

分析测试

由菜籽油制备生物柴油的 HPLC 定量分析

柯中炉¹, 朱魏²

(1. 台州职业技术学院 生物与化学工程系, 浙江 台州 318000 2 浙江大学 二次资源化工国家专业实验室, 浙江 杭州 310027)

摘 要: 采用反相液相色谱分离和紫外检测法定量分析了菜籽油制备生物柴油的主要组分分布及含量。结果表明, 各脂肪酸甲酯、甘油单酯、甘油二酯及甘油三酯组分均能达到基线分离, 且线性相关性良好, 相关系数均在 0.999 3 以上, 加标回收率在 99.5% ~ 103.7% 之间, RSD 在 0.45% ~ 2.38% (n) 之间, 该方法准确可靠。定量分析了菜籽油完全酯交换产品中油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯组分含量分别为 58.45%, 20.02%, 16.50%, 三者之和为 94.98%。菜籽油中三油酸甘油酯组分含量为 38.76%。

关键词: 生物柴油; 脂肪酸甲酯; 液相色谱; 菜籽油; 定量分析

中图分类号: TQ 645; TQ 225.1 文献标识码: A 文章编号: 1671-3206(2010)06-0929-03

The quantitative analysis of biodiesel from rapeseed oil by HPLC

KE Zhong-lu¹, ZHU Wei²

(1. Department of Biological and Chemical Engineering Taizhou Technical College Taizhou 318000, China

2. National Laboratory of Secondary Resources Chemical Engineering Zhejiang University Hangzhou 310027, China)

Abstract The quantitative analysis about the distribution and contents of the main components in biodiesel from rapeseed oil was studied using reversed-phase liquid chromatography and UV detection methods. The results showed that the components of fatty acid methyl ester, monoglyceride, diglyceride and triglyceride can be separated on baseline. The linear correlation coefficients are in good and more than 0.999 3. The recovery rate is between 99.5% and 103.7% and the RSD is from 0.45% to 2.38%. These methods are accurate and reliable. The contents of methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate are 58.45%, 20.02% and 16.50%, respectively in product of complete transesterification of rapeseed oil with methanol, the sum of them is 94.98%. The content of olein in rapeseed oil is 38.76%.

Key words biodiesel; fatty acid methyl ester; liquid chromatogram; rapeseed oil; quantitative analysis

生物柴油具有生物可降解、可再生资源、无毒、废气排量小等优点, 可作为石油燃料的替代产品^[1]。生物柴油主要是以植物油和动物油为原料通过酯交换反应生产^[2-4], 也可以利用富含游离脂肪酸物质(如植物油脱臭馏出物)通过酯化法制备^[5], 生物柴油主要含量是脂肪酸甲酯(FAME)。本文利用高效液相色谱(HPLC)定量分析由菜籽油与甲醇酯交换法制备生物柴油主要组分分布及含量。

对由菜籽油制备生物柴油的酯交换过程及产品质量控制分析, 国内外已有许多学者进行了这方面工作, 大多采用气相色谱法(GC)^[6-8]。利用 HPLC

分析测定生物柴油组成及含量, 国外开展较早^[9-10], 使用检测器大多为蒸发光散射和质谱检测器, 国内相关报道较少。本文采用反相液相色谱分离和紫外检测法测定由菜籽油制备生物柴油的酯交换过程及产品质量控制分析, 快速简便、定量准确。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

菜籽油, 精炼一级, 酸价 0.11 mg KOH/g 无水甲醇、异丙醇、正己烷均为分析纯; 油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯均为色谱纯; 三油酸甘油酯(SG)。

Waters 1525 型高效液相色谱仪; Waters 2487 型

收稿日期: 2010-04-13 收稿日期: 2010-04-23

基金项目: 浙江省高等学校优秀青年教师资助计划项目(2008142)

作者简介: 柯中炉(1981-), 男, 浙江台州人, 台州职业技术学院讲师, 硕士, 从事应用化学研究。电话: 15868690252。

E-mail: kezhonglu@163.com

紫外-可见光检测器; Waters 717 型自动进样器; Waters Symmetry 型 C18 色谱柱, 粒径 5 μm , Φ 4.8 mm $\times$ 150 mm); DF-1 型集热式磁力恒温水浴; RE-5298A 型旋转蒸发仪。

1.2 溶液配制

分别准确称取油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯和三油酸甘油酯 0.074 5, 0.029 3, 0.014 6, 0.043 6 g 于 25 mL 容量瓶中, 用异丙醇:正己烷(体积比)为 6:5 的混合溶液定容至刻度, 然后分别取 6, 2, 0.5, 0.1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用异丙醇:正己烷(体积比)为 6:5 的混合溶液定容, 摇匀, 备用。

样品也用异丙醇正己烷(体积比)为 6:5 的混合溶液配制。

1.3 FAME 制备

菜籽油与甲醇酯交换反应制备生物柴油参照文献 [11], 以 10% KOH 甲醇溶液作催化剂, 反应温度 60 $^{\circ}\text{C}$, 菜籽油:甲醇(摩尔比)为 1:10 反应 1 h 可完全将菜籽油转化成脂肪酸甲酯(FAME)。反应后的物料先分液去除下层溶液(甘油相)。上层溶液(油相)通过减压旋转蒸发仪蒸掉甲醇, 将蒸馏后的产品溶解到适量的石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$)中, 再用冰醋酸或磷酸滴加至中性, 然后用适量去离子水洗涤 3 次, 将上层 FAME 石油醚溶液用无水硫酸镁干燥, 最后用旋转蒸发仪蒸掉石油醚, 得到精制的生物柴油。

1.4 色谱条件

色谱柱为 Waters Symmetry C18 (粒径 5 μm , Φ 4.8 mm $\times$ 150 mm), 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$, 流量为 1 mL/min, 进样量 10 μL , 检测波长为 210 nm; 流动相 A 为甲醇, 流动相 B 为 $V_{\text{异丙醇}}:V_{\text{正己烷}}=6:5$ 溶剂, 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱			
Table 1 Gradient elution program			
时间 /min	流动相 A /%	流动相 B /%	梯度曲线形状
0	100	0	-
6	100	0	-
18	50	50	线性
20	50	50	-
21	100	0	线性
22	100	0	-

2 结果与讨论

2.1 混合标准样与部分转酯化产品分析

混合标准溶液和菜籽油部分转酯化产品的色谱分析见图 1 图 2。

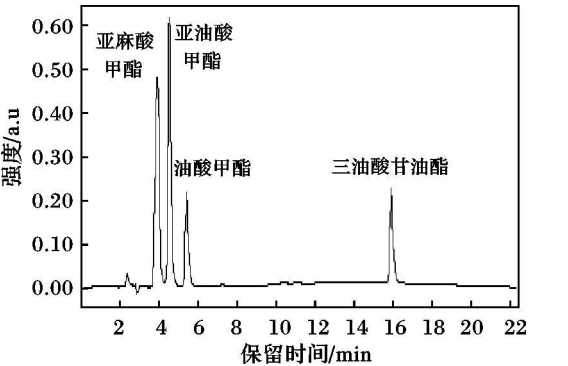


图 1 混合标准样品 HPLC 色谱图

Fig 1 The HPLC chromatogram of mixed standards

由图 1 可知, 亚麻酸甲酯、亚油酸甲酯、油酸甲酯及三油酸甘油酯的保留时间分别为 3.78, 4.43, 5.37, 15.79 min。

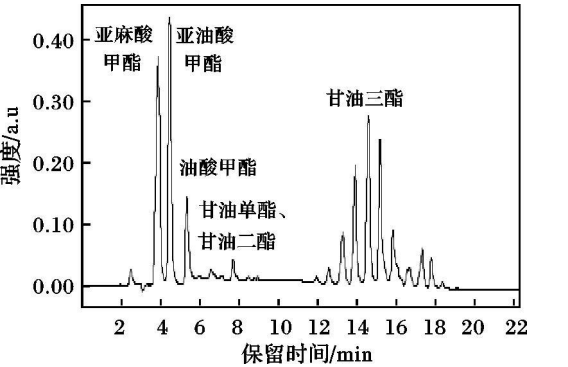


图 2 菜籽油与甲醇未完全酯交换反应的 HPLC 色谱图

Fig 2 The HPLC chromatogram of incomplete transesterification of vegetable oil with methanol

由图 2 可知, 本分析方法可以很好地实现脂肪酸甲酯、甘油单酯、甘油二酯及甘油三酯各组分离。

2.2 线性相关性测定

分别取一定量亚麻酸甲酯、亚油酸甲酯、油酸甲酯、三油酸甘油酯标准溶液进行分析。以各脂肪酸甲酯浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 得到各标准样品的线性方程(见表 2)。

表 2 标准样品线性相关结果

Table 2 The results of the linear correlation of the standard

标准样品	浓度范围 /(mg $\cdot$ 25 mL $^{-1}$)	回归方程	相关系数 R^2
亚麻酸甲酯	0.15~8.76	$Y=6.5480X$	0.9998
亚油酸甲酯	0.29~17.58	$Y=4.0705X$	0.9994
油酸甲酯	0.74~44.70	$Y=0.5336X$	0.9999
三油酸甘油酯	0.22~26.16	$Y=0.5199X$	0.9993

由表 2 可知, 亚麻酸甲酯、亚油酸甲酯、油酸甲酯及三油酸甘油酯质量浓度分别在 0.15~8.76, 0.29~17.58, 0.74~44.70, 0.22~26.16 mg/25 mL 有很好的线性关系, 其回归方程分别为 $Y=6.5480X$,

$Y=4\ 070\ 5X$, $Y=0\ 533\ 6X$ 和 $Y=0\ 519\ 9X$, 相关系数分别为 0.999 8, 0.999 4, 0.999 9, 0.999 3。

2.3 回收率测定

为了考察本方法测定 FAME 产品中各组分及表 3 加标回收率实验结果

Table 3 The experimental results of recovery rate										
组分	加入量 / (mg·g ⁻¹)			检出量 / (mg·g ⁻¹)			回收率 / %			平均回收率
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	%
亚麻酸甲酯	86.1	147.2	317.1	91.2	154.7	317.1	105.9	105.1	100.0	103.7
亚油酸甲酯	102.5	215.1	390.2	102.4	218.9	378.0	99.9	101.8	96.9	99.5
油酸甲酯	307.4	603.8	113.8	319.7	592.4	109.7	104.0	98.1	96.4	99.5
三油酸甘油酯	212.6	370.2	703	225.9	366.8	679.9	106.3	99.1	96.7	100.7

由表 3 可知, 各种 FAME 及三油酸甘油酯平均回收率为 99.5% ~ 103.7%, 说明本方法准确度较高。

2.4 实际样品及精密度测定

取一定量完全转酯化产品与菜籽油样品各 5 份, 分别置于 10 mL 的容量瓶中, 用色谱分析, 结果见表 4。

Table 4 The results of actual sample and precision measurement by HPLC										
组分	测定次数					平均值	RSD	文献 [12]	文献 [13]	%
	1	2	3	4	5					
亚麻酸甲酯	16.28	16.98	16.58	16.38	16.30	16.50	1.77	8.23	8.2	
亚油酸甲酯	20.03	20.15	20.08	19.98	19.86	20.02	0.55	22.30	22.3	
油酸甲酯	58.68	58.73	58.32	58.43	58.10	58.45	0.45	64.40	64.1	
三油酸甘油酯	38.99	37.95	38.47	40.25	38.13	38.76	2.38	-	-	
以上三种甲酯总和	94.99	95.86	94.98	94.79	94.26	94.98	-	94.93	94.6	
棕榈酸甲酯	-	-	-	-	-	-	-	3.49	3.5	
硬脂酸甲酯	-	-	-	-	-	-	-	0.85	0.9	

菜籽油中组分复杂, 有十几种甘油三酯, 而且有些组分因为碳原子总数和双键总数都相同而重叠在一块^[9], 要定量分析十分困难, 但可以选取其中一种或几种组分进行定量分析, 以便计算反应转化率。本文选取三油酸甘油酯组分进行分析, 5 次测定平均结果为 38.76%, 三油酸甘油酯标准样品易于购买, 且相对含量较高, 因此可以通过三油酸甘油酯组分转化率间接评价菜籽油转化率。

由表 4 还可知, 5 次测定相对标准偏差 (RSD) 为 0.45% ~ 2.38%, 说明本方法具有较高的精度。

3 结论

(1) 采用反相液相色谱分离和紫外检测法, 定量分析了菜籽油制备生物柴油的主要组分分布及含量, 各脂肪酸甲酯、甘油单酯、甘油二酯及甘油三酯组分均能达到基线分离, 且线性相关性良好 ($R \geq$

菜籽油中甘油三酯的准确度, 在已知各种 FAME 含量的样品中加入不同量的 FAME, 在已知三油酸甘油酯含量的菜籽油中加入三油酸甘油酯, 作加标回收率实验, 结果见表 3。

由表 4 可知, 文献报道^[12-13] 菜籽油中脂肪酸链组成主要为油酸、亚油酸、亚麻酸组成, 三者之和约占总和的 95%。本文先用 KOH 催化菜籽油与甲醇完全酯交换, 分析产物中油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯的含量, 结果分别为 58.45%, 20.02%, 16.50%, 三者之和为 94.98%。因此, 以这三种 FAME 之和的收率可近似作为生物柴油总收率。

0.999 3), 加标回收率在 99.5% ~ 103.7%, RSD 在 0.45 ~ 2.38% ($n=5$), 说明本方法准确可靠。

(2) 由菜籽油制备生物柴油主要组分为油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯, 含量分别为 58.45%, 20.02%, 16.50%, 三者之和为 94.98%; 菜籽油中三油酸甘油酯组分含量为 38.76%。因此, 在评价菜籽油酯交换过程时, 可以这三种 FAME 之和的收率近似作为产品总收率, 可以通过三油酸甘油酯组分转化率间接评价菜籽油转化率。

参考文献:

[1] 盛梅, 郭登峰. 固定化酶催化菜子油合成生物柴油稳定性研究 [J]. 中国油脂, 2005, 30(5): 68-70.
[2] Schwab A W, Bagby M O, Freedman B. Preparation and properties of diesel fuels from vegetable oils [J]. Fuel, 1987, 66, 1372-1378. (下转第 938 页)

参考文献:

- [1] 张希功. 四氢呋喃生产技术进展与现状 [J]. 化工生产与技术, 2002, 18(9): 18-20
- [2] Stabele Uwe. Isolation of tetrahydrofuran from mixtures which contain tetrahydrofuran, 1, 4-butanediol, gamma-butyrolactone and succinic acid ester. US, 5128490 [P]. 1992-07-07
- [3] 冯伯华. 化学工程手册 17th 吸附与离子交换 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1985: 8-10
- [4] 齐润红, 乔世璋. 工业级四氢呋喃的精制 [J]. 石油化工, 1994, 23(3): 461-467.
- [5] 许金全, 段五华, 汪承藩, 等. 应用特殊精馏技术从制药废液中回收四氢呋喃 [J]. 化工环保, 1999, 19(2): 12-19
- [3] Schuchardt U, Serdelli R, Vargas R M. Transesterification of vegetable oils: A review [J]. Journal of the Brazilian Chemical Society, 1998, 9(3): 199-210
- [4] D'Ferio M, Ledda M, Cozzolino M, et al. Transesterification of soybean oil to biodiesel by using heterogeneous basic catalysts [J]. Industrial and Engineering Chemistry Research, 2006, 45(9): 3009-3014
- [5] 杨亦文, 钱国平, 苏云, 等. 脱臭馏出物的固体酸催化酯化反应工艺研究 [J]. 浙江大学学报: 工学版, 2002, 36(6): 698-701.
- [6] 李长秀, 唐忠, 杨海鹰. 气相色谱法测定生物柴油样品中脂肪酸甲酯和脂肪酸甘油酯的含量 [J]. 分析测试学报, 2005, 24(5): 66-68
- [7] 郭登峰, 盛梅, 罗士平. 气相色谱法测定生物柴油中多种脂肪酸甲酯 [J]. 中国油脂, 2004, 29(4): 44-46
- [8] Cvengrošova L, Cvengroš J, Hmonc M. Rapeseed oil ethyl esters as alternative fuels and their quality control [J]. Petroleum and Coal, 1997, 39(3): 36-40
- [9] Holcapek M, Jandera P, Fischer J et al. Analytical monitoring of the production of biodiesel by high performance liquid chromatography with various detection methods [J]. Journal of Chromatography A, 1999, 858(1): 13-31
- [10] Foglia T A, Jones K C. Quantitation of neutral lipid mixtures using high performance liquid chromatography with light scattering detection [J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 1997, 20(12): 1829-1838
- [11] Freedman R, Pryde E H, Kwok W E. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oil [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1984, 61(10): 1638-1643.
- [12] Demirbas A. Biodiesel fuels from vegetable oils via catalytic and noncatalytic supercritical alcohol transesterifications and other methods: A survey [J]. Energy Conversion and Management, 2003, 44(13): 2093-2109.
- [13] Ma F R, Hanna M A. Biodiesel production: A review [J]. Bioresource Technology, 1999, 70(1): 1-15.

(上接第 933 页)

- [2] 焦凤菊. 结晶硅中铁、铝、钙的测定 [J]. 冶金分析, 2003, 23(6): 70-71.
- [3] 国家质量监督检验检疫总局. SN-T 0550.2—1996 出口金属硅中铁、铝、钙的测定 容量法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006
- [4] 胡晓静, 黄大亮, 赵恒英. 电感耦合等离子体原子发射光谱法测定工业硅中 11 种成分的不确定度评定 [J]. 冶金分析, 2005, 25(6): 77-81.
- [5] 谷松海, 李旭辉. X 射线荧光光谱法测定工业硅中铁、铝、钙 [J]. 光谱学与光谱分析, 2001, 21(4): 569-571
- [6] 徐盘明, 赵祥大. 实用金属材料分析方法 [M]. 安徽: 中国科学技术大学出版社, 1990
- [7] 冒爱荣. 火焰原子吸收光谱法测定镀铬液中的镍 [J]. 电镀与精饰, 2009, 30(3): 35-37.