

Analyse des espèces oxygénées présentes dans les produits issus de la valorisation de la biomasse

Résumé Le développement de nouveaux procédés et catalyseurs pour une chimie durable est au cœur d'intenses efforts de recherche et d'innovation partout dans le monde. L'essor de nouvelles molécules biosourcées produites à partir de ressources renouvelables telles que la biomasse lignocellulosique doit nécessairement s'accompagner d'outils de caractérisation performants et adaptés, en particulier pour l'analyse de composés oxygénés. Cet article propose un panorama des différents volets que peut comprendre une stratégie analytique, avec un focus particulier sur des techniques de fractionnement et des techniques séparatives en rupture par rapport aux approches plus classiques. Les caractéristiques clés de ces techniques sont décrites au travers de l'analyse d'une huile de pyrolyse rapide de biomasse lignocellulosique, exemple choisi pour illustrer la grande complexité chimique que peut revêtir une matrice organique oxygénée issue d'une biomasse lignocellulosique.

Mots-clés Chimie durable, biomasse lignocellulosique, composés oxygénés, caractérisation, fractionnement, chromatographie, analyse structurale.

Abstract Analysis of oxygen containing compounds in biomass valorization products

Related to the concept of sustainable chemistry, production of new bio-based molecules from renewable resources such as lignocellulosic biomass requires necessarily relevant and adapted tools for products characterization, and in particular for the analysis of oxygen containing compounds. This paper provides an overview of several aspects of an analytical strategy, dealing specifically with disruptive fractionation (size exclusion chromatography, centrifugal partition chromatography) and separation (bidimensional liquid chromatography, supercritical fluid chromatography) techniques. Key points of these techniques are described using a biomass fast pyrolysis oil as an example to illustrate the great chemical complexity of organic oxygenated matrices derived from lignocellulosic biomass.

Keywords Sustainable chemistry, lignocellulosic biomass, oxygen containing compounds, characterization, fractionation, chromatography, structural analysis.

Favoriser l'essor de nouveaux composés biosourcés pour la production de molécules plateformes ou de grands intermédiaires chimiques, à ce jour essentiellement d'origine fossile, s'inscrit dans cette démarche de chimie durable. La valorisation de la biomasse lignocellulosique est devenue depuis plusieurs années une thématique phare de recherche et d'innovation pour les équipes universitaires comme pour les industriels.

Matériau abondant et largement réparti dans le monde, la biomasse lignocellulosique est une matière première de composition chimique complexe et variable, constituée en large majorité de macromolécules oxygénées que sont la cellulose, les hémicelluloses et la lignine, mais également d'espèces minoritaires (extractibles, minéraux...) dont les proportions et les structures chimiques divergent selon plusieurs facteurs comme l'espèce végétale, la zone géographique et les conditions de croissance ou encore la saison de récolte. Les procédés de transformation de la biomasse doivent prendre en compte cette grande hétérogénéité de composition afin d'être suffisamment flexibles pour accepter un approvisionnement continu en biomasses tout au long de l'année. À cela s'ajoute la diversité des procédés, des catalyseurs et des conditions de transformation qui contribue à générer des produits de natures très variées. La connaissance des solutions obtenues est donc indispensable pour en maîtriser et en optimiser la production dans un climat fortement concurrentiel. La problématique de l'analyse de composés oxygénés n'est certes pas récente et la caractérisation des produits ex-biomasse (*i.e.* provenant de la conversion de la biomasse lignocellulosique

par différents procédés) peut bénéficier aujourd'hui de progrès techniques et scientifiques toujours plus avancés. Il n'en demeure pas moins que pouvoir disposer d'une approche analytique pertinente est une condition clé pour le développement de nouveaux procédés et catalyseurs performants.

Une stratégie analytique multi-technique

La stratégie analytique doit être adaptée selon les caractéristiques du mélange à étudier afin d'accéder à la description moléculaire qualitative et quantitative la plus complète possible de celui-ci. Or les produits issus de la biomasse lignocellulosique sont constitués de plusieurs centaines, voire plusieurs milliers de molécules dont les propriétés physico-chimiques couvrent un large domaine de températures d'ébullition, de masses moléculaires et de polarités. Nous avons choisi ici d'illustrer cette complexité en traitant des huiles de pyrolyse rapide de biomasse. Celles-ci sont obtenues par liquéfaction de matériaux lignocellulosiques avec des rendements centrés autour de 70 %m/m, à des températures comprises typiquement entre 400 et 500 °C, des vitesses de chauffe élevées (> 1 000 °C/s), sous atmosphère inerte et pendant des temps de séjour très courts (< 2 s). La valorisation des molécules biosourcées contenues dans ces huiles de pyrolyse peut trouver différents domaines d'application : lévoglucosane et hydroxyacétaldéhyde pour la production de plastiques, d'additifs alimentaires ou de produits pharmaceutiques ; furfural et acide acétique pour la production de nylon, l'industrie chimique ou l'agriculture ; composés phénoliques et « biochars »

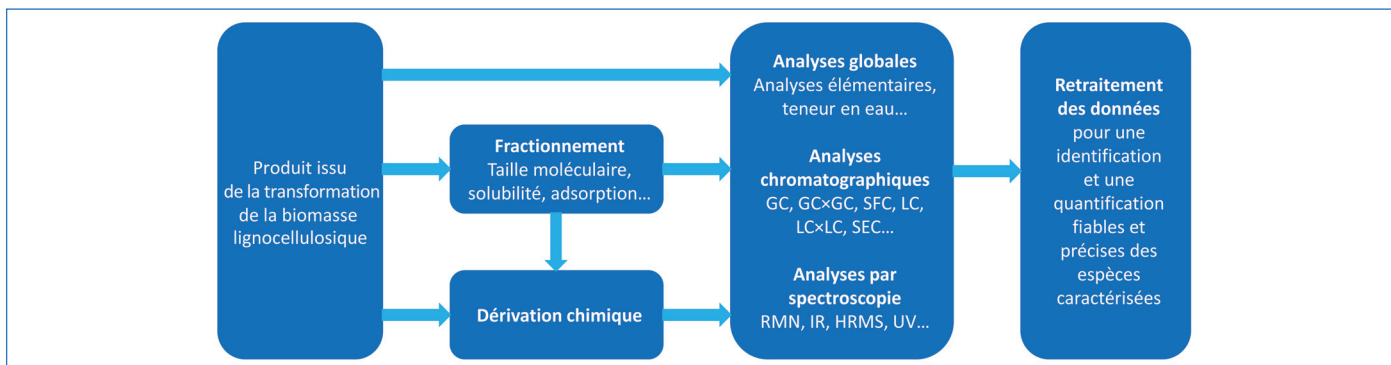


Figure 1 - Stratégie multi-technique pour l'analyse de liquéfiats issus de la transformation de biomasse lignocellulosique.

(résidus carbonés issus de la pyrolyse de la biomasse) pour la production de résines, de produits chimiques, de charbon actif ou de fertilisants de sols [1-2].

Très attractive par son haut pouvoir de séparation, la chromatographie en phase gazeuse mono- ou bidimensionnelle GC ou GCxGC a été et continue d'être largement utilisée dans la littérature, très souvent couplée avec un spectromètre de masse (MS) à des fins d'identification ou avec un détecteur par ionisation de flamme (FID) pour une analyse quantitative [3-4]. Plus de trois cents molécules identifiées par GC/MS et/ou GCxGC/MS dans des huiles de pyrolyse rapide de biomasse ont été inventoriées par Staš *et coll.* [3]. Les molécules oxygénées recensées appartiennent à diverses familles chimiques : acides carboxyliques, cétones, aldéhydes, esters, alcools non aromatiques, carbohydrates, furanes, phénols... Cette longue liste donne une idée de la diversité chimique à laquelle sont confrontées les équipes qui cherchent une valorisation de ce type de liquéfiats. Néanmoins, les espèces citées sont quasiment toutes limitées en termes de masses moléculaires à environ 300 g/mol. Or des analyses par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) ou par spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) ont montré que les huiles de pyrolyse rapide contiennent des espèces de masses moléculaires nettement plus élevées, pouvant atteindre quelques milliers de grammes par mole. La description détaillée accessible par la chromatographie en phase gazeuse est limitée pour plusieurs raisons : dégradation d'espèces thermosensibles lors de leur injection en tête du chromatographe, co-élutions, non-élution des molécules trop polaires ou trop peu volatiles, bases de données non renseignées pour l'identification des composés oxygénés au-delà d'un certain nombre d'atomes de carbone, faible rendement d'ionisation en MS de certaines fonctions chimiques.

Une description complète de la qualité d'une huile nécessite donc de faire appel à une approche plus large, ouverte sur d'autres techniques analytiques pour prendre en compte des particularités telles que la thermosensibilité de certaines familles oxygénées (exemple des carbohydrates) ou la forte probabilité que plusieurs fonctions chimiques soient présentes au sein d'une même molécule sous forme monomère, oligomère ou polymère. De manière générale, on peut imaginer que cette stratégie multi-technique soit idéalement basée sur des étapes complémentaires les unes des autres (*figure 1*) : dérivation ou fractionnement de l'échantillon pour extraire les composés ayant des propriétés physico-chimiques similaires, analyse des fractions par des techniques séparatives de haut pouvoir résolutif et/ou par des techniques spectroscopiques apportant des informations structurales, et enfin retraitement des données issues d'une multi-détection pour aboutir à une

identification univoque et une quantification fiable et précise des espèces caractérisées. Nous évoquerons plus particulièrement ici des exemples de fractionnement et d'analyse qui peuvent être appliqués aux huiles de pyrolyse rapide de biomasse.

Fractionnement en amont de la caractérisation analytique

Le fractionnement préliminaire de l'échantillon en amont de l'analyse est une étape clé qui mérite une attention particulière. Plusieurs mises en œuvre sont possibles, guidées selon la propriété physico-chimique ciblée (volatilité, taille moléculaire, polarité, groupements fonctionnels spécifiques) [5]. La chromatographie d'exclusion stérique est une technique très largement employée dans la littérature à une échelle analytique pour mesurer la distribution de masses moléculaires de solutions, mais très rarement à l'échelle semi-quantitative alors qu'elle pourrait être avantageusement utilisée avec une reproductibilité satisfaisante en préparation d'échantillon [6]. La *figure 2* présente les distributions de masses moléculaires de trois fractions obtenues à partir de 100 mg d'une huile de pyrolyse rapide. Dans ce cas, le choix a été fait de recueillir une fraction de faibles masses moléculaires et une fraction de masses moléculaires intermédiaires représentant respectivement 3 %m/m et 11 %m/m de l'huile sur base humide qui pourront être destinées à une analyse par chromatographie en phase gazeuse. La troisième fraction générée correspond aux masses moléculaires les plus élevées et représente 38 %m/m de l'huile sur base humide. Lors de ce fractionnement, 26 %m/m de pertes ont été observées et sont essentiellement attribuées à la perte d'espèces volatiles lors de l'évaporation à sec des

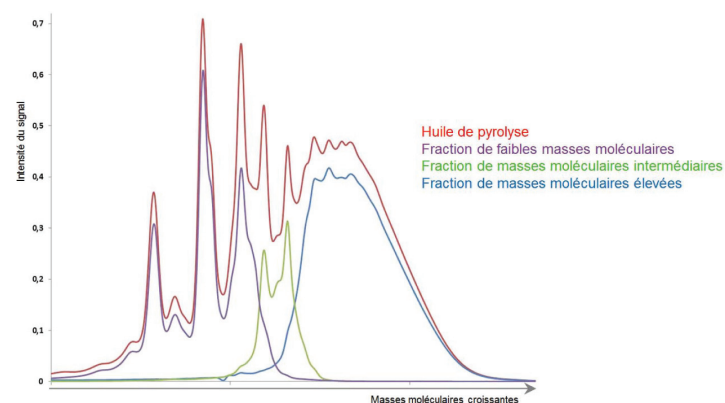


Figure 2 - Chromatogrammes SEC-UV (détection à 254 nm) d'une huile de pyrolyse rapide de biomasse et de ses trois fractions issues d'un fractionnement SEC à l'échelle semi-préparative (fractions non évaporées) [6].

fractions, opération réalisée afin d'éliminer la phase mobile (tétrahydrofurane) des fractions et pouvoir établir un bilan matière.

Récemment, la chromatographie de partage centrifuge a démontré son intérêt en guise de méthode de fractionnement d'une huile de pyrolyse rapide de biomasse à l'échelle semi-préparative : en introduisant dix grammes d'échantillon en tête de colonne sur un rotor d'un litre, il est en effet possible de recueillir des fractions dont la composition diffère selon le partage des molécules entre la phase mobile et la phase stationnaire, toutes deux liquides et non miscibles [7]. Le fait de ne pas utiliser de phase stationnaire solide assure une récupération quasi-totale de l'échantillon sans risque de perte de matière. De plus, les fractions sont obtenues en quantité suffisante pour être caractérisées par la suite *via* des techniques chromatographiques et/ou spectroscopiques.

Techniques séparatives alternatives à la chromatographie en phase gazeuse

L'essor d'outils séparatifs alternatifs et complémentaires à la chromatographie en phase gazeuse fait l'objet d'intenses recherches. On citera notamment les efforts portés sur la chromatographie en phase liquide bidimensionnelle (LCxLC), le plus souvent utilisée en phase inverse, qui offre une nouvelle opportunité pour caractériser les composés thermosensibles, polaires ou de hautes masses moléculaires. La *figure 3* illustre l'exemple d'un chromatogramme LCxLC-UV de la phase soluble à l'eau d'une huile de pyrolyse rapide pour lequel plus de 120 composés ont été séparés et détectés avec une capacité de pics théorique de 2000 [8]. Le point clé pour obtenir une séparation orthogonale des composés d'un mélange repose sur la sélection de deux phases stationnaires dont les sélectivités sont les plus différentes possibles et l'optimisation des systèmes phase stationnaire/phase mobile/température. Très prometteuse, cette approche demeure encore très peu répandue car elle reste complexe à mettre en œuvre et nécessite de plus amples développements au niveau de l'instrumentation et du traitement de données pour être pleinement opérationnelle.

Autre alternative à la chromatographie en phase gazeuse, la chromatographie en phase supercritique (SFC) a connu un regain d'intérêt grâce à la nouvelle génération d'instruments récemment commercialisés qui offrent de meilleures performances en termes de maintien de la pression dans le système et de reproductibilité des analyses. Cette technique présente l'avantage d'utiliser un fluide très peu visqueux (CO₂ proche de son état supercritique) comme phase mobile avec la possibilité de moduler sa polarité par l'ajout d'un modificateur de polarité (eau, méthanol, acétonitrile...). Les phases stationnaires peuvent être choisies parmi celles classiquement employées pour la chromatographie en phase liquide, de même que les détecteurs ultraviolet (UV) et MS peuvent être couplés en série à la sortie de la colonne SFC. Les applications de cette technique se diversifient de plus en plus par rapport à son domaine d'origine (produits naturels ou pharmaceutiques) [9-11]. Mono- ou multidimensionnelles, les chromatographies en phases gazeuse, liquide ou supercritique apparaissent donc comme des techniques séparatives incontournables dont le potentiel

est sans cesse démontré et élargi à de nouvelles matrices oxygénées. La mise au point de systèmes multidimensionnels conduit à un gain remarquable en capacité de pics (correspondant théoriquement au produit des capacités de pics de chaque dimension) et de sensibilité. La combinaison de mécanismes de rétention significativement différents en première et en seconde dimension est l'une des conditions à remplir pour occuper au mieux l'espace de rétention offert par le couplage de deux dimensions de séparation et séparer au mieux les composés d'un mélange complexe.

Analyses structurales

En complément ou en couplage avec ces approches chromatographiques, des techniques structurales sont également d'une aide très précieuse pour apporter des informations clés sur les descripteurs de molécules oxygénées : masse moléculaire, formule brute, degré d'insaturation ou encore proportion des différentes fonctions chimiques. Les techniques de spectrométrie de masse haute résolution telles que la spectroscopie à résonance ionique cyclotronique (FT-ICR/MS) ont ainsi révélé la complexité des huiles de pyrolyse rapide de biomasse grâce à leurs très grandes sensibilité et précision pour la mesure de masses molaires. Depuis quelques années, cette technique est utilisée le plus souvent avec une source d'ionisation électrospray (ESI), plus rarement avec une source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (APPI) ou une source de photoionisation à pression atmosphérique (APCI). Le choix de la source est fonction de la polarité et de la masse moléculaire des composés à analyser. De plus, chaque source peut être utilisée selon deux modes : le mode d'ionisation positif favorise la détection d'espèces basiques, tandis que le mode d'ionisation négatif est utilisé pour les molécules acides ou neutres. De manière générale, les abondances relatives les plus élevées dans le cas des huiles de pyrolyse rapide de biomasse sont observées pour des molécules contenant entre quatre et sept atomes d'oxygène et entre moins de dix et cinquante atomes de carbone [12-14]. La spectrométrie FT-ICR/MS permet donc de mesurer avec précision les masses molaires des espèces détectées, de leur attribuer une formule brute et d'en déduire les potentielles structures en s'appuyant sur les spectres obtenus par des fragmentations successives, ce processus étant appelé MSⁿ. Si ce type d'outil apporte une aide indéniable pour l'identification de composés, il est en revanche délicat de l'employer pour une caractérisation quantitative des molécules caractérisées, les rendements d'ionisation étant fortement dépendants de la structure des espèces [15].

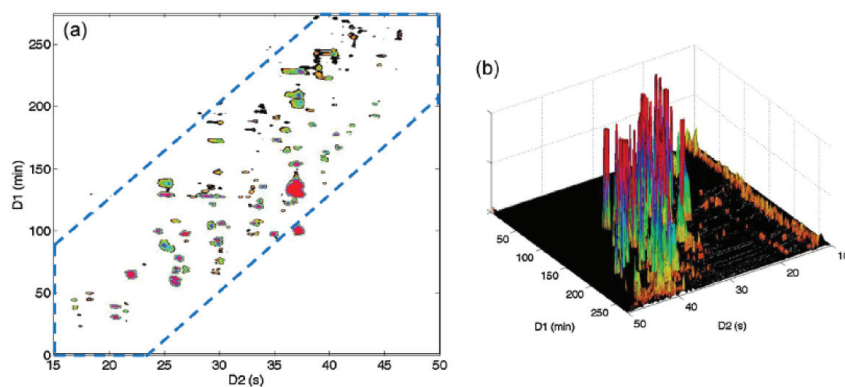


Figure 3 - (a) Chromatogramme LCxLC-UV de la phase soluble à l'eau d'une huile de pyrolyse rapide de biomasse, les lignes en pointillés représentant l'espace de séparation occupé. (b) Chromatogramme 3D avec en couleur l'intensité des pics détectés en UV à 254 nm (colonnes : Hypercarb et Acquity CSH Phenyl-Hexyl) [8].

La quantification globale des fonctions chimiques contenues dans une huile de pyrolyse rapide revêt également une grande importance pour juger de la réactivité thermique ou de la stabilité au stockage d'un liquéfiant. Par exemple, les carbonyles sont connus pour être les premiers responsables de l'instabilité thermique des huiles lorsque celles-ci sont chauffées au-delà de 50 °C ou de l'évolution de leurs propriétés physico-chimiques au cours du temps ; leurs teneurs peuvent être dosées globalement par des titrages potentiométriques [16-17]. Les teneurs en carbonyles ainsi que celles d'autres fonctions chimiques sont également déterminées par spectroscopie infrarouge (IR) ou par résonance magnétique nucléaire (RMN). En ce sens, le couplage des techniques RMN ¹H et ¹³C donnent accès à une véritable cartographie des fonctions chimiques contenues dans les huiles, utile notamment pour décrire les motifs aromatiques issus de la dégradation par la pyrolyse de la lignine [18].

Soulignons toutefois que concilier les résultats d'analyses moléculaires et ceux d'analyses de fonctions chimiques est d'autant plus ardu que les produits ex-biomasse ont une forte probabilité d'être polyfonctionnels.

La production de molécules plateformes et de produits chimiques à partir de biomasses lignocellulosiques est l'une des voies promouvant le concept de chimie durable. La clé pour une description pertinente de la composition de ces matrices oxygénées complexes ex-biomasse réside dans le développement d'une démarche multi-technique alliant de nouveaux outils de préparation d'échantillon et d'analyses qualitative et quantitative. Des progrès significatifs ont eu lieu depuis de nombreuses années, avec l'émergence de systèmes multidimensionnels (GC×GC, LC×LC, RMN 2D) ainsi que ceux de spectrométrie de masse haute résolution. Quelle que soit la technique envisagée, pour aller plus loin qu'une description qualitative, l'analyse quantitative est une problématique qui doit être considérée car les coefficients de réponse des molécules oxygénées peuvent différer de manière importante selon leur structure. De plus, les gammes de teneurs des espèces oxygénées peuvent être très variables selon les échantillons, ce qui nécessite un soin particulier lors de la préparation des étalons pour un étalonnage externe ou interne. Enfin, le retraitement des données, générées en grand nombre à partir de différents modes de détection et/ou différentes techniques analytiques, est destiné à prendre de l'ampleur dans les prochaines années pour l'élaboration de bases de données spécifiques des molécules oxygénées présentes dans les produits ex-biomasse.

[1] Czernik S., Bridgwater A., Overview of applications of biomass fast pyrolysis oil, *Energy Fuels*, **2004**, *18*, p. 590.

[2] de Wild P., *Biomass pyrolysis for chemicals*, Thèse de doctorat, Rijk University Groningen, **2011**.

[3] Staš M., Kubička D., Chudoba J., Pospíšil M., Overview of analytical methods used for chemical characterization of pyrolysis bio-oil, *Energy Fuels*, **2014**, *28*, p. 385.

[4] Negahdar L. *et al.*, Characterization and comparison of fast pyrolysis bio-oils from pinewood, rapeseed cake, and wheat straw using ¹³C NMR and comprehensive GC×GC, *ACS Sustain. Chem. Eng.*, **2016**, *4*, p. 4974.

[5] Kanaujia P., Sharma Y., Agrawal U., Garg M.O., Analytical approaches to characterizing pyrolysis oil from biomass, *Trends Anal. Chem.*, **2013**, *42*, p. 125.

[6] Charon N., Le Masle A., Chahen L., Second-generation biofuels and bio-products: an overview of recent projects at IFPEN, *Biomass Conversion: Green Chemistry & Innovative Processes*, Chimie ParisTech, 10-11 mars **2016**.

[7] Le Masle A. *et al.*, Vers une meilleure compréhension des produits issus de la conversion de la biomasse lignocellulosique, Journée thématique « Chimie analytique pour l'énergie », Société Chimique de France, Paris, **2017**.

[8] Le Masle A. *et al.*, Development of on-line comprehensive two-dimensional liquid chromatography method for the separation of biomass compounds, *J. Chrom. A*, **2014**, *1340*, p. 90.

[9] Lemasson E., Bertin S., Hennig P., Lesellier E., West C., Comparison of ultra-high performance methods in liquid and supercritical fluid chromatography coupled to electrospray ionization-mass spectrometry for impurity profiling of drug candidates, *J. Chrom. A*, **2016**, *1472*, p. 117.

[10] Duval J. *et al.*, Hyphenation of ultra high performance supercritical fluid chromatography with atmospheric pressure chemical ionisation high resolution mass spectrometry. Part 1: Study of the coupling parameters for the analysis of natural non-polar compounds, *J. Chrom. A*, **2017**, *1509*, p. 132.

[11] Crepiau J., Le Masle A., Charon N., Albireux F., Heinisch S., Development of a supercritical fluid chromatography method with ultraviolet and mass spectrometry detection for the characterization of biomass fast pyrolysis bio oils, *J. Chrom. A*, **2017**, *1510*, p. 73.

[12] Abdelnur P. *et al.*, Characterization of bio-oils from different pyrolysis process steps and biomass using high-resolution mass spectrometry, *Energy Fuels*, **2013**, *27*, p. 6646.

[13] Kekalainen T., Venalainen T., Janis 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*, p. 4596.

[14] Miettinen I. *et al.*, Characterization of fast pyrolysis oil from short-rotation willow by high resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, *Fuel*, **2017**, *20*, p. 189.

[15] Staš M. *et al.*, Application of orbitrap mass spectrometry for analysis of model bio-oil compounds and fast pyrolysis bio-oils from different biomass sources, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **2017**, *124*, p. 230.

[16] Oasmaa A., Korhonen J., Kuoppala E., An approach for stability measurement of wood-based fast pyrolysis bio-oils, *Energy Fuels*, **2011**, *25*, p. 3307.

[17] Black S., Ferrell J., Determination of carbonyl groups in pyrolysis bio-oils using potentiometric titration: review and comparison of methods, *Energy Fuels*, **2016**, *30*, p. 1071.

[18] Yu Y., Chua Y., Wu H., Characterization of pyrolytic sugars in bio-oil produced from biomass fast pyrolysis, *Energy Fuels*, **2016**, *30*, p. 4145.

Nadège CHARON*, Agnès LE MASLE et Ludovic CHAHEN, ingénieurs de recherche dans la Direction Physique et Analyse à IFP Energies nouvelles.

* IFPEN, Rond-point de l'Échangeur de Solaize, BP 3, F-69360 Vernaison.

Courriel : nadege.charon@ifpen.fr

