

HPLC-ELSD 法测定生物柴油中游离甘油含量

李蓉, 梁楠, 李曙光, 王武生, 陈斌*, 马晓迅

(陕北能源先进化工利用技术教育部工程研究中心, 陕西省洁净煤转化
工程技术研究, 西北大学化工学院, 西安 710069)

摘要:建立了高效液相色谱(HPLC)-蒸发光散射(ELSD)法测定生物柴油中游离甘油的方法。用水萃取生物柴油中的甘油,选用强酸型阳离子交换柱(Ultimate XB-SCX)分离甘油和杂质,流动相为乙腈-水(25:75, V:V),柱温35℃;ELSD漂移管温度30℃,载气压力360 kPa。结果表明:在7.12~307.31 mg/kg范围内,甘油峰面积和其浓度的对数具有良好的线性相关性,相关系数 r 为0.9929。甘油的回收率为96.3%~105.6%,RSD均小于2.0%($n=5$)。最低检测限(LOD)和最低定量限(LOQ)分别为2.50 mg/kg、7.12 mg/kg。该研究为生物柴油中游离甘油的提取和检测提供了一种快速高效的方法。

关键词: 高效液相色谱; 蒸发光散射器; 生物柴油; 甘油; 抽提

中图分类号: O657.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-0720(2012)07-036-04

生物柴油是将原料油通过酯交换工艺,制成性质与矿物柴油接近,可替代石化柴油的可再生性柴油燃料^[1]。甘油是生物柴油生产过程中主要的副产物^[2],其含量是评价生物柴油质量的重要指标之一。已制定的生物柴油标准中都规定:生物柴油中游离甘油的含量不能超过200 mg/kg^[3-5]。通常,生物柴油粗品中的游离甘油可通过水洗和膜分离等方法去除^[6-7]。

生物柴油中游离甘油的检测方法有:化学法^[8-11];气相色谱法^[12];薄层色谱法^[13];近红外光谱法(NIR)^[1]。高效液相色谱法在生物柴油体系中应用比较广泛,多用于脂肪酸及各种酯类的检测^[14-16],但用于游离甘油的检测报道并不多。Martin Hájek等^[17]采用水萃取体系,Separon™ SGX柱分离,示差折光检测器(RID)检测,但样品制备时间长;P. Lozano等^[18]采用水-正己烷萃取体系,AM1(DIONEX)柱分离,脉冲安培检测器(PAD)检测,但甘油和杂质分离度不理想;何文绚等^[19]采用

自制C18柱吸附并保留生物柴油中主要成分,淋洗出甘油,Phenomenex Luna C18柱分离,RID检测,但样品制备繁琐,谱图分离度差。作者之前曾^[20]采用乙腈-水溶液作为萃取液,NH₂柱分离,ELSD检测,但NH₂柱在流动相影响下容易水解,色谱柱寿命短,且抽提成本高。

针对现有方法的不足,本文使用纯水萃取技术,用Ultimate XB-SCX柱分离甘油,采用ELSD检测生物柴油中甘油的含量。提出的定量检测方法克服了甘油无紫外吸收,PAD检测受干扰较多,以及RID检测平衡时间长,对温度变化敏感等不足。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪,ELSD-LT II 检测器(日本岛津公司),色谱柱:Ultimate XB-SCX(月旭,250×4.6 mm,5 μm);RE-5203型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);TDL-60B型台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

收稿日期:2011-12-20; 修订日期:2012-01-20

基金项目:陕西省科技攻关计划项目(2009K10-02)、陕西省自然科学基金项目(2011JM2013)、陕西省教育厅自然科学基金项目(09JK735&09JK758)和西北大学科研启动基金项目(PR10028)资助

作者简介:李蓉(1971-),女,副教授;E-mail: lhr40222@tom.com

乙腈、甲醇(色谱纯,霍尼韦尔);超纯水(自制);生物柴油(自制^[21]);甘油(AR);一级大豆油。

1.2 样品溶液

量取 8.00 mL 待测生物柴油于 20 mL 的试管中,加入 2.00 mL 抽提液,振荡 6 min, 4000 r/min 下离心 15 min,移取下层溶液待检。

2 结果与讨论

2.1 抽提液和色谱条件的选择

2.1.1 抽提液 分别考察了乙腈水溶液和纯水萃取对甘油的抽提效果(见表 1)。结果表明:与乙腈水抽提液相比,尽管在纯水体系中甘油的抽提量较低,但萃取出的杂质却较少,使得甘油的纯度反而略高。这是因为乙腈水抽提液可以与油混溶,因此萃取出来的杂质较多,本文采用纯水作为抽提液。

表 1 不同抽提液的萃取效果

Tab. 1 Results of different extracts

乙腈:水(V:V)	0:100	25:75	50:50	75:25
甘油峰面积	1308417	1404257	1429678	1565747
杂质峰面积	1658	2317	2411	2612
甘油纯度 w/%	99.87	99.84	99.83	99.83

2.1.2 色谱柱类型 甘油的液相检测方法常用的色谱柱有阳离子交换糖柱和 NH₂ 柱,对于本报道生物柴油中甘油的检测,由于存在长链脂肪酸单烷基酯等杂质的影响,糖柱不能将甘油和杂质很好的分开,且峰型差;NH₂ 柱虽能将甘油和杂质很好的分离,但是在流动相(乙腈水溶液)影响下,NH₂ 容易水解,使用寿命短。本文采用 Ultimate XB-SCX 柱,根据亲水作用色谱(HILIC)分离模式,利用样品在固定相表面吸附的“富水层”与流动相中的分配差异,可以将甘油和杂质很好的分离开。同时色谱柱不受流动相的影响,且柱寿命长,因而有一定的优势。

2.1.3 流动相 选用一定比例的乙腈水溶液和甲醇水溶液对抽提后的实际样品进行检测。实验发现乙腈水溶液的分离效果较好;之后再选用不同比例的乙腈水溶液对同一样品检测发现,当乙腈:水=25:75(V:V)时分离度好,洗脱能力强,响应信号高,故采用 25% 乙腈溶液作为流动相。

2.1.4 流速 分别采用 0.4、0.5、0.6、0.8 mL/min 的流速对同一甘油样品进行检测,结果表明当流速为

0.8 mL/min 时,峰型尖锐,但分离度不够;流速为 0.4 mL/min 时,峰型较宽,出峰时间延长,综合考虑之下,选择流速为 0.5 mL/min。

2.1.5 ELSD 参数 载气压力和漂移管温度是 ELSD 检测器的主要参数,是决定样品和流动相能否气化的决定性因素。通过对漂移管温度进行优化,可以看出(图 1)漂移管温度越高,甘油的响应信号越低,杂质的响应信号几乎不变。由于本方法的流动相为 25% 的乙腈溶液,含水量较高,考虑到 ELSD 对水的雾化能力和使用的稳定性,在既定的流速条件下,选定漂移管的使用温度为 30 °C。此外,本方法中 ELSD 的使用载气为压缩空气,一般载气的压力减小,ELSD 的雾化能力降低,基线噪音增大,故选择厂家建议的载气压力 360 kPa,基线噪音约为 0.2 mV,增益设定为 2,满足了检测的需要。

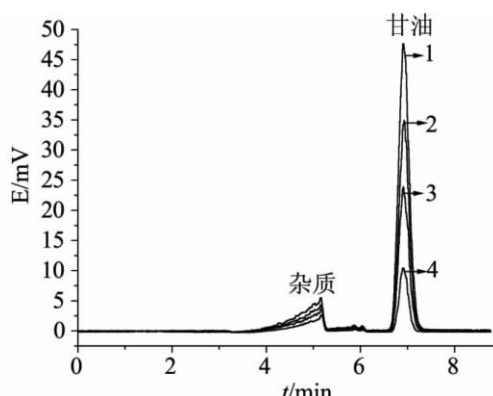


图 1 不同漂移管温度下样品的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of the samples at different drift temperatures

1-28 °C; 2-30 °C; 3-32 °C; 4-35 °C

2.1.6 柱温 考察不同柱温对甘油检测的影响。结果表明,柱温对甘油分离没有太大的影响。但柱温低时色谱柱压力较大且不稳定,故设定柱温为 35 °C,柱压为 5.7 MPa。

2.2 线性范围考察

参照吕扬效等^[10]的方法制备去除游离甘油的精制生物柴油,准确称量 0.0488 g 甘油于 250 mL 的锥形瓶中,加入 158.80 g 精制生物柴油,在 50 °C 水浴中搅拌 20 min,得到已知准确浓度的甘油原溶液。逐级稀释配制一系列标准溶液,用所建立的 HPLC-ELSD 法进行检测,以峰面积 A 和甘油浓度

C的自然对数作图,得到图2的结果。

由下图可知,在7.12 ~ 307.31 mg/kg 范围内,甘油峰面积和其浓度的对数具有良好的线性相关性,且相关系数 r 为 0.9929。

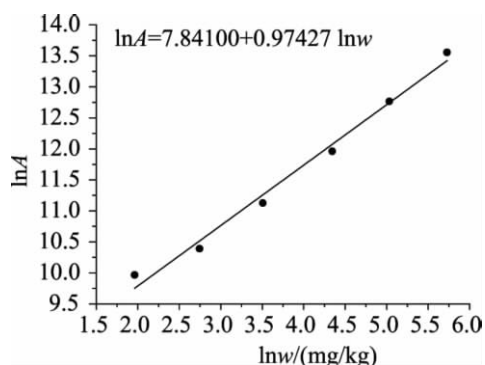


图2 甘油标准曲线

Fig. 2 Calibration curve of glycerol

2.3 回收率

按照2.2中所述的方法分别配制线性范围内高、中、低3个浓度的生物柴油样品,按照所建立的方法进行5次平行测定,依据2.2的标准曲线计算出回收率,结果见表2。

表2 回收率实验

Tab. 2 Recovery test for glycerol (n = 5)

加入量 $w/(mg/kg)$	测得量 $w/(mg/kg)$	回收率 /%	RSD /%
307.31	311.24	101.3	2.0
178.50	188.54	105.6	1.5
50.26	48.40	96.3	1.3

2.4 检测限(LOD)和定量限(LOQ)

按照2.2中所述的方法逐级稀释得到一系列含量已知的生物柴油样品,用所建立的方法进行LOD和LOQ测定。结果表明,样品中甘油的LOD为2.50 mg/kg,LOQ为7.12 mg/kg,低于欧盟和美国等国家生物柴油中游离甘油标准含量不得超

过200 mg/kg的检测规定,适用于实际生物柴油样品中微量游离甘油的检测和定量。

参考文献

- [1] M. Pilar Dorado, Sara Pinzi. Fuel, 2011, 90(6): 2321
- [2] Jon Van Gerpen. Fuel Process Technol, 2005, 86(10): 1097
- [3] EN14214 European Committee for Standardization
- [4] EN14106 European Committee for Standardization
- [5] ASTM D 6751 American Society for Testing and Materials
- [6] 黄彩霞,谢贵水,刘荣厚. 农机化研究, 2008, (11): 149
- [7] Jehad Saleh, André Y. Tremblay, Marc A. Dubé Fuel, 2010, 89(9): 2260
- [8] 刘伟伟,苏有勇,张无敌,等. 可再生能源, 2005, 3(121): 14
- [9] 郭萍梅,黄庆德. 粮食与油脂, 2003, (8): 41
- [10] 吕扬效,杨继国,杨博. 中国油脂, 2006, 31(9): 66
- [11] 阎杰,丘泰球. 中国油脂, 2004, 29(1): 40
- [12] Mittelbach M. Chromatogr, 1993, 37(11-12): 623
- [13] Karan Bansal, Jonathan McCrady. Fuel, 2008, 87(15-16): 3369
- [14] Freedman B, Pryde EH, Kwolek WH. J Am Oil Chem Soc, 1984, 61(7): 1215
- [15] Santori G, Arteconi A Di Nicola G. Energy&Fuel, 2009, 23(7): 3783
- [16] Knothe G. J Am Oil Chem Soc, 2006, 83(10): 823
- [17] Martin Hájek, František, Jaroslav Machek. Eur J Lipid Sci Technol, 2006, 108(8): 666
- [18] Lozano P, Chirat N, Graille J. Fresenius J Anal Chem, 1996, 354(3): 319
- [19] 何文绚,刘昌明,张昌财. 闽江学院学报, 2011, 32(2): 97
- [20] 李蓉,王武生,马晓迅,等. 分析测试学报, 2011, 30(10): 1167
- [21] 蒲丽莉,王硕,张学霞,等. 黑龙江工程学院学报, 2008, 22(2): 75

Determination of free glycerol content in biodiesel by HPLC-ELSD

LI Rong, LIANG Nan, LI Shu-guang, WANG Wu-sheng, CHEN Bin* and MA Xiao-xun (Chemical Engineering Research Center of the Ministry of Education for Advanced Use Technology of Shanbei Energy, Shaanxi Research Center of Engineering Technology for Clean Coal Conversion, School of Chemical Engineering, Northwest University, Xi'an 710069), Fenxi Shiyanshi, 2012, 31(7): 36 ~ 39

Abstract: A method based on high performance liquid chromatography (HPLC) with evaporative light-scattering

detector (ELSD) was proposed to determine the free glycerol content in biodiesel. Glycerol in biodiesel was extracted with pure water. The separation of glycerol from impurities was performed with a strong acid ion exchange column (Ultimate XB-SCX column), the mixture of acetonitrile and water (25:75, V:V) was used as mobile phase, column temperature was 35 °C, drift tube temperature of ELSD was 30 °C and gas pressure of nebulizer was 360 kPa. As a result, a good linear correlation ($r = 0.9929$) was observed when the contents of free glycerol in biodiesel were in the range of 7.12 to 307.31 mg/kg. The recoveries of the method were from 96.30% to 105.60%, and the relative standard deviations (RSD) were all less than 2.0% ($n = 5$). The limit of detection (LOD) and the limit of quantitation (LOQ) were 2.50 mg/kg and 7.12 mg/kg, respectively. This study provides a fast and effective way for extracting and detecting free glycerol in biodiesel.

Keywords: High performance liquid chromatography; Evaporative light-scattering detector; Biodiesel; Glycerol; Extraction

中国化学会第十一届全国分析化学年会 征文通知(第二轮)

由中国化学会、青岛科技大学承办的第十一届全国分析化学年会,定于2012年10月26~29日在青岛召开,10月26日报到。会议将就我国自上届学术会议以来分析化学学科的新成就、新进展进行学术交流和讨论,会议邀请国内外从事分析化学研究的著名科学家、中青年学者、技术人员和仪器生产厂商参加,热忱欢迎踊跃投稿并到会交流。

一、征文要求

征文范围详见第一轮通知(可访问会议网站 <http://ac.qust.edu.cn/>)。投稿论文要求主题明确、数据可靠、逻辑严密、文字精炼。文稿必须包括题名、作者姓名和单位、中文摘要和关键词(3~6个)、中图分类号、正文、参考文献、英文题名和作者姓名及单位。请严格按照论文模板投稿。模板见会议网站(<http://ac.qust.edu.cn/>)。

在首页页脚处写明第一作者简介(出生年、性别、职称、学位)以及基金资助情况(标出项目批准号)。请同时提供稿件联系人的电话、传真、详细通讯地址和E-mail。论文用Word文件,通过会议网站网上投稿系统提交会议论文。

本次会议将增设青年论坛及仪器专场报告会。

二、会议注册和回执

1、注册费标准、要求和汇款方式可登录本会议网站 <http://ac.qust.edu.cn/> 查询。中国化学会会员和学生注册后需提交有效证件以享受注册费优惠。

2、2012年6月在会议网站上公布宾馆住宿标准及预订事项。请拟参加会议的代表请在线填写会议回执。

三、其它事项

会议相关事宜请与青岛科技大学化学与分子工程学院张书圣教授、丁彩凤教授联系。筹备组联系电话:0532-84022750(张书圣),0532-84022946(丁彩凤),传真:0532-84022750。

论文相关事宜请与接桂芬老师联系,电话:15166038289

厂商赞助参展等相关事宜请与本次会议指定展览招商筹备组联系,联系人:梅振华,电话:13730932176。会议网站: <http://ac.qust.edu.cn/>。

会议第三轮通知包括具体会议日程安排、报到地点等事宜将在会议网站 <http://ac.qust.edu.cn/> 上发布。