

**ESTUDIO EXPERIMENTAL PARA LA DETERMINACIÓN DE UN PROTOCOLO
DE CARACTERIZACIÓN DE FRACCIONES DE BIO-OIL, UTILIZANDO UN
MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR SOLVENTES**

ANA MARÍA CORREDOR ALFONSO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍA FÍSICO-QUÍMICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES AMBIENTALES
BUCARAMANGA**

2012

**ESTUDIO EXPERIMENTAL PARA LA DETERMINACIÓN DE UN PROTOCOLO
DE CARACTERIZACIÓN DE FRACCIONES DE BIO-OIL, UTILIZANDO UN
MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR SOLVENTES**

ANA MARÍA CORREDOR ALFONSO

Trabajo de grado para optar al título de Ingeniera Química

Directora

**MARIA PAOLA MARADEI G.
INGENIERA QUÍMICA, Ph.D.**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍA FÍSICO-QUÍMICA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
CENTRO DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES AMBIENTALES
BUCARAMANGA**

2012

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad y la sabiduría de poder culminar esta etapa.

A la Doctora María Paola Maradei García por su asesoría y orientación, su valiosa colaboración fue fundamental para el desarrollo de este proyecto.

A mi familia por su respaldo incondicional, con lo cual he podido cumplir con la meta de obtener una carrera universitaria.

A Natalia Bedoya, química encargada del CILIQ y a Eduardo Carreño por su colaboración incondicional.

A la Universidad Industrial de Santander por brindar una formación integral.

Este logro alcanzado lo dedico a Dios,

A mis padres Fabio y Soraida, por su comprensión y amor, quienes siempre me orientan y apoyan en todos los sucesos de mi vida.

A mis hermanos, Fabio y Julián por su respaldo incondicional.

A mis abuelas, abuelos, tíos y a toda mi familia, por su grandioso amor y consejos, y por compartir esta alegría conmigo.

A mis amigos, siempre hay muchas cosas buenas que aportan en mi vida.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	13
2. METODOLOGÍA	18
2.1. Definición del sistema de extracción para separación del bio-oil por solubilidad. ...	18
2.2. Determinación de solventes para separación por polaridad del bio-oil por CCF ...	19
2.3. Determinación de volúmenes de solvente para separación por polaridad del bio-oil por cromatografía líquida extractiva	21
2.4. Determinación cualitativa de los compuestos presentes en cada corte de bio-oil obtenido	22
2.5. Verificación del protocolo	22
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	23
3.1. Definición del sistema de extracción para separación del bio-oil por solubilidad	24
3.2. Determinación de solventes para separación por polaridad del bio-oil por CCF	25
3.3. Determinación de volúmenes de solvente para separación por polaridad del bio-oil por cromatografía líquida extractiva, acoplado a CCF	29
3.4. Determinación cualitativa de los compuestos presentes en cada corte de bio-oil obtenido	30
3.5. Verificación del protocolo	31
4. CONCLUSIONES	43
5. BIBLIOGRAFÍA	44
6. ANEXOS	46

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Metodología utilizada durante el desarrollo del estudio	18
Figura 2. Protocolo de caracterización de bio-oil	23
Figura 3. Resultados de CCF usando solventes puros para la fase densa soluble en n-hexano	26
Figura 4. Desarrollo cromatográfico de la fase densa soluble en n-hexano utilizando mezcla de diclorometano – tolueno en proporción 20-80.....	28
Figura 5. Comportamiento de solventes puros en placas de CCF para la fase densa soluble en n-hexano de “m2”	33
Figura 6. Determinación para establecer similitud con columna líquida	34
Figura 7. Proceso para el desarrollo de placas en CCF.	47
Figura 8. Lista de solventes en orden ascendente a su polaridad.....	48
Figura 9. Montaje realizado de columna líquida.	52
Figura 10.Recolección de solventes en columna líquida.....	52

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Comparativo de cantidades másicas extraídas usando diferentes formas de extracción.	24
Tabla 2. Composición cualitativa determinada por GC/MS de la fase densa soluble en n-hexano de la muestra “m1”	32
Tablas 3. Cantidades fraccionadas por centrifugación para “m2” y “m3”	24
Tablas 4. Cantidades fraccionadas por extracción líquido-líquido para “m2” y “m3”	33
Tabla 5. Volúmenes de solventes utilizados en columna líquida para la fase densa soluble en n-hexano de m2 y m3	36
Tabla 6. Fracción eluida con n-hexano de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”	37
Tabla 7. Fracción eluida con tolueno de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”	38
Tabla 8. Fracción eluida con diclorometano de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”	38
Tabla 9. Fracción eluida con etil-acetato de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”	38
Tabla 10. Fracción eluida con metanol de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”	39
Tabla 11. Fracción eluida con n-hexano de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”	40
Tabla 12. Fracción eluida con tolueno de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”	41
Tabla 13. Fracción eluida con diclorometano de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”	41
Tabla 14. Fracciones eluidas con etil acetato de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”	42
Tabla 15. Fracciones eluidas con metanol de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”	42

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A: Fundamento de las técnicas cromatográficas.....	46
ANEXO B: Proceso para la realización de columna líquida.	51
ANEXO C. Cromatogramas de las fases extraídas de bio-oil	53

RESUMEN

TÍTULO: ESTUDIO EXPERIMENTAL PARA LA DETERMINACIÓN DE UN PROTOCOLO DE CARACTERIZACIÓN DE FRACCIONES DE BIO-OIL, UTILIZANDO UN MÉTODO DE EXTRACCIÓN POR SOLVENTES *¹

AUTOR: ANA MARÍA CORREDOR ALFONSO **

PALABRAS CLAVES: Bio-oil, Identificación cualitativa, cromatografía en capa fina, cromatografía en columna líquida, Análisis GC/MS.

DESCRIPCIÓN: Uno de los biocombustibles que presenta características atractivas para lograr una sustitución de combustibles fósiles es el bio-oil, el cual se puede obtener mediante pirólisis de biomasa residual. Esta mezcla hidrocarbonada líquida ha demostrado un alto poder calorífico revelado en diferentes estudios, además obtiene un menor contenido de compuestos azufrados lo que lo hace aún más interesante en cuanto a medio ambiente. Estudios han demostrado la importancia de su caracterización, esto con el fin de determinar las diferentes especies existentes en el bio-oil y así poder optimizarlas en el proceso de producción; se ha propuesto la utilización de cromatografía líquida para un fraccionamiento de bio-oil con posterior análisis de GC/MS. En este trabajo, muestras de bio-oil producidas en Colombia se han sometido a una separación de fases mediante centrifugación, obteniendo dos fases, ligera y densa denominadas así en este trabajo. Luego a una extracción líquido-líquido con n-hexano, fraccionando en compuestos solubles e insolubles, la parte soluble en hexano inicialmente fue sometida a análisis de Cromatografía en Capa Fina (CCF), seguido por el fraccionamiento de columna líquida y posterior análisis de GC/MS. Los resultados obtenidos en este estudio permiten establecer comparaciones con otros análisis, donde se observa en la fase densa la presencia de hidrocarburos saturados y compuestos aromáticos. El estudio se ha centrado en la identificación de hidrocarburos saturados mediante el método de extracción propuesto, basándose en la hipótesis de que por la baja polaridad del n-hexano éste es soluble con compuestos alifáticos de polaridad similar. Por otra parte la fase ligera presentó en su mayoría compuestos oxigenados, lo que permite concluir el éxito de su fraccionamiento.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ingenierías Físico-químicas. Escuela de Ingeniería Química. Directora: María Paola Maradei García

ABSTRACT

TITLE: EXPERIMENTAL STUDY FOR THE DETERMINATION OF A PROTOCOL FOR CHARACTERIZATION OF FRACTIONS OF BIO-OIL EXTRACTION USING A SOLVENT.²

AUTHOR: ANA MARÍA CORREDOR ALFONSO

KEYWORDS: Bio-oil, Qualitative identification, thin layer chromatography, liquid column chromatography, GC / MS.

DESCRIPTION: One of the biofuels which has attractive features to achieve a substitution of fossil fuels is bio-oil, which can be obtained by pyrolysis of biomass waste. This liquid hydrocarbon mixture has shown a high calorific value shown in several studies; moreover it obtains a lower content of sulfur compounds which makes it even more interesting in terms of environment. Studies have shown the importance of characterization, this in order to determine the different species in the bio-oil so we can optimize the production process, It has been proposed by using liquid chromatography for fractionation of bio-oil with further analysis of GC / MS. In this work, samples of bio-oil produced in Colombia have been subjected to phase separation by centrifugation, obtaining two phases, light and heavy labeled as such in this work. Then a liquid-liquid extraction with n-hexane, fractionating into soluble and insoluble compounds, the hexane soluble portion was initially subjected to analysis Thin Layer Chromatography (TLC), followed by fractionation and subsequent liquid column GC analysis / MS. The results obtained in this study allow comparisons with other analyzes, showing the dense phase in the presence of saturated hydrocarbons and aromatic compounds. The study has been focused on identification of saturated hydrocarbons by the extraction method proposed, based on the assumption that the low polarity of n-hexane it is soluble in aliphatic compounds of similar polarity. Moreover the light phase introduced mostly oxygenates compounds, allowing successful completion of the fractionation.

*Work degree

** Faculty of Engineering physico-chemical. School of Chemical Engineering. Director: María Paola Maradei García

1. INTRODUCCIÓN

La demanda creciente de energía, satisfecha en gran medida por fuentes fósiles cada vez menores, que se acompaña del aumento de la temperatura terrestre y de la acumulación de gases a efecto invernadero como el CO₂, han permitido dar un vuelco al pensamiento social y económico mundial alrededor de este tema. De hecho la búsqueda de recursos energéticos de fuentes renovables es actualmente una de las inquietudes principales en una gran mayoría de países del mundo, donde se intenta básicamente explorar nuevas fuentes que permitan tanto la disminución de emisiones de gases nocivos al medio ambiente como la independencia energética y, en consecuencia, económica.

La producción de bio-oil a partir de residuos agrícolas lignocelulósicos es una opción atractiva, ya que se permite la valoración económica de material de desecho como materia prima del proceso. El bio-oil es el resultado de la rápida descomposición térmica de estos residuos en atmósfera inerte [1, 2, 3, 4], lo cual ofrece ventajas como lo es el alto poder calorífico de este producto así como su fácil almacenamiento y transporte. Además de ello no compite con fuentes alimenticias y proporciona la posibilidad de utilización como combustible en mezcla con cortes de petróleo en procesos de producción energéticas como calderas [5].

El bio-oil está compuesto de agua y componentes orgánicos y polares, donde se distinguen principalmente, aromáticos, parafinas de alto número de carbonos, ácidos orgánicos, alcoholes, fenoles, aldehídos y cetonas [6, 7]. Debido a la no miscibilidad de muchos de estos compuestos entre ellos, el bio-oil se fracciona en

dos fases que llegan a ser observables fácilmente pasado un tiempo de almacenamiento [8, 9, 10].

La caracterización de bio-oil se convierte en una clave fundamental en el proceso de transformación de biomasa, por esta razón, el conocimiento de su composición permite controlar de una mejor manera este proceso, como lo es poder maximizar el rendimiento de las especies que pueden ser utilizadas en reemplazo de combustibles fósiles. De igual manera determinar de qué forma afecta la composición de biomasa en la generada en el bio-oil.

La mayoría de los trabajos presentados en la literatura hacen análisis de alquitranes una vez estos son condensados a la salida del reactor por medio de un sistema de enfriamiento a temperaturas bajo cero. El trabajo de García *et al.*[11] analiza los gases no condensables por simple cromatografía en línea y los condensables son tratados en un roto-evaporador para remover los compuestos ligeros y el agua, y producir bio-oil (residuo de la evaporación). Una vez el bio-oil obtenido éste fue separado en fracciones, como en el caso del estudio de Sub Ku *et al.* [12] y cada fracción analizada utilizando un GC-SM. Estos últimos fueron más lejos puesto que la parte soluble en metanol fue analizada por HPLC y los insolubles en metano y éter por FT-IR. Otros trabajos sobre pirólisis muestran la dificultad del análisis de los productos, es el caso de Guo *et al.* [13] quienes realizan una destilación molecular para dividir el alquitrán producido en varias fracciones analizadas por GC-SM.

En el proceso de fraccionamiento de bio-oil se recurre a la utilización de cromatografía líquida y análisis GC/MS, Ertas *et al.* [8] utilizan como solventes n-pentano, tolueno y metanol, para obtener alifáticos, aromáticos y fracciones

polares, respectivamente. García *et al.*[11] utilizan la rotoevaporación para eliminar componentes ligeros y alguna parte de agua denominándolo fase acuosa, y así poder concentrar lo más posible el bio-oil proveniente de la pirólisis; una muestra de bio-oil se extrajo sucesivamente con n-pentano, benceno, diclorometano, etil acetato y metanol, estas fracciones se analizaron en GC/MS, donde se visualizó que el bio-oil es menos soluble en hidrocarburos alifáticos (fracción extraída con pentano), que en hidrocarburos aromáticos (fracción extraída con benceno).

Por otra parte, se determinó que la fase acuosa es rica en ácidos y componentes de bajo peso molecular. Otro trabajo de García *et al.* [6] agrupó los componentes del bio-oil en familias, el proceso de fraccionamiento proporcionó 6 subfracciones de bio-oil en las cuales, por medio de análisis GC/MS se identificaron componentes volátiles no polares, componentes polares volátiles, monolignoles, componentes volátiles con polaridad moderada, azúcares, componentes pesados no polares y pesados polares.

De una forma similar Rui Lu *et al.*[14], al obtener el bio-oil a partir de pirólisis de cascarilla de arroz lograron identificar compuestos de diferentes cortes de bio-oil después de la remoción del agua y por medio de diferentes principios de extracción como son, la polaridad y sus características básicas o ácidas, análisis infrarrojo y GC/MS. Ellos encontraron la presencia de componentes aromáticos, ácidos, fracciones polares y no polares en menor proporción, concluyendo que los compuestos principales y los grupos funcionales encontrados por cortes dependen fuertemente de los métodos de fraccionamiento.

Una caracterización más completa del bio-oil es planteada por Onay [3], quien determinó propiedades físicas como densidad, viscosidad y punto de inflamación. De igual manera, realizó un análisis elemental así como la determinación del poder calorífico. Recurrió a la utilización de extracción con n-pentano, separando el aceite en dos fracciones, soluble e insoluble en el solvente, la parte soluble se llevó a fraccionamiento por columna líquida, eluyendo sucesivamente con n-pentano, tolueno y metanol, para separar alifáticos, aromáticos y fracciones polares, respectivamente. El análisis infrarrojo se utilizó para determinar la eficacia de la separación. El resultado de la columna líquida muestra una mezcla de polares, aromáticos y parafínicos. La fracción de n-pentano consiste en alcanos, alquenos e hidrocarburos ramificados, la fracción de tolueno tiene presencia de ácidos.

A partir de la información proporcionada de la búsqueda en la literatura disponible, se plantea una estrategia de fraccionamiento de las muestras de bio-oil para lograr la identificación de compuestos. Se trabajará sistemas de extracción líquida, seguido con cromatografía en capa fina (CCF) acoplado a columna extractiva líquida, y análisis GC/MS.

La técnica de extracción líquida se realiza con el fin de separar componentes de una mezcla puesta en contacto con otra fase [15], con esto se logra una separación de compuestos solubles e insolubles en determinado solvente. El uso de la técnica de CCF demuestra su importancia a la hora de analizar la presencia de diferentes tipos de polaridades de compuestos presentes en una determinada sustancia. El principio para la separación es la polaridad de cada fase, móvil (solventes) y estacionaria o fase fija; existen diferentes clases de fase estacionaria en las cuales varía esta propiedad. Esta práctica proporciona información sobre el comportamiento de los solventes en determinada fase fija, de ahí la escogencia de

usar mezclas o solventes puros para realizar la separación de compuestos ya sea para su identificación analítica o para su cuantificación [16].

El análisis de esta técnica acoplada al desarrollo de cromatografía de columna líquida o extractiva permite llevar a cabo lo que sucede en las cromatogramas de CCF, aquí se procede al empaquetamiento de la columna con la misma fase estacionaria y se utilizan los solventes previamente determinados por CCF. La recolección de cada solvente después de su paso por la columna permite obtener diferentes fracciones, las cuales son analizadas en la técnica de GC/MS, ésta es usada para la identificación de sustancias, su mecánica es separar los componentes de muestras y proporcionar un espectro característico para cada uno que permita identificarlos [17]. En el anexo A se encuentra el fundamento de las técnicas de cromatografía usadas.

El propósito del presente trabajo es definir los protocolos de cromatografía necesarios para la identificación de las especies presentes en muestras de bio-oil. Las muestras utilizadas proceden de la unidad de viscoreducción del Instituto Colombiano del Petróleo, producidas a partir de pirólisis de biomasa residual.

2. METODOLOGÍA

En este capítulo se da a conocer la forma en la que se trabajó para lograr los objetivos propuestos, que corresponden a la búsqueda, por medio de técnicas cromatográficas, de un protocolo que permita identificar los principales compuestos presentes en el bio-oil. En la Figura 1 se presentan las etapas secuenciales del procedimiento llevado a cabo.



Figura 1. Metodología utilizada durante el desarrollo del estudio

2.1. Definición del sistema de extracción para separación del bio-oil por solubilidad.

Las muestras de bio-oil fueron generadas por el Instituto Colombiano de Petróleo y provienen de la pirólisis intermedia de raquis de palma realizada en la unidad de viscoreducción.

Centrifugación: Estas muestras presentan dos fases definidas e identificadas visualmente por tanto, se decidió realizar una centrifugación de cada muestra para separar dos fases que se llamarán en este estudio: fase ligera y fase densa. Se utilizó para ello una centrífuga marca Hettich Zentrifugen, cada muestra fue mantenida durante 45 minutos a 7000 rpm. Una vez realizada la separación de fase se procedió a la extracción.

Extracción líquida: cada fase procedente de la centrifugación fue fraccionada por medio de extracción líquido-líquido con n-hexano al 99,6%vol de pureza en agitación durante 5 horas, posterior a una precipitación aproximadamente por una hora se separan la fase soluble en n-hexano de la insoluble. El n-hexano fue seleccionado de acuerdo con otros procedimientos reportados en la literatura [3,5,8]. Se realizaron dos formas de extracción, la primera fue la opción de agregar el solvente a la muestra de bio-oil y proceder a agitar, la segunda basándose en el trabajo de García *et al.* [6], fue la de agregar el solvente gota a gota durante su agitación.

Concentración de muestras: la fracción soluble en n-hexano fue dispuesta en un rotoevaporador marca Büchi R-200, a 200 rpm. Las condiciones de temperatura y presión fueron escogidas de acuerdo con la temperatura de evaporación de cada solvente a las condiciones de vacío del equipo.

2.2. Determinación de solventes para separación por polaridad del bio-oil por CCF

Después de obtener la muestra concentrada se realizaron pruebas con solventes en calidad analítica (n-hexano, tolueno, diclorometano, etil acetato y metanol),

utilizando CCF con placas de aluminio (marca Merck), donde la fase estacionaria es la sílica gel. Se utilizó tanto los solventes puros como en mezcla teniendo en cuenta sus polaridades [16] y buscando una separación adecuada de los compuestos del bio-oil en las placas.

Para poder tener una idea del comportamiento de los solventes puros en CCF, se utilizó el método de anillos concéntricos, este consiste en aplicar la mezcla en varias manchas separadas entre sí de 2cm en una placa de CCF de 2x10cm con sílica gel como fase estacionaria, el solvente se absorbe por capilaridad con una micropipeta y se toca ligeramente en una de las manchas, y así con los demás solventes este se extiende hacia afuera, y por lo tanto los compuestos también se mueven formando círculos concéntricos alrededor de la mancha, a partir de estos se puede juzgar el comportamiento de los solventes en la sílica gel. Posteriormente, se procedió a realizar cromatogramas con dimensión de placas de 2x5cm. A diferencia de la anterior técnica la muestra se coloca en un extremo de la placa y el solvente asciende por capilaridad a través de ella, esto con el fin de corroborar lo visto en la técnica de anillos concéntricos.

Se tuvo en cuenta la posibilidad de realizar mezclas de solventes, para poder diferenciar su comportamiento en la utilización de solventes puros. Esto se realizó como ensayos de prueba y error, donde se determinaba una mezcla a usar y las diferentes proporciones, las mezclas usadas fueron Hexano-Tolueno, Etil Acetato-Tolueno, Hexano-Diclorometano, Hexano-Metanol, Metanol-Tolueno, Tolueno-Diclorometano, en proporciones de 20-80, 50-50 y 80-20. La revelación de las placas fue realizada utilizando una lámpara UV (Merck, 254nm), sin embargo se utilizó igualmente vapor de yodo con el fin de visualizar compuestos que no pueden ser detectados en luz UV, como por ejemplo los alcanos.

2.3. Determinación de volúmenes de solvente para separación por polaridad del bio-oil por cromatografía líquida extractiva

Después de determinar el recorrido de la muestra con utilización de diferentes solventes o mezcla de ellos en las placas de CCF, se procede a la cromatografía líquida extractiva para realizar la separación. Las pruebas fueron realizadas en una columna de vidrio de 1cm de diámetro y 16cm de alto, la cual fue empacada con sílica gel activada durante 2 horas en un horno a 120°C y arena, esta última se utiliza para evitar la perturbación de la fase estacionaria una vez empacada, lo cual es fundamental tener en cuenta porque esto alteraría los resultados. En Anexo B se explica la secuencia para realizar la columna líquida.

En el desarrollo de la columna se determina la cantidad de solvente necesario para el subfraccionamiento, este procedimiento va acoplado al seguimiento con placas de CCF; la forma de lograr este acoplo es ir recolectando el volumen de solventes en diferentes tubos de ensayo, aproximadamente 5 a 10ml. Cada una de las muestras recolectadas en los tubos es sometida a CCF de forma inmediata. Esto proporcionará información sobre la presencia de compuestos a la hora de revelarlos con luz UV o con vapor yodo y de esta manera poder establecer el uso de un nuevo solvente.

Posterior a la obtención de fracciones en columna líquida se procede a rotoevaporar con el fin de eliminar la mayor cantidad de los solventes y así poder concentrar los compuestos que se hayan podido extraer con cada uno.

2.4. Determinación cualitativa de los compuestos presentes en cada corte de bio-oil obtenido

Las subfracciones así obtenidas fueron analizadas por GC/MS Agilent Technologies (columna HP-5MS 29,5mx250µmx0,25µm). El protocolo de análisis es el siguiente: temperatura inyector 270°C, flujo de purga 3ml/min, modo Split 100:1, flujo constante 0,87477 con helio como gas de arrastre, rampa de calentamiento 50°C durante 2 min, luego con 5°C/min se calentó hasta 290°C por 2 minutos, temperatura del detector 270°C.

2.5. Verificación del protocolo

Una vez definido el protocolo con los procedimientos anteriormente mencionados fue aplicado a otra muestra de raquis de palma diferente a las usadas durante la definición del protocolo. En esta parte del estudio, se desea constatar la reproducción del protocolo o identificar los posibles factores que puedan generar diferencias en los resultados.

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

El protocolo propuesto se aplicó en primera instancia a la fase densa soluble en n-hexano. Se tomó esta fase por ser considerada como aquella que contiene la mayor cantidad de componentes hidrocarbonados, y por ende, menor cantidad de compuestos polares. Esto es basándose en la hipótesis que la fase ligera contiene la mayor parte de agua, resultado de la reacción de pirólisis, y en consecuencia debe llevar consigo, la mayoría de compuestos que le son solubles (principalmente polares). Esta hipótesis tiene su fundamento en los datos obtenidos en la literatura; Boateng *et al* [19] analizaron fracciones solubles e insolubles en agua, y reportaron la presencia de alcoholes, aldehídos y cetonas en la parte soluble en agua. Igualmente, Bridgwater [20] afirma que gran parte del bio-oil es soluble en agua, siendo ésta compuesta mayoritariamente por componentes oxigenados.

La Figura 2 permite ilustrar el procedimiento que se definió para el tratamiento de las muestras de raquis de palma.

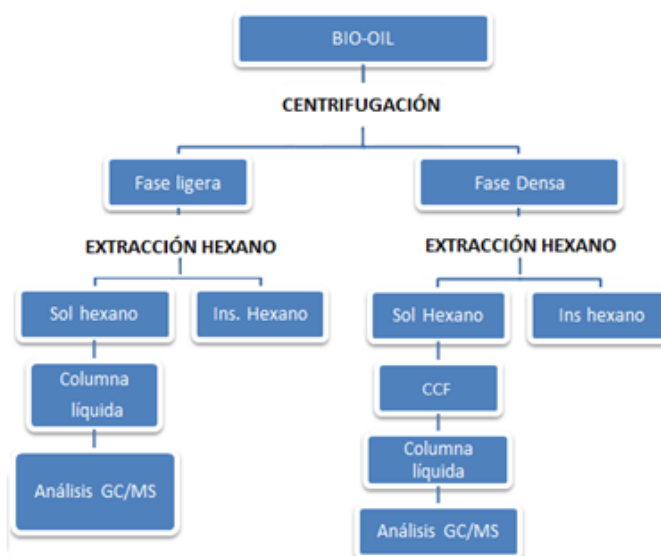


Figura 2. Protocolo de caracterización de bio-oil

En primera instancia solo se aplicó columna líquida para la fase densa, esto con el fin de establecer el protocolo, posteriormente esta se realizó para las fases ligeras de las muestras utilizadas para la validación.

3.1. Definición del sistema de extracción para separación del bio-oil por solubilidad

En este trabajo se establecieron dos formas de extracción en cuanto a la manera de agregar el solvente en la mezcla y la necesidad de agitación. Para este ensayo se utilizó una muestra de bio-oil de raquis de palma generada por el ICP que solo fue utilizada para esta parte del protocolo ya que la cantidad no era suficiente para realizar las otras etapas definidas en la Figura 2. La Tabla 1 presenta un comparativo de los dos procedimientos en donde se observa claramente que las dos formas permiten la obtención de cantidades muy similares de compuestos solubles en el solvente utilizado.

Tabla 1. Comparativo de cantidades máxicas extraídas usando diferentes formas de extracción.

Adición del solvente con posterior agitación	91,24%p
Solvente gota a gota, durante su agitación	90,33%p

Por consiguiente, se fija dentro del protocolo, el uso de extracción por adición y posterior agitación y se descarta la posibilidad de agregar el n-hexano gota a gota durante su agitación ya que su realización presenta mayor dificultad debido a la tendencia de evaporación del hexano durante el proceso y los rendimientos encontrados no demuestran ser mejores. La muestra de bio-oil que permitió la determinación de resultados parciales en la construcción del protocolo es denominada en este documento como “m1” y corresponde a una muestra de 4g de bio-oil proveniente de la pirólisis intermedia de raquis de palma.

Inicialmente, la muestra “m1” fue centrifugada como es indicado en la metodología expuesta anteriormente. Los porcentajes en peso de la fase ligera y densa, respectivamente, fueron: 90,3% y 9,7%.

Una vez realizada la centrifugación, se procedió a realizar la extracción líquido-líquido según el protocolo. En la separación de las fracciones de bio-oil se escogió n-hexano para obtener compuestos solubles e insolubles en este solvente. Trabajos reportados en la literatura hacen uso de solventes no polares como n-hexano o n-pentano para extraer la parte de hidrocarburos alifáticos presentes en una mezcla, es el caso de trabajos como el de Mohan *et al.* [5], Onay [3] y Ertas *et al.* [14] quienes subdividen el bio-oil en fracciones usando n-pentano. El porcentaje de **fracción soluble en hexano de la fase densa** obtenida para la muestra “m1” fue de 31%p. Adicionalmente, y según el protocolo (cf. Figura 2), se realizó igualmente una extracción líquido-líquido **a la fase ligera** obteniéndose 86,15%p de fracción soluble. Estas fracciones se disponen a rotoevaporar para la respectiva eliminación de solvente.

3.2. Determinación de solventes para separación por polaridad del bio-oil por CCF

Debido a que la utilización de la técnica en CCF no está reportada en la literatura se realizaron varios procedimientos por prueba y error para la determinación de los solventes o mezcla de ellos que permitieran la separación por polaridad de los componentes del bio-oil. Con base en la teoría de esta técnica se fundamentó que el principio de adsorción es el mismo que el presentado en la cromatografía de columna líquida, el cual es utilizado en el proceso de fraccionamiento de bio-oil en diferentes trabajos [16], por esta razón se ha determinado realizar pruebas que

pueden proporcionar información del comportamiento del bio-oil en la sílica gel antes de extraer por columna.

Inicialmente la muestra "m1" fue analizada por CCF usando la metodología de anillos concéntricos. El comportamiento de la muestra usando diferentes solventes es claramente dependiente de la polaridad de los compuestos que lo componen. Al usar un solvente no polar se observa la fijación de la muestra en la sílica gel, manteniéndose el punto inicial aplicado y no presentando arrastre alguno de sus componentes; esto señala alta polaridad de la muestra. Por el contrario, la realización de círculos concéntricos alrededor del punto donde se aplicó la muestra indica que hay compuestos con menor polaridad.

La Figura 3 presenta el estudio experimental realizado sobre una placa CCF de sílica gel en donde se aplicó la muestra que corresponde a la **fracción soluble en n-hexano de la fase densa** en 5 puntos diferentes donde, sobre cada una, se adicionó un solvente, los cuales fueron en orden de izquierda a derecha: n-hexano (H), tolueno (T), diclorometano (D), Etil Acetato (EA) y metanol (M).



Figura 3. Resultados de CCF usando solventes puros para la fase densa soluble en n-hexano

Se aprecia que la utilización de n-hexano como solvente permite la migración de algunos compuestos generándose un círculo difuso con respecto al centro de la

mancha donde parece concentrarse la mayor cantidad de componentes. El tolueno permite diferenciar dos círculos permitiendo presumir que se alcanza una mejor separación que la obtenida con n-hexano.

Por su lado, el diclorometano muestra un arrastre “homogéneo” de la muestra y los dos solventes más polares, el etil acetato y metanol, se encargan de arrastrar todos los componentes formando círculos claramente identificados desplazando completamente toda la muestra lejos del centro. Esto permite suponer que aunque existe presencia de compuestos no polares (arrastrados por n-hexano), estos están en más baja concentración que los compuestos polares (arrastrados por el metanol).

Además se concluye que el uso de solventes puros no permite la separación completa de la muestra. Con esta información preliminar se desarrollaron cromatogramas de CCF de dimensiones de 2x5 cm, esto es para determinar el camino realizado por los componentes y asimilar lo que podría ocurrir en el desarrollo de la columna líquida.

En primer lugar se tomó la **fracción soluble en n-hexano de la fase densa de la muestra “m1”** para poder determinar la mezcla de solventes que pueda permitir una mejor separación de los componentes presentes en la fracción estudiada. Luego de probar varias mezclas en diferentes proporciones se ha determinado como la mejor separación de la muestra, la obtenida usando diclorometano-tolueno en proporción en volumen de 20-80, como se observa en la Figura 4.

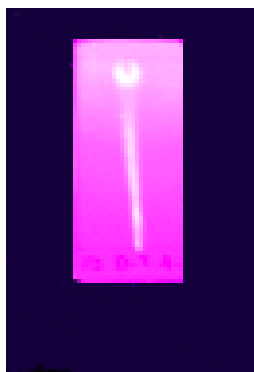


Figura 4. Desarrollo cromatográfico de la fase densa soluble en n-hexano utilizando mezcla de diclorometano – tolueno en proporción 20-80

La técnica de CCF es bastante usada para la separación de compuestos en mezclas. Sin embargo, como el bio-oil es una mezcla de cientos de componentes es de notar que la mezcla de diclorometano-tolueno (20-80) que mostró la mejor separación sobre todos ensayos realizados, no muestra una separación completa de la muestra. De hecho, como se observa en la Figura 4, la mezcla diclorometano-tolueno produjo un arrastre a lo largo de la placa pero no una separación en diferentes fracciones como se esperaba.

Dos aspectos importantes visualizados durante el desarrollo de los procedimientos en CCF son: el uso de vapor de yodo y la concentración de la muestra a usar en las placas. En cuanto al uso de vapor de yodo, aún presentando propiedades como revelador, no mostró un resultado diferente a lo visualizado con luz UV, según la literatura se esperaba visualizar compuestos como los hidrocarburos saturados, lo cual no fue así.

Sin embargo, a la hora de analizar las fracciones obtenidas por columna extractiva, la cromatografía GC/MS permitió identificar alcanos (ver el capítulo de resultados y análisis de resultados más adelante). Puede ser que debido a que se

encuentran en muy bajas concentraciones aumentando la dificultad de una posible visualización con vapor de yodo en las placas de CCF.

Por su parte, se pudo notar que la alta concentración de compuestos afecta de forma negativa el desarrollo de las placas, es decir, se saturan y no se permite ninguna visualización de recorrido, para evitar esto se recurrió a la dilución de la muestra con el fin de disminuir la concentración para no saturar el la sílica gel. La dilución fue realizada con n-hexano, solvente usado para la extracción líquido-líquido.

3.3. Determinación de volúmenes de solvente para separación por polaridad del bio-oil por cromatografía líquida extractiva, acoplado a CCF.

Tomando como base la mezcla de solventes definida por CCF y el comportamiento con la utilización de solventes puros, se procedió a realizar pruebas en cromatografía líquida extractiva.

Se dispuso de un volumen de mezcla diclorometano-tolueno en la proporción encontrada, el cual se fue agregando poco a poco en la columna, este se iba recogiendo al final en tubos de ensayo cada 10ml, cada volumen se va analizando en CCF, con esto se va observando la aparición de compuestos, en el momento en que se dejó de observar la presencia de los primeros compuestos, identificados anteriormente en CCF se detuvo la adición de la mezcla a la columna determinándose que el volumen total necesario es de 250ml.

Finalmente, la columna fue lavada con 30 ml de metanol. Cada subfracción (diclorometano-tolueno y metanol) fue recogida en tubos y se llevó a rotoevaporación.

3.4. Determinación cualitativa de los compuestos presentes en cada corte de bio-oil obtenido

Una vez obtenidas las muestras concentradas se procede al análisis GC/MS, para determinar los compuestos presentes. Para el análisis cualitativo de los compuestos se hicieron coincidir los espectros de masa en forma manual con los presentados en la base de datos del equipo (Wiley Registry of Mass Spectral Data) así como la base de datos NIST [21] disponible por internet. Igualmente se compararon tiempos de retención con compuestos estándar disponibles en la base de datos del equipo (Wiley Registry of Mass Spectral Data) para poder garantizar la calidad de la identificación. De igual forma se ha recurrido a la utilización de patrones con lo cual se pudo determinar el tiempo de retención para ciertas sustancias. En el anexo C se encuentran los cromatogramas de las diferentes fases.

Los componentes de las subfracciones de la **fase densa soluble en n-hexano** obtenidas por extracción de columna líquida, los cuales son de la mezcla de diclorometano-tolueno y metanol, se presentan en la Tabla 2. Además se muestran los resultados de la parte **soluble en hexano de la fase ligera**, obtenida en la centrifugación.

El estudio muestra que la fase densa de “m1” soluble en n-hexano está compuesta de hidrocarburos, principalmente, cíclicos y alcanos. Por su parte, el análisis en GC/MS de la fase ligera, sin fraccionamiento por cromatografía extractiva, mostró compuestos oxigenados como fenoles y cetonas, principalmente, y alcanos de mayor número de carbonos.

3.5. Verificación del protocolo

El procedimiento establecido usando la muestra “m1” no es del todo satisfactorio puesto que la separación de compuestos no fue completa utilizando la mezcla Diclorometano-Tolueno por lo que se propone buscar otra alternativa que permita obtener más subfracciones del bio-oil para su mejor separación.

Se recurre a la utilización de dos muestras diferentes a “m1”, con las cuales se ha de verificar el protocolo, estas son “m2” y “m3”, obtenidas en condiciones de operación de pirólisis diferentes según lo indicado por el ICP. Sin embargo, las especificaciones de las condiciones de operación no fueron entregadas por la entidad por considerarlas confidenciales.

Los pesos correspondientes a las mezclas son 5,2g y 10,165g. Los porcentajes de centrifugación y extracción de “m2” y “m3” se muestran en las tablas 3 y 4.

Tabla 2. Composición cualitativa determinada por GC/MS de la fase densa soluble en n-hexano de la muestra "m1"

Compuestos	Ext. D-T	Metanol	Fase ligera
1-Metil-2-metilene ciclohexano	x	x	
Etil ciclohexano	x	x	
1,1,3-ciclohexano	x		
Etilbenceno	x	x	
Ácido-1,2-Bencenedicarboxílico	x	x	X
Dodecano	x	x	X
Pentadecano	x	x	X
Hexadecano	x	x	
Etilciclohepteno		x	
1,4-Dimetilbenceno		x	
Decano		x	
Undecano		x	
Heptadecano		x	X
Octadecano		x	
2-Metilpentano			X
3-Metilpentano			X
Ciclopentano			X
3-Metilhexano			X
Heptano			X
Octano			X
2-furanmetanol			X
2-metil-2-ciclopenteno-1-ona			X
1-(2-furanil)-etanona			X
2-furancarboxaldehído			X
Fenol			X
2-hidroxi-2-ciclopenteno-1-ona			X
2,3-dimetil-2-ciclopenteno-1-ona			X
2-metil-fenol			X
3-metil-fenol			X
2-metoxifenol			X
2-ciclopenteno-1-ona			X
2,4-dimetil-fenol			X
1-hidroxi-2-metoxi-4-metilbenceno			X
2-metoxi-benceneetanol			X
3-etil-fenol			X
4-etil-fenol			X
2,6-dimetoxi-fenol			X
Tetradecano			X
2-metoxi-4-(1-propenil)-fenol			X
2,6-dimetoxi-4-(2-propenil)-fenol			X
Octacosano			X
Tricosano			X
Tetracosano			X
8-hexil-pentadecano			X
Nonadecano			X
Eicosano			X

Analizando las proporciones obtenidas plasmadas en las Tablas 3 y 4, la muestra “m3” demuestra tener mayor fase acuosa con respecto a “m2”, de aquí se esperaría un posible cambio en cuanto a la cantidad de componentes oxigenados encontrados con respecto a “m2”. De igual manera al observar el porcentaje de extracción de solubles en hexano de “m3” es menor que “m2”, lo que apoyaría la hipótesis de que debe existir mayor presencia de compuestos polares en la muestra “m3”.

Tablas 3. Cantidades fraccionadas por centrifugación para “m2” y “m3”

CENTRIFUGACIÓN (%p)		
Muestra \ Fase	m2	m3
FASE LIGERA	84,43	92,1
FASE DENSA	15,57	7,9

Tablas 4. Cantidades fraccionadas por extracción líquido-líquido para “m2” y “m3”

Extracción Compuestos solubles en n-hexano (%p)		
Muestra \ Fase	m2	m3
FASE LIGERA	93,82	40,8
FASE DENSA	83,54	69,7

A partir de la información de la Figura 3 y los resultados obtenidos y presentados en la Figura 5 en cuanto a la separación no efectiva de los compuestos presentes en la muestra de bio-oil usando solventes puros, se propone un nuevo método de extracción con solventes. Este análisis proporciona información sobre el comportamiento de los componentes en columna líquida extractiva.



Figura 5. Comportamiento de solventes puros en placas de CCF para la fase densa soluble en n-hexano de “m2”

Como se había indicado anteriormente, a partir del análisis en CCF mostrado en la Figura 5, la **fase densa soluble en n-hexano** parece contener, aunque en baja concentración, componentes no polares, puesto que la placa que se trató con n-hexano muestra un muy ligero desplazamiento de componentes, manteniendo sin embargo, una mayor cantidad en el punto inicial de la placa ubicado en la parte inferior.

Teniendo presente que los ensayos realizados usando mezcla de solventes tampoco generaron una separación satisfactoria de compuestos (Ver Figura 4) se sugirió utilizar una misma placa en la cual se utilizarían cada uno de los solventes, adicionados uno a uno en orden de polaridad de menor a mayor. Esto con el fin de “simular”, por así decirlo, lo que ocurriría en el desarrollo de una columna líquida si esta se alimentara con solventes puros consecutivos, inspirándonos en la caracterización SARA para cortes de hidrocarburos pesados en la cual se obtiene la separación del crudo en cuatro clases químicas principales (Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos). Los resultados de esta prueba son mostrados en la Figura 6.

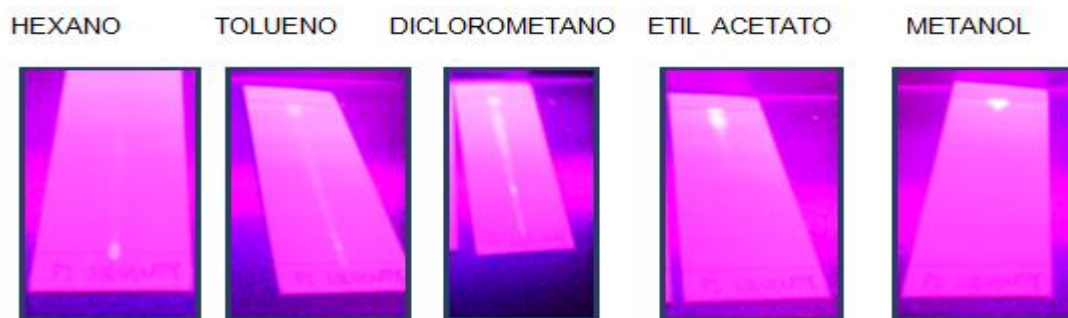


Figura 6. Determinación para establecer similitud con columna líquida

Como se puede observar la utilización de los solventes puros en orden ascendente a su polaridad ayudan a emigrar los compuestos con su paso por la placa, esto resulta ser más atractivo que solo limitarse a usar una mezcla de solventes y obtener una subfracción del bio-oil. Los compuestos se desplazan

desde abajo hasta arriba en la placa poco a poco, el n-hexano es el único que, aunque parece arrastrar compuestos, no logra llevarlos consigo hasta la parte superior de la placa.

Por el contrario, en el tolueno, se puede observar que existen algunos compuestos que logran llegar hasta la parte superior de la placa, junto con el solvente. A partir del etil acetato, se puede considerar que todos los compuestos fueron arrastrados hasta la parte superior de la placa. El metanol, por tanto puede servir como solvente de lavado de la columna para terminar de asegurar el desplazamiento de los compuestos que aún no lo han hecho, hasta la parte superior de la placa.

En vista de esto se decidió usar para la extracción en columna, de las **fases densas solubles en n-hexano** de “m2” y “m3”, solventes puros que serían agregados a la columna uno a uno en orden ascendente de acuerdo con su polaridad. La Tabla 5 presenta los volúmenes usados de solventes para cada.

La gran cantidad de hexano en “m2” se debe a que los compuestos no se visualizaban en la luz UV ni en el vapor de yodo. Esto va de la mano con lo observado por CCF (Figura 6) en donde no se apreciaba que el n-hexano fuera capaz de arrastrar compuestos hasta el final del proceso de extracción. Además, partiendo del hecho que esta fracción debe contener los hidrocarburos alifáticos es lógico pensar que el seguimiento por CCF no es posible ya que estos no presentan visibilidad en la región UV y tampoco con vapor de yodo.

Tabla 5. Volúmenes de solventes utilizados en columna líquida para la fase densa soluble en n-hexano de m2 y m3

Volumen de solvente (ml)		
Muestra \ Solvente	m2	m3
Hexano	450	100
Tolueno	24	100
Diclorometano	250	60
Etil acetato	30	20
Metanol	20	20

Para el desarrollo de la columna líquida extractiva en la muestra “m2” se utilizaron solventes puros y se evaluó el seguimiento simultáneamente con CCF, por esto se evidencia gran cantidad de hexano y diclorometano usados. Sin embargo, durante el desarrollo del protocolo con solventes puros, se detectó una variable en el desarrollo de las columnas que es el cambio de coloración del bio-oil a través de éstas.

La muestra de bio-oil presenta su color característico que es café, dependiendo de la concentración de éste en el desarrollo de la columna, su tonalidad será diferente, al cambiar el solvente se presenta un cambio de color, de aquí se puede determinar visiblemente el uso de un nuevo solvente, las siguientes ilustraciones demuestran lo afirmado. Esto explica la diferencia de volúmenes usados de solventes puros con la muestra m3, donde se tuvo en cuenta esta variable. Sin descartar totalmente el uso de CCF en el acoplamiento de la columna ya que ésta reportó ventajas en la utilización de la mezcla diclorometano-tolueno, se resalta su importancia fundamental, la cual en la realización del protocolo ha sido su utilización a la hora de predecir el comportamiento en la columna líquida.

Las fracciones obtenidas de las **fases densas solubles en n-hexano** de “m2” y “m3” fueron analizadas posteriormente usando GC/MS. Los resultados se muestran en las tablas del 6 al 10.

En el análisis de la Tabla 6, aún con la diferencia de volúmenes usados de n-hexano en la columna líquida, se aprecia la extracción de los mismos compuestos en las dos muestras, los cuales comprenden alcanos y cicloalcanos. Esta diferencia se debe a que en “m2” se estaba buscando una visualización con CCF la cual no se pudo encontrar, por lo tanto los 100ml usados en “m3” fueron determinados debido a un cambio inicial de color en la sílica gel que permitió decidir el uso de un nuevo solvente.

CCF no aportó información en la toma de esta decisión. Los compuestos hallados con la técnica de extracción planteada usando n-hexano, son comparables con los reportados en la literatura, donde se ha utilizado n-pentano como forma de extracción [3,5,14].

Tabla 6. Fracción eluida con n-hexano de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”

HEXANO		
Muestra	m2	m3
Componentes		
2-metil pentano	X	X
3-metil pentano	X	X
Metil ciclopentano	X	X
3-metil hexano	X	X
Heptano	X	X
Octano	X	X

Tabla 7. Fracción eluida con tolueno de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”

TOLUENO		
Muestra	m2	m3
Componentes		
2-metil pentano	X	X
3-metil pentano	X	X
Metil ciclopentano	X	
2-Metil-metileneciclohexano	X	X
1,2-Dimetilciclohexano	X	
Etilciclohexano	X	X
Etilbenceno	X	X

Tabla 8. Fracción eluida con diclorometano de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”

DICLOROMETANO		
Muestra	m2	m3
Componentes		
Etilciclohexano	X	X
Ácido 1,2, bencenedicarboxílico	X	X

Tabla 9. Fracción eluida con etil-acetato de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”

ETIL ACETATO		
Muestra	m2	m3
Componentes		
Etanol	X	
Ácido-9-octadecanoico	X	
Metil éster ácido hexadecanoico	X	X
Metil éster-ácido-octadecenoico		X
Metil éster ácido octadecadienoico		X

Tabla 10. Fracción eluida con metanol de las fases densas solubles en n-hexano de “m2” y “m3”

METANOL		
Muestra	m2	m3
Componentes		
Ácido 1,2, bencenedicarboxílico	X	X
Ácido-9-octadecanoico	X	
Metil éster-ácido-9-octadecenoico		X

La fracción extraída con tolueno muestra la presencia de cicloalcanos y compuestos aromáticos en ambas muestras. De forma general, se observa una distribución en cada solvente, es decir, a medida que se cambia la fase móvil se obtienen diferentes compuestos, aunque algunos tienen repetición en las fracciones. Este tipo de extracción es llamativo a la hora de fraccionar el bio-oil. De hecho, se pudo comprobar que la utilización de diferentes solventes puros de forma consecutiva en el desarrollo de la columna líquida extractiva permite separar diferentes compuestos en función de sus polaridades.

El n-hexano extrae componentes menos polares de las muestras, posteriormente al aumentar la polaridad de solventes se han logrado extraer componentes de mayor polaridad.

Por otro lado, aunque en la determinación del protocolo no se usó la columna líquida para la **fase ligera**, esta se extrajo con el mismo procedimiento ya establecido para la fase densa en la verificación del protocolo, para comprobar la separación de compuestos no polares de los oxigenados presentes en esta fase.

A continuación se presentan los compuestos identificados por GC/MS en cada subfracción obtenida de la **fase ligera soluble en n-hexano** por medio de; columna líquida.

Tabla 11. Fracción eluida con n-hexano de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”

HEXANO		
Muestra	m2	m3
Componentes		
2-metil pentano	X	X
3-metil pentano	X	X
Metil ciclopentano	X	X
3-metil hexano	X	
Heptano	X	
Octano	X	

En general para las tres muestras, en **la fase ligera soluble en n-hexano** tienen presencia compuestos oxigenados e hidrocarburos en menor proporción. La hipótesis establecida con los datos reportados en las Tablas 3 y 4, donde se esperaba un mayor número de compuestos polares en “m3” con respecto a “m2” se confirma ya que “m3” está reportando demasiados compuestos oxigenados y pocos no polares. Esta afirmación puede ser justificable por las condiciones de operación de producción de bio-oil.

Tabla 12. Fracción eluida con tolueno de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”

TOLUENO		
Muestra	m2	m3
Componentes		
2-metil pentano	X	X
3-metil pentano	X	X
Metil ciclopentano	X	X
2-Metil-metileneciclohexano	X	
1,2-Dimetilciclohexano	X	
Etilciclohexano	X	X
Etilbenceno	X	X
2-metoxifenol		X
1-hidroxi-2-metoxi-4-metilbenceno		X
2-metoxi-4-vinilfenol		X
Metil-éster-ácido hexadecanoico		X
Metil éster ácido octadecenoico		X
Ácido-9-octadenoico		X
2-metoxi-bencene-etanol		X

Tabla 13. Fracción eluida con diclorometano de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”

DICLOROMETANO		
Muestra	m2	m3
Componentes		
3-metil pentano	X	
Etilbenceno	X	X
Fenol		X
2-metil-fenol		X
4-metil-fenol		X
4-etil-fenol		X

Tabla 14. Fracciones eluidas con etil acetato de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”

ETIL ACETATO		
Muestra	m2	m3
Componentes		
Ácido 1,2, bencenedicarboxílico	X	
Ácido-9,12-octadecanoico	X	X
Metil ester-ácido-9-octadecanoico	X	
2,6-dimetoxifenol	X	
Fenol	X	
2-metoxi-fenol	X	
Pentadecano	X	
Hexadecano	X	
1-ciclopenten-1-ona		X
2-furanmetanol	X	X
2-metil-2-ciclopenten-1-ona		X
2,5-dietoxitetrahidrofurano		X
2-hidroxi-3-metil-2-ciclopenten-1-ona		X
2,3-dimetil-2-ciclopenten-1-ona		X

Tabla 15. Fracciones eluidas con metanol de la fase ligera soluble en n-hexano para las muestras “m2” y “m3”

METANOL		
Muestra	m2	m3
Componentes		
Ácido 1,2, bencenedicarboxílico	X	X
2-metil-butanal	X	
Metil-éster-ácido-9-octadecenoico	X	
Ácido-9-octadecenoico	X	X
1-ciclopenten-1-ona		X
3-metil-2-ciclopenten-1-ona		X
Metil éster ácido- 9,12-octadecanoico		X

Los resultados encontrados con el protocolo usado coinciden con otros resultados reportados en la literatura [6,14], el análisis GC/MS de la fracción extraída con el solvente no polar como es el n-hexano reveló composiciones de alcanos, hidrocarburos ramificados, y con la utilización del solvente de mayor polaridad como son etil acetato y metanol se identificaron compuestos oxigenados.

4. CONCLUSIONES

Se logró un fraccionamiento en 5 cortes de bio-oil en función de la polaridad de las especies que lo componen, por medio de centrifugación seguida de extracción con n-hexano y columna líquida extractiva.

El bio-oil está compuesto mayoritariamente de compuestos oxigenados concentrados en su mayoría sobre la fase ligera. Por otra parte, el estudio muestra que la fase densa obtenida después de centrifugación está compuesta principalmente de compuestos hidrocarbonados solubles en hexano como hidrocarburos cíclicos y alcanos.

La separación de compuestos por medio de centrifugación ha permitido obtener las especies polares de forma separada de los hidrocarburos, presentes en la fase densa.

Se encontraron diferencias en proporción respecto a fases ligeras, "m3" reporta el contenido más alto (92,1%p), esta diferencia ha evidenciado mayor presencia de compuestos oxigenados en comparación con "m1" y "m2", los cuales reportaron porcentajes de 90,3%p y 84,43%p, respectivamente.

5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] ZANZI, Rolando; SJÖSTRÖM, Cristera y BJÖRNBOM, Emilia. "Rapid high-temperature pyrolysis of biomass in a free-fall reactor". *Fuel*, vol 75(5), 545-550 (1996)
- [2] ZANZI, Rolando; SJÖSTRÖM, Krister y BJÖRNBOM, Emilia. "Rapid pyrolysis of agricultural residues at high temperature". *Biomass and Bioenergy*, 23, 357-366 (2002)
- [3] ONAY, Ozlem. "Influence of pyrolysis temperature and heating rate on the production of bio-oil and char from safflower seed by pyrolysis, using a well-swept fixed-bed reactor". *Fuel processing technology*, vol 88, 523-531 (2007)
- [4] WIGGERS, V.R, *et al.* "Biofuels from continuous fast pyrolysis of soybean oil: A pilot plant study". *Bioresource technology*, vol 100, 6570-6577 (2009)
- [5] MOHAN, Dinesh; PITTMAN, Charles; STEELE, Philip. "Pyrolysis of wood/Biomass for Bio-oil: A critical review". *Energy & Fuels*, vol 20, 848-889 (2006)
- [6] GARCÍA PÉREZ, M *et al.* "Characterization of bio-oils in chemical families. *Biomass and Energy*, vol 31, 222-242 (2007)
- [7] MINKOVA, V *et al.* "Effect of water vapour and biomass nature on the yield and quality of the pyrolysis products from biomass". *Fuel processing technology*, vol 70, 53-61 (2001)
- [8] ERTAS, Murat; HAKKI, A. "Pyrolysis of laurel (*Laurus nobilis* L.) extraction residues in a fixed-bed reactor: Characterization of bio-oil and bio-char". *J.Anal. Appl. Pyrolysis*, vol 88, 22-29 (2010)
- [9] UZUN, Basak *et al.* "Synthetic fuel production from tea waste: Characterization of bio-oil and bio-char". *Fuel*, vol 89, 176-184 (2010)
- [10] BA, Tuya *et al.* "Colloidal properties of Bio-oils obtained by Vacuum pyrolysis of softwood Bark. Storage Stability". *Energy and Fuels*, vol 18, 188-201 (2004)

- [11] GARCÍA PÉREZ, Manuel *et al.* “Vacuum pyrolysis of sugarcane bagasse”. En: Journal of analytical and applied pyrolysis, vol 62, 111-136 (2002)
- [12] SUB KU, Chang; PHIL MUN, Sung. “Characterization of pyrolysis Tar Derived from lignocellulosic biomass”. J. Ind. Eng. Chem, vol 12 (6), 853-861 (2006)
- [13] XIUJUAN, Shurong *et al.* “Pyrolysis characteristics of bio-oil fractions separated by molecular distillation”. Applied Energy, vol 87(9), 2892-2898 (2010)
- [14] LU, Rui *et al.* “Fractional characterization of a bio-oil derived from rice husk”. Biomass and bioenergy, vol 35, 671-678 (2011)
- [15] GEANKOPLIS, Christie. Procesos de transporte y operaciones unitarias. Compañía editorial continental. 3a edición. Editorial CECSA, México 1998.
- [16] TOUCHSTONE, Joseph. Practice of thin layer chromatography. 3a Edition. Pennsylvania. Editor John Wiley & Sons, INC, New York, 1992. Pags. 4-12, 14-18.
- [17] DOUGLAS, Frederic. “GC/MS Analysis”. Disponible en: <<http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html>>, Fecha de consulta: Abril 2012.
- [18] MCNAIR, Harold; ESQUIVEL, Benjamin. “Cromatografía líquida de alta presión”. Editorial The general secretariat of the organization of American States Washington. USA. 1973. Págs., 2-9.
- [19] BOATENG, Akwasi *et al.* “Bench-Scale Fluidized-Bed pyrolysis of Switch grass for Bio-Oil production”. Ind. Eng. Chem, vol 46, 1891-1897 (2007)
- [20] BRIDWATER, A.V. “Review of fast pyrolysis of biomass and product upgrading”. Biomass and bioenergy, vol 38, 68-94 (2011)
- [21] NIST Chemistry WebBook. Disponible en: <http://www.nist.gov/>. Consultado en abril 2012

6. ANEXOS

ANEXO A: Fundamento de las técnicas cromatográficas

1. EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO, también llamada extracción con solvente, se realiza con el fin de separar uno o más componentes de una mezcla puesta en contacto con otra fase, estas fases son químicamente diferentes lo que conduce a separar componentes de acuerdo a sus propiedades físicas y químicas. [15]

2. CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

Técnica usada usualmente para:

- Verificar la pureza de una sustancia
- Identificar y separar componentes en una mezcla
- Obtener un análisis cuantitativo de uno o más de los componentes presentes.

El uso de la técnica de cromatografía de capa fina (CCF) consta del paso de flujo de una fase móvil en una fase estacionaria. El principio para la separación es la polaridad de cada fase, existen diferentes tipos de fase estacionaria en las cuales varía esta propiedad.

Esta práctica proporciona información sobre el comportamiento de los solventes en la fase fija, de ahí la escogencia de usar mezclas o solventes puros para realizar la separación de compuestos ya sea para su identificación analítica o para su cuantificación.

Un solvente polar se adhiere en la fase estacionaria, mientras que un no polar tiende a avanzar en la fase móvil. Este concepto de polaridad no se debe confundir con que la polaridad se exprese en término de momentos dipolares.

La forma más común de cromatografía es la de adsorción, donde la fase estacionaria es un sólido como alúmina o sílica gel. La muestra que se quiere separar se aplica en un extremo de la fase estacionaria y se permite que fluya a través de ella por medio de un solvente, este asciende por capilaridad. La separación ocurre cuando una sustancia en una mezcla es adsorbida fuertemente por la fase estacionaria que otros componentes. La adsorción es un fenómeno de superficie, el grado de separación depende del área de superficie del adsorbente, de aquí la importancia de que el adsorbente posea pequeño tamaño de partícula.

En cuanto a la preparación del adsorbente o fase estacionaria, este es aplicado a un soporte como revestimiento para obtener una capa estable de determinado tamaño, entre los adsorbentes más utilizados se encuentra la sílica gel, la alúmina y la celulosa [16].

De la mano a la utilización de la fase estacionaria existen indicadores que ayudan a la localización de las sustancias separadas, uno de ellos es la luz UV.

Un proceso general para la cromatografía en capa fina se describe a continuación:

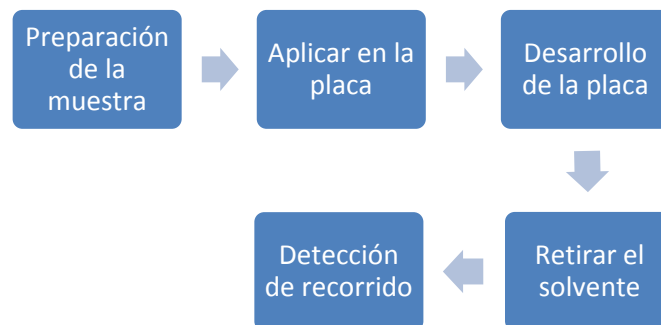


Figura 7. Proceso para el desarrollo de placas en CCF.

Una lista de los solventes comúnmente usados en el desarrollo de cromatografía, en orden ascendente de polaridad es:

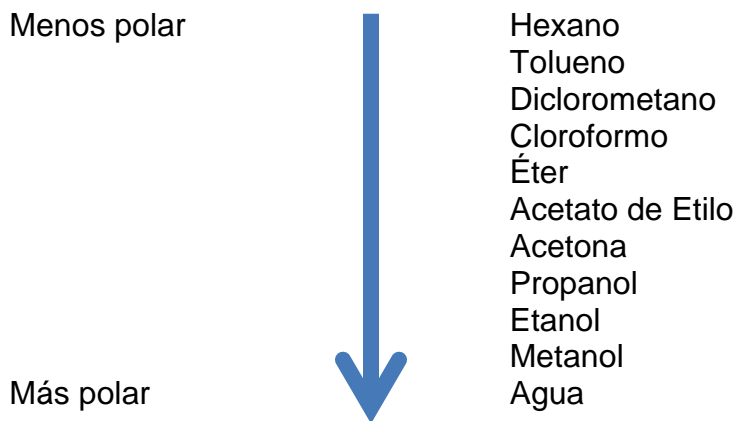


Figura 8. Lista de solventes en orden ascendente a su polaridad.

3. CROMATOGRAFÍA EN COLUMNA LÍQUIDA O CROMATOGRAFIA EXTRACTIVA

Este tipo de cromatografía se basa en el mismo principio de CCF, con la diferencia de que en ella se usa el empaquetamiento de la fase estacionaria en una columna (generalmente de vidrio), luego se introduce la muestra y la fase móvil la cual es líquida; esta fluye a través de la columna por efecto de la gravedad arrastrando los componentes de la mezcla, que son selectivamente retenidos por la fase estacionaria, el solvente se recolecta en la base de la columna en fracciones de determinado volumen.

El mecanismo de separación de la cromatografía líquido sólido o de adsorción, se basa en la competencia que existe entre las moléculas de la muestra y las de la fase móvil o solvente por ocupar los sitios activos en la superficie de la fase estacionaria. Este tipo de cromatografía se aplica a moléculas cuyo peso

molecular es inferior a 1000. En muchas ocasiones debido a una fuerte retención de los componentes de la muestra en la fase estacionaria, se hace necesario aumentar la polaridad del solvente usado, con lo cual se logra un incremento de solubilidad en los componentes de la muestra en la fase móvil.

En general se usa alguna técnica auxiliar, como por ejemplo espectrofotometría o análisis químico, para evaluar el contenido de cada uno de los componentes de la mezcla en las fracciones recolectadas [18].

4. ANÁLISIS GC/MS

Combinación de dos técnicas usadas en análisis químicos: Cromatografía de gases y espectrometría de masas.

Cromatografía de gases. El análisis GC generalmente se usa para la identificación de sustancias, este separa los componentes de una muestra y proporciona un espectro. Se comienza con la inyección de la muestra, un gas portador conduce la muestra al fondo de la columna, este no debe reaccionar con la muestra. El dispositivo GC la vaporiza, separa y analiza los distintos compuestos identificados. Cada componente produce un pico espectral específico que se registra. El tiempo transcurrido entre la inyección y la elución, es decir, el tiempo que un compuesto es retenido por la columna se denomina tiempo de retención, este tiempo ayuda a diferenciar compuestos. El tamaño de los picos es proporcional a la cantidad de las sustancias en la muestra analizada.

El análisis GC depende de características físicas y químicas de las sustancias, estas son las responsables de las velocidades de transporte de las moléculas que viajan a través de la columna. Por ejemplo, si la molécula tiene poca masa puede viajar más rápidamente; otra característica es la forma de las moléculas que también afecta el tiempo de salida de la columna.

Para analizar los espectros de los picos identificados generalmente se compara con bases de datos estándar conocida.

Espectrometría de masas (ms). Con el análisis MS se identifican sustancias mediante la carga eléctrica de moléculas de las muestras, acelerándolas a través de un campo magnético las fragmenta e identifica. Se genera un espectro de cada fragmento único para cada sustancia.

Un MS convencional contiene una entrada de muestra, una fuente de ionización, un acelerador de moléculas y un detector.

El análisis MS requiere de una muestra gaseosa, su entrada se debe mantener a una temperatura alta, la muestra entra a la cámara de ionización. Un haz de electrones pasa con un alto voltaje, y las moléculas se rompen en fragmentos bien definidos después de la coalición con los electrones de alta tensión, cada fragmento se desplaza en el acelerador como una partícula individual, en este acelerador la velocidad de la partícula aumenta por el voltaje. Este voltaje varía para cubrir un rango de masas para alcanzar todos los fragmentos. Las partículas viajan hacia el detector donde son bombardeadas con más electrones, cada uno con una carga. El resultado es una amplificación de la carga original a través de una cascada de electrones que llegan al colector. En este punto el instrumento mide la carga y registra el fragmento de masa, la masa es proporcional a la carga detectada. El MS produce la salida dibujando una serie de picos en un gráfico que es espectro de masas. Cada pico representa un valor para un fragmento de masa [17].

ANEXO B: Proceso para la realización de columna líquida.

1. Activación de la sílica gel. Una cantidad (aproximadamente 50g) es llevada al horno a 120°C por dos horas.
2. Enumerar los tubos de ensayo y tener en cuenta el volumen que se va a recolectar en cada uno.
3. La muestra se mezcla con una pequeña cantidad de sílica gel, esta se deja secar, por ser hexano el solvente el secado ocurre en la cámara de extracción, al evaporarse este solvente el resultado es un polvo amarillento, listo para ser agregado a la columna
4. Realizar el montaje de la columna. La columna de vidrio se sujeta a un soporte universal dejándola en posición totalmente vertical, se le agrega aproximadamente 3mm de arena.
5. La sílica gel se mezcla con el solvente a usar y se añade cuidadosamente. La punta de salida del líquido de la columna debe quedar a una distancia suficiente para que pueda acomodarse un tubo de ensayo en este espacio.
6. Aproximadamente se alcanza un nivel de 15 cm en la columna con la sílica gel, esta puede quedar adherida a las paredes de la columna, para corregir esto se añade solvente cuidadosamente y se deja purgar la columna, este volumen de solvente se recolecta en un Erlenmeyer o vaso de precipitado.
7. Cuando el nivel de hexano llega ligeramente por encima de la sílica, se cierra la llave de la columna, aquí se agrega la muestra preparada en el paso 3, evitando que se adhiera a las paredes de la columna.
8. Se agrega otra porción de arena, con el fin de evitar la perturbación de la fase estacionaria.
9. Para lograr un mejor empaquetamiento de la columna se puede usar presión.
10. Se comienza a usar el solvente que se quiere recolectar en los tubos de ensayo siguiendo la numeración establecida, no se debe dejar que el solvente llegue al nivel de la sílica, hay que ir añadiendo poco a poco y

dejar que por goteo se recolecte el volumen establecido para los tubos de ensayo.

11. Para el cambio de solvente se deja llegar el nivel de este cerca al nivel de sílica gel y se procede a agregar el nuevo solvente.

12. Al momento de agregar un solvente se debe hacer cuidadosamente y así evitar alterar la sílica gel, lo cual daña el procedimiento de cromatografía en columna

Ilustración del montaje de columna



Figura 9. Montaje realizado de columna líquida



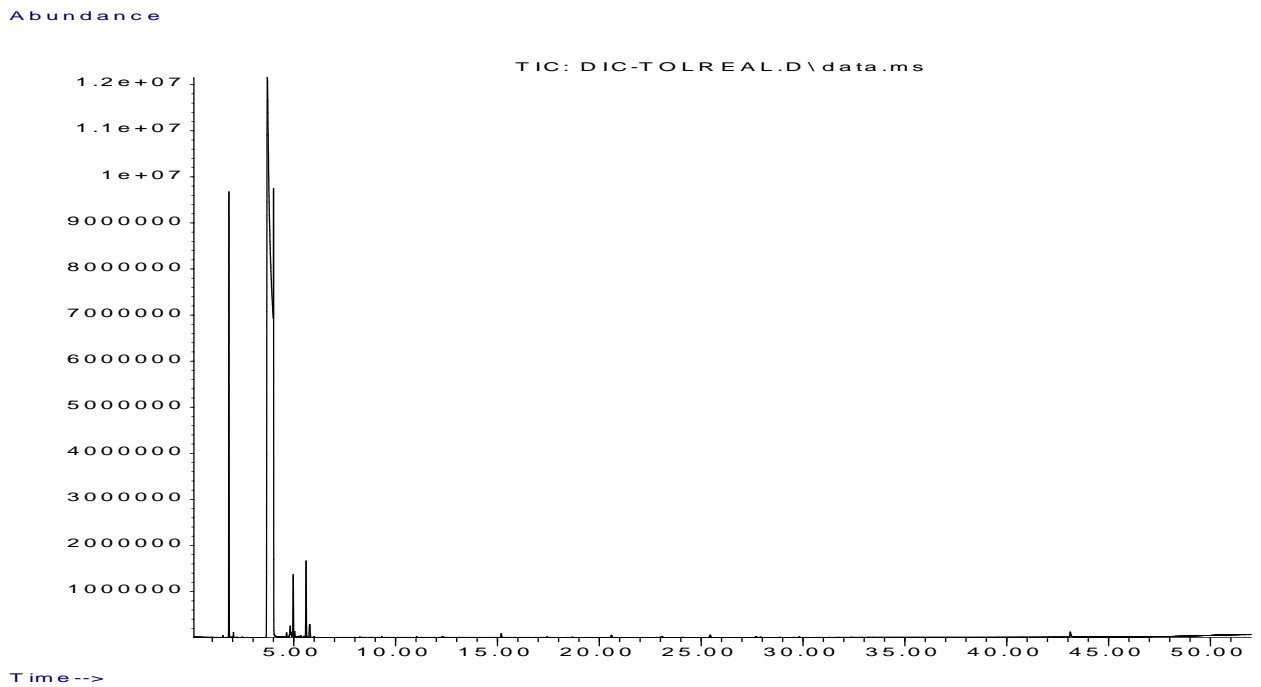
Figura 10. Recolección de solventes en columna líquida.

ANEXO C. Cromatogramas de las fases extraídas de bio-oil

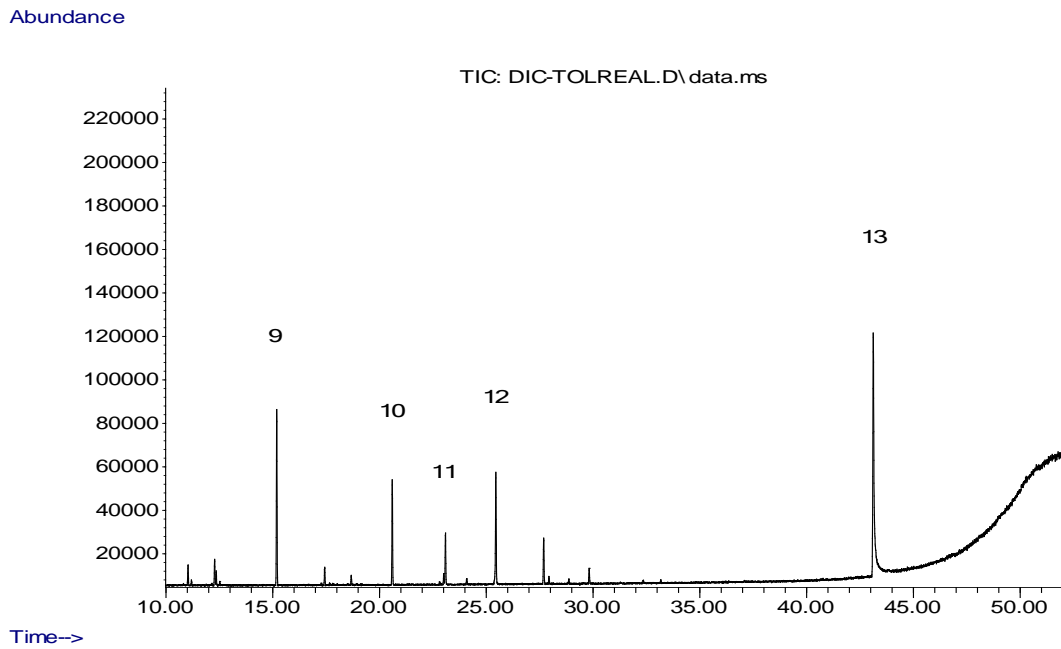
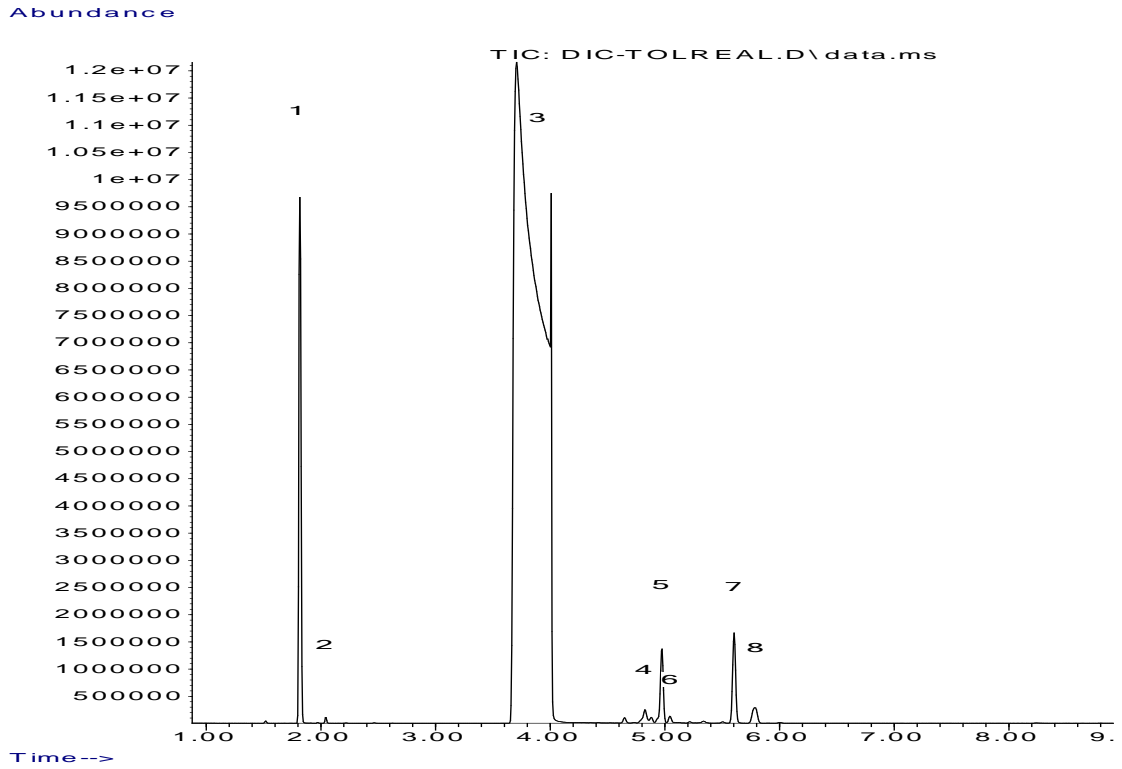
Se presenta los cromatogramas, con sus respectivos acercamientos para la identificación de picos

1. FASE DENSA m1

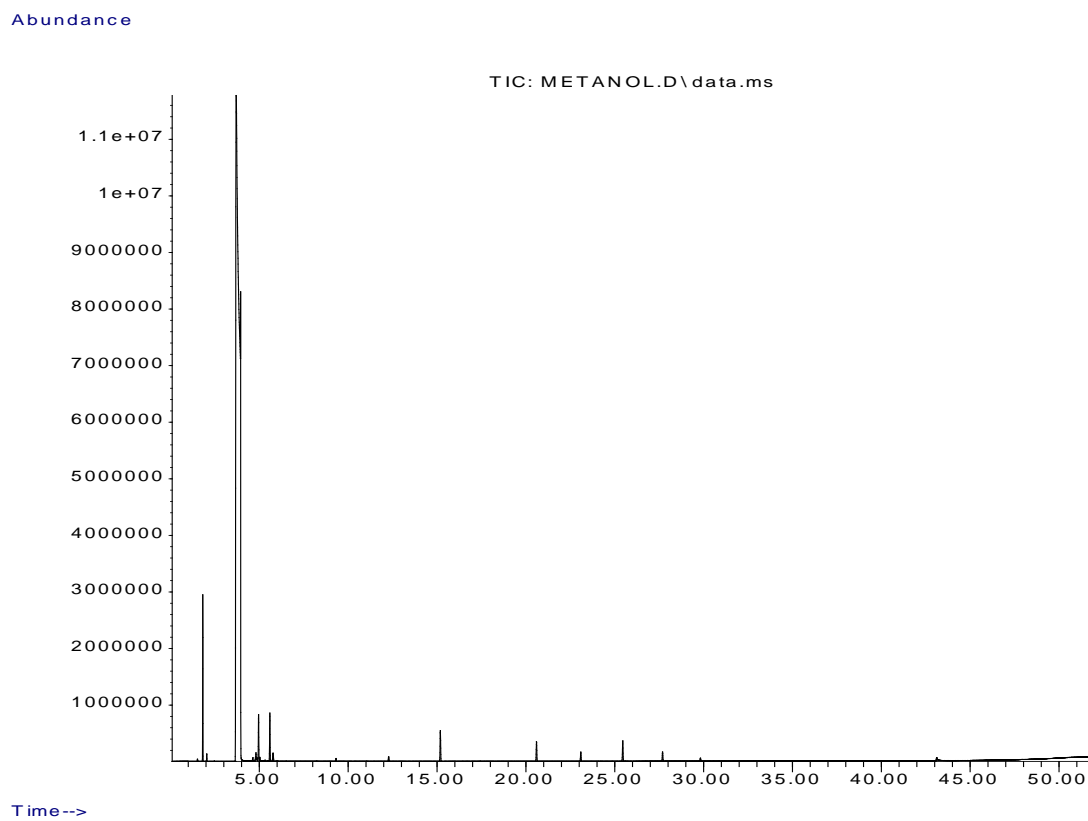
1.1. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de mezcla diclorometano-tolueno en m1.



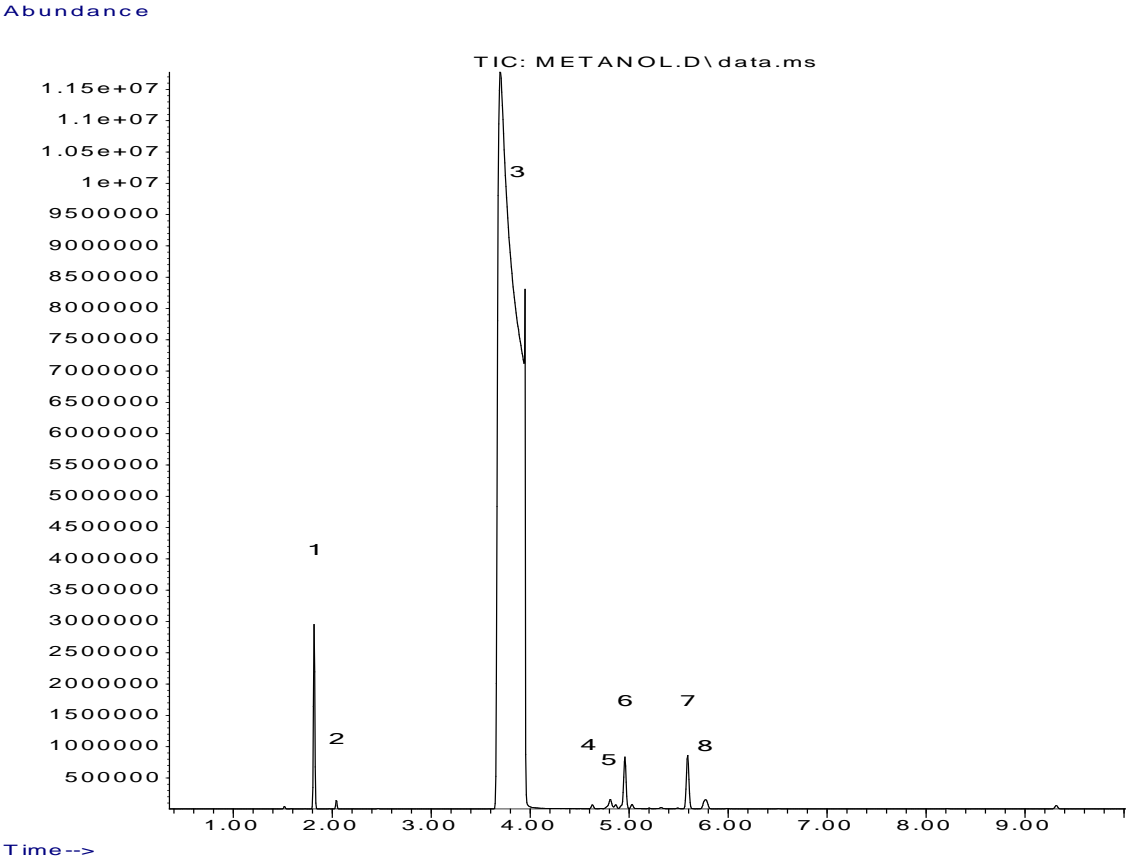
Acercamiento del cromatograma de la fracción eluida con la utilización de mezcla diclorometano-tolueno en m1.



1.2. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de metanol en m1.

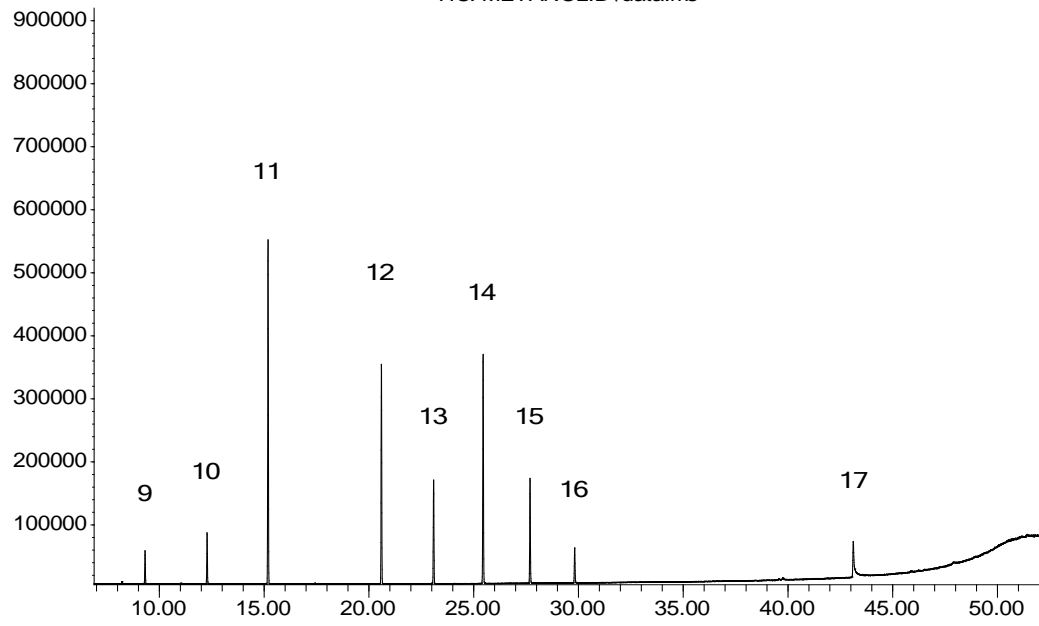


Acercamiento del cromatograma de la fracción eluida con la utilización de metanol en m1.



Abundance

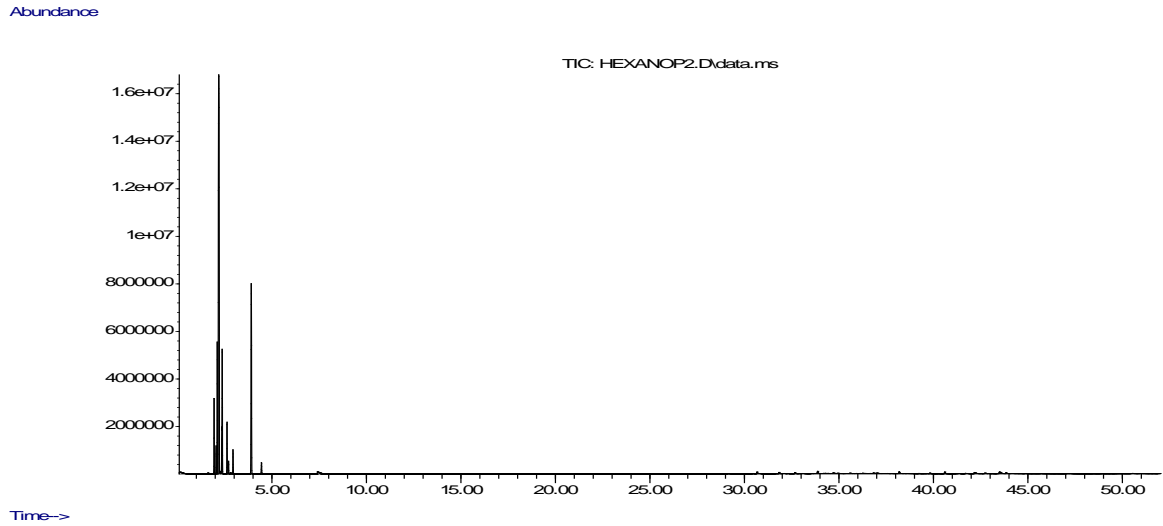
TIC: METANOL.D\data.ms



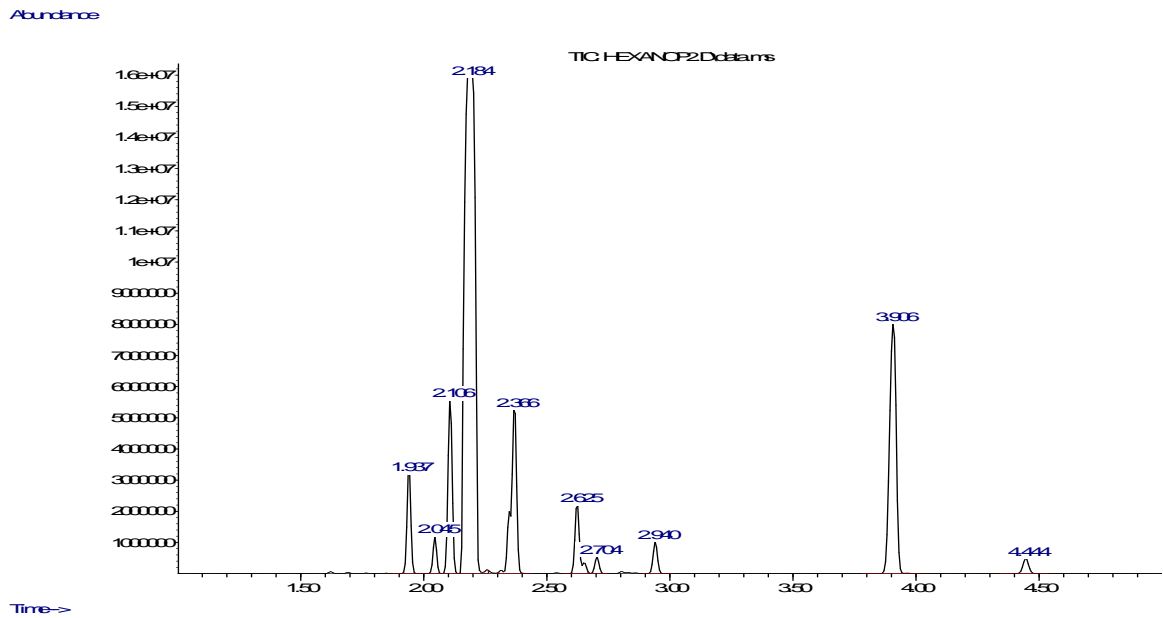
Time-->

2. FASE DENSA m2

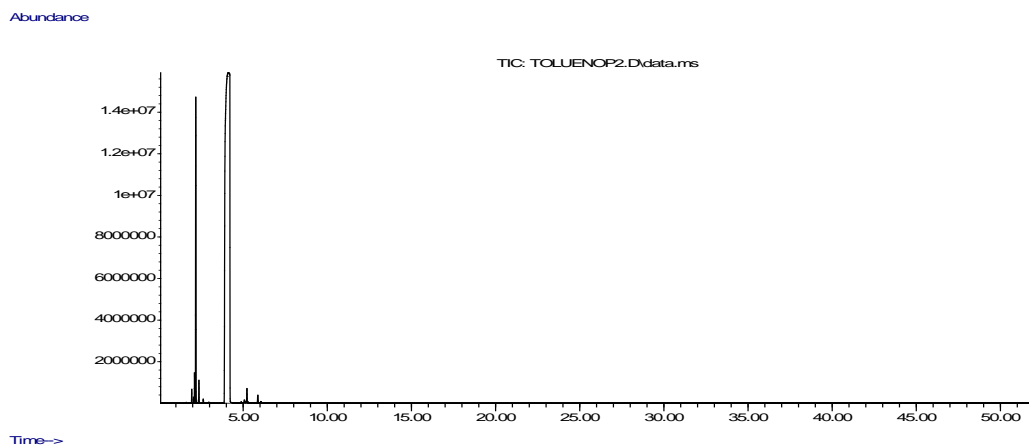
2.1. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de hexano en m2.



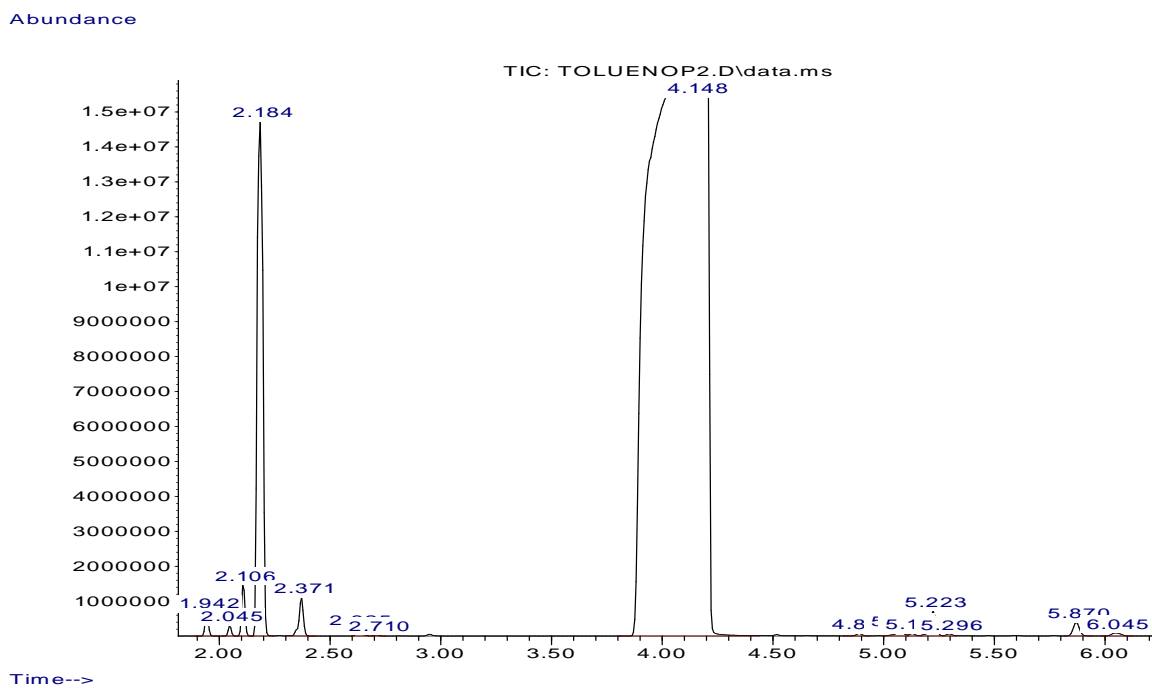
Acercamiento del cromatograma de la fracción eluida con la utilización de hexano en m2.



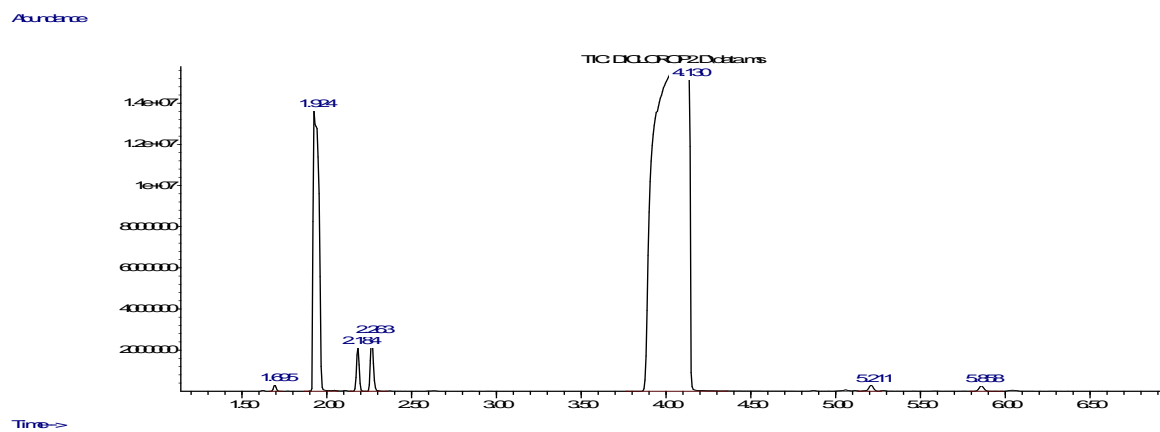
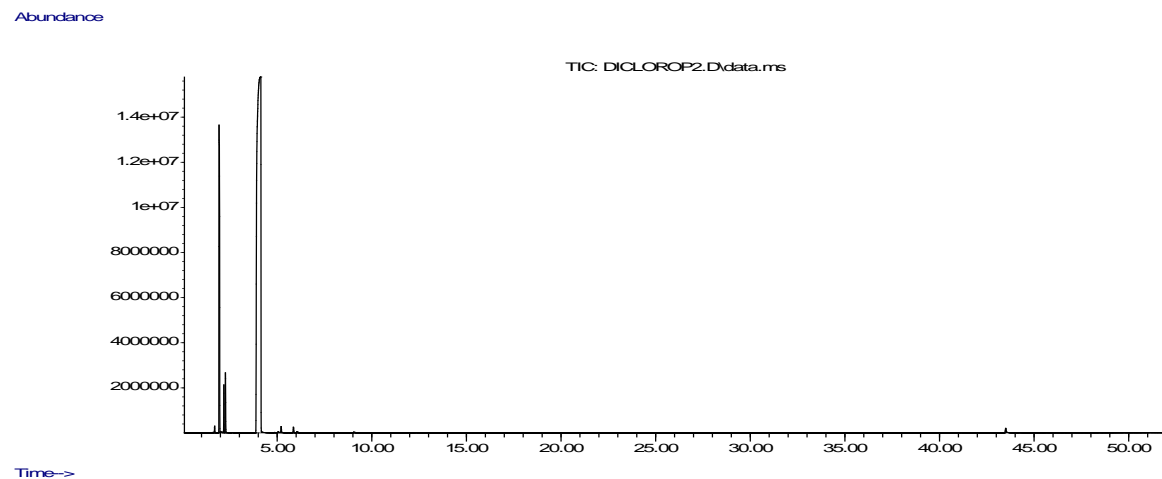
2.2. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de tolueno en m2.



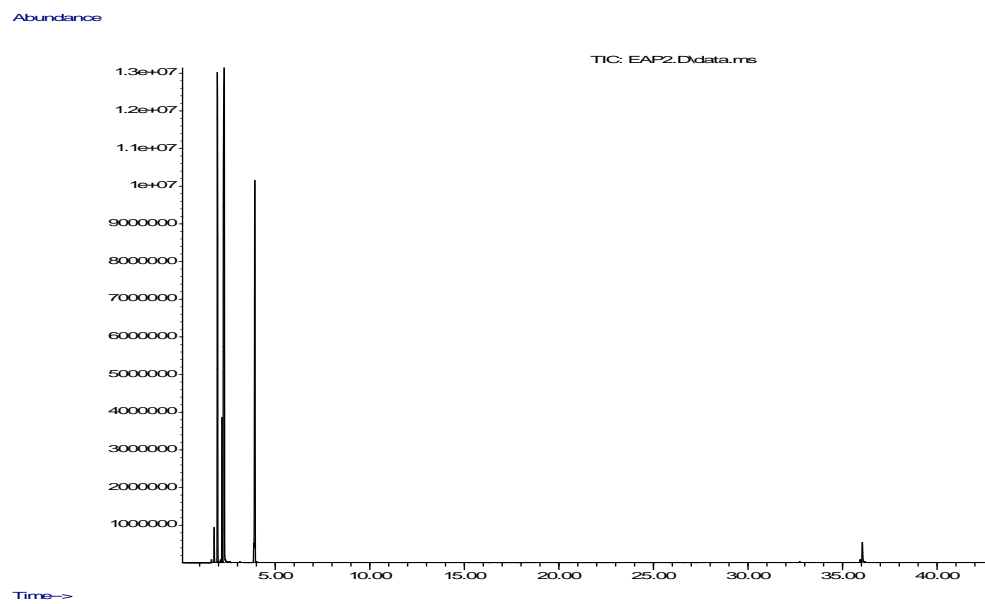
Acercamiento del cromatograma de la fracción eluida con la utilización de tolueno en m2.



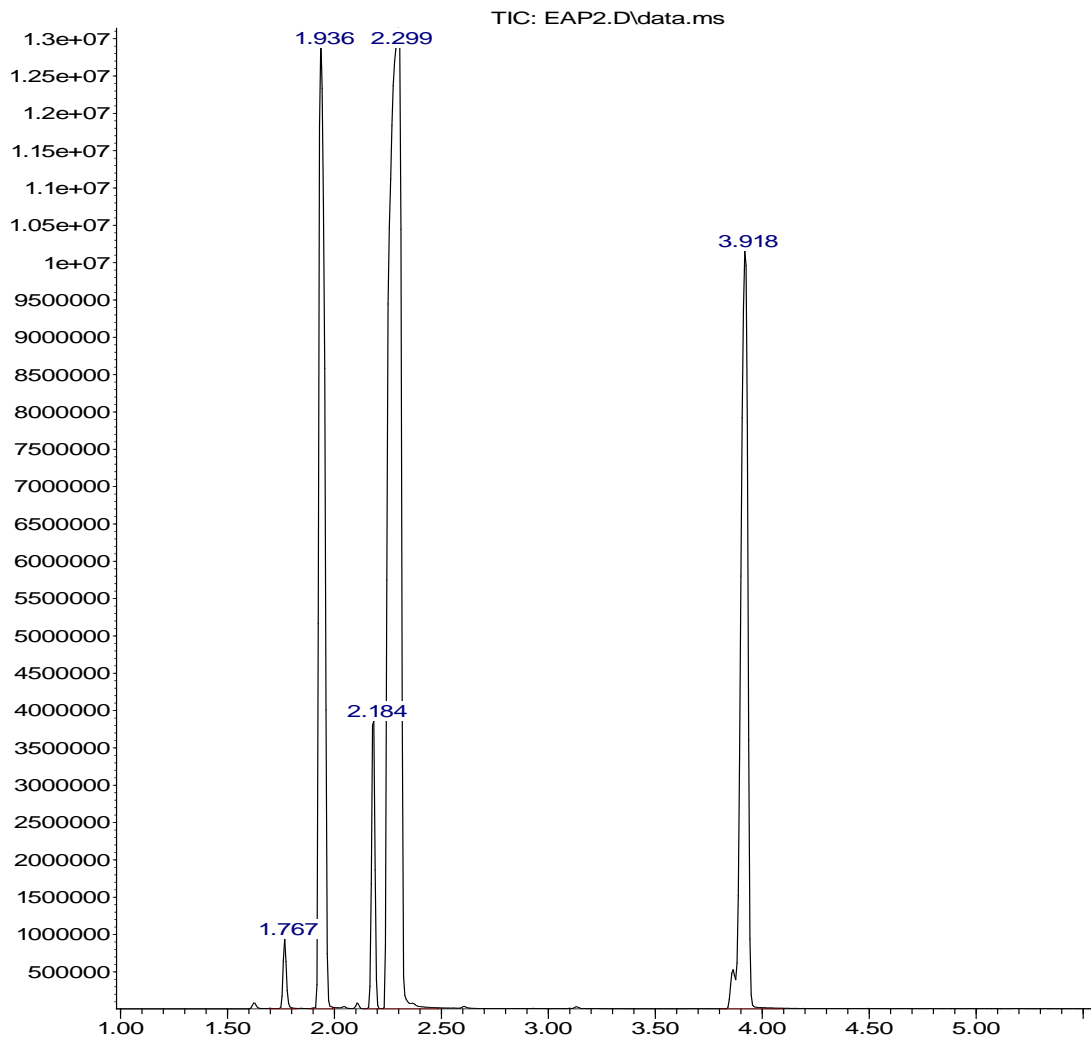
2.3. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de diclorometano en m2.



2.4. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de etil acetato en m2.



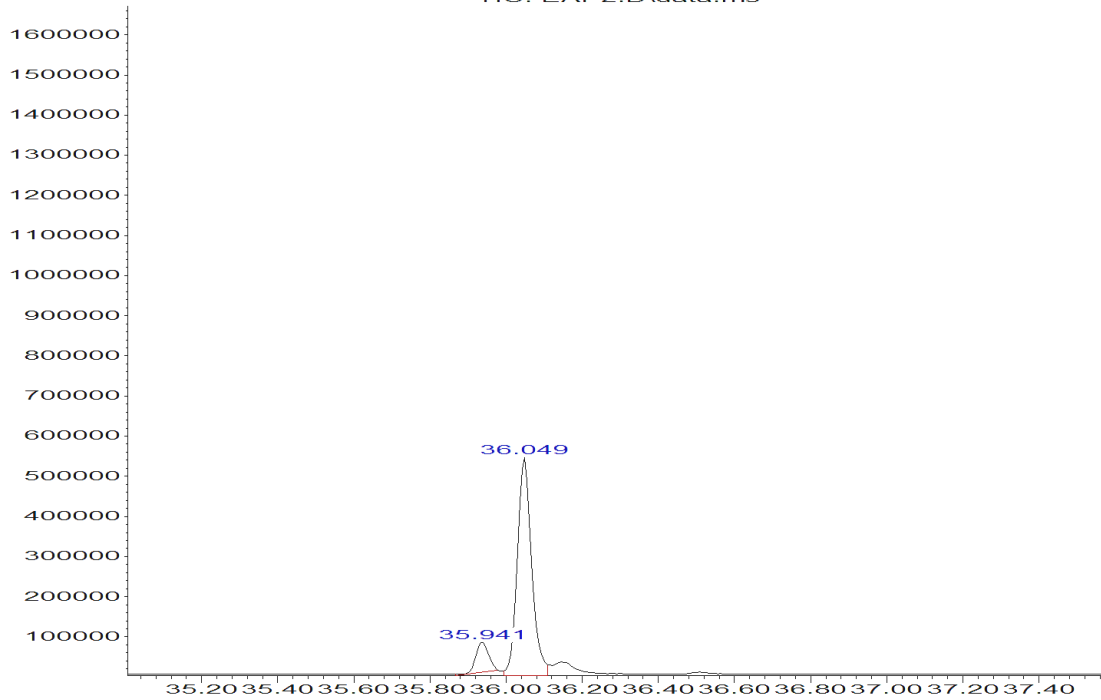
Abundance



Time-->

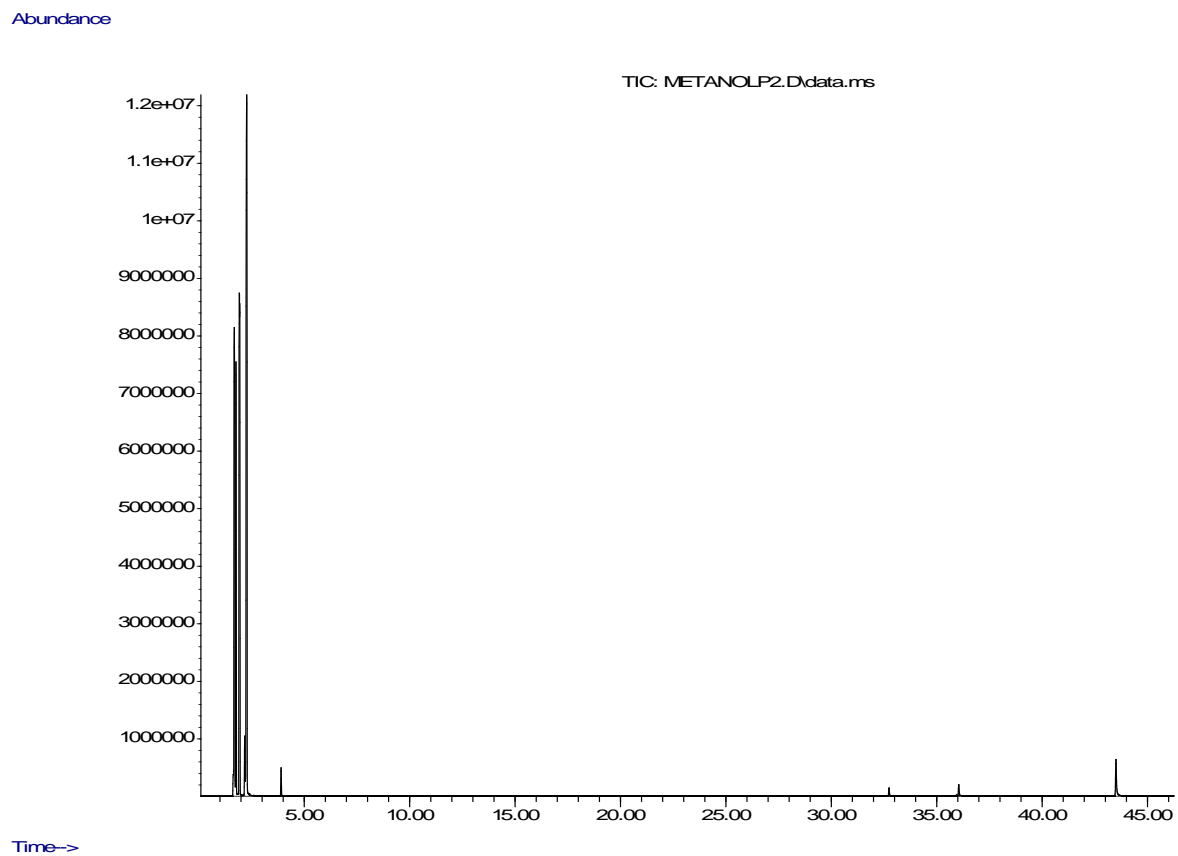
Abundance

TIC: EAP2.D\data.ms

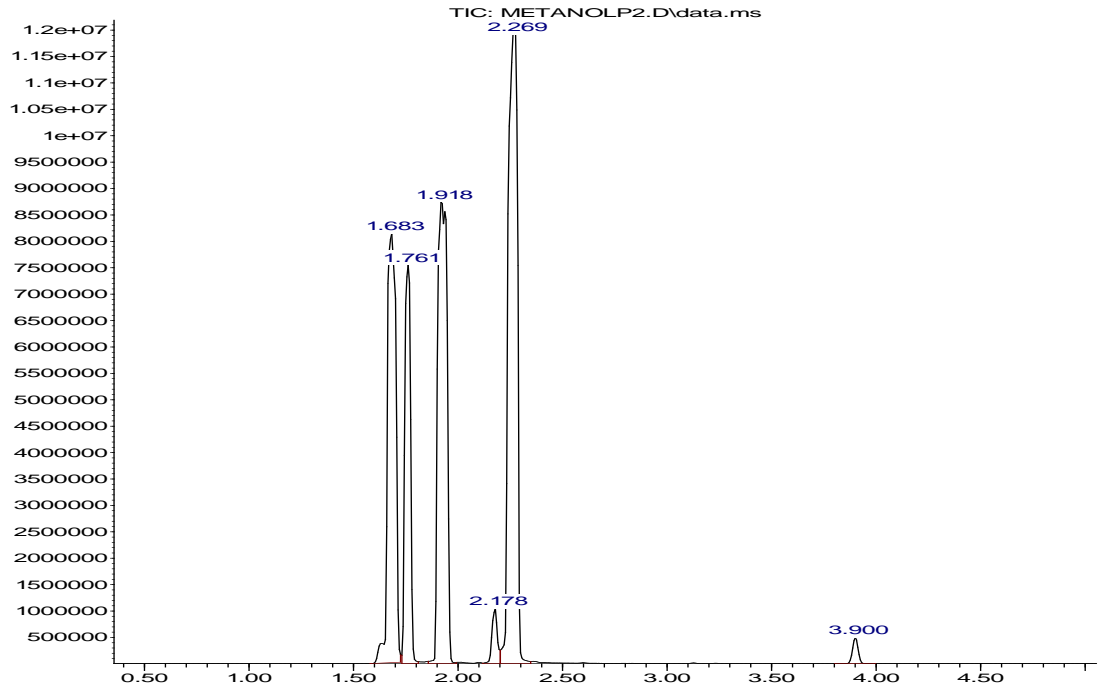


Time-->

2.5. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de metanol en m2.

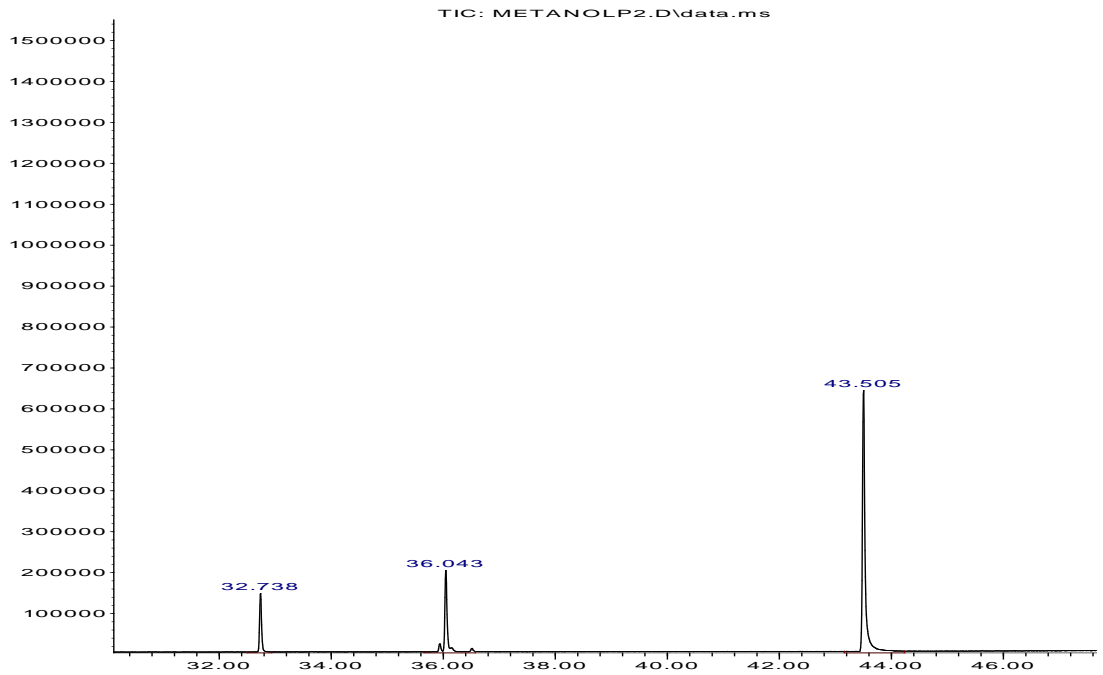


Abundance



Time-->

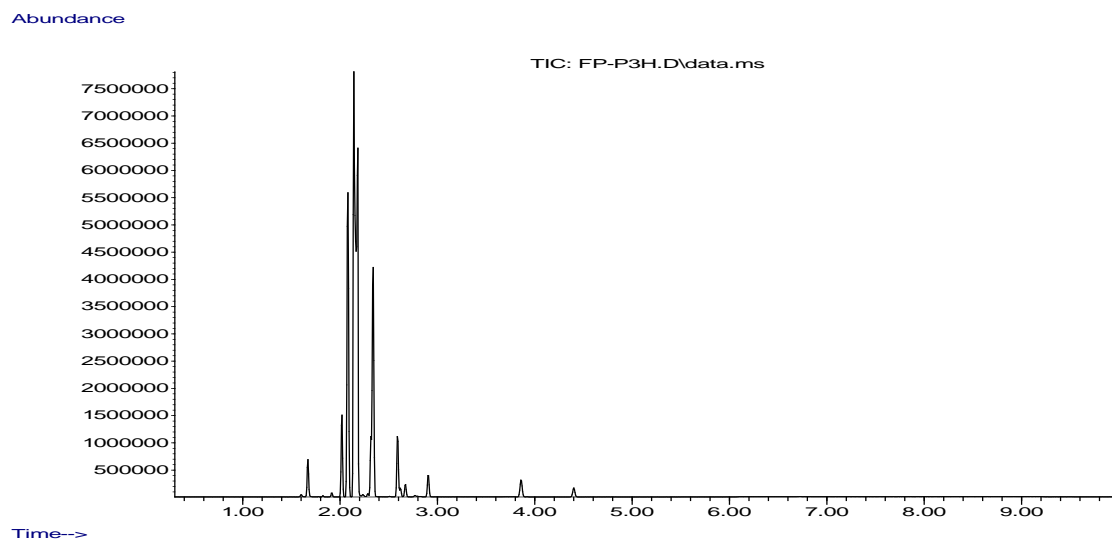
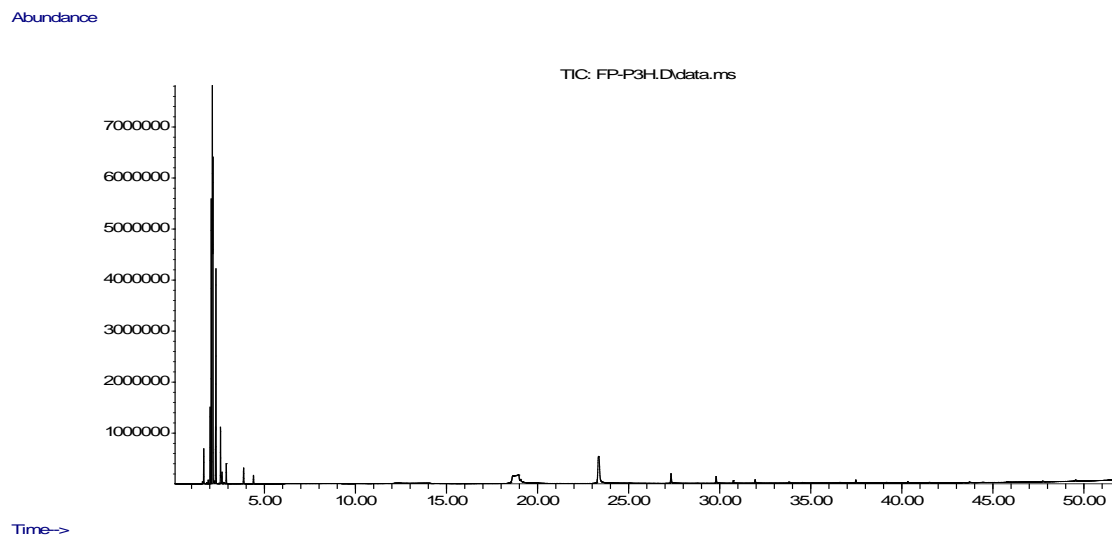
Abundance



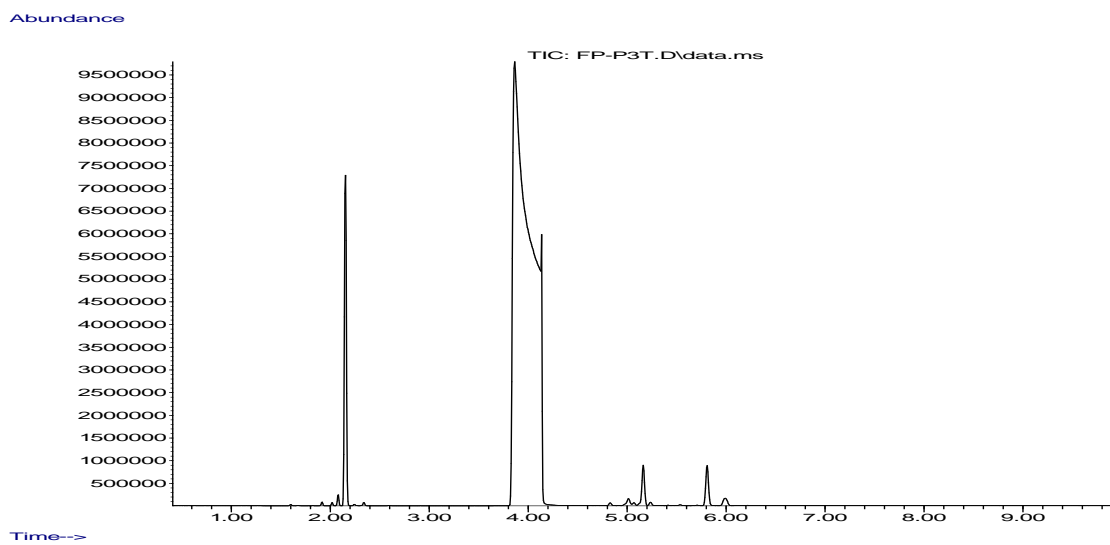
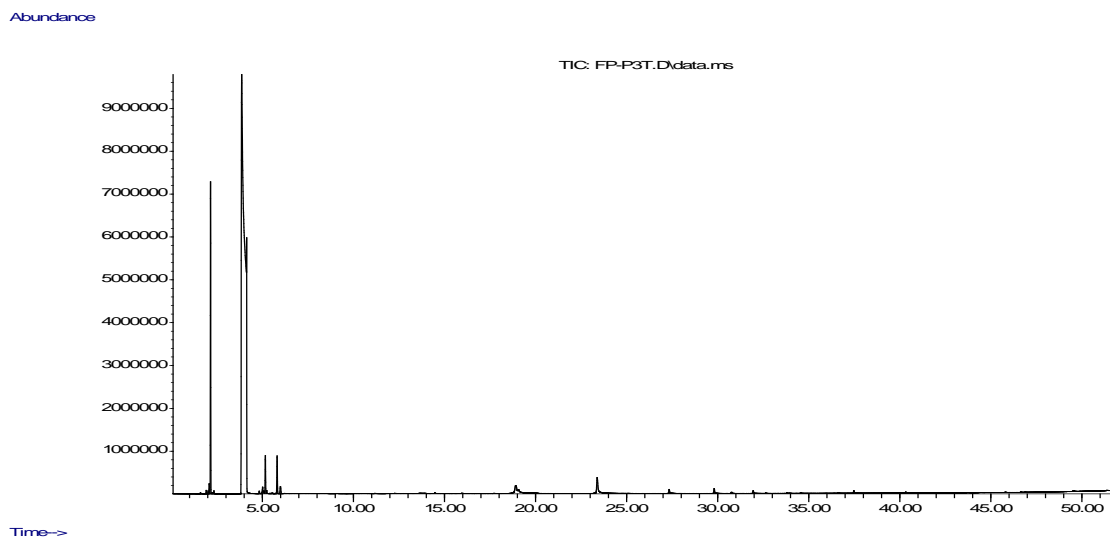
Time-->

3. FASE DENSA m1

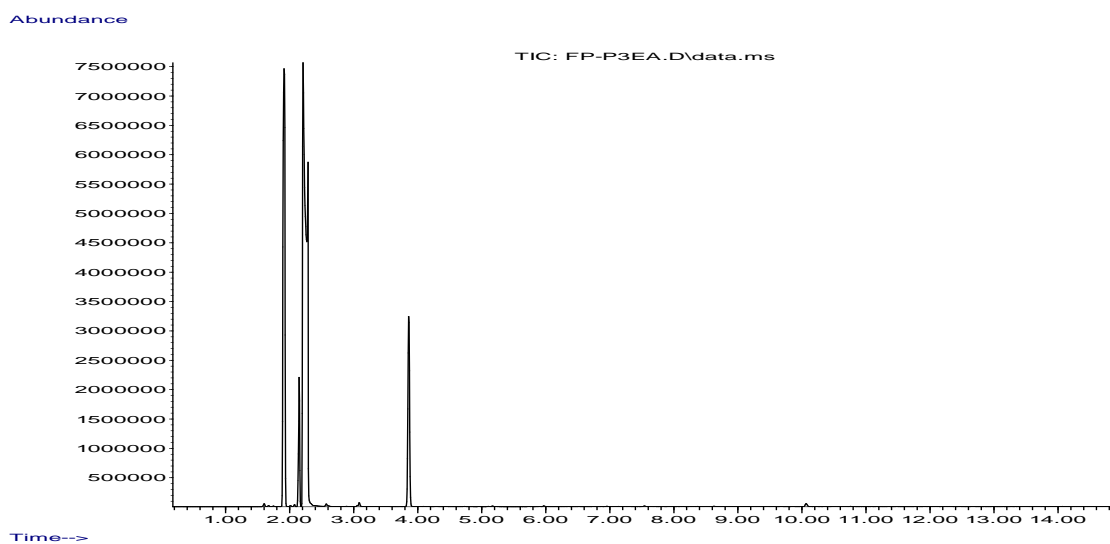
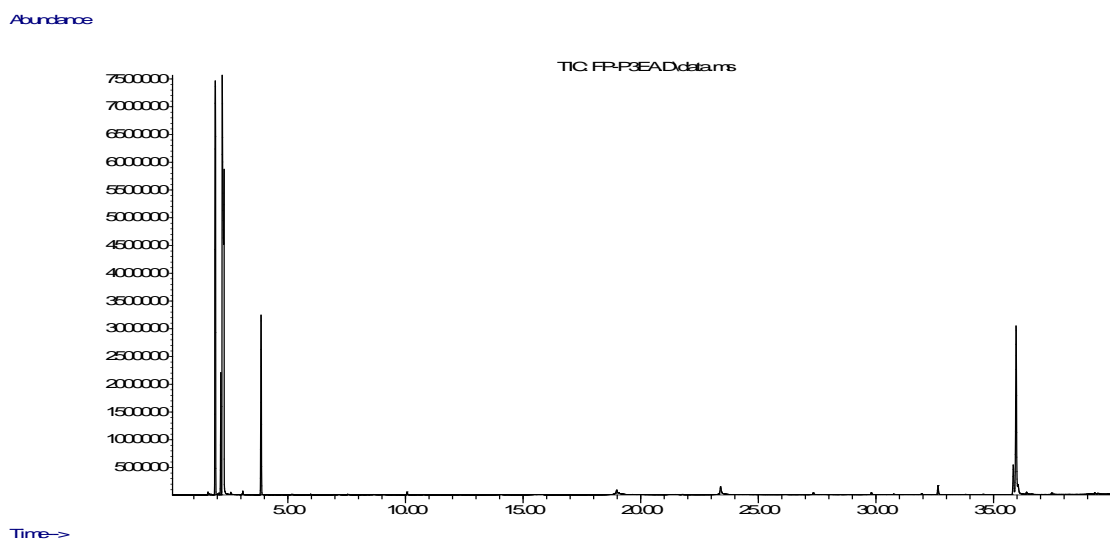
3.1. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de hexano en m3.

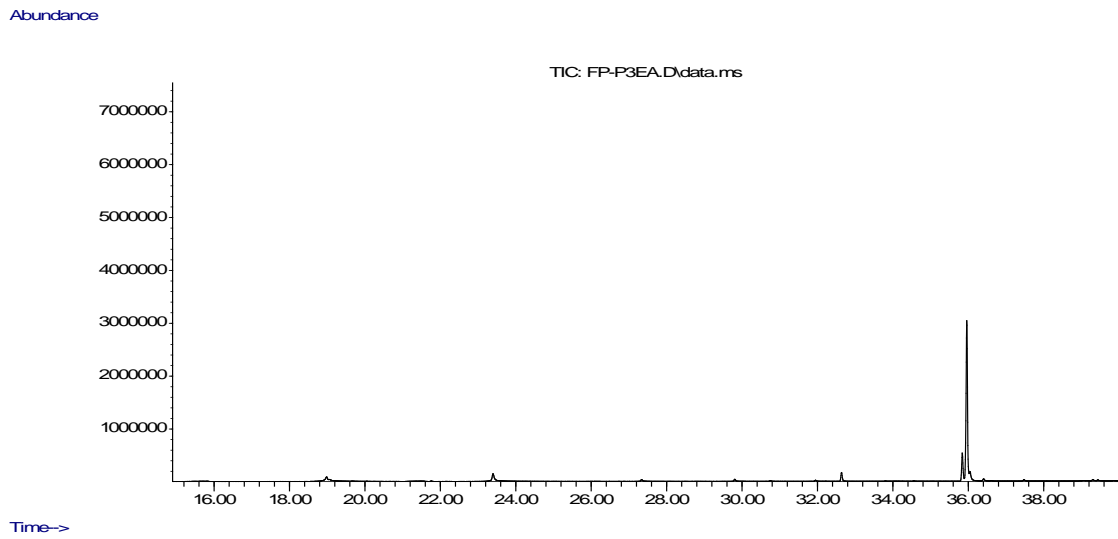


3.2. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de tolueno en m3.

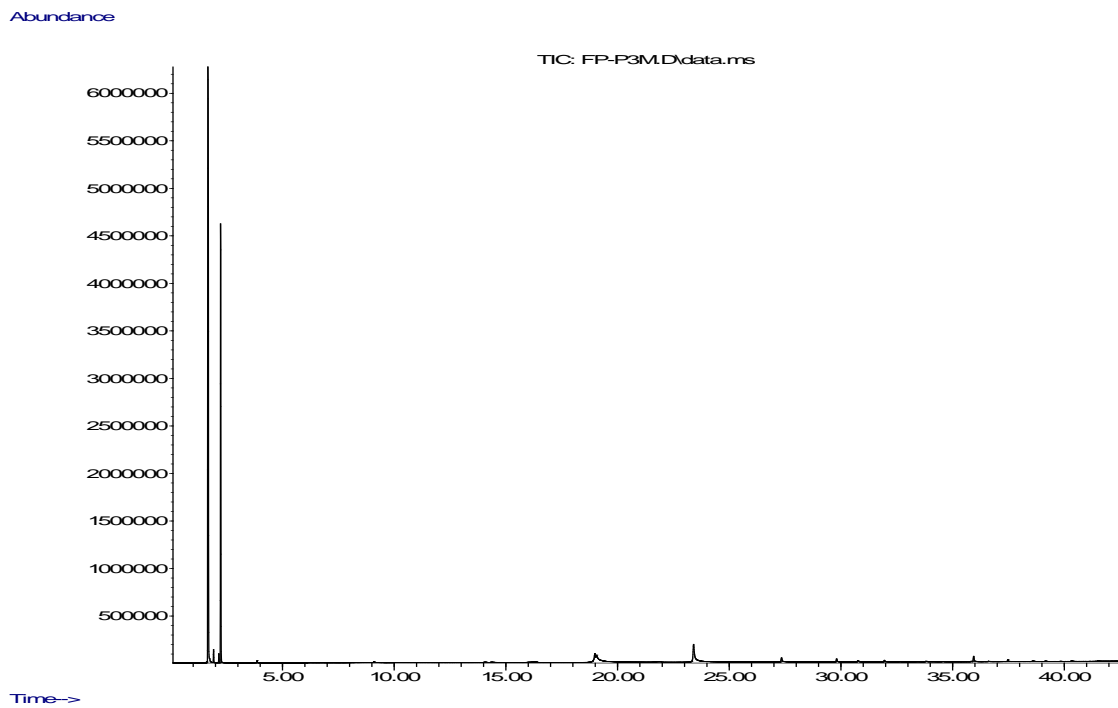


3.3. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de etil acetato en m3.



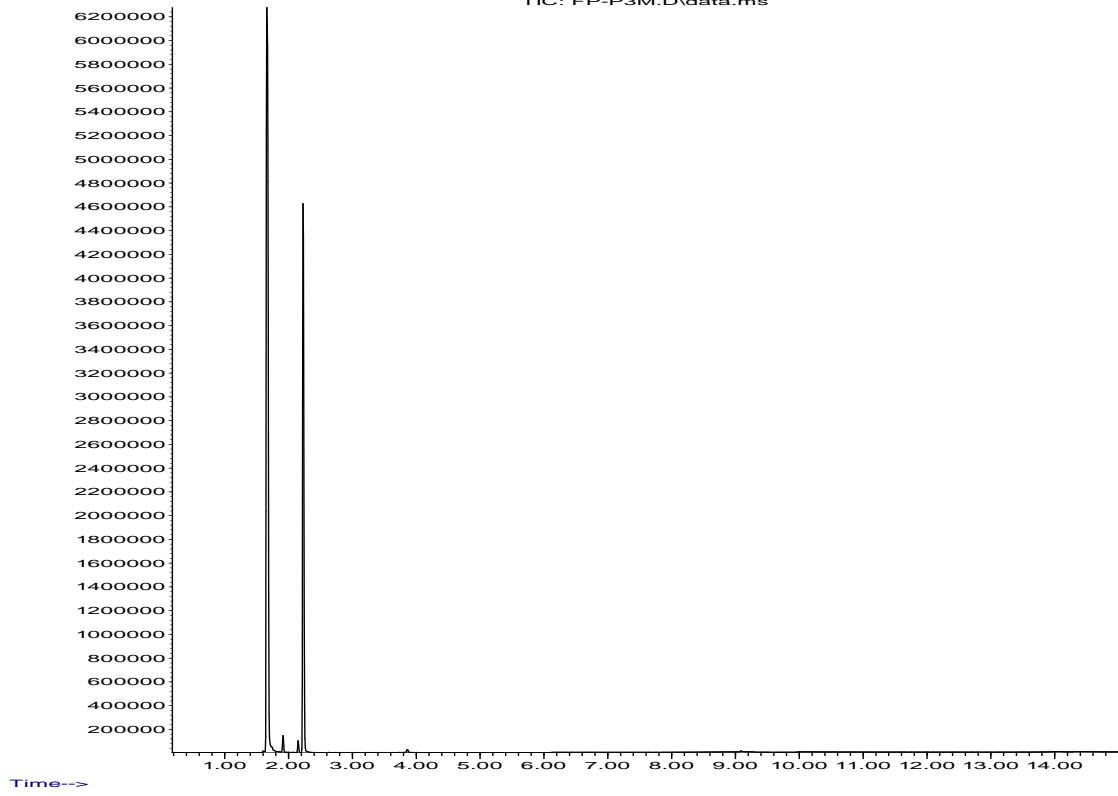


3.4. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de metanol en m3.



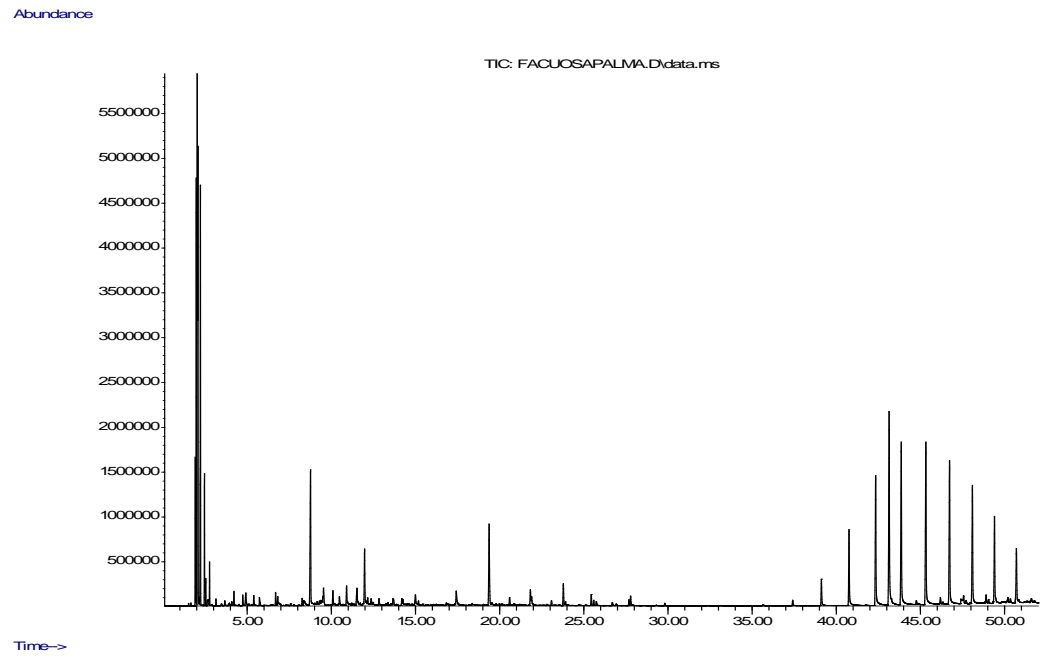
Abundance

TIC: FP-P3M.D\data.ms

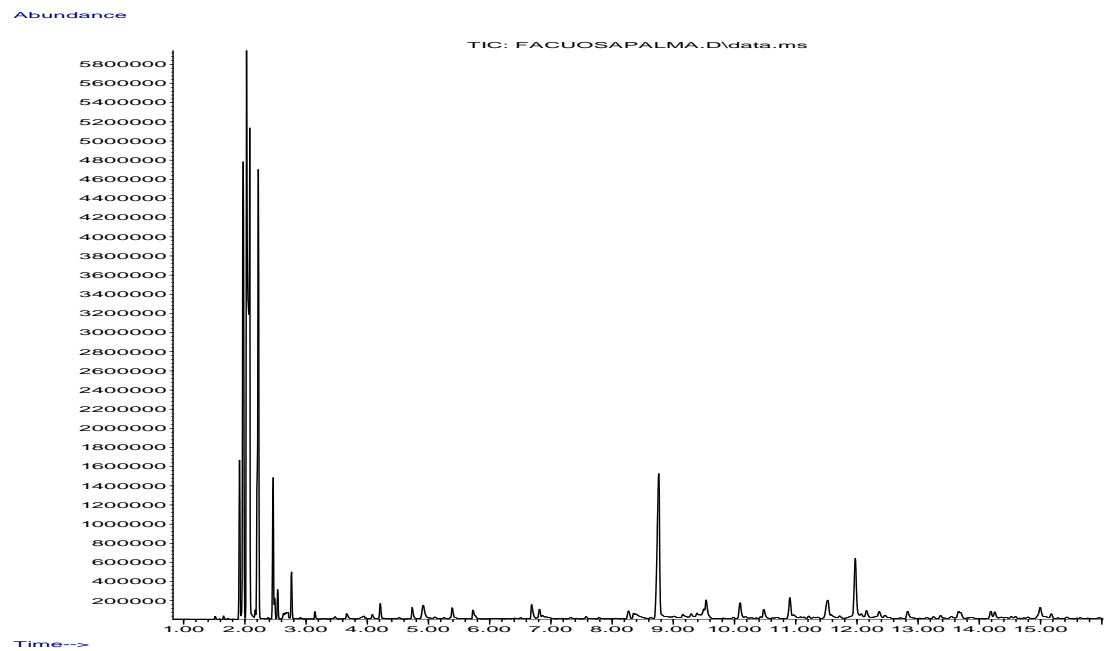


4. FASE LIGERA m1

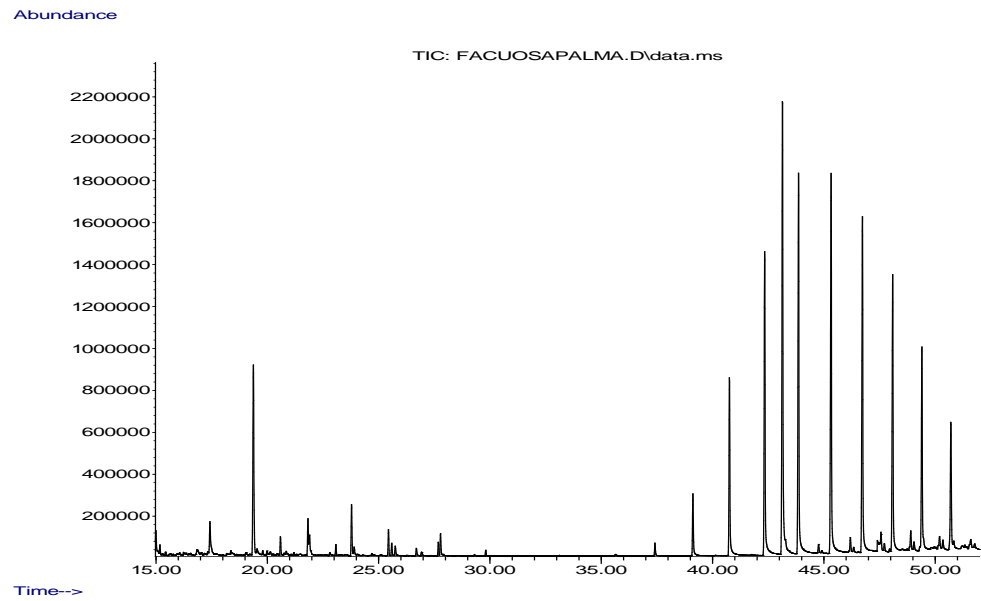
4.1. Cromatograma de la fase acuosa de la muestra "m1"



Acercamiento del cromatograma de la fase acuosa de la muestra "m1".

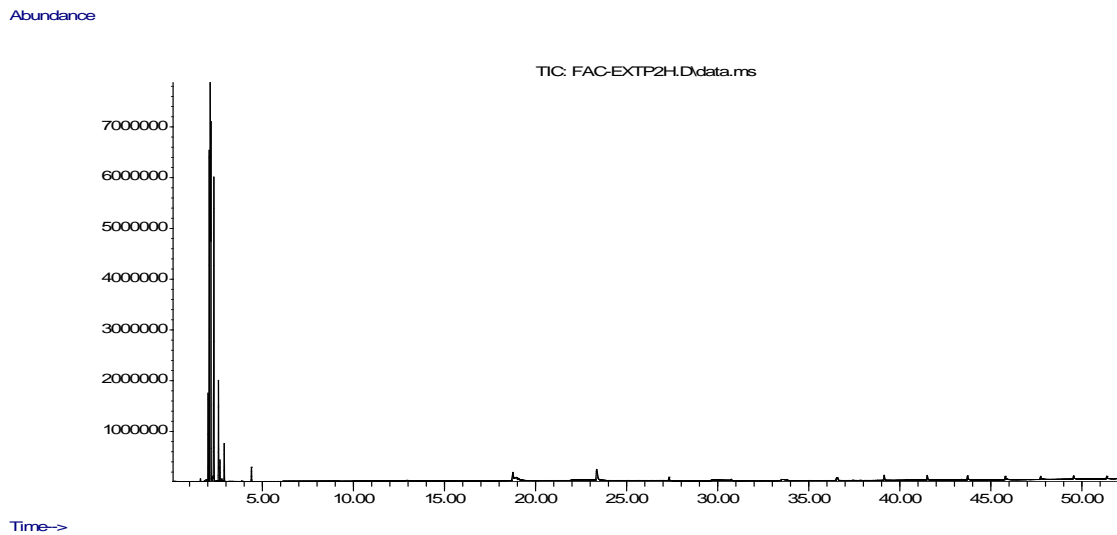


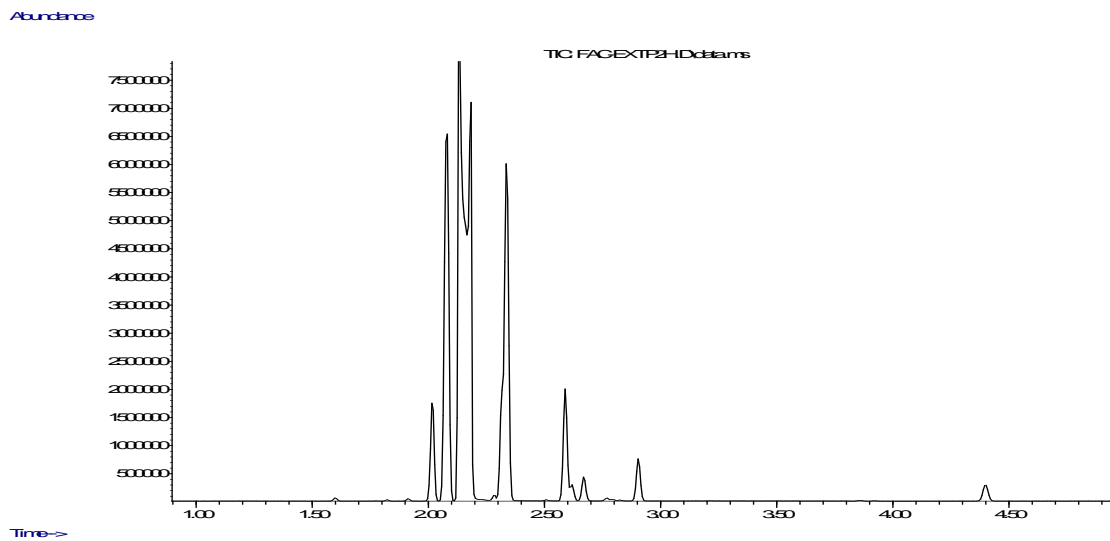
Acercamiento del cromatograma de la fase acuosa analizada por técnica GC/MS



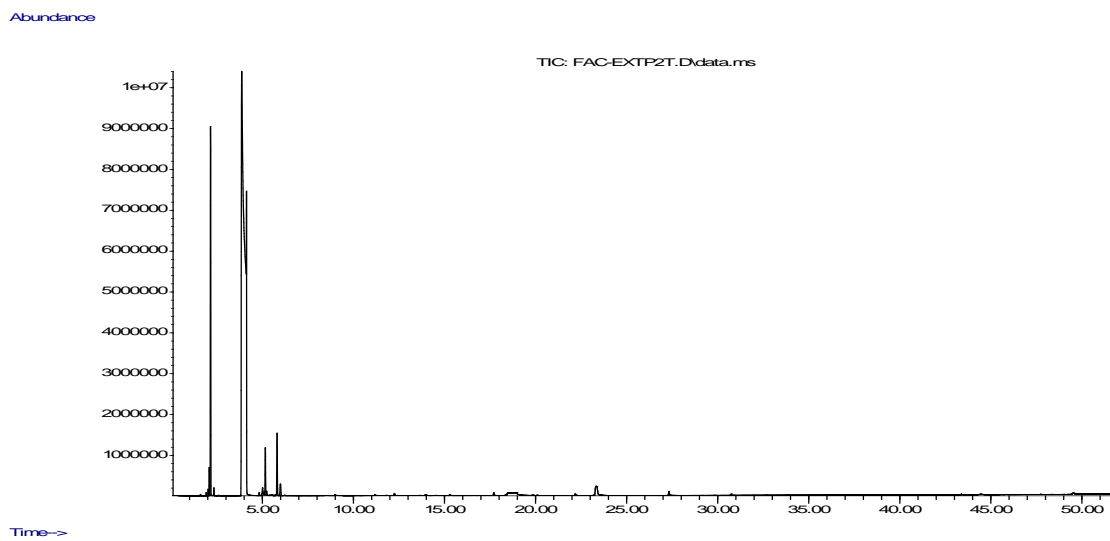
5. FASE LIGERA m2

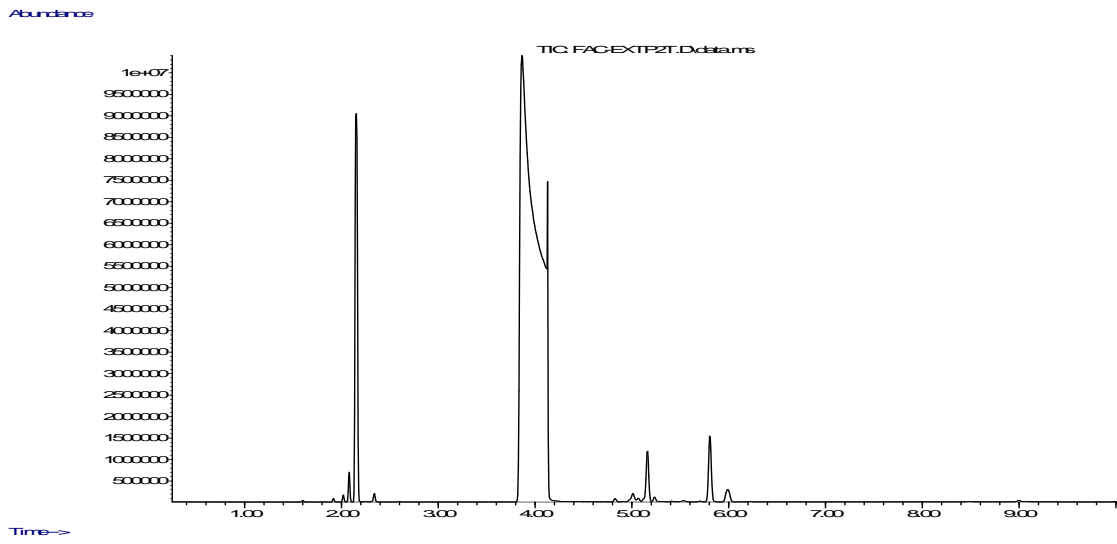
5.1. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de hexano en m2.



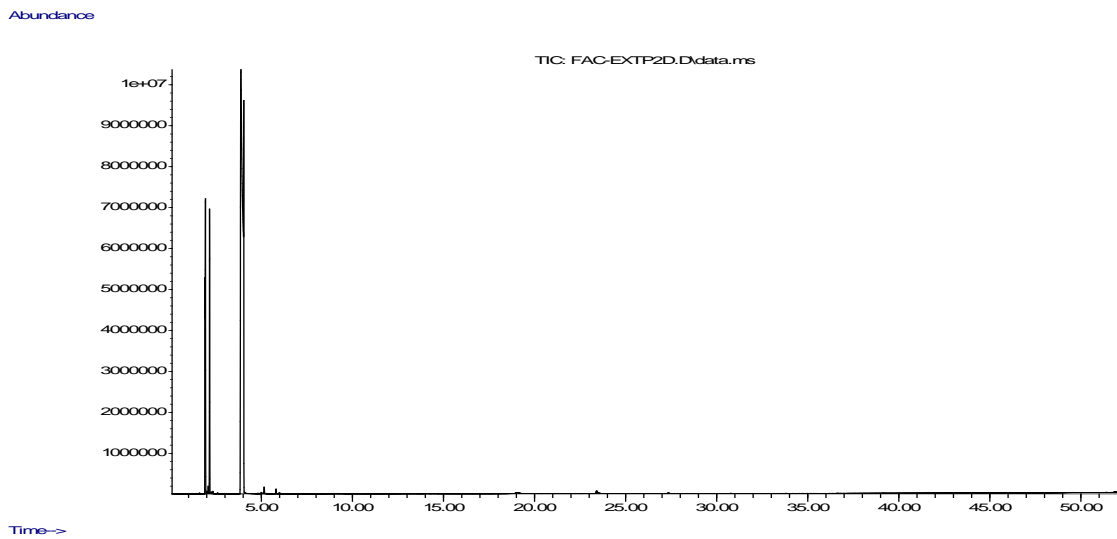


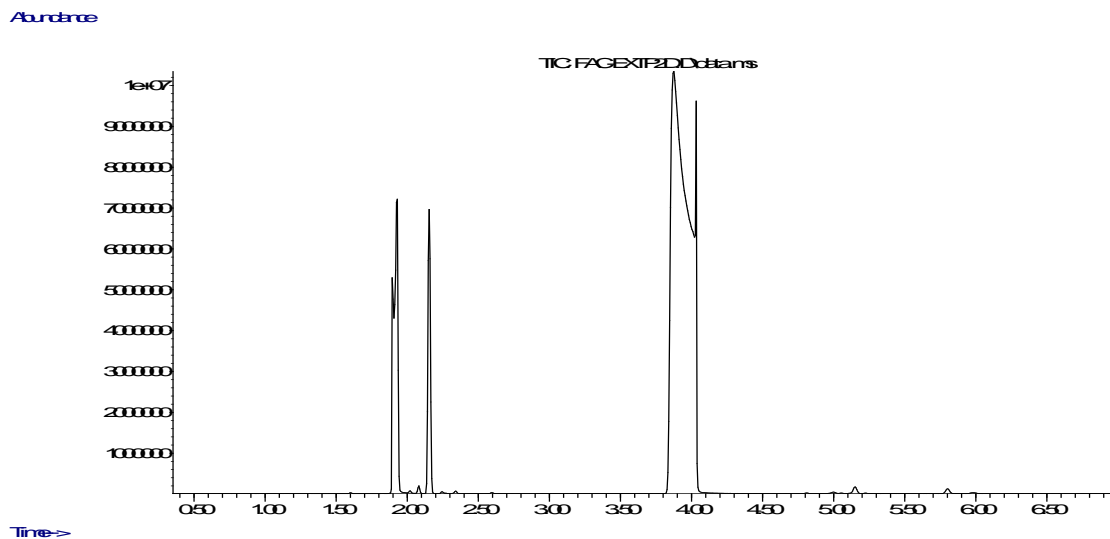
5.2. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de tolueno en m2.



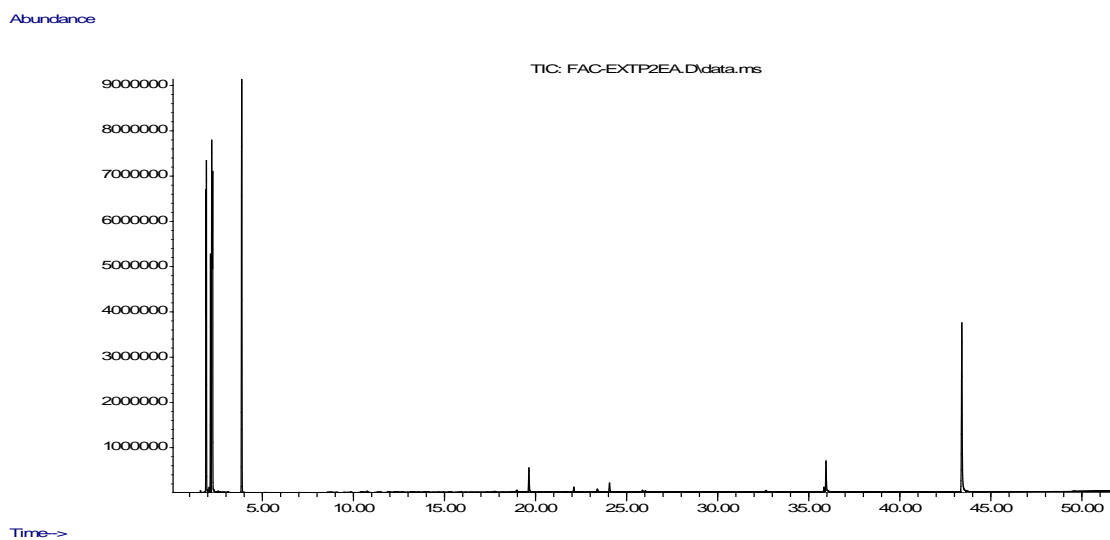


5.3. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de diclorometano en m2.

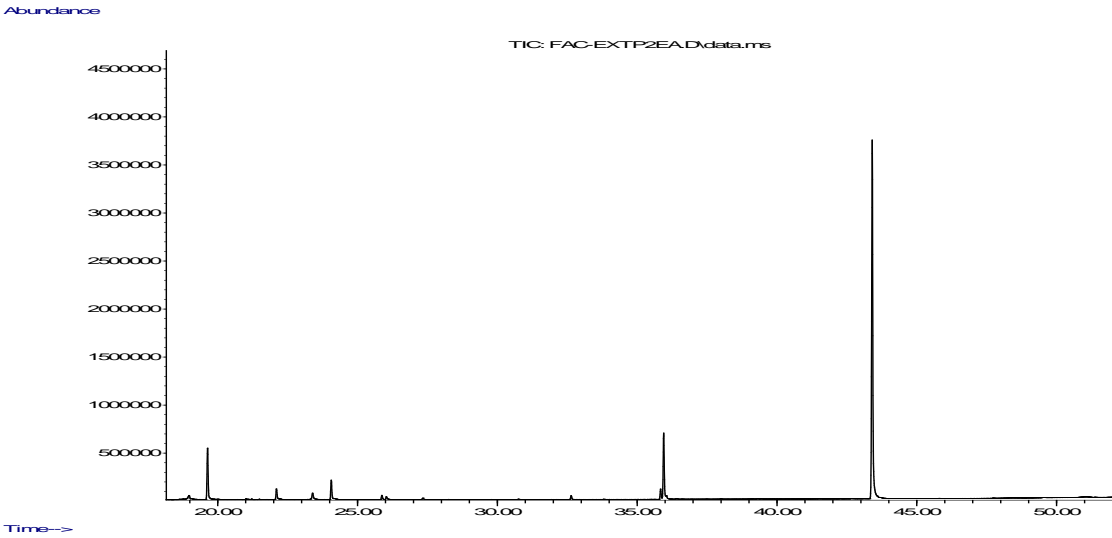
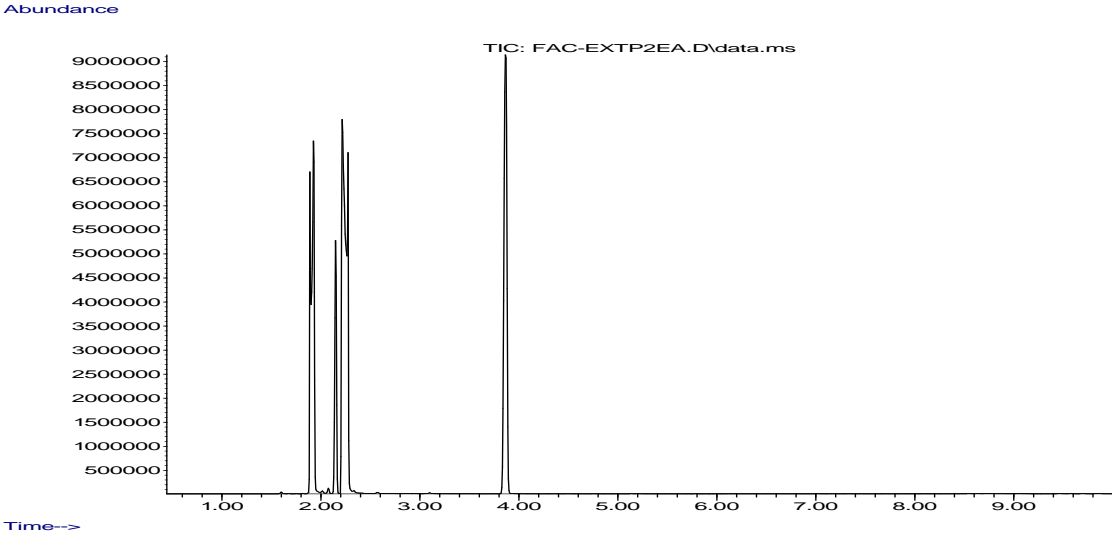




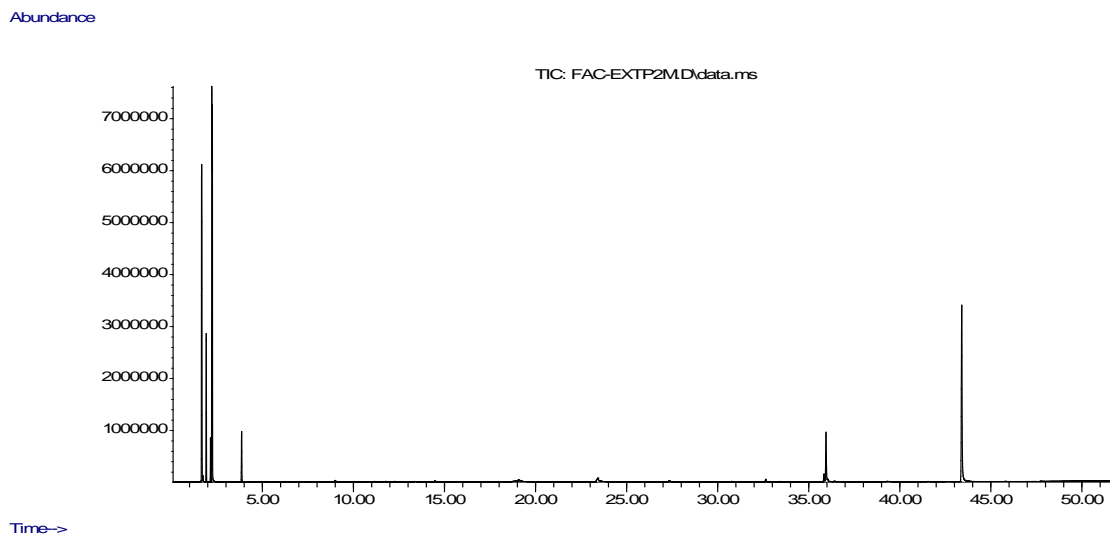
5.4. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de etil acetato en m2.



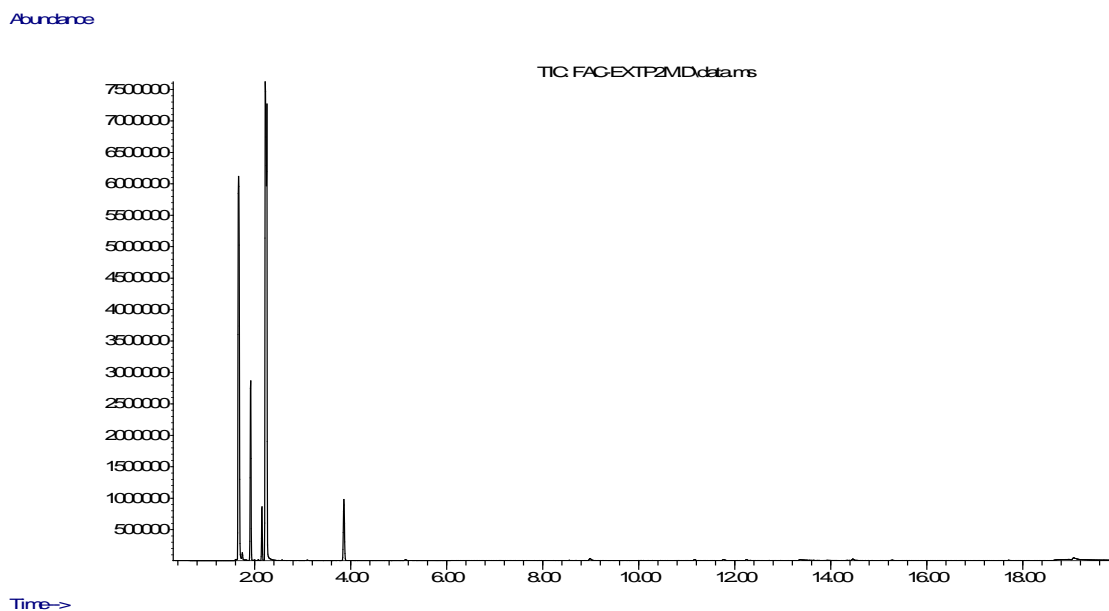
Acercamientos del cromatograma de la fracción eluida con la utilización de etil acetato en m2.

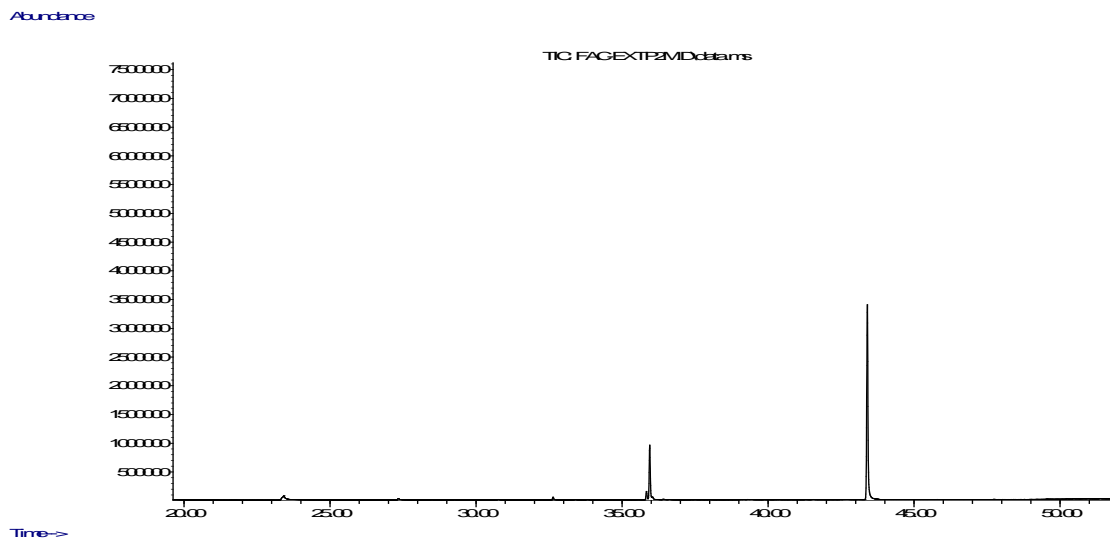


5.5. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de metanol en m2.



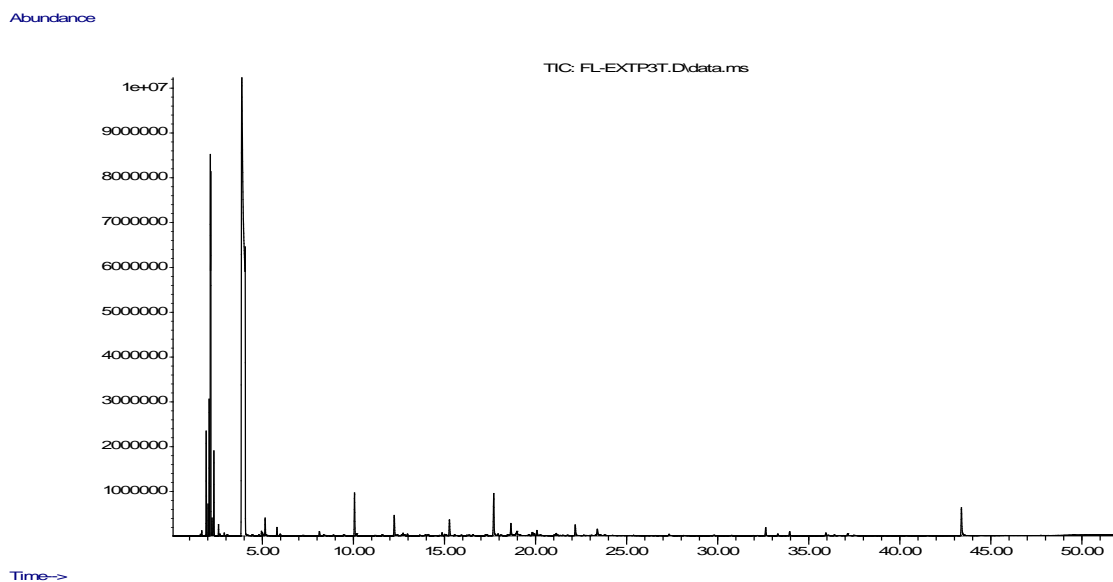
Acercamientos del cromatograma de la fracción eluida con la utilización de metanol en m2.



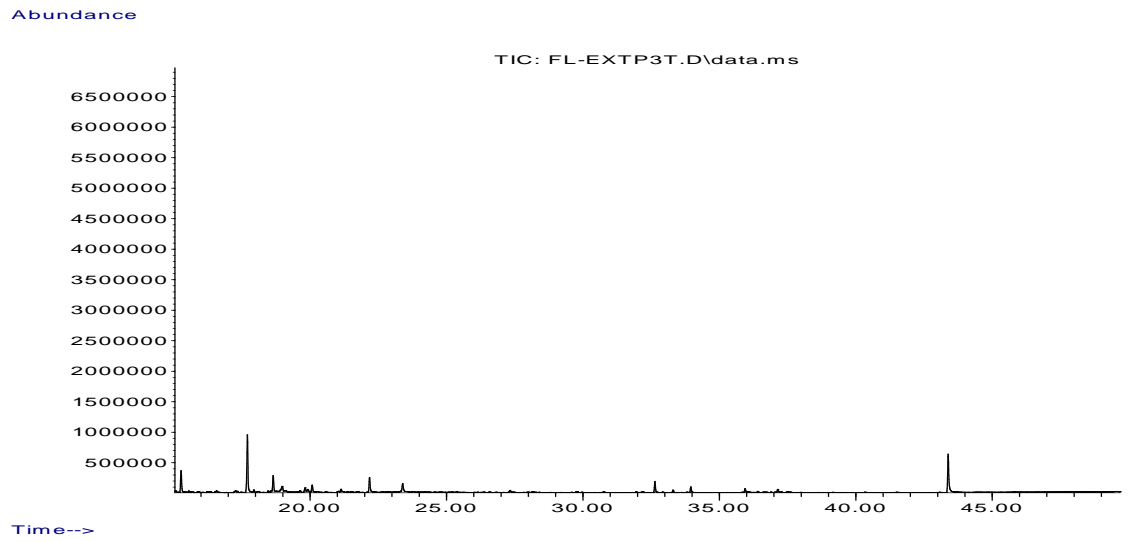
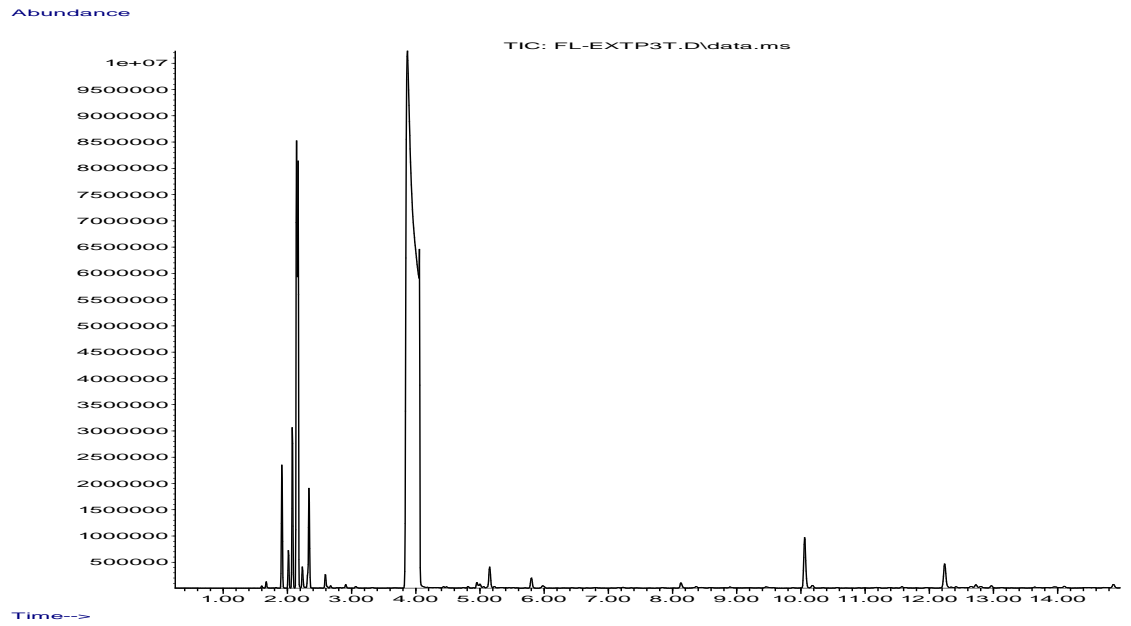


6. FASE LIGERA m3

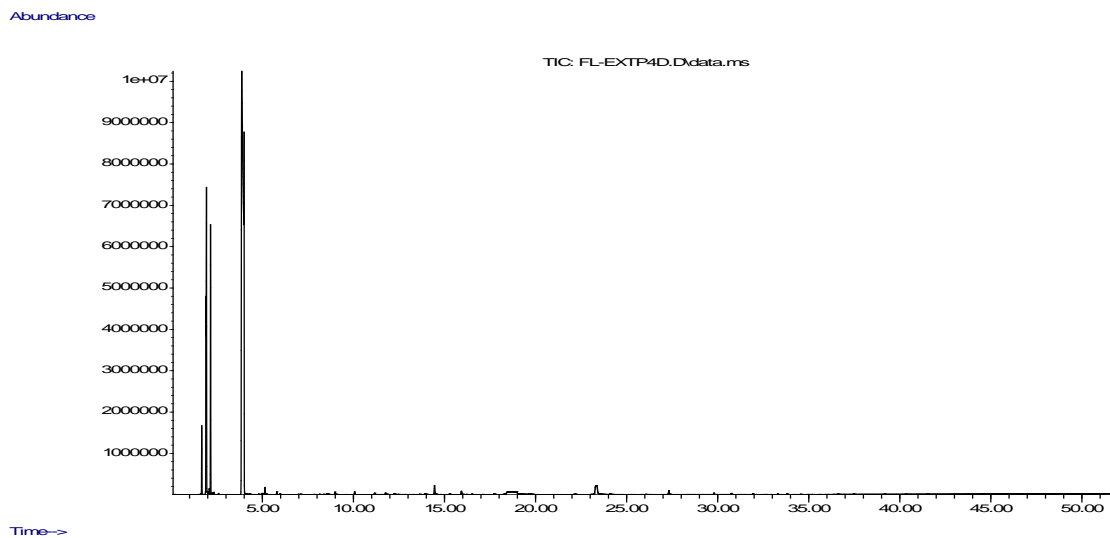
6.1. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de tolueno en m3.



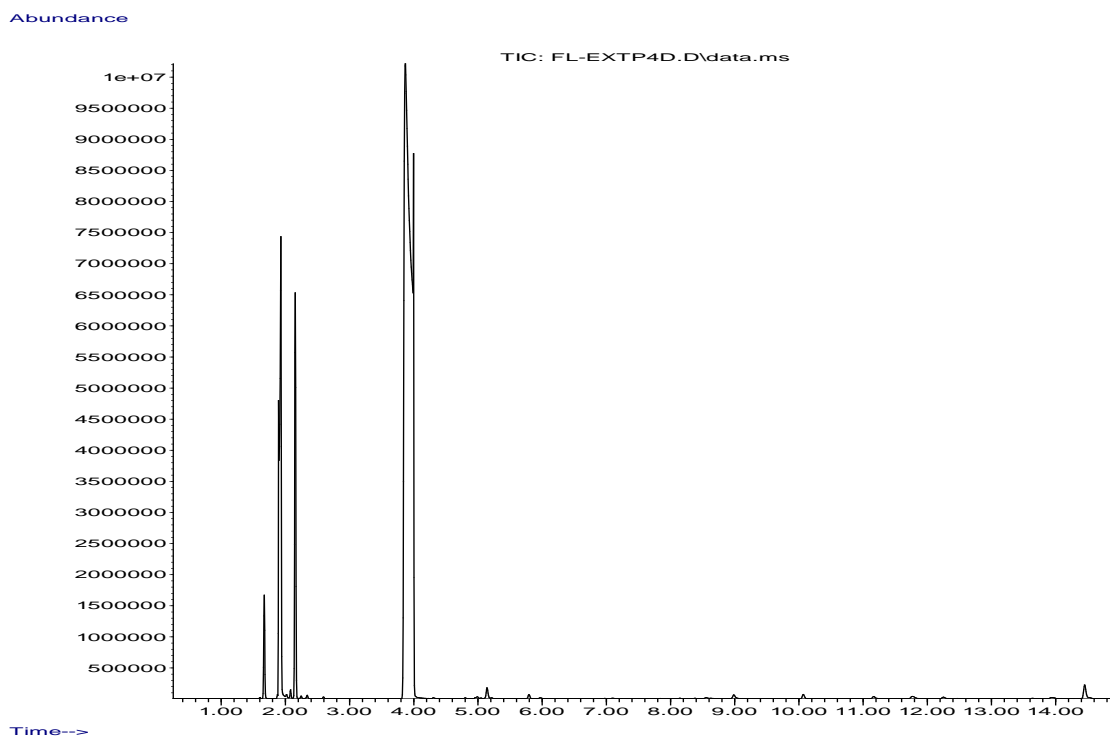
Acercamiento del cromatograma de la fracción eluida con la utilización de tolueno en m3.



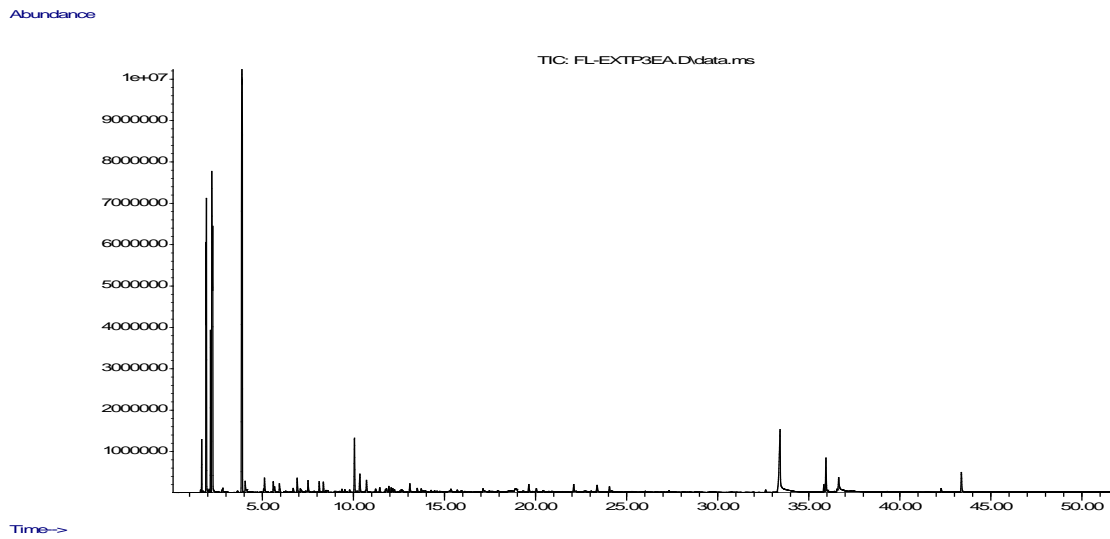
6.2. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de diclorometano en m3.



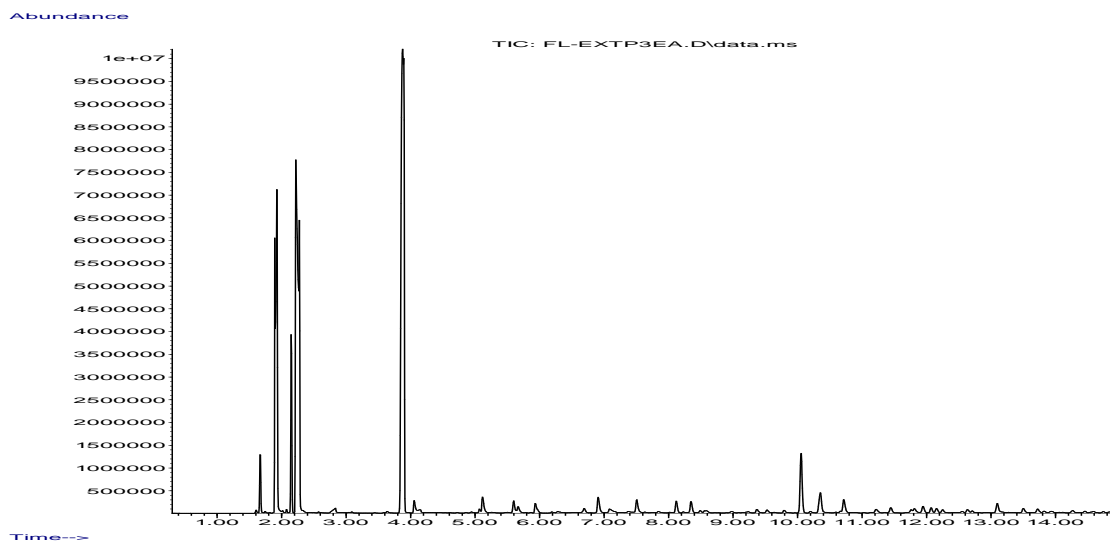
Acercamiento del cromatograma de la fracción eluida con la utilización de diclorometano en m3.

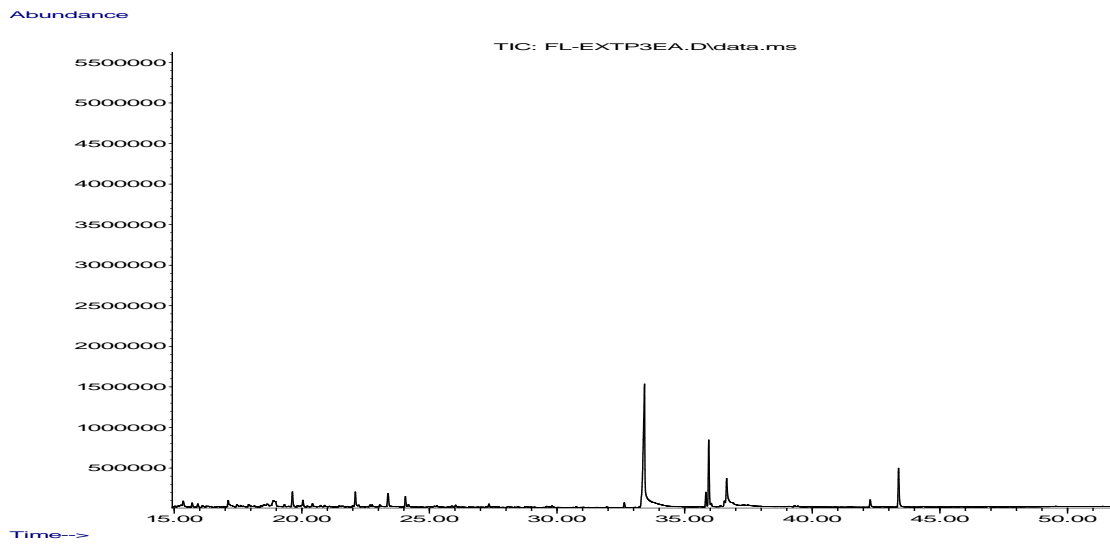


6.3. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de etil acetato en m3.



Acercamiento del cromatograma de la fracción eluida con la utilización de etil acetato en m3.





6.4. Cromatograma de la fracción eluida con la utilización de etil acetato en m3.

