



Développement de méthodes analytiques pour la caractérisation de la biomasse lignocellulosique et de ses produits de combustion

Clément Castilla

► To cite this version:

Clément Castilla. Développement de méthodes analytiques pour la caractérisation de la biomasse lignocellulosique et de ses produits de combustion. Chimie analytique. Normandie Université, 2021. Français. NNT : 2021NORMR035 . tel-03346007

HAL Id: tel-03346007

<https://theses.hal.science/tel-03346007>

Submitted on 16 Sep 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité Chimie

Préparée au sein de l'Université de Rouen Normandie

Développement de méthodes analytiques pour la caractérisation de la biomasse lignocellulosique et de ses produits de combustion

Présentée et soutenue par
Clément CASTILLA

Thèse soutenue publiquement le 26/01/2021
devant le jury composé de

M. AUBRIET Frédéric	Professeur de l'Université de Lorraine, Laboratoire LCP-A2MC ICPM, Metz	Rapporteur
Mme ROGNIAUX Hélène	Ingénieure de Recherche, HDR INRAE de Nantes	Rapporteur
M. JUBAULT Philippe	Professeur de l'INSA de Rouen, Laboratoire COBRA, Rouen	Examineur
Mme. DESTANDAU Emilie	Professeur de l'Université d'Orléans Laboratoire ICOA, Orléans	Examineur
Mme. LAVANANT Hélène	Maître de conférences de l'Université de Rouen, Laboratoire COBRA ; Rouen	Directeur de thèse
M. AFONSO Carlos	Professeur de l'Université de Rouen, Laboratoire COBRA, Rouen	Co-directeur de thèse

Thèse dirigée par Dr Hélène LAVANANT, laboratoire COBRA UMR 6014

Thèse co-dirigée par Pr Carlos AFONSO, laboratoire COBRA UMR 6014

Développement de méthodes analytiques pour la caractérisation de la biomasse lignocellulosique et de ses produits de combustion

Résumé :

La biomasse lignocellulosique est une source abondante d'énergie renouvelable pouvant être utilisée comme une alternative aux énergies fossiles pour la production de chaleur, d'électricité ou de composés chimiques d'intérêt. En effet, la biomasse lignocellulosique peut être convertie par des procédés biochimiques ou thermochimiques. Cependant, les processus de conversion de la biomasse sont très complexes en raison de sa composition. Le but de la thèse est de développer des outils analytiques permettant la caractérisation de la biomasse lignocellulosique et de leurs produits de conversion par combustion et pyrolyse. L'analyse de la biomasse a été effectuée par désorption thermique et pyrolyse grâce à l'utilisation de sondes d'introduction directe (DIP et ASAP), permettant la caractérisation rapide de solides. Ces sondes ont été couplées à la spectrométrie de masse à résonance cyclotronique ionique à transformée de Fourier (FTICR) et à la spectrométrie de mobilité ionique couplée à la spectrométrie de masse. Le spectromètre de masse FTICR avec sa résolution et sa précision en masse a été utilisée pour la cartographie moléculaire des produits de désorption thermique et pyrolyse de la biomasse, tandis que la spectrométrie de mobilité ionique a donné des informations sur la présence d'isomères dans ces produits. Les méthodologies DIP FTICR et ASAP IM TOF MS ont été appliquées à la comparaison de différentes espèces de biomasses et ont permis la détermination de marqueurs moléculaires spécifiques pour certaines de ces espèces. La présence d'isomères dans les produits de pyrolyse et thermo désorption de la biomasse a été évaluée par comparaison avec des molécules de références et spectrométrie de masse en tandem. Enfin, la chromatographie ionique et la spectrométrie de masse à couplage à plasma inductif ont été utilisées pour la caractérisation des composés inorganiques et métaux à l'état de trace issus de la combustion de la biomasse lignocellulosique.

Mots clés : biomasse lignocellulosique, spectrométrie de masse FTICR, Spectrométrie de mobilité ionique, analyse directe, analyse d'inorganiques et métaux lourds

Développement de méthodes analytiques pour la caractérisation de la biomasse lignocellulosique et de ses produits de combustion

Abstract:

Lignocellulosic biomass is an abundant source of renewable energy that can be used as an alternative to fossil fuels to produce heat, electricity, or chemical compounds. Indeed, lignocellulosic biomass can be converted by biochemical or thermochemical processes. However, biomass conversion processes are very complex because of biomass composition. The aim of the thesis is to develop analytical tools for the characterization of lignocellulosic biomass and their conversion products by combustion and pyrolysis. Biomass analysis was carried out by thermal desorption and pyrolysis using direct introduction probes (DIP and ASAP), allowing the rapid characterization of solids. These probes were coupled with Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FTICR) and ion mobility spectrometry coupled with mass spectrometry. The FTICR mass spectrometer with its resolution and mass accuracy was used for the isobaric fingerprinting of thermal desorption and pyrolysis products of biomass, while the ion mobility spectrometry provided isomeric information. The DIP FTICR and ASAP IM TOF MS methods were applied to the comparison of different plant species that produce lignocellulosic biomass and allowed the determination of molecular markers specific to certain biomass types. In addition, the presence of isomers in the pyrolysis and thermo-desorption products of the biomass was evaluated by comparison with reference molecules and tandem mass spectrometry. Finally, ion chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry were used for the characterization of inorganic compounds and trace metals resulting from the combustion of lignocellulosic biomass.

Keywords: Lignocellulosic biomass, FTICR mass spectrometry, ion mobility spectrometry, direct analysis, inorganic compound analysis, heavy metals analysis

À mes parents

Remerciements

Ces travaux de thèse ont été réalisés au sein de l'équipe analyse et modélisation du laboratoire COBRA sous la direction d'Hélène Lavanant, Maître de conférences à l'Université de Rouen. Je tiens à lui adresser mes sincères remerciements pour m'avoir encadré lors de cette thèse, pour sa disponibilité, son efficacité et pour m'avoir partagé son savoir en spectrométrie de masse et spectrométrie de mobilité ionique pendant ces trois années.

Je souhaite particulièrement remercier Hélène Rogniaux, Ingénieure de recherche à l'INRAE et Frédéric Aubriet, Professeur de l'Université de Lorraine, d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse en tant que rapporteurs. De plus, je remercie chaleureusement Emilie Destandau, Professeur de l'Université d'Orléans ainsi que Philippe Jubault, Professeur de l'Université de Rouen pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse en tant qu'examineurs.

Je souhaite aussi remercier le Docteur Stéphane Marcotte pour m'avoir proposé ce sujet de thèse et pour m'avoir encadré lors de la première partie de la thèse, même si son départ du projet à la fin de ma première année de thèse a été difficile.

Je remercie chaleureusement Carlos Afonso, Professeur à l'Université de Rouen pour m'avoir permis de faire cette thèse au sein du laboratoire et pour m'avoir encadré pendant ces trois années de thèse. Les connaissances partagées sur la spectrométrie de masse à ultra haute résolution m'ont été importantes pour mener à bien cette thèse.

Je remercie Marie Hubert-Roux, Isabelle Schimdt-Afonso et Christine Devouge-Boyer pour leur bienveillance et le temps qu'elles m'ont consacré pour me former sur les différents instruments du laboratoire.

I would like to address special thanks to the Dr. Christopher Paul Rüger from the university of Rostock (Germany) who was very helpful for this project. You gave me motivation and helped me a lot on the DIP experiments, data processing and statistical analysis. I'm very grateful for that.

Un grand merci aux membres des laboratoires avec qui j'ai pu travailler :

Le personnel et les étudiants de l'INSA et COBRA de Saint-Etienne-Du-Rouvray que j'ai pu côtoyer pendant mes travaux de thèse ou mes missions d'enseignement et avec qui j'ai pu passer d'excellents moments.

Je remercie ainsi chaleureusement Emmanuelle Viard, Sarah Prince, Laura Bom, Léane Yon, Chetna Mohabeer, Delphie Didier, Mélanie Mignot, Anaïs Lesur, Angela Pinto.... Votre bonne humeur, l'ambiance générale du labo et du bureau, les repas animés du midi, ainsi que les sorties que nous avons pu faire comme les restos de Noël ou l'échappée game pour le départ de Stéphane m'ont marqué et j'espère pouvoir passer de nouveau du temps avec vous. Je remercie aussi Isabelle Delaroche pour sa bienveillance et son aide pour les séances de monitorat.

Le personnel du COBRA à Mont Saint Aignan : Corinne Loutelier-Bourhis, Laëtitia Bailly, Emilie Petit, Albert Marcual.... Je vous remercie pour votre bonne humeur et pour ces bons moments.

Un grand merci à mes collègues et amis : Julien, Charlotte, Johann, Justine, Lëila, Anaïs, Ahmad, Nathaniel, Matthieu, Sebastian, Florent, Hend, Guillaume, Valentina, Monica, Riham, Aël, Valentin.

Adeline, Pierrig, Maxance, Rémy, Ben, Micka, Caro, Titi, Axel, Camille, Hugo, Quentin, Pierre, Morgane, Hiroko, Mathieu, Hadrien, Catherine, Bobby, Fabien, Lia, Aurélien, Léa, Oscar, Charlotte, Cookie, Maxime P, Olivier..., un grand merci pour tous ces bons souvenirs partagés et aux prochains que nous partagerons.

Je remercie infiniment ma famille (ma mère, mon père, Jean-Pierre, Catherine, ma grand-mère...) pour avoir cru en moi et pour m'avoir soutenu, ce manuscrit vous est dédié.

Merci à la famille Rose et à la famille Deschamps pour m'avoir accueilli parmi eux.

Enfin, merci à toi Estelle de m'avoir soutenu pendant toutes ces années, nous y sommes enfin arrivés.

Nomenclature

AMS : *aerosol mass spectrometry* ou spectrométrie de masse des aérosols

ANOVA : *analysis of variance* ou analyse de la variance

APCI : *atmospheric pressure chemical ionisation* ou ionisation chimique à pression atmosphérique

APPI : *atmospheric pressure photo-ionisation* ou photo ionisation à pression atmosphérique

ASAP : *atmospheric solid analysis probe*

ASE : *assisted solvent extraction* ou extraction accélérée par solvant

CAST : *combustion aerosol standard* ou aerosols standards de combustion

cIMS : *cyclic ion mobility spectrometry* ou spectrométrie de mobilité ionique cyclique

CCS : *collision cross section* ou section efficace de collision

DBE : *double bond equivalent* ou équivalent double liaison

DIP : *direct insertion probe* ou sonde d'insertion directe

DSC : *differential scanning calorimetry* ou calorimétrie différentielle à balayage

DTG : *differential thermogravimetric curve* ou courbe thermogravimétrique différentielle

DTIMS : *Drift tube ion mobility spectrometry* ou spectrométrie de mobilité ionique à tube de dérive

EDX : *energy-dispersive x-ray spectroscopy* ou spectroscopie de rayon x à dispersion d'énergie

ESI : *electrospray ionisation source* ou source d'ionisation par électronébuliseur

FTICR : *Fourier transform ion cyclotron resonance* ou résonance cyclotronique ionique à transformée de Fourier

FAIMS : *Field asymmetric ion mobility spectrometry* ou spectrométrie de mobilité ionique à champ asymétrique

HACA : ... ou abstraction d'hydrogène et addition de carbone

IC : *ion chromatography* ou chromatographie ionique

ICP-MS : *Inductively coupled plasma mass spectrometry* ou spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif

ICP-OES : *inductively coupled plasma optical emission spectroscopy* ou spectroscopie d'émission optique à plasma à couplage inductif

IMS : *ion mobility spectrometry* ou mobilité de spectrométrie ionique.

IM-MS : *mass spectrometry ion mobility* ou mobilité ionique couplée à la spectrométrie de masse

IUPAC : *International Union of Pure and Applied Chemistry* ou union internationale de chimie pure et appliquée.

KMD : *Kendrick mass defect* ou défaut de masse de Kendrick

L2MS : *two step laser mass spectrometry* ou spectrométrie de masse laser à deux étapes

LDI : *laser desorption ionization* ou ionisation par désorption laser

LPI : *low pressure impactor* ou impacteur à basse pression

MALDI : *matrix assisted laser desorption ionization* ou ionisation laser assistée par matrice

MS : *mass spectrometry* ou spectrométrie de masse

m/z : *mass over charge ratio* ou rapport masse sur charge

NMR : *nuclear magnetic resonance* ou résonance magnétique nucléaire

PAH : *polycyclic aromatic hydrocarbon* ou hydrocarbures polycycliques aromatiques

PCA : *principal component analysis* ou analyse par composante principale

PM : *particulate matter* ou matière particulaire

PUF : *polyurethane foam* ou mousse polyuréthane

Py-GC-MS : chromatographie gazeuse pyrolytique couplée à la spectrométrie de masse

SEM : *scanning electron microscope* ou microscopie électronique à balayage

SIMS : secondary ion mass spectrometry ou spectrométrie de masse à ions secondaires

SOA : *secondary organic aerosol* ou aérosols organiques secondaires

SRIG : *stacked ring ion guide* ou guide d'ion à électrodes annulaires

TCD : *thermal conductivity detector* ou détecteur à conductivité thermique

TGA : thermogravimetric analysis ou analyse thermogravimétrique

TIMS: Trapped ion mobility spectrometry ou spectrométrie de mobilité ionique à ions piégés

TLC : chromatographie sur couche mince

TOF : *time of flight* ou temps de vol

TWIMS : *Traveling wave ion mobility spectrometry* ou spectrométrie de mobilité ionique à ondes progressives

VOC : *volatile organic carbon* ou carbone organique volatile

DW : Dry weight ou masse sèche

Table des matières

REMERCIEMENTS	9
NOMENCLATURE.....	13
INTRODUCTION GENERALE	21
CHAPITRE 1 : LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE.....	27
1.1 CONTEXTE SUR L'UTILISATION DE LA BIOMASSE	29
1.2 COMPOSITION CHIMIQUE DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE	30
1.2.1 Cellulose.....	31
1.2.2 Hémicelluloses	31
1.2.3 Lignine	32
1.2.4 Extractibles	34
1.2.5 Inorganiques.....	34
1.3 VALORISATION DE LA BIOMASSE.....	35
1.3.1 Procédés biochimiques	37
1.3.2 Procédés thermochimiques.....	39
1.4 METHODES ANALYTIQUES POUR LA CARACTERISATION DE LA BIOMASSE ET DES PRODUITS DE COMBUSTION.	53
1.4.1 Analyse élémentaire (Ultimate analysis)	53
1.4.2 Analyse immédiate (Proximate analysis).....	54
1.4.3 Analyse des composés inorganiques et métaux traces dans les cendres.	55
1.4.4 Méthodes d'analyse thermiques.....	56
1.4.5 Caractérisation de la biomasse par méthodes chromatographiques, spectrométrie de masse et RMN	59
1.4.6 Caractérisation des produits de combustion de la biomasse.....	66
1.5 REFERENCES	74
CHAPITRE 2 : INSTRUMENTATION ET METHODES.....	81
2.1 LA SPECTROMETRIE DE MASSE	83
2.1.1 Principe de la spectrométrie de masse	83
2.1.2 Sources d'ionisation en spectrométrie de masse	85
2.1.3 Les analyseurs en spectrométrie de masse.....	91
2.1.4 Traitement des données en spectrométrie de masse	100
2.2 LA SPECTROMETRIE DE MOBILITE IONIQUE	113
2.2.1 Principe de la spectrométrie de mobilité ionique	113
2.2.2 Exemple de cellules de mobilité ionique : traveling wave ion mobility mass spectrometry (TWIMS).....	115
2.2.3 Détermination des sections efficaces de collision expérimentales dans le cas du TWIMS	116
2.2.4 Appareillage : le Synapt G2 (Waters).....	118
2.3 CHROMATOGRAPHIE IONIQUE	119

2.4 SPECTROMETRIE DE MASSE A PLASMA A COUPLAGE INDUCTIF (ICP-MS).....	122
2.5 REFERENCES	125
CHAPITRE 3 : DEVELOPPEMENT DE METHODES ANALYTIQUES POUR LA CARACTERISATION DE PRODUITS DE PYROLYSE DE LA BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE	131
RÉSUMÉ ÉTENDU DE L'ARTICLE : "DIRECT INLET PROBE ATMOSPHERIC PRESSURE PHOTO AND CHEMICAL IONIZATION COUPLED TO ULTRAHIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY FOR THE DESCRIPTION OF LIGNOCELLULOSIC BIOMASS.....	133
3.1 ARTICLE 1: DIRECT INLET PROBE ATMOSPHERIC PRESSURE PHOTO AND CHEMICAL IONIZATION COUPLED TO ULTRA-HIGH RESOLUTION MASS SPECTROMETRY FOR THE DESCRIPTION OF LIGNOCELLULOSIC BIOMASS	137
3.1.1 <i>Abstract</i>	137
3.1.2 <i>Introduction</i>	138
3.1.3 <i>Method and Material</i>	140
3.1.4 <i>Results and Discussion</i>	143
3.1.5 <i>Conclusion</i>	155
3.1.6 <i>Aknowledgements</i>	156
3.1.7 <i>Electronic supplementary information</i>	157
3.1.8 <i>Références</i>	164
RÉSUMÉ ÉTENDU DE L'ARTICLE : ION MOBILITY MASS SPECTROMETRY OF <i>IN SITU</i> GENERATED BIOMASS PYROLYSIS PRODUCTS ...	167
3.2 ARTICLE 2: ION MOBILITY MASS SPECTROMETRY OF <i>IN SITU</i> GENERATED BIOMASS PYROLYSIS PRODUCTS.	171
3.2.1 <i>Abstract</i>	171
3.2.2 <i>Introduction</i>	173
3.2.3 <i>Materials and methods</i>	176
3.2.4 <i>Results and discussion</i>	180
3.2.5 <i>Conclusion</i>	194
3.2.6 <i>Acknowledgements</i>	195
3.2.7 <i>Appendix</i>	197
3.2.8 <i>References</i>	217
CHAPITRE 4 : CARACTERISATION DE PARTICULES FINES ISSUES DE LA COMBUSTION DE BIOMASSE LIGNOCELLULOSIQUE	222
RESUME ETENDU DE L'ARTICLE : PARTICULATE INORGANIC SALTS AND TRACE ELEMENT EMISSIONS OF A DOMESTIC BOILER FED WITH FIVE COMMERCIAL BRANDS OF WOOD PELLETS.....	224
4.1 ARTICLE 3: PARTICULATE INORGANIC SALTS AND TRACE ELEMENT EMISSIONS OF A DOMESTIC BOILER FED WITH FIVE COMMERCIAL BRANDS OF WOOD PELLETS	226
4.1.1 <i>Abstract</i>	226
4.1.2 <i>Introduction</i>	227
4.1.3 <i>Materials and methods</i>	229
4.1.4 <i>Results and discussion</i>	233
4.1.5 <i>Conclusion</i>	244

4.1.6 Acknowledgement	245
4.1.7 Supplementary information.....	246
4.1.8 References	256
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	260
CHAPITRE 5 : ANALYSE DE PARTICULES FINES OBTENUES PAR LA COMBUSTION DE CARBURANTS ISSUS DU PETROLE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE A ULTRA HAUTE RESOLUTION (FTICR MS)	266
5.1 INTRODUCTION SUR L'ANALYSE DE PARTICULES FINES	267
5.2 PARTIE EXPERIMENTALE	269
5.2.1 Présentation du système d'étude des particules	269
5.2.2 Analyse FTICR MS non ciblée de particules fines obtenues par la combustion de propane.....	271
5.2.3 Traitement des données	271
5.3 ANALYSE DES PARTICULES ISSUES DE LA COMBUSTION DE PROPANE PAR DIP-APCI FTICR MS	273
5.3.1 Etude du profil de désorption et du spectre moyen.....	273
5.3.2 Détermination des attributions moléculaires et de leurs représentations graphiques.....	275
5.3.3 Comparaison des différentes conditions de combustion CAST avec une analyse par composante principale.	279
5.4 CONCLUSION	283
5.5 REFERENCES	284

Introduction générale

La biomasse lignocellulosique est une ressource issue du vivant et plus particulièrement des plantes. Elle est considérée comme une alternative aux énergies fossiles comme le pétrole, le gaz et le charbon. La biomasse lignocellulosique est principalement composée de cellulose, d'hémicellulose, de lignine, de petites molécules organiques (extractibles) et de composés inorganiques. La cellulose et l'hémicellulose sont des polymères de sucres, l'un linéaire et l'autre ramifié. La lignine est un polymère hautement réticulé, composé de trois unités monomériques différentes. La biomasse lignocellulosique peut être convertie de manière biochimique ou thermochimique afin d'obtenir des produits solides, liquides et gazeux utilisés pour la production d'énergie ou dans l'industrie chimique. Le procédé de conversion biochimique peut être réalisé entre autres par fermentation des sucres extraits de la biomasse pour obtenir de l'éthanol, ou par digestion anaérobie afin d'obtenir du méthane. Les procédés thermochimiques permettent, par l'action de la chaleur, de convertir la biomasse en produits gazeux (exemple du syngaz), liquides (exemple des bio-huiles) et solides (exemple du biochar). Lors de la thèse, nous avons étudié des procédés de conversion thermochimique (la pyrolyse et combustion). En effet, la biomasse lignocellulosique est une matrice complexe nécessitant une préparation particulière afin d'être analysée et il est difficile d'extraire les constituants de la biomasse par traitement chimique ou enzymatique. Afin de comprendre les procédés de conversion de la biomasse, il est nécessaire de développer des outils analytiques permettant de caractériser les produits.

Au cours de ce travail de thèse notre objectif a été de développer de nouvelles méthodes de caractérisation directe de la biomasse par des procédés de thermo désorption et de pyrolyse associés à la spectrométrie de masse à haute résolution et la spectrométrie de mobilité ionique. Ceci dans le but de dresser des cartographies moléculaires les plus exhaustives possible des composés de la biomasse. En outre, les émissions inorganiques et métalliques issues de la combustion de la biomasse ont été étudiées.

Lors de cette thèse, la spectrométrie de masse à ultra haute résolution (FTICR), la spectrométrie de mobilité ionique (IMS), la chromatographie ionique (IC) et à plasma à couplage inductif (ICP) ont été utilisés. La spectrométrie de masse à ultra haute résolution permet, grâce à sa résolution et sa précision de masse, d'attribuer chaque signal du spectre de masse à une formule brute unique. De plus, l'analyse rapide et sans préparation d'échantillon solides par thermo désorption et pyrolyse est réalisable par l'utilisation d'une sonde d'introduction directe (DIP)

couplée à des sources d'ionisation chimique et photo ionisation à pression atmosphérique (APCI et APPI). La combinaison de cette sonde avec le FTICR permet de déterminer l'empreinte moléculaire des produits de pyrolyse de la biomasse de manière complémentaire avec les études de la littérature. Cependant, l'utilisation de cette méthode DIP FTICR MS ne permet pas de séparer les isomères présents dans ces mélanges complexes. L'IMS est une technique permettant d'avoir des informations sur l'isomérisation des molécules par la séparation d'ions en phase gaz en fonction de leur mobilité dans un tube de dérive contenant un gaz tampon et soumis à un champ électrique. Le temps de dérive (td) des ions dans la cellule de mobilité ionique peut être converti en section efficace de collision (CCS), propriété intrinsèque de l'ion analysé dans un gaz donné (principalement N₂ ou He). Quant aux composés inorganiques présents dans la matière particulaire et les cendres produites par la combustion de la biomasse, ils ont été caractérisés et quantifiés par IC et ICP.

Cette thèse s'est déroulée au sein de l'équipe analyse et modélisation du laboratoire COBRA de Mont Saint Aignan et Saint Etienne du Rouvray. Les expériences d'IC, d'ICP-MS et les combustions de biomasses ont été effectuées sur le site de Saint Etienne du Rouvray. Les expériences de spectrométrie de masse à haute résolution ont été effectuées sur le site de Mont Saint Aignan.

Ce manuscrit est divisé en cinq chapitres. Le premier chapitre présente l'état de l'art de la biomasse à travers sa composition chimique, ses procédés de conversion ainsi que ses méthodes de caractérisation.

Le second chapitre porte sur la description des différentes méthodes analytiques utilisées lors de la thèse. En effet, ce second chapitre présente la spectrométrie de masse avec ses sources d'ionisation et ses analyseurs, suivi des méthodes de traitement des données. D'autres méthodes analytiques sont présentées dans ce chapitre : l'IMS et son couplage avec la spectrométrie de masse, l'IC et l'ICP-MS.

Le troisième chapitre est dédié aux méthodes de caractérisation directe de la biomasse lignocellulosique par spectrométrie de masse. Deux études faisant l'objet d'articles scientifiques ont été insérées dans ce manuscrit de thèse. Le premier article présente le développement d'une méthode analytique par spectrométrie de masse FTICR avec une sonde d'insertion directe et deux sources d'ionisation à pression atmosphérique (photo ionisation, APPI et ionisation chimique APCI). Le but de cette méthode est de caractériser et de

différencier les produits de dépolymérisation par thermo-désorption et pyrolyse de trois espèces de bois dur.

Ces travaux ont été complétés par un second article présentant l'utilisation de la spectrométrie de mobilité ionique couplée à la spectrométrie de masse (IM TOF MS) avec une sonde d'introduction directe analogue au DIP, l'atmospheric solid analysis probe (ASAP). Après la vérification de l'absence d'interférences isobariques, l'ASAP IM TOF MS a été utilisé pour la caractérisation de cinq biomasses avec du bois dur, du bois tendre et une espèce herbacée. Ces espèces ont été différenciées par analyse en composantes principales (PCA), permettant la mise en évidence de marqueurs moléculaires spécifiques de certaines espèces. Des CCS ont été déterminées expérimentalement pour ces marqueurs. Ensuite, les CCS de certains de ces marqueurs ont été comparées à des molécules de référence de même formule brute. Enfin, des expériences de spectrométrie de masse en tandem sur les molécules de référence et les produits de dégradation de la biomasse ont été comparées afin d'étudier la présence d'isomères dans les échantillons de biomasse.

Le quatrième chapitre de la thèse présente l'étude des émissions obtenues lors de la combustion de biomasses, méthode de conversion la plus utilisée dans le monde parmi les utilisations de la biomasse. Cette étude a fait l'objet d'un d'article scientifique présentant la caractérisation des composés inorganiques et métaux à l'état de traces présents dans les produits de combustion de la biomasse lignocellulosique, incluant les cendres résiduelles et la matière particulaire. Les essais de combustion ont été réalisés avec une chaudière à granulés comprenant un système d'analyse des gaz et de prélèvement des particules. Les échantillons ont été analysés par IC et ICP-MS/OES.

Le cinquième et dernier chapitre annexe au sujet principal de la thèse, décrit une partie de l'étude réalisée dans le cadre du projet PUFbio dont l'objectif est d'étudier l'impact toxicologique des particules issues de carburants de seconde génération. Ce projet inclue de nombreux collaborateurs des laboratoires CORIA, ABTE (équipe ToxEMAC) et COBRA. La participation du COBRA concerne la caractérisation chimique ciblée et non ciblée des gaz et particules issues de la combustion contrôlée de propane et carburants liquides. Seront présentés dans ce chapitre, les résultats obtenus pour l'analyse directe de particules fines issues de la combustion de propane, par la méthode DIP APCI FTICR MS développée dans le chapitre 3.

Chapitre 1 : La Biomasse lignocellulosique

Chapitre 1 : La biomasse lignocellulosique

Ce premier chapitre de thèse décrit nos connaissances et utilisations de la biomasse lignocellulosique, la matrice principalement étudiée lors de la thèse.

Dans le contexte énergétique mondial, l'intérêt d'utiliser la biomasse en tant que source d'énergie renouvelable est, en effet, en grande partie à l'origine de cette thèse.

Les différentes applications de la biomasse lignocellulosique seront présentées dont l'utilisation de la biomasse pour le chauffage, pour la production de bio-carburant ainsi que pour la production de composés chimiques.

Enfin, les méthodes de caractérisation de la biomasse lignocellulosique ainsi que de leurs produits de combustion seront présentées en dernière partie de ce chapitre.

1.1 Contexte sur l'utilisation de la biomasse

La définition générale de la biomasse est l'ensemble de la matière organique d'origine végétale ou animale. Environ 80% de la biomasse globale sont des plantes, principalement des plantes terrestres [1]. La biomasse utilisée par l'Homme peut venir de diverses origines. En effet, elle peut être d'origine naturelle, cultivée (bois, herbacés...), peut venir des résidus issus des industries, de l'agriculture ainsi que de la consommation humaine (déchets ménagers) [2].

La biomasse est considérée comme une alternative aux énergies fossiles comme le pétrole, le gaz et le charbon d'origine pétrolier, dont l'utilisation est responsable de l'augmentation des gaz à effets de serre dans le monde. En effet, la biomasse peut être convertie en énergie thermique et électrique, en bio-carburants ou en composés chimiques d'intérêt en fonction de son origine et de sa composition.

En effet, le CO₂ émis lors de l'utilisation de la biomasse et de leurs produits de combustion est censé correspondre à la quantité de CO₂ consommée par la biomasse lors de sa croissance, en comparaison des énergies fossiles (Figure 1.1) [3, 4].

Cependant, la conversion énergétique de la biomasse n'est pas complètement neutre en carbone. Elle peut amener à l'émission d'autres composés ayant un impact sur l'environnement et la santé comme de la matière particulaire (PM), des métaux lourds en phase gazeuse et des hydrocarbures aromatiques polycycliques. L'étude de la biomasse et de leurs processus de conversion est une étape importante afin de minimiser les émissions ayant un impact environnemental ainsi que les déchets finaux, tout en maximisant les rendements énergétiques.

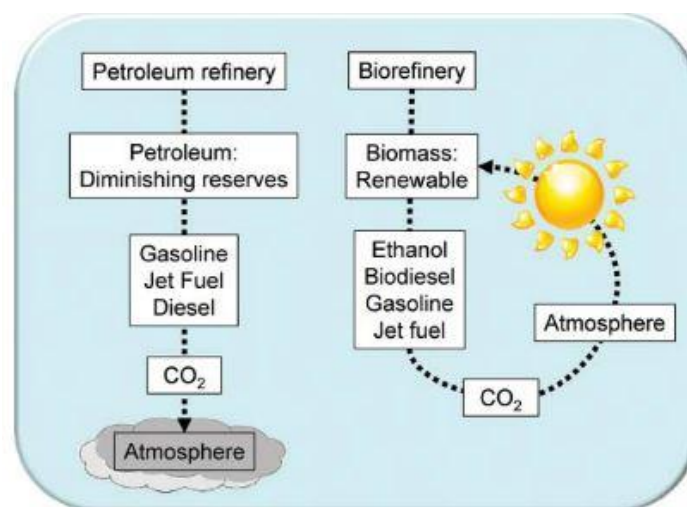


Figure 1.1: Cycle du CO₂ pour les carburants pétroliers et dérivés de la biomasse. Repris de la review de David Martin Alonso *et al.* [4]

1.2 Composition chimique de la biomasse lignocellulosique

Comme présenté précédemment, la biomasse est l'ensemble de la matière organique d'origine végétale ou animale. Les applications de la biomasse varient selon sa composition et son origine. Ici, nous allons présenter plus particulièrement la description de la composition chimique de la biomasse à travers l'exemple du bois.

Le bois fait partie de la famille des plantes à graines (spermatophytes). Cette famille est subdivisée en deux sous familles : les gymnospermes, correspondants aux bois tendres ou conifères et les angiospermes, correspondants aux bois durs. La composition du bois varie en fonction de nombreux paramètres dont son espèce, la partie du bois étudiée et son origine géographique. Le bois est principalement composé de molécules organiques comme la cellulose, l'hémicellulose et la lignine mais aussi d'extractibles et de composés inorganiques [5, 6].

La composition élémentaire du bois est d'environ 50% en masse de carbone, 6% en masse d'hydrogène et 44% en masse d'oxygène avec des traces de composés inorganiques [7]. La structure des parois cellulaires du bois est présentée avec la Figure 1.2. La cellulose forme un squelette, entourée par d'autres composés permettant son renfort (hémicellulose et lignine). Les différents constituants du bois vont maintenant être présentés, en commençant par la cellulose.

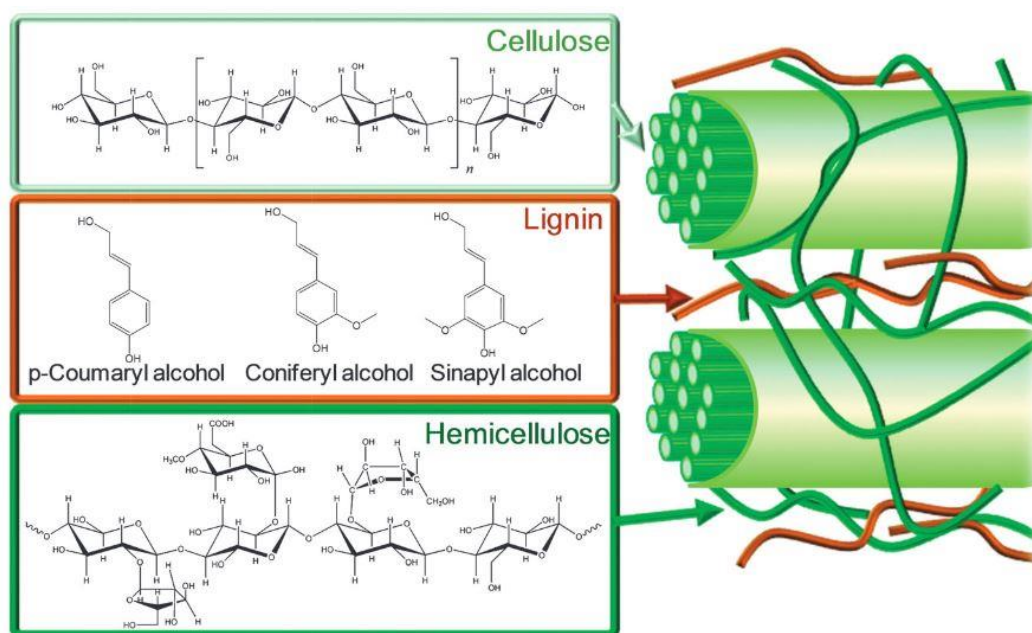


Figure 1.2: Paroi cellulaire du bois, reproduit à partir de la publication de David Martin Alonso [8]

1.2.1 Cellulose

La cellulose est le constituant principal des parois des cellules de plantes avec approximativement 40-45% de sa masse sèche. Il s'agit d'un polysaccharide homogène constitué d'un enchainement de jusqu'à 10 000 unités monomériques de D-glucose, liées par des liaisons glycosidiques β -1,4 (Figure 1.3).

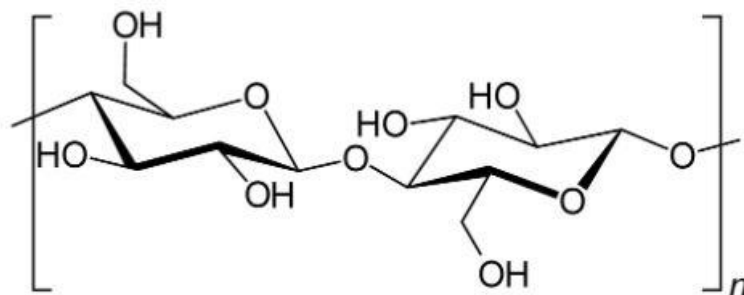


Figure 1.3: Structure de la cellulose

Les molécules de cellulose sont linéaires et sont susceptibles de former des liaisons hydrogènes intra et intermoléculaires. En effet, la fonction hydroxyle du carbone C-3 et l'oxygène du cycle glycosidique adjacent sont liées par une liaison hydrogène intermoléculaire. La formation de ces liaisons stabilise et rigidifie la structure de la cellulose. L'agrégation de molécules de cellulose forme ainsi des microfibrilles avec des régions ordonnées (cristallines) et des régions peu ordonnées (amorphes). Ces microfibrilles forment ensuite des fibres de cellulose. La structure fibreuse très rigide de la cellulose avec ses liaisons hydrogènes, la rend peu soluble dans de nombreux solvants. La cellulose a été initialement caractérisée par diffraction rayons X [9].

1.2.2 Hémicelluloses

Les hémicelluloses, les seconds constituants les plus présents dans les parois des cellules de plantes, sont des polysaccharides hétérogènes ramifiés contrairement à la cellulose qui est un polysaccharide homogène linéaire. Les hémicelluloses sont principalement amorphes de par leurs structures ramifiées et sont liés à la surface des fibres de cellulose. Leurs compositions varient en fonction du type de biomasse ainsi que de son espèce. Les hémicelluloses peuvent être composés de différentes unités pentoses et hexoses, jusqu'à 200 unités. Les pentoses sont constitués de L-arabinose et de D-xylose, tandis que les hexoses contiennent de unités D-glucose, D-mannose et D-galactose [10]. D'autres composés peuvent être retrouvés en petite quantités dont le L-rhamnose, l'acide D-glucuronique et l'acide D-galacturonique. Un exemple d'hémicellulose est présenté avec le O-acétylgalactoglucomanne présenté avec la Figure 1.4.

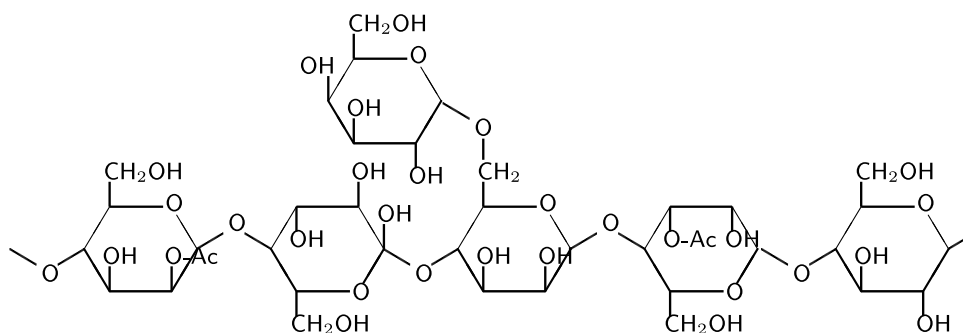


Figure 1.4: Structure du O-acetylgalactoglucomanannans

Ce polymère O-acetylgalactoglucomanannan constitue la principale hémicellulose retrouvée dans les bois tendres [11]. La chaîne principale de ce polymère est constituée d'unités D-mannose et D-Glucose liés par β 1-4. Une unité D-galactose est liée à l'unité mannose et certaines fonctions alcools sont acétylées.

1.2.3 Lignine

La lignine est aussi contenue dans les parois cellulaires des plantes. Son rôle est de lier et de fixer les fibres de cellulose et d'hémicellulose, renforçant ainsi la structure de la plante[12]. De plus, la lignine rend les parois cellulaires imperméable, permettant ainsi le transport de l'eau et des nutriments à travers le système vasculaire de la plante. La lignine est un polymère réticulé composé d'un assemblage de trois unités monomériques représentées avec la Figure 1.5 : l'alcool paracoumarylique (unité H), l'alcool coniférylique (unité G) et l'alcool sinapylique (unité S).

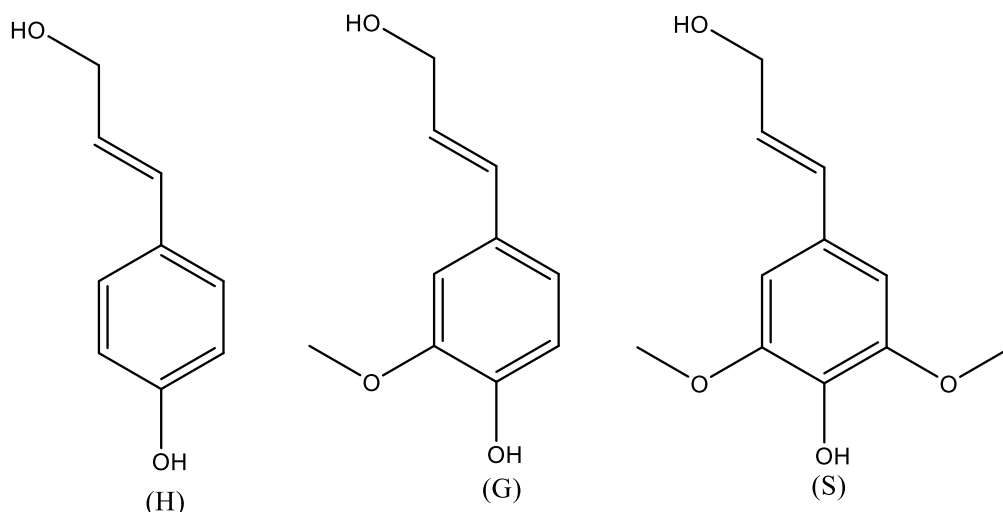


Figure 1.5: Unités monomériques constitutives de la lignine

Ces composés produisent des unités p-hydroxyphényl H, guaiacyl G et syringyl S lorsqu'ils sont incorporés dans le polymère. La composition de la lignine et la proportion des différentes unités monomériques varient en fonction des espèces et d'autres paramètres comme l'environnement de la plante [13]. En effet, les lignines des angiospermes (bois durs) sont principalement constituées d'unités G et S avec des traces d'unités H, tandis que les lignines gymnospermes (bois tendres) sont principalement composées d'unités G avec une faible proportion d'unités H. Plusieurs sites de liaisons sont possibles lors de la polymérisation de la lignine.

Un exemple de structure de lignine de bois durs, de bois tendres et d'une autre famille de plante (monocot) est présenté avec la Figure 1.6, reprise de l'étude de John Ralph *et al.* [14]

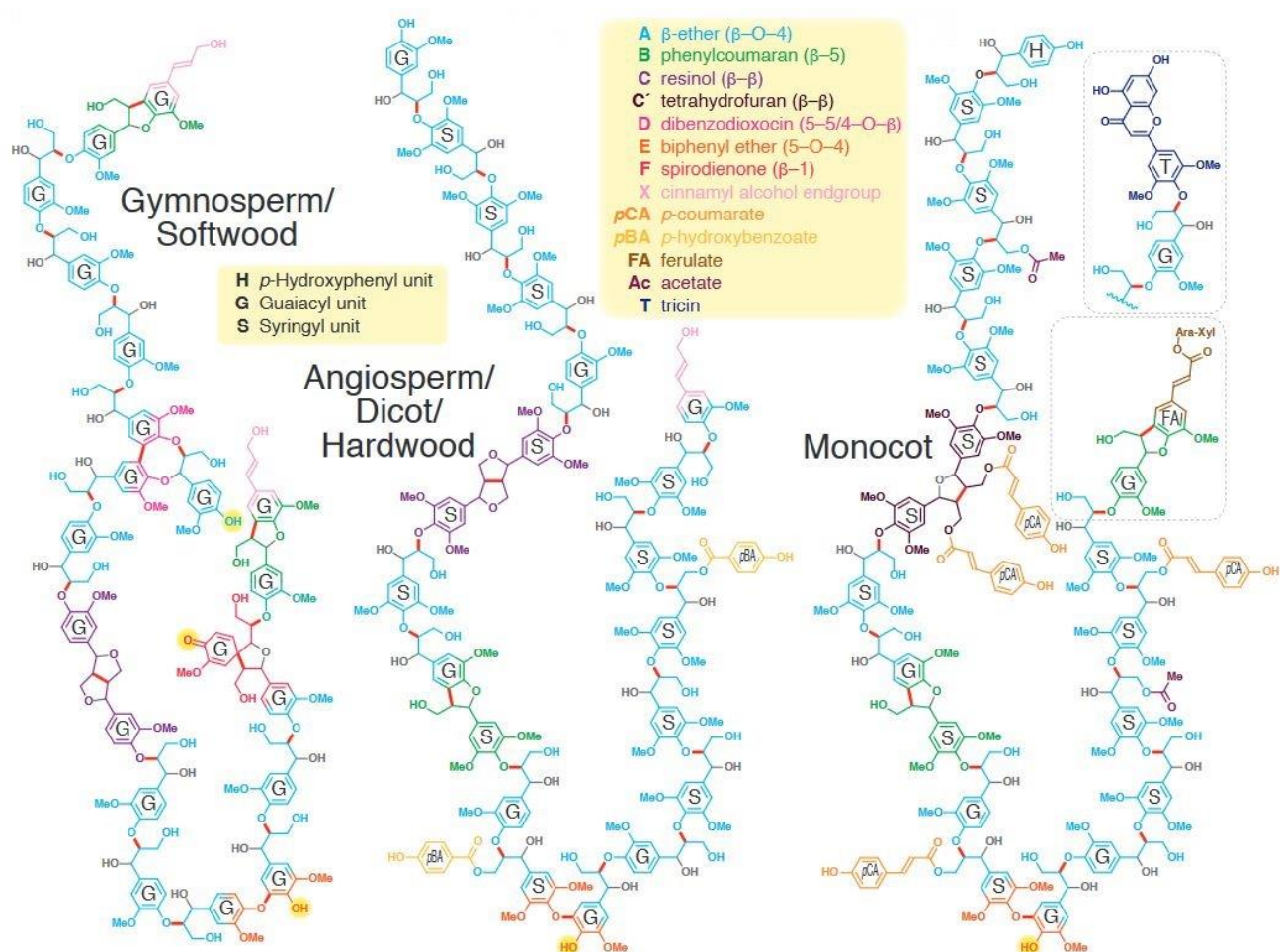


Figure 1.6: Structure de la lignine pour les bois durs, bois tendres et les monocots, reprise de l'article de John Ralph *et al.*[14]

Cette figure montre la complexité de la ligne ainsi que les nombreux sites de liaisons possibles pour les différents monomères. Les principaux types de liaisons observées sont les β -ethers (β -O-4), les phenylcoumaran (β -5) et les résinols (β - β).

1.2.4 Extractibles

Une grande variété de composés présents dans le bois ou d'autres biomasses peut être extraite dans un solvant organique ou de l'eau. Ces composés se nomment *extractables* ou *extractives* ou en anglais. Les extractibles contiennent une grande diversité de molécules hydrophiles et lipophiles, de composition variable en fonction de l'espèce de biomasse mais aussi de la partie de la biomasse étudiée (racine, branche, feuilles...). Des terpènes peuvent par exemple être retrouvés [6], notamment sous la forme d'acides résiniques (diterpènes). D'autres composés peuvent être retrouvés comme des acides et esters gras, des protéines, des tannins et des flavonoïdes.

1.2.5 Inorganiques

Parmi les composés présents dans le bois, des composés inorganiques peuvent être observés avec des proportions variables en fonction des espèces. En effet, des métaux alcalins et alcalino-terreux tels que le potassium (K), le sodium (Na), le calcium (Ca) et le magnésium (Mg). D'autres éléments comme le chlore (Cl), la silice (Si) et d'autres métaux peuvent être présents [15]. Lors de combustion de biomasse, ces éléments se trouvent volatilisés ou peuvent être sous forme d'oxydes dans les cendres.

1.3 Valorisation de la biomasse

L'utilisation de la biomasse est en constante augmentation par son caractère renouvelable en comparaison des carburants fossiles. De multiples applications sont possibles pour la biomasse en fonction de son origine (produits issus de l'agriculture, déchets ménagers, bois...). La biomasse peut être utilisée directement dans de nombreuses applications. Par exemple, le bois peut être utilisé pour la génération d'énergie par combustion et certaines biomasses comme les algues ou les champignons peuvent être utilisées pour le traitement des eaux usées [16, 17]. De plus, différents types de carburants peuvent être obtenus à partir de la biomasse [18]:

- des carburants liquides : éthanol, biodiesel, méthanol... ;
- des carburants gazeux : les gaz de synthèse (CO , H_2), les biogaz (CH_4 , CO_2) ... ;
- des carburants solides : charbon, biomasse torréfiée....

La biomasse est principalement utilisée pour la production d'énergie sous forme de chaleur ou d'électricité. La chaleur produite par la combustion de la biomasse est utilisée de manière domestique à l'aide de poêles à granulés ou de poêle à bois et peut être utilisée de manière industrielle pour la production d'électricité à l'aide de chaudières à lit fluidisé [19]. D'autres industries peuvent utiliser la biomasse comme source de chaleur tel que la sidérurgie.

La biomasse peut aussi être utilisée pour substituer les carburants pétroliers diesel et l'essence. Plusieurs types de biocarburants peuvent être obtenus en fonction de la biomasse utilisée, on parle ainsi de biocarburants de première, seconde et troisième génération. Les carburants de première génération sont obtenus à partir de matières consommables par l'Homme et permettent ainsi de produire de l'éthanol utilisé dans les moteurs à essence et du biodiesel utilisés dans les moteurs diesels. L'éthanol est généralement obtenu par fermentation de la canne à sucre [20] et du maïs tandis que le biodiesel est produit par la transestérification d'huiles végétales obtenues de la manière mécanique [21]. Les carburants de seconde génération sont obtenus à partir de biomasses lignocellulosiques tel que les résidus de l'industrie forestière ou agricole. Des procédés thermiques et biochimiques peuvent être utilisés pour leur conversion. Les carburants de troisième génération sont obtenus à partir d'algues et de microalgues [22].

Les produits de la biomasse peuvent aussi être utilisés dans l'industrie chimique pour la production de méthanol, de fibres polymères [23] et d'autres produits chimiques ayant un intérêt en synthèse organique [24]. En effet ces composés peuvent être principalement synthétisés à partir de sucres comme le glucose, le fructose, le xylose ou l'arabinose mais aussi à partir de gaz de synthèses CO et H₂ isolés à partir de la biomasse. Le gaz synthétique permet la synthèse d'alcane par réaction de Fischer-Tropsch, d'éthanol par fermentation, de méthanol par synthèse et d'autres composés [25]. Ces composés synthétisés peuvent être utilisés comme *building blocks* pour d'autres synthèses.

Plusieurs méthodes de conversion sont possibles afin de convertir la biomasse de son état primaire vers des produits avec une meilleure densité énergétique ou des propriétés chimiques intéressantes. Deux voies de conversion principales existent : la conversion par voie biochimique et par voie thermochimique (Figure 1.7). Les principes de fonctionnement des méthodes de conversion présentées dans la suite de ce chapitre ont été principalement décrites à partir de reviews et de livres.

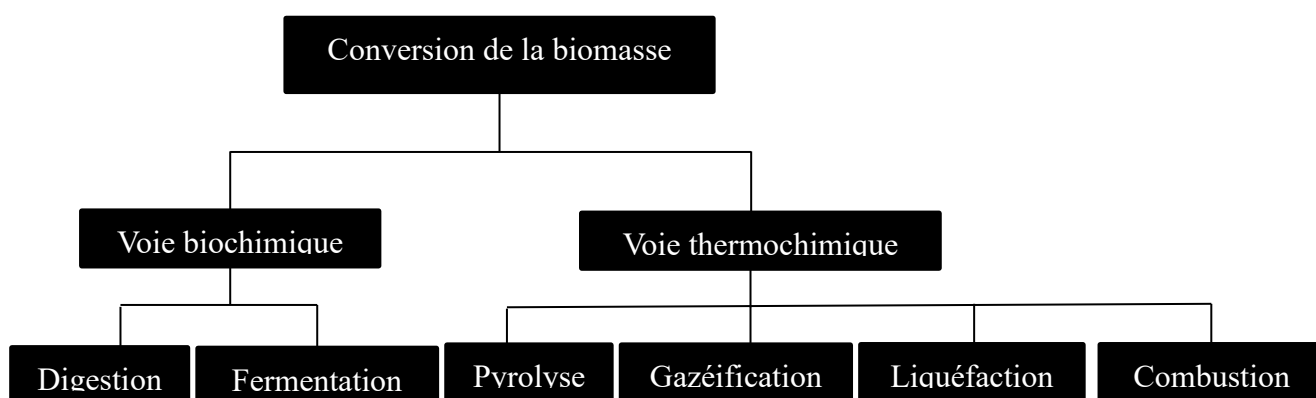


Figure 1.7: Différentes voies de conversion de la biomasse

1.3.1 Procédés biochimiques

Afin de valoriser la biomasse, les procédés de conversion biochimiques permettent la conversion de sucres issues de la biomasse en composés d'intérêt liquides et gazeux par l'utilisation d'agents biologiques comme des bactéries ou des enzymes [26]. Plusieurs types de procédés biochimiques, dont le procédé de fermentation, permettent d'obtenir du bioéthanol et le procédé de digestion anaérobie, appelé aussi méthanisation, permet d'obtenir du méthane. Le procédé de fermentation sera présenté dans cette section.

La fermentation est un procédé biochimique permettant de convertir des sucres C5 et C6 (hexoses et pentoses) en éthanol par la réaction de micro-organismes, principalement des levures, par exemple *Saccharomyces Cerevisiae*. Quatre étapes principales sont nécessaires pour la production de bioéthanol : le prétraitement, l'hydrolyse enzymatique, la fermentation des sucres et le traitement de l'éthanol.

Le prétraitement de la biomasse permet d'extraire les sucres de la matrice lignocellulosique [27]. Il existe pour cela différentes méthodes comme le traitement à la vapeur (*steam-explosion*) [28], à l'acide sulfurique [29] ou à l'ammoniaque [30].

Après avoir été prétraités, la biomasse lignocellulosique est soumise à une hydrolyse enzymatique permettant d'obtenir des sucres. Il s'agit de l'étape la plus importante du procédé biochimique. Pour cela, plusieurs types d'enzymes sont principalement utilisées : la cellulase, l'hémicellulase et d'autres enzymes comme l'estérase d'acides phénoliques [26]. La cellulase produite par plusieurs types de champignons dont *Trichoderma* et *aspergillus*, est constituée de trois types d'enzymes : les endoglucanases (EG), les exoglucanases (CBH) et les β -glucosidases (BG). Les EG cassent les liaisons glycosidiques β -1-4, les CBH agissent à la fin des chaînes de cellulose pour libérer des oligosaccharides de plus petites tailles et les BG hydrolysent les oligosaccharides pour obtenir du glucose (Figure 1.8).

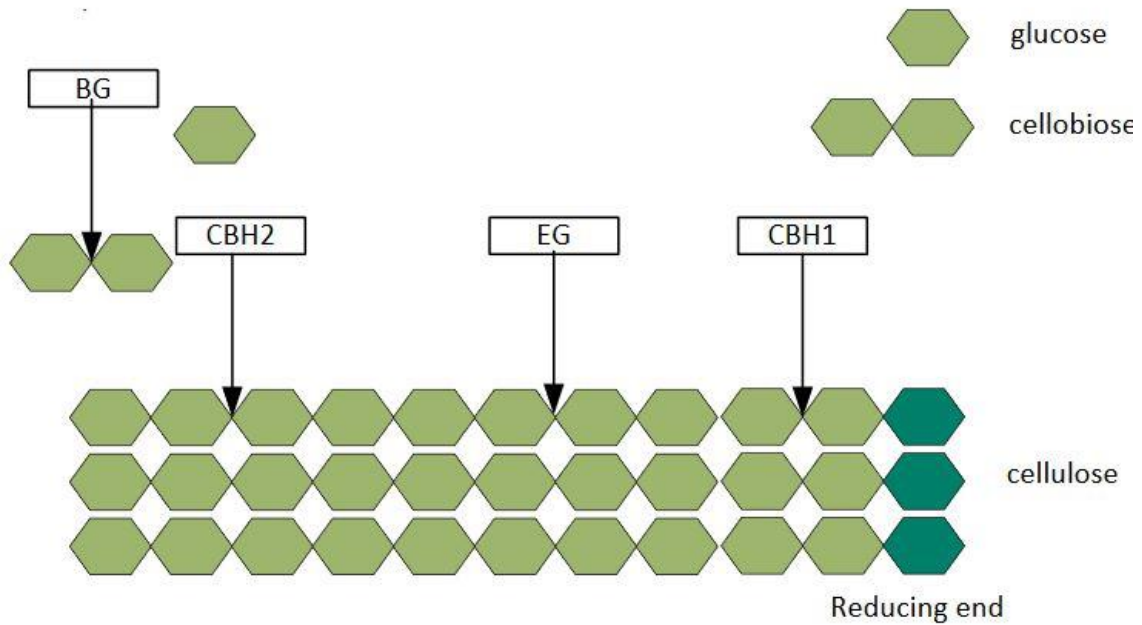


Figure 1.8: Fonctionnement de la cellulase, repris de la publication de Simone Brethauer et Michael H. Studer [26]

Les sucres C5 et C6 obtenus après hydrolyse enzymatique sont ensuite transformés en éthanol par fermentation avec des micro-organismes. L'éthanol est ensuite récupéré puis déshydraté dans le but d'avoir un produit le plus pur possible (100% v/v). Les résidus solides de biomasses peuvent être ensuite brûlés afin d'obtenir de la chaleur et de l'énergie pour le reste du procédé. D'autres procédés biochimiques de fermentation existent utilisant des micro-organismes différents afin de convertir les sucres obtenus par hydrolyse en composés chimiques utilisables dans l'industrie [31].

1.3.2 Procédés thermochimiques

Les procédés de conversion thermochimiques permettent d'obtenir des produits solides, liquides et gazeux à partir de biomasse lignocellulosique par l'utilisation de chaleur. La biomasse lignocellulosique peut être convertie par différentes techniques dont combustion, pyrolyse, torréfaction, présentés dans cette section.

1.3.2.1 Combustion

La combustion est la méthode de conversion de la biomasse la plus utilisée (90% de l'énergie à partir de la biomasse). En effet, celle-ci est aussi bien utilisée pour la production d'électricité de manière industrielle avec les chaudières à lits fluidisés que pour la cuisine, le chauffage domestique avec des poêles à bois ou plus récemment des poêles à granulés. La combustion est basée sur une réaction exothermique entre un combustible carboné et l'oxygène de l'air, produisant idéalement de l'eau et du dioxyde de carbone. Cependant, la combustion dans le cadre de la biomasse et plus particulièrement du bois, est un procédé complexe basé sur une série de transformations physiques et de réactions chimiques [32]. Ces réactions sont complexifiées par la composition hétérogène de la biomasse. En effet, les biomasses lignocellulosiques comme le bois ne brûlent pas directement. Sous l'influence d'une chaleur élevée, la biomasse se décompose en un mélange de volatils, de goudrons (*tar*) et de charbon (*char*) hautement réactif. L'oxydation de ces combustibles volatils et de ces goudrons provoque une combustion avec flamme (ou *flaming combustion* en anglais), tandis que l'oxydation du charbon restant produit une combustion lente (ou *smouldering* en anglais) en fonction du taux d'oxydation [19]. Le processus de combustion dans le cadre du bois est illustré avec la Figure 1.9.

En effet, les constituants du bois commencent par s'hydrolyser, se déshydrater, d'oxyder et se pyrolyser avec l'augmentation de la température, formant ainsi des combustibles volatils et du charbon. La combustion de ces composés en présence d'oxygène commence à la température d'ignition. La flamme obtenue brûle ensuite les produits de dégradation du bois, formant finalement de l'eau du dioxyde de carbone et d'autres gaz comme le monoxyde de carbone et des oxydes d'azote (NO_x).

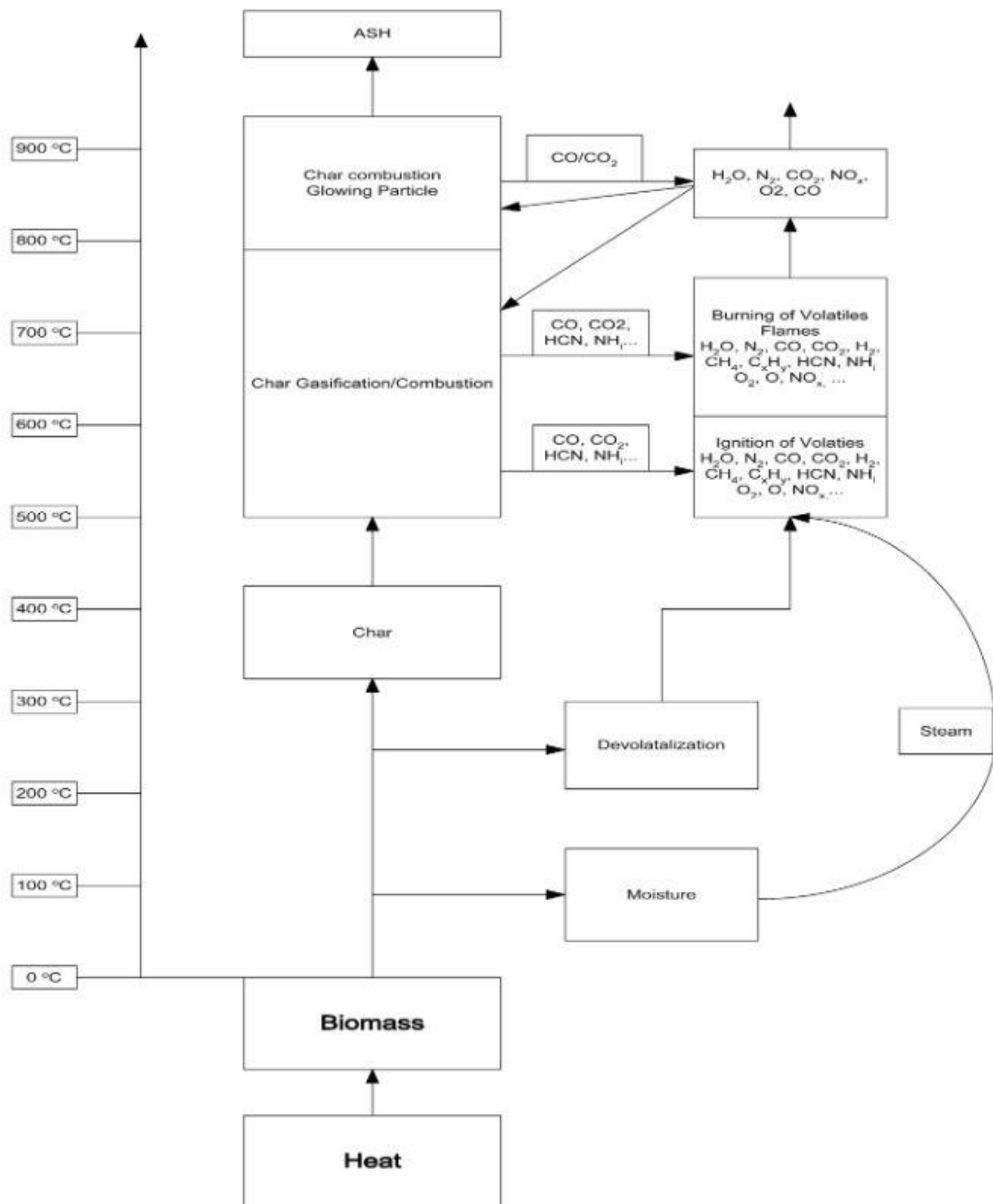


Figure 1.9: Processus de combustion du bois, repris de la publication de A.A. Khan *et al.* [19]

La combustion de biomasses étant complexe, la composition du carburant et l'apport du combustible a un impact significatif sur la combustion et sur les émissions obtenues lors de la combustion. En effet, la biomasse lignocellulosique peut être de composition chimique et de forme très différentes en fonction des espèces et de son origine (bois, plantes herbacées, biomasse issue de fruits et mélanges de biomasses...). En effet, la densité de la biomasse, la proportion d'humidité, de composés volatils, de cendres et d'autres composés inorganiques comme le chlore, le potassium et les métaux lourds peuvent varier, affectant ainsi la combustion. Par exemple, les biomasses herbacées comme le miscanthus contenant un haut taux de silice, de potassium et de chlore, produisant la formation de mâchefers responsables d'encrassement et de la corrosion des chaudières. De plus, l'eau a un impact significatif sur la combustion de la biomasse. En effet, si la biomasse est trop humide, une quantité trop importante d'énergie est nécessaire pour vaporiser l'eau, diminuant la capacité calorifique de la biomasse ainsi que l'efficacité de la combustion, augmentant ainsi la formation de fumées. A l'inverse, les biomasses avec une humidité trop faible brûlent plus vite, limitant la quantité d'oxygène nécessaire pour la combustion, créant ainsi une combustion incomplète avec l'augmentation de l'émission de fumées et de particules fines. Il est possible de caractériser la composition de la biomasse, son contenu en humidité et sa teneur en inorganiques par diverses méthodes présentées dans ce chapitre.

Différents traitements peuvent être utilisés pour améliorer la capacité calorifique du bois tout en réduisant la proportion des émissions lors de la combustion. La torréfaction, pyrolyse à faible température peut être utilisée ainsi que le séchage (exemple du bois) et la densification. La densification permet d'augmenter la quantité de chaleur émise par unité de volume en compactant au maximum la biomasse. Les techniques de densification principalement utilisées sont la pelletisation et l'agglomération (*briquetting* en anglais).

Divers systèmes de combustion de la biomasse existent en fonction de son application à une échelle industrielle ou domestique, par exemple des poêles à bois, chaudières à bois et poêles à granulés. Il est possible de distinguer différents systèmes de combustion comme la combustion en lit fixe et combustion en lit fluidisé [33].

Les procédés de combustion à lit fixe est divisé en deux types de configurations : co-courant et contre-courant (Figure 1.10). Le carburant inséré subit des étapes de séchage, de pyrolyse, de gazéification et de combustion du charbon. Les produits volatils obtenus lors de la gazéification sont brûlés par l'apport d'air secondaire. Dans le cadre de la configuration à co-courant, le front de la flamme se propage dans la même direction que le flux de gaz oxydant. Dans la configuration à contre-courant, l'ignition commence au-dessus du lit de carburant et le front de flamme se propage à contre-courant du débit d'air [34].

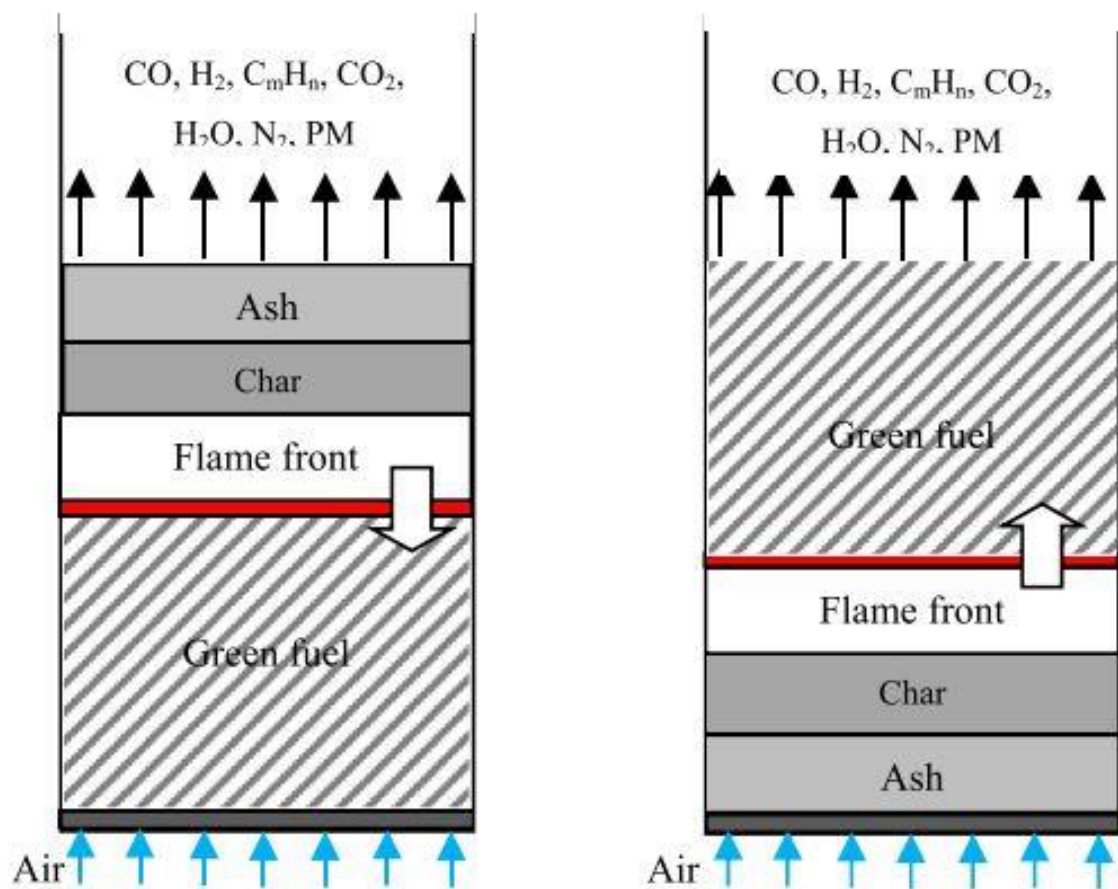


Figure 1.10: Système de combustion à lit fixe avec à droite, une configuration à co-courant et à gauche, une configuration à contre-courant. Repris de la publication d'Hassan Khodaei *et al.* [34]

Les systèmes de combustion à lit fluidisé ont un fonctionnement différent. En effet, dans les systèmes à lits fluidisés, la biomasse est brûlée dans un mélange en suspension de gaz et d'un matériau granulaire inerte comme du sable. Deux configurations existent pour les systèmes de combustion à lit fluidisé : le lit fluidisé circulant et le lit fluidisé bouillonnant. Ces deux configurations sont différenciées par la vitesse des gaz utilisés pour la fluidisation du lit de sable. En effet, le lit fluidisé bouillonnant a une vitesse de fluidisation entre 1,0 et 3,0 m/s tandis que le lit fluidisé circulant a une vitesse de fluidisation entre 3,0 et 6,0 m/s. La haute vitesse de fluidisation du lit fluidisé circulant entraîne d'avantages de particules hors du lit. Ces particules sont collectées dans un cyclone puis réinjectées en bas du système de fluidisation (Figure 1.11) [19]. L'avantage du lit fluidisé est la distribution uniforme de la température, une grande surface de contact pour l'échange de chaleur, la possibilité d'utiliser des carburants de différentes natures et de fonctionner à des températures plus faibles, réduisant l'émission des NOx.

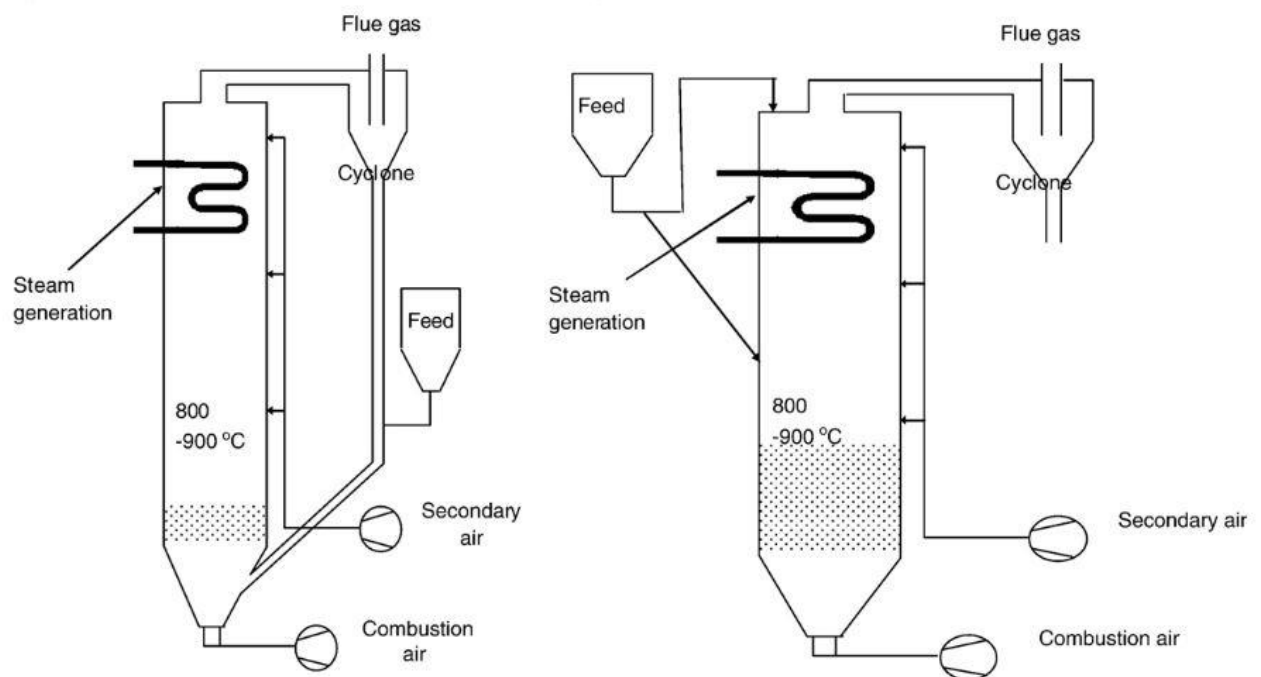


Figure 1.11: Système de combustion à lit fluidisé avec à droite, un lit fluidisé bouillonnant et à gauche, un lit fluidisé circulant. Repris de la publication de A.A Khan *et al.* [19]

La combustion de biomasse lignocellulosique conduit à l'émission de molécules ayant un impact sur l'environnement mais aussi sur l'appareillage de combustion. Ces émissions peuvent venir des produits de combustion ainsi que des produits non brûlés ou partiellement brûlés. Les principaux polluants formés pendant la combustion incluent la matière particulaire (PM), le monoxyde de carbone (CO), les hydrocarbonés (HC), les oxydes d'azote (NO_x, principalement NO et NO₂) et les oxydes de soufre (SO_x, principalement SO₂). D'autres émissions peuvent être observées en fonction du carburant utilisé. En effet, la biomasse avec un fort taux de composés halogénés comme la paille et les déchets ménagers est susceptible de former des acides gazeux comme de l'HCl responsables de corrosion, ou des dioxines et furanes [35].

Les PM sont principalement constituées, dans de bonnes conditions de combustion, de sels alcalins (KCl, K₂SO₄, K₂CO₃...), sachant qu'une fraction des cendres de la biomasse est vaporisée à haute température, formant ainsi de la matière particulaire pendant le refroidissement. D'autres métaux traces peuvent être observés en fonction du type de biomasse utilisée comme le zinc. Cependant, lors de mauvaises combustions, les émissions de composés organiques et de suies augmentent. Il est possible de retrouver des huiles et des goudrons condensées ainsi que des composés organiques volatils (VOC) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Les particules fines ont une distribution granulométrique variable en fonction du système de combustion. Les PM inférieures à 10 µm et 2,5 µm (PM₁₀ et PM_{2,5}) ont un impact significatif sur la santé car retenues dans les alvéoles pulmonaires [36].

La distribution en taille des particules peut être classifiée selon trois modes en fonction de leur mécanisme de formation : le mode par nucléation, accumulation et grossier [37]. En plus de ces modes, la matière particulaire peut être divisée en particules primaires et secondaires. Les particules primaires se forment à haute température dans la zone de combustion et les particules secondaires se forment en dehors de la flamme et dans l'atmosphère.

Trois sources de particules primaires peuvent être émises en fonction de leur mécanisme de formation : les particules de suie, les particules organiques et les particules issues des cendres.

Particules de suie

La suie est un mélange complexe formée à l'intérieur de la zone riche en combustible de la flamme et principalement constitué de carbone élémentaire et de composés organiques. Le mécanisme de formation des suies est présenté avec la Figure 1.12. En effet, la formation des suies débute avec la pyrolyse, l'oxydation, suivi de l'abstraction d'hydrogène et de l'addition de carbone (HACA) [38] de la biomasse, formant ainsi des composés acétylènes. Les composés acétylènes ainsi formés s'assemblent pour former des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) avec un à quatre noyaux aromatiques (Ar1 à Ar4). Les molécules avec quatre noyaux aromatiques vont par la suite se nucléer et grandir pour former des particules sphériques pouvant s'agréger ou s'agglomérer entre elles [39].

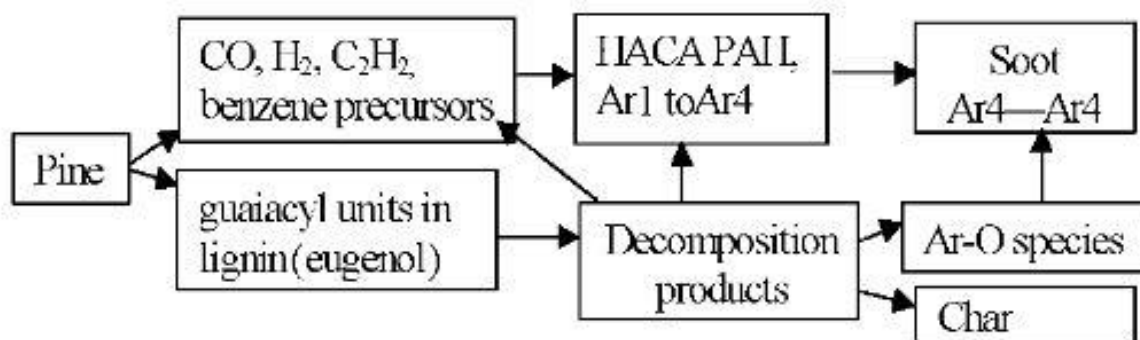


Figure 1.12: mécanisme de formation des suies lors de la combustion de biomasse, repris de l'étude de Fitzpatrick, E. M. *et al.* [39]

Un second mécanisme de formation des suies existe impliquant les produits de pyrolyse de la biomasse. En effet, certaines espèces comme les produits de la lignine, sont soumises à une rupture des chaînes latérales puis à des réactions de dégradation phénolique, formant ainsi des HAP mais aussi des HAP contenant des atomes d'oxygène (O-HAP). Ces HAP et O-HAP formés peuvent par la suite s'assembler pour former des particules de suie.

Particules organiques

La biomasse se décompose lorsque chauffée, formant ainsi une grande variété de composés organiques avec différentes pressions de vapeur et structures moléculaires. Lors de combustion incomplète, ces composés organiques peuvent se retrouver dans les gaz résiduels sous la forme de gaz ou de liquides. De plus, ils peuvent être divisés en fonction de leur point d'ébullition en composés organiques très volatils (VVOC), volatils (VOC), semi volatils (SVOC) et en phase particulaire (POM). Il est possible de retrouver comme VOC des alcanes comme le méthane, des alcènes, benzènes, phénols, alcools, cétones, aldéhydes... [40].

Certains VOC sont de plus susceptibles de s'oxyder dans l'atmosphère, générant ainsi des aérosols organiques secondaires (SOA). La formation de SOA est un processus pouvant être décrit par réactions en phase gazeuse du précurseur VOC et partitionnement des composés entre la phase gazeuse et particulaire [41]. Les principales sources d'oxydation des précurseurs VOC sont les radicaux hydroxyles ($\text{OH}^\bullet$), les radicaux nitrates ($\text{NO}_3^\bullet$) et l'ozone (O_3).

Le mécanisme de formation de SOA en phase gazeuse présenté avec la Figure 1.13 est un processus avec des réaction successives en phase gazeuses. Les trois principaux axes de réaction sont : l'attaque initiale de l'oxydant formant des radicaux alkyles ($\text{R}^\bullet$), la réaction des radicaux peroxydes ($\text{RO}_2^\bullet$) et la réaction des radicaux alkoxydes ($\text{RO}^\bullet$). Ces radicaux sont ensuite susceptibles de réagir pour former des espèces condensables. [42]

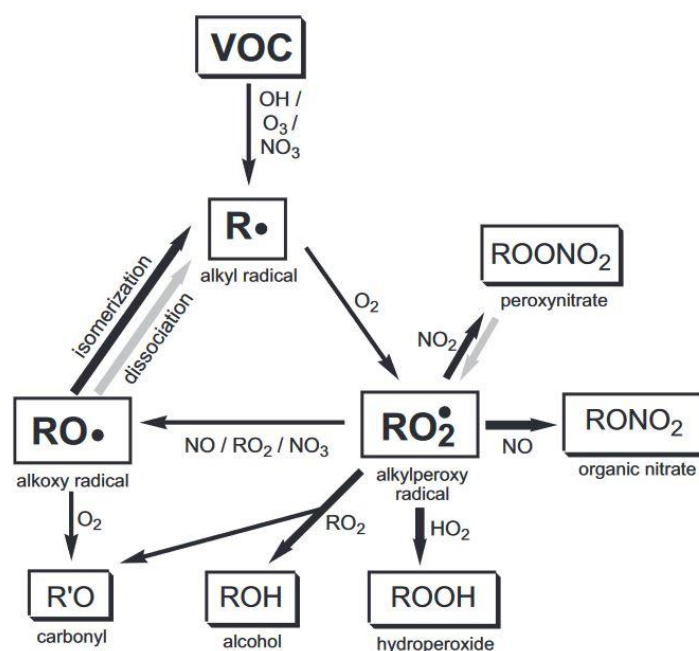


Figure 1.13: Mécanisme de formation des aérosols organiques secondaires (SOA), reprise de la publication de Jesse H. Kroll et John H. Seinfeld [42]

Cendres

La biomasse contient une certaine quantité d'éléments inorganiques formant des cendres (*ash* en anglais) pendant la combustion. La production de ces cendres est influencée par la nature du carburant et sa teneur en composés inorganiques ainsi que par la technologie et les conditions de combustion utilisées. Les éléments formants des cendres peuvent être classés selon trois catégories [37]:

- les éléments non volatils : calcium (Ca), silice (Si), magnésium (Mg), fer (Fe), aluminium (Al)... ;
- les éléments volatils : potassium (K), sodium (Na), soufre (S) et le chlore (Cl) ;
- les métaux lourds volatils : zinc (Zn), plomb (Pb), cadmium (Cd)....

Plusieurs fractions de cendres peuvent être observées lors de la combustion. Une première fraction correspond aux cendres résiduelles (*bottom ash* en anglais), constituées d'espèces non volatiles mais aussi d'une fraction des espèces volatiles. Une autre fraction des cendres, appelées cendres volantes (*fly ash* en anglais) contenant des métaux volatils et d'autres éléments est entraînée dans les gaz d'évacuation. Le mécanisme de formation des cendres est présenté avec la Figure 1.14

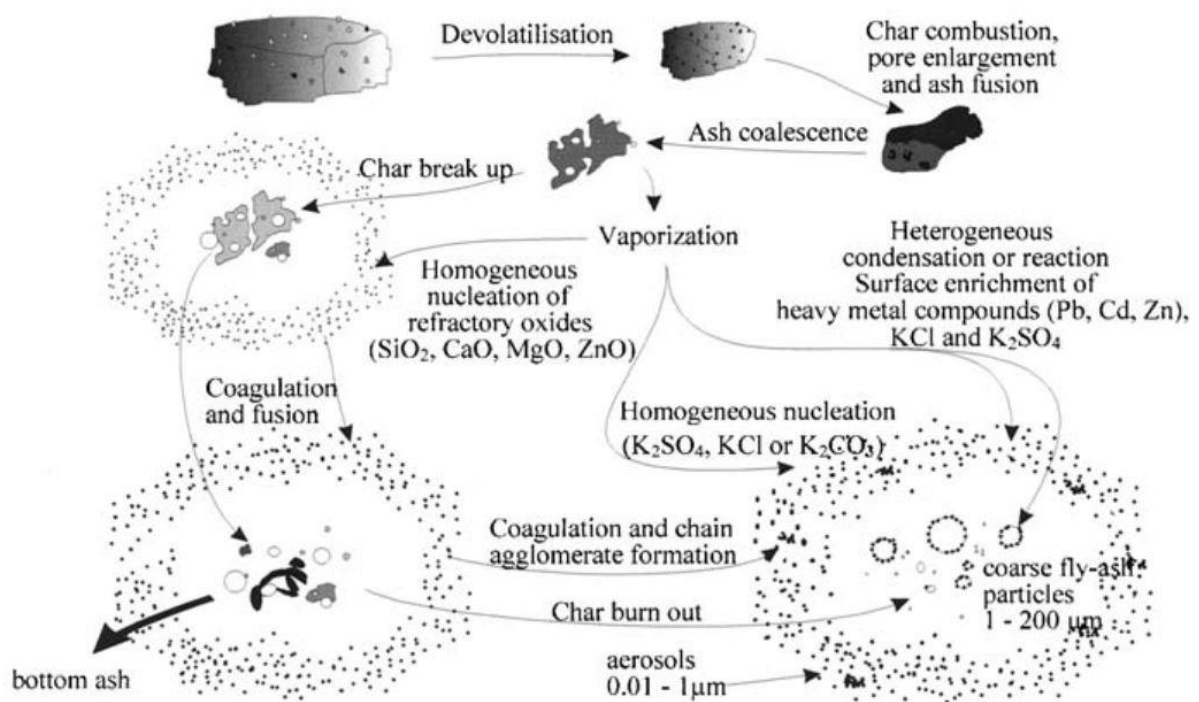


Figure 1.14: Mécanisme de formation des cendres lors de la combustion, repris de l'article d'Obernberger Ingwald *et al.* [43]

Après l'émission de combustibles volatils lors de l'étape de dévolatilisation de la biomasse, la combustion du charbon commence. Lors de la combustion du charbon, les composés inorganiques sont en partie vaporisés et la fraction non vaporisée coagule et fond pour former les cendres résiduelles. D'autres réactions de nucléation, de coagulation et d'agglomération ont ensuite lieu, formant ainsi des cendres volantes et aérosols.

1.3.2.2 La pyrolyse

La pyrolyse implique le chauffage rapide de la biomasse en absence d'air ou d'oxygène à une température maximum, la température de pyrolyse, avec un temps de résidence spécifique afin de produire des gaz non condensables, du charbon solide et des produits liquides. Comme montré par la Figure 1.15, le produit initial de la pyrolyse est fait de gaz condensables (goudron ou *tar*) et de charbon solide. Ces *tars* sont ensuite susceptibles de se casser, par des réactions en phase gaz et de réactions solide-gaz, en liquides, solides et gaz non condensables.

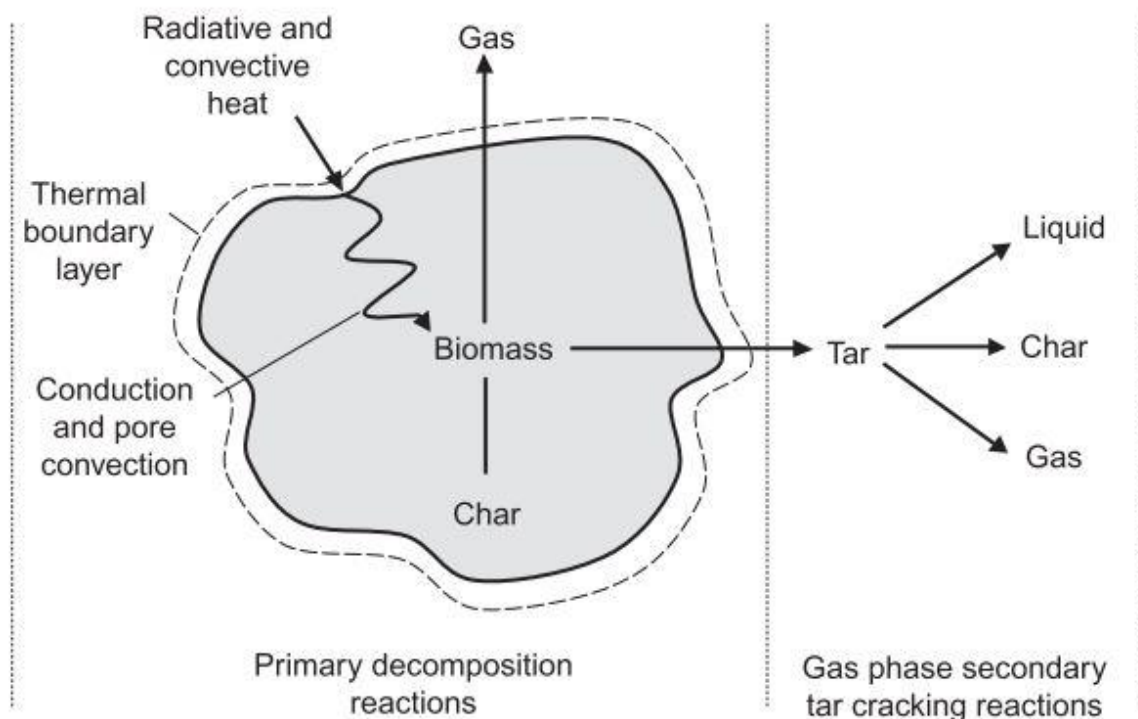


Figure 1.15: Procédé de pyrolyse dans une particule de biomasse, repris du livre de Prabir Basu [18].

Les quantités des produits issus de la pyrolyse de la biomasse varient en fonction de différents facteurs dont la vitesse de chauffage et la température maximale atteinte par la biomasse. Le produit liquide obtenu, appelé bio huile, est un mélange complexe avec une grande diversité de familles chimiques contenant une grande proportion d'atomes d'oxygène [44, 45]. En effet, les bio-huiles contiennent des esters, des alcools, des cétones, des aldéhydes, des sucres, des furanes, des phénols... obtenus principalement par la dépolymérisation de la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Les bio-huiles brutes peuvent ensuite être améliorées afin d'être utilisées en remplacement du gasoil ou de l'essence issus du fossile. Différents procédés existent comme l'hydrogénation, l'augmentation à l'aide de zéolithes et le vaporeformage [46]. Enfin, les composés d'intérêt issus des bio-huiles peuvent être récupérés par extraction. Les produits gazeux de la pyrolyse contiennent entre autres du méthane, du monoxyde de carbone et du dioxyde de carbone [47]. Le charbon obtenu par la pyrolyse contient des fractions variables de composés inorganiques, de solide non converti et de résidus carbonés. Ce charbon obtenu peut être utilisé dans des systèmes de combustion afin de produire de la chaleur ou ajouté dans le sol pour des applications en agriculture [48].

La composition et la proportion des gaz, liquides et solides produits lors de la pyrolyse varient en fonction du type de pyrolyse, différencié par le temps de résidence et la vitesse de chauffe [49]. Les principaux types de pyrolyses sont la carbonisation, pyrolyse lente (ou conventionnelle), la pyrolyse rapide et la pyrolyse flash.

La carbonisation est un processus de pyrolyse très lent à des températures autour de 400°C donnant principalement du charbon. Les produits de pyrolyse conventionnelle contiennent des gaz, solides et liquides. La biomasse est chauffée à une température modérée (environ 600°C) avec une vitesse de chauffe elle aussi modérée. Le temps de résidence dans le cadre de la pyrolyse conventionnelle est de l'ordre de la minute.

Le but de la pyrolyse rapide est de maximiser la production de bio-huiles par l'utilisation de hautes vitesses de chauffage, en comparaison de la pyrolyse traditionnelle. Quatre principales spécificités sont observées lors de la pyrolyse rapide [50]. L'utilisation d'une haute vitesse de chauffe nécessite d'utiliser de la biomasse finement broyée. De plus, une température de pyrolyse contrôlée est utilisée (entre 425°C et 500°C) et le temps de résidence est très faible (inférieur à 2 secondes). Enfin, les vapeurs de pyrolyse sont recondensées pour obtenir des bio-huiles.

La pyrolyse flash est réalisée avec des températures jusqu'à 650°C avec un temps de résidence inférieur à une seconde. Les vapeurs sont ensuite condensées formant ainsi des bio-huiles. Ce type de pyrolyse permet de minimiser la production de charbon tout en maximisant la production de bio-huiles [51].

De nombreux systèmes de pyrolyse existent de la même manière que pour la combustion. On retrouve de la même manière que pour les systèmes de combustion, des procédés à lit fixe ou à lit fluidisé, ainsi que d'autres types de procédés comme des réacteurs à cône rotatif ou des réacteurs de pyrolyse sous vide. Dans le cas d'un réacteur à lit fixe, la biomasse introduite dans le réacteur peut être pyrolysée par une source externe comme un four. L'absence d'oxygène est garantie par l'ajout d'un flux de gaz inerte à travers le réacteur (azote). Les gaz condensables obtenus par la pyrolyse sont évacués au-dessus du réacteur et peuvent être recondensés par la suite afin d'obtenir des bio-huiles [52].

Dans le cas d'un réacteur à lit fluidisé, la biomasse introduite est mélangée avec un matériau inerte (sable) et mise en suspension à l'aide d'un flux de gaz, inerte lui aussi (azote). Le réacteur est ensuite chauffé pour pyrolyser la biomasse puis, les particules sortant du réacteur sont collectées dans un cyclone et les gaz de pyrolyse sont condensés pour obtenir des bio-huiles [53].

Les produits de pyrolyse de la biomasse obtenus par ces procédés peuvent être directement utilisés pour la production d'énergie ou raffinés afin d'obtenir des composés chimiques ou des carburants pouvant remplacer en partie les énergies fossiles.

1.3.2.3 Torréfaction

La torréfaction est un procédé de pré-traitement thermique avec des températures entre 200 et 300 °C dans une atmosphère limitée en oxygène voire inerte. L'utilisation de cette température maximale de 300°C permet de dégrader en partie certains constituants de la biomasse tout en maximisant le rendement massique et énergétique du produit solide. En effet, la torréfaction améliore la densité énergétique, améliore l'ignition dû à la faible teneur en humidité du matériau, améliore le ratio carbone sur oxygène et carbone sur hydrogène (C/O et C/H)... [54]. Ces modifications permettent entre autres d'améliorer les performances de combustion pour la production d'énergie. L'utilisation de températures supérieures à 300°C conduit à la dégradation d'une grande partie de la lignine et de la cellulose produisant la formation de *tar*. La vitesse de chauffe dans le cas de la torréfaction est lente afin de permettre de maximiser la production de solide.

Le mécanisme de la torréfaction peut être divisé en cinq étapes [18]. La première étape entre 50 et 120 °C engendre le séchage non réactif de la biomasse c'est-à-dire, l'élimination de l'humidité du matériau sans modification de sa structure. La biomasse rétrécit mais ce changement est réversible si de l'eau est ajoutée. La seconde étape entre 120 et 150 °C correspond au domaine de transition vitreuse de la lignine, provoquant ainsi son ramollissement. La troisième étape entre 150 et 200 °C correspond au séchage réactif résultant d'une déformation structurale irréversible. Cette étape initie la rupture des liaisons hydrogènes carbone ainsi que la dépolymérisation de l'hémicellulose. Ces réactions produisent des polymères à courtes chaînes se condensant en structures solides. Les deux dernières étapes entre 200 et 250 °C et entre 250 et 300 °C constituent la zone de torréfaction pour l'hémicellulose. La partie basse de la torréfaction est caractérisée par la pyrolyse et la carbonisation limitée du solide obtenu lors de l'étape précédente, formant de liquides condensables et des gaz non condensables. La décomposition de l'hémicellulose se poursuit lors de la dernière étape de la torréfaction par la production de composés volatils et solides.

Les produits obtenus lors de la torréfaction sont gazeux, liquides et solides. La fraction gazeuse comprend principalement des oxides de carbone et du méthane. La fraction liquide est constituée d'eau, de lipides et de composés organiques. Enfin, la fraction solide est principalement constituée de charbon avec des sucres et des composés inorganiques (cendres).

De nombreux réacteurs de torréfaction existent de la même manière que pour les procédés thermochimiques présentés précédemment. Il est possible de retrouver des réacteurs à lit fixe, réacteurs à lit fluidisé, réacteurs micro-ondes et réacteurs rotatifs [55].

1.4 Méthodes analytiques pour la caractérisation de la biomasse et des produits de combustion.

La conversion de la biomasse permet d'obtenir des composés valorisables énergiquement et chimiquement. Cependant, pour optimiser ces procédés de conversion et pour limiter l'impact environnemental de leur utilisation, il est nécessaire de développer des méthodes analytiques permettant la caractérisation de la matière première ainsi que des produits convertis.

Dans cette section, les méthodes de caractérisation de la biomasse lignocellulosique et des produits de combustion seront présentés.

1.4.1 Analyse élémentaire (Ultimate analysis)

L'analyse élémentaire permet de donner la composition de la biomasse en pourcentage de carbone, hydrogène, de l'azote mais aussi de l'oxygène et du soufre. Des méthodes standards comme la NF EN ISO 18122 (pourcentage en C, H et N) existent pour la caractérisation de ces éléments. Dans le cadre de cette méthode standard, cette technique met en œuvre la combustion d'une masse connue de biomasse dans un mélange d'oxygène et/ou de gaz vecteur, donnant ainsi des produits gazeux et des cendres. Ces composés sont principalement du CO₂, de la vapeur d'eau, de l'azote élémentaire et des oxydes d'azote, des oxydes de soufre et des halogénures d'hydrogène. Les produits obtenus sont ensuite traités afin de déterminer quantitativement la teneur en carbone, azote et hydrogène.

L'analyse élémentaire peut être réalisée de manière automatisée par l'utilisation d'appareils CHNS-(O). Dans le cadre de ces appareils, les teneurs en C, H, N et S sont obtenues de manière simultanée par combustion tandis que l'élément O est déterminé ultérieurement par pyrolyse (Figure 1.16).

Dans la configuration CHNS, l'échantillon solide est broyé au préalable et pesé dans une capsule en étain. Cette capsule contenant l'échantillon est ensuite introduite dans le réacteur de combustion à 1000 °C alimenté en oxygène en tant qu'oxydant et en hélium en tant que gaz vecteur. Ainsi, la capsule et l'échantillon fondent créant une réaction violente de combustion flash. La combustion produit du CO₂, SO₂ et NO₂ passant à travers un catalyseur oxydant, le trioxyde de tungstène (WO₃) puis un réducteur composé de cuivre, le tout à une température de 1000 °C. A cette température, le NO₂ est réduit en N₂. Enfin, le N₂, le CO₂ et le SO₂ sont transportés par de l'hélium et séparés par l'utilisation d'une colonne de chromatographie en phase gazeuse puis quantifiés avec un détecteur à thermoconduction (TCD).

Pour la détermination d'oxygène, l'échantillon est pesé dans un creuset en argent puis introduit dans un réacteur de pyrolyse. Ce réacteur est maintenu à 1060 °C et contient du carbone recouvert de nickel. L'oxygène présent dans l'échantillon forme du monoxyde de carbone séparé de manière chromatographique puis quantifié par TCD. Dans le cas d'un appareil CHNS sans deuxième réacteur pour la détermination de la teneur en oxygène, le pourcentage d'oxygène est déterminé par différence.

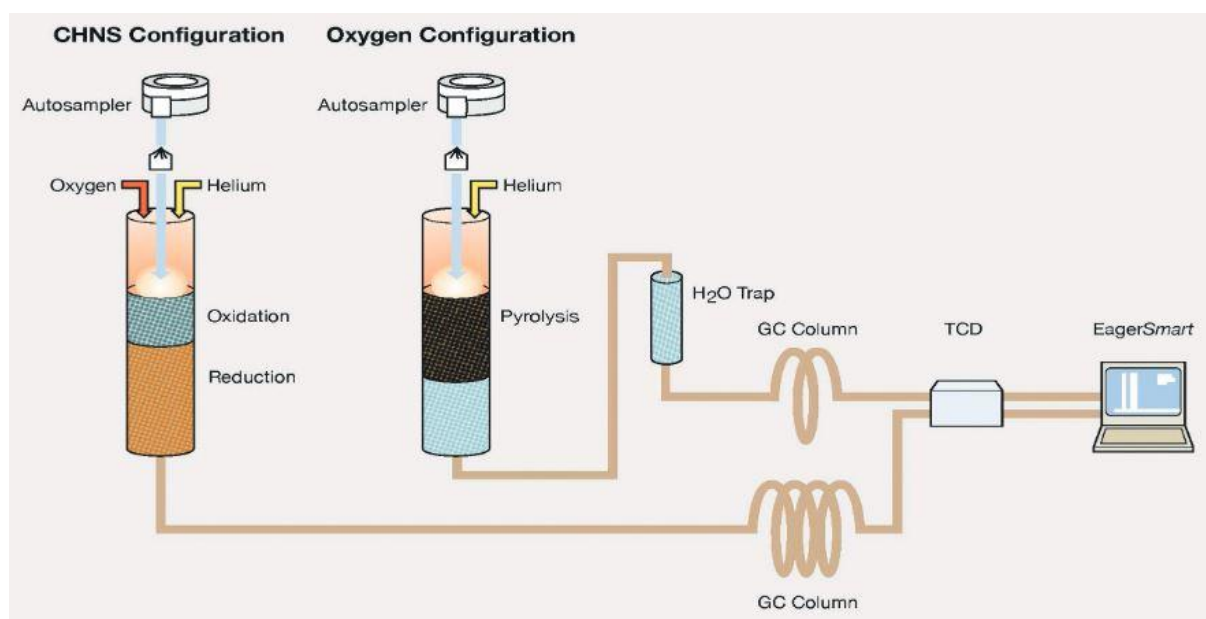


Figure 1.16: Système d'analyse élémentaire CHNS-(O), repris d'une note d'application ThermoFischer scientific [56].

Dans le cadre de la biomasse lignocellulosique, l'analyse élémentaire couplée à d'autres techniques présentées dans la suite de ce chapitre permettent une première comparaison de différents types de biomasse et ont été utilisées dans de nombreuses études [57-59]. L'analyse élémentaire peut aussi être utilisée pour la prédiction de la capacité calorifique haute (HHV) de biomasses [60-62]. L'HHV correspond à la quantité de chaleur générée par unité de masse ou de volume du carburant utilisé.

1.4.2 Analyse immédiate (Proximate analysis)

L'analyse immédiate d'un carburant permet de fournir le pourcentage en masse en humidité, matières volatiles, carbone fixé et cendres lors de sa dégradation thermique. Ces analyses sont basées sur la différence de masse entre la biomasse avant et après différentes étapes de traitement thermique.

La teneur en humidité déterminée avec la méthode NF EN ISO 18134-3 repose sur la perte de masse de la biomasse après séchage à 105 °C. En effet, la masse de l'échantillon est mesurée au cours du séchage de la biomasse jusqu'à atteindre une masse stable. La différence entre la biomasse initiale et séchée permet de déterminer la teneur en humidité de l'échantillon étudié. L'intérêt d'utiliser une température de 105°C est de pouvoir éliminer l'humidité sans dégradation des constituants de la biomasse (cellulose, hémicellulose et lignine).

La teneur en matières volatiles déterminée avec la méthode NF EN ISO 18123 s'appuie sur la perte de masse de la biomasse après chauffage à 900°C pendant sept minutes dans une atmosphère limitée en oxygène. En effet, la masse de l'échantillon est mesurée après cette étape de chauffage et comparée avec la masse de l'échantillon initial, après déduction de la perte de masse liée à l'humidité. La comparaison entre la masse finale et initiale permet de déterminer la teneur en composés volatils.

La teneur en cendres déterminée avec la méthode NF EN ISO 18122 utilise la perte de masse de l'échantillon après sa calcination à une température de 550 °C dans des conditions contrôlées avec un renouvellement régulier en oxygène. La masse initiale et la masse finale sont ensuite comparées afin de déterminer la teneur en cendres.

La teneur en carbone fixé, est la proportion de carbone restant après déduction des composés volatils et des cendres. Elle est calculée par différence entre la masse totale de l'échantillon et la masse d'eau, de matière volatile et de cendres.

Dans le cadre des études sur la biomasse lignocellulosique, les informations obtenues à partir de l'analyse immédiate permettent d'adapter les procédés de prétraitement et de conversion de la biomasse. Par exemple, le taux en humidité a un impact sur la qualité de la combustion et la teneur en cendres peut avoir un impact sur la corrosion des systèmes de conversion en fonction des éléments présents dans ces cendres.

1.4.3 Analyse des composés inorganiques et métaux traces dans les cendres.

Comme présenté précédemment, les composés inorganiques présents dans les cendres de la biomasse varient en fonction de nombreux paramètres liée à celle-ci. Les sels et oxydes alcalins présents dans la biomasse ont un impact significatif sur les émissions et sur la corrosion lors des procédés de conversion. Il est donc important de déterminer la teneur en métaux traces contenus dans la biomasse.

Il est possible de quantifier les métaux traces contenus dans la biomasse par différentes méthodes dont la spectrométrie à plasma à couplage inductif (ICP), développée dans le chapitre suivant. Pour cela, plusieurs préparations d'échantillons sont possibles. En effet, la biomasse peut être calcinée/brûlée puis digérée dans un mélange d'acides (généralement HCl, HNO₃, HF,...) ou extraite par fractionnement chimique [63]. Les extraits sont ensuite analysés afin de quantifier les oxydes et sels alcalins présents dans la biomasse.

1.4.4 Méthodes d'analyse thermiques

L'analyse thermique est un ensemble de techniques mesurant l'évolution des propriétés physicochimiques d'un matériau en fonction du temps et de la température. Cette technique permet d'étudier les changements d'état d'une substance en fonction de la température. Plusieurs méthodes existent : soit associées à une variation de masse, soit associées à un changement de dimension. Les méthodes les plus utilisées dans le cadre de la caractérisation de la biomasse sont celles associées à une variation de masse dont l'analyse thermogravimétrique (TGA) et l'analyse calorimétrique à balayage différentielle (DSC).

La méthode TGA, ou analyse thermogravimétrique, mesure la masse d'un échantillon en fonction de la température [64]. L'échantillon est chauffé avec une rampe de température, avec une température constante ou avec des programmes de température non linéaires en fonction du type d'informations voulues pour l'échantillon étudié. De plus, l'atmosphère, ayant une influence sur la dégradation thermique du matériau, peut être réactive, oxydante ou inerte. Les résultats des mesures TGA sont présentés sous la forme de courbes où le pourcentage en masse de l'échantillon est indiqué en fonction de la température ou du temps. La dérivée de la courbe TGA, appelée courbe thermogravimétrique différentielle (DTG), peut aussi présentée en fonction de la température ou du temps.

La perte de masse de l'échantillon est représentée sous la forme de ruptures de pentes pour les courbes TGA et sous la forme de pics pour la courbe DTG. Plusieurs types de transformations physicochimiques peuvent causer une modification de la masse, dont :

- l'évaporation de composés volatils, séchage, désorption de gaz... ;
- l'oxydation de métaux dans l'air ou l'oxygène ;
- la décomposition oxydative de composés organiques dans l'air ou l'oxygène ;
- la décomposition thermique dans une atmosphère inerte avec la formation de composés gazeux.

La méthode DSC, ou analyse calorimétrique différentielle à balayage, s'appuie sur l'étude des changements d'énergie entre un échantillon et une référence (air, alumine...) soumis à un chauffage, un refroidissement ou maintenu à une certaine température. Les changements d'énergie observées permettent de quantifier les transitions ayant lieu dans l'échantillon, comme le processus de fonte et de transition vitreuse. La principale propriété mesurée en DSC est le flux de chaleur en fonction de la température et du temps. Ces données sont représentées dans un graphique bidimensionnel avec la température en abscisse et le flux de chaleur en mW (mJ/s). Il est possible de représenter les transitions endothermiques vers le haut ou vers le bas en fonction des paramètres utilisateurs.

Dans le cadre de l'étude de la biomasse, l'ATG et la DSC sont utilisées pour l'étude cinétique de la dégradation thermique de la biomasse lignocellulosique ou des différents constituants la composant (cellulose, hémicellulose et lignine).

Dans le cadre de la cellulose, de nombreuses études ont été effectuées afin de déterminer la température de dégradation thermique de ce matériau sous différentes formes, ainsi que la cinétique chimique de dégradation [65-67].

La Figure 1.17 à partir de l'étude de M.E. Calahorra *et al.* [65] montre une TGA dans le cas de la caractérisation de fractions de cellulose avec différentes masses molaires moyennes en nombre ($\overline{Mn}$). La dégradation de la cellulose à faible $\overline{Mn}$ est observée entre 250 et 350 °C tandis que la cellulose à $\overline{Mn}$ plus élevée est observée entre 300 et 375 °C environ. Dans la même étude, les énergies d'activation ont été comparées entre elles pour différentes formes de cellulose par rapport à des études précédentes.

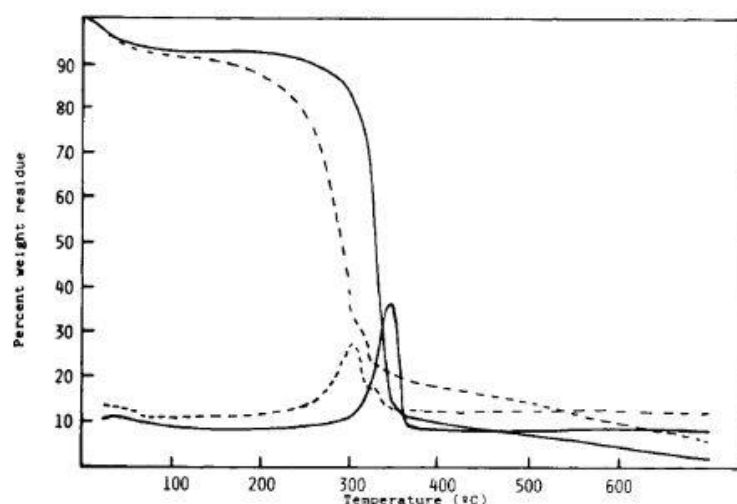


Figure 1.17: Analyse thermogravimétrique de fractions de cellulose avec différentes masses molaires moyennes en nombre, $\overline{Mn}= 201\,000$ (—) et $\overline{Mn}= 66\,000$ (---). Repris de la publication de M.E. Calahorra *et al.* [65]

D'autres suivis thermogravimétriques ont été réalisées pour la caractérisation de la lignine et de l'hémicellulose présentes dans la biomasse [68, 69].

Les analyses thermiques ont de plus été utilisées en tant que méthode de caractérisation de la teneur en humidité, composés volatils, carbone fixé et cendres (Figure 1.18) [70-72].

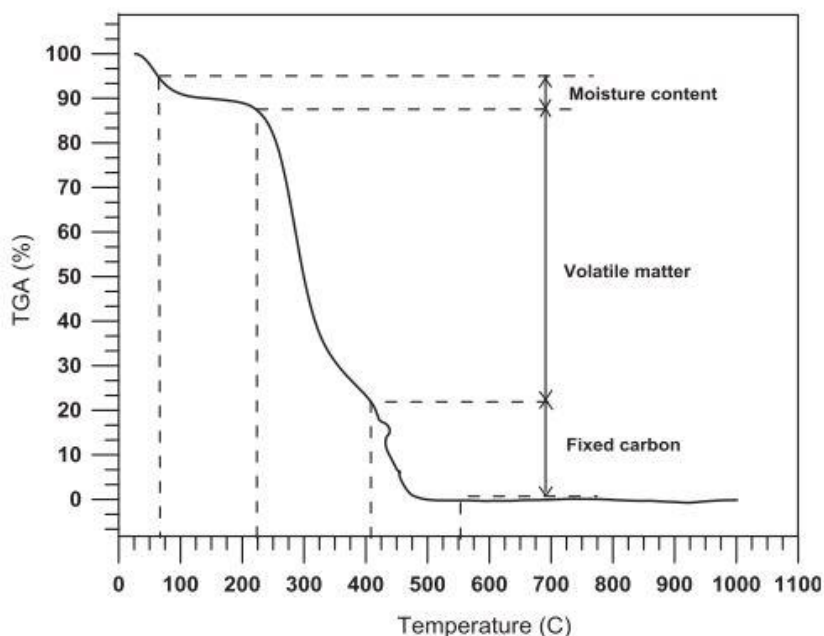


Figure 1.18: Analyse immédiate de tiges de coton par TGA, repris de la publication de Saad A. El-Sayed et M.E. Mostafa [72]

En effet, les régions de déshydratation, de pyrolyse et de la dégradation du charbon sont observées dans cette figure. Sachant que la TGA est basée sur la perte de masse en pourcentage, il est possible de déterminer la teneur de ces phases, en incluant les cendres par différences avec les autres phases.

Enfin, les techniques d'analyses thermiques peuvent être couplées à d'autres méthodes analytiques afin d'obtenir des informations sur les composés produits lors de dégradation de la biomasse. La spectroscopie infrarouge est une de ces techniques avec la spectrométrie de masse, généralement couplée à la chromatographie en phase gazeuse.

1.4.5 Caractérisation de la biomasse par méthodes chromatographiques, spectrométrie de masse et RMN

Les méthodes analytiques de la biomasse présentées dans les sections précédentes donnent des informations globales sur la teneur en élément, en humidité, matières volatiles, carbone fixé et cendres de la biomasse ainsi que sur les températures de dégradation. Cependant, ces méthodes ne permettent pas d'avoir des informations exhaustives sur les constituants de la biomasse et leurs produits de dégradation. C'est pour cela que des méthodes séparatives sont utilisées comme la chromatographie en phase gazeuse ou liquide mais aussi la spectrométrie de masse.

1.4.5.1 Préparation d'échantillon

L'analyse de la biomasse par méthodes chromatographiques et spectrométrie de masse nécessite des préparations d'échantillons spécifique. En effet, les constituants de la biomasse peuvent être extraits de manière chimique, biochimique par l'action d'enzymes et de manière thermochimique.

L'extraction chimique de la biomasse lignocellulosique peut être utilisée pour récupérer la lignine, la cellulose, l'hémicellulose et les extractibles comme les terpènes et les stéroïdes. Le fractionnement de la biomasse peut cependant être difficile, surtout pour séparer la lignine de l'hémicellulose. L'extraction de la biomasse nécessite un prétraitement, généralement mécanique par l'utilisation d'un broyeur à bille. D'autres techniques peuvent être utilisées comme le traitement à la vapeur permettant d'extraire l'hémicellulose [73].

Une fois conditionnée, la biomasse peut être traitée une première fois afin de récupérer tous les extractibles. Plusieurs solvants de polarité différente comme le toluène, le méthanol, l'éthanol et l'eau peuvent être utilisés avec un procédé d'extraction par Soxhlet [74]. Différents procédés peuvent ensuite être utilisés pour isoler la lignine et la cellulose de la biomasse sans extractibles [75]. Le procédé d'extraction développé par Björkman [76, 77] est le plus connu pour l'isolation de la lignine dans le bois. Dans celui-ci, après préparation de la biomasse dans le toluène et broyage, la biomasse est ajoutée à un mélange de dioxane et d'eau (96/4 v/v) et mélangée pendant 24h à température ambiante sous flux d'azote. Le mélange biomasse avec la solution de dioxane et eau est ensuite centrifugé et la partie soluble, constituant la lignine de bois broyée (*milled wood lignin* en anglais) est récupérée. Le résidu obtenu lors du procédé Björkman peut aussi être traité afin de récupérer un complexe sucre lignine pouvant être fractionné par la suite. Le *Kraft pulping* est un autre procédé de séparation utilisé dans l'industrie du papier, permettant de séparer la cellulose de la lignine et l'hémicellulose. Cette méthode implique le chauffage de bois broyé dans une solution aqueuse de soude (NaOH) et de sulfure de sodium (Na₂S) [78]. Dans le cadre de cette méthode, la structure de la lignine est fracturée puis dissoute par l'utilisation de ces solvants.

La *milled wood lignin* peut ensuite être traitée afin de la purifier avant son analyse ou de la dégrader afin d'étudier les types de liaisons observées au sein de la lignine [79, 80]. En effet, des méthodes comme la thioacidolyse, l'acidolyse ou l'hydrogénolyse peuvent être utilisées pour lyser la lignine et ainsi étudier ses liaisons inter monomères.

Les procédés utilisés pour la caractérisation de la biomasse par voie enzymatique sont similaires aux procédés de valorisation biochimique. En effet, un prétraitement est effectué de manière mécanique ou chimique (attaque acide, basique ou *steam explosion*).

Ensuite plusieurs enzymes produites principalement par des champignons peuvent être utilisées pour décomposer les constituants de la biomasse (cellulose, hémicellulose et lignine).

Dans le cadre de la lignine, deux classes principales d'enzymes sont utilisées : les enzymes de modification de la lignine (*lignin modifying enzymes*) et les enzymes de dégradation auxiliaire de la lignine (*lignin-degrading auxiliary enzymes*) [81]. Plusieurs groupes d'enzymes peuvent être observées au sein de ces classes comme les peroxydases et les phénols oxydases (laccases) appartenant au groupe des *lignin modifying enzymes* (Figure 1.19).

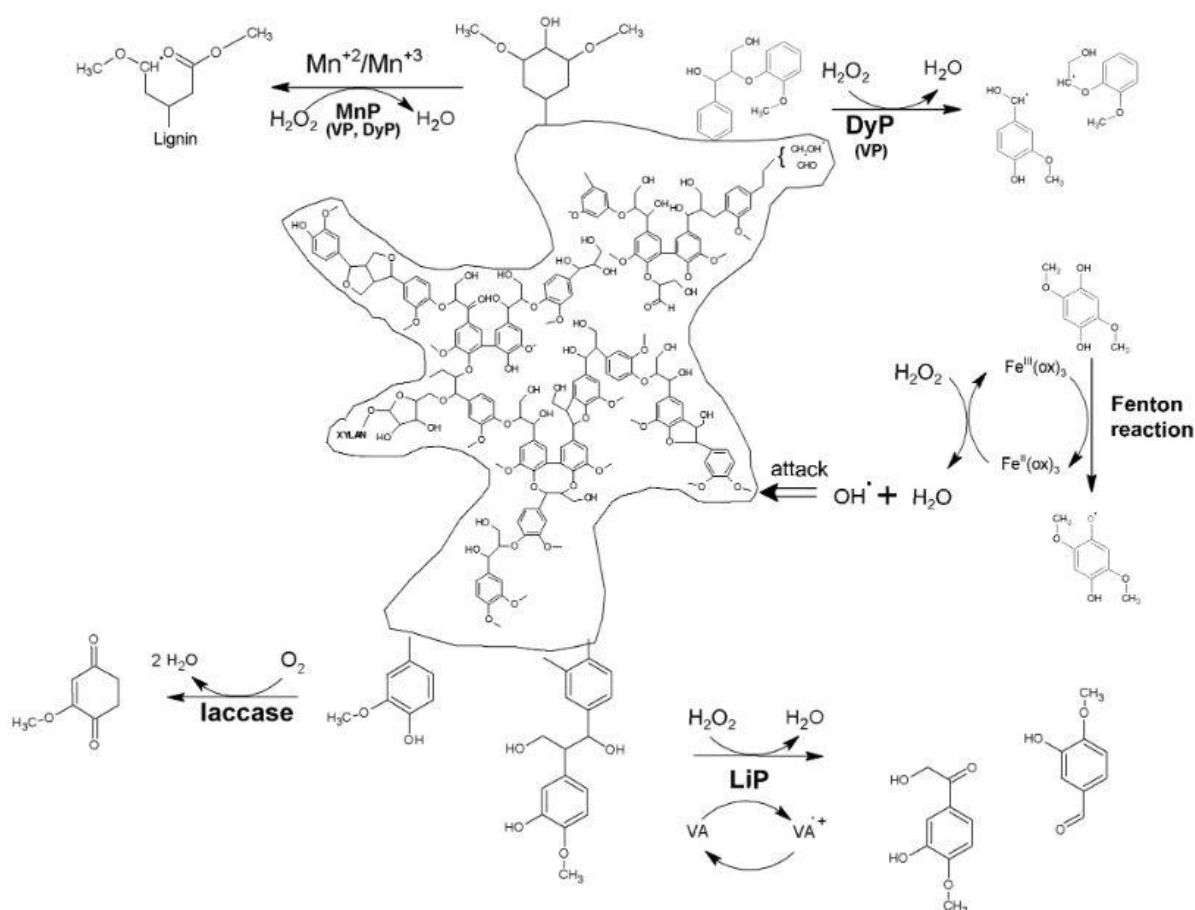


Figure 1.19: Comparaison de la dégradation de la lignine par peroxydase et laccase, repris de la publication de Grzegorz Janusz *et al.* [81]

Les extraits et lysats des différents constituants obtenus par voie chimique ou biochimique peuvent ainsi être analysés par différentes méthodes.

1.4.5.2 Analyse des extraits et résidus obtenus par traitement chimique et enzymatique

De nombreuses méthodes existent pour la caractérisation des extraits et résidus issus de la biomasse lignocellulosique comme la résonance magnétique nucléaire (RMN), la chromatographie en phase gaz et phase liquide couplée ou non à la spectrométrie de masse....

Dans l'étude de Catherine Lapierre *et al.*, la structure chimique d'échantillons de lignines a été caractérisée par GC-MS après thioacidolyse [79]. Les échantillons analysés sont de la *milled wood lignin* de peuplier (*poplar*), de la lignine obtenue par *steam explosion* de peuplier faux-tremble (*aspen*), ainsi que de la *Kraft lignin* de bouleau. Le réactif de thioacidolyse utilisé dans cette étude est obtenu à partir d'un mélange d'éthérate de BF_3 , d'éthanethiol et de dioxane.

Cette méthode de dépolymérisation de la lignine permettant la rupture des liaisons éther β -O-4 par l'utilisation d'un acide de Lewis fort (éthérate de BF_3) avec un nucléophile doux (éthanethiol). Cette méthode a permis de caractériser une grande proportion de la lignine de bois dur native mais a moins permis de caractériser les lignines avec peu de liaisons β -O-4.

Dans l'étude de José C. del Rio *et al.*, la structure de la lignine de paille de blé a été caractérisée par la combinaison de la chromatographie phase gaz pyrolytique couplée à un spectromètre de masse (Py-GC-MS), avec la RMN 2D puis la dérivatisation suivie par coupure réductrice (DFRC) analysé par GC-MS [82]. Cette étude a été réalisée sur un échantillon de paille par analyse directe et sur des extraits. Les résultats obtenus par ces méthodes montrent que la lignine de la paille de blé est principalement constituée d'unités G avec une quantité de p-coumarates et ferulates associés. Les ferulates sont principalement attachés à des sucres tandis que les p-coumarates sont associés à la lignine. La RMN 2D a permis de montrer que les unités de lignine sont principalement liées par liaison éther β -O-4 suivi par des liaisons phenylcoumarans (β -5) et une faible proportion de résinol (β - β) et d'autres fonctions. Cette même technique a montré que certaines fonctions de la lignine de paille sont acétylées, exclusivement sur le carbone γ des chaînes latérales avec des acétates et p-coumarates. Les analyses DFRC ont indiquées que les acétates vont préférentiellement acyler le γ -OH des unités guaiacyl en comparaison des unités syringyl.

1.4.5.3 Analyse directe de solides par dégradation thermochimique ou laser

Les méthodes d'analyse présentées dans la section 4.5.2 nécessite une préparation d'échantillon spécifique afin de récupérer les extractibles et séparer et/ou dépolymériser les constituants du bois comme la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Or, il existe de nombreuses méthodes d'analyse permettant la caractérisation directe de la biomasse par un système de thermo-désorption/pyrolyse ou de désorption laser suivi d'un système de détection. Le système initialement utilisé pour la caractérisation directe de la biomasse lignocellulosique est la chromatographie phase gaz couplée à un spectromètre de masse ou un détecteur à ionisation de flamme avec unité pyrolytique (Py-GC-MS/FID). Avec cette méthode, l'échantillon est thermo-désorbé par sonde d'insertion directe (DIP) ou par un filament à point de Curie. Ensuite, les molécules générées sont séparées par chromatographie en phase gazeuse et soumises à une ionisation électronique. De nombreuses études ont été réalisées pour la caractérisation de la pyrolyse de la biomasse [83-86].

Dans l'étude de Christensen *et al.*, des échantillons de peuplier, de chêne, de cane de maïs, de pin, de millet et d'un mélange de millet et de pin ont été caractérisés par DIP MS [86]. Le processus de pyrolyse dans la source DIP est effectué à une vitesse de chauffe de 4,2 °C/s jusqu'à atteindre une température maximale de 500°C. Cette technique d'analyse a montré la présence de produits de dégradation de la cellulose comme le 5-hydroxyméthylfurfural ou des produits de dégradation de la lignine comme l'alcool coniferyl, de l'acide vanillique et dimères G-G, G-S et S-S. Dans cette même étude, l'utilisation d'analyse statistique multivariée comme l'analyse par composante principale (PCA) a permis la différenciation des familles de biomasses étudiées. En effet, les bois durs sont premièrement séparés des bois tendres et herbacées. Cette séparation est principalement due à la présence d'alcool synaptylique en grande proportion dans les bois durs. De plus, les bois durs et mous sont bien séparés des herbacées. Les herbacées ayant une teneur en lignine plus faible, l'abondance du 5-hydroxyméthylfurfural et du 5-méthylfurfural obtenu par la dégradation de la cellulose est plus importante. La méthode développée dans l'étude de Christensen *et al.* a donc permis la caractérisation et la différenciation de produits de pyrolyse de la biomasse.

L'analyse directe de la biomasse peut aussi être effectuée par l'utilisation du couplage entre analyse thermique (TGA, DSC...), chromatographie en phase gaz et spectrométrie de masse. Ce couplage a été réalisé dans plusieurs études dont celle de Christopher P. Rüger *et al.* [87]. Le système analytique développé dans cette étude est présenté avec la Figure 1.20. Avec ce système l'échantillon introduit dans une thermobalance est soumis à une température de 50 à 600°C avec une vitesse de chauffage de 10°C/min dans une atmosphère inerte (N₂). Les gaz obtenus lors de la pyrolyse sont entraînés à travers une interface chauffée, une ligne de transfert pour atteindre un four GC chauffé. Dans le cadre de cette étude, les gaz de pyrolyse sont directement envoyés vers une source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) puis les ions sont analysés par spectrométrie de masse à ultra haute résolution (FTICR MS).

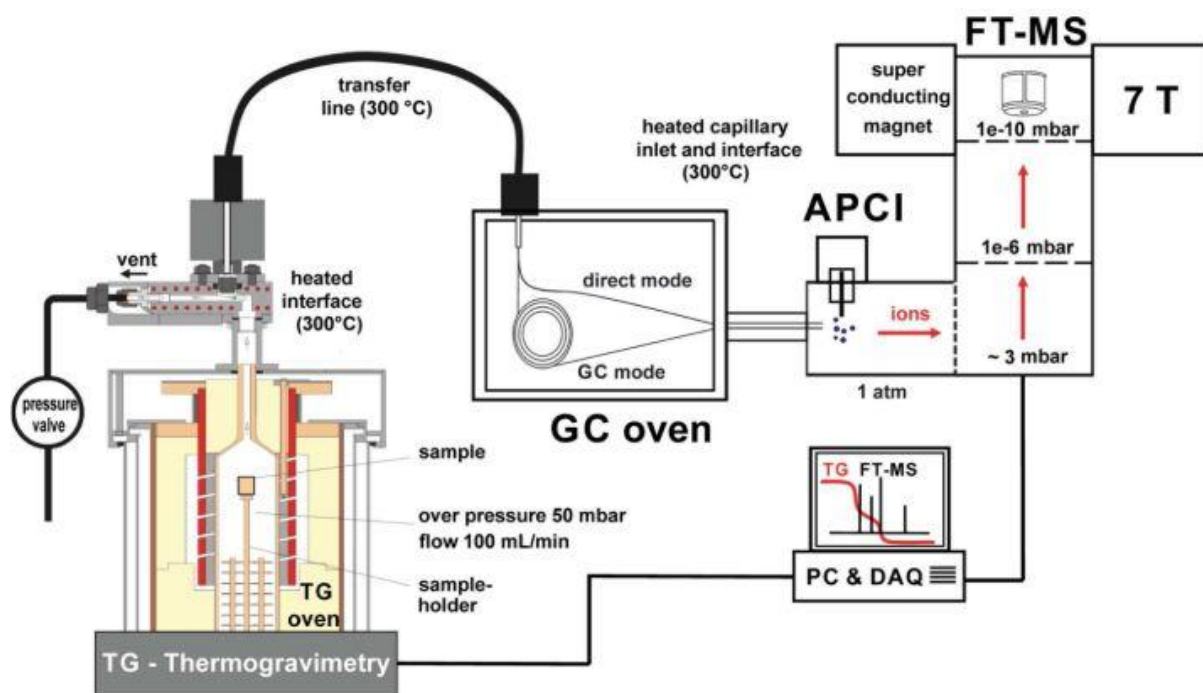


Figure 1.20: Schéma du système analytique de thermo-désorption et pyrolyse utilisé lors de l'étude de Christopher P. Rüger *et al.* [87]. Dans cette étude le système est utilisé en mode « directe » sans GC.

Ce système analytique a permis la caractérisation non ciblée des produits issus de la pyrolyse de la biomasse. En effet, des marqueurs des produits de dégradations de la biomasse ont été trouvés incluant des produits de dégradation de la lignine comme des aldéhydes sinapyliques et coniferyliques ainsi que d'autres composés attribués à une formule brute grâce à la précision de masse et la résolution du FTICR.

Enfin, il est possible d'analyser la biomasse lignocellulosique sans préparation d'échantillon, par d'autres méthodes comme la spectrométrie de masse d'ions secondaires (TOF-SIMS) [88] ou l'ionisation par désorption laser assistée ou non par matrice (LDI ou MALDI).

Le LDI couplé à la spectrométrie de masse FTICR a été utilisée dans une étude de Aubriet *et al.* [89] pour la caractérisation de douglas, de miscanthus et de biochar. L'influence des conditions d'ionisation (longueur d'onde et irradiance du laser) a été étudiée ainsi que la nature de la biomasse analysée. Avec un laser à 355 nm, la surface de l'échantillon de douglas utilisé montre des marques de brûlures pouvant correspondre à la formation de biochar par pyrolyse et ou graphitisation pendant le processus d'interaction entre le bois et le laser. Ce phénomène a aussi été observé à 266 nm pour une irradiance de 3.10^8 W/cm^2 mais n'est pas observé pour une irradiance plus faible pouvant être interprété par le résultat d'un phénomène de désorption UV. Les ions principalement observés contiennent des molécules de carbone, hydrogène et oxygène ($\text{C}_c\text{H}_h\text{O}_o$), sous la forme de radicaux anions et espèces déprotonées $[\text{M}-\text{H}]^-$. A basse irradiance, les ions détectés sont le résultat d'une pyrolyse laser. Lorsque l'irradiance augmente, l'interaction directe du bois avec le laser génère une grande quantité d'ions C_cH_h^- insaturés résultants d'un processus de recombinaison correspondant à un processus de *cross-linking* pendant la pyrolyse. A haute irradiance laser, la température atteinte à l'impact du laser est suffisante pour permettre la formation de composés par dépolymérisation thermique des constituants de la biomasse. Ces composés obtenus ont des structures proches avec ceux observés dans la bio-huile de miscanthus. La technique LDI FTICR MS développée dans l'étude de Aubriet *et al.* permet donc de simuler le phénomène de pyrolyse de la biomasse en d'en caractériser les constituants.

1.4.6 Caractérisation des produits de combustion de la biomasse

La combustion de la biomasse pour la génération d'énergie sous la forme de chaleur ou d'électricité génère des émissions ayant un impact significatif sur l'environnement et sur la santé humaine. Il est donc important d'étudier ces émissions gazeuses et particulaires par différentes méthodes.

1.4.6.1 Système de combustion et prélèvement contrôlé des échantillons

De nombreux systèmes de combustion existent en fonction du type de carburant utilisé, comme présenté dans la section précédente sur la conversion de la biomasse par combustion. Il est possible d'intégrer à ces systèmes de combustion, des analyseurs de gaz électrochimiques ou infrarouges permettant le suivi des émissions gazeuses, ainsi que appareils de prélèvement des particules et des composés volatils. Un exemple d'installation de combustion équipée à un système de prélèvement et analyse de gaz est présenté avec la Figure 1.21, repris à partir de la publication de C. Boman *et al.* [90].

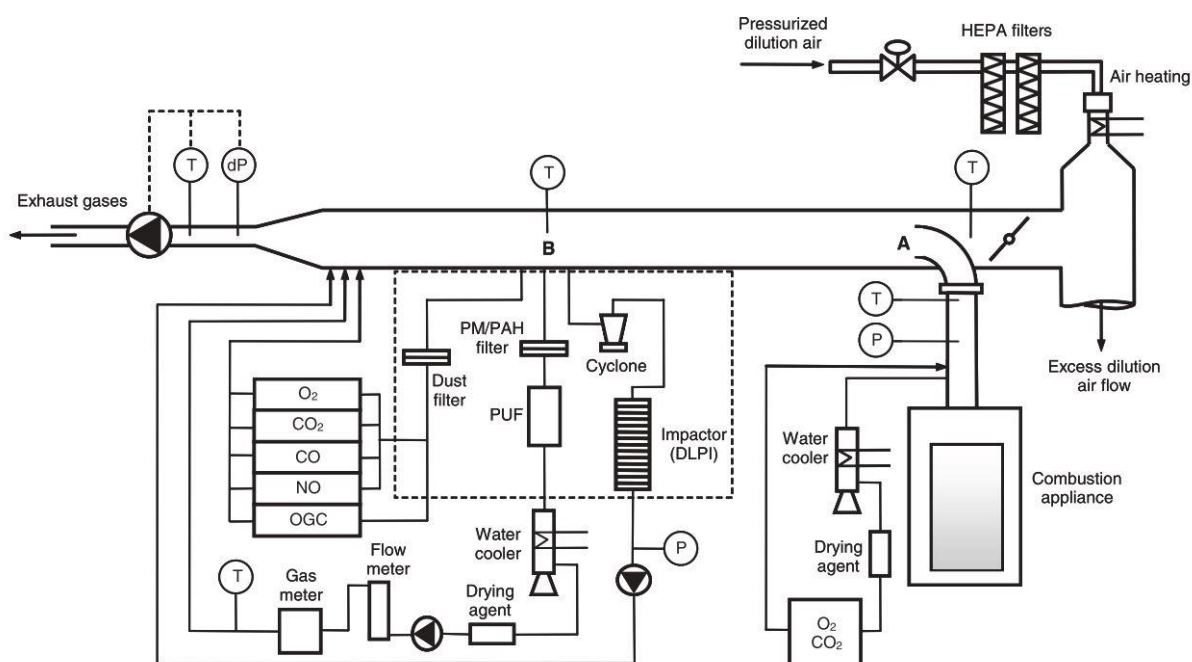


Figure 1.21: Chaudière à granulés équipée d'un système de prélèvement et d'analyse d'émissions issues de la combustion, repris de la publication de C. Boman *et al.* [90]

Le système de combustion est constitué d'un poêle à granulés alimentés avec des granulés de bois tendres (pin et épicéa). Un système de dilution d'air filtré et chauffé est utilisé en sortie de cheminée de combustion. Le mélange entre le gaz résiduel de combustion et le gaz de dilution est effectuée par l'utilisation de plaques triangulaires créant un régime turbulent.

Une partie du mélange de gaz de combustion et de dilution entre dans trois différentes voies. La première voie est utilisée pour l'analyse des gaz (O_2 , du CO, CO_2 , NO et carbone organique gazeux). Dans la deuxième voie, la matière particulaire totale (PM_{tot}) est captée sur un filtre en quartz et les composés semi-volatils sont captés sur une mousse polyuréthane (PUF). Des filtres en Teflon peuvent aussi être utilisés. Les semi-volatils et volatils peuvent être aussi récupérés par l'utilisation d'autres polymères comme le Tenax[®] utilisé pour des expériences de thermo-désorption GC-MS [91]. La troisième voie de prélèvement de la Figure 1.21 permet de déterminer la distribution en masse et taille de la matière particulaire par l'utilisation d'un impacteur à basse pression (LPI) équipé d'un cyclone. L'impacteur permet de séparer les particules en fonction de leur diamètre aérodynamique entre 0.03 et 10 μm . Ces particules de différents diamètres sont récupérées sur des feuilles d'aluminium (substrat) pour être analysées par la suite. A la fin de l'essai de combustion, les cendres résiduelles peuvent être récupérées pour l'analyse des composés inorganiques et métaux lourds.

Après avoir récupéré la matière particulaire ainsi que les volatils et semi-volatils, l'analyse des échantillons peut être réalisée par méthodes directe ou après une préparation d'échantillon.

1.4.6.2 Extraction des échantillons

L'extraction des échantillons obtenus à partir des émissions de la combustion de biomasses est une étape cruciale pour caractériser ces émissions. Les échantillons extraits dans le cadre de systèmes de combustion contrôlés sont généralement les filtres en Quartz ou Teflon utilisés pour le prélever les particules fines, les adsorbants de types Tenax[®] ou PUF pour les volatils, les canister pour l'analyse directe des gaz ainsi que les cendres résiduelles. De nombreuses méthodes d'extractions existent pour chaque échantillon en fonction du type d'analyse réalisé (chromatographie ionique, ICP-MS/OES, GC-MS...).

Extraction des filtres contenant de la matière particulaire

Les composés retrouvés sur les filtres variant en fonction de la qualité de la combustion, sont principalement composés de matière particulaire organique, inorganique et métaux traces.

L'extraction des composés inorganiques présents sur les filtres peut être réalisée avec de l'eau ou du bicarbonate de sodium afin de récupérer les espèces ioniques solubles (K^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , Na^+ ...) [92]. Les extraits ainsi obtenus sont filtrés et analysés par chromatographie ionique.

L'extraction des métaux traces présents sur les filtres peut être réalisée à partir d'une méthode de digestion acide par chauffage micro-ondes [93] ou bain de sable. Les extraits obtenus sont par la suite dilués afin d'être analysés par ICP-MS/OES ou d'autres méthodes comme la spectrophotométrie d'absorption atomique.

L'extraction des HAP et carbone organique sur les filtres peut être réalisée par ultrasons, micro-ondes, liquide pressurisé (ASE), Soxhlet... avec différents solvants et mélanges de solvants comme du dichlorométhane ou du méthanol. Dans le cadre d'analyses quantitatives, les filtres peuvent être dopés avec des composés deutérés ou d'autres marqueurs de natures similaires aux émissions de combustion pour déterminer le recouvrement d'extraction. Les extraits obtenus peuvent ensuite être directement analysés ou dérivatisés pour analyse GC-MS. De plus, ces extraits peuvent être fractionnés par chromatographie sur couche mince (TLC) afin de récupérer certaines familles de molécules. [94].

Extraction des PUF et résine TENAX®

L'extraction des adsorbants contenant des composés volatils et semi-volatils peut être réalisée de manière similaire par rapport aux filtres Teflon et quartz. En effet, les méthodes les plus utilisées sont l'ASE et l'extraction par Soxhlet. Les échantillons peuvent être dopés avant extraction par traceurs deutérés pour la quantification en GC-MS. Les extraits sont dérivatisés lorsque analysés par GC-MS.

1.4.6.3 Analyse des extraits

1.4.6.3.1 Analyse des composés inorganiques

De nombreuses études ont été réalisées pour la caractérisation des ions inorganiques présents dans la biomasse et leurs produits de combustion par leur impact sur l'environnement et sur les systèmes de combustion [95-98].

Dans l'étude de Jacob D. McDonald *et al.*, la chromatographie ionique avec d'autres techniques a été utilisée pour la caractérisation des émissions particulaires et gazeuses lors de la combustion domestique de bois [95]. Les composés inorganiques majoritaires restant à la fin de la combustion sont les ions K^+ , Cl^- et SO_4^{2-} . La proportion en ions potassium est grandement variable entre bois dur et bois tendre, de même que la proportion en chlore, le chlore étant un élément responsable de corrosion électrochimique.

Dans l'étude Lai *et al.*, la chromatographie ionique avec d'autres techniques a été utilisée pour la comparaison des émissions en PM_{2.5} de différents carburants incluant de la biomasse avec différentes technologies de combustion [98]. La composition des PM_{2.5} obtenus lors de ces essais de combustion varie grandement en fonction du carburant et des systèmes de combustion. En effet, la proportion en carbone organique et élémentaire varie de la manière significative entre les systèmes *semi-gasifier* et les systèmes de combustion traditionnels chinois (pour le chauffage et la cuisine), les systèmes *semi-gasifier* générant ainsi peu de carbone organique ce qui est un signe d'une combustion complète.

1.4.6.3.2 Analyse des métaux traces

De nombreuses études ont été réalisées sur l'analyse des métaux émis lors de la combustion de biomasse [99-101] En effet, certains métaux comme le plomb et le zinc sont facilement volatilisés lors de combustions et se retrouvent dans les émissions particulières. Ces métaux ont un impact significatif sur la santé [102]

Dans l'étude de Boman *et al.*, les métaux traces ont été caractérisés pendant la production et la combustion de granulés de bois [101]. En effet, la matière première utilisée pour la production de pellet est séchée par les gaz de combustion d'écorce de bois. Cependant, cette étude montre que ce procédé est susceptible de provoquer un enrichissement des granulés en métaux lourds par la présence de métaux volatilisés dans le gaz de séchage. Ces métaux sont ensuite relargués lors de la combustion ce qui a un impact significatif sur l'environnement et la santé.

Dans l'étude de Zhang *et al.* les facteurs d'émissions de métaux lourds en mg par kg de biomasse brûlée ont été déterminés par spectrophotomètre d'absorption atomique [100]. En effet les facteurs d'émissions pour ces métaux ont été comparés entre la phase particulaire et la phase gazeuse. Cette étude a permis de montrer que l'humidité, la matière volatile et l'efficacité de combustion sont des facteurs importants pour l'émission de métaux.

1.4.6.3.3 Analyse des composés particuliers organiques et des volatils

De nombreuses études ont été effectuées pour l'analyse des aérosols obtenus lors de la combustion de biomasse [94, 103-106] . La méthode d'analyse la plus fréquemment utilisée pour l'analyse d'extraits obtenus à partir de particules fines est la chromatographie en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse.

Dans le cadre de la review de Bernd R.T. Simoneit, la composition chimique des aérosols de combustion incomplète de la biomasse est présentée [94]. Les études présentées dans cette review ont pour objectif d'introduire des marqueurs de la combustion de la biomasse comme par exemple l'acide abiétique pour les conifères, le levoglucosan en tant que produits de dégradation de la cellulose et les méthoxyphénols en tant que produits de dégradation de la lignine. Ces marqueurs ont principalement été déterminés par GC-MS d'extraits de particules fines issues de la combustion de nombreux types de carburants. La composition chimique des aérosols variant avec la composition, il est possible de déterminer des marqueurs spécifiques de certaines espèces de biomasse et d'autres carburants ainsi que de distinguer ces marqueurs du bruit de fond atmosphérique.

Plus récemment, Jianjun Li *et al.* ont comparé les facteurs d'émission de molécules organiques avant et après un processus de vieillissement des aérosols de combustion par l'utilisation d'un réacteur oxydant [103]. Différentes familles de traceurs ont été étudiés par GC-MS comme les sucres, les alcanes linaires, les alcools gras, les acides gras, les HAP et les acides aromatiques. Certains facteurs d'émissions sont stables après vieillissement (sucres anhydres et quelques acides gras) et d'autres ont grandement diminués (alcanes linaires, les alcools gras et les précurseurs HAP). Cette diminution suggère une oxydation de ces molécules formant d'autres composés organiques, montrant ainsi l'impact du vieillissement UV sur la composition des aérosols de combustion de la biomasse.

L'apport de la spectrométrie de masse à ultra haute résolution (FTICR MS) avec sa précision en masse et son pouvoir résolutif permet la caractérisation non ciblée des particules fines issues de la biomasse à travers plusieurs études [107, 108].

Dans l'étude de Jeffrey S. Smith *et al.*, la composition chimique des composés organiques issues de la combustion de la biomasse est caractérisée par *electrospray* FTICR MS. Les matières particulaires ont été prélevées sur impacteur puis extraits par ultrasonication avec du méthanol. L'utilisation de l'*electrospray* a permis la caractérisation non ciblée d'espèces organiques polaires de manière complémentaire à la GC/MS caractérisant quant à elle des composés peu à moyennement polaires. Certains marqueurs habituels de la combustion de la biomasse comme le levoglucosan, l'acide abietique ou le pinosresinol.

1.4.6.4 Analyse directe

1.4.6.4.1 Analyse directe des aérosols par spectrométrie de masse atmosphérique (AMS)

La spectrométrie de masse des aérosols est une technique analytique permettant le suivi en temps réel de la composition chimique des aérosols générés lors de la combustion de la biomasse. Cet appareil est placé après le système de combustion et de dilution des fumées. Plusieurs analyseurs peuvent être analysés, le plus répandu étant le quadripôle AMS. Dans le cadre de l'étude de Peter F. DeCarlo *et al.* [109], un spectromètre de masse des aérosols avec un analyseur à temps de vol est développé. Son fonctionnement est basé sur l'introduction de l'aérosol entraîné dans un système de focalisation, séparé en fonction de la taille des particules en fonction de leur temps de vol, vaporisé à 600 °C, ionisé par ionisation électronique (70 eV) puis détecté avec un analyseur de masse à temps de vol.

Dans l'étude de A.C. Eriksson *et al.*, la caractérisation au cours du temps des HAP et du carbone organique total issus de la combustion de bûches et de granulés de bois a été réalisée avec un AMS avec analyseur à temps de vol [110]. Le poêle à granulés a été utilisé avec deux conditions de combustion : apport d'air optimal ou apport limité en air. Le poêle à bois a été utilisé avec une quantité de carburant optimal ou un excès de carburant. La formation de HAP lors de cette étude est favorisée dans des conditions de combustion limitée en oxygène ou de manière temporaire lors de l'ajout de carburant sur des braises incandescentes. De plus, la fraction d'HAP avec cinq noyaux aromatiques ou plus augmente avec la température.

Dans l'étude de Zhang Xinghua *et al.*, le temps de vol AMS a été utilisé sur un site au nord de l'Himalaya pour la caractérisation chimique des PM₁ dans l'atmosphère issues de la combustion de biomasse du sud de l'Asie vers l'Himalaya [111]. Les PM₁ observés étaient principalement composés organiques, suivi de carbone élémentaire et d'espèces inorganiques (sulfates, ammonium, nitrates et chlorures). Trois facteurs ont été déterminés pour les composés organiques : les composés organiques issues de la combustion de la biomasse, les composés organiques contenant de l'azote et les composés organiques oxygénés oxydés.

1.4.6.4.2 Analyse directe de filtres avec des particules fines

La matière particulaire récupérée sur des filtres (Teflon, quartz...) peut être analysée sans préparation d'échantillon par l'utilisation de diverses méthodes analytiques comme la spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX), la spectrométrie de masse d'ions secondaires (SIMS) et la chromatographie en phase gaz avec unité de thermo-désorption couplée à la spectrométrie de masse (TD-GC-MS).

La spectroscopie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX) est généralement utilisée pour la caractérisation des composés inorganiques présents dans les particules fines issues de la combustion de la biomasse. Ces systèmes sont attachés à des microscopes électroniques (à balayage et à transmission) afin d'étudier la morphologie microscopique des particules. Cette technique est généralement utilisée avec la spectrométrie de masse à ions secondaires (SIMS) permettant la caractérisation des inorganiques présents sur la surface du filtre par bombardement d'ions rapides (Ar^+ entre autres).

Lors de l'étude de Boman *et al.* la matière particulaire issue de la combustion de granulés de biomasse a été prélevée sur des filtres (PM_{tot}) et avec un impacteur (distribution en taille des PM sur des substrats) [112]. La Figure 1.22 montre l'image obtenue par microscopie électronique à balayage des PM présentes sur un filtre à fibre de quartz.

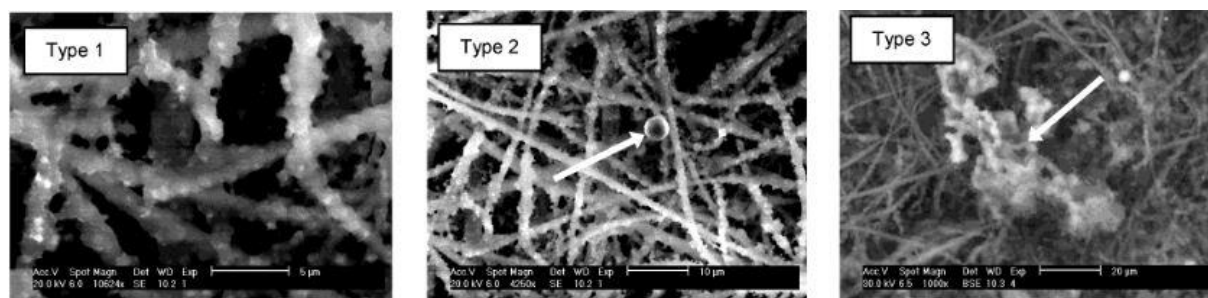


Figure 1.22: Image SEM des PM totaux sur un filtre quartz. Trois types de particules sont observées : les particules/agrégats fins (type 1), les particules sphériques grossières (type 2) et les particules grossières agrégées (type 3). Repris de la publication de Boman *et al.* [112]

La proportion des trois types de particules observées varie en fonction des carburants brûlés. Les analyses élémentaires EDX présentées dans l'étude de Boman *et al.* montrent l'omniprésence de carbone, oxygène ainsi que des éléments présents dans les cendres tels que le potassium, le chlore, le soufre, le sodium et le zinc. Il a été montré que la proportion de ces éléments varie en fonction des biomasses brûlées. Au final, il a été montré que les sels alcalins (majoritairement le chlore et le potassium) constituent une grande proportion en masse des particules fines lors de la combustion de biomasse sous forme de pellets. De plus, la phase inorganique est principalement constituée de KCl avec des proportions variables en $\text{K}_3\text{Na}(\text{SO}_4)_2$ et K_2SO_4 .

La GC-MS avec unité de thermo désorption est une méthode très utilisée pour la caractérisation des composés organiques présents dans les aérosols issus de la combustion. En effet, le principal avantage de cette méthode est l'analyse d'échantillon avec peu ou sans préparation d'échantillon. En effet, la matière particulaire généralement collectée sur des filtres est directement désorbée et/ou pyrolysée puis analysé par GC-MS.

L'étude de Benedikt A. Weggler *et al.* est basée sur l'étude de la composition chimique des aérosols issues de la combustion de buches de bois de différentes espèces (hêtre, épicéa et bouleau) dans un poêle de masse [113]. Les aérosols ont été prélevés sur filtres en quartz, ces filtres étant par la suite dopés avec des standards deutérés et dérivatisés avant d'être introduits dans un système de chromatographie phase gaz bidimensionnelle couplée à un spectromètre de masse à temps de vol (GC×GC-TOF MS). L'utilisation d'outils statistiques ainsi que de bases de données NIST pour la caractérisation des spectres de masse a permis l'identification de composés spécifiques des espèces de bois étudiées. En effet l'analyse par composante principale obtenue dans cette étude montre la séparation des échantillons selon les espèces de bois. De plus, la séparation entre les bois dur et bois tendre est clairement observée. L'étude statistique approfondie de la matière particulaire issue de la combustion de bois a permis d'extraire des marqueurs spécifiques des trois espèces de bois étudiés. De grandes différences ont été observées dans les composés naphthaléniques méthylés et les triterpènes pour les PM de bouleau tandis que les PM d'épicéa montrent des différences au niveau des dérivés du retene et des acides résiniques.

1.5 Références

1. Bar-On, Y.M., R. Phillips, and R. Milo, *The biomass distribution on Earth*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2018. **115**(25): p. 6506.
2. Tursi, A., *A review on biomass: importance, chemistry, classification, and conversion* %J *Biofuel Research Journal*. 2019. **6**(2): p. 962-979.
3. Stöcker, M., *Biofuels and Biomass-To-Liquid Fuels in the Biorefinery: Catalytic Conversion of Lignocellulosic Biomass using Porous Materials*. Angew. Chem. Int. Ed., 2008. **47**(48): p. 9200-9211.
4. Alonso, D.M., J.Q. Bond, and J.A. Dumesic, *Catalytic conversion of biomass to biofuels*. Green Chem., 2010. **12**(9): p. 1493-1513.
5. Pettersen, R.C., *The Chemical Composition of Wood*, in *The Chemistry of Solid Wood*. 1984, American Chemical Society. p. 57-126.
6. Sjöström, E., *Wood chemistry : fundamentals and applications*. 1993.
7. Demirbaş, A., *Calculation of higher heating values of biomass fuels*. Fuel, 1997. **76**(5): p. 431-434.
8. Alonso, D.M., S.G. Wettstein, and J.A. Dumesic, *Bimetallic catalysts for upgrading of biomass to fuels and chemicals*. Chem. Soc. Rev., 2012. **41**(24): p. 8075-8098.
9. Hermans, P.H. and A. Weidinger, *Quantitative X-Ray Investigations on the Crystallinity of Cellulose Fibers. A Background Analysis*. J. Appl. Phys., 1948. **19**(5): p. 491-506.
10. Aspinall, G.O., *Structural Chemistry of the Hemicelluloses*, in *Advances in Carbohydrate Chemistry*, M.L. Wolfrom, Editor. 1959, Academic Press. p. 429-468.
11. Willför, S., et al., *Spruce-derived mannans – A potential raw material for hydrocolloids and novel advanced natural materials*. Carbohydr. Polym., 2008. **72**(2): p. 197-210.
12. Boerjan, W., J. Ralph, and M. Baucher, *Lignin Biosynthesis*. Annu. Rev. Plant Biol., 2003. **54**(1): p. 519-546.
13. Campbell, M.M. and R.R. Sederoff, *Variation in Lignin Content and Composition (Mechanisms of Control and Implications for the Genetic Improvement of Plants)*. Plant Physiology, 1996. **110**(1): p. 3.
14. Ralph, J., C. Lapierre, and W. Boerjan, *Lignin structure and its engineering*. Curr. Opin. Biotechnol., 2019. **56**: p. 240-249.
15. Thy, P., et al., *Inorganic Composition and Environmental Impact of Biomass Feedstock*. Energy Fuels, 2013. **27**(7): p. 3969-3987.
16. Mohd Udayappan, A.F., et al., *A review of the potentials, challenges and current status of microalgae biomass applications in industrial wastewater treatment*. J. Water Proc. engineering, 2017. **20**: p. 8-21.
17. Lesmana, S.O., et al., *Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater*. Biochem. Eng. J., 2009. **44**(1): p. 19-41.
18. Basu, P., *Biomass gasification, pyrolysis and torrefaction: practical design and theory*. 2018: Academic press.
19. Khan, A.A., et al., *Biomass combustion in fluidized bed boilers: Potential problems and remedies*. Fuel Process. Technol., 2009. **90**(1): p. 21-50.
20. Jugwanth, Y., Y. Sewsynker-Sukai, and E.B. Gueguim Kana, *Valorization of sugarcane bagasse for bioethanol production through simultaneous saccharification and fermentation: Optimization and kinetic studies*. Fuel, 2020. **262**: p. 116552.
21. Demirbas, A., *Biodiesel production from vegetable oils via catalytic and non-catalytic supercritical methanol transesterification methods*. Prog. Energy Combust. Sci., 2005. **31**(5): p. 466-487.
22. Brennan, L. and P. Owende, *Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. Renew. Sust. Energ. Rev., 2010. **14**(2): p. 557-577.
23. Isikgor, F.H. and C.R. Becer, *Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers*. Polym. Chem, 2015. **6**(25): p. 4497-4559.
24. Pace, V., et al., *2-Methyltetrahydrofuran (2-MeTHF): A Biomass-Derived Solvent with Broad Application in Organic Chemistry*. 2012. **5**(8): p. 1369-1379.
25. Spath, P.L. and D.C. Dayton, *Preliminary Screening -- Technical and Economic Assessment of Synthesis Gas to Fuels and Chemicals with Emphasis on the Potential for Biomass-Derived Syngas*. 2003: United States.
26. Brethauer, S. and M.H. Studer, *Biochemical Conversion Processes of Lignocellulosic Biomass to Fuels and Chemicals – A Review*. CHIMIA International Journal for Chemistry, 2015. **69**(10): p. 572-581.
27. Agbor, V.B., et al., *Biomass pretreatment: Fundamentals toward application*. Biotechnol. Adv., 2011. **29**(6): p. 675-685.
28. Schultz, T.P., C.J. Biermann, and G.D. McGinnis, *Steam explosion of mixed hardwood chips as a biomass pretreatment*. Ind. Eng. Chem. Res., 1983. **22**(2): p. 344-348.

29. Lloyd, T.A. and C.E. Wyman, *Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids*. Bioresour. Technol., 2005. **96**(18): p. 1967-1977.
30. Lau, M.W. and B.E. Dale, *Cellulosic ethanol production from AFEX-treated corn stover using Saccharomyces cerevisiae 424A(LNH-ST)*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009. **106**(5): p. 1368.
31. Adsul, M.G., et al., *Development of biocatalysts for production of commodity chemicals from lignocellulosic biomass*. Bioresour. Technol., 2011. **102**(6): p. 4304-4312.
32. Shafizadeh, F., *The Chemistry of Pyrolysis and Combustion*, in *The Chemistry of Solid Wood*. 1984, American Chemical Society. p. 489-529.
33. Nussbaumer, T., *Combustion and Co-combustion of Biomass: Fundamentals, Technologies, and Primary Measures for Emission Reduction*. Energy Fuels, 2003. **17**(6): p. 1510-1521.
34. Khodaei, H., et al., *An overview of processes and considerations in the modelling of fixed-bed biomass combustion*. Energy, 2015. **88**: p. 946-972.
35. *Biomass Combustion*, in *Thermochemical Processing of Biomass*. 2019. p. 49-83.
36. Sigsgaard, T., et al., *Health impacts of anthropogenic biomass burning in the developed world*. 2015. **46**(6): p. 1577-1588.
37. Obaidullah, M., S. Bram, and J. Ruyck, *An Overview of PM Formation Mechanisms from Residential Biomass Combustion and Instruments Using in PM Measurements*. 2018. **12**: p. 50.
38. Frenklach, M., *Reaction mechanism of soot formation in flames*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2002. **4**(11): p. 2028-2037.
39. Fitzpatrick, E.M., et al., *Mechanistic Aspects of Soot Formation from the Combustion of Pine Wood*. Energy Fuels, 2008. **22**(6): p. 3771-3778.
40. Ciccio, P., et al., *DETERMINATION OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS (VOC) EMITTED FROM BIOMASS BURNING OF MEDITERRANEAN VEGETATION SPECIES BY GC-MS*. Anal. Lett., 2001. **34**(6): p. 937-955.
41. Bertrand, A.L., *Viellissement atmosphérique de l'aérosol de combustion de biomasse : du potentiel de formation d'aérosol organique secondaire à la modification de l'empreinte chimique à l'échelle moléculaire*. 2017.
42. Kroll, J.H. and J.H. Seinfeld, *Chemistry of secondary organic aerosol: Formation and evolution of low-volatility organics in the atmosphere*. Atmos. Environ., 2008. **42**(16): p. 3593-3624.
43. Obernberger, I., T. Brunner, and G. Bärnthaler, *Chemical properties of solid biofuels—significance and impact*. Biomass Bioenergy, 2006. **30**(11): p. 973-982.
44. Milne, T., et al., *A Review of the Chemical Composition of Fast-Pyrolysis Oils from Biomass*, in *Developments in Thermochemical Biomass Conversion: Volume 1 / Volume 2*, A.V. Bridgwater and D.G.B. Boocock, Editors. 1997, Springer Netherlands: Dordrecht. p. 409-424.
45. Branca, C., P. Giudicianni, and C. Di Blasi, *GC/MS Characterization of Liquids Generated from Low-Temperature Pyrolysis of Wood*. Ind. Eng. Chem. Res., 2003. **42**(14): p. 3190-3202.
46. Huber, G.W., S. Iborra, and A. Corma, *Synthesis of Transportation Fuels from Biomass: Chemistry, Catalysts, and Engineering*. Chem. Rev., 2006. **106**(9): p. 4044-4098.
47. Park, Y.-K., et al., *Wild reed of Suncheon Bay: Potential bio-energy source*. Renew. Energy, 2012. **42**: p. 168-172.
48. Mollinedo, J., T.E. Schumacher, and R. Chintala, *Influence of feedstocks and pyrolysis on biochar's capacity to modify soil water retention characteristics*. J. Anal. Appl. Pyrolysis, 2015. **114**: p. 100-108.
49. Mohan, D., C.U. Pittman, and P.H. Steele, *Pyrolysis of Wood/Biomass for Bio-oil: A Critical Review*. Energy Fuels, 2006. **20**(3): p. 848-889.
50. Bridgwater, A.V., *Renewable fuels and chemicals by thermal processing of biomass*. Chem. Eng. J., 2003. **91**(2): p. 87-102.
51. Scott, D.S., J. Piskorz, and D. Radlein, *Liquid products from the continuous flash pyrolysis of biomass*. Ind. Eng. Chem. Process. Des. Dev., 1985. **24**(3): p. 581-588.
52. Asadullah, M., et al., *Production of bio-oil from fixed bed pyrolysis of bagasse*. Fuel, 2007. **86**(16): p. 2514-2520.
53. Luo, Z., et al., *Research on biomass fast pyrolysis for liquid fuel*. Biomass Bioenergy, 2004. **26**(5): p. 455-462.
54. Mamvura, T.A. and G. Danha, *Biomass torrefaction as an emerging technology to aid in energy production*. Heliyon, 2020. **6**(3): p. e03531.
55. Dhungana, A., P. Basu, and A. Dutta, *Effects of Reactor Design on the Torrefaction of Biomass*. J. Energy Resour. Technol., 2012. **134**(4).
56. Dr. Liliana Krotz, D.F.L., Dr. Guido Giazzi. *Thermo Scientific FlashSmartElemental Analyzer: Fully Automated Double Channel Analysis for Petrochemical Applications*. Available from:

<https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/AN-42263-OEA-Petrochemical-FlashSmart-AN42263-EN.pdf>.

57. Cuiping, L., et al., *Chemical elemental characteristics of biomass fuels in China*. Biomass Bioenergy, 2004. **27**(2): p. 119-130.
58. Lee, Y., et al., *Comparison of biochar properties from biomass residues produced by slow pyrolysis at 500°C*. Bioresour. Technol., 2013. **148**: p. 196-201.
59. Matt, F.J., M.A. Dietenberger, and D.R. Weise, *Summative and Ultimate Analysis of Live Leaves from Southern U.S. Forest Plants for Use in Fire Modeling*. Energy Fuels, 2020. **34**(4): p. 4703-4720.
60. Friedl, A., et al., *Prediction of heating values of biomass fuel from elemental composition*. Anal. Chim. Acta, 2005. **544**(1): p. 191-198.
61. Nhuchhen, D.R. and M.T. Afzal, *HHV Predicting Correlations for Torrefied Biomass Using Proximate and Ultimate Analyses*. Bioeng., 2017. **4**(1).
62. Yin, C.-Y., *Prediction of higher heating values of biomass from proximate and ultimate analyses*. Fuel, 2011. **90**(3): p. 1128-1132.
63. Masiá, A.A.T., et al., *Use of TMA to predict deposition behaviour of biomass fuels*. Fuel, 2007. **86**(15): p. 2446-2456.
64. Gabbott, P., *Principles and applications of thermal analysis*. 2008: John Wiley & Sons.
65. Calahorra, M.E., et al., *Thermogravimetric analysis of cellulose: Effect of the molecular weight on thermal decomposition*. J. Appl. Polym. Sci., 1989. **37**(12): p. 3305-3314.
66. Wang, S., et al., *Mechanism study on cellulose pyrolysis using thermogravimetric analysis coupled with infrared spectroscopy*. Front Energ Power Eng China, 2007. **1**(4): p. 413-419.
67. Lin, Y.-C., et al., *Kinetics and Mechanism of Cellulose Pyrolysis*. J. Phys. Chem. C, 2009. **113**(46): p. 20097-20107.
68. Jiang, G., D.J. Nowakowski, and A.V. Bridgwater, *A systematic study of the kinetics of lignin pyrolysis*. Thermochim. Acta, 2010. **498**(1): p. 61-66.
69. Ramiah, M.V., *Thermogravimetric and differential thermal analysis of cellulose, hemicellulose, and lignin*. J. Appl. Polym. Sci., 1970. **14**(5): p. 1323-1337.
70. García, R., et al., *Biomass proximate analysis using thermogravimetry*. Bioresour. Technol., 2013. **139**: p. 1-4.
71. Elder, J.P., *Proximate analysis by automated thermogravimetry*. Fuel, 1983. **62**(5): p. 580-584.
72. El-Sayed, S.A. and M.E. Mostafa, *Pyrolysis characteristics and kinetic parameters determination of biomass fuel powders by differential thermal gravimetric analysis (TG/DTG)*. Energy Convers. Manage., 2014. **85**: p. 165-172.
73. Tian, D., et al., *A comparison of various lignin-extraction methods to enhance the accessibility and ease of enzymatic hydrolysis of the cellulosic component of steam-pretreated poplar*. Biotechnol. Biofuels, 2017. **10**(1): p. 157.
74. Rowell, R.M., *Handbook of wood chemistry and wood composites*. 2012: CRC press.
75. Tarasov, D., M. Leitch, and P. Fatehi, *Lignin-carbohydrate complexes: properties, applications, analyses, and methods of extraction: a review*. Biotechnol. Biofuels, 2018. **11**(1): p. 269.
76. Björkman, A., *Studies on finely divided wood. Part 1. Extraction of lignin with neutral solvents*. Svensk Papperstidning-nordisk Cellulosa, 1956. **59**: p. 477-485.
77. Björkman, A., *Isolation of Lignin from Finely Divided Wood with Neutral Solvents*. Nature, 1954. **174**(4440): p. 1057-1058.
78. Gierer, J. and *Chemical aspects of kraft pulping*. Wood Sci Technol, 1980. **14**(4): p. 241-266.
79. Lapierre, C., B. Pollet, and C. Rolando, *New insights into the molecular architecture of hardwood lignins by chemical degradative methods*. Res. Chem. Intermed., 1995. **21**(3): p. 397.
80. Scalbert, A., et al., *Ether linkage between phenolic acids and lignin fractions from wheat straw*. Phytochemistry, 1985. **24**(6): p. 1359-1362.
81. Janusz, G., et al., *Lignin degradation: microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution*. FEMS Microbiol. Rev., 2017. **41**(6): p. 941-962.
82. del Río, J.C., et al., *Structural Characterization of Wheat Straw Lignin as Revealed by Analytical Pyrolysis, 2D-NMR, and Reductive Cleavage Methods*. J. Agric. Food. Chem., 2012. **60**(23): p. 5922-5935.
83. Stout, S.A., J.J. Boon, and W. Spackman, *Molecular aspects of the peatification and early coalification of angiosperm and gymnosperm woods*. Geochim. Cosmochim. Acta, 1988. **52**(2): p. 405-414.
84. Pouwels, A.D. and J.J. Boon, *Analysis of beech wood samples, its milled wood lignin and polysaccharide fractions by curie-point and platinum filament pyrolysis-mass spectrometry*. J. Anal. Appl. Pyrolysis, 1990. **17**(2): p. 97-126.

85. van der Hage, E.R.E., M.M. Mulder, and J.J. Boon, *Structural characterization of lignin polymers by temperature-resolved in-source pyrolysis—mass spectrometry and Curie-point pyrolysis—gas chromatography/mass spectrometry*. J. Anal. Appl. Pyrolysis, 1993. **25**: p. 149-183.
86. Christensen, E., R.J. Evans, and D. Carpenter, *High-resolution mass spectrometric analysis of biomass pyrolysis vapors*. J. Anal. Appl. Pyrolysis, 2017. **124**: p. 327-334.
87. Rüger, C.P., et al., *Hyphenation of Thermal Analysis to Ultrahigh-Resolution Mass Spectrometry (Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry) Using Atmospheric Pressure Chemical Ionization For Studying Composition and Thermal Degradation of Complex Materials*. Anal. Chem., 2015. **87**(13): p. 6493-6499.
88. Li, Z., et al., *Spatial Correlation of Confocal Raman Scattering and Secondary Ion Mass Spectrometric Molecular Images of Lignocellulosic Materials*. Anal. Chem., 2010. **82**(7): p. 2608-2611.
89. Aubriet, F., et al., *Characterization of biomass and biochar by LDI-FTICRMS – Effect of the laser wavelength and biomass material*. J. Am. Soc. Mass. Spectrom., 2018. **29**(10): p. 1951-1962.
90. Boman, C., et al., *Evaluation of a constant volume sampling setup for residential biomass fired appliances—influence of dilution conditions on particulate and PAH emissions*. Biomass Bioenergy, 2005. **29**(4): p. 258-268.
91. Olsson, M. and J. Kjällstrand, *Emissions from burning of softwood pellets*. Biomass Bioenergy, 2004. **27**(6): p. 607-611.
92. Chow, J. and J. Watson, *Ion chromatography in elemental analysis of airborne particles*. 1999. p. 97-137.
93. Kulkarni, P., et al., *Microwave digestion—ICP-MS for elemental analysis in ambient airborne fine particulate matter: Rare earth elements and validation using a filter borne fine particle certified reference material*. Anal. Chim. Acta, 2007. **599**(2): p. 170-176.
94. Simoneit, B.R.T., *Biomass burning — a review of organic tracers for smoke from incomplete combustion*. Appl. Geochem., 2002. **17**(3): p. 129-162.
95. McDonald, J.D., et al., *Fine Particle and Gaseous Emission Rates from Residential Wood Combustion*. Environmental Science & Technology, 2000. **34**(11): p. 2080-2091.
96. Fraser, M.P. and K. Lakshmanan, *Using Levoglucosan as a Molecular Marker for the Long-Range Transport of Biomass Combustion Aerosols*. Environmental Science & Technology, 2000. **34**(21): p. 4560-4564.
97. Yang, W., et al., *Characteristics of Particulate Matter Emitted from Agricultural Biomass Combustion*. Energy Fuels, 2017. **31**(7): p. 7493-7501.
98. Lai, A., et al., *Differences in chemical composition of PM_{2.5} emissions from traditional versus advanced combustion (semi-gasifier) solid fuel stoves*. Chemosphere, 2019. **233**: p. 852-861.
99. Ahmed, M., X. Guo, and X.-M. Zhao, *Determination and analysis of trace metals and surfactant in air particulate matter during biomass burning haze episode in Malaysia*. Atmos. Environ., 2016. **141**: p. 219-229.
100. Zhang, W., et al., *Emission of Metals from Pelletized and Uncompressed Biomass Fuels Combustion in Rural Household Stoves in China*. Sci. Rep., 2014. **4**(1): p. 5611.
101. Boman, C., M. Öhman, and A. Nordin, *Trace Element Enrichment and Behavior in Wood Pellet Production and Combustion Processes*. Energy Fuels, 2006. **20**(3): p. 993-1000.
102. Fernandez, A., et al., *Particulate emission from biomass combustion*. Nature, 2001. **409**(6823): p. 998-998.
103. Li, J., et al., *Molecular characteristics of organic compositions in fresh and aged biomass burning aerosols*. Sci. Total Environ., 2020. **741**: p. 140247.
104. Bruns, E.A., et al., *Characterization of primary and secondary wood combustion products generated under different burner loads*. Atmos. Chem. Phys., 2015. **15**(5): p. 2825-2841.
105. Rogge, W.F., et al., *Sources of Fine Organic Aerosol. 9. Pine, Oak, and Synthetic Log Combustion in Residential Fireplaces*. Environmental Science & Technology, 1998. **32**(1): p. 13-22.
106. Wang, Z., et al., *Characterization of organic compounds and molecular tracers from biomass burning smoke in South China I: Broad-leaf trees and shrubs*. Atmos. Environ., 2009. **43**(19): p. 3096-3102.
107. Smith, J.S., A. Laskin, and J. Laskin, *Molecular Characterization of Biomass Burning Aerosols Using High-Resolution Mass Spectrometry*. Anal. Chem., 2009. **81**(4): p. 1512-1521.
108. Brege, M., et al., *Molecular insights on aging and aqueous-phase processing from ambient biomass burning emissions-influenced Po Valley fog and aerosol*. Atmos. Chem. Phys., 2018. **18**(17): p. 13197-13214.
109. DeCarlo, P.F., et al., *Field-Deployable, High-Resolution, Time-of-Flight Aerosol Mass Spectrometer*. Anal. Chem., 2006. **78**(24): p. 8281-8289.

110. Eriksson, A.C., et al., *Particulate PAH Emissions from Residential Biomass Combustion: Time-Resolved Analysis with Aerosol Mass Spectrometry*. Environmental Science & Technology, 2014. **48**(12): p. 7143-7150.
111. Zhang, X., et al., *Chemical characterization of long-range transport biomass burning emissions to the Himalayas: insights from high-resolution aerosol mass spectrometry*. Atmos. Chem. Phys., 2018. **18**(7): p. 4617-4638.
112. Boman, C., et al., *Characterization of Inorganic Particulate Matter from Residential Combustion of Pelletized Biomass Fuels*. Energy Fuels, 2004. **18**(2): p. 338-348.
113. Weggler, B.A., et al., *Untargeted Identification of Wood Type-Specific Markers in Particulate Matter from Wood Combustion*. Environmental Science & Technology, 2016. **50**(18): p. 10073-10081.

Chapitre 2 : Instrumentation et méthodes

Chapitre 2 : Instrumentation et méthodes

L'objectif de ce chapitre est de présenter les méthodes analytiques utilisées lors de ma thèse. La première partie de ce chapitre est basée sur les méthodes de spectrométrie de masse utilisées lors de la thèse. Le principe global de la spectrométrie de masse sera introduit suivi de la présentation des sources d'ionisation et analyseurs. Le traitement des données pour l'analyse de matrices complexes avec la spectrométrie de masse sera aussi développé.

La spectrométrie de mobilité ionique ainsi que son couplage à la spectrométrie de masse sera présentée dans la seconde partie de ce chapitre. Le principe de la technique sera présenté ainsi que l'instrumentation associée à cette technique.

La dernière partie de ce chapitre sera basée sur les autres techniques analytiques utilisées lors de la thèse, la chromatographie ionique et la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif.

2.1 La spectrométrie de masse

2.1.1 Principe de la spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (MS) est une technique analytique basée sur la génération d'ions et sur leur séparation en fonction de leur rapports masse sur charge (m/z), dans le but d'identifier ou de quantifier une molécule ou un ensemble de molécules présentes dans un mélange. La MS est utilisée dans de nombreux domaines que ce soit la pétrochimie [1, 2], l'analyse d'aérosols [3], la biologie [4], la planétologie [5] le médical [6] ou les polymères [7, 8]. La Figure 2.1 présente les éléments constitutifs du spectromètre de masse. Quatre éléments distincts sont présents : le système d'introduction, la source d'ionisation, l'analyseur et le détecteur.

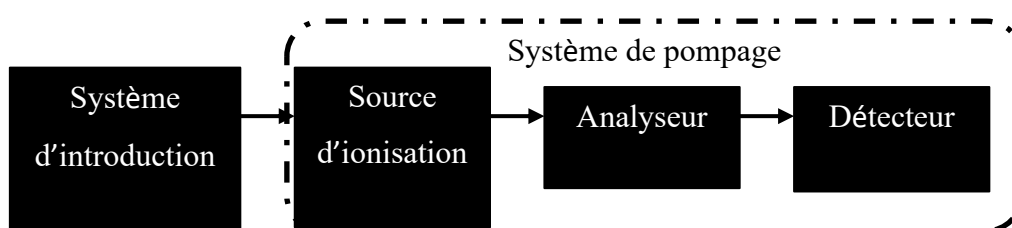


Figure 2.1: Schéma des éléments d'un spectromètre de masse

Le système d'introduction de l'échantillon assure l'ajout des analytes dans le spectromètre de masse. Il est lié d'une part à la nature de l'espèce introduite qu'elle soit gazeuse, solide ou liquide et d'autre part à la source d'ionisation utilisée.

La source d'ionisation permet l'ionisation des analytes en phase gazeuse, liquide ou solide en fonction de la méthode d'introduction. En outre, la source d'ionisation est choisie en fonction de la masse moléculaire et de la polarité des analytes à étudier. On distingue deux types de sources d'ionisation : les sources d'ionisation à pression atmosphérique et les sources d'ionisation à pression réduite. Les sources d'ionisation utilisées dans le cadre de la thèse sont essentiellement des sources à pression atmosphérique comme l'*electrospray* (ESI), l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) et la photo ionisation à pression atmosphérique (APPI). L'introduction des échantillons a été réalisée par infusion d'une solution ou par introduction d'un solide dans le cadre de l'*atmospheric solid analysis probe* (ASAP) ou d'une sonde d'introduction directe (*direct insertion probe*, DIP).

Après avoir été ionisés, les analytes sont transférés vers l'analyseur à l'aide d'un système de guidage et de focalisation.

L'analyseur permet de séparer les ions en fonction des rapports masse sur charge (m/z). Des champs magnétiques ou électriques sont utilisés dans les analyseurs pour contrôler le mouvement des ions. Lors de la thèse, l'analyseur quadripolaire, l'analyseur à temps de vol (TOF) et l'analyseur à mouvement cyclotronique ionique à transformée de Fourier (FTICR) ont été utilisés. Le détecteur permet de mesurer le signal généré par chaque ion et de le convertir en un signal électrique amplifiable et numérisable par un système informatique.

2.1.2 Sources d'ionisation en spectrométrie de masse

2.1.2.1 Source d'ionisation Electrospray (ESI)

La source d'ionisation *electrospray* (ESI) développée par John Fenn [9, 10] est une technique d'ionisation douce permettant l'analyse de molécules polaires et de masse moléculaire variable en solution. Le principe de la source ESI est présenté avec la Figure 2.2.

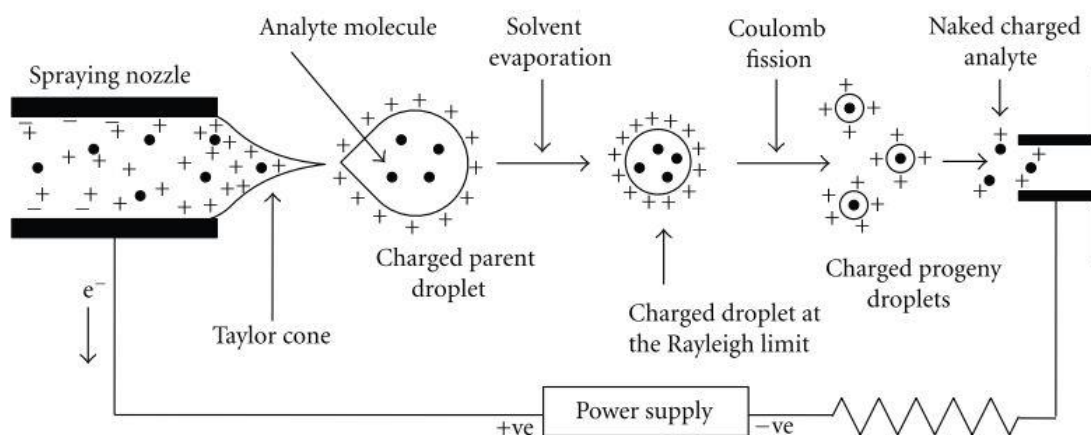


Figure 2.2: Schéma de principe de l'*electrospray* repris à partir de la publication de Shibdas Banerjee et Shyamalava Mazumdar [11].

L'*electrospray* est basé sur la production d'ions par l'utilisation d'une forte différence de potentiel entre le nébuliseur de la source et l'entrée du spectromètre de masse. En effet, les analytes en solution vont produire des particules chargées par l'application d'une différence de potentiel. Les charges produites sont repoussées par le champ électrique du capillaire et accumulées au bout de celui-ci. L'accumulation des charges au bout du capillaire déstabilise sa surface, formant ainsi un cône sous l'influence du champ électrique (cône de Taylor). Ce cône de Taylor crée ainsi un *spray* de liquide chargé pouvant se séparer en gouttelettes. L'utilisation d'un gaz de nébulisation chauffé permet ensuite d'évaporer le solvant contenu dans les gouttelettes. La diminution de la taille des gouttelettes par l'évaporation du solvant conduit à l'augmentation de la répulsion des charges jusqu'à la limite de Rayleigh [12] où la tension de surface ne peut plus contenir les forces de répulsion coulombiennes. A ce point, une cascade d'explosions coulombiennes a lieu, séparant les gouttelettes parents en de plus petites gouttelettes. Le gaz de nébulisation chauffé permet enfin d'obtenir des ions en phase gazeuses analysés par spectrométrie de masse.

Les ions obtenus peuvent être observés sous forme de molécules (multi)protonées $[M+nH]^{n+}$ en mode positif et (multi)déprotonées $[M-nH]^{n-}$ en mode négatif. Des ions adduits tels que $[M+K]^+$, $[M+Na]^+$ ou $[M+Cl]^-$ ainsi que des agrégats d'ions inorganiques peuvent être également observés. Cette source d'ionisation est sélective, favorisant l'ionisation des composés polaires. La présence d'une grande quantité de contaminants et en particulier de sels peu perturber l'ionisation ce qui est problématique pour la caractérisation d'aérosols issus de la combustion de bois contenant une grande quantité d'ions inorganiques K^+ , Na^+ , Cl^- et SO_4^{2-} . Une préparation d'échantillon spécifique est donc nécessaire pour analyser ce type de matrice.

2.1.2.2 Source d'ionisation chimique a pression atmosphérique (APCI)

La source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) développée par D.I. Carroll *et al.* [13] est une technique d'ionisation douce permettant la caractérisation en phase gazeuse de molécules de polarité intermédiaire et de poids moléculaire inférieur à 1500 Da. Cette méthode est analogue à l'ionisation chimique à pression réduite développée par Munson and Field [14]. En effet, l'ionisation chimique se déroule en trois étapes. Lors de la première étape, un gaz réactif est ionisé à l'aide d'un faisceau d'électrons. Des ions réactifs stables sont ensuite générés et interagissent avec les analytes en phase gazeuse. Dans le cadre de l'APCI (Figure 2.3), l'échantillon en solution est nébulisé puis vaporisé par l'action d'un gaz chauffé, généralement de l'azote (N_2). Les analytes sont ionisés par un plasma d'azote généré par une décharge corona.

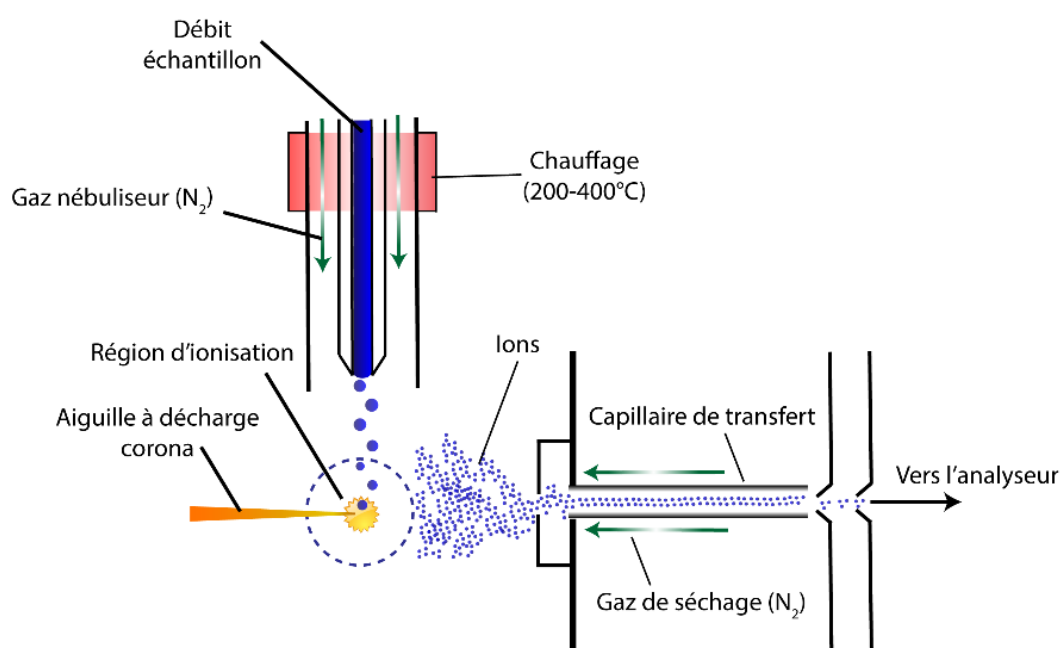


Figure 2.3: Schéma de la source d'ions APCI

Le mécanisme d'ionisation de l'azote est présenté à travers les équations suivantes (2.1.1):

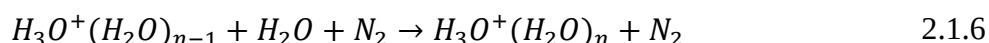
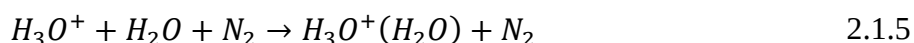


Les ions primaires générés par ionisation de l'azote sont susceptibles de réagir avec des molécules de solvant vaporisées pour former des ions réactifs secondaires, par échange de charges (2.1.3) et réactions ions-molécules [15] (Equations 2.1.4, 2.1.5, 2.1.6).

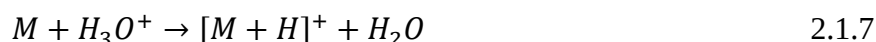
Réaction d'échange de charge



Réaction ion-molécule



Les analytes en phase gazeuse sont enfin susceptibles d'effectuer une réaction de transfert de proton si l'affinité protonique de l'analyte est supérieure à celle de l'eau (2.1.7):



En l'absence de solvant protique, la réaction d'échange de charge est favorisée entre l'analyte et les ions réactifs du plasma d'azote, créant ainsi des ions moléculaires $M^{+\bullet}$. D'autres types de réactions peuvent avoir lieu comme l'abstraction d'hydrure découverte par Field and Lampe [16] dont l'équation est présentée ci-dessous (2.1.8).



Dans ce processus, les ions réactifs R^+ sont des ions alkyls produits par l'ionisation dissociative d'un alcane. Ces ions réactifs vont ensuite réagir avec d'autres alcanes, de préférence ramifiés.

La formation d'ions négatifs se fait généralement par capture électronique, réactions ion molécules et formation de paires d'ions.

2.1.2.3 Source de photo ionisation à pression atmosphérique (APPI)

La source de photo ionisation à pression atmosphérique (APPI) est une technique complémentaire à l'APCI permettant l'analyse de molécules en phase gazeuse de polarité intermédiaire. Elle a été développée dans le cadre du couplage de la spectrométrie de masse avec la chromatographie en phase liquide, par Damon B. Robb *et al* [17]. Le système APPI est proche du système APCI où l'échantillon est nébulisé et vaporisé par l'action d'un gaz nébuliseur chauffé puis ionisé. Cependant, l'aiguille corona de l'APCI est ici remplacée par une lampe émettant des photons dans l'UV lointain (VUV) (Figure 2.4). Une lampe à décharge de krypton émettant des photons à 10.6 eV est généralement utilisée pour l'ionisation des analytes.

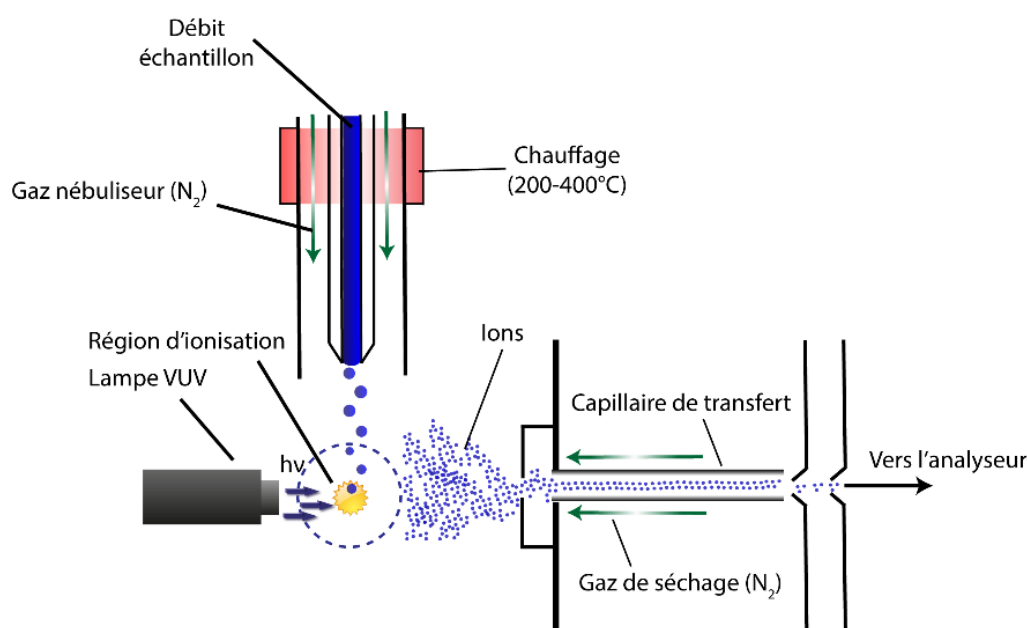


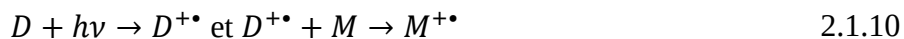
Figure 2.4: Schéma de la source d'ions APPI

Le principe de la photo ionisation en mode positif est basé sur la formation d'un cation radical produit par l'absorption d'un photon par une molécule suivi de l'éjection d'un électron (2.1.9)



L'ionisation est uniquement possible si l'énergie du photon émis par la lampe est supérieure à l'énergie d'ionisation de l'analyte. La photo ionisation directe peut donc permettre d'analyser sélectivement des composés ayant des énergies d'ionisation relativement faibles mais surtout avec une section d'ionisation élevée. Parmi ces composés se trouvent par exemple les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ou les polyphénols. En effet, ces molécules possèdent un ou plusieurs noyaux aromatiques où des délocalisations électroniques contribuent à une faible énergie d'ionisation. Cette spécificité sera montrée dans ce manuscrit lors de l'étude des produits de pyrolyse de la biomasse lignocellulosique.

Il est possible pour améliorer le processus d'ionisation, d'ajouter une molécule facilement photoionisée dans la solution à analyser (dopant) qui agira en tant qu'intermédiaire et l'analyte. En effet, le dopant ionisé va initier une réaction d'échange de charge avec l'analyte (2.1.10)



Le dopant généralement utilisé est le toluène avec une énergie d'ionisation de 8.83 eV. La gamme de composés analysés peut aussi être limitée ou étendue par le choix de différentes lampes UV comme la lampe à argon (11.7 eV) ou la lampe à Krypton (10.0 et 10.6 eV).

2.1.2.4 Atmospheric solid analysis probe (ASAP) et direct insertion probe (DIP)

La sonde d'analyse de solide à pression atmosphérique (*Atmospheric solid analysis probe* ou ASAP) développée par Charles N. McEwen[18], est une technique d'introduction directe permettant l'analyse de solides, d'huiles ou de liquides. Avec l'ASAP, l'échantillon introduit dans un capillaire en verre est désorbé thermiquement à l'aide d'un gaz chauffé, puis ionisé par un plasma d'azote généré avec une décharge corona. Cette source permet l'analyse directe d'échantillons solides avec une préparation d'échantillon minimale.

L'introduction d'échantillons solides sans solvant a cependant un impact sur l'ionisation. En effet, la réaction favorisée est l'échange de charge entre l'analyte et le plasma d'azote, générant des ions radicaux $M^{+\bullet}$. Cependant, si la source est peu scellée, l'introduction d'air et d'humidité, peu favoriser la formation d'ions $[M+H]^+$ est possible. C'est le cas de la sonde d'introduction directe (DirectProbe ou DIP) développée par Bruker présenté dans la Figure 2.5.

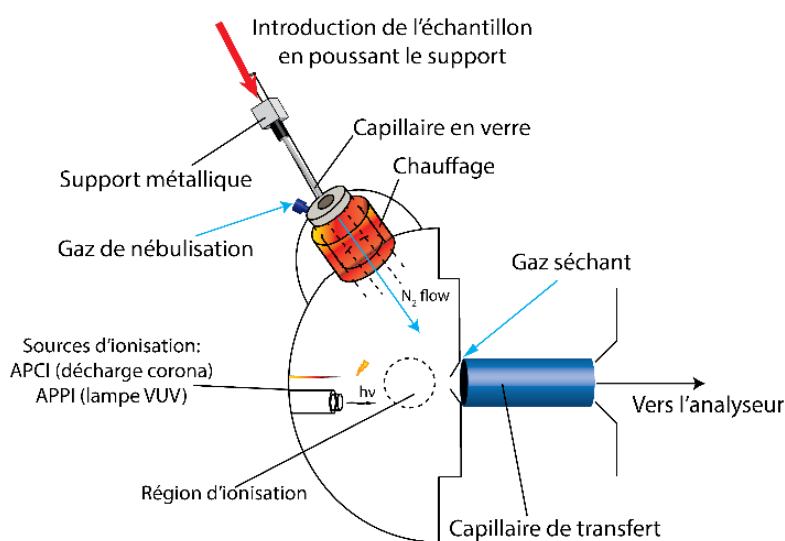


Figure 2.5: Schéma du système DIP Bruker

La sonde DIP fonctionne de la même manière que l'ASAP, un capillaire en verre contenant l'échantillon est soumis à un gaz de nébulisation chauffé et les molécules thermo désorbées sont ensuite ionisées. Deux sources d'ionisations peuvent être couplées avec le DIP : l'APCI et l'APPI.

L'ASAP et le DIP ont été principalement utilisés pour la caractérisation d'échantillons polymériques solides [7, 19-21]. Dans le cas de la thèse, ces sources ont été utilisées pour la caractérisation d'échantillons de bois.

2.1.3 Les analyseurs en spectrométrie de masse

2.1.3.1 Le filtre quadripolaire

Le filtre quadripolaire développé en 1953 par Paul W. et H. Steinwedel [22] est très utilisé en spectrométrie de masse. Un quadripôle est constitué de quatre électrodes parallèles de section cylindrique ou hyperbolique. La séparation des ions en fonction de leurs ratios m/z est accomplie en fonction de la trajectoire des ions dans un champ électrique oscillant (Figure 2.6).

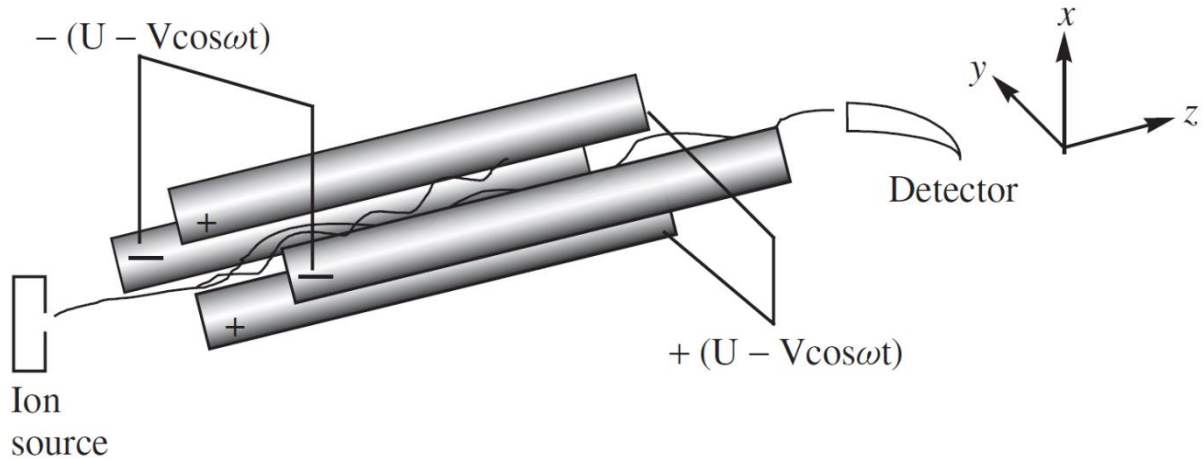


Figure 2.6: Schéma de fonctionnement du quadripôle, reproduit à partir du livre Fundamentals of contemporary mass spectrometry [23].

Ce champ électrique oscillant est créé en appliquant sur une première paire d'électrodes, une tension continue U et une tension alternative $V \cos \omega t$ où ω est la fréquence angulaire (en rad s^{-1}), V son amplitude et t le temps. La seconde paire d'électrode reçoit une tension $-U$ et une tension alternative de même magnitude $V \cos \omega t$ mais déphasée de 180° . Un champ électrique quadripolaire est ainsi créé, donné par l'équation 2.1.11

$$\Phi_{(x,y)} = \Phi_0 \frac{x^2 - y^2}{r_0^2} = (U - V \cos \omega t) \frac{x^2 - y^2}{r_0^2} \quad 2.1.11$$

avec Φ_0 , le potentiel appliqué, r_0 , le rayon correspondant à la distance entre les électrodes et x et y , les distances à partir du centre du champ électrique. Les ions obtenus par la source d'ionisation sont accélérés selon l'axe z et pénètrent dans le quadripôle en conservant leurs vitesses. Les ions sont ensuite séparés en fonction de leurs ratios m/z . En effet, les ions dans une gamme restreinte de m/z vont adopter une trajectoire stable et passer à travers le quadripôle jusqu'au détecteur, tandis que les autres ions ayant une trajectoire instable vont entrer en contact avec les barres du quadripôle et se décharger.

Le mouvement d'un ion selon la direction x et y est défini par l'équation de Mathieu (2.1.12) :

$$\frac{d^2u}{d^2\xi} + (a_u - 2q_u \cos 2\xi)u = 0 \quad 2.1.12$$

Où u est le déplacement transverse dans les directions x et y à partir du centre du champ et ξ est égal à $\omega t/2$ avec ω la fréquence angulaire en rad.s^{-1} . La solution de l'équation de Mathieu donne deux paramètres sans dimensions, a et q (2.1.13 et 2.1.14) :

$$a_u = a_x = -a_y = \frac{8zeU}{m\omega^2 r_0^2} \quad 2.1.13$$

$$q_u = q_x = -q_y = \frac{4zeV}{m\omega^2 r_0^2} \quad 2.1.14$$

Le diagramme de stabilité du champ quadripolaire est obtenu en traçant le paramètre a (champ continu dans le temps) en fonction de q (champ variable en fonction du temps). Ce diagramme permet de montrer à la fois les régions où les trajectoires x et y sont stables et les régions où le mouvement ionique n'est pas stable (Figure 2.7).

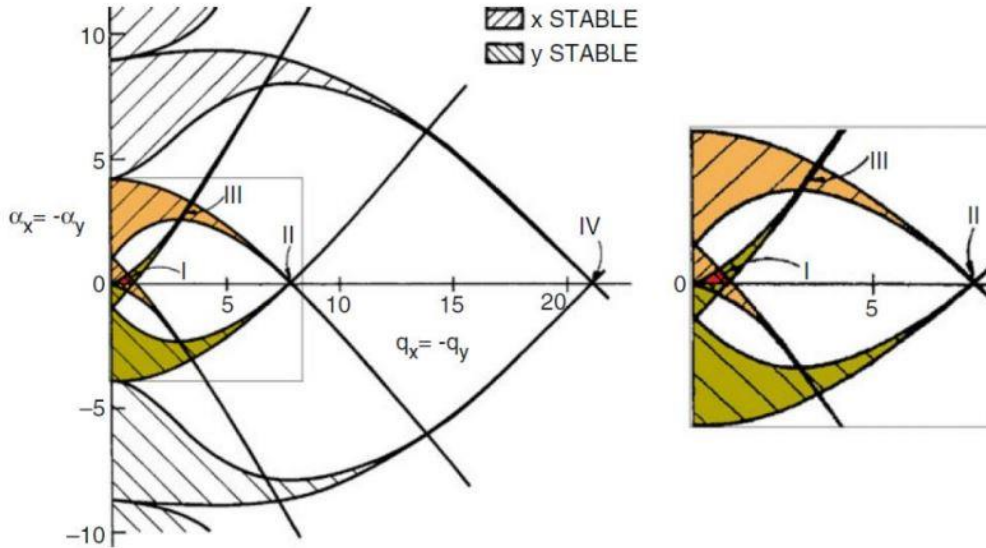


Figure 2.7: Zones de stabilité dans le plan x et y. Figure adaptée du livre *Mass spectrometry : a text book* [24].

La région I, région la plus utilisée est représentée sur la Figure 2.7. Un spectre de masse peut être obtenu en balayant les tensions U et V en maintenant leurs ratios et fréquences constant. Une ligne de fonctionnement avec une pente $a/q = 2U/V$ passant par l'origine du diagramme de stabilité permet de laisser passer à travers le quadripôle des ions présentant des m/z différents. Plus la pente de la droite de fonctionnement est élevée, plus la résolution est importante mais moins d'ions sont détectés. A l'inverse, plus la pente est faible, moins la résolution est bonne mais plus d'ions sont observés.

Le quadripôle fonctionne selon deux modes. Le mode balayage ou « scan » permet la détection de tous les ions en faisant varier les valeurs de U et V en fonction de la droite de fonctionnement. Avec le mode SIM ou *single ion monitoring*, les valeurs de U et V sont fixées pour ne détecter que les ions ayant un rapport m/z particulier.

Il est possible pour de nombreuses applications (guide d'ions, cellule de collision) d'utiliser le quadripôle en mode radiofréquence (rf) uniquement (dans ce cas $U=0$) pour focaliser les ions. En effet, tous les ions de rapports m/z supérieurs à celui fixé par la valeur V auront une trajectoire stable.

2.1.3.2 Analyseur à temps de vol (TOF)

L'analyseur à temps de vol ou *time of flight* (TOF) conceptualisé par Stephens [25] est basé sur la séparation des ions par leur différences de vitesse dans un tube sous vide de longueur définie. Les ions produits dans la source d'ionisation sont accélérés sous l'action d'un champ électrique. L'énergie potentielle de l'ion dans le champ électrique est ensuite convertie en énergie cinétique selon l'équation 2.1.15 avec e la charge de l'électron, z le nombre de charges, U la tension électrique appliquée, m_i la masse de l'ion et v sa vitesse.

$$E_{\text{électrique}} = ezU = \frac{1}{2}m_i v^2 = E_{\text{cinétique}} \quad 2.1.15$$

Sachant que tous les ions reçoivent la même énergie cinétique, les ions vont être différenciés selon leurs vitesses dans une zone sans champ électrique en sortie de la zone d'accélération. Les ratios m/z sont déterminés en mesurant le temps que mettent les ions pour se déplacer dans le tube sous vide jusqu'au détecteur selon l'équation 2.1.16, où t correspond au temps de vol des ions, L la distance de parcours et v la vitesse de l'ion.

$$t = \frac{L}{v} = L \sqrt{\frac{m}{2qU}} \quad 2.1.16$$

Sachant que la distance de parcours L et la tension U est constante, le temps parcouru par les ions dépend uniquement du rapport m/z . En effet, les ions ayant un ratio m/z faible ont un temps de vol court. Inversement, les ions ayant un ratio m/z élevé ont un temps de vol long. La résolution de l'analyseur TOF dépend de la longueur du tube. En effet, un tube plus long donne une meilleure résolution. Il est possible afin d'améliorer la résolution du TOF d'utiliser un miroir électrostatique aussi appelé *reflectron* qui va compenser la dispersion d'énergie cinétique initiale [26]. Le *reflectron* est constitué d'une succession de lentilles électrostatiques auxquels est appliqué un gradient de tension permettant de ralentir les ions selon leur énergie cinétique initiale. En effet, les ions avec une énergie cinétique plus grande vont pénétrer plus profondément dans le *reflectron* que les ions avec peu d'énergie cinétique. Le *reflectron* va permettre d'augmenter la trajectoire de vol, améliorant ainsi la résolution au détriment d'une perte de sensibilité. Les analyseurs TOF équipés d'un *reflectron* sont des appareils de haute résolution pouvant atteindre jusqu'à 100 000 de résolution pour les instruments les plus performants.

2.1.3.3 Analyseur à résonance cyclotronique ionique (FTICR)

Le spectromètre de masse à résonance cyclotronique ionique par transformée de Fourier (FTICR) est l'instrument offrant la plus haute précision de mesure en masse et la plus grande résolution. Cette méthode est particulièrement adaptée à l'analyse des mélanges organiques complexes comme les aérosols [27] ou les biohuiles [28].

Le principe de la résonance cyclotronique a été développé par Lawrence et al. [29] dans les années 1930 pour étudier les propriétés fondamentales des atomes en recherche nucléaire. Le premier spectromètre de masse utilisant le principe de résonance cyclotronique, appelé *Omegatron*, a été développé par Hipple *et al.* en 1949 [30]. Cependant, la résolution et la gamme de masse étaient très limitées à cause des restrictions instrumentales de l'époque. Le premier FTICR a été développé en 1974 par Comisarow et Marshall [31]. La technique FTICR a ensuite évolué au cours des années. Le couplage du FTICR avec l'*electrospray* a été développé en 1989 par McLafferty *et al.* permettant d'augmenter les applications analytiques du FTICR. D'autres modes d'ionisation ont été couplés à la spectrométrie de masse FTICR au fur et à mesure des années.

Aujourd'hui, la spectrométrie de masse FTICR est devenu un instrument incontournable pour l'analyse de mélanges organiques complexes. Il est utilisé dans de nombreux domaines de recherche grâce à ses très hautes performances dont son haut pouvoir résolutif et sa haute précision de masse, ainsi que sa flexibilité pour son couplage avec de nombreuses sources d'ionisation comme l'APCI, l'APPI, l'ESI et le (MA)LDI.

2.1.3.3.1 Principe du FT ICR

Le cœur de l'instrument est la cellule ICR ou *piège de Penning*. Les ions sont piégés dans la cellule ICR par l'action d'un champ magnétique couplé à un champ électrique. Les ions sont excités par une impulsion radiofréquence leur donnant un mouvement orbital. Les rapports m/z de ces ions peuvent être déterminés à partir de la fréquence de ce mouvement orbital.

2.1.3.3.2 Mouvement cyclotronique des ions

La technique ICR est basé sur le mouvement cyclotronique des ions dans un champ magnétique uniforme. En effet, un ion avec un nombre de charge z et une vitesse $\vec{v}$ va subir une force de Lorentz et adopter un mouvement circulaire perpendiculaire à la direction du champ magnétique Figure 2.8 selon l'équation 2.1.17 :

$$\vec{F} = q\vec{v} \times \vec{B} \quad 2.1.17$$

Où $q = ze$.

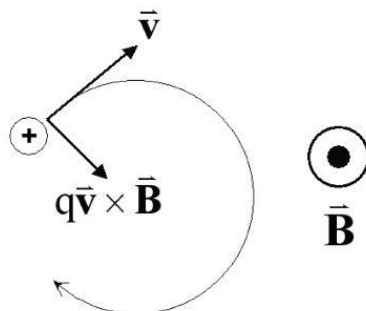


Figure 2.8: Mouvement cyclotronique des ions dans un champ magnétique, reproduit à partir de la thèse de Kevin Jeanne Dit Fouque [32]

La force de Lorentz et la force centrifuge sont en équilibre lorsqu'un ion adopte un mouvement uniforme

$$F_{\text{lorentz}} = qvB \text{ et } F_{\text{centrifuge}} = \frac{mv^2}{r} \text{ donc } qvB = \frac{mv^2}{r} \quad 2.1.18$$

Où m correspond à la masse de l'ion et r est le rayon du mouvement cyclotronique. Il est ensuite possible de déterminer la vitesse angulaire ω_c (en rad.s^{-1}) et la fréquence du mouvement cyclotronique ν_c (en Hz) selon les équations 2.1.19:

$$v = 2\pi r \nu_c \text{ et } \omega_c = \frac{v}{r} = 2\pi \nu_c \text{ donc } \nu_c = \frac{\omega_c}{2\pi} = \frac{zeB}{2\pi m} \quad 2.1.19$$

Cette relation montre que la fréquence cyclotronique d'un ion est dépendante de son rapport m/z et du champ magnétique appliqué. Un ion de faible ratio m/z aura une fréquence d'oscillation plus élevée qu'un ion de ratio m/z élevé.

2.1.3.3.3 Piégeage des ions dans la cellule ICR

Après avoir été générés dans la source, les ions sont amenés jusqu'à la cellule ICR où ils sont piégés par l'action conjointe d'un champ magnétique et électrique. Le vide au sein de la cellule est très poussé (entre 10^{-10} et 10^{-11} mbar) pour éviter la collision des ions avec le gaz résiduel. Le mouvement cyclotronique des ions induit par le champ magnétique implique un mouvement hélicoïdal infini. Deux plaques de piégeage sont placées perpendiculairement au champ magnétique. Ces plaques permettent d'empêcher les ions de quitter la cellule par l'application d'un faible potentiel électrique sur les deux plaques. Les ions vont ainsi adopter un mouvement de piégeage correspondant à leur oscillation entre les deux plaques de piégeage. Dans le cas idéal, le champ électrique appliqué est homogène et parallèle au champ magnétique avec des plaques de dimensions infinies. Cependant, le champ électrique ne pouvant pas être parallèle au champ magnétique, un troisième mouvement est induit par la composante radiale du champ électrique, déviant les ions et ainsi diminuant la fréquence cyclotronique. Ce mouvement est appelé mouvement magnétron.

Les ions dans la cellule ICR adoptent une combinaison de mouvements cyclotronique, de piégeage et magnétron. Les fréquences du mouvement de piégeage et magnétron sont beaucoup plus faibles que la fréquence cyclotronique. Ils sont généralement non détectés sauf lorsque le piège est mal aligné avec l'axe du champ magnétique et/ou l'amplitude du mouvement de l'ion est proche des parois du piège [33]. Les ions adoptent au centre de la cellule ICR, des mouvements non cohérents avec un faible rayon cyclotronique. Une étape d'excitation des ions est nécessaire pour obtenir un mouvement cyclotronique cohérent et de rayon suffisamment élevé de façon à produire un signal détectable.

2.1.3.3.4 Excitation des ions dans la cellule ICR

L'excitation des ions est réalisée dans la cellule ICR par l'application d'un champ électrique radiofréquence entre deux plaques d'excitations (Figure 2.9). Ce champ radiofréquence est perpendiculaire au champ magnétique. Si la fréquence du champ radiofréquence est identique à la fréquence cyclotronique d'un ion, les oscillations se font en résonance. Ainsi, les ions vont absorber l'énergie potentiel du champ radiofréquence, entraînant une augmentation de l'énergie cinétique des ions et conduisant à l'augmentation du rayon de la trajectoire de l'ion.

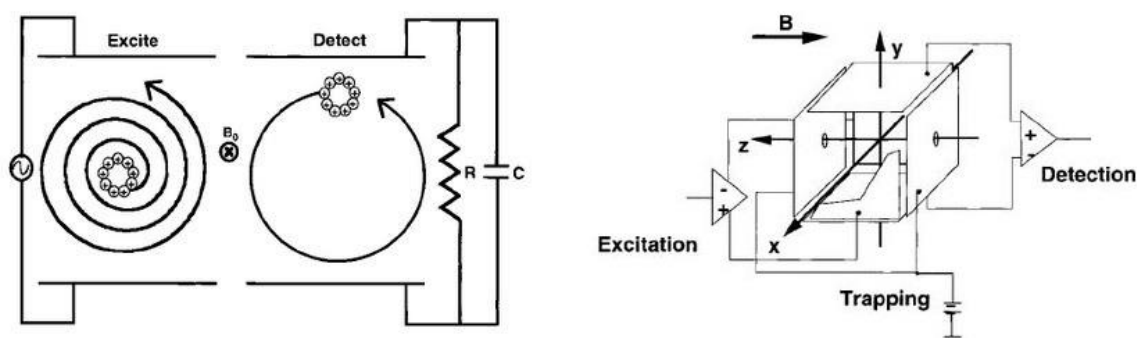


Figure 2.9: Principe d'excitation des ions dans la cellule ICR, reproduit à partir de la publication *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: A primer*[33]

Plusieurs modes d'excitation des ions existent :

- l'impulsion rectangulaire : une seule fréquence d'excitation est appliquée correspondant à des ions de même rapport m/z ;
- le mode *RF chirp* : une impulsion unique, balayant la gamme de fréquences d'intérêt est utilisée ;
- le mode *SWIFT* : avec ce mode, le domaine de fréquence d'excitation est défini au préalable et l'onde d'excitation est déterminée par transformée de Fourier inverse. Ce mode permet une excitation homogène des ions.

Les ions excités sont ensuite détectés par deux plaques de détection placées perpendiculairement aux plaques d'excitation.

2.1.3.3.5 Détection et traitement du signal ICR

La détection des ions dans la cellule ICR se fait par l'enregistrement du courant induit lors du passage de paquets d'ions de fréquence cyclotronique ω_c devant les plaques de détection. Ce courant induit augmente linéairement avec la charge des ions, le signal est donc plus intense

pour des ions multichargés. Le courant induit peut aussi être influencé par la présence de gaz résiduel dans la cellule ICR. En effet, la collision entre les neutres et les ions provoque un déphasage des paquets ions, réduisant ainsi le courant jusqu'à ce qu'il devienne nul. Cette décroissance exponentielle du signal est appelée *free induction decay* (FID). La durée du FID peut être modifiée en fonction des paramètres expérimentaux. La durée du FID est essentielle car la résolution est directement proportionnelle au temps (t) d'acquisition selon l'équation

$$R = \frac{\omega_c t}{2\pi} \quad 2.1.20$$

Le signal acquis est ensuite traité par transformée de Fourier rapide afin d'obtenir un spectre de fréquence à partir du signal temporel. Un traitement appelé apodisation est cependant nécessaire au préalable, afin d'améliorer la qualité du signal. En effet, la troncature en début et fin du signal temporel est responsable de la formation de pics auxiliaires à côté du pic principal. L'apodisation (ou fenêtrage) permet de réduire les pics auxiliaires et de lisser le signal par l'application d'une fonction mathématique comme la fenêtre de Hann. Il est aussi possible d'appliquer un autre traitement appelé *zero-filling*. Ce traitement permet l'amélioration de la définition du spectre par l'augmentation du nombre de points par intervalles m/z en ajoutant des valeurs nulles au FID.

Le FID est converti après apodisation et *zero-filling*, en spectre de fréquence par transformée de Fourier. La fréquence étant inversement proportionnelle au rapport m/z . Ce spectre de fréquence est converti en spectre de masse à l'aide d'une simple équation mathématique de corrélation, résultant d'un étalonnage avec des ions de m/z connus.

2.1.3.3.6 Appareillage : le FTICR SolariX XR (Bruker)

Le FTICR utilisé pendant ma thèse est le SolariX XR (Bruker Daltonics) équipé d'un aimant supraconducteur 12 T. Le schéma de fonctionnement de l'appareil est montré avec la Figure 2.10.

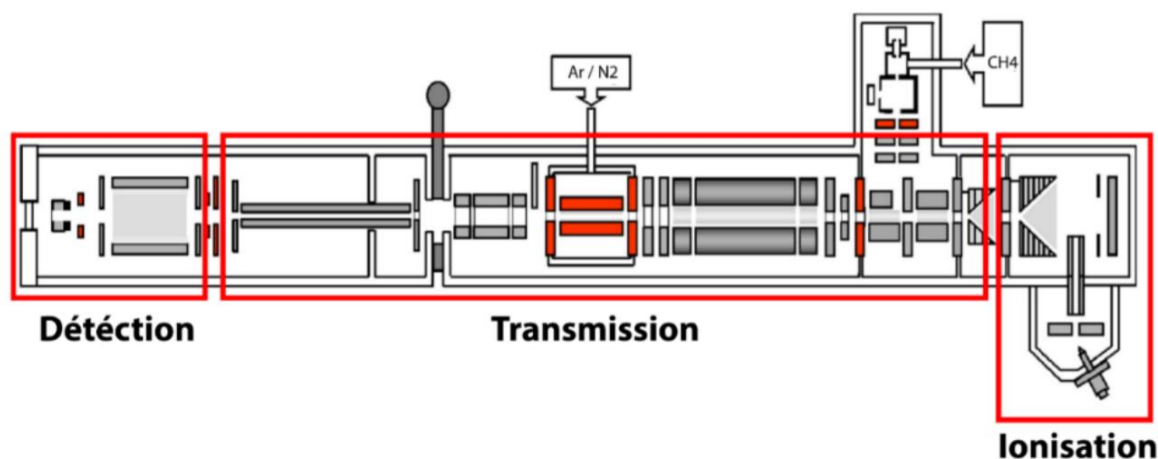


Figure 2.10: Schéma de fonctionnement du FT ICR SolariX XR Bruker Daltonics®, repris de la thèse de Julien Maillard.

La première partie de l'instrument est la source d'ionisation. Plusieurs sources d'ionisation peuvent être utilisées tel que l'ESI, l'APCI et l'APPI à pression atmosphérique et la source d'ionisation par désorption laser (LDI) à pression réduite. Il est possible d'intégrer la sonde d'insertion directe DIP aux sources APCI et APPI pour l'analyse d'échantillons solides.

La seconde partie de l'instrument sert au transfert vers la cellule ICR des ions générés par la source. Le système de transmission est constitué, de deux *ion funnels* et de série d'hexapôles permettant la focalisation et le guidage des ions et d'un quadripôle pour la sélection en masse. Une cellule de collision est placée après le quadripôle pour les expériences de spectrométrie de masse en tandem et/ou pour accumuler les ions avant de les introduire par paquets dans la cellule ICR. Le transfert des ions de cellule de collision vers la dernière partie de l'appareil, la cellule ICR, se fait par l'intermédiaire d'un hexapôle.

2.1.4 Traitement des données en spectrométrie de masse

Les matrices complexes peuvent générer des milliers de signaux en spectrométrie de masse. Selon la résolution et la précision de mesure de masse du spectromètre de masse, il est possible après étalonnage, d'attribuer de manière fiable une formule brute unique à chaque signal. Cependant, la visualisation et l'interprétation de ces milliers de signaux peut être difficile. Par conséquent, plusieurs alternatives sont possibles pour simplifier l'interprétation des données.

L'utilisation de représentations graphiques facilite l'interprétation des données. En effet, ces méthodes permettent de séparer les attributions moléculaires en fonction de descripteurs comme les familles moléculaires et/ou le nombre d'hétéroatomes. Ces outils cartographiques sont très puissants pour la comparaison rapide d'échantillons.

Il est aussi possible d'interpréter les données en spectrométrie de masse par l'utilisation d'analyses statistiques. En effet, ces outils peuvent permettre de filtrer les données et de comparer différents échantillons.

Dans cette partie, les méthodes d'étalonnage, d'attributions moléculaires, de représentations graphiques et d'analyses statistiques utilisées lors de la thèse seront présentées.

2.1.4.1 Etalonnage des spectres de masse

Avant d'attribuer à des formules brute les ions observés dans un spectre de masse, il est important d'effectuer un étalonnage. En effet, l'étalonnage en masse permet de corriger la déviation liée à l'acquisition et le traitement du signal en utilisant des molécules connues. La masse exacte de ces composés est calculée à partir de leurs formules brutes. Une correction est ensuite appliquée par rapport à l'erreur entre la masse précise mesurée et la masse exacte des composés analysés. L'étalonnage peut être réalisé avec un ou plusieurs points en appliquant une correction linéaire ou quadratique.

Le spectromètre de masse peut être étalonné de manière externe en injectant une solution avec des analytes connus avant l'analyse des échantillons d'intérêt. Il est aussi possible de doper l'échantillon à analyser avec une ou plusieurs molécules étalons. En outre, il est possible de réaliser un étalonnage interne du spectre de masse après son acquisition en utilisant des signaux connus de l'échantillon d'intérêt. Cependant, cette méthode est uniquement applicable dans le cas d'un échantillon déjà connu ou dans le cas d'un échantillon dopé avec des molécules

connues. L'utilisation d'un étalonnage interne en plus d'un étalonnage externe permet la diminution significative des erreurs de mesure.

L'étalonnage interne est plus délicat lors des analyses DIP et ASAP. En effet, ces méthodes d'analyse directe donnent lieu à des profils de désorptions, montrant une évolution des ions produits au cours du temps durant le processus de thermo désorption. Sachant que chaque point du profil de désorption correspond à un spectre de masse, il faut appliquer un étalonnage à l'ensemble des spectres de masse du profil. Le logiciel de traitement Data Analysis développé par Bruker® permet ceci en appliquant la droite d'étalonnage d'un spectre à l'ensemble des spectres. Cependant, les signaux des ions utilisés pour l'étalonnage interne peuvent changer d'intensité au cours du temps, entraînant des décalages de masse d'un spectre de masse à l'autre au cours du processus de thermo désorption et ainsi augmentant significativement les erreurs de masse du spectre de masse moyen, résultant de la somme des spectres de masse sur l'ensemble du temps d'analyse. Une *lockmass* est appliquée pour contrer cette variation d'intensité en recalculant et en appliquant une courbe d'étalonnage différente pour chaque spectre de masse du profil à partir d'ions retrouvés dans tous les spectres. La *lockmass* dans le cadre des données DIP a été réalisée à partir du logiciel d'attribution moléculaire CERES présenté dans la section suivante. La *lockmass* en ASAP a été appliquée à l'aide du logiciel MassLynx développé par Waters®.

2.1.4.2 Attributions des formules brutes

Une fois le spectre de masse étalonné, il est possible d'attribuer des signaux des spectres de masse à une formule brute. Plusieurs logiciels ont été utilisés lors de la thèse pour les attributions moléculaires. Le premier est DataAnalysis développé par Bruker®. Dans ce logiciel des attributions moléculaires vont être déterminées à partir des critères imposés par l'utilisateur. En effet, l'utilisateur définit les bornes d'attribution en fonction du type d'atomes présents (C, H, N, O, métaux, ...) et de l'erreur de masse accordée. D'autres paramètres peuvent être pris en compte comme le rapport du nombre d'hydrogène sur carbone (H/C), le nombre maximal d'insaturation et le nombre pair ou impair d'électrons. Le choix des paramètres d'attribution est crucial afin d'avoir des attributions les plus fiables possibles. Les *seven golden rules* de Tobias Kind et Olivier Fiehn [34] permettent de filtrer les formules brutes des produits naturels les plus répandus pouvant être déterminées en spectrométrie de masse. Ces règles sont basées entre autres sur la restriction du nombre d'atomes, les règles chimiques de Lewis et Senior, les distributions isotopiques et les rapports du nombre d'atomes d'hydrogène sur le nombre d'atomes de carbone (H/C).

Le second logiciel utilisé lors de la thèse pour les attributions moléculaire est le logiciel *Computing Enhanced REsolution Spectra* ou CERES, développé sur Matlab par Christopher P. Rüger. La spécificité de ce logiciel est l'attribution moléculaire de profils de désorption thermique spectre par spectre. En effet, contrairement à *Data Analysis* où le spectre de masse moyen est attribué, tous les spectres de masse du profil de désorption sont attribués. Les formules brutes de chaque spectre de masse du profil sont ensuite rassemblées en une unique liste d'attributions moléculaires. Une partie de l'interface du logiciel est présentée Figure 2.11.

The screenshot displays the CERES software interface, organized into four main sections:

- Input variables:** This section contains several input fields and radio buttons.
 - Feature-Error border:** 1 ppm
 - Sum formula error:** 1 ppm
 - min spectra ROI:** 3 #
 - min follow. spectra:** 3 #
 - max. follow "0" in ROI:** 5 #
 - Apply adduct corrections:** ☐
 - correl. adducts:** 90 %
 - error adduct:** 0.3 ppm
 - Coupling type:** Radio buttons for none, GC, TG, **TD/LC** (selected), IMS, and TD/LC-IMS.
 - Input type:** Radio buttons for **Bruker** (selected), Synapt, Thermo, and LECO.
 - Assignment:**
 - Validation rules:** [7] All validation rules
 - sum formula grid:** [1] Single grid (default)
 - blanklist:** [1] Disabled
 - KI-Error NIST:** 50 i.u.
 - RT correction:** 0 s ☐ index correction
- Further options:**
 - ☐ recalibrate m/z: [1] Linear
 - ☐ Curve-fitting: [1] Asymmet...
 - ☐ batch processing
 - ☐ Curve export min. intensity: 5 [%-BIC]
 - ☐ Processing threshold: 0 [a.u.]
 - ☐ Normalization
 - ☒ even ☒ odd
- Basic dataset information:**
 - name: -
 - spectra number: -
 - coupling type: -
 - sum of all peaks: -
- Result:**
 - processing time: -
 - detected ROI: -

A large green **START** button is positioned between the 'Basic dataset information' and 'Result' sections.

Figure 2.11: Interface du logiciel CERES

CERES est compatible avec plusieurs types de couplages comme la chromatographie gazeuse, la mobilité ionique et la thermo désorption. De la même manière que *DataAnalysis*, les limites d'attribution peuvent être choisies (erreur d'attribution maximale, nombre d'hétéroatomes, ...). D'autres paramètres peuvent être pris en compte comme le *min spectra ROI* et le *min follow spectra*. Ces deux paramètres correspondent au nombre de scans consécutifs nécessaires pour prendre en compte un ion observé dans le profil de désorption. En effet, si un ion est trouvé dans trois spectres consécutifs (Figure 2.11), il est ajouté à une liste des ions d'intérêt. Les ions de cette liste sont incrémentés au fur et à mesure du traitement des spectres de masse du profil de désorption (Figure 2.12). L'attribution des ions à une formule brute est ensuite effectuée à partir de la liste des ions observées à travers les spectres de masse du profil de désorption.

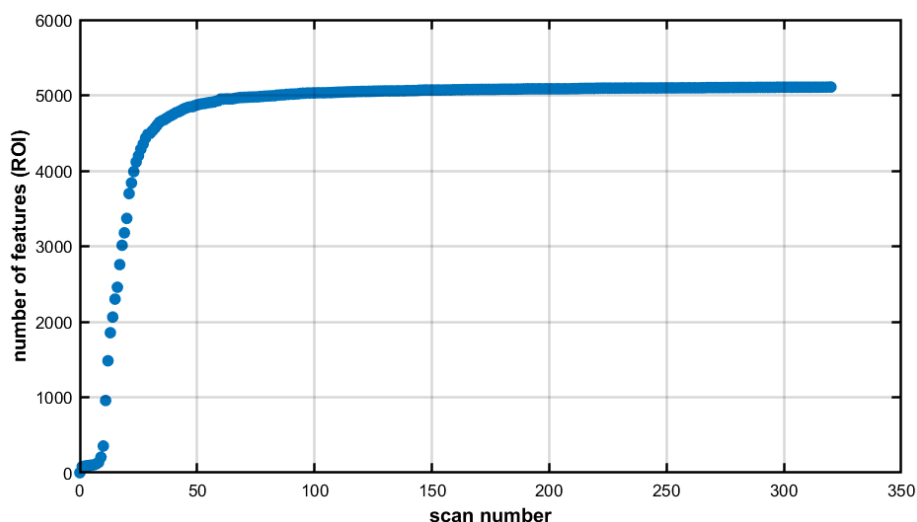


Figure 2.12: Nombres d'ions d'intérêt en fonction du nombre de scans

La fonctionnalité du logiciel CERES la plus utilisée lors de ma thèse est l'étalonnage interne spectre par spectre du profil de désorption. En effet, il est possible de réaliser une *lockmass* à partir d'une liste d'ions de masses connues. Une courbe d'étalonnage est ainsi appliquée à l'ensemble des spectres de masse du profil de désorption. La Figure 2.13 montre les diagrammes de distribution de l'erreur d'attribution avant et après étalonnage spectre par spectre à partir de l'analyse DIP FTICR de granulés de bois de hêtre. Ces diagrammes permettent une première vérification de la qualité des attributions moléculaires. En effet, la distribution des erreurs d'attribution doit être assimilée à une fonction gaussienne étroite et centrée autour de 0 ppm pour avoir un étalonnage précis et juste. Dans le cadre des analyses DIP-FTICR de granulés de bois de hêtre (Figure 2.13), la fonctionnalité d'étalonnage interne spectre par spectre du logiciel CERES a permis de réduire significativement la distribution des erreurs d'attribution.

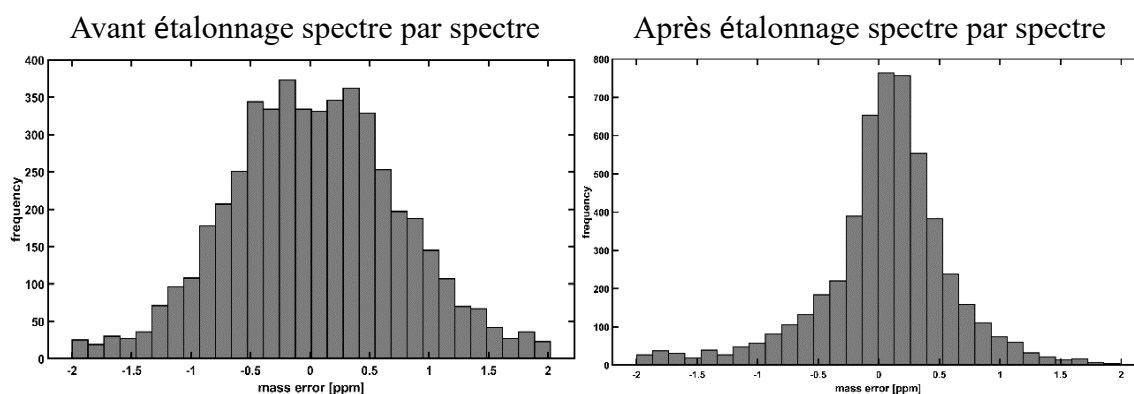


Figure 2.13: Impact de l'étalonnage spectre par spectre sur la distribution des erreurs d'attribution

Après l'attribution des signaux à une formule brute et la vérification de ces formules, il est possible d'utiliser des représentations graphiques permettant la simplification de l'interprétation des données.

2.1.4.3 Représentation graphique des données

2.1.4.3.1 Diagramme de Venn

Le diagramme de Venn est une première approche de représentation des données. Ce diagramme conçu par J. Venn en 1880 [35] permet de montrer les relations entre des variables dans différents ensembles. Il est utilisé en spectrométrie de masse pour comparer les attributions moléculaires obtenues pour différents échantillons ou différents réplicats d'un même échantillon. En effet, le diagramme de Venn permet de montrer les attributions moléculaires communes à un ou plusieurs réplicats ou à un ou plusieurs échantillons. La Figure 2.14 montre un exemple de diagramme de Venn obtenu à partir de l'outil InteractiVenn [36] avec des données DIP FTICR MS. Chaque cercle du diagramme contient toutes les attributions de trois réplicats analytiques. L'intersection de ces cercles correspond aux attributions communes à deux ou trois réplicats. En effet, d'après la Figure 2.14, 3929 attributions sont communes aux trois réplicats analytiques, soit 80% de la moyenne des attributions sur les trois réplicats. Cet outil est utile pour vérifier la répétabilité de la méthode d'analyse et de l'attribution des données. Il est aussi possible avec le site InteractiVenn, d'extraire les formules brutes trouvées à l'intersection entre plusieurs échantillons. Ceci peut être utilisé pour comparer différents échantillons et d'en extraire des ions spécifiques.

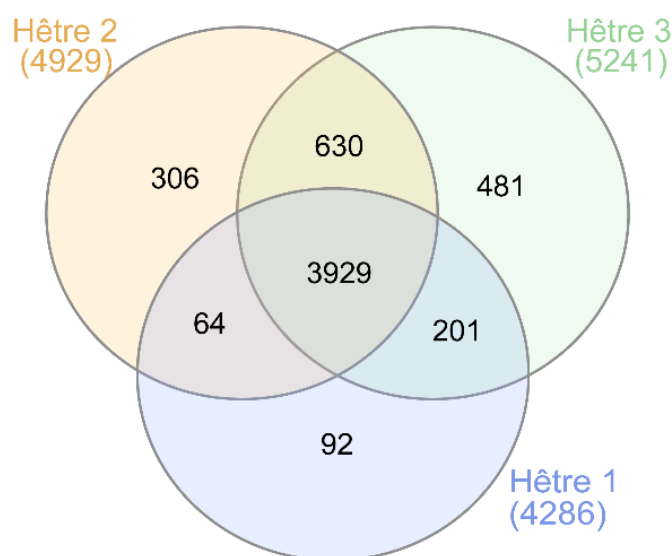


Figure 2.14: Diagramme de Venn obtenus à partir des attributions moléculaires des produits de pyrolyse de granulés de bois de hêtre par DIP FTICR MS

2.1.4.3.2 Distribution de l'intensité des ions en fonction des classes moléculaires

La représentation la plus simple des attributions moléculaires en spectrométrie de masse est l'histogramme d'intensité relative en fonction des classes moléculaires. En effet, celui-ci permet de montrer l'intensité relative des classes moléculaires contenant un nombre variable d'atomes d'hydrogène, de carbone, d'oxygène, d'azote ou d'autres atomes. Les classes moléculaires étudiées varient en fonction des bornes appliquées lors de l'attribution des ions des spectres de masse. Cet histogramme est présenté avec la Figure 2.15 dans le cadre de l'analyse des produits de pyrolyse du bois de hêtre. Les classes moléculaires étudiées avec cet échantillon contiennent les classes HC, O₁₋₁₀, N, NO et NO₂. La classe HC correspond à des attributions avec uniquement des atomes de carbone et d'hydrogène. Les autres classes contiennent des hétéroatomes en plus des atomes d'hydrogène et de carbone comme les classes O₁₋₁₀ qui contiennent entre un et dix atomes d'oxygène.

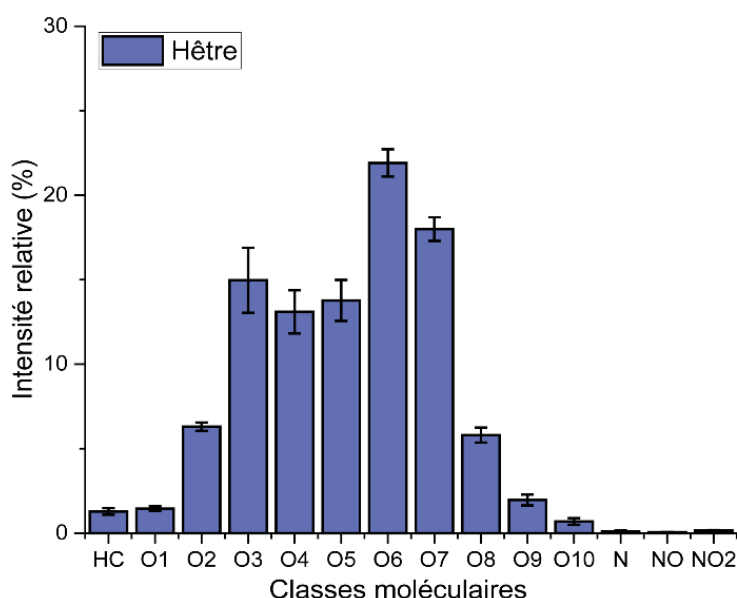


Figure 2.15: Histogramme d'intensité relative en fonction des classes moléculaires pour l'analyse DIP FTICR des produits de pyrolyse de bois de hêtre.

Cette représentation est cependant limitée aux intensités relatives des ions de chaque classe moléculaire et doit être utilisée de manière complémentaire à d'autres types de représentations graphiques afin d'interpréter au mieux les attributions moléculaires.

2.1.4.3.3 Diagrammes de Kendrick

Une autre approche utilisée pour simplifier l'interprétation des matrices complexes est la représentation graphique du défaut de masse de Kendrick (KMD). L'échelle de masse de Kendrick utilise comme référence CH_2 (14.01565 u) à la place de ^{12}C (12 u exactement) [37].

Le KMD peut être calculé en plusieurs étapes (2.1.21, 2.1.22, 2.1.23).

$$\text{Masse de Kendrick (CH}_2\text{)} = \text{masse IUPAC}_{\text{mesurée}} \times \frac{\text{masse nominale CH}_2}{\text{masse IUPAC CH}_2} \quad 2.1.21$$

$$= \text{masse IUPAC}_{\text{mesurée}} \times \frac{14}{14.01565} \quad 2.1.22$$

$$\text{KMD} = \text{masse nominale de Kendrick} - \text{masse de Kendrick (CH}_2\text{)} \quad 2.1.23$$

Par ces calculs de KMD, les composés qui ne diffèrent que par un ou plusieurs CH_2 auront une valeur de KMD identique. Les diagrammes de Kendrick sont construits à partir des défauts de masse de Kendrick par rapport à la masse nominale IUPAC ou la masse nominale de Kendrick. La Figure 2.16 représente un diagramme de Kendrick obtenu lors de l'étude de *Christine A. Hughey et al.* [38] Ce diagramme montre une séparation verticale en fonction des classes de composés (O , O_2 , O_3 , O_3S et O_5S) mais aussi en fonction des insaturations présentes dans les molécules pour une même classe de composés. Le nombre de groupe CH_2 se retrouve horizontalement pour chaque classe de composés. Cette représentation graphique est utile pour montrer des séries homologues de CH_2 mais aussi de séparer différentes classes de molécules en fonction de leurs natures et de leurs insaturations.

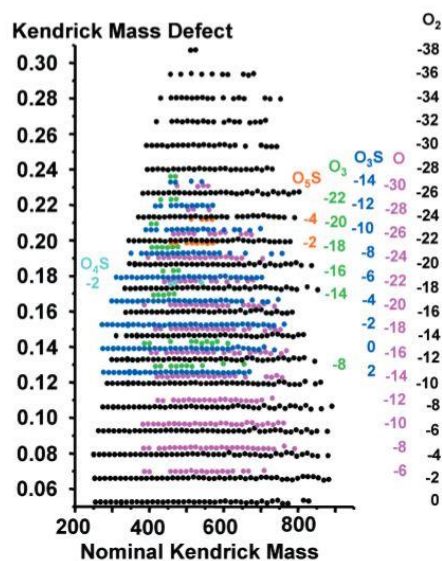


Figure 2.16: Diagramme de Kendrick obtenu à partir de l'analyse de pétrole brut, reproduit à partir de l'étude de *Christine A. Hughey et al* [38].

Enfin, il est possible d'utiliser des échelles autres que CH_2 , par exemple une échelle basée sur des unités monomériques de la lignine afin d'étudier les produits de dégradation de ce type d'échantillon [39].

2.1.4.3.4 Diagramme de van Krevelen

Le diagramme de van Krevelen est une approche graphique permettant de séparer des attributions moléculaires par familles. Ce diagramme a été introduit dans des études géochimiques pour déterminer l'évolution d'échantillons de charbons et d'huiles [40]. Ce diagramme a ensuite été adapté à l'analyse de matrices complexes par spectrométrie de masse [41]. Le diagramme de van Krevelen est construit à partir du ratio du nombre d'atomes d'hydrogène sur nombre d'atomes de carbone (H/C) et du ratio du nombre d'atomes d'oxygène par rapport au nombre d'atome de carbone (O/C). D'autres ratios peuvent être utilisés incluant d'autre hétéroatomes comme l'azote ou le soufre. De plus, des informations supplémentaires peuvent être rajoutées comme l'intensité relative des ions observés (aire du point) et le nombre de certains hétéroatomes (couleur). La Figure 2.17 présente un diagramme de van Krevelen obtenu à partir des données d'analyse de granulés de bois de hêtre par DIP-FTICR.

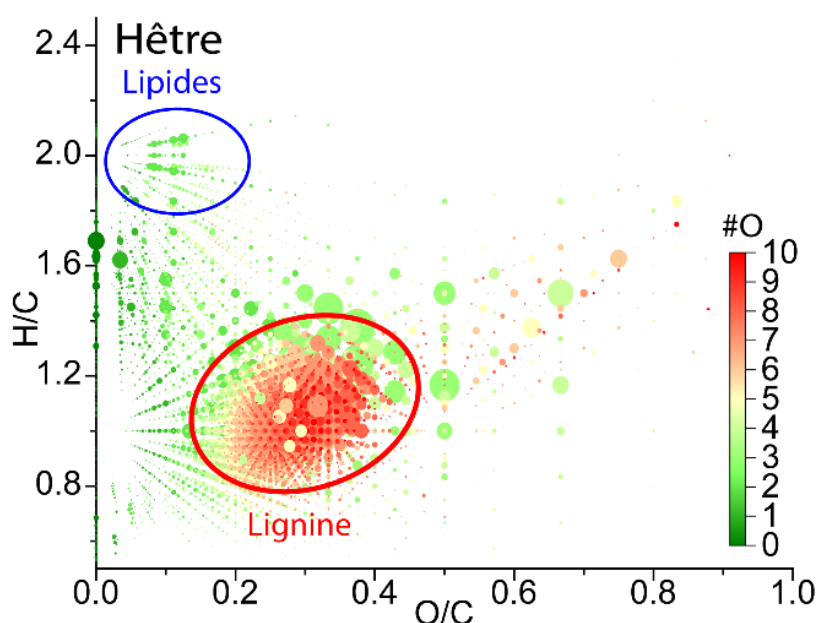


Figure 2.17: Diagramme de van Krevelen de l'analyse DIP-FTICR de bois de hêtre. La couleur des points correspond au nombre d'atomes d'oxygène et la taille des points correspond à l'intensité relative des attributions moléculaires.

Ce diagramme Figure 2.17 permet de mettre en évidence les familles moléculaires présentes dans les échantillons par leurs ratios H/C et O/C, notamment la famille des lipides et la famille des produits de dégradation de la lignine. Cette représentation graphique est un outil très puissant pour la comparaison des attributions moléculaires appartenant à des échantillons de différentes natures. Lors de la thèse, ce diagramme a été utilisé pour comparer différentes espèces de biomasses lignocellulosiques.

2.1.4.3.5 Diagramme équivalent double liaison (DBE) en fonction du nombre de carbones

Le dernier type de diagramme présenté au cours de cette thèse est le diagramme d'équivalent double liaison en fonction du nombre d'atomes de carbones (DBE vs #C). L'équivalent double liaison ou DBE correspond au nombre d'insaturations et cycles observés pour une attribution moléculaire. La DBE pour une molécule de formule $C_cH_hO_oN_n$ est calculée de la manière suivante (2.1.24) :

$$DBE = c + \frac{n}{2} - \frac{h}{2} + 1 \quad 2.1.24$$

Avec c, h et n, le nombre d'atomes de carbone, d'hydrogène et d'azote observées à partir de la formule brute d'une molécule étudiée. La DBE d'une molécule est ensuite couplée à son nombre d'atomes de carbone (noté #C) et représenté graphiquement pour une classe de molécules (HC, O₁, O₂, ...). Ce type de représentation graphique est très répandu pour l'analyse de composés pétroliers par sa capacité à donner des informations sur le caractère saturé ou insaturés des molécules d'une même classe de composés [42]. Un exemple de diagramme DBE vs #C est présenté Figure 2.18. Dans cet exemple, les composés de la classe O₈ sont représentés avec une DBE entre 5 et 25 et un nombre d'atomes de carbone entre 10 et 40. Les composés avec une haute DBE sont des composés fortement insaturés associés dans ce cas à des produits de dégradation de la lignine. Ce type de diagramme peut donc être intéressant pour réaliser une cartographie moléculaire de molécules présentes dans un mélange complexe.

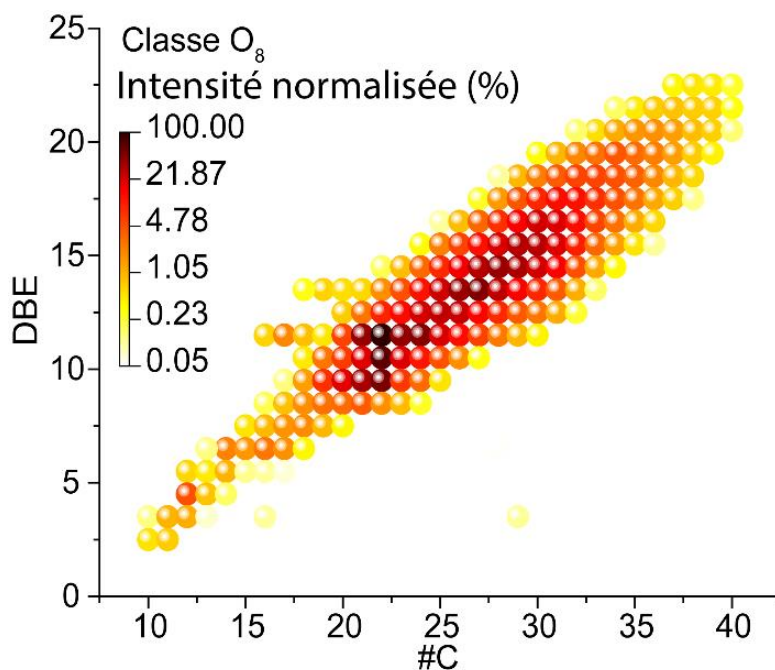


Figure 2.18: Diagramme DBE vs #C de la classe O₈ à partir de l'analyse DIP-FTICR de granulés de bois de hêtre. Le code couleur correspond à l'intensité normalisée (%)

Après avoir montré les différents types de diagrammes utilisés pour la représentation graphique des données obtenues par la spectrométrie de masse, nous allons présenter une autre manière d'aborder ces données par l'utilisation d'analyses statiques multivariées.

2.1.4.3.6 Analyses statistiques multivariées : analyses par composante principale

La section précédente de ce chapitre a montré l'utilité des cartographies moléculaires pour interpréter des données de spectrométrie de masse. Cependant, d'autres outils complémentaires peuvent être utilisés pour comparer des échantillons et notamment lorsque les échantillons ont peu de différences visibles entre eux. Les analyses statistiques peuvent être utilisées afin d'obtenir des informations sur les différences ou les similarités observées entre différents échantillons. Il existe plusieurs types d'analyses statistiques dont les analyses univariées et multivariées.

Les analyses univariées [43] permettent l'analyse d'une variable indépendamment des autres variables pour l'ensemble des échantillons. Dans le cas des données en spectrométrie de masse, ces analyses peuvent être utilisées par exemple pour comparer la moyenne des intensités d'un ion entre deux groupes d'échantillons. Plusieurs types de tests univariés peuvent être utilisés en fonction du nombre et du type de variables (quantitative ou qualitative) ainsi que du nombre d'échantillons.

Les analyses multivariées [44] permettent l'analyse de variables en prenant en compte les corrélations et dépendances des autres variables pour l'ensemble des échantillons. Dans le cas de la spectrométrie de masse, il est possible de comparer les intensités de tous les ions observés dans de multiples groupes d'échantillons. Plusieurs méthodes d'analyses multivariées existent dont l'analyse en composante principale (ACP).

L'analyse en composante principale est une technique statistique multivariée non supervisée permettant l'analyse statistique de matrices de données contenant de multiples variables dépendantes, généralement inter-corrélées. Le but de l'ACP est d'extraire et de simplifier les informations obtenues à partir d'un grand jeu de données. Cette méthode d'analyse statistique est basée sur la création de nouvelles variables non corrélées à partir d'une combinaison linéaire des variables d'origine. Ces nouvelles variables sont appelées composantes principales, correspondant à un certain pourcentage de la variabilité totale des individus (échantillons). Il est possible de réaliser une représentation plane des individus ou des variables grâce aux deux premières composantes principales représentant le plus de variabilité entre les individus. Un exemple de représentation graphique des individus est présenté Figure 2.19.

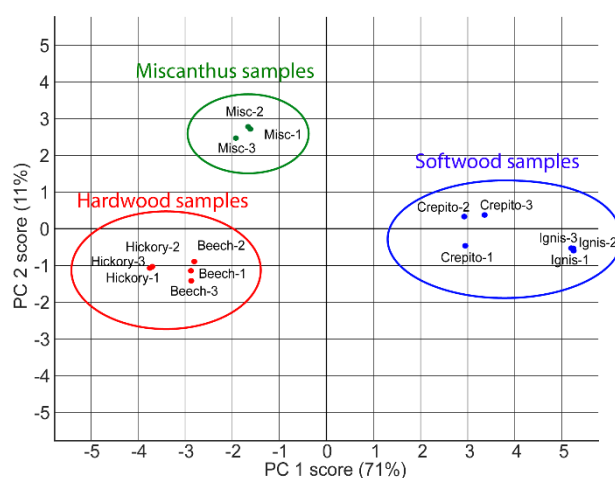


Figure 2.19: Graphique des individus obtenus lors de l'analyse en composante principale du suivi de la pyrolyse de bois par ASAP IMS TOF

Ici, cinq échantillons de biomasse sont comparés avec trois réplicats analytiques par échantillon. Le pourcentage de variabilité des deux premiers axes est ici de 71% et 11%. Les deux axes PC1 et PC2 représentent ainsi 82% de la variabilité totale des échantillons, sachant que l'axe PC1 explique à lui seul la majorité de la variabilité des échantillons. Cette séparation montre la différence de composition chimique entre les échantillons.

L'ACP est donc un outil très puissant permettant de montrer les similarités ou différences entre les échantillons ainsi que les corrélations entre les variables. Cependant, il est nécessaire avant d'utiliser cette analyse, de normaliser la matrice de données. En effet, la matrice dans le cas des données FTICR est composée des intensités de l'ensemble des attributions moléculaires observées pour tous les échantillons. Ces intensités sont ensuite normalisées en pourcentage. Si une attribution n'est pas présente, elle est considérée à 0 d'intensité.

2.2 La spectrométrie de mobilité ionique

La spectrométrie de mobilité ionique (IMS) est une technique séparative en phase gazeuse permettant la séparation d'ions en fonction de leur charge, de leur forme et de leur taille [45]. Cette technique est utilisée dans de nombreux domaines incluant la détection d'explosifs [46], drogues [47] et d'agents de guerre chimiques [48]. L'IMS peut être couplé à la spectrométrie de masse (IM-MS), permettant d'élargir le champ des applications par la combinaison de deux dimensions de séparation : le temps de dérive (t_D) et le rapport masse sur charge (m/z). L'IM-MS est un outil émergent pour la mise en évidence rapide d'isomères et pour l'étude des dynamiques conformationnelles [49].

2.2.1 Principe de la spectrométrie de mobilité ionique

Le principe de la spectrométrie de mobilité ionique repose sur le mouvement d'ions à travers une cellule de mobilité dans laquelle un champ électrique est appliqué en présence d'un gaz tampon (N_2 ou He). Le concept de la séparation d'ions par collision avec gaz inerte a été décrit par Langevin en 1903 [50]. Ce concept a ensuite été repris par Mason et Schamp en 1958 donnant naissance à la spectrométrie de mobilité ionique [51]. La Figure 2.20 illustre le principe de séparation des ions dans le cadre de la spectrométrie de mobilité ionique. Les ions entrent dans la cellule de mobilité (ici un tube de dérive) sont accélérés par un champ électrique puis entrent en collision avec un gaz tampon. Le temps que met l'ion à traverser la cellule de mobilité est nommé temps de dérive (t_D) qui est typiquement de l'ordre de la milliseconde.

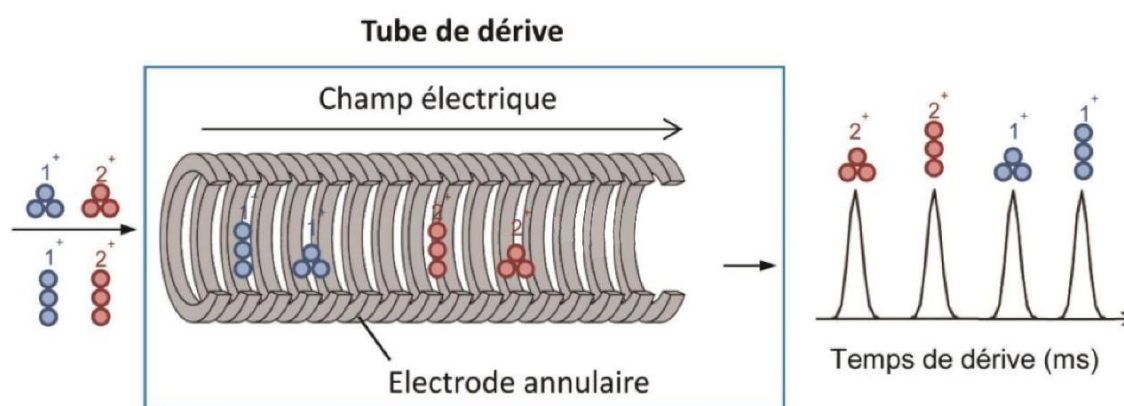


Figure 2.20: Principe de la séparation des ions en spectrométrie de mobilité ionique, reproduit à partir de la thèse de Kevin Jeanne Dit Fouque [32]

La vitesse de l'ion dans la cellule de mobilité est fonction de sa section efficace de collision (CCS) relative à sa forme et à sa taille en phase gazeuse ainsi que de sa charge. En effet, un ion compact aura un temps de dérive plus faible qu'un ion volumineux car moins ralenti par le gaz tampon. Les ions multichargés ont un temps de dérive plus faible que les ions monochargés car plus accélérés par le champ électrique.

Dans un tube de dérive, la vitesse (v_d) d'un ion accéléré dans un champ électrique dépend de la valeur d'intensité du champ électrique (E) et de sa mobilité (K), selon l'équation 2.2.1.

$$v_d = KE \quad 2.2.1$$

Il est aussi possible de représenter cette équation selon le temps de dérive (t_D) de l'ion mesuré, sachant qu'il dépend de sa vitesse (v_d) et de la longueur du tube de dérive (L) (2.2.2).

$$t_d = \frac{L}{KE} \quad 2.2.2$$

Le facteur de mobilité ionique K d'un ion dépend de sa taille, de sa charge et de sa section efficace de collision Ω , ainsi que de la nature du gaz tampon utilisé. En présence de champs électriques réduits (E/N) faibles, ces différents paramètres sont être reliés entre eux par l'équation de Mason-Schamp [51] (2.2.3).

$$K = \frac{3ze}{16N\sqrt{\mu}} \times \sqrt{\frac{2\pi}{kT}} \times \frac{1}{\Omega} \quad 2.2.3$$

Où z est le nombre de charge de l'ion, e la charge élémentaire ($1,6022 \cdot 10^{-19} \text{C}$), m la masse de l'ion, M la masse de la molécule du gaz tampon k la constante de Boltzmann ($1,3806 \cdot 10^{-23} \text{ m}^2 \cdot \text{kg} \cdot \text{s}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$), T la température du gaz tampon, N la densité particulaire du gaz tampon et μ correspondant à la masse réduite, calculée à partir de l.

$$\mu = \frac{mM}{m + M} \quad 2.2.4$$

Le facteur de mobilité ionique K est souvent normalisé à une densité N_0 correspondant aux conditions normales de température et de pression afin d'obtenir le facteur de mobilité ionique réduite K_0 , selon l'équation 2.2.5

$$K_0 = K \frac{p}{p_0} \frac{T_0}{T} \quad 2.2.5$$

2.2.2 Exemple de cellules de mobilité ionique : *traveling wave ion mobility mass spectrometry* (TWIMS)

Il existe plusieurs types de cellules de mobilité différenciées selon la nature de séparation (en fonction du temps ou du champ électrique) et/ou selon la nature du champ électrique (uniforme ou non uniforme) [52].

Les différentes cellules de mobilité existantes sont les suivantes :

- *Drift tube ion mobility spectrometry* (DTIMS);
- *Traveling wave ion mobility spectrometry* (TWIMS);
- *Trapped ion mobility spectrometry* (TIMS);
- *Field asymmetric ion mobility spectrometry* (FAIMS);
- *Cyclic ion mobility spectrometry* (cIMS);
- *Differential mobility* (DMA).

Seule la cellule *traveling wave* (TWIMS) sera présentée lors de ce chapitre. En effet, la cellule TWIMS a été utilisée lors de la thèse pour évaluer la proportion d'isomères obtenus lors de la pyrolyse de bois.

La technique d'analyse *traveling wave ion mobility spectrometry* commercialisée en 2006 par Waters [53] est basée sur l'utilisation d'un champ électrique variable dans le temps et l'espace. La cellule de mobilité remplie de gaz tampon est constituée d'une série d'électrodes annulaires servant de guide d'ions (*stacked ring ion guide* ou SRIG). Un champ radiofréquence (RF) de phases opposées est appliqué aux électrodes adjacentes afin de confiner radialement les ions, permettant ainsi d'améliorer le signal par la diminution de la diffusion des ions. Pour propulser les ions à travers le gaz tampon, une tension continue transitoire est superposée au champ RF d'une paire d'électrode à l'autre, créant ainsi des vagues de potentiel (*travelling waves*) se déplaçant le long de la cellule de mobilité. L'association de ces vagues de potentiel et du gaz tampon va permettre de séparer les ions en fonction de leur nombre de charges, de leur taille et de leur forme en phase gazeuse. Pour un même nombre de charge, les ions de plus grande taille subissent un nombre de collisions plus élevé avec le gaz tampon et seront moins facilement emportés par les vagues de potentiel, augmentant ainsi leur temps de dérive. Il est possible de modifier les paramètres de vitesses et hauteurs de vagues afin d'optimiser la séparation des ions en fonction des échantillons étudiés.

La détermination des sections efficaces de collision (CCS) dans le cadre du TWIMS nécessite un étalonnage avec des molécules de CCS connues.

2.2.3 Détermination des sections efficaces de collision expérimentales dans le cas du TWIMS

La cellule de mobilité TWIMS possède un champ électrique non uniforme, ne permettant pas de déterminer directement la valeur de section efficace de collision (CCS). En effet, la détermination directe de CCS expérimentales peut être réalisée avec un tube de dérive (DTIMS) selon l'équation de Mason-Schamp (2.2.6) :

$$\Omega = \frac{3ze}{16N\sqrt{\mu}} \times \sqrt{\frac{2\pi}{kT}} \times \frac{1}{K} \quad 2.2.6$$

Où Ω correspond à la CCS expérimentale, N la densité particulaire du gaz tampon, z le nombre de charge, e la charge de l'électron, m la masse de l'ion, M la masse de la molécule de gaz, k la constante de Boltzmann, T la température, et K le facteur de mobilité ionique qui est déterminé à partir du champ électrique E et du temps de dérive.

Cependant, il n'est pas possible d'utiliser cette équation pour le TWIMS sachant que son champ électrique n'est ni constant ni uniforme. Il est possible d'étalonner le TWIMS une fois les paramètres optimisés pour les analytes d'intérêt, en mesurant les temps de dérive d'ions de CCS connue, déterminées par DTIMS. Différents étalons peuvent être utilisés notamment la polyalanine [54] ou un mélange d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) [55]. L'équation 2.2.6 peut donc être modifiée pour inclure des constantes A et B (2.2.7) :

$$\Omega = \frac{3ze}{16N\sqrt{\mu}} \times \sqrt{\frac{2\pi}{kT}} \times \frac{760}{P} \times \frac{T}{273,15} \times At_d^B \quad 2.2.7$$

Où A est le facteur de correction pour les paramètres du champ électrique et B , facteur compensant l'effet non uniforme du champ électrique du TWIMS.

La section efficace de collision réduite noté Ω' , correspondante à une valeur indépendante de la charge et de la masse, peut être utilisée pour modifier l'équation 2.2.7, donnant lieu à l'équation 2.2.8:

$$\Omega' = \frac{3e}{16N} \times \sqrt{\frac{2\pi}{kT}} \times \frac{760}{P} \times \frac{T}{273,15} \times At_d^B \text{ Avec } \Omega' = \frac{\Omega\sqrt{\mu}}{z} \quad 2.2.8$$

Il est ensuite possible de regrouper les constantes incluant A, en une constante A' prenant en compte la température, la pression et le champ électrique (2.2.9) :

$$A' = \frac{3e}{16N} \times \sqrt{\frac{2\pi}{kT}} \times \frac{760}{P} \times \frac{T}{273,15} \times A \quad 2.2.9$$

L'équation 2.2.9 devient alors l'équation 2.2.10 :

$$\Omega' = A' t_d^B \quad 2.2.10$$

Ω devient alors (2.2.11) :

$$\Omega = \frac{z}{\sqrt{\mu}} \times A' t_d^B \quad 2.2.11$$

Il est ensuite possible de linéariser l'équation 2.2.11 afin d'obtenir une droite d'étalonnage permettant de déterminer les coefficients A' et B, comme illustré dans la Figure 2.21.

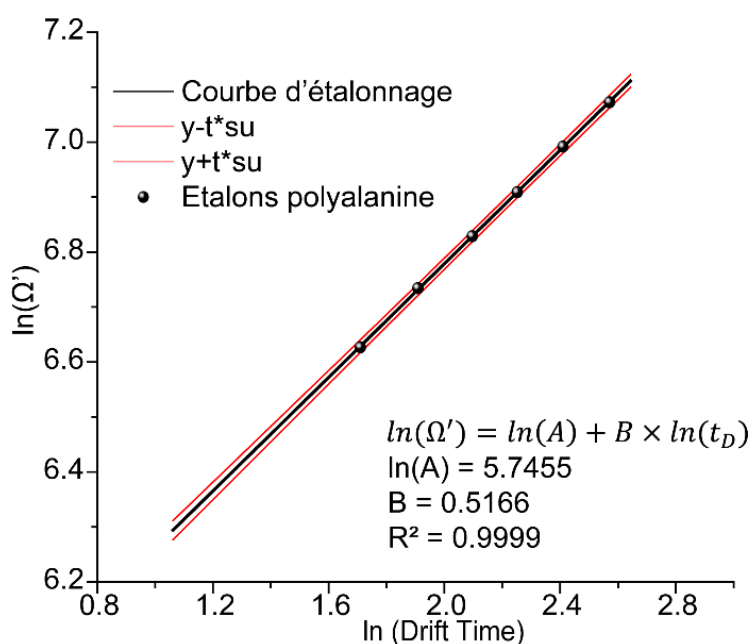


Figure 2.21: Droite d'étalonnage TWIMS polyalanine

L'étalonnage de la cellule TWIMS et l'analyse des échantillons doivent être réalisées avec les mêmes paramètres de mobilité ionique. Il est recommandé d'utiliser des composés de référence dans la même gamme de CCS et de m/z par rapport aux ions des échantillons analysés. Il est aussi recommandé d'avoir des composés de référence avec le nombre de charges ainsi que de structures chimiques similaires avec les analytes [56]. En effet, un décalage des CCS peut être observé suivant les étalons utilisés [4].

2.2.4 Appareillage : le Synapt G2 (Waters)

L'instrument utilisé lors de ma thèse est le Synapt G2, dont le schéma est présenté Figure 2.22. Cet appareil est constitué de sources d'ionisations à pression atmosphériques interchangeables (ESI, APCI, APPI et ASAP), d'un quadripôle, d'une cellule de mobilité TWIMS et d'un analyseur à temps de vol. Le quadripôle permet soit la sélection spécifique d'ions soit le guidage et la focalisation des ions. La cellule *tri-wave* est constitué de trois série de SRIG. La première série (*trap*) permet l'accumulation des ions, la seconde permet la séparation en mobilité ionique et la troisième permet le transfert des ions (*transfer*). Il est possible d'utiliser les SRIG du *trap* et *transfer* en tant que cellule de collision pour des expériences de spectrométrie de masse en tandem. En effet, la fragmentation peut être réalisée avant ou après la cellule de mobilité, permettant ainsi d'étudier ou non la mobilité ionique des fragments. L'analyseur temps de vol (TOF) du SYNAPT peut fonctionner selon trois modes : sensibilité, résolution (mode V) et haute résolution (mode W), différenciées par la distance de vol des ions dans l'analyseur TOF. Le mode W est le plus résolutif (40 000 de résolution), permettant aux ions d'effectuer trois réflexions au détriment d'une perte de sensibilité.

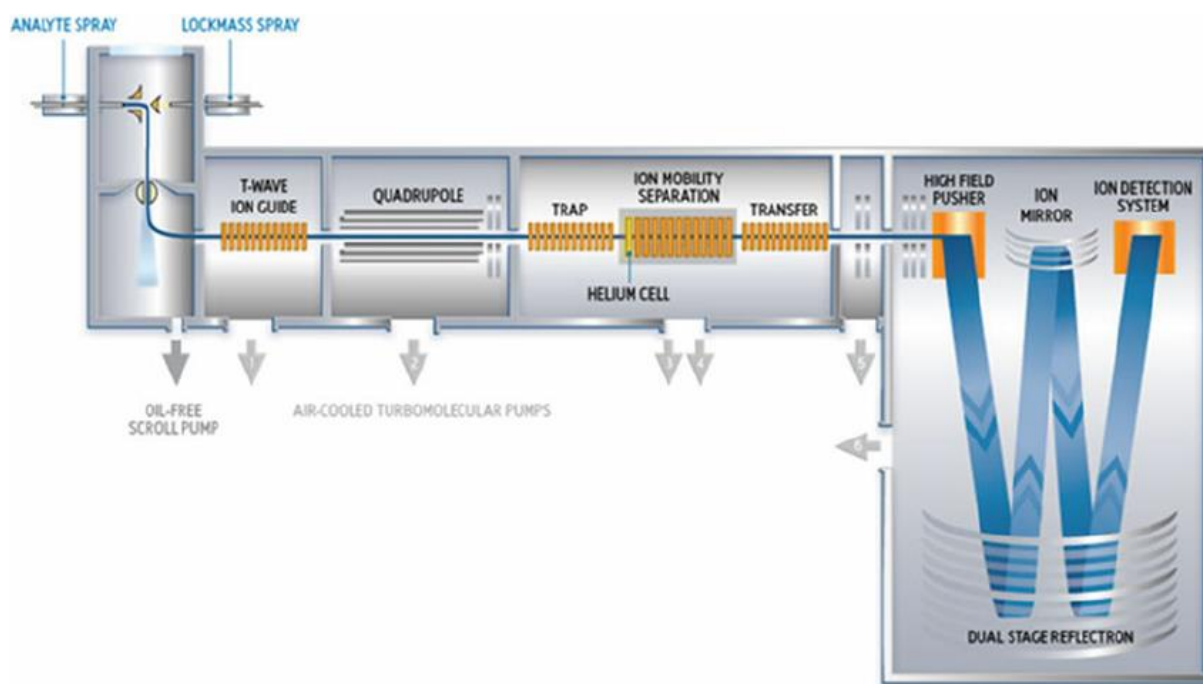


Figure 2.22: Schéma du synapt G2 de Waters

2.3 Chromatographie ionique

La chromatographie ionique (CI) introduite en 1975 par Small, Stevens et Bauman [57] est une technique analytique permettant la caractérisation de manière qualitative et quantitative d'espèce ioniques présentes dans un échantillon aqueux. Le principe de cette méthode est basé sur plusieurs mécanismes de séparation : la chromatographie d'échange d'ion (HPIC), la chromatographie d'exclusion d'ions (HPICE) et la chromatographie de pair d'ions (MPIC). Dans cette partie, la chromatographie d'échange d'ion sera développée car seul ce mécanisme de séparation a été utilisé dans le cadre de la thèse. L'échange d'ions est basée sur la réaction entre un échangeur et une solution appelé éluant [58-60]. Un échangeur d'ion en solution aqueuse est constitué d'anions, de cations et d'eau, où les anions ou cations sont chimiquement liés à une matrice solide. Les ions liés chimiquement à la matrice sont nommés ions fixés et les ions de charges opposés sont nommés ions. Cet échangeur d'ion est mis en contact avec une phase mobile (éluant) constitué d'autres cations ou anions. Une réaction d'échange va avoir lieu entre les contre ions présents sur l'échangeurs et ceux présents dans l'éluant. L'échangeur d'ion est considéré cationique quand l'ion fixé contient une charge négative et l'échangeur est considéré anionique quand l'ion fixé contient une charge positive. L'affinité préférentielle d'un ou l'autre ion pour l'échangeur est déterminée par la constante d'équilibre de la réaction d'échange d'ion (K), aussi nommé coefficient de sélectivité. Celui-ci est calculé à partir des concentrations molaires à l'équilibre des ions dans l'échangeur et l'éluant. Le coefficient de distribution D est un autre paramètre permettant d'exprimer l'équilibre d'échange ion. Il est défini par le ratio des concentrations des espèces ioniques présentes dans la phase d'échange et l'éluant.

Le système chromatographique utilisé lors de cette thèse est composé de différentes unités qui sont : le système de distribution de l'éluant, le système d'injection, la colonne de séparation, un suppresseur et le système de détection (Figure 2.23)

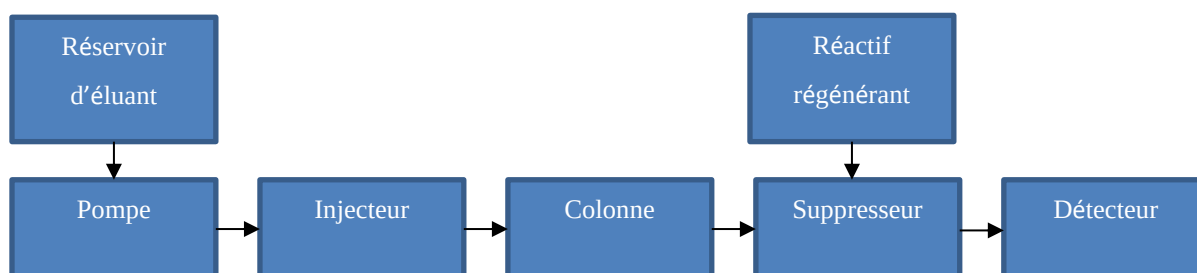


Figure 2.23: Système IC utilisé lors de la thèse

L'éluant sert au transport des ions injectés à travers le système chromatographique. L'injecteur va permettre d'introduire les espèces ioniques à analyser et la phase stationnaire présente dans la colonne va jouer le rôle d'échangeur d'ion. La séparation ayant lieu dans la colonne est illustrée Figure 2.24 dans le cadre d'un échange cationique. En effet, les cations de l'analyte transportés vers la colonne vont remplacer les cations de l'éluant liés à la résine par liaison ionique (Figure 2.24b). Ensuite, les cations de l'éluant vont remplacer à leur tour les cations de l'analyte pour revenir à l'état initial. Les analytes vont ensuite vers l'analyseur en fonction de leur temps de rétention dans la colonne.

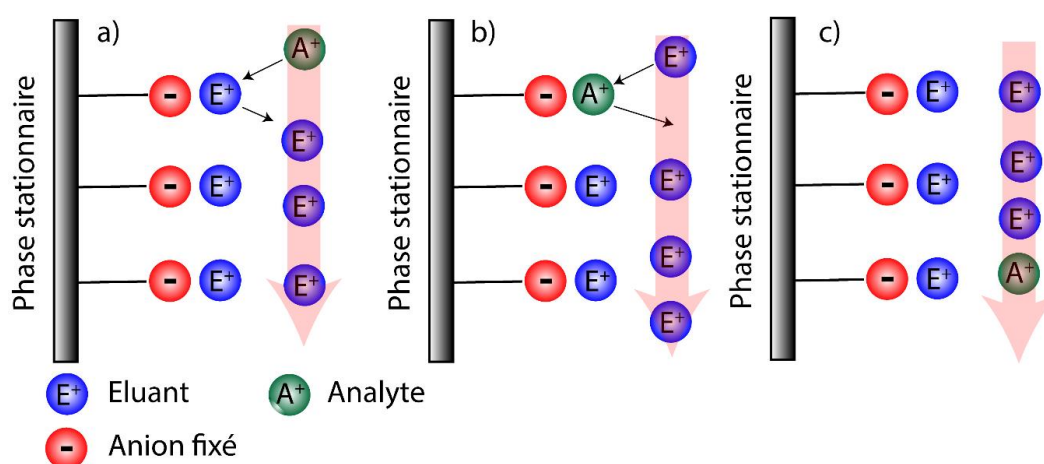


Figure 2.24: Principe de la séparation en chromatographie ionique avec a), les cations de l'analyte qui remplacent les cations de l'éluant, b) les cations de l'éluant qui remplacent les cations de l'analyte et c) les cations de l'analyte qui vont vers le système de détection après leur rétention.

La capacité de rétention des ions analytes est variable en fonction de leur affinité avec les ions fixés de la phase stationnaire mais aussi avec les ions de l'éluant. Plusieurs types de phase stationnaires existent comme les silices greffées [61] ou les phases monolithiques [62]. De plus, il existe plusieurs types de groupements fonctionnels échangeurs classés en fonction de leur polarité et de leur force. Les colonnes les plus utilisées sont des échangeuses de cations contenant des fonctions acides sulfonique ($-\text{SO}_3^-$, acide fort). Le choix de l'éluant est quant à lui fait en fonction de sa nature chimique, de sa concentration ainsi que de son pH.

Les analytes se dirigent vers le système de détection après avoir été séparés dans la colonne. La détection se fait dans notre cas par conductimétrie car tous les ions sont des conducteurs électriques. Les ions de l'analyte et d'éluant passent cependant par un suppresseur avant d'être quantifié.

Le suppresseur a pour but de diminuer la conductance de base et d'augmenter la conductance de l'analyte, améliorant ainsi le rapport signal sur bruit. Le système de suppression utilisé pendant la thèse est un système de suppression autorégénérant par électrodialyse (Figure 2.25). Dans ce système, une membrane est utilisée pour l'échange d'ions entre l'éluant contenant les analytes et les ions d'une autre solution circulant à contrecourant. Dans le cas du système de suppression autorégénérant, cette solution circulant à contrecourant est de l'eau. L'eau utilisée subit une décomposition électrolytique par l'action d'un champ électrique :

- A l'anode : $3H_2O \rightarrow 2H_3O^+ + \frac{1}{2}O_{2(g)} + 2e^-$;
- A la cathode : $2H_2O + 2e^- \rightarrow 2OH^- + H_2$.

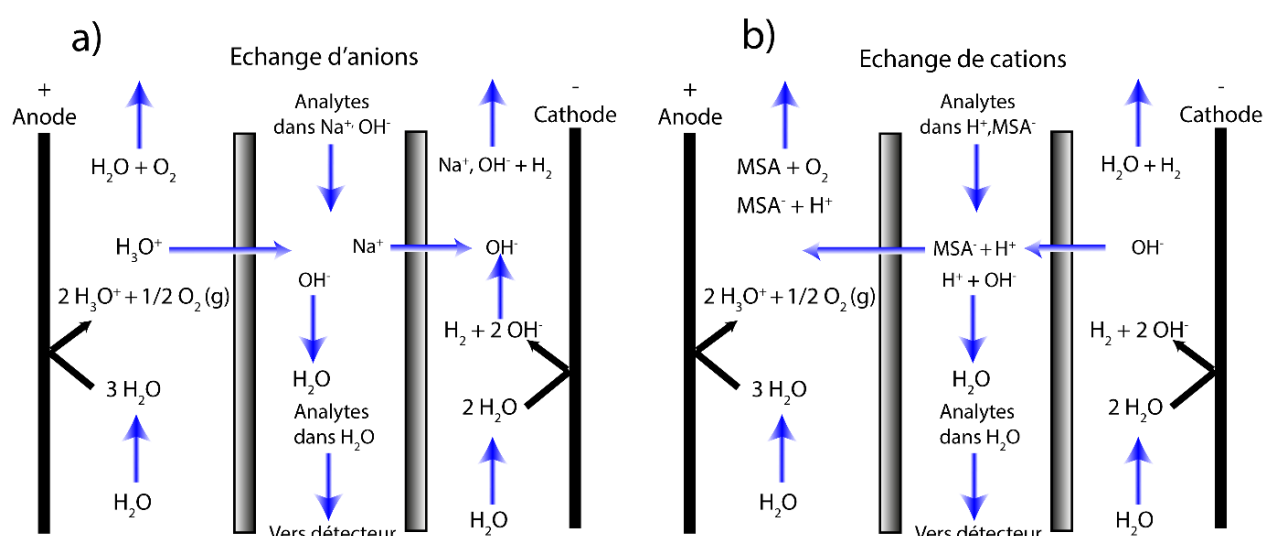


Figure 2.25: Système de suppression autorégénérant avec échange d'anion a) et échange de cation b)

Les ions générés par réaction électrolytique vont ensuite s'échanger avec les ions de l'éluant, permettant ainsi d'uniquement détecter les ions analytes par conductimétrie.

2.4 Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS)

L'analyse par source plasma à couplage inductif (ICP) est une technique d'analyse élémentaire permettant la qualification et la quantification de métaux rares et d'autres éléments. Cette technique est basée sur l'atomisation et l'ionisation de l'échantillon à partir d'un plasma d'argon pouvant atteindre des températures supérieures à 10 000 K. La source ICP peut être couplée à spectromètre d'émission optique (ICP-OES) ou à la spectrométrie de masse (ICP-MS). La technique par ICP-MS permet la quantification multi-élémentaire avec une sensibilité pouvant atteindre le ng/L, grâce à la résolution de la spectrométrie de masse pouvant sélectionner spécifiquement les éléments ciblés. Les premières publications du couplage ICP-MS ont vu le jour en 1980 et cette technique est devenue populaire à la suite de la commercialisation des premiers appareils ICP-MS en 1983. De plus, cette technique peut être couplée à d'autres appareillages comme la chromatographie liquide, l'ablation laser, la chromatographie en phase gazeuse et l'électrophorèse capillaire. L'ICP est utilisé dans de nombreux domaines d'application notamment l'environnement [63] ou la santé [64].

Le système ICP-MS est constitué de trois parties principales : le système d'introduction d'échantillon, la source à plasma et le spectromètre de masse (Figure 2.26).

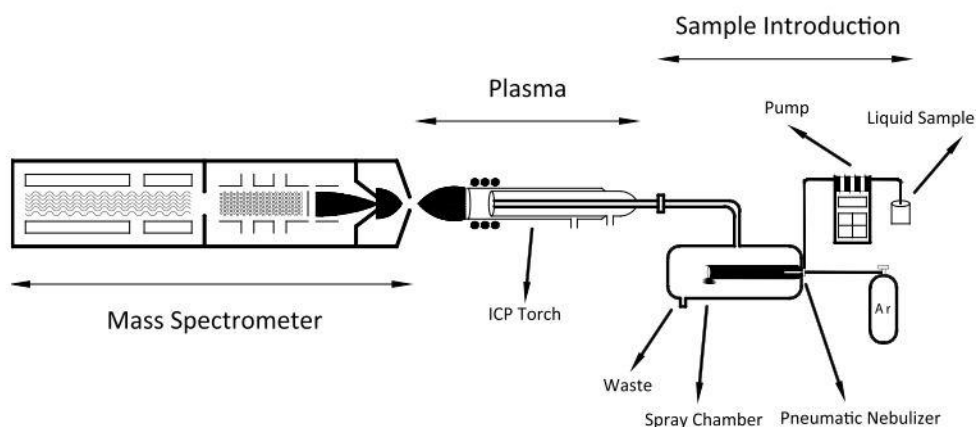


Figure 2.26: Diagramme du système ICP-MS, reproduit à partir de l'article de A.Kashani et J.Mostaghimi [65].

Le système d'introduction d'échantillon est composé d'une pompe péristaltique, d'un nébuliseur et d'une chambre. La pompe permet d'acheminer l'échantillon liquide jusqu'au nébuliseur où un flux d'argon va permettre de disperser l'échantillon liquide en fines gouttelettes. La chambre va ensuite permettre d'éliminer les gouttelettes de grandes tailles pour ne laisser passer que les gouttelettes de faibles diamètres au niveau de la torche à plasma.

La Figure 2.27 représente le schéma de fonctionnement de la torche à plasma. La torche est constituée de trois tubes en quartz concentriques. Le tube central contient l'aérosol de l'échantillon transporté par de l'argon. Un flux d'argon auxiliaire permettant le positionnement du plasma est injecté *via* le tube intermédiaire. Un flux de gaz plasmagène ou de refroidissement est apporté par le tube extérieur. Ce flux de gaz est introduit tangentielllement de manière à créer un tourbillon qui stabilise le plasma au centre de la torche tout en refroidissant les parois de la torche.

Un tube de cuivre refroidi par de l'eau entoure la partie supérieure de la torche. Un générateur radiofréquence est connecté à ce tube de cuivre induisant un champ magnétique oscillant à l'intérieur du flux d'argon. L'ionisation est initiée en général par l'utilisation d'une décharge électrique. En effet, les électrons introduits sont soumis aux oscillations du champ magnétique et rentrent en collision avec les atomes d'argon, causant ainsi son ionisation. Chaque particule chargée formée dans le flux de gaz est contrôlée par le champ magnétique induisant un mouvement à travers la torche. La résistance au mouvement induit des particules produit une augmentation de la température de l'ordre de 10 000 K [66]. Ce plasma généré permet par la suite d'atomiser puis d'ioniser les éléments d'intérêt.

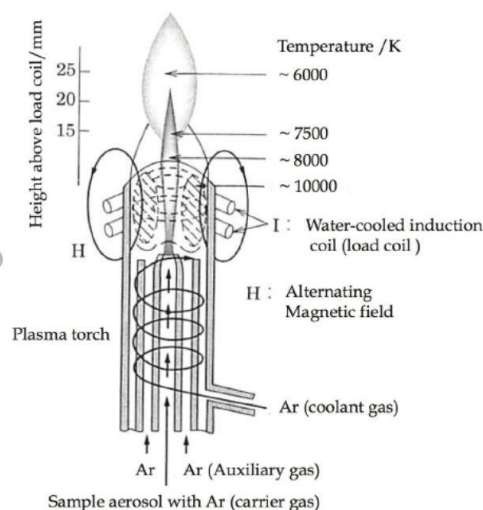


Figure 2.27: Schéma de fonctionnement de la torche ICP, repris du livre *Magnesium Alloys, corrosion and surface treatments* [67].

Les ions obtenus sont ensuite focalisés puis amenés vers le spectromètre de masse. Plusieurs analyseurs sont utilisés pour quantifier les ions d'intérêt, le plus utilisé étant le filtre quadripolaire présenté précédemment dans la section 2.1.3.1.

2.5 Références

1. Lacroix-Andrivet, O., et al., *Comparison of Silica and Cellulose Stationary Phases to Analyze Bitumen by High-Performance Thin-Layer Chromatography Coupled to Laser Desorption Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry*. *Energy Fuels*, 2020. **34**(8): p. 9296-9303.
2. Le Maître, J., et al., *Structural Analysis of Neutral Nitrogen Compounds Refractory to the Hydrodenitrogenation Process of Heavy Oil Fractions by High-Resolution Tandem Mass Spectrometry and Ion Mobility–Mass Spectrometry*. *Energy Fuels*, 2020. **34**(8): p. 9328-9338.
3. Reinhardt, A., et al., *Ultrahigh Mass Resolution and Accurate Mass Measurements as a Tool To Characterize Oligomers in Secondary Organic Aerosols*. *Anal. Chem.*, 2007. **79**(11): p. 4074-4082.
4. Deschamps, E., et al., *Determination of the collision cross sections of cardiolipins and phospholipids from *Pseudomonas aeruginosa* by traveling wave ion mobility spectrometry-mass spectrometry using a novel correction strategy*. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019. **411**(30): p. 8123-8131.
5. Rüger, C.P., et al., *Structural Study of Analogues of Titan's Haze by Trapped Ion Mobility Coupled with a Fourier Transform Ion Cyclotron Mass Spectrometer*. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2019. **30**(7): p. 1169-1173.
6. Ferey, J., et al., *A new optimization strategy for MALDI FTICR MS tissue analysis for untargeted metabolomics using experimental design and data modeling*. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019. **411**(17): p. 3891-3903.
7. Farenc, M., et al., *Effective Ion Mobility Peak Width as a New Isomeric Descriptor for the Untargeted Analysis of Complex Mixtures Using Ion Mobility-Mass Spectrometry*. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2017. **28**(11): p. 2476-2482.
8. Farenc, M., et al., *Characterization of Polyolefin Pyrolysis Species Produced Under Ambient Conditions by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry and Ion Mobility-Mass Spectrometry*. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2017. **28**(3): p. 507-514.
9. Fenn, J., et al., *Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules*. 1989. **246**(4926): p. 64-71.
10. Yamashita, M. and J.B. Fenn, *Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme*. *J. Phys. Chem.*, 1984. **88**(20): p. 4451-4459.
11. Banerjee, S. and S. Mazumdar, *Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte*. *Int. J. Anal. Chem.*, 2012. **2012**: p. 282574.
12. Rayleigh, L., *XX. On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricity*. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 1882. **14**(87): p. 184-186.
13. Carroll, D., et al., *Atmospheric pressure ionization mass spectrometry. Corona discharge ion source for use in a liquid chromatograph-mass spectrometer-computer analytical system*. 1975. **47**(14): p. 2369-2373.
14. Munson, M.S. and F.-H.J.J.o.t.A.C.S. Field, *Chemical ionization mass spectrometry. I. General introduction*. 1966. **88**(12): p. 2621-2630.
15. Harrison, A.G., *Chemical ionization mass spectrometry*. 1992: CRC press.
16. Field, F. and F.J.J.o.t.A.C.S. Lampe, *Reactions of gaseous ions. VI. Hydride ion transfer reactions*. 1958. **80**(21): p. 5587-5592.
17. Robb, D.B., T.R. Covey, and A.P. Bruins, *Atmospheric pressure photoionization: an ionization method for liquid chromatography-mass spectrometry*. *Anal. Chem.*, 2000. **72**(15): p. 3653-9.
18. McEwen, C.N., R.G. McKay, and B.S. Larsen, *Analysis of Solids, Liquids, and Biological Tissues Using Solids Probe Introduction at Atmospheric Pressure on Commercial LC/MS Instruments*. *Anal. Chem.*, 2005. **77**(23): p. 7826-7831.
19. Barrère, C., et al., *Rapid analysis of polyester and polyethylene blends by ion mobility-mass spectrometry*. *Polym. Chem*, 2014. **5**(11): p. 3576-3582.
20. Gaiffe, G., et al., *Characterization of Fluorinated Polymers by Atmospheric-Solid-Analysis-Probe High-Resolution Mass Spectrometry (ASAP/HRMS) Combined with Kendrick-Mass-Defect Analysis*. *Anal. Chem.*, 2018. **90**(10): p. 6035-6042.
21. Cossoul, E., et al., *Evaluation of atmospheric solid analysis probe ionization coupled to ion mobility mass spectrometry for characterization of poly(ether ether ketone) polymers*. *Anal. Chim. Acta*, 2015. **856**: p. 46-53.
22. Paul, W. and H. Steinwedel, *A NEW MASS SPECTROMETER WITHOUT A MAGNETIC FIELD*. 1953.
23. Dass, C., *Fundamentals of contemporary mass spectrometry*. Vol. 16. 2007: John Wiley & Sons.
24. Gross, J.H. and P. Roepstorff, *Mass Spectrometry: A Textbook*. 2011: Springer Berlin Heidelberg.
25. Wolff, M.M. and W.E. Stephens, *A Pulsed Mass Spectrometer with Time Dispersion*. *Rev. Sci. Instrum.*, 1953. **24**(8): p. 616-617.
26. Mamyrin, B.A., et al., *The mass-reflectron, a new nonmagnetic time-of-flight mass spectrometer with high resolution*. 1973. **37**: p. 45.

27. Choi, J.H., et al., *In-depth compositional analysis of water-soluble and -insoluble organic substances in fine (PM_{2.5}) airborne particles using ultra-high-resolution 15T FT-ICR MS and GC×GC-TOFMS*. Environ. Pollut., 2017. **225**: p. 329-337.
28. Jarvis, J.M., et al., *Characterization of Pine Pellet and Peanut Hull Pyrolysis Bio-oils by Negative-Ion Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry*. Energy Fuels, 2012. **26**(6): p. 3810-3815.
29. Lawrence, E.O. and M.S. Livingston, *The Production of High Speed Protons Without the Use of High Voltages*. Physical Review, 1931. **38**(4): p. 834-834.
30. Hipple, J.A., H. Sommer, and H.A. Thomas, *A Precise Method of Determining the Faraday by Magnetic Resonance*. Physical Review, 1949. **76**(12): p. 1877-1878.
31. Comisarow, M.B. and A.G. Marshall, *Fourier transform ion cyclotron resonance spectroscopy*. Chem. Phys. Lett., 1974. **25**(2): p. 282-283.
32. Jeanne dit Fouque, K., *Différenciation de topoisomères peptidiques par spectrométrie de masse à mobilité ionique et spectrométrie de masse en tandem*. 2016. p. 1 vol. (325 p.).
33. Marshall, A.G., C.L. Hendrickson, and G.S. Jackson, *Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: A primer*. 1998. **17**(1): p. 1-35.
34. Kind, T. and O. Fiehn, *Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry*. BMC Bioinformatics, 2007. **8**(1): p. 105.
35. Venn, J., *I. On the diagrammatic and mechanical representation of propositions and reasonings*. The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science, 1880. **10**(59): p. 1-18.
36. Heberle, H., et al., *InteractiVenn: a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams*. BMC Bioinformatics, 2015. **16**(1): p. 169.
37. Kendrick, E., *A Mass Scale Based on CH₂ = 14.0000 for High Resolution Mass Spectrometry of Organic Compounds*. Anal. Chem., 1963. **35**(13): p. 2146-2154.
38. Hughey, C.A., et al., *Kendrick Mass Defect Spectrum: A Compact Visual Analysis for Ultrahigh-Resolution Broadband Mass Spectra*. Anal. Chem., 2001. **73**(19): p. 4676-4681.
39. Dier, T.K.F., et al., *Enhanced Mass Defect Filtering To Simplify and Classify Complex Mixtures of Lignin Degradation Products*. Anal. Chem., 2016. **88**(2): p. 1328-1335.
40. Hatcher, P.G., et al., *Solid-state ¹³C nuclear magnetic resonance studies of coalified gymnosperm xylem tissue from Australian brown coals*. Org. Geochem., 1989. **14**(2): p. 145-155.
41. Kim, S., R.W. Kramer, and P.G. Hatcher, *Graphical Method for Analysis of Ultrahigh-Resolution Broadband Mass Spectra of Natural Organic Matter, the Van Krevelen Diagram*. Anal. Chem., 2003. **75**(20): p. 5336-5344.
42. Marshall, A.G. and R.P. Rodgers, *Petroleomics: Chemistry of the underworld*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008. **105**(47): p. 18090.
43. Saccenti, E., et al., *Reflections on univariate and multivariate analysis of metabolomics data*. Metabolomics, 2014. **10**(3): p. 361-374.
44. Rencher, A.C., *Methods of multivariate analysis*. Vol. 492. 2003: John Wiley & Sons.
45. Kanu, A.B., et al., *Ion mobility-mass spectrometry*. J. Mass Spectrom., 2008. **43**(1): p. 1-22.
46. Ewing, R.G., et al., *A critical review of ion mobility spectrometry for the detection of explosives and explosive related compounds*. Talanta, 2001. **54**(3): p. 515-529.
47. Keller, T., et al., *Detection of designer drugs in human hair by ion mobility spectrometry (IMS)*. Forensic Sci. Int., 1998. **94**(1): p. 55-63.
48. Mäkinen, M.A., O.A. Anttalainen, and M.E.T. Sillanpää, *Ion Mobility Spectrometry and Its Applications in Detection of Chemical Warfare Agents*. Anal. Chem., 2010. **82**(23): p. 9594-9600.
49. Lanucara, F., et al., *The power of ion mobility-mass spectrometry for structural characterization and the study of conformational dynamics*. Nat. Chem., 2014. **6**(4): p. 281-294.
50. Langevin, M.J.J.P.T.A., *Recombinaison et diffusion des ions gazeux*. 1905. **4**(1): p. 322-333.
51. Mason, E.A. and H.W. Schamp, *Mobility of gaseous ions in weak electric fields*. Annals of Physics, 1958. **4**(3): p. 233-270.
52. Dodds, J.N. and E.S. Baker, *Ion Mobility Spectrometry: Fundamental Concepts, Instrumentation, Applications, and the Road Ahead*. J. Am. Soc. Mass. Spectrom., 2019. **30**(11): p. 2185-2195.
53. Pringle, S.D., et al., *An investigation of the mobility separation of some peptide and protein ions using a new hybrid quadrupole/travelling wave IMS/oa-ToF instrument*. Int. J. Mass Spectrom., 2007. **261**(1): p. 1-12.
54. Bush, M.F., I.D.G. Campuzano, and C.V. Robinson, *Ion Mobility Mass Spectrometry of Peptide Ions: Effects of Drift Gas and Calibration Strategies*. Anal. Chem., 2012. **84**(16): p. 7124-7130.
55. Zheng, X., et al., *Utilizing ion mobility spectrometry and mass spectrometry for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenyl ethers and their metabolites*. Anal. Chim. Acta, 2018. **1037**: p. 265-273.

56. Gabelica, V., et al., *Recommendations for reporting ion mobility Mass Spectrometry measurements*. Mass Spectrom. Rev., 2019. **38**(3): p. 291-320.
57. Small, H., T.S. Stevens, and W.C. Bauman, *Novel ion exchange chromatographic method using conductimetric detection*. Anal. Chem., 1975. **47**(11): p. 1801-1809.
58. Haddad, P.R. and P.E. Jackson, *Ion chromatography*. 1990: Elsevier.
59. Fritz, J.S.J.A.C., *Ion chromatography*. 1987. **59**(4): p. 335A-344A.
60. Weiss, J., *Handbook of Ion Chromatography, 3 Volume Set*. Vol. 1. 2016: John Wiley & Sons.
61. Krokhin, O.V., et al., *Modified silica as a stationary phase for ion chromatography*. J. Chromatogr. A, 1995. **706**(1): p. 93-98.
62. Chambers, S.D., K.M. Glenn, and C.A. Lucy, *Developments in ion chromatography using monolithic columns*. 2007. **30**(11): p. 1628-1645.
63. Vonderheide, A.P., et al., *Use of optional gas and collision cell for enhanced sensitivity of the organophosphorus pesticides by GC-ICP-MS*. J. Anal. At. Spectrom., 2003. **18**(9): p. 1097-1102.
64. Hata, A., et al., *HPLC-ICP-MS Speciation Analysis of Arsenic in Urine of Japanese Subjects without Occupational Exposure*. 2007. **49**(3): p. 217-223.
65. Kashani, A. and J. Mostaghimi, *AEROSOL CHARACTERIZATION OF CONCENTRIC PNEUMATIC NEBULIZER USED IN INDUCTIVELY COUPLED PLASMA—MASS SPECTROMETRY (ICP-MS)*. 2010. **20**(5): p. 415-433.
66. Jarvis, I. and K.E. Jarvis, *Plasma spectrometry in the earth sciences: techniques, applications and future trends*. Chem. Geol., 1992. **95**(1): p. 1-33.
67. Uemoto, M., *Instrumental Chemical Analysis of Magnesium and Magnesium Alloys in Magnesium Alloys - Corrosion and Surface Treatments*, IntechOpen, Editor. 2011.

Chapitre 3 : Développement de méthodes analytiques pour la caractérisation de produits de pyrolyse de la biomasse lignocellulosique

Chapitre 3 : Développement de méthodes analytiques pour la caractérisation de produits de pyrolyse de la biomasse lignocellulosique

Dans ce chapitre, le développement de méthodes analytiques thermochimiques pour la caractérisation directe de la biomasse lignocellulosique sera présenté. En effet la thermo-désorption et pyrolyse peut être utilisée pour la caractérisation de biomasse par désorption des extractibles et dépolymérisation des constituants de la biomasse. Elle est ici appliquée à des granulés de bois et d'herbacés. Pendant cette thèse, deux études ont été réalisées pour la caractérisation des produits de thermo désorption et pyrolyse de la biomasse lignocellulosique, présentées sous la forme d'articles.

La première étude a été réalisée dans le but de développer une méthode permettant l'analyse directe les échantillons solides issus de la biomasse lignocellulosique. En effet, ces échantillons étant peu solubles dans de nombreux solvants, la désorption thermique et pyrolyse est une alternative rapide et simple à mettre en œuvre. La sonde d'insertion directe (DIP) couplée au spectromètre de masse à mouvement cyclonique ionique à transformée de Fourier (FTICR MS) a été choisie dans ce but. Cette sonde a été utilisée avec deux sources d'ionisation à pression atmosphérique : une source à ionisation chimique (APCI) et une autre photochimique (APPI). Nous avons comparé ces deux sources d'ions entre elles afin de sélectionner celle apportant le plus d'informations sur les produits de pyrolyse de la biomasse. La finalité de la méthode développée est de différencier des espèces de biomasse et de trouver des marqueurs moléculaires spécifiques de ces espèces. Ce développement de méthode fait l'objet d'un article publié sous la référence « Castilla, C., et al. (2020). "Direct Inlet Probe Atmospheric Pressure Photo and Chemical Ionization Coupled to Ultrahigh Resolution Mass Spectrometry for the Description of Lignocellulosic Biomass." Journal of the American Society for Mass Spectrometry 31(4): 822-831. »

L'utilisation d'une sonde d'insertion directe couplée à la spectrométrie de masse à ultra haute résolution (DIP FTICR MS) a permis la caractérisation isobarique des produits de thermo-désorption et pyrolyse de bois. Cependant, les informations structurales données par cette méthode sont limitées aux formules brutes. La spectrométrie de mobilité ionique est une méthode complémentaire à la spectrométrie de masse permettant de donner des informations sur la présence d'isomères par le biais de descripteurs que sont le temps de dérive ainsi que de la section efficace de collision (CCS). Dans la seconde étude réalisée, nous avons mis en œuvre

une technique d'insertion directe analogue au DIP pour la caractérisation de biomasses lignocellulosiques : l'*atmospheric solid analysis probe* couplée à la mobilité ionique et à un analyseur temps de vol (ASAP IM-TOF MS). Cette technique a été utilisée pour l'analyse de cinq échantillons issus de la biomasse lignocellulosique après vérification de la présence d'isobares par DIP FTICR MS. A partir des données obtenues avec l'ASAP IMS TOF, validées par l'ultra haute résolution du DIP FTICR, des marqueurs spécifiques de certaines espèces de bois ont été extraits par analyse en composantes principales. Des sections efficaces de collision expérimentales ($^{TW}CCS_{N_2}$) ont été déterminées pour ces marqueurs. De plus, une comparaison de CCS expérimentales a été effectuée entre des produits de pyrolyse de la biomasse et des molécules commerciales attendues dans la dégradation de la biomasse lignocellulosique. Enfin, des expériences de MS/MS en tandem ont été effectuées afin de mettre en évidence la présence d'isomères dans les produits de pyrolyse du bois. Cette étude fait l'objet d'un article publié sous la référence « Castilla, C., et al., Ion mobility mass spectrometry of in situ generated biomass pyrolysis products. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2021. 156: p. 105164 »

Résumé étendu de l'article : "Direct Inlet Probe Atmospheric Pressure Photo and Chemical Ionization Coupled to Ultrahigh Resolution Mass Spectrometry for the Description of Lignocellulosic Biomass"

Le but de cet article est de développer une méthode rapide de caractérisation thermochimique non ciblée de la biomasse lignocellulosique. Pour cela, trois échantillons de bois dur sous la forme de granulés ont été analysés par sonde d'insertion directe couplée à la spectrométrie de masse à ultra haute résolution (DIP FTICR MS). Le fonctionnement de la sonde DIP est basé sur la désorption thermique et pyrolyse d'un échantillon solide ou liquide soumis à un flux chaud d'azote, puis sur l'ionisation des molécules désorbées/pyrolysées par la source d'ionisation.

La première partie de cette étude est basée sur la comparaison de deux sources d'ionisation couplée avec la sonde DIP : les sources atmosphériques à ionisation chimique et photo ionisation (respectivement APCI et APPI). La Figure 3.1 de l'article représente les profils de désorption et pyrolyse obtenus lors d'analyse DIP APCI/APPI FTICR MS de granulés de bois de hêtre et la Figure 3.2 représente les spectres de masse moyens de ces profils respectifs. La première observation faite pour les profils de désorption est la différence d'intensité totale entre les deux sources d'ionisation. En effet, le profil de désorption DIP-APPI est moins intense comparé au profil de désorption DIP-APCI. Cette différence est aussi observable au niveau des spectres de masse, moins complexes en DIP-APPI. Les spectres de masse moyens montrent une distribution bimodale pouvant correspondre aux produits monomériques et dimériques de la dégradation de la ligne, ainsi que des produits de dégradation de la cellulose et hémicellulose. Le signal plus faible observé avec le DIP-APPI peut être expliqué par le manque de dopant pour favoriser l'ionisation avec cette source. En effet, les composés ionisés en DIP-APPI ont une énergie d'ionisation plus faible que les photos VUV de 10,6 eV émis par la lampe Krypton de la source. Les molécules qui sont le plus susceptibles de s'ioniser sont les produits de dégradation dimériques et monomériques de la lignine

La comparaison des sources DIP-APPI et DIP-APCI est réalisée plus en détail avec les attributions moléculaires générées grâce à la résolution et la précision de masse du FTICR. Une stratégie d'étalonnage scan par scan a dû être mise en place afin de corriger une variation de m/z liée à la non-homogénéité du nombre d'ions présents dans la cellule ICR lors de l'analyse. Cet étalonnage spécifique a permis de diminuer les erreurs d'attribution, augmentant ainsi la

qualité des formules brutes déterminées. Environ 4700 et 1700 attributions moléculaires ont été déterminées avec la source DIP-APCI et DIP-APPI respectivement.

La Figure 3.3 montre l'intensité relative en fonction de classes moléculaire ainsi que la répartition de la DBE en fonction des classes moléculaires pour les analyses DIP-APCI et DIP-APPI de granulés de bois de hêtre. Les molécules observées sont de formules $C_cH_hO_o$ avec un nombre d'atomes d'oxygène entre 0 et 10. Des différences d'intensité sont observées entre la source APCI et APPI pour les classes C_cH_h , C_cH_hO , $C_cH_hO_2$, $C_cH_hO_5$, $C_cH_hO_6$, et $C_cH_hO_7$, la plus grande différence étant pour les classes $C_cH_hO_6$, et $C_cH_hO_7$, correspondant aux dimères de lignine.

La Figure 3.4 présente les diagrammes du défaut de masse vs masse nominale et de van Krevelen des attributions moléculaires obtenues par l'analyse DIP-APCI et DIP-APPI. L'utilisation de ces diagrammes permet d'avoir des informations supplémentaires sur les différentes familles moléculaires observées pendant le processus de pyrolyse. Pour le diagramme défaut de masse vs masse nominale, deux distributions d'ions sont observées pour l'analyse DIP-APCI des granulés de bois de hêtre, tandis qu'une seule distribution d'ion est observée pour l'analyse DIP-APPI de ce même échantillon. Une distribution d'ions commune aux deux sources d'ionisation est présente. Cette distribution commune aux deux sources présente un faible défaut de masse ainsi qu'un nombre variable d'atomes d'oxygène, correspondant ainsi aux produits de dégradation de la lignine. La distribution d'ions unique à l'APCI est constituée d'ions à défauts de masse élevés avec peu d'atomes d'oxygène, correspondant à des composés aliphatiques de type alcools gras, acides gras ou esters. Des observations similaires ont été notées pour les diagrammes de van Krevelen. Les résultats présentés dans la première partie de l'étude montrent la différence d'ionisation entre les sources DIP-APCI et DIP-APPI. En effet, la source DIP-APPI est plus spécifique des produits de dégradation de la lignine tandis que la source DIP-APCI est générique des produits de dégradation du bois incluant les produits de dégradation de la lignine ainsi que des extractibles (acides gras, alcools gras...). La source DIP-APCI a été utilisée dans la suite de cette étude par son exhaustivité.

La seconde partie de l'article est basé sur l'étude de quatre régions du profil de thermo désorption et pyrolyse de granulés de bois de hêtre par DIP-APCI. Les quatre régions choisies correspondent au début de la thermo-désorption (a), à la transition vers les produits de pyrolyse au maximum d'intensité en ions (b), aux produits principaux de pyrolyse (c) puis enfin, aux

résidus des produits de pyrolyse et de désorption (d). Les spectres de masses des quatre régions sélectionnées sont présentés avec la Figure 3.5 et montrent des profils de masse différents. Après attribution à une formule brute des signaux des spectres de masse des quatre régions isolées, une comparaison a été effectuée par histogramme d'intensité relative et de la distribution de la DBE en fonction des classes molécules, ainsi que par diagrammes de van Krevelen (Figure 3.6). Au début du processus de désorption (a), des composés hydrocarbonés ainsi que des composés contenant entre un et quatre atomes d'oxygènes de DBE relativement faible sont retrouvés. Ces composés peuvent correspondre aux composés volatils présents en surface de l'échantillon comme des acides gras, esters gras et les produits monomérique de la lignine les plus volatils. Les ions observés au maximum d'intensité du profil de désorption (b) sont majoritairement composés de molécules avec un nombre d'atomes d'oxygène entre trois et sept avec la DBE médiane la plus élevée par rapport aux autres régions temporelles extraites. Ces composés insaturés avec un haut nombre d'atomes d'oxygène sont des produits de dégradation monomériques et dimériques de la lignine. Lors de la diminution du signal du profil de désorption et pyrolyse (c), les ions observés contiennent principalement un nombre d'atomes d'oxygène entre un et sept dont la DBE médiane diminue par rapport à la région (b). Une partie de ces ions sont constitués de composés saturés avec peu d'atomes d'oxygène (acides gras, esters, alcools gras...) tandis que les autres ions sont constitués de produits monomériques et dimériques de dégradation de la lignine. Les ions observés à la fin du profil de désorption sont principalement composés de composés ayant deux et trois atomes d'oxygènes avec une fraction plus faible de composés ayant zéro, un et quatre atomes d'oxygène. La DBE médiane est la plus faible parmi les quatre régions isolées du profil de désorption et pyrolyse. Les résidus observés correspondent à des produits monomériques de dégradation de la lignine ainsi que des acides gras.

La dernière partie de cette étude est basé sur l'application de la méthode DIP APCI FTICR pour la comparaison de trois espèces de bois dur : le bois de hêtre, le chêne et l'érable. Cette comparaison a été réalisée avec une analyse par composante principale après filtration des données par ANOVA et extraction des valeurs significatives. La Figure 3.7 montre le graphique des individus des deux premières composantes principales pour les trois échantillons, correspondant à 85% de la variance totale. Ce graphique montre une séparation selon l'axe de la première composante principale (PC1) entre les granulés de bois de hêtre et les autres espèces de bois étudiées. Enfin, la Figure 3.8 présente un diagramme de van Krevelen modifié avec les coefficients PC1 en tant que code couleur. Certains dimères de lignine ainsi que des composés

insaturés ont été retrouvés préférentiellement dans le chêne et l'érable tandis que des composés monomériques de la dégradation de la lignine ont été retrouvés dans les granulés de bois de hêtre.

3.1 Article 1: Direct inlet probe atmospheric pressure photo and chemical ionization coupled to ultra-high resolution mass spectrometry for the description of lignocellulosic biomass

Clément Castilla¹, Christopher P. Rüger^{1,2}, Stéphane Marcotte¹, Hélène Lavanant¹, Carlos Afonso¹

1. Normandie Univ, UNIROUEN, INSA Rouen, CNRS, COBRA, 76000 Rouen, France
2. Universität Rostock, Institut für Chemie, Abteilung für Analytische und Technische Chemie, Dr.-Lorenz.-Weg 1, Rostock, DE 18059

3.1.1 **Abstract**

Lignocellulosic biomass, in particular wood, is a complex mixture containing cellulose, hemicellulose, lignin, and other trace compounds. Chemical analysis of these biomasses, especially lignin components, is a challenge. Lignin is a highly reticulated polymer that is poorly soluble and usually requires chemical, enzymatic, or thermal degradation for its analysis. Here, we studied the thermal degradation of lignocellulosic biomass using a direct insertion probe (DIP). DIP was used with two ionization sources: atmospheric pressure chemical ionization (APCI) and atmospheric pressure photoionization (APPI) coupled to ultra-high-resolution mass spectrometry. Beech lignocellulosic biomass sample were used to develop the DIP-APCI/APPI methodology. Two other wood species (maple and oak) were analyzed after optimization of DIP parameters. The two ionization sources were compared at first and showed different response towards beech sample, according to the source specificity. APPI was more specific to lignin degradation compounds, whereas APCI covered a larger variety of oxygenated compounds, *e.g.*, fatty acids, polyphenolics compounds, in addition to lignin degradation products. The study of the thermo-desorption profile gave information on the different steps of lignocellulosic biomass pyrolysis. The comparison of the three feed sample types (oak, maple, and beech), using principal component analysis (PCA) with DIP-APCI experiments, showed molecular level differences between beech wood pellets and the two others wood species (maple and oak).

Keywords: direct inlet probe, high-resolution mass spectrometry, biomass, APPI, APCI

3.1.2 Introduction

Lignocellulosic biomass, such as wood, is an abundant and renewable source of energy that can be used as an alternative to fossil fuel, *e.g.*, directly for heating purposes or after conversion as biofuel. In recent years household heating with wood pellets has become more and more popular, related to traditional logwood stove heating. Furthermore, bio-oils obtained by pyrolysis of lignocellulosic biomass are already generated in various plants on an industrial scale.¹ Thus, the overall use of lignocellulosic biomass has been drastically increasing, resulting in an intensified need to investigate the evolution of the molecular composition during the combustion and pyrolysis process. This knowledge will be beneficial for the optimization of biofuel generation. The latter is particularly critical regarding environmental health and climate change.^{2,3}

Lignocellulosic biomass is a complex mixture containing cellulose, hemicellulose, lignin, and other trace compounds. Lignin is a highly reticulated bio-polymer that is poorly soluble and usually requires chemical,⁴ fungal,^{5,6} or thermal degradation for analysis.⁷

Evolved gas analysis (EGA) is one approach to tackle the molecular complexity focusing on the volatile and semi-volatile compounds, as well as pyrolysis products of the solid lignocellulosic biomass feed. More specifically, thermogravimetry (TG) and differential scanning calorimetry (DSC) coupled to a suitable analytical system, can give information on the chemical decomposition of the sample.⁸ In this respect, the coupling with mass spectrometry (MS) presents a rich potential to identify and quantify the evolved gas mixture⁹⁻¹⁰. Moreover, the additional implementation of a gas chromatographic (GC) separation step or a fast pyrolysis injector GC system can provide further structural information.

Direct insertion probe (DIP) is a rapid and simple technique, well suited for solid samples. The sample is placed in an inert support and heated to a controlled temperature. In contrast to most EGA techniques, the sample is volatilized directly in the ionization source of the mass spectrometer. Thus, released gaseous components are directly ionized and subsequently analyzed by the MS. As a significant benefit, DIP allows the analysis of solids with no sample preparation, which can be advantageous for the insoluble solid biomass feed.

The direct insertion probe can be coupled to vacuum or atmospheric pressure ionization sources. The most commonly used vacuum ionization source with DIP is electron ionization (EI). EI has been used with different samples, *e.g.*, polymers,¹¹ crude oil,¹² bitumen,¹³ asphaltenes,¹⁴ or biomass.¹⁵ However, EI leads to a high rate of fragmentation of molecules, making mass spectra more complex and challenging to interpret. Hence, with the development of atmospheric pressure sources such as chemical ionization (APCI) and photo ionization (APPI), direct analysis devices were developed, such as atmospheric pressure solids analysis probe (ASAP)¹⁶ or DIP-APCI/APPI. These probes can handle solid samples using pyrolysis by a heated nitrogen gas stream near the ionization region. The analysis time is short, and the soft ionization grants minimal fragmentation of ions compared to electron ionization. Various studies used the ASAP source, *e.g.*, for petroleum samples,¹⁷ polymers,¹⁸ and aerosols.¹⁹ For the analysis of a complex mixture such as lignin pyrolysis products, the use of ultra-high resolution mass resolving power is recommended. As a matter of fact, the common mass differences for $C_cH_hN_nO_o$ compounds are: 36.4 mDa (O and CH_4), 8.9 mDa ($^{13}C_2$ and H_2) and 8.2 mDa (N and ^{13}CH).²⁰ These mass differences require the use of an ultra-high-resolution mass spectrometer ($R \geq 200,000$). In this respect, Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FTICR MS) with its unbeaten resolving power and mass accuracy, is able to resolve isobaric compounds and give in-depth information on the molecular composition. Numerous applications were shown deploying FTICR MS for the analysis of highly complex mixtures, such as petroleum,²¹ aerosols²² or polymers.²³ Most often these works were performed using direct infusion techniques of soluble or extracted sample material.

In this study, we aimed to develop a versatile, fast, and robust methodology for the molecular description of biomass combustion feed materials with various pellet types and minimal sample preparation. For this purpose, a direct inlet probe with atmospheric pressure ionization sources hyphenated to FTICR mass spectrometry was used, which allows a comprehensive analysis of the evolved gas mixture.

Beech pellets, whose pyrolysis compounds are well described in literature,²⁴ were used to compare APPI and APCI sources in the positive ion mode. Although APPI is commonly used for complex matrix analyses by direct infusion, including several studies of bio-oils generated by biomass pyrolysis, only a few APPI mass spectrometric studies focus on the pyrolysis process.²⁵ APCI was chosen due to its capacity to ionize oxygenated species commonly abundant in biomass pyrolysis and combustion products.²⁶

Here, we monitored the pyrolysis process in evolved gas analysis. Finally, we compared three different individual pellet types, beech, oak, and maple, to address the molecular differences and similarities in lignocellulose biomass.

3.1.3 Method and Material

3.1.3.1 Sample material

For this study, three different wood pellet types were studied: beech (Ooni), oak, and maple (Traeger Pellet Grills). The wood pellet was ground for two minutes, using an A 10 basic mill (IKA Mills) with a water cooling system at approximately 15°C (Figure S 3.1).

3.1.3.2 Instrumentation

Mass spectra were acquired using a 12 T ultra-high resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer (Solarix XR FTMS, Bruker Daltonics). The sample introduction was performed by utilizing the DirectProbe DIP (Bruker) that can be introduced into the APCI and APPI source (Figure S 3.2). Approximately (0.4 ± 0.1) mg of sample material was trapped into the capillary tube by using a small piece of clean quartz fiber filters (Figure S 3.3) then directly introduced into the ionization source after acquisition start. The start of the thermo-desorption and pyrolysis process was prompted by a heated gas stream. The presence of the quartz filter in the glass capillary tube induced a delay of evaporation of the sample. Such delay was found beneficial to avoid high ion currents during the thermo-desorption process and thus ensure regular ion transmission and acquisition. Each sample was analyzed in four replicates.

For ionization, an APCI and an APPI source were used. Source parameters were chosen to ensure a robust, sensitive, and reproducible analysis of the biomass samples. These parameters were set the same for the two sources to be comparable. The nitrogen nebulizer gas was set at a pressure of 3 bar and 400°C and a nitrogen drying gas flow of 2 L/min at 200°C. The corona current from APCI source was set to 3 μ A (Table S 3.1 for source and acquisition parameters). The chosen mass range for this study was m/z 122.8 to m/z 1,000 as low mass degradation products are well described in GC-MS studies.²⁷ Moreover, Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer performs better in this mass range. The analog image current was digitized with 2 million data points resulting in the recording of a 0.7 s time-domain signal, which was transformed into the corresponding frequency domain by Fourier transform (one zero-fill and full-sine apodization).

As resolving power scales with transient length, this 0.7s transient allowed a compromise between the scan frequency of the thermo-desorption profile (< 3 min) and the resolving power required to differentiate the common isobaric $C_cH_hN_nO_o$ compounds.²⁰ A resolution of 400,000 was obtained at m/z 200.

3.1.3.3 Data analysis

External calibration of mass spectra were performed using a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) standard mixture (Supelco EPA 610, Sigma Aldrich) containing 16 different PAH and measured with the same instrumental conditions. Internal calibration was performed on an average spectrum generated over the complete analysis using different series of oxygenated compounds. Generally, for linear correction, a standard deviation below 250 ppb was found. After calibration, each individual scan of the time-resolved data was peak picked (S/N 9) and exported with Bruker Data Analysis (5.0) visual basic scripts. The exported mass spectra were processed by self-written MATLAB routines, and molecular assignation was performed using the following restrictions: $C_cH_hN_nO_o$; $n \leq 1$ and $o \leq 10$, with a maximum error of 2 ppm, $DBE \leq 80$, $0 \leq H/C \text{ ratio} \leq 3$. The maximum number of oxygen atoms of ten was chosen after trying different boundaries ($o \leq 10$, $o \leq 15$ and $o \leq 20$) and determining the best ratio between number of attribution and the attribution errors. The molecular classes with more than ten oxygen atoms represented less than 0.04% of the relative summed intensity (for $o \leq 20$). The final assignment lists were further treated with MATLAB to create an average assignation list common to at least three replicates (out of four). Visualization of the data was done using OriginPro (2016) and Matlab R2018b.

For maple, beech, and oak samples and each replicate measurements, the elemental composition attributions of average spectra were compared via multivariate data analysis. These replicate measurements were randomized. All attributions are considered, and attributions not found within a sample are set to zero intensity. The known group structure (replicates of a sample type, supervised statistics) was included in the analysis by applying analysis of variance (ANOVA). Features with p-values below 0.01 were regarded as statistically significant and selected as input variables for the Principal Component Analysis (PCA). This procedure was done to reduce the number of variables (elemental compositions). For this purpose, the data (abundance) needed to be normalized. Here, power transformation and variable stability scaling (VAST) were performed. This procedure ensures that low-abundant signals can be efficiently identified as potential marker species in the statistics.

Thus, the importance for the PCA is not linked to the raw abundance but to the variance and differences of the replicate means. Consecutively, PCA was performed on those pre-processed data. The resulting scores and loadings data, in combination with the elemental composition attribution, were used for visualization. In this respect, score data are linked to the experiments (replicates and sample type) and loadings data to the individual elemental compositions (molecular profile).

3.1.4 Results and Discussion

3.1.4.1 Source parameters optimization and DIP-APCI/APPI comparison

DIP-APCI and DIP-APPI sources were firstly compared using ground pellet samples. The sample was quickly inserted to observe the fast pyrolysis process of the pellet, which should primarily lead to low mass compounds. The total ion current (TIC) resulting from the thermo-desorption profile from the pyrolysis of wood beech pellet (Figure 3.1), exhibited a response time of less than one minute for APPI, with fast signal decay after 30 s. In comparison, the response time for APCI was three minutes. The inset in Figure 1 represented the summed abundance for APPI and APCI with error bars as standard deviation ($\pm 1\sigma$) from four replicates. APCI resulted in a summed abundance considerably seven times larger than APPI. APPI is sometimes used with a dopant such as toluene²⁸, added in the source to enhance the ionization yield. Here no dopant was used to keep experimental conditions comparable between the two sources. The absence of dopant may explain the lower total ion count of APPI compared to APCI.

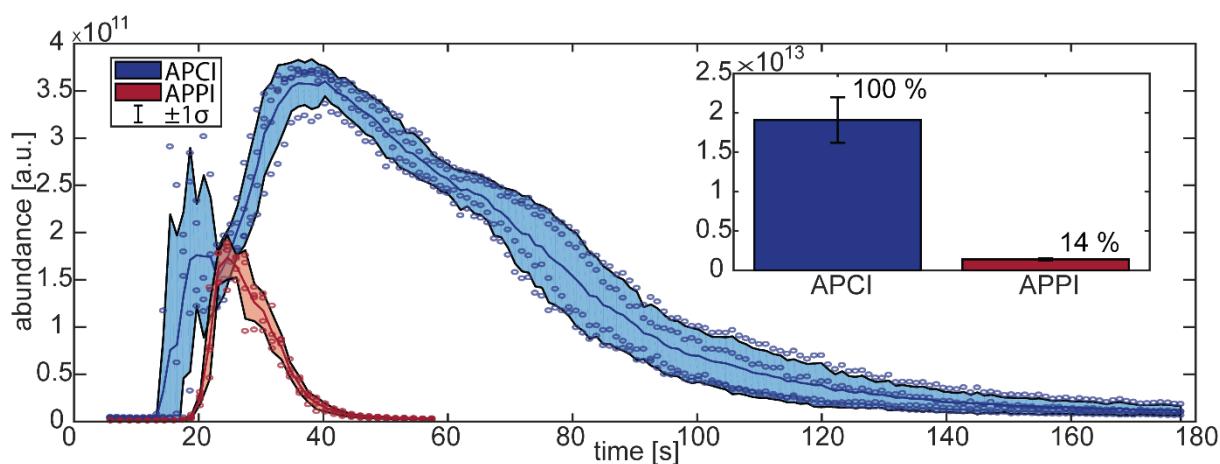


Figure 3.1: Time-resolved total ion count (TIC) for the DIP experiment conducted with APCI (blue) and APPI (red) on ground beech pellets. The shaded area corresponds to $\pm 1\sigma$, and the scattered circles are derived from individual mass spectra. The averaged summed TIC with the respective standard deviation is given in the inset.

The standard deviation given in the shaded area pointed out the reproducibility of the total ion count response with a deviation of typically below 10 %. The variation observed within the DIP-APCI profile was mainly due to variation in sample amount in the capillary. Indeed, a small 0.1 mg variation in the sample amount can induce significant changes in the desorption profile.

Variation in the sample heating due to differences in the placement of the sample inside the glass capillary or the speed of sample introduction, may also cause some variation on the thermo-desorption profile.

The averaged mass spectra (Figure 3.2) showed a bi-modal ion distribution for both the ionization sources. The first distribution was centered around m/z 200, which corresponded to the expected m/z of lignin monomers degradation products. The apex of the second distribution was around m/z 350, which corresponded to the expected m/z of lignin dimer degradation products. These two distributions were observed with the two sources, even though the DIP-APCI spectra (Figure 3.2a) was more complex with a higher number of peaks as exemplarily shown in the inset in Figure 3.2 (enlargement of m/z 371).

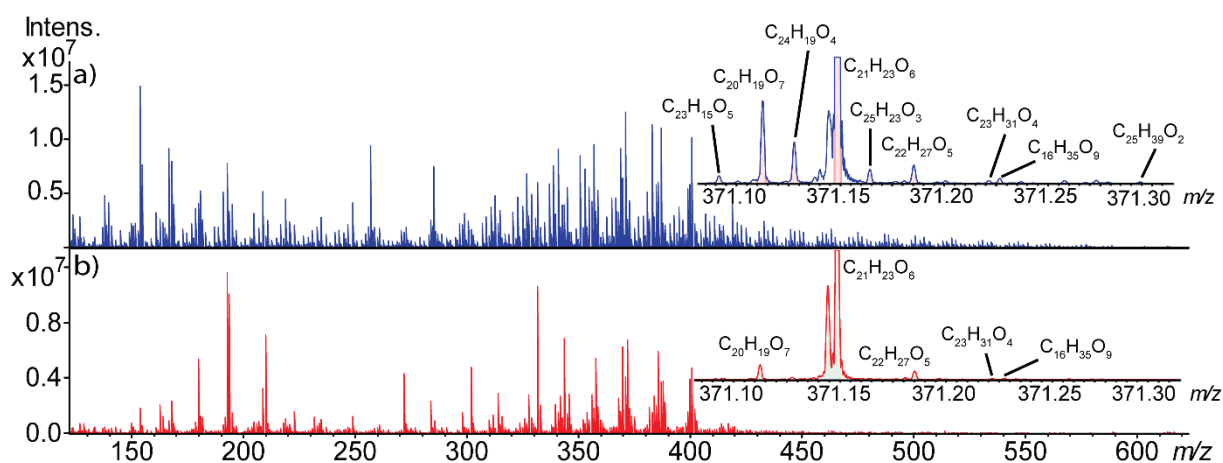


Figure 3.2 : Average mass spectra for the DIP experiment conducted with APCI (a), and APPI (b). A zoom at a nominal mass of 371 for the two sources is shown for the two spectra

During the pyrolysis process, small shifts of the m/z values were observed for most peaks due to the change of ion abundance transmitted to the ICR cell (space charge effect). These m/z shifts lowered the overall mass accuracy, which is critical for the accurate determination of molecular compositions (Figure S 3.4). Thus, an additional data processing step was carried out to correct these shifts. Hence, an m/z -recalibration of each individual mass spectra was done to ensure a reliable molecular attribution across the entire thermo-desorption profile. For this purpose, the mass spectra, pre-calibrated using Bruker Data Analysis, were exported and recalibrated using lab-written MATLAB scripts. These scripts applied a linear correction to each mass spectrum, using a set of well-identified ions from the samples (Table S 3.2). Briefly, each spectrum was searched for the occurrence of the recalibration signals within a broader acceptance range of 5 ppm.

If a sufficient number of signals were found, a new linear recalibration function was calculated and deployed. This procedure was performed for each scan separately. Therefore, molecular attributions errors were significantly decreased for the average mass spectra from a mean error of 0.60 ppm and a standard deviation of 0.45 ppm to a mean error of 0.33 ppm and a standard deviation of 0.34 ppm (Figure S 3.5).

The Venn diagram ²⁹ of the four replicates for APCI and APPI were shown in Figure S 3.6. Roughly 4,700 different molecular attributions were found for DIP-APCI and 85% were common to the four replicates. With DIP-APPI, 1,700 molecular attributions were found, which was less than DIP-APCI by a factor of three. Moreover, DIP-APPI was less reproducible (80% in common with the four replicates). The attribution lists of the replicates were combined as one and attributions common to three out of the four replicates were further used for graphical representation.

Figure 3.3 showed the attributions sorted by molecular classes depending on the number of oxygen atoms in the molecular formulae with their relative intensity and their mean DBE for the two ionization sources.

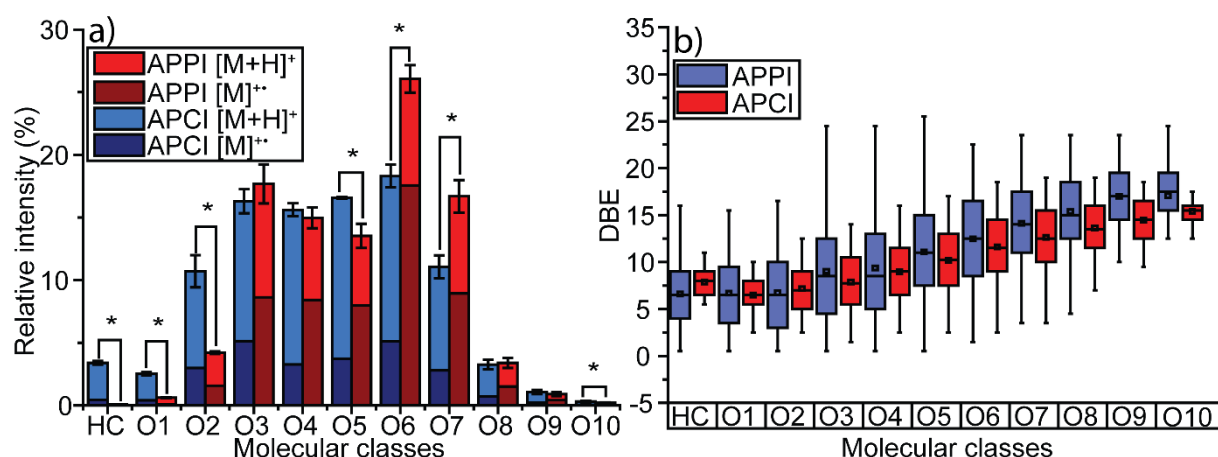


Figure 3.3: Grouped stack histogram of the relative intensity sorted by molecular classes, depending on oxygen atom content for the DIP experiment with APCI (blue) and APPI (red). $[M+H]^+$ and $[M]^{++}$ ions proportion are shown, and error bars represent the standard deviation ($n=4$). * The asterisks signal a - significant difference as established *via* a Student t-test. (b) box chart corresponding to the DBE percentile values sorted by molecular classes, depending on oxygen atom content for the DIP experiment with APCI (blue) and APPI (red).

Similar to results from literature for lignocellulosic biomass or the respectively derived biofuel,^{30,31} the molecular attributions were dominated by oxygenated species with two to seven oxygen atoms for the two ionization sources (89 and 93 % of TIC, respectively). However, differences between DIP-APCI and DIP-APPI could be found, especially for C_cH_h , C_cH_hO , $C_cH_hO_2$, $C_cH_hO_5$, $C_cH_hO_6$, and $C_cH_hO_7$ classes (Figure 3.3a). As shown in Figure 3.3a, the DIP-APPI source generated more radical cations compared to the DIP-APCI source, which generated more protonated cations. In both cases, the formation of radical species was expected under dry conditions, but the presence of water in the pellets and source atmosphere can generate protonated molecules as well.^{32,33,34} Figure 3.3b) shows the 5th, 25th, 75th, 95th percentile, and median value of DBE for each molecular class and ionization source. The median values were higher for the APCI source and the dispersion was also higher. Conversely, the APPI DBE median values were lower with lower dispersion. The CHO_2 -class was dominated by less unsaturated (low DBE) species with DIP-APCI. Conversely, CHO_6 and CHO_7 class compounds, identified as unsaturated and aromatic molecules, were found to be more abundant in DIP-APPI.

Van Krevelen³⁵ and mass defect vs. nominal mass diagrams (Figure 3.4) provided further information on the different molecular families observed during the pyrolysis of the beech pellets.

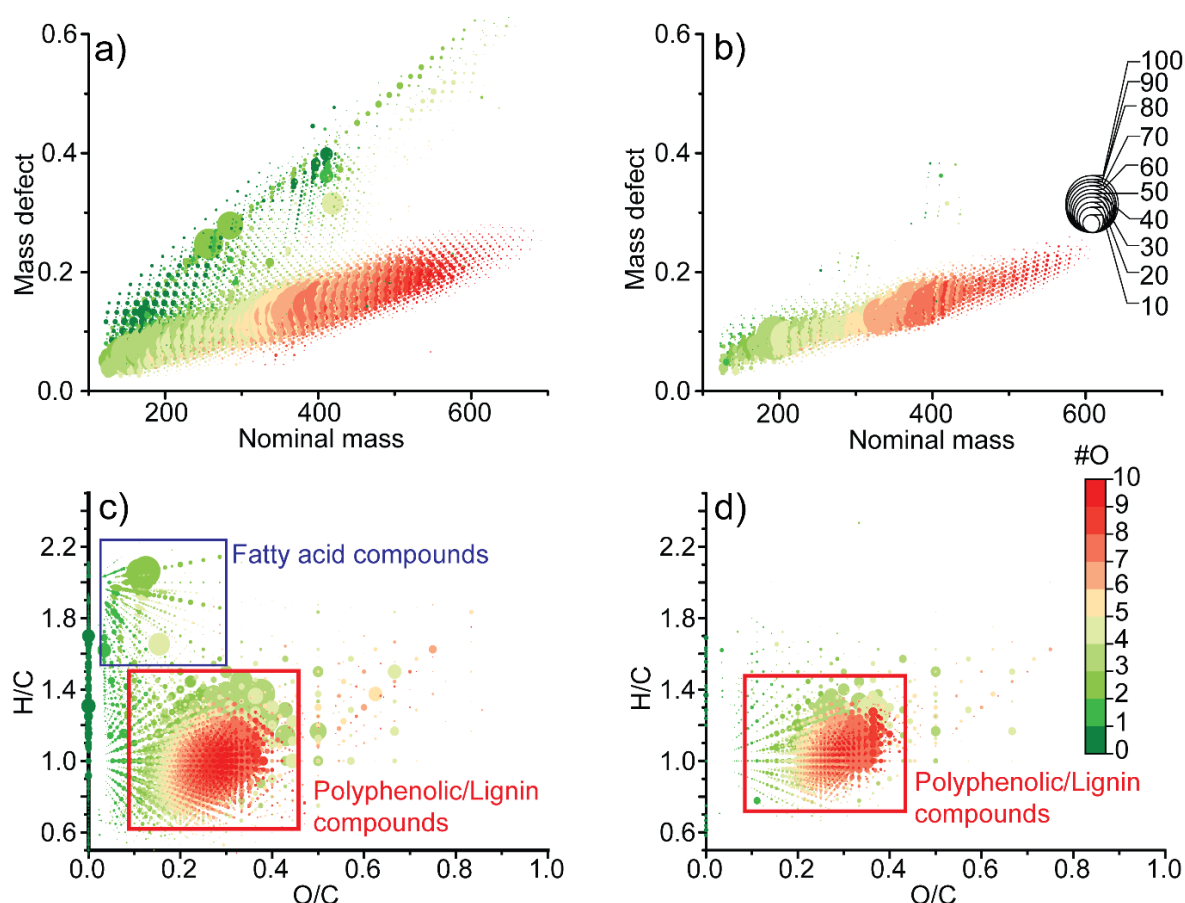


Figure 3.4: Molecular description plots for the DIP-experiment. Nominal mass vs. mass defect with oxygen number color-coded and relative intensity coded as dot-size: a) DIP-APCI and b) DIP-APPI. O/C Van Krevelen diagram with oxygen number color-coded and relative intensity coded as dot-size: c) DIP-APCI and d) DIP-APPI.

Nominal mass vs. mass defect plots (Figure 3.4a and Figure 3.4b) are giving information on the chemical space of molecular attribution for $C_cH_hN_{0-1}O_{0-10}$ classes by using their mass defect and oxygen number (represented by color). For APCI, two distributions were observed: one with mass defect up to 0.6 and low oxygen number, and a second distribution with a mass defect up to 0.2 and zero to ten oxygen. Compounds with a high mass defect were not observed in DIP-APPI. The Van Krevelen plots (Figure 3.4c and Figure 3.4d) provided similar information using the O/C and H/C molecular ratio of attributed formulas. Two main distributions were found with APCI. The first one included H/C ratios between 1.5 and 2.4, as well as O/C between 0.1 and 0.2 with a low number of oxygen. The other distribution with H/C ratios between 0.5 and 1.5, O/C between 0.1 and 0.5 containing zero to ten oxygen. Only the second distribution with H/C ratios between 0.5 and 1.5, O/C between 0.1 and 0.5 containing zero to ten oxygen

was observed in DIP-APPI. The compounds with low mass defect could be associated with low H/C ratio, because of the mass of hydrogen ($m(\text{H}) = 1.0078 \text{ u}$).

High O/C ratio could also lead to low mass defect as oxygen have a negative mass defect ($m(\text{O}) = 15.9949 \text{ u}$), but here, the bulk of the compounds contained three to seven oxygen resulting in low O/C ratio. So, low H/C ratio was the dominant factor affecting mass defect. Formulae with low mass defect and H/C ratios were consistent with aromatic compounds such as polyphenolic compounds deriving from the degradation of lignin. These lignin degradation products were observed in both DIP-APCI and DIP-APPI mass spectra. In contrast, the compounds with high mass defects, associated with a high H/C ratio, and low oxygen atoms numbers were consistent with aliphatic compounds, e.g., fatty acids or lipids. Such compounds were only observed in DIP-APCI. However, the cellulose region in the Van Krevelen diagram with $0.8 < \text{O/C} < 1$ and $1.5 < \text{H/C} < 2$, was empty for the two ionization sources. The absence of cellulose could be attributed to the high nebulizer gas temperature of 400°C , which most likely caused significant depolymerization of cellulose. The degradation was expected to be extensive, thus causing the conversion of cellulose-like compounds yielding mostly levoglucosan, 5-hydroxymethylfurfural and flammable volatile.^{36,37,38}

Expectedly the hydrocarbon molecular class was observed only with APCI. Indeed, the APCI source produces a nitrogen plasma in which ionization will involve charge exchange processes between molecules and ionized nitrogen.³⁹ As nitrogen has an ionization energy of 15 eV, it is more energetic than APPI photons. As a consequence, APCI can ionize more efficiently low DBE species such as fatty acids or saturated hydrocarbon. That explains the differences between the two sources for hydrocarbon class compounds.

APPI was therefore found to be more specific to lignin degradation products with high aromaticity, APCI could be regarded as a more general source, covering a larger variety of oxygenated compounds(e.g., fatty acids, polyphenolics compounds), in addition to lignin degradation products. Hence, DIP-APCI was chosen as an ionization source for further analysis within this study.

3.1.4.2 Thermo-desorption and pyrolysis profile

After choosing DIP-APCI as the more comprehensive ionization source for the non-targeted analysis of lignocellulosic biomass pyrolysis products, four different regions of the thermo-desorption/pyrolysis profile were studied (Figure 3.5). The thermo-desorption and pyrolysis was done with isothermal parameters (nebulizer gas at 400°C and drying gas at 200°C).

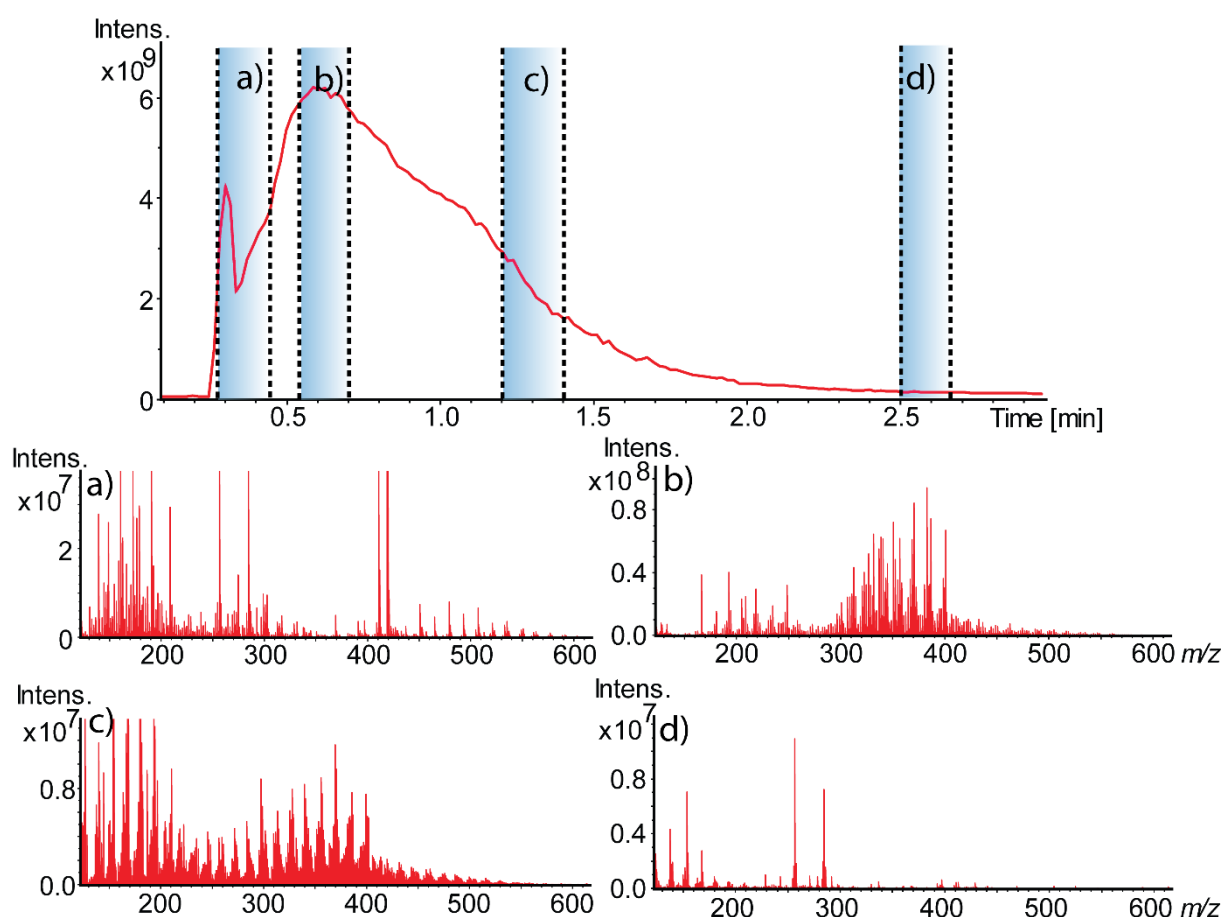


Figure 3.5: Thermo-desorption profile of beech pellet samples. Mass spectra were extracted from several regions of the profile with a), start of thermo-desorption, b), transition to pyrolysis products c), main pyrolysis phase and d), residual release.

An average mass spectrum was extracted for four selected time scans (named a, b, c, and d) to monitor the pyrolysis process. The mass spectrum in Figure 3.5a, averaged from 0.28 min to 0.41 min, is corresponding to the start of the desorption profile. It expectedly contained the most volatile compounds from wood and the volatile species which were adsorbed on the quartz fiber filters. The mass spectrum averaged from 0.52 min to 0.7 min, (Figure 3.5b), corresponded to the maximum abundance of ions, and was the transition to main pyrolysis products.

Here, two ion distributions were observed, one peaking at roughly m/z 200 and another one, the most abundant, with an apex at m/z 350. In the mass spectrum averaged from 1.24 min to 1.40 min (Figure 3.5c), when the ion abundance decreased, the same bi-modal distribution was observed. The two ions distributions had equivalent intensities. The mass spectrum averaged from 2.50 min to 2.67 min (Figure 3.5d), corresponding to the last ions observed in the pyrolysis process, was mainly composed of low mass signals. Attribution lists were obtained from the average mass spectrum of the four regions. Attribution lists of the four analytical replicates were compared using Venn diagrams (Figure S 3.7). Around 80% of attribution were common to four replicates for all the selected regions except for the last one, with 70% of common attribution. The molecular attributions were represented, in different graphical representations, to visualize molecular information throughout the four selected time section of the thermo-desorption profile (Figure 3.6). The first histogram described the relative intensities of attribution by molecular classes, with the proportion of radical and protonated ions (Figure 3.6-I). The second diagram is a box chart of the DBE median and percentile values by molecular classes (Figure 3.6-II).

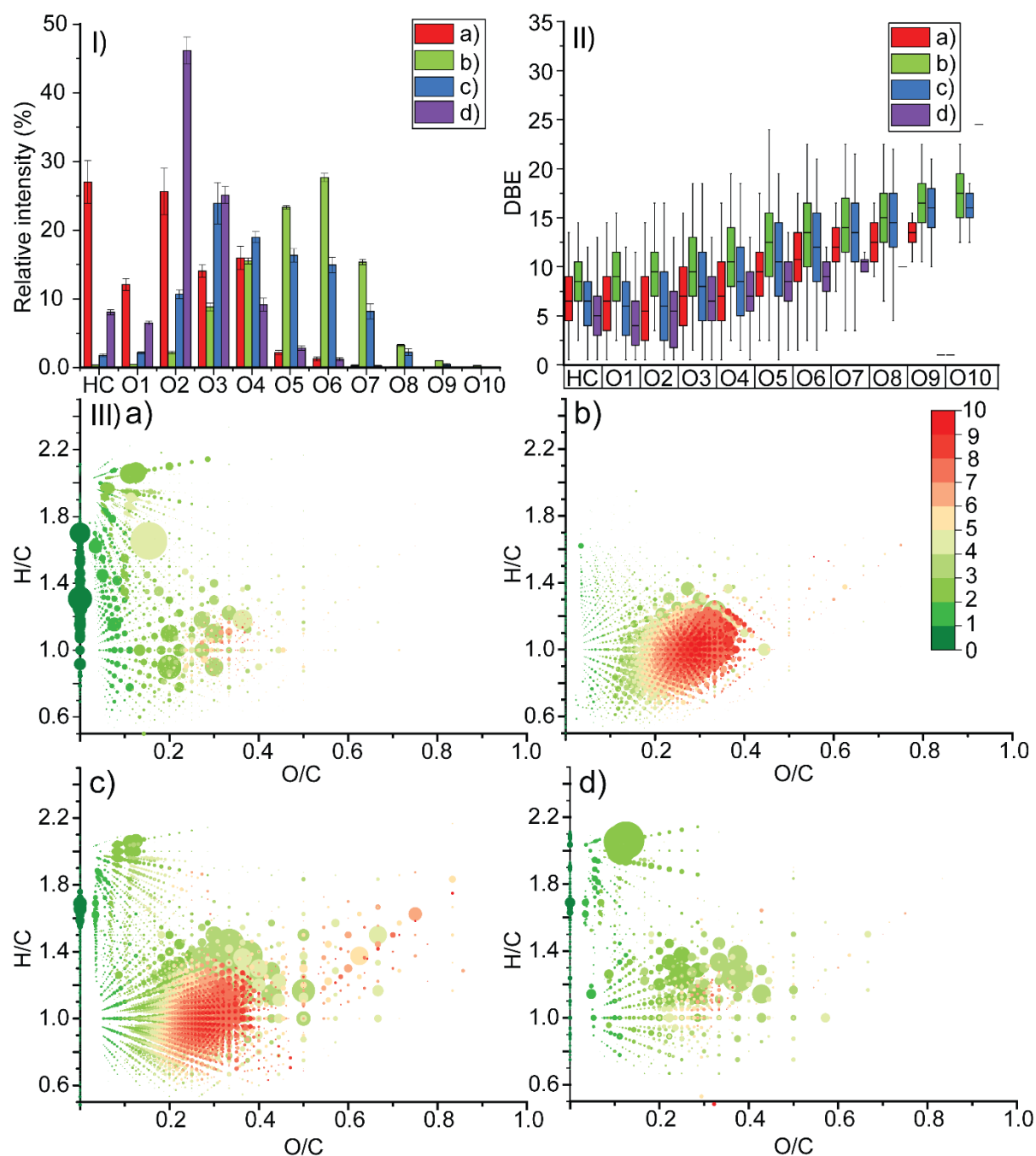


Figure 3.6 : I) Relative intensity by molecular classes histogram, II) DBE 5th, 25th, 75th, 95th percentile, and median values by molecular classes box chart and III) Van Krevelen diagram of the four profile region extracted. a) Start of desorption, b) transition to advanced pyrolysis products, c) main pyrolysis products, and d) residues. For the relative intensity by molecular classes histogram, error bars were given at standard deviation of n=4. For the Van Krevelen diagram, colormap is characterized by number of oxygen atoms and the dot size, by relative intensity of ions.

At the start of the desorption profile (region a), the dominant molecular classes observed within Figure 3.6-I-a) were hydrocarbons and molecules with a number of oxygen atoms from one to four. The DBE median value was around six and the 5th and 95th percentile value showed a high dispersion of DBE for the dominant classes (Figure 3.6-II-a). The Van Krevelen diagram (Figure 3.6-III-a) showed high abundance of hydrocarbons ($O/C = 0$). Other species with H/C value from 0.6 to 2.2 and low O/C values were found. This chemical specification was consistent with the commonly observed more volatile constituents described before, in GC-MS studies of wood extractable: coniferyl alcohol, sinapyl alcohol and other derivatives of monomeric lignin-degradation units.^{40,41,42} Molecular formulae consistent with vanillin, syringaldehyde, eugenol, or fatty acids and fatty acid ester (high H/C value, low O/C value, and two oxygen atoms) were also found (Table S 3.3).

In the region of maximum ion abundance (region b), compounds with four to seven oxygen atoms were observed in majority (Figure 3.6-I-b). The DBE median value was around thirteen. The 5th and 95th percentile values showed high dispersion of DBE for the dominant molecular classes, yet low dispersion for the other molecular classes. This median value was twice as high in this time region, compared to the start of the desorption profile (Figure 3.6-II-b). This information was linked to higher proportion of unsaturated molecules, such as lignin dimeric degradation products. The Van Krevelen diagram (Figure 3.6-III-b) displayed a molecular attribution area, with H/C ratios between 0.5 and 1.5, O/C between 0.1 and 0.5. This area contained attributions with one to ten oxygen atoms and was consistent with dimeric lignin degradation products, such as different combinations of the guaiacol (G) and syringyl (S) units (Table S 3.3).⁴

When the signal from the pyrolysis profile started to decay (region c), the dominant molecular classes were molecules with oxygen atom number from two to seven. The median DBE values decreased for all molecular classes within this time region, compared to the region of maximum abundance (Figure 3.6-II-c). Besides, for this time region, the median DBE value for the hydrocarbons and median DBE value for molecules with one to four oxygen atoms were similar to the median DBE value from the beginning of the desorption profile. However, median DBE values for the molecules with five to ten oxygen atoms were lower during signal decay, compared to median DBE value from the maximum abundance region.

Concerning the Van Krevelen diagram (Figure 3.6-III-c), two main molecular attribution area were found: one with H/C values between 0.5 and 1.5, O/C values between 0.1 and 0.5 containing various number of oxygen atoms, and a second one with H/C values between 1.5 and 2.4, O/C values between 0.1 and 0.2, containing few oxygen atoms. The first area was mostly made of lignin degradation products (monomeric and dimeric), and the second area was made of fatty acid like compounds.

Finally, the end of the desorption profile (region d) was dominated by compounds with two and three oxygen atoms (Figure 3.6-I-d). The median DBE value was the lowest of all the time region selected (Figure 3.6-II-d). The Van Krevelen diagram (Figure 3.6-III-d) had similarities with the Figure 6-III-a diagram corresponding to the start of the desorption profile, with diverse H/C values, low O/C values, and few oxygen atoms. Higher temperatures at the end of the pyrolysis should be associated nonetheless with less volatile species than during the beginning of the pyrolysis process. In fact, at the end of the pyrolysis process, lignin monomeric degradation products with fewer oxygen atoms were more intense compared to the dimeric degradation products.

As the Bruker DIP source is not well sealed, some amount of oxygen may be present and could react with the pyrolysis products to form oxygenated compounds. Previous experiments with polyethylene (PE) and polypropylene (PP) by DIP-APCI FTICR MS analysis⁴³, have shown compounds with insertion of oxygen atoms. However, with more polar molecules, such oxidation is generally not observed.⁴⁴ As lignocellulosic biomass contains a lot of oxygen, the increase in oxygen number in the attributed molecules in fractions (b) and (c), was more consistent with lignocellulosic degradation compounds rather than oxidation reactions.

3.1.4.3 Comparison of three wood species

Beech, oak, and maple wood pellet species were compared using DIP-APCI FTICR MS. Four analytical replicates were acquired for each wood type. The molecular formula attribution lists of the 12 data sets were merged into a list containing over 5,900 molecular formulae. Then, this list was subjected to multivariate data analysis. After analysis of variance (ANOVA) and extraction of significant features (p -values < 0.01), roughly 800 molecular formulae were subjected to PCA. Figure 3.7 illustrates the score plot for the first two principal components (PC1 and PC2), which explained nearly 85 % of the total variance. The PC1 score, which accounted for 76 % of the variance, was positive for beech pellets and negative for maple and oak. This PC1 score allowed a separation between beech and non-beech wood types.

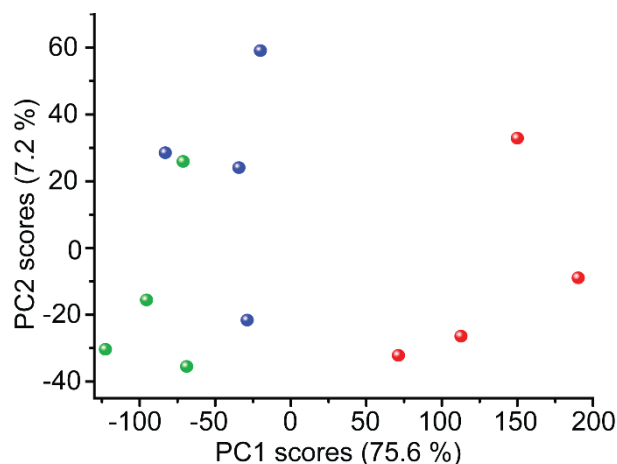


Figure 3.7: Score plot from PCA visualizing the first and second principal component ($\sim 85\%$ of total variance), with beech samples in red, maple in blue, and Oak in green

In Figure 3.8, a Van Krevelen plot, representing the 800 molecular formulae, was color-coded according to the values obtained for the PC1 loadings. The dot size represented the ion abundance observed for each molecular formula: Figure 3.8a represents the relative intensities from the mass spectra obtained from beech, and Figure 3.8b represents the relative intensities from the mass spectra obtained from oak and maple summed together.

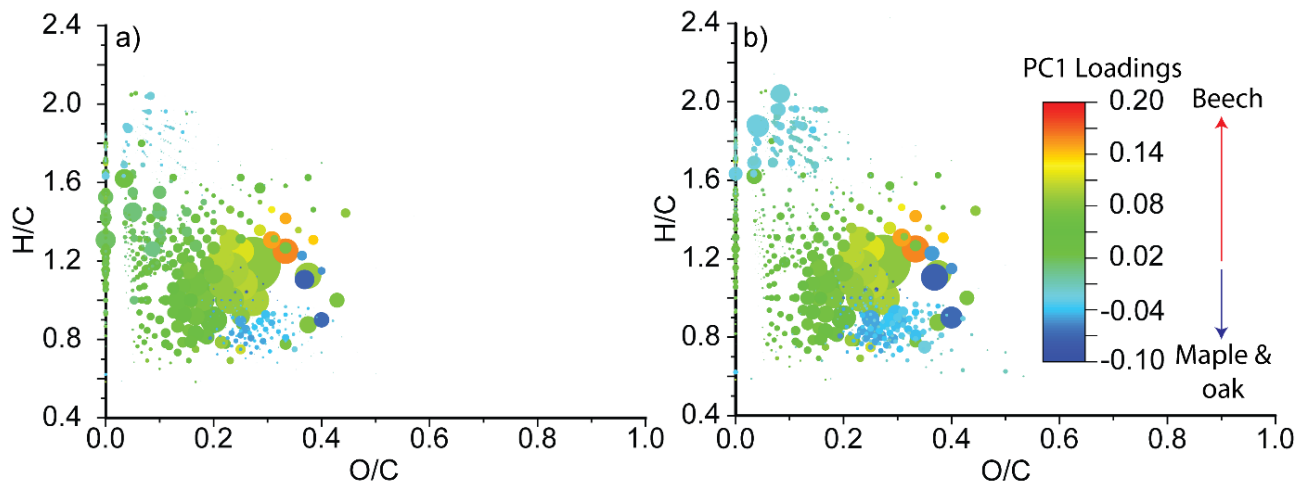


Figure 3.8: Modified Van-Krevelen plot color-coded with the loadings from PC1: a) for beech and b) for maple and oak. The size of dots was linked to relative intensity.

The molecular attributions with positive PC1 loadings (from 0.02 to 0.08: green color), which were expected to be characteristic constituents for beech pellets, were mostly found in the area of O/C ratio between 0.05 and 0.20, and $H/C < 1.5$.

Such ratios were consistent with aromatic compounds with a low number of oxygen atoms, such as monomeric lignin degradation products. Conversely, molecular attributions with negative PC1 loadings (from 0 to -0.10; blue color), which should be more characteristic for oak and maple, were found in two areas. The first one, with O/C ratio between 0.2 and 0.4, and $H/C < 1.3$, corresponded to lignin dimeric degradation products. The second one, with O/C ratio between 0.05 and 0.2, and $H/C > 1.5$ were consistent with fatty acid-like compounds. The observation of relative intensities by molecular classes (Figure S 3.8-a) showed for molecular formulae with positive PC1 loadings, the domination of molecular classes with one to three oxygen atoms. The molecules from these CHO_{1-3} classes, displayed median DBE values around 6 (Figure S 3.8-b), which were consistent with monomeric lignin degradation products, and coherent with Figure 6 observations. Study of relative intensities by molecular classes (Figure S 3.8-a) showed for molecular attribution with negative PC1 loadings, molecular classes containing seven to nine oxygen atoms. The molecules from these CHO_{7-9} classes displayed median DBE values around 17 (Figure S 3.8-b), which were consistent with dimeric lignin degradation products. These results indicate the potential of DIP-APCI/APPI FTMS as a fingerprinting technique for the identification of pellet types on the molecular level. Outliers might be easily detected for this complex solid matrix, which is typically problematic to analyze with other methods.

3.1.5 Conclusion

In this study, an analytical method was developed for the characterization of solid lignocellulosic biomass samples, using DIP-APCI/APPI FTICR MS. The DIP method developed here allowed fast analysis of ground wood pellets, using two different ionization techniques. With its high resolving power, the FTICR mass analyzer provided the attribution of molecular formulae, including information on isobaric compounds. The molecular attribution lists were used in graphical representations, which give information on the chemical space of ground wood pellets thermal degradation products. The comparison of the two ionization sources showed that APCI was generic to oxygenated lignocellulosic biomass degradation compounds, such as fatty acids, lignin, and sugars. The APPI source, in the absence of any dopant, was specific to polyphenolic and lignin compounds. The DIP method permitted to monitor the ions obtained during the thermo-desorption and pyrolysis process, which can be interesting to observe the degradation mechanism of lignocellulosic biomass.

The comparison of the DIP data obtained from three wood species (oak, maple, and beech) using PCA showed significant differences of chemical space between beech and oak/maple samples. This DIP-APCI/APPI FTICR MS method could be used to differentiate other lignocellulosic biomass samples and to find molecular fingerprints for different wood species with a more thorough study of the specific molecular attributions of each wood types. The DIP-APCI/APPI FTICR MS that we had developed allowed the characterization of lignocellulosic biomass and is a useful tool to compare wood samples.

3.1.6 Acknowledgements

The COBRA laboratory is financed by the Labex SynOrg (ANR-11-LABX-0029) and the European Regional Development Fund (ERDF HN0001343).

3.1.7 Electronic supplementary information

Direct inlet probe atmospheric pressure photo and chemical ionization coupled to ultra-high resolution mass spectrometry for the description of lignocellulosic biomass

Clément Castilla¹, Christopher P. Rüger^{1,2}, Stéphane Marcotte¹, Hélène Lavanant¹, Carlos Afonso¹

1. Normandie Univ, UNIROUEN, INSA Rouen, CNRS, COBRA, 76000 Rouen, France

2. Universität Rostock, Institut für Chemie, Abteilung für Analytische und Technische Chemie,

Dr.-Lorenz.-Weg 1, Rostock, DE 18059

Content :

Table S 3.1 : DIP analysis, source and acquisition parameters

Table S 3.2 : Scan-to-scan recalibration ions

Table S 3.3: Putative structure for wood degradation products

Figure S 3.1: Ground wood pellet

Figure S 3.2: Diagram of the Bruker DIP system

Figure S 3.3: Glass capillary tube preparation

Figure S 3.4: Mass shifts observed during pyrolysis process of beech pellet

Figure S 3.5 : Improvement of attribution error using scan-to-scan recalibration

Figure S 3.6: Venn diagram of molecular attribution from a), DIP-APCI b), DIP-APPI and c), DIP-APCI and DIP-APPI common attribution for analysis of ground beech pellet

Figure S 3.7: Venn diagram of molecular attribution from extracted mass spectra of ground beech pellet pyrolysis with DIP-APCI FTICR MS. With a), start of thermo-desorption, b), transition to advanced pyrolysis products c), main pyrolysis products and d), residues

Figure S 3.8: Relative intensity by molecular classes histogram and DBE 5th, 25th, 75th, 95th percentile, and median values by molecular classes box chart linked to PC1 loadings

Tables :

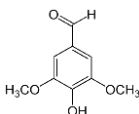
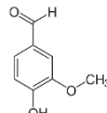
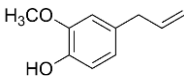
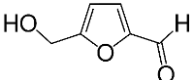
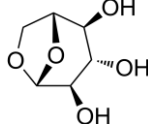
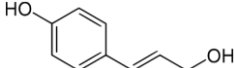
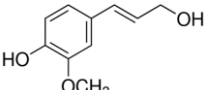
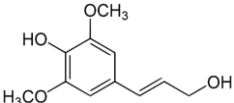
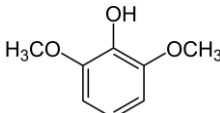
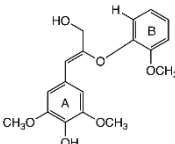
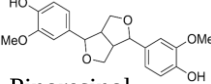
Table S 3.1 : DIP analysis, source and acquisition parameters

Source parameters	DIP-APPI	DIP-APCI
Ionization mode	Positive	Positive
Drying gas temperature (°C)	200	200
Drying gas flow (L/min)	2.0	2.0
Nebulizer gas temperature (°C)	400	400
Nebulizer gas pressure (bar)	3.0	3.0
Capillary voltage (V)	1000	1000
Spray shield voltage (V)	-500.0	-500.0
Corona needle (μA)	x	3.0
Mass range	122-1000	122-1000
FID (s)	0.7	0.7
Words	2M	2M
Accumulation time (s)	0.1	0.1

Table S 3.2 : Scan-to-scan recalibration ions

Number	Formula	m/z [M] ⁺ •
1	C ₈ H ₁₀ O ₃	154.062446
2	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	180.078096
3	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194.093746
4	C ₂₁ H ₂₄ O ₆	372.156740
5	C ₂₁ H ₂₂ O ₇	386.136004

Table S 3.3: Putative structure for wood degradation products

Molecular formula	m/z $[M]^+\bullet$	m/z $[M+H]$	Possible structure	Origin
$C_9H_{10}O_4$	182.057355	183.065169	 Syringaldehyde	Volatile compounds
$C_8H_8O_3$	152.046756	153.054605	 Vanilline	Volatile compounds
$C_{10}H_{12}O_2$	164.083224	165.090966	 Eugenol	Volatile compounds
$C_6H_6O_3$	126.03101	127.038859	 Hydroxymethylfurfural	Cellulose degradation products
$C_6H_{10}O_5$	162.052161	163.060087	 Levoglucosan	Cellulose degradation products
$C_9H_{10}O_2$	150.06751	151.075332	 Coumaryl alcohol	Lignin monomers
$C_{10}H_{12}O_3$	180.078094	181.085955	 Coniferyl alcohol	Lignin monomers
$C_{11}H_{14}O_4$	210.088753	211.096444	 Sinapyl alcohol	Lignin monomers
$C_8H_{10}O_3$	154.062412	155.070213	 Syringol	S-units
$C_{18}H_{20}O_6$	332.12544	333.133265	 β -O-4 Dimer	Lignin dimers
$C_{20}H_{22}O_6$	358.14109	359.148915	 Pinoresinol	Lignin dimers

Figures:



Figure S 3.1: Ground wood pellet

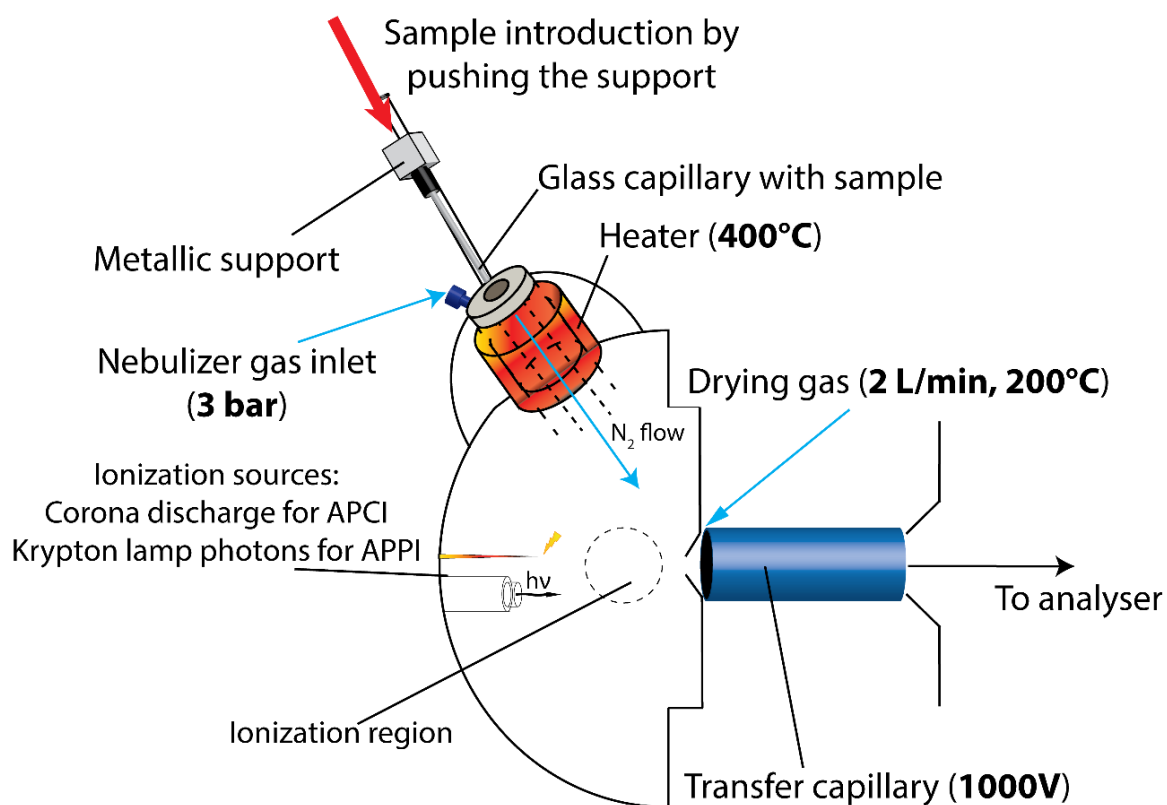


Figure S 3.2: Diagram of the Bruker DIP system

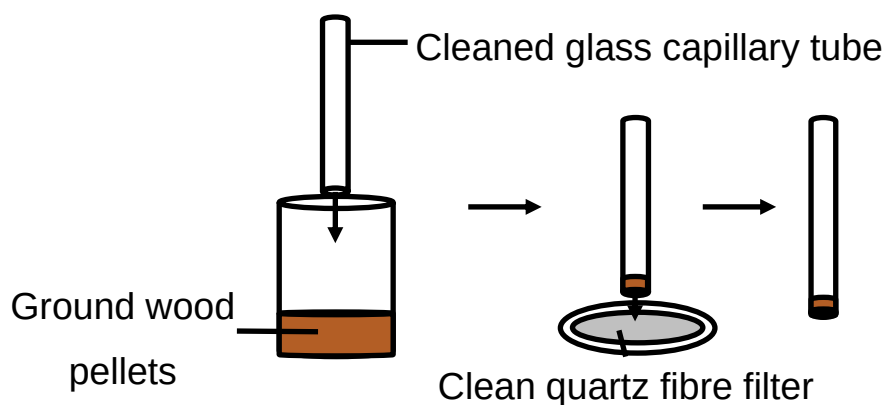


Figure S 3.3: Glass capillary tube preparation

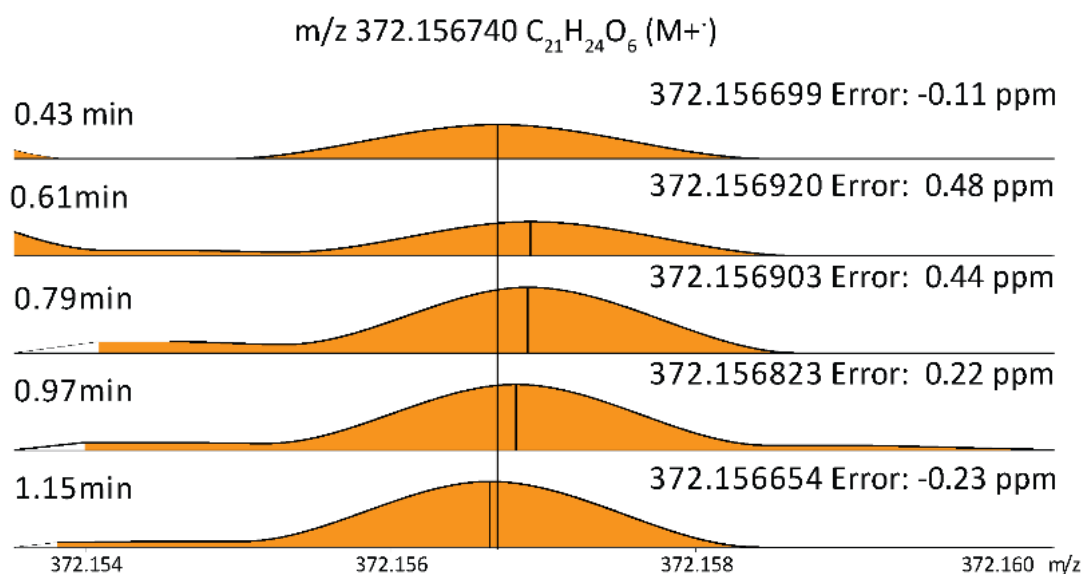


Figure S 3.4: Mass shifts observed during pyrolysis process of beech pellet

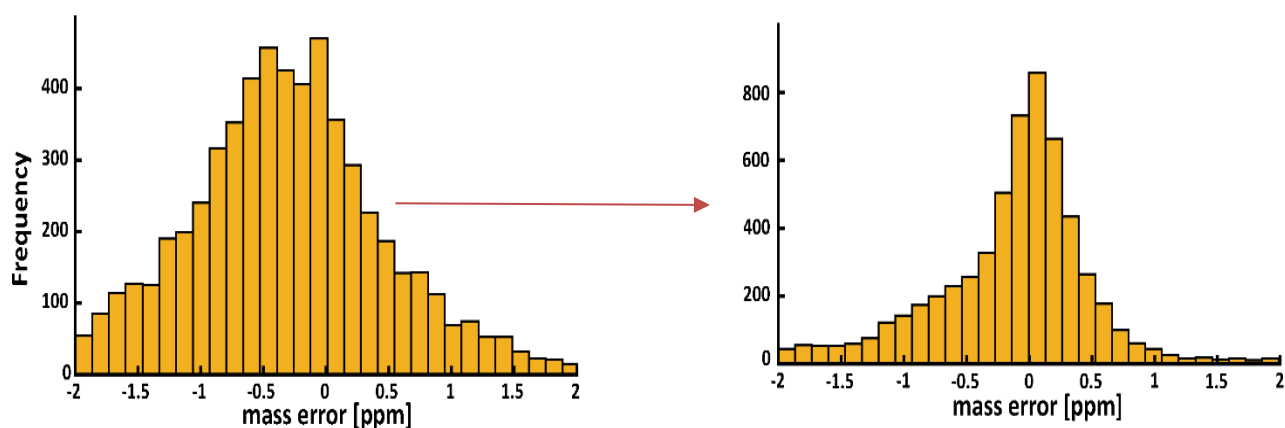


Figure S 3.5 : Improvement of attribution error using scan-to-scan recalibration

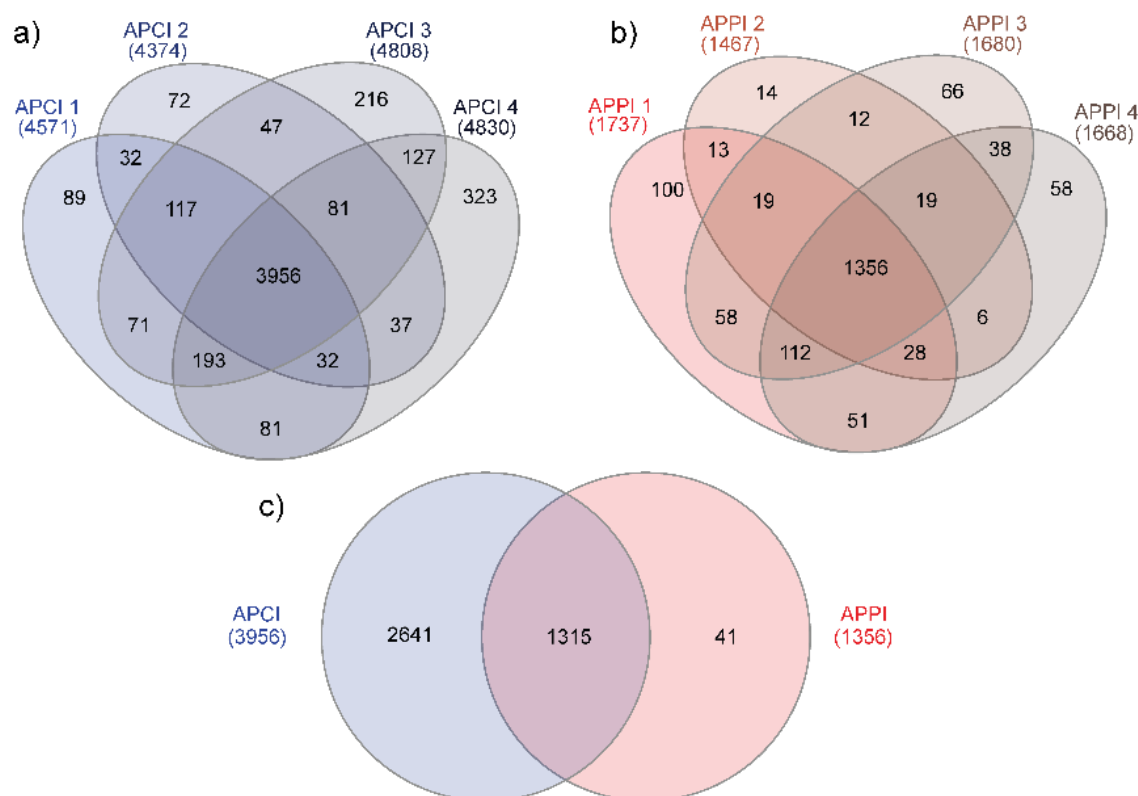


Figure S 3.6: Venn diagram of molecular attribution from a), DIP-APCI b), DIP-APPI and c), DIP-APCI and DIP-APPI common attribution for analysis of ground beech pellet

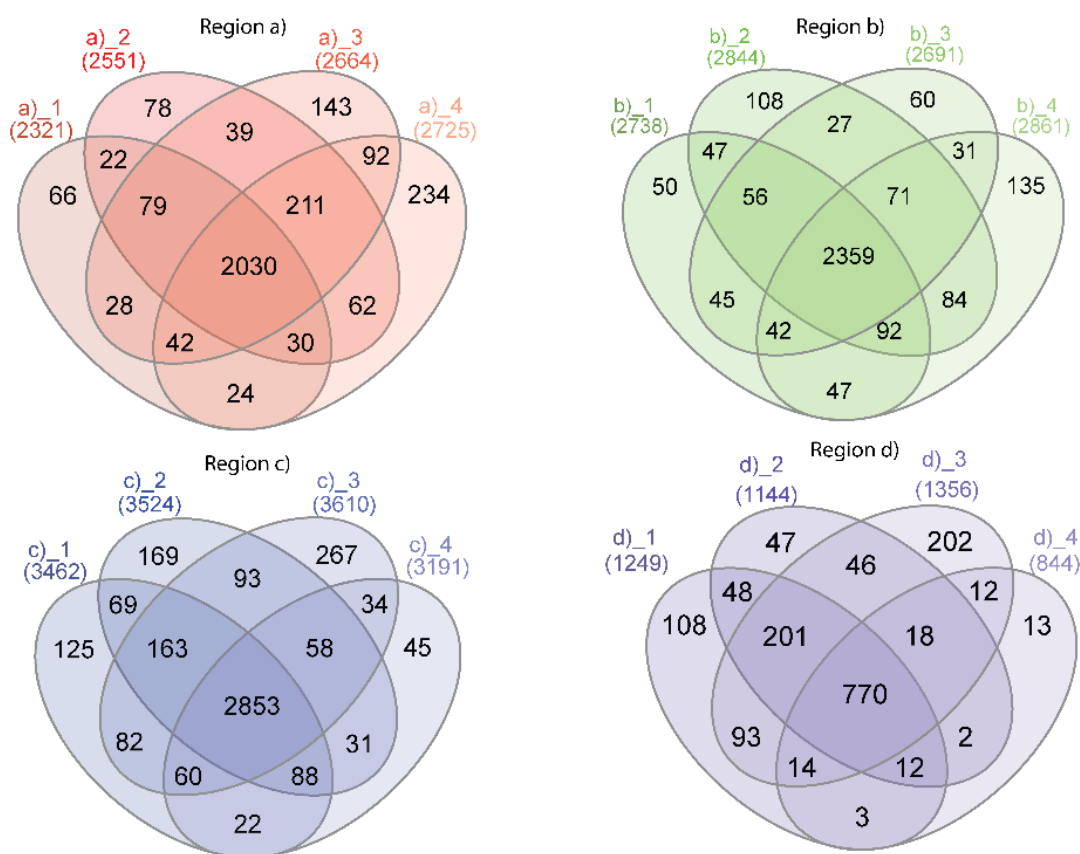


Figure S 3.7: Venn diagram of molecular attribution from extracted mass spectra of ground beech pellet pyrolysis with DIP-APCI FTICR MS. With a), start of thermo-desorption, b), transition to advanced pyrolysis products c), main pyrolysis products and d), residues

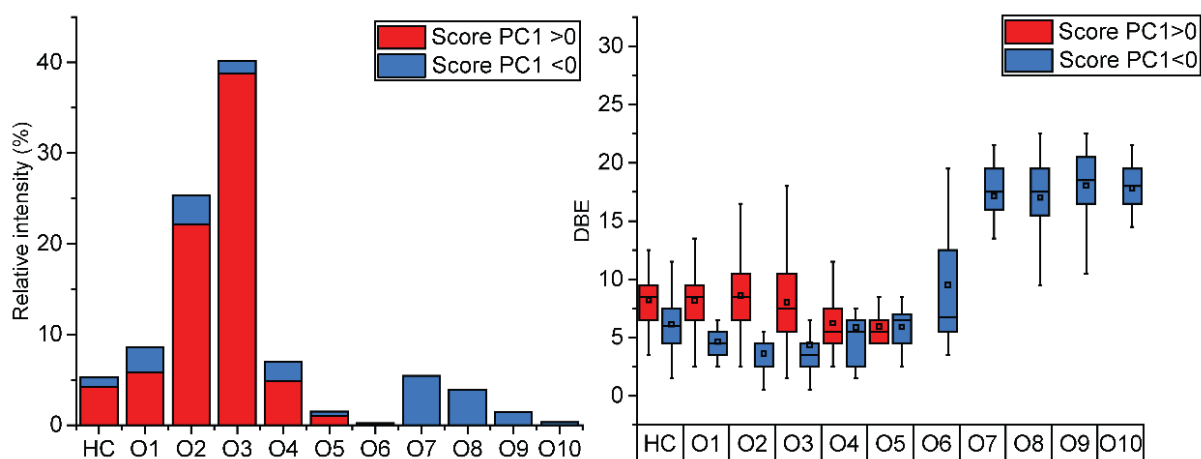


Figure S 3.8: Relative intensity by molecular classes histogram and DBE 5th, 25th, 75th, 95th percentile, and median values by molecular classes box chart linked to PC1 loadings

3.1.8 Références

1. Kan, T.; Strezov, V.; Evans, T. J., Lignocellulosic biomass pyrolysis: A review of product properties and effects of pyrolysis parameters. *Renew. Sust. Energ. Rev.* **2016**, *57*, 1126-1140.
2. Pöschl, U., Atmospheric Aerosols: Composition, Transformation, Climate and Health Effects. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44* (46), 7520-7540.
3. Laumbach, R. J.; Kipen, H. M., Respiratory health effects of air pollution: Update on biomass smoke and traffic pollution. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2012**, *129* (1), 3-11.
4. Adler, E., Lignin chemistry—past, present and future. *Wood. Sci. Technol.* **1977**, *11* (3), 169-218.
5. Martinez, A. T.; Speranza, M.; Ruiz-Duenas, F. J.; Ferreira, P.; Camarero, S.; Guillen, F.; Martinez, M. J.; Gutierrez, A.; del Rio, J. C., Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin. *Int Microbiol* **2005**, *8* (3), 195-204.
6. Kirk, T. K.; Farrell, R. L., Enzymatic "Combustion": The Microbial Degradation of Lignin. *Annu. Rev. Microbiol.* **1987**, *41* (1), 465-501.
7. Yang, H.; Yan, R.; Chen, H.; Lee, D. H.; Zheng, C., Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel* **2007**, *86* (12), 1781-1788.
8. Coats, A. W.; Redfern, J. P., Thermogravimetric analysis. A review. *Analyst* **1963**, *88* (1053), 906-924.
9. Holdiness, M. R., Evolved gas analysis by mass spectrometry: A review. *Thermochim. Acta* **1984**, *75* (3), 361-399.
10. Materazzi, S.; Risoluti, R., Evolved Gas Analysis by Mass Spectrometry. *Appl. Spectrosc. Rev.* **2014**, *49* (8), 635-665.
11. Guzzonato, A.; Mehlmann, H.; Krumwiede, D.; Harrad, S., A novel method for quantification of decabromodiphenyl ether in plastics without sample preparation using direct insertion probe – magnetic sector high resolution mass spectrometry. *Anal. Methods* **2016**, *8* (27), 5487-5494.
12. Flego, C.; Zannoni, C., Direct Insertion Probe–Mass Spectrometry (DIP–MS) Maps and Multivariate Analysis in the Characterization of Crude Oils. *Energy. Fuels.* **2012**, *27* (1), 46-55.
13. Flego, C.; Carati, C.; Gaudio, L. D.; Zannoni, C., Direct Mass Spectrometry of tar sands: A new approach to bitumen identification. *Fuel* **2013**, *111*, 357-366.
14. Flego, C.; Zannoni, C., Direct Insertion Probe–Mass Spectrometry: A Useful Tool for Characterization of Asphaltenes. *Energy. Fuels.* **2010**, *24* (11), 6041-6053.
15. Christensen, E.; Evans, R. J.; Carpenter, D., High-resolution mass spectrometric analysis of biomass pyrolysis vapors. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2017**, *124*, 327-334.
16. McEwen, C. N.; McKay, R. G.; Larsen, B. S., Analysis of Solids, Liquids, and Biological Tissues Using Solids Probe Introduction at Atmospheric Pressure on Commercial LC/MS Instruments. *Anal. chem.* **2005**, *77* (23), 7826-7831.
17. Farenc, M.; Corilo, Y. E.; Lalli, P. M.; Riches, E.; Rodgers, R. P.; Afonso, C.; Giusti, P., Comparison of Atmospheric Pressure Ionization for the Analysis of Heavy Petroleum Fractions with Ion Mobility-Mass Spectrometry. *Energy. Fuels.* **2016**, *30* (11), 8896-8903.
18. Barrère, C.; Maire, F.; Afonso, C.; Giusti, P., Atmospheric Solid Analysis Probe–Ion Mobility Mass Spectrometry of Polypropylene. *Anal. chem.* **2012**, *84* (21), 9349-9354.
19. Bruns, E. A.; Perraud, V.; Greaves, J.; Finlayson-Pitts, B. J., Atmospheric Solids Analysis Probe Mass Spectrometry: A New Approach for Airborne Particle Analysis. *Anal. chem.* **2010**, *82* (14), 5922-5927.
20. Marshall, A. G.; Rodgers, R. P., Petroleomics: Chemistry of the underworld. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2008**, *105* (47), 18090.
21. Purcell, J. M.; Juyal, P.; Kim, D.-G.; Rodgers, R. P.; Hendrickson, C. L.; Marshall, A. G., Sulfur Speciation in Petroleum: Atmospheric Pressure Photoionization or Chemical Derivatization and Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *Energy. Fuels.* **2007**, *21* (5), 2869-2874.
22. Ruger, C. P.; Sklorz, M.; Schwemer, T.; Zimmermann, R., Characterisation of ship diesel primary particulate matter at the molecular level by means of ultra-high-resolution mass spectrometry coupled to laser desorption ionisation--comparison of feed fuel, filter extracts and direct particle measurements. *Anal Bioanal Chem* **2015**, *407* (20), 5923-37.

23. Wei, J.; Bristow, A.; McBride, E.; Kilgour, D.; O'Connor, P. B., D-alpha-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate: a view from FTICR MS and tandem MS. *Anal Chem* **2014**, *86* (3), 1567-74.
24. Pouwels, A. D.; Boon, J. J., Analysis of beech wood samples, its milled wood lignin and polysaccharide fractions by curie-point and platinum filament pyrolysis-mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **1990**, *17* (2), 97-126.
25. Ingemarsson, Å.; Nilsson, U.; Nilsson, M.; Pedersen, J. R.; Olsson, J. O., Slow pyrolysis of spruce and pine samples studied with GC/MS and GC/FTIR/FID. *Chemosphere* **1998**, *36* (14), 2879-2889.
26. Ruger, C. P.; Miersch, T.; Schwemer, T.; Sklorz, M.; Zimmermann, R., Hyphenation of Thermal Analysis to Ultrahigh-Resolution Mass Spectrometry (Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry) Using Atmospheric Pressure Chemical Ionization For Studying Composition and Thermal Degradation of Complex Materials. *Anal Chem* **2015**, *87* (13), 6493-9.
27. Rogge, W. F.; Hildemann, L. M.; Mazurek, M. A.; Cass, G. R., Sources of Fine Organic Aerosol. 9. Pine, Oak, and Synthetic Log Combustion in Residential Fireplaces. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32* (1), 13-22.
28. Robb, D. B.; Covey, T. R.; Bruins, A. P., Atmospheric Pressure Photoionization: An Ionization Method for Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Anal. chem.* **2000**, *72* (15), 3653-3659.
29. Heberle, H.; Meirelles, G. V.; da Silva, F. R.; Telles, G. P.; Minghim, R., InteractiVenn: a web-based tool for the analysis of sets through Venn diagrams. *BMC. Bioinformatics.* **2015**, *16* (1), 169.
30. Kekäläinen, T.; Venäläinen, T.; Jänis, J., Characterization of Birch Wood Pyrolysis Oils by Ultrahigh-Resolution Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry: Insights into Thermochemical Conversion. *Energy. Fuels.* **2014**, *28* (7), 4596-4602.
31. Smith, E. A.; Park, S.; Klein, A. T.; Lee, Y. J., Bio-oil Analysis Using Negative Electrospray Ionization: Comparative Study of High-Resolution Mass Spectrometers and Phenolic versus Sugaric Components. *Energy. Fuels.* **2012**, *26* (6), 3796-3802.
32. Syage, J. A., Mechanism of $[M + H]^+$ formation in photoionization mass spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2004**, *15* (11), 1521-1533.
33. Horning, E. C.; Horning, M. G.; Carroll, D. I.; Dzidic, I.; Stillwell, R. N., New picogram detection system based on a mass spectrometer with an external ionization source at atmospheric pressure. *Anal. chem.* **1973**, *45* (6), 936-943.
34. Vaikkinen, A.; Kauppila, T. J.; Kostianen, R., Charge Exchange Reaction in Dopant-Assisted Atmospheric Pressure Chemical Ionization and Atmospheric Pressure Photoionization. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2016**, *27* (8), 1291-1300.
35. Kim, S.; Kramer, R. W.; Hatcher, P. G., Graphical Method for Analysis of Ultrahigh-Resolution Broadband Mass Spectra of Natural Organic Matter, the Van Krevelen Diagram. *Anal. chem.* **2003**, *75* (20), 5336-5344.
36. Podgorski, D. C.; Hamdan, R.; McKenna, A. M.; Nyadong, L.; Rodgers, R. P.; Marshall, A. G.; Cooper, W. T., Characterization of Pyrogenic Black Carbon by Desorption Atmospheric Pressure Photoionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *Anal. chem.* **2012**, *84* (3), 1281-1287.
37. Shen, D. K.; Gu, S., The mechanism for thermal decomposition of cellulose and its main products. *Bioresource Technology* **2009**, *100* (24), 6496-6504.
38. White, R. H.; Dietenberger, M. A., Wood Products: Thermal Degradation and Fire. In *Encyclopedia of Materials: Science and Technology*, Buschow, K. H. J.; Cahn, R. W.; Flemings, M. C.; Ilshner, B.; Kramer, E. J.; Mahajan, S.; Veyssi re, P., Eds. Elsevier: Oxford, 2001; pp 9712-9716.
39. Harrison, A. G., *Chemical Ionization Mass Spectrometry, Second Edition*. Taylor & Francis: 1992.
40. Vichi, S.; Santini, C.; Natali, N.; Riponi, C.; López-Tamames, E.; Buxaderas, S., Volatile and semi-volatile components of oak wood chips analysed by Accelerated Solvent Extraction (ASE) coupled to gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). *Food. Chem.* **2007**, *102* (4), 1260-1269.

41. Pérez-Coello, M. S.; Sanz, J.; Cabezudo, M. D., Analysis of volatile components of oak wood by solvent extraction and direct thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chrom. A* **1997**, 778 (1), 427-434.
42. Pérez-Coello, M. S.; Sanz, J.; Cabezudo, M. D., Determination of Volatile Compounds in Hydroalcoholic Extracts of French and American Oak Wood. *American Journal of Enology and Viticulture* **1999**, 50 (2), 162.
43. Farenc, M.; Witt, M.; Craven, K.; Barrère-Mangote, C.; Afonso, C.; Giusti, P., Characterization of Polyolefin Pyrolysis Species Produced Under Ambient Conditions by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry and Ion Mobility-Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2017**, 28 (3), 507-514.
44. Cossoul, E.; Hubert-Roux, M.; Sebban, M.; Churlaud, F.; Oulyadi, H.; Afonso, C., Evaluation of atmospheric solid analysis probe ionization coupled to ion mobility mass spectrometry for characterization of poly(ether ether ketone) polymers. *Analytica Chimica Acta* **2015**, 856, 46-53.

Résumé étendu de l'article : Ion mobility mass spectrometry of *in situ* generated biomass pyrolysis products

Le but de cet article est le développement d'une méthode de caractérisation directe de biomasse lignocellulosique solide par *atmospheric solid analysis probe* avec la spectrométrie de mobilité ionique couplée à la spectrométrie de masse ASAP IM-TOF MS. Cette méthode est appliquée à la comparaison de cinq biomasses : deux espèces de bois dur (hêtre et caryer), deux marques de granulés de bois tendre utilisées pour le chauffage domestique et une espèce herbacée (*miscanthus*).

La première partie présente l'étude de la dégradation du bois de hêtre par ASAP IM-TOF MS ainsi que sur la vérification de la bonne résolution des isobares. La Figure 3.9 présente le profil de désorption et le spectre de masse accumulé obtenu lors de l'analyse de granulés de bois de hêtre. Deux distributions d'ions sont observées correspondant aux composés monomériques et dimériques de la dégradation de la lignine. D'autres composés relatifs au traitement thermique du bois sont retrouvés comme le 5-hydroxyméthylfurfural, un composé de la dégradation de la cellulose. Afin de déterminer l'influence des composés isobariques, une analyse similaire a été réalisée par DIP FTICR MS. La Figure 3.10 présentant la superposition des spectres de masse obtenus par DIP FTICR MS et ASAP IM-TOF MS, montre que la résolution du TOF est suffisante pour observer la plupart des composés isobariques. L'influence des isotopes est de plus négligeable, permettant ainsi d'utiliser de manière fiable les attributions moléculaires obtenues avec les données ASAP IM-TOF MS.

Environ 1.000 attributions moléculaires ont été obtenues pour chacun des cinq échantillons de biomasse dont 75% sont reproductibles entre les répliqués. La cartographie moléculaire de ces attributions est représentée avec des diagrammes de van Krevelen pour chaque échantillon (Figure 3.11). Des différences de distribution d'ions sont observées entre les échantillons de bois dur, de bois tendre et de *miscanthus*. En effet, les bois durs présentent des produits de dégradation de la lignine supplémentaires par rapport aux bois avec un nombre d'atomes d'oxygènes élevé. Ces composés sont susceptibles d'être des dimères de lignine comprenant des unités S, peu présentes dans les bois tendres. En revanche, les bois tendres montrent une distribution d'ions supplémentaire par rapport aux bois dur, comprenant des molécules avec deux à quatre atomes d'oxygène et un caractère saturé à insaturé. Ces molécules correspondent aux extractibles comme les acides résiniques présents en plus grande quantité dans les bois tendres.

L'analyse par composante principale (PCA) des échantillons analysés par ASAP IM-TOF MS dont le graphique des individus est présenté en Figure 3.12 montre une séparation entre les espèces de bois dur, de bois tendre et de miscanthus. En effet, l'axe PC1 représentant 71% de la variance totale sépare le bois tendre du bois dur et miscanthus. Un diagramme de van Krevelen modifié est présenté avec la Figure 3.13 en utilisant les coefficients PC1 en tant que code couleur. Cette représentation graphique a permis d'extraire visuellement les ions présents spécifiquement ou en plus grande quantité dans les échantillons de bois tendre avec ceux présents dans le bois dur et le miscanthus.

La seconde partie de cette étude porte sur la détermination de section efficaces de collision expérimentales. En effet, une liste des composés avec les scores PC1 les plus faibles et les plus élevés a été réalisée pour l'étude des CCS. Cependant, un étalonnage à partir de composés de CCS connues dans la littérature est nécessaire avant la détermination des CCS expérimentales. L'étalon choisi est un mélange d'hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP). Ce mélange d'HAP a été choisi par sa structure rigide, relativement proche des polyphénols issues de la dégradation de la lignine. Cependant, la gamme de masse de ces standards ne couvrant pas l'intégralité de la gamme de masse des marqueurs extraits, un second étalon a été utilisé : la polyalanine. Les droites d'étalonnages CCS ainsi que les valeurs de CCS expérimentales pour le bois dur et le bois tendre en fonction du rapport m/z sont représentées graphiquement avec la Figure 3.14. Les valeurs de CCS déterminées sont similaires entre les espèces de biomasse, montrant ainsi la similarité isomérique des produits de pyrolyse de ces échantillons.

La dernière partie de l'article présente l'étude de la diversité isomérique par la comparaison de temps de dérive et CCS entre des molécules commerciales de produits de dégradation de la biomasse et des rapports m/z isolées à partir de la pyrolyse de la biomasse. En effet, des différences de temps de dérive et de largeur à mi-hauteur sont observées entre les ions issus des échantillons de biomasse et les ions observés à partir de molécules standard (Figure 3.15). La largeur à mi-hauteur généralement plus élevée pour les produits de pyrolyse du bois, indique la présence d'isomères pour ces masses isolées.

Pour aller plus loin dans la caractérisation structurale des produits de pyrolyse de la biomasse, des expériences de spectrométrie de masse en tandem ont été réalisées pour quatre molécules. La Figure 3.16 montre la comparaison du spectre MS/MS d'un standard de 5-hydroxyméthylfurfural avec le ratio m/z 127 obtenu lors de la pyrolyse de bois de hêtre, avec une tension de collision de 0 et 15 V.

Les fragments obtenus sont similaires entre la molécule commerciale et le produit de pyrolyse de la biomasse. Cependant, la comparaison des EIM montre une différence d'isomérisation pour certains ions fragments. Une investigation plus complète, notamment par calcul théorique structures et de leurs CCS associées pourrait permettre d'avoir des informations sur les isomères présents dans les produits de pyrolyse du bois.

3.2 Article 2: Ion mobility mass spectrometry of *in situ* generated biomass pyrolysis products.

Clément Castilla¹, Christopher P. Rüger^{1,2,3}, Hélène Lavanant¹, Carlos Afonso^{1,3}

1 Normandie Univ, UNIROUEN, INSA Rouen, CNRS, COBRA, 76000 Rouen, France

2 Universität Rostock, Institut für Chemie, Abteilung für Analytische und Technische Chemie,
Dr.-Lorenz.-Weg 2, Rostock, DE 18059

3 International Joint Laboratory – iC2MC: Complex Matrices Molecular Characterization,
TRTG, BP 27, 76700 Harfleur, France

3.2.1 **Abstract**

Lignocellulosic biomass is an abundant and renewable energy source that can be used as biofuel after physicochemical conversion, e.g. by fast pyrolysis. However, the chemical variations from wood and other biomass species affect this conversion. Chemical characterization is needed to obtain more information on the pyrolysis products depending on the biomass type and pyrolysis conditions. Here, we compared the fast pyrolysis molecular pattern of five lignocellulosic biomasses (beech, hickory, miscanthus and two brands of resinous wood pellets) obtained from a direct analysis method of solid samples coupled to ion mobility and time of flight mass spectrometry (IM-TOF MS). Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FTICR MS) with its ultra-high resolving power was used, with a similar solid analysis introduction approach, to probe for the presence of possible unresolved isobaric compounds in the IM-TOF MS analysis. Isobaric interferences were found to be negligible and molecular formulas determined using IM-TOF MS were confirmed as reliable. Principal component analysis on the molecular formulas allowed the extraction of marker ions preferentially found in hardwood and miscanthus or softwood species. Ion mobility drift time values from these biomass markers were converted into collision-cross sections (CCS), a direct measure of structure and shape of a molecule. No significant CCS differences were observed between the markers of the five wood samples, showing isomeric similarities between the samples. In order to move forward on the structural elucidation and characterization of the pyrolysis products, IM-TOF MS and tandem mass spectrometry (MS/MS) were performed on standard molecules and compared to the biomass pyrolysis products, highlighting the presence of isomers in the wood pyrolysis products.

Highlights

- Five pelletized lignocellulosic biomass samples in atmospheric solid analysis probe
- Ion mobility mass spectrometry for fast isobaric and isomeric fingerprinting
- Differentiation with principal component analysis on molecular formulas
- Tandem mass spectrometry coupled to ion mobility evidenced the presence of isomers
- Collision cross section determination and comparison

Keywords: Ambient ionization, lignocellulosic biomass, ion mobility, ultra high resolution mass spectrometry, biomass pellets, multivariate data analysis

3.2.2 Introduction

Lignocellulosic biomass is an abundant and renewable energy source that can be used as an alternative to fossil fuel, directly for heating purposes or as biofuel after physicochemical conversion. The usage of biomass or biomass-derived fuel for power generation is steadily increasing [1], motivated by its low carbon footprint [2]. Biomass includes agricultural waste, aquatic plants or algae, wood, and wood waste. Wood is mainly composed of cellulose, hemicellulose, lignin and extractable compounds [3, 4]. Cellulose and hemicellulose are polymers constituted of sugar units. Lignin is a complex reticulated polymer based on p-coumaryl (H unit), coniferyl (G unit) and sinapyl (S unit) building blocks. Wood composition can differ according to the species [5]. Softwood (gymnosperm) and hardwood (angiosperm) are the two dominant wood families. Softwood and hardwood can be differentiated by the proportion of the lignin monomeric units and the molecular profile of their extractable compounds. Hardwood lignin contains equivalent proportion of G and S units with traces of H units, whereas softwood lignin mainly contains G units with few H units [6]. The chemical differences from wood and other biomass species affect the conversion of biomass to biofuel. Conversion of wood for energy purposes can be done by pyrolysis and results in gas, solid and liquid products [7-9]. These products will have different chemical properties depending on the pyrolysis parameters e.g., fast or slow pyrolysis [10]. Chemical characterization is needed to obtain more information on the pyrolysis products depending on the biomass and pyrolysis process used.

In the last decades, several analytical methods have been developed for the description of solid biomass, among which pyrolysis mass spectrometry (Py-MS) is frequently used [11]. In Py-MS, the solid biomass is decomposed in a pyrolizer unit, and the evolved gas mixture is subjected to gas chromatographic separation or directly to mass spectrometric detection. Curie point filament and direct insertion probe (DIP) are two pyrolyzing approaches used for Py-MS. In a Curie point pyrolizer, the sample is coated on a filament submitted to fast inductive heating. With the direct insertion probe, the sample is inserted into an inert support and pyrolyzed by resistive heating. The pyrolysis products obtained are ionized, in most cases, under vacuum pressure using electron ionization (EI). These techniques have been applied to wood pyrolysis compounds in several studies [12-15]. Coupling gas chromatography to Py-MS (Py-GC-MS) allows a supplementary separation dimension, particularly useful for targeted approaches and structural elucidation [12, 14, 16, 17]. Gas chromatography, and in particular GC x GC remains, to this day, the gold standard in isomeric separation [18] but one analysis can last several minutes or hours. Pyrolysis gas chromatography suffers from similar drawbacks and limitations

as conventional gas chromatography: the analytes have to pass the separation column by means of volatility and stability. Certain polar constituents are difficult to detect by GC-MS. The presence of oxygen in molecules lowers vapor pressure by an order of magnitude or more compared to hydrocarbons, consequently limiting their analysis by GC-MS. Moreover, polar functionalities, such as carbonyls, are prone to decompose during long gas chromatographic analyses and molecules with high boiling points tend to remain trapped within the system. In addition, the use of a vacuum ionization source such as EI involves extensive fragmentation, making the interpretation of spectra from complex mixtures more challenging.

The development of ambient ionization methods operating at atmospheric pressure—where soft ionization occurs, giving low source fragmentation—led to new methods for direct analysis of solid samples. Atmospheric solid analysis probe (ASAP) or direct insertion probe (DIP) with atmospheric pressure chemical ionization (APCI) are two systems adapted to the analysis of solid or high viscous materials. With the ASAP source developed by McEwen et al. [19], the solid sample, contained in a glass capillary, is evaporated by a hot nitrogen gas stream, subsequently ionized within a nitrogen plasma. Fast analysis is feasible and minimal fragmentation is achieved by DIP or ASAP for small molecules, whereas larger molecules such as polymers lead to the formation of pyrolysis products [20]. Using this technique, biomass pyrolysis products have been described in a few studies [21, 22]. DIP is similar to ASAP except for geometric aspects regarding the source design and dimensions [23]. The immediate transfer and ionization in the heated ion source of the freshly pyrolyzed species should overcome the volatility and transfer limitations of gas chromatography and highly-polar species can be detected.

Differentiation of isobaric compounds found in complex matrices such as biomass pyrolysis products requires high resolving power. In that respect, Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer (FTICR MS) can be used with DIP APCI. FTICR MS provides high resolving power and mass accuracy, allowing separation of isobaric species. FTICR MS was used for many applications such as biomass [24], bio-oil [25] and aerosols [26] analyses. However, molecular formulas obtained with FTICR MS give only limited structural information as a molecular formula can correspond to many isomers. In that respect, ion mobility spectrometry mass spectrometry (IMS-MS), can be used as a complementary technique. In IMS, ions traverse a gas-filled ion mobility cell guided by an electric field and are separated by their size, shape and charge that gives rise to different drift time values [27]. This technique allows the separation of isomers and was used in numerous studies [28, 29]. The drift times (t_D) from the ions observed with IMS can be converted to experimental collision cross sections

(CCS). CCS is a molecular descriptor that depends on the buffer gas used (generally N₂ or He) and is linked to the ion size and shape. Ion mobility and ion mobility mass spectrometry were used in few studies for the identification of wood species [30, 31]. In the study of Lawrence et al. and Pettersen et al., the global ion mobility profile was used to compare volatile compounds from different wood samples. Moreover, the identification of several volatile compounds was achieved, and GC-MS experiments were used to support IMS data. However, at present, no study involving ion mobility directly coupled with mass spectrometry exists on wood pyrolysis products and no CCS were determined for these pyrolysis products.

This study builds upon a previous study which was based on the development of a DIP FTICR MS method for the characterization and differentiation of hardwood samples [32]. Using DIP, we aimed for the chemical description and differentiation of fast pyrolysis products of biomass by direct evolved gas analysis (EGA) approaches. Comprehensive chemical description deploying direct EGA techniques requires ultra-high resolution mass spectrometric detection. Nonetheless, ultra-high resolution provides information on molecular formulas but with no structural elucidation. The addition of ion mobility spectrometry allows to retrieve additional information on the isomeric content, without any significant increase of experiment time. In this study, ASAP was used with ion mobility and time of flight mass spectrometry (IM-TOF MS) to compare pyrolysis products from hardwood, softwood and miscanthus samples. The possible presence of unresolved isobaric compounds was investigated using DIP and the ultra-high resolving power of FTICR MS. Principal component analysis allowed the extraction of molecular markers relative to hardwood of softwood samples, and collision cross sections in nitrogen (CCSN₂) were determined for these markers using ion mobility. Also, the CCSN₂ of standard molecules were determined and compared to the CCSN₂ from biomass pyrolysis products. Further structural analysis was performed by comparison of MS/MS spectra from wood degradation markers and standard molecules to reveal the presence of isomers.

3.2.3 Materials and methods

3.2.3.1 Samples

Five different wood pellet types were investigated for this study. Two pellet types are representatives of hardwood: beech (Ooni, Edinburgh, Scotland) and hickory (Traeger Pellet Grills, Salt Lake City, USA). Two pellet types are representatives of softwood species: two brands of resinous wood pellets (Crepito®, Euro Energies, Saint Symphorien, France and Ignis®, Greenagro, Katowice, Poland). Miscanthus was used as an additional biomass type. The wood pellets were ground for two minutes, using an A 10 basic mill (IKA®-Werke GmbH & CO. KG, Germany) with a water-cooling system at approximately 15°C to prevent thermal alteration.

3.2.3.2 Experimental methods

A small amount of ground wood pellets (approx. 0.4 ± 0.1 mg) was introduced in the hollow part of a cylindrical glass capillary with 10 cm length and a diameter inferior to 1 mm. This glass tube was closed by a clean piece of a quartz fiber filter and introduced into the desorption and ionization unit of the mass spectrometer.

The presence of the quartz filter in the glass capillary tube induced a delay of evaporation of the sample. Such delay was found beneficial to avoid high ion currents during the thermo-desorption process, thus ensuring regular ion transmission and acquisition [32]. The start of the thermo-desorption and pyrolysis process was prompted by a heated gas stream. Each sample was recorded in triplicate on both mass spectrometric platforms.

FT ICR experiments were performed using a 12T SolariX XR FTMS (Bruker Daltonics). The sample introduction was performed by utilizing the Bruker Daltonics direct inlet probe (DIP), coupled with an atmospheric pressure chemical ionization source (APCI), operated in positive ion mode. Source parameters were chosen to ensure a robust, sensitive, and reproducible analysis of the biomass samples. The nitrogen nebulizer gas was set at a pressure of 3 bar and 400 °C and a nitrogen drying gas flow of 2 L/min at 200 °C. The corona current was set to 3 μ A (Table A 3.1 for source and acquisition parameters). A mass range of m/z 122.8 to m/z 1,000 was chosen for this study. The analog image current, or transient, was digitized with 2 million data points resulting in the recording of a 0.7 s time-domain signal, which was transformed into the corresponding frequency domain by Fourier transform (after one zero-fill and full-sine apodization). As resolving power scales with transient length, this 0.7 s transient allowed a compromise between the scan frequency of the thermo-desorption profile, which lasts

below 4 min, and the resolving power required to differentiate the common isobaric C₆H₆N₂O₂ compounds. A resolution of 400,000 was obtained at m/z 200. External m/z calibration of mass spectra was performed using a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) standard mixture (Supelco EPA 610, Sigma Aldrich) containing 16 different PAHs and measured with the same instrumental conditions. Internal calibration was performed on an average spectrum generated over the complete analysis using a well-identified series of oxygen-containing compounds (Table A 3.5).

Ion mobility experiments were performed on a Synapt G2 IMS Q-TOF mass spectrometer (Waters) equipped with an atmospheric solid analysis probe (ASAP), APCI source, and a traveling wave ion mobility (TWIMS) cell. Analyses were performed in positive mode. The source and probe temperature were set to 140°C and 650°C, with a cone gas flow of 20 L/h, and a desolvation gas flow at 1,200 L/h (Table A 3.2 for source and acquisition parameters). Sampling and extraction cone voltage were set to 20 V and 6 V, respectively, and corona current was set at 30 µA. These ASAP parameters were chosen to ensure optimal degradation and ionization of studied biomasses. They were different from the DIP APCI parameters because of probe and source geometry differences. The IMS parameters were set as following: helium cell flow at 180 mL/min, IMS cell nitrogen flow at 70 mL/min, wave velocity at 350 m/s and wave height at 15 V. Mass spectra were recorded over a range of m/z 50-1200. A resolution of 35,000 was obtained at m/z 200. External m/z calibration was performed using a sodium formate solution. Internal lockmass calibration was performed with an abundant ion from the lignin degradation (C₁₀H₁₂O₃⁺ ion, m/z 180.0786) using MassLynx 4.1 (Waters Corporation). All experiments were recorded in random order to avoid systematic bias from the measurement devices. CCS determination for non-uniform electric field instruments, such as traveling wave ion mobility mass spectrometry (TWIMS), requires a calibration using compounds with known CCS [33]. Here, calibration was performed using two sets of calibrants: polyalanine [34] and a mixture of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) [35]. Polyalanine was purchased from Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). The polyalanine calibrant solution was prepared from a stock solution (1 mg/mL in water/acetonitrile (1/1, v/v)) diluted to 10–5 mol/L in water/acetonitrile/acetic acid (49.5/49.5/1, v/v) as described elsewhere [36]. The solution was analyzed using positive electrospray ionization using the parameters shown in Table A 3.3. The EPA 525 PAH Mix (Table A 3.6) was purchased from Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). The PAH calibrant solution was prepared from a stock solution (500 mg/L) diluted to 0.3 mg/L in toluene and analyzed using direct infusion in

positive APCI and APPI mode (Table A 3.4). Note that because TWIMS is the ion mobility technology used and it is performed in nitrogen drift gas, the calibration used for collision cross section determination is performed using CCS in nitrogen, and the collision cross sections are termed TWCCSN2.

Moreover, a set of 12 molecules (Table A 3.7), putatively identified in the wood pyrolysis process, were analyzed using direct infusion APCI IM-MS from 50 μ M solutions in methanol. Nominal mass isolation of specific ions within the quadrupole was performed during analysis of the standard molecules. MS/MS experiments were performed on four of these ions and those obtained from the biomass pellet pyrolysis products. The fragmentation was performed in a collision trap prior ion mobility separation using a collision voltage of 15 V.

3.2.3.3 Data processing

For ASAP IMS TOF, raw files were directly processed by self-written MATLAB routines, and molecular assignation was performed using the raw formula C₆-100H₆-200O₀-10, double bond equivalent below 25 and H/C ratio between 0.4 and 2.8. Nitrogen was removed from the elemental composition, as the manual examination of the spectra revealed a negligible percentage of molecular attributions included a nitrogen atom. A maximum error of 50 ppm was allowed on the m/z values. At least 95% of the total ion intensity was attributed to molecular formulas.

The lists of attributed signals were further treated with MATLAB to create a list of molecular formulas common to at least two out of the three replicates. OriginPro (2016) and MATLAB were used for visualization of the data.

This filtered list of signals and their elemental composition were compared via multivariate data analysis. Principal component analyses (PCA) were performed for the ASAP IM-TOF MS data. All attributions were considered, and attributions not found within a sample were set to zero intensity. An excel file with all the attributions, absolute and normalized intensities is provided as supplementary information. Data were normalized using power transformation (square root) to correct for heteroscedasticity and do pseudo scaling [37]. The resulting scores and coefficient data, combined with the elemental composition attribution, were used for visualization. In this respect, score data are linked to the experiments (replicates and sample type) and coefficient data to the individual elemental compositions (molecular profile).

Ion mobility peaks were extracted using TWIM extract software from the Ruotolo research group [38]. The extracted data were fitted using symmetric Gauss function with Levenberg Marquardt iteration algorithm using OriginPro 2016 to determine each peak center and full width at half maximum (FWHM). Only mono-modal ion mobility peaks were studied. Moreover, peaks linked with ion statistics below 1000 arbitrary units were discarded since the abundance was too low for the determination of reliable drift time values. The fitted peak centers was used as drift time for the determination collision cross sections in nitrogen $^{TW}CCSN_2$.

3.2.4 Results and discussion

3.2.4.1 Study of ASAP IM-TOF MS profile and mass spectra for beech sample

Figure 3.9 shows, as an example, one typical mass spectrum averaged between 0 and 4 minutes from the analysis of beech pellets with ASAP IM-TOF MS.

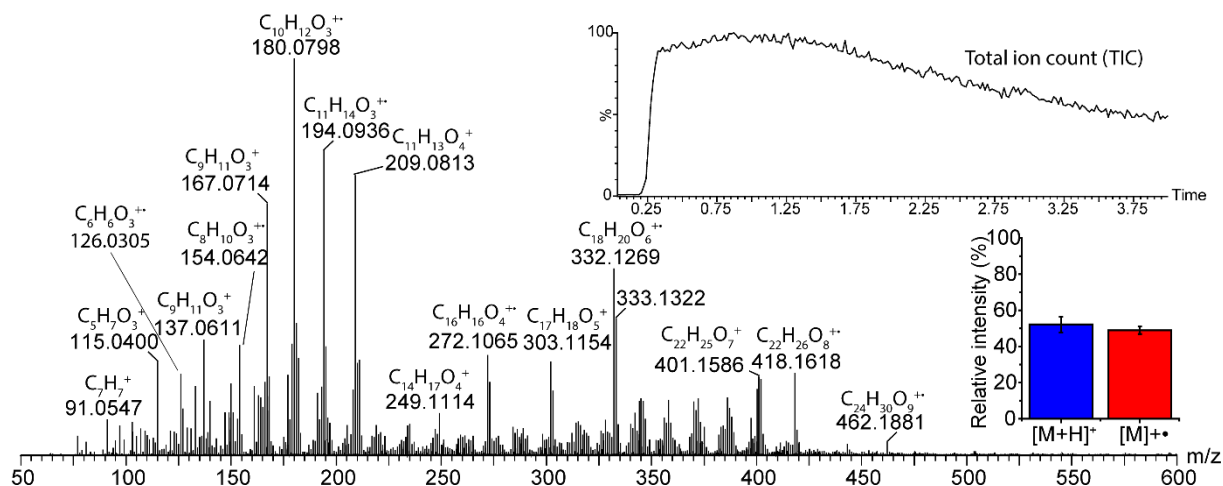


Figure 3.9 : Beech pyrolysis profile and mass spectra from ASAP IM-TOF MS experiment. The pyrolysis profile is displayed as total ion count (TIC) and the insert gives the proportion of protonated ($[M+H]^+$) and radical ($[M]^{+•}$) molecules.

The total ion count profile reached its maximum intensity after 1 min and decayed slowly. Typically, as is shown in the mass spectrum of beech pyrolysis in Figure 1, the mass spectra showed two ion distributions, one distribution in the lower range from m/z 100-300 and a second distribution in the range of m/z 300-450. With beech samples, the most abundant ions in the lower m/z range were m/z 167.0714, 180.0798, 194.0936 and 209.0813, which were consistent with monomeric lignin degradation products (Table A 3.8). Also, the m/z 126.0330 ion could correspond to the radical cation $M^{+•}$ of 5-(hydroxymethyl)-2-furaldehyde, also named hydroxymethylfurfural (HMF), a cellulose degradation product [39]. The 300-450 m/z range revealed m/z 332.1269, 357.1312, 371.1504, 387.1419 and 401.1586 as highly abundant species. These ions could be attributed to dimeric lignin degradation products, which could be present either as β - β , α -O-4 or β -O-4 linkages [40]. The proportion of protonated (52 ± 4 %) and radical molecules was equivalent. The Table A 3.8 lists ions detected with their elemental attribution errors and putative neutral structures.

After studying the general ASAP profile and mass spectrometric response, molecular formulas were attributed using the ASAP IM-TOF MS data for the five biomass samples. However, an investigation of isobaric compounds was needed to ensure the reliability of the molecular

attribution obtained with the mass resolution of the TOF analyzer. FTICR, with its ultra-high resolution and high mass accuracy, was used for that purpose. A direct insertion ionization source equivalent to ASAP, the DIP APCI source, was used to obtain comparable analytical conditions. Two ion distributions were observed for both ASAP IM-TOF MS and DIP FTICR (Figure A 3.1). The distribution in the lower range from m/z 100-300 was more intense with ASAP and the second distribution in the range of m/z 300-450 was more intense with DIP. Moreover, a higher number of different ions were found with DIP FTICR compared to ASAP IM-TOF MS. These variations are expected to result from both geometry differences between the two probes and differences between the mass analyzer. The TOF mass analyzer is faster compared to FTICR MS but less sensitive when operated in high resolution mode and reaches a lower resolution and dynamic range. The ASAP probe is heated to a set temperature (650°C) while in DIP only the nebulizer and drying gas are heated. Moreover, we cannot monitor the exact temperature and do not control how the heat transfers in either devices. The proportion of protonated molecules was higher for DIP APCI compared to ASAP. A modification of the ASAP ionization process was then needed to have a proportion of protonated molecules similar to DIP APCI, making the mass spectra more comparable. For that purpose, a vial of pure methanol was directly placed in the ASAP source (Figure A 3.2).

Figure 3.10 shows the overlay of DIP APCI FTICR and ASAP IM-TOF MS mass spectra for four selected nominal masses corresponding to the standard molecules further used in the ion mobility part of this study (Table A 3.8).

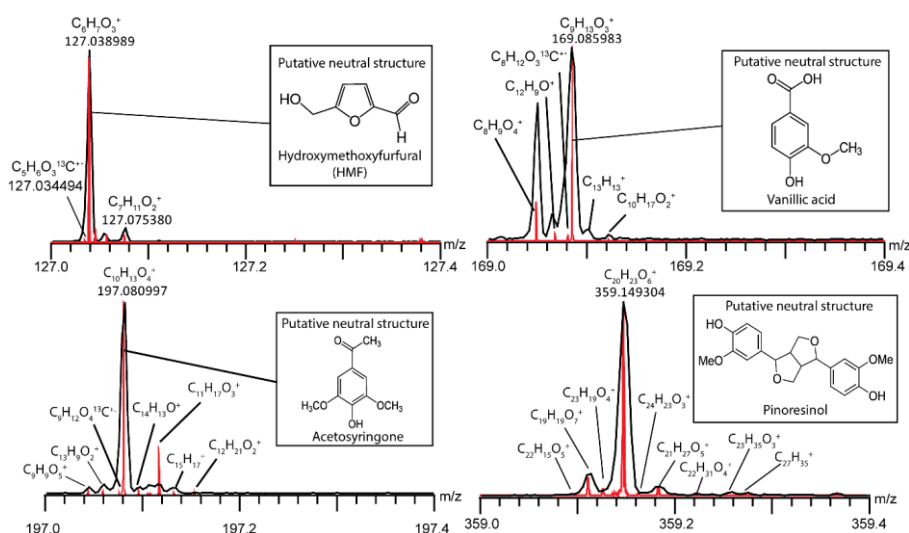


Figure 3.10: DIP FTICR (red) and ASAP IM-TOF MS (black) mass spectra overlayed at selected nominal masses. Putative neutral structures for selected compounds are shown.

The peaks of the DIP FTICR mass spectra are annotated with the attributed molecular formulas. As apparent in Figure 3.10, the number of peaks per nominal mass increased with rising m/z . The most intense peak at m/z 127 was the m/z 127.03900 peak that could be attributed to $C_6H_7O_3^+$, which could correspond to protonated HMF. An ion at m/z 127.07537, attributed to $C_7H_{11}O_2^+$ was also observed in both analytical methods. The only possible isobaric interference could arise from another signal at m/z 127.03449; which was attributed to the ^{13}C isotope from a $C_6H_6O_3^{+\bullet}$ radical cation. Similar observations were obtained throughout the mass spectra as shown for odd m/z nominal value ions m/z 169 and m/z 197, where low-intensity ^{13}C isotopes of radical cations were only resolved in DIP FTICR data. However, when $[M+H]^+$ ions are more intense compared to $M^{+\bullet}$ ions, isotopic interferences could be observed for even m/z nominal value ions (m/z 180, 210, 298, 352 in Figure A 3.3) where ^{13}C isotopes of $[M+H]^+$ may overlap with monoisotopic $M^{+\bullet}$ ions. When ASAP experiments were carried out without using a methanol vial in the source unit, protonated ions were less abundant and thus ^{13}C isotopes of $[M + H]^+$ were less intense in even m/z nominal value ions. Only low intensity ^{13}C isotopes from abundant radical cations could be present as unresolved signals together with less abundant protonated ions in odd m/z nominal value ions. Even then, the low abundance of ^{13}C isotopes were not found to cause any significant isobaric interferences so that ASAP IM-TOF MS experiments could be used as well for the determination of molecular markers of hardwood and softwood samples. The negligible influence of isobaric interferences in ASAP IM-TOF MS increased our confidence in the molecular attribution of ASAP IM-TOF MS data even with higher mass errors (around 5 ppm compared to 0.5 ppm with FTICR) and we found the use of methanol in the ASAP source was not needed. In fact, 70% of molecular formulas attributed were found in both conditions (with and without methanol) (Venn diagram in Figure A 3.4). However, still around 360 specific molecular formulas were obtained when methanol was added or not. We chose not to use methanol so as not to modify of the pyrolysis and ionization processes and decrease isobaric interference for even m/z nominal value ions. The finding that the presence of isobaric interferences was negligible, also in odd m/z nominal value ions also served as an indication that, when ion mobility was used, the extracted ion mobility spectra of a given m/z value should arise from one unique molecular formula rather than a collection of isobaric ions. Only molecular formulas derived from ASAP IM-TOF MS data without methanol were used in the following to compare the biomass samples.

3.2.4.2 Molecular mapping of the biomass samples

All ASAP IM-TOF MS data were processed using MATLAB scripts, and a list of molecular attributions for the replicates of each sample was obtained. Figure A 3.5 in the supplementary material shows the Venn diagram for all samples and replicates. Around 1,000 molecular formulas were determined for each biomass sample. Moreover, at least 75% of the molecular formulas for the five samples were common to at least three replicates, pointing out the reproducibility of the ASAP method. The ASAP IM-TOF MS molecular formulas were used in graphical representation for the comparison of the biomass samples. The van Krevelen diagram is a graphical representation that provides information on molecular families present in the studied samples by plotting the O/C and H/C molecular ratios of attributed molecular formulas [41]. Figure 3.11 shows van Krevelen diagram from the molecular formulas of the five biomass pellets analyzed (beech, hickory, Crepito®, Ignis® and miscanthus).

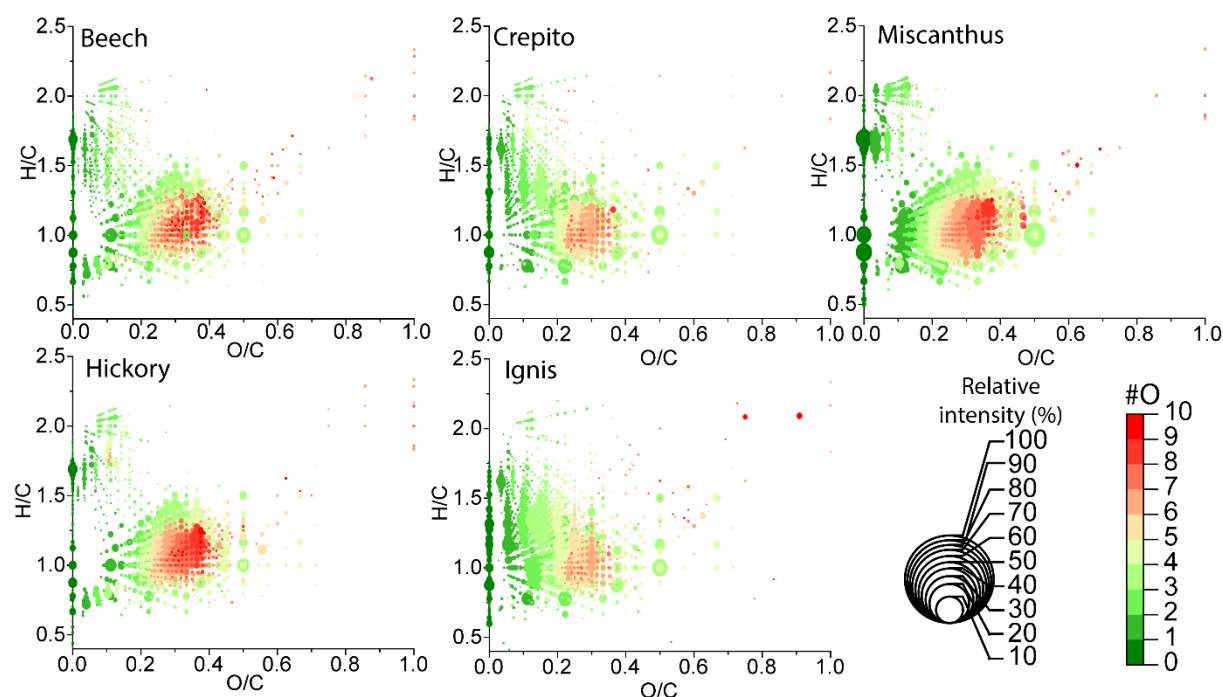


Figure 3.11: Van Krevelen diagrams from the analysis of five lignocellulosic biomass samples. The number of oxygen atoms is color-coded and the relative intensity is represented by the size of dots. The presented data is based on the average of three replicates.

The beech and hickory hardwood samples showed similar molecular families. One molecular family was found with H/C ratio between 1.3 and 2.3, O/C ratio between 0 and 0.2 and a low number of oxygen atoms (between one and three). Such ratios and characteristics point towards saturated compounds such as fatty acids and fatty ester. A second molecular family was

observed with H/C ratio between 0.75 and 1.5, O/C between 0.1 and 0.5 and a number of oxygen atoms from one to ten. This molecular family corresponded to lignin degradation products with lignin monomeric compounds at low O/C ratio and lignin dimeric compounds at higher O/C ratio. Lignin degradation products are expected to contain either p-coumaryl (H unit), coniferyl (G unit) or sinapyl (S unit) building blocks.

Crepito® and Ignis® softwood samples exhibited different molecular characteristics. One molecular family was found with lower H/C ratio between 0.75 and 1.5 and low O/C ratio between 0.05 and 0.2 and a number of oxygen atoms between one and four. Such characteristics are in line with wood extractable compounds, such as terpenoid, flavonoid and resins [42]. Such extractable compounds were not found in the beech and hickory hardwood samples, showing differences between the biomass species. Similarly to hardwood, a second molecular family, corresponding to lignin degradation products, was found in softwood samples with H/C ratio between 0.75 and 1.5, O/C between 0.1 and 0.4 and a number of oxygen atoms between one and eight. Small differences were observed between hardwood and softwood for that molecular attribution family. In fact, more compounds were found in hardwood samples than in softwood, and these compounds contained a higher number of oxygen atoms. Also, the relative intensity of the lignin degradation products was higher for hardwood samples [43].

The miscanthus sample was similar to the hardwood samples. The use of the van Krevelen diagram allowed differentiation of the five biomass samples based on a fingerprinting approach. However, further data processing, by means of principal component analysis (PCA), is required for data reduction and to extract molecular markers specific to the different wood species.

3.2.4.3 Multivariate statistical analysis for the differentiation of biomass samples

Molecular attributions and the normalized intensities from every sample were merged into one Table. This table was submitted to principal component analysis (PCA) and the score plot is shown in Figure 3.12.

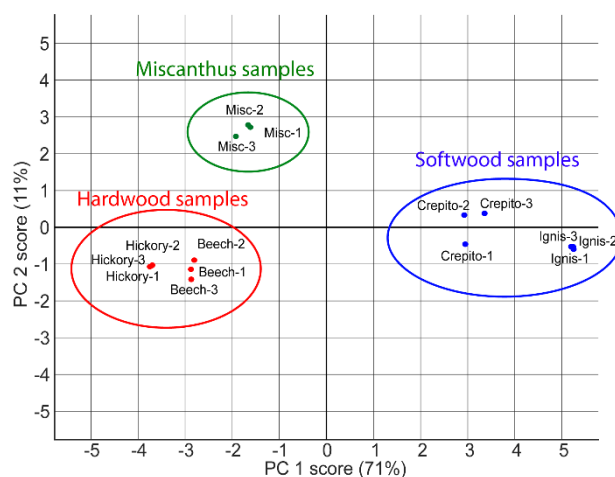


Figure 3.12: PCA Score plot visualizing the first two principal components obtained from ASAP IM-TOF MSPCA (around 82% of the total variance). Soft wood samples are given in blue, hardwood samples given in red and miscanthus sample displayed in green.

The first component of the PCA accounted for 71% of the total variability of the samples. The second component only accounted for 11% of the total variance. A clear separation could be observed between the softwood samples, with positive PC1 score, hardwood and miscanthus, with negative PC1 scores.

The first component showed similarities between hardwood and miscanthus. The separation of samples within the first component was used to explore the chemical differences between the samples. These differences are expected to derive from the relative ion abundance of marker species of a certain biomass type. The PC1 coefficients (also called loading data) were combined to the corresponding molecular attribution using van Krevelen diagram to better visualize the chemical differences between biomass samples. Figure 3.13 shows a van Krevelen diagram obtained from PCA data, with PC1 coefficients as color code and dot size as normalized summed intensity. Positive PC1 coefficients, represented in red, corresponded to molecular formulas more abundant in softwood. Negative PC1 coefficients, represented in green, corresponded to attributions more abundant in hardwood and miscanthus. The molecular attributions represented in yellow had similar intensities between hardwood, softwood and miscanthus.

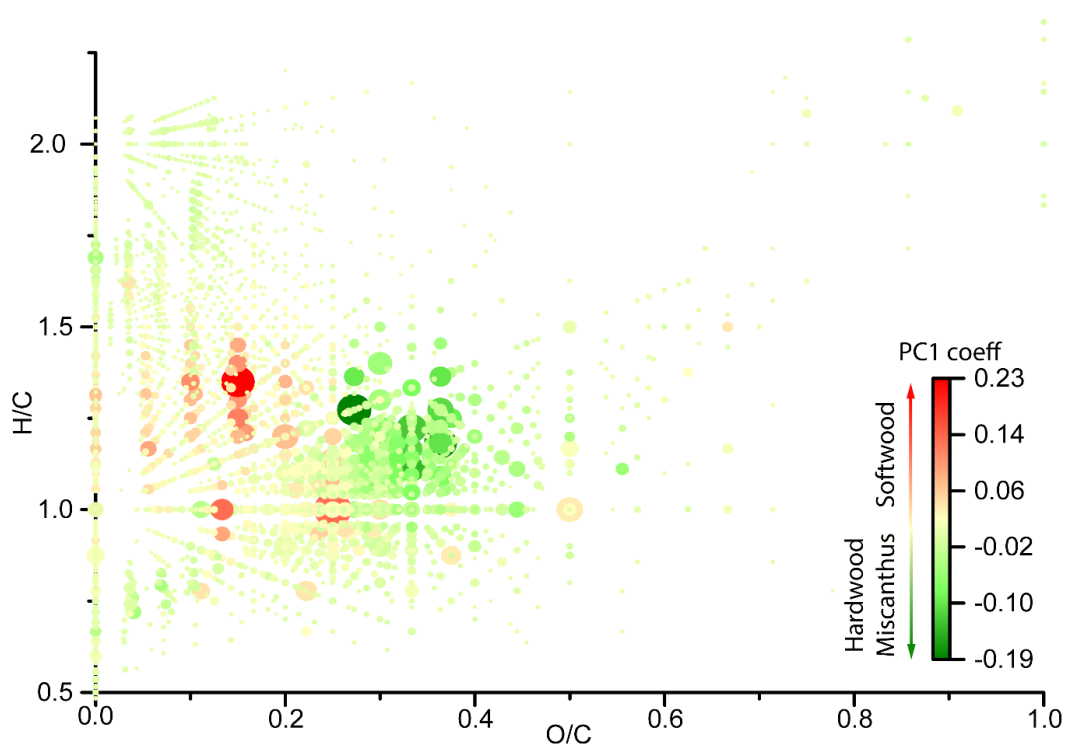


Figure 3.13: Modified van-Krevelen plot obtained from ASAP IM-TOF MS PCA data. The size of dot corresponded to the ion normalized summed intensity and the colormap corresponded to the PC1 coefficients.

Fatty acids and esters (appearing at H/C ratios above 1.5 and low O/C ratios) exhibited PC 1 loadings close to zero, showing that these compounds were found in the same proportion in the five biomass types or have high standard deviation from the replicates, making them not significant in the PCA.

Wood extractable compounds that have molecular formulas with H/C ratio between 1.0 and 1.6 and low O/C ratio (below 0.2) appeared with highly positive PC1 coefficients, confirming a higher abundance of these compounds in softwood samples. Among lignin degradation products, molecular formulas with lower H/C ratio ($0.8 < \text{H/C} < 1.0$) and slightly higher O/C ratios that correspond to p-hydroxyphenyl units (H) appeared with positive PC1 coefficients. Whereas lignin degradation products with molecular formulas of higher H/C and O/C ratios ($0.9 < \text{H/C} < 1.5$ and $0.25 < \text{O/C} < 0.4$) presented mostly negative PC1 coefficients. These ratios correspond to lignin degradation products containing syringyl units (S). The presence of S unit lignin degradation products was consistent with the higher proportion of synapyl alcohol monomer in hardwood species compared to softwood, already reported [44]. The molecular formulas with the ten highest and the ten lowest PC1 coefficients are listed in Table A 3.9 and Table A 3.10 with putative neutral structure and their family. Compounds of the terpenoid

family had positive PC1 coefficients and were therefore thought to characterize softwood. Molecules related to the S unit lignin monomer that had negative PC1 coefficients were found to characterize hardwood and miscanthus. However, at this level of data analysis, only molecular formulas were obtained, and we sought to describe discriminative ions further using ion mobility based on drift time and determination of their collision cross section (CCSN_2).

3.2.4.4 Collision cross section of hardwood and softwood pyrolysis molecular markers

The CCS determination was performed on sixty ions from biomass thermo-desorption and pyrolysis products. This number of ions was intended to initiate the creation of an experimental CCS database for wood degradation markers. Half of these ions were found to be characteristic to softwood samples (highest PC1 coefficients). These thirty attributions with the highest PC1 coefficient corresponded to biomass extractables. Most of these extractables were specifically found in softwood. The second half of the sixty chosen ions were found to be characteristic to hardwood samples (lowest PC1 coefficients). These thirty ions corresponded to monomeric and dimeric lignin degradation products. Some of these markers were below the detection limit or at very low abundance for the softwood samples.

The drift times values from the sixty biomass markers were determined from ion mobility peaks after a Gaussian fit. A calibration was performed to convert drift times to $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ using compounds of known collision cross section. It is recommended to choose calibrants with similar m/z and CCS range as well as similar structures to the studied ions [45]. A mix of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) was chosen as calibrant [35] since their structures are close to wood degradation products. Figure 3.14a shows the PAH CCS calibration curve (R^2 0.9966). The resulting $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ values of the biomass pyrolysis markers are listed in Table A 3.12 and $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ vs. m/z plot is shown in Figure 3.14c. Half of the $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ values from the biomass pyrolysis markers were very similar to the CCS of the PAH, confirming their shape similarity. However, the PAH mix only covered a range of m/z 50-278, so that the CCS of markers with higher masses needed to be extrapolated. To overcome this m/z and CCS range discrepancy, another set of CCS calibrant was used to extend the mass and CCS range. Polyalanine was used for that purpose since this CCS calibrant is well established [34]. However, calibration has been shown to differ with the choice of calibrants [36]. Figure 3.14b shows the polyalanine CCS calibration curve (R^2 0.9999). The slope was different from the calibration line obtained with the PAH mix. The $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ values, derived from this calibration for the biomass pyrolysis markers, are listed in Table A 3.11 and $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ vs. m/z plot is shown in Figure 3.14d. The polyalanine covered a m/z range from 232 to 587. However,

polyalanine is structurally very different from biomass pyrolysis markers as attested by their very different CCSN_2 values depending on m/z . Nevertheless, we chose to retain both calibrations but wish to point out that our $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ determinations are relative to one chosen calibrant: PAH for low mass compounds and polyalanine for higher mass compounds.

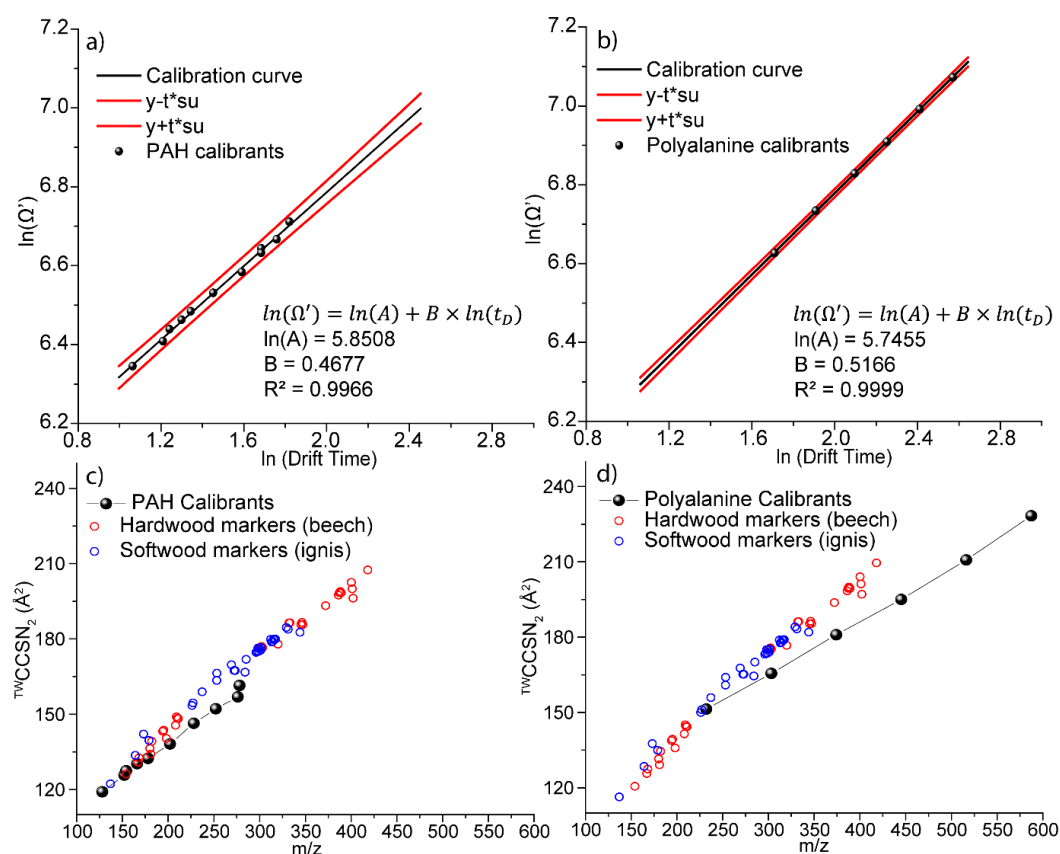


Figure 3.14: CCS calibration curve and $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ vs. m/z plots for the description of softwood and hardwood plus miscanthus molecular markers. a) and c) corresponded to CCS PAH calibration and $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ vs. m/z plot including PAHs calibrants. b) and d) corresponded to CCS polyalanine calibration and $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ vs. m/z plot including polyalanine calibrants.

The mean RSD values of the $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ from the three replicated experiments were below 0.5% for all five biomass samples. $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ differed between polyalanine and PAH mix CCS calibration. These differences were higher at low m/z ratio (up to 6 Å²). The $^{\text{TW}}\text{CCSN}_2$ values determined for each ion were similar for all the wood species, with maximum differences of 2 to 3 Å². These similarities in CCS showed that the five biomass samples most likely contained similar isomeric species. Further analysis was done to study the isomeric diversity of wood pyrolysis compounds using standard molecules.

3.2.4.5 Determination of collision cross sections of standard molecules and comparison with wood degradation products.

To have a better structural insight on wood degradation products, twelve standard molecules, which are markers from wood degradation [46], were analyzed using ion mobility mass spectrometry (Table A 3.7). These standards were chosen according to the molecular families found for wood degradation products [47]. Two degradation products of cellulose were studied, furfural (FF) and hydroxymethylfurfural (HMF), which result from incomplete degradation of cellulose. Abietic acid is an extractable found in coniferous wood. The other standard molecules studied are monomeric wood degradation products reported in the literature [46] monomers of the G, S and H units, which are lignin markers. The extracted ion mobility spectra of the ions obtained with these standard molecules were compared to the ions obtained from the biomass samples (Figure 3.15). Table 3.1 shows the $^{TW}CCSN_2$ values from the standard molecules and the corresponding $^{TW}CCSN_2$ from wood pyrolysis using PAH mix for CCS calibration. The mean RSD of three analytical replicates was below 0.3% for all the wood species and the standards.

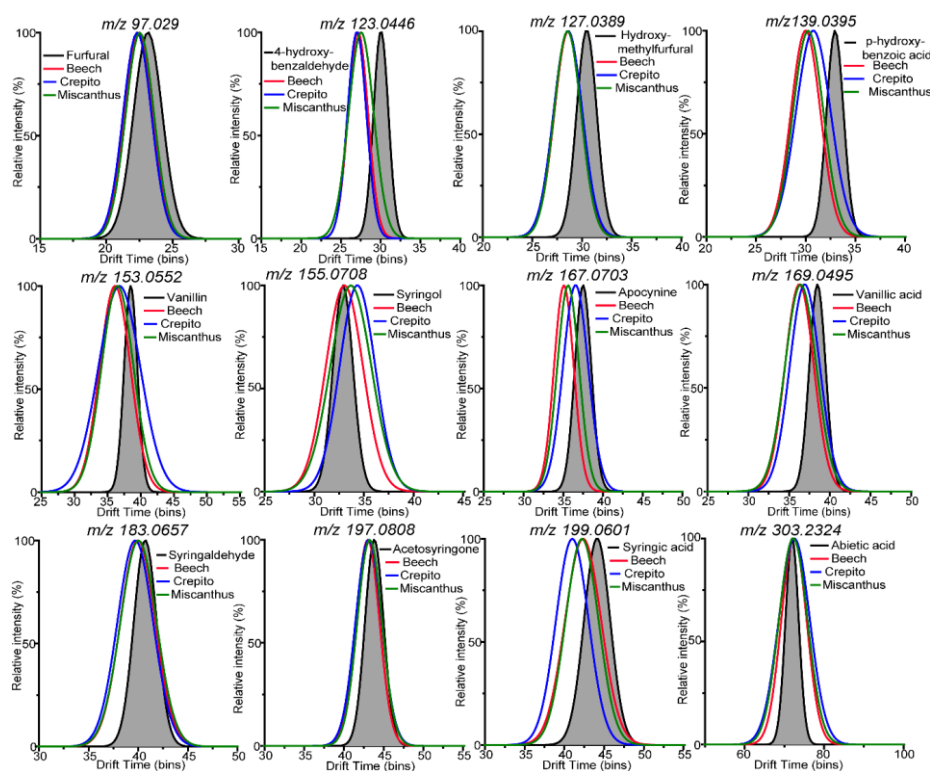


Figure 3.15: Gaussian fitted extracted ion mobility peaks from wood pyrolysis products. Ordinate was the relative intensity and the abscissa is the drift time measure in bins. The black line with grayed area represents the standard molecule, the red line displays beech sample

(hardwood), the blue line displays Crepito® sample (softwood) and the green line, visualize miscanthus sample.

Drift time distribution was found to be within the experimental distribution of the biomass material for all investigated standards. Nonetheless, the standards only account for a fraction of the isomeric diversity and the biomass materials exhibit significantly broader distributions.

Significant deviations between standard and biomass sample in drift times were observed for m/z 123.0446, 127.0389 and 139.0395, which corresponded to protonated 4-hydroxybenzaldehyde, hydroxymethylfurfural (HMF), p-hydroxybenzoic acid.

In most cases, the ions from the chosen standard molecule had larger drift times than the ions from the wood samples, which led to $^{TW}CCSN_2$ values 2 to 4 Å² higher for the ions from the chosen standard compared to the ions from the pellet samples. Such differences could arise from a different position of the substituents in these low molecular weight compounds. For all other ions, drift time values were more similar between the standard molecules and the wood degradation products. However, the full width at half maximum (FWHM) was generally higher for the wood degradation products than the chosen standard molecules. The largest increase in FWHM in the biomass materials were found for m/z 139.0395, 155.0708, 169.0495 and 303.2324, which corresponded to p-hydroxybenzoic acid, syringol, vanillic acid and abietic acid. A higher FWHM could indicate the presence of several unresolved isomers in the wood samples, compared to the chosen standard. In literature, the FWHM is used as a measure for isomeric diversity and thus expose valuable structural information [48].

To further characterize the molecular structure of the wood pyrolysis products and probe the presence of isomers, MS/MS experiments were performed on four of the selected standard molecules.

Table 3.1: $^{TW}CCSN_2$ values from the TWIMS analysis of twelve molecular standards and comparison with wood pyrolysis products. The twelve standard molecules were chosen according to the molecular families found for wood degradation products. The CCS values were determined in triplicate using PAH mix as CCS calibrant, for standard and the biomass samples and the RSD values are displayed.

Standard name	Origin	Formula	[M+H] ⁺ <i>m/z</i>	Standard molecules $^{TW}CCSN_2$ (Å ²) Mean value	Standard molecules $^{TW}CCSN_2$ RSD (%)	Beech $^{TW}CCSN_2$ (Å ²) Mean value	Beech $^{TW}CCSN_2$ RSD (%)	Hickory $^{TW}CCSN_2$ (Å ²) Mean value	Hickory $^{TW}CCSN_2$ RSD (%)	Crepito® $^{TW}CCSN_2$ (Å ²) Mean value	Crepito® $^{TW}CCSN_2$ RSD (%)	Ignis® $^{TW}CCSN_2$ (Å ²) Mean value	Ignis® $^{TW}CCSN_2$ RSD (%)	Miscanthus $^{TW}CCSN_2$ (Å ²) Mean value	Miscanthus $^{TW}CCSN_2$ RSD(%)
Furfural	Cellulose degradation	C5H4O2	97.029	110.03	0.09%	110.53	0.09%	110.49	0.04%	110.54	0.29%	110.36	0.02%	110.79	0.08%
Hydroquinone	Lignin monomer degradation H unit	C6H6O2	111.0446	111.01	0.19%	116.40	0.07%	116.44	0.05%	116.10	0.09%	116.09	0.06%	116.37	0.17%
4-Hydroxybenzaldehyde	Lignin monomer degradation H unit	C7H6O2	123.0446	122.27	0.07%	118.10	0.11%	118.04	0.04%	117.88	0.15%	117.85	0.05%	119.15	0.10%
Hydroxymethylfurfural	Cellulose degradation	C6H6O3	127.0389	122.71	0.01%	120.52	0.25%	120.51	0.13%	121.07	0.35%	120.79	0.02%	120.95	0.17%
p-hydroxybenzoic acid	Lignin monomer degradation H core	C7H6O3	139.0395	126.49	0.01%	122.41	0.15%	122.37	0.16%	124.79	0.71%	123.44	0.07%	123.21	0.09%
Vanillin	Lignin monomer degradation G core	C8H8O3	153.0552	129.44	0.05%	127.19	0.31%	126.98	0.20%	129.75	0.07%	129.66	0.03%	129.02	0.04%
Syringol	Lignin monomer degradation S core	C8H10O3	155.0708	125.41	0.10%	126.88	0.26%	126.59	0.16%	129.35	0.23%	129.55	0.06%	128.36	0.05%
Apocynine	Lignin monomer degradation G core	C9H10O3	167.0703	132.86	0.02%	130.17	0.06%	130.05	0.03%	132.29	0.39%	133.27	0.12%	131.00	0.14%
Vanillic acid	Lignin monomer degradation G core	C8H8O4	169.0495	134.38	0.08%	132.15	0.45%	131.92	0.28%	133.05	0.54%	132.75	0.33%	133.25	0.49%
Syringaldehyde	Lignin monomer degradation S core	C9H10O4	183.0657	137.45	0.07%	137.50	0.11%	137.43	0.07%	137.16	0.10%	136.78	0.06%	137.69	0.06%
Acetosyringone	Lignin monomer degradation S core	C10H12O4	197.0808	141.92	0.24%	141.79	0.08%	141.76	0.06%	142.04	0.04%	141.55	0.10%	142.11	0.05%
Syringic acid	Lignin monomer degradation S core	C9H10O5	199.0601	141.98	0.22%	140.47	0.16%	140.69	0.11%	139.03	0.42%	138.30	0.14%	140.38	0.09%
Abietic acid	Wood extractable	C20H30O2	303.2324	176.34	0.12%	177.51	0.15%	177.31*	0.06%*	177.19	0.35%	177.04	0.48%	177.63*	0.27%*

* Fitted peak height<1,000 arbitrary units

3.2.4.6 MS/MS experiment on standard molecules and wood degradation products

The four molecules chosen for MS/MS experiment were 4-hydroxybenzaldehyde (m/z 123.0446), hydroxymethylfurfural (m/z 127.0389), apocynin (m/z 167.0703) and acetosyringone (m/z 197.0808). These compounds were chosen for this experiment since they are representative of lignin and cellulose degradation products. 4-hydroxybenzaldehyde is a lignin H-unit compound, apocynin is a lignin G-unit compound, acetosyringone is a lignin S-unit compound and hydroxymethylfurfural (HMF) is a cellulose degradation product.

Figure 3.16 shows the comparison between MS/MS experiments of the HMF standard and MS/MS experiment of m/z 127.0389 from the ASAP analysis of beech at two different collision voltages applied in the trap cell placed before ion mobility separation.

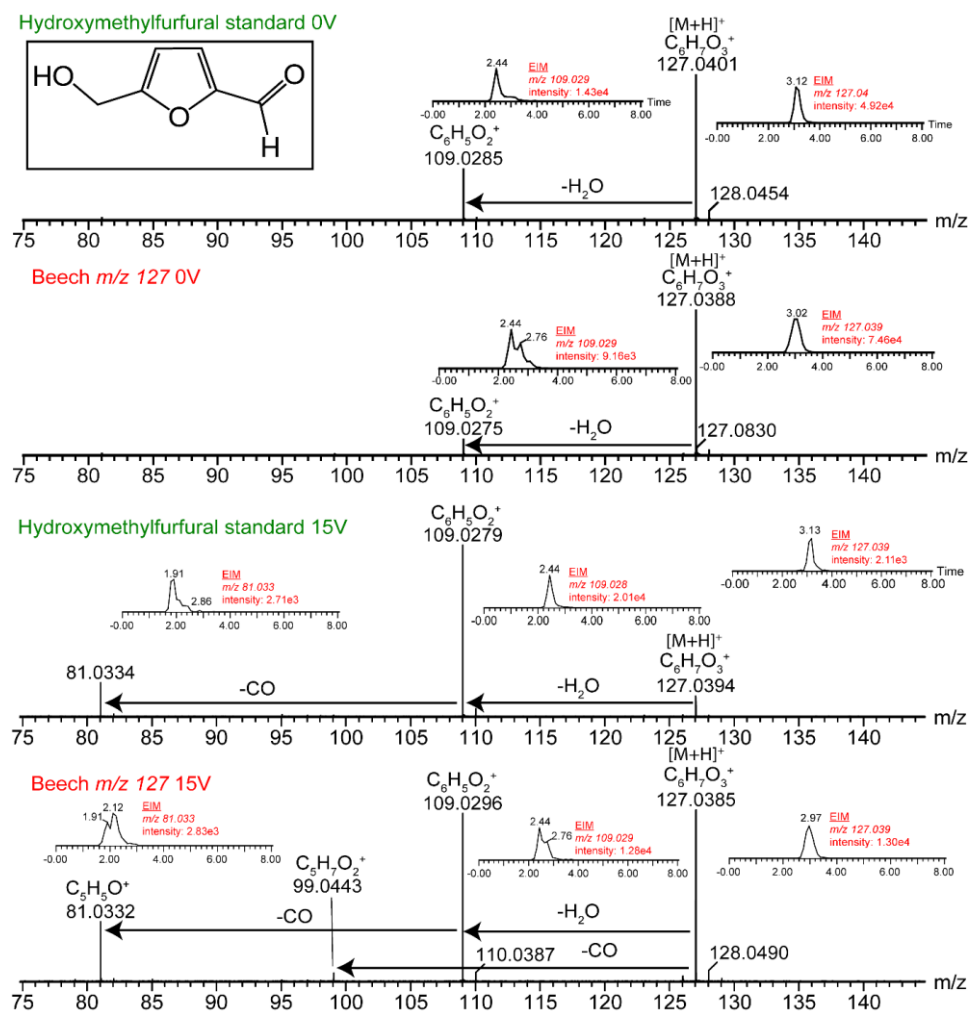


Figure 3.16: MS/MS spectra from the analysis of molecular standard and wood pyrolysis products. Two collision voltages were used: 0 V and 15 V. The upper spectrum for each collision voltage was from standard molecule and the lower spectrum, from the beech pellet pyrolysis. The extracted ion mobility was added for the most abundant peaks.

Fragmentation was observed even at 0 V collision voltage, due to a small voltage difference (4 V) required for ion transmission. The fragmentation pattern at 0 V was similar between HMF standard and beech pellet degradation: a dominant water loss signal was observed, followed by a subsequent loss of carbon monoxide. These losses correspond to cleavages of the furan substituents of HMF. The same fragments but more intense were observed for the HMF standard with 15 V collision voltage. Moreover, an m/z 99.0511 ion emerged in the beech pellet ASAP analysis at 15 V collision voltage. This ion is expected to result from a carbonyl loss from the m/z 127.0401 ion ($C_6H_7O^{3+}$).

The presence of an additional fragment ion, though small, could arise from the presence of isomeric diversity for the $C_6H_7O^{3+}$ ion in the beech pyrolysis products. This hypothesis was strengthened by the observation of several differences in the ion mobility profiles of the fragment ions. The m/z 109 extracted ion mobility with 15 V trap collision voltage showed two peaks for beech pyrolysis at 2.44 ms and 2.76 ms, while the m/z 109 ion from HMF showed only one peak at 2.44 ms. Still, the 2.44 ms peak was present in both samples, confirming the presence of HMF in beech pyrolysis products. The m/z 81 ion extracted ion mobility was also different between beech and HMF standard. For a collision voltage of 15 V, two peaks were observed at 1.91 ms and 2.33 ms for beech, whereas HMF standard had one peak at 1.80 ms with a small tailing at 2.44 ms. We hypothesize maltol as one of the possible isomers found in wood pyrolysis products, in addition to HMF.

The MS/MS spectra for 4-hydroxybenzaldehyde (m/z 123.0446, $C_7H_7O^{2+}$), apocynin (m/z 167.0703, $C_9H_{11}O^{3+}$) and acetosyringone (m/z 197.0808, $C_{10}H_{13}O^{4+}$) are shown in Figure A 3.6, Figure A 3.7 and Figure A 3.8, respectively. The fragmentation pattern of 4-hydroxybenzaldehyde (Figure A 3.6) showed a loss of a carbonyl function leading to m/z 95, which was also observed in the m/z 123 ion from the beech pellet. An additional fragment at m/z 77 was observed for the beech pellet ion. The m/z 123 extracted ion mobility peak was larger for beech with slight tailing observed.

The fragmentation pattern for apocynine standard and beech pellet ion at m/z 167 (Figure A 3.7) at a collision voltage of 15 V, showed two fragment ions at m/z 125 and at m/z 110, corresponding to the loss of a ketene molecule followed by the loss of a methyl radical. Different fragment ions (m/z 107, 123, 135 and 149) were observed for the beech sample. These additional fragment ions could be due to another precursor ion since the resolution of the quadrupole selection is limited as shown by the presence of an ion at m/z 166 corresponding to

the radical ion from $C_9H_{10}O_3$ in the MS/MS spectrum at 0 V collision voltage of the beech pellet ion at m/z 167. However, differences in drift time of the m/z 167 ion, although difficult to interpret, also pointed out that the m/z 167 ion from the beech pellet was probably not, or not only apocynine.

For acetosyringone and the associated m/z 197 for beech pellet (Figure A 3.8) differences were also observed. At a collision voltage of 0 V, m/z 196 ion was observed only for the beech sample. A higher number of fragment ions for the beech sample was observed when increasing the collision voltage to 15 V. However, similar fragments were observed between the acetosyringone standard and the m/z 197 from the beech pellet. These fragments were m/z 155, 140 and 109 (loss of a ketene molecule followed by the loss of a methyl radical and a methoxy radical). The extracted ion mobility spectrum from the m/z 155 fragment ion was different between the two samples: two ion mobility peaks were observed for beech and one peak was observed acetosyringone. This difference showed the presence of isomers within the m/z 155 fragment ion probably arising from the presence of isomers in the m/z 197 precursor ion for the beech pellet.

Consequently, although further investigation would be needed for full characterization, detailed tandem mass spectrometric experiments and ion mobility showed the ions derived from the beech pellet samples demonstrated that in addition to the standard molecules, various other isomeric structures are present in the wood pyrolysis products. As a consequence, for each molecular formula, several isomers should be considered and can be explored by the presented approach.

3.2.5 Conclusion

In this study, we present the direct analysis of solids by high resolution mass spectrometry and ion mobility spectrometry for the chemical description of degradation products from various biomass materials. Previously, DIP FTICR MS, giving information on molecular formula, was developed for the characterization of lignocellulosic biomass [32]. However, FTICR MS provided only limited structural information. The addition of ion mobility allowed for the observation of isomeric diversity during the biomass pyrolysis process for a wide variety of biomass types and pyrolysis products.

The analysis involved the use of an ASAP source that, beneficially, yielded in situ pyrolysis of the samples. Although the IMS data was obtained from a high-resolution time of flight instrument, the absence of isobaric interference was validated and confirmed by FTICR MS.

We could show that the ASAP IMS TOF platform is a powerful tool for the description of the pyrolysis product of biomass samples, giving both molecular formulas and isomeric information within minutes. Comprehensive processing of the ASAP IMS TOF data and multivariate data analysis by PCA allowed for the extraction of molecular markers specific to biomass families involving softwoods, hardwoods and miscanthus. The experimental $^{TW}CCSN_2$ of these markers were obtained using ion mobility mass spectrometry. Low $^{TW}CCSN_2$ differences were observed between the biomass samples, showing the isomeric similarities. By using standard molecules, it was demonstrated based on tandem mass spectrometry and ion mobility profiles that various isomers are present in the real biomass. In particular, differences in drift time and increase of peak width (FWHM) in the biomass sample could be observed. The authors believe that ASAP IMS TOF could be a supplemental technique to Py-GC-MS and GC×GC MS adding the drift time dimension, faster analysis time and CCS information. Py-GC-EI-QMS remains the state-of-the-art instrumental platform for the chemical description of the pyrolysis products from lignocellulosic biomass. Isomeric separation power, (i.e. peak capacity, number of theoretical plates orthogonality, etc), of established gas chromatographic solutions is superior to current ion mobility devices. Comprehensive gas chromatography (GC × GC) offers even higher peak capacity and better separation. Nevertheless, the measurement time of ASAP IM TOFMS is lower allowing for a higher throughput (even though pyrolysis gas chromatography can be automatized with an auto sampler). Thus, one key benefit of the presented approach is its ease of use (no time-demanding optimization of the chromatographic separation conditions for an optimized method) and the rapid measurements. However, the ion mobility resolution from the TWIMS system is limited, leading to poor separation of isomers. In this respect, cyclic ion mobility mass spectrometer with its higher ion mobility resolution could be used to improve the separation of isomers from wood pyrolysis products. Also, the ion mobility analysis procedure and the data processing workflow could be used to differentiate a larger group of biomass species. Future studies will involve the analysis of more standard molecules, including lignin dimers, for the creation of a $^{TW}CCSN_2$ database for wood degradation products. Finally, the calculation of theoretical CCS could be foreseen with different isomers from wood degradation products to confirm in-silico experimental CCS obtained with ASAP IMS TOF.

3.2.6 Acknowledgements

The COBRA laboratory is financed by the Labex SynOrg (ANR-11-LABX-0029) and the European Regional Development Fund (ERDF HN0001343). Financial support from the

National Fourier transform ion cyclotron resonance network (FR 3624 CNRS) and the European Union's Horizon 2020 Research Infrastructures program (grant agreement 731077), are gratefully acknowledged.

Appendix and electronic component

Tables of the experimental parameters for the DIP APCI FTICR MS and the ASAP IM TOF MS analyses of biomass pellets and CCS calibrants; list of ions used for internal calibration of DIP FTICR spectra; PAH mix used for CCS calibration; list of standard molecules putatively identified in the wood pyrolysis process; list of notable ions observed the pyrolysis of biomass pellets, including putative structures and relative mass errors observed with FTICR and TOF MS; molecular formulas extracted from the PCA on ASAP TOF MS; tables of TWCCSN2 (calibrated with PAHs or polyalanine) of sixty molecular markers obtained from the pyrolysis of biomass samples; mass spectra of beech pyrolysis; Venn diagrams on lists of molecular formulas; MS/MS spectra. Excel file with all attributions, absolute and normalized intensities.

3.2.7 Appendix

Ion mobility mass spectrometry of in situ generated biomass pyrolysis products.

Clément Castilla¹, Christopher P. Rüger^{1,2,3}, Hélène Lavanant¹, Carlos Afonso^{1,3}

1. Normandie Univ, UNIROUEN, INSA Rouen, CNRS, COBRA, 76000 Rouen, France

2. Universität Rostock, Institut für Chemie, Abteilung für Analytische und Technische Chemie, Dr.-Lorenz.-Weg 2, Rostock, DE 18059

3. International Joint Laboratory – iC2MC: Complex Matrices Molecular Characterization, TRTG, BP 27, 76700 Harfleur, France

Contents:

Table A 3.1 DIP APCI FTICR MS parameters for the analysis of biomass pellets.

Table A 3.2: ASAP IM TOF MS parameters for the analysis of biomass pellets.

Table A 3.3: ESI IM TOF MS parameters for the analysis of CCS calibrant (polyalanine).

Table A 3.4: APCI IM TOF MS parameters for the analysis of CCS calibrant (PAH mix).

Table A 3.5: Ions used for internal calibration of DIP APCI FTICR MS spectra. All ions are singly charged.

Table A 3.6: PAH mixture used for CCS calibration.

Table A 3.7: Standard molecules putatively identified in the wood pyrolysis process.

Table A 3.8: List of notable ions observed the pyrolysis of biomass pellet, including putative structure and relative mass errors observed with FTICR MS and IM ToF MS.

Table A 3.9: Molecular formulas extracted from ASAP TOF MS PCA: ten molecular formulas with the lowest PC1 coefficient that are more specific to hardwood and miscanthus.

Table A 3.10: Molecular formulas extracted from ASAP TOF MS PCA: ten molecular formulas with the highest PC1 coefficient that are more specific to softwood

Table A 3.11: ^{TWCCSN2} (calibrated with polyalanine) of sixty molecular markers obtained from the pyrolysis of biomass sample.

Table A 3.12: ^{TWCCSN2} (calibrated with PAHs) of sixty molecular markers obtained from the pyrolysis of biomass sample.

Figure A 3.1 Comparison of beech pyrolysis profile and mass spectra from a) DIP APCI FTICR MS b) ASAP IMS TOF experiment. The pyrolysis profile are displayed as total ion count (TIC) and the insert are corresponding to the proportion of protonated ($[M+H]^+$) and radical ($[M]^{+•}$) molecules.

Figure A 3.2: TOF MS mass spectra from beech pellet pyrolysis with and without addition of methanol vial in ionization source. An insert at m/z 168 to m/z 169 was added.

Figure A 3.3 : Overlay of the ASAP TOF MS (black) and DIP FTICR (red) mass spectra for selected odd and even nominal m/z values

Figure A 3.4 : Venn diagram for the number of molecular formulas attributed in mass spectra obtained in ASAP IM-TOF MS with and without MeOH

Figure A 3.5: Venn diagrams from the molecular attributions obtained with ASAP TOF MS spectra. Hardwood samples are represented in red, softwood in blue and miscanthus in green.

Figure A 3.6: MS/MS spectra from the analysis of 4-hydroxybenzaldehyde standard and beech pyrolysis at m/z 123 with two collision voltage of 0V and 15V.

Figure A 3.7 : MS/MS spectra from the analysis of apocynine standard and beech pyrolysis at m/z 167 with two collision voltage of 0V and 15V.

Figure A 3.8: MS/MS spectra from the analysis of acetosyringone standard and beech pyrolysis at m/z 197 with two collision voltage of 0V and 15V.

Table:

Table A 3.1 DIP APCI FTICR MS parameters for the analysis of biomass pellets.

Source parameters	
Ionization source	DIP-APCI
Ionization mode	Positive
Mass range	122-1000
Drying gas temperature (°C)	200
Drying gas flow (L/min)	2
Nebulizer gas temperature (°C)	400
Nebulizer gas pressure (bar)	3
Capillary voltage (V)	1000
Spray shield voltage (V)	-500
Corona needle (μA)	3
Acquisition parameters	
transient length (s)	0.7
data points	2M
Accumulation time (s)	0.1

Table A 3.2: ASAP IM TOF MS parameters for the analysis of biomass pellets.

Source parameters		Ion mobility parameters	
Ionization source	ASAP	Source wave velocity (m/s)	300
Analyser	High resolution mode (W)	Source wave height (V)	0.2
Polarity	Positive	Trap wave velocity (m/s)	311
Mass range	50-1200	Trap wave height (V)	5.0
Corona current (μA)	30	IMS Wave Velocity (m/s)	350
Probe temperature (°C)	650	IMS Wave Height (V)	15.0
Source temperature (°C)	140	IMS Gas Flow (mL/min)	70.00
Cone gas flow (L/h)	20	Transfer wave velocity (m/s)	350
Desolvatation gas flow (L/h)	1200	Transfer wave height (V)	5.0
Sampling cone (V)	20		
Extraction cone (V)	5		

Table A 3.3: ESI IM TOF MS parameters for the analysis of CCS calibrant (polyalanine).

Source parameters		Ion mobility parameters	
Ionization source	ESI infusion	Source wave velocity	300 m/s
Analyser	High resolution mode (W)	Source wave height	0.2 V
injection flow	350 µL/h	Trap wave velocity	311 m/s
Polarity: positive	Positive	Trap wave height	5.0 V
Capillary	3 kV	IMS Wave Velocity	350 m/s
Desolvatation temperature	250°C	IMS Wave Height	15.0 V
Source temperature	90°C	IMS Gas Flow	70.00 mL/min
Cone gas flow	20 L/h	Transfer wave velocity	350 m/s
Desolvatation gas flow	800 L/h	Transfer wave height	5.0 V
Sampling cone	20 V		
Extraction cone	5V		

Table A 3.4: APCI IM TOF MS parameters for the analysis of CCS calibrant (PAH mix).

Source parameters		Ion mobility parameters	
Ionization source	APCI	Source wave velocity	300 m/s
Analyser	High resolution mode (W)	Source wave height	0.2 V
injection flow	400 µL/h	Trap wave velocity	311 m/s
Polarity: positive	Positive	Trap wave height	5.0 V
Corona current	5 µA	IMS Wave Velocity	350 m/s
Probe temperature	500°C	IMS Wave Height	15.0 V
Source temperature	120°C	IMS Gas Flow	70.00 mL/min
Cone gas flow	30 L/h	Transfer wave velocity	350 m/s
Desolvatation gas flow	800 L/h	Transfer wave height	5.0 V
Sampling cone	20 V		
Extraction cone	5V		

Table A 3.5: Ions used for internal calibration of DIP APCI FTICR MS spectra. All ions are singly charged.

<i>m/z</i>	Formula	<i>m/z</i>	Formula	<i>m/z</i>	Formula	<i>m/z</i>	Formula
126.031145	C6H6O3	246.125046	C15H18O3	329.101965	C18H17O6	401.15948	C22H25O7
127.038971	C6H7O3	248.10431	C14H16O4	330.10979	C18H18O6	401.195865	C23H29O6
138.067531	C8H10O2	249.112135	C14H17O4	330.146175	C19H22O5	402.167305	C22H26O7
139.038971	C7H7O3	256.239682	C16H32O2	331.117615	C18H19O6	408.15674	C24H24O6
140.046796	C7H8O3	258.08866	C15H14O4	332.12544	C18H20O6	410.17239	C24H26O6
141.054621	C7H9O3	261.112135	C15H17O4	332.146569	C15H24O8	411.180215	C24H27O6
150.067531	C9H10O2	262.11996	C15H18O4	340.09414	C19H16O6	412.18804	C24H28O6
152.046796	C8H8O3	271.096485	C16H15O4	340.130525	C20H20O5	413.195865	C24H29O6
153.054621	C8H9O3	272.10431	C16H16O4	341.101965	C19H17O6	414.167305	C23H26O7
154.062446	C8H10O3	273.112135	C16H17O4	342.10979	C19H18O6	420.15674	C25H24O6
155.070271	C8H11O3	274.083575	C15H14O5	342.146175	C20H22O5	424.18804	C25H28O6
164.083181	C10H12O2	280.109396	C18H16O3	343.117615	C19H19O6	425.195865	C25H29O6
165.054621	C9H9O3	284.10431	C17H16O4	344.12544	C19H20O6	427.211515	C25H31O6
166.062446	C9H10O3	286.11996	C17H18O4	345.133265	C19H21O6	428.182955	C24H28O7
167.070271	C9H11O3	288.099225	C16H16O5	346.14109	C19H22O6	434.17239	C26H26O6
168.078096	C9H12O3	289.10705	C16H17O5	354.10979	C20H18O6	441.19078	C25H29O7
179.070271	C10H11O3	289.10705	C16H17O5	355.117615	C20H19O6	442.198605	C25H30O7
180.078096	C10H12O3	291.1227	C16H19O5	356.12544	C20H20O6	450.167305	C26H26O7
181.085921	C10H13O3	298.11996	C18H18O4	357.133265	C20H21O6	458.17239	C28H26O6
182.093746	C10H14O3	300.135611	C18H20O4	358.14109	C20H22O6	468.198999	C23H32O10
183.101571	C10H15O3	302.114875	C17H18O5	359.148915	C20H23O6	470.17239	C29H26O6
192.078096	C11H12O3	310.11996	C19H18O4	360.15674	C20H24O6	479.482258	C32H63O2
193.085921	C11H13O3	312.135611	C19H20O4	368.12544	C21H20O6	493.497908	C33H65O2
194.093746	C11H14O3	314.151261	C19H22O4	369.133265	C21H21O6	506.193519	C29H30O8
195.101571	C11H15O3	315.086315	C17H15O6	370.14109	C21H22O6	507.513558	C34H67O2
196.109396	C11H16O3	316.09414	C17H16O6	371.148915	C21H23O6	514.198605	C31H30O7
197.080835	C10H13O4	316.130525	C18H20O5	372.120354	C20H20O7	520.172784	C29H28O9
197.117221	C11H17O3	317.101965	C17H17O6	372.15674	C21H24O6	536.204084	C30H32O9
207.101571	C12H15O3	318.10979	C17H18O6	373.164565	C21H25O6	549.487737	C35H65O4
208.109396	C12H16O3	328.09414	C18H16O6	374.17239	C21H26O6	601.519037	C39H69O4
209.080835	C11H13O4	328.130525	C19H20O5	382.14109	C22H22O6		
209.117221	C12H17O3	289.10705	C16H17O5	383.148915	C22H23O6		
210.08866	C11H14O4	298.11996	C18H18O4	384.15674	C22H24O6		
211.096485	C11H15O4	300.135611	C18H20O4	385.164565	C22H25O6		
211.132871	C12H19O3	302.114875	C17H18O5	386.136004	C21H22O7		
218.093746	C13H14O3	310.11996	C19H18O4	386.17239	C22H26O6		
219.101571	C13H15O3	312.135611	C19H20O4	387.143829	C21H23O7		
221.117221	C13H17O3	314.151261	C19H22O4	387.180215	C22H27O6		
223.096485	C12H15O4	315.086315	C17H15O6	389.15948	C21H25O7		
232.07301	C13H12O4	316.09414	C17H16O6	394.14109	C23H22O6		
232.109396	C14H16O3	316.130525	C18H20O5	396.15674	C23H24O6		
234.08866	C13H14O4	317.101965	C17H17O6	397.164565	C23H25O6		
235.096485	C13H15O4	318.10979	C17H18O6	398.17239	C23H26O6		
237.112135	C13H17O4	328.09414	C18H16O6	399.180215	C23H27O6		
246.08866	C14H14O4	328.130525	C19H20O5	400.151655	C22H24O7		

Table A 3.6: PAH mixture used for CCS calibration.

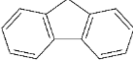
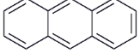
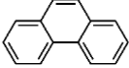
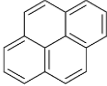
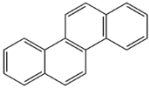
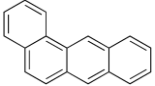
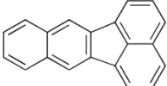
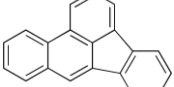
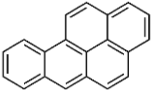
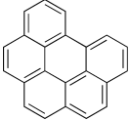
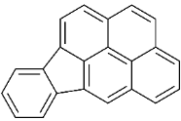
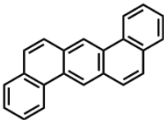
Nom	m/z	Formula	Structure
Acenaphthylene	152.0626	C ₁₂ H ₈	
Fluorene	166.0782	C ₁₃ H ₁₀	
Anthracene	178.0782	C ₁₄ H ₁₀	
Phenanthrene	178.0782	C ₁₄ H ₁₀	
Pyrene	202.0783	C ₁₆ H ₁₀	
Chrysene	228.0939	C ₁₈ H ₁₂	
Benz[a]Anthracene	228.0939	C ₁₈ H ₁₂	
Benzo[b]fluoranthene	252.0939	C ₂₀ H ₁₂	
Benzo[k]fluoranthene	252.0939	C ₂₀ H ₁₂	
Benzo[a]pyrene	252.0939	C ₂₀ H ₁₂	
Benzo[ghi]perylene	276.0939	C ₂₂ H ₁₂	
Indeno(1,2,3-cd)pyrene	276.0939	C ₂₂ H ₁₂	
Dibenz[a,h]anthracene	278.1095	C ₂₂ H ₁₄	

Table A 3.7: Standard molecules putatively identified in the wood pyrolysis process.

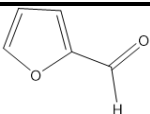
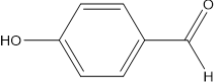
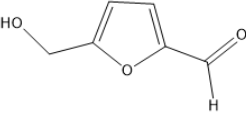
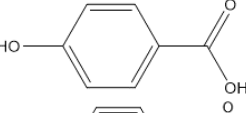
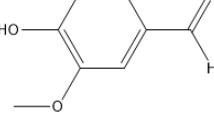
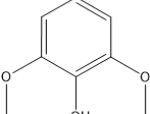
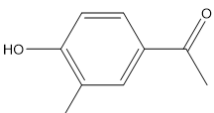
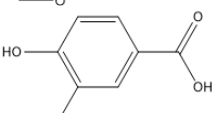
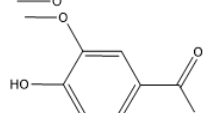
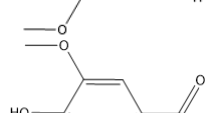
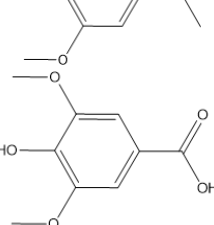
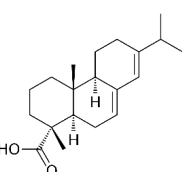
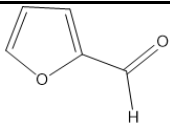
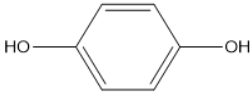
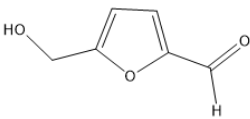
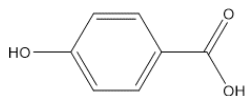
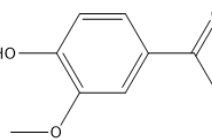
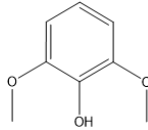
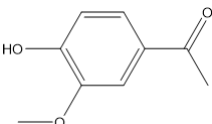
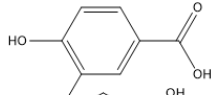
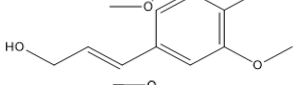
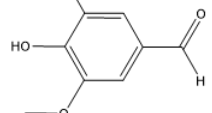
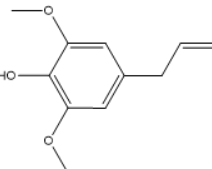
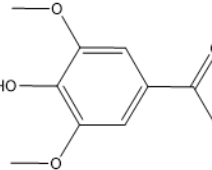
Standard name	m/z [M+H] ⁺ ion	Origin	Formula	Structure	Supplier
Furfural	97.029	Cellulose degradation	C ₅ H ₄ O ₂		Sigma aldrich, Saint Quentin Fallavier, France
Hydroquinone	111.044 6	Lignin monomer degradation H unit	C ₆ H ₆ O ₂		Sigma aldrich, Saint Quentin Fallavier, France
4-Hydroxybenzaldéhyde	123.044 6	Lignin monomer degradation H unit	C ₇ H ₆ O ₂		Honeywell Fluka, Fisher Scientific, Illkirch, France
Hydroxymethylfurfural	127.038 9	Cellulose degradation	C ₆ H ₆ O ₃		Sigma aldrich, Saint Quentin Fallavier, France
p-hydroxybenzoic acid	139.039 5	Lignin monomer degradation H unit	C ₇ H ₆ O ₃		Prolabo, Sion, France
Vanillin	153.055 2	Lignin monomer degradation G unit	C ₈ H ₈ O ₃		Sigma aldrich, Saint Quentin Fallavier, France
Syringol	155.070 8	Lignin monomer degradation S unit	C ₈ H ₁₀ O ₃		Acros Organics, Fisher Scientific, Illkirch, France
Apocynine	167.070 3	Lignin monomer degradation G unit	C ₉ H ₁₀ O ₃		Supelco, Sigma aldrich, Saint Quentin Fallavier, France
Vanillic acid	169.049 5	Lignin monomer degradation G unit	C ₈ H ₈ O ₄		Supelco, Sigma aldrich, Saint Quentin Fallavier, France
Syringaldehyde	183.065 7	Lignin monomer degradation S unit	C ₉ H ₁₀ O ₄		Fluorochem, Hadfield Derbyshire, UK
Acetosyringone	197.080 8	Lignin monomer degradation S unit	C ₁₀ H ₁₂ O ₄		Sigma aldrich, Saint Quentin Fallavier, France
Syringic acid	199.060 1	Lignin monomer degradation S unit	C ₉ H ₁₀ O ₅		Supelco, Sigma aldrich, Saint Quentin Fallavier, France
Abietic acid	303.232 4	Wood extractible	C ₂₀ H ₃₀ O ₂		Acros Organics, Fisher Scientific, Illkirch, France

Table A 3.8: List of notable ions observed the pyrolysis of biomass pellet, including putative structure and relative mass errors observed with FTICR MS and IM ToF MS.

Ion formula	ion parity	ASAP TOF MS m/z	Error ASAP ToF (ppm)	DIP FTICR MS m/z	Error DIP FTICR (ppm)	Putative structure	Origin
$C_5H_4O_2$	$[M+H]^+$	97.029	2.1	n.d. (low m/z range)	n.d. (low m/z range)		Cellulose degradation
$C_6H_6O_2$	$[M+H]^+$	111.0446	2.7	n.d. (low m/z range)	n.d. (low m/z range)		Lignin monomer
$C_7H_6O_2$	$[M+H]^+$	123.0446	0.8	n.d. (low m/z range)	n.d. (low m/z range)		Lignin monomer
$C_6H_6O_3$	$[M+H]^+$	127.0389	2.4	127.0388437	1.00		Cellulose degradation
$C_7H_6O_3$	$[M+H]^+$	139.0395	0.7	139.0389034	0.49		Lignin monomer
$C_8H_8O_3$	$[M+H]^+$	153.0552	1.3	153.0545687	0.34		Lignin monomer
$C_8H_{10}O_3$	$[M+H]^+$	155.0708	9.0	155.0701982	0.47		Lignin monomer
$C_9H_{10}O_3$	$[M+H]^+$	167.0703	0.6	167.0702474	0.14		Lignin monomer
$C_8H_8O_4$	$[M+H]^+$	169.0495	1.2	169.0495511	0.09		Lignin monomer
$C_{10}H_{12}O_3$	$[M]^+$	180.07847	0.0	180.0781166	0.11		Lignin monomer
$C_9H_{10}O_4$	$[M+H]^+$	183.0657	2.2	183.0651653	0.11		Lignin monomer
$C_{11}H_{14}O_3$	$[M]^+$	194.09389	0.5	194.0938575	0.57		Lignin monomer
$C_{10}H_{12}O_4$	$[M+H]^+$	197.0808	3.6	197.0809276	0.46		Lignin monomer

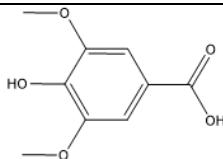
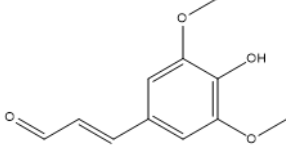
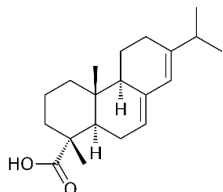
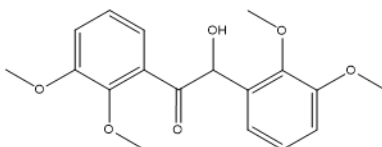
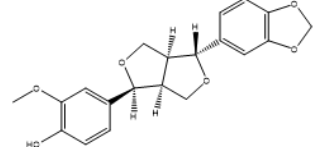
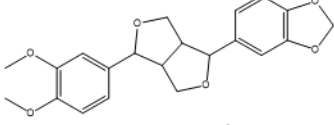
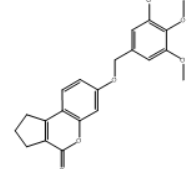
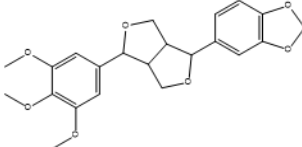
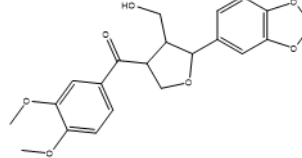
Ion formula	ion parity	ASAP TOF MS <i>m/z</i>	Error ASAP ToF (ppm)	DIP FTICR MS <i>m/z</i>	Error DIP FTICR (ppm)	Putative structure	Origin
C ₉ H ₁₀ O ₅	[M+H] ⁺	199.0601	5.5	199.060138	0.18		Lignin monomer
C ₁₁ H ₁₃ O ₄	[M+H] ⁺	209.08168	1.9	209.0807845	0.15		Lignin monomer
C ₂₀ H ₃₀ O ₂	[M+H] ⁺	303.2324	1.0	303.2319227	0.22		Wood extractable
C ₁₈ H ₂₀ O ₆	[M] ⁺⁺	332.12520	0.9	332.1254335	0.72		Lignin dimer
C ₂₀ H ₂₁ O ₆	[M+H] ⁺	357.13188	4.5	357.1332847	0.01		Lignin dimer
C ₂₁ H ₂₃ O ₆	[M+H] ⁺	371.14783	4.6	371.148842	0.18		Lignin dimer
C ₂₂ H ₂₃ O ₆	[M+H] ⁺	383.14752	4.2	383.1489009	0.03		Lignin dimer
C ₂₁ H ₂₃ O ₇	[M+H] ⁺	387.14310	4.6	387.1437518	0.16		Lignin dimer
C ₂₂ H ₂₅ O ₇	[M+H] ⁺	401.15777	3.5	401.1593468	0.24		Lignin dimer

Table A 3.9: Molecular formulas extracted from ASAP TOF MS PCA: ten molecular formulas with the lowest PC1 coefficient that are more specific to hardwood and miscanthus.

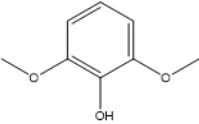
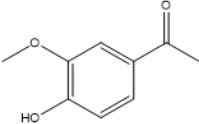
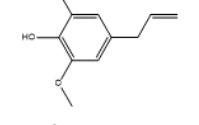
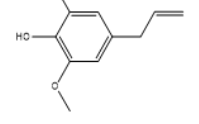
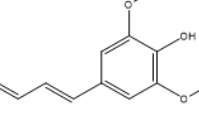
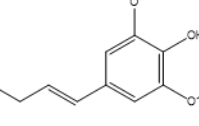
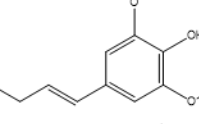
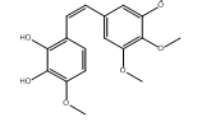
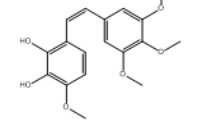
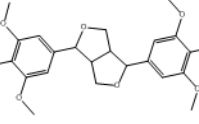
Sum Formula	<i>m/z</i>	Ion type	PC1	#O	H/C	O/C	Putative neutral structure	Origin
C8H10O3	154.06304	[M] ⁺⁺	-0.10	3	1.25	0.38		Lignin monomer
C9H11O3	167.07203	[M+H] ⁺	-0.13	3	1.22	0.33		Lignin monomer
C11H14O3	194.09389	[M] ⁺⁺	-0.19	3	1.27	0.27		Lignin monomer
C11H15O3	195.10076	[M+H] ⁺	-0.10	3	1.36	0.27		Lignin monomer
C11H13O4	209.08168	[M+H] ⁺	-0.17	4	1.18	0.36		Lignin monomer
C11H14O4	210.08892	[M] ⁺⁺	-0.11	4	1.27	0.36		Lignin monomer
C11H15O4	211.09618	[M+H] ⁺	-0.11	4	1.36	0.36		Lignin monomer
C18H20O6	332.12520	[M] ⁺⁺	-0.14	6	1.11	0.33		Lignin dimer
C18H21O6	333.13252	[M+H] ⁺	-0.12	6	1.17	0.33		Lignin dimer
C22H26O8	418.1616	[M] ⁺⁺	-0.11	8	1.18	0.36		Lignin dimer

Table A 3.10: Molecular formulas extracted from ASAP TOF MS PCA: ten molecular formulas with the highest PC1 coefficient that are more specific to softwood

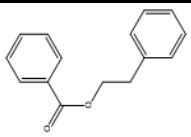
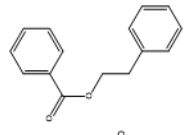
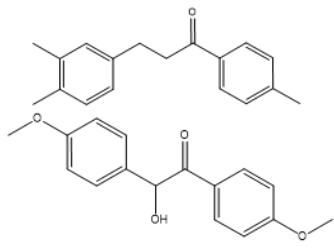
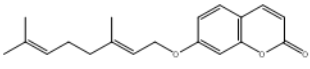
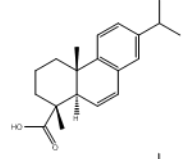
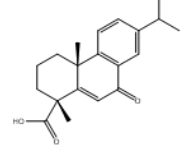
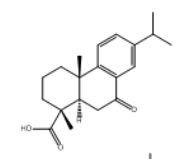
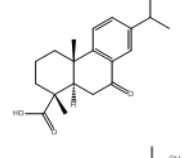
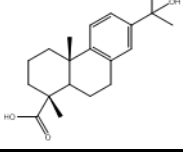
Sum Formula	mz	Ion type	PC1	#O	H/C	O/C	Putative neutral structure	Origin
C15H14O2	226.09930	[M] ⁺⁺	0.09	2	0.93	0.13		Extractible
C15H15O2	227.10672	[M+H] ⁺	0.14	2	1.00	0.13		Extractible
C18H21O1	253.15959	[M+H] ⁺	0.09	1	1.17	0.06		Extractible
C16H16O4	272.10409	[M] ⁺⁺	0.14	4	1.00	0.25		Lignin dimer
C19H23O3	299.16300	[M+H] ⁺	0.10	3	1.21	0.16		Extractible
C20H27O2	299.20040	[M+H] ⁺	0.11	2	1.35	0.10		Extractible
C20H25O3	313.18022	[M+H] ⁺	0.12	3	1.25	0.15		Extractible
C20H26O3	314.18709	[M] ⁺⁺	0.11	3	1.30	0.15		Extractible
C20H27O3	315.19578	[M+H] ⁺	0.23	3	1.35	0.15		Extractible
C20H28O3	316.19966	[M] ⁺⁺	0.11	3	1.40	0.15		Extractible

Table A 3.11: ^{TW}CCSN₂ (calibrated with polyalanine) of sixty molecular markers obtained from the pyrolysis of biomass sample.

mz	Softwood/Hardwood markers	Sum Formula	H/C	O/C	Beech TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Beech TWCCSN2 RSD (%)	Hickory TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Hickory TWCCSN2 RSD (%)	Miscanthus TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Miscanthus TWCCSN2 RSD(%)	Crepito TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Crepito TWCCSN2 RSD (%)	ignis TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Ignis TWCCSN2 RSD (%)
154.0630	Hardwood	C8H10O3	1.25	0.38	120.58	0.09%	120.48	0.05%	121.00	0.05%	123.37	0.63%	124.89	0.05%
167.0720	Hardwood	C9H11O3	1.22	0.33	125.65	0.06%	125.53	0.03%	126.52	0.15%	127.89	0.42%	128.93	0.12%
168.0785	Hardwood	C9H12O3	1.33	0.33	127.44	0.13%	127.32	0.04%	128.21	0.04%	128.81	0.12%	129.39	0.07%
180.0785	Hardwood	C10H12O3	1.20	0.30	131.46	0.07%	131.44	0.02%	132.26	0.04%	133.98	0.10%	134.01	0.07%
181.0499	Hardwood	C9H9O4	1.00	0.44	129.14	0.07%	128.99	0.03%	129.72	0.18%	130.80	0.41%	131.64	0.10%
182.0932	Hardwood	C10H14O3	1.40	0.30	134.52	0.03%	134.44	0.11%	134.82	0.09%	135.38	0.20%	135.42	0.07%
194.0939	Hardwood	C11H14O3	1.27	0.27	138.80	0.07%	138.78	0.08%	138.77	0.12%	138.69	0.10%	136.95	0.19%
195.1008	Hardwood	C11H15O3	1.36	0.27	139.31	0.07%	139.28	0.07%	139.30	0.13%	139.21	0.11%	137.93	0.12%
198.0528	Hardwood	C9H10O5	1.11	0.56	135.83	0.08%	135.77	0.06%	136.09	0.07%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
208.0739	Hardwood	C11H12O4	1.09	0.36	141.46	0.02%	141.48	0.05%	141.89	0.14%	141.77	0.08%	141.75	0.15%
209.0817	Hardwood	C11H13O4	1.18	0.36	145.09	0.07%	145.18	0.02%	144.89	0.07%	143.77	0.18%	141.75	0.04%
210.0889	Hardwood	C11H14O4	1.27	0.36	144.41	0.01%	144.49	0.03%	144.39	0.05%	143.96	0.15%	142.11	0.06%
211.0962	Hardwood	C11H15O4	1.36	0.36	144.32	0.06%	144.44	0.13%	144.49	0.07%	143.89	0.35%	n.d.	n.d.
302.1141	Hardwood	C17H18O5	1.06	0.29	175.75	0.07%	175.87	0.03%	175.64	0.07%	173.34	0.16%	172.26	0.17%
303.1218	Hardwood	C17H19O5	1.12	0.29	175.26	0.16%	175.49	0.12%	175.25	0.08%	173.39	0.28%	172.50	0.24%
320.1245	Hardwood	C17H20O6	1.18	0.35	176.74	0.05%	176.77	0.15%	177.53	0.16%	175.79	0.45%	n.d.	n.d.
332.1252	Hardwood	C18H20O6	1.11	0.33	186.12	0.08%	186.18	0.05%	185.31	0.29%	184.38	0.86%	180.36	0.27%
333.1325	Hardwood	C18H21O6	1.17	0.33	186.19	0.16%	186.32	0.04%	185.00	0.02%	183.83	0.68%	n.d.	n.d.
345.1323	Hardwood	C19H21O6	1.11	0.32	185.40	0.25%	185.50	0.28%	186.25	0.44%	185.79	0.26%	185.41	0.29%
346.1401	Hardwood	C19H22O6	1.16	0.32	186.34	0.26%	186.59	0.35%	187.11	0.26%	187.20	0.48%	186.16	0.46%
347.1466	Hardwood	C19H23O6	1.21	0.32	185.43	0.23%	185.90	0.41%	186.23	0.10%	186.62	0.28%	185.78	0.29%
372.1551	Hardwood	C21H24O6	1.14	0.29	193.77	0.55%	193.78	0.72%	194.14	0.27%	193.98	0.20%	194.51	0.15%
386.1360	Hardwood	C21H22O7	1.05	0.33	198.44	0.21%	199.00	0.44%	197.14	0.19%	197.94	0.71%	n.d.	n.d.
387.1431	Hardwood	C21H23O7	1.10	0.33	199.46	0.18%	199.55	0.43%	198.25	0.28%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
388.1511	Hardwood	C21H24O7	1.14	0.33	200.00	0.28%	200.20	0.67%	199.64	0.18%	199.60	0.68%	n.d.	n.d.
389.1580	Hardwood	C21H25O7	1.19	0.33	199.43	0.17%	199.71	0.44%	199.51	0.15%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
400.1503	Hardwood	C22H24O7	1.09	0.32	204.07	0.39%	203.36	0.19%	204.08	0.25%	201.53	0.71%	n.d.	n.d.
401.1578	Hardwood	C22H25O7	1.14	0.32	201.21	0.33%	200.51	0.66%	201.64	0.10%	200.22	0.32%	n.d.	n.d.
402.1658	Hardwood	C22H26O7	1.18	0.32	197.10	0.53%	197.37	0.69%	200.23	0.17%	200.96	0.39%	202.27	0.15%
418.1616	Hardwood	C22H26O8	1.18	0.36	209.60	0.49%	209.66	0.57%	209.88	0.16%	211.85	0.46%	n.d.	n.d.

mz	Softwood/Hardwood markers	Sum Formula	H/C	O/C	Beech TWCCSN2 (Å²) Mean value	Beech TWCCSN2 RSD (%)	Hickory TWCCSN2 (Å²) Mean value	Hickory TWCCSN2 RSD (%)	Miscanthus TWCCSN2 (Å²) Mean value	Miscanthus TWCCSN2 RSD(%)	Crepito TWCCSN2 (Å²) Mean value	Crepito TWCCSN2 RSD (%)	ignis TWCCSN2 (Å²) Mean value	Ignis TWCCSN2 RSD (%)
137.0608	Softwood	C8H9O2	1.13	0.25	116.50	0.04%	116.44	0.01%	116.83	0.12%	116.41	0.03%	116.34	0.04%
164.0833	Softwood	C10H12O2	1.20	0.20	128.06	0.11%	127.92	0.12%	128.54	0.15%	128.58	0.10%	128.51	0.07%
173.1328	Softwood	C13H17	1.31	0.00	138.07	0.09%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	138.00	0.19%	137.58	0.06%
179.0712	Softwood	C10H11O3	1.10	0.30	134.03	0.38%	133.80	0.48%	135.01	0.16%	135.17	0.23%	134.91	0.31%
226.0993	Softwood	C15H14O2	0.93	0.13	147.45	0.11%	n.d.	n.d.	147.40	0.07%	148.73	0.76%	149.98	0.49%
227.1067	Softwood	C15H15O2	1.00	0.13	149.19	0.61%	n.d.	n.d.	148.63	0.08%	151.02	0.93%	151.09	0.64%
237.1641	Softwood	C18H21	1.17	0.00	155.93	0.76%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	155.82	0.79%	155.93	0.65%
253.1596	Softwood	C18H21O	1.17	0.06	159.44	0.94%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	160.56	0.73%	160.89	0.45%
253.1955	Softwood	C19H25	1.32	0.00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	163.83	0.63%	163.99	0.83%
269.1904	Softwood	C19H25O	1.32	0.05	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	167.71	0.38%
272.1041	Softwood	C16H16O4	1.00	0.25	165.02	0.39%	165.25	0.39%	165.10	0.30%	165.56	0.18%	165.23	0.10%
273.1114	Softwood	C16H17O4	1.06	0.25	164.78	0.43%	164.77	0.65%	165.33	0.13%	165.61	0.15%	165.20	0.16%
284.1043	Softwood	C17H16O4	0.94	0.24	164.26	0.43%	164.17	0.45%	164.87	0.22%	164.61	0.21%	164.53	0.10%
285.1848	Softwood	C19H25O2	1.32	0.11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	169.97	0.72%	170.08	0.31%
296.1774	Softwood	C20H24O2	1.20	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	172.47	0.74%	173.16	0.67%
297.1856	Softwood	C20H25O2	1.25	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	173.19	0.28%	173.63	0.50%
298.1928	Softwood	C20H26O2	1.30	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	174.56	0.17%	175.06	0.24%
299.1630	Softwood	C19H23O3	1.21	0.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	173.71	0.46%	173.64	0.27%
299.2004	Softwood	C20H27O2	1.35	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	174.90	0.28%	175.11	0.44%
301.1803	Softwood	C19H25O3	1.32	0.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	174.28	0.26%	174.15	0.12%
301.2162	Softwood	C20H29O2	1.45	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	175.53	0.52%	175.32	0.11%
312.1722	Softwood	C20H24O3	1.20	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	178.69	1.72%	178.85	1.54%
313.1802	Softwood	C20H25O3	1.25	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	177.51	0.38%	177.68	0.29%
314.1871	Softwood	C20H26O3	1.30	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	178.06	0.08%	177.97	0.15%
315.1958	Softwood	C20H27O3	1.35	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	179.01	0.51%	178.92	0.60%
316.1997	Softwood	C20H28O3	1.40	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	179.11	0.96%	178.70	0.76%
317.2112	Softwood	C20H29O3	1.45	0.15	178.90	0.13%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	178.25	0.10%	179.01	0.02%
329.2116	Softwood	C21H29O3	1.38	0.14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	183.67	0.92%	184.09	0.82%
331.1911	Softwood	C20H27O4	1.35	0.20	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	184.07	1.01%	183.29	0.31%
344.1616	Softwood	C20H24O5	1.20	0.25	183.20	0.68%	184.26	0.28%	185.39	0.10%	180.04	3.34%	182.00	1.31%

Table A 3.12: ^{TW}CCSN₂ (calibrated with PAHs) of sixty molecular markers obtained from the pyrolysis of biomass sample.

mz	Softwood/Hardwood markers	Sum Formula	H/C	O/C	Beech TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Beech TWCCSN2 RSD (%)	Hickory TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Hickory TWCCSN2 RSD (%)	Miscanthus TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Miscanthus TWCCSN2 RSD(%)	Crepito TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Crepito TWCCSN2 RSD (%)	ignis TWCCSN2 (Å ²) Mean value	Ignis TWCCSN2 RSD (%)
154.0630	Hardwood	C8H10O3	1.25	0.38	126.17	0.08%	126.07	0.04%	126.56	0.05%	128.81	0.57%	130.25	0.04%
167.0720	Hardwood	C9H11O3	1.22	0.33	130.90	0.06%	130.78	0.02%	131.73	0.14%	133.02	0.38%	134.00	0.11%
168.0785	Hardwood	C9H12O3	1.33	0.33	132.59	0.11%	132.47	0.04%	133.31	0.04%	133.88	0.11%	134.42	0.06%
180.0785	Hardwood	C10H12O3	1.20	0.30	136.32	0.07%	136.30	0.02%	137.07	0.04%	138.69	0.10%	138.72	0.07%
181.0499	Hardwood	C9H9O4	1.00	0.44	134.13	0.07%	133.99	0.03%	134.68	0.16%	135.69	0.37%	136.49	0.09%
182.0932	Hardwood	C10H14O3	1.40	0.30	139.19	0.03%	139.11	0.10%	139.47	0.08%	140.00	0.18%	140.03	0.06%
194.0939	Hardwood	C11H14O3	1.27	0.27	143.15	0.06%	143.13	0.07%	143.12	0.11%	143.05	0.09%	141.41	0.17%
195.1008	Hardwood	C11H15O3	1.36	0.27	143.63	0.07%	143.59	0.06%	143.62	0.12%	143.53	0.10%	142.33	0.11%
198.0528	Hardwood	C9H10O5	1.11	0.56	140.35	0.07%	140.29	0.05%	140.59	0.06%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
208.0739	Hardwood	C11H12O4	1.09	0.36	145.59	0.02%	145.61	0.04%	145.98	0.13%	145.87	0.07%	145.86	0.14%
209.0817	Hardwood	C11H13O4	1.18	0.36	148.97	0.07%	149.06	0.01%	148.79	0.06%	147.74	0.16%	145.85	0.03%
210.0889	Hardwood	C11H14O4	1.27	0.36	148.33	0.01%	148.41	0.03%	148.31	0.04%	147.91	0.14%	146.19	0.06%
211.0962	Hardwood	C11H15O4	1.36	0.36	148.24	0.05%	148.35	0.12%	148.40	0.07%	147.84	0.32%	n.d.	n.d.
302.1141	Hardwood	C17H18O5	1.06	0.29	177.00	0.07%	177.11	0.03%	176.90	0.06%	174.79	0.15%	173.81	0.16%
303.1218	Hardwood	C17H19O5	1.12	0.29	176.55	0.14%	176.76	0.11%	176.54	0.07%	174.84	0.26%	174.03	0.22%
320.1245	Hardwood	C17H20O6	1.18	0.35	177.87	0.04%	177.89	0.14%	178.58	0.15%	176.99	0.40%	n.d.	n.d.
332.1252	Hardwood	C18H20O6	1.11	0.33	186.39	0.07%	186.45	0.04%	185.66	0.27%	184.81	0.78%	181.14	0.24%
333.1325	Hardwood	C18H21O6	1.17	0.33	186.46	0.14%	186.57	0.04%	185.38	0.01%	184.31	0.62%	n.d.	n.d.
345.1323	Hardwood	C19H21O6	1.11	0.32	185.71	0.22%	185.81	0.26%	186.49	0.40%	186.07	0.24%	185.72	0.26%
346.1401	Hardwood	C19H22O6	1.16	0.32	186.57	0.23%	186.80	0.32%	187.26	0.24%	187.35	0.44%	186.41	0.42%
347.1466	Hardwood	C19H23O6	1.21	0.32	185.74	0.21%	186.17	0.37%	186.47	0.09%	186.82	0.25%	186.06	0.27%
372.1551	Hardwood	C21H24O6	1.14	0.29	193.27	0.50%	193.27	0.65%	193.60	0.25%	193.46	0.18%	193.93	0.14%
386.1360	Hardwood	C21H22O7	1.05	0.33	197.47	0.19%	197.97	0.40%	196.29	0.18%	197.01	0.64%	n.d.	n.d.
387.1431	Hardwood	C21H23O7	1.10	0.33	198.39	0.16%	198.47	0.39%	197.29	0.26%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
388.1511	Hardwood	C21H24O7	1.14	0.33	198.87	0.25%	199.06	0.61%	198.55	0.16%	198.51	0.62%	n.d.	n.d.
389.1580	Hardwood	C21H25O7	1.19	0.33	198.35	0.15%	198.61	0.40%	198.43	0.13%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
400.1503	Hardwood	C22H24O7	1.09	0.32	202.53	0.36%	201.89	0.17%	202.53	0.23%	200.23	0.64%	n.d.	n.d.
401.1578	Hardwood	C22H25O7	1.14	0.32	199.94	0.30%	199.32	0.60%	200.33	0.09%	199.05	0.29%	n.d.	n.d.
402.1658	Hardwood	C22H26O7	1.18	0.32	196.23	0.48%	196.47	0.62%	199.06	0.16%	199.72	0.35%	200.90	0.14%
418.1616	Hardwood	C22H26O8	1.18	0.36	207.47	0.45%	207.54	0.52%	207.73	0.15%	209.50	0.42%	n.d.	n.d.

mz	Softwood/Hardwood markers	Sum Formula	H/C	O/C	Beech TWCCSN2 (Å²) Mean value	Beech TWCCSN2 RSD (%)	Hickory TWCCSN2 (Å²) Mean value	Hickory TWCCSN2 RSD (%)	Miscanthus TWCCSN2 (Å²) Mean value	Miscanthus TWCCSN2 RSD(%)	Crepito TWCCSN2 (Å²) Mean value2	Crepito TWCCSN2 RSD (%)3	ignis TWCCSN2 (Å²) Mean value2	Ignis TWCCSN2 RSD (%)3
137.061	Softwood	C8H9O2	1.13	0.25	122.39	0.04%	122.330	0.01%	122.706	0.11%	122.300	0.03%	122.234	0.04%
164.083	Softwood	C10H12O2	1.20	0.20	133.19	0.10%	133.059	0.11%	133.644	0.14%	133.681	0.09%	133.615	0.06%
173.133	Softwood	C13H17	1.31	0.00	142.57	0.08%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	142.499	0.17%	142.110	0.06%
179.071	Softwood	C10H11O3	1.10	0.30	138.75	0.35%	138.527	0.44%	139.660	0.15%	139.812	0.21%	139.572	0.28%
226.099	Softwood	C15H14O2	0.93	0.13	151.10	0.10%	n.d.	n.d.	151.055	0.06%	152.300	0.69%	153.462	0.44%
227.107	Softwood	C15H15O2	1.00	0.13	152.72	0.56%	n.d.	n.d.	152.197	0.07%	154.418	0.85%	154.482	0.58%
237.164	Softwood	C18H21	1.17	0.00	158.94	0.69%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	158.839	0.72%	158.936	0.59%
253.160	Softwood	C18H21O	1.17	0.06	162.14	0.85%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	163.169	0.66%	163.475	0.41%
253.196	Softwood	C19H25	1.32	0.00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	166.190	0.57%	166.336	0.75%
269.190	Softwood	C19H25O	1.32	0.05	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	169.711	0.35%
272.104	Softwood	C16H16O4	1.00	0.25	167.22	0.35%	167.443	0.35%	167.303	0.27%	167.723	0.17%	167.423	0.09%
273.111	Softwood	C16H17O4	1.06	0.25	167.01	0.39%	166.996	0.59%	167.512	0.12%	167.765	0.14%	167.390	0.15%
284.104	Softwood	C17H16O4	0.94	0.24	166.50	0.39%	166.416	0.41%	167.061	0.20%	166.824	0.19%	166.749	0.09%
285.185	Softwood	C19H25O2	1.32	0.11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	171.744	0.65%	171.847	0.28%
296.177	Softwood	C20H24O2	1.20	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	174.008	0.67%	174.640	0.61%
297.186	Softwood	C20H25O2	1.25	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	174.666	0.26%	175.071	0.46%
298.193	Softwood	C20H26O2	1.30	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	175.924	0.16%	176.380	0.22%
299.163	Softwood	C19H23O3	1.21	0.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	175.137	0.42%	175.072	0.25%
299.200	Softwood	C20H27O2	1.35	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	176.229	0.25%	176.419	0.40%
301.180	Softwood	C19H25O3	1.32	0.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	175.656	0.24%	175.538	0.11%
301.216	Softwood	C20H29O2	1.45	0.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	176.800	0.47%	176.609	0.10%
312.172	Softwood	C20H24O3	1.20	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	179.662	1.56%	179.814	1.40%
313.180	Softwood	C20H25O3	1.25	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	178.586	0.35%	178.737	0.26%
314.187	Softwood	C20H26O3	1.30	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	179.087	0.07%	179.001	0.14%
315.196	Softwood	C20H27O3	1.35	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	179.949	0.46%	179.872	0.54%
316.200	Softwood	C20H28O3	1.40	0.15	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	180.035	0.87%	179.663	0.69%
317.211	Softwood	C20H29O3	1.45	0.15	179.85	0.11%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	179.255	0.09%	179.945	0.02%
329.212	Softwood	C21H29O3	1.38	0.14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	184.172	0.83%	184.550	0.75%
331.191	Softwood	C20H27O4	1.35	0.20	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	184.526	0.92%	183.818	0.28%
344.162	Softwood	C20H24O5	1.20	0.25	183.72	0.62%	184.679	0.25%	185.704	0.09%	180.828	3.03%	182.621	1.19%

Figures:

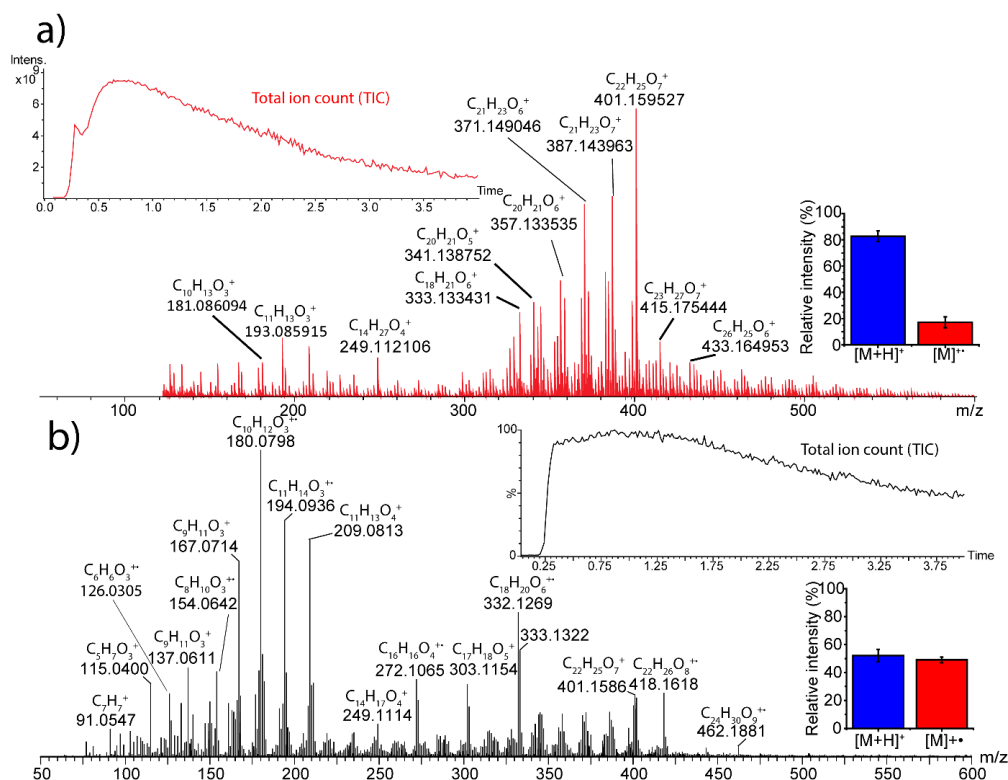


Figure A 3.1 Comparison of beech pyrolysis profile and mass spectra from a) DIP APCI FTICR MS b) ASAP IMS TOF experiment. The pyrolysis profile are displayed as total ion count (TIC) and the insert are corresponding to the proportion of protonated ($[M+H]^+$) and radical ($[M]^{\bullet+}$) molecules.

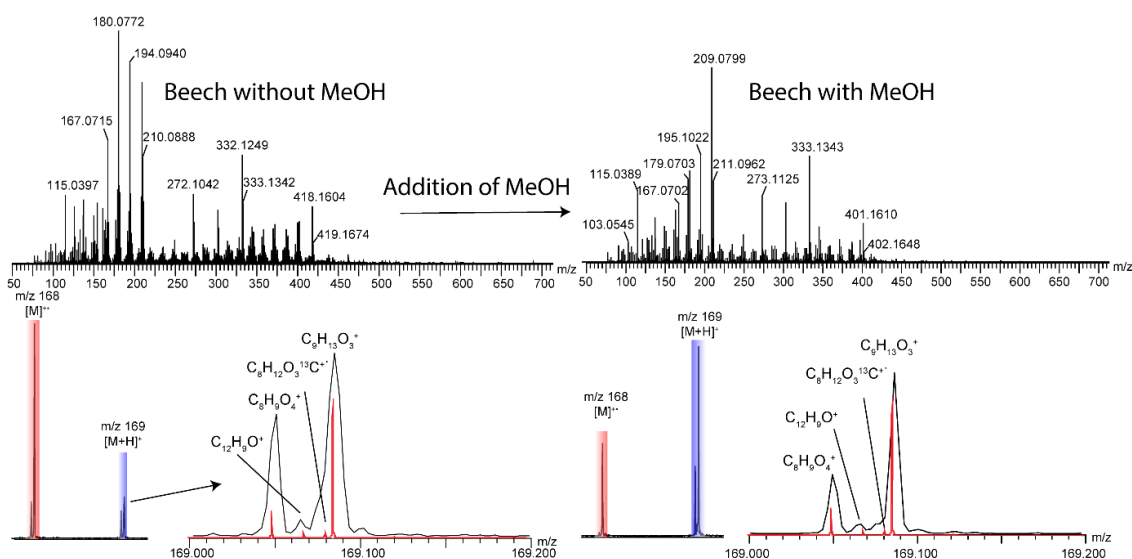
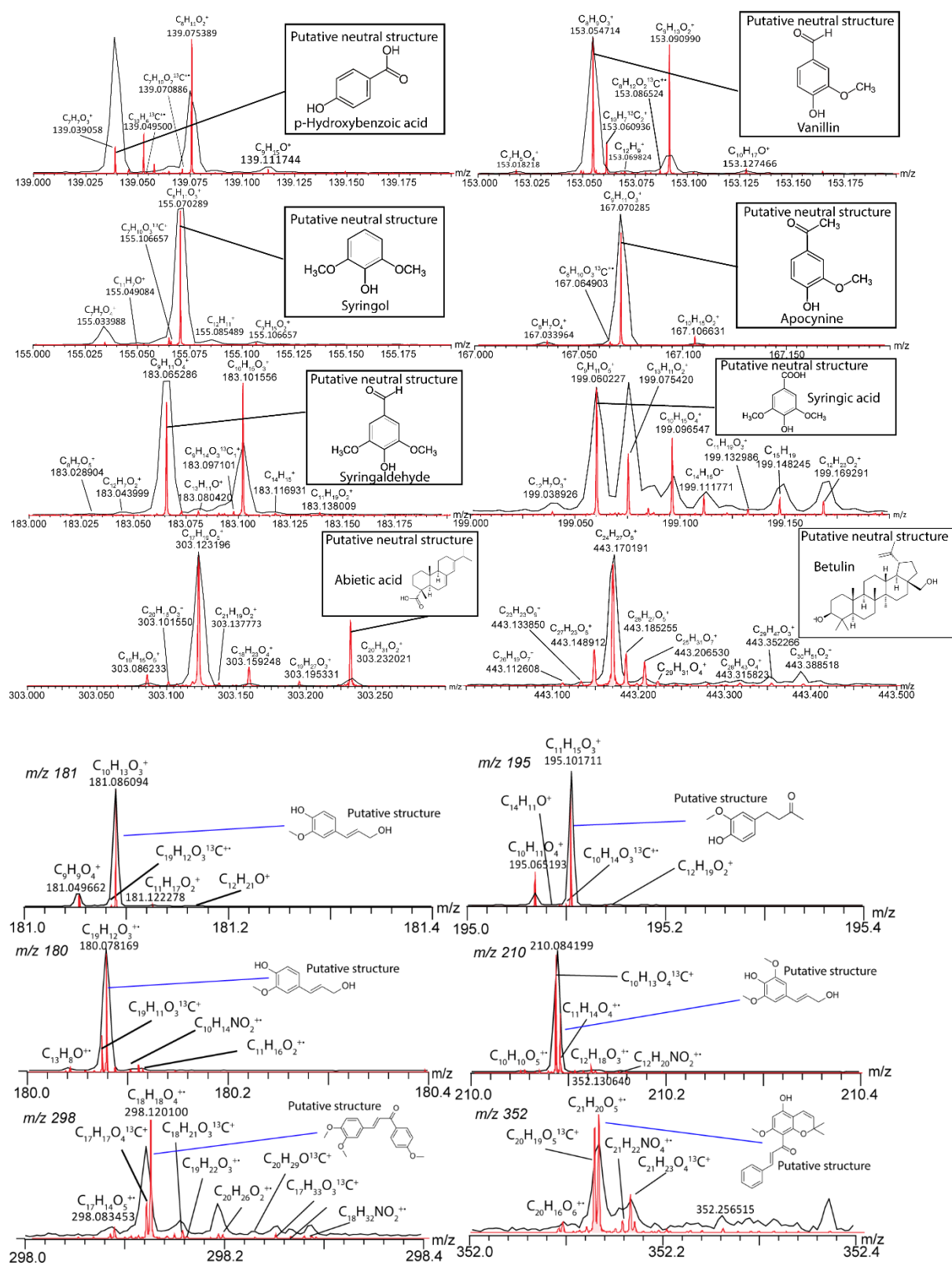


Figure A 3.2: TOF MS mass spectra from beech pellet pyrolysis with and without addition of methanol vial in ionization source. An insert at m/z 168 to m/z 169 was added.



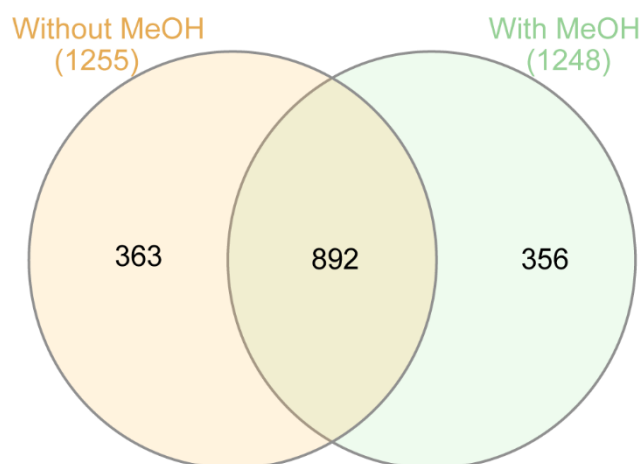


Figure A 3.4 : Venn diagram for the number of molecular formulas attributed in mass spectra obtained in ASAP IM-TOF MS with and without MeOH

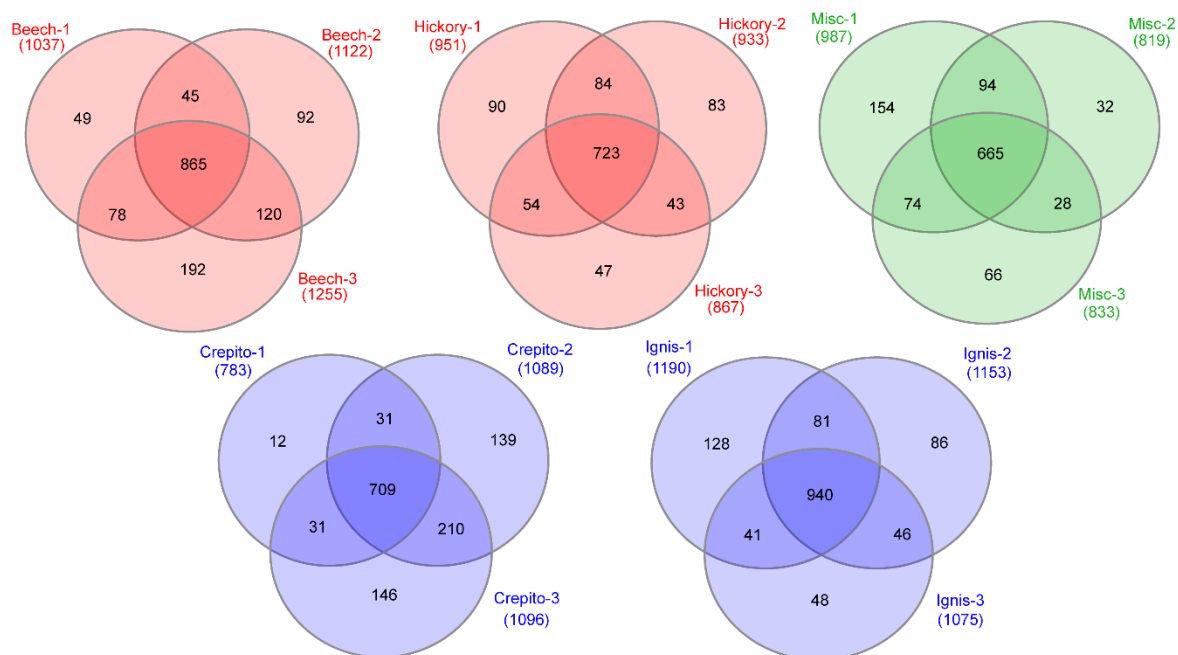
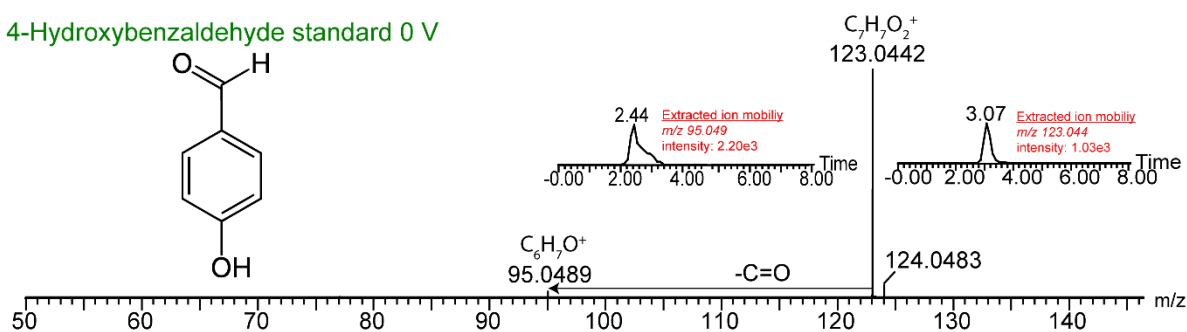
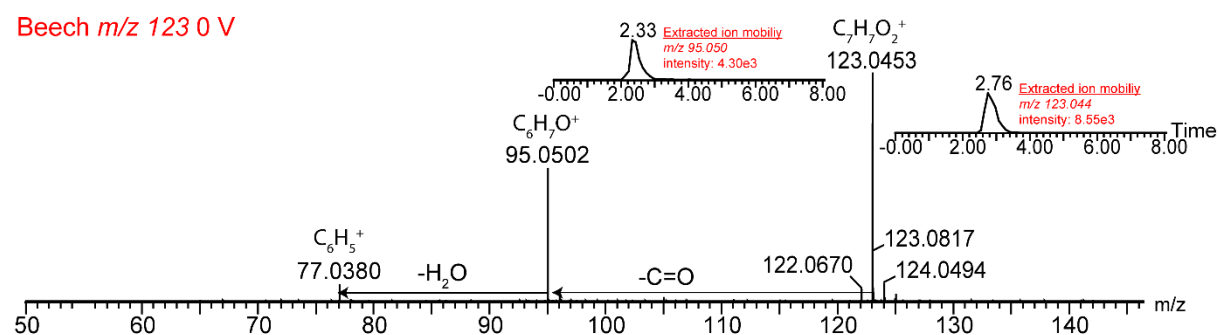


Figure A 3.5: Venn diagrams from the molecular attributions obtained with ASAP TOF MS spectra. Hardwood samples are represented in red, softwood in blue and miscanthus in green.

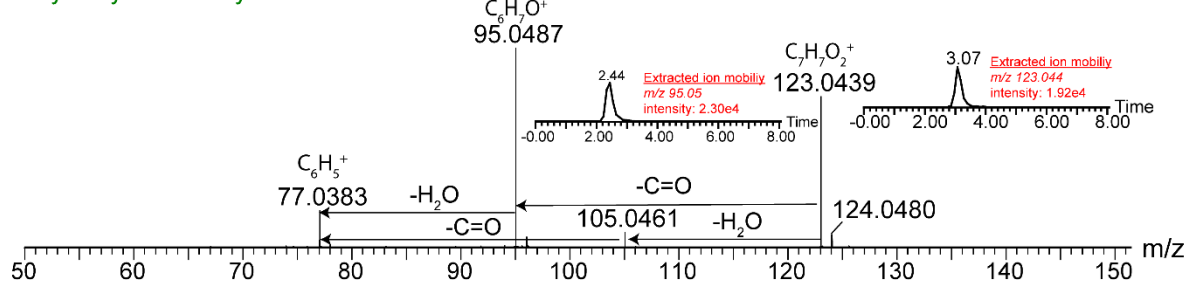
4-Hydroxybenzaldehyde standard 0 V



Beech m/z 123 0 V



4-Hydroxybenzaldehyde standard 15 V



Beech m/z 123 15 V

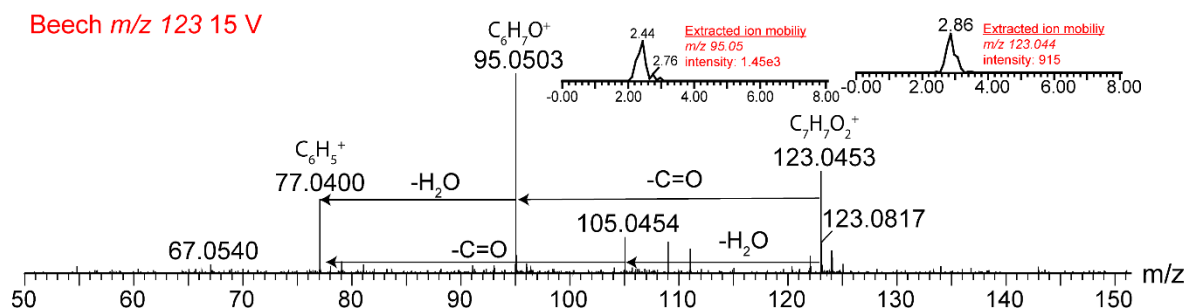


Figure A 3.6: MS/MS spectra from the analysis of 4-hydroxybenzaldehyde standard and beech pyrolysis at m/z 123 with two collision voltage of 0V and 15V.

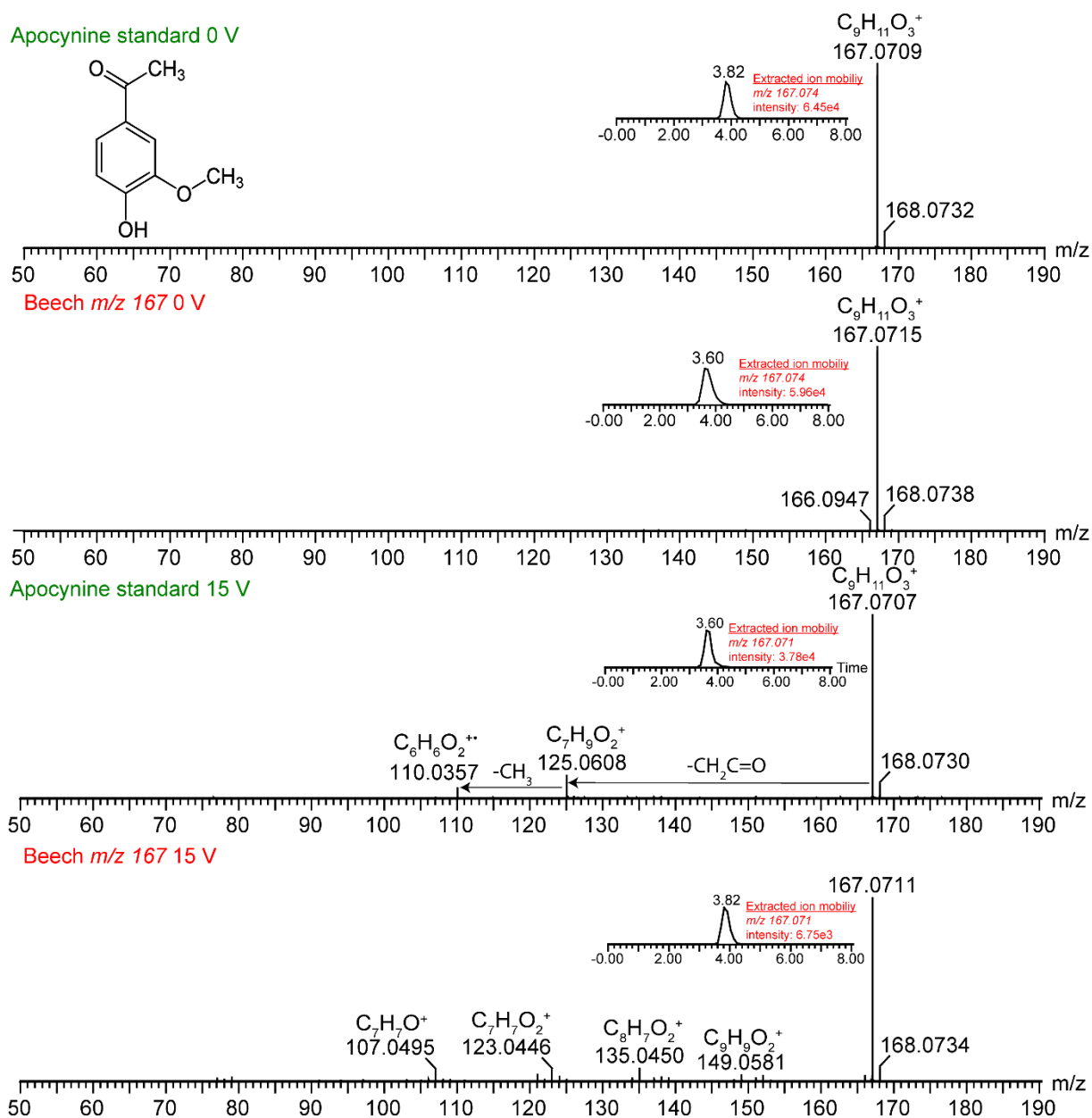


Figure A 3.7 : MS/MS spectra from the analysis of apocynine standard and beech pyrolysis at m/z 167 with two collision voltage of 0V and 15V.

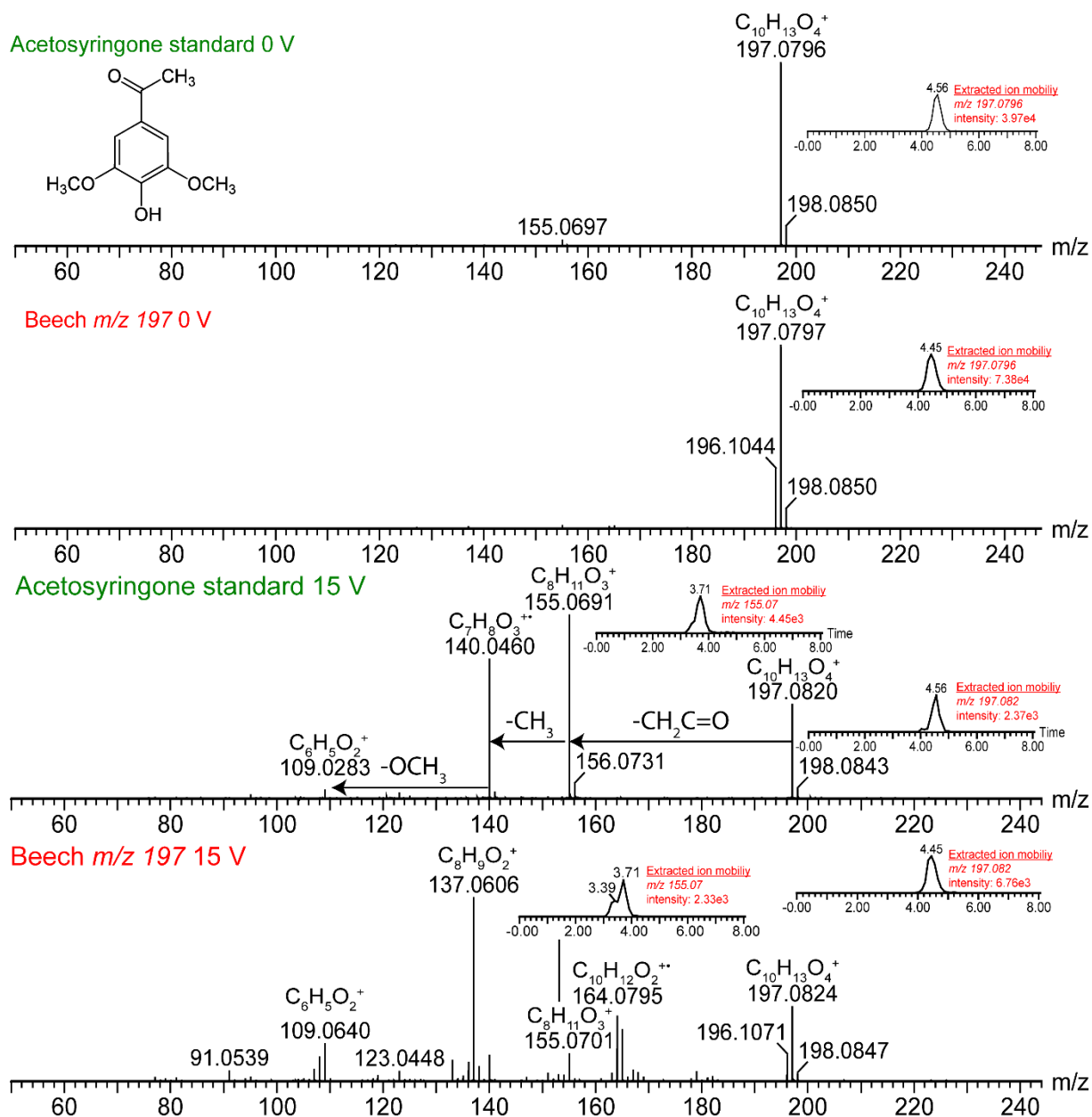


Figure A 3.8: MS/MS spectra from the analysis of acetosyringone standard and beech pyrolysis at m/z 197 with two collision voltage of 0V and 15V.

3.2.8 References

1. (IEA), I.E.A., Bioenergy Power Generation 2020.
2. Reichstein, M., et al., Climate extremes and the carbon cycle. *Nature*, 2013. 500(7462): p. 287-295.
3. Sjöström, E., Chapter 1 - THE STRUCTURE OF WOOD, in *Wood Chemistry (Second Edition)*, E. Sjöström, Editor. 1993, Academic Press: San Diego. p. 1-20.
4. Pettersen, R.C., The Chemical Composition of Wood, in *The Chemistry of Solid Wood*. 1984, American Chemical Society. p. 57-126.
5. Poletto, M., A.J. Zattera, and R.M.C. Santana, Structural differences between wood species: Evidence from chemical composition, FTIR spectroscopy, and thermogravimetric analysis. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2012. 126(S1): p. E337-E344.
6. Boerjan, W., J. Ralph, and M. Baucher, Lignin Biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2003. 54(1): p. 519-546.
7. Basu, P., Chapter 5 - Pyrolysis, in *Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction (Third Edition)*, P. Basu, Editor. 2018, Academic Press. p. 155-187.
8. Balat, M., Mechanisms of Thermochemical Biomass Conversion Processes. Part 1: Reactions of Pyrolysis. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 2008. 30(7): p. 620-635.
9. Dhyani, V. and T. Bhaskar, Chapter 9 - Pyrolysis of Biomass, in *Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and Gaseous Biofuels (Second Edition)*, A. Pandey, et al., Editors. 2019, Academic Press. p. 217-244.
10. Maschio, G., C. Koufopoulos, and A. Lucchesi, Pyrolysis, a promising route for biomass utilization. *Bioresour. Technol.*, 1992. 42(3): p. 219-231.
11. Dworzanski, J.P. and H.L.C. Meuzelaar, Pyrolysis Mass Spectrometry, Methods☆, in *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition)*, J.C. Lindon, G.E. Tranter, and D.W. Koppenaal, Editors. 2017, Academic Press: Oxford. p. 789-801.
12. Stout, S.A., J.J. Boon, and W. Spackman, Molecular aspects of the peatification and early coalification of angiosperm and gymnosperm woods. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1988. 52(2): p. 405-414.
13. Pouwels, A.D. and J.J. Boon, Analysis of beech wood samples, its milled wood lignin and polysaccharide fractions by curie-point and platinum filament pyrolysis-mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 1990. 17(2): p. 97-126.
14. van der Hage, E.R.E., M.M. Mulder, and J.J. Boon, Structural characterization of lignin polymers by temperature-resolved in-source pyrolysis—mass spectrometry and Curie-point pyrolysis—gas chromatography/mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 1993. 25: p. 149-183.
15. Christensen, E., R.J. Evans, and D. Carpenter, High-resolution mass spectrometric analysis of biomass pyrolysis vapors. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 2017. 124: p. 327-334.
16. Sobeih, K.L., M. Baron, and J. Gonzalez-Rodriguez, Recent trends and developments in pyrolysis-gas chromatography. *J Chromatogr A*, 2008. 1186(1-2): p. 51-66.
17. Morgan, T.J. and R. Kandiyoti, Pyrolysis of coals and biomass: analysis of thermal breakdown and its products. *Chem Rev*, 2014. 114(3): p. 1547-607.
18. Kumagai, S., et al., Combining pyrolysis—two-dimensional gas chromatography—time-of-flight mass spectrometry with hierarchical cluster analysis for rapid identification of pyrolytic interactions: Case study of co-pyrolysis of PVC and biomass components. *Process. Saf. Environ. Prot.*, 2020. 143: p. 91-100.
19. McEwen, C.N., R.G. McKay, and B.S. Larsen, Analysis of Solids, Liquids, and Biological Tissues Using Solids Probe Introduction at Atmospheric Pressure on Commercial LC/MS Instruments. *Anal. Chem.*, 2005. 77(23): p. 7826-7831.
20. Barrère, C., et al., Rapid analysis of polyester and polyethylene blends by ion mobility-mass spectrometry. *Polym. Chem.*, 2014. 5(11): p. 3576-3582.
21. Fan, X., et al., Rapid characterization of heteroatomic molecules in a bio-oil from pyrolysis of rice husk using atmospheric solids analysis probe mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, 2015. 115: p. 16-23.

22. Bruns, E.A., et al., Atmospheric Solids Analysis Probe Mass Spectrometry: A New Approach for Airborne Particle Analysis. *Anal. Chem.*, 2010. 82(14): p. 5922-5927.
23. Farenc, M., et al., Characterization of Polyolefin Pyrolysis Species Produced Under Ambient Conditions by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry and Ion Mobility-Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2017. 28(3): p. 507-514.
24. Aubriet, F., et al., Characterization of biomass and biochar by LDI-FTICRMS – Effect of the laser wavelength and biomass material. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2018. 29(10): p. 1951-1962.
25. Abdelnur, P.V., et al., Characterization of Bio-oils from Different Pyrolysis Process Steps and Biomass Using High-Resolution Mass Spectrometry. *Energy Fuels*, 2013. 27(11): p. 6646-6654.
26. Rüger, C.P., et al., Characterisation of ship diesel primary particulate matter at the molecular level by means of ultra-high-resolution mass spectrometry coupled to laser desorption ionisation—comparison of feed fuel, filter extracts and direct particle measurements. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. 407(20): p. 5923-5937.
27. Kanu, A.B., et al., Ion mobility–mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, 2008. 43(1): p. 1-22.
28. Barrère, C., et al., Atmospheric Solid Analysis Probe–Ion Mobility Mass Spectrometry of Polypropylene. *Anal. Chem.*, 2012. 84(21): p. 9349-9354.
29. Vieillard, J., et al., Atmospheric Solid Analysis Probe-Ion Mobility Mass Spectrometry: An Original Approach to Characterize Grafting on Cyclic Olefin Copolymer Surfaces. *Langmuir*, 2015. 31(48): p. 13138-13144.
30. Lawrence, A.H., R.J. Barbour, and R. Sutcliffe, Identification of wood species by ion mobility spectrometry. *Anal. Chem.*, 1991. 63(13): p. 1217-1221.
31. Roger, C.P., C.W. James, and H.L. André, Detection of Northern Red Oak Wetwood by Fast Heating and Ion Mobility Spectrometric Analysis. *Holzforschung*, 1993. 47(6): p. 513-522.
32. Castilla, C., et al., Direct Inlet Probe Atmospheric Pressure Photo and Chemical Ionization Coupled to Ultrahigh Resolution Mass Spectrometry for the Description of Lignocellulosic Biomass. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2020. 31(4): p. 822-831.
33. Smith, D.P., et al., Deciphering Drift Time Measurements from Travelling Wave Ion Mobility Spectrometry-Mass Spectrometry Studies. *Eur. J. Mass Spectrom.*, 2009. 15(2): p. 113-130.
34. Bush, M.F., I.D.G. Campuzano, and C.V. Robinson, Ion Mobility Mass Spectrometry of Peptide Ions: Effects of Drift Gas and Calibration Strategies. *Anal. Chem.*, 2012. 84(16): p. 7124-7130.
35. Zheng, X., et al., Utilizing ion mobility spectrometry and mass spectrometry for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenyl ethers and their metabolites. *Anal. Chim. Acta*, 2018. 1037: p. 265-273.
36. Deschamps, E., et al., Determination of the collision cross sections of cardiolipins and phospholipids from *Pseudomonas aeruginosa* by traveling wave ion mobility spectrometry-mass spectrometry using a novel correction strategy. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019. 411(30): p. 8123-8131.
37. van den Berg, R.A., et al., Centering, scaling, and transformations: improving the biological information content of metabolomics data. *BMC Genomics*, 2006. 7(1): p. 142.
38. Haynes, S.E., et al., Variable-Velocity Traveling-Wave Ion Mobility Separation Enhancing Peak Capacity for Data-Independent Acquisition Proteomics. *Anal. Chem.*, 2017. 89(11): p. 5669-5672.
39. Wang, S., et al., Mechanism research on cellulose pyrolysis by Py-GC/MS and subsequent density functional theory studies. *Bioresource Technology*, 2012. 104: p. 722-728.
40. Amen-Chen, C., H. Pakdel, and C. Roy, Production of monomeric phenols by thermochemical conversion of biomass: a review. *Bioresour. Technol.*, 2001. 79(3): p. 277-299.
41. Kim, S., R.W. Kramer, and P.G. Hatcher, Graphical Method for Analysis of Ultrahigh-Resolution Broadband Mass Spectra of Natural Organic Matter, the Van Krevelen Diagram. *Anal. Chem.*, 2003. 75(20): p. 5336-5344.
42. Simoneit, B.R.T., et al., Molecular characterization of smoke from campfire burning of pine wood (*Pinus elliottii*). *Chemosphere*, 2000. 2(1): p. 107-122.
43. Rüger, C.P., et al., Hyphenation of Thermal Analysis to Ultrahigh-Resolution Mass Spectrometry (Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry) Using Atmospheric Pressure Chemical Ionization For Studying Composition and Thermal Degradation of Complex Materials. *Anal. Chem.*, 2015. 87(13): p. 6493-6499.

44. Choi, J.W., O. Faix, and D. Meier, Characterization of Residual Lignins from Chemical Pulps of Spruce (*Picea abies* L.) and Beech (*Fagus sylvatica* L.) by Analytical Pyrolysis–Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Holzforschung*, 2001. 55(2): p. 185-192.
45. Gabelica, V., et al., Recommendations for reporting ion mobility Mass Spectrometry measurements. *Mass Spectrom. Rev.*, 2019. 38(3): p. 291-320.
46. Schauer, J.J., et al., Measurement of Emissions from Air Pollution Sources. 3. C1–C29 Organic Compounds from Fireplace Combustion of Wood. *Environ. Sci. Technol.*, 2001. 35(9): p. 1716-1728.
47. Sjöström, E., *Wood chemistry : fundamentals and applications*. 1993.
48. Farenc, M., et al., Effective Ion Mobility Peak Width as a New Isomeric Descriptor for the Untargeted Analysis of Complex Mixtures Using Ion Mobility-Mass Spectrometry. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 2017. 28(11): p. 2476-2482.

Chapitre 4: Caractérisation de particules fines issues de la combustion de biomasse lignocellulosique

Chapitre 4 : Caractérisation de particules fines issues de la combustion de biomasse lignocellulosique

Dans ce chapitre, l'étude de la combustion de granulés de biomasse lignocellulosique a été réalisée. Cette étude a fait l'objet d'un article : Marcotte, S., et al. (2020). "Particulate inorganic salts and trace element emissions of a domestic boiler fed with five commercial brands of wood pellets." *Environmental Science and Pollution Research* 27(15): 18221-18231. Lors de cette étude, différentes marques de granulés de bois utilisés pour le chauffage ont été brûlés de manière optimale et les facteurs d'émission des composés inorganiques et métaux lourds dans la matière particulaire (PM) ont été déterminés. Ces facteurs d'émissions ont été déterminés par ICP-MS/OES et par chromatographie ionique

Résumé étendu de l'article : Particulate inorganic salts and trace element emissions of a domestic boiler fed with five commercial brands of wood pellets.

Le but de cet article est d'apporter des informations supplémentaires sur les facteurs d'émissions des inorganiques et métaux lourds obtenus lors de la combustion de granulés de chauffage. En effet, les inorganiques retrouvées dans les particules fines constituent un problème pour la corrosion des installations de combustion. Quant aux métaux lourds comme le plomb, l'arsenic ou le zinc, ceux-ci ont un impact significatif sur la santé et l'environnement.

Les caractéristiques initiales des granulés ont été déterminées par analyse élémentaire et immédiate. La composition des cendres des échantillons de biomasse a été déterminée par ICP-OES après digestion des cendres (Table 4.2). Les essais de combustion ont été réalisés dans une chaudière à granulés dans des conditions d'introduction de carburant et d'air optimales (Figure 4.1). Certains gaz évacués pendant la combustion comme le CO et les NO_x ont été analysés par un détecteur électrochimique (Table 4.1). Un système de prélèvement isocinétique des PM a été utilisé afin d'avoir un débit identique entre le prélèvement et l'évacuation des gaz dans la cheminée. Les PM ont été déposées sur des filtres en quartz puis extraits pour être analysés par chromatographie ionique et ICP-MS. Enfin, les éléments trace des cendres collectées à la fin de la combustion ou obtenues par calcination, ont été digérées puis analysées par ICP-OES (Table 4.3).

La comparaison des caractéristiques initiales des granulés de bois présentée en Table 4.2 montre la différence du taux d'humidité, de cendre entre les granulés de bois et les granulés de deux autres biomasses (miscanthus et paille). Les valeurs de la Table 4.3 présentant l'analyse des éléments trace sont en accord avec la littérature et montrent que la teneur en potassium (K), sodium (Na) et calcium (Ca) est très élevée pour les granulés de paille. La composition élémentaire des cendres résiduelles obtenues après la combustion de granulés de biomasse lignocellulosique est présentée avec la Table 4.4. Les éléments les plus abondants dans les cendres sont le calcium (Ca), le potassium (K), suivies de l'aluminium (Al), du fer (Fe) et du sodium (Na). Des informations sur la perte de cendres volatiles pendant le processus de combustion ont été obtenues par comparaison de l'analyse élémentaire des cendres résiduelles après calcination avec les cendres obtenues lors de la calcination directe de la biomasse. La Table S 4.5 montre cette comparaison pour les éléments plomb (Pb), zinc (Zn) et cadmium (Cd).

La matière particulaire collectée sur fibre en quartz obtenue par la combustion de six types de granulés a été extraite et caractérisée par chromatographie ionique et ICP-MS. La fraction des composés mesurés par rapport à la masse totale de la biomasse est présentée dans la Figure 4.2. En effet, les émissions de matière particulaire sont principalement constituées de sels inorganiques avec 64% à 90% de la masse totale en particules, le reste étant constitué de matière organique, carbone élémentaire et oxydes métalliques. Les ions inorganiques les plus concentrés sont principalement des ions chlorures (Cl^-), sulfates (SO_4^{2-}), potassium et sodium (Na) (Table 4.5). La Figure 4.3 montre la proportion des cations émis dans les particules fines par rapport à leur teneur dans la biomasse non brûlée. Les cations potassium et sodium sont les éléments les plus émis dans les PM avec $3.3 \pm 1.8\%$ and $6.1 \pm 1.5\%$ de la quantité initialement présente. La Figure 4.4 montre les facteurs d'émissions des métaux retrouvés dans les particules fines dans cette étude et en comparaison avec des valeurs de la littérature. Les métaux les plus abondants sont le zinc (Zn), le manganèse (Mn) et le plomb (Pb). La fraction émise dans les particules fines du Zn, Pb et Cd pour les granulés de bois sont respectivement $20 \pm 6\%$, $31 \pm 12\%$ et $19 \pm 6\%$, comme montré avec la Figure 4.4

A la fin de cette étude, les données obtenues pour la matière particulaire ont été comparées à la littérature afin d'étudier l'impact des systèmes de combustion et des caractéristiques de la biomasse sur les émissions de matière particulaire. La Table S 4.6 présente le pourcentage en masse des sels organiques et la Table S 4.7 représente les facteurs d'émissions des métaux traces pour différents carburants et système de combustion.

4.1 Article 3: Particulate inorganic salts and trace element emissions of a domestic boiler fed with five commercial brands of wood pellets

Stéphane Marcotte, Clément Castilla, Christophe Morin, Nadine Merlet-Machour*, Luis Carrasco-Cabrera, Florence Medaerts, Hélène Lavanant, Carlos Afonso.

Normandie Univ, UNIROUEN, INSA de Rouen, UMR 6014 CNRS COBRA, 1 rue Tesnière
Bât. IRCOF - 76821 Mont Saint Aignan Cedex, ROUEN, France.

*Corresponding Author

E-mail: nadine.merlet@univ-rouen.fr

Keywords

Domestic stoves, Pellets, Particle Matter, Trace elements, Emission factors

4.1.1 Abstract

Pellet stoves arouse a real interest from consumers because they are perceived as a renewable and carbon neutral energy. However, wood combustion can contribute significantly to air pollution, in particular through the emission of particulate matter (PM). In this article, five brands of wood pellets were burnt under optimal combustion conditions and trace element and inorganic salts emission factors (EFs) in PM were determined. Results show that a significant proportion of metals such as lead, zinc, cadmium and copper initially present in pellets were emitted into the air during combustion with $20 \pm 6\%$, $31 \pm 12\%$, $19 \pm 6\%$ of the initial content respectively for Zn, Pb and Cd. The median emission factors for Pb, Cu, Cd, As, Zn and Ni were respectively 188, 86, 9.3, 8.7, 2177 and $3.5 \mu\text{g kg}^{-1}$. The inorganic fraction of the PM emissions was dominated by K^+ , SO_4^{2-} and Cl^- with respective EFs of 33, 28.7, 11.2 mg kg^{-1} . Even taking into account a consumption of 40.1 million tons by 2030 in the EU, the resulting pollution in terms of heavy metal emissions remains minimal in comparison with global emissions in the EU.

4.1.2 Introduction

The use of wood pellets as a biofuel has increased significantly in recent years, reaching a consumption of 19.5 million tons in 2015 in the European Union (EU). Furthermore, EU projections for 2030 anticipate up to 40.1 million tons per year consumption (Jonsson and Rinaldi 2017). This growing interest of consumers in the use of pellet stoves for domestic heating is due to economic reasons (low cost of wood pellets) and the fact that wood as a biofuel is perceived as a «green» energy. Indeed, wood is considered as a sustainable neutral energy resource. Unfortunately, domestic wood-burning heaters (and especially old ones) contribute significantly to ambient air pollution in many urban and rural areas (EEA 2019; Ward and Lange 2010), and, more specifically, by emitting particulate matter (PM). The PM from wood combustion has shown significant adverse effects (Bølling et al. 2012; Danielsen et al. 2009; Kasurinen et al. 2018).

It has been shown that PM comprises of three classes of particles: Condensable Organic Compounds (COC), soot and inorganic ash particles (Kocbach Bølling et al. 2009). Under optimized combustion conditions, this particulate material consists essentially of inorganic salts such as K_2SO_4 , $K_3Na(SO_4)_2$ and KCl (Boman et al. 2004). The carcinogenic and toxic effects are mainly related to the COC and soot whereas the inorganic salts have less impact (Happo et al. 2013; Klippel and Nussbaumer 2007; Uski et al. 2015; Uski et al. 2012). The combustion soot is predominantly composed of elemental carbon but also includes significant proportions of the carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Kocbach Bølling et al. 2009; Nyström et al. 2017) and their oxygenated derivatives (O-PAHs) (Avagyan et al. 2016; Shen et al. 2012; Shen et al. 2013). Organic compounds such as PAHs and O-PAHS in PM have been related to the cytotoxicity and DNA damage (Kasurinen et al. 2018). Nevertheless, particulate emissions and associated traces also have an impact on human health (Avakian et al. 2002; Lighty et al. 2000). For example, the presence of transition metals such as Cu, Zn, V and Ni in PM has been suggested to be a reason for lung damage observed on exposed mice to biomass combustion PM (Fernandez et al. 2001). Transition metals such as Zn in the PM of wood combustion has been related to enhanced production of reactive oxygen species (ROS), inflammation and cytotoxicity *in vitro* and *in vivo* studies (Dilger et al. 2016; Torvela et al. 2014; Uski et al. 2015).

The amount of trace elements associated with PM is related to their abundance in the wood pellets but not only that.

For instance, high chlorine content increases volatilization of alkali metal and other metals (Lind et al. 2006; Miller et al. 2003) and thus their enrichment in the fly ash. However, high S/Cl ratios can limit the effect of chlorine (Lind et al. 2006; Sippula et al. 2007; Zhang et al. 2014) have also shown that pellet moisture and volatile matter content, as well as combustion efficiency, can greatly impact the emission factors for Pb, As, Cu, Cd and Ni during combustion in pellet stoves located in China. The design and technology of the stoves, the operating conditions and properties of the pellets can thus affect the combustion process, and therefore the quantity and nature of pollutants emitted (Arranz et al. 2015; Boman et al. 2011; Fachinger et al. 2017; Toscano et al. 2014). Therefore, even under optimized conditions, pellet types may influence the emission of particulate organic and inorganic matter and their trace element contents. The presence of these trace elements in the wood pellets could be due to the direct drying process during pellets production, (Boman et al. 2006) or to the plant uptake from a contaminated soil (Chandrasekaran et al. 2012).

Overall, there is quite limited data about the emission factors (EFs) of trace elements from small scale biomass combustion (Paulrud and Gustafsson 2010; Zhang et al. 2014). Therefore, this article aims to provide greater knowledge of particulate emissions from the combustion of commercialized pellets under optimal conditions. 5 brands of wood pellets as well as miscanthus and straw pellets were studied, focusing on trace elements and inorganic salts emissions. The elemental carbon (EC) and organic carbon (OC), was not studied in this article as it was already done in the past (Lai et al. 2019; Schmidl et al. 2011). Finally, an estimation of emission factor from trace elements and inorganic salts was conducted. Values were compared to their initial content in the wood pellets before combustion.

4.1.3 **Materials and methods**

4.1.3.1 *Experimental combustion procedure*

Combustions were performed in a commercial 15kW multi-heat 1.5-350L boiler (HS TARM, Netherlands). Experiments were performed for three hours to make sure that results were obtained under steady-state operating conditions. Water was used as the heat transfer medium. Some pellets were added to the hopper and ignited with a propane igniter. Once combustion started, the pellets were intermittently supplied to the combustion chamber from the storage tank by an auger screw. Air was supplied to the combustion chamber by an induced draft fan, located at the end of the gas stream behind the heat exchanger (Figure 4.1). The supply rate of fuel and air were controlled by a user interface and regulated for each blend to reach a stable combustion regime (see conditions for each fuel on Table 4.1). The produced heat energy was extracted to the circulating water in a heat exchanger. The feed and hot water temperatures were respectively maintained at $39 \pm 3^\circ\text{C}$ and $58 \pm 3^\circ\text{C}$. Exhaust gases were directed to an exhaust duct via an ash collection cyclone.

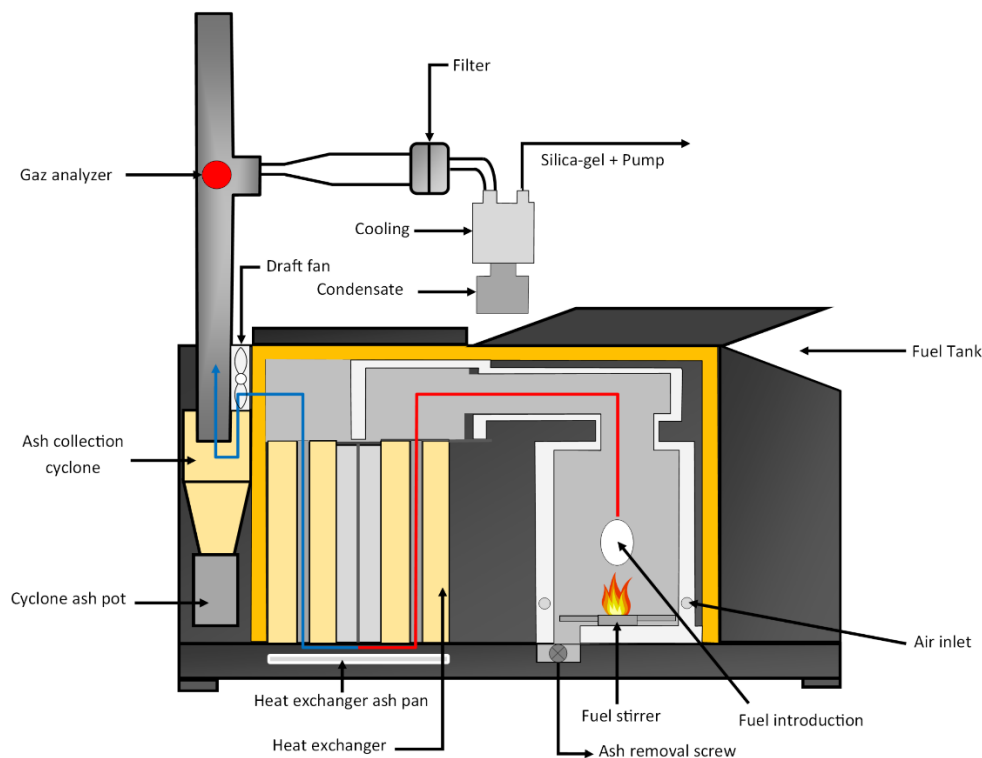


Figure 4.1: Combustion and sampling setup

Table 4.1 : Conditions of combustion and average gaseous and particulate emissions
(concentration normalized at 13% O₂ dry gas)

Pellet	Type	T in the flue	O ₂ %	η^a %	CO	NO _x	PM _{tot}
		[°C]	[%]		[dry volume ppm @13%O ₂]		[mg m ⁻³ @ 13%O ₂]
W1	wood	155	6.8	93	77	69	7.3
W2	wood	152	6.6	93	59	79	9.0
W3	wood	147	8.4	93	173	62	5.5
W4	wood	158	6.1	92	46	64	7.2
W5	wood	163	7.4	92	211	68	5.1
Straw	straw	131	18.3	70	1968	236	139.6
Miscanthus	miscanthus	140	11.4	90	82	119	14.4

Prior to emissions testing, the boiler was in operation for approximately 30 min, to ensure that at the beginning of measurements, steady-state emissions were always achieved. At the end of the experiment, ash was collected and stored at room temperature.

4.1.3.2 Gas and particulate sampling

The flue gas was evacuated through a 7 m stack composed of double wall stove pipes of 200 mm in diameter. Sampling ports (Figure 4.1) were fixed along the pipes to install the sampler and the measuring instruments. At 30 cm, a gas analyzer Testo 350 XL (Testo, Deutschland) was used to measure inorganic gases including O₂, CO, CO₂, NO, NO₂ and NO_x every 10 seconds without dilution. The key measurements of the boiler conditions are summarized in Table 4.1.

At 30 cm, the sampling train for PM was inserted. Total particle in the flue gas were sampled at a flow rate of 15 NL min⁻¹ on a 22 mm glass fibre filter (Supelco) inserted into a filter holder installed and heated at 120 °C. Gases were subsequently passed through a condenser (4°C) and a unit containing silica gel to prevent any moisture reaching the pump (Isostack G4 system, Tecora, France). Dry air volume was also measured with an included gas meter. Quartz filters were thermally conditioned (350 °C, overnight) before sampling, cooled in a desiccator and weighed. After sampling they were dried in a desiccator, weighed and stored at -18°C in the dark before analysis. Sampling time was 15-30 min per sample at a flow rate of 15 NL min⁻¹. Six samples were taken for each condition.

4.1.3.3 Biomass fuels

Five wood type pellets (W1-W5) from different market suppliers were used. To compare results with other biomass sources, wheat straw pellets (Zollux) and Miscanthus pellets were also studied. The characteristics of all studied biofuel pellets are given in Table 4.2. Moisture content was determined using the method EN 18134:2015. Ash content was determined using method EN 18122. The effective heating value of biofuels was determined using ISO 18125 method. CHNS analysis was performed using a Thermo Eager 300 Flash 2000 instrument (Thermo Fisher Scientific). The composition of the ash was determined after digestion by ICP-OES. Trace element contents of biofuel pellets are given in Table 4.3. Trace elements were measured using the method given in section 2.4 after calcination of the wood pellets at 550°C for 8h (white ash obtained).

4.1.3.4 Trace element determination in collected ash and after calcination of wood pellets

Trace element analysis was performed on the ash collected after the combustion or/and calcination. Beforehand, ash was dried at 105 °C. 50 mg of ash was digested in a pyrex tube at 160°C for 2h with 8 mL of HCl (37%) and 2 mL of HNO₃ (65%). The resulting solution was diluted with MilliQ water (50 mL) and centrifuged prior to ICP-OES analysis, using an ICAP 6300 Instrument (Thermo Fisher scientific). The axial view mode was used. Digestions were triplicated. Calibration was prepared for each element by dilution of standard stock solutions in 1% nitric acid. Quantification limits are given in Table S 4.1.

4.1.3.5 Water soluble ions determination of the PM emissions by Ion Chromatography

Inorganic anions and cations analysis was performed on the PM collected on the 22 mm glass fibre filter (Supelco). The extraction method was described by Chow and Watson (1999). Briefly, half of the PM filter was extracted by sonication for 15 min with 5 mL of MilliQ water. The samples were then filtered through 0.2 µm Nylon® filters and analyzed by ion chromatography using a Dionex ICS-5000 instrument (Thermo Fisher scientific). Anions (chloride, nitrate, sulfate and phosphate) were analyzed with 4.5 mM NaHCO₃, 0.8 mM Na₂CO₃ carbonate eluent, AS23 column and conductometric detection. Cations (sodium, potassium, magnesium and calcium) were analyzed with 0.02 mM methanesulfonic acid eluent, CS12A column and conductometric detection. Calibration curves were prepared for each ion. Quantification limits are given in Table S 4.2

4.1.3.6 Trace element determination of the PM emissions by ICP-MS

The other half of the PM filter was digested in a pyrex vessel at 160 °C for 2h in 8 mL of HCl (37%, optima grade, Thermo Fisher Scientific) and 3 mL of HNO₃ (65%, optima grade, Thermo Fisher Scientific). The resulting solution was diluted with MilliQ water and centrifuged prior ICP-MS analysis using an ICAP RQ instrument (Thermo Fisher scientific) using KED mode (collision cell with helium gas and kinetic energy discrimination). Fifteen elements were analyzed (Ag, Al, As, Ba, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb and Zn). Calibration curves were prepared for each trace element from stock solutions (TraceCERT®, Sigma-Aldrich). Quantification limits are given in Table S 4.1.

4.1.3.7 Quality assurance/quality control (QA/QC)

For trace element analysis, the detection limits and the quantification limits in the filter PM and in the ash are given in Table S 4.1. Coefficients of determination (R²) for all calibration curves were above 0.99. The accuracy of trace element analysis on ash was evaluated through the analysis of a certified reference material CRM CNS 301-04-050 (Sigma-Aldrich; Missouri, U.S.A) for freshwater sediment. The measured concentrations fell within the range of certified values (Table S 4.3), and the recoveries varied between 95% and 110%.

4.1.3.8 Data analysis

Data were processed using Microsoft Excel 2013 and OriginPro 2016.

Emission factors (EFs) were calculated using the carbon mass balance method. This method, which is encountered in field studies, (Dhammapala et al. 2007; Roden et al. 2006; Zhang et al. 2000; Zhang et al. 2014) avoids trapping all emissions (or a known fraction). The EFs are calculated as follows:

$$\text{Eq. 1} \quad EF_i = EF_{CO_2} \times \frac{C_i}{C_{CO_2}}$$

Where, C_i and C_{CO₂} are the concentrations in µg Nm⁻³ in the emission. EF_{CO₂} is the emission factor in mg kg⁻¹, defined as:

$$\text{Eq. 2} \quad EF_{CO_2} = \frac{(m_{Cf} - m_{Ca}) \times (\frac{44}{12})}{(1 + PIC) \times M}$$

Where m_{Cf} and m_{Ca} are respectively the mass of carbon in the burnt biomass and the mass of carbon in the recovered ash. M is the mass of burnt biomass. PIC is the product of incomplete combustion, and was calculated as follows:

$$\text{Eq. 3} \quad \text{PIC} = \frac{C_{C-\text{CO}} + C_{C-\text{PM}} + C_{C-\text{THC}}}{C_{C-\text{CO}_2}}$$

Where $C_{C-\text{CO}}$, $C_{C-\text{PM}}$, $C_{C-\text{THC}}$ and $C_{C-\text{CO}_2}$ are respectively the concentration of carbon in the emission of CO, PM, THC (Total Hydrocarbon Content) and CO_2 . In practice, for pellet combustion in recent stoves, $\text{PIC} \ll 1$ which led us to neglect the term PIC in Eq. 2.

4.1.4 Results and discussion

4.1.4.1 Characterization of fuel pellets

The results of the characterization of the pellets are summarized in Table 4.2. The pellets W1-W5 are commercial wood pellets obtained on the French market from different suppliers and complying with the I1 class of the standard EN 17225-2:2014 (International Organization for Standardization 2014) (Table 4.2). Two other types of pellets (straw and miscanthus) for non-energy use (animal litter) were studied for comparison.

Straw and miscanthus pellets have a higher moisture content than wood pellets, although below the normative limit of 10% (I1 class). Wood pellets have an ash content of $< 1.0\%$ (I1 class), which differs markedly from straw pellets (6.5%) and miscanthus (1.8%).

Concerning the effective heating limit values, the values are satisfactory for commercial pellets and meet the criteria of $> 16 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ DW}$ (I1 class). Values obtained for straw and miscanthus were respectively 15.39 and 16.19 MJ kg^{-1} .

The elemental mineral composition was determined by calcining the biofuel pellets at 550°C for 8h (white ash) followed by digestion and analysis by ICP-OES. The elemental analysis carried out on the obtained ashes makes it possible to calculate the elementary content in the pellets (Table 3). The results show that the K, Na and Ca contents are very high in straw pellets with 19314 mg kg^{-1} , 2015 mg kg^{-1} and 4351 mg kg^{-1} , respectively. In the miscanthus pellets, the K content is also high at 3067 mg kg^{-1} , compared to the five wood pellets types with a mean value of 614 mg kg^{-1} . For the miscanthus, the elemental contents obtained are in agreement with the values obtained by Baxter et al. (2012) Elemental analysis in wood pellets (Table 4.3) is in agreement with the results obtained by Chandrasekaran et al. (2012) on 132 brands of wood pellets obtained on the US market.

Table 4.2: Characteristics of the biofuel pellets of the study

Name	W1	W2	W3	W4	W5	Straw	Miscanthus	I1 (ISO 17225-2)
Source	wood	wood	wood	wood	wood	straw	miscanthus	
Effective heating value MJ/kg DW								
	17.50	17.28	17.80	17.30	17.51	15.39	16.19	≥16.5
Proximate analysis								
Moisture %	6.34	5.69	6.77	7.43	7.37	8.80	9.49	≤10
Ash %	0.43	0.58	0.44	0.34	0.49	6.49	1.83	≤1.0
Ultimate analysis (% wt, dry ash free)								
C %	46.7	46.5	46.2	45.7	45.7	41.8	43.7	
H%	6.0	5.7	6.4	5.9	5.9	5.5	5.7	
N%	0.3	0.4	0.3	0.2	<0.1	0.8	0.2	≤0.3
Ash analysis (% wt, dry ash basis)								
Na ₂ O	1.05	0.89	0.62	0.97	1.33	4.18	7.39	
K ₂ O	21.89	13.04	9.02	23.94	16.22	35.86	20.20	
CaO	48.31	50.69	23.18	39.77	26.40	9.39	11.41	
MgO	4.79	3.63	5.64	6.98	7.83	1.847	1.96	
Al ₂ O ₃	0.99	1.27	0.26	1.13	0.533	0.16	0.45	
SiO ₂	2.41	15.24	43.12	4.53	29.45	42.25	45.43	
Fe ₂ O ₃	1.67	2.64	1.59	1.63	2.26	0.37	0.65	
ZnO	0.17	0.21	0.36	0.33	0.27	0.01	0.05	
P ₂ O ₅	12.43	5.23	6.70	12.26	7.76	1.20	6.66	
SO ₃	2.38	1.99	3.08	3.74	3.52	0.22	2.70	

Table 4.3: Elemental composition of biofuel pellets (mg kg⁻¹ DW)

Name	W1	W2	W3	W4	W5	Straw	Miscanthus
Ag	12.0	16.0	0.8	0.2	0.1	1.5	0.2
Al	32.5	56.4	8.9	29.5	20.0	79.2	63.4
As	0.02	0.14	<0.02	0.02	0.3	0.06	<0.02
Ba	8.5	14.3	4.4	7.2	8.5	8.1	5.2
Bi	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Ca	1484	2100	728	965	924	4351	1492
Cd	0.037	0.088	0.139	0.034	0.047	0.013	0.121
Co	0.08	0.13	0.08	0.07	0.12	0.05	0.02
Cr	1.79	3.51	1.62	1.01	1.96	3.66	1.27
Cu	1.24	1.70	0.92	1.01	3.07	1.29	1.01
Fe	50	107	49.2	38.9	77.4	168	83.8
K	781	628	329	675	659	19314	3067
Li	1.9	1.4	1.2	1.5	2.0	1.2	2.7
Mg	124	127	149	143	231	723	217
Mn	80.4	105.0	80.6	78.1	51.0	9.2	46.5
Mo	0.04	0.09	0.06	0.01	0.04	0.70	0.08
Na	34	38	20	24	48	2015	1002
Ni	0.7	1.16	1.2	0.3	0.5	1.71	0.5
Pb	0.3	3.1	0.2	0.2	1.0	0.1	0.4
Zn	5.88	9.79	12.8	9.1	10.5	4.7	8.0

Table 4.4: Elemental composition of ash after combustion (recovered in the stove) without calcination (mg kg⁻¹ DW)

Name	W1	W2	W3	W4	W5	Straw	Myscanthus	Mean value wood pellets only	Orechio et al. (2016) wood pellets
Total Carbon content %	89.75	73.89	94.66	72.35	74.88	15.71	0.64		
Ag	<1	<3	1.7	4.9	10.3	<8.4	<10	3.78	
Al	1132	4134	138	3124	925	874	3230	1891	8101
As	<0.4	<1.0	<0.2	<1.0	10.8	<3	<4	2.42	1.6
Ba	281	778	56	589	465	341	488	434	
Bi	<1.0	<2.6	<8.4	<9.9	<0.5	<2.8	<2.5	-	
Ca	21822	67224	8598	59592	49191	45765	86814	41285	
Cd	0.6	0.8	0.3	1.6	2.0	0.3	0.6	1.06	0.2
Co	1.7	5.0	1.3	5.2	5.0	0.9	9.8	3.64	
Cr	10.0	46.6	50.7	76.8	89.2	16.7	1044 ^a	55	1.4
Cu	24	59	13	59	164	44	104	64	112
Fe	1223	4239	1076	3737	4137	1513	18566	2882	220
K	20168	32911	6516	49514	32383	231208	148781	28298	
Li	19.2	44.4	24.5	40.5	87.9	54.6	115.7	43.3	
Mg	3629	7431	1652	10105	9912	9803	9639	6546	
Mn	2644	5734	981	5988	2937	574	4026	3657	112
Mo	0.4	2.6	0.9	1.4	1.3	15.8	14.5 ^a	1.3	
Na	510	947	78	984	1323	20755	5332	768	
Ni	6.9	29.6	23.2	34.7	32.9	10.2	388 ^a	25	1.3
Pb	2.6	10.4	0.3	5.2	37.9	1.3	3.5	11.31	0.4
Zn	45.9	84.6	26.4	146.5	114.3	129.0	90.7	83.54	7

4.1.4.2 Elemental composition of ash after combustion

The ashes obtained after combustion in the stove were recovered and then ground and mixed to give a homogeneous material. They were then calcined at 550 °C under the same conditions as for the elemental analysis carried out on the pellets in order to eliminate the presence of carbonaceous material. Digestion of the resulting ash in aqua regia followed by ICP-OES analysis allowed us to calculate the elemental composition of the obtained ashes after combustion by taking into account the mass loss during calcination. Results for metal content in the ashes recovered in the stove are given in Table 4.4. These results can be compared to the study conducted by Orecchio et al. (2016) on the combustion of pellets of European and North American origin (USA-Canada). Our results are significantly higher in terms of the content especially for Mn, Pb, Cr and Fe. Only Al content was significantly lower compared to results obtained by Orecchio et al. (2016). Overall, elements like Ca and K predominate followed by Al, Fe and Na.

Orecchio et al. (2016) have shown that ash did not pose a risk to stove users. Due to the higher values obtained in our study, a reassessment of the risks associated with ash handling was necessary. We therefore applied the same evaluation strategy conducted by Orecchio et al. (2016) to assess the risk of exposure. The detailed risk assessment method is given in the supporting information as well as the calculated Hazard Index (HI) and Carcinogenic Risk (CR) (Table S 4.4). The obtained results for HI were 4-7 order of magnitude lower than 1 indicating a very low non-carcinogenic risk for heavy metals during cleaning of the stoves. Carcinogenic risk for As and Cr (considered as Cr VI) were below the EPA's acceptable range of 10^{-6} - 10^{-4} with CR value of $5.06 \cdot 10^{-9}$ and $3.16 \cdot 10^{-8}$ respectively for As and Cr. We can note that even with much higher content in Pb, Mn and Fe, the risks are minimal and that the handling of ashes under normal conditions (20 min per day) does not present any significant risk.

The comparison of the results of the elemental analysis of combustion ash after calcination with those on ash obtained after calcination of biofuel pellets gives some indications of volatilization or fly ash losses during the combustion process. Hence, comparative results are given for Pb, Zn and Cd in Table S 4.5. With the exception of straw pellets, it appears that the Pb, Zn and Cd content was lower in the ash after combustion than in the ash obtained by calcination of pellets with respectively 78.0%, 65.5% and 50.8% average decrease of contents. These results are consistent with those obtained by Ho et al. (1993) for Pb and Cd in incineration processes of wood pellets treated with Pb and Cd.

On the other hand, the straw pellets combustion exhibits a very different behavior as the losses with respect to Pb and Zn, by vaporization did not seem to be present. In the case of straw pellets, the combustion efficiency was of the order of 70% with a high CO emission and a lower smoke temperature of 130 °C (Table 4.1). It is possible that these poor combustion conditions limit the volatilization of metals such as lead and zinc.

4.1.4.3 Composition of the PM emissions: inorganic salts and metal oxides

Total PM emissions from the six pellet type combustion collected on the QFF filters were extracted and analyzed using ion chromatography and ICP-MS to get the inorganic salts and trace metal contents. The fractions of measured compounds to the total PM mass for the six pellet types, are depicted in Figure 4.2

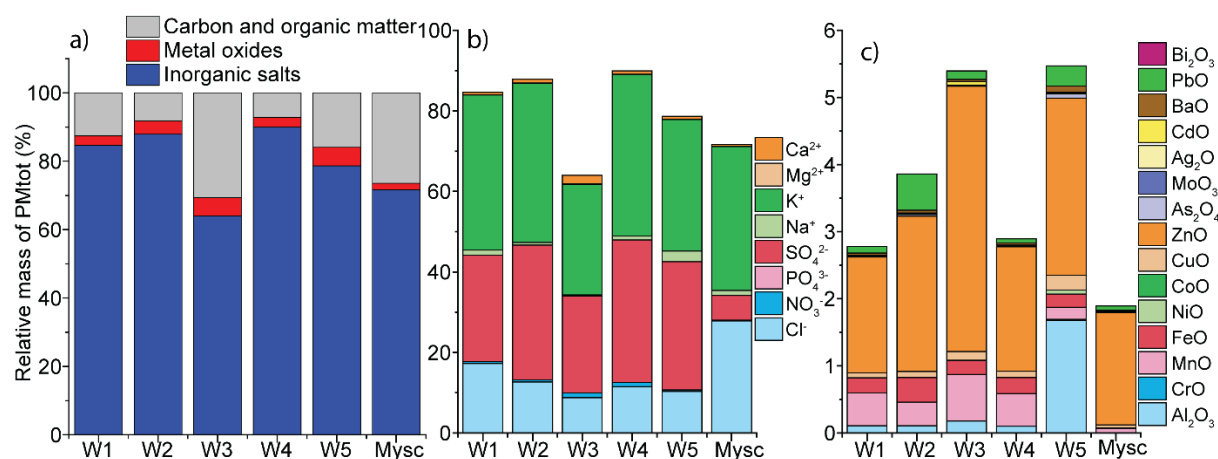


Figure 4.2: Histograms of the normalized fractions of measured pollutants to the total PM mass between different pellet types. a) Histogram of the proportion of inorganic salts, metal oxides, carbon and organic matter, to the total PM mass. b) Histogram of the fractions from each inorganic salt, to the total PM mass. c) Histogram of the fractions from each metal oxides, to the total PM mass.

The PM emissions was dominated by inorganic salts (Figure 4.2.a), with 64% to 90% of the total PM mass. The inorganic salts fraction was similar for W1, W2, W4 and W5, but lower for W3 and miscanthus pellets. The proportion of inorganic salts from our data were consistent with those obtained by Lai et al. (2019) for the wood pellet cookstove with semi-gasifier and forced drafted. Inorganic salts in PM emissions from the six pellet types consisted of Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} and Ca^{2+} ions, given in Table 4.5. Unfortunately, the results for straw pellets could not be obtained due to difficulties during sampling.

Table 4.5: Mass of emitted anions and cations in PM per kg of biofuel burnt (mg kg⁻¹ DW)

Name	W1	W2	W3	W4	W5	Median wood only	Myscanthus
Cl ⁻	18.7	15.2	7.7	8.1	11.2	11.2	206.0
NO ₃ ⁻	0.46	0.60	1.05	0.77	0.39	0.6	<0.04
PO ₄ ³⁻	<0.06	0.07	<0.06	<0.06	<0.06	0.06	1.5
SO ₄ ²⁻	28.7	40.2	21.2	24.9	34.6	28.7	45.5
Ca ²⁺	0.73	1.16	1.80	0.57	0.72	0.73	3.07
K ⁺	41.7	47.4	22.6	26.4	33.0	33	252.6
Mg ²⁺	0.02	0.03	0.13	0.03	0.05	0.03	0.52
Na ⁺	1.31	0.80	0.25	0.64	2.64	0.8	8.85

The Figure 4.2.b) showed proportion of total PM mass for each inorganic salt. The inorganic fraction of the PM samples emissions was dominated by K⁺, SO₄²⁻ and Cl⁻. These results are in accordance with the ones (Boman et al. 2004) who observed that inorganic salts such as K₂SO₄, K₃Na (SO₄) and KCl are the major ones in PM emissions of wood combustion. The main differences in inorganic elements between the biofuels pellets were a higher concentration of Cl⁻ and lower concentration of SO₄²⁻ in miscanthus PM.

The amount of cations obtained from ion chromatography analysis of PM emissions can be compared to the pellet composition. The fraction of Ca, Na, and K found in PM emission compared to their content in biofuel is presented in Figure 4.3.

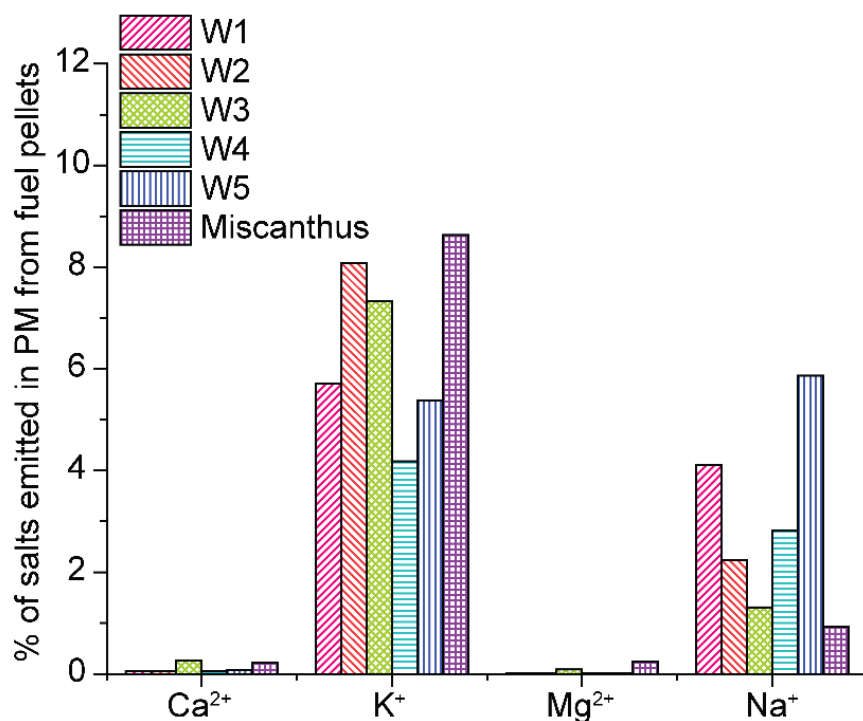


Figure 4.3: Fraction of Ca²⁺, K⁺, Mg²⁺ and Na⁺ found in PM emissions compared to their respective content in pellets

In proportion to the quantities initially present in wood pellets, Na and K are the most emitted elements with respectively $3.3 \pm 1.8\%$ and $6.1 \pm 1.5\%$ of the amount initially present. Less than 0.3% of Ca^{2+} and 0.2% of Mg^{2+} ions are found in PM. These ions are likely to form low volatile aggregates, found in the ashes, which explains the low proportion of these elements in PM (Boman et al. 2004). The fraction of K emitted is relatively similar for wood species. The fraction of Na varies according to the species of wood.

Fifteen trace elements in the PM emissions were determined by ICP-MS after digestion. The Figure 4.2.a. proportion trace element as metal oxide in PM are showed, they represent 2% to 6% of the total PM mass. The obtained results are given in Table 4.6.

The Figure 2.b displayed the proportion in total PM mass for each metal oxide. Zn, Mn and Pb were the most abundant trace elements. Results for the five wood pellets were quite similar for zinc with an emission factor of $1887 \pm 650 \mu\text{g kg}^{-1}$. The emission factor for As for the W5 brand was very high compared to other pellets ($41.7 \mu\text{g kg}^{-1}$ vs $2.1\text{-}21.8 \mu\text{g kg}^{-1}$ for the others). For lead, the most important emissions were for W2 pellets ($601 \mu\text{g kg}^{-1}$ vs $37\text{-}282 \mu\text{g kg}^{-1}$ for the others).

When studying only wood pellets, the median emission factors for Pb, Cu, Cd, As, Zn and Ni were respectively 188, 86, 9.3, 8.7, 2177 and $3.5 \mu\text{g kg}^{-1}$. These values were significantly lower than those reported by Zhang et al. (2014) for the combustion of one type of pine wood pellets in China, who found values of 3710, 1960, 170, 37100 and $700 \mu\text{g kg}^{-1}$ DW respectively for Pb, Cu, Cd, As and Ni. Maybe these high values are related to the high proportion of these elements in the pine wood pellets, perhaps due to metal contamination in the soil of the harvesting area. It should be underlined that in our study, measured arsenic levels are extremely low compared to those obtained by Zhang et al. (2014). When compared with values from the Swedish Environment Protection Agency (Paulrud and Gustafsson 2010) results were similar (Table 4.6).

Table 4.6: Emission factors (EFs) of trace elements (only PM was taken into account) ($\mu\text{g kg}^{-1}$ DW)

	W1	W2	W3	W4	W5	Miscanthus	EFs on commercial wood fuel pellets median	EFs Zhang <i>et al</i> (2014a) Pine wood pellets	EFs SMED (2006)	EFs Seljeskog <i>et al.</i> (2017)
Ag	4.2	3.9	10.7	3.1	14.7	4.7	4.45			
Al	61	66	77.4	36	896	<28	63.5			
As	4.1	21.8	2.6	2.1	41.7	13.4	8.75	37100±2690		
Ba	37.1	44.2	24.5	20.7	80.5	36.0	36.5			
Bi	<0.1	0.5	4.0	<0.1	0.3	5.9	0.4			
Cd	8.7	9.9	35.8	5.8	8.2	106.2	9.3	170±90	54	158
Co	0.3	0.3	0.2	0.3	0.9	0.2	0.3			
Cr	<101	<101	<101	<101	<101	<101	-		54	154
Cu	64	84	88	48	178	270	86	1960±200	90	354
Fe	186	340	135	122	155	<20	145			
Mn	411	326	444	247	139	384	355			
Mo	3.0	7.0	<1.4	1.8	2.6	28.9	2.8			
Ni	3.4	3.6	<2.6	<2.6	45.6	9.9	3.5	700±430	45	
Pb	95	601	94	37	282	436	188	3710±1530	270	468
Zn	1494	2221	2615	974	2133	9468	2177		7200	

The fraction of trace elements presents in pellets that were emitted as PM are presented in Figure 4.4

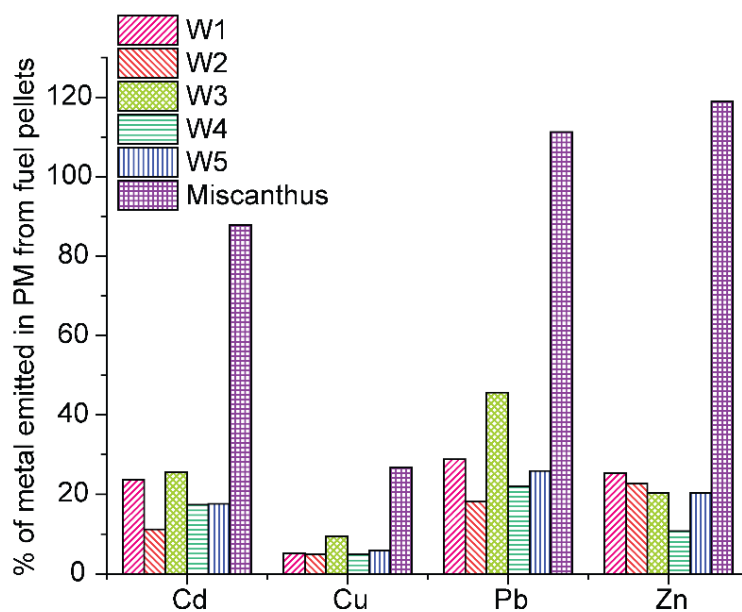


Figure 4.4: Fractions of Cd, Cu, Pb and Zn found in PM emissions

It should be noted that only the fraction emitted in the particulate phase is taken into account here. Zhang et al. (2014) studied the partitioning of certain trace metals between the gas phase and the particulate phase. They showed that As and Cd are found mostly in the particulate phase, and lead is 80-96% partitioned in the particulate phase. For nickel and copper, the partitioning between the gas and particulate phase is strongly dependent on the chlorine content which promotes the volatilization of metals in the form of volatile CuCl_2 and NiCl_2 . Thus, Boman et al. (2006) showed that the volatilization of copper is strongly influenced by the chlorine content. Wang et al. (2001) also showed that a high chlorine level favored the partition of copper in the gas phase.

As shown in Figure 4.3, the fractions emitted in the particulate phase for Zn, Pb and Cd are respectively $20 \pm 6\%$, $31 \pm 12\%$, $19 \pm 6\%$ for wood pellets. These results confirm the trend observed by comparison of trace element concentrations in the ash after combustion and in the biofuel pellet in the section 4.1.4.2 with a decrease of Zn, Pb and Cd content in the ash after combustion. However, losses due to PM were 2-3 times lower than those calculated using the mass balance on ash in section 4.1.4.2. Only $6 \pm 2\%$ of Cu is emitted as PM. For miscanthus pellets, a much higher fraction of the Cu, Zn, Pb and Cd content initially present in pellets was emitted as PM. This may be related to the higher content of chloride in the PM fraction (see Table 4.5).

4.1.4.4 Impact of trace element emissions during pellet combustion

This study provides new data on trace metals emissions related to the combustion of wood pellets. Although this work does not claim to be an exhaustive study on this subject, we can deduce from the data obtained an idea of particulate phase metals emissions related to the use of the combustion of pellets. Given a consumption of 19.5 million tons of wood pellets in 2015 in Europe (Jonsson and Rinaldi 2017), PM emissions for Pb, Cu, Cd, As, Zn and Ni would be respectively 3,7, 1.7, 0.2, 0.2, 42 and 0.1 Mg yr^{-1} . While national total for the entire territory (based on fuel sold) air emissions in EU-28 zone in 2015 was 1509, 3833, 67, 159, 5810 and 592 Mg yr^{-1} respectively for Pb, Cu, Cd, As, Zn and Ni (EEA 2019). Hence, our results suggest that PM emission from wood pellets combustion plays a non-significant role in the global trace elements pollutant emissions in Europe.

4.1.4.5 Impact of the fuel nature and combustion technology on the PM emissions

The results obtained for the inorganic salts and metal traces emissions from PM were compared with those obtained from other studies (Table S 4.6 et Table S 4.7). However, it

should be noted that the fuel used for the combustion as well as the stove or boiler technology, may have a significant impact on the PM emissions.

In Table S 4.6, results from different studies on the mass percentage of inorganic salts in PM are given.. Percentage of inorganics salts in PM obtained for fireplace combustion (Fine et al. 2001; Schauer et al. 2001) are significantly lower than those obtained for stove combustion (2% compared to the 65%-80% for our study). The reason is that elemental and organic carbon proportion is much higher when using fireplace combustion rather than stove combustion. The straw pellets burned in the cookstove and heating stove from Lai et al. (2019) work, gave similar results as the present study. Indeed, the inorganic fraction of the PM samples emissions was dominated by K^+ , SO_4^{2-} and especially Cl^- . The high chloride content in PM reflect the high chloride content of straw which is detrimental to stoves and pipes corrosion. The Table S 4.7 highlighted emissions factors in $\mu g/MJ$ for the present study and various sources from the literature. The fuel used for combustion was wood pellet, wood logs and wood chip. These biomasses were burnt in diverse appliances *e.g.* pellet boiler, masonry heater and multi-fuel boiler. The emissions factors of these studies were highly different from each other, only some metals had common values. Zinc had emission factors from 53,5 to 400 kg/MJ which was in the same order of magnitude as this study (85,4 for W1 and 128,5 for W2). Lead emission factors was high for W2 compared to the other biomasses, especially the corn straw pellet and pine wood chip from Zhang et al. (2014) work.

However, lead emission factors from W1 was in the same order of magnitude as the data found in Czech et al. (2018) study. Some of these differences could be explained by the origin of the biomass burned, if it was grown in soils polluted by heavy metals for instance.

4.1.5 Conclusion

This study conducted on five brands of wood pellets under optimal combustion conditions has allowed to measure trace element emission factors in PM.

Our results show that the inorganic salts constitute between 64 and 90% (w/w) of the PM. It mainly consisted of Sulfate, chloride and potassium with have limited impact on human health. The proportion of elementary carbon and organic matter in PM is much lower, reflecting a cleaner combustion in pellet stoves than in fireplace, for example.

The proportion of metals in PM is from 2 to 18% (w/w) (as metallic oxides). Zinc dominates all metals with 1.7 to 4% w/w in PM. The high amount of zinc in PM can lead to a significant

impact on human health as it has been shown by some authors (Dilger et al. 2016; Torvela et al. 2014; Uski et al. 2015). It also appears that a significant proportion of metals such as lead, zinc, cadmium and copper initially present in pellets are emitted into the air during combustion. Overall, the emission factors for wood pellets are of the order of 10-100 $\mu\text{g kg}^{-1}$, with the exception of lead and zinc, where the values are respectively 224 ± 233 , $1909 \pm 657 \mu\text{g kg}^{-1}$. Even taking into account a consumption of 40.1 million tons by 2030 in the EU (Jonsson and Rinaldi 2017), the resulting pollution in terms of heavy metal emissions remains minimal in comparison with global emissions in the EU.

4.1.6 Acknowledgement

We thank Fabien BOUST and Wendy SY for technical assistance. The authors are grateful to Barry Holmes for his linguistic support. This work was also supported by Normandy Region (France), LABEX SYNORG and the European Regional Development Funds (ERDF).

4.1.7 Supplementary information

Particulate inorganic salts and trace element emissions of a domestic boiler fed with five commercial brands of wood pellets

Stéphane Marcotte, Clément Castilla, Christophe Morin, Nadine Merlet-Machour*, Luis Carrasco-Cabrera, Florence Medaerts, Hélène Lavanant, Carlos Afonso.

Normandie Univ, UNIROUEN, INSA de Rouen, UMR 6014 CNRS COBRA, 1 rue Tesnière
Bât. IRCOF - 76821 Mont Saint Aignan Cedex, ROUEN, France.

*Corresponding Author

E-mail: nadine.merlet@univ-rouen.fr

Content:

Table S 4.1: Quantification limits for ICP-OES and ICP-MS

Table S 4.2: Quantification limits for ion chromatography

Table S 4.3: Results on a certified reference material CRM CNS-301-04-050 Fresh Water Sediment (Sigma Aldrich)

Table S 4.4: Parameters used for risk assessment for wood pellets ashes

Table S 4.5: Trace element content in ash after calcination with and without combustion in $\mu\text{g kg}^{-1}$

Table S 4.6: Comparison table of inorganic salts mass percentage in PM from different fuel and combustion technology (% of PM mass).

Table S 4.7: Metals in PM from different fuel and combustion technology (Emission factors in kg/MJ).

Table S 4.1: Quantification limits for ICP-OES and ICP-MS

Name		ICP-OES		ICP-MS	
Element	$\mu\text{g L}^{-1}$	mg kg^{-1} (ash)	mg kg^{-1} (biofuel) ^a	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g kg}^{-1}$ EF ^b
Ag	10	10	0.05	0.001	0.07
Al	2	2	0.01	0.37	28
As	4	4	0.02	0.02	1.8
Ba	2	2	0.01	nd	nd
Bi	10	10	0.05	0.002	0.1
Ca	1	1	0.005	nd	nd
Cd	0.2	0.2	0.001	0.013	1.0
Co	0.5	0.5	0.0025	0.004	0.3
Cr	1	1	0.005	1.3	101
Cu	1	1	0.005	0.067	5.1
Fe	2	2	0.01	0.27	21
K	9	9	0.045	nd	nd
Li	1	1	0.005	nd	nd
Mg	9	9	0.045	nd	nd
Mn	4	4	0.02	0.006	0.4
Mo	1	1	0.005	0.019	1.4
Na	10	10	0.05	nd	nd
Ni	1	1	0.005	0.03	2.6
Pb	4	4	0.02	0.02	1.7
Zn	1	1	0.005	0.33	25

^a calculated considering a 0.5% ash content; ^b calculated using combustion conditions of W1.

nd : not determined

Table S 4.2: Quantification limits for ion chromatography

Ion	$\mu\text{g L}^{-1}$	mg kg^{-1} EF ^a
Na ⁺	6	0.001
K ⁺	18	0.003
Mg ²⁺	15	0.003
Ca ²⁺	27	0.005
Cl ⁻	70	0.01
NO ₃ ⁻	195	0.04
PO ₄ ³⁻	348	0.06
SO ₄ ³⁻	278	0.05

^a calculated using combustion conditions of W1.

Table S 4.3: Results on a certified reference material CRM CNS-301-04-050 Fresh Water Sediment (Sigma Aldrich)

	Obtained value mg kg^{-1}	Reference value mg kg^{-1}
Ag	<LQ	2.3±0.7
Al	11147 ± 220	10900±3190
As	15.5 ± 0.2	14.6±6.2
Ba	125±12	137±24
Cd	36.8 ± 1.1	35.6±1.9
Co	26.0 ± 0.5	26.3±1.8
Cr	33.5 ± 0.8	30.7±4.0
Cu	44.3 ± 0.7	44.2±3.1
Fe	11918 ± 368	12400±1170
Mn	189.4 ± 6.4	187±18
Mo	40.1±3.4	38.9±2.9
Ni	29.7 ± 0.3	28.6±2.1
Pb	77.8 ± 2.1	82.6±5.1
Zn	91.2 ± 4.0	89.0±8.5

Risk assessment for wood pellet ashes ash

The model used here is the same as the one of Orecchio *et al.* (2016) which is based on those proposed by the US environmental agency (US EPA, 1989 and 1996). As Orecchio, trace elements listed in Table S 4.4 were studied.

Briefly, the following chemical daily intake in $\text{mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ were calculated as follow:

- CDI_{ing} : chemical daily intake by direct ingestion of ash particles
- CDI_{inh} : chemical intake through mouth and nose inhalation of suspended particles.
- $\text{CDI}_{\text{dermal}}$: chemical intake via absorption from skin adhered ashes particles.

The dose received through each above listed exposure were calculated using the following formulas:

$$\text{CDI}_{\text{ing}} = \text{C}_{\text{UCL}} \cdot (\text{R}_{\text{ing}} \cdot \text{F}_{\text{exp}} \cdot \text{T}_{\text{exp}} \cdot 10^{-6}) / (\text{ABW} \cdot \text{T}_{\text{avrg}}) \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\text{CDI}_{\text{inh}} = \text{C}_{\text{UCL}} \cdot (\text{R}_{\text{inh}} \cdot \text{F}_{\text{exp}} \cdot \text{T}_{\text{exp}}) / (\text{PEF} \cdot \text{ABW} \cdot \text{T}_{\text{avrg}}) \quad (\text{Eq. 2})$$

$$\text{CDI}_{\text{der}} = \text{C}_{\text{UCL}} \cdot (\text{SAF} \cdot \text{A}_{\text{skin}} \cdot \text{DAF} \cdot \text{F}_{\text{exp}} \cdot \text{T}_{\text{exp}} \cdot 10^{-6}) / (\text{ABW} \cdot \text{T}_{\text{avrg}}) \quad (\text{Eq. 3})$$

More details and justifications can be found in Orrecchio et al. (2016) but the following values where used:

- R_{ing} is the ingestion rate at 30 mg day^{-1} .
- R_{inh} is the inhalation rate at $20 \text{ m}^3 \text{ day}^{-1}$
- F_{exp} is the exposure frequency : $2.5 \text{ day year}^{-1}$ (20 min for 180 days during one year)
- T_{exp} : exposure duration : 24 years
- A_{skin} is the skin area, in this study 5700 cm^2 .
- SAF is the skin dermal absorption factor (unitless), in this study 0.001
- PEF is the particle emission factor, in this study, $1.36 \cdot 10^9 \text{ m}^3 \text{ kg}^{-1}$
- ABW is the average body weight: 70 kg
- T_{avrg} is the averaging time ; for non carcinogens $\text{T}_{\text{avrg}} = \text{T}_{\text{exp}} \cdot 365 \text{ days} = 8760 \text{ days}$.
For carcinogens, $\text{T}_{\text{avrg}} = 70 \cdot 365 = 25,550 \text{ days}$
- C_{UCL} = exposure-point upper confidence limit content, mg kg^{-1} . It is an evaluation of the reasonable maximum exposure which is the upper limit of the confidence interval

for the mean. The 95% upper confidence limit was calculated by using the following formula (see Orecchio et al. (2016) for more details:

$$C_{UCL} = X + [Z_{\alpha} + \beta(1 + 2Z_{\alpha}^2) \cdot (6\sqrt{n})^{-1} \cdot (STD \cdot (\sqrt{n})^{-1})] \text{ (Eq 4)}$$

Where X= mean concentration in mg kg⁻¹; STD = standard deviation; b=skewness; a = probability of making type 1 error (false positive); Z_α= ((1-α)th quantile of the standard normal distribution. For the 95% confidence level Z_α=1.645; n = number of samples. The potential non-carcinogen (HQ) and carcinogen risks (CR) for each metal were calculation as follow:

$$HQ=(CDI \cdot BAF)/RfD_0 \text{ (Eq. 5)}$$

$$CR= CDI \cdot BAF \cdot SLF \text{ (Eq. 6)}$$

Where :

- BAF is the ratio of the metal content in ashes that is bioavailable. As there are no values for ashes, we used values for similar matrix (dust...) References are given in Orecchio et al. BAF values are given in table Table S 4.4.
- RfD0 (reference dose) and SLF (Slope factor) where obtained from Regional screening levels (US EPA, 2010) and are given in Table S 4.4. For chromium, we considered as Orecchio *et al.* Cr(VI) as for total Cr (highest risk). For Pb as no Rfd0 exists, we used 3.5 x 10⁻³ mg kg⁻¹ day⁻¹ (see Orecchio *et al.*, 2016).
- Hazard index (HI) is given by :

$$HI= HQ_{ing} + HQ_{inh} + HQ_{der} \text{ (Eq. 5)}$$

Table S 4.4: Parameters used for risk assessment for wood pellets ashes

	C _{UCL} (mg kg ⁻¹)	BAF %	RfD0 mg kg ⁻¹ day ⁻¹	CD Ing mg kg day ⁻¹	CD Inh mg kg day ⁻¹	CD derm mg kg day ⁻¹	HQ ing	HQ inh	HQ der	HI	CR
As	2.9	38.8	0.003	8.51 10 ⁻⁹	4.17 10 ⁻¹²	1.69 10 ⁻¹⁰	1.10 10 ⁻⁶	5.40 10 ⁻¹⁰	2.18 10 ⁻⁸	1.12 10 ⁻⁶	5,06 10 ⁻⁹
Cd	5.6	74.5	0.001	1.63 10 ⁻⁸	8.00 10 ⁻¹²	3.24 10 ⁻¹⁰	1.21 10 ⁻⁵	5.96 10 ⁻⁹	2.41 10 ⁻⁷	1.24 10 ⁻⁵	
Co	14.4	22.1	0.0003	4.21 10 ⁻⁸	2.07 10 ⁻¹¹	8.36 10 ⁻¹⁰	3.11 10 ⁻⁵	1.52 10 ⁻⁸	6.16 10 ⁻⁷	3.17 10 ⁻⁵	
Cr	361.8	5.83	0.003	1.06 10 ⁻⁶	5.21 10 ⁻¹⁰	2.11 10 ⁻⁸	2.06 10 ⁻⁵	1.01 10 ⁻⁸	4.09 10 ⁻⁷	2.11 10 ⁻⁵	3,16 10 ⁻⁸
Cu	279.2	29.8	0.04	8.19 10 ⁻⁷	4.02 10 ⁻¹⁰	1.62 10 ⁻⁸	6.10 10 ⁻⁶	2.99 10 ⁻⁹	1.21 10 ⁻⁷	6.23 10 ⁻⁶	
Fe	10539.6	3.88	0.7	3.09 10 ⁻⁵	1.52 10 ⁻⁸	6.14 10 ⁻⁷	1.71 10 ⁻⁶	8.40 10 ⁻¹⁰	3.40 10 ⁻⁸	1.75 10 ⁻⁶	
Mn	13319.6	47.6	0.024	3.91 10 ⁻⁵	1.91 10 ⁻⁸	7.75 10 ⁻⁷	7.75 10 ⁻⁴	3.80 10 ⁻⁷	1.54 10 ⁻⁵	7.91 10 ⁻⁴	
Ni	170.8	15.7	0.02	5.01 10 ⁻⁷	2.46 10 ⁻¹⁰	9.94 10 ⁻⁹	3.94 10 ⁻⁶	1.92 10 ⁻⁹	7.81 10 ⁻⁸	4.01 10 ⁻⁶	
Pb	54.7	47	0.0035	1.60 10 ⁻⁷	7.87 10 ⁻¹¹	3.18 10 ⁻⁹	2.16 10 ⁻⁵	1.05 10 ⁻⁸	4.28 10 ⁻⁷	2.20 10 ⁻⁵	
V	11.1	11.2	0.005	3.25 10 ⁻⁸	1.59 10 ⁻¹¹	6.46 10 ⁻¹⁰	7.29 10 ⁻⁷	3.57 10 ⁻¹⁰	1.44 10 ⁻⁸	7.44 10 ⁻⁷	
Zn	313.4	60.1	0.3	9.20 10 ⁻⁷	4.51 10 ⁻¹⁰	1.82 10 ⁻⁸	1.84 10 ⁻⁶	9.03 10 ⁻¹⁰	3.65 10 ⁻⁸	1.88 10 ⁻⁶	

Table S 4.5: Trace element content in ash after calcination with and without combustion in µg kg-1

	Fuel	W1	W2	W2	W3	W4	Straw	Miscanthus
	Cd	8.5	15.2	31.7	9.9	9.5	31.7	9.9
	Pb	70	528	43	46	203	1	20
	Zn	1369	1688	2919	2667	2140	72	435
After pellets combustion in	Cd	5.4	3.04	6.48	5.95	8	0.3	0.6
stove and calcination of	Pb	26	40	5	19	151	1.6	3.5
resulting ash	Zn	448	324	494	530	455	153	91

Table S 4.6: Comparison table of inorganic salts mass percentage in PM from different fuel and combustion technology (% of PM mass).

Fuel Type	Combustion technology	Analysis method	Reference	Cl ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
W1 (wood pellets)	15 kW boiler	IC	This study	17,25%	0,42%	0,00%	26,53%	1,21%	38,53%	0,02%	0,68%
W2 (wood pellets)	15 kW boiler	IC	This study	12,65%	0,50%	0,06%	33,46%	0,66%	39,58%	0,02%	0,96%
Straw pellet	Cookstove, Semi-gasifier, forced drafted	IC	(Lai et al. 2019)	38,70%	0,00%	n.d.	3,10%	0,50%	44,40%	n.d.	0,00%
Straw pellet	Heating stoves, semi-gasifier, Reciprocating grate	IC	(Lai et al. 2019)	34,10%	0,00%	n.d.	5,00%	2,10%	41,80%	n.d.	0,00%
Pine log	Fireplace	IC, SAA	(Schauer et al. 2001)	0,29%	0,19%	n.d.	0,12%	0,09%	n.d.	n.d.	n.d.
Oak log	Fireplace	IC, SAA	(Schauer et al. 2001)	0,20%	0,44%	n.d.	0,41%	0,10%	n.d.	n.d.	n.d.
Red Maple log	Masonry fireplace	IC	(Fine et al. 2001)	0,63%	0,63%	n.d.	0,31%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Eastern white pine log	Masonry fireplace	IC	(Fine et al. 2001)	0,13%	0,17%	n.d.	0,13%	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

Table S 4.7: Metals in PM from different fuel and combustion technology (Emission factors in kg/MJ).

Fuel Type	Combustion technology	Analysis method	Reference	Al	As	Ba	Bi	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Mn	Mo	Ni	Pb	Zn
W1 (wood pellets)	Pellet boiler	ICP-MS	This study	3,5	0,2	2,1	<0.01	0,5	0,02	<6	3,7	10,6	23,5	0,2	0,2	5,4	85,4
W2 (wood pellets)	Pellet boiler	ICP-MS	This study	3,8	1,3	2,6	0,03	0,6	0,02	<6	4,9	19,7	18,9	0,4	0,2	34,8	128,5
Corn straw pellet	Kitchen burner	SAA	(Zhang et al. 2014)	-	2,41	-	-	0,02	-	-	0,98	-	-	-	0,18	0,72	-
Pine wood chip	Kitchen burner	SAA	(Zhang et al. 2014)	-	5,45	-	-	0,05	-	-	1,74	-	-	-	0,19	0,43	-
Beech Logs	Masonry heater	ICP-OES	(Czech et al. 2018)	45,1	-	1,63	<LQ	0,97	-	2,42	15,5	20,5	4,75	<LQ	-	9,8	53,5
Resinous wood pellets	Pellet boiler	ICP-OES	(Czech et al. 2018)	22,3	-	1,16	<LQ	<LQ	-	1,68	7650	12,1	9,3	0,84	-	1,21	139
Pellet spruce	Pellet boiler	ICP-MS/OES	(Orasche et al. 2012)	-	-	15	-	-	-	2,6	8,6	35	26	-	0,6	-	180
Wood chips, spruce	multi-fuel chip/pellet boiler	ICP-MS/OES	(Orasche et al. 2012)	-	-	7,4	-	-	-	1,8	4,3	29	27	-	0,57	-	210
Log wood, spruce	log wood boiler	ICP-MS/OES	(Orasche et al. 2012)	-	-	20	-	-	-	54	2,8	38	47	-	1,6	-	160
-Wood pellet	Boiler	-	(Paulrud and Gustafsson 2010)	-	-	-	-	20	-	3	5	-	-	-	2,5	15	400
Wood pellet-	Stove	-	(Paulrud and Gustafsson 2010)	-	-	-	-	50	-	3	5	-	-	-	2,5	15	400

References:

- Czech H et al. (2018) Chemical composition and speciation of particulate organic matter from modern residential small-scale wood combustion appliances *Science of The Total Environment* 612:636-648 doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.263>
- Fine PM, Cass GR, Simoneit BRT (2001) Chemical Characterization of Fine Particle Emissions from Fireplace Combustion of Woods Grown in the Northeastern United States *Environmental Science & Technology* 35:2665-2675 doi:10.1021/es001466k
- Lai A, Shan M, Deng M, Carter E, Yang X, Baumgartner J, Schauer J (2019) Differences in chemical composition of PM_{2.5} emissions from traditional versus advanced combustion (semi-gasifier) solid fuel stoves *Chemosphere* 233:852-861 doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.013>
- Orasche J, Seidel T, Hartmann H, Schnelle-Kreis J, Chow JC, Ruppert H, Zimmermann R (2012) Comparison of Emissions from Wood Combustion. Part 1: Emission Factors and Characteristics from Different Small-Scale Residential Heating Appliances Considering Particulate Matter and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH)-Related Toxicological Potential of Particle-Bound Organic Species *Energy & Fuels* 26:6695-6704 doi:10.1021/ef301295k
- Paulrud S, Gustafsson T (2010) Emission factors and emissions from residential biomass combustion in Sweden. SMHI, Norrköping
- Schauer JJ, Kleeman MJ, Cass GR, Simoneit BRT (2001) Measurement of Emissions from Air Pollution Sources. 3. C₁–C₂₉ Organic Compounds from Fireplace Combustion of Wood *Environmental Science & Technology* 35:1716-1728 doi:10.1021/es001331e
- Zhang W et al. (2014) Emission of Metals from Pelletized and Uncompressed Biomass Fuels Combustion in Rural Household Stoves in China *Scientific Reports* 4:5611 doi:10.1038/srep05611
- US EPA, 2010. Region 9, Regional Screening levels , available online at <http://www.epa.gov/region9/superfund/prg/index.html>
- US EPA , Risk assessment guidance for superfund, vol 1.: Human health Evaluation Manual . EPA/540/1-89/002, Office of solid waste and Emergency Response, 1989.
- US EPA, Soil screening Guidance: Technical Background Document ; EPA/540/R-95/128. Office of solid waste and Emergency Response, 1996.

4.1.8 References

- Arranz JJ, Miranda MT, Montero I, Sepúlveda FJ, Rojas CV (2015) Characterization and combustion behaviour of commercial and experimental wood pellets in South West Europe Fuel 142:199-207 doi:<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.10.059>
- Avagyan R, Nyström R, Lindgren R, Boman C, Westerholm R (2016) Particulate hydroxy-PAH emissions from a residential wood log stove using different fuels and burning conditions Atmospheric Environment 140:1-9 doi:<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.05.041>
- Avakian MD et al. (2002) The origin, fate, and health effects of combustion by-products: a research framework Environ Health Perspect 110:1155-1162 doi:10.1289/ehp.021101155
- Baxter XC, Darvell LI, Jones JM, Barraclough T, Yates NE, Shield I (2012) Study of Miscanthus x giganteus ash composition – Variation with agronomy and assessment method Fuel 95:50-62 doi:<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.12.025>
- Bølling AK et al. (2012) Wood smoke particles from different combustion phases induce similar pro-inflammatory effects in a co-culture of monocyte and pneumocyte cell lines Part Fibre Toxicol 9:45-45 doi:10.1186/1743-8977-9-45
- Boman C, Nordin A, Boström D, Öhman M (2004) Characterization of Inorganic Particulate Matter from Residential Combustion of Pelletized Biomass Fuels Energy & Fuels 18:338-348 doi:10.1021/ef034028i
- Boman C, Öhman M, Nordin A (2006) Trace Element Enrichment and Behavior in Wood Pellet Production and Combustion Processes Energy & Fuels 20:993-1000 doi:10.1021/ef050375b
- Boman C, Pettersson E, Westerholm R, Boström D, Nordin A (2011) Stove Performance and Emission Characteristics in Residential Wood Log and Pellet Combustion, Part 1: Pellet Stoves Energy & Fuels 25:307-314 doi:10.1021/ef100774x
- Chandrasekaran SR, Hopke PK, Rector L, Allen G, Lin L (2012) Chemical Composition of Wood Chips and Wood Pellets Energy & Fuels 26:4932-4937 doi:10.1021/ef300884k
- Chow J, Watson J (1999) Ion chromatography in elemental analysis of airborne particles. In: S. Landsberger MC (ed) Elemental Analysis of Airborne Particles, vol Vol. 1. Gordon and Breach Science, pp pp.97-137
- Czech H et al. (2018) Chemical composition and speciation of particulate organic matter from modern residential small-scale wood combustion appliances Science of The Total Environment 612:636-648 doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.263>
- Danielsen PH, Loft S, Kocbach A, Schwarze PE, Møller P (2009) Oxidative damage to DNA and repair induced by Norwegian wood smoke particles in human A549 and THP-1 cell lines Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 674:116-122 doi:<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.10.014>
- Dhammapala R, Claiborn C, Simpson C, Jimenez J (2007) Emission factors from wheat and Kentucky bluegrass stubble burning: Comparison of field and simulated burn experiments Atmospheric Environment 41:1512-1520 doi:<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2006.10.008>
- Dilger M, Orasche J, Zimmermann R, Paur H-R, Diabaté S, Weiss C (2016) Toxicity of wood smoke particles in human A549 lung epithelial cells: the role of PAHs, soot and zinc Archives of Toxicology 90:3029-3044 doi:10.1007/s00204-016-1659-1
- EEA (2019) National emissions reported to the Convention on Long-range Transboundary Air Pollution (LRTAP Convention) <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/data/national-emissions-reported-to-the-convention-on-long-range-transboundary-air-pollution-lrtap-convention-13>.
- Fachinger F, Drewnick F, Gieré R, Borrmann S (2017) How the user can influence particulate emissions from residential wood and pellet stoves: Emission factors for different fuels and burning conditions Atmospheric Environment 158:216-226 doi:<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.03.027>
- Fernandez A, Davis SB, Wendt JOL, Cenni R, Young RS, Witten ML (2001) Particulate emission from biomass combustion Nature 409:998-998 doi:10.1038/35059169
- Fine PM, Cass GR, Simoneit BRT (2001) Chemical Characterization of Fine Particle Emissions from Fireplace Combustion of Woods Grown in the Northeastern United States Environmental Science & Technology 35:2665-2675 doi:10.1021/es001466k
- Happo MS et al. (2013) Pulmonary inflammation and tissue damage in the mouse lung after exposure to PM samples from biomass heating appliances of old and modern technologies Science of The Total Environment 443:256-266 doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.004>
- Ho TC, Chu HW, Hopper JR (1993) Metal volatilization and separation during incineration Waste Management 13:455-466 doi:[https://doi.org/10.1016/0956-053X\(93\)90077-A](https://doi.org/10.1016/0956-053X(93)90077-A)

- International Organization for Standardization G, Switzerland. (2014) ISO 17225-2:2014 Solid biofuels - Fuel specifications and classes - Part 2: Graded wood pellets.
- Jonsson R, Rinaldi F (2017) The impact on global wood-product markets of increasing consumption of wood pellets within the European Union *Energy* 133:864-878
doi:<https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.05.178>
- Kasurinen S et al. (2018) Differences between co-cultures and monocultures in testing the toxicity of particulate matter derived from log wood and pellet combustion *PLOS ONE* 13:e0192453
doi:10.1371/journal.pone.0192453
- Klippel N, Nussbaumer T Health relevance of particles from wood combustion in comparison to diesel soot. In: 15th European Biomass Conference and Exhibition, Berlin, 7–11 May 2007 2007.
- Kocbach Bølling A, Pagels J, Yttri KE, Barregard L, Sallsten G, Schwarze PE, Boman C (2009) Health effects of residential wood smoke particles: the importance of combustion conditions and physicochemical particle properties *Part Fibre Toxicol* 6:29 doi:10.1186/1743-8977-6-29
- Lai A, Shan M, Deng M, Carter E, Yang X, Baumgartner J, Schauer J (2019) Differences in chemical composition of PM_{2.5} emissions from traditional versus advanced combustion (semi-gasifier) solid fuel stoves *Chemosphere* 233:852-861 doi:<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.013>
- Lighty JS, Veranth JM, Sarofim AF (2000) Combustion Aerosols: Factors Governing Their Size and Composition and Implications to Human Health *Journal of the Air & Waste Management Association* 50:1565-1618 doi:10.1080/10473289.2000.10464197
- Lind T, Kauppinen EI, Hokkinen J, Jokiniemi JK, Orjala M, Aurela M, Hillamo R (2006) Effect of Chlorine and Sulfur on Fine Particle Formation in Pilot-Scale CFBC of Biomass *Energy & Fuels* 20:61-68
doi:10.1021/ef050122i
- Miller B, Dugwell DR, Kandiyoti R (2003) The Influence of Injected HCl and SO₂ on the Behavior of Trace Elements during Wood-Bark Combustion *Energy & Fuels* 17:1382-1391 doi:10.1021/ef030020x
- Nyström R, Lindgren R, Avagyan R, Westerholm R, Lundstedt S, Boman C (2017) Influence of Wood Species and Burning Conditions on Particle Emission Characteristics in a Residential Wood Stove *Energy & Fuels* 31:5514-5524 doi:10.1021/acs.energyfuels.6b02751
- Orecchio S, Amorello D, Barreca S (2016) II) Wood pellets for home heating can be considered environmentally friendly fuels? Heavy metals determination by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) in their ashes and the health risk assessment for the operators *Microchemical Journal* 127:178-183 doi:<https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.03.008>
- Paulrud S, Gustafsson T (2010) Emission factors and emissions from residential biomass combustion in Sweden. SMHI, Norrköping
- Roden CA, Bond TC, Conway S, Pinel ABO (2006) Emission Factors and Real-Time Optical Properties of Particles Emitted from Traditional Wood Burning Cookstoves *Environmental Science & Technology* 40:6750-6757 doi:10.1021/es052080i
- Schauer JJ, Kleeman MJ, Cass GR, Simoneit BRT (2001) Measurement of Emissions from Air Pollution Sources. 3. C₁–C₂₉ Organic Compounds from Fireplace Combustion of Wood *Environmental Science & Technology* 35:1716-1728 doi:10.1021/es001331e
- Schmidl C et al. (2011) Particulate and gaseous emissions from manually and automatically fired small scale combustion systems *Atmospheric Environment* 45:7443-7454
doi:<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2011.05.006>
- Shen G et al. (2012) Emission of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons from biomass pellet burning in a modern burner for cooking in China *Atmospheric Environment* 60:234-237
doi:<https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.06.067>
- Shen G et al. (2013) Emissions of parent, nitrated, and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons from indoor corn straw burning in normal and controlled combustion conditions *Journal of Environmental Sciences* 25:2072-2080 doi:[https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(12\)60249-6](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(12)60249-6)
- Sippula O, Hytönen K, Tissari J, Raunemaa T, Jokiniemi J (2007) Effect of Wood Fuel on the Emissions from a Top-Feed Pellet Stove *Energy & Fuels* 21:1151-1160 doi:10.1021/ef060286e
- Torvela T et al. (2014) Reference Particles for Toxicological Studies of Wood Combustion: Formation, Characteristics, and Toxicity Compared to Those of Real Wood Combustion Particulate Mass *Chemical Research in Toxicology* 27:1516-1527 doi:10.1021/tx500142f
- Toscano G, Duca D, Amato A, Pizzi A (2014) Emission from realistic utilization of wood pellet stove *Energy* 68:644-650 doi:<https://doi.org/10.1016/j.energy.2014.01.108>
- Uski O et al. (2015) Effect of fuel zinc content on toxicological responses of particulate matter from pellet combustion in vitro *Science of The Total Environment* 511:331-340
doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.061>

- Uski OJ et al. (2012) Acute systemic and lung inflammation in C57Bl/6J mice after intratracheal aspiration of particulate matter from small-scale biomass combustion appliances based on old and modern technologies *Inhalation Toxicology* 24:952-965 doi:10.3109/08958378.2012.742172
- Wang K-S, Chiang K-Y, Tsai C-C, Sun C-J, Tsai C-C, Lin K-L (2001) The effects of FeCl₃ on the distribution of the heavy metals Cd, Cu, Cr, and Zn in a simulated multimetal incineration system *Environment International* 26:257-263 doi:https://doi.org/10.1016/S0160-4120(00)00115-X
- Ward T, Lange T (2010) The impact of wood smoke on ambient PM_{2.5} in northern Rocky Mountain valley communities *Environmental Pollution* 158:723-729 doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.10.016
- Zhang J et al. (2000) Greenhouse gases and other airborne pollutants from household stoves in China: a database for emission factors *Atmospheric Environment* 34:4537-4549 doi:https://doi.org/10.1016/S1352-2310(99)00450-1
- Zhang W et al. (2014) Emission of Metals from Pelletized and Uncompressed Biomass Fuels Combustion in Rural Household Stoves in China *Scientific Reports* 4:5611 doi:10.1038/srep05611

Conclusion générale et perspectives

L'objectif principal de cette thèse était le développement de méthodes d'analytiques pour la caractérisation de la biomasse lignocellulosique. Pour cela, des méthodes d'analyse directe ont été mises en place (DIP et ASAP), couplées à la spectrométrie de masse à ultra haute résolution FTICR et à la spectrométrie de mobilité ionique (IMS). La spectrométrie de masse FTICR a permis grâce à sa résolution et à sa précision de mesure, de mettre en évidence la diversité isobarique de l'échantillon, tandis que la mobilité ionique a permis d'appréhender sa diversité isomérique. De plus, d'autres méthodes analytiques comme l'IC et l'ICP-MS ont été utilisées pour la caractérisation de la matière inorganique et métaux à l'état de traces présents dans les produits de combustion de la biomasse lignocellulosique.

Dans la première partie de ce travail, le développement de méthodes analytiques permettant la caractérisation de biomasses lignocellulosiques a été présenté. En effet, le DIP APCI/APPI FTICR MS et l'ASAP IMS-MS ont fait l'objet de deux articles scientifiques. La résolution de composés isobariques obtenus lors de la pyrolyse du bois a été réalisée par spectrométrie de masse à ultra haute résolution. La spectrométrie de mobilité ionique a apporté des informations sur la présence d'isomères dans des échantillons de biomasse.

La méthode DIP-APCI/APPI FTICR MS développée dans le premier article a permis l'analyse rapide de granulés de bois avec deux techniques d'ionisation. La source d'ionisation pour l'analyse non ciblée des produits de pyrolyse du bois a été sélectionnée par comparaison des profils de désorption et spectres de masse issues des sources DIP-APCI et DIP-APPI. En effet, la source APCI ionise les composés de la pyrolyse de la biomasse dans leur globalité tandis que la source APPI, sans ajout de dopant, est spécifique des produits de dépolymérisation de la lignine, ce qui peut être intéressant pour la caractérisation structurale de lignine par MS/MS. L'étude du profil de désorption-pyrolyse d'échantillons de granulés de bois de hêtre a montré l'évolution au cours du temps des produits de désorption thermique et dégradation de cet échantillon. Enfin, la méthode DIP APCI FTICR MS a été utilisée pour différencier trois espèces de bois différentes par des méthodes d'analyses statistiques multivariées. Cette approche pourrait être utilisée pour l'analyse et la différenciation d'autres espèces de bois, comme présenté dans le second article de la thèse. De plus, cette méthode pourrait être applicable à d'autres matrices complexes comme des polymères ou aérosols issus de diverses sources.

La méthode ASAP IMS TOF MS développée dans le second article a aussi été appliquée à la caractérisation de granulés issus de différentes espèces de biomasse lignocelulosiques. En effet, après avoir étudié la présence de composés isobariques par spectrométrie de masse à ultra haute résolution, la spectrométrie de mobilité ionique associée à un analyseur à temps de vol, a été utilisée pour déterminer les sections efficaces de collision de marqueurs moléculaires spécifiques de certaines espèces de biomasse. Ces marqueurs ont été choisis par une analyse en composantes principales réalisée à partir des attributions moléculaires déterminées par ASAP IMS TOF MS. La comparaison des CCS expérimentales des produits de désorption-pyrolyse montre une similarité isomérique entre ces échantillons. La détermination de CCS expérimentales de molécules de référence proches des produits de pyrolyse du bois a aussi été effectuée. La plupart de ces valeurs de CCS expérimentales sont similaires avec celles des produits de pyrolyse de la biomasse. Cependant, les largeurs à mi hauteurs des signaux IMS sont plus élevées pour les produits de pyrolyse du bois, montrant une diversité isomérique plus élevée pour ces échantillons. De plus, la présence d'isomères a été confirmée par des expériences de spectrométrie de masse en tandem pour plusieurs produits de pyrolyse de biomasse, en comparaison de molécules de référence équivalentes. Cependant, il n'a pas été possible de séparer ces isomères avec la résolution du Synapt. La spectrométrie de mobilité ionique cyclique pourrait être une solution afin d'améliorer la séparation d'isomères présents dans les produits de dégradation de la biomasse. D'autres molécules de référence pourraient être utilisées afin de réaliser une base de données de CCS expérimentales. De plus, la détermination de CCS théoriques pourrait confirmer les CCS obtenues expérimentalement.

Dans la seconde partie de cette thèse porte sur la caractérisation des émissions inorganiques et métaux à l'état de traces obtenues lors de la combustion de la biomasse lignocelulosique. Les facteurs d'émission des éléments traces observés dans la matière particulaire, ainsi que la teneur de ces éléments dans les cendres résiduelles et dans la matière première brûlée ont été déterminés par IC et ICP-MS/OES. La matière particulaire analysée est principalement composée de sels inorganiques contenant des sulfates, chlorures et ions potassium avec une faible proportion en carbone organique et élémentaire, représentative d'une combustion complète. La proportion des métaux sous forme d'oxydes dans la matière particulaire est variable en fonction de la biomasse brûlée. La proportion en zinc est la plus importante parmi les métaux émis, ce qui est problématique par rapport à son impact sur la santé humaine.

D'autres métaux comme le plomb, le cadmium et le cuivre sont retrouvés en grande proportion dans la matière particulaire par rapport à leurs teneurs dans la matière première.

La limitation de ces émissions pourrait être réalisée par l'ajout d'adjuvants lors de la formulation des granulés de bois, afin de minimiser l'émission dans l'atmosphère de certains éléments traces. Par exemple, la Kaolinite ($\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$) a déjà été utilisé pour capter les métaux alcalins volatil émis lors de la combustion, responsable d'encrassement et de corrosion

Enfin, lors de cette thèse, plusieurs méthodes ont été développées et mises en œuvre afin de caractériser la biomasse lignocellulosique ainsi que ses produits de combustion dans toute leur diversité chimique et moléculaire. Ces méthodes ont un intérêt pour le suivi de la conversion de la biomasse afin d'augmenter nos connaissances sur les molécules produites et peut-être ainsi minimiser l'impact environnemental lié aux procédés de conversion de la biomasse.

Chapitre annexe : Analyse de particules fines obtenues par la combustion de carburants issus du pétrole par spectrométrie de masse à ultra haute résolution (FTICR MS)

Chapitre 5 : Analyse de particules fines obtenues par la combustion de carburants issus du pétrole par spectrométrie de masse à ultra haute résolution (FTICR MS)

Ce chapitre expose le développement de méthodes d'analyses non ciblées pour la caractérisation chimique de la matière particulaire issues de la combustion contrôlée de propane. Ces méthodes d'analyse ont été développées dans le cadre du projet PUFBIO, financé par le programme national de recherche Environnement-Santé-Travail (PNR EST). Les acteurs de ce projet sont le laboratoire CORIA avec Jérôme Yon, l'équipe ToxEMAC du laboratoire ABTE avec Jean-Marie Vaugeois, Christelle Monteil et Ana Teresa Juarez Facio ainsi que le laboratoire COBRA avec Carlos Afonso, Hélène Lavanant, Christophe Morin, Nadine Merlet-Machour, Mélanie Mignot et Christine Devouge-Boyer. L'objectif général de ce projet est d'évaluer la toxicité de particules fines et ultrafines produites lors de la combustion de carburants pétroliers et de biocarburants de seconde génération (B2G), pour des conditions de combustion et d'exposition parfaitement contrôlées, représentatives de l'exposition humaine.

La première étape du projet, menée par l'équipe ToxEMAC et le CORIA, a permis le développement d'un protocole innovant d'exposition de cellules pulmonaires adaptées à l'étude de particules fines et ultrafines. Les cultures cellulaires choisies ont été mises en contact dans une chambre d'exposition avec des particules générées de manière contrôlée et représentatives du trafic automobile. Ensuite, le profil de réponse toxique a été examiné pour des expositions contrôlées et reproductibles. Enfin, différents carburants ont été comparés pour un point de fonctionnement donné du système de combustion, le but étant d'étudier l'impact de ces carburants sur la physico-chimie et réponse toxique des particules produites.

Notre participation au projet concerne la caractérisation chimique non ciblée de la matière particulaire issue de la combustion des carburants étudiés. L'utilisation de la spectrométrie de masse à ultra haute résolution (FTICR MS) est adaptée pour la caractérisation d'aérosols grâce à sa précision de masse et à sa résolution. De plus, la méthode DIP développée dans le chapitre 3 permettant l'analyse d'échantillons solides de bois a été adaptée pour la caractérisation des particules fines et ultra fines issues de la combustion de propane.

5.1 Introduction sur l'analyse de particules fines

La combustion incomplète de carburants hydrocarbonés génère un aérosol constitué d'oxydes gazeux tels que les oxydes azotés et carbonés (NO_x , CO et CO_2), de composés inorganiques, d'espèces organiques volatiles incluant des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) ainsi que des particules fines. Les particules fines ont un impact important sur la santé humaine et sont associées entre autre à des inflammations chroniques des poumons [1] ainsi qu'à des cancers [2]. De nombreuses études toxicologiques ont été effectuées en lien avec ces particules [3-5]. Il est donc important de développer des méthodes analytiques pour la caractérisation de ces composés potentiellement cancérigènes.

L'étude de ces particules peut se faire à l'échelle du laboratoire par l'utilisation d'un générateur de « combustion aerosol standard » ou CAST. Le CAST est un système de combustion contrôlé simulant des conditions réelles de combustion. En effet, il est possible de modifier les quantités introduites de combustible et comburant. Ce système a été utilisé dans plusieurs études [6-8]. Le prélèvement de la matière particulaire produite par le système CAST peut se faire par déposition sur filtre. La caractérisation chimique de ces particules fines peut ensuite être effectuée par approche ciblée et non ciblée après extraction ou par méthodes d'analyse directe.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) est une méthode de choix pour l'analyse ciblée des particules fines, se focalisant principalement sur les HAP générés lors du processus de combustion. Avant l'analyse GC-MS, une extraction solide-liquide est généralement réalisée sur les dépôts de particules [9, 10]. Cependant, l'extraction des échantillons peut être très longue et le rendement d'extraction dépend de la méthode d'extraction ainsi que des solvants utilisés. Des méthodes d'analyse sans solvant, tel que la GC-MS couplée à une unité de désorption thermique, peuvent être une alternative intéressante aux méthodes nécessitant une extraction au préalable. Cette technique consiste à soumettre la matière particulaire à des températures élevées afin d'en extraire les molécules en phase gazeuse [11][12][13]. Ces composés sont ensuite focalisés sur un piège froid pour être enfin injectés par chauffage très rapide vers la colonne chromatographique.

Les approches non ciblées pour l'analyse des particules fines sont diverses. La spectrométrie de masse des ions secondaires (SIMS) et la spectrométrie de masse laser à deux étapes (L2MS) sont deux techniques utilisées pour la caractérisation de particules fines. Le L2MS est une technique analytique utilisant deux lasers, un pour la désorption des molécules de l'échantillon et un second pour l'ionisation de ces molécules.

La longueur d'onde de ces lasers peut être modifiée pour contrôler la fragmentation des ions, permettant ainsi de cibler certaines classes de composés. Les HAP sont facilement ionisés avec cette méthode comme le montre l'étude de Ngo, L.D. et al.[14]. Le SIMS est une méthode utilisée pour l'analyse de surfaces par l'effet d'un faisceau de particules ioniques pulsées comme de l'Ar, Bi, Cs ou Ga. Les ions primaires pénétrants la surface de l'échantillon, transmettent leur énergie cinétique aux molécules voisines causant des collisions amenant à l'émission d'ions secondaires. Ces ions secondaires sont ensuite guidés vers l'analyseur de masse. Cette méthode est utilisée pour l'analyse des surfaces organiques et inorganiques [15]. Cependant, la résolution de l'analyseur à temps de vol est limitée, rendant difficile l'attribution de composés isobariques. L'utilisation de la spectrométrie de masse à ultra haute résolution est donc nécessaire pour avoir de meilleures informations sur l'analyse d'échantillons complexes de particules fines.

Le spectromètre de masse par résonance cyclonique ionique à transformée de Fourier (FTICR MS) avec sa haute résolution et précision de masse peut résoudre des composés isobariques et donner des informations fiables sur la composition moléculaire de l'échantillon. Le FTICR a été utilisé pour l'étude de particules fines obtenues par différentes sources [16, 17]. Ces études ont été le plus souvent effectuées avec des échantillons en phase liquide, obtenus par extraction. Le couplage d'une sonde d'insertion directe (DIP) au FTICR permet l'analyse d'échantillons solides par désorption thermique et pyrolyse, simplifiant grandement la préparation de l'échantillon. La sonde DIP fonctionne de la manière suivante : l'échantillon est thermo-désorbé et/ou pyrolysé par un flux d'azote gazeux chauffé. Les molécules désorbées sont ensuite ionisées à pression atmosphérique par ionisation chimique ou photo ionisation. Le temps d'analyse est court et l'ionisation est plus douce comparée à l'ionisation électronique.

Dans cette étude, nous avons développé une méthode d'analyse par DIP FTICR MS permettant la caractérisation de particules fines issues de la combustion contrôlée de propane. Trois conditions de combustion ont été étudiées. Celles-ci varient en fonction de la teneur en air oxydant introduit dans le système de combustion. Ces trois conditions ont premièrement été comparées à l'aide des profils de désorption et des spectres de masse. Puis, les attributions moléculaires obtenues à partir des trois conditions de combustion ont été comparées à l'aide de cartographies moléculaires et d'analyse en composante principale.

5.2 Partie expérimentale

5.2.1 Présentation du système d'étude des particules

Le système d'étude des particules est constitué d'un générateur de matière particulaire comportant des appareils de mesure qui permettent la caractérisation physique des particules générées. Ce système est couplé à une chambre d'exposition permettant de mettre en contact la matière particulaire générée lors de la combustion avec des cultures de cellules épithéliales. La production de la matière particulaire se fait à partir d'un MiniCAST 5201c (CAST signifiant *Combustion Aerosol Standard*) (Figure 5.1). Cet appareil alimente de manière contrôlée, une flamme à partir d'azote, de propane et d'air d'oxydation. Les suies produites par la flamme sont mises en contact avec de l'azote en sortie de chambre afin d'éviter des réactions chimiques secondaires. Les phénomènes d'agrégation des particules sont limités par dilution avec l'air. La combustion de propane peut être contrôlée grâce à quatre paramètres principaux qui sont : Le débit de propane (mL/min), le débit d'air d'oxydation (L/min), le débit d'air de dilution (L/min) et le débit d'azote (L/min).

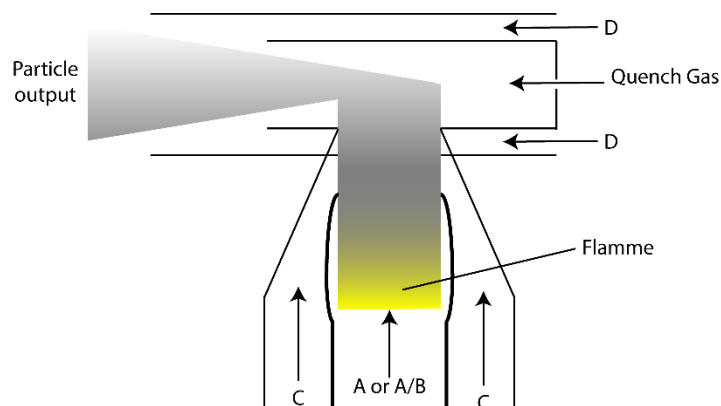


Figure 5.1 : Schéma du fonctionnement du miniCAST. A correspondant au débit du propane gazeux (mL/min), B correspondant au débit d'azote (mL/min), C correspondant au débit d'air d'oxydation (L/min) et D correspondant au débit d'air de dilution (L/min)

Dans le cadre de cette étude, trois points de fonctionnement, nommés CAST 1, CAST 2 et CAST 3 représentant différentes richesses ont été sélectionnés. La richesse ϕ est un nombre utilisé en combustion pour définir l'excès de combustible ou de comburant dans la flamme. Dans le cas d'une flamme de diffusion comme pour le miniCAST, la richesse globale est calculée en fonction des débits massiques de carburant et d'air oxydant. Une richesse de 1 correspond aux conditions stœchiométriques. Les points de combustion CAST 1, 2 et 3 ont été traités dans les études de Bescond *et al.* et Ngo, L. D., *et al.* [14, 18].

Le Tableau 5.1 montre les valeurs des trois points de fonctionnement CAST. Seul le débit d'air d'oxydation a été modifié entre les trois conditions CAST.

Tableau 5.1: Paramètres des trois points de fonctionnement CAST

Point de fonctionnement	Débit propane (mL/min)	Débit azote (L/min)	Débit air oxydation (L/min)	Débit air dilution (L/min)	Richesse
CAST 1	60	0	1,5	7	0.97
CAST 2	60	0	1,15	7	1.27
CAST 3	60	0	1,0	7	1.46

La modification du miniCAST par le CORIA a permis l'introduction de carburant liquides, garantissant deux modes d'utilisation. Cependant, cette partie ne sera pas développée dans ce chapitre dû au manque de reproductibilité des échantillons étudiés.

Les particules fines obtenues lors de la combustion sont diluées puis caractérisées physiquement en taille et en masse grâce à divers appareils. Ces particules sont ensuite amenées vers la chambre d'exposition avec les cellules d'étude. L'excès de particules est capté par deux filtres en cellulose et quartz caractérisés par la suite. Un exemple de filtre CAST propane est présenté avec la Figure 5.2.



Figure 5.2: Filtre en cellulose contenant des particules CAST propane

5.2.2 Analyse FTICR MS non ciblée de particules fines obtenues par la combustion de propane

Les filtres cellulose avec le dépôt de particules fines obtenue par la combustion des carburants gaz et liquides ont nécessité une préparation d'échantillon avant l'analyse. En effet, la cellulose se dégradant entre 300 et 400°C [19], il n'est pas possible de faire la thermo désorption et pyrolyse à haute température des filtres. C'est pour cela que la surface des filtres en cellulose a été grattée afin d'en récupérer les particules fines.

Ces particules ont été étudiées par spectrométrie de masse à ultra haute résolution. Un spectromètre de masse FTICR 12 T (SolariX XR FTMS, Bruker Daltonics) a été utilisé pour l'acquisition des spectres de masse avec une source d'ionisation chimique à pression atmosphérique et une sonde d'insertion directe (DIP-APCI). Environ (0.4 ± 0.1) mg de particules fines ont directement été placées dans un capillaire en verre, celui-ci étant bouché par un morceau de filtre en quartz inerte chimiquement et résistant à la température. De plus, l'utilisation de ce filtre en quartz permet d'induire un délai d'évaporation de l'échantillon, permettant d'éviter un trop grand débit d'ion dans le spectromètre de masse[20]. Les échantillons ont été analysés en triplicats et aléatorisés dans le but de faire des analyses statistiques multivariées Les paramètres d'acquisition sont indiqués dans le Tableau 5.2.

Tableau 5.2: Paramètres DIP-APCI FTICR MS de source et d'acquisition

Paramètres de source		Paramètres d'acquisition	
Source d'ionisation	DIP-APCI	Gamme de masse	122-1000
Température de source	300°C	Temps d'analyse	4 min
Température de gaz séchant	200°C	Temps d'accumulation	0,1 s
Pression du gaz nébuliseur	3 bar	Temps de vol	0,5 ms
Débit du gaz séchant	2 L/min	FID	0,7 s
Courant aiguille corona	3 μ A	Nombre de points	2 M
Tension capillaire	1000 V		

5.2.3 Traitement des données

L'étalonnage externe du spectre de masse a été réalisé avec un mélange de 16 hydrocarbures aromatiques polycycliques (Supelco EPA 610, Sigma Aldrich). L'étalonnage interne a été effectué avec une liste de HAP régulièrement présents dans les produits de combustion de propane. Par la suite, les pics des spectres de masse du profil de désorption avec un ratio signal sur bruit supérieur ou égal à 9 ont été exportés à l'aide d'un script *visual basic* exécuté par Data Analysis.

Les scans exportés ont été traités à l'aide d'un script MATLAB et les attributions moléculaires ont été réalisées avec les limites suivantes : $C_cH_hN_nO_o$ $n \leq 1$ et $o \leq 4$, avec une erreur maximale de 1 ppm, un équivalent double liaison (DBE) inférieur à 80, et un ratio H/C entre 0 et 3. Une liste qui présente les formules brutes des ions attribués à chaque signal ainsi que l'intensité du signal en unité arbitraire est réalisée à partir des trois répliquats analytiques et ceci pour chaque échantillon. Les attributions moléculaires de chaque répliquat pour toutes les conditions CAST gaz ont été rassemblées en un unique tableau pour être soumises à une analyse statistique multivariée. Toutes les attributions ont été utilisées et celles non observées dans un échantillon sont considérées avec une intensité de 0. Les données ont été normalisées à l'aide d'une transformation puissance et de *variable stability scaling* (VAST), puis une analyse par composante principale a été effectuée. Les scores et coefficients obtenus, couplés avec les attributions élémentaires, ont été interprétés à l'aide de représentations graphiques.

5.3 Analyse des particules issues de la combustion de propane par DIP-APCI FTICR MS

5.3.1 Etude du profil de désorption et du spectre moyen

Les profils de désorption ainsi que les spectres de masse moyens obtenus lors de l'analyse des échantillons CAST propane sont présentés en Figure 5.3. Une variation élevée de l'intensité du signal (non représenté) a été observée pour CAST 1 et 2. En effet, un coefficient de variation de 23% et 21% a été obtenu en étudiant l'intensité totale des ions. Ceci est lié à la variation de la quantité d'échantillon introduite ainsi que l'inhomogénéité des particules. Les profils de désorption obtenus sont relativement similaires entre les différentes conditions CAST. En effet, le maximum d'intensité ionique est observé à environ 0,5 minute, suivi d'une diminution progressive du signal jusqu'à 1.5 minutes. Une diminution plus lente de l'intensité ionique est cependant observée pour la condition CAST 2. De plus, le profil de désorption de CAST 1 est le moins intense en ions.

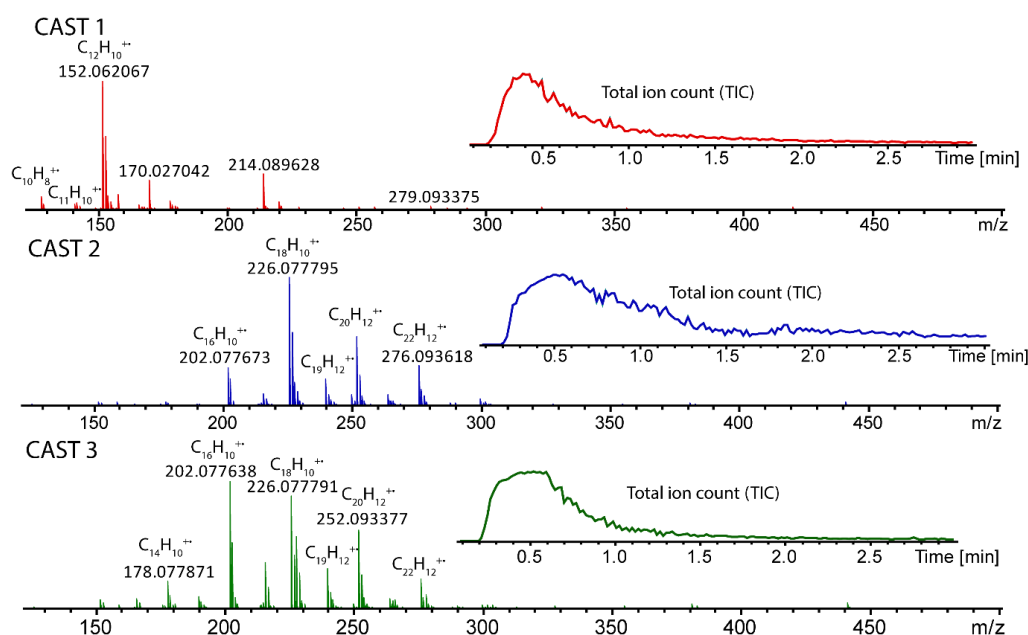


Figure 5.3: Profils de désorption (Total ion count ou TIC) et spectre de masse moyen obtenus lors des analyses CAST gaz

Les spectres de masse moyens obtenus sont peu complexes, avec moins de cinq pics par masses nominales. Ces mêmes spectres montrent des différences entre les conditions de combustion étudiées. En effet, l'intensité des ions est plus importante pour CAST 2 en comparaison avec les deux autres conditions. De plus, peu de pics sont observés pour la condition CAST 1, dont les plus intenses se trouvent entre m/z 122 et m/z 200.

Des formules brutes relatives à des HAP volatils avec 2 à 3 cœurs aromatiques ont été observées pour ces pics, notamment $C_{10}H_8^{+•}$, $C_{11}H_{10}^{+•}$ et $C_{12}H_{10}^{+•}$ dont les structures putatives sont respectivement le naphthalène, le 1-méthylnaphtalène et l'acénaphène. Les spectres de masse pour les conditions CAST 2 et 3 sont similaires. En effet, les pics majoritaires sont compris entre m/z 200 et m/z 280. Des formules brutes relatives à des HAP semi-volatils à lourds avec quatre cœurs aromatiques ou plus ont été observés, notamment $C_{16}H_{10}^{+•}$, $C_{18}H_{10}^{+•}$ et $C_{20}H_{12}^{+•}$ dont les structures putatives sont respectivement le fluoranthène, le benzo[a]fluoranthène et le benzo[a] pyrène. Des différences d'intensité de pics sont cependant observées entre CAST 2 et 3. En effet, les ions m/z 202 et m/z 252 sont plus intenses pour les conditions CAST 3 tandis que l'ion m/z 226 est plus intense pour la condition CAST 2. La comparaison des trois conditions de combustion montre que la diminution de l'apport d'oxygène dans la chambre de combustion du miniCAST produit des composés plus lourds, apparentés à des HAP. Ces résultats sont cohérents avec l'étude de Linh Dan Ngo et al [14].

5.3.2 Détermination des attributions moléculaires et de leurs représentations graphiques

Les ions observés dans les spectres de masse moyens ont été attribués à des formules brutes grâce à la résolution et la précision en masse du FTICR. Pour CAST 1, environ 65% de la totalité des pics ont été attribués à une formule brut. Cette proportion relativement faible est en partie due à la faible intensité globale du spectre de masse de cet échantillon, faisant ressortir le bruit de fond chimique lié au filtre quartz utilisé pour boucher le capillaire ou de contaminants présents sur le filtre lors du prélèvement des particules. Pour CAST 2 et 3, avec une intensité ionique plus élevée, 80% des pics ont été attribués à une formule brute. Les diagrammes de Venn montrés en Figure 5.4 présentent le nombre d'attributions moléculaires obtenues par réplicats et échantillons. Une moyenne de 844, 1080 et 1018 attributions ont été observées pour CAST1, CAST2 et CAST 3 respectivement. Environ 80% des attributions de CAST 1 et 2 sont communes entre leurs réplicats et 85% des attributions de CAST 3 sont communes entre leurs réplicats. Le diagramme de Venn permet de montrer la reproductibilité de la méthode.

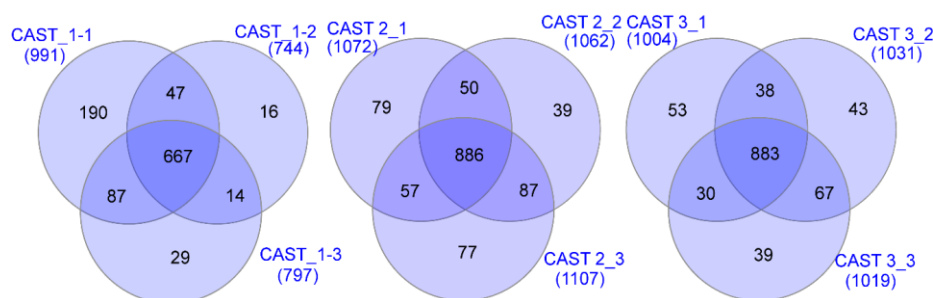


Figure 5.4 : Diagrammes de Venn des attributions moléculaires obtenues lors de l'analyse des échantillons CAST propane par DIP-FTICR

Les attributions moléculaires obtenues peuvent ensuite être visualisées grâce à l'utilisation de représentations graphiques. Le premier histogramme montré en Figure 5.5 représente l'intensité relative des attributions moléculaires en fonction des classes moléculaires. Les classes moléculaires étudiées sont les classes HC, CHO₁₋₄, N₁, NO et NO₂. Les attributions « odd » correspondent aux ions radicalaires [M]^{•+} et les ions « even » correspondent aux ions protonés [M+H]⁺ ou abstraction d'hydrure [M-H]⁺.

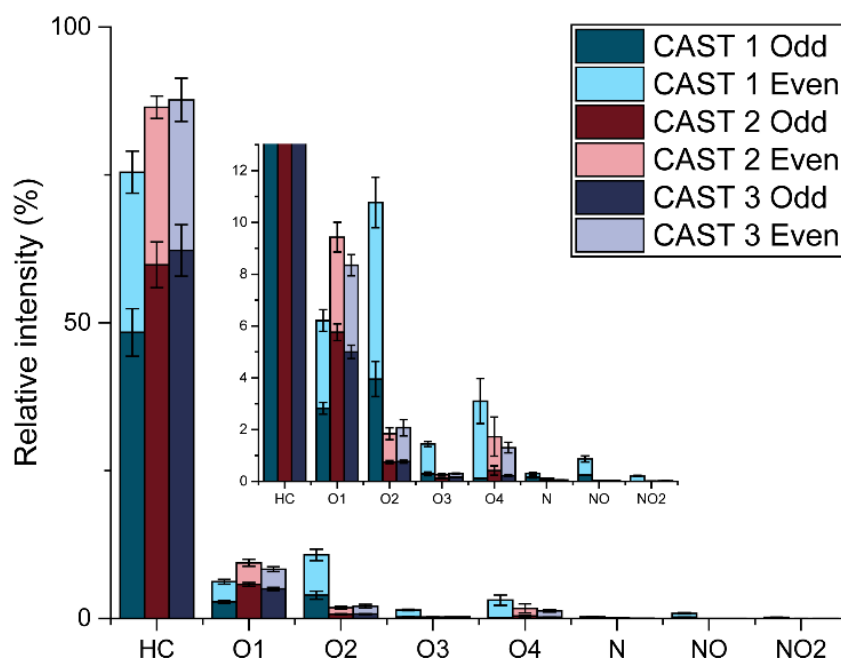


Figure 5.5: Histogramme d'intensité relative en fonction des classes de molécules pour les échantillons CAST. L'insert correspond à l'agrandissement de l'échelle d'intensité relative entre 0 et 12%. Les attributions « odd » correspondent aux ions radicalaires $[M]^{\bullet+}$ et les ions « even » correspondent aux ions protonés $[M+H]^+$ ou abstraction d'hydrure $[M-H]^+$.

La classe HC est majoritairement observée pour les trois conditions CAST avec 75% à 85% d'intensité relative et une grande proportion d'ions radicalaires. Les différences principales entre les trois conditions de combustion sont montrées entre CAST 1 et les deux autres conditions. En effet, la proportion en HC est plus faible pour cette condition. De plus, la proportion de la classe moléculaire contenant un atome d'oxygène (CHO) est plus faible pour cette condition. En outre, la proportion de classe contenant deux atomes d'oxygène (CHO₂) est plus élevée pour CAST 1, montrant une proportion plus élevée en acides gras.

D'autres représentations graphiques permettent d'avoir des informations complémentaires sur l'analyse des particules CAST. Les cartographiques équivalent double liaison (ou DBE) en fonction du nombre d'atomes de carbones présentées en Figure 5.6 et Figure 5.7 permettent d'avoir des informations sur le caractère saturé ou insaturé des attributions moléculaires étudiées. Ces cartographies sont réalisées par classes moléculaires. La cartographie DBE en fonction de C de la Figure 5.6 porte sur la classe HC. On y observe des ions contenant un nombre d'atomes de carbone entre 7 et 15 ainsi qu'une DBE entre 7 et 12. Ces ions correspondent à des HAP légers avec deux à trois cœurs aromatiques, ce qui est cohérent avec le spectre de masse moyen. L'ion le plus intense observée est le $C_{12}H_{10}^{\bullet+}$.

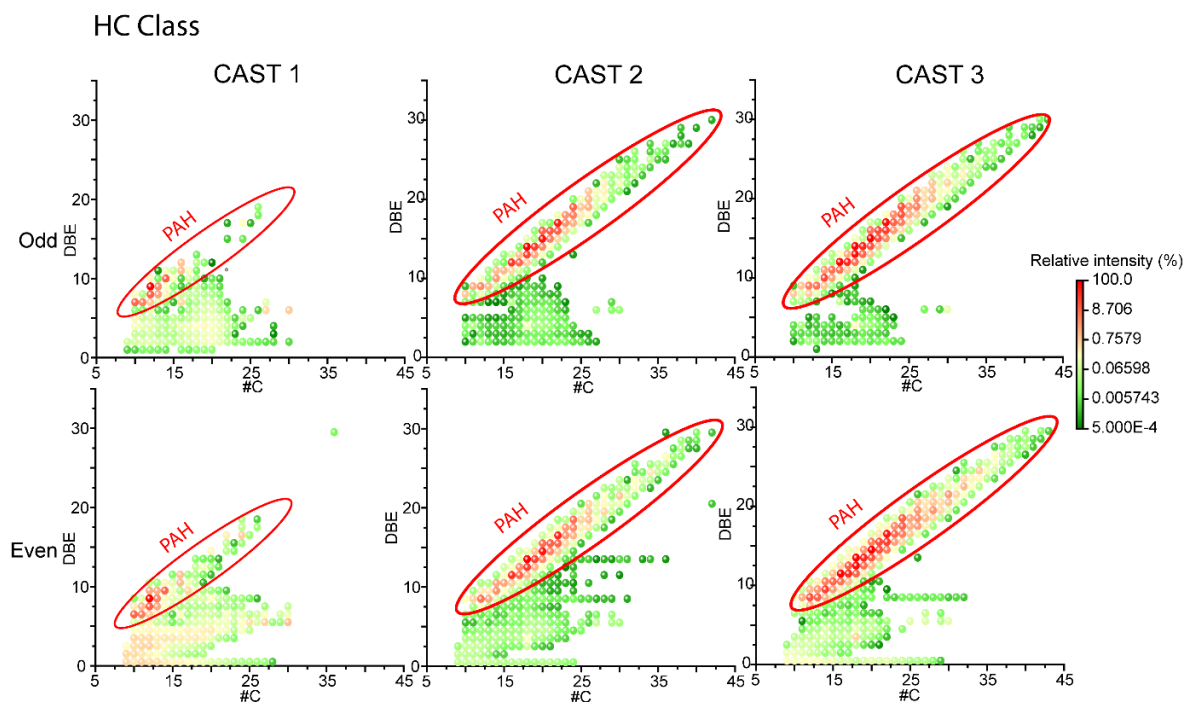


Figure 5.6: Cartographie DBE en fonction du nombre de carbone pour la classe HC. Le code couleur correspond à l'intensité relative des ions

Une seconde zone d'attribution observée pour CAST 1 compte un nombre d'atomes de carbone entre 10 et 30 ainsi qu'une DBE comprise entre 0 et 5. Ces composés sont des hydrocarbures peu insaturés. Deux zones d'attributions moléculaire sont observées pour CAST 2. Une première zone avec un nombre d'atomes de carbone entre 7 et 40 ainsi qu'une DBE entre 7 et 30. Cette zone correspond à des hydrocarbures légers à lourd dont l'ion majoritaire est le $C_{18}H_{10}^{+}$. La seconde zone d'attribution contient entre 10 et 30 atomes de carbones et une DBE entre 0 et 10. Cette zone correspond comme pour la condition CAST 1 à des composés peu insaturés. La condition CAST 3 montre des zones d'attributions très similaires avec CAST 2. En effet, une première zone contient des HAP légers à lourds dont l'ion majoritaire est le $C_{20}H_{12}^{+}$. De plus, une seconde zone contenant des composés peu insaturés est remarquée. La comparaison des trois conditions de combustion montre que CAST 1 est très différent des deux autres conditions. De plus, cette condition contient plus de composés peu insaturés.

La Figure 5.7 montre une cartographie DBE en fonction du nombre de carbone pour la classe moléculaire contenant un atome d'oxygène. Deux zones d'attributions sont observées pour les trois conditions CAST. Ces zones sont similaires avec celles observées pour la classe HC. En effet, une première zone est étudiée avec un nombre de carbone entre 7 et 35 et une DBE entre 5 et 25. Cette zone correspond aux O-HAP légers à lourds.

La condition CAST 1 montre plus de HAP légers que les deux autres conditions avec l'ion majoritaire $C_{13}H_8O^+$ dont une des structures possibles est le 9-fluorenone. Les conditions CAST 2 et 3 montrent des O-HAP plus lourds avec comme ion majoritaire le $C_{19}H_{10}O^+$ pour CAST 2 et 3, dont le naphthanthrone est une des structures possibles. La seconde zone d'attributions moléculaires étudiée contient un nombre d'atomes de carbones entre 7 et 20 avec une DBE entre 0 et 5.

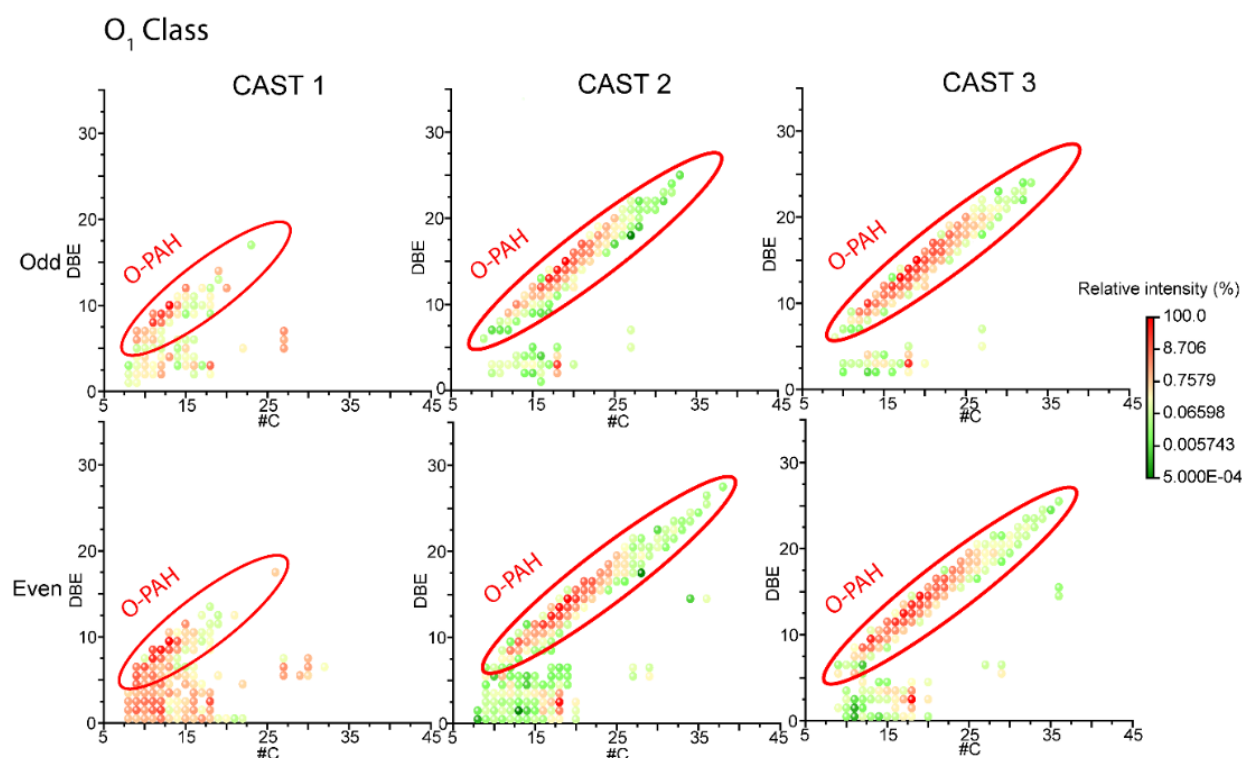


Figure 5.7: Cartographie DBE en fonction du nombre de carbone pour la classe O1. Le code couleur correspond à l'intensité relative des ions

L'intensité des ions de cette seconde zone est plus élevée pour la condition CAST 1. La comparaison des cartographies DBE en fonction du nombre d'atomes de carbone pour les classes HC et O₁ ont permis la différenciation des conditions de combustion CAST. Dans la suite de cette étude, une analyse par composante principale des données DIP APCI va permettre, par association avec les données d'attribution, de déterminer des marqueurs moléculaires relatifs aux différentes conditions de combustion.

5.3.3 Comparaison des différentes conditions de combustion CAST avec une analyse par composante principale.

Le graphique des individus de l'analyse par composante principale est présenté à la Figure 5.8. Dans ce graphique, la première composante principale représente 93% de la variabilité totale des échantillons, tandis que la seconde composante représente 4% de cette variabilité.

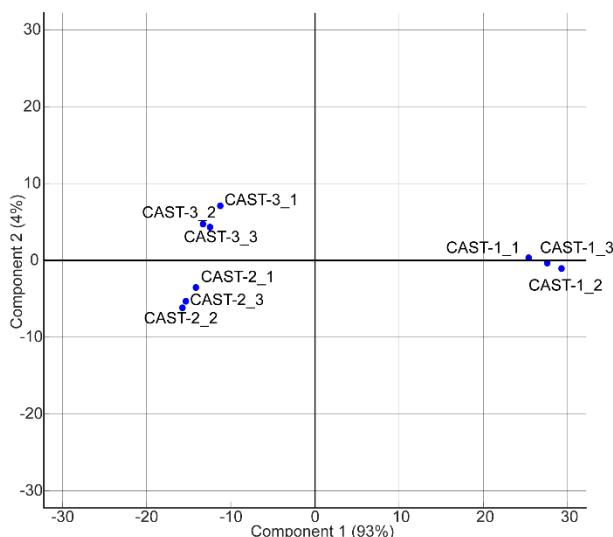


Figure 5.8: Score plot d'analyse par composante principale obtenue à partir des données d'analyse DIP-FTICR des particules fines CAST

La première composante permet de séparer la condition CAST 1 des conditions CAST 2 et 3. Cependant, les conditions CAST 2 et 3 étant très similaires, il n'a pas été possible de les séparer. L'information obtenue à l'aide de ce *score plot* est limitée. Cependant, l'utilisation des coefficients de la première composante principale couplée avec les attributions moléculaires permet de déterminer les molécules les plus présentes dans certaines conditions de combustion. La Figure 5.9 présente deux diagrammes de DBE en fonction du nombre d'atomes de carbone, modifiés avec les données PCA. Deux classes moléculaires sont étudiées pour ces diagrammes, la classe HC et la classe O1. Une grande partie des attributions, représentées en orange clair sont observées en proportions similaires entre les trois conditions de combustion. Les attributions moléculaires les plus différentes se trouvent parmi la ligne des composés HAP, ceci pour la classe HC et O1. Comme montré précédemment, les HAP et O-HAP lourds sont plus observés pour les conditions CAST 2 et 3 (points en verts) tandis que les HAP et O-HAP légers (points rouges) sont plus observés pour les conditions CAST 1.

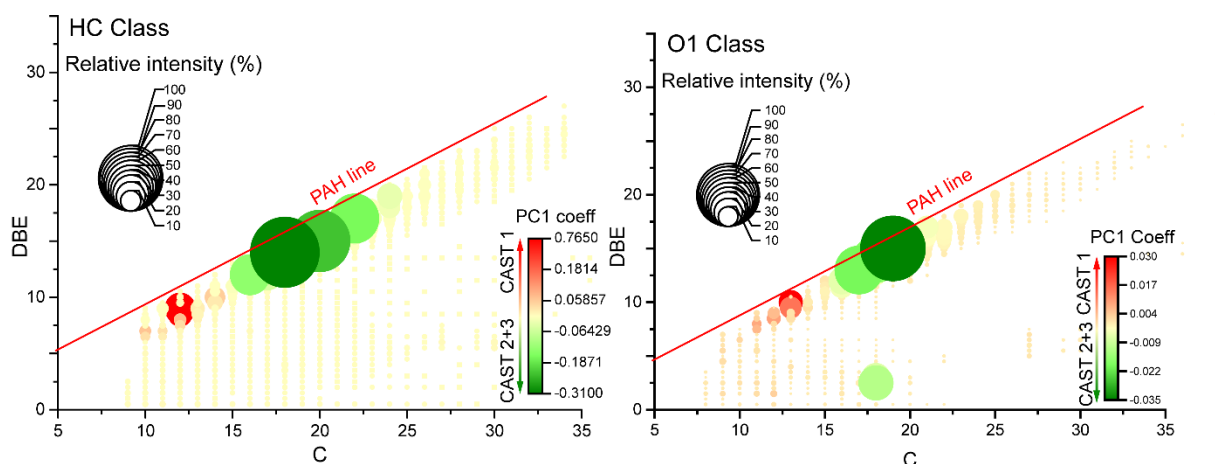


Figure 5.9: Digrammes DBE en fonction du nombre d'atomes de carbone pour les classes O1 et O2, modifiée avec les données PCA. Le code couleur correspond aux coefficients PC1 et la taille des points correspond à l'intensité relative de l'attribution moléculaire.

Une molécule dans la zone de faible DBE, plus intense pour les conditions CAST 2 et 3 a été observée pour la classe O1. Ce point correspond à l'ion $C_{18}H_{33}O^+$, un alcool gras. Les attributions moléculaires avec les plus grands et plus faibles coefficients PC1 ont été extraits. Le Tableau 5.3 représente les vingt attributions avec les coefficients PC1 les plus élevées et le Tableau 5.4 représente les vingt attributions avec les coefficients PC1 les plus faibles. Les attributions moléculaires représentatives de la condition CAST 1 étudiées dans le Tableau 5.3, représentent en partie des HAP légers contenant deux à trois cœurs aromatiques. La molécule de plus faible masse observée peut être attribuée au naphthalène. Quelques O-HAP sont aussi observés dont un ion pouvant être apparenté au fluorénone ($C_{13}H_8O$). Les deux dernières molécules observées dans les particules de CAST1 sont deux contaminants chimiques, l'acide palmitique et le dinonyl phtalate. Le Tableau 5.4, dont les attributions sont représentatives des conditions CAST 2 et 3, montrent la présence d'HAP avec quatre à six cœurs aromatiques. La molécule de plus faible de masse observée peut être attribuée au pyrène ($C_{16}H_{10}$). Un O-HAP a été observé pouvant être attribué au naphthanthrone ($C_{19}H_{10}O$). Les attributions moléculaires de ces deux tableaux sont cohérentes avec les spectres de masse et cartographies moléculaires présentées précédemment.

Tableau 5.3: Attributions moléculaires extraites des données DIP APCI FTICR MS. Vingt attributions moléculaires avec les coefficients PC1 les plus élevés ont été extraits

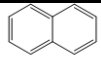
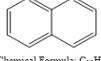
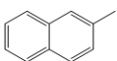
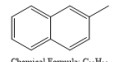
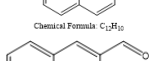
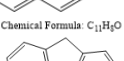
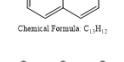
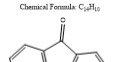
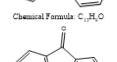
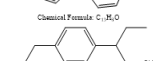
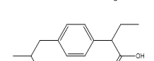
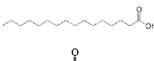
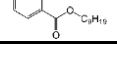
Ion m/z	Formula	H/C	O/C	Classe	Coeff PC1	Putative structure
128.06204	C ₁₀ H ₈	0.80	0	HC	0.10	 Chemical Formula: C ₁₀ H ₈
129.06987	C ₁₀ H ₉	0.90	0	HC	0.07	 Chemical Formula: C ₁₀ H ₉
142.07769	C ₁₁ H ₁₀	0.91	0	HC	0.07	 Chemical Formula: C ₁₁ H ₁₀
143.08553	C ₁₁ H ₁₁	1.00	0	HC	0.06	 Chemical Formula: C ₁₁ H ₁₀
152.06204	C ₁₂ H ₈	0.67	0	HC	0.35	 Chemical Formula: C ₁₃ H ₈
153.06991	C ₁₂ H ₉	0.75	0	HC	0.25	 Chemical Formula: C ₁₃ H ₈
154.07768	C ₁₂ H ₁₀	0.83	0	HC	0.11	 Chemical Formula: C ₁₃ H ₁₀
155.08553	C ₁₂ H ₁₁	0.92	0	HC	0.08	 Chemical Formula: C ₁₃ H ₁₀
156.05697	C ₁₁ H ₈ O ₁	0.73	0.1	O1	0.04	 Chemical Formula: C ₁₁ H ₈ O
166.07772	C ₁₃ H ₁₀	0.77	0	HC	0.08	 Chemical Formula: C ₁₃ H ₁₀
167.08556	C ₁₃ H ₁₁	0.85	0	HC	0.06	 Chemical Formula: C ₁₃ H ₁₀
168.09334	C ₁₃ H ₁₂	0.92	0	HC	0.05	 Chemical Formula: C ₁₃ H ₁₂
178.07756	C ₁₄ H ₁₀	0.71	0	HC	0.20	 Chemical Formula: C ₁₄ H ₁₀
179.08549	C ₁₄ H ₁₁	0.79	0	HC	0.14	 Chemical Formula: C ₁₄ H ₁₀
180.05696	C ₁₃ H ₈ O ₁	0.62	0.1	O1	0.09	 Chemical Formula: C ₁₃ H ₈ O
181.06476	C ₁₃ H ₉ O ₁	0.69	0.1	O1	0.06	 Chemical Formula: C ₁₃ H ₈ O
220.14582	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	1.43	0.1	O2	0.09	 Chemical Formula: C ₁₄ H ₂₀ O
221.15365	C ₁₄ H ₂₁ O ₂	1.50	0.1	O2	0.06	 Chemical Formula: C ₁₄ H ₂₀ O
257.24751	C ₁₆ H ₃₃ O ₂	2.06	0.1	O2	0.07	 Chemical Formula: C ₁₆ H ₃₃ O
419.3156	C ₂₆ H ₄₃ O ₄	1.65	0.2	O4	0.05	 Chemical Formula: C ₂₆ H ₄₃ O

Tableau 5.4: Attributions moléculaires extraites des données DIP APCI FTICR MS. Vingt attributions moléculaires avec les coefficients PC1 les plus faibles ont été extraits

Ion <i>m/z</i>	Formula	H/C	O/C	Classe	coeff_PC1	Putative structure
202.0777	C ₁₆ H ₁₀	0.63	0.00	HC	-0.11	 Chemical Formula: C ₁₆ H ₁₀
216.0934	C ₁₇ H ₁₂	0.71	0.00	HC	-0.12	 Chemical Formula: C ₁₇ H ₁₂
226.0776	C ₁₈ H ₁₀	0.56	0.00	HC	-0.29	 Chemical Formula: C ₁₈ H ₁₀
227.0855	C ₁₈ H ₁₁	0.61	0.00	HC	-0.19	 Chemical Formula: C ₁₈ H ₁₁
228.0934	C ₁₈ H ₁₂	0.67	0.00	HC	-0.17	 Chemical Formula: C ₁₈ H ₁₂
229.1012	C ₁₈ H ₁₃	0.72	0.00	HC	-0.11	 Chemical Formula: C ₁₈ H ₁₃
240.0931	C ₁₉ H ₁₂	0.63	0.00	HC	-0.16	 Chemical Formula: C ₁₉ H ₁₂
241.1012	C ₁₉ H ₁₃	0.68	0.00	HC	-0.10	 Chemical Formula: C ₁₉ H ₁₃
250.0777	C ₂₀ H ₁₀	0.50	0.00	HC	-0.08	 Chemical Formula: C ₂₀ H ₁₀
252.0933	C ₂₀ H ₁₂	0.60	0.00	HC	-0.27	 Chemical Formula: C ₂₀ H ₁₂
253.1012	C ₂₀ H ₁₃	0.65	0.00	HC	-0.16	 Chemical Formula: C ₂₀ H ₁₃
254.0726	C ₁₉ H ₁₀ O	0.53	0.05	O1	-0.10	 Chemical Formula: C ₁₉ H ₁₀ O
254.1091	C ₂₀ H ₁₄	0.70	0.00	HC	-0.08	 Chemical Formula: C ₂₀ H ₁₄
264.0934	C ₂₁ H ₁₂	0.57	0.00	HC	-0.11	 Chemical Formula: C ₂₁ H ₁₂
266.1088	C ₂₁ H ₁₄	0.67	0.00	HC	-0.09	 Chemical Formula: C ₂₁ H ₁₄
276.0933	C ₂₂ H ₁₂	0.55	0.00	HC	-0.22	 Chemical Formula: C ₂₂ H ₁₂
277.1012	C ₂₂ H ₁₃	0.59	0.00	HC	-0.12	 Chemical Formula: C ₂₂ H ₁₃
278.1089	C ₂₂ H ₁₄	0.64	0.00	HC	-0.12	 Chemical Formula: C ₂₂ H ₁₄
300.0934	C ₂₄ H ₁₂	0.50	0.00	HC	-0.10	 Chemical Formula: C ₂₄ H ₁₂
302.109	C ₂₄ H ₁₄	0.58	0.00	HC	-0.08	 Chemical Formula: C ₂₄ H ₁₄

5.4 Conclusion

Nous avons pu développer lors de notre participation au projet PUF BIO, une méthode DIP APCI FTICR MS adaptée à l'analyse de suies générées par la combustion contrôlée de propane. L'analyse d'échantillons solides est effectuée en quelques minutes grâce à cette méthode. De plus, la spectrométrie de masse à ultra haute résolution permet l'attribution de la majorité des pics des spectres de masse à une formule brute. Trois conditions de combustion CAST ont été comparées avec cette méthode, liées par la quantité d'air oxydant introduite lors de la combustion. La première condition CAST est constituée en majorité de composés hydrocarbonés de faibles masses. Ces composés sont apparentés à des HAP avec deux à trois cœurs aromatiques. Les molécules produites lors des conditions de combustion CAST 2 et 3 ont des masses plus élevées. En effet, des molécules hydrocarbonées de type HAP avec quatre à six cœurs aromatiques ont été observées. L'utilisation d'analyse par composante principale a permis de différencier les trois conditions et d'en extraire des composés trouvés plus intensément ou spécifiquement dans l'une des trois conditions. Ces composés extraits pourront être utilisés par la suite pour l'analyse ciblée de particules fines. Cependant, l'information donnée par le FTICR est limitée à la formule brute. En effet, il n'est pas possible d'avoir des informations structurales sur les attributions moléculaires obtenues. La mobilité ionique est un outil donnant un descripteur supplémentaire de ces molécules, la section efficace de collision (CCS). La comparaison des spectres de mobilité extrait et des CCS entre les échantillons et standards HAP peuvent permettre d'évaluer la quantité d'isomères présents pour les différentes conditions de combustion CAST. L'étude de suies issues de la combustion de carburant liquide est aussi en cours. Le carburant étudié est un *surrogate* avec ou sans additifs produit à partir de l'étude de Wu, Y. *et al* [21]. Des résultats préliminaires d'analyse DIP ont été obtenus. Cependant des échantillons supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats

5.5 References

1. Henderson, R.F., et al., *Response of rodents to inhaled diluted diesel exhaust: Biochemical and cytological changes in bronchoalveolar lavage fluid and in lung tissue*. Fundam. Appl. Toxicol., 1988. **11**(3): p. 546-567.
2. Pepelko, W.E. and C. Chen, *Quantitative Assessment of Cancer Risk from Exposure to Diesel Engine Emissions*. Regul. Toxicol. Pharm., 1993. **17**(1): p. 52-65.
3. Vaughan, A., et al., *Primary human bronchial epithelial cell responses to diesel and biodiesel emissions at an air-liquid interface*. Toxicology in Vitro, 2019. **57**: p. 67-75.
4. Schraufnagel, D.E., *The health effects of ultrafine particles*. Exp Mol Med, 2020. **52**(3): p. 311-317.
5. Rossner, P., Jr., et al., *The Biological Effects of Complete Gasoline Engine Emissions Exposure in a 3D Human Airway Model (MucilAir(TM)) and in Human Bronchial Epithelial Cells (BEAS-2B)*. Int J Mol Sci, 2019. **20**(22): p. 5710.
6. Moore, R.H., et al., *Mapping the Operation of the Miniature Combustion Aerosol Standard (Mini-CAST) Soot Generator*. Aerosol Sci. Technol., 2014. **48**(5): p. 467-479.
7. Mamakos, A., et al., *Characterization of Combustion Aerosol Produced by a Mini-CAST and Treated in a Catalytic Stripper*. Aerosol Sci. Technol., 2013. **47**(8): p. 927-936.
8. Marhaba, I., et al., *Aircraft and MiniCAST soot at the nanoscale*. Combust. Flame, 2019. **204**: p. 278-289.
9. An, Y.-z., et al., *An experimental study of polycyclic aromatic hydrocarbons and soot emissions from a GDI engine fueled with commercial gasoline*. Fuel, 2016. **164**: p. 160-171.
10. Naydenova, S., et al., *Qualitative and quantitative determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in fine particulate matter*. J. Environ. Sci. Health, 2020. **55**(4): p. 498-509.
11. Grandesso, E., P. Pérez Ballesta, and K. Kowalewski, *Thermal desorption GC-MS as a tool to provide PAH certified standard reference material on particulate matter quartz filters*. Talanta, 2013. **105**: p. 101-108.
12. Bates, M., et al., *Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in airborne particles by direct sample introduction thermal desorption GC/MS*. Atmos. Environ., 2008. **42**(24): p. 6144-6151.
13. Presto, A.A., et al., *Determination of Volatility Distributions of Primary Organic Aerosol Emissions from Internal Combustion Engines Using Thermal Desorption Gas Chromatography Mass Spectrometry*. Aerosol Sci. Technol., 2012. **46**(10): p. 1129-1139.
14. Ngo, L.D., et al., *Chemical discrimination of the particulate and gas phases of miniCAST exhausts using a two-filter collection method*. Atmos. Meas. Tech., 2020. **13**(2): p. 951-967.
15. Benninghoven, A., *Chemical Analysis of Inorganic and Organic Surfaces and Thin Films by Static Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry (TOF-SIMS)*. 1994. **33**(10): p. 1023-1043.
16. Choi, J.H., et al., *In-depth compositional analysis of water-soluble and -insoluble organic substances in fine (PM_{2.5}) airborne particles using ultra-high-resolution 15T FT-ICR MS and GC×GC-TOFMS*. Environ. Pollut., 2017. **225**: p. 329-337.
17. Rüger, C.P., et al., *Characterisation of ship diesel primary particulate matter at the molecular level by means of ultra-high-resolution mass spectrometry coupled to laser desorption ionisation—comparison of feed fuel, filter extracts and direct particle measurements*. Anal. Bioanal. Chem., 2015. **407**(20): p. 5923-5937.
18. Bescond, A., et al., *Soot optical properties determined by analyzing extinction spectra in the visible near-UV: Toward an optical speciation according to constituents and structure*. J. Aerosol Sci, 2016. **101**: p. 118-132.
19. Yang, H., et al., *Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis*. Fuel, 2007. **86**(12): p. 1781-1788.
20. Castilla, C., et al., *Direct Inlet Probe Atmospheric Pressure Photo and Chemical Ionization Coupled to Ultrahigh Resolution Mass Spectrometry for the Description of Lignocellulosic Biomass*. J. Am. Soc. Mass. Spectrom., 2020. **31**(4): p. 822-831.
21. Wu, Y., et al., *Laminar flame speed of lignocellulosic biomass-derived oxygenates and blends of gasoline/oxygenates*. Fuel, 2017. **202**: p. 572-582.

Résumé

La biomasse lignocellulosique est une source abondante d'énergie renouvelable pouvant être utilisée comme une alternative aux énergies fossiles pour la production de chaleur, d'électricité ou de composés chimiques d'intérêt. En effet, la biomasse lignocellulosique peut être convertie par des procédés biochimiques ou thermochimiques. Cependant, les processus de conversion de la biomasse sont très complexes en raison de sa composition. Le but de la thèse est de développer des outils analytiques permettant la caractérisation de la biomasse lignocellulosique et de leurs produits de conversion par combustion et pyrolyse. L'analyse de la biomasse a été effectuée par désorption thermique et pyrolyse grâce l'utilisation de sondes d'introduction directe (DIP et ASAP), permettant la caractérisation rapide de solides. Ces sondes ont été couplées à la spectrométrie de masse à résonance cyclotronique ionique à transformée de Fourier (FTICR) et à la spectrométrie de mobilité ionique couplée à la spectrométrie de masse. Le spectromètre de masse FTICR avec sa résolution et sa précision en masse a été utilisée pour la cartographie moléculaire des produits de désorption thermique et pyrolyse de la biomasse, tandis que la spectrométrie de mobilité ionique a donné des informations sur la présence d'isomères dans ces produits. Les méthodologies DIP FTICR et ASAP IM TOF MS ont été appliquées à la comparaison de différentes espèces de biomasses et ont permis la détermination de marqueurs moléculaires spécifiques pour certaines de ces espèces. La présence d'isomères dans les produits de pyrolyse et thermo désorption de la biomasse a été évaluée par comparaison avec des molécules de références et spectrométrie de masse en tandem. Enfin, la chromatographie ionique et la spectrométrie de masse à couplage à plasma inductif ont été utilisées pour la caractérisation des composés inorganiques et métaux à l'état de trace issus de la combustion de la biomasse lignocellulosique.

Mots clés : biomasse lignocellulosique, spectrométrie de masse FTICR, Spectrométrie de mobilité ionique, analyse directe, analyse d'inorganiques et métaux lourds

Abstract :

Lignocellulosic biomass is an abundant source of renewable energy that can be used as an alternative to fossil fuels to produce heat, electricity, or chemical compounds. Indeed, lignocellulosic biomass can be converted by biochemical or thermochemical processes. However, biomass conversion processes are very complex because of biomass composition. The aim of the thesis is to develop analytical tools for the characterization of lignocellulosic biomass and their conversion products by combustion and pyrolysis. Biomass analysis was carried out by thermal desorption and pyrolysis using direct introduction probes (DIP and ASAP), allowing the rapid characterization of solids. These probes were coupled with Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (FTICR) and ion mobility spectrometry coupled with mass spectrometry. The FTICR mass spectrometer with its resolution and mass accuracy was used for the isobaric fingerprinting of thermal desorption and pyrolysis products of biomass, while the ion mobility spectrometry provided isomeric information. The DIP FTICR and ASAP IM TOF MS methods were applied to the comparison of different plant species that produce lignocellulosic biomass and allowed the determination of molecular markers specific to certain biomass types. In addition, the presence of isomers in the pyrolysis and thermo-desorption products of the biomass was evaluated by comparison with reference molecules and tandem mass spectrometry. Finally, ion chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry were used for the characterization of inorganic compounds and trace metals resulting from the combustion of lignocellulosic biomass.

Keywords: Lignocellulosic biomass, FTICR mass spectrometry, ion mobility spectrometry, direct analysis, inorganic compound analysis, heavy metals analysis