

Nghiên cứu quy trình phân tích một số axit hữu cơ mạch ngắn phục vụ cho việc kiểm soát chất lượng Biodiesel bằng phương pháp điện di mao quản

Dương Hồng Anh*, Nguyễn Văn Quân

*Trung tâm Nghiên cứu Công nghệ môi trường và Phát triển bền vững (CETASD),
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQĐHN, 334 Nguyễn Trãi, Hà Nội, Việt Nam*

Nhận ngày 6 tháng 7 năm 2015

Chỉnh sửa ngày 30 tháng 7 năm 2015; Chấp nhận đăng ngày 10 tháng 3 năm 2016

Tóm tắt: Hàm lượng các axit hữu cơ mạch ngắn trong biodiesel gốc và nhiên liệu biodiesel là những chỉ tiêu chất lượng cần được quan tâm. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu phát triển phương pháp xác định hàm lượng fomiat, axetat và propionat trong biodiesel bằng phương pháp điện di mao quản sử dụng detector độ dẫn không tiếp xúc kết hợp với chiết lỏng-lỏng. Quy trình phân tích cho giới hạn phát hiện tốt cỡ 0,015-0,028 mg/kg chất cần quan tâm trong biodiesel, độ lặp lại về diện tích tín hiệu và thời gian di chuyển phản ánh qua độ lệch chuẩn tương đối có giá trị nhỏ hơn 5%. Áp dụng quy trình trên phân tích một số mẫu biodiesel sản xuất từ các nguồn nguyên liệu sinh học khác nhau phát hiện thấy sự có mặt của fomiat và axetat ở cỡ nồng độ vài đơn vị tới hàng trăm mg/kg.

Từ khóa: Axit hữu cơ mạch ngắn, biodiesel, điện di mao quản.

1. Giới thiệu

Chỉ số axit là một trong những chỉ tiêu đánh giá chất lượng của biodiesel. Thành phần đóng góp chính vào chỉ số này là axit fomíc và axetic cùng một số axit hữu cơ mạch ngắn khác như propionic, butyric. Các axit này một phần sinh ra trong quá trình sản xuất biodiesel, một phần tạo thành do sự oxi hóa, đặc biệt trong trường hợp biodiesel không được thêm chất bảo quản [1,2]. Trong bài báo này, chúng tôi sẽ trình bày việc phát triển quy trình phân tích các axit hữu cơ mạch ngắn nói trên trong biodiesel bằng phương pháp điện di mao quản. Đây là một kỹ thuật phân tích tương đối đơn giản về thiết bị, vận hành, chi phí hóa chất tiêu hao thấp hơn so

với cách phân tích truyền thống cho các đối tượng này bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao [2-5].

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất, thiết bị:

Toàn bộ hóa chất được sử dụng đều thuộc loại tinh khiết phân tích. $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ được mua từ Merck (Darmstadt, Đức). HCOONa , $\text{ClCH}_2\text{COONa}$, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COONa}$, L-histidin (His), axit 2-(N-morpholino) etansulfonic (MES), axit 3-(N-morpholino) propanesulfonic (MOPS), tris(hydroxymethyl) aminomethane (Tris) và cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) được mua từ Sigma-Aldrich (Buchs, Thụy Sĩ). Tất cả dung dịch điện ly nền (BGE-background electrolyte) và các dung dịch chuẩn

* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-912380373.
Email: hoanggianga0@gmail.com

được pha trong nước deion. Tất cả các phép phân tích đều được thực hiện trên hệ thiết bị thiết bị điện di mao quản (CE) có bộ phát nguồn cao thế 30 kV với detector độ dẫn không tiếp xúc (C^4D) tự chế tạo. Mao quản silica nóng chảy đường kính trong 50 μm với chiều dài tổng 60 cm và chiều dài hiệu dụng 50 cm được sử dụng trong toàn bộ thực nghiệm. Trước lần phân tích đầu tiên của mỗi ngày, mao quản được ổn định hóa bằng dung dịch NaOH 0,1 M trong 10 phút, sau đó là nước deion trong 10 phút và BGE trong 30 phút. Sau mỗi phép đo, mao quản được rửa bằng BGE trong 3 phút.

2.2. Chuẩn bị mẫu:

Mẫu biodiesel được thu thập với các nguồn gốc sinh học và công nghệ điều chế khác nhau. Việc chiết các anion hữu cơ khỏi biodiesel được thực hiện bằng cách hút 1050 mg mẫu cho vào lọ dung tích 1,7 mL và thêm 250 mg dung môi chiết (là nước deion hoặc BGE pha loãng 10 lần) (tương ứng với tỷ lệ làm giàu 5 lần) có chứa nội chuẩn ($\text{ClCH}_2\text{COO}^-$ viết tắt là IS-Internal Standard) ở nồng độ 19,1 ppm. Lọ được lắc bằng máy lắc (KMC 1300V, Vision Scientific, Hàn Quốc), sau đó ly tâm bằng thiết bị ly tâm Mirko 220R, Hettich, Đức với tốc độ 8000 vòng/phút trong 5 phút. Sau khi ly tâm, 160 μL pha ưa nước được tách khỏi pha hữu cơ và đem phân tích.

2.3. Tối ưu hóa quy trình phân tích các cation trên hệ thiết bị CE- C^4D :

Dung dịch chuẩn của các anion HCOO^- , CH_3COO^- , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$ ở nồng độ 2,25, 2,95 và 3,65 ppm tương ứng được sử dụng để khảo sát các điều kiện phân tích. Trong các thí nghiệm, điện thế tách được giữ cố định ở giá trị +15 kV và thời gian bơm mẫu 20 s; trừ các thí nghiệm khảo sát điều kiện điện thế và thời gian bơm. Điều kiện phân tích được lựa chọn trên cơ sở kết quả tín hiệu của các anion có diện tích lớn, hình dạng sắc nét, độ phân giải giữa các pic cạnh nhau có giá trị lớn hơn 1,5.

* *Nghiên cứu lựa chọn dung dịch đệm điện di:* Qua tham khảo tài liệu [2], một số hệ đệm được lựa chọn để nghiên cứu quy trình phân tích

anion hữu cơ bao gồm: 1) dung dịch histidin 10mM và axit 2-(N-morpholino)etansulfonic (đệm His/MES) có pH 5,8 ; 2) dung dịch 3-(N-morpholino) propanesulfonic 30 mM và L-histidin 30 mM (đệm His/MOPS) có pH = 6,7; 3) dung dịch tris(hydroxymethyl)aminomethane 50mM và 3-(N-morpholino) propanesulfonic 50 mM (đệm Tris/MOPS) có pH 7,7. Vì ở pH lớn hơn 4 nên các dung dịch đệm trên đều được thêm CTAB và để điều chỉnh dòng EOF. Sau khi lựa chọn được hệ đệm thích hợp, dung dịch đệm được điều chỉnh về các pH khác nhau, từ 5,6 ÷ 6,5 bằng cách thay đổi tỉ lệ giữa các thành phần đệm và so sánh các điện di đồ thu được để xác định dung dịch đệm tối ưu.

* *Nghiên cứu lựa chọn điện thế tách:* Sau khi tối ưu hóa hai điều kiện hóa học (về hệ đệm), ảnh hưởng của điện thế đến sự phân tách giữa các anion hữu cơ phân tích được nghiên cứu. Trong khảo sát này, điện thế tách được thay đổi từ +10 kV tới +25 kV với bước nhảy 5 kV.

2.4. Tối ưu hóa quá trình chiết lỏng-lỏng:

Các anion hữu cơ cần phân tích nằm trong biodiesel là pha kỵ nước, để có thể phân tích trên hệ thiết bị CE, cần chuyển các anion này vào một pha ưa nước. Việc này được thực hiện thông qua một quá trình chiết lỏng – lỏng. Đồng thời, để nâng cao độ chính xác, phương pháp nội chuẩn được sử dụng với chất nội chuẩn là ion cloaxetat. Quá trình chiết được thực hiện như mục 2.2. Các thông số được khảo sát là dung môi chiết, tỷ lệ pha loãng dung môi chiết và thời gian chiết.

* *Nghiên cứu lựa chọn dung môi chiết:* hai loại dung môi chiết được khảo sát là: 1) nước deion và 2) dung dịch đệm điện di pha loãng 10 lần (BGE 1:10). Hiệu quả chiết được đánh giá thông qua tỉ lệ diện tích pic của ion cần phân tích/nội chuẩn để lựa chọn dung môi chiết.

* *Khảo sát tỉ lệ pha loãng dung môi chiết:* Sau khi lựa chọn được dung môi chiết là dung dịch đệm điện di pha loãng, tỉ lệ pha loãng được khảo sát với các mức không pha loãng và pha loãng 1 ÷ 10 lần.

* Thời gian chiết: sau khi tối ưu về dung môi chiết, thời gian chiết được khảo sát trong khoảng 1-10 phút.

2.5. Thẩm định phương pháp

Đường chuẩn được xây dựng theo phương pháp nội chuẩn dựa trên tương quan giữa tỉ lệ diện tích pic chất cần phân tích/nội chuẩn với nồng độ chất cần phân tích khi chất nội chuẩn được giữ cố định ở nồng độ 19,1 mg/kg. Giá trị giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của thiết bị đối với các ion trong dịch chiết được tính bằng giá trị nồng độ cho tỉ lệ tín hiệu/nhiều nên tương ứng là 3,3 và 10. Giá trị giới hạn phát hiện của phương pháp phân tích các anion hữu cơ trong biodiesel được tính bằng MDL/4,2 (hệ số làm giàu). Trong nghiên cứu này, độ lặp lại của phương pháp (theo thời gian di chuyển và diện tích pic tương đối) được xác định thông qua giá trị độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của kết quả 5 phép phân tích lặp lại đối với dung dịch chuẩn và mẫu. Độ chính xác được xác định bằng hiệu suất thu hồi của một lượng đã biết chất cần phân tích được thêm vào mẫu biodiesel. Sử dụng 3 mẫu biodiesel có khối lượng 5000 mg, mỗi mẫu được thêm 50 mg dung dịch chuẩn chứa các anion HCOO^- , CH_3COO^- , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$ ở nồng độ 9,2 ; 12,0 và 14,8 mg/kg mỗi ion tương ứng và nội chuẩn ở nồng độ 19,1 mg/kg. Hỗn hợp được lắc mạnh trong 5 phút và rung siêu âm trong 30 phút để đạt cân bằng, sau đó 1050 mg được lấy vào lọ dung tích 1,7 mL và tiếp tục quá trình chiết đã nêu ở trên. Hiệu suất thu hồi

được tính theo công thức: $R\% = \frac{R_2 - R_1}{R_0} \times 100$

với R_1 , R_2 và R_0 là nồng độ của ion cần phân tích trong mẫu biodiesel, trong mẫu biodiesel có thêm chuẩn và nồng độ đã thêm vào biodiesel.

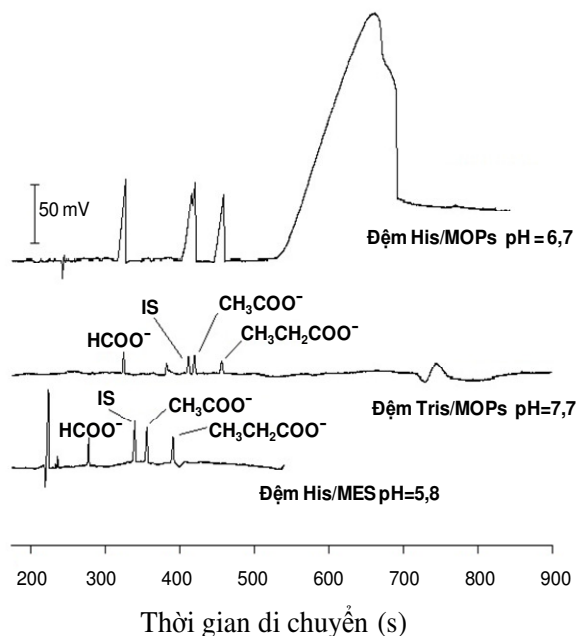
3. Kết quả

3.1. Tối ưu các điều kiện phân tích trên hệ CE- C4D:

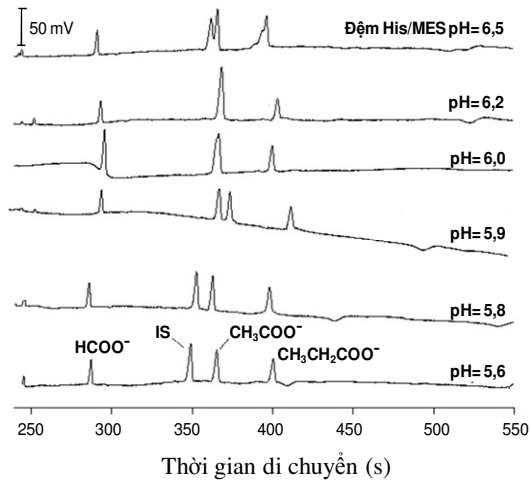
* Kết quả nghiên cứu lựa chọn thành phần dung dịch đệm điện di: Kết quả khảo sát thành

phần dung dịch đệm điện di được thể hiện trên Hình 1 cho thấy sử dụng đệm Tris/MOPS và đệm His/MES đều cho đầy đủ tín hiệu của các anion hữu cơ cần phân tích. Trong đó tín hiệu các anion thu được khi dùng đệm His/MES cao, sắc nét hơn, đồng thời các pic cũng tách tốt hơn nhiều so với đệm Tris/MOPS. Do đó đệm His/MES được lựa chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH trong khoảng 6,5 tới 5,6 của đệm His/MES tới sự phân tách các pic anion hữu cơ được trình bày trong hình 2. Trong nội dung bài báo này chúng tôi không khảo sát các giá trị pH < 5,0 là do pKa các axit axetic và propionic lần lượt là 4,76 và 4,88. Từ kết quả hình 2 cho thấy rằng khi pH > 5,9 dẫn tới sự chồng chập pic nội chuẩn và axetat do đó không thể sử dụng các hệ đệm này. Khi pH ≤ 5,9 thì các pic tách nhau tốt và độ phân giải tốt nhất là tại pH 5,6. Vì vậy đệm His/MES pH 5,6 là lựa chọn phù hợp cho quy trình phân tích các anion hữu cơ quan tâm.

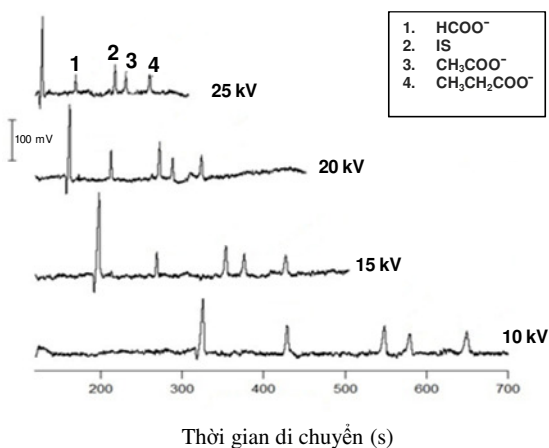


Hình 1. Điện di đồ phân tích anion hữu cơ sử dụng các hệ đệm khác nhau.

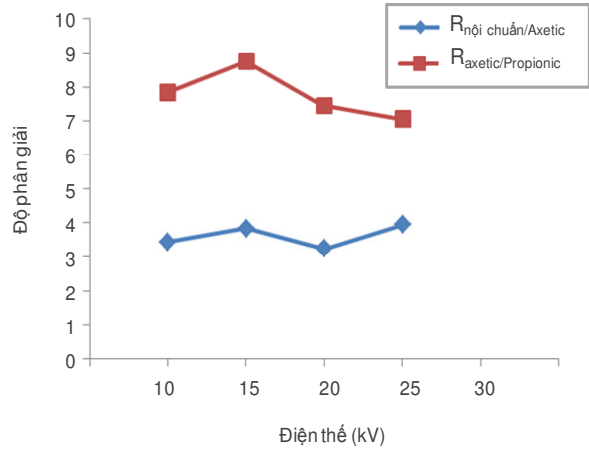


Hình 2. Điện di đồ phân tích anion hữu cơ sử dụng đệm His/MES có pH khác nhau.

* *Nghiên cứu lựa chọn điện thế tách:* Khi tăng điện thế tách, thời gian di chuyển các pic anion hữu cơ cũng giảm đồng thời diện tích pic và chiều cao pic cũng bị thu hẹp lại. Nguyên nhân là do khi thế tách tăng thì cường độ điện trường tăng làm cho các ion di chuyển nhanh hơn làm cho pic các anion tại thế tách cao sát lại, và đây là nguyên nhân chính làm cho diện tích pic và thời gian di chuyển giảm. Từ Hình 3 và 4 cho thấy tại thế tách +15kV thì các giá trị độ phân giải và diện tích pic anion là lớn nhất. Vì vậy +15kV được chọn làm giá trị điện thế cho quá trình tách tiếp theo.



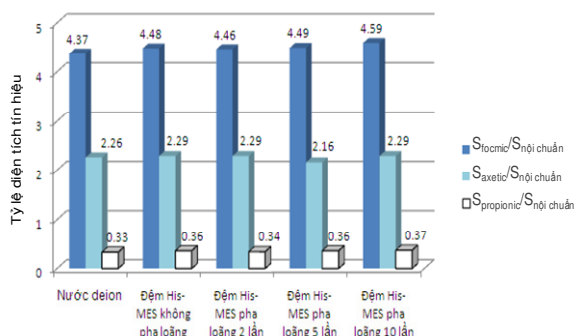
Hình 3. Điện di đồ khảo sát thế tách để phân tích các anion hữu cơ.



Hình 4. Sự thay đổi của độ phân giải (R) giữa các pic cạnh nhau theo điện thế tách (kV).

3.2. Kết quả tối ưu quy trình chiết

* *Nghiên cứu lựa chọn tỉ lệ pha loãng dung môi chiết và thời gian chiết:* Kết quả khảo sát được thể hiện trên Hình 5. Tuy các kết quả không khác nhau một cách đáng kể, nhưng cũng có thể nhận thấy, nếu sử dụng dung môi chiết là dung dịch đệm điện di, hoặc đệm điện di pha loãng so với dùng nước deion thì diện tích các pic cần phân tích được cải thiện và đường nền sẽ ổn định hơn. Điều này có thể là do quá trình trao đổi anion, trong đó histidin phân bố từ pha nước vào pha biodiesel, đã làm tăng quá trình tách các anion phân tích từ biodiesel vào nước. Dung dịch đệm điện di pha loãng 10 lần (BGE 1:10) được lựa chọn làm dung môi chiết cho kết quả tốt nhất với diện tích pic lớn hơn đối với cả 4 anion cũng như cho độ dẫn nền thấp nhất. Ngoài ra khi khảo sát thời gian chiết (1-10 phút) thấy rằng sau thời gian chiết 2 phút, lượng anion chiết ra gần như không thay đổi đáng kể. Nói cách khác, sau thời gian 2 phút, cân bằng phân bố đã được thiết lập. Như vậy, dung môi chiết được lựa chọn là dung dịch đệm điện di His/MES pH = 5,6 pha loãng 10 lần và thời gian chiết là 2 phút.



Hình 5. Sự thay đổi tỉ lệ diện tích pic khi thay đổi dung môi chiết.

* Nghiên cứu lựa chọn tỉ lệ chiết:

Do bị giới hạn bởi lượng mẫu thu thập được và thể tích lọ chiết nên trong nghiên cứu này chỉ khảo sát quá trình chiết theo các tỉ lệ

biodiesel/dung môi chiết từ 1 tới 5 theo thể tích. Kết quả tỉ lệ diện tích pic ion phân tích/nội chuẩn thu được không khác nhau đáng kể khi thay đổi tỷ lệ thể tích của biodiesel/dung môi chiết. Theo các tài liệu tham khảo [2,3] và dựa trên thể tích mẫu cần thiết để bơm vào thiết bị CE, tỉ lệ chiết được lựa chọn là thể tích biodiesel gấp 5 lần thể tích dung môi chiết.

3.3. Kết quả đánh giá phương pháp phân tích

Hệ số hồi quy tuyến tính của các đường chuẩn thu được có giá trị rất tốt $R^2 \geq 0,9998$. Các giá trị MDL thu được ở cỡ 0,015-0,028 mg/kg. Độ lặp lại của diện tích tương đối và thời gian di chuyển được thể hiện dưới dạng độ lệch chuẩn tương đối trên nền nước deion và nền biodiesel đều nhỏ hơn 5% khi phân tích lặp lại 5 lần. Hiệu suất thu hồi từ 96,8 đến 109,3% khi phân tích các anion trong mẫu thêm chuẩn.

Bảng 1. Các thông số đánh giá phương pháp

	HCOO^-	CH_3COO^-	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^-$
Khoảng đường chuẩn (mg/L)	0,46 ÷ 92,05	0,74 ÷ 148,16	0,60 ÷ 120,10
Hệ số R^2	0,9999	0,9998	0,9999
Phương trình đường chuẩn	$y = 0,0023x - 0,003$	$y = 0,0019x + 0,0156$	$y = 0,0017x + 0,0036$
LOD (mg/L dịch chiết)	0,065	0,12	0,076
LOQ (mg/L dịch chiết)	0,22	0,4	0,25
MDL*(mg/kg biodiesel)	0,015	0,028	0,018
RSD _{diện tích} (%) (n=5)	3,36	2,79	2,81
RSD _{thời gian} (%) (n=5)	1,95	1,35	3,38
Thời gian di chuyển (s) (n=5)	296,6 ± 2,4	446,0 ± 5,3	528,0 ± 7,3
Hiệu suất thu hồi (%)	96,8 ± 4,5	104,3 ± 3,2	109,3 ± 3,5

y là tỉ lệ diện tích pic ion phân tích/nội chuẩn; x là nồng độ ion phân tích (mg/L)

*tính toán dựa trên mẫu biodiesel có khối lượng 1050mg và 250mg dung môi chiết

3.4. Kết quả phân tích mẫu

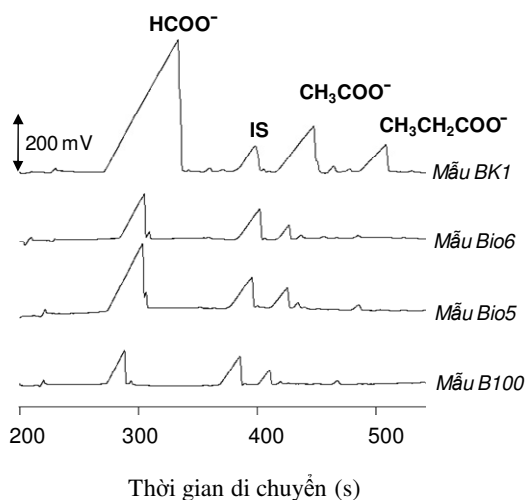
Kết quả phân tích các mẫu biodiesel thực được chỉ ra trong Bảng 2 và trong giản đồ điện di Hình 6. Trong đó, mẫu Bk1 có hàm lượng các anion fomiát, axetat và propionat rất cao từ vài chục tới cỡ trăm mg/kg do không sử dụng chất chống oxy hóa, trong khi mẫu B100 có nguồn gốc từ dầu Jatropha có sử dụng chất chống oxy hóa có hàm lượng các chất này thấp

hơn nhiều, chỉ dưới 10 mg/kg. Phân tích các mẫu Bio5 và Bio6 cũng phát hiện cả ba anion này trong đó fomiat là cấu tử trội. Nếu quy tương đương tổng hàm lượng các axit này theo chỉ số axit cho biodiesel thì chỉ số axit của các mẫu trong khoảng 0,3 tới 3,9 mg KOH/g, trong đó mẫu Bk1 vượt quá giá trị tiêu chuẩn cho phép của chỉ số axit theo tiêu chuẩn châu Âu và Mỹ tương ứng là 0,5 và 0,8 mg KOH/g.

Bảng 2. Kết quả phân tích một số mẫu biodiesel

Mẫu	Nguồn gốc	Công nghệ sản xuất	Hàm lượng các anion (mg/kg)			Quy tương đương chỉ số axit mg KOH/g
			HCOO ⁻	CH ₃ COO ⁻	CH ₃ CH ₂ COO ⁻	
B100	Jatropha	Xúc tác dị thể	7,61	3,93	0,89	0,3
Bio5	PFAD	Xúc tác dị thể	23,6	6,44	1,33	0,7
Bio6	Dầu dừa	Xúc tác kiềm	10,7	11,8	0,39	0,5
Bk1	Dầu đậu nành	Xúc tác kiềm	122	29,7	18,0	3,9

PFAD: axit béo phế thải từ tinh luyện dầu cọ



Hình 6. Điện di đồ phân tích các mẫu biodiesel thực.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được quy trình phân tích hàm lượng các anion hữu cơ mạch ngắn HCOO⁻, CH₃COO⁻, CH₃CH₂COO⁻ là sản phẩm của quá trình oxy hóa trong biodiesel bằng phương pháp điện di mao quản sử dụng detector độ dẫn không tiếp xúc kết hợp với chiết lỏng-lỏng. Quy trình phân tích có độ lặp lại tốt, giới hạn phát hiện phù hợp với yêu cầu kiểm tra chất lượng biodiesel.

Lời cảm ơn

Các tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ tài chính từ đề tài QG 13.07 Đại học Quốc gia Hà Nội.

Tài liệu tham khảo

- [1] Benchmarking of Biodiesel Fuel Standardization in East Asia Working Group, (2010). 'Biodiesel Fuel Quality' in Goto, S., M. Oguma, and N. Chollacoop, EAS-ERIA Biodiesel Fuel Trade Handbook: 2010, Jakarta: ERIA, pp.27-62.
- [2] Nogueira T, (2011). Capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection applied to evaluating the quality of biofuels and the study of the oxidation process of biodiesel- PhD thesis, Instituto de Quimica, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- [3] Yi Zhang, Prapisala Thepsithar, Xia Jiang and Joo Hwa Tay, (2014). Simultaneous Determination of Seven Anions of Interest in Raw Jatropha curcas Oil by Ion Chromatography, Energy Fuels, 228 (4), pp 2581-2588.
- [4] Niklas Strömberg; Eskil Sahlin, (2012). Determination of the short-chain fatty acid pattern in biodiesel using high throughput syringe solvent extraction and ion exclusion chromatography, Fuel, 97, pp.531-535.
- [5] Jyrki Viidanoja, (2015). Determination of short chain carboxylic acids in vegetable oils and fats using ion exclusion chromatography electrospray ionization mass spectrometry, J Chromatogr A, 1383, pp. 96-103.

Method Development for Analysis of some Short Chain Organic Acids by Means of Capillary Eelectrophoresis for Quality Control of Biodiesel

Dương Hồng Anh, Nguyễn Văn Quân

*Research Center for Environmental Technology and Sustainable Development,
VNU University of Science, 334 Nguyễn Trãi, Hanoi, Vietnam*

Abstract: Short chain organic acids are of interest to the quality of biodiesel and diesel blends. A simple method based on capillary electrophoresis combining capacitively-coupled contactless conductivity detectors was developed to simultaneously determine formate, acetate, propionate in biodiesel. The method showed good detection limits of around $0.015\text{-}0.028\text{ mg.kg}^{-1}$ in the biodiesel samples and relative high reproducibility of peak area and migration time that in all cases the ratio of standard deviation to average was below 5%. Applying the method to analyse biodiesel samples produced from several biosources, it was found formate and acetate concentration in ranges from a few to hundreds mg/kg.

Keywords: Short chain organic acids, biodiesel, capillary electrophoresis.