

Separación de compuestos del bio-oil según su peso molecular y polaridad para la obtención de fracciones homogéneas

Arianna Sabina, Jorge Pequerul, Isabel Fonts, Noemí Gil-Lalaguna, José Luis Sánchez

Grupo de Procesos Termoquímicos (GPT)
Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A)
Universidad de Zaragoza, Mariano Esquillor s/n, 50018, Zaragoza, Spain.
Tel. +34-976762707, e-mail: asabina@unizar.es

Resumen

Este trabajo se enmarca en un proyecto cuyo objetivo es desarrollar un método de fraccionamiento para separar el bio-oil producido en la pirólisis de biomasa en fracciones más homogéneas respecto a tamaño molecular y polaridad. Para ello se han utilizado las técnicas de Cromatografía Líquida Flash y Cromatografía en Capa Fina aplicadas a compuestos fenólicos presentes habitualmente en el bio-oil.

Introducción y objetivos

En los últimos años, el interés por el desarrollo y aplicación de materiales derivados de fuentes renovables ha experimentado un notable crecimiento. En este contexto, el bio-oil obtenido a través del proceso de pirólisis de biomasa se ha convertido en una alternativa prometedora debido a su potencial como materia prima para la obtención de biocombustibles y diversos productos químicos de valor añadido [1]. Se debe resaltar que el bio-oil es una mezcla altamente compleja de compuestos orgánicos clasificados, como son aldehídos, cetonas, ácidos, furanos, fenoles, metoxifenoles, azúcares y oligómeros; debido a su complejidad en cuanto a pesos moleculares y a la combinación de funcionalidades químicas es necesario comprender su composición química y encontrar métodos efectivos de fraccionamiento y separación de sus componentes [2,3].

El objetivo de este estudio es investigar el fraccionamiento y la separación de los compuestos presentes en un bio-oil lignocelulósico para obtener fracciones más homogéneas en cuanto a peso molecular y polaridad, utilizando para ello técnicas de Cromatografía Líquida Flash y Cromatografía en Capa Fina (TLC). Se busca obtener fracciones de bio-oil enriquecidas en compuestos específicos, que puedan ser refinadas posteriormente mediante hidrodesoxigenación catalítica de una forma más eficaz.

Materiales y Métodos

Materiales

Se utilizó bio-oil proveniente de la empresa holandesa Biomass Technology Group (BTG) que, inicialmente, fue fraccionado en 4 subfracciones mediante el procedimiento de extracciones sucesivas con agua y diclorometano: (i) soluble en agua y soluble en diclorometano (SA_SDCM), (ii) insoluble en agua y soluble en diclorometano (IA_SDCM), (iii) soluble en agua e insoluble en diclorometano (SA_IDCM), (iv) insoluble en agua e insoluble en diclorometano (IA_ISDCM) [4].

En las pruebas de TLC se trabajó con varios disolventes y mezclas de ellos (ciclohexano, hexano, tolueno, diclorometano, tetrahidrofurano, acetato de etilo, isopropanol, acetona, acetonitrilo, metanol, acetato de isopropilo), utilizando placas de gel de sílice con indicador fluorescente UV.

La Cromatografía Líquida Flash se realizó en un equipo Interchim Puriflash 5.150 con detector de UV. Para la separación por tamaño (GPC: *Gel Permeation Chromatography*) se utilizó una columna de 50 cm de longitud rellena con resina Bio-Beads SX3 (BioRad), mientras que para la separación por polaridad se utilizaron columnas esféricas tipo SI-HP (25 G) de 15 μm (presión de 22 bar).

Procedimiento experimental

En una primera etapa, la investigación se centró en la separación por peso molecular de los compuestos orgánicos presentes en la fracción SA_SDCM mediante Cromatografía Líquida Flash, utilizando el equipo Interchim Puriflash 5.150 con una columna de 50 cm de longitud rellena con resina Bio-Beads SX3 (BioRad) y equilibrada en diclorometano (DCM). De esta manera se logró separar la fracción SA_SDCM del bio-oil en 3 subfracciones: (i) compuestos con PM del orden de trímeros, (ii)

compuestos con PM del orden de dímeros y (iii) monómeros [4]. Paralelamente, se analizó la fracción SA_SDCM mediante la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) para determinar los compuestos volátiles, que en su mayoría resultaron ser fenoles monoméricos [4].

Basado en el estudio anterior, se seleccionaron como patrones 10 de los compuestos fenólicos mayoritarios detectados por GC/MS (Tabla 1) para realizar pruebas iniciales de separación por polaridad.

Para la separación de los fenoles según su polaridad, fue necesario realizar un análisis de Cromatografía en Capa Fina (TLC) para determinar las mejores condiciones relativas a la combinación de disolventes y perfiles de gradiente de eluyente a utilizar en el equipo de Cromatografía Líquida Flash. Estas pruebas permitieron determinar los factores de retención (R_f) de cada uno de los compuestos patrón (Tabla 1), necesarios para establecer el posterior método de separación en la columna de sílice.

Teniendo en cuenta los resultados de los análisis de TLC, los compuestos fenólicos fueron divididos en dos grupos (A y P) según su R_f . Con esta clasificación, se prepararon dos mezclas de fenoles en DCM, cada una de ellas con los compuestos clasificados como A ó P, respectivamente. Cada una de estas mezclas se separó posteriormente en subfracciones de acuerdo con su polaridad mediante Cromatografía Líquida Flash en una columna de sílice, en la que se utilizó el gradiente de disolventes óptimo establecido en base los análisis de TLC. El método utilizado para la separación se obtuvo mediante el software *TLC to Flash & Prep*, que, en función de los disolventes y valores de R_f obtenidos, ofrece una curva de alimentación en volúmenes de columna o tiempo, aumentando la polaridad de la fase móvil progresivamente.

Las subfracciones fenólicas separadas de acuerdo con su polaridad se analizaron por GC/MS con la finalidad de identificar cada uno de los compuestos y corroborar que el orden de elución era el esperado según el análisis TLC y los valores de R_f obtenidos.

Resultados y discusión

En la Figura 1 se muestra la separación por Cromatografía Líquida Flash de la fracción SA_SDCM del bio-oil en las 3 subfracciones

mencionadas anteriormente de acuerdo con su tamaño molecular: $PM \approx$ trímeros, $PM \approx$ dímeros y monómeros. Específicamente, en la Figura 1 (a) se observan los picos de los cromatogramas correspondientes a los patrones elegidos para acotar el tiempo de elución en función del tamaño molecular y separar así el bio-oil en diferentes subfracciones. En la Figura 1 (b) se muestra el cromatograma y la separación de la fracción SA_SDCM del bio-oil según los tiempos de elución establecidos.

Por otro lado, mediante el análisis de TLC se seleccionó la mezcla de diclorometano-acetonitrilo en la proporción 98 wt.% DCM - 2 ACN wt.% como la más adecuada para la separación de los compuestos fenólicos elegidos como compuestos patrón, ya que es necesario utilizar un disolvente con cierta polaridad para lograr arrastrar los compuestos que podrían quedar retenidos en la columna de sílice, que también presenta cierta polaridad. La mayoría de los R_f obtenidos para los compuestos fenólicos con esta mezcla de disolventes se encontraban en el intervalo óptimo para la posterior separación en columna ($R_f=0.08-0.4$) (Tabla 1)(Figura 2).

Respecto a la separación por polaridad de las mezclas A y P en la columna de sílice, en la Figura 3 (a) se puede observar la separación de los compuestos fenólicos pertenecientes al grupo P en 5 subfracciones (P1, P2, P3, P4, P5). Según el análisis GC/MS de estas subfracciones se pudo identificar que P1 corresponde al compuesto fenol, P2 a 3-metilcatecol, P3 a catecol, P4 a vanilina y P5 al apocinina. El orden de elución de estos compuestos no fue el esperado de acuerdo con sus valores de R_f , lo que indica la existencia de alguna posible interacción entre ellos que afecta al proceso de separación. La separación de los compuestos fenólicos pertenecientes al grupo A se muestra en la Figura 3 (b), y se puede observar una clara separación en 2 subfracciones (A1 y A2). Tras la caracterización GC/MS, se identificó que la fracción A1 contiene los compuestos derivados del guaiacol (guaiacol, 5-metilguaiacol y eugenol), mientras que A2 contiene p-cresol y 3-etilfenol. En este caso, el orden de elución de los compuestos sí que fue el esperado de acuerdo con los valores de R_f obtenidos.

Se concluye, por tanto, que el método seleccionado con la mezcla de disolventes diclorometano-acetonitrilo (98-2 wt.%) es adecuado para separar individualmente los compuestos de menor R_f agrupados en la mezcla P. En el caso de la mezcla A

de fenoles, se ha conseguido separar en dos subfracciones, una que contiene el grupo metoxi (A1) y otra que no lo contiene (A2).

Conclusiones

El estudio realizado contribuye al conocimiento científico sobre el fraccionamiento y separación de compuestos presentes en el bio-oil, así como a la comprensión de las propiedades y aplicaciones de las fracciones resultantes. Además, los resultados obtenidos podrían tener implicaciones importantes en el desarrollo de nuevos materiales y productos químicos derivados de fuentes renovables, promoviendo la sostenibilidad y la reducción del impacto ambiental en determinadas áreas de la industria química.

REFERENCIAS

- [1]. MANRIQUE, R., TERREL, E., KOSTETSKYY, P., CHEJNE, F., OLARTE, M., BROADBELT, L. and GARCIA-PEREZ, M. Elucidating biomass-derived pyrolytic lignin structures from Demethylation reactions through density functional theory Calculations. *Energy Fuels*. 2023, 37, 5189–5205. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.2c04292>.
- [2]. FONTS, I., ATIENZA-MARTINEZ, M., CARSTENSEN, H. H., BENES, M., PIRES, A. P. P., GARCIA-PEREZ, M. and BILBAO, R. Thermodynamic and Physical Property Estimation of Compounds Derived from the Fast Pyrolysis of Lignocellulosic Materials. *Energy Fuels*. 2021, 35, 17114–17137. Available from: [doi:10.1021/acs.energyfuels.6b02950](https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.6b02950).
- [3]. STANKOVIKJ, F., MCDONALD, A. G., HELMS, G. L., OLARTE, M. V. and GARCIA-PEREZ, M. Characterization of the Water-Soluble Fraction of Woody Biomass Pyrolysis Oils. *Energy Fuels*. 2017, 31 (2), 1650–1664. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.1c01709>.
- [4]. LÁZARO GARCÍA, CRISTINA, “Desarrollo de aditivos para biocombustibles a partir de residuos lignocelulósicos.” Trabajo Fin de Grado 2022. Universidad de Zaragoza.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación recibida de la Agencia Estatal de Investigación (PID2020-114936RB-I00), así como del Gobierno de Aragón (Ref. T22_23R). A. Sabina agradece la ayuda FPI (PRE2021-097946) financiada por MCIN/AEI/FSE+.

FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1. Compuestos fenólicos utilizados y factores de retención (Rf) obtenidos en TLC con dos disolventes.

Grupo	Nº. Ref.	Compuesto	Rf DCM	Rf DCM-ACN (98-2 wt. %)
A	1	p-cresol	0.27	0.4
	4	Guaiacol	0.47	0.52
	5	Fenol, 3-etil	0.3	0.38
	11	Eugenol	0.54	0.54
	40	Guaiacol, 5-metil	0.42	0.56
P	3	Fenol	0.26	0.39
	7	Catecol	0.11	0.15
	13	Vanilina	0.2	0.27
	14	Apocinina	0.16	0.23
	35	Catecol, 3-metil	0.12	0.19

Figura 1. Cromatografía Líquida Flash: a) Separación de compuestos modelo con diferente PM para establecer intervalos de tiempos de elución; b) Separación de la fracción SA_SDCM del bio-oil en 3 subfracciones de diferente PM: PM≈trímeros, PM≈dímeros y monómeros.

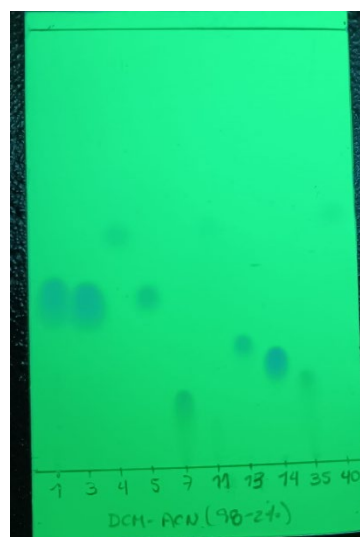


Figura 2. Placa de TLC con el análisis de los diferentes compuestos fenólicos y mezcla de disolventes diclorometano-acetonitrilo (98-2 wt. %).

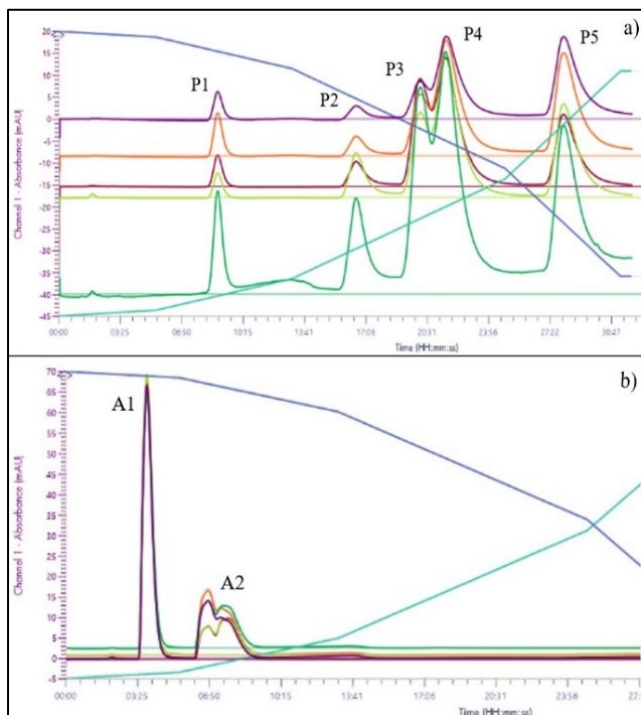


Figura 3. Cromatografía Líquida Flash: Separación de las mezclas de fenoles por polaridad: a) Grupo P de fenoles y b) Grupo A de fenoles.