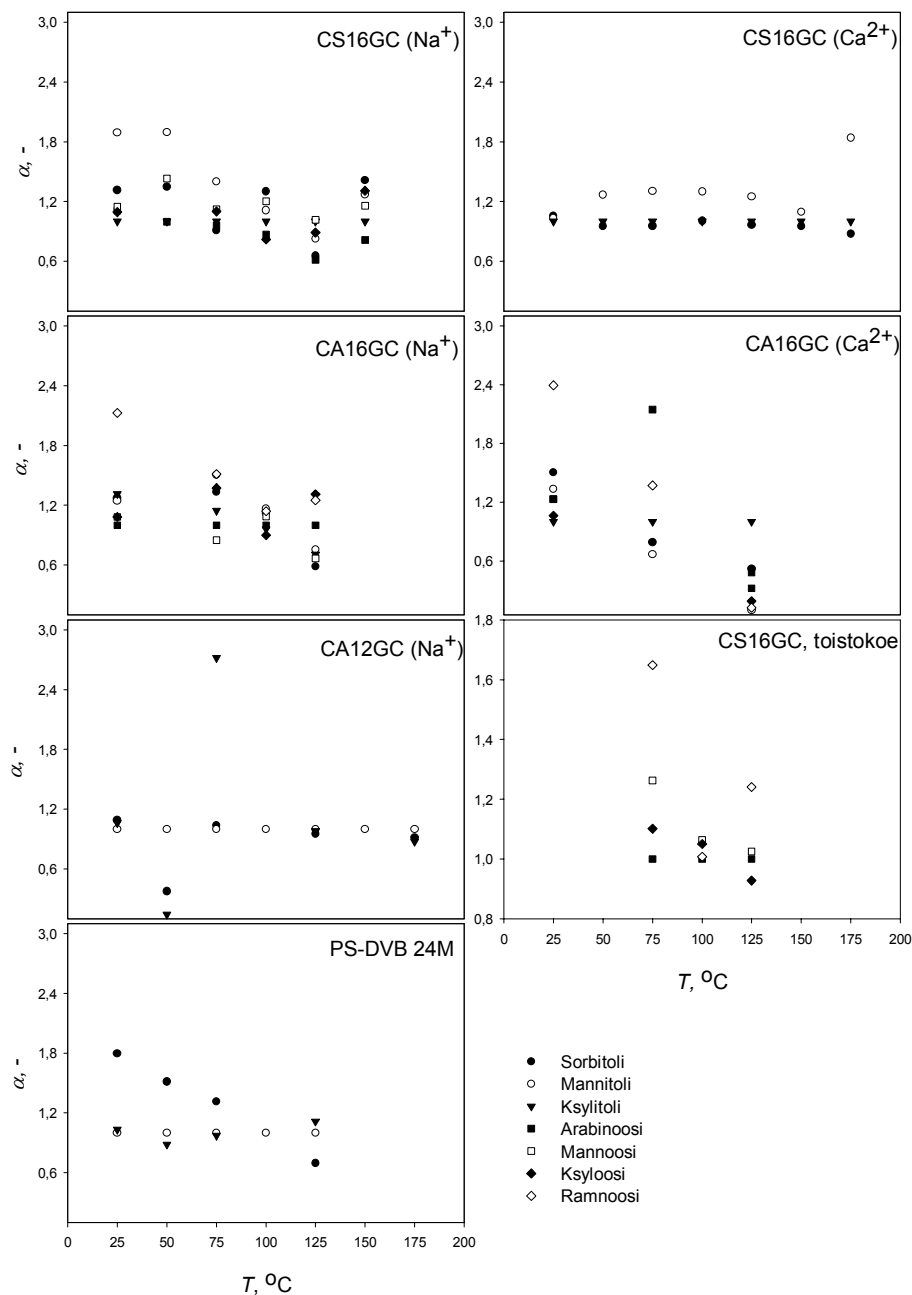
Kuva 30.

Lämpötilan vaikutus diffuusiokertoimeen. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7-28,7 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38-0,91. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Sokerialkoholien pitoisuudet olivat 50 g/L CS16GC (Na^+)-, CA12GC (Na^+)-hartsilla ja PS-DVB 24M-polymeerilla, sekä 30 g/L CS16GC (Ca^{2+})-, CA16GC (Na^+)-, CA16GC (Ca^{2+})-hartsilla. Sokerien pitoisuudet olivat 20 g/L kaikilla tutkituilla staionäärifaaseilla. Näytetilavuus oli 5 mL. Näytetilavuus oli 5 mL. Keskimääräiseksi partikkelikooksi mitattiin CS16GC (Na^+)-hartsille 342 μm , CS16GC (Ca^{2+})-hartsille 292 μm , CA16GC (Na^+)-hartsille 487 μm , CA16GC (Ca^{2+})-hartsille 264 μm , CA16GC (Na^+)-hartsille 275 μm ja PS-DVB 24M-polymeerille 748 μm .

8.3.6 Lämpötilan vaikutus erotustekijään

Erotustekijä on kahden eri komponentin retentiotekijöiden suhde (yhtälö 17). Erotustekijän suuruuteen vaikuttaa erotettavien komponenttien luonne, käytetty stationääri faasi ja eluentin ominaisuudet. Kun $\alpha_{A/B} > 1$ ioninvaihdin on selektiivisempi komponentille A kuin komponentille B , jolloin komponentti B poistuu kolonnista ennen komponenttia A . Erotustekijä on tärkeä tekijä vertailtaessa eri hartseilla tapahtuvaa komponenttien erotusta [49].

Kuvassa 31 on esitetty sokerien ja sokerialkoholien erotustekijän käyttäytyminen lämpötilan noustessa. Nopealla yleissilmäyksellä havaittiin erotustekijän pienenevän lämpötilan noustessa kaikilla tutkituilla stationääri faaseilla. Vahvoilla kationinvaihtimilla erotustekijä on laskettu ksylitolin suhteen. CS16GC (Na^+)-hartsia tarkasteltaessa havaittiin eri komponenttien retentiotekijöiden huojuvan satunnaisesti ylös ja alas ksylitolin ympärillä, mutta kokonaisuudessaan pysyvän lähes muuttumattomana. Mannitolin havaittiin erottuvan hyvin 25 ja 50 °C:een lämpötiloissa, mutta lämpötilan noustessa mannitolin erotustekijä pienenee. Toistokokeesta havaittiin komponenttien erottumisen heikkenevän lämpötilan noustessa. CS16GC (Ca^{2+})-hartsia tarkasteltaessa havaittiin eri komponenttien erotustekijöiden kasvavan vain hieman verrattuna ksylitoliin, ja lämpötilan noston ei havaittu parantavan komponenttien erotusta. CS16GC (Ca^{2+})-hartsin erotustekijää 175 °C:een ja CS16GC (Na^+)-hartsin erotustekijää 150 °C:een lämpötiloissa ei huomioida, koska erotustekijän kasvun arvellaan johtuvan hartsin ioniryhmän vaihtumisesta tai defunktionalisoinnista. Heikon CA16GC (Na^+) –kationinvaihtimen erotustekijä on laskettu arabinoosin suhteen. Tarkasteltaessa sokerialkoholien erottumista toisistaan havaittiin sen olevan lähes mitätöntä. Lämpötilan nostaminen ei paranna sokerialkoholien erotusta. Sokereista ramnoosin havaittiin erottuvan hyvin arabinoosista huoneenlämpötilassa, mutta lämpötilan noustessa ramnoosin ja arabinoosin erotustekijän arvo pienenee. Lämpötilan nostolla ei ole erotusta parantavaa vaikutusta muidenkaan sokerien kohdalla. CA16GC (Ca^{2+})-hartsin erotustekijä on laskettu ksylitolin suhteen. Vastaavalla tavalla kuin Na^+ -muotoisellakin heikolla vaihtimella sokerialkoholien ja sokerien erottuminen toisistaan on heikkoa. Huoneenlämpötilassa ramnoosin erottuminen ksylitoosista on hyvä mutta lämpötilan noustessa erotustekijän arvo pieneni. Ristisilloitetun PS-DVB 24M-polymeerin erotustekijä on laskettu mannitolin suhteen. Kuten hartseilla, myös polymeerilla komponenttien erotustekijä pieneni lämpötilan noustessa.



Kuva 31.

Lämpötilan vaikutus erotustekijään. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–28,7 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,91. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Sokerialkoholien pitoisuudet olivat 50 g/L CS16GC (Na⁺)-, CA12GC (Na⁺)-hartsilla ja PS-DVB 24M-polymeerilla, sekä 30 g/L CS16GC (Ca²⁺)-, CA16GC (Na⁺)-, CA16GC (Ca²⁺)-hartsilla. Sokerien pitoisuudet olivat 20 g/L kaikilla tutkituilla stationääri faaseilla. Näytetilavuus oli 5 mL. CS16GC-hartsilla erotustekijä on laskettu ksylimolin suhteen, CA16GC (Na⁺)-, CS16GC (Na⁺)-hartsin toistokokeella arabinoosin suhteen, CA16GC (Ca²⁺)-hartsilla ksylimolin suhteen, CA12GC (Na⁺)- ja PS-DVB 24M-hartsilla mannitolin suhteen.

9 YHTEENVETO

Työn kirjallisessa osassa käsiteltiin lämpötilan noston vaikutusta veden aineominaisuuksiin sekä tarkasteltiin näytekomponenttien ja stationäärifaasien ominaisuuksia. Työn kokeellisessa osassa suunniteltiin kromatografisen laitteisto sekä tutkittiin sokerialkoholien ja sokerien kromatografista erotusta alikriittisen veden avulla lämpötiloissa 25–175 °C. Lisäksi tutkittiin sokerialkoholien, sokereiden ja stationäärifaasien termistä kestävyyttä. Tutkittavina komponentteina olivat sorbitoli, mannitoli, ksylitoli, arabinoosi, mannoosi, ksyloosi ja ramnoosi. Stationäärifaaseina käytettiin sekä makrohuokoista funktionalisoimatonta PS-DVB –polymeeriä että vahvaa ja heikkoa DVB:llä ristosilloitettua kationinvaihtohartsia sekä Na^+ - että Ca^{2+} -muodoissa.

Veden lämpötilan nostaminen vaikutti sekä kromatografisen stationäärifaasin että näytekomponenttien ominaisuuksiin. Lämpötilan nostaminen muutti veden aineominaisuuksia, jolloin poolittomien näytekomponenttien vesiliukoisuus parani. Veden lämpötilan nostaminen vaikutti myös stationäärifaasien käyttäytymiseen. Vahvoilla kationinvaihtimilla havaittiin termisten tilavuusmuutosten riippuvan ionimuodosta. Na^+ -muotoiset hartsit turposivat ja Ca^{2+} -muotoiset hartsit kutistuivat lämpötilan noustessa. Heikoilla kationinvaihtimilla havaittiin hartsin kutistumista molemmissa ionimuodoissa, mutta Ca^{2+} -muotoisen hartsin kutistuminen on paljon suurempaa kuin Na^+ -muotoisen. Hartsin ristosilloitusasteella havaittiin olevan vain vähän vaikutusta hartsien tilavuusmuutoksiin lämpötilan noston vaikutuksesta, mutta ionimuodolla vaikutti olevan ratkaiseva merkitys. Myös ainut tutkittu H^+ -muotoinen heikko kationinvaihtohartsi kutistui lämpötilan vaikutuksesta. Lämpökäsittelyn vaikutuksen pallosten muotoon ja pallojen särkymiseen havaittiin olevan hyvin pieni.

Näytekomponenttien termistä kestävyyttä tarkasteltaessa havaittiin sokerialkoholien kestävän paremmin korkeita lämpötiloja kuin sokerien. Komponenttien pitoisuuden noustessa hajoamistuotteiden osuus kasvoi lähes poikkeuksetta. Lämpötilan noustessa sokerien ja sokerialkoholien terminen hydrolyysi voimistui ja komponenttien rakenne alkoi hajota. Sokerialkoholien avoketjuinen rakenne on termisesti stabiilimpi kuin sokerien rengasmuoto. Sokerialkoholeista ksylitolin, ja sokereista ramnoosin havaittiin olevan termisesti kaikkein kestävimpiä. Kromatografajoissa havaittiin Na^+ -muotoisella heikoilla kationinvaihtohartsilla odottamaton kemiallinen ilmiö. Lämpötilassa 125 °C havaittiin Na^+ -muotoisen

heikon kationinvaihtimen hajottavan sokereita ja muodostavan ruskeaa, palavalta sokerilta haisevaa liuosta.

Kromatografiakokeissa havaittiin tutkittavien komponenttien piikkien kapenevan, häntimisen pienenevän, ja piikkien eluoituvan aikaisemmin lämpötilan noston vaikutuksesta riippumatta tutkittavasta stationäärifaasista. Erityisen selvästi tämä ilmiö oli havaittavissa vahvalla CS16GC-kationinvaihtimella. Verrattaessa vahvoja kationinvaihtimia CS16GC Na^+ - ja Ca^{2+} -muodossa havaittiin Ca^{2+} -muotoisen hartsin retentiotilavuuden olevan suurempi kuin Na^+ -muotoisen hartsin retentiotilavuuden erityisesti alhaisissa lämpötiloissa. Ca^{2+} -muotoisen hartsin tiedettiin muodostavan komplekseja sokerien ja sokerialkoholien kanssa [49]. Kompleksinmuodostus parantaa komponenttien erotusta, mutta se myös pidentää retentioaika ja kasvattaa piikin leveyttä, jolloin kromatografinen erotus ei välttämättä ole kovin tehokasta.

Tarkasteltaessa lähemmin lämpötilan noston vaikutusta kromatografisiin parametreihin havaittiin HETP:n pienenevän kaikilla kationinvaihtohartseilla. Vertailtaessa eri ionimuotoja havaittiin Ca^{2+} -muotoisten kationinvaihtohartsien HETP:n olevan paljon suurempi kuin vastaavien Na^+ -muotoisten kationinvaihtohartsien. Tämä johtui Ca^{2+} -muotoisen kationinvaihtohartsin edellä mainitusta kompleksinmuodostuksesta sokerien ja sokerialkoholien kanssa. Näytekomponenttien jakaantumiskvotien havaittiin kasvavan lämpötilan noustessa CS16GC (Na^+)- ja CA16GC (Na^+)-hartseilla. Tarkasteltaessa CS16GC (Ca^{2+})- ja CA16GC (Ca^{2+})-hartseja havaittiin sokerialkoholien jakautumiskvotien pienenevän lämpötilan noustessa. Mitattu diffuusiokerroin kasvoi kaikilla funktionalisoiduilla kationinvaihtohartseilla lämpötilan noustessa. Erotustekijä pieneni lämpötilan noustessa kaikilla tutkituilla stationäärifaaseilla. Ainostaan ramnoosin erottuminen huoneenlämpötilassa CA16GC (Na^+)- ja CA16GC (Ca^{2+})-kationinvaihtimilla havaittiin olevan tehokasta, mutta lämpötilan noustessa ramnoosin erottuminen muista komponenteista heikkeni.

Tässä työssä oli erityisen tärkeää havaita stationäärifaasin ja näytekomponenttien termisen kestävyuden määrittäminen ennen kromatografisia kokeita. Erotuksen paranemisesta ei voi tämän tutkimuksen perusteella tehdä sitovia johtopäätöksiä, koska kromatografisten ajojen toistettavuus oli huono. Tästä syystä tämän diplomityön kromatografiset tulokset kuvaavat vain ilmiötä: lämpötilan noustessa aikaansaatu sokeri- ja sokerialkoholipiikkien terävöitymistä. Muista kromatografisista parametreista tehdyt johtopäätökset ovat lähinnä

suuntaa-antavia. Uudella alikriittisen veden laitteistolla tehdyt kromatografiset mittaukset ovat paremmin toistettavia ja verrattaessa tässä työssä saatuihin mittaustuloksiin ne ovat hyvin samansuuntaisia. Alikriittinen kromatografia on täysin varteenotettava erotusmenetelmä, kun komponenttien ja stationäärifaasien terminen käyttäytyminen tunnetaan.

LÄHDELUETTELO

1. Laitinen, A., *Supercritical fluid extraction of organic compounds from solids and aqueous solutions*, VTT Technical Research Centre of Finland, Espoo, 1999, s.17-21.
2. Park, Y., Hool, J.N., Curtis, C.W., Roberts, C.B., Depolymerization of styrene-butadiene copolymer in near-critical and supercritical water, *Industrial Engineering Chemical Research*, **40** (2001), 756-767.
3. Xu, X., Matsumura, Y., Stenberg, J., Antal, M.J.Jr., Carbon-catalyzed gasification of organic feedstocks in supercritical water, *Industrial Engineering Chemical Research*, **35** (1996), 2522-2530.
4. Yang, Y., Hawthorne, S.B., Miller, D.J., Class-selective extraction of polar, moderately polar and nonpolar organics from hydrocarbon wastes using subcritical water, *Environmental Science Technology*, **31** (1997), 430-437.
5. Kuhlmann, B., Arnett, E.M., Siskin, M., Classical organic reactions in pure superheated water, *Journal of Organic Chemistry*, **59** (1994), 3098-3101.
6. Katritzky, A.R., Allin, S.M., Siskin, M., Aquathermolysis: reactions of organic compounds with superheated water, *Accounting Chemistry Research*, **29** (1996), 299-406.
7. Smith, R.M., Review: Supercritical fluids in separation science – the dreams, the reality and the future, *Journal of Chromatography A*, **859** (1999), 83-115.
8. Vailaya, A., Horváth, C., Solvophobic theory and normalized free energies of nonpolar substances in reversed phased chromatography, *Journal of Physical Chemistry B*, **101** (1997), 5875-5888.
9. Vailaya, A., Horváth, C., Exothermodynamic relationships in liquid chromatography, *Journal of Physical Chemistry B*, **102** (1998), 701-718.
10. Miller, D.J., Hawthorne, S.B., Subcritical water chromatography with flame ionization detection, *Analytical Chemistry*, **69** (1997), 623-627.
11. Hyötyläinen, T., Andersson, T., Hartonen, K., Kuosmanen, K., Riekkola, M-L., A pressurized hot water extraction coupled on-line with LC-GC: determination of polyaromatic hydrocarbons in sediment, *Analytical Chemistry*, **72** (2000), 3070-3076.
12. Yang, Y., Jones, A.D., Eaton, C.D., Retention behaviour of phenols, anilines, and alkylbenzenes in liquid chromatographic separations using subcritical water as the mobile phase, *Analytical Chemistry*, **71** (1999), 3808-3813.
13. Salvador, A., Herbretreau, B., Lafosse, M., Dreux, M., Subcritical fluid chromatography of monosaccharides and polyols using silica and trimethylsilyl columns, *Journal of Chromatography A*, **785** (1997), 195-204.

14. Pawlowski, T.M., Poole, C.F., Solvation characteristics of pressurized hot water and its use in chromatography, *Analytical Communication*, **36** (1999), 71-75.
15. Räsänen, E., *Alikriittinen vesi eluentsia preparatiivisessa kromatografiassa*, Opiskelijatyö, LTKK, Lappeenranta, 2000.
16. Laatikainen, M., *Literature review: The use of subcritical water in chromatography*, Chromfood-julkaisu, LTKK, Lappeenranta, 1999.
17. Haar, L., Gallagher, J.S., Kell, G.S., *NBS/NRC Steam Tables: Thermodynamic and transport properties and computer programs for vapor and liquid states of water in SI units*, Hemisphere Publishing Corporation, New York, 1984, s.266.
18. Eckert, C.A., Bush, D., Brown, J.S., Liotta, C.L., Tuning solvents for sustainable technology, *Industrial Engineering Chemical Research*, **39** (2000), 4615-4621.
19. Hartonen, K., *Supercritical fluid extraction and pressurized hot water extraction – novel environmentally friendly analytical techniques, biological and environmental applications*, Helsinki, 1999, s.11-58.
20. Laitinen, R., Toivonen j., *Yleinen ja epäorgaaninen kemia*, 13. painos, Otatieto Oy, 1982, s.146-147.
21. Smith, R.M., Burges, R.J., Chienthavorn, O., Stuttard, J.R., Application of superheated water as clean solvent for chromatography and extraction, *The 8th International Symposium on Supercritical Fluid Chromatography and Extraction*, July 12.-16. 1998 St. Louis, Missouri, USA, s.L57.
22. Gorbaty, Y.E., Gupta, R.B., The structural features of liquid and supercritical water, *Industrial Engineering Chemical Research*, **37** (1998), 3026-3035.
23. Miller, D.J., Yang, Y., Grabanski, C.B., Lagadec, A.J-M., Hageman, K.J., Belghazi, M., Hawthorne, S.B., Extraction and chromatography with subcritical water, *The 8th International Symposium on Supercritical Fluid Chromatography and Extraction*, July 12.-16. 1998 St. Louis, Missouri, USA, s.L55.
24. Miller, D.J., Hawthorne, S.B., Method for determining the solubilities of hydrophobic organics in subcritical water, *Analytical Chemistry*, **70** (1998), 1618-1621.
25. Pawlowski, T.M., Poole, C.F., Extraction of thiabendazole and carbendazim from foods using pressurized hot (subcritical) water for extraction: a feasibility study, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **46** (1998), 3124-3132.
26. Crescenzi, C., D'Ascenzo, G., Di Corcia, A., Nazzari, M., Marchese, S., Samperi, R., Multiresidue herbicide analysis in soil: subcritical water extraction with on-line sorbent trap, *Analytical Chemistry*, **71** (1999), 2157-2163.
27. Sirola, K., *Mustaherukan puristejäännöksen uutto alikriittisellä vedellä*, Bachelortyö, LTKK, Lappeenranta, 2001.

28. Basilie, A., Clifford, M., Clifford, J-C., Clifford, A., Extraction of rosemary by superheated water, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, (1998), 5205-5209.
29. Inoue, S., Asaga, M., Ogi, T., Yazaki, Y., Extraction of polyflavonoids from Radiata pine bark using hot compressed water at temperatures higher than 100 °C, *Holzforshung*, **52(2)** (1998), 139-144.
30. Smith, R.M., Chienthavorn, O., Wilson, I.D., Wright, B., Taylor, S.D., Superheated heavy water as the eluent for HPLC-NMR and HPLC-NMR-MS of model drugs, *Analytical Chemistry*, **71** (1999), 4493-4497.
31. Yang, Y., Belghazi, M., Lagadec, A., Miller, D.J., Hawthorne, S.B., Elution of organic solutes from different polarity sorbents using subcritical water, *Journal of Chromatography A*, **810** (1998), 149-159.
32. Weast, R.C. ed., *CRC handbook of chemistry and physics*, 58th Ed., CRC Press Inc, USA, 1978, s.C-771-778.
33. <http://www.spipolyols.com/allpolyol.htm> (23.02.2001)
34. <http://www.chemfinder.cambridgesoft.com/result.asp> (23.02.2001)
35. http://www.dsen.workspace.idkomma.nu/about_sugar/sweetlex.htm (23.02.01)
36. http://www.mikrochem.com/html/rare_saccharides.htm (23.02.01)
37. <http://www.jtbaker.com/msds/a7284.htm> (23.02.01)
<http://www.jtbaker.com/msds/m0858.htm> (23.02.01)
38. Potter, N.N., Hotchkiss, J.H., *Food Science*, 5th Ed., An Aspen Publication Aspen Publishers, Inc., Maryland, 1998, 26, 469.
39. Slodki, M.E., Smiley, M.J., Hensley, D.E., US-patent, Production of mannans by fermentation, Jan.30 (1973), 3 713 979.
40. Melaja, A.J., Hämäläinen, L., US-patent, Process for making xylitol, Feb.15 (1977), 4 008 285.
41. Susumu, H., Ju'ichi, A., Shigemitsu, O., Shuichi,S., Kiyoshi,S., EP-patent, Process for producing L-arabinose by acid hydrolysis method, Apr. 24 (1999), 1 076 100 A1.
42. Hatanaka, M., Yokoyama, E., Sano, M., Kumazawa, S., Takagi, T., US-patent, Process for producing highly pure rhamnose from gum arabic, Sep. 20 (1988), 4 772 334.
43. Morrison, R.T., Boyd, R.N., *Organic Chemistry*, 3th Ed., Allyn and Bacon Inc., Boston, 1975, s.1070-1131.

44. Nojiri, S., Taguchi, N., Oishi, M., Suzuki, S., Determination of sugar alcohols in confectioneries by high-performance liquid chromatography after nitrobenzoylation, *Journal of Chromatography A*, **893** (2000), 195-200.
45. Kaushik, J.K., Bhat, R., Thermal stability of proteins in aqueous polyol solutions: role of the surface tension of water in the stabilizing effect of polyols, *Journal of Physical Chemistry B*, **102** (1998), 7058-7066.
46. <http://www.britannica.com/> (10.05.2001)
47. Ghoresihi, S.M., Sharifi, S., Modeling of supercritical extraction of mannitol from plane tree leaf, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **24** (2001), 1037-1048.
48. Hicks, K.B., High-performance liquid chromatography of carbohydrates, *Advanced Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, **46** (1988), 26.
49. Dorfner, K. ed. *Ion Exchangers*, 4th Ed., Walter de Gruyter & Co, New York, 1990, s.1029-1060, 324, 85-89.
50. Angyal, S.J., Bethell, G.S., Beveridge R.J., Complexes of carbohydrates with metal cations. Part X. The separation of sugars and of polyols on cation-exchange resins in the calcium form, *Carbohydrate Research*, **73** (1979), 9-18.
51. Angyal, S.J., Complexes of metal cations with carbohydrates in solution, *Advanced Carbohydrate Chemical Biochemistry*, **47** (1989), 1-43.
52. Goulding, R.W., Liquid chromatography of sugars and related polyhydric alcohols on cation exchangers. Effect of cation variation, *Journal of Chromatography*, **103** (1975), 229-239.
53. 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, *accepted in Chemical Engineering Communications*, 2001.
54. Cerda, B.A., Wesdemiotis, C., Thermochemistry and structures of Na⁺ coordinated mono- and disaccharide stereoisomers, *International Journal of Mass Spectrometry*, **189** (1999), 189-204.
55. Nattorp, A., Graf, M., Spühler, C., Renken, A., Model for random hydrolysis and end degradation of linear polysaccharides: application to the thermal treatment of mannan in solution, *Industrial Engineering Chemical Research*, **38** (1999), 2919-2926.
56. <http://www.salt.com/faq.htm> (10.10.2001)
57. Kabyemela, B.M., Adschiri, T., Malaluan, R.M., Arai, K., Glucose and fructose decomposition in subcritical and supercritical water: detailed reaction pathway, mechanisms and kinetics, *Industrial Engineering Chemical Research*, **38** (1999), 2888-2895.

58. Kabyemela, B.M., Adschiri, T., Malaluan, R.M., Arai, K., Glucose and fructose decomposition in subcritical and supercritical water, *Industrial Engineering Chemical Research*, **36(5)** (1997), 1552-1558.
59. Kabyemela, B.M., Adschiri, T., Malaluan, R.M., Arai, K., Rapid and selective conversion of glucose to erythrose in supercritical water, *Industrial Engineering Chemical Research*, **36** (1997), 5063-5067.
60. Kabyemela, B.M., Adschiri, T., Malaluan, R.M., Arai, K., Mechanism and kinetics of cellobiose in sub- and supercritical water, *Industrial Engineering Chemical Research*, **37** (1998), 357-361.
61. Hollnager, A., Kroh, L.W., Degradation of oligosaccharides in nonenzymatic browning by formation of α -dicarbonyl compounds via a "peeling off" mechanism, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **48** (2000), 6219-6226.
62. Friedman, M., Reviews: Food browning and its prevention: an overview, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44(3)** (1996), 631-633.
63. Petruzzelli, D., Mascolo, G., Barile, G., Tiravanti, G., Marton, A., STDS study for the identification of released compounds from commercial ion-exchange resins, *Reactive & Funktional Polymers*, **35** (1997), 89-98.
64. Kirk-Othmer (Ed.) *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol. 14, 4th Ed., John Wiley & Sons Inc., USA, 1995.
65. *Dowex Ion Exchange Resins*, Practical Guidelines, Manufacturers instructions, Dow Chemicals Company.
66. Marinov, V., Mitoc, D., Studies of the self-ignition of high-molecular substances at low temperatures, Part I Thermooxidative degradation of a polystyrene sorbent and of a methacrylic acid polymer, *Journal of Thermal Analysis*, **7** (1975), 95-110.
67. Fisher, S., The effect of temperature on rate of exchange of carboxylic cation resins, *Reactive & Functional Polymers*, **35** (1997), 23-28.
68. Dubois, M.A., Dozol, J.F., Massiani, C., Ambrosio, M., Reactivities of polystyrenic polymers with supercritical water under nitrogen or air. Identification and formation of degradation compounds, *Industrial Engineering Chemical Research*, **35** (1996), 2743-2747.
69. Bhatia, S., *Zeolite catalysis: principles and applications*, CRC Press Inc., Florida, 1990, s.7, 233-235.
70. Ruthven, M.D., *Principles of adsorption and adsorption processes*, John Wiley & Sohns Inc., New York, 1984, s.9-10.
71. Rabo, J.A., *Zeolite chemistry and catalysis*, ACS Monograph 171, American Chemical Society, Washington, 1976, s.286-287.

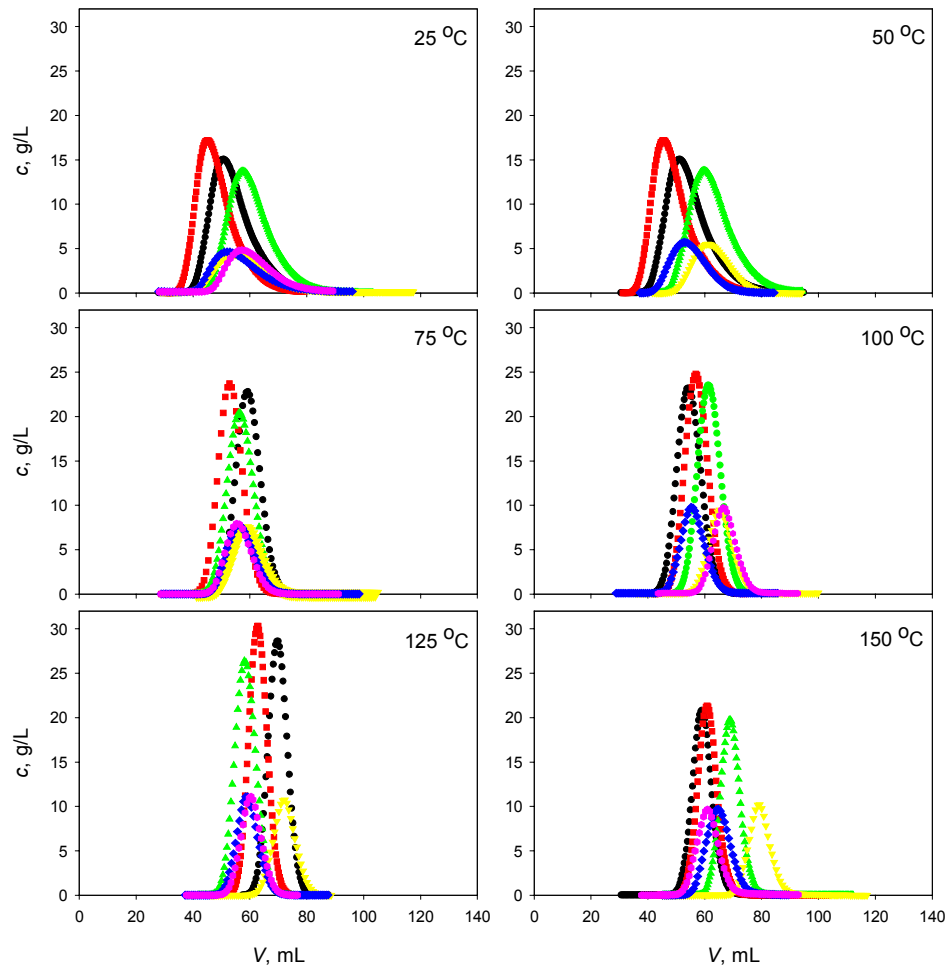
72. Jandera, P., Churáček, J., Ion-exchange chromatography of aldehydes, ketones, ethers, alcohols, polyols and saccarides, *Journal of chromatography*, **98** (1974), 55-104.
73. Krappe, M., Hawthorne, S.B., Wenclawiak, B.W., Heterogenic catalytic hydrolysis and analysis of natural pyrethrins in subcritical water coupled with solid phase microextraction (SPME) and GC-MC, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, **364** (1999), 625-630.
74. Rückert, H., Samuelson, O., Adsorption of sugars on ion exchangers from ethyl alcohol-water solutions, *Svensk Kemi Tidskrifning*, **66**(12) (1954), 337-344.
75. Mattisson, M., Samuelson, O., The sorption of polyalcohols from aqueous alcohol by cation exchange resins, *Acta Chemica Scandinavica* **12** (1958), 1395-1404.
76. Armstrong, D.W., Jin, H.L., Evaluation of the liquid chromatographic separation of monosaccharides, disaccharides, trisaccharides, tetrasaccharides, deoxysaccharides and sugar alcohols with stable cyclodextrin bonded phase columns, *Journal of Chromatography*, **462** (1989), 223-231.
77. Paavilainen, J., Seoseluenttien vaikutus maltolin kromatografiseen erotukseen, *Diplomityö*, LTKK, Lappeenranta, 1998.
78. Äänismaa, P., Akryylipohjaisten ioninvaihtohartsien karakterisointi ja soveltuvuus kromatografiseen erotukseen, *Diplomityö*, LTKK, Lappeenranta, 2000.
79. Ma, Y.H., Lin, Y.S., A comparative chromatographic study of liquid adsorption and diffusion in microporous and macroporous adsorbents, *Industrial Engineering Chemical Research*, **28** (1989), 622-630.
80. Baumann, F., *Column Theory*, in Basic Liquid Chromatography, Chapter 3, Baumann, F., Hadden, N., Eds., Varian Aerograph, California 1972.
81. McCabe, W.L., Smith, J.C., Harriot, P., *Unit operations of chemical engineering*, 5th Ed., McGraw-Hill International Editions, pp. 826, Singapore, 1993.
82. Riekkola M-L. Ed., *Kromatografiasanasto IUPAC:in suosituksset 1993*, Suomen Kemian Seura, Kowapaino Oy, Helsinki, 1995.
83. Coulson, J.M., Richardson, J.F., Backhurst, J.R., Harker. J.H., *Chemical Engineering*, Vol.2, 4th Ed., Butterworth-Heinemann, pp.823, 827, Oxford, 1991.
84. Karjalainen, L., Ruuskanen, A., *Tilastomatematiikka*, 2nd Ed., Pii-Kirjat Ky, pp.50, Mikkeli, 1990.

LIITTEET

- LIITE I: Näytekomponenttien kromatogrammit.
- LIITE II: Näytekomponenttien termisen kestävyuden määrittäminen HPLC-kokein.
- LIITE III: Hartsien mikroskooppikuvat.
- LIITE IV: Laskennassa käytettyjen tietokoneohjelmien listaus.

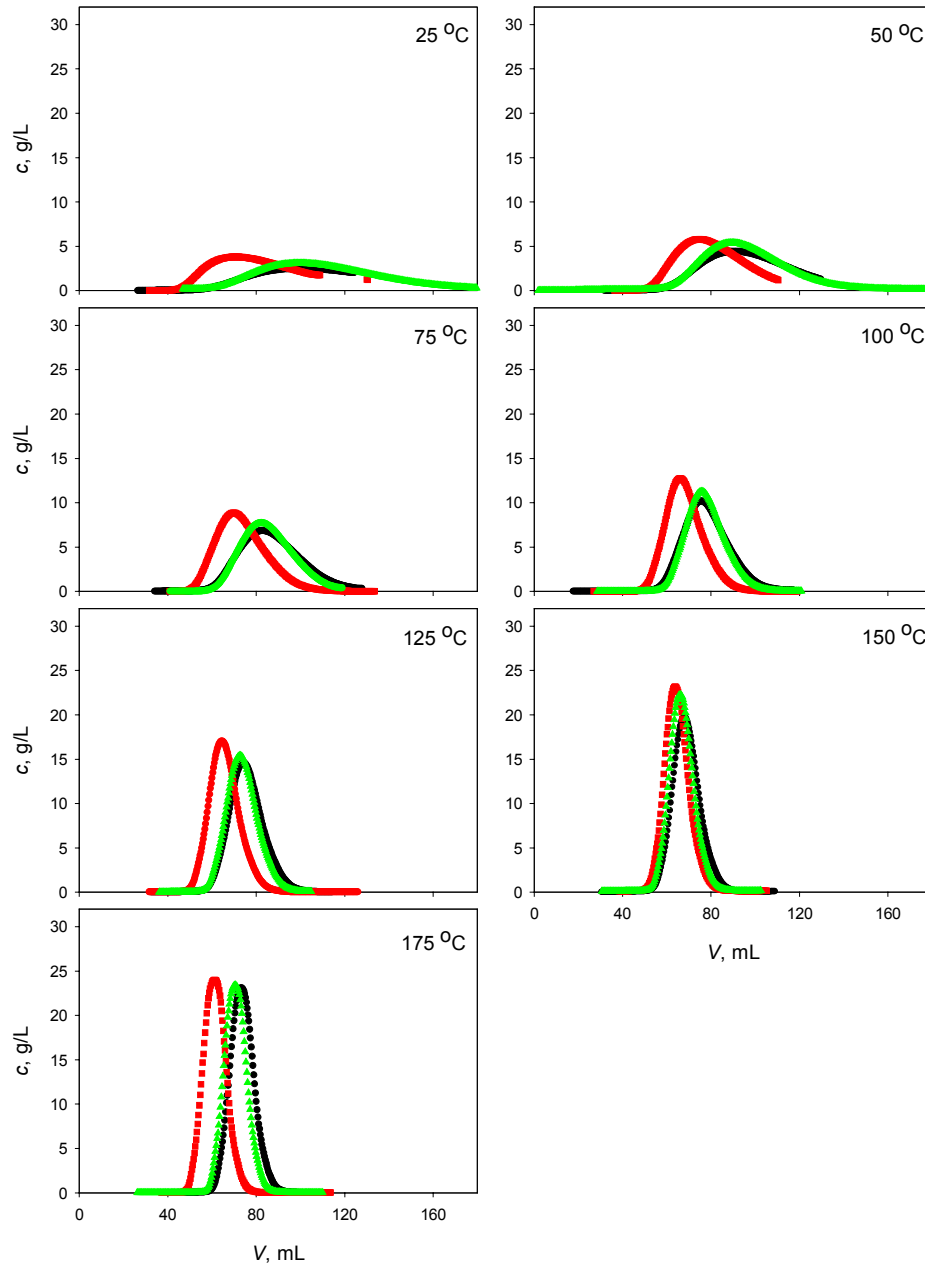
NÄYTEKOMPONENTTIEN KROMATOGRAMMIT

Työn kokeellisessa osassa tutkittiin sokerialkoholien ja sokerien kromatografista erotusta alikriittisen veden avulla lämpötiloissa 25-175 °C. Kromatografia-ajoissa tutkittiin sokerialkoholeista sorbitolia, mannitolia ja ksylitolia, sekä sokereista arabinoosia, mannoosia ja ksyloosia. Stationääri faaseina käytettiin vahvoja kationinvaihtimia (CS16GC (Na⁺) ja CS16GC (Ca²⁺)), heikkoja kationinvaihtohartseja (CA12GC (Na⁺), CA16GC (Na⁺) ja CA16GC (Ca²⁺)), sekä makrohuokoista polymeeriä (PS-DVB 24M). Vahvat hartsit olivat polystyreeni-divinylibentseeni runkoisia ja heikot hartsit DVB:llä ristsilloitettuja akrylihartseja. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38-0,70. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näyteaineiden pitoisuudet olivat 50, 30 ja 20 g/L. Näyteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Kuissa 1-7 on esitetty sokerialkoholien ja sokerien eluuti tilavuuksien muutokset lämpötilan noustessa eri stationääri faaseilla. Kuissa 8-14 on sokerialkoholien ja sokerien eluuti tilavuuden muutokset lämpötilan noustessa eri komponenteilla. Taulukoissa I-VI on kromatogrammeista lasketut sokerien ja sokerialkoholien kromatografiset parametrit eri stationääri faaseille.



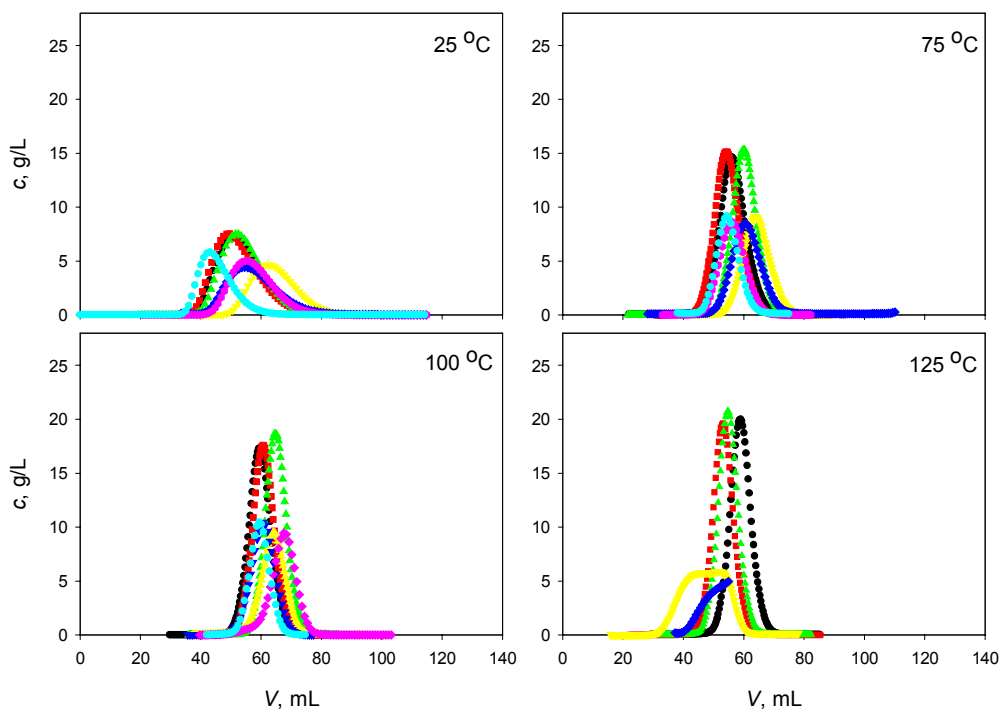
Kuva 1.

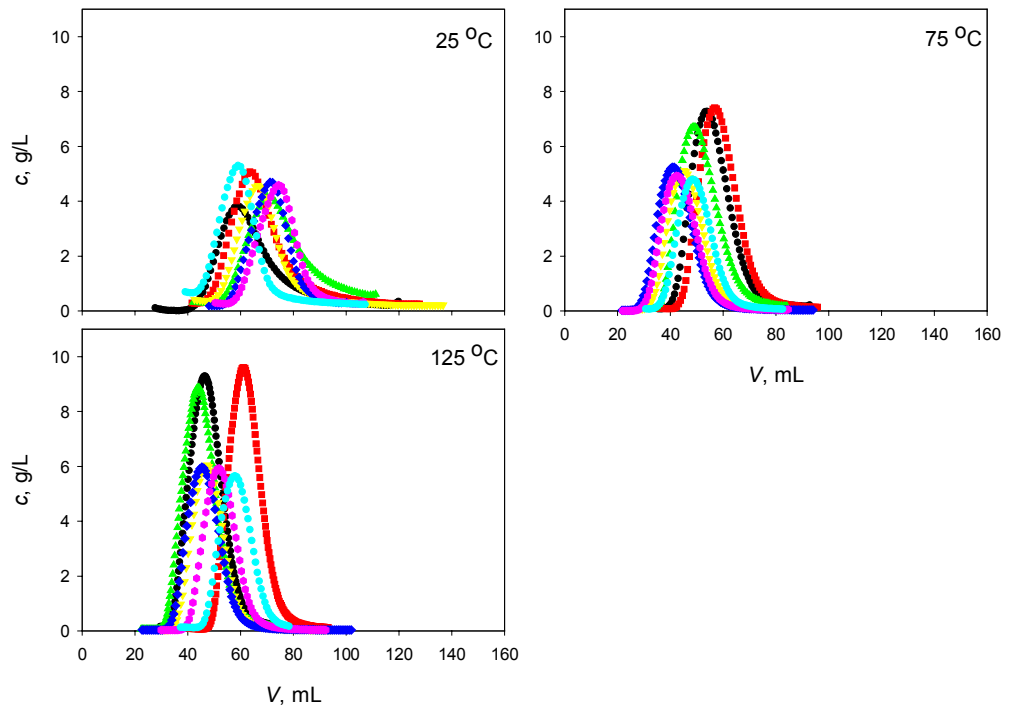
Lämpötilan noston vaikutus sokerialkoholien ja sokerien eluuti tilavuuden muutokseen, kun stationääri faasina oli CS16GC (Na⁺)-hartsi. Kromatografiakokeissa tutkitut komponentit olivat: ● sorbitoli, ■ mannitoli, ▲ ksylitoli, ▼ arabinoosi, ◆ mannoosi ja ● ksyloosi. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 26,8–27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38-0,40. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteen-syöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Näyteaineiden pitoisuudet olivat 50 ja 20 g/L.



Kuva 2.

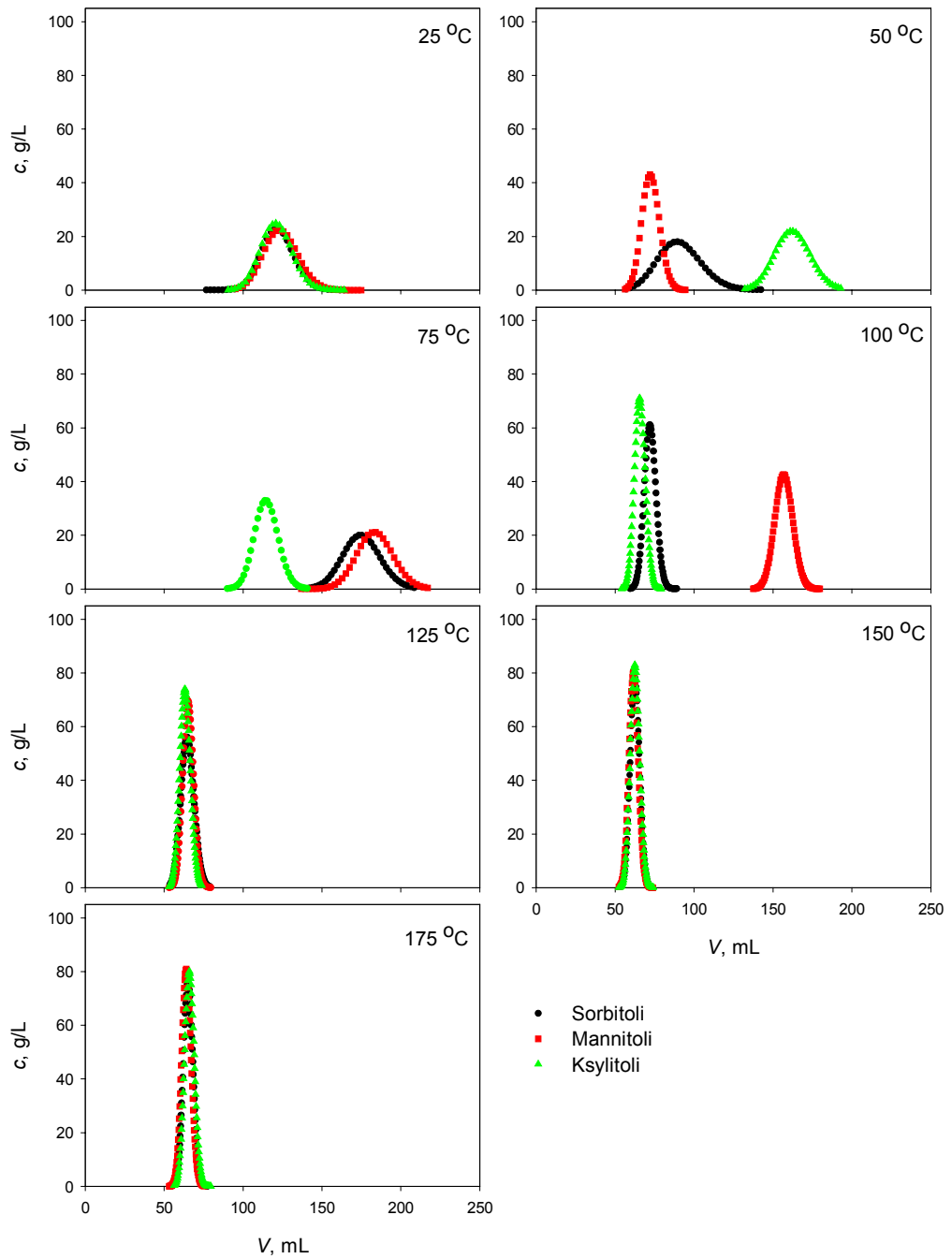
Lämpötilan noston vaikutus sokerialkoholien eluutiivilavuuden muutoksiin, kun stationääri faasina oli CS16GC (Ca^{2+})-hartsii. Kromatografiakokeissa tutkitut komponentit olivat: ● sorbitoli, ■ mannitoli ja ▲ ksylitoli. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 25,1–27,1 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,41–0,63. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näyteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Näyteaineiden pitoisuudet olivat 50 ja 30 g/L.





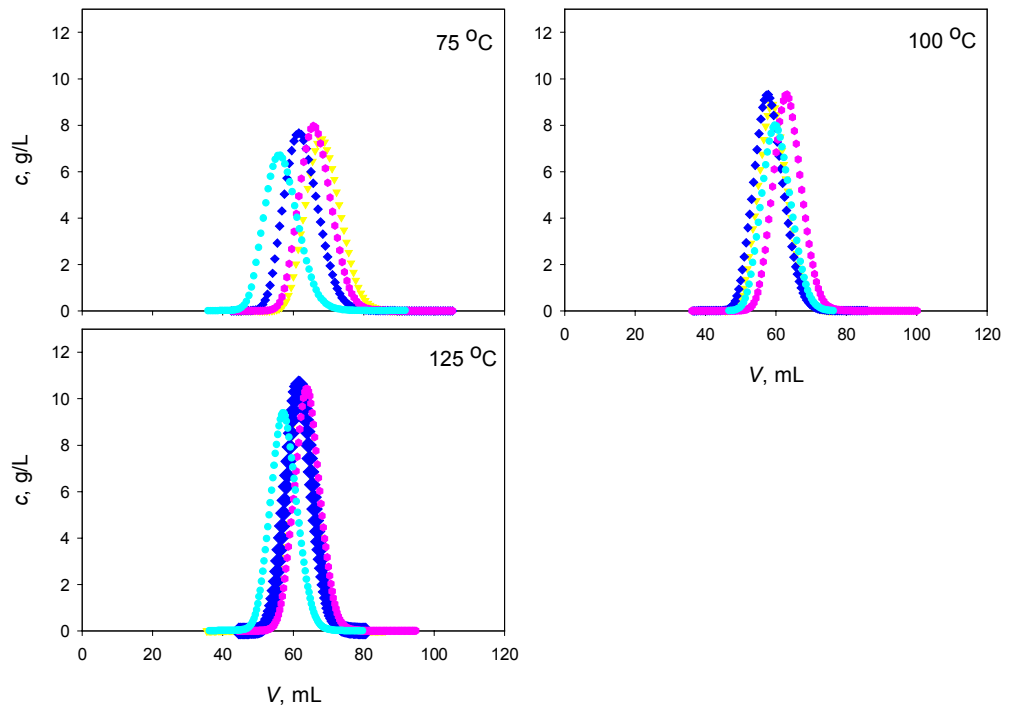
Kuva 4.

Lämpötilan noston vaikutus sokerialkoholien ja sokerien eluutiotilavuuden muutokseen, kun stationäärifaasina oli CA16GC (Ca^{2+})-hartsia. Kromatografiakokeissa tutkitut komponentit olivat: ● sorbitoli, ■ mannitoli, ▲ ksylitoli, ▼ arabinoosi, ◆ mannoosi, ● ksyloosi, ● ramnoosi. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–20,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,76–0,91. Kolonin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteensyötösilmukan tilavuus oli 5 mL. Näyteaineiden pitoisuudet olivat 30 ja 20 g/L.



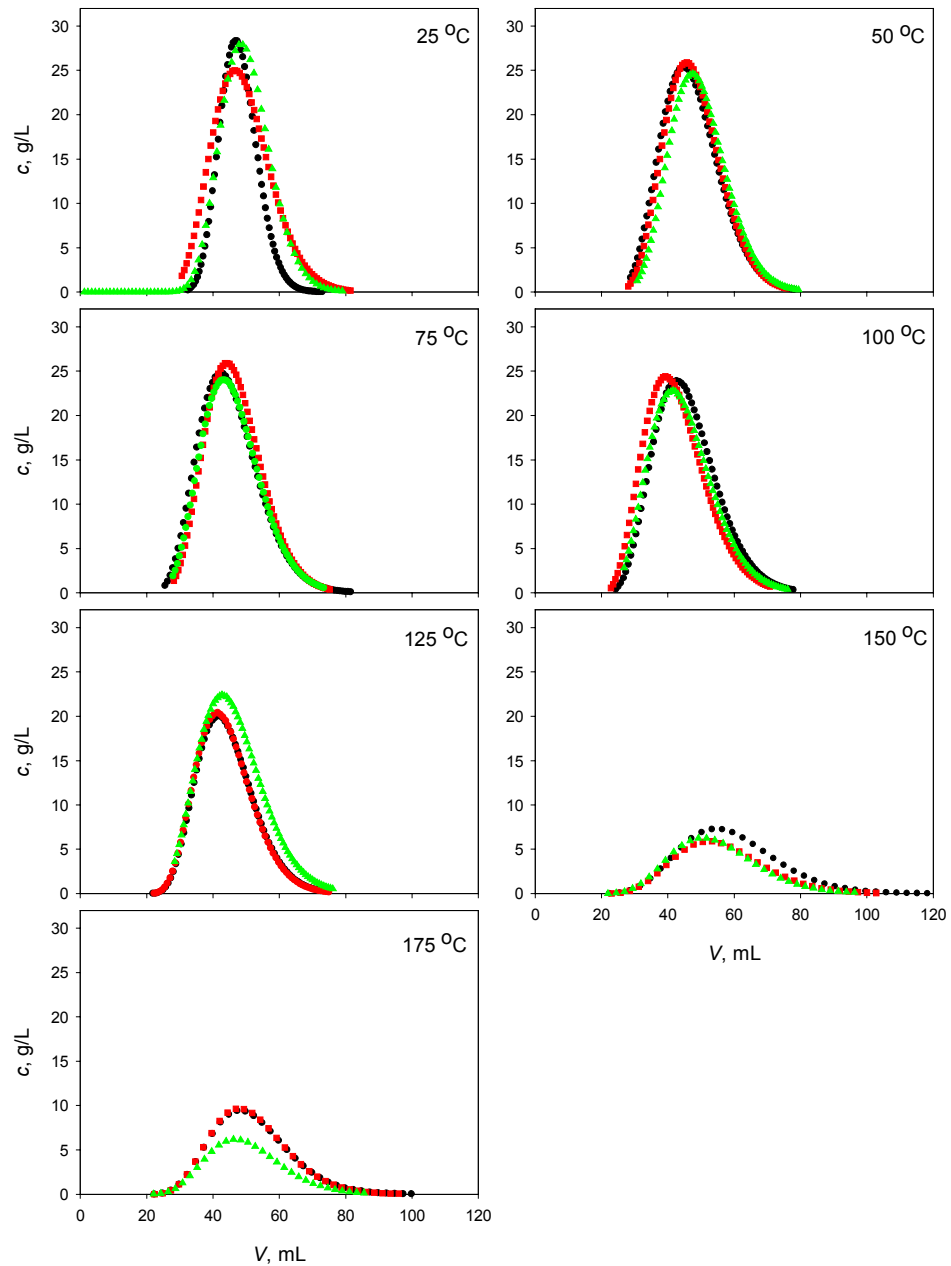
Kuva 5.

Lämpötilan noston vaikutus sokerialkoholien eluutiotilavuuden muutoksiin, kun stationääri faasina oli CA12GC (Na^+)-hartsi. Kromatografiakokeissa tutkitut komponentit olivat: ● sorbitoli, ■ mannitoli ja ▲ ksylimoli. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 23,2–26,7 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,44–0,70. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näyteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Näyteaineiden pitoisuudet olivat 50 g/L.



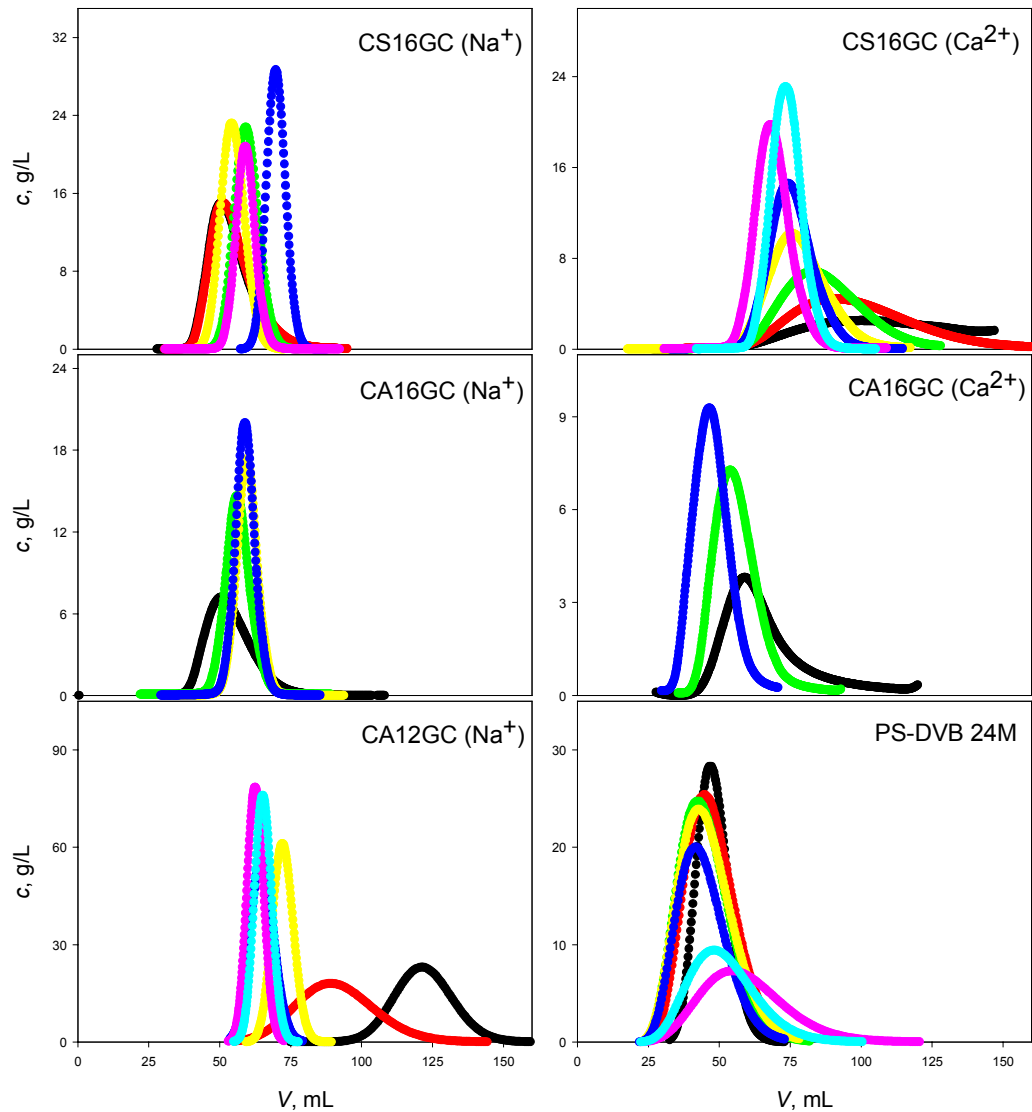
Kuva 6.

Lämpötilan noston vaikutus sokerien eluutiivilavuuden muutokseen, kun stationääri-faasina oli CS16GC (Na^+)-hartsi (toistokoe). Kromatografiakokeissa tutkitut komponentit olivat: \blacktriangledown arabinoosi, \blacklozenge mannoosi, \bullet ksyloosi ja \bullet ramnoosi. Petikorkeus oli 28,7 cm, ja petihuokoisuus oli 0,40. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Näyteaineiden pitoisuudet olivat 20 g/L.



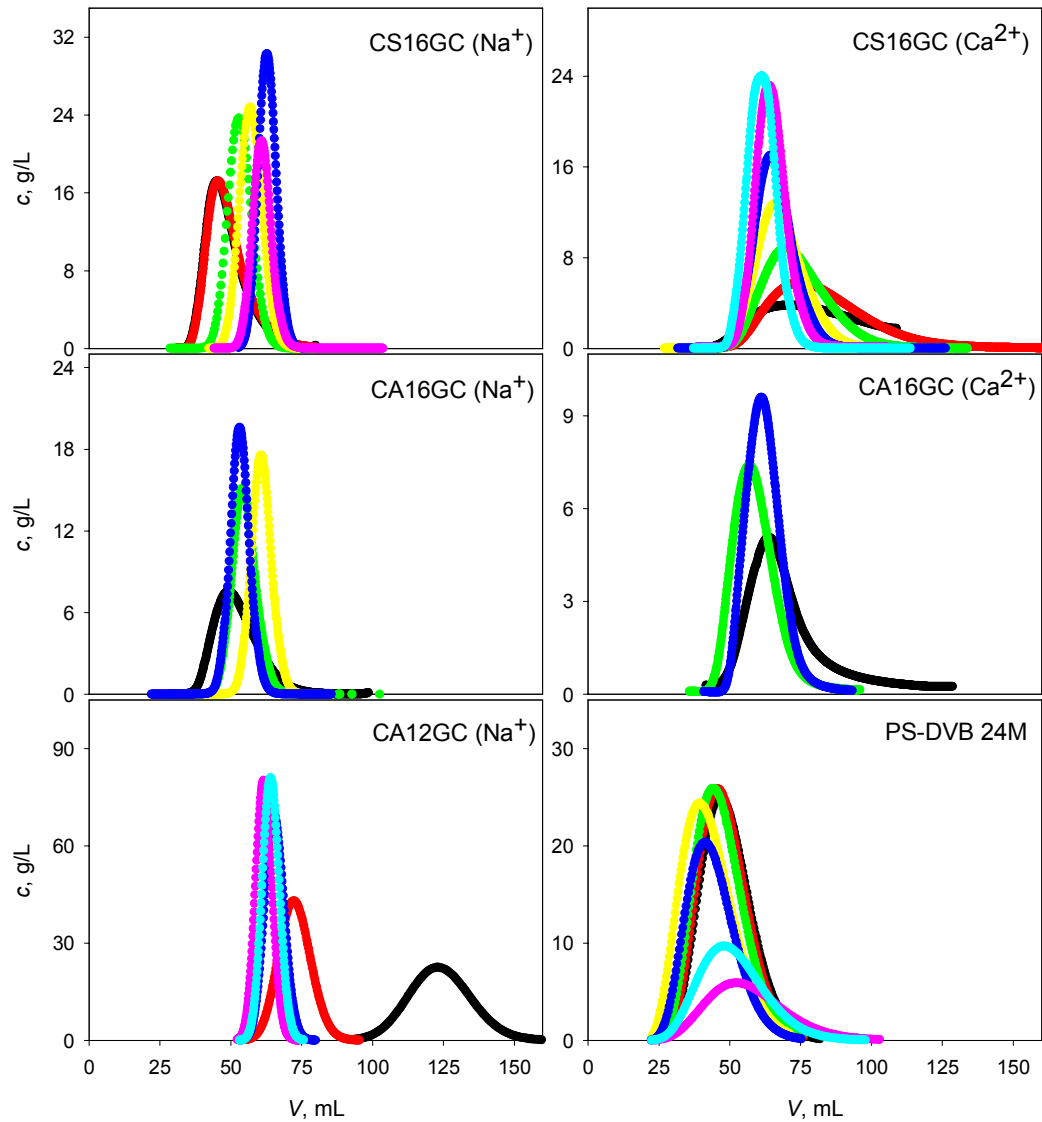
Kuva 7.

Lämpötilan noston vaikutus sokerialkoholien eluutiivilavuuden muutoksiin, kun stationäärifaasina oli PS-DVB 24M-polymeeri. Kromatografia-kokeissa tutkitut komponentit olivat: ● sorbitoli, ■ mannitoli ja ▲ ksylitoli. Petikorkeus oli 26,7 cm, ja petihuokoisuus oli 0,53. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Näyteaineiden pitoisuudet olivat 50 g/L.



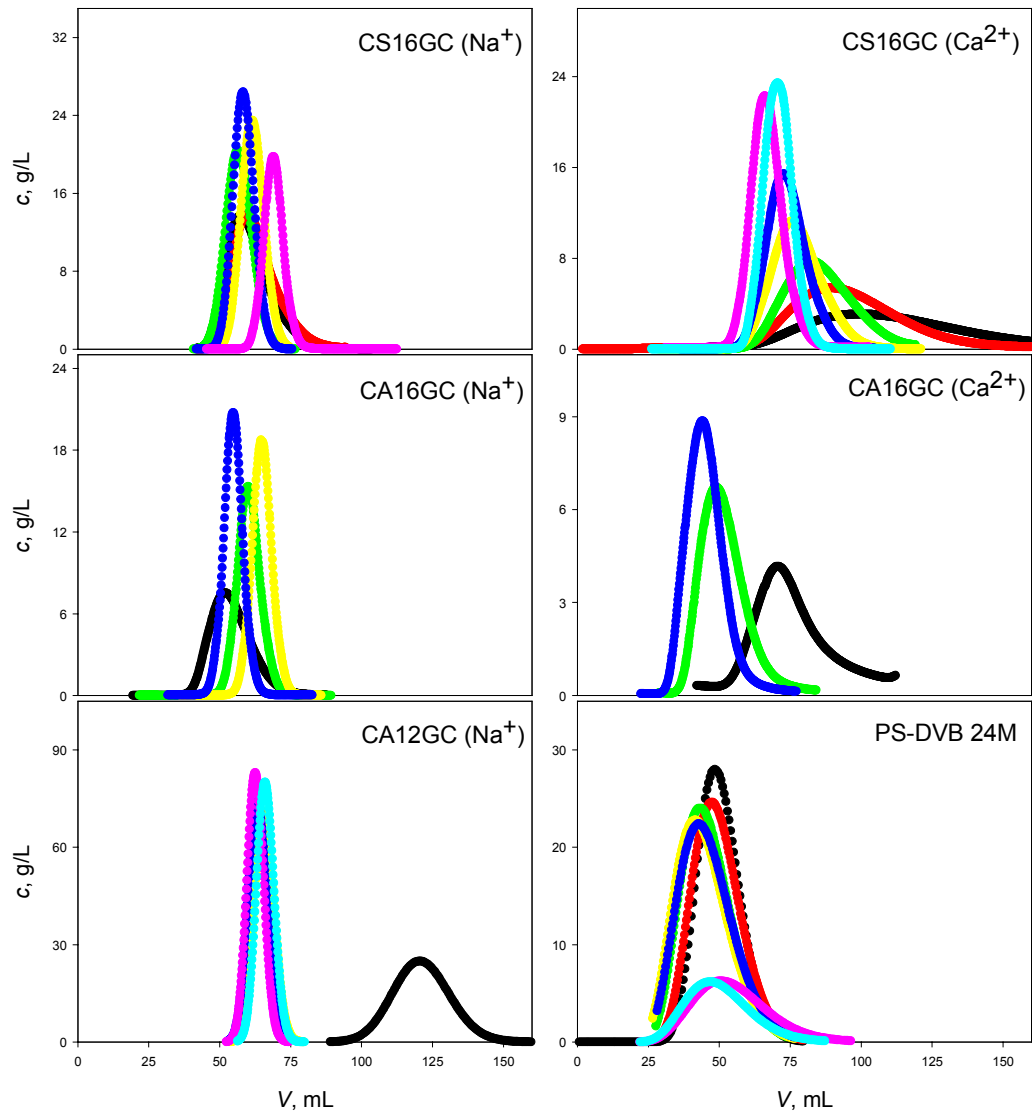
Kuva 8.

Sorbitoli. Syöttöpitoisuus oli makrohuokaisen polymeerin kohdalla 100 g/L akryyli- ja Ca²⁺-muotoisen hartsin kohdalla 50 g/L ja Na⁺-muotoisen hartsin kohdalla 30 g/L. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,70. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteenäytösilmukan tilavuus oli 5 mL. Kuvia tulkitessa tulee huomioida hartsipedin eläminen lämpötilan vaikutuksesta. Kuvan värit vastaavat seuraavia lämpötiloja: 25 °C musta, 50 °C punainen, 75 °C vihreä, 100 °C keltainen, 125 °C tummansininen, 150 °C vaaleanpunainen ja 175 °C vaaleansininen.



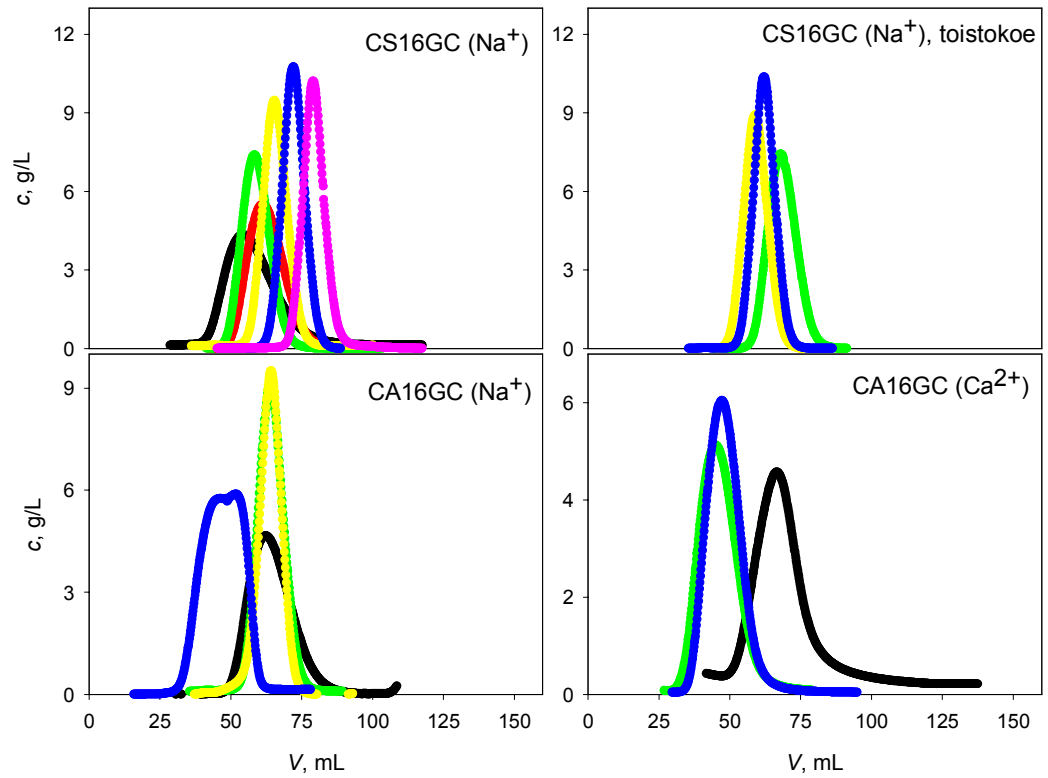
Kuva 9.

Mannitoli. Syöttöpitoisuus oli makrohuokaisen polymeerin kohdalla 100 g/L, akryyli- ja Ca^{2+} -muotoisen hartsin kohdalla 50 g/L ja Na^+ -muotoisen hartsin kohdalla 30 g/L. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–27,8 cm ja petihuokaisuudet välillä 0,38–0,70. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Kuvia tulkitessa tulee huomioida hartsipedin eläminen lämpötilan vaikutuksesta. Kuvan värit vastaavat seuraavia lämpötiloja: 25 °C musta, 50 °C punainen, 75 °C vihreä, 100 °C keltainen, 125 °C tummansininen, 150 °C vaaleanpunainen ja 175 °C vaaleansininen.



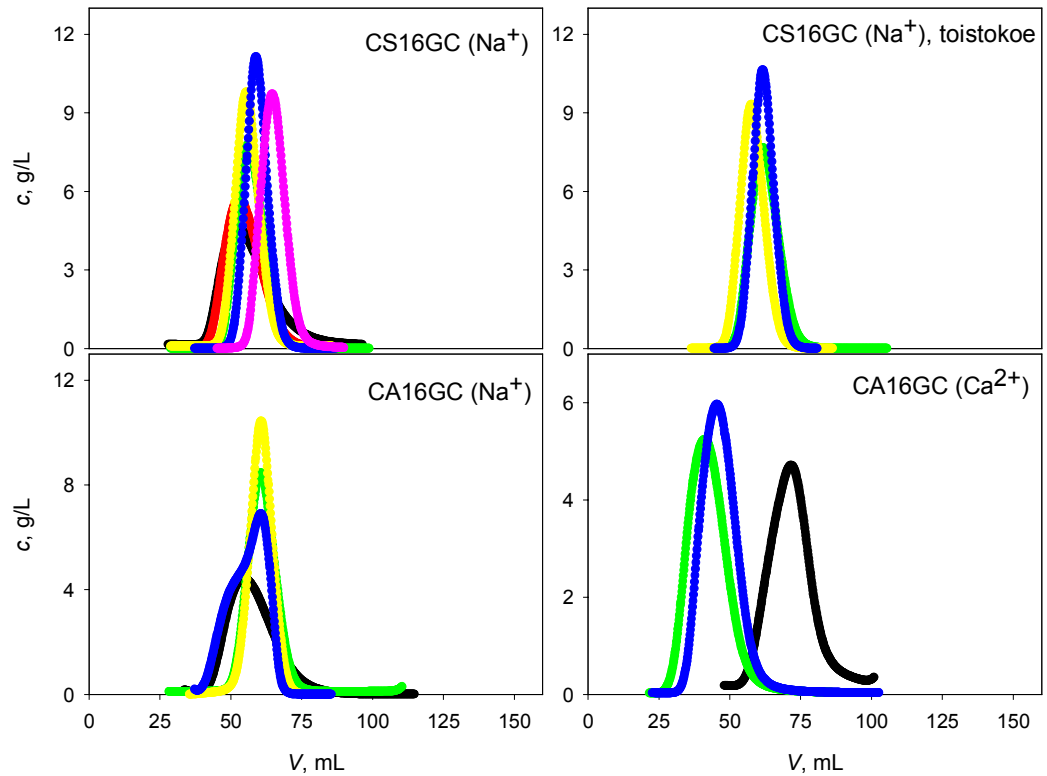
Kuva 10.

Ksylitoli. Syöttöpitoisuus oli makrohuokoisen polymeerin kohdalla 100 g/L akryyli- ja Ca²⁺-muotoisen hartsin kohdalla 50 g/L ja Na⁺-muotoisen hartsin kohdalla 30 g/L. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,70. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Kuvia tulkitessa tulee huomioida hartsipedin eläminen lämpötilan vaikutuksesta. Kuvan värit vastaavat seuraavia lämpötiloja: 25 °C musta, 50 °C punainen, 75 °C vihreä, 100 °C keltainen, 125 °C tummansininen, 150 °C vaaleanpunainen ja 175 °C vaaleansininen.



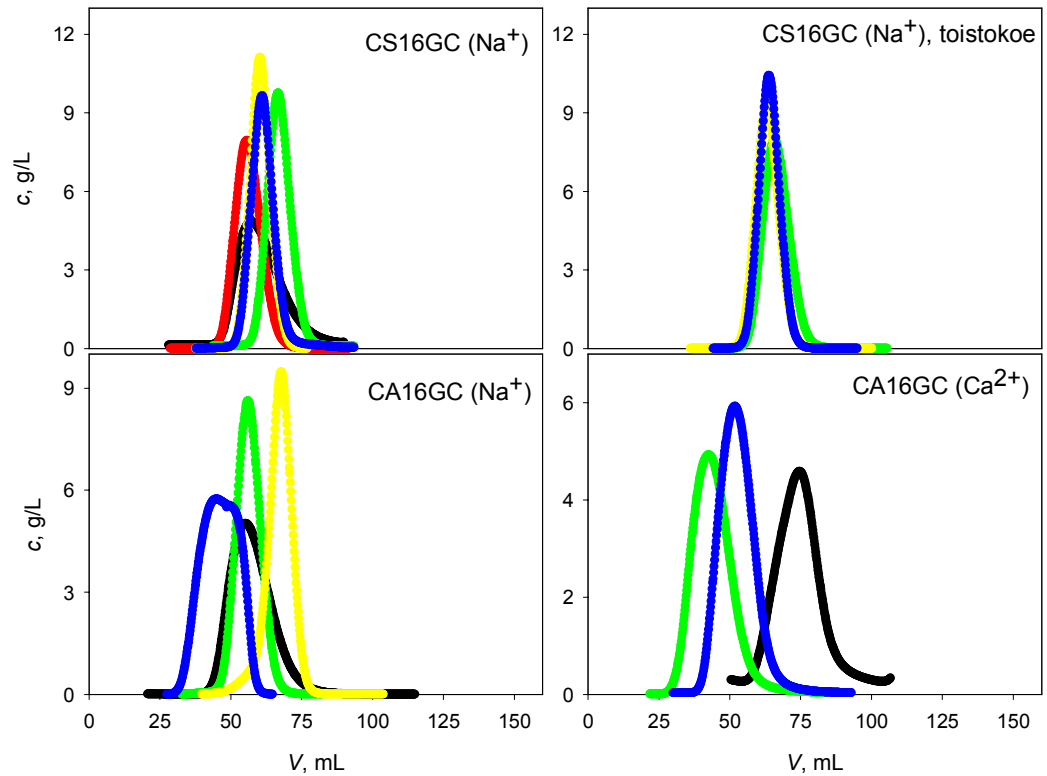
Kuva 11.

Arabinoosi. Syöttöpitoisuus oli 20 g/L. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,70. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Kuvia tulkitessa tulee huomioida hartsipedin eläminen lämpötilan vaikutuksesta. Kuvan värit vastaavat seuraavia lämpötiloja: 25 °C musta, 50 °C punainen, 75 °C vihreä, 100 °C keltainen, 125°C tummansininen, 150 °C vaaleanpunainen ja 175°C vaaleansininen.



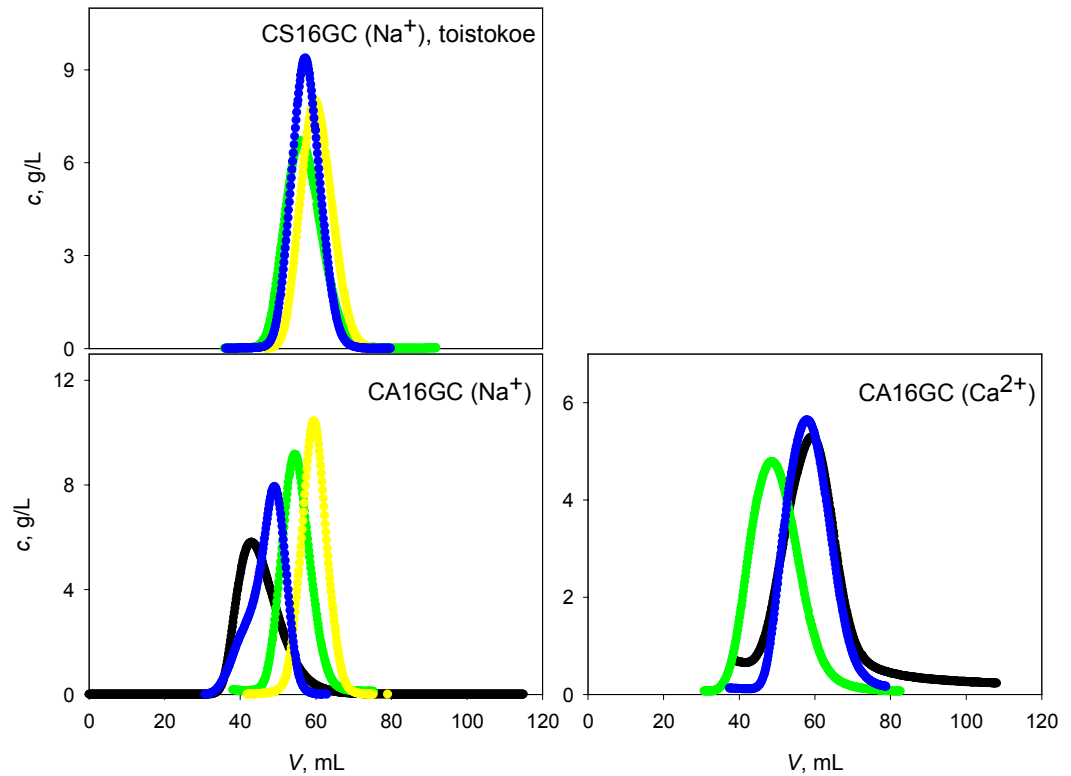
Kuva 12.

Mannoosi. Syöttöpitoisuus oli 20 g/L. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,70. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Kuvia tulkitessa tulee huomioida hartsipedin eläminen lämpötilan vaikutuksesta. Kuvan värit vastaavat seuraavia lämpötiloja: 25 °C musta, 50 °C punainen, 75 °C vihreä, 100 °C keltainen, 125 °C tummansininen, 150 °C vaaleanpunainen ja 175 °C vaaleansininen.



Kuva 13.

Ksyloosi. Syöttöpitoisuus oli 20 g/L. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,70. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Kuvia tulkitessa tulee huomioida hartsipedin eläminen lämpötilan vaikutuksesta. Kuvan värit vastaavat seuraavia lämpötiloja: 25 °C musta, 50 °C punainen, 75 °C vihreä, 100 °C keltainen, 125 °C tummansininen, 150 °C vaaleanpunainen ja 175 °C vaaleansininen.



Kuva 14. Ramnoosi. Syöttöpitoisuus oli 20 g/L. Petikorkeudet vaihtelivat välillä 14,7–27,8 cm ja petihuokoisuudet välillä 0,38–0,70. Kolonnin halkaisija oli 2,0 cm ja virtausnopeus oli 2 mL/min. Näytteensyöttösilmukan tilavuus oli 5 mL. Kuvia tulkitessa tulee huomioida hartsipedin eläminen lämpötilan vaikutuksesta. Kuvan värit vastaavat seuraavia lämpötiloja: 25 °C musta, 50 °C punainen, 75 °C vihreä, 100 °C keltainen, 125 °C tummansininen, 150 °C vaaleanpunainen ja 175 °C vaaleansininen.

Taulukoissa I-VI on kromatogrammeista lasketut sokerialkoholien ja sokerien kromatografiset parametrit eri lämpötiloissa, kun stationääri faaseina käytettiin Finex'in CS16GC (Na⁺)-, CS16GC (Ca²⁺)-, CA16GC (Na⁺)-, CA16GC (Ca²⁺)-, CA12GC (Na⁺)-kationinvaihtohartseja, sekä PS-DVB 24M-polymeeriä.

Taulukko I Sokerialkoholien ja sokerien kromatografiset parametrit eri lämpötiloissa CS16GC (Na⁺)-hartsilla. Resoluutio ja erotustekijä laskettiin ksyylitolin suhteen.

Retentiotilavuus (V_{ret}), mL						
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksyylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi
25	55,6	49,4	62,1	59,4	58,6	59,8
50	56,2	50,2	63,4	63,5	55,0	
75	59,9	54,4	58,5	59,1	56,9	57,2
100	55,8	59,3	61,9	66,0	57,5	67,8
125	70,2	63,8	59,5	72,3	59,2	62,0
150	60,2	63,0	70,5	78,5	65,7	62,2
Retentiotekijä (k), -						
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksyylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi
25	0,58	0,40	0,76	0,69	0,66	0,70
50	0,59	0,42	0,79	0,79	0,55	
75	0,35	0,23	0,32	0,34	0,29	0,29
100	0,57	0,67	0,74	0,85	0,62	0,90
125	0,79	0,62	0,51	0,84	0,51	0,58
150	0,69	0,77	0,98	1,20	0,85	0,75
Teoreettisen pohjan korkeusekvivalentti (HETP), mm						
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksyylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi
25	0,52	0,57	0,43	1,06	0,87	0,60
50	0,53	0,56	0,42	0,26	0,35	
75	0,16	0,16	0,17	0,21	0,20	0,18
100	0,16	0,13	0,12	0,23	0,27	0,18
125	0,06	0,07	0,11	0,08	0,12	0,09
150	0,10	0,09	0,08	0,10	0,13	0,17
Piikin kannan leveys (w_b), mL						
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksyylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi
25	31,0	28,8	31,3	46,8	42,1	35,6
50	31,6	29,0	31,7	24,8	25,2	
75	18,3	16,7	18,5	20,3	19,3	18,6
100	16,7	16,1	16,0	24,0	22,8	21,8
125	13,5	13,2	14,8	15,2	15,4	14,4
150	14,4	14,1	14,9	18,9	18,0	19,7
Jakautumisvakio (K), -						
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksyylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi
25	0,40	0,28	0,52	0,47	0,45	0,48
50	0,41	0,29	0,55	0,55	0,38	
75	0,34	0,22	0,31	0,33	0,28	0,28
100	0,37	0,44	0,49	0,56	0,40	0,59
125	0,61	0,49	0,40	0,65	0,39	0,45
150	0,45	0,51	0,64	0,79	0,56	0,49
Diffusiokerroin (D), m²s⁻¹						
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksyylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi
25	0,46·10 ⁻¹²	37,1·10 ⁻¹²	59,2·10 ⁻¹²	24,5·10 ⁻¹²	29,1·10 ⁻¹²	44,5·10 ⁻¹²
50	44,6·10 ⁻¹²	37,9·10 ⁻¹²	60·10 ⁻¹²	101·10 ⁻¹²	67,4·10 ⁻¹²	
75	109·10 ⁻¹²	85,8·10 ⁻¹²	95,7·10 ⁻¹²	81,4·10 ⁻¹²	77,8·10 ⁻¹²	86,6·10 ⁻¹²
100	172·10 ⁻¹²	218·10 ⁻¹²	246·10 ⁻¹²	116·10 ⁻¹²	93,4·10 ⁻¹²	153·10 ⁻¹²
125	434·10 ⁻¹²	362·10 ⁻¹²	225·10 ⁻¹²	347·10 ⁻¹²	204·10 ⁻¹²	273·10 ⁻¹²
150	297·10 ⁻¹²	343·10 ⁻¹²	387·10 ⁻¹²	279·10 ⁻¹²	217·10 ⁻¹²	156·10 ⁻¹²
Resoluutio (R), -						
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksyylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi
25	0,21	0,42	0	0,07	0,09	0,07
50	0,23	0,44	0	-0,00	0,30	
75	-0,08	0,23	0	-0,03	0,08	0,07
100	0,37	0,16	0	-0,20	0,23	-0,31
125	-0,75	-0,31	0	-0,85	0,02	-0,17
150	0,70	0,51	0	-0,48	0,29	0,48
Erotustekijä (α), -						
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksyylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi
25	1,31	1,89	1	1,11	1,15	1,09
50	1,35	1,90	1	1,00	1,43	
75	0,91	1,40	1	0,96	1,12	1,10
100	1,30	1,11	1	0,87	1,20	0,82
125	0,65	0,82	1	0,61	1,02	0,89
150	1,41	1,27	1	0,81	1,16	1,31

Taulukko II Sokerialkoholien ja sokerien retentiotilavuus eri lämpötiloissa CS16GC (Ca²⁺)-hartsilla. Resoluutio ja erotustekijä laskettiin ksylitolin suhteen.

Retentiotilavuus (V_{ret}), mL			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	110,1	131,0	114,2
50	100,3	84,8	97,3
75	89,6	76,0	87,3
100	80,2	70,4	80,4
125	76,2	67,5	74,8
150	70,4	65,9	68,8
175	75,2	63,0	72,3
Retentiotekijä (k), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	1,87	1,91	1,97
50	1,63	1,23	1,55
75	1,30	0,95	1,24
100	1,18	0,91	1,19
125	1,00	0,78	0,97
150	0,96	0,83	0,92
175	0,79	0,38	0,69
Teoreettisen pohjan korkeusekvivalentti (HETP), mm			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	2,10	2,71	1,91
50	1,20	1,17	1,34
75	0,65	0,60	0,50
100	0,42	0,38	0,32
125	0,28	0,29	0,24
150	0,21	0,21	0,22
175	0,14	0,17	0,13
Piikin kannan leveys (w_b), mL			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	122	135	121
50	83,9	70,3	86,3
75	55,7	45,1	47,3
100	40,6	33,8	35,4
125	31,5	28,3	28,8
150	25,7	24,0	26,0
175	22,5	20,8	20,8
Jakautumisvakio (K), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	1,46	1,49	1,54
50	1,26	0,94	1,19
75	1,04	0,76	0,99
100	0,89	0,69	0,90
125	0,80	0,62	0,78
150	0,76	0,66	0,72
175	0,79	0,38	0,69
Diffusiokerroin (D), m²s⁻¹			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	8,02·10 ⁻¹²	15,3·10 ⁻¹²	7,84·10 ⁻¹²
50	14,2·10 ⁻¹²	14,4·10 ⁻¹²	12,2·10 ⁻¹²
75	25,1·10 ⁻¹²	28,1·10 ⁻¹²	33,2·10 ⁻¹²
100	40,7·10 ⁻¹²	46,0·10 ⁻¹²	54,1·10 ⁻¹²
125	60,2·10 ⁻¹²	58,2·10 ⁻¹²	70,2·10 ⁻¹²
150	83,7·10 ⁻¹²	84,5·10 ⁻¹²	77,7·10 ⁻¹²
175	74,0·10 ⁻¹²	42,3·10 ⁻¹²	77,0·10 ⁻¹²
Resoluutio (R), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	0,03	-0,13	0
50	-0,04	0,16	0
75	-0,05	0,24	0
100	0,01	0,29	0
125	-0,04	0,26	0
150	-0,06	0,12	0
175	-0,13	0,45	0
Erotustekijä (α), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	1,06	1,03	1
50	0,95	1,27	1
75	0,95	1,30	1
100	1,00	1,30	1
125	0,96	1,25	1
150	0,95	1,10	1
175	0,88	1,84	1

Taulukko III Sokerialkoholien ja sokerien retentiotilavuus eri lämpötiloissa CA16GC (Na⁺)-hartsilla. Resoluutio ja erotustekijä laskettiin arabinoosiin perustuen.

Retentiotilavuus (V_{ra}), mL							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi	Ramnoosi
25	55,4	55,8	54,7	60,9	59,0	58,9	47,2
75	58,6	56,1	62,2	66,1	83,4	57,9	55,9
100	61,8	60,0	66,3	65,0	62,5	68,5	61,2
125	60,9	55,0	56,4	50,1	57,7	46,5	47,1
Retentiotekijä (k), -							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi	Ramnoosi
25	0,58	0,60	0,56	0,74	0,68	0,68	0,35
75	0,62	0,55	0,72	0,82	0,97	0,60	0,54
100	0,81	0,77	0,94	0,90	0,83	1,00	0,79
125	0,74	0,57	0,61	0,43	0,65	0,33	0,34
Teoreettisen pohjan korkeusekvivalentti (HETP), mm							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi	Ramnoosi
25	0,57	0,53	0,47	0,43	0,56	0,40	0,42
75	0,24	0,16	0,12	0,21	0,44	0,16	0,21
100	0,11	0,10	0,08	0,12	0,12	0,13	0,08
125	0,11	0,11	0,12	0,48	0,31	0,42	0,24
Piikin kannan leveys (w_b), mL							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi	Ramnoosi
25	32,2	31,3	29,0	30,8	34,1	28,8	23,5
75	22,2	17,1	16,5	23,4	36,4	17,9	19,8
100	15,7	14,7	14,7	17,6	17,3	19,2	13,3
125	15,7	14,7	15,2	27,3	25,5	24,0	18,4
Jakautumisvakio (K), -							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi	Ramnoosi
25	0,39	0,40	0,38	0,50	0,46	0,46	0,24
75	0,44	0,39	0,52	0,59	0,70	0,43	0,39
100	0,55	0,53	0,64	0,61	0,56	0,68	0,54
125	0,55	0,42	0,45	0,32	0,48	0,24	0,26
Diffusiokerroin (D), m²s⁻¹							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi	Ramnoosi
25	85,6·10 ⁻¹²	93,3·10 ⁻¹²	103·10 ⁻¹²	119·10 ⁻¹²	89,6·10 ⁻¹²	127·10 ⁻¹²	99,3·10 ⁻¹²
75	206·10 ⁻¹²	322·10 ⁻¹²	464·10 ⁻¹²	246·10 ⁻¹²	237·10 ⁻¹²	319·10 ⁻¹²	239·10 ⁻¹²
100	546·10 ⁻¹²	614·10 ⁻¹²	738·10 ⁻¹²	470·10 ⁻¹²	454·10 ⁻¹²	429·10 ⁻¹²	796·10 ⁻¹²
125	515·10 ⁻¹²	459·10 ⁻¹²	454·10 ⁻¹²	91,9·10 ⁻¹²	155·10 ⁻¹²	89,5·10 ⁻¹²	168·10 ⁻¹²
Resoluutio (R), -							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi	Ramnoosi
25	0,18	0,16	0,21	0	0,06	0,07	0,51
75	0,33	0,60	0,23	0	-0,66	0,47	0,56
100	0,19	0,27	-0,08	0	0,14	-0,19	0,25
125	-0,50	-0,23	-0,30	0	-0,29	0,14	0,13
Erotustekijä (α), -							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyloosi	Ramnoosi
25	1,27	1,24	1,32	1	1,08	1,08	2,13
75	1,33	1,50	1,15	1	0,85	1,37	1,51
100	1,12	1,17	0,96	1	1,09	0,90	1,14
125	0,58	0,76	0,71	1	0,67	1,31	1,25

Taulukko IV Sokerialkoholien ja sokerien retentiotilavuus eri lämpötiloissa CA16GC (Ca²⁺)-hartsilla. Resoluutio ja erotustekijä laskettiin ksylitolin suhteen.

Retentiotilavuus (V_{ret}), mL							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyyloosi	Ramnoosi
25	69,1	71,3	77,7	72,9	72,9	76,2	62,7
75	57,6	60,3	54,4	48,0	44,4	45,1	51,2
125	48,2	63,8	46,5	50,5	48,5	54,6	60,0
Retentiotekijä (k), -							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyyloosi	Ramnoosi
25	0,329408	0,37022	0,494732	0,401311	0,40182	0,465402	0,206684
75	0,357668	0,423223	0,282873	0,131834	0,046948	0,063435	0,206469
125	0,081812	0,431463	0,042471	0,132486	0,088184	0,224947	0,345273
Teoreettisen pohjan korkeusekvivalentti (HETP), mm							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyyloosi	Ramnoosi
25	1,118112	0,846401	0,724441	0,944624	0,418138	0,396859	0,590584
75	0,420418	0,288585	0,616198	0,385768	0,469096	0,439198	0,310467
125	0,315868	0,18869	0,373841	0,276942	0,312665	0,208919	0,169687
Piikin kannan leveys (w_b), mL							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyyloosi	Ramnoosi
25	64,0272	57,18624	58,00416	61,90697	41,1546	42,03165	41,91285
75	36,40583	31,56336	41,22216	29,08198	29,56016	29,04921	27,76864
125	28,23444	28,89925	29,59157	27,65044	28,07448	25,8354	25,75278
Jakautumisvakio (K), -							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyyloosi	Ramnoosi
25	1,08104	1,214976	1,623593	1,317009	1,31868	1,527341	0,678288
75	1,17753	1,393353	0,931286	0,43403	0,154565	0,208844	0,679745
125	0,894003	4,714851	0,464102	1,447748	0,963634	2,458132	3,773003
Diffusiokerroin (D), m²s⁻¹							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyyloosi	Ramnoosi
25	5,23·10 ⁻¹²	7,69·10 ⁻¹²	9,58·10 ⁻¹²	6,92·10 ⁻¹²	16,2·10 ⁻¹²	17,5·10 ⁻¹²	8,14·10 ⁻¹²
75	15,1·10 ⁻¹²	24,1·10 ⁻¹²	9,77·10 ⁻¹²	8,72·10 ⁻¹²	3,13·10 ⁻¹²	4,21·10 ⁻¹²	15,3·10 ⁻¹²
125	5,90·10 ⁻¹²	29,9·10 ⁻¹²	2,73·10 ⁻¹²	10,1·10 ⁻¹²	6,93·10 ⁻¹²	20,5·10 ⁻¹²	30,5·10 ⁻¹²
Resoluutio (R), -							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyyloosi	Ramnoosi
25	0,14	0,11	0	0,08	0,10	0,03	0,30
75	-0,08	-0,16	0	0,18	0,28	0,26	0,09
125	-0,06	-0,59	0	-0,14	-0,07	-0,29	-0,49
Erotustekijä (α), -							
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli	Arabinoosi	Mannoosi	Ksyyloosi	Ramnoosi
25	1,50	1,34	1	1,23	1,23	1,06	2,39
75	0,79	0,67	1	2,15	6,03	4,46	1,37
125	0,52	0,10	1	0,32	0,48	0,19	0,12

Taulukko V Sokerialkoholien ja sokerien retentiotilavuus eri lämpötiloissa CA12GC (Na⁺)-hartsilla. Resoluutio ja erotustekijä laskettiin mannitolin suhteen.

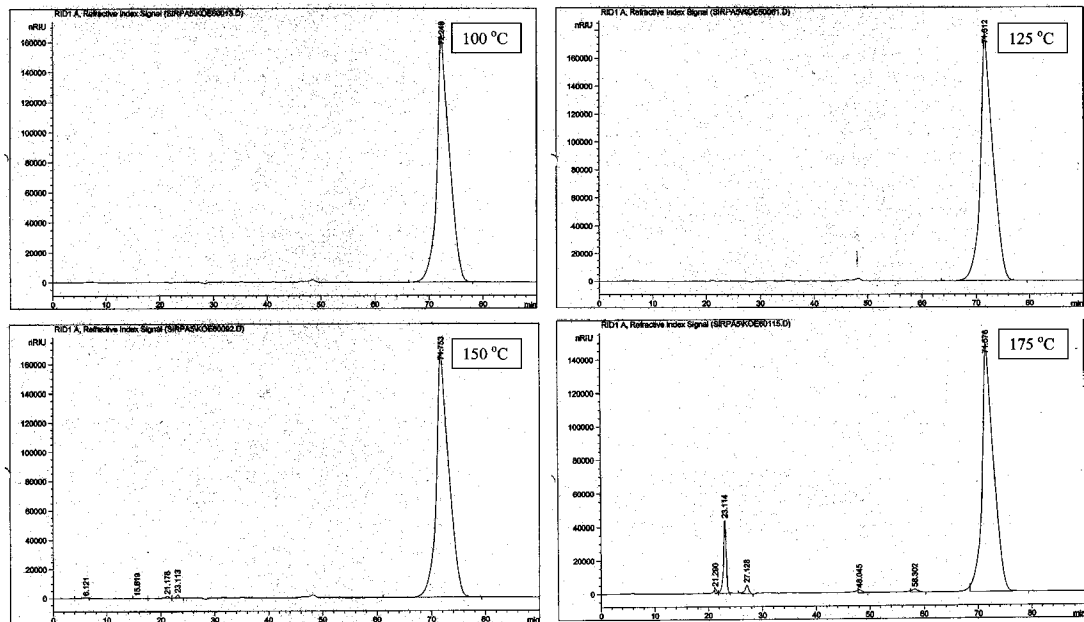
Retentiotilavuus (V_{ret}), mL			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	122	126	124
50	101	75,2	167
75	179	183	117
100	71,0	146	92,0
125	65,4	63,8	64,4
150	63,6	63,2	64,0
175	65,6	63,8	66,6
Retentiotekijä (k), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	0,61	0,67	0,63
50	0,68	0,25	1,78
75	1,26	1,31	0,48
100	0	0,48	0
125	1,01	0,96	0,98
150	0,00	0	0,10
175	0,69	0,63	0,72
Teoreettisen pohjan korkeusekvivalentti (HETP), mm			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	0,19	0,20	0,19
50	0,42	0,16	0,10
75	0,11	0,18	0,09
100	0,07	0,10	0,11
125	0,08	0,06	0,06
150	0,05	0,05	0,05
175	0,05	0,05	0,05
Piikin kannan leveys (w_b), mL			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	41,1	43,7	41,7
50	48,7	23,5	41,1
75	46,0	48,2	26,7
100	14,7	34,1	19,9
125	15,4	13,5	13,5
150	11,9	11,9	11,9
175	12,2	11,9	12,3
Jakautumisvakio (K), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	4,39	4,79	4,51
50	1,54	0,58	4,03
75	13,6	14,1	5,18
100	2,25	0	3,22
125	0,77	0,73	0,74
150	0,02	0	0,049
175	0,69	0,62	0,72
Diffusiokerroin (D), m²s⁻¹			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	38,6·10 ⁻¹²	37,1·10 ⁻¹²	38,5·10 ⁻¹²
50	26,3·10 ⁻¹²	37,3·10 ⁻¹²	90,0·10 ⁻¹²
75	66,2·10 ⁻¹²	62,8·10 ⁻¹²	79,8·10 ⁻¹²
100	0	73,7·10 ⁻¹²	0
125	244·10 ⁻¹²	290·10 ⁻¹²	294·10 ⁻¹²
150	2,15·10 ⁻¹²	0	6,91·10 ⁻¹²
175	253·10 ⁻¹²	245·10 ⁻¹²	259·10 ⁻¹²
Resoluutio (R), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	0,20	0	0,07
50	-0,71	0	-2,82
75	0,08	0	1,75
100	3,06	0	1,99
125	-0,11	0	-0,05
150	-0,04	0	-0,07
175	-0,15	0	-0,23
Erotustekijä (α), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	1,09	1	1,06
50	0,37	1	0,14
75	1,04	1	2,72
100	-1,70	1	-1,19
125	0,95	1	0,98
150	-1,09	1	-0,37
175	0,91	1	0,87

Taulukko VI Sokerialkoholien ja sokerien retentiotilavuus eri lämpötiloissa PS-DVB 24M-polymeerilla. Resoluutio ja erotustekijä laskettiin mannitoliin perustuen.

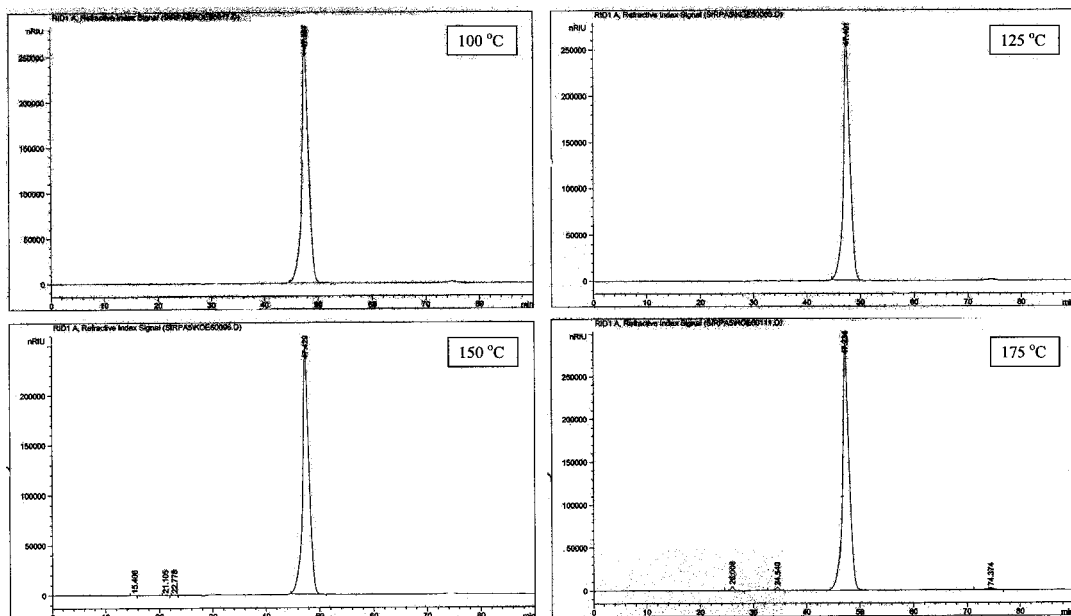
Retentiotilavuus (V_{ra}), mL			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	47,6	50,3	50,1
50	47,7	49,2	49,8
75	46,5	47,1	47,2
100	45,8	44,1	45,4
125	44,3	44,9	45,1
150	58,9	56,2	54,3
175	51,5	51,3	50,0
Retentiotekijä (k), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	0,08	0,14	0,14
50	0,07	0,10	0,11
75	0,04	0,06	0,06
100	0,01	0,00	0,01
125	0,00	0,00	0,00
150	0,67	0,59	0,54
175	0,33	0,32	0,30
Teoreettisen pohjan korkeusekvivalentti (HETP), mm			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	0,43	0,80	0,63
50	0,89	0,78	0,72
75	0,98	0,95	0,86
100	1,08	1,16	1,06
125	1,23	1,07	1,10
150	1,61	1,49	1,42
175	1,34	1,32	1,29
Piikin kannan leveys (w_b), mL			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	24,1	34,7	30,8
50	34,8	33,6	32,7
75	35,6	35,5	33,7
100	36,8	36,7	36,2
125	37,7	36,0	36,6
150	57,8	53,1	50,2
175	46,3	45,6	44,1
Jakautumisvakio (K), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	0,08	0,15	0,14
50	0,07	0,11	0,12
75	0,05	0,06	0,06
100	0,01	0,00	0,01
125	0,00	0,00	0,00
150	0,46	0,41	0,37
175	0,33	0,32	0,30
Diffusiokerroin (D), m²s⁻¹			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	58,1·10 ⁻¹²	52,4·10 ⁻¹²	65,3·10 ⁻¹²
50	24,7·10 ⁻¹²	40,7·10 ⁻¹²	47,8·10 ⁻¹²
75	15,8·10 ⁻¹²	20,6·10 ⁻¹²	24,2·10 ⁻¹²
100	3,36·10 ⁻¹²	0	0,54·10 ⁻¹²
125	0	0	0
150	70,9·10 ⁻¹²	74,5·10 ⁻¹²	76,0·10 ⁻¹²
175	79,3·10 ⁻¹²	80,6·10 ⁻¹²	79,6·10 ⁻¹²
Resoluutio (R), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	0,09	0	0,01
50	0,04	0	-0,02
75	0,02	0	-0,01
100	-0,05	0	-0,04
125	0,02	0	-0,00
150	-0,05	0	0,04
175	-0,00	0	0,03
Erotustekijä (α), -			
T , °C	Sorbitoli	Mannitoli	Ksylitoli
25	1,80	1	1,03
50	1,51	1	0,88
75	1,31	1	0,97
100	-2,89	1	-0,00
125	0,70	1	1,12
150	0,89	1	1,10
175	0,99	1	1,09

NÄYTEKOMPONENTTIEN TERMISEN KESTÄVYYDEN MÄÄRITYS HPLC-KOKEIN

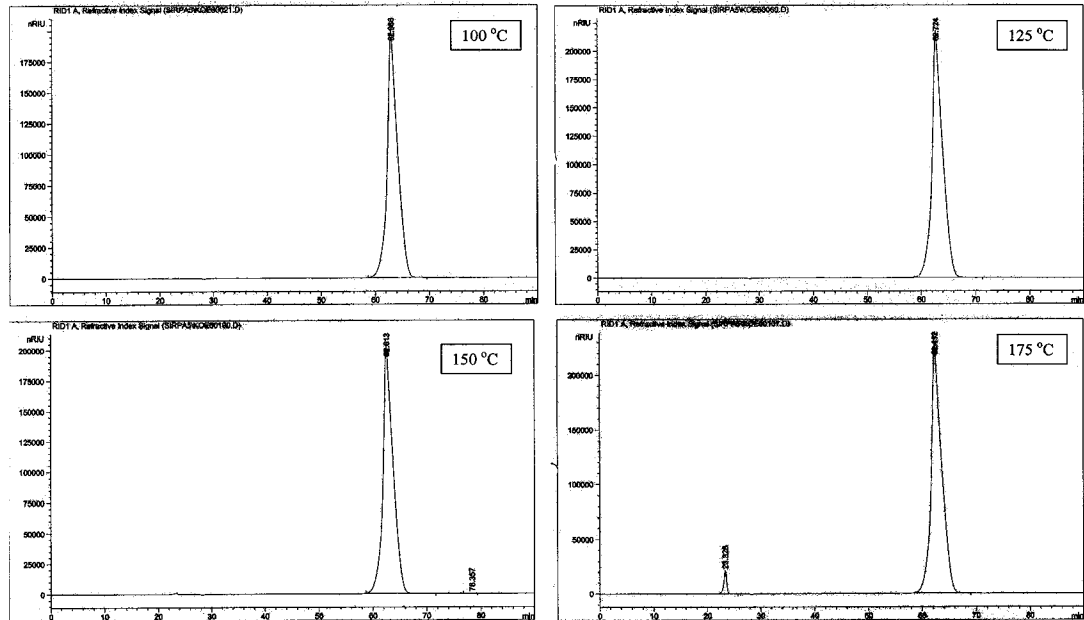
Kuvissa 1-3 on sokerialkoholien, ja kuvissa 4-8, sokerien hajoaminen lämpötilan vaikutuksesta. Koeputkia pidettiin 12 tunnin ajan koelämpötilassa, jonka jälkeen putkista otetut näytteet laimennettiin noin 6 p-%:iin analysipitoisuuteen. Kuvien 1-6 komponentit analysoitiin Chrompack Carbohydrates 300x7,8 mm:n (Pb^{2+})-kolonnilla. Kuvien 7-8 komponentit analysoitiin BIO-RAD Carbohydrate Analysis Column Aminex HPX-87N 300x7,8 mm:n (Pb^{2+})-kolonnilla. Veden virtausnopeus oli 0,4 mL/min, ja RI-detektorin lämpötila oli 80 °C.



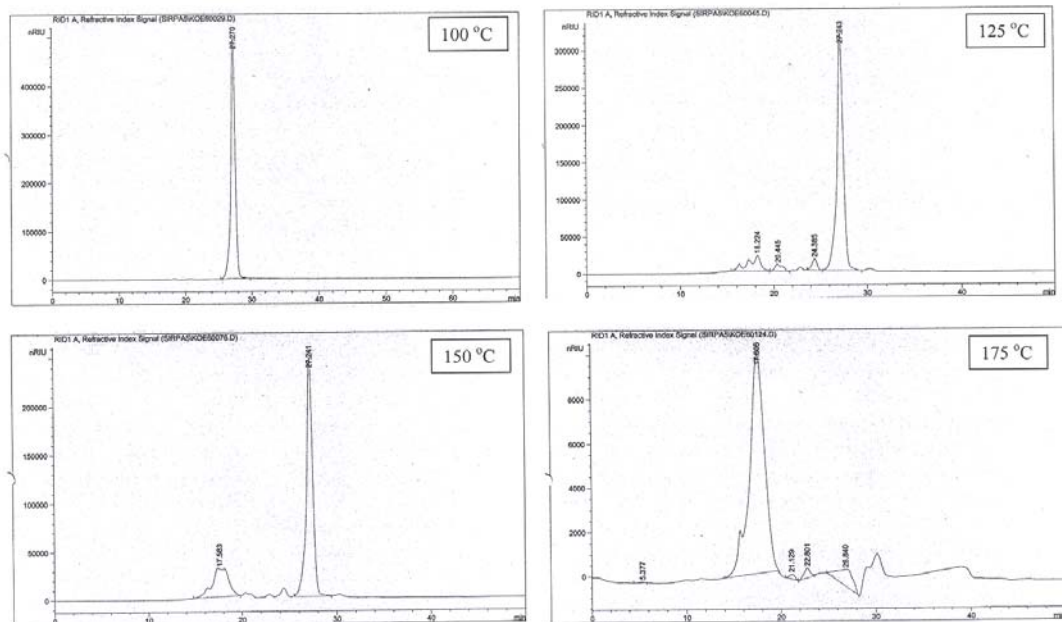
Kuva 1. Sorbitolin panoskokeiden HPLC-analyysi. Sorbitolin pitoisuus koeputkessa oli noin 50 p-% ja analysointipitoisuus oli noin 6 p-%.



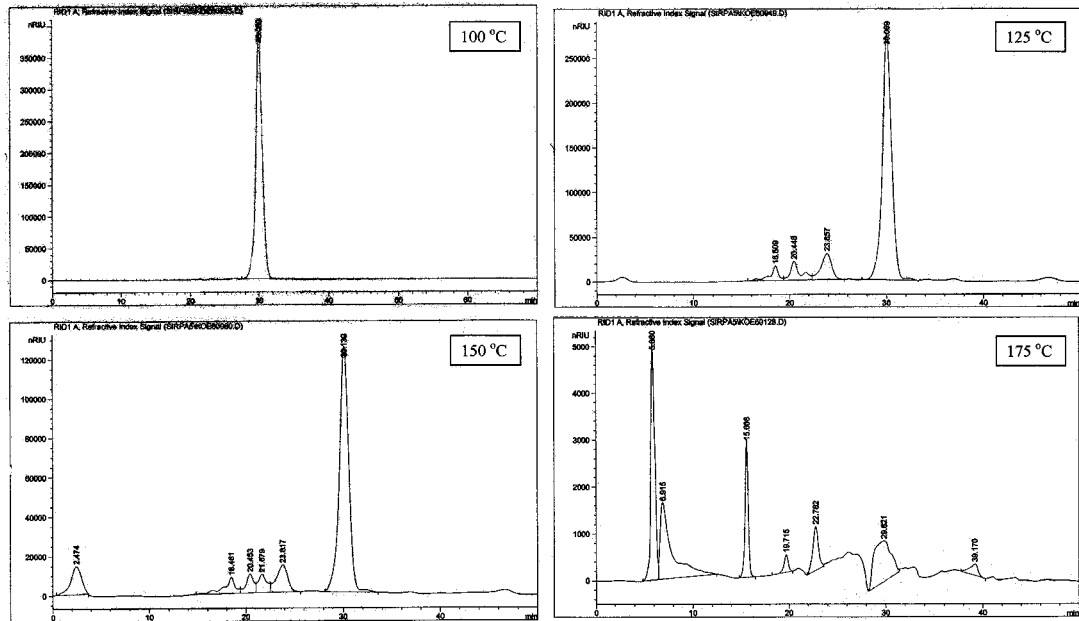
Kuva 2. Mannitolin panoskokeiden HPLC-analyysi. Mannitolin pitoisuus koeputkessa oli noin 50 p-% ja analysointipitoisuus oli noin 6 p-%.



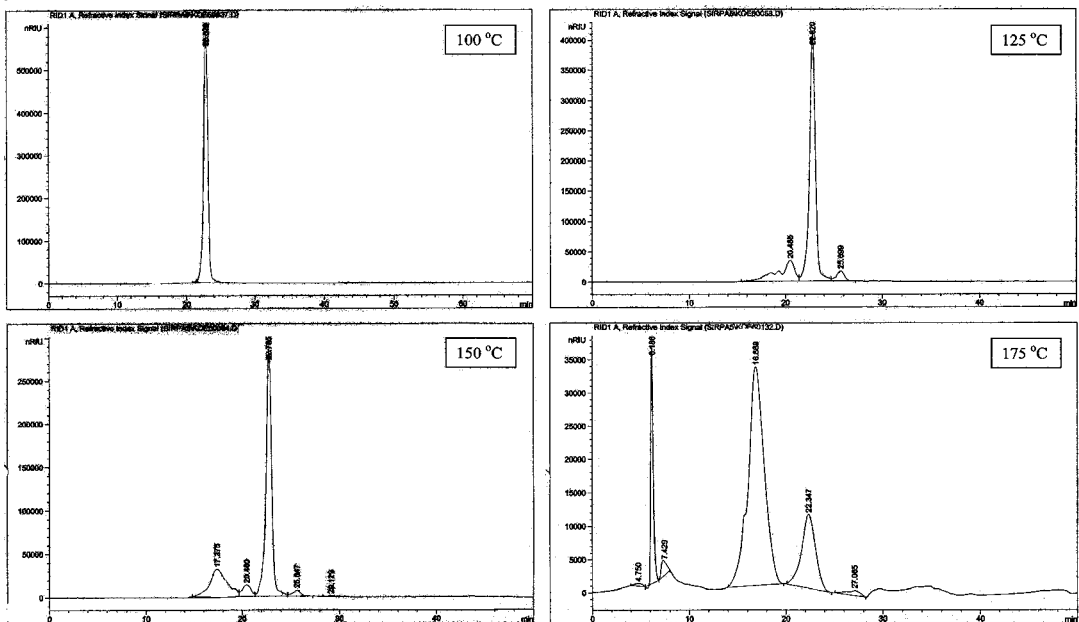
Kuva 3. Ksylitolin panoskoikeiden HPLC-analyysi. Ksylitolin pitoisuus koeputkessa oli noin 50 p-% ja analysointipitoisuus oli noin 6 p-%.



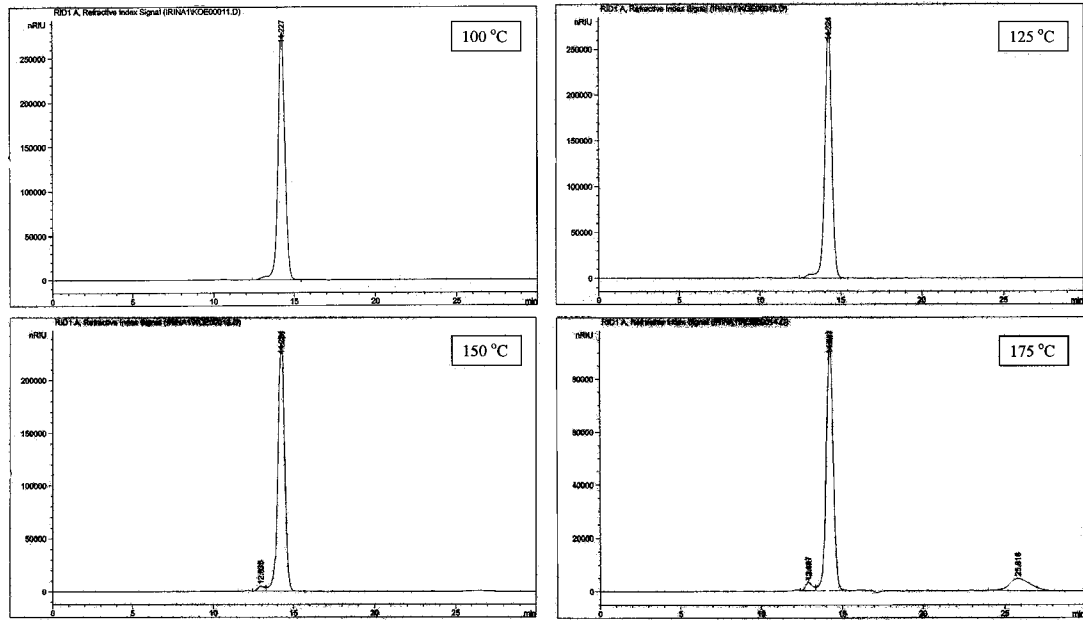
Kuva 4. Arabinoosin panoskoikeiden HPLC-analyysi. Arabinoosin pitoisuus koeputkessa oli noin 50 p-% ja analysointipitoisuus oli noin 6 p-%.



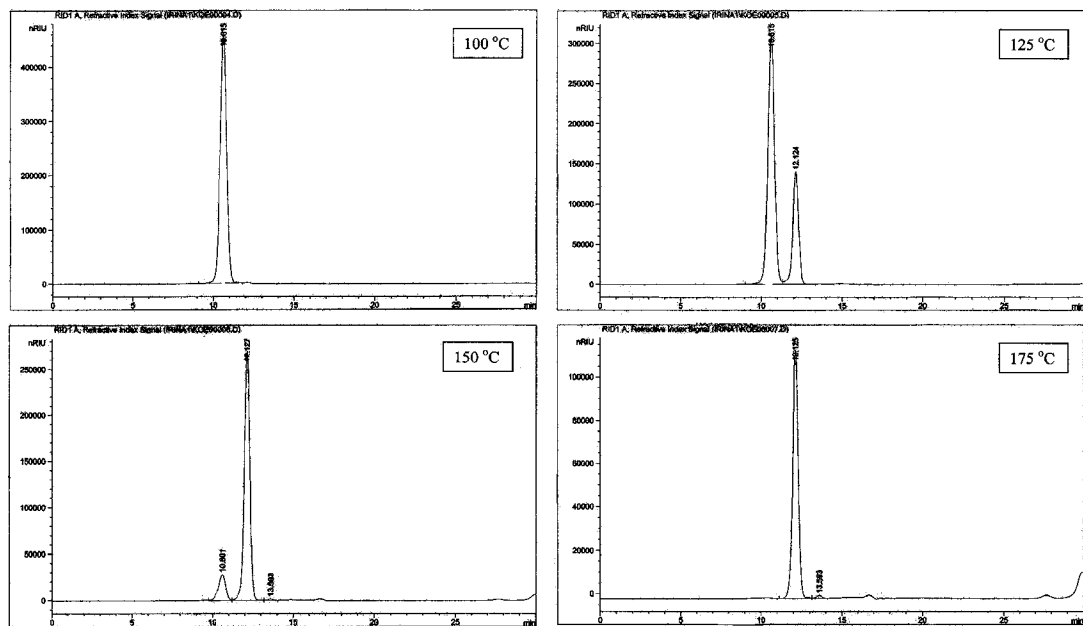
Kuva 5. Mannoosin panoskokeiden HPLC-analyysi. Mannoosin pitoisuus koeputkessa oli noin 50 p-% ja analysointipitoisuus oli noin 6 p-%.



Kuva 6. Ksyloosin panoskokeiden HPLC-analyysi. Ksyloosin pitoisuus koeputkessa oli noin 50 p-% ja analysointipitoisuus oli noin 6 p-%.



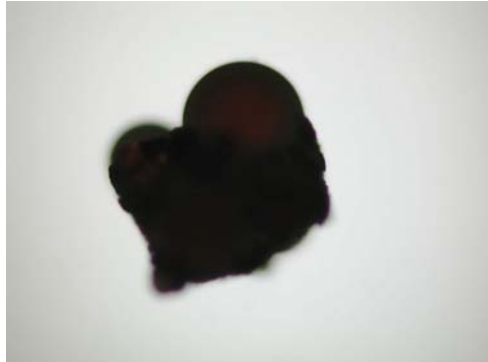
Kuva 7. Ramnoosin panoskokeiden HPLC-analyysi. Ramnoosin pitoisuus koeputkessa oli noin 2 p-% ja analysointipitoisuus oli noin 1 p-%.



Kuva 8. Maltoosin panoskokeiden HPLC-analyysi. Maltoosin pitoisuus koeputkessa oli noin 2 p-% ja analysointipitoisuus oli noin 1 p-%.

HARTSIEN MIKROSKOOPPIKUVAT

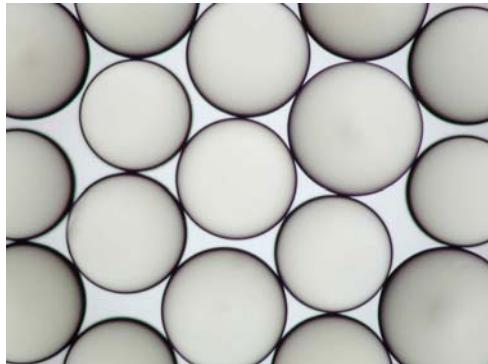
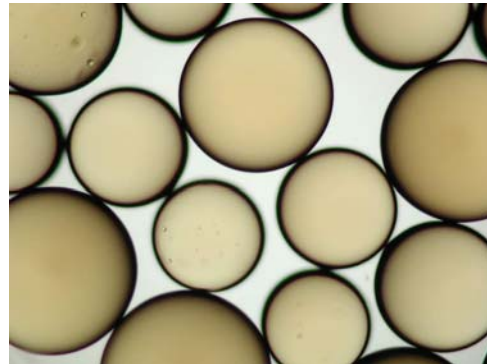
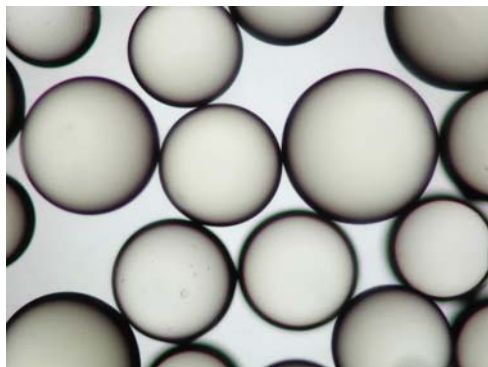
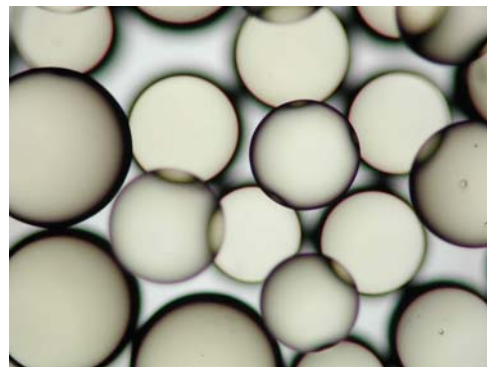
Olympus Camedia C-3030ZOOM-digitaalikameran ja Olympus B201-mikroskoopin avulla kuvattiin kromatografia-ajoissa käytettyjä hartsipalloja. Seuraavissa kuvissa on esitetty esimerkit huoneenlämpötilassa mitattujen käytettyjen ja käyttämättömien hartsipallojen muodosta ja koosta.

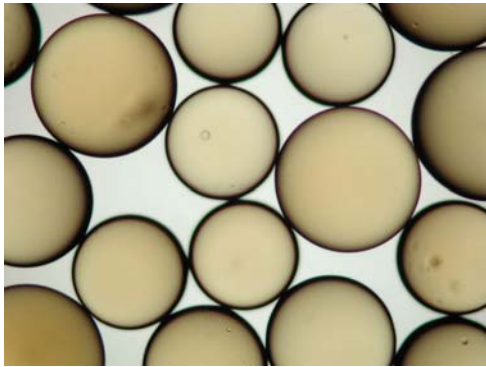


PS-DVB 24-polymeeri, käyttämätön

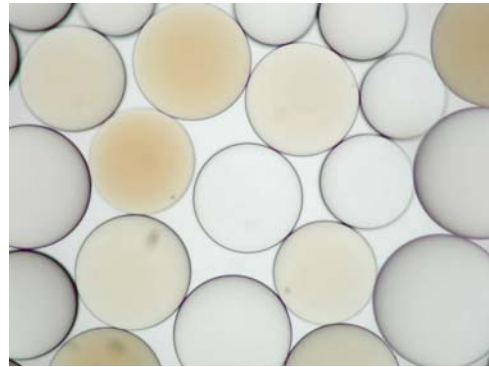


PS-DVB 24-polymeeri, käytetty

CS16GC (Na⁺), käyttämätönCS16GC (Na⁺), käytettyCS16GC (Ca²⁺), käyttämätönCS16GC (Ca²⁺), käytetty



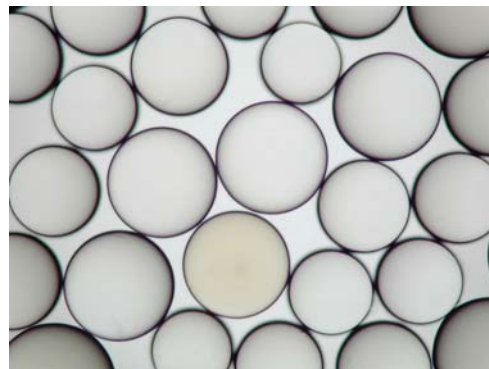
CA12GC (Na⁺), käyttämätön



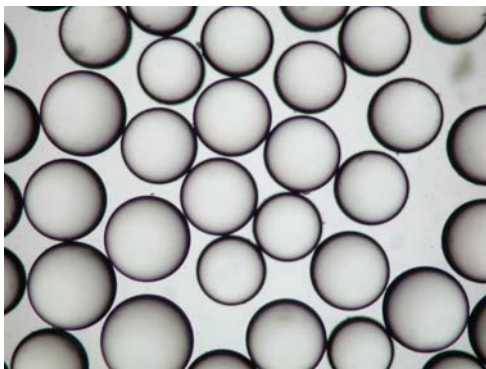
CA12GC (Na⁺), käytetty



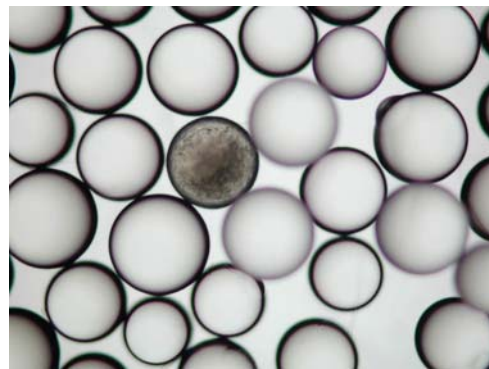
CA16GC (Na⁺), käyttämätön



CA16GC (Na⁺), käytetty



CA16GC (Ca²⁺), käyttämätön



CA16GC (Ca²⁺), käytetty

LASKENNASSA KÄYTETTYJEN TIETOKONEOHJELMIEN LISTAUS

Kromatografisen datan käsittelyssä käytettiin apuna *Excel*:iin ohjelmoituja Visual Basic-kielisiä ohjelmia, sekä *Sigmaplot*:iin ohjelmoitua momenttimenetelmää. Saatu kromatografinen RI-data siirrettiin *Excel*:iin ja kalibroitiin konsentraatioasteikolle valmiiksi ohjelmoidun kalibrointiohjelman avulla. RI-detektorin lineaarialueen ylittävä kromatografinen data käsiteltiin *Excel*:iin ohjelmoidulla *Ricefit*-ohjelmalla, joka sovittaa alkuarvauksista *Simplex*-ohjelmointirutiinin avulla kromatografisille piikeille uuden muodon. Tämän jälkeen laskettiin kromatografiset parametrit kullekin näytekomponentille *Sigmaplot*:iin ohjelmoidun momenttimenetelmän avulla.

Kalibrointi konsentraatioasteikolle (*Excel*): (Markkanen Ismo (LTKK))

Dim x(100), f(100), NDP%

Sub Macro1()
,

' Macro1 Macro
' Macro recorded 10/19/00 by tkemgust
,

NDP% = Cells(6, 8).Value
ac = Cells(4, 8).Value
vnopeus = Cells(3, 8).Value
lampo = Cells(2, 8).Value
inj = Cells(8 + Cells(5, 8), 1)
Cells(5, 9) = inj
paine = 1.8593E-15 * lampo ^ 6 - 1.4264E-12
* lampo ^ 5 + 0.0000000018157 * lampo ^ 4 -
0.00000019657 * lampo ^ 3 + 0.000015377 *
lampo ^ 2 - 0.00027063 * lampo + 0.0017508

tiheys = -0.00000000013105 * lampo ^ 5 +
0.00000006768 * lampo ^ 4 - 0.0000086067 *
lampo ^ 3 - 0.0028166 * lampo ^ 2 - 0.10828 *
lampo + 1000.9
Cells(7, 8) = paine * 10
Cells(8, 8) = tiheys / 1000

For k = 1 To NDP%

Cells(9, 8).Value = k
sekunti = (1 / ac) * (k - 1) - inj / 1000
minuutti = sekunti / 60
tilavuus = (vnopeus * minuutti) / (tiheys /
998.3)
RImV = Cells(16 + k, 1).Value / 1000

Cells(16 + k, 6) = sekunti
Cells(16 + k, 7) = minuutti
Cells(16 + k, 8) = tilavuus
Cells(16 + k, 9) = RImV
' konsentraatio = 0.000000030681 * RImV ^
4 - 0.0000012871 * RImV ^ 3 + 0.00016432 *
RImV ^ 2 + 0.04163 * RImV

If RImV >= 370 Then RImV = 0
konsentraatio = 1.508E-13 * RImV ^ 6 -
0.00000000014698 * RImV ^ 5 +
0.000000054341 * RImV ^ 4 - 0.0000091564 *
RImV ^ 3 + 0.00072959 * RImV ^ 2 +
0.021917 * RImV

Cells(16 + k, 10) = konsentraatio
' Cells(16 + k, 11).GoalSeek Goal:=Cells(16 +
k, 9).Value, ChangingCell:=Cells(16 + k, 10)

näyteväk = Cells(1, 8).Value
huippu = Cells(10, 8).Value
suhtkons = konsentraatio / näyteväk
Cells(16 + k, 11) = suhtkons

Next k

End Sub

Ricefit funktio (*Excel*): (Laatikainen Markku (LTKK))

Dim km, collength, coldiam, porosity,
volumeflow, flow, a, NDP%, NPar%, SS#, tiny
Dim output(500), t(500), response(500),
weight(500)

Sub Fitter()

NPar% = Cells(4, 5).Value
' Sovitettavien parametrien lukumaara
NDP% = Cells(5, 5).Value
' Datapisteiden lukumaara
km = Cells(22, 5).Value
collength = Cells(17, 5).Value
coldiam = Cells(18, 5).Value * 0.001
porosity = Cells(19, 5).Value
volumeflow = Cells(21, 5).Value
flow = volumeflow * 0.000001 * 4 / coldiam ^
2 / 3.14159 / 60 / porosity
a = Cells(20, 5).Value * 0.000001 / 2

Mode = Cells(7, 5).Value
tiny = 1E-30
eps! = 0.00001
crit! = 1E-20

```

***** SIMPLEX-RUTIINI ALKAA TASTA
,
Dim alfa#(10):
' Sovitusparametrit
Dim alfamin#(10):
' Sovitusparametrien minimiarvot
Dim alfamax#(10):
' Sovitusparametrien maksimiarvot
Dim dalfa#(10):
' Edellisten erotus
Dim Param!(10):
' Parametrien arvot alkusimpleksissa
Dim ns#(11)
' Neliosummat eri Simplex-pisteissa
Dim p#(11, 10):
' Parametriarvot eri Simplex-pisteissa
,
' Give initial simplex by means of minimum and
' maximum value guess for para-
' meters to be fitted
,
For i% = 1 To NPar%
  alfamin#(i%) = Cells(i% + 12, 2).Value
  alfamax#(i%) = Cells(i% + 12, 3).Value
  dalfa#(i%) = (alfamax#(i%) - alfamin#(i%)) /
NPar%
Next i%
,
FTOL# = 0.00000001
' Final tolerance of calculation

Select Case Mode
  Case 1
    For i% = 1 To NPar% + 1
      For j% = 1 To NPar%
        p#(i%, j%) = alfamin#(j%) + (j% - 1) *
dalfa#(j%) + Rnd(2) * dalfa#(j%)
        Param!(j%) = p#(i%, j%)
      Next j%
      ns#(i%) = objfunc(Param!())
    Next i%
    Call AMOEBA(p#(), ns#(), FTOL#, ITER%)
  Case 2
    For j% = 1 To NPar%
      Param!(j%) = Cells(12 + j%, 4).Value
    Next j%
    Cells(9, 14).Value = objfunc(Param!())
  End Select
  For i% = 1 To NDP%
    Cells(i% + 6, 10).Value = output(i%)
  Next i%
End Sub

Sub AMOEBA(p#(), ns#(), FTOL#, ITER%)
' from W.H. Press, B.P. Flannery, S.A.
Teukolsky and W.T. Vetterling
' " NUMERICAL RECIPIES; The Art of
Scientific Computing"
' Cambridge University, 1986

Dim pbar#(10), pr#(10), Param!(10), prr#(10),
Pmax#(10)

' Three parameters which define expansions and
' contractions

ALPHA# = 1#
beta# = 0.5
gamma# = 2#

itmax% = 300
MPTS% = NPar% + 1
ITER% = 0

StartSimplex:
DoEvents
ilo% = 1
If (ns#(1) > ns#(2)) Then
  ihi% = 1
  inhi% = 2
Else
  ihi% = 2
  inhi% = 1
End If
For i% = 1 To MPTS%
  If (ns#(i%) < ns#(ilo%)) Then ilo% = i%
  If (ns#(i%) > ns#(ihi%)) Then
    inhi% = ihi%
    ihi% = i%
  ElseIf (ns#(i%) > ns#(inhi%)) Then
    If (i% <> ihi%) Then inhi% = i%
  End If
Next i%
rtol# = 2# * Abs(ns#(ihi%) - ns#(ilo%)) /
(Abs(ns#(ihi%)) + Abs(ns#(ilo%)))

' HUOM! Y(ilo%) ja Y(ihi%) voivat olla hyvin
' pienia, jolloin sovitus on onnistunut, mutta
' iterointi ei katkea!!!

Cells(10, 14).Value = rtol#
If (ITER% > 10) And (rtol# < FTOL#) Then
Exit Sub
If (ITER% = itmax%) Then Exit Sub

ITER% = ITER% + 1
Cells(8, 14).Value = ITER%
For k% = 1 To NPar%
  Cells(12 + k%, 4).Value = Param!(k%)
Next k%
For j% = 1 To NPar%
  pbar#(j%) = 0#
Next j%

' Begin a new iteration.

For i% = 1 To MPTS%
  If (i% <> ihi%) Then
    For j% = 1 To NPar%

```

```

        pbar#(j%) = pbar#(j%) + p#(i%, j%)
    Next j%
End If
Next i%

```

```

For j% = 1 To NPar%
    pbar#(j%) = pbar#(j%) / NPar%
    pr#(j%) = (1# + ALPHA#) * pbar#(j%) -
ALPHA# * p#(ihi%, j%)
    Param!(j%) = pr#(j%)
Next j%

```

'Evaluate the function at the reflected point.

```

ypr# = objfunc(Param!())
If (ypr# <= ns#(ilo%)) Then
    For j% = 1 To NPar%
        prr#(j%) = gamma# * pr#(j%) + (1# -
gamma#) * pbar#(j%)
        Param!(j%) = prr#(j%)
    Next j%

    yprr# = objfunc(Param!())
    If (yprr# < ns#(ilo%)) Then
        For j% = 1 To NPar%
            p#(ihi%, j%) = prr#(j%)
        Next j%
        ns#(ihi%) = yprr#
    Else
        For j% = 1 To NPar%
            p#(ihi%, j%) = pr#(j%)
        Next j%
        ns#(ihi%) = ypr#
    End If
    ElseIf (ypr# >= ns#(inhi%)) Then
        If (ypr# < ns#(ihi%)) Then
            For j% = 1 To NPar%
                p#(ihi%, j%) = pr#(j%)
            Next j%
            ns#(ihi%) = ypr#
        End If
        For j% = 1 To NPar%
            prr#(j%) = beta# * p#(ihi%, j%) + (1# -
beta#) * pbar#(j%)
            Param!(j%) = prr#(j%)
        Next j%
        yprr# = objfunc(Param!())

        If (yprr# < ns#(ihi%)) Then
            For j% = 1 To NPar%
                p#(ihi%, j%) = prr#(j%)
            Next j%
            ns#(ihi%) = yprr#
        Else
            For i% = 1 To MPTS%
                If (i% <> ilo%) Then
                    For j% = 1 To NPar%
                        pr#(j%) = 0.5 * (p#(i%, j%) +
p#(ilo%, j%))
                    Next j%
                End If
            Next i%
        End If
    End If

```

```

        p#(i%, j%) = pr#(j%)
        Param!(j%) = pr#(j%)
    Next j%
    ns#(i%) = objfunc(Param!())

```

End If

Next i%

End If

Else

For j% = 1 To NPar%

p#(ihi%, j%) = pr#(j%)

Next j%

ns#(ihi%) = ypr#

End If

GoTo StartSimplex

End Sub

Function objfunc(Param!())

For k% = 1 To NDP%

weight(k%) = Cells(k% + 6, 7).Value

response(k%) = Cells(k% + 6, 9).Value +

tiny

t(k%) = Cells(k% + 6, 8).Value / volumeflow
* 60

exparea = Cells(24, 5).Value

weightarea = Cells(27, 5).Value

Next k%

Call Rice(Param!(), t, output, area)

SS# = 0: aad = 0: rmsd = 0: counter = 0

For k% = 1 To NDP%

'Cells(k% + 4, 10).Value = output(k%)

If weight(k%) = 0 Then

apu = 0: counter = counter

Else

apu = Abs((response(k%) - output(k%)) /
response(k%))

counter = counter + 1

End If

aad = aad + apu: rmsd = rmsd + apu ^ 2

ssum = ssum + weight(k%) * apu ^ 2

Next k%

apu2 = (exparea - area) / exparea

SS# = ssum + weightarea * apu2 ^ 2

objfunc = SS#

Cells(9, 14).Value = SS#

Cells(13, 14).Value = aad / (counter + tiny) *
100

Cells(12, 14).Value = Sqr(rmsd) / (counter +
tiny) * 100

Cells(14, 14).Value = counter

Cells(25, 5).Value = area

End Function

Sub Rice(Param!(), t, output, area)

'Solution of the elution profile by the
approximate Rice method

eqconst = Param!(1)

diff = Param!(2)

```

cmax = Param!(3)
If eqconst < 0 Then eqconst = 1
If diff < 0 Then diff = tiny
eta = porosity / (1 - porosity)
xx = collength / eta / flow
khi = a * eqconst / 3 / km + a ^ 2 / 15 / diff
s = eqconst * xx / khi
maxval = 0
For j% = 2 To NDP%
  theta = t(j%) - collength / flow
  If theta < 0 Then theta = 0.00001
  apu = Exp(2 * Sqr(s * theta / khi) - s - theta
/ khi)
  output(j%) = 1 / 2 / Sqr(3.14159) * (s / khi)
^ 0.25 / theta ^ 0.75 * apu
  If output(j%) > maxval Then maxval =
output(j%)
  Next j%
  area = 0#
  For j% = 2 To NDP%
    output(j%) = cmax * output(j%) / (maxval
+ tiny)
    area = area + (output(j%) + output(j% - 1))
/ 2 * (t(j%) - t(j% - 1)) * volumeflow / 60
  Next j%
End Sub

```

Momenttimenetelmä (Sigmaplot):
(Tiihonen Jari (LTKK))

```

' Petihuokoisuus
' (0,25=0,5mL/2)
' loopV=loopin tilavuus, mL
' petiV=petitilavuus, mL
loopV=5
petiV=3.141592654*26.7
col(1,16,16)=(col(1,18,18)-loopV/2)/petiV
h="huokoisuus"
put h into col(1,15,15)

' mom1; mom2; k; HETP; wb; K
' ja Deff=[m2/s]

'Syötä V sarakkeen numero
x=8
xx=x
'Syötä tilavuusvirtausnopeus;
' mL/min
vn=2
'Syötä kolonnin halkaisija; cm
d=2
'Syötä retentoitumattoman
'komponentin (BD:n) 1, momentti
BD=col(1,18,18)
'Syötä petikorkeus; cm
z=26.7
'Syötä petihuokoisuus
e=col(1,16,16)

```

```

'Syötä loopin tilavuus; mL
Vloop=5
'Syötä partikkelin säde; mm
Rp=col(1,14,14)
'pii
pii=3.14159265359

' 1, Momentti
V=col(x)
RI=col(x+1)
col(x+2)=V*RI
VRI=col(x+2)
n=count(V)

Vdif1=diff(V)
Vdif=Vdif1[data(2,n)]

RIdif1=diff(RI)
RIdif=RIdif1[data(2,n)]
VRIdif1=diff(VRI)
VRIdif=VRIdif1[data(2,n)]

RI1=RI[data(1,n-1)]
VRI1=VRI[data(1,n-1)]

'integrointi
intgr=RI1*Vdif+0.5*RIdif*Vdif
intgr2=VRI1*Vdif+0.5*VRIdif*Vdif
A=total(intgr)
B=total(intgr2)
put A into col(xx+4,2,2)
put B into col(xx+4,1,1)
eka="intRI"
put eka into col(xx+3,2,2)
toka="intRI*V"
put toka into col(xx+3,1,1)
mom1=B/A
put mom1 into col(xx+4,3,3)
m="1 momentti"
put m into col(xx+3,3,3)

'2, Momentti
C=(V-mom1)^2*RI

Cdif1=diff(C)
Cdif=Cdif1[data(2,n)]
C1=C[data(1,n-1)]
' integrointi
intgr3=C1*Vdif+0.5*Cdif*Vdif
D=total(intgr3)
put D into col(xx+4,4,4)
neljas="intmom2"
put neljas into col(xx+3,4,4)
mom2=D/A
put mom2 into col(xx+4,5,5)
m2="2 momentti"
put m2 into col(xx+3,5,5)

```

```

' Retentiotekijä; k
k=(mom1-BD)/BD
put k into col(xx+4,6,6)
rettek="k"
put rettek into col(xx+3,6,6)

' HETP
HETP=z*mom2/mom1^2
put HETP into col(xx+4,7,7)
HE="HETP"
put HE into col(xx+3,7,7)

' wb
wb=4*sqrt(mom2)
put wb into col(xx+4,8,8)
W="wb"
put W into col(xx+3,8,8)

' Adstaspvakio K
Ko=(mom1/vn-z*e/(vn/(pii*(d/2)**2))-
Vloop/(vn*2))*(vn/(pii*(d/2)**2))
Kn=z*(1-e)
K=Ko/Kn
put K into col(xx+4,9,9)
Adv="K"
put Adv into col(xx+3,9,9)

' Tehollinen diffuusiokerroin; Deff
Apu1=2*0.01*z*pii*((d*0.01/2)**2)
Apu2=K*(Rp)**2*(1-e)
Apu3=Apu1*Apu2
Apu4=15*(60*mom2-5*Vloop**2)/vn
Deff=Apu3/Apu4
put Deff into col(xx+4,10,10)
Tehdif="Diffuusiokerroin"
put Tehdif into col(xx+3,10,10)

```