

实验技术

气相色谱法测定粗甘油中的游离甘油含量

李丹*, 周明辉, 刘莹峰, 翟翠萍, 郑建国

(广东出入境检验检疫局, 广东 广州 510623)

摘要: 建立了气相色谱法直接测定生物柴油副产物粗甘油中甘油含量的方法。采用四氢呋喃-水(3:1)混合溶剂溶解粗甘油样品,以二乙二醇二乙醚作内标,直接在HP-5柱上进行GC法分离,无需衍生化步骤,内标法定量。对溶剂、内标物、色谱柱、进样量等参数进行了优化,在最佳实验条件下,甘油溶液质量浓度在0~20 g/L范围内线性良好,相关系数为0.999 94。对实际样品进行8次平行测定,相对标准偏差为0.68%~0.91%。对样品进行高、中、低3个水平的加标回收实验,回收率在95%~105%之间。该方法所选用的溶剂和内标物均不会和体系中的物质发生化学反应,操作简便、分析快速、结果准确,适用于粗甘油中游离甘油的测定。

关键词: 粗甘油; 游离甘油; 气相色谱

中图分类号: O657.7; TQ645.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2011)09-1055-04

doi: 10.3969/j.issn.1004-4957.2011.09.019

Determination of Free Glycerol in Crude Glycerine by Gas Chromatography

LI Dan*, ZHOU Ming-hui, LIU Ying-feng, ZHAI Cui-ping, ZHENG Jian-guo

(Guangdong Entry-Exit Inspection & Quarantine Bureau, Guangzhou 510623, China)

Abstract: A gas chromatographic method was developed for the determination of free glycerol in crude glycerine without any derivative pretreatment. The sample was resolved with THF-water (3:1) mixed solvents using diethylene glycol diethyl ether as internal standard, and was directly separated on an HP-5 column (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm). The influences of some important factors, such as solvent, internal standard, capillary column and injection volume were investigated. Under the optimal conditions, the standard curve of glycerol was linear in the concentration range of 0-20 g/L, with correlation coefficient of 0.999 94. The relative standard deviations (RSDs, n=8) were in the range of 0.68%-0.91%. The spiked recoveries at three concentration levels ranged from 95% to 105%. Neither solvent nor internal standard applied in this method made chemical reaction with the ingredients of crude glycerine sample. This method was simple, rapid and accurate, and was suitable for the quantitative analysis of glycerol content in crude glycerine.

Key words: crude glycerine; free glycerol; gas chromatography

由于石油燃料价格高以及资源的有限性,许多国家均大力发展生物柴油产业,以替代传统石油燃料。生物柴油通常是利用廉价的动植物油脂(如棉籽油、棕榈油、餐饮业废油脂等)与甲醇在强碱催化作用下发生甲酯化反应,生成长碳链脂肪酸甲酯混合物(即生物柴油)和副产物甘油^[1]。从生物柴油中分离出的粗甘油除含有60%~90%的游离甘油外,还含有甘油单酯、甘油二酯、甲醇等不完全转化产物以及水、碱、皂、色素等杂质^[2-4]。粗甘油经提纯可得到重要的工业原料甘油,因此粗甘油中游离甘油的含量决定了粗甘油的利用价值和提炼成本。

由于甘油具有强极性,在毛细管气相色谱柱上易拖尾或前展而峰形不佳,因此利用色谱法对甘油进行分离和定量测定仍是当前研究的难点;而用液相色谱法进行测定时在紫外区的吸收值太低。另外,由于粗甘油中含有大量的碱、色素等杂质,也给检测带来很大困难。目前对粗甘油中游离甘油含量的

收稿日期: 2011-03-09; 修回日期: 2011-05-25

基金项目: 国家质检总局质检公益性行业科研专项(201010073-03)

* 通讯作者: 李丹, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 色谱分析, Tel: 020-38290373, E-mail: macroground@126.com

测定仍普遍采用滴定法^[5-9]，此外，对甘油进行测定的方法还有密度法^[10]、衍生反应-气相色谱法^[11]和高效液相色谱法^[12]。滴定法操作步骤繁琐，不适用于含有相邻碳原子上有两个或两个以上羟基化合物的甘油样品^[13]，且由于粗甘油中常混有甘油单酯，使测定结果偏高。密度法仅适用于高含量甘油产品和纯甘油溶液，对于含杂质较多的粗甘油并不适用。液相色谱法则需使用折光示差检测器，对环境要求相当严格，重复性不佳。衍生反应/气相色谱法需经过复杂的衍生化反应，步骤繁琐。

本文建立了无需衍生化、直接对粗甘油中游离甘油含量进行分析的气相色谱法，并用二乙二醇二乙醚作内标进行定量。结果显示，该方法操作简便，分析快速，线性范围宽，重复性好，结果准确。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪：带 FID 检测器(Agilent 公司)。甘油、四氢呋喃(THF)(分析纯，广州化学试剂厂)，二乙二醇二乙醚(纯度99%，Alfa Aesar 公司)。混合溶剂：将 THF 和蒸馏水按体积比3:1配制；内标贮备液：称取2.5 g 二乙二醇二乙醚于25 mL 容量瓶中，用混合溶剂定容至刻度，摇匀。

1.2 标准溶液的配制

在7个25 mL 容量瓶中分别准确称入0、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 g 甘油(精确至0.1 mg)，再分别移入2 mL 内标贮备液，用混合溶剂定容并摇匀，作为标准工作溶液。其中甘油质量浓度分别为0、2、4、8、12、20 g/L，内标质量浓度均为8 g/L。

1.3 样品的制备

在25 mL 容量瓶中称入0.5 g(精确至0.1 mg) 混匀后的粗甘油样品，移入2 mL 内标贮备液，用混合溶剂定容至刻度并摇匀。

1.4 GC 条件

色谱柱：HP-5 石英毛细管柱，30 m(柱长) × 0.32 mm(内径) × 0.25 μm(膜厚)。柱温：初始温度120 °C，保留5 min，以20 °C/min 升至290 °C，保留10 min。进样口温度：280 °C，进样量：0.2 μL，分流比：100:1。检测器(FID) 温度：300 °C，氢气流速：40 mL/min，空气流速：300 mL/min。载气：氮气，流速：1 mL/min，恒流模式。

2 结果与讨论

2.1 实验条件的选择

2.1.1 溶剂的选择 由于甘油的粘度大、极性大，能与甘油混溶的溶剂只有醇类和水。但因粗甘油中存在大量的强碱(通常为KOH)，醇类作溶剂时易与结合态的甘油(甘油单酯、甘油二酯等)在碱性条件下发生酯交换反应而置换出游离态甘油，造成检测结果偏高^[14]。但用纯水作溶剂时易破坏色谱柱固定相。利用 THF 在碱性条件下稳定、且与水混溶的特性，本实验将其与水按一定比例混合配制成混合溶剂使用，以减少水分在溶剂中的比例，保护色谱柱。实验表明，当 THF 比例过高时，会导致粗甘油样品浑浊甚至使甘油析出，影响检测结果的重现性，而 THF 比例过低则会因水的比例过高而影响色谱柱固定相，当 THF 与水以体积比3:1 混合时，所有粗甘油样品均能完全溶解。因此选择 THF - 水(3:1) 混合溶液作为最佳溶剂。

2.1.2 内标物的选择 甘油属于多元醇，但选用醇作内标时易与粗甘油强碱性体系中的杂质发生酯交换反应。而醚类在碱性环境下有很好的稳定性，考虑到甘油的沸点高，故可考虑选择沸点较高、且能与水和 THF 混溶的醚作内标物。经筛选后发现，二乙二醇二乙醚的沸点高，保留时间与甘油接近且能达到基线分离，不受其他杂质的干扰，峰形好，响应因子亦与甘油较为接近，因此本实验选用二乙二醇二乙醚作内标物。

2.1.3 色谱柱的选择 分别对30 m(柱长) × 0.32 mm(内径) × 0.25 μm(膜厚)的 HP-5、HP-50 + 和 HP-INNOWax 3 种不同极性的色谱柱进行考察，结果表明，用强极性的 HP-INNOWax 柱时，色谱峰严重拖尾，难以对峰面积进行准确积分；用 HP-50 + 柱分析时，甘油的色谱峰出现明显的前展现象；而在 HP-5 柱上，虽有轻微拖尾，但峰的对称性最佳，且甘油标准曲线的线性关系良好，能够保证准确定

量。因此选用 HP-5 柱对样品进行检测。

2.1.4 进样量的选择 实验发现,较小的进样量有助于获得较好的峰形。当进样量为 1 μL 时,甘油会出现平头峰,而当进样量为 0.2 μL 时则无此现象。另外,减少进样量也使得进入色谱柱的水分减少,从而降低水分对固定相的影响。因此选择最佳进样量为 0.2 μL 。

2.1.5 水分对色谱柱性能的影响 混合溶剂中水的含量约为 25%,但因进样量小、分流比大,故实际进入色谱柱的水量非常少。由于柱温的起始温度为 120 $^{\circ}\text{C}$,水以蒸汽状态进入色谱柱并很快通过,不会以液态形式在色谱柱中停留,因此不会造成固定相的破坏。在经过 200 个样品的测试后,甘油和内标物的峰形及保留时间无明显变化,因此溶剂中的水分对色谱柱性能无不良影响。

在优化的 GC 条件下,甘油标准溶液的色谱图见图 1A。

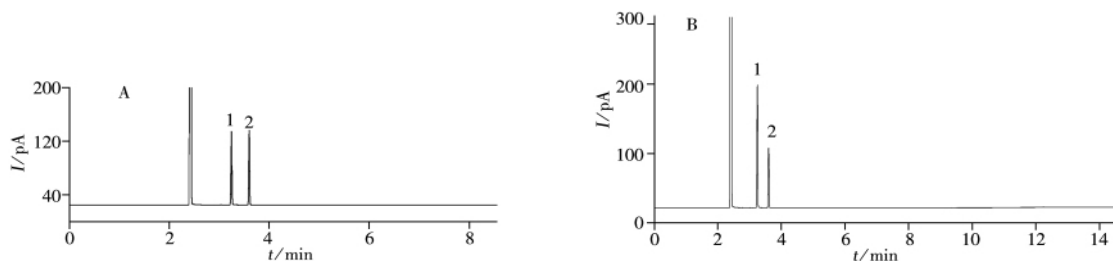


图 1 甘油标准溶液(A)及粗甘油样品(B)的气相色谱图

Fig. 1 Chromatograms of glycerol standard solution(A) and crude glycerine sample(B)

1. glycerol (甘油); 2. diethylene glycol diethyl ether (ISTD, 二乙二醇二乙醚)

2.2 方法的标准曲线

将“1.2”配制的标准工作溶液,按“1.4”GC 条件进行测定,得到回归方程为 $Y = 1.5811X - 0.0106$, $r = 0.99994$,其中 Y 为甘油和内标物的峰面积比, X 为甘油和内标物的浓度比。甘油溶液的质量浓度在 0~20 g/L 范围内有良好的线性关系。

2.3 对甘油-水溶液的测定

准确称取一定量的甘油和水,混合均匀,配制成不同浓度的甘油-水溶液,分别用 GC 法和滴定法进行测定,结果见表 1。结果表明,对于甘油-水溶液体系,滴定法和 GC 法的测定结果具有良好的一致性。

2.4 实际样品的测定

取 6 个粗甘油样品,分别用 GC 法和滴定法进行测定,结果见表 2。由表 2 可见,GC 法的 RSD 为 0.68%~0.91%,滴定法的测定结果均高于 GC 法,这是由于粗甘油样品中含有一定量的甘油单酯。由于甘油中 1-位羟基上的 H 被脂肪酸的羧基所取代,剩余 2-,3-位上两个相邻的羟基,在用 NaIO_4 进行滴定时会随甘油一起被 NaIO_4 氧化,造成测定结果比 GC 法偏高。

以上述 6 个实际样品为本底,分别加入高、中、低 3 种不同浓度的甘油标准溶液,按上述方法进行样品处理和 GC 法分析,测定其加标回收率。结果显示,添加水平为样品中游离甘油含量的 10% 时,回收率在 95%~104% 之间;添加水平为 50% 时,回收率在 98%~105% 之间;添加水平为 90% 时,回收率在 97%~103%。方法显示了较高的准确性。

对 300 多个粗甘油样品进行检测,测得样品中的游离甘油含量为 62.5%~88.7%。粗甘油样品的色谱图见图 1B。

表 1 甘油-水溶液的测定结果

Table 1 Test results for glycerol-H₂O solution w/%

| Sample | Weighting concentration | Results from GC method | Results from titration method |
|--------|-------------------------|------------------------|-------------------------------|
| 1 | 5.43 | 5.76 | 5.65 |
| 2 | 50.2 | 50.3 | 50.2 |
| 3 | 71.4 | 71.2 | 71.3 |
| 4 | 85.3 | 85.4 | 85.3 |
| 5 | 95.7 | 95.7 | 95.6 |

表 2 粗甘油样品的测定结果

Table 2 Test results for crude glycerine samples

| Sample | Result from titration method (%) | Result from GC method (%) | RSD of GC method ($n=8$) _{s_r} /% |
|--------|----------------------------------|---------------------------|--|
| 1 | 71.3 | 64.8 | 0.84 |
| 2 | 76.2 | 73.5 | 0.85 |
| 3 | 87.4 | 82.1 | 0.76 |
| 4 | 88.1 | 80.7 | 0.91 |
| 5 | 92.6 | 85.6 | 0.68 |
| 6 | 85.3 | 81.9 | 0.82 |

3 结 论

本文采用气相色谱法对粗甘油中的游离甘油含量进行了检测,优化了样品前处理条件和色谱条件,并选用合适的内标物进行准确定量。甘油溶液的质量浓度在0~20 g/L范围内线性关系良好,方法的重复性好、回收率高。与传统的滴定法相比,本方法操作简便、分析快速,准确度更高,能够满足生产企业和相关检测机构的实际工作需要。

参考文献:

- [1] He Y Q, Wu Y Q, Wen J P. *China Oils and Fats*. (何延青, 吴永强, 闻建平. 中国油脂), **2007**, 32(5): 47-51.
- [2] Zhou X, Chen L G, Zhu L Y. *Adv. Fine Petrochem.* (周星, 陈立功, 朱立业. 精细石油化工进展), **2010**, 11(4): 44-48.
- [3] Wang H, Fan W L, Li X R, Wang T, Li L, Zhang Z B. *Fine Chem.* (王辉, 樊文玲, 李雪茹, 王涛, 李磊, 张志炳. 精细化工), **2010**, 27(4): 358-361.
- [4] Wang L, Zhang H W, Zhang X M, Xu G R. *Chin. J. Appl. Environ. Biol.* (王璐, 张宏武, 张晓梅, 许赣荣. 应用与环境生物学报), **2008**, 14(6): 885-889.
- [5] GB/T 13216-2008. Test methods for glycerine. National Standards of the People's Republic of China(甘油试验方法. 中华人民共和国国家标准).
- [6] Wu M X, Wu G Y, Yan F J, Zhang B L. *J. Jiangsu Polytech. Univ.* (巫淼鑫, 邬国英, 颜飞佳, 张宝玲. 江苏工业学院学报), **2006**, (1): 22-24.
- [7] He P, Peng H X, Kuang S C. *Hebei Chem. Ind.* (贺平, 彭红星, 旷申昌. 河北化工), **2008**, 31(5): 60-61.
- [8] Gu H K, Dong J X. *Detergent & Cosmetics*(谷红宽, 董晋湘. 日用化学品科学), **2010**, 33(11): 24-28.
- [9] Su Y Y, Wang H, Bao G R, Wu Z F, Wang D. *China Oils and Fats*(苏有勇, 王华, 包桂蓉, 吴桢芬, 王督. 中国油脂), **2008**, 33(12): 58-60.
- [10] Yang K H, Jiang J C, Nie X A, Xu Q Y. *Biomass Chem. Eng.* (杨凯华, 蒋剑春, 聂小安, 徐秋云. 生物质化学工程), **2006**, 40(1): 1-4.
- [11] ASTM, D6584-2010. Standard test method for determination of total monoglyceride, total diglyceride, total triglyceride, and free and total glycerin in B-100 biodiesel methyl esters by gas chromatography.
- [12] SN/T 2544-2010. Determination of content in glycerine—High performance liquid chromatography. General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China(甘油含量的测定 高效液相色谱法. 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准).
- [13] Wang H L, Zhang W D, Yin F. *Anhui Agric. Sci. Bull.* (王赫麟, 张无敌, 尹芳. 安徽农学通报), **2007**, 13(12): 181-182.
- [14] Xing Q Y, Pei W W, Xu R Q, Pei J. *Basic organic chemistry*(Vol. 1). 3rd ed. Beijing: Higher Education Press(邢其毅, 裴伟伟, 徐瑞秋, 裴坚. 基础有机化学(上册). 3版. 北京: 高等教育出版社), **2005**: 610-611.