



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Masteroppgave 2018 30 stp

Fakultet for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap

Karakterisering av dampeksplodert norsk gran (*Picea abies*) med flashpyrolyse-GC-MS.

Characterisation of steam exploded Norway spruce (*Picea abies*) using flashpyrolysis-GC-MS.

Anders Solli

Sivilingeniør: Kjemi og Bioteknologi – organisk analyse

Forord

Denne masteroppgaven er skrevet som en avsluttende del av Sivilingeniørstudiet innen organisk analyse. Arbeidet ble utført ved faggruppen for naturstoffkjemi og organisk analytisk kjemi på Fakultet for kjemi, bioteknologi og matvitenskap ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet høsten 2017.

Jeg vil gjerne benytte anledningen til å takke alle som har bidratt med å gjøre denne oppgaven mulig. I første omgang vil jeg takke min hovedveileder, Professor Yngve Stenstrøm, for god veiledning og tilbakemelding underveis. Jeg vil også takke mine biveiledere, Professor Dag Ekeberg og Senioringeniør Hanne Marie Devle for gode råd og støtte. I tillegg til dette vil jeg rette en spesiell takk til min siste biveileder, Stipendiat Ida Synnøve Aarum, for hennes utrettelige veiledning under hele prosessen.

Jeg vil også rette en oppmerksomhet til alle i kjemigangen for god praktisk hjelp og hyggelig samtaler under morgenkaffen. Til slutt vil jeg takke familien og venner for oppmuntring og avkobling under oppgaven.

Ås, Januar 2018.

Anders Solli

Sammendrag

Økt utnyttelse av biomasse kan gi store miljøgevinster i fremtiden, da det kan erstatte deler av olje- og gassindustrien. For å oppnå dette må forbehandlingen av biomassen optimaliseres, slik at biopolymerene cellulose, hemicellulose og lignin effektivt separeres og klargjøres for videre bruk. Målet med denne oppgaven var å undersøke effekten av dampekspløsjon, som er en av de mest brukte forbehandlingene.

Det ble undersøkt åtte ulike dampeksploderte prøver av norsk gran (*Picea abies*), samt en kontroll, bestående av ubehandlet gran. De forskjellige dampekspløsjonsbetingelsene var fire ulike temperaturer 180, 190, 200 og 210 °C med to ulike oppholdstider, 5 og 10 minutter. Alle prøvene ble analysert med fraksjonert flashpyrolyse-GC-MS med pyrolysetemperaturene 350, 600 og 900 °C. I tillegg til dette, ble innholdet Klason-lignin bestemt.

Det ble observert en økning av Klason-lignin etter dampekspløsjon som skyldes dannelse av pseudo-lignin og tap av hemicellulose. Av fenolkomponenter ble det observert 22 G-derivater. Dette bekrefter et høyt innhold av G-lignin. Det var en økt forekomst av 4-hydrokso-3-metoksoybenzen (vanillin), 2-metokso-4-propylfenol (dihydroeugenol), 2-metoksofenol (guaiacol) og 4-hydrokso-3-metoksofenyl-2-propanon. Den økende forekomsten av disse forbindelsene er en indikasjon på at β -O-4 bindingen brytes under dampekspløsjon.

Resultatene viser også en økt forekomst av furankomponenter, spesielt 5-hydroksymetylfurfural (5-HMF). Denne økningen, sammen med den tilnærmede uendrede sammensetningen av fenolkomponenter tyder på at pseudo-lignin egentlig består av furankomponenter, og ikke kondensert lignin som tidligere antatt. Det er i tillegg observert likheter mellom kompleksene pseudo-lignin, kald-indusert pseudo-lignin og humin.

Abstract

More extensive use of biomass as a resource can give great environmental advantages in the future, as it can replace some of the oil and gas-industry. To accomplish this the pretreatment of lignocellulosic biomass must be optimized to get the most efficient separation and preparation of the biopolymers cellulose, hemicellulose and lignin. Steam explosion is one of the most used pretreatments, and the main goal of this thesis is to investigate the effects of this pretreatment.

In this study, eight samples of steam exploded Norway spruce (*Picea abies*) were investigated, together with one untreated sample. The conditions used during steam explosion were temperatures at 180, 190, 200 and 210 °C with two different residence times at 5 and 10 minutes. All samples were analyzed with fractionated flashpyrolysis-GC-MS at the pyrolysis temperatures 350, 600 and 900 °C. The amount of Klason-lignin was also measured for all samples.

It was observed an increase of Klason-lignin due to formation of pseudo-lignin and loss of hemicellulose. It was also observed 22 G-derivatives in the samples which confirms a high content of G-lignin. Among the phenols 4-hydroxy-methoxybenzen (vanillin), 2-methoxy-4-propylphenol (dihydroeugenol), 2-metoksyfenol (guaiacol) and 4-hydroxy-3-methoxyphenyl-2-propanone had an increase after steam explosion. This increase indicates cleavage of the β -O-4 bond during steam explosion.

It was also observed an increase of furans, especially 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF). This increase, together with stable amount of phenols, indicates that pseudo-lignin consists of furans, and not condensated lignin as previously assumed. Pseudo-lignin is also compared to other complexes humin and CIPL.

Forkortelser

Tabell 1. Oversikt over forkortelser som er brukt i oppgaven.

	Norsk forklaring	Engelsk forklaring
CIPL	Kald-indusert pseudo-lignin	Cold-induced pseudo-lignin
DE	Dampeksplasjon	Steam explosion
EI	Elektron ionisering	Electron ionization
FT-IR	Fouriertransformasjon infrarød spektroskopi	Fourier-transform infrared spectroscopy
G	Guaiacol	Guaiacol
GC	Gasskromatografi	Gas chromatography
HSQC	Heteronukleær enkel-kvante korrelasjon	Heteronuclear single quantum coherence
LiP	Lignin peroksidase	Lignin peroxidase
LLC	Lignin-karbohydrat komplekser	Lignin-carbohydrat complex
m/z	Masse til ladning	Mass to charge ratio
MnP	Mangan-avhengig peroksidase	Manganese-dependent peroxidase
MS	Massespektrometri	Mass spectrometry
NMR	Kjernemagnetisk resonans	Nuclear magnetic resonance
RT	Retensjonstid	Retention time
RIC	Rekonstruert ionekromatogram	Reconstructed ion chromatogram
Py	Pyrolyse	Pyrolysis
UVRR	Ultrafiolett resonans Ramanspektroskopi	Ultraviolet Resonance Raman
VP	Allsidig peroksidase	Versatile peroxidase
MWL	Björkman-lignin	Björkman milled wood lignin
Char	Faststoffrester etter pyrolyse	Solid residue after pyrolysis of biomass
LOD	Deteksjonsgrense	Limit of detection

Innholdsfortegnelse

Forord	I
Sammendrag	II
Abstract	III
Forkortelser	IV
1. Introduksjon	1
1.1 Sammensetning av biomasse fra trær	1
1.1.1 Cellulose	1
1.1.2 Hemicellulose	2
1.1.3 Lignin	3
1.2 Forbehandling av biomasse	6
1.2.1 Biologisk forbehandling	6
1.2.2 Fysisk forbehandling	6
1.2.3 Kjemisk forbehandling	7
1.2.4 Dampekspløsjon	7
1.3 Isolering av lignin	8
1.4 Pseudo-lignin	9
1.5 Analyse av biomasse	9
1.5.1 Pyrolyse-GC-MS	10
1.6 Hensikt med oppgaven	13
2. Eksperimentelt	14
2.1 Utstyr og materialer	14
2.1.1 Kjemikalier, laborieutstyr og laboriematerialer	14
2.2 Dampekspløsjon av gran	15
2.3 Tørrstoffanalyse	15
2.4 Bestemmelse av Klason-lignin	15
2.4.1 Tørking og aceton-ekstraksjon	15
2.4.2 Hydrolyse	16
2.5 Py-GC-MS av dampeksplodert gran	16
2.5.1 Skylling, tørking og pulverisering	16
2.5.2 Analysering med Py-GC-MS	16
2.5.3 Standarder	18
3. Resultater og diskusjon	20
3.1 Bestemmelse av mengde Klason-lignin	20
3.2 Fraksjonert Py-GC-MS	21

3.2.1	Bestemmelse av LOD.....	21
3.2.2	Detekterte og identifiserte komponenter	23
3.2.3	Semikvantitativ analyse.....	33
4.	Konklusjon og videre arbeid	43
5.	Referanser.....	44
6.	Vedlegg	51
6.1.	Tørrestoffinnhold	51
6.2.	Klason-lignin	51
6.3.	Relativt areal	52

1. Introduksjon

I dagens samfunn er det stadig voksende etterspørsel etter energi, drivstoff og høykvalitetskjemikalier fra petroleumsindustrien. Fossile ressurser tømmes og det er viktig å finne bærekraftige og miljøvennlige alternativer. Ved å bruke biomasse som råmateriale kan man produsere mange av dagens petroleumsprodukter, og med økt utnyttelse kan dagens forbruk av olje og gass reduseres¹⁻³. Biomasse er definert som all organisk masse fremstilt av levende organismer, som blant annet trevirke, avlinger og biologisk avfall. Biomasse fra planter og trær kan grovt deles opp i tre hovedbestanddeler: cellulose, hemicellulose og lignin. Tradisjonelt har cellulose blitt brukt i papirindustri, mens lignin har blitt brukt som energirikt brensel. I løpet av de siste tiårene har man imidlertid funnet nye anvendelser av både cellulose og hemicellulose, mens lignin som har en svært kompleks struktur, fremdeles i hovedsak blir benyttet som energikilde¹⁻⁵. I senere år har også interessen for lignin økt med tanke på å bruke det som råmateriale i produksjon. Lignin har et potensiale og kan blant annet brukes til biodrivstoff^{6, 7}, plast⁸, karbonfibre⁹ og bindemiddel^{10, 11}. Det er også vist at lignin er en antioksidant, som åpner muligheten for anvendelse i kosmetiske produkter¹²⁻¹⁴. Lignin er en naturlig kilde til hydrokarboner og vil, som råmateriale i karbonfiberproduksjon, senke både produksjonstid og kostnad⁹. Bioraffinerier blir stadig mer avhengig av å utnytte potensialet til lignin, samtidig som de må ivareta eksisterende produksjon. Det er av den grunn stor interesse for å optimalisere ulike forbehandlinger av biomasse.

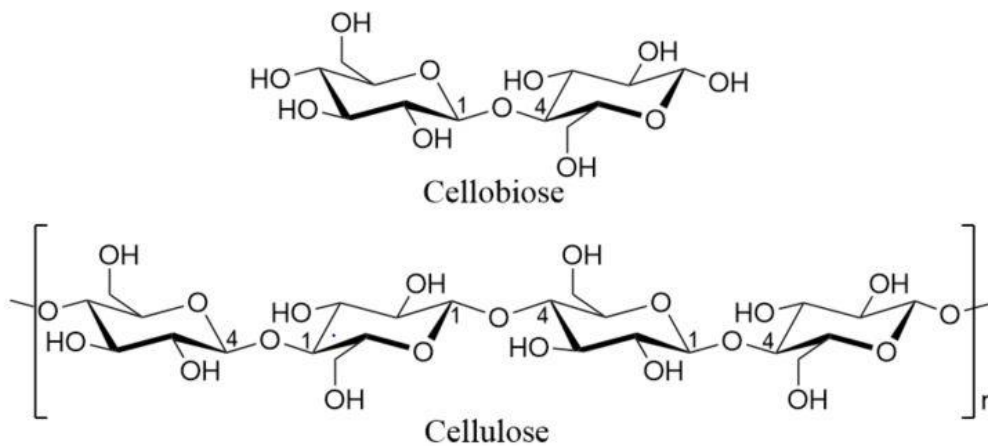
1.1 Sammensetning av biomasse fra trær

Tremasse består av biopolymerene cellulose, hemicellulose og lignin sammen med små mengder av pektin, protein, aske og uorganiske rester^{4, 5, 15, 16}. Mengdeforholdet varierer mellom ulike arter og innad deres livssyklus¹⁵, men i bartrær er forholdet 45-50% cellulose, 25-35% hemicellulose og 25-35% lignin⁴. Cellulose og lignin er de to biopolymerene med høyest forekomst på jorda¹⁷. De er tett sammenbundet, der cellulose er i en krystallisert tilstand innkapslet i en matriks av hemicellulose og lignin⁵. Lignin er viktig for cellestrukturen, samt styrken og stivheten til stammen i planter og trær. Det er også lignin som sørger for at celleveggen er vanntett¹⁷.

1.1.1 Cellulose

Cellulose er et lineært homopolysakkarid bestående av lange kjeder med D-glukoseenheter som er bundet sammen med β -(1-4) glykosidbindinger^{18, 19}. Konformasjonsanalyser viser at cellobiose er den grunnleggende byggesteinen i cellulose, og ikke glukose som tidligere

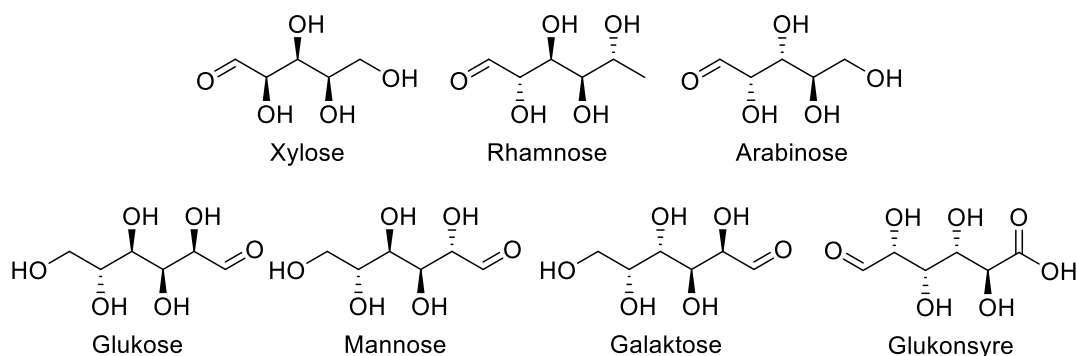
antatt²⁰. Cellobiose består av to D-glukoseenheter som har stolkonformasjon, med hydroksylgruppene i ekvatorial posisjon, se Figur 1.1. Dette fører til at cellulose danner sterke hydrogenbindinger både innad i kjeden og med andre nærliggende kjeder. Nettverket av hydrogenbindinger fører til dannelse av mikrofibriller, som er cellulose pakket i en stabil krystallisert tilstand^{18, 19, 21}. Størrelsen på polysakkarider er oppgitt i polymeriseringsgrad, altså antall molekyler bundet sammen i en enkelt kjede. Dette er en nyttig målestokk for karakterisering av ulike cellulosefibre og deres egenskaper²².



Figur 1.1. Viser strukturen til cellobiose og cellulose, der cellulose er bygget opp av flere cellobioseenheter¹⁸.

1.1.2 Hemicellulose

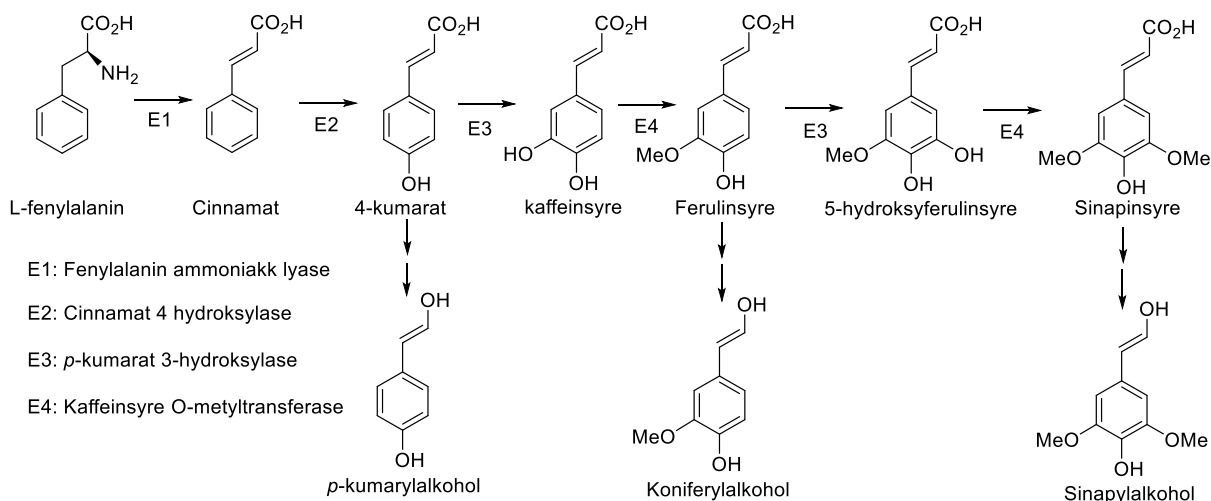
Hemicellulose er heteropolysakkarider som i hovedsak bygges opp av pentosene: xylose, rhamnose og arabinose, og heksosene: glukose, mannose og galaktose, sammen med uronsyrer. Det er derfor mange mulige sammensetninger og strukturer, som igjen gir forskjellige egenskaper. I bartrær er det et høyt innhold av glukomannan og galaktoglukomannan. Glukomannan består av β -(1-4) bundet D-glukopyranose og D-mannoseenheter^{16, 23}. Lundqvist *et al.*²⁴ undersøkte glukomannan i grantrær og fant ut at en tredjedel er acetyllert. I løvtrær er derimot xylan den vanligste formen for hemicellulose. Xylan er bygget opp av D-xyloseenheter og har i hovedsak to forskjellige strukturer. En rett, ikke avgreinet kjede, som er 1-4 bundet, og en helikslignende struktur som er 1-3 bundet^{16, 18}. Figur 1.2 viser de vanligste byggsteinene til hemicellulose.



Figur 1.2. Struktur av vanlige monomerer i hemicellulose: xylose, rhamnase, arabinose, glukose, mannose, galaktose og glukonsyre, som er uronsyren dannet fra glukose¹⁶.

1.1.3 Lignin

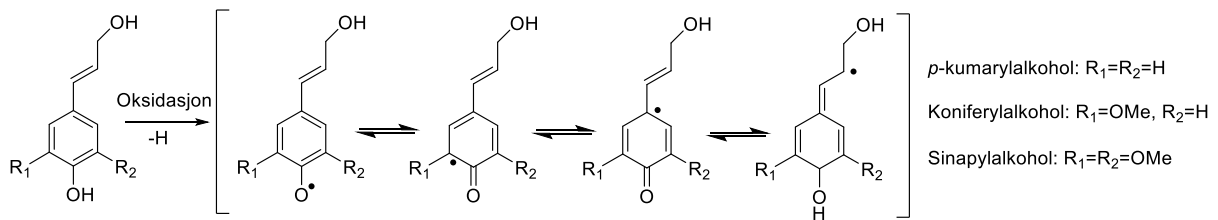
Lignin er en amorf polymer bygget opp av monomerene *p*-kumarylalkohol, koniferylalkohol og sinapylalkohol. De tre monomerene kalles monolignoler og dannes ved deaminering av aminosyrene L-fenylalanin og L-tyrosin^{17, 18, 25}. Alle planter og trær kan deaminere L-fenylalanin ved bruk av enzymet fenylalanin ammoniakk lyase, men det er imidlertid kun planter fra grasfamilien som kan deaminere L-tyrosin²⁶. Figur 1.3 viser biosyntesen av monolignolene fra L-fenylalanin.



Figur 1.3. Biosyntese av *p*-kumarylalkohol, koniferylalkohol og sinapylalkohol fra L-fenylalanin. E1 til E4 beskriver de forskjellige enzymene brukt i de forskjellige trinnene i biosyntesen^{17, 26}.

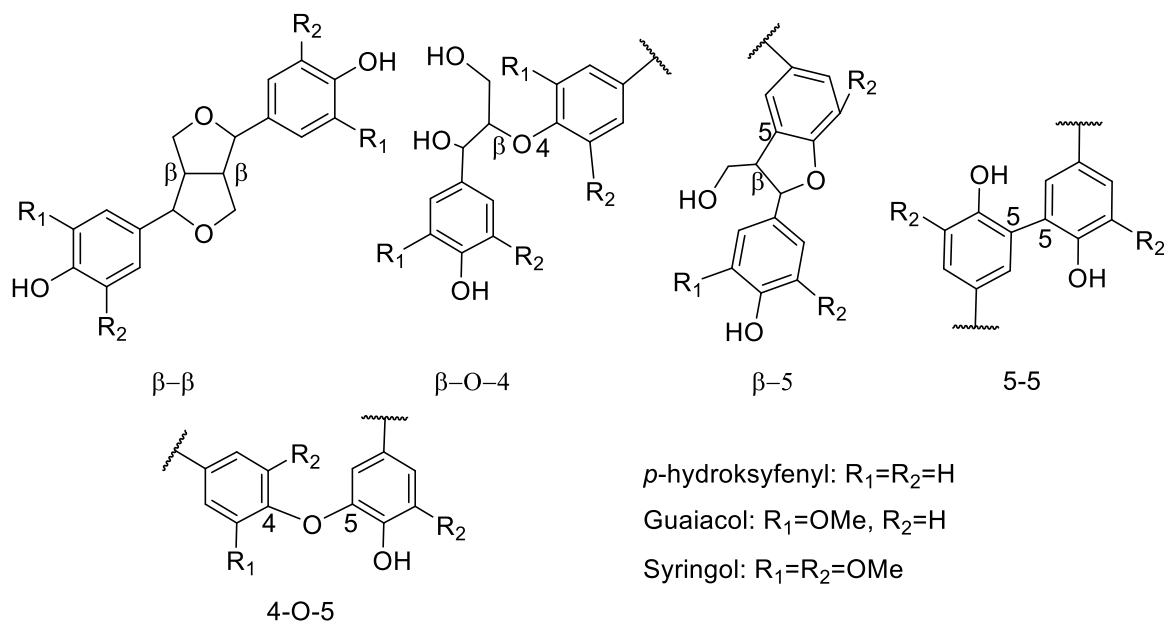
Under polymeriseringen av lignin dannes fenylpropanoidenhetene *p*-hydroksyfenyl (H), guaiacol (G) og syringol (S) fra sine respektive monolignoler. De er bundet sammen i en kompleks tredimensjonal struktur med eter og karbon-karbon bindinger. Bindingene dannes under friradikal-reaksjonene lignifisering og dimerisering. Dimerisering er når to

fenylpropanoidenheter kobles sammen og danner en dimer, som også kalles en ligand. Lignifisering er når ligander, eller større kjeder, binder til seg en ny enhet. Reaksjonene er initiert og kontrollert av enzymer, som også danner radikalene ved dehydrogenering av hydroksylgruppen i paraposisjon. Radikalene er relativt stabile grunnet resonansstabilisering, Figur 1.4^{17, 27}.



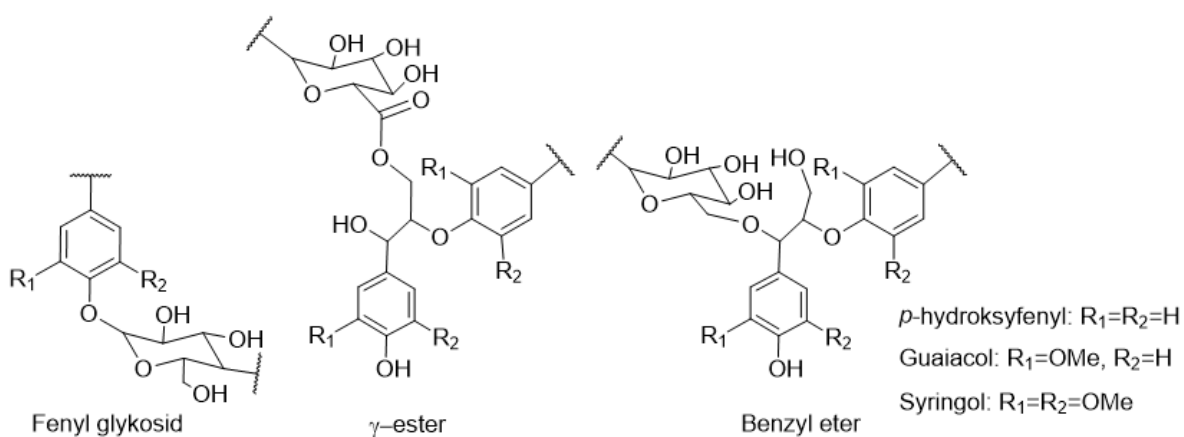
Figur 1.4. Resonansstabilisering av p -kumarylalkohol, koniferylalkohol og sinapylalkohol²⁸.

Bindingsmønsteret til lignin er meget komplekst og består hovedsakelig av bindingene β -O-4, β -5, β - β , 5-5 og 5-O-4¹⁷, Figur 1.5. Den mest favoriserte bindingen er β -O-4 med forekomster opp til 40% i lignin fra gran²⁹. Dette er også bindingen som er lettest å bryte, noe som skaper grunnlaget for sulfatprosessen og flere analytiske metoder¹⁷. De ulike bindingene avhenger av hvilke fenylpropanoidenheter polymeren er satt sammen av. Lignin med høyt innhold av guaiacol, vil ha flere β -5, 5-5 og 5-O-4 bindinger enn lignin som også inneholder syringol, grunnet tilgangen på C₅ i guaiacol. Dette gir store forskjeller i bindingsmønsteret mellom bartrær og løvtrær da det i hovedsak bare er løvtrær som inneholder syringol^{17, 18, 25}.



Figur 1.5. Oversikt over de fem vanligste bindingene i lignin, β - β , β -O-4, β -5, 5-5 og 4-O-5¹⁷.

Lignin er også kjent for å være kovalent bundet til cellulose og hemicellulose. Lignin-karbohydrat kompleksene (LLC) har tre kjente bindinger: fenyl glykosider, γ -estere og benzyl etere³⁰⁻³², Figur 1.6. Det er lave forekomster av LLC i tremasse selv om nesten alt lignin er bundet til hemicellulose³³. Kompleksene skaper utfordringer ved separasjon av komponenter i forbehandling, som er hovedgrunnen til at det er vanskelig å isolere lignin uten å endre den kjemiske strukturen^{34, 35}.



Figur 1.6. Oversikt over bindingene til lignin-karbohydrat kompleksene. Fenyl glykosid og benzyl eter er i figuren bundet til glukose, mens γ -ester er bundet til glukonsyre³⁴.

1.2 Forbehandling av biomasse

For å klargjøre biomasse for videre bruk, er det essensielt å bryte ned den kjemiske og fysiske motstanden i cellestrukturen. Forbehandling frigjør biopolymerene slik at disse er klare for videre prosessering, og er ofte den mest kostbare prosessen for et bioraffineri. Det er derfor viktig å optimalisere prosessene slik at man får høyest mulig utbytte av ønsket komponent. En vanlig fremgangsmåte er nedbrytning av cellulose og hemicellulose til monomere sukkermolekyler. Disse blir ofte fermentert til bioetanol etter forbehandling¹⁵, men kan også utvinnes til en rekke andre produkter, som 5-hydroksymetylfurfural (5-HMF) fra cellulose og furfural fra hemicellulose. Furankomponentene kan rehydreres til kostbare syrer som kan videreutvikles til flere høykvalitetsprodukter³⁶, noe som har ført til flere studier på forbehandling av disse³⁷⁻³⁹. Kompleksiteten og muligheten til biomasse har ført til utviklingen av mange ulike forbehandling. Disse deles inn i biologiske, fysiske og kjemiske prosesser som ofte kombineres^{5, 15, 40-43}.

1.2.1 Biologisk forbehandling

I biologisk forbehandling brukes mikroorganismer til nedbrytning av biomasse. For tremasse blir det som regel brukt sopp, og det viser seg at hvitråtesopp er den mest effektive⁴⁴. Nedbrytingen av lignin skyldes enzymene som hvitråtesoppen skiller ut. To av de viktigste er lignin peroksidase (LiP) og mangan-avhengig peroksidase (MnP), som blir produsert av hvitråtesoppen i sekundærmetabolismen⁴⁵. Et tredje enzym, en allsidig peroksidase (VP), har egenskapene til både MnP og LiP og er betegnet som en hybrid mellom disse^{46, 47}. En studie har vist hastigheten på lignin nedbrytningen kan økes ved å genmodifisere hvitråtesoppen til å produsere mer VP⁴⁸. Prosessen krever lite energi og ingen kjemikalier, og hadde vært et godt alternativ i industrien dersom effektiviteten hadde vært tilstrekkelig. Det tar imidlertid 10-14 dager å bryte ned biomassen, noe som fører til at det kreves enorme arealer for å møte etterspørselen^{4, 49, 50}.

1.2.2 Fysisk forbehandling

Fysiske forbehandling har generelt dårlig effektivitet i forhold til energibruk, og er derfor sjeldent brukt alene. I kombinasjon med andre forbehandlingstyper vil det imidlertid ha økt effektivitet og generell gjennomførbarhet som de viktigste fordelene^{43, 51, 52}. Mekanisk findeling er den desidert mest brukte metoden, der målet er å øke overflatearealet, redusere partikkelstørrelsen, og å åpne mikrofibrillene i cellulose¹⁵. Tremassen kan kuttes, slipes og knuses til mindre partikler, vanligvis 10-30 mm etter kutting, og 0,2-2 mm etter knusing og sliping⁴. Energien som kreves for findeling avhenger av ønsket partikkelstørrelse på

sluttprodukt og biomassens sammensetning. Cadoche and López⁵³ bekreftet dette da de fant ut at det kreves mer energi for å knuse løvtrær enn jordbruksrester.

1.2.3 Kjemisk forbehandling

Kjemisk forbehandling er ofte kraftige prosesser som kan føre til strukturendringer i biomassen. Det er mange ulike behandlinger, og noen eksempler er syre- og alkalihydrolyse, ozonolyse og oppspaltninger av biopolymerene i organiske løsemidler⁴. I organiske løsemidler brytes de kovalente bindingene mellom lignin og hemicellulose. Det brukes en uorganisk syre som katalysator, og et løsemiddel som for eksempel metanol, etanol eller aceton i prosessen⁵⁴. Metoden gir et høyt utbytte, og med resirkulering av løsemiddelet er det en kostnadseffektiv prosess. Det er imidlertid essensielt å fjerne alt løsemiddel fra produkt etter endt behandling, da dette vil gi en hemmende effekt under hydrolysering og fermentering⁴.

I alkaliehydrolyse bruker man en sterk base i lave konsentrasjoner. Natriumhydroksid er mest brukt grunnet pris og effektivitet⁵⁵. Behandlingen fører til at massen sveller og overflatearealet øker, samtidig som krystalliseringen av cellulose brytes og polymeriseringsgraden synker. Det er også vist at kovalente bindinger mellom lignin og karbohydrater brytes. Effekten av alkalihydrolyse avhenger sterkt av biomassens sammensetning, og spesielt på lignininnholdet⁴. I en undersøkelse ble bartrær og løvtrær behandlet med fortynnet natriumhydroksid. Resultatet var at lignininnholdet i løvtrær sank fra 24-50% til 20% mens det ikke var noen observert endring på bartrær med lignininnhold over 26%⁵⁶.

1.2.4 Dampekspløsjon

I dampekspløsjon kombineres fysiske og kjemiske prinsipper, og metoden er en av de mest brukte grunnet effektivitet og tilpasningsevne^{41, 57}. Dampekspløsjon foregår i en reaktor der biomassen blir utsatt for varm vanddamp under høyt trykk. Når trykket senkes raskt vil fibrene i biomassen ekspandere. Dette fører til at krystallstrukturen til cellulose brytes og at hemicellulose hydrolyseres. Resultatet er en mørk biomasse som inneholder cellulose, små mengder hemicelluloserester og kjemisk endret lignin^{18, 58-60}. Temperaturen og oppholdstiden i reaktoren er de viktigste faktorene, og kombineres disse kan man forutse resultatet⁵⁹. Vivekanand *et al.*⁶¹ testet ulike dampekspløsjonsbetingelser på bjørk. De oppdaget at kraftigere behandling, altså høyere temperatur og lengre oppholdstid, ga høyere andel syreuløselig lignin (Klason-lignin), samtidig som de fikk en mørkere og mer klebrig biomasse med mindre synlig fiberstruktur. Etter 24 timers hydrolyse ga 220 °C og 10 minutters oppholdstid høyest glukoseinnhold. Optimale betingelser varierer mellom bartrær og løvtrær grunnet

sammensetningen av tremassen¹⁸. Et eksempel på dette er at hemicellulosen i løvtrær vil autohydrolysere da det er et høyt innhold av acetyleret xylan, som gir svake syre-egenskaper. I bartrær vil derimot det høye innholdet av glukomannan og galaktoglukomannan gi motsatt effekt¹⁸. I den sammenheng er det forsket på tilsetning av syrekatalysatorer i biomassen før dampeksplasjon, og Mackie *et al.*⁶² undersøkte effekten ved å tilsette svovelsyre og svoveldioksid i trefflis fra osp. Begge forsøkene resulterte i økt pentoseinnhold og raskere hydrolysering.

1.3 Isolering av lignin

Det har historisk sett alltid vært vanskelig å isolere lignin, både grunnet ligninets struktur og LLC. Det finnes derfor ingen optimal metode som gir høyt utbytte uten strukturendring, men det er mange metoder som alle har sin egen spesifisering. Felles for disse er at tremassen må pulveriseres til en viss størrelse for å øke overflatearealet, som igjen øker effektiviteten. Björkman-lignin (MWL) er en isoleringsmetode som utføres ved ekstraksjon med et nøytralt løsemiddel. Ekstraksjonene utføres i romtemperatur og ofte med dioksan og vann i forholdet 9:1. Metoden er kjent for å gi liten, eller ingen, endring av ligninets kjemi, og er derfor meget populær for analyse av ligninstruktur. Utbyttet er imidlertid lavt og ligger på rundt 20-30%, avhengig av total mengde lignin i prøvene^{63, 64}.

Det finnes flere enzymatiske metoder for isolering av lignin. I disse metodene brukes ofte cellulaser, som er enzymer spesifikke for nedbrytning av cellulose. Enzymene vil derfor bryte ned mesteparten av karbohydratene i massen, mens lignin forblir urørt og uendret. Dette gir et utbytte av lignin på tilnærmet 100%, men mengden karbohydratrester fra LLC og den store molekylstørrelsen fører til et tungt løselig produkt, som derfor er vanskelig å håndtere^{63, 64}.

Den mest brukte metoden for kvantitativ ligninbestemmelse er Klason-lignin. Det er en to-trinns hydrolyse, der første trinn er nedbrytning av celluloseens krystallstruktur med høykonsentrert svovelsyre i romtemperatur. I neste trinn hydrolyseres karbohydratene i fortynnet syre ved høy temperatur. Resultatet er vannløselige suktermolekyler og syreløselig lignin. Ligninet kan veies og kvantifiseres, men er uegnet for andre analytiske formål grunnet store endringer i struktur. Dersom ligninet inneholder mye syringol, som i løvtrær, vil deler av ligninet være syreløselig. Tapet kan korrigeres for ved å bestemme andelen syreløselig lignin ved UV-absorpsjon^{41, 63, 65, 66}.

1.4 Pseudo-lignin

Pseudo-lignin er et kompleks som dannes etter syre-katalysert hydrolyse. Dette er hydrolyseringsprosessen som skjer i flere kjemi-fysiske forbehandlinger, som blant annet dampeksplasjon og varmtvannsekstraksjon. Det er viktig å påpeke at ingen har bekreftet hva pseudo-lignin egentlig er, men det er kjent at komplekset hindrer enzymatisk hydrolyse og øker innholdet Klason-lignin. Det er i den sammenheng blitt utført flere undersøkelser om temaet som har gitt informasjon og forslag om pseudo-ligninets egenskaper, sammensetning og struktur^{61, 67-74}.

Det ble foreslått av Li *et al.*⁷³ at karbohydrater som brytes ned under syre-katalysert hydrolyse omdannes til pseudo-lignin. Forslaget ble senere styrket av både Hu *et al.*⁶⁸ og Sannigrahi *et al.*⁷⁰. Dehydrering av pentoser og heksoser gir henholdsvis furfural og 5-HMF, og disse blir sett på som nøkkelkomponenter i dannelsen av pseudo-lignin⁷³. Det er i tillegg blitt verifisert at høye temperaturer, lav pH og oksygentilførsel er viktige betingelser under dannelsen av komplekset⁷¹. Pseudo-lignin er undersøkt med Fouriertransformasjons-IR (FT-IR) og kjernemagnetisk resonans (NMR). Dette har gitt resultater som indikerer at pseudo-lignin dannes gjennom kondensasjonspolymerisasjon og polymeriseringsreaksjoner som gir karbonyl, karboksyl, aromater og alifatiske strukturer^{68, 70, 72}.

Zhuang *et al.*⁶⁷ har i en undersøkelse funnet kald-indusert pseudo-lignin (CIPL) i varmtvannsbehandlet tremasse. CIPL ble formet på overflaten av tremassen etter nedkjøling og stammer trolig fra dekomponert lignin, furfural og 5-HMF fra hydrolysatet. Det er grunn til å tro at CIPL også hindrer enzymatisk nedbrytning av cellulose, og en foreslått løsning er direkte separasjon av komponenter under behandling.

1.5 Analyse av biomasse

Ved analyse av biomasse er det viktig å ta lignin polymerens komplekse struktur i betraktning. Det er derfor vanskelig å analysere biomassen i sin helhet på tilfredsstillende vis. Det finnes allikevel en rekke analysemetoder som kan deles inn i kategoriene nedbrytende og ikke-nedbrytende. Noen nedbrytende metoder som permanganat-oksidasjon, benzen-oksidasjon og avspaltning med tiosyrer har lenge blitt brukt i analyse av ligning. Det er først i senere tid, sammen med den teknologiske utviklingen, at ikke-nedbrytende analysemetoder som ultrafiolett resonans Ramanspektroskopi (UVRR), NMR og FT-IR har blitt aktuelle²⁸.

De spektroskopiske metodene, UVRR og FT-IR, er begge populære. De gir en rask og pålitelig identifisering av funksjonelle grupper, og er ofte brukt som tilleggsanalyser i kombinasjon med

andre^{75, 76}. NMR-spektroskopi har derimot høyere oppløsning og vil gi mer informasjon⁷⁷. Det er et mye brukt verktøy for karakterisering av lignin, spesielt ved bruk av de moderne (2D) metodene, der protonspekteret korrelerer med karbonspekteret slik at den høye oppløsningen i ¹³C kombineres med den høye sensitiviteten til ¹H²⁸. Heteronukleær enkel-kvante korrelasjon (HSQC) er den mest populære (2D) metoden for lignin prøver. Med HSQC er det mulig å tolke komplekse spektre med overlappende topper, samtidig som man får ut mer informasjon enn ved bruk av andre (2D) metoder⁷⁸.

Permanganat-oksidasjon, avspalting med tiosyrer og pyrolyse er alle nedbrytende metoder. Felles for disse er at de dekomponerer polymerene slik at det er mulig å analysere fraksjoner av prøvematerialet²⁸. I permanganat-oksidasjon får man kvalitativ informasjon om deler av ligninstrukturen, etter en rekke oksidasjoner som resulterer i metylsubstituerte aromatiske karboksylsyremetylestere av ligninprøven^{28, 79}. Avspaltning med tiosyrer fører til selektiv kutting av β -O-4 bindingen i lignin, der produktene senere kan analyseres med blant annet GC-MS⁸⁰⁻⁸².

1.5.1 Pyrolyse-GC-MS

1.5.1.1 GC-MS

Sammenkobling mellom gasskromatografi (GC) og massespektrometri (MS) gir en ypperlig kombinasjon for separasjon og analyse av flyktige og semiflyktige molekyler. I GC separeres komponenter med hensyn på flyktighet ved interaksjoner mellom analytt og kolonnematerialet. Det finnes mange ulike kolonnematerialer, og disse kan optimaliseres for ulike analytter. Bæregassen som benyttes må være inert og er vanligvis Helium eller Nitrogen. Disse driver analyttene gjennom kolonnen. I et MS-instrument vil molekyler ioniseres og deretter undergå en fragmentering i ionekilden. Det finnes forskjellige ionekilder med ulike ioniseringsmetoder, der den mest brukte er elektronionisering (EI). Fragmenteringen og ioniseringen av et molekyl vil føre til en spesifikk mengde av ulike ioner. Disse detekteres som masse til ladning (m/z)^{83, 84}.

1.5.1.2 Pyrolyse

Ved pyrolyse dekomponeres molekyler med høy temperatur i fravær av oksygen. Ved å koble pyrolyse med GC-MS vil man derfor åpne muligheten for analyse av ikke flyktige komponenter og større polymerer. Metoden gir informasjon om sammensetningen til komplekse polymerer, og er av den grunn mye brukt for analyse av biomasse⁸⁵.

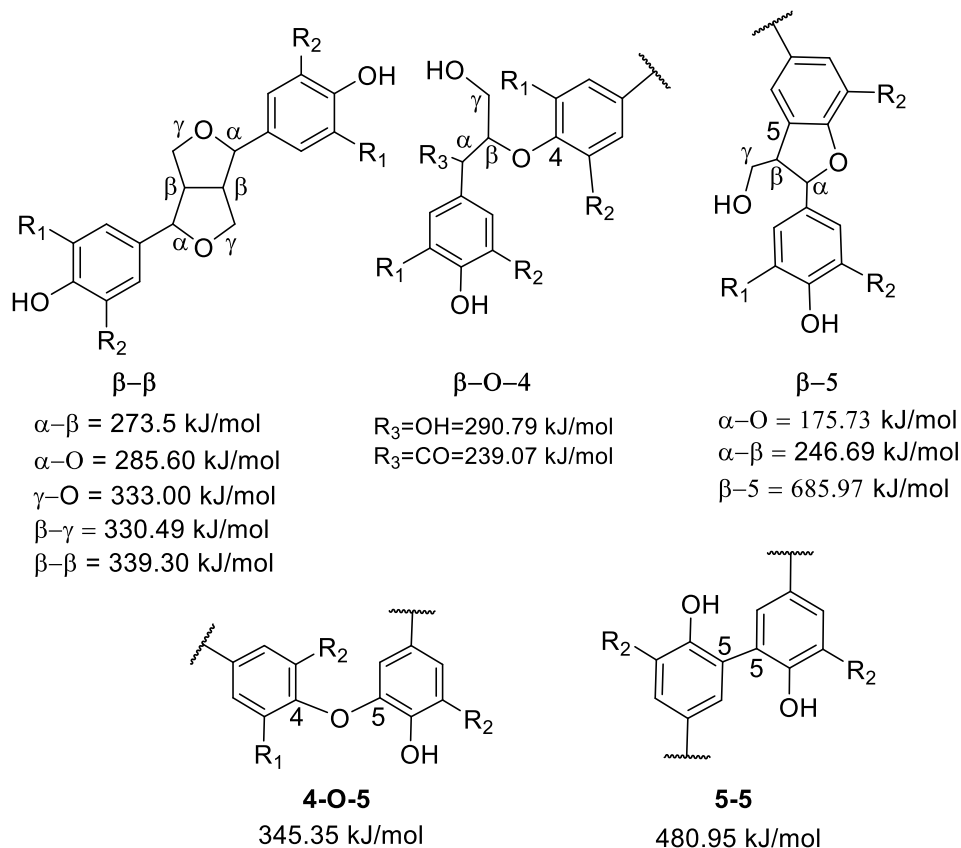
Det er hovedsakelig to typer pyrolyser, én for analytiske formål og én for produksjon av ønskede komponenter. Hovedforskjellen på disse er hastigheten på temperaturøkningen, der man ønsker en høy hastighet i analytisk pyrolyse for å produsere komponenter fra primærreaksjoner. I pyrolyse for analytiske formål er det spesielt viktig at fragmentene representerer hele prøven, altså at prøven blir pyrolysert til både den minste og største enheten det er mulig å analysere. For å oppnå reproducerbarhet er det viktig med temperaturkontroll i pyrolysen, korrekt prøvemengde og rask injisering av pyrolysert gass til kolonnen. Med temperaturkontroll må det påses at den korrekte temperaturen oppnås ved lik hastighet og holdes i like lang tid for hver pyrolyse. Vanlige pyrolysetemperaturer er på 400-1000 °C, som oppnås på kort tid, og med pyrolyseenheten (Pyrola 2000 pyrolAB, Sverige, Lund) tar det kun få millisekunder å gjennomføre en pyrolyse. Prøven som skal pyrolyseres plasseres på et filament bestående av et materiale med høy elektrisk motstand, ofte platina. Temperaturøkningen skyldes motstanden i filamentet ved høy elektrisk spenning. Etter endt pyrolyse er det viktig at den flyktige gassen raskt fraktes til GC-kolonnen for å unngå repolymerisering og dannelse av uønskede komponenter grunnet sekundærreaksjoner. For å sørge for dette må pyrolyseenheten plasseres nærme GC-kolonnen, samtidig som det må være gjennomstrømming av bæregass for rask transport av pyrolyseprodukt^{86, 87}.

Det er tre ulike pyrolysemetoder inne analytisk pyrolyse: fraksjonert, isotermisk og sekvensiell. I isotermisk og sekvensiell pyrolyse er det kun én pyrolysetemperatur, der det i isotermisk er én pyrolyse per injeksjon, i motsetning til sekvensiell, som har gjentatte pyrolyser. I fraksjonert pyrolyse er det flere pyrolysetemperaturer på samme prøveinjeksjon, noe som vil gi mer informasjon ut av hver injisering da prøvematerialet vil dekomponere ulikt ved forskjellige temperaturer. De tre metodene krever ulik prøvemengde, men i hovedsak alltid mindre enn 1 mg homogenisert prøvemateriale med maks 10% tørrstoff⁸⁷.

1.5.1.3 Pyrolyseprodukter

Pyrolyseresultater viser nedbrutte komponenter i prøvematerialet, og man får en god oversikt over sammensetningen av prøvematerialet ved å analysere disse. Det er imidlertid viktig å skille mellom primære og sekundære reaksjonsveier i pyrolysen. I primære reaksjoner er det tre veier: depolymerisering, fragmentering og faststoffrester ”char”⁸⁸. Faststoffrestene består av benzenringer i et polysyklisk nettverk, mens depolymerisering og fragmentering skaper flyktige komponenter. Depolymerisering er nedbrytning av polymerer til mindre enheter, og fragmentering skaper flere mindre organiske komponenter som lett kondenseres. Sammen med dannelse av ”char”, er sekundærreaksjoner uønsket i analytisk pyrolyse. Det er to typiske sekundærreaksjoner. Den ene er brytning av kjemisk bindinger i allerede flyktige komponenter, og den andre er rekombinasjon av produkter fra primærreaksjoner. Disse starter ofte med kløyving av O-CH₃ bindingene på aromatene i lignin og gir opphav til produkter som katekol, fenol og *o*-kresol^{85, 89, 90}.

Ved pyrolyse av cellulose vil glykosidbindingene mellom glukoseenhetene bli meget reaktive på rundt 300 °C. Det vil derfor skje en depolymerisering av cellulose på temperaturer mellom 300 – 390 °C. Produktene etter depolymerisering av cellulose er glukose og cellobiose, da disse har videre reaksjoner i pyrolyse vil typiske pyrolyseresultater være pyraner, furaner og små molekyler som eddiksyre og 1-hydroksey-2-propanon. De små molekylerne, ofte sammen med CO₂ er fragmenteringsprodukter, mens den mest dominerende pyranen er levoglukosan. Det er i tillegg observert mye av både 5-HMF og furfural. Mengdeforholdene av de ulike komponentene varierer ved ulike temperaturer og pyrolysetid^{88, 91, 92}. Pyrolyse av lignin gir mer komplekse resultater, da lignin er sammensatt av flere bindinger, der alle brytes ved ulik energimengde⁹³⁻⁹⁶, Figur 1.7. Ved å analysere produktene som dannes i pyrolyse kan man derfor kartlegge sammensetningen og store deler av strukturen til lignin.



Figur 1.7. Oversikt over ulike bindinger og hvor mye energi [kJ/mol] som kreves for å kløye disse. (4-O-5)⁹⁶, (β - β)⁹⁵, (β -5)^{94, 96}, (5-5 og β -O-4)⁹³

1.6 Hensikt med oppgaven

Hensikten med dette arbeidet er å undersøke effekten av dampekspløsjon på tremasse fra norsk gran. Analysen ble utført med Py-GC-MS, sammen med en gravimetrisk Klason-lignin bestemmelse. Hovedfokuset var å se på sammensetningen av tremassen etter dampekspløsjon for å undersøke de kjemiske endringene. Det er spesielt interessant å undersøke pseudo-lignin, om komplekset dannes under dampekspløsjon og hva det består av.

2. Eksperimentelt

2.1 Utstyr og materialer

2.1.1 Kjemikalier, laboratorieutstyr og laboratoriematerialer

I Tabell 2.1, Tabell 2.2 og Tabell 2.3 er det listet opp hvilke kjemikalier, hvilket laboratorieutstyr og hvilke laboratoriematerialer som ble brukt i oppgaven.

Tabell 2.1. Oversikt over kjemikalier

Kjemikalie	Kvalitet	Produsent	CAS Nr.
Aceton	p.a.	Sigma-Aldrich	67-64-1
Diklormetan	HPLC grade	VWR	75-09-2
Helium	6.0	Yara	7440-59-7
Milli-Q vann	Type 2	Millipore	
Silikonolje		Sigma-Aldrich	63148-52-7
Svovelsyre	Rectapur	VWR	7664-93-9

Tabell 2.2. Oversikt over laboratorieutstyr

Laboratorieutstyr	Spesifikasjon	Produsent
Analysevekt	Modell CP2P	Sartorius
Analysevekt	Modell CP2245	Sartorius
Beholder til ballmølle	500 mL beholder, ZrO ₂	Retsch Gmbh
Eksikator		Glaswerk Wertheim
Frysetørker	Alpha 2-4 LDplus	Christ Gmbh
Hamilton sprøyte	500 µL	SGE
Kuler til ballmølle	0,5 cm i diameter, ZrO ₂	Retsch Gmbh
Magnetrører m/varmeplate	VWM-A	VWR
Planetarisk ballmølle	Planetary Ball Mill PM100	Retsch Gmbh
Termometer	Assistant	Glasswarenfabrik Karl Hecht
Varmeskap		Termaks

Tabell 2.3. Oversikt over laboratoriematerialer

Laboratoriemateriale	Produsent
GC-vialer 1,3 mL	VWR
Kvalitativt filterpapir, 5-13 µm	VWR
Lokk med septum til GC-vialer	VWR
Mikrospatler til engangsbruk	VWR
Mikroveieskip i aluminium	VWR
Pasteur-pipetter	VWR

2.2 Dampekspløsjon av gran

Dampekspløsjon av gran ble gjennomført på NMBU, Ås, Norge med utstyr designet av Cambi AS, Asker, Norge. Granflisen lå i 0,5% (w/w) svovelsyre over natt for å sikre en syre-katalysert hydrolyse under dampekspløsjonen. Forbehandlingen ble utført som tidligere beskrevet av Vivekanand *et al.*⁶¹. Det ble benyttet ca. 300 g tørrstoff av den syre-behandlede granen ved åtte ulike forbehandlinger, der temperaturene var på 180, 190, 200 og 210 °C med oppholdstid på 5 og 10 minutter. For å oppnå riktig temperatur ble trykkreaktoren oppvarmet i 10 minutter før hver forbehandling. Prøvematerialet ble lagret på 4 °C og hadde et tørrstoffinnhold på 20-31% før behandling.

2.3 Tørrstoffanalyse

Det ble utført en tørrstoffanalyse av de dampeksploderte prøvene. For analysen ble det benyttet ca. 1-3 g våt masse som ble tørket i varmeskap på 103 °C ± 1 °C frem til prøven holdt konstant vekt, ca. 24 timer. Etter tørking ble prøvene veid og tørrstoffinnholdet bestemt. Det ble utført tre paralleller av hver måling.

2.4 Bestemmelse av Klason-lignin

2.4.1 Tørking og aceton-ekstraksjon

Dampeksplodert tremasse, tilsvarende ca. 10 g tørrstoff av hver prøve ble nedfryst i minimum 24 timer, og deretter tørket i frysetørker (Alpha 2-4 LDplus, Christ GmbH) i ca. 72 timer. Etter tørking ble prøvene pulverisert i en planetarisk ballmølle (Planetary Ball Mill PM100, Retsch GmbH, Haan, Tyskland). Hver prøve ble ballmøllert på 350 rpm i 16 timer med 15 minutters intervaller, og med 15 minutters pause. De pulveriserte prøvene ble rensed med aceton ved ekstraksjon i soxhlet frem til observert rent, altså frem til acetonet forble fargeløst etter kontakt med prøvene. Det tok imellom 3-6 timer per ekstraksjon, avhengig av reaksjonstid og

oppholdstid under dampekspløsning, der prøver med kraftigst behandling tok lengst tid. Etter rensingen tørket prøvene i minimum 16 timer i romtemperatur.

2.4.2 Hydrolyse

Prosedyren: «Acid-insoluble lignin in wood and pulp- TAPPI T 222 om-02⁹⁷» ble fulgt for bestemmelse av Klason-lignin. Det ble utført to paralleller av hver prøve der utgangsmaterialet kom fra samme prøveprepareringsmasse.

I hydrolysen ble det brukt ca. $1,0 \pm 0,1$ g tørr pulverisert prøve. Det ble tilsatt 15 mL 72% H₂SO₄ ved ca. 0 °C. Syren og pulveret ble godt blandet med glasstav, og deretter satt til røring i ca. 2 timer ved 20 °C. Syreløsningen ble så fortynnet til 3% H₂SO₄ med 560 mL vann, og kokt med reflux i en rundkolbe i 4 timer. Etter dette stod løsningen over natten for avkjøling og oppsamling av syreløselig lignin. Den faste massen ble deretter filtrert og vasket fri for syre før prøvene ble tørket i varmeskap på $103 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ i ca. 3 timer. De tørre prøvene ble plassert i eksikator for avkjøling i ca. 30 minutter, og deretter ble det syreløselige ligninet veid og innholdet bestemt.

2.5 Py-GC-MS av dampeksplodert gran

2.5.1 Skylling, tørking og pulverisering

Under prøveprepareringen ble ca. 2 g tørrstoff av hver prøve skylt med ca. 1.5 L milli-Q vann. Dette ble utført for å ekstrahere ut suktermolekyler etter hydrolyse av hemicellulose under DE, samt eventuelle uorganiske rester. Etter skylling ble prøvene frosset ned i minimum 24 timer og deretter tørket i frysetørker i ca. 72 timer. De tørre prøvene ble pulverisert ved bruk av ballmølle på 350 rpm i 10 timer med 15 minutters intervaller, og med 15 minutters pause. De pulveriserte prøvene ble oppbevart i eksikator frem til videre analyse.

2.5.2 Analysering med Py-GC-MS

Analysen ble utført med fraksjonert flashpyrolyse-GC-MS med pyrolyseenheten (Pyrola 2000 pyrolAB, Sverige, Lund) koblet til en gasskromatograf (Trace 1310, Thermo Scientific), med et singel kvadrupol massespektrometer (ISQ QD, Thermo Scientific) som detektor. Kolonnen TG-1701MS, Thermo Scientific var 60 m lang med en indre diameter på 0,25 mm og filmtykkelse 0,25 µm. Stasjonærfasen inneholder cyano og fenylgrupper, som fører til at kolonnen separerer med hensyn på både polaritet og flyktighet. De separerte komponentene ble identifisert med NIST 11 databasen og med sammenligning av retensjonstid (RT) og massespektre fra standardene, som beskrevet i kapittel 2.5.3.

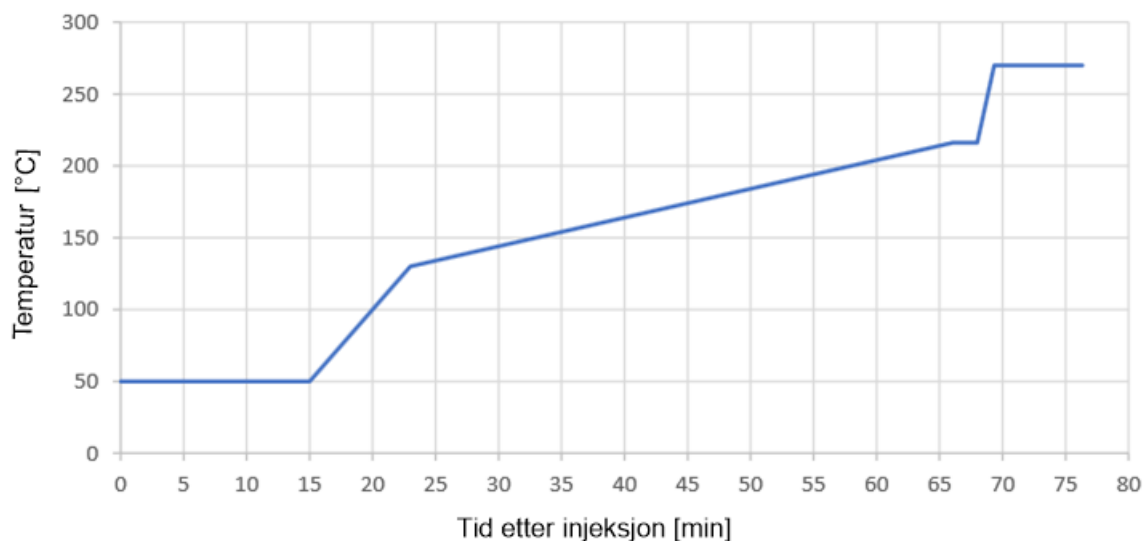
Det ble plassert ca. 0,5 – 0,6 µg pulver på platinumfilamentet for hver injeksjon, Tabell 2.4. Injiseringen ble utført med en pulverprøvetaker med likt volum for alle prøver.

Tabell 2.4. Beregnede mengde injisert pulver for hver prøve. Der °C står for temperatur under dampekspløsjon og min for oppholdstiden. Gjennomsnittet og standardavvik er beregnet fra n=3, og utmålingene er utført med likt volum i pulverprøvetakeren.

Prøve [°C/min]	Gjennomsnitt [µg]	Standardavvik ± [µg]
Ubehandlet	520	34
180/5	543	23
180/10	506	19
190/5	528	47
190/10	611	32
200/5	615	42
200/10	491	48
210/5	506	46
210/10	615	43

Fraksjonert flashpyrolyse ble utført på temperaturene 350, 600 og 900 °C for hver injeksjon. Dette var innstilt slik at når pyrolysen og analysen for en temperatur var fullført, startet neste automatisk. Pyrolyseenheten brukte 8 ms på å oppnå aktuell temperatur og pyrolysen ble gjennomført i løpet av 2 sekunder. Etter pyrolyse ble komponentene separert i kolonnen med helium som bæregass, og gjennomstrømningen var satt til 1,2 mL med splitt-ratio på 8:2. Temperaturen i injektoren var 250 °C, og programmet til gaskromatografiovnene varte i 76,35 minutter, Figur 2.1. I de første 15 minuttene av programmet holdt ovnen 50 °C, etter dette var det en temperaturstigning på 10 °C/minutt opp til 130 °C. Deretter var det stigning på 2 °C/minutt frem til 21,6°C. Denne temperaturen ble holdt i 2 minutter før den økte til 270 °C i

en hastighet på 40 °C/min. Den avsluttende temperaturen ble holdt i 7 minutter, og dette siste trinnet ble i hovedsak utført for å rense ut de siste komponentene av kolonnen.



Figur 2.1. Viser en kurve som beskriver temperaturprogrammet til gasskromatografen.

Det ble brukt EI i massespektrometeret. Ionekilden og overføringslinjen holdt 250°C, og massefilteret skannet i området 40-350 m/z . Etter deteksjon ble topper med et visst signal til støy ratio integrert, og deretter identifisert med NIST 11-biblioteket og med standarder.

2.5.3 Standarder

Det ble laget standarder av 22 komponenter, Tabell 2.5. Disse var i væskeform og ble analysert med GC-MS instrumentet beskrevet i 2.5.2. Standardene ble laget i konsentrasjoner på ca. 1 mg/mL med diklormetan som løsemiddel. I tillagningen ble det benyttet 5 mL målekolber og mikrovækt (CP2P, Sartorius) for utveiing. Alle standardene ble deretter fortynnet til 0,2 mg/mL og deretter analysert. Fortynningen ble utført med Hamilton sprøyte på 500 μL direkte i GC-vialer etter volum/volum beregninger.

Det ble også laget en blanding av alle standardene, en miks bestående av alle komponentene i kjent konsentrasjon. Mengdeforholdet i denne ble tilpasset ved å se på intensiteten fra hver enkelt analyse av standardene. Det ble beregnet i volum/volum og det ble benyttet Hamilton sprøyte på 500 μL direkte i GC-vialer ved tillagning. Miksen ble også fortynnet til 50, 25, 10, 7,5, 5 og 1% av opprinnelig konsentrasjon. Det ble analysert 10 paralleller av alle fortynningene som ble brukt til å bestemme deteksjonsgrensene (LOD) for alle standardene.

Tabell 2.5. Alle brukte standardkomponenter med produsent og CAS Nr.

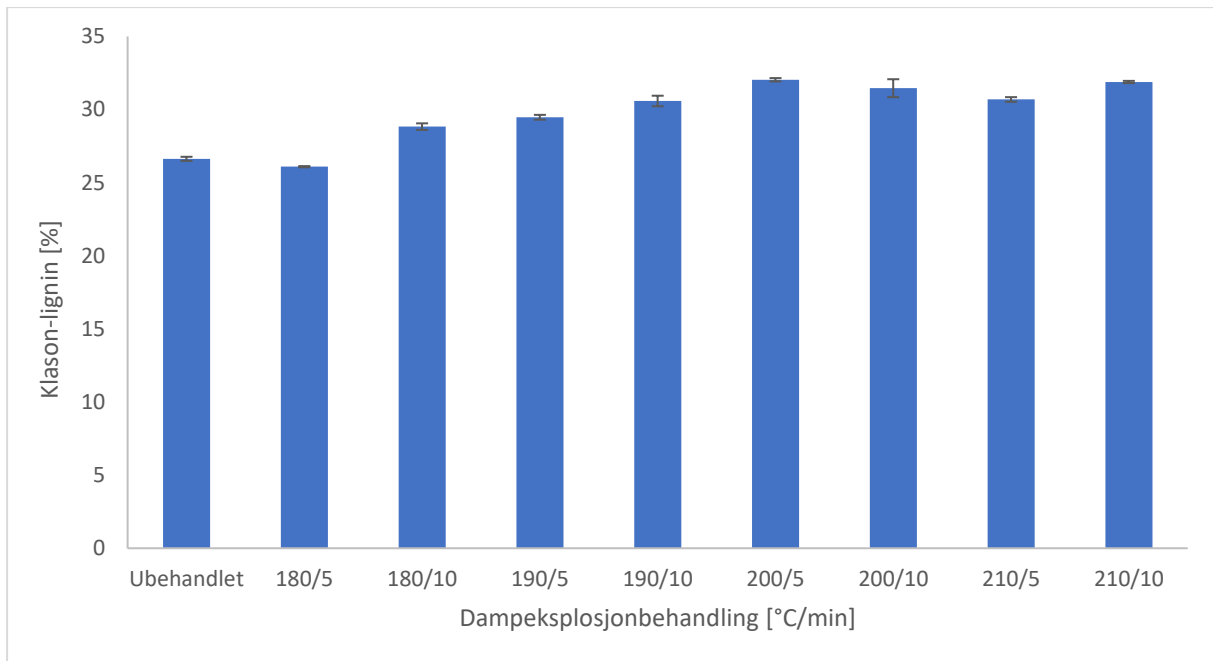
Prøve	CAS Nr.	Produsent
2-metoksyfenol (guaiacol)	90-05-1	Sigma-Aldrich
2-metylphenol (<i>o</i> -cresol)	95-48-7	Sigma-Aldrich
4-metylphenol (<i>p</i> -cresol)	106-44-5	Sigma-Aldrich
3-metylphenol (<i>m</i> -cresol)	108-39-4	Sigma-Aldrich
2-metoksy-5-metylphenol	1195-09-1	Alfa Aesar
2-hydroksey-5-metylphenyletanon	1450-72-2	Sigma-Aldrich
3-metoksy-1,2-benzenediol	934-00-9	Sigma-Aldrich
2-metoksy-4-2-propenylphenol (eugenol)	93-53-0	Alfa Aesar
2-metoksy-4-propylphenol (dihydroeugenol)	2785-87-7	Sigma-Aldrich
1,2,4-Trimetoksybenzene	135-77-3	Sigma-Aldrich
1,2 benzendiol (katekol)	120-80-9	Sigma-Aldrich
2,6-dimetoksyfenol	91-10-1	Sigma-Aldrich
1,2,3-trimetoksy-5-metylbenzene	6443-69-2	Sigma-Aldrich
2-metoksy-4-propenylphenol-(Z) (isoeugenol)*	5912-86-7	Sigma-Aldrich
3,5-dimetoksy-4-hydroksytoluen	6638-05-7	Sigma-Aldrich
4-hydroksey-3-metoksybenzaldehyd (Vanillin)	121-33-5	Sigma-Aldrich
4-hydroksey-3-metoksyacetofenon (Apocynin)	498-02-2	Sigma-Aldrich
3,4-dimetoksyacetofenon	1131-62-0	Sigma-Aldrich
4-allyl-2,6-dimetoksyfenol	6627-88-9	Sigma-Aldrich
3-hydroksey-4-metoksyfenyletanon	6100-74-9	Sigma-Aldrich
3,4-dimetoksy-4-hydrokstbenzaldehyd	134-96-3	Sigma-Aldrich
4-hydroksey-3,5-dimetoksyfenyletanon	2478-38-8	Sigma-Aldrich

* Inneholder både (E) og (Z) konfigurasjonene av komponenten.

3. Resultater og diskusjon

3.1 Bestemmelse av mengde Klason-lignin

Det ble observert en økning av Klason-lignin etter DE. Økningen var på 5,4% fra ubehandlet prøve (26,6%) til den dampeksploderte (DE)-prøven på 200 °C med 5 minutters oppholdstid (32%), Figur 3.1. Dette resultatet stemmer med tidligere undersøkelser, og skyldes sannsynligvis dannelsen av pseudo-lignin^{61, 68, 72}.



Figur 3.1. Prosentinnhold av Klason-lignin for ubehandlet og dampeksplodert gran.

Det også mulig å bestemme mengden syreløselig lignin med UV-spektroskopi for å korrigere for et eventuelt tap. Dette ble ikke utført i denne oppgaven, da gran har et veldig lavt innhold av syringol, og inneholder derfor små mengder syreløselig lignin⁶⁶. I tillegg til dette, så vil hydrolysering av hemicellulose under DE føre til en oppkonsentrering av Klason-lignin. Denne økningen kan medberegnes i resultatene ved å sammenligne innholdet av sukkermonomerer i hydrolysatet fra alle prøver. Dette ble forsøkt utført i dette prosjektet, ved å måle absorpsjon i synlig lys etter reaksjon med orcinol⁹⁸. Forsøket var ikke vellykket, og resultatene ble derfor forkastet. Det ble derimot utført en sammenligning med resultatene til Vivekanand *et al.*⁶¹ som har korrigert for både tap av hemicellulose og syreløselig lignin. Sammenligningen viser at en økning på 5,4% indikerer en reel økning av Klason-lignin, uavhengig av hemicellulose tap. Dette betyr at DE endrer sammensetningen av grantrær.

3.2 Fraksjonert Py-GC-MS

I dette arbeidet ble det utført fraksjonert flashpyrolyse-GC-MS av dampeksplodert og ubehandlet gran. Dette betyr at samme injisert pulver er pyrolysert ved forskjellige temperaturer, som i dette arbeidet var 350, 600 og 900 °C. Dette gir sammensetningen av hele tremassen før og etter DE. I tillegg til pyrolyse, ble utvalgte standarder analysert for å sikre identifisering av disse. Analysen av standardene ble også benyttet for å bestemme LOD, samtidig som det ble laget en standardkurve for hver standard. Arealet av forbindelsene varierte mye i de ulike analyseparallellene, noe som førte til at det ikke ble kvantifisert i dette arbeidet. Det ble imidlertid utført semikvantitativ analyse ved normalisering av kromatogrammer. Det er benyttet to splitt injektorer, en ved pyrolyse, og en annen ved analysering av standarder i væskeform. Ved væskeinjeksjon blir en bestemt mengde injisert hver gang. Dette er mye vanskeligere å kontrollere ved pyrolyse, noe som går utover sikkerheten ved tolkningen av resultater på tvers av injektorene.

3.2.1 Bestemmelse av LOD

Det ble ikke funnet en nøyaktig verdi for LOD i dette arbeidet, men det ble imidlertid funnet et mengdeintervall som LOD befinner seg i. Dette betyr at LOD ligger mellom to oppgitte verdier for hver standard, Tabell 3.1. Ved bestemmelsen av LOD ble konsentrasjonen funnet. Denne ble deretter omregnet til mengde i µg for å lettere kunne sammenligne med pyrolyseresultatene. De standardene med potensielt lavest LOD er 3,4-dimetoksyacetofenon og 4-allyl-2,6-dimetoksyfenol, mellom 0,28 og 1,40 µg for begge komponentene. Dersom man antar at LOD er 1,40 µg for begge standardene, så vil et innhold på 0,27% av en av disse detekteres i en typisk pyrolyseprøve på ca. 520 µg, Tabell 2.4. Katekol er derimot den standarden med høyest LOD, uavhengig av hvor i intervallet 15,49 – 30,99 µg den faktiske verdien er. Dette betyr at mengden katekol er høyere ved en gitt intensitet, enn for andre standardkomponenter. Dersom man antar at LOD er 30,99 µg for katekol, så må innholdet av katekol være på minimum 5,96% av en prøvemengde på 520 µg. Dette viser hvor store variasjoner det er for forskjellige analytter, og hvor viktig det er å bestemme LOD. Av standardene så er guaiacol (3,15 – 7,88 µg), *o*-kresol (0,32 – 1,59 µg), *p*-kresol (5,75 – 14,39 µg), *m*-kresol (2,63 – 6,58 µg) 3-metoksy-1,2-benzendiol (0,64 – 3,18 µg), eugenol (2,71 – 4,07 µg), dihydroeugenol (1,46 – 2,19 µg), katekol (15,49 – 30,99 µg), vanillin (4,49 – 5,97 µg) og apocynin (2,98 – 4,47 µg) detektert i pyrolyseresultatene.

Tabell 3.1. Mengdeintervallet til LOD i µg for alle standarder. LOD befinner seg mellom laveste og høyeste oppgitte verdi for hver standard.

Prøve	LOD > [µg]	LOD < [µg]
2-metoksyfenol (guaiacol)	3,15	7,88
2-metylphenol (<i>o</i> -kresol)	0,32	1,59
4-metylphenol (<i>p</i> -kresol)	5,75	14,39
3-metylphenol (<i>m</i> -kresol)	2,63	6,58
2-metoksy-5-metylphenol**	3,25	4,87
2-hydroksey-5-metylphenyletanon**	0,62	3,11
3-metoksy-1,2-benzendiol	0,64	3,18
2-metoksy-4-2-propenylphenol (eugenol)	2,71	4,07
2-metoksy-4-propylphenol (dihydroeugenol)	1,46	2,19
1,2,4-trimetoksybenzen**	0,65	3,23
1,2-benzendiol (katekol)	15,49	30,99
2,6-dimetoksyfenol**	2,27	3,02
1,2,3-trimetoksy-5-metylbenzen**	1,43	2,15
2-metoksy-4-propenylphenol*		
3,5-dimetoksy-4-hydroksytoluen**	0,58	2,90
4-hydroksey-3-metoksybenzaldehyd (vanillin)	4,49	5,97
4-hydroksey-3-metoksyacetofenon (apocynin)	2,98	4,47
3,4-dimetoksyacetofenon**	0,28	1,40
4-allyl-2,6-dimetoksyfenol**	0,28	1,40
3-hydroksey-4-metoksyfenyletanon**	2,96	7,40
3,4-dimetoksy-4-hydrokseybenzaldehyd**	4,34	5,79
4-hydroksey-3,5-dimetoksyfenyletanon**	2,79	4,18

* inneholder både (*E*) og (*Z*) konfigurasjonen av komponenten

** er ikke detektert i pyrolyse-GC/MS analysene

2-metoksey-5-metylphenol (3,25 – 4,87 µg), 2-hydroksey-5-metylphenyletanon (0,62 – 3,11 µg), 1,2,4-trimetoksybenzen (0,65 – 3,23 µg), 2,6-dimetoksyfenol (2,27 – 3,02 µg), 1,2,3-trimetoksey-5-metylbenzen (1,42 – 2,15 µg), 3,5-dimetoksey-4-hydroksytoluen (0,58 – 2,90 µg), 3,4-dimetoksyacetofenon (0,28 – 1,40 µg), 4-allyl-2,6-dimetoksyfenol (0,28 – 1,40 µg), 3-hydroksey-4-metoksyfenyletanon (2,96 – 7,40), 3,4-dimetoksey-4-hydrokseybenzaldehyd (4,34 – 5,79 µg) og 4-hydroksey-3,5-dimetoksyfenyletanon (2,79 – 4,18 µg) er ikke detektert i gran. Disse standardene er med i analysen for å undersøke om de finnes i prøvene. De ble ikke


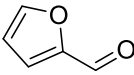
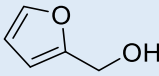
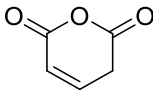
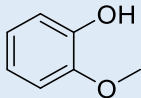
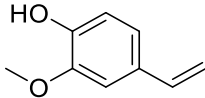
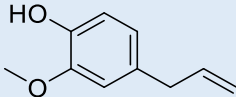
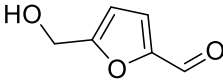
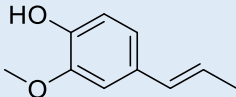
detektert, noe som betyr at det ikke er forekomster over LOD i grantrær. 2-metoksy-4-propenylfenol inneholder både *E* og *Z*-konfigurasjonene og LOD-verdien for denne er derfor ikke bestemt.

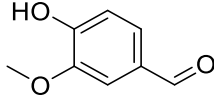
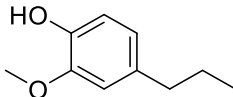
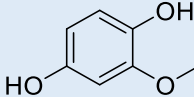
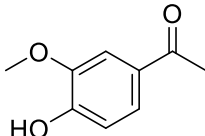
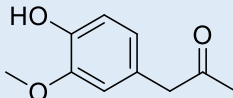
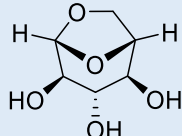
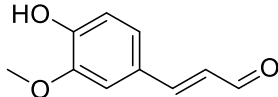
3.2.2 Detekterte og identifiserte komponenter

Pyrolyse ved 900 °C av ubehandlet gran ga hovedsakelig karbondioksid etter 2,91 minutter, levoglukosan etter både 51,4 og 47,6 minutter og koniferylaldehyd etter 56,3 minutter, sammen med noen uidentifiserte komponenter. Det var få observerte endringer etter DE. Unntakene var at levoglukosantoppen etter 47,6 minutter fikk vesentlig lavere intensitet etter DE på 180 °C med 10 minutters oppholdstid, og at en uidentifisert komponent med RT på 38,1 minutter fikk mye kraftigere intensitet etter DE på 190 °C med 10 minutters oppholdstid. Tolkning av disse resultatene var imidlertid ikke hovedgrunnen til at pyrolysen på 900 °C ble utført, og disse resultatene ble derfor ikke videre behandlet. 900 °C er derimot den høyeste pyrolysetemperaturen og er derfor det siste trinnet i den fraksjonerte pyrolysen. Resultatet ble brukt til å undersøke om pyrolyse ved 350 og 600 °C ble tilfredsstillende utført. Dersom pyrolyse ved 900 °C ga fenolkomponenter, som i pyrolyse ved 600 °C, ble denne analyseparallellen forkastet. Dette indikerer en ufullstendig pyrolyse ved tidligere temperaturer. Dette kommer av for mye injisert prøvemateriale, eventuelt andre faktorer som feil temperatur i pyrolyseenheten eller dårlig kontakt med filamentet.

Utvalgte detekterte komponentene fra py-GC-MS ved 350 og 600 °C er listet opp i Tabell 3.2 og Tabell 3.3. Forbindelsene med lav RT, mellom 0 og 18 minutter, ble i hovedsak ikke valgt ut. Unntakene var eddiksyre, 1-hydroksy-2-propanon og 2-hydroksyetylacetat. Eddiksyre ble valgt grunnet den tydelige nedgangen etter DE, mens 1-hydroksy-2-propanon og 2-hydroksyetylacetat ble med i analysen grunnet høy forekomst i prøvene. Det var også flere forbindelser med RT over 18 minutter som ikke ble videre behandlet. Disse hadde ingen synlig mengdeendring etter DE, var ikke blant komponentene med høyest forekomst og var heller ikke en av standardene, Tabell 3.1. Forbindelsene ble enten identifisert med standarder eller NIST 11-biblioteket. Matchfaktoren var på minimum 750 av 1000, samtidig som de foreslåtte strukturene måtte være sannsynlige.

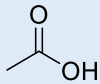
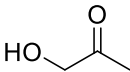
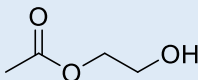
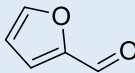
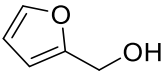
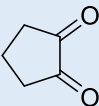
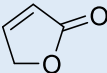
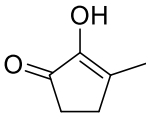
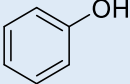
Tabell 3.2. Oversikt over detekterte komponenter fra 350°C pyrolyse. Komponentene er sortert etter stigende RT. Molekylion (m/z) og struktur er også vist.

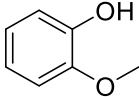
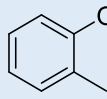
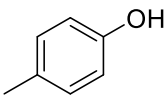
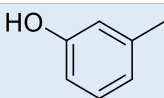
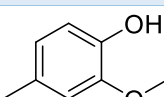
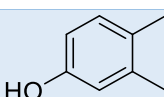
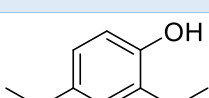
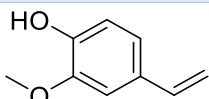
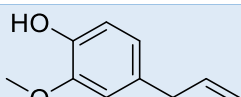
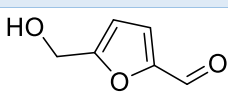
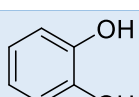
Komponent	Struktur	RT [min]	m/z
Etansyre (Eddiksyre)		6,54	60
Furan-2-karbaldehyd (Furfural)		18,44	96
2-furanmetanol		20,38	98
Ukjent 1		23,01	114
Ukjent 2		24,17	114
3H-pyran-2.6-dion		24,72	112
2-metoksyfenol (Guaiacol)*		25,93	124
2-metoksy-4-vinylfenol (Dihydroeugenol) *		33,62	150
2-metoksy-4-prop-2-enylfenol (Eugenol)*		34,57	164
5-hydroksymetylfurfural		35,22	126
2-metoksy-4-propenylfenol (<i>E</i>)*		39,19	164

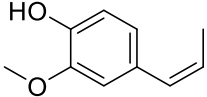
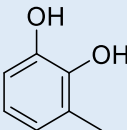
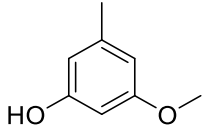
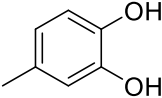
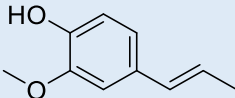
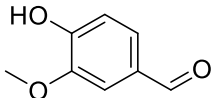
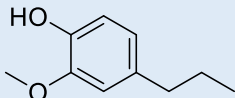
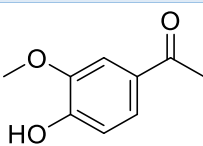
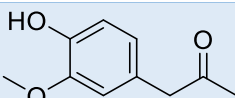
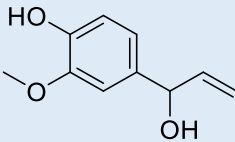
4-hydroksy-3-metoksybenzaldehyd (Vanillin)*		40,18	152
Ukjent 3		40,74	162
2-metoksy-4-propylfenol (Dihydroeugenol) *		43,00	166
2-metoksy-1,4-benzendiol		43,76	140
1-(4-hydroksy-3-metoksyfenyl) etanon (Apocynin)*		43,99	166
4-hydroksy-3-metoksyfenyl-2-propanon		46,54	180
Ukjent 4		47,27	178
Ukjent 5		48,70	180
Ukjent 6		49,20	194
(1R,2S,3S,4R,5R)-6,8-dioksabisyklo [3.2.1] oktan-2,3,4-triol (Levoglukosan)		51,50	162
(E)-3-(4-hydroksy-3-metoksyfenyl) prop- 2-enal Koniferylaldehyd		59,09	178

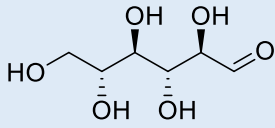
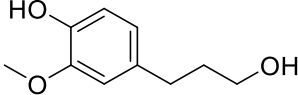
* Identifisert med standard

Tabell 3.3. Oversikt over detekterte komponenter fra 600°C pyrolyse. Komponentene er sortert etter stigende RT. Molekylion (m/z) og struktur er også vist.

Komponent	Struktur	RT [min]	M/Z
Etansyre (Eddiksyre)		6,57	60
1-hydroksy-2-propanon		7,91	74
2-hydroksyetylacetat		15,13	104
Ukjent 7		18,05	102
Furan-2-karbaldehyd (Furfural)		18,49	96
2-furanmetanol		20,40	98
1.2-syklopentandion		22,35	98
Ukjent 1		23,03	114
2H-furan-5-one		23,75	84
2-hydroksy-3-metyl-2-syklopentene-1-on		24,82	112
Fenol		25,52	94

2-metoksyfenol * (Guaiacol)		25,96	124
2-metylfenol (o-kresol) *		26,73	108
4-metylfenol (p-kresol) *		27,69	108
3-metylfenol (m-kresol) *		27,76	108
2-metoksy-4-metylfenol (Kreosol)*		28,83	138
3.4-dimetylfenol		29,03	122
4-etyl-2-metoksyfenol		31,51	152
Ukjent 8		31,73	111
2-metoksy-4-vinylfenol*		33,67	150
2-metoksy-4-prop-2-enylfenol (Eugenol) *		34,59	164
5-hydroksymetylfurfural		35,41	126
1.2-benzendiol (Katekol) *		35,62	110

2-metoksy-4-propenylfenol (Z) *		36,89	162
3-metyl-1.2-benzendiol *		37,19	124
3-metoksy-5-metylfenol		37,59	138
Ukjent 9		38,48	144
4-metyl-1.2-benzendiol		39,06	124
2-metoksy-4-propenylfenol (E) *		39,29	164
4-hydroksey-3-metoksybenzaldehyd (Vanillin) *		40,31	152
2-metoksy-4-propylfenol (Dihydroeugenol) *		43,08	166
1-(4-hydroksey-3-metoksyfenyl) etanon (Apocynin) *		44,09	166
4-hydroksey-3-metoksyfenyl-2-propanon		46,60	180
Ukjent 10		48,10	180
4-(1-hydrokseyallyl)-2-metoksyfenol		48,84	180

Ukjent 11		51,40	174
(2R,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-pentahydroksyheksanal (D-allose)		51,45	180
4-hydroksy-3-metoksy-benzenpropanol		52,79	182

* Identifisert med standard

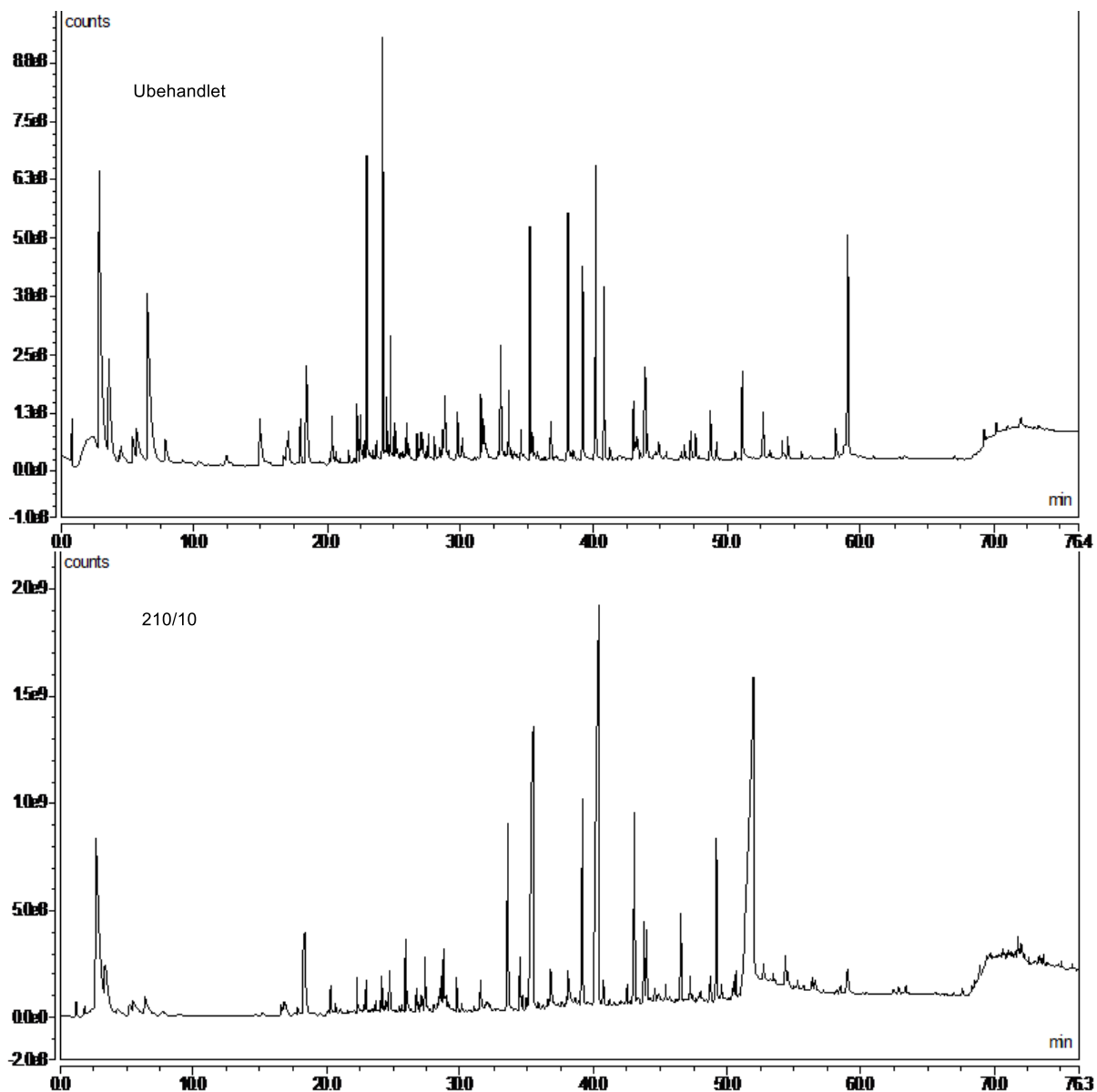
Levoglukosan, Tabell 3.2, er ikke tatt med videre i oppgaven grunnet veldig varierende areal i kromatogrammene. Levoglukosan er et forventet resultat etter pyrolyse av cellulose på over 300°C^{88, 91, 92}. Komponenten ble identifisert med NIST 11-biblioteket med en matchfaktor på 800-950 i de ulike kromatogrammene.

Av de 49 detekterte komponentene var det 11 stykker som ikke ble identifisert. Disse kalles ukjent 1-11, Tabell 3.2 og Tabell 3.3. Noen av de ukjente forbindelsene hadde matchfaktor på over 800 i NIST 11-biblioteket, men de foreslåtte strukturene var høyst usannsynlige, da disse ikke hadde en logisk opprinnelse fra utgangsmaterialet. Forslagene ble derfor tolket som feil. Gunnarson⁹⁹ undersøkte dampeksplodert gran, der det blant annet ble analysert MWL-isolert lignin fra samme prøvemateriale som ble benyttet i denne oppgaven. Isotermisk pyrolyse ved 600°C ga 34 komponenter med kun to ukjente. Ingen av disse er en av de 11 ukjente komponentene i dette arbeidet, noe som betyr at ukjent 1-11 ikke er pyrolyseprodukter fra lignin. Massespektrene av ukjent 1 og 2 viser at begge komponentene har molekylion på m/z -verdi 114,1. Dette er et kjent molekylion i litteratur av pyrolysert hemicellulose^{100, 101}. Ved manuell sammenligning av ioneratioene i MS-spekteret til ukjent 2, som i tillegg til molekylionet har ioner på m/z 85, 58 og 57 kan ukjent 2 være 2-hydroksymetylen-tetrahydrofuran-3-on¹⁰². Dette er ikke bekreftet, da denne strukturen ikke ble foreslått i NIST 11, samtidig som det usikkert å identifisere med hensyn på kun 4 ioner. Ukjent 1 og 2 fungerer likevel som hemicelluloseindikatorer i analysen. Det er også sannsynlig at disse stammer fra glukomannan, galaktoglukomannan eller amylose, da det er lite xylan i grantrær¹⁶.

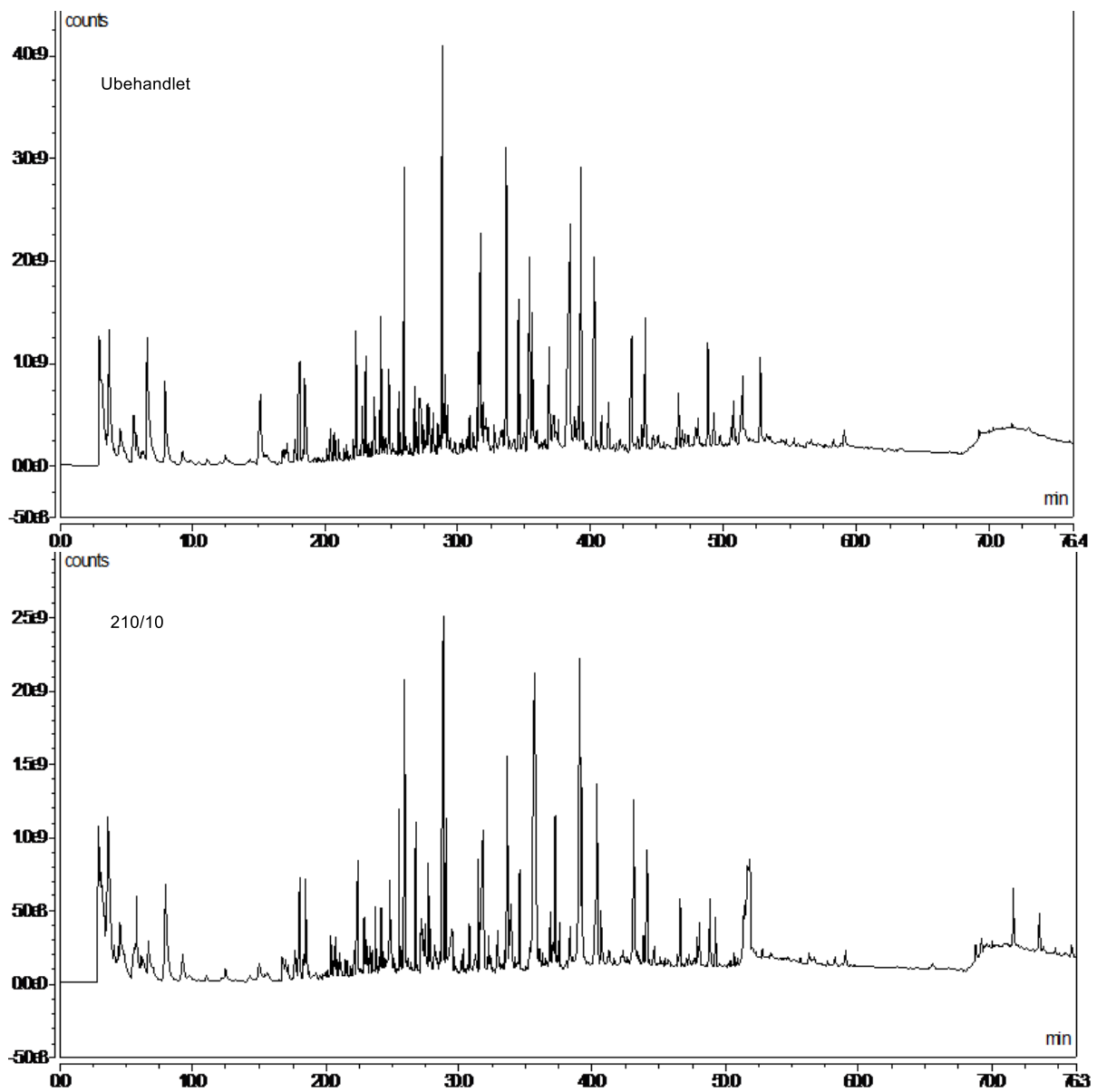
Kromatogrammene i denne oppgaven hadde flere forbindelser som co-eluerte, spesielt på prøver analysert mot slutten av arbeidet. Det var spesielt vanskelig å separere 5-HMF og katekol, i tillegg til ukjent 11 og D-allose fra 600 °C. Den økte co-elueringen i løpet av analysen skyldes forurensning av karbohydratrester i kolonnen. Dette kan unngås ved bruk av

forkolonne, da denne kan kuttes ved behov, slik at oppsamlede forurensninger fjernes. Videre sammenligning med resultatene til Gunnarson ⁹⁹ viser at det var fem detekterte fenolkomponenter fra MWL-isolerte prøver som ikke ble detektert i dette arbeidet. Dette skyldes mest sannsynlig renere spektre med analyse av flere utvalgte forbindelser. Det er likevel enkelte komponenter som skiller seg ut. 4-metyl-1,2-benzendiol var vanskelig å detektere i MWL-isolert prøver, mens 3-metyl-1,2-benzendiol ikke ble detektert. Begge disse komponentene er tydelig detektert i denne oppgaven og det relative innholdet øker etter DE, Figur 3.7.

Kromatogrammer fra ubehandlet og dampeksplodert gran ved 210 °C og 10 minutters oppholdstid etter 350 og 600 °C pyrolyse viser store synlige endringer, Figur 3.2 og Figur 3.3. Det er spesielt lett å se nedgangen av eddiksyre, ukjent 1 og ukjent 2 fra ubehandlet prøve til DE på 210 °C og 10 minutters oppholdstid etter henholdsvis 6,54, 23,01 og 24,17 minutter ved 350 °C pyrolyse, Figur 3.2.



Figur 3.2. Kromatogram av ubehandlet og DE-behandlet prøve 210 °C med 10 minutters oppholdstid (210/10) etter 350 °C pyrolyse. x-aksen viser tid i [min], mens y-aksen viser intensiteten.



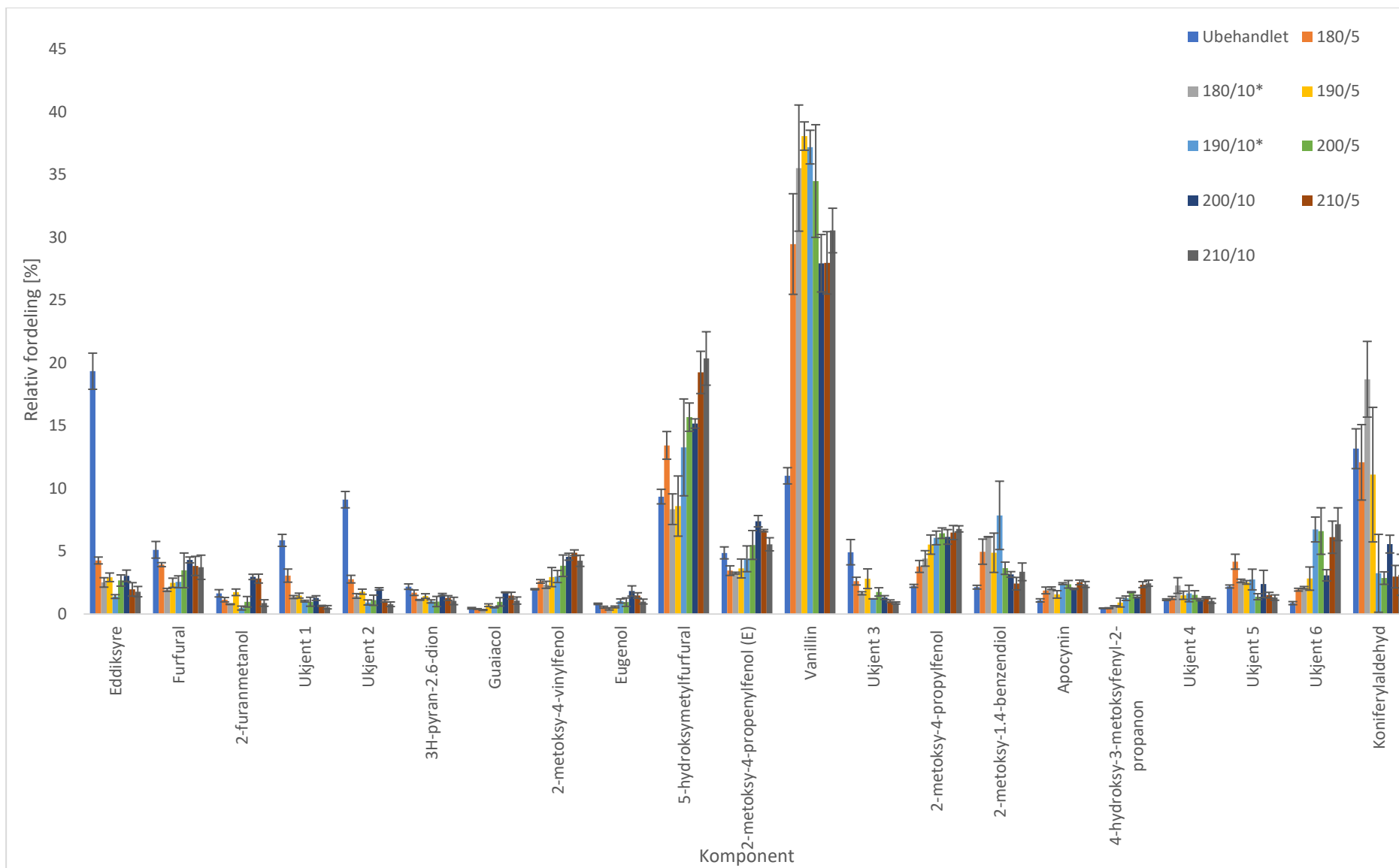
Figur 3.3. Kromatogram av ubehandlet og DE-behandlet prøve 210 °C med 10 minutters oppholdstid (210/10) etter 600 °C pyrolyse. x-aksen viser tid i [min], mens y-aksen viser intensiteten.

3.2.3 Semikvantitativ analyse

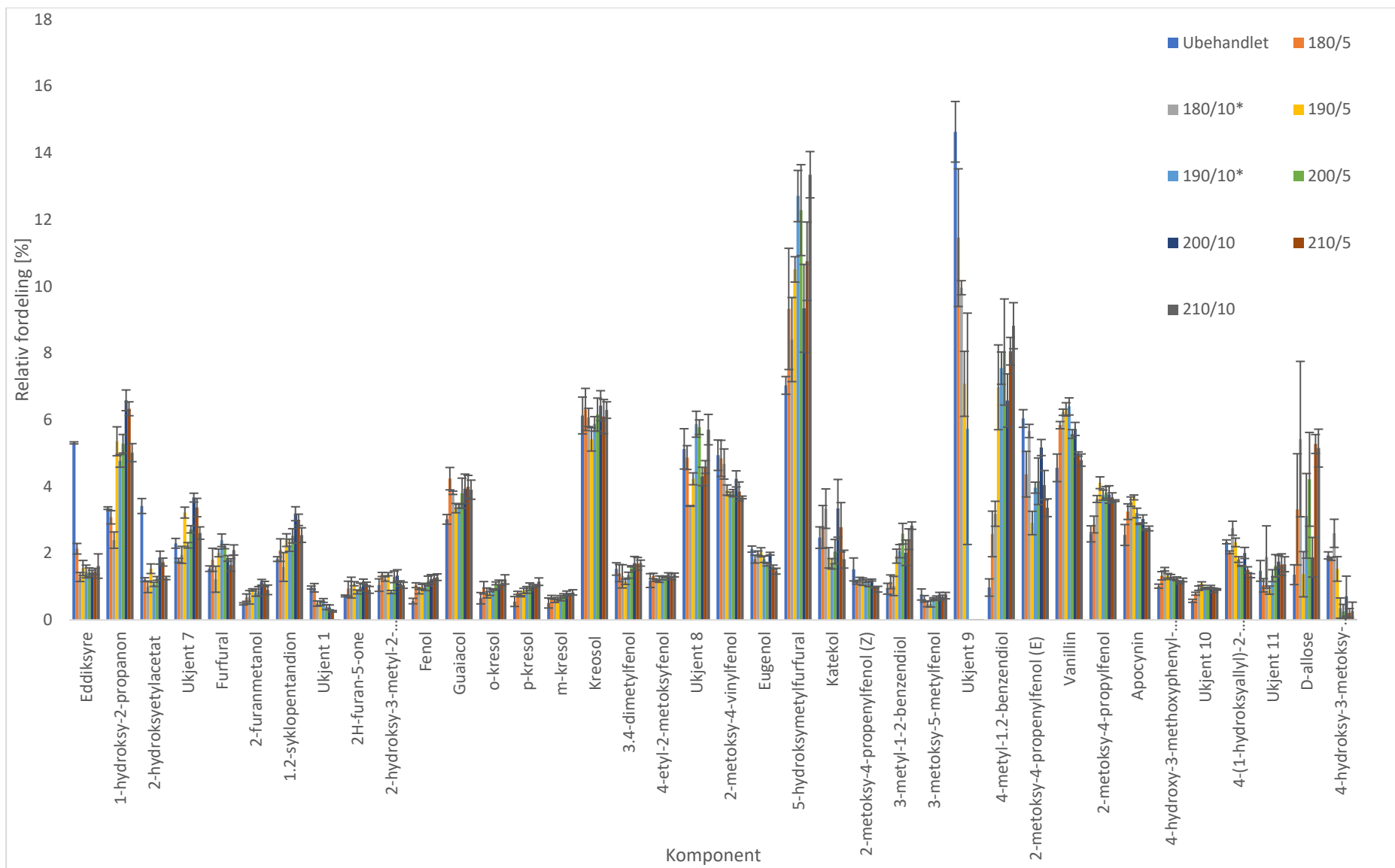
Det relative innholdet av forbindelsene fra alle prøver etter 350 og 600 °C pyrolyse er beregnet, Figur 3.4 og Figur 3.5. Dette er ikke korrekte mengder, men en normalisering. Et signal betyr ulik konsentrasjon for ulike komponenter, samtidig som ikke alle komponentene fra kromatogrammene er med i beregningene. Fenolkomponentene er hovedsakelig produkter fra depolymerisering fra lignin⁸⁵. Koniferylaldehyd fra 350 °C pyrolyse er den eneste utvalgte komponenten i kromatogrammene med RT etter levoglukosan, 52,79 minutter. Det relative innholdet varierer kraftig mellom prøvene, samtidig som standardavvikene er store. Dette kan skyldes påvirkning fra levoglukosantoppen og forurensning i kolonnen. D-allose og 4-hydroksey-3-metoksey-benzenpropanol detektert i 600 °C pyrolyse hadde også store variasjoner i areal, Figur 3.3, samtidig som de også hadde høy RT, forholdsvis 54,45 og 52,79 minutter. Ved å bruke rekonstruert ionekromatogram (RIC) kan bakgrunnen trekkes fra. Dette ble ikke utført i dette arbeidet da det var generelle trender som var fokuset og ikke eksakte verdier.

Analysen ved pyrolyse på 350 °C viser at eugenol øker fra ubehandlet prøve (0,80%) til DE på 200 °C med 10 minutters oppholdstid (1,84%), Figur 3.4. Sammenligning av de samme prøvene viser også at 2-metoksey-4-propenylfenol (*E*) øker fra 4,87 til 7,39%. Apocynin og 2-metoksey-4-vinylfenol har derimot høyest forekomst etter DE på 210 °C og 5 minutters oppholdstid og disse har økt fra henholdsvis 1,09% og 1,98% til 2,52% og 4,88%. Dette er definert som lave mengdeendringer i analysen, som mest sannsynlig skyldes endringen av andre komponenter i DE. Alle verdiene er normalisert, så en endring av en komponent vil påvirke alle.

Alle ikke fenolforbindelser med lave mengdeendringer er listet opp med laveste og høyeste forekomst, uavhengig av DE. 3H-pyran-2,6-dion (1,04 - 2,18%), ukjent 4 (1,14 - 2,27%) og ukjent 5 (1,31 - 4,17%) fra 350 °C, sammen med 1,2-syklopentandion (1,59 - 3,18%), 2H-furan-5-on (0,72 - 1,15%), 2-hydroksey-3-metyl-2-syklopenten-1-on (0,84 - 1,37%), ukjent 8 (3,42 - 5,87%), ukjent 10 (0,57 - 1,09%) og ukjent 11 (0,89 - 1,74%) fra 600 °C, Figur 3.4 og Figur 3.5. Disse er enten ukjente, eller så stammer de fra karbohydrater. Ingen av de nevnte forbindelsene har tydelige trender og disse vil derfor ikke bli videre diskutert.

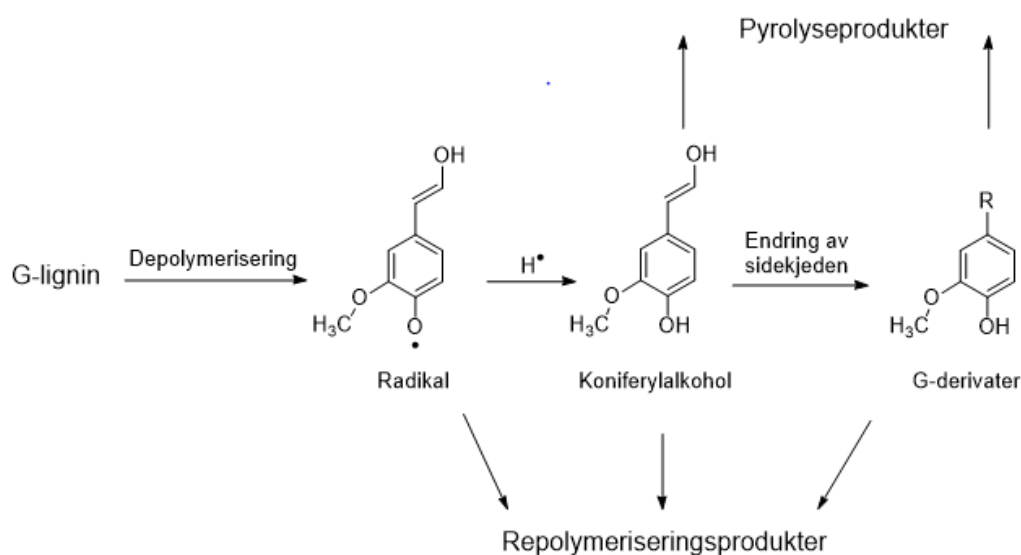


Figur 3.4. Relativ fordeling [%] av detekterte komponenter i ubehandlet gran og de 8 dampeksploderte prøvene etter pyrolyse på 350°C. Der $n=3$ og *: $n=2$.



Figur 3.5. Relativ fordeling [%] av detekterte komponenter i ubehandlet gran og de 8 dampeksploderte prøvene etter pyrolyse på 600°C. Der n=3 og *: n=2

Av fenolkomponentene ved 600 °C pyrolyse er det guaiacol (3,0 – 4,2%), kresol (5,4 – 6,4%), 2-metoksy-4-vinylfenol (3,7 – 4,9%), 2-metoksy-4-propenylfenol (*E*) (2,9 – 6,0%) og vanillin (4,6 – 6,4%) som har høyest forekomst, uavhengig av DE. De fem fenolkomponentene var også de med høyest forekomst i Gunnarson⁹⁹ sine MWL prøver. Den eneste forskjellen i de aktuelle komponentene er en økning fra ca. 7% til 14% av kresol i MWL-isolert gran. Forskjellen i analysene kan skyldes variasjonen av mengden andre komponenter eller ulik prøvepreparering, da MWL-isolerte prøver er behandlet med dioksan som fjerner karbohydrater og LLC^{64, 65}. Fenolkomponentene med høyest forekomst var alle forventede produkter etter py-GC-MS av gran^{32, 85}. Det ble identifisert 22 fenolkomponenter i analysen og alle er G-derivater. Dette bekrefter at gran inneholder mye G-lignin^{17, 18, 25}. G-derivatene kan i hovedsak dannes ved to ulike depolymeriseringsmekanismer, homolytisk og heterolytisk. Det er depolymerisering sammen med endring av sidekjeden som gir opphav til de ulike derivatene¹⁰³. Skjema 3.1 viser en skjematisk oversikt over en mulig reaksjonsvei.

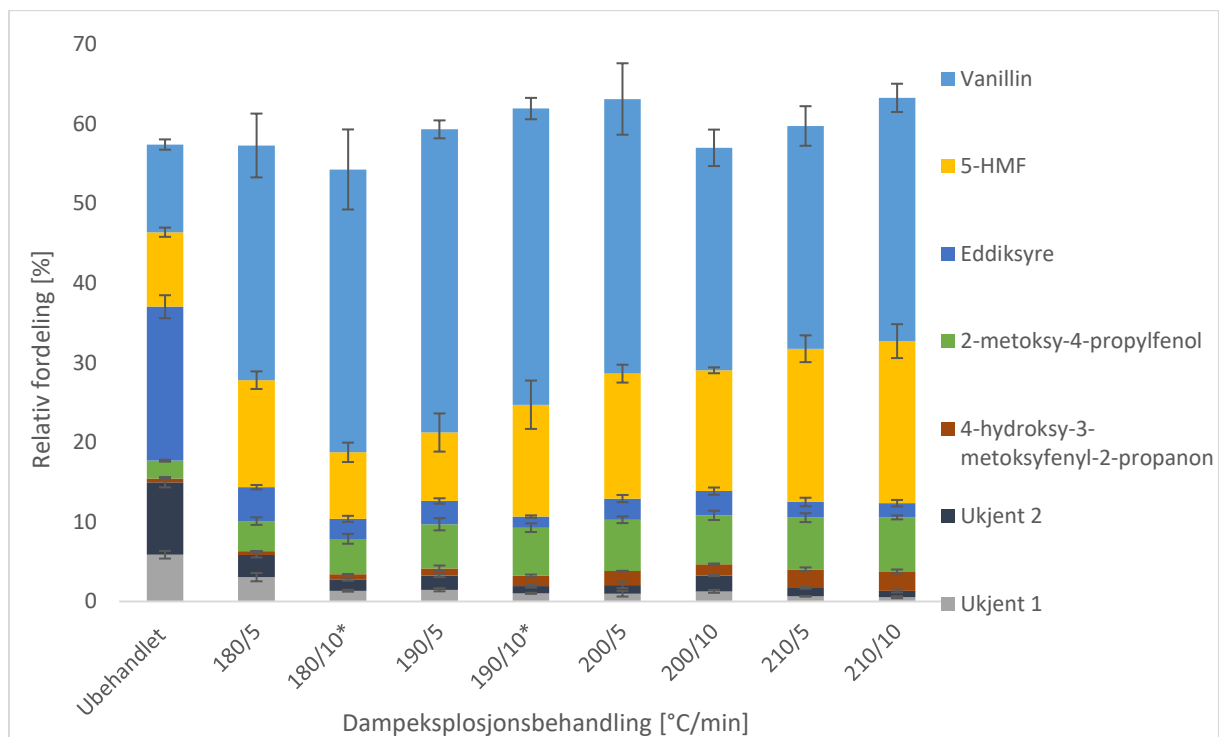


Skjema 3.1. En mulig reaksjonsvei for dannelse av G-derivater under pyrolyse. Fra depolymerisering av G-lignin til dannelse av ulike monomere ved endringer av sidekjeden¹⁰³.

Det er også observert produkter fra sekundærreaksjoner, som for eksempel fenol og katekol. Sidekjeden spaltes av, samtidig som O-CH₃ er brutt ved blant annet homolytisk kløyving^{89, 90}. Fenol har mistet O-CH₃, mens katekol har mistet CH₃ og deretter blitt protonert. Det er derimot ikke observert noen repolymeriseringsprodukter i analysen. Dette er forventet, da det vanligste produktet, ”char”, vil bli værende på filamentet. Andre repolymeriseringsprodukter er lite

sannsynlige da det er ekstremt rask oppvarming under pyrolysen, samtidig som gassen med pyrolyseproduktene ble raskt transportert til GC-kolonnen.

5-HMF, eddiksyre, vanillin og ukjent 1 er forbindelser med klare observerte trender etter DE ved begge pyrolysetemperaturene. 2-metoksy-4-propylfenol, 4-hydroksey-3-metoksyfenyl-2-propanon og ukjent 2 er bare observert i 350 graders pyrolyse, Figur 3.6. Det er derimot diolene 4-metyl-1,2-benzendiol og 3-metyl-1,2-benzendiol, sammen med 2-hydrokseyetylacetat som har mengdeendringer etter 600 °C pyrolyse, Figur 3.7.

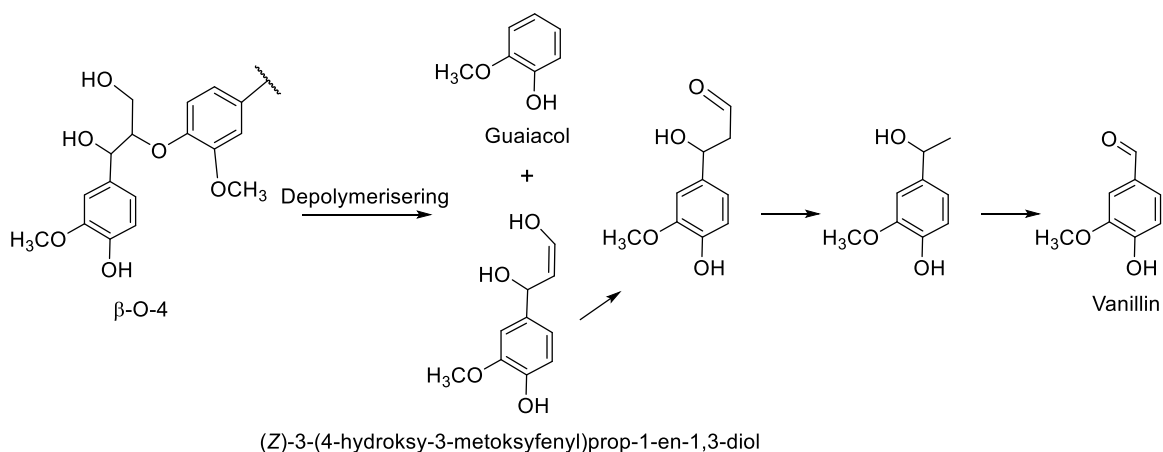


Figur 3.6. Relativ fordeling [%] av utvalgte komponenter fra pyrolyse ved 350°C. Der $n=3$ og *: $n=2$

Flere av de ukjente komponentene har nedgående trender, som betyr at det blir mindre av disse forbindelsene etter DE. Dette gjelder spesielt Ukjent 9, Figur 3.5, som går fra 15% i ubehandlet prøve før den forsvinner helt etter DE på 200 °C og 5 minutter. Ukjent 3, Figur 3.4, sammen med ukjent 1 og 2, Figur 3.6, har alle kraftig nedgang fra ubehandlet til DE på 180 °C med 5 minutters oppholdstid. Ukjent 2 går fra 9,1% i ubehandlet før den ender på 0,7% etter DE på 210 °C med 10 minutters oppholdstid. Som beskrevet i 3.2.2 stammer flere av de ukjente komponentene, spesielt ukjent 2, trolig fra karbohydrater og disse fungerer som hemicelluloseindikatorer. Den kraftige nedgangen skyldes derfor hydrolyse av hemicellulose, samtidig som det bekrefter at DE med høyere temperatur og lengre oppholdstid gir en mer

fullstendig hydrolysering. Dette stemmer med tidligere resultater og er en viktig parameter ved optimalisering av dampekspløsjon^{18, 57, 61}.

Fenolkomponentene vanillin, 2-metoksy-4-propylfenol og 4-hydroksey-3-metoksyfenyl-2-propanon har stigende verdier ved økt temperatur og oppholdstid i DE, Figur 3.6. Dette betyr at mengden av disse øker etter DE. Det er en økning av vanillin fra 11,0% i ubehandlet prøve opp til 38,1% etter DE på 190 °C med 5 minutters oppholdstid, mens både 2-metoksy-4-propylfenol og 4-hydroksey-3-metoksyfenyl-2-propanon har høyest forekomst etter DE på 210 med 10 minutters oppholdstid. De øker henholdsvis fra 2,2% og 0,5% i ubehandlet til 6,8% og 2,5%. Ved pyrolyse er det den samme energimengden som tilføres, noe som skal gi identiske resultater for like prøver. En økning av relativt innhold for ligninkomponentene indikerer derfor en endring i bindingssystemet til lignin. Økningen skyldes brudd av β -O-4 bindingen i dampekspløsjon. Det er en av bindingen som brytes lettest¹⁷, samtidig som vanillin, 2-metoksey-4-propylfenol og 4-hydroksey-3-metoksyfenyl-2-propanon kan dannes ved pyrolyse av produkter fra bindingsbruddet^{103, 104}. Den økte mengden av disse, sammen med tredoblingen av mengden guaiacol ved 350 °C pyrolyse, Figur 3.4, indikerer en økt forekomst av slike bindingsbrudds-produkter. Dette betyr at β -O-4 blir spaltet i dampekspløsjon. Et eksempel er dannelsen av vanillin ved pyrolyse av (Z)-3-(4-hydroksey-3-metokseyfenyl)prop-1-en-1,3-diol, som er et mulig produkt fra kløyvingen av β -O-4, **Feil! Fant ikke referanseskilden..**



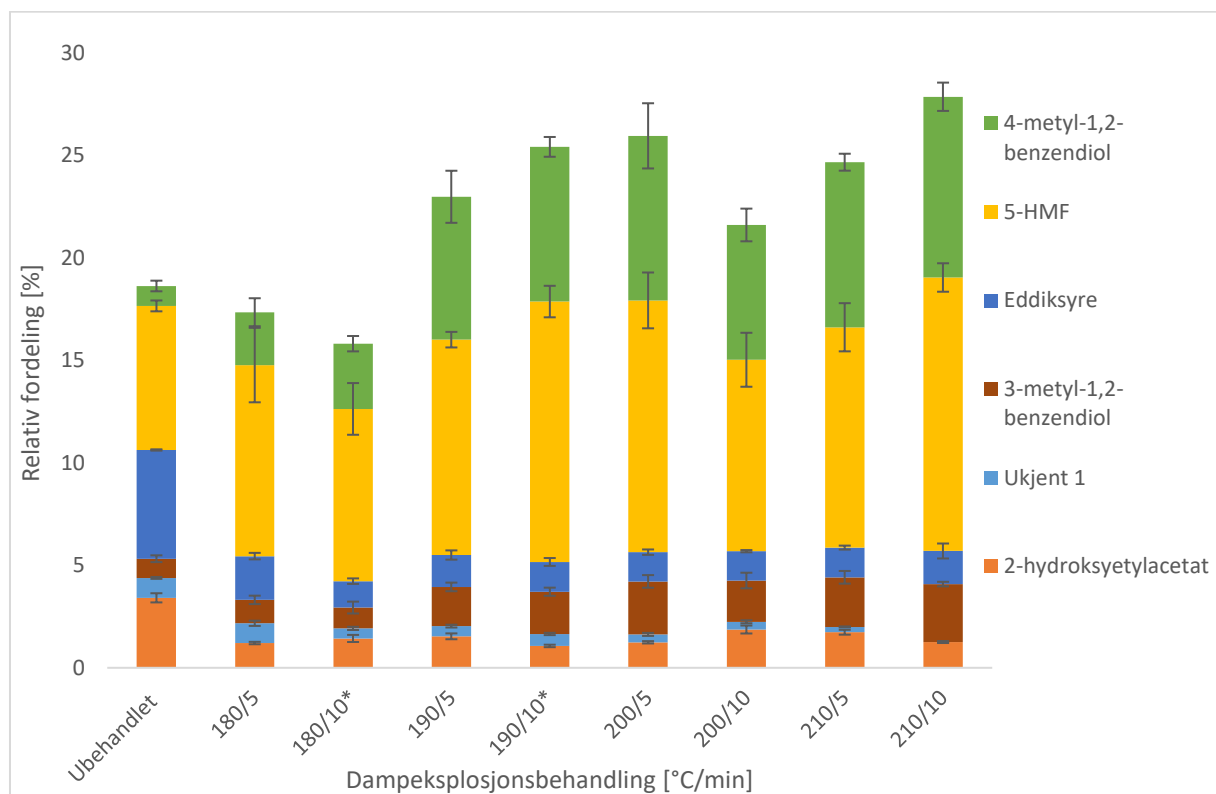
Skjema 3.2. En mulig pyrolysevei for dannelse av vanillin fra (z)-3-(4-hydroksey-3-metokseyfenyl)prop-1-en-1,3-diol som er et produkt fra kløyvingen av β -O-4¹⁰⁴.

Spalting av β -O-4 bindingen er observert i tidligere undersøkelser av dampeksplodert tremasse^{73, 105}. Det er også i overensstemmelse med HSQC-resultatene av MWL-isolerte prøver i undersøkelsen til Gunnarson⁹⁹, Tabell 3.4. Der synker forekomsten av β -O-4 fra 43,5% i

ubehandlet prøve til 14,8% etter dampekspløsjon på 210 °C med 10 minutters oppholdstid. Forekomsten β -5 øker fra 10,5% til 17,0%, samtidig som β - β forblir relativt stabil.

Tabell 3.4. Mengden av de tre ulike bindingene β -O-4, β -5, og β - β i [%] med tilhørende standardavvik. Resultatene er hentet fra Gunnarson⁹⁹ sine HSQC analyser av MWL.

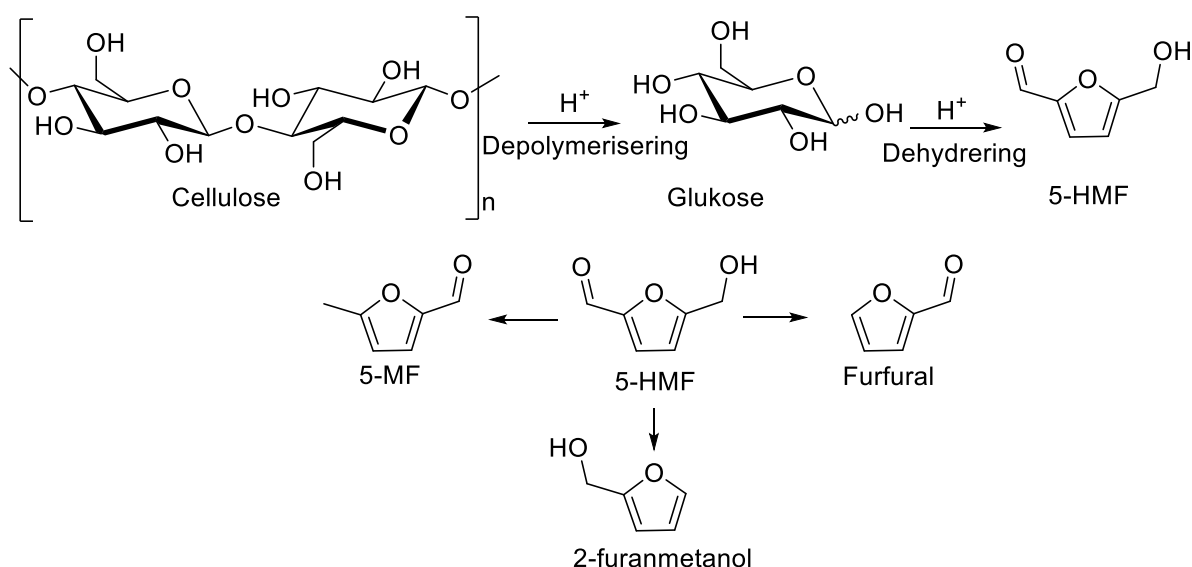
MWL fra DE [°C/min]	β -O-4	β -5	β - β
Ubehandlet	43,4 ± 0,3	10,5 ± 0,1	3,60 ± 0,16
180/5	34,4 ± 0,3	12,5 ± 0,1	3,20 ± 0,14
180/10	31,8 ± 0,8	12,9 ± 0,2	2,70 ± 0,36
190/5	26,7 ± 1,7	14,3 ± 0,3	3,73 ± 0,26
190/10	23,7 ± 0,7	14,6 ± 0,3	3,43 ± 0,12
200/5	19,4 ± 0,4	16,2 ± 0,1	4,07 ± 0,05
200/10	19,3 ± 0,7	15,5 ± 0,4	3,57 ± 0,14
210/5	15,2 ± 1,4	17,2 ± 0,4	3,45 ± 0,38
210/10	14,8 ± 1,9	17,0 ± 0,7	4,36 ± 0,29



Figur 3.7. Relativ fordeling [%] av utvalgte komponenter fra pyrolyse ved 600°C. Der n=3 og *: n=2

Det er klare trender for eddiksyre og 5-HMF i både 350 og 600 °C pyrolyse, Figur 3.6 og Figur 3.7. Ved 600 °C pyrolyse har forekomsten eddiksyre en nedgang fra 5,3% i ubehandlet prøve

til 1,6% etter DE behandling på 210 °C med 10 minutters oppholdstid. 5-HMF har derimot en kraftig økning, og en sammenligning av de samme prøvene gir en økning fra 7,0% til 13,3%. I tillegg til dette synker mengden 2-hydroksyetylacetat, som sammen med eddiksyre, er produkter etter fragmentering av cellulose^{85, 91}. Det er derimot videre dehydrering av depolymerisert cellulose og hemicellulose som gir 5-HMF. Denne vil da kunne reagere videre til 5-MF, 2-furanmetanol og furfural^{38, 85, 91, 106}. Dette samsvarer med resultatene i dette arbeidet, da det er detektert mye av både 2-furanmetanol og furfural. Xylose kan også omdannes til 2-furanmetanol og furfural, men grunnet sammensetningen av hemicellulose i gran vil de reaksjonene gi neglisjerbare mengder i disse prøvene¹⁸. I DE er det syre-katalyserte hydrolyse som depolymeriserer cellulose og dehydrerer glukose¹⁰⁷, Skjema 3.1. Videre degraderte produkter av 5-HMF, som furfural, 2-furanmetanol og 5-MF er også vist.

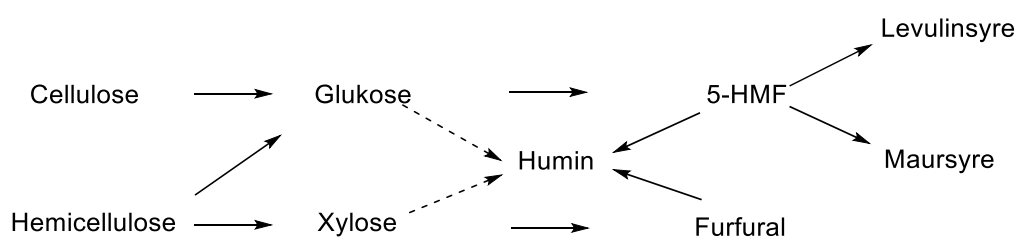


Skjema 3.3. En oversikt over dannelsen av 5-HMF fra cellulose i surt miljø, der første trinn er depolymerisering av cellulose ved hydrolyse, etterfulgt av videre dehydrering av glukose til 5-HMF¹⁰⁷. Det er også en oversikt over videre produkter fra degradering av 5-HMF, som furfural, 5-MF og 2-furanmetanol⁸⁵.

DE-prøvene ble tilsatt svovelsyre før behandling da gran ikke vil autohydrolysere. Dette skyldes høyt innhold av glukomannan og galaktoglukomannan i hemicellulosen^{18, 24}. Overskuddet av syre, sammen med den nedgående mengden eddiksyre, øker sannsynligheten for syre-katalyserte reaksjoner av depolymeriserte produkter, Skjema 3.3.

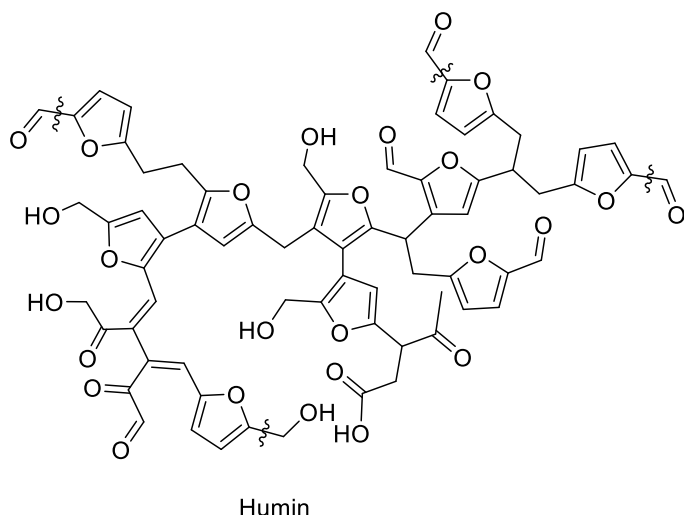
Som foreslått og undersøkt av Li *et al.* ⁷³, Hu *et al.* ⁶⁸ og Sannigrahi *et al.* ⁷⁰ er 5-HMF, sammen med andre furankomponenter, viktige i dannelsen av pseudo-lignin. Det er imidlertid undersøkt flere mulige reaksjoner, der blant annet Shuai *et al.* ⁷⁴ har undersøkt pseudo-lignin med HSQC. Resultatene fra den analysen viser at mengden karbon stiger etter syre-katalyserte reaksjoner. Dette indikerer at pseudo-lignin stammer fra kondensert lignin, noe som har vært lenge antatt^{68, 108, 109}. Den økende forekomsten av furankomponenter i dette arbeidet, sammen med den relative lave endringen av fenolkomponenter indikerer derimot at pseudo-lignin ikke består av kondensert lignin, men heller furankomponenter som 5-HMF.

Resultatene kan også ha en sammenheng med studiene utført av van Zandvoort *et al.* ³⁸ og Zhuang *et al.* ⁶⁷. Disse studiene omhandler henholdsvis kompleksene humin og CIPL. Undersøkelsene viser at begge kompleksene dannes i sure omgivelser, samtidig som de består av furankomponenter og har et høyt innhold karbon. Av negative egenskaper kan det nevnes at CIPL og humin trolig hindrer enzymatisk hydrolyse, akkurat som pseudo-lignin. Humin hindrer også produksjonene av levulinsyre, som er verdifull da den kan videreutvikles til mange kostbare høykvalitetsprodukter³⁶. Humin skaper problemer med reaktorene i bioraffinerier, samtidig som dannelsen av komplekset vil bruke tilgjengelig 5-HMF, som da ikke kan omdannes til levulinsyre¹¹⁰. CIPL dannes som små dråper på overflaten av forbehandlet materiale under nedkjøling. Dette er et fenomen som også er observert av andre^{57, 111}. Skjema 3.4 viser en oversikt over dannelsen av humin.



Skjema 3.4. Oversikt over dannelsen av humin, der stiplede piler er ikke-bekreftede overganger³⁸.

Humin er en amorf polymer med høyt karboninnhold. Strukturen er ikke bekreftet, men van Zandvoort *et al.* ³⁸ har kommet med to forslag, et fra glukose-derivater, og et fra xylose-derivater. Strukturen fra glukose-derivater består i hovedsak av 5-HMF, Figur 3.8.



Figur 3.8. Forslag til huminstruktur dannet fra glukosederivater³⁸.

IR analysene til van Zandvoort *et al.*³⁸ viser også at 1,2,3-trihydroksybenzen er et forgreningspunkt i humin. Det ble observert en økt forekomst av humin ved tilsetning av triolen. Dette betyr at 1,2,3-trihydroksybenzen er en nøkkelkomponent i humin, samtidig som den har blitt beskrevet av Hu *et al.*⁶⁸ som en viktig forbindelse ved dannelse av pseudo-lignin. Dette forklarer den økte forekomsten av dioler i dette arbeidet. Både 4-metyl-1,2-benzendiol og 3-metyl-1,2-benzendiol har en kraftig økning etter DE, Figur 3.7. Den største økningen av begge diolene er etter DE på 210 °C med 10 minutters oppholdstid. Det relative innholdet av 4-metyl-1,2-benzendiol øker fra 1,0% til 8,8%, mens 3-metyl-1,2-benzendiol har en økning fra 0,9% til 2,8%. Diolene har felles egenskaper som triolen og det er derfor sannsynlig at disse også fungerer som forgreningspunkt i pseudo-lignin. Det er også interessant at diolene har såpass forskjellige trender ved ulik prøvepreparering, da 4-metyl-1,2-benzendiol var vanskelig å detektere og 3-metyl-1,2-benzendiol ikke ble detektert i MWL-isolerte prøver⁹⁹. Dette tyder på at disse ble rensert bort ved isoleringen av MWL, som igjen sannsynliggjør at pseudo-lignin består av derivater fra karbohydrater og ikke kondensert lignin.

4. Konklusjon og videre arbeid

Sammensetningen av tremasse endres under dampekspløsjon. Innholdet Klason-lignin økte fra 26,6% til 32,0% etter DE, noe som skyldes dannelsen av pseudo-lignin og tap av hemicellulose. Det ble detektert 22 G-derivater. Dette bekrefter et høyt innhold av G-lignin i gran. Av detekterte fenolkomponenter var det hovedsakelig vanillin, 2-metoksy-4-propylfenol, guaiacol og 4-hydrokso-3-metoksyfenyl-2-propanol som viste mengdeendringer. Dette betyr at β -O-4 spaltes i dampekspløsjon.

Det er en økning av furankomponenter etter dampekspløsjon, spesielt av 5-HMF som stiger fra 7,0% til 13,3%. Denne økningen, sammen med den tilnærmede uendrede sammensetningen av fenolkomponenter tyder på at pseudo-lignin består av furankomponenter, og ikke kondensert lignin som tidligere antatt. Det var en økt forekomst av 4-metyl-1,2-benzendiol og 3-metyl-1,2-benzendiol som også inngår i pseudo-lignin. Diolene er ikke observert i MWL-isolert lignin, noe som sannsynliggjør at pseudo-lignin består av furankomponenter.

Ved videre arbeid burde metoden forbedres. Det ville vært hensiktsmessig å bruke en forkolonne under analysen, samtidig som bruk av RIC kan vurderes. For å kunne kvantifisere må den injiserte pulvermengden ved pyrolyse kontrolleres bedre. Det er også viktig å undersøke hvor stort utslag de forskjellige injiseringsmetodene gir ved kvantifisering av pyrolyseprodukter. I tillegg til dette må LOD og LOQ bestemmes nærmere. I selve analysen burde man analysere flere paralleller for å øke sikkerheten av resultatene. Det hadde også vært spennende å utføre flere analyser av prøvene, da spesielt HSQC for videre undersøkelse av sammensetningen til pseudo-lignin.

5. Referanser

1. Ragauskas, A. J., Williams, C. K., Davison, B. H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert, C. A., Frederick, W. J., Hallett, J. P., Leak, D. J., Liotta, C. L., et al. (2006). The Path Forward for Biofuels and Biomaterials. *Science*, 311 (5760): 484-489.
2. Cherubini, F. (2010). The biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy Conversion and Management*, 51 (7): 1412-1421.
3. Hahn-Hägerdal, B., Galbe, M., Gorwa-Grauslund, M. F., Lidén, G. & Zacchi, G. (2006). Bio-ethanol – the fuel of tomorrow from the residues of today. *Trends in Biotechnology*, 24 (12): 549-556.
4. Sun, Y. & Cheng, J. (2002). Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83 (1): 1-11.
5. Brodeur, G., Yau, E., Badal, K., Collier, J., Ramachandran, K. B. & Ramakrishnan, S. (2011). Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: a review. *Enzyme Res*, 2011: 787532.
6. Fernando, S., Adhikari, S., Chandrapal, C. & Murali, N. (2006). Biorefineries: Current Status, Challenges, and Future Direction. *Energy & Fuels*, 20 (4): 1727-1737.
7. Kleinert, M. & Barth, T. (2008). Towards a Lignocellulosic Biorefinery: Direct One-Step Conversion of Lignin to Hydrogen-Enriched Biofuel. *Energy & Fuels*, 22 (2): 1371-1379.
8. Simionescu C, I, Macoveanu M, M., Vasile, C., Ciobanu, F., Esanu, M., Ioanid, A., Vidrascu, P. & Georgescu-Buruntea, N. (1996). Polyolefins/lignosulfonates blends. *Cellulose chemistry and technology*, 30 (5-6): 411-429.
9. Norberg, I., Nordström, Y., Drougge, R., Gellerstedt, G. & Sjöholm, E. (2013). A new method for stabilizing softwood kraft lignin fibers for carbon fiber production. *Journal of Applied Polymer Science*, 128 (6): 3824-3830.
10. Felby, C., Hassingboe, J. & Lund, M. (2002). Pilot-scale production of fiberboards made by laccase oxidized wood fibers: board properties and evidence for cross-linking of lignin. *Enzyme and Microbial Technology*, 31 (6): 736-741.
11. Felby, C., Thygesen, L. G., Sanadi, A. & Barsberg, S. (2004). Native lignin for bonding of fiber boards—evaluation of bonding mechanisms in boards made from laccase-treated fibers of beech (*Fagus sylvatica*). *Industrial Crops and Products*, 20 (2): 181-189.
12. Sakagami, H., Kohno, S., Takeda, M., Nakamura, K., Nomoto, K., Ueno, I., Kanegasaki, S., Naoe, T. & Kawazoe, Y. (1992). O₂- scavenging activity of lignins, tannins and PSK. *Anticancer Res*, 12 (6b): 1995-2000.
13. Dizhbite, T., Telysheva, G., Jurkjane, V. & Viesturs, U. (2004). Characterization of the radical scavenging activity of lignins—natural antioxidants. *Bioresource Technology*, 95 (3): 309-317.
14. Vinardell, M. P., Ugartondo, V. & Mitjans, M. (2008). Potential applications of antioxidant lignins from different sources. *Industrial Crops and Products*, 27 (2): 220-223.
15. Bajpai, P. (2016). Structure of Lignocellulosic Biomass. I: *Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuel Production*, s. 7-12. Singapore: Springer Singapore.
16. Timell, T. E. (1967). Recent progress in the chemistry of wood hemicelluloses. *Wood Science and Technology*, 1 (1): 45-70.

17. Boerjan, W., Ralph, J. & Baucher, M. (2003). Lignin biosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*, 54: 519-46.
18. Ramos, L. P. (2003). The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Química Nova*, 26: 863-871.
19. O'sullivan, A. C. (1997). Cellulose: the structure slowly unravels. *Cellulose*, 4 (3): 173-207.
20. Pizzi, A. & Eaton, N. (1984). The Structure of Cellulose by Conformational Analysis. 1. Cellobiose and Methyl- β -cellobioside. *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry*, 21 (11-12): 1443-1466.
21. Fengel, D. & Wegener, G. (1989). *Wood chemistry, ultrastructure, reactions*. Berlin; New York: Walter de Gruyter.
22. Hessler, L. E., Merola, G. V. & Berkley, E. E. (1948). Degree of Polymerization of Cellulose in Cotton Fibers. *Textile Research Journal*, 18 (10): 628-634.
23. Várnai, A., Siika-aho, M. & Viikari, L. (2010). Restriction of the enzymatic hydrolysis of steam-pretreated spruce by lignin and hemicellulose. *Enzyme and Microbial Technology*, 46 (3): 185-193.
24. Lundqvist, J., Teleman, A., Junel, L., Zacchi, G., Dahlman, O., Tjerneld, F. & Ståhlbrand, H. (2002). Isolation and characterization of galactoglucomannan from spruce (*Picea abies*). *Carbohydrate Polymers*, 48 (1): 29-39.
25. Campbell, M. M. & Sederoff, R. R. (1996). Variation in Lignin Content and Composition (Mechanisms of Control and Implications for the Genetic Improvement of Plants). *Plant Physiology*, 110 (1): 3-13.
26. Dewick, P. M. (2009). The Shikimate Pathway: Aromatic Amino Acids and Phenylpropanoids. I: *Medicinal Natural Products*, s. 137-186: John Wiley & Sons, Ltd.
27. Weng, J.-K. & Chapple, C. (2010). The origin and evolution of lignin biosynthesis. *New Phytologist*, 187 (2): 273-285.
28. Sette, M., Wechselberger, R. & Crestini, C. (2011). Elucidation of lignin structure by quantitative 2D NMR. *Chemistry*, 17 (34): 9529-35.
29. Sette, M., Lange, H. & Crestini, C. (2013). Quantitative HSQC Analyses of Lignin: A Practical Comparison. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 6: e201303016.
30. Yue, P. P., Hu, Y. J., Fu, G. Q., Sun, C. X., Li, M. F., Peng, F. & Sun, R. C. (2017). Structural Differences between the Lignin-Carbohydrate Complexes (LCCs) from 2- and 24-Month-Old Bamboo (*Neosinocalamus affinis*). *Int J Mol Sci*, 19 (1).
31. Cornu, A., Besle, J., Mosoni, P. & Grenet, E. (1994). Lignin-carbohydrate complexes in forages: structure and consequences in the ruminal degradation of cell-wall carbohydrates. *Reproduction Nutrition Development*, 34 (5): 385-398.
32. Du, X., Perez-Boada, M., Fernandez, C., Rencoret, J., del Rio, J. C., Jimenez-Barbero, J., Li, J., Gutierrez, A. & Martinez, A. T. (2014). Analysis of lignin-carbohydrate and lignin-lignin linkages after hydrolase treatment of xylan-lignin, glucomannan-lignin and glucan-lignin complexes from spruce wood. *Planta*, 239 (5): 1079-90.
33. Lawoko, M., Henriksson, G. & Gellerstedt, G. (2005). Structural differences between the lignin-carbohydrate complexes present in wood and in chemical pulps. *Biomacromolecules*, 6 (6): 3467-73.
34. Balakshin, M., Capanema, E., Gracz, H., Chang, H. M. & Jameel, H. (2011). Quantification of lignin-carbohydrate linkages with high-resolution NMR spectroscopy. *Planta*, 233 (6): 1097-110.

35. Wen, J.-L., Sun, S.-L., Xue, B.-L. & Sun, R.-C. (2013). Quantitative Structures and Thermal Properties of Birch Lignins after Ionic Liquid Pretreatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (3): 635-645.
36. Bozell, J. J., Moens, L., Elliott, D. C., Wang, Y., Neuenschwander, G. G., Fitzpatrick, S. W., Bilski, R. J. & Jarnefeld, J. L. (2000). Production of levulinic acid and use as a platform chemical for derived products. *Resources, Conservation and Recycling*, 28 (3): 227-239.
37. Steinbach, D., Kruse, A. & Sauer, J. (2017). Pretreatment technologies of lignocellulosic biomass in water in view of furfural and 5-hydroxymethylfurfural production- A review. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 7 (2): 247-274.
38. van Zandvoort, I., Wang, Y., Rasrendra, C. B., van Eck, E. R. H., Bruijninx, P. C. A., Heeres, H. J. & Weckhuysen, B. M. (2013). Formation, Molecular Structure, and Morphology of Humins in Biomass Conversion: Influence of Feedstock and Processing Conditions. *ChemSusChem*, 6 (9): 1745-1758.
39. Rissanen, J. V., Grénman, H., Xu, C., Willför, S., Murzin, D. Y. & Salmi, T. (2014). Obtaining Spruce Hemicelluloses of Desired Molar Mass by using Pressurized Hot Water Extraction. *ChemSusChem*, 7 (10): 2947-2953.
40. Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y. Y., Holtzapple, M. & Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 96 (6): 673-686.
41. McMillan, J. D. (1994). Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. I: ACS Symposium Series, b. 566 *Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production*, s. 292-324: American Chemical Society.
42. Akin, D. E., Rigsby, L. L., Sethuraman, A., Morrison, W. H., Gamble, G. R. & Eriksson, K. E. (1995). Alterations in structure, chemistry, and biodegradability of grass lignocellulose treated with the white rot fungi *Ceriporiopsis subvermispora* and *Cyathus stercoreus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 (4): 1591-1598.
43. FitzPatrick, M., Champagne, P., Cunningham, M. F. & Whitney, R. A. (2010). A biorefinery processing perspective: Treatment of lignocellulosic materials for the production of value-added products. *Bioresource Technology*, 101 (23): 8915-8922.
44. Lee, J. (1997). Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol. *Journal of Biotechnology*, 56 (1): 1-24.
45. Boominathan, K. & Reddy, C. A. (1992). cAMP-mediated differential regulation of lignin peroxidase and manganese-dependent peroxidase production in the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89 (12): 5586-90.
46. Heinfling, A., Martinez, M. J., Martinez, A. T., Bergbauer, M. & Szewzyk, U. (1998). Transformation of industrial dyes by manganese peroxidases from *Bjerkandera adusta* and *Pleurotus eryngii* in a manganese-independent reaction. *Appl Environ Microbiol*, 64 (8): 2788-93.
47. Heinfling, A., Ruiz-Dueñas, F. J., Martínez, M. a. J., Bergbauer, M., Szewzyk, U. & Martínez, A. T. (1998). A study on reducing substrates of manganese-oxidizing peroxidases from *Pleurotus eryngii* and *Bjerkandera adusta*. *FEBS Letters*, 428 (3): 141-146.
48. Tsukihara, T., Honda, Y., Sakai, R., Watanabe, T. & Watanabe, T. (2006). Exclusive overproduction of recombinant versatile peroxidase MnP2 by genetically modified white rot fungus, *Pleurotus ostreatus*. *J Biotechnol*, 126 (4): 431-9.
49. Sindhu, R., Binod, P. & Pandey, A. (2016). Biological pretreatment of lignocellulosic biomass – An overview. *Bioresource Technology*, 199 (Supplement C): 76-82.

50. Agbor, V. B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A. & Levin, D. B. (2011). Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*, 29 (6): 675-685.
51. Zhu, J. Y., Pan, X. & Zalesny, R. S., Jr. (2010). Pretreatment of woody biomass for biofuel production: energy efficiency, technologies, and recalcitrance. *Appl Microbiol Biotechnol*, 87 (3): 847-57.
52. Zhu, J. Y., Wang, G. S., Pan, X. J. & Gleisner, R. (2009). Specific surface to evaluate the efficiencies of milling and pretreatment of wood for enzymatic saccharification. *Chemical engineering science*, 2009 v.64 no.3 (no. 3): pp. 474-485.
53. Cadoche, L. & López, G. D. (1989). Assessment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes. *Biological Wastes*, 30 (2): 153-157.
54. Chum, H. L., Johnson, D. K., Black, S., Baker, J., Grohmann, K., Sarkanen, K. V., Wallace, K. & Schroeder, H. A. (1988). Organosolv pretreatment for enzymatic hydrolysis of poplars: I. Enzyme hydrolysis of cellulosic residues. *Biotechnol Bioeng*, 31 (7): 643-9.
55. McIntosh, S. & Vancov, T. (2010). Enhanced enzyme saccharification of Sorghum bicolor straw using dilute alkali pretreatment. *Bioresource Technology*, 101 (17): 6718-6727.
56. Millett, M. A., Baker, A. J. & Satter, L. D. (1976). Physical and chemical pretreatments for enhancing cellulose saccharification. *Biotechnol Bioeng Symp* (6): 125-53.
57. Pielhop, T., Amgarten, J., von Rohr, P. R. & Studer, M. H. (2016). Steam explosion pretreatment of softwood: the effect of the explosive decompression on enzymatic digestibility. *Biotechnology for Biofuels*, 9 (1): 152.
58. Mes-Hartree, M., Dale, B. E. & Craig, W. K. (1988). Comparison of steam and ammonia pretreatment for enzymatic hydrolysis of cellulose. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 29 (5): 462-468.
59. Overend, R. P. & Chornet, E. (1987). Fractionation of Lignocellulosics by Steam-Aqueous Pretreatments. *Philosophical Transactions of the Royal Society a-Mathematical Physical and Engineering Sciences*, 321 (1561): 523-536.
60. Hendriks, A. T. W. M. & Zeeman, G. (2009). Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 100 (1): 10-18.
61. Vivekanand, V., Olsen, E. F., Eijsink, V. G. H. & Horn, S. J. (2013). Effect of different steam explosion conditions on methane potential and enzymatic saccharification of birch. *Bioresource Technology*, 127 (Supplement C): 343-349.
62. Mackie, K. L., Brownell, H. H., West, K. L. & Saddler, J. N. (1985). Effect of Sulphur Dioxide and Sulphuric Acid on Steam Explosion of Aspenwood. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 5 (3): 405-425.
63. Colowick, S. P., Kaplan, N. O., Wood, W. A. & Kellogg, S. T. (1988). *Methods in Enzymology: Biomass: Part B: Lignin, pectin and chitin / edited by Willis A. Wood, Scott T. Kellogg*: Academic Press.
64. Guerra, A., Filpponen, I., Lucia, L. A., Saquing, C., Baumberger, S. & Argyropoulos, D. S. (2006). Toward a Better Understanding of the Lignin Isolation Process from Wood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (16): 5939-5947.
65. Moe, S. T., Janga, K. K., Hertzberg, T., Hägg, M.-B., Øyaas, K. & Dyrset, N. (2012). Saccharification of Lignocellulosic Biomass for Biofuel and Biorefinery Applications – A Renaissance for the Concentrated Acid Hydrolysis? *Energy Procedia*, 20: 50-58.

66. Dence, C. W. (1992). The Determination of Lignin. I: Lin, S. Y. & Dence, C. W. (red.) *Methods in Lignin Chemistry*, s. 33-61. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
67. Zhuang, J., Wang, X., Xu, J., Wang, Z. & Qin, M. (2017). Formation and deposition of pseudo-lignin on liquid-hot-water-treated wood during cooling process. *Wood Science and Technology*, 51 (1): 165-174.
68. Hu, F., Jung, S. & Ragauskas, A. (2012). Pseudo-lignin formation and its impact on enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, 117 (Supplement C): 7-12.
69. Selig, M. J., Viamajala, S., Decker, S. R., Tucker, M. P., Himmel, M. E. & Vinzant, T. B. (2007). Deposition of Lignin Droplets Produced During Dilute Acid Pretreatment of Maize Stems Retards Enzymatic Hydrolysis of Cellulose. *Biotechnology Progress*, 23 (6): 1333-1339.
70. Sannigrahi, P., Kim, D. H., Jung, S. & Ragauskas, A. (2011). Pseudo-lignin and pretreatment chemistry. *Energy & Environmental Science*, 4 (4): 1306-1310.
71. Hu, F. & Ragauskas, A. (2014). Suppression of pseudo-lignin formation under dilute acid pretreatment conditions. *RSC Advances*, 4 (9): 4317-4323.
72. Ma, X., Yang, X., Zheng, X., Chen, L., Huang, L., Cao, S. & Akinoshio, H. (2015). Toward a further understanding of hydrothermally pretreated holocellulose and isolated pseudo lignin. *Cellulose*, 22 (3): 1687-1696.
73. Li, J., Henriksson, G. & Gellerstedt, G. (2007). Lignin depolymerization/repolymerization and its critical role for delignification of aspen wood by steam explosion. *Bioresource Technology*, 98 (16): 3061-3068.
74. Shuai, L., Amiri, M. T., Questell-Santiago, Y. M., Héroguel, F., Li, Y., Kim, H., Meilan, R., Chapple, C., Ralph, J. & Luterbacher, J. S. (2016). Formaldehyde stabilization facilitates lignin monomer production during biomass depolymerization. *Science*, 354 (6310): 329-333.
75. Ona, T., Sonoda, T., Ito, K., Shibata, M., Kato, T. & Ootake, Y. (1997). Non-destructive Determination of Wood Constituents by Fourier Transform Raman Spectroscopy. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 17 (4): 399-417.
76. Nuopponen, M., Vuorinen, T., Jämsä, S. & Viitaniemi, P. (2005). Thermal Modifications in Softwood Studied by FT - IR and UV Resonance Raman Spectroscopies. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 24 (1): 13-26.
77. Capanema, E. A., Balakshin, M. Y. & Kadla, J. F. (2004). A Comprehensive Approach for Quantitative Lignin Characterization by NMR Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (7): 1850-1860.
78. Fleming, D. H. W. I. (2008). *Spectroscopic methods in organic chemistry*.
79. Gellerstedt, G. (1992). Chemical Degradation Methods: Permanganate Oxidation. I: Lin, S. Y. & Dence, C. W. (red.) *Methods in Lignin Chemistry*, s. 322-333. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
80. Rolando, C., Monties, B. & Lapiere, C. (1992). Thioacidolysis. I: Lin, S. Y. & Dence, C. W. (red.) *Methods in Lignin Chemistry*, s. 334-349. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
81. Lapiere, C., Pollet, B., Monties, B. & Rolando, C. (1991). *Thioacidolysis of Spruce Lignin: GC-MS Analysis of the Main Dimers Recovered After Raney Nickel Desulphuration*. *Holzforschung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood*, 45, 1. 61 s.
82. Lapiere, C., Pollet, B. & Rolando, C. (1995). New insights into the molecular architecture of hardwood lignins by chemical degradative methods. *Research on Chemical Intermediates*, 21 (3): 397.

83. Hites, R. A. (1997). Gas chromatography mass spectrometry. *Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry*: 609-626.
84. De Hoffmann, E. & Stroobant, V. (2007). *Mass spectrometry: principles and applications*: John Wiley & Sons.
85. Collard, F.-X. & Blin, J. (2014). A review on pyrolysis of biomass constituents: Mechanisms and composition of the products obtained from the conversion of cellulose, hemicelluloses and lignin. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 38: 594-608.
86. Galletti, G. C. & Bocchini, P. (1995). Pyrolysis/gas chromatography/mass spectrometry of lignocellulose. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 9 (9): 815-826.
87. Akalin, M. K. & Karagöz, S. (2014). Analytical pyrolysis of biomass using gas chromatography coupled to mass spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 61: 11-16.
88. Evans, R. J. & Milne, T. A. (1987). Molecular characterization of the pyrolysis of biomass. *Energy & Fuels*, 1 (2): 123-137.
89. Asmadi, M., Kawamoto, H. & Saka, S. (2011). Thermal reactions of guaiacol and syringol as lignin model aromatic nuclei. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 92 (1): 88-98.
90. Asmadi, M., Kawamoto, H. & Saka, S. (2012). *The effects of combining guaiacol and syringol on their pyrolysis*. *Holzforschung*, 66, 3. 323 s.
91. Wang, S., Guo, X., Liang, T., Zhou, Y. & Luo, Z. (2012). Mechanism research on cellulose pyrolysis by Py-GC/MS and subsequent density functional theory studies. *Bioresource Technology*, 104: 722-728.
92. Brown, A. L., Dayton, D. C. & Daily, J. W. (2001). A Study of Cellulose Pyrolysis Chemistry and Global Kinetics at High Heating Rates. *Energy & Fuels*, 15 (5): 1286-1294.
93. Kim, S., Chmely, S. C., Nimlos, M. R., Bomble, Y. J., Foust, T. D., Paton, R. S. & Beckham, G. T. (2011). Computational Study of Bond Dissociation Enthalpies for a Large Range of Native and Modified Lignins. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2 (22): 2846-2852.
94. Younker, J. M., Beste, A. & Buchanan, A. C. (2012). Computational study of bond dissociation enthalpies for lignin model compounds: β -5 Arylcoumaran. *Chemical Physics Letters*, 545: 100-106.
95. Elder, T. (2014). Bond Dissociation Enthalpies of a Pinoresinol Lignin Model Compound. *Energy & Fuels*, 28 (2): 1175-1182.
96. Parthasarathi, R., Romero, R. A., Redondo, A. & Gnanakaran, S. (2011). Theoretical Study of the Remarkably Diverse Linkages in Lignin. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2 (20): 2660-2666.
97. Tappi. (2006). Acid-insoluble lignin in wood and pulp (Reaffirmation of T 222 - om-02).
98. Fernell, W. & King, H. (1953). The simultaneous determination of pentose and hexose in mixtures of sugars. *Analyst*, 78 (923): 80-83.
99. Gunnarson, H. (2017). Impact of steam explosion on spruce lignin structure and pyrolyzates *Masteroppgave: Fakultet for Kjemi, Bioteknologi og Matvitenskap*.
100. van Der Kaaden, A., Haverkamp, J., Boon, J. J. & De Leeuw, J. W. (1983). Analytical pyrolysis of carbohydrates: I. Chemical interpretation of matrix influences on pyrolysis-mass spectra of amylose using pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 5 (3): 199-220.

101. Ohnishi, A., Katō, K. & Takagi, E. (1977). Pyrolytic formation of 3-hydroxy-2-penteno-1,5-lactone from xylan, xylo-oligosaccharides, and methyl xylopyranosides. *Carbohydrate Research*, 58 (2): 387-395.
102. Gomez-Pardo, D. & d'Angelo, J. (1991). Revision of structure of a “C56O3” substance generated in the pyrolysis of biomass materials. *Tetrahedron Letters*, 32 (26): 3067-3068.
103. Kawamoto, H. (2017). Lignin pyrolysis reactions. *Journal of Wood Science*, 63 (2): 117-132.
104. He, T., Zhang, Y., Zhu, Y., Wen, W., Pan, Y., Wu, J. & Wu, J. (2016). Pyrolysis Mechanism Study of Lignin Model Compounds by Synchrotron Vacuum Ultraviolet Photoionization Mass Spectrometry. *Energy & Fuels*, 30 (3): 2204-2208.
105. Heikkinen, H., Elder, T., Maaheimo, H., Rovio, S., Rahikainen, J., Kruus, K. & Tamminen, T. (2014). Impact of steam explosion on the wheat straw lignin structure studied by solution-state nuclear magnetic resonance and density functional methods. *J Agric Food Chem*, 62 (43): 10437-44.
106. Wang, Z., McDonald, A. G., Westerhof, R. J. M., Kersten, S. R. A., Cuba-Torres, C. M., Ha, S., Pecha, B. & Garcia-Perez, M. (2013). Effect of cellulose crystallinity on the formation of a liquid intermediate and on product distribution during pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 100: 56-66.
107. Li, J., Henriksson, G. & Gellerstedt, G. (2005). Carbohydrate reactions during high-temperature steam treatment of aspen wood. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 125 (3): 175.
108. Shuai, L., Yang, Q., Zhu, J. Y., Lu, F. C., Weimer, P. J., Ralph, J. & Pan, X. J. (2010). Comparative study of SPORL and dilute-acid pretreatments of spruce for cellulosic ethanol production. *Bioresource Technology*, 101 (9): 3106-3114.
109. Shevchenko, S. M., Beatson, R. P. & Saddler, J. N. (1999). The Nature of Lignin from Steam Explosion/Enzymatic Hydrolysis of Softwood. I: Davison, B. H. & Finkelstein, M. (red.) *Twentieth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals: Presented as Volumes 77–79 of Applied Biochemistry and Biotechnology Proceedings of the Twentieth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals Held May 3–7, 1998, Gatlinburg, Tennessee*, s. 867-876. Totowa, NJ: Humana Press.
110. Hayes, D. J., Fitzpatrick, S., Hayes, M. H. & Ross, J. R. (2006). The biofine process—production of levulinic acid, furfural, and formic acid from lignocellulosic feedstocks. *Biorefineries—Industrial Processes and Product*, 1: 139-164.
111. Li, H., Pu, Y., Kumar, R., Ragauskas, A. J. & Wyman, C. E. (2014). Investigation of lignin deposition on cellulose during hydrothermal pretreatment, its effect on cellulose hydrolysis, and underlying mechanisms. *Biotechnology and Bioengineering*, 111 (3): 485-492.

6. Vedlegg

6.1. Tørrstoffinnhold

Tabell 6.1. Gjennomsnitt med tilhørende standardavvik for tørrstoffinnhold for ubehandlet og dampeksploderte prøver fra tre analyseparalleller.

Prøve [°C/min]	Gjennomsnitt [%]	Standardavvik ± [%]
Ubehandlet	93,93	2,12
180/5	20,96	1,87
180/10	25,34	3,16
190/5	25,51	2,53
190/10	26,89	1,17
200/5	29,53	1,10
200/10	26,72	0,66
210/5	31,71	0,12
210/10	29,88	0,15

6.2. Klason-lignin

Tabell 6.2. Gjennomsnitt med tilhørende standardavvik for Klason-lignininnholdet for ubehandlet og dampeksploderte prøver fra to analyseparalleller.

Prøve [°C/min]	Gjennomsnitt [%]	Standardavvik ± [%]
Ubehandlet	26,63	0,14
180/5	26,09	0,04
180/10	28,00	0,25
190/5	29,47	0,17
190/10	30,59	0,36
200/5	32,04	0,11
200/10	34,46	0,61
210/5	30,69	0,16
210/10	31,90	0,08

6.3. Relativt areal

Tabell 6.3. Relativt areal (Rel. A) med tilhørende standardavvik (SD) for ubehandlet, 180°C. 5 min (180/5) og 180°C. 10 min (180/10) etter 350 °C pyrolyse av tre analyseparalleller. * betyr to analyseparalleller.

	Komponent	Ubehandlet		180/5		180/10*	
		Rel. A	SD	Rel. A	SD	Rel. A	SD
1	Eddiksyre	19,346	1,440	4,265	0,273	2,517	0,376
2	Furfural	5,118	0,663	3,935	0,158	1,926	0,118
3	2-furanmetanol	1,650	0,290	1,144	0,174	0,782	0,027
4	Ukjent 1	5,870	0,477	3,061	0,523	1,352	0,118
5	Ukjent 2	9,112	0,653	2,779	0,303	1,441	0,184
6	3H-pyran-2,6-dion	2,184	0,216	1,699	0,217	1,125	0,029
7	2-metoksyfenol*	0,461	0,061	0,398	0,027	0,325	0,037
8	2-metoksy-4-vinylfenol	1,976	0,047	2,600	0,144	2,329	0,281
9	Eugenol*	0,809	0,053	0,543	0,077	0,411	0,091
10	5-hydroksymetylfurfural	9,356	0,579	13,438	1,103	8,353	1,220
11	2-metoksy-4-propenylfenol (E)*	4,872	0,477	3,457	0,382	3,259	0,072
12	Vanillin*	11,013	0,647	29,479	4,008	35,530	5,027
13	Ukjent 3	4,927	1,006	2,622	0,309	1,653	0,124
14	2-metoksy-4-propylfenol *	2,241	0,119	3,791	0,473	4,430	0,616
15	2-metoksy-1,4-benzendiol	2,140	0,148	4,968	1,001	6,149	0,010
16	Apocynin*	1,088	0,126	1,878	0,268	2,056	0,106
17	4-hydroksy-3-metoksyfenyl-2-propanon	0,459	0,002	0,465	0,036	0,645	0,015
18	Ukjent 4	1,144	0,065	1,282	0,117	2,272	0,628
19	Ukjent 5	2,195	0,119	4,170	0,594	2,641	0,133
20	Ukjent 6	0,867	0,122	1,940	0,108	2,099	0,093
21	Koniferylaldehyd	13,172	1,584	12,085	3,006	18,705	3,017

Tabell 6.4. Relativt areal (Rel. A) med tilhørende standardavvik (SD) for 190°C. 5 min (190/5), 190°C. 10 min (190/10) og 200°C. 5 min (200/5) etter 350°C pyrolyse av tre analyseparalleller. * betyr to analyseparalleller.

	Komponent	190/5		190/10*		200/5	
		Rel. A	SD	Rel. A	SD	Rel. A	SD
1	Eddiksyre	2,926	0,342	1,393	0,150	2,670	0,447
2	Furfural	2,489	0,368	2,568	0,474	3,480	1,382
3	2-furanmetanol	1,731	0,260	0,475	0,155	0,975	0,418
4	Ukjent 1	1,468	0,195	1,026	0,069	0,978	0,358
5	Ukjent 2	1,781	0,203	0,923	0,200	1,099	0,407
6	3H-pyran-2,6-dion	1,435	0,180	1,006	0,125	0,998	0,406
7	2-metoksyfenol*	0,703	0,107	0,527	0,034	0,971	0,335
8	2-metoksy-4-vinylfenol	2,942	0,762	2,989	0,481	3,847	0,855
9	Eugenol*	0,564	0,069	1,039	0,167	0,944	0,338
10	5-hydroksymetylfurfural	8,601	2,397	13,276	3,859	15,687	1,125
11	2-metoksy-4-propenylfenol (E)*	3,629	0,753	4,400	1,028	5,502	1,148
12	Vanillin*	38,081	1,127	37,203	1,343	34,499	4,487
13	Ukjent 3	2,813	0,782	1,208	0,001	1,761	0,332
14	2-metoksy-4-propylfenol *	5,532	0,765	6,064	0,544	6,443	0,417
15	2-metoksy-1,4-benzendiol	4,881	1,565	7,861	2,721	3,649	0,488
16	Apocynin*	1,563	0,296	2,419	0,073	2,370	0,303
17	4-hydroksy-3-metoksyfenyl-2-propanon	0,916	0,356	1,258	0,177	1,742	0,038
18	Ukjent 4	1,496	0,328	1,637	0,656	1,532	0,324
19	Ukjent 5	2,521	0,142	2,749	0,826	1,381	0,238
20	Ukjent 6	2,822	0,925	6,735	0,990	6,611	1,853
21	Koniferylaldehyd	11,105	5,361	3,244	3,103	2,863	0,498

Tabell 6.5. Relativt areal (Rel. A) med tilhørende standardavvik (SD) for 200°C. 10 min (200/10), 210°C. 5 min (210/5) og 210°C. 10 min (210/10) etter 350°C pyrolyse av tre analyseparalleller.

	Komponent	200/10		210/5		210/10	
		Rel. A	SD	Rel. A	SD	Rel. A	SD
1	Eddiksyre	3,045	0,455	1,964	0,535	1,784	0,412
2	Furfural	4,309	0,232	3,833	0,762	3,725	0,964
3	2-furanmetanol	2,959	0,210	2,824	0,354	0,875	0,261
4	Ukjent 1	1,272	0,184	0,650	0,037	0,540	0,130
5	Ukjent 2	2,004	0,093	1,050	0,095	0,779	0,181
6	3H-pyran-2,6-dion	1,553	0,086	1,277	0,185	1,039	0,293
7	2-metoksyfenol*	1,728	0,029	1,465	0,271	1,072	0,283
8	2-metoksy-4-vinylfenol	4,565	0,276	4,878	0,231	4,241	0,445
9	Eugenol*	1,835	0,409	1,476	0,216	0,993	0,192
10	5-hydroksymetylfurfural	15,178	0,371	19,249	1,682	20,362	2,128
11	2-metoksy-4-propenylfenol (E)*	7,394	0,452	6,643	0,090	5,555	0,522
12	Vanillin*	27,948	2,288	27,983	2,485	30,557	1,775
13	Ukjent 3	1,313	0,151	1,028	0,098	0,879	0,084
14	2-metoksy-4-propylfenol *	6,144	0,582	6,491	0,560	6,785	0,246
15	2-metoksy-1,4-benzendiol	3,156	0,220	2,420	0,497	3,361	0,703
16	Apocynin*	2,003	0,051	2,518	0,187	2,354	0,235
17	4-hydroksy-3-metoksyfenyl-2-propanon	1,396	0,097	2,342	0,236	2,455	0,244
18	Ukjent 4	1,143	0,086	1,305	0,071	1,049	0,188
19	Ukjent 5	2,398	1,085	1,507	0,222	1,309	0,212
20	Ukjent 6	3,084	0,447	6,119	1,285	7,157	1,307
21	Koniferylaldehyd	5,573	0,707	2,978	0,892	3,128	1,631

Tabell 6.6. Relativt areal (Rel. A) med tilhørende standardavvik (SD) for ubehandlet, 180°C. 5 min (180/5) og 180°C. 10 min (180/10) etter 600 °C pyrolyse av tre analyseparalleller. * betyr to analyseparalleller.

	Komponent	Ubehandlet		180/5		180/10*	
		Rel. A	SD	Rel. A	SD	Rel. A	SD
1	Eddiksyre	5,307	0,031	2,135	0,159	1,287	0,135
2	1-hydroksey-2-propanon	3,352	0,038	3,076	0,198	2,393	0,245
3	2-hydrokseyetylacetat	3,414	0,224	1,207	0,059	0,993	0,173
4	Ukjent 7	2,297	0,146	1,785	0,064	1,952	0,255
5	Furfural	1,538	0,082	1,803	0,346	1,221	0,391
6	2-furanmetanol	0,482	0,032	0,668	0,111	0,678	0,202
7	1,2-syklopentandion	1,825	0,070	2,094	0,337	1,588	0,432
8	Ukjent 1	0,971	0,045	0,964	0,127	0,491	0,078
9	2H-furan-5-one	0,720	0,026	0,938	0,224	0,969	0,312
	2-hydroksey-3-metyl-2-syklopentene-						
10	1-on	1,045	0,187	1,364	0,061	1,228	0,068
11	Fenol	0,567	0,082	1,042	0,072	0,847	0,064
12	2-metoksyfenol*	3,015	0,144	4,234	0,336	3,812	0,049
13	O-kresol*	0,651	0,170	0,965	0,185	0,809	0,149
14	P-kresol*	0,553	0,148	0,811	0,046	0,710	0,016
15	M-kresol*	0,508	0,151	0,686	0,049	0,572	0,047
16	Kreosol	6,129	0,552	6,309	0,632	6,070	0,275
17	3,4-dimetylphenol	1,528	0,186	1,404	0,256	1,306	0,348
18	4-etyl-2-metoksyfenol	1,180	0,207	1,317	0,082	1,182	0,027
19	Ukjent 8	5,128	0,604	4,867	0,357	3,417	0,011
20	2-metoksy-4-vinylfenol	4,938	0,456	4,844	0,542	4,674	0,452
21	Eugenol*	2,123	0,092	1,822	0,117	2,003	0,065
22	5-hydroksymetylfurfural	7,031	0,265	9,323	1,817	8,404	1,261
23	Katekol*	2,468	0,322	2,790	0,640	3,335	0,592
24	2-metoksy-4-propenylfenol (Z)*	1,514	0,344	1,105	0,034	1,233	0,044
25	3-metyl-1-2-benzendiol	0,936	0,162	1,144	0,205	1,018	0,288
26	3-metoksy-5-metylphenol	0,764	0,166	0,632	0,097	0,480	0,084
27	Ukjent 9	14,632	0,909	11,459	2,063	9,959	0,210
28	4-metyl-1,2-benzendiol	0,972	0,259	2,578	0,683	3,183	0,375
29	2-metoksy-4-propenylfenol (E)*	6,039	0,264	4,370	0,684	5,664	0,198
30	Vanillin*	4,559	0,414	5,839	0,108	6,226	0,093

31	2-metoksy-4-propylfenol*	2,580	0,241	2,860	0,251	3,626	0,103
32	Apocynin*	2,547	0,313	3,246	0,234	3,547	0,142
4-hydroxy-3-methoxyphenyl-2-							
33	propanon	1,013	0,060	1,324	0,123	1,520	0,053
34	Ukjent 10	0,573	0,046	0,786	0,043	0,951	0,066
35	4-(1-hydroksyallyl)-2-metoksyfenol	2,341	0,059	2,027	0,042	2,749	0,210
36	Ukjent 11	1,471	0,310	1,038	0,201	1,886	0,934
37	D-allose	1,357	0,297	3,314	1,667	5,421	2,328
4-hydroksy-3-metoksy-							
38	benzenpropanol	1,934	0,107	1,832	0,048	2,596	0,421

Tabell 6.7. Relativt areal (Rel. A) med tilhørende standardavvik (SD) for 190°C. 5 min (190/5), 190°C. 10 min (190/10) og 200°C. 5 min (200/5) etter 600°C pyrolyse av tre analyseparalleller. * betyr 2 analyseparalleller.

	Komponent	190/5		190/10*		200/5	
		Rel. A	SD	Rel. A	SD	Rel. A	SD
1	Eddiksyre	1,557	0,226	1,452	0,191	1,427	0,132
2	1-hydroksy-2-propanon	5,355	0,433	4,769	0,190	5,281	0,278
3	2-hydroksyetylacetat	1,536	0,144	1,066	0,060	1,244	0,057
4	Ukjent 7	3,218	0,163	2,237	0,082	2,718	0,109
5	Furfural	2,009	0,115	2,388	0,190	2,198	0,064
6	2-furanmetanol	0,901	0,034	0,816	0,105	0,860	0,140
7	1,2-syklopentandion	2,393	0,190	2,240	0,183	2,521	0,213
8	Ukjent 1	0,498	0,068	0,584	0,056	0,385	0,073
9	2H-furan-5-one	1,085	0,062	0,840	0,059	0,988	0,117
2-hydroksy-3-metyl-2-							
10	syklopentene-1-on	1,372	0,048	0,837	0,047	1,292	0,173
11	Fenol	0,998	0,069	0,989	0,110	1,167	0,147
12	2-metoksyfenol*	3,352	0,140	3,406	0,054	3,799	0,452
13	O-kresol*	0,789	0,055	0,913	0,023	1,097	0,043
14	P-kresol*	0,874	0,073	0,900	0,101	1,000	0,109
15	M-kresol*	0,638	0,035	0,652	0,079	0,719	0,067
16	Kreosol	5,412	0,349	5,877	0,217	6,154	0,496
17	3,4-dimetylphenol	1,144	0,079	1,341	0,089	1,608	0,017
18	4-etyl-2-metoksyfenol	1,222	0,096	1,255	0,052	1,296	0,021
19	Ukjent 8	4,231	0,178	5,867	0,389	5,777	0,219

20	2-metoksy-4-vinylfenol	3,894	0,153	3,780	0,053	3,800	0,107
21	Eugenol*	2,028	0,137	1,821	0,096	1,657	0,039
22	5-hydroksymetylfurfural	10,508	0,380	12,707	0,768	12,285	1,362
23	Katekol*	1,862	0,306	1,684	0,156	2,049	0,364
24	2-metoksy-4-propenylfenol (Z)*	1,148	0,110	1,166	0,044	1,073	0,076
25	3-metyl-1-2-benzendiol	1,912	0,210	2,062	0,197	2,586	0,309
26	3-metoksy-5-metylfenol	0,479	0,092	0,642	0,025	0,654	0,064
27	Ukjent 9	7,077	0,975	5,729	3,467	0,000	0,000
28	4-metyl-1,2-benzendiol	6,973	1,271	7,548	0,483	8,030	1,591
29	2-metoksy-4-propenylfenol (E)*	2,906	0,351	3,966	0,165	4,157	0,698
30	Vanillin*	6,312	0,199	6,399	0,257	5,574	0,130
31	2-metoksy-4-propylfenol*	4,113	0,177	3,742	0,150	3,821	0,178
32	Apocynin*	3,673	0,072	3,206	0,143	2,880	0,019
33	4-hydroxy-3-metoksyphenyl-2-propanon	1,323	0,069	1,289	0,074	1,243	0,032
34	Ukjent 10	1,091	0,051	0,945	0,020	0,948	0,028
35	4-(1-hydroksyallyl)-2-metoksyfenol	2,324	0,128	1,811	0,085	1,622	0,013
36	Ukjent 11	0,893	0,123	1,327	0,179	1,624	0,335
37	D-allose	1,371	0,678	3,121	1,268	4,215	1,406
38	4-hydroksy-3-metoksy-benzenpropanol	1,529	0,368	0,355	0,303	0,251	0,215

Tabell 6.8. Relativt areal (Rel. A) med tilhørende standardavvik (SD) for 200°C. 10 min (200/10), 210°C. 5 min (210/5) og 210°C. 10 min (210/10) etter 600°C pyrolyse av tre analyseparalleller.

	Komponent	200/10		210/5		210/10	
		Rel. A	SD	Rel. A	SD	Rel. A	SD
1	Eddiksyre	1,431	0,054	1,448	0,097	1,615	0,365
2	1-hydroksy-2-propanon	6,583	0,310	6,330	0,208	5,015	0,270
3	2-hydroksyetylacetat	1,868	0,194	1,735	0,118	1,257	0,048
4	Ukjent 7	3,666	0,132	3,368	0,275	2,605	0,185
5	Furfural	1,846	0,084	1,649	0,188	2,097	0,153
6	2-furanmetanol	1,128	0,087	1,077	0,079	0,903	0,143
7	1,2-syklopentandion	3,184	0,209	3,000	0,171	2,543	0,218
8	Ukjent 1	0,376	0,073	0,260	0,024	0,000	0,000
9	2H-furan-5-one	1,151	0,073	1,080	0,052	0,902	0,102

2-hydroksy-3-metyl-2-							
10	syklopentene-1-on	1,331	0,173	1,093	0,079	1,039	0,090
11	Fenol	1,218	0,140	1,267	0,076	1,281	0,099
12	2-metoksyfenol*	3,931	0,440	3,990	0,343	3,905	0,286
13	O-kresol*	1,062	0,131	1,103	0,079	1,214	0,139
14	P-kresol*	1,012	0,045	1,021	0,030	1,148	0,112
15	M-kresol*	0,792	0,074	0,773	0,017	0,826	0,080
16	Kresol	6,423	0,449	6,096	0,512	6,291	0,247
17	3,4-dimetylfenol	1,696	0,206	1,686	0,187	1,703	0,089
18	4-etyl-2-metoksyfenol	1,347	0,066	1,296	0,093	1,347	0,058
19	Ukjent 8	4,302	0,275	4,584	0,191	5,705	0,456
20	2-metoksy-4-vinylfenol	4,228	0,242	3,851	0,286	3,672	0,039
21	Eugenol*	1,986	0,041	1,582	0,062	1,462	0,087
22	5-hydroksymetylfurfural	9,341	1,317	10,752	1,176	13,346	0,694
23	Katekol*	3,346	0,865	2,777	0,741	1,822	0,267
24	2-metoksy-4-propenylfenol (<i>Z</i>)*	1,196	0,029	0,972	0,020	0,922	0,085
25	3-metyl-1-2-benzendiol	2,014	0,381	2,422	0,309	2,828	0,111
26	3-metoksy-5-metylfenol	0,706	0,120	0,691	0,053	0,730	0,096
27	Ukjent 9	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
28	4-metyl-1,2-benzendiol	6,577	0,797	8,055	0,413	8,819	0,690
29	2-metoksy-4-propenylfenol (<i>E</i>)*	5,168	0,241	4,041	0,439	3,363	0,266
30	Vanillin*	5,726	0,195	4,974	0,064	4,792	0,183
31	2-metoksy-4-propylfenol*	3,761	0,261	3,675	0,134	3,576	0,025
32	Apocynin*	3,026	0,122	2,711	0,029	2,742	0,070
4-hydroksy-3-metoksyfenyl-2-							
33	propanon	1,232	0,058	1,109	0,030	1,199	0,053
34	Ukjent 10	1,003	0,033	0,888	0,063	0,915	0,021
4-(1-hydroksyallyl)-2-							
35	metoksyfenol	2,008	0,166	1,504	0,089	1,326	0,060
36	Ukjent 11	1,745	0,189	1,658	0,323	1,669	0,224
37	D-allose	1,880	0,594	5,274	0,283	5,151	0,567
4-hydroksy-3-metoksy-							
38	benzenpropanol	0,710	0,604	0,210	0,132	0,270	0,263



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet
Noregs miljø- og biovitenskapelige universitet
Norwegian University of Life Sciences

Postboks 5003
NO-1432 Ås
Norway