



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112505224 B

(45) 授权公告日 2022.03.29

(21) 申请号 202011370754.8

审查员 王宁

(22) 申请日 2020.11.30

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 112505224 A

(43) 申请公布日 2021.03.16

(73) 专利权人 华南理工大学

地址 510640 广东省广州市天河区五山路
381号

(72) 发明人 陈砺 张荣泽 严宗诚

(74) 专利代理机构 广州市华学知识产权代理有
限公司 44245

代理人 陈智英

(51) Int.Cl.

G01N 30/88 (2006.01)

G01N 30/06 (2006.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54) 发明名称

一种糖蜜酒精废液低沸点组分定量测定方
法

(57) 摘要

本发明属于低沸点组分测定的技术领域,公开了一种糖蜜酒精废液低沸点组分定量测定方法。所述方法:1) 将标准物用水进行稀释,得到标准物储备液;向糖蜜酒精废液中加入标准物储备液,得到梯度浓度的加标样品;标准物为乙醇和/或乙酸乙酯;2) HS-SPME取提取废液低沸点组分,获得不同标准物浓度下的色谱峰面积;3) 以标准物的浓度和对应浓度的色谱峰面积作图,获得线性方程,根据线性方程中坐标零点,计算出待测低沸点组分的浓度。本发明的方法能准确定量糖蜜酒精废液不同数量级浓度含量的低沸点组分,结果准确可靠。

1. 一种糖蜜酒精废液低沸点组分定量测定方法,其特征在于:包括以下步骤:

(1) 标准物储备液配制及加标样品制备

将标准物用水进行稀释,得到标准物储备液;向糖蜜酒精废液中按一定梯度加入标准物储备液,得到梯度浓度的加标样品;所述标准物为乙醇和/或乙酸乙酯;加标样品中标准物乙醇的梯度浓度依次为0,0.94,1.55,2.7,3.33,4.96,各浓度的单位 10^{-3}g/ml ;加标样品中标准物乙酸乙酯的梯度浓度依次为0,1.84,4.32,9.01,13.45,21.07,各浓度的单位 10^{-6}g/ml ;

(2) HS-SPME取提取废液低沸点组分

向萃取瓶中加入离子强度调节剂氯化钠,分别加入糖蜜酒精废液和梯度浓度的加标样品,40~80℃平衡20~30min,将固相微萃取头插入萃取瓶内萃取20~300min,取出,插入气相色谱进样口,解吸,然后进行气相色谱分析;

(3) 低沸点组分定量校正

以标准物的浓度和对应浓度的色谱峰面积作图,标准物浓度为加标样品中标准物的浓度,标准物浓度为0,其对应的色谱峰面积为糖蜜酒精废液中未加入标准物时,待测的低沸点组分的色谱峰面积;根据标准物的浓度与色谱峰面积作图,获得线性方程,根据线性方程中坐标零点即色谱峰面积为0,计算出待测低沸点组分的浓度;

所述气相色谱测试的条件为

色谱条件:柱箱温度初始温度为40℃,保持3min,然后以3℃/min的速率升温至70℃保持1min,然后以6℃/min的速率升温至130℃保持0min,然后以15℃/min的速率升温至220℃保持10min;进样口温250℃;

步骤(2)中,所述离子强度调节剂加入量为0.4g/mL;

步骤(2)中,所述平衡的温度为50℃;

步骤(2)中,所述固相微萃取头为50/30 μm ,1cm DVB/CAR/PDMS;

步骤(2)中,所述萃取的时间为60min;

步骤(2)中,所述解吸的时间为3min;

解吸的温度为250℃;

步骤(2)中,所述固相微萃取头在萃取前在色谱进样口260℃下老化60min;

步骤(2)中,所述气相色谱分析中色谱柱为DB-23弹性石英毛细柱,其尺寸为30m $\times$ 0.25mm $\times$ 0.25 μm 。

2. 根据权利要求1所述糖蜜酒精废液低沸点组分定量测定方法,其特征在于:

步骤(2)中,气相色谱分析中,载气为纯度为99.999%高纯氮气;流速为1.5ml/min;不分流进样。

一种糖蜜酒精废液低沸点组分定量测定方法

技术领域

[0001] 本发明属于糖蜜酒精废液中低沸点组分测定领域,具体涉及一种糖蜜酒精废液中定量测定乙醇和乙酸乙酯含量的方法。

背景技术

[0002] 糖蜜酒精废液以糖蜜为原料发酵生产燃料乙醇工艺过程中产生大量的废液,糖蜜酒精废液中含有大量的碳水化合物、木质素、纤维素和半纤维素、蛋白质、脂肪等有机物,且废液量大,若直接排入水体中,会引起富营养化,使水体中的水生生物过度繁衍,水体透明度下降,溶氧量减少,严重时会导致水生生物大量死亡,破坏水域的生态系统。

[0003] 糖蜜酒精废液因其具有量大、污染物含量高、处理难度大等特点,面临着高额的处理成本。浓缩法是糖蜜酒精废液主要处理方法之一,浓缩液可制肥料或作为锅炉燃料。在糖蜜酒精生产过程中,常出现酒精生产装置与废液处理装置非同步运行情况,废液在沉淀池停留时间较长,废液中碳水化合物等发生二次发酵产生乙醇、乙酸乙酯等低沸点发酵产物。废液进入蒸发浓缩装置后,具有较高挥发度的发酵产物会进入二次蒸汽,从而导致冷凝液化学需氧量(COD)达到2500~5000mg/L,难以满足排放要求。糖蜜酒精废液是一种具有复杂基质的样品,目前国内外对糖蜜酒精废液的研究集中在氨基酸、多糖、蛋白质、色素和处理技术等研究上,对废液中低沸点组分的定量测定研究鲜有报道。本发明旨在通过定量测定糖蜜酒精废液中低沸点组分含量,为进一步改进糖蜜酒精废液工艺,降低二次蒸汽冷凝液COD提供科学依据。

发明内容

[0004] 为了克服现有技术的缺点和不足,本发明的目的在于提供一种糖蜜酒精废液低沸点组分定量测定方法。本发明采用HS-SPME-GC法定量测定糖蜜酒精废液中乙醇、乙酸乙酯的含量。本发明的方法简单,能准确定量糖蜜酒精废液不同数量级浓度含量的低沸点组分,结果准确可靠。

[0005] 本发明的目的通过以下技术方案实现:

[0006] 一种糖蜜酒精废液低沸点组分定量测定方法,包括以下步骤:

[0007] (1) 标准物储备液配制及加标样品制备

[0008] 将标准物用水进行稀释,得到标准物储备液;向糖蜜酒精废液中按一定梯度加入标准物储备液,得到梯度浓度的加标样品;所述标准物为乙醇和乙酸乙酯;加标样品中标准物乙醇的梯度浓度依次为0,0.94,1.55,2.7,3.33,4.96,各浓度的单位 10^{-3} g/ml;加标样品中标准物乙酸乙酯的梯度浓度依次为0,1.84,4.32,9.01,13.45,21.07,各浓度的单位 10^{-6} g/ml;

[0009] (2) HS-SPME取提取废液低沸点组分

[0010] 向萃取瓶中加入离子强度调节剂氯化钠,分别加入糖蜜酒精废液和梯度浓度的加

标样品, 40~80℃平衡20~30min, 将固相萃取头插入萃取瓶内萃取20~300min, 取出, 插入气相色谱进样口, 解吸, 然后进行气相色谱分析;

[0011] (3) 低沸点组分定量校正

[0012] 以标准物的浓度和对应浓度的色谱峰面积作图, 标准物浓度为加标样品中标准物的浓度和标准物浓度为0, 标准物浓度为0表示的是糖蜜酒精废液未加入标准物, 其对应的色谱峰面积为糖蜜酒精废液中未加入标准物时, 待测的低沸点组分的色谱峰面积; 根据标准物的浓度与色谱峰面积作图, 获得线性方程, 根据线性方程中坐标零点即色谱峰面积为0, 计算出待测低沸点组分的浓度。

[0013] 所述气相色谱测试的条件为

[0014] 色谱条件: 柱箱温度初始温度为40℃, 保持3min, 然后以3℃/min的速率升温至70℃保持1min, 然后以6℃/min的速率升温至130℃保持0min, 然后以15℃/min的速率升温至220℃保持10min; 进样口温250℃。

[0015] 步骤(2)中, 所述离子强度调节剂加入量为0~0.4g/mL, 优选为0.4g/mL。

[0016] 步骤(2)中, 所述平衡温度为优选为50℃。

[0017] 步骤(2)中, 所述固相微萃取萃取头为50/30μm, 1cm DVB/CAR/PDMS、30μm, 1cm PDMS、70μm, 1cm CW/DVB, PEG/DVB, 优选为50/30μm, 1cm DVB/CAR/PDMS。

[0018] 步骤(2)中, 所述萃取的时间为60min。

[0019] 步骤(2)中, 所述解吸时间为1~5min, 优选为3min。解吸的温度为250℃。

[0020] 步骤(2)中, 所述固相微萃取头在萃取前在色谱进样口260℃下老化60min。

[0021] 步骤(2)中, 所述气相色谱分析中色谱柱为DB-23弹性石英毛细柱, 其尺寸为30m×0.25mm×0.25μm。

[0022] 步骤(2)中, 气象色谱分析中, 载气为纯度为99.999%高纯氮气; 流速为1.5ml/min; 不分流进样。

[0023] 本发明具有如下的优点:

[0024] (1) 本发明无需对样品进行前处理, 相对于蒸馏法, 方法更简便、快速。

[0025] (2) 本发明采用固相微萃取 (SPME) 法, 具有萃取时间短、所需样品量少、无需溶剂、能耗低等特点。

[0026] (3) 本发明通过HS-SPME法提取低沸点组分, 利用标准加入-气相色谱法定量校正的糖蜜酒精废液原液中乙醇和乙酸乙酯含量分别为 2.853×10^{-3} g/mL和 2.616×10^{-6} g/mL, 能准确定量糖蜜酒精废液不同数量级浓度含量的低沸点组分, 结果准确可靠。

附图说明

[0027] 图1为实施例1糖蜜酒精废液中低沸点组分色谱测定结果图;

[0028] 图2为实施例1糖蜜酒精废液中乙醇含量校正曲线图;

[0029] 图3为实施例1糖蜜酒精废液中乙酸乙酯含量校正曲线图;

[0030] 图4为实施例2中不同萃取头涂层材料对萃取效果的影响图;

[0031] 图5为实施例2中萃取时间对萃取效果的影响图;

[0032] 图6为实施例2中离子强度调节剂加入量对萃取效果的影响图;

[0033] 图7为实施例2中萃取温度对萃取效果的影响图。

具体实施方式

[0034] 为使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,以下结合实施例,对本发明进行进一步详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0035] 实施例1:糖蜜酒精废液中乙醇和乙酸乙酯含量的定量测定

[0036] 1实验方法

[0037] 1.1标准物储备液配制及加标样制备

[0038] 准确称取一定量标准物,加水稀释一定倍数,备用。标准物储备液配制浓度见表1:

[0039] 表1标准物储备液配制

[0040]

编号	标准物	标准物称取量/ 10^{-3} g	稀释后总质量/g	质量分数/%
1	乙醇	1000	1	100
2	乙酸乙酯	19.6	11.4235	0.1716

[0041] 准确称取0.4g离子强度调节剂于干燥的10ml螺纹萃取瓶中,用移液枪准确量取10.00ml糖蜜酒精废液原液及各加标样于萃取瓶中,各加标样为糖蜜酒精废液原液中加入一定量标准物储备液,形成浓度梯度的加标样,迅速拧紧配有1.5mm聚四氟乙烯硅胶密封垫的螺纹封盖,备用。标准物储备液加入量如表2所示。10mL加标样中,标准物储备液加入量如表2所示。

[0042] 加标样中向废液原液中同时加入乙醇标准物和乙酸乙酯标准物储备液,又或者单独加入各标准物;测定乙醇时,加标样为只加入乙醇储备液的加标样或者加入乙醇和乙酸乙酯储备液的加标样;测定乙酸乙酯时,加标样为只加入乙酸乙酯储备液的加标样或者加入乙醇和乙酸乙酯储备液的加标样。

[0043] 表2加标样品标准物储备液加入量

[0044]

样品编号	乙醇标准储备液加入量/g	乙酸乙酯标准储备液加入量/ 10^{-3} g
0	0	0
1	0.0094	0.0107
2	0.0155	0.0252
3	0.0270	0.0525
4	0.0333	0.0784
5	0.0496	0.1228

[0045] 1.2HS-SPME提取糖蜜酒精废液低沸点组分

[0046] 将萃取瓶置于50℃水浴锅中平衡20min,将已老化的50/30 μ m,1cm DVB/CAR/PDMS萃取头迅速插入萃取瓶中,推下手柄活塞,将萃取头涂层暴露于萃取瓶顶空部分,顶空萃取60min。然后将吸附后的萃取头插入气象色谱进样口,在250℃解析3min,进入GC系统进行分离检测。

[0047] 1.3气相色谱分析

[0048] 进样口温度:250℃。

[0049] 升温程序:柱箱温度初始温度为40℃,保持3min,然后以3℃/min的速率升温至70℃保持1min,然后以6℃/min的速率升温至130℃保持0min,然后以15℃/min的速率升温至220℃保持10min。

[0050] 色谱柱:DB-23弹性石英毛细柱,其尺寸为30m×0.25mm×0.25μm。

[0051] 检测器:FID、300℃

[0052] 载气:99.999%高纯氮气

[0053] 1.4低沸点组分含量定量校正分析

[0054] 糖蜜酒精废液是一种具有复杂基质的样品,本发明采用标准加入法对糖蜜酒精废液中低沸点组分含量进行定量校正。将原液和加标样品进行色谱分析,获得不同浓度下标准物的色谱峰面积,以目标分析物标准物加入量和色谱峰面积作图,以色谱峰面积的坐标零点对应的数值就是样品最初的分析物浓度。可用于校正样品的基质效应。

[0055] 2测定结果

[0056] HS-SPME-GC法糖蜜酒精废液中低沸点组分色谱测定结果如图1所示。乙醇保留时间为4.46min,乙酸乙酯保留时间为4.87min

[0057] 2.1HS-SPME-GC法糖蜜酒精废液中乙醇含量校正

[0058] HS-SPME-GC法糖蜜酒精废液中乙醇含量测定结果如表3所示。

[0059] 表3糖蜜酒精废液中乙醇含量测定结果

[0060]	标准物的浓度 (10 ⁻³ g/ml)	0.00	0.94	1.55	2.70	3.33	4.96
	色谱峰面积 Pa·s	193.664	247.271	314.846	371.821	416.191	531.502

[0061] 利用标准加入法对糖蜜酒精废液中乙醇含量测定结果进行校正。图2为实施例1糖蜜酒精废液中乙醇含量校正曲线图。对实验点进行线性回归,校正曲线方程为 $y = 67830x + 193.49$,决定系数为0.9946,校正曲线零点绝对值即为糖蜜酒精废液中乙醇含量 2.853×10^{-3} g/mL。

[0062] 2.2HS-SPME-GC法糖蜜酒精废液中乙酸乙酯含量校正

[0063] HS-SPME-GC法糖蜜酒精废液中乙酸乙酯含量测定结果如表4所示。

[0064] 表4糖蜜酒精废液中乙酸乙酯含量测定结果

[0065]	标准物的浓度 (10 ⁻⁶ g/ml)	0.00	1.84	4.32	9.01	13.45	21.07
	色谱峰面积 Pa·s	8.00899	10.60024	13.93024	28.58060	38.62311	56.91639

[0066] 利用标准加入法对糖蜜酒精废液中乙酸乙酯含量测定结果进行校正。图3为实施例1糖蜜酒精废液中乙酸乙酯含量校正曲线图。对实验点进行线性回归,校正曲线方程为 $y = 2395947x + 6.2681$,决定系数为0.9940,校正曲线零点绝对值即为糖蜜酒精废液中乙酸乙酯含量 2.616×10^{-6} g/mL。

[0067] 2.3方法学验证

[0068] 分别以3倍信噪比(S/N=3)和10倍信噪比(S/N=10)计算得到各低沸点组分的检出限(LOD)和定量限(LOQ),具体结果如表5所示。本方法乙醇和乙酸乙酯的LOD为 2.95×10^{-6} g/mL和 0.0835×10^{-6} g/mL,LOQ为 9.83×10^{-6} g/mL和 0.278×10^{-6} g/mL。

[0069] 表5糖蜜酒精废液中乙醇和乙酸乙酯的线性关系、检出限和定量限

[0070]	低沸点组分	回归方程	r^2	LOD 10 ⁻⁶ g/mL	LOQ 10 ⁻⁶ g/mL
	乙醇	$y=67830x+193.49$	0.9946	2.95	9.83
[0071]	乙酸乙酯	$y=2395947x+6.2681$	0.9940	0.0835	0.278

[0072] 进行加标回收实验,计算乙醇和乙酸乙酯的加标回收率,结果如表6所示。乙醇加标回收率为96.11%~105.4%,乙酸乙酯加标回收率为83.82%~102.6%。

[0073] 表6糖蜜酒精废液中乙醇和乙酸乙酯的加标回收率

[0074]	乙醇	加标水平 (10 ⁻³ g/ml)	0.94	1.55	2.70	3.33	4.96
		回收率 (%)	96.11	105.4	98.71	99.24	100.3
	乙酸乙酯	加标水平 (10 ⁻⁶ g/ml)	1.84	4.32	9.01	13.45	21.07
		回收率 (%)	99.28	83.82	102.6	100.3	100.3

[0075] 综上,本发明采用HS-SPME-GC法分析糖蜜酒精废液中低沸点组分,结合标准加入法对糖蜜酒精废液中低沸点组分含量进行校正,克服了糖蜜酒精废液低沸点组分分析基质复杂、难以预处理的问题。对引起糖蜜酒精废液蒸发处理工艺凝液COD过高的乙醇和乙酸乙酯进行了定量校正,糖蜜酒精废液原液中乙醇和乙酸乙酯含量分别为 2.853×10^{-3} g/mL和 2.616×10^{-6} g/mL,为糖蜜酒精废液蒸发处理工艺提供改进基础。本发明的方法操作简单,能准确定量糖蜜酒精废液不同数量级浓度含量的低沸点组分,结果准确可靠。该发明也可应用到食品发酵产物的低沸点组分分析中,为相关产业提供科学支持。

[0076] 实施例2:HS-SPME法提取低沸点组分条件优化

[0077] HS-SPME的灵敏度受萃取头涂层材料、萃取时间、离子强度、平衡温度影响,本发明以固相微萃取提取物色谱总峰面积和总峰数目作优化指标,比较不同离子强度调节剂加入量、平衡温度、萃取头涂层材料、萃取时间对总峰面积和总峰数目影响。

[0078] 1实验方法

[0079] 实验方法按照实施例1实验方法进行,其中采用糖蜜酒精废液未加标样品。

[0080] 2提取条件优化

[0081] 2.1萃取头涂层材料优选

[0082] 实验条件:平衡温度:70℃;萃取时间:60min;萃取头材料:DVB/CAR/PDMS、CW-DVB、PDMS;离子强度调节剂加入量:0.4g/ml。

[0083] 图4为实施例2中不同萃取头涂层材料对萃取效果的影响图。

[0084] 优选结果:DVB/CAR/PDMS作为萃取头材料对糖蜜酒精废液低沸点组分萃取效果相对于CW-DVB和PDMS最好,总峰数目和有效峰总面积最大。因此选取DVB/CAR/PDMS作为固相微萃取萃取头材料。

[0085] 2.2萃取时间优化

[0086] 实验条件:平衡温度:70℃;萃取时间:0、10、30、60、90、150、300min;萃取头材料:DVB/CAR/PDMS;离子强度调节剂加入量:0.3g/ml。

[0087] 图5为实施例2中萃取时间对萃取效果的影响图。

[0088] 优选结果:萃取时间超过60min后,各峰总面积趋于最大,随萃取时间增加而不再明显增加。因此选取萃取时间为60min。

[0089] 2.3离子强度优化

[0090] 实验条件:平衡温度:70℃;萃取时间:60min;萃取头材料:DVB/CAR/PDMS;离子强度调节剂:氯化钠;离子强度调节剂加入量:0、0.1、0.2、0.3、0.4(饱和)g/ml。

[0091] 图6为实施例2中离子强度调节剂加入量对萃取效果的影响图。

[0092] 优选结果:离子强度调节剂加入量为0.4g/ml时,各峰和有效峰总面积最大。因此选取离子强度调节剂加入量为0.4g/ml。

[0093] 2.4萃取温度的优化

[0094] 实验条件:平衡温度:40、50、60、70、80℃;萃取时间:60min;萃取头材料:DVB/CAR/PDMS;离子强度调节剂加入量:0.4g/ml。

[0095] 图7为实施例2中萃取温度对萃取效果的影响图。

[0096] 优选结果:平衡温度为50℃时,各峰和有效峰总面积最大。因此选取50℃作为固相微萃取提取废液低沸点组分平衡温度。

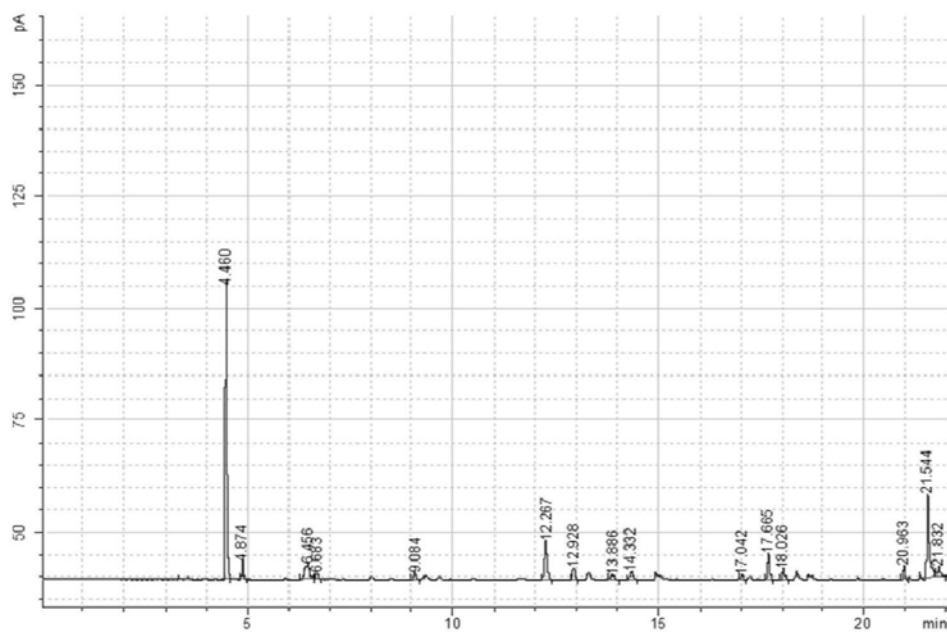


图1

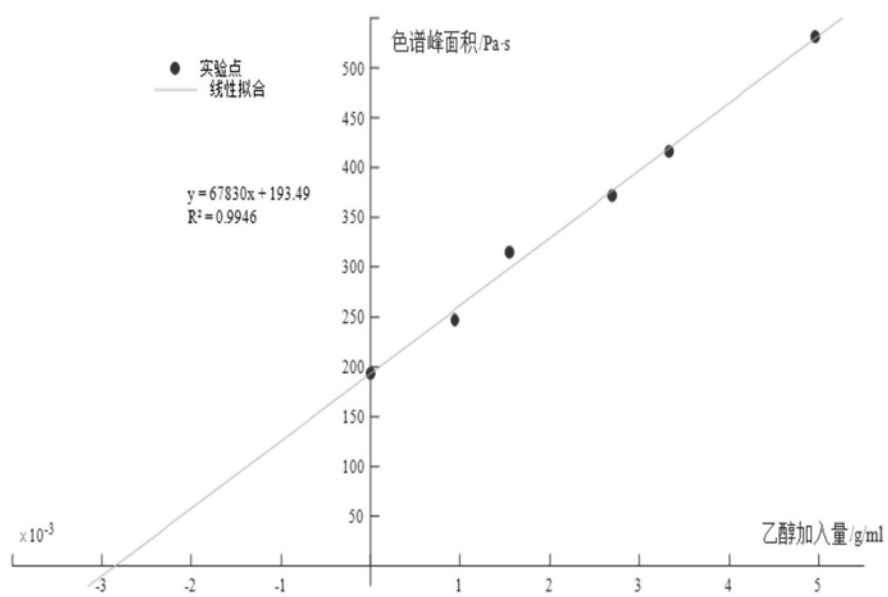


图2

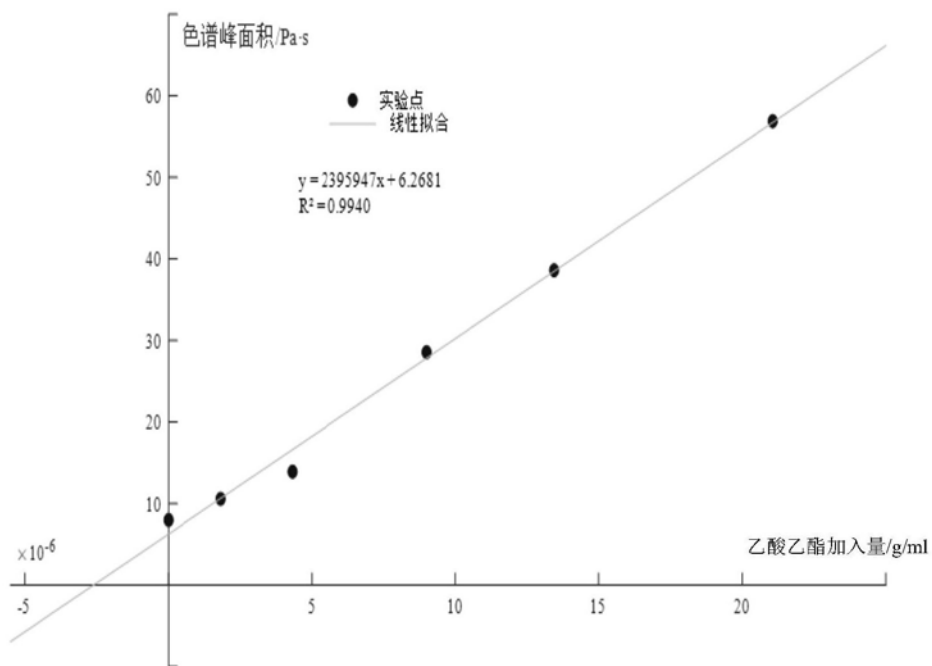


图3

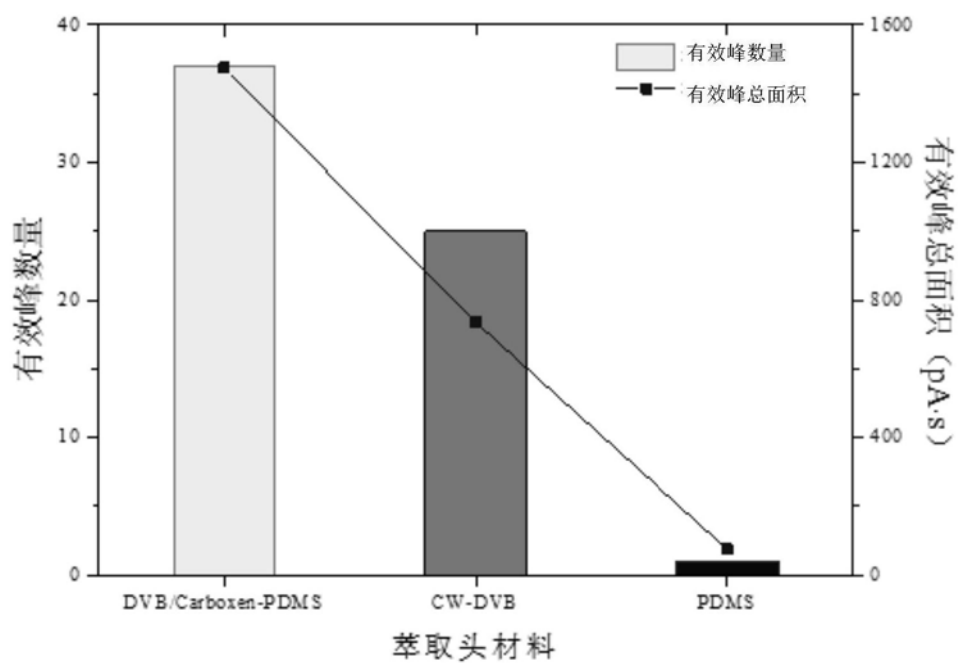


图4

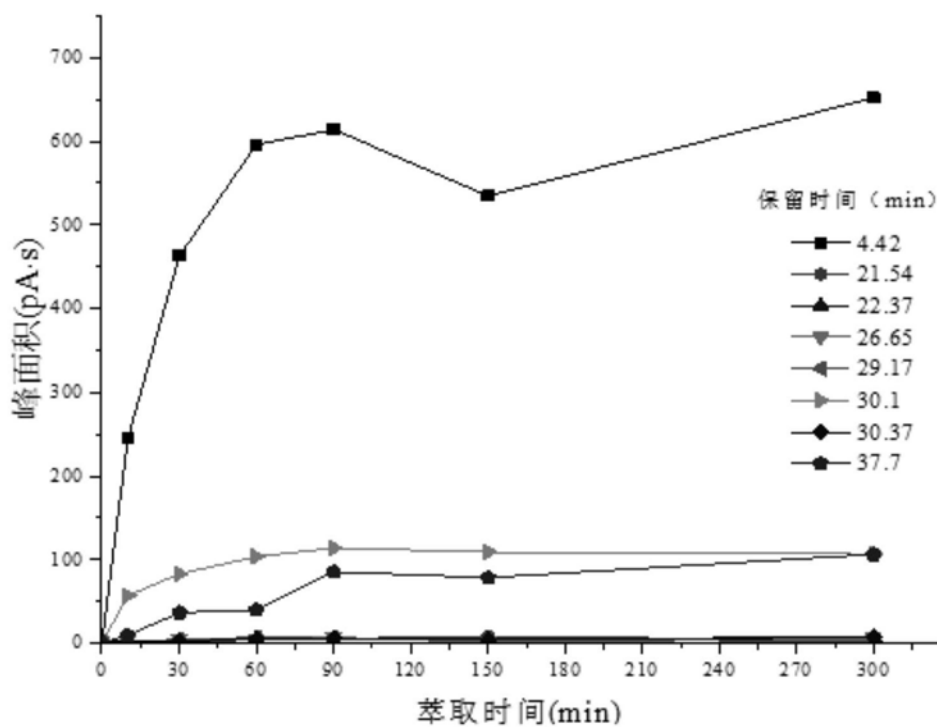


图5

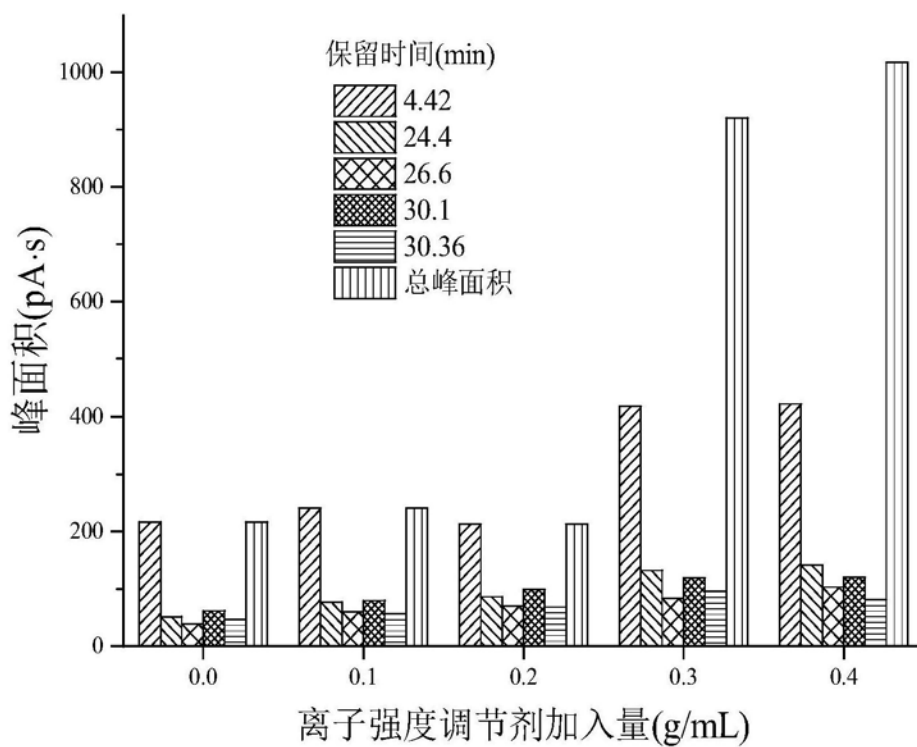


图6

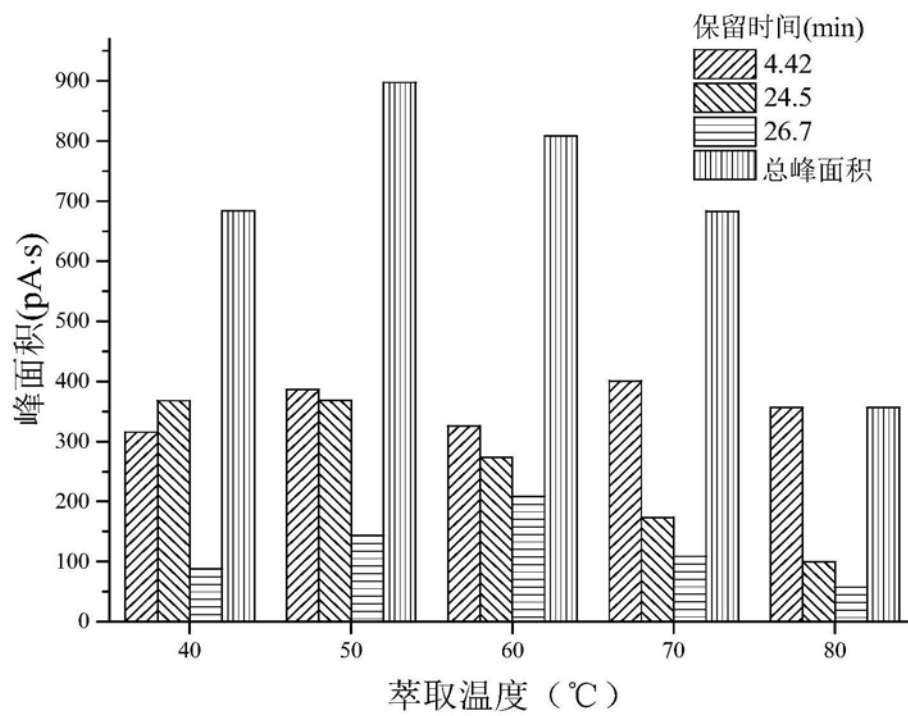


图7