

气相色谱法测定牛粪厌氧发酵液中挥发性脂肪酸

张浩勤, 张伟, 张翔, 刘金盾

(郑州大学 化工学院, 河南 郑州 450001)

摘要:挥发性脂肪酸(VFA)是厌氧发酵反应运行的重要控制指标,确定一种准确、精密、简便、快捷的测试方法十分必要。实验采用GC-122气相色谱仪,N2000色谱工作站,有机担体402为填料,FID作为检测器,在柱温200℃,载气(N₂)流量52.0 mL/min条件下对经过甲酸预处理后厌氧发酵液样品中的VFA进行了测定。结果表明,该方法分离效果好,各组分的回收率在94%~108%之间,变异系数小于3%,重复性好,且测试时间较短。

关键词:气相色谱法;挥发性脂肪酸;恒温;回收率;重复性

中图分类号:X132;S216.4

文献标识码:A

0 引言

挥发性脂肪酸(VFA)是厌氧消化过程中的重要中间产物^[1-2],其组成和含量可间接反映厌氧反应运行情况的稳定性^[3]。虽然测定VFA的方法很多,但较为常用的是气相色谱法。刘艳玲等^[4]比较了程序升温与恒温分析厌氧反应器中VFA的色谱条件,认为程序升温条件下样品分离效果好,缺点是耗时较长;恒温法测定简便快速,结果尚好。陈庆金等^[5]选择适合的温度和载气流率,将普通2m的填充柱缩短为0.5m,缩短了程序升温方法的测定时间,但多个样品测试时,因程序升温法色谱柱需冷却致使总体测试时间比较长。刘建华等^[6]最近采用恒温法用GDX-103色谱柱进行了实验测定,实验采用盐酸做为酸化剂。本文在吸收了前期文献研究成果的基础上,在恒温条件下采用国产有机担体402色谱柱对经过甲酸预处理的牛粪厌氧发酵液样品中的VFA进行了测试,回收率为94%~108%,变异系数小于3%,重复性好,且不论是单个还是多个样品测试时间都较短,该方法已成功用于牛粪厌氧发酵液中挥发性脂肪酸的测定。

1 实验部分

1.1 仪器及测试条件

GC-122 色谱仪, N2000 色谱工作站, 有机担体402填充柱, 氢火焰检测器(FID), 温度控制: 检测器220℃, 检测室200℃, 气化室220℃; 流速控

制: 载气 N₂ 52.0 mL/min, H₂ 52.0 mL/min, 空气 522.0 mL/min, 灵敏度 10⁸, 衰减 1, 进样量 1 μL。

1.2 试剂

乙醇分析纯密度 790 mg/mL; 乙酸分析纯密度 1 049 mg/mL; 丙酸分析纯密度 993 mg/mL; 丁酸分析纯密度 959 mg/min; 3.54% 的甲酸溶液。

1.3 样品预处理

由于挥发性脂肪酸是弱酸, 在分子状态时容易挥发, 所以必须酸化待测液, 以保持待测挥发酸的分子形态。由于强酸酸化易破坏色谱柱, 故本文选择甲酸作为酸化剂。发酵液经离心分离后, 取 10 mL 用 3.54% 的甲酸酸化至 pH = 2~3^[5], 取上清液经纤维树脂膜过滤后进行测定。

1.4 测定方法

用乙醇、乙酸、丙酸、丁酸(分析纯)单质样品, 测定各组分保留时间; 配制乙醇、乙酸、丙酸、丁酸的系列标准溶液分别测定, 并绘出各组分的标准曲线。配制含有乙醇、乙酸、丙酸、丁酸的混合标准溶液, 测定各组分的出峰顺序。

实验采用外标法测定发酵液样品中各种未知醇和酸的浓度。

2 结果与讨论

2.1 定性分析

表1为乙醇、乙酸、丙酸、丁酸的保留时间。结果表明, 各组分的保留时间相差较大, 说明在实验

收稿日期: 2006-12-11; 修订日期: 2007-03-14

基金项目: 河南省杰出人才创新基金项目(0521001400); 国家教育部“十五”“211”重点学科建设项目

作者简介: 张浩勤(1958-), 男, 河南偃师人, 郑州大学教授, 博士, 主要从事高浓度有机废水的处理。

选择的测定条件下有可能得到良好的分离效果。

图 1 为混合标准溶液的色谱分析结果,图 1 表明混合溶液出峰先后顺序依次为乙醇、乙酸、丙酸、丁酸。图 1 与表 1 比较可知,混合溶液中各组分的出峰时间与各自纯组分的保留时间 t 接近,但稍有滞后。

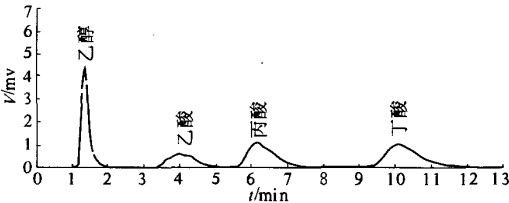


图 1 混合标准溶液的色谱图
Fig. 1 The chromatogram of the standard mixture

表 1 各组分的保留时间

组分	乙醇	乙酸	丙酸	丁酸
保留时间 t/min	1.322	3.781	5.912	9.800

2.2 定量分析

2.2.1 各组分标准曲线

在实验条件下,分别利用乙醇、乙酸、丙酸、丁酸系列标准溶液的色谱图峰面积及标准溶液浓度绘出各组分标准曲线。结果表明,各组分色谱峰面积和浓度之间具有较好的线性关系,乙醇、乙酸、丙酸、丁酸线性拟合方程分别为 $Y=0.009\,57X$ 、 $Y=0.007\,96X$ 、 $Y=0.010\,82X$ 、 $Y=0.012\,93X$ 。其拟合的相关系数 R 分别为 0.994、0.997、0.990、0.997,可作为样品定量计算的依据。

2.2.2 厌氧发酵液样品测试结果分析

对于处理过的厌氧发酵液样品进行色谱分析,结果如图 2 所示。图 2 中各组分出峰时间相差较大,说明色谱柱分离效果良好。

计算图中各峰面积并与标准曲线对比得到各组分含量如表 2。

2.3 回收率实验

回收率实验用来分析测试结果的准确程度,讨论样品测定值和标样测定值之间的差异,考察

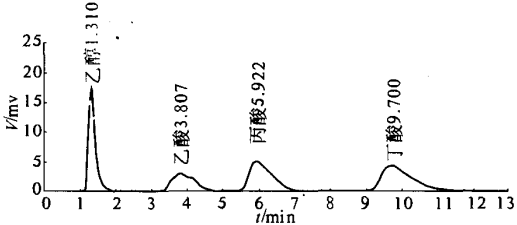


图 2 样品谱图参数
Fig. 2 The chromatogram of a sample

表 2 样品谱图参数

组分	保留时间 t/min	峰面积 s $/(\mu\text{v} \cdot \text{s})$	含量 C $/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$
乙醇	1.310	243 502.203	25.4
乙酸	3.807	134 113.281	16.8
丙酸	5.922	234 421.891	21.7
丁酸	9.700	278 101.330	21.5

在实验条件下被测组分量与响应值的变化是否成线性关系。计算公式为^[7]

回收率 = $\frac{(\text{加标试样测定值} - \text{试样测定值})}{\text{加标量}} \times 100\%$
 $= \frac{\text{测量量}}{\text{加入量}} \times 100\%$

实验取 1 mL 样品,分别加入 21 μL 的乙醇、乙酸、丙酸和丁酸,在同样条件下测得回收率见表 3,各组分的回收率在 94% ~ 108% 之间,基本满足了定量分析中回收率在 95% ~ 108%^[8] 的要求。

表 3 回收率实验结果

组分	标准加入量 $/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	标准测量量 $/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	回收率 $\%$
乙醇	16.590	17.829	107.47
乙酸	22.029	22.803	103.51
丙酸	20.853	19.142	95.57
丁酸	20.139	18.842	94.56

2.4 重复性实验

为了考察测试结果的精密度,对预处理过的同一种样品在相同的条件下进行 5 次平行实验,结果如表 4 所示。

表 4 变异系数的实验结果

组分	测量值 $x/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$				平均值 $\bar{x}/(\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$		σ	$RSD/\%$
乙醇	26.27	26.14	26.43	26.53	26.56	26.39	0.19	0.72
乙酸	16.92	16.30	16.13	16.74	16.78	16.57	0.34	2.05
丙酸	21.40	21.65	21.19	21.71	21.77	21.54	0.24	1.11
丁酸	21.43	21.80	21.51	21.27	21.86	21.58	0.25	1.16

说明: x 为测量值; \bar{x} 为平均浓度; σ 为标准方差,单位均为 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; RSD 为变异系数。

从表4中可以看出发酵液中每个组分的变异系数都较小,说明该方法测定牛粪发酵液中VFA的重复性良好。

3 结论

实验采用甲酸作为酸化剂对牛粪厌氧发酵液进行预处理,在恒温色谱条件下用有机担体402色谱柱进行测定,结果表明样品中各组分分离效果良好,该方法的回收率较高,标准偏差和变异系数小,测试时间较短。本方法采用的色谱柱价廉易得,方法重复性好、准确度高,已成功用于牛粪厌氧发酵液中VFA含量的测定。对于其他厌氧发酵液中VFA的测定,本法也具有一定的参考价值。

参考文献:

- [1] 贺延龄. 废水的厌氧生物处理[M]. 北京:中国轻工出版社,1998:511-513.
- [2] AMEND J P, AMEND A C, VALENZA M. Determination of volatile fatty acids in the hot springs of ulcano [J]. Org Geochem, 1998, 28(11): 699-705.
- [3] WANG Q H, KUNINOBU M, OGAWA H I, et al. Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion [J]. Biomass and Bioenergy, 1999, 16: 407-416.
- [4] 刘艳玲,任南琪,刘敏,等. 气相色谱法分析厌氧反应器中的挥发性脂肪酸[J]. 哈尔滨建筑大学学报,2000,33(6):31-33.
- [5] 陈庆金,刘焕彬,胡勇有. 气相色谱测定厌氧消化液挥发性脂肪酸的快速法研究[J]. 中国沼气,2003,21(4):3-5.
- [6] 刘建华,郭洪光,刘艳君. 气相色谱法测定工业废水厌氧反应中的挥发性脂肪酸[J]. 长春师范学院学报(自然科学版),2005,24(3):42-43.
- [7] 国家环境保护总局,水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 第四版. 北京:中国环境科学出版社,2002:24-26.
- [8] 中国环境监测总站. 环境水质监测质量保证手册[M]. 北京:化学工业出版社,1988:302-305.

Analysis of VFA Contained in the Digested Solution of Cattle Manure by Gas Chromatography

ZHANG Hao-qin, ZHANG Wei, ZHANG Xiang, LIU Jin-dun

(School of Chemical Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: VFA is an important parameter to be controlled in the operation of anaerobic digestion. It is necessary to find a method of high accuracy and precision to detect the content of VFA. The measurement can be accomplished by using GC-122 under the condition of column temperature 200 °C, carrier gas(N_2) current 52.0 mL/min, and organic support 402 as the polar filler, FID as the detector, N2000 as the workstation. The results indicate that the different components are separated thoroughly, and the recovery rate is between 94% ~ 108%, the coefficients of variance are less than 3% and the retain time is short also. All this shows that the recovery and duplication are higher under the experiment condition.

Key words: gas chromatography; volatile fatty acid; constant temperature; recovery rate; duplication