

Ứng dụng phương pháp điện di mao quản nhằm theo dõi sự gia tăng hàm lượng của một số axit hữu cơ mạch ngắn trong biodiesel theo thời gian

Nguyễn Văn Quân, Dương Hồng Anh*, Nguyễn Thúy Ngọc, Phạm Hùng Việt, Phan Thị Kim Trang

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 3/1/2017; ngày chuyển phân biện 5/1/2017; ngày nhận phân biện 20/2/2017; ngày chấp nhận đăng 10/3/2017

Tóm tắt:

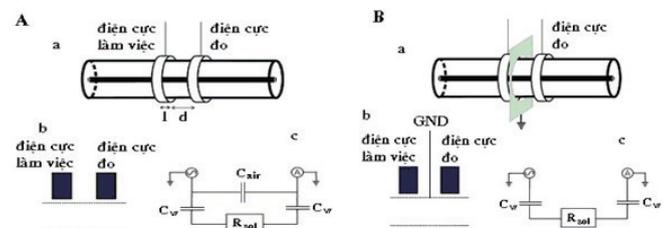
Điện di mao quản (CE) kết hợp với cảm biến đo độ dẫn không tiếp xúc (C^4D) là một kỹ thuật phân tích đơn giản về mặt thiết bị, tiết kiệm về chi phí hóa chất tiêu hao, có khả năng xác định định tính và định lượng đồng thời một số ion trong các nền mẫu lỏng. Bài báo mô tả việc sử dụng hệ CE- C^4D như một công cụ phát hiện các axit hữu cơ mạch ngắn (axit formic, axetic, propionic) ở dạng anion tương ứng để theo dõi sự thay đổi hàm lượng các axit nêu trên trong biodiesel theo thời gian bảo quản nhằm phục vụ cho việc kiểm soát chất lượng biodiesel. Mẫu được xử lý bằng phương pháp chiết lỏng - lỏng, dịch chiết được phân tích trên hệ CE- C^4D , sử dụng dung dịch điện di nền (BGE) bao gồm 10mM L-histidin (His)/axit 2-(N-mopholino)etansunfonic, pH 5,6 bổ sung cetyltrimetylamoni bromua (CTAB) 0,02mM. Mẫu biodiesel sản xuất từ dầu trẩu không được bổ sung chất chống oxy hoá và được bảo quản ở điều kiện thường. Kết quả cho thấy, sau 20 ngày, hàm lượng axit formic, axetic và propionic trong biodiesel gia tăng trong các khoảng 6,86-33,2 mg/kg, 7,99-16,0 mg/kg và 1,53-5,77 mg/kg tương ứng, làm tăng chỉ số axit của biodiesel từ 0,0169 đến 0,0597 mg KOH/g.

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

Chỉ số phân loại: 1.4

Đặt vấn đề

Điện di mao quản (capillary electrophoresis - CE) là phương pháp tách chất dựa trên khả năng di chuyển khác nhau của các phân tử tích điện trong lòng một mao quản rất hẹp dưới tác dụng của điện trường nhờ dòng chuyển dời có hướng của các điện tích trong điện trường theo một chiều nhất định. Để sử dụng kỹ thuật điện di mao quản, người dùng chỉ cần trang bị một nguồn phát cao thế, cột mao quản và một lượng nhỏ dung dịch đệm và mẫu. Các ion khác nhau trong nền mẫu được phân tách khi đi qua cột mao quản và nhận biết bởi detector (theo nguyên tắc đo điện, đo quang hoặc phổ khối) đặt cuối cột. Detector điện hóa (detector đo thế, đo dòng và đo độ dẫn) là loại detector phổ biến đối với các thiết bị điện di mao quản và ứng dụng được với các chất mang điện; chúng thường được sử dụng cho phân tích các cation, anion vô cơ trong mẫu lỏng. Trong đó, detector đo độ dẫn không tiếp xúc - C^4D (điện cực không tiếp xúc trực tiếp với dung dịch đo) là detector phổ biến nhất bởi đặc tính vận năng và cấu trúc nhỏ gọn (xem hình 1).



Hình 1. Mô hình đo độ dẫn không tiếp xúc và mạch điện tương đương.

A: Không có điện cực nối đất; B: Có điện cực nối đất ngăn cách giữa hai điện cực; a: Sơ đồ khối; b: Dạng mặt cắt; c: Mạch điện tương đương.

Do có cấu tạo không quá cồng kềnh, không đòi hỏi điều kiện ngặt nghèo về áp suất, tiêu tốn ít hóa chất nên chi phí vận hành và bảo dưỡng hệ thiết bị CE cũng ít hơn rất nhiều so với các phương pháp phân tích công cụ có thể phân tích đa chỉ tiêu thông thường (như phổ hấp thụ nguyên tử, sắc ký lỏng hiệu năng cao...). Nhóm nghiên cứu thuộc Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội đã nghiên cứu chế tạo thành công các hệ

*Tác giả liên hệ: Email: hoanggiangaO@gmail.com

Application of capillary electrophoresis method for investigating the increase in short chain fatty acid concentrations in biodiesel over time

Van Quan Nguyen, Hong Anh Duong*,
Thuy Ngoc Nguyen,
Hung Viet Pham, Thi Kim Trang Phan

University of Science, Vietnam National University in Hanoi

Received 3 January 2017; accepted 10 March 2017

Abstract:

Capillary electrophoresis (CE) coupled with capacitively-coupled contactless conductivity detector (C⁴D) is considered as an analytical method with some advantages as simple equipment, saving of time and consumable chemicals. This method can be useful for the simultaneous analysis of multi-ions in liquid matrix. This study describes the using of CE-C⁴D system for determination of short chain fatty acids in biodiesel as the corresponding anions in order to monitor the concentration increase of these acids during the storage process of biodiesel. Samples were treated by liquid-liquid extraction, and then the aqueous phases were removed and analysed by CE-C⁴D system. The background electrolyte (BGE) was composed of 10mM L-histidine (His)/2-(N-morpholino)ethanesulfonic (MES) acid, pH 5.6, and 0.02mM cetyltrimethylammonium bromide (CTAB). In the experiment conducted in 20 days, biodiesel was added with no antioxidants and stored under normal conditions. The results showed that the concentrations of formic acid, acetic acid, and propionic acid in biodiesel varied from 6.86-33.2 mg/kg, 7.99-16.0 mg/kg, and 1.53-5.77 mg/kg, respectively, leading to the elevation of acid index from 0.0169 to 0.0597 mg KOH/g.

Keywords: Biodiesel, capillary electrophoresis, short chain fatty acid.

Classification number: 1.4

thiết bị điện di mao quản đi kèm với detector đo độ dẫn không tiếp xúc và phát triển các ứng dụng trong lĩnh vực môi trường như xác định hàm lượng cation, anion vô cơ cơ bản, arsen trong nước mặt, nước ngầm, nước mưa...[1].

Một đối tượng ứng dụng tiếp theo được hướng tới của phép xác định bằng CE-C⁴D đó là các ion hữu cơ có kích thước nhỏ, ví dụ dạng ion của các axit hữu cơ mạch ngắn như axit formic, axetic và propionic. Các axit này là sản phẩm chính của quá trình oxy hoá biodiesel trong quá trình bảo quản, cũng là các thành phần chính đóng góp vào tính axit của biodiesel, có thể gây ra sự ăn mòn và đóng cặn động cơ, đặc biệt ở buồng phun nhiên liệu [2]. Hiểu rõ thành phần của các axit hữu cơ mạch ngắn (axit formic, axetic, propionic) có thể tính được chỉ số axit của biodiesel [3, 4] và cung cấp nhiều thông tin hơn trong việc kiểm soát quá trình oxy hoá nhiên liệu nhằm phục vụ công tác bảo quản và quản lý chất lượng biodiesel. Việc xác định hàm lượng của các axit này thông thường được thực hiện bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sắc ký ion [4-7].

Trong bài báo này, chúng tôi sẽ trình bày việc theo dõi sự biến đổi hàm lượng các axit hữu cơ mạch ngắn (axit formic, axetic, propionic) trong biodiesel, hay chỉ số axit của biodiesel thông qua việc xác định các axit này bằng hệ CE-C⁴D. Các kết quả phân tích được so sánh với kết quả thu được từ phương pháp thông dụng là HPLC nhằm khẳng định hiệu quả của việc sử dụng phương pháp mới.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Hóa chất, thiết bị

Toàn bộ hóa chất được sử dụng đều thuộc loại tinh khiết phân tích. CH₃COONa.3H₂O được mua từ Merck (Darmstadt, Đức). HCOONa, ClCH₂COONa, CH₃CH₂COONa, L-Histidin (His), axit 2-(N-morpholino)ethanesulfonic (Mes), axit 3-(N-morpholino)propanesulfonic (MOPs), ddTris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris) và Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) được mua từ Sigma-Aldrich (Buchs, Thụy Sĩ). Dung dịch điện di nền được sử dụng chứa 10mM His/Mes (pH 5,6), thêm CTAB để điều chỉnh dòng điện di thẩm thấu (EOF). Trước lần phân tích đầu tiên của mỗi ngày, mao quản được ổn định hóa bằng dung dịch NaOH 0,1M 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 vòng 3 phút.

Phép phân tích được thực hiện trên hệ thiết bị CE-C⁴D 1 kênh tự động tự chế tạo [1], điện thế tách dùng trong quá trình phân tích là +15 kV. 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 cho việc phân tách các chất phân tích.

Kết quả phân tích trên thiết bị điện di mao quản được so sánh đối chứng với kết quả thu được trên thiết bị HPLC LC20AB (Shimadzu, Nhật Bản), sử dụng detector mảng diot DAD ở 210 nm.

Chuẩn bị mẫu

Mẫu biodiesel khảo sát được sản xuất từ dầu cò, được chia ra các lọ đựng mẫu, đóng kín và bảo quản ở điều kiện phòng. Theo thời gian (ngày thứ 1, 2, 5, 10, 15 và 20), mẫu biodiesel được lấy ra và phân tích nồng độ các axit hữu cơ mạch ngắn bằng cả hai phương pháp CE và HPLC. Trước hết các anion được chiết từ biodiesel sang dung môi ưa nước bằng cách lấy 5 ml biodiesel cho vào lọ dung tích 15 ml và thêm 1 ml dung môi chiết (BGE pha loãng 10 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) trong 2 phút, 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, 800 μl pha ưa nước được tách khỏi pha hữu cơ, đem phân tích trên thiết bị CE-C⁴D và phân tích đối chứng trên thiết bị HPLC.

Tính hàm lượng các axit và chỉ số axit

Nồng độ từng chất phân tích (C_v , mg/l) trong dung dịch chiết được tính theo phương pháp đường chuẩn, khoảng đường chuẩn và các thông số đánh giá phương pháp được trình bày cụ thể trong bảng 1.

Từ nồng độ chất phân tích trong dung dịch chiết (C_v , mg/l) có thể tính được hàm lượng của các chất phân tích trong biodiesel (C_m , mg/kg) theo công thức:

$$C_m = \frac{C_v \cdot V_{aq}}{V_{bio} \cdot d_{bio}} \quad (1)$$

Trong đó, V_{aq} là thể tích dung dịch chiết (ml), V_{bio} là thể tích biodiesel (ml), d_{bio} là khối lượng riêng của biodiesel (kg/l).

Trong nghiên cứu này, tỷ lệ $V_{bio}/V_{aq} = 5$ và $d_{bio} = 0,84$ kg/l, do đó:

$$C_m = \frac{C_v}{4,2} \quad (2)$$

Chỉ số axit được tính từ hàm lượng của các axit formic, axetic, propionic trong biodiesel như sau:

$$AN = \left(\frac{C_{m, HCOO^-}}{1000 \cdot 45} + \frac{C_{m, CH_3COO^-}}{1000 \cdot 59} + \frac{C_{m, C_2H_3COO^-}}{1000 \cdot 75} \right) \times 56 \quad (3)$$

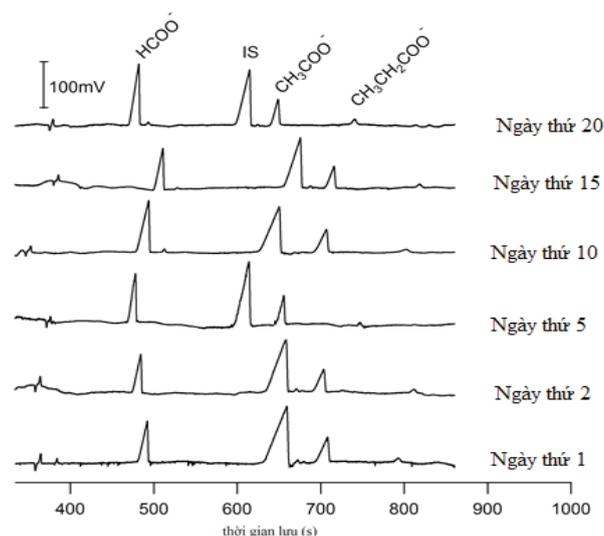
Kết quả

Các thông số về khoảng đường chuẩn, giới hạn phát hiện, độ lặp lại về diện tích và thời gian lưu, hiệu suất thu hồi khi phân tích các ion formiat, axetat, propionat được thể hiện trong bảng 1. 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 giới hạn định lượng của thiết bị đối với ba ion trên là 0,22-0,40 mg/l tương ứng với giới hạn định lượng của phương pháp đối với các axit trong biodiesel là 0,01-0,06 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 (RSD) 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% đối với nồng độ các anion.

Bảng 1. Các thông số đường chuẩn, giới hạn phát hiện, độ lặp lại và hiệu suất thu hồi của phương pháp.

STT	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
LOQ thiết bị (mg/l)	0,22	0,40	0,25
LOQ phương pháp (mg/kg)	0,05	0,01	0,06
RSD _{diện tích} (%) (n=5)	3,36	2,79	2,81
RSD _{thời gian} (%) (n=5)	1,95	1,35	3,38
Hiệu suất thu hồi (%)	96,8±4,5	104,3±3,2	109,3±3,5

Hình 2 trình bày các điện di đồ thu được khi phân tích các axit formic, axetic, propionic trong biodiesel theo thời gian ngày thứ 1, 2, 5, 10, 15 và 20, các số liệu chi tiết về hàm lượng từng axit xác định được có trong bảng 2.

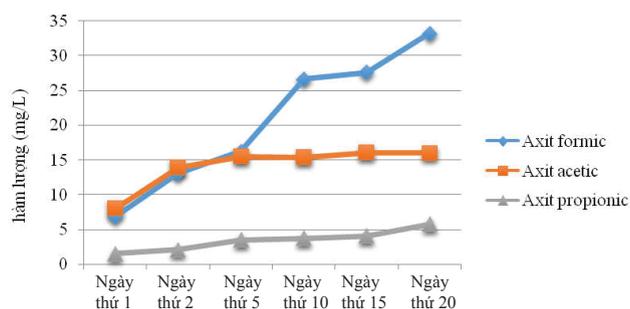


Hình 2. Điện di đồ phân tích sự có mặt của các axit formic, axetic và propionic trong biodiesel theo thời gian.

Bảng 2. Hàm lượng các axit formic, axetic, propionic và chỉ số axit của biodiesel theo thời gian.

Ngày	Axit formic (mg/kg)	Axit axetic (mg/kg)	Axit propionic (mg/kg)	Quy tương đương chỉ số axit (mg KOH/g)
1	6,84	7,99	1,53	0,0169
2	13,0	13,9	2,08	0,0304
5	16,2	15,5	3,45	0,0368
10	26,6	15,4	3,75	0,0496
15	27,6	16,1	4,06	0,0517
20	33,2	16,0	5,77	0,0597

Sự biến thiên nồng độ của từng axit theo thời gian được biểu diễn ở hình 3. Ban đầu các axit formic, axetic và propionic có mặt trong biodiesel ở hàm lượng tương đối nhỏ (6,84 mg/kg, 7,99 mg/kg và 1,53 mg/kg). Theo thời gian hàm lượng các chất này tăng lên, đặc biệt là axit formic (sau 20 ngày tăng từ 6,84 tới 33,2 mg/kg và vẫn tiếp tục xu hướng tăng), trong khi hàm lượng axetic và propionic có xu hướng tăng trong 5-10 ngày đầu, sau đó bắt đầu ổn định. Nguyên nhân là do khi không có mặt chất bảo quản thì quá trình tạo gốc tự do R*, ROO* xảy ra nhanh khi có mặt oxy không khí, điều này dẫn tới quá trình oxy hóa các axit béo và dẫn tới sự tăng nhanh hàm lượng các axit hữu cơ mạch ngắn. Sự hình thành các axit béo này làm tăng chỉ số axit của biodiesel từ 0,0169 đến 0,0597 mg KOH/g. Tuy vậy, các giá trị này vẫn đảm bảo tiêu chí về chỉ số axit theo tiêu chuẩn EN 14214 và ASTM D6751 (0,5 mg KOH/g) [3, 4].



Hình 3. Sự biến thiên hàm lượng các axit hữu cơ mạch ngắn trong biodiesel theo thời gian.

Như đã trình bày ở trên, kỹ thuật CE-C⁴D xác định các axit hữu cơ mạch ngắn là phương pháp mới, đơn giản về thiết bị, vận hành, chi phí thấp so với phương pháp HPLC truyền thống. Để so sánh đối chứng các mẫu dịch chiết được phân tích cả bằng CE và HPLC, các kết quả chi tiết được trình bày trong bảng 3. Đánh giá sai số giữa kết quả thu được từ hai phương pháp CE và HPLC cho thấy các kết quả phân tích có sai khác nhỏ hơn 11%, đây là sai khác chấp nhận được.

Bảng 3. So sánh kết quả phân tích hàm lượng axit formic, axetic và propionic theo hai phương pháp CE và HPLC.

Ngày	Axit formic (mg/kg)			Axit axetic (mg/kg)			Axit propionic (mg/kg)		
	CE	HPLC	Sai số (%)	CE	HPLC	Sai số (%)	CE	HPLC	Sai số (%)
1	6,84	6,43	6,38	7,99	8,44	-5,33	1,53	-	-
2	13,0	12,7	2,60	13,9	13,5	3,11	2,08	-	-
5	16,2	15,1	7,22	15,5	14,9	3,62	3,45	3,13	10,2
10	26,6	26,0	2,04	15,4	15,7	-1,92	3,75	3,70	1,35
15	27,6	28,1	-1,92	16,1	16,0	0,63	4,06	3,93	3,31
20	33,2	34,1	-2,79	16,0	16,1	-0,74	5,77	6,03	-4,31

Kết luận

Sử dụng kỹ thuật điện di mao quản với detector độ dẫn không tiếp xúc đã xác định được hàm lượng các axit hữu cơ mạch ngắn formic, axetic và propionic trong biodiesel, qua đó theo dõi được sự biến đổi hàm lượng các sản phẩm của quá trình oxy hóa biodiesel theo thời gian. Kết quả phân tích đối chứng với phương pháp tiêu chuẩn HPLC cho sai số ở mức độ nhỏ hơn 11% khẳng định khả năng sử dụng kỹ thuật CE-C⁴D trong việc xác định một số chỉ tiêu chất lượng của biodiesel.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu cơ bản mã số 104.04-2013.70. Các tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ tài chính từ Quỹ Phát triển KH&CN Quốc gia.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Hong Anh Duong, Thanh Dam Nguyen, Thanh Duc Mai, Jorge Sai, Hung Viet Pham (2016), "Inexpensive and versatile measurement tools using purpose-made capillary electrophoresis devices coupled with contactless conductivity: A view from case study in Vietnam", *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, **1**(3), pp.273-281.

[2] James Pullen, Khizer Saeed (2012), "An overview of biodiesel oxidation stability", *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **16**, pp.5924-5950.

[3] ASTM D6751-10 (2010), *Standard Specification for Biodiesel Fuel Blend Stock (B100) for Middle Distillate Fuels*, ASTM, USA.

[4] BS EN 14214:2003 (2004), *Automotive Fuels - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) for Diesel Engines - Requirements and Test Methods*, BSI, UK.

[5] Yi Zhang, Prapipala 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.

[6] 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.

[7] 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.