

TỐI ƯU HÓA QUY TRÌNH XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI GLYXERIN TỰ DO VÀ GLYXERIN TỔNG TRONG BIODIESEL BẰNG PHƯƠNG PHÁP GC/FID SỬ DỤNG CHẤT TẠO DẪN XUẤT BSTFA/TMCS

Lê Thị Thanh Hương*, Vũ Thị Hoa

Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

Đến Tòa soạn 25-8-2013

Abstract

This study proposes a new method for the simultaneous determination of free glycerin, monoglycerides, diglycerides and triglycerides in biodiesel by GC/FID using the derivating agent N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) and the only internal standard (n-tetradecane). The silylation reaction was optimized. The sensitivity, precision and repeatability of method were evaluated.

Keywords: Biodiesel, analysis, free glycerine, total glycerine, GC/FID, BSTFA, derivating agent.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Giới hạn glycerin tự do (G), mono glycerid (MG), diglycerid (DG), triglycerid (TG) và glycerin tổng (G_T) trong biodiesel theo quy định của các tiêu chuẩn được trình bày trong bảng 1. Hàm lượng G và G_T cao sẽ gây khó khăn cho quá trình rửa và tinh chế biodiesel, dễ gây tắc nghẽn vòi phun, tạo cặn trong động cơ và tăng hàm lượng khói xả [1-3].

Bảng 1: Hàm lượng G, MG, DG, TG và G_T theo quy định của tiêu chuẩn

Chất	Hàm lượng, %		
	ASTM D6751	EN 14214	TCVN 7717: 2008
G	0,02	0,02	0,02
MG	-	0,8	-
DG	-	0,2	-
TG	-	0,2	-
G_T	0,24	0,25	0,24

Phương pháp ASTM D6584 (tiêu chuẩn ASTM D6751) và EN 14105 (tiêu chuẩn EN 14214) đều sử dụng GC/FID, chất tạo dẫn xuất N-methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamid (MSTFA), hai nội chuẩn (1,2,4-butatriol, tricaprín) áp dụng cho nguyên liệu sản xuất biodiesel từ dầu cải, dầu đậu nành, dầu hoa hướng dương hoặc dầu cọ. Chi phí phân tích cao do giá các chất chuẩn và thiết bị là nguyên nhân hạn chế việc nghiên cứu và phát triển sản xuất biodiesel đặc biệt là từ mỡ cá da trơn-nguyên liệu sản xuất biodiesel tiềm năng ở Việt Nam. Đề tài nghiên cứu

phương pháp GC/FID xác định đồng thời G, MG, DG và TG trong biodiesel đi từ mỡ cá da trơn đơn giản, rẻ tiền hơn so với ASTM D6584 và EN 14105.

2. HÓA CHẤT VÀ THIẾT BỊ

2.1. Nguyên liệu

Mỡ cá da trơn do Công ty XNK Nông sản thực phẩm An Giang cung cấp [4]. BSTFA/TMCS (99:1) (Fluka, Mỹ). Hóa chất dùng cho GC (> 99 %): G (Fluka, Mỹ), monoolein, diolein, triolein (Sigma, Mỹ), nội chuẩn (IS) tetradecan (Sigma, Mỹ), pyridin, 14 metyl este của axit béo (FAME) chuẩn, heptan (Merck), hexan (Prolabo).

2.2. Thiết bị

GC Agilent 6890N, MSD 5973, phần mềm phân tích dữ liệu Agilent MSD Productivity ChemStation, thư viện phổ NIST 98, cột mao quản DB-5ht (30 m × 0,32 mm × 0,10 μm), thành phần pha tĩnh (5 % phenyl) – methylpolysiloxan.

3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Điều kiện vận hành thiết bị GC/FID/MS

Tiêm mẫu GC/FID: cool on-column, chế độ split, 300 °C, chia dòng 25:1, tốc độ 75,0 mL/phút. Khí mang He: tốc độ 3,0 mL/phút, 13,07 psi. Đầu dò FID: 380 °C, dòng không đổi, tốc độ 45 cm/giây,

dòng hydro 40,0 mL/phút, dòng không khí 450,0 mL/phút. Thể tích mẫu tiêm 1 μ L. GC/MSD: ion hóa phương pháp EI 70 eV, khí mang He, chia dòng 25:1, tốc độ 3 mL/phút, khối phổ 25-800 (m/z), nhiệt độ kết nối GC/MSD 300 °C.

3.2. Xác định thành phần axit béo trong mỡ cá

Thành phần axit béo trong mỡ cá được xác định tại Trung tâm dịch vụ phân tích TP.HCM dùng để đối chiếu với thành phần FAME trong biodiesel và hiệu chỉnh công thức tính G_T [2].

3.3. Pha chế chất chuẩn và chuẩn bị mẫu

Các dung dịch chuẩn gốc được pha trong pyridin với nồng độ (mg/mL): glycerin 0,5; monoolein 5,0; diolein 5,0, triolein 5,0; tetradecan 10,0. Chuẩn bị mẫu chuẩn: hút chính xác lần lượt 50 μ L G chuẩn, 100 μ L monoolein, 40 μ L diolein, 40 μ L triolein cho vào bình định mức 1 mL có nắp đậy, thêm 30 μ L IS, 100 μ L BSTFA/TMCS, lắc mạnh. Tiến hành phản ứng silyl hóa ở 70 °C trong 30 phút, định mức với hexan. Chuẩn bị mẫu biodiesel: cân chính xác 0,1 g biodiesel cho vào bình định mức 1 mL có nắp đậy, thêm 30 μ L IS và 100 μ L BSTFA/TMCS, lắc mạnh, silyl hóa ở 70 °C trong 30 phút, định mức với hexan.

3.4. Khảo sát quy trình xác định đồng thời TG, DG, MG và G

3.4.1. Chương trình nhiệt với dung dịch chuẩn

Xác định thời gian lưu (RT), tính tương thích và chương trình nhiệt phù hợp với hỗn hợp mẫu chuẩn và 50 μ L hỗn hợp FAME. Sử dụng chương trình nhiệt này kiểm tra lại bằng GC/MSD để xác định các nhóm chức trong mẫu chuẩn và vùng các pic của FAME, TG, DG, MG và G [5].

3.4.2. Xác định khoảng tuyến tính, LOQ, LOD và hiệu suất thu hồi của phương pháp

Pha dung dịch chuẩn từ dung dịch chuẩn gốc để xây dựng đường chuẩn, khoảng tuyến tính và giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) với nồng độ các chất thay đổi (μ g/mL): G (0,1÷100), monoolein (5÷4000), diolein (10÷2000), triolein (10÷3500), tetradecane (30) BSTFA/TMCS (100).

$$LOD = 3 \frac{C_{\min}}{T} = 3 \cdot C_{\min} \frac{N}{S} \quad (1)$$

$$LOD = 10 \frac{C_{\min}}{T} = 10 \cdot C_{\min} \frac{N}{S} \quad (2)$$

Khảo sát hiệu suất thu hồi của phương pháp như sau: (i) Xác định hàm lượng G, MG, DG và TG có trong mẫu biodiesel; (ii) Thêm dung dịch chuẩn gốc có hàm lượng xác định của G, monoolein, diolein, triolein vào mẫu biodiesel.

3.4.3. Tối ưu phản ứng silyl hóa

3 giai đoạn của phản ứng trao đổi este lần lượt tạo thành DG, MG và G. Trong phản ứng silyl, H của nhóm -OH trong DG, MG và G được thay thế bằng nhóm trimethylsilyl (TMS) tạo thành các dẫn xuất silyl ít phân cực, dễ bay hơn, bền nhiệt, làm tăng hiệu quả tách các pic và giảm nhiễu nền. Số nhóm -OH lớn nhất tương ứng với 9,86 % G khi phản ứng trao đổi este xảy ra hoàn toàn. Điều kiện silyl hóa mẫu hoàn toàn ở nhiệt độ 70 °C trong thời gian 15÷30 phút [6]. BSTFA/TMCS tối đa cần thiết để tạo dẫn xuất được khảo sát như sau: cân 0,1 g G 10 % chuẩn cho vào bình định mức 1 mL có nắp đậy, thêm 100 μ L IS và BSTFA/TMCS được thay đổi từ 50÷500 μ L, tiến hành silyl hóa ở 70 °C trong 30 phút, định mức với hexan.

3.4.4. Xác định đồng thời G, MG, DG và TG

Mẫu biodiesel được sắc ký 5 lần để đánh giá độ lặp lại của kết quả đo.

4. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

4.1. Thành phần axit béo trong mỡ cá

Kết quả phân tích cho thấy mỡ cá có thành phần axit béo từ C12:0 đến C24:0 và khối lượng phân tử trung bình của mỡ cá 856,11. Công thức tính G_T được điều chỉnh như sau: (%) $G_T = (\%)G + 0,2511 \cdot (\%)MG + 0,1462 \cdot (\%)DG + 0,1074 \cdot (\%)TG$ (3)

Thành phần axit béo trong mỡ cá khác với dầu thực vật, sử dụng ASTM D6584 và EN 14105 để sắc ký dung dịch mẫu chuẩn xảy ra hiện tượng trùng pic, tách không tốt ở các vùng FAME, DG và TG.

4.2. Quy trình xác định đồng thời G, MG, DG, TG

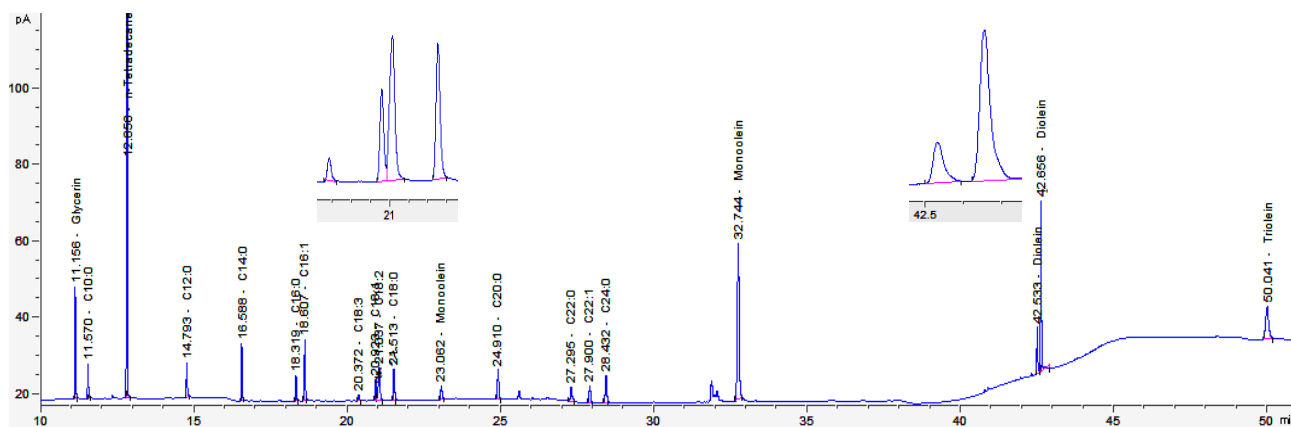
4.2.1. Chương trình nhiệt của mẫu chuẩn

Sau khi xác định tính tương thích, chương trình nhiệt phù hợp, RT với hỗn hợp mẫu chuẩn gồm dung môi, IS, các chất chuẩn và hỗn hợp FAME, kết quả cho thấy các pic tách tốt, nền không bị nhiễu, các vùng dung môi, G, FAME, IS, chất chuẩn phân biệt rõ ràng (Hình 1) với chương trình: 50 °C (3); 8 °C/phút → 80 °C (2); 10 °C/phút → 120 °C (1); 20

°C/phút → 170 °C (2); 4 °C/phút → 250 °C; 30 °C/phút → 330 °C; 8 °C/phút → 360 °C (10)

Kiểm tra mẫu chuẩn với GC/MSD, sắc ký đồ có 21 pic (14 chất FAME, IS và các chất chuẩn), tách

rõ ràng, độ tương thích rất cao (> 90 %) (bảng 2, hình 2 và 3). Do đó chương trình nhiệt trên được sử dụng cho các bước khảo sát tiếp theo.



Hình 1: Sắc ký đồ của hỗn hợp chuẩn (IS, chất chuẩn và FAME)

Bảng 2: Các chất chuẩn tìm thấy trên sắc ký đồ của GC/MSD

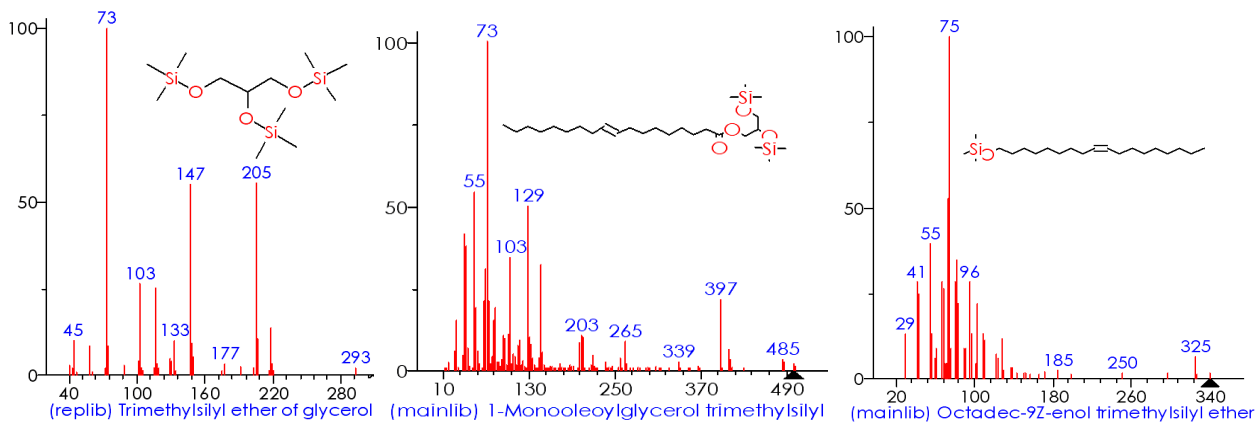
RT	Tên	Công thức	Độ tin cậy	RT	Tên	Công thức	Độ tin cậy
5,94	Axit octanoic, metyl este	C ₉ H ₁₈ O ₂	98,7	20,39	Axit octadecanoic, metyl este	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	95,4
10,11	Glycerin	C ₁₂ H ₃₂ O ₃ Si ₃	97,9	21,87	Axit eicosanoic, metyl este	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	93,8
10,54	Axit decanoic, metyl este	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	95,5	22,38	Axit monoglycerid (monopalmitic, trimetylsilyl este)	C ₂₅ H ₅₄ O ₂ Si ₂	94,7
11,95	n-tetradecan	C ₁₄ H ₃₀	95,5	23,68	Axit 1,3-docosenoic, metyl este	C ₂₃ H ₄₄ O ₂	93,9
13,95	Axit dodecanoic, metyl este	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	94,5	26,62	Axit docosanoic, metyl este	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	91,7
16,05	Metyl tetradecanoat	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	97,5	27,16	Axit docosenoic axit, metyl este	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	91,9
17,49	Axit 9-hexadecenoic, metyl este,	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	98,4	31,52	Monoglycerid(1-Monooleoylglycerol trimetylsilyl ete)	C ₂₇ H ₅₆ O ₄ Si ₂	94,5
17,74	Axit hexadecanoic, metyl este	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	97,5	42,16	Diglycerid (Octadec-9Z-enol trimetylsilyl ete)	C ₂₁ H ₄₄ OSi	90,4
19,31	Axit 9,12,15-octadecatrienoic, metyl este	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	90,1	42,29	Diglycerid (Axit pentacosenoic, 2-[(trimetylsilyl)])	C ₂₉ H ₅₈ O ₃ Si	93,7
19,78	Axit 9,15-octadecadienoic, metyl este	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	96,8	49,01	Triolein	C ₅₇ H ₁₀₄ O ₆	91,4
19,94	Axit 9-octadecenoic (Z), metyl este	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	94,7				

4.2.2. Khoảng tuyến tính và LOQ, LOD

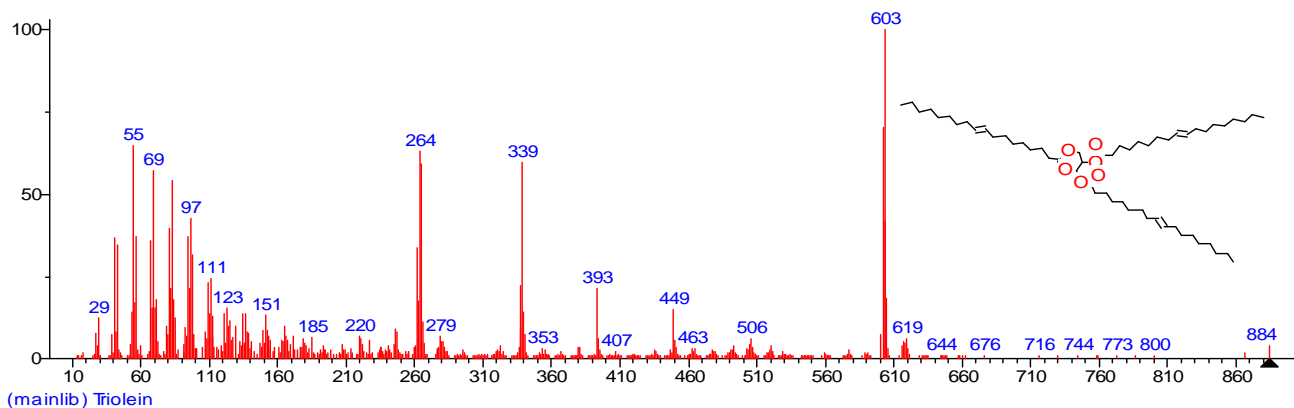
Kết quả ở bảng 3 cho thấy LOD và LOQ của G, MG, DG và TG đều thấp nhiều so với tiêu chuẩn và tương đương với phương pháp được công bố trước đây [1, 2, 7].

Bảng 3: Kết quả khảo sát LOD và LOQ (ppm)

	G	Monoolein	Diolen	Triolein
LOD	0,020	3,311	7,984	34,013
LOQ	0,067	3,655	10,625	38,564



Hình 2: Phổ khối dẫn xuất silyl của glycerin, monoolein, diolein trong mẫu chuẩn



Hình 3: Phổ khối của triolein trong mẫu chuẩn

LOD của G và của G_T đều thấp hơn rất nhiều so với ASTM D6874 và EN 14105. Phương trình xác định G, monoolein, diolein, triolein:

$$\frac{S_{\text{chuẩn}}}{S_{\text{IS}}} = a \frac{C_{\text{chuẩn}}}{C_{\text{IS}}} + b \quad (4)$$

Hệ số các phương trình hồi quy và đồ thị đường chuẩn của G, MG, DG và TG được trình bày trong bảng 4. Từ phương trình này tính toán hàm lượng của G, MG, DG và TG trong mẫu biodiesel.

Bảng 4: Hệ số phương trình hồi qui

Tên	a	b	r
Glycerin	1,5095	0,0118	0,999
Monoolein	0,3136	-0,048	0,999
Diolein	0,4211	0,1101	0,999
Triolein	0,2145	0,0256	0,999

4.2.3. Hiệu suất thu hồi của phương pháp

Hiệu suất thu hồi của phương pháp được trình bày ở bảng 5. Hiệu suất thu hồi > 98 %, độ lệch chuẩn thấp cho thấy phương pháp phân tích có độ chính xác cao.

Bảng 5: Hiệu suất thu hồi của phương pháp

Tên	H thu hồi, %	Sai số, %
Glycerin	102,93	0,28
Monoolein	100,08	1,93
Diolein	99,11	2,32
Triolein	98,58	1,41

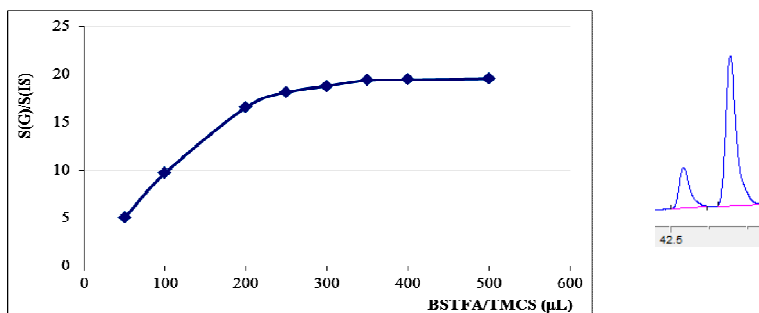
4.2.4. Tối ưu hóa phản ứng silyl hóa

Kết quả ở hình 4 cho thấy, với 250÷300 (μL) BSTFA/TMCS phản ứng silyl hóa các chất có nhóm -OH như G, MG, DG và các chất chuẩn đã xảy ra hoàn toàn. Kết quả này tương đương với công bố trước đây sử dụng MSTFA [7].

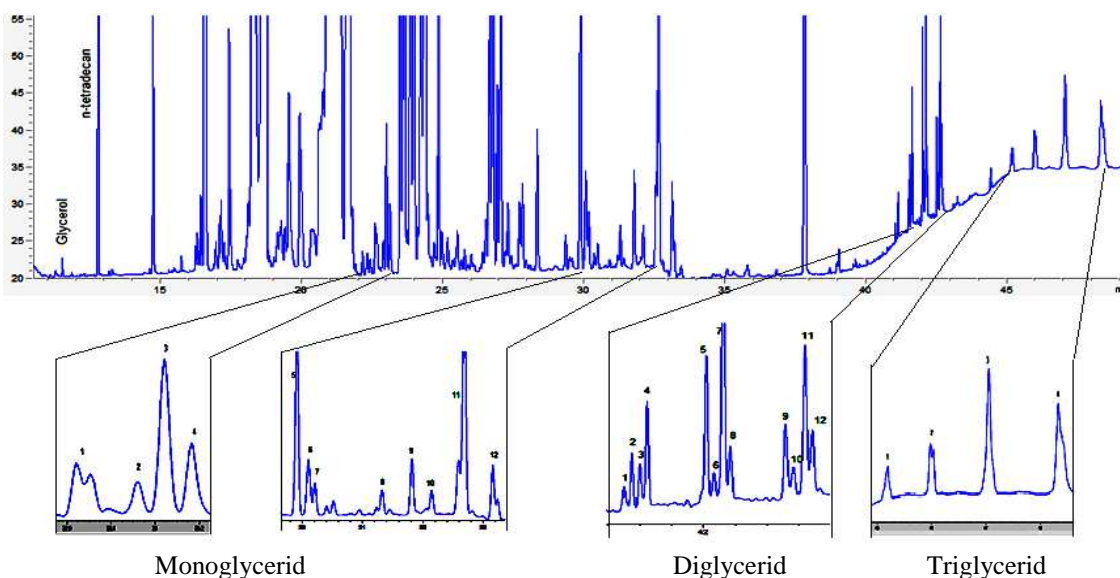
4.3. Phân tích mẫu biodiesel

Sắc ký đồ mẫu biodiesel được trình bày ở hình 5. Các pic và nhóm pic đều tách tốt và phân theo vùng rõ ràng. Các pic thuộc nhóm MG có RT khoảng 22÷23 (phút) và 31÷33 (phút), nhóm pic của DG có RT từ 41÷43 (phút) và RT của nhóm TG từ 45÷49 (phút). Vùng FAME có RT trong khoảng

15÷39 (phút). Độ lặp lại của phương pháp với sai số thấp (bảng 6) cho thấy phương pháp có độ chính xác cao.



Hình 4: Ảnh hưởng của BSTFA/TMCS



Hình 5: Sắc ký đồ của mẫu biodiesel

Bảng 6: Kết quả khảo sát độ lặp lại của phương pháp

Glycerin, %			Monoglycerid, %			Diglycerid, %			Triglycerid, %		
G, %	G _{TB}	Sai số	MG	MG _{TB}	Sai số	DG	DG _{TB}	Sai số	TG	TG _{TB}	Sai số
0,0003	20×10 ⁻⁵	6×10 ⁻⁵	3,004	3,034	0,069	0,654	0,644	0,012	1,139	0,012	0,030
0,0003			3,043			0,650			1,145		
0,0002			3,010			0,641			1,127		
0,0002			3,147			0,651			1,095		
0,0001			2,967			0,624			1,076		

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã đưa ra phương pháp có độ chính xác cao, đơn giản, rẻ tiền xác định đồng thời glycerin tự do, monoglycerid, diglycerid và triglycerid có trong biodiesel đi từ nguyên liệu mỡ cá da trơn sử dụng chất tạo dẫn xuất BSTFA/TMCS (99:1) và một nội chuẩn tetradecan. Phản ứng silyl

hóa hoàn toàn cần từ 250÷300 (μL) chất tạo dẫn xuất BSTFA/TMCS (99:1).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. ASTM D 6584-00. *Standard Test Methods for determination of free and total glycerin in B-100 biodiesel methyl esters by gas chromatography.*

2. BS EN 14105: 2003. *Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME) Determination of free and total glycerol and mono-, di-, triglyceride contents.*
3. Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 7867: 2008 về este metyl của diêzen sinh học gốc B100.
4. Lê Thị Thanh Hương, Phan Minh Tân, Trần Thị Việt Hoa, Soo Lee. *Biodiesel production from fat of tra catfish and basa catfish using alkaline catalysts*, Journal of the Korean Oil Chemists' Society, (KOCS) **25(3)**, 299-312 (2008).
5. Lê Thị Thanh Hương, Vũ Thị Hoa, Phan Minh Tân.
6. Trần Nguyễn An Sa, Lê Thị Thanh Hương, Nguyễn Thị Xuân Mai, Phan Minh Tân. *Phân tích glycerin tổng và glycerin tự do trong biodiesel bằng phương pháp GC/FID*, Tạp chí Hóa học, **47(2A)**, 447-452 (2009).
7. C. Plank, J. Chromatogr. *Simultaneous determination of glycerol, and mono-, di- and triglycerides in vegetable oil methyl esters by capillary gas chromatography*, **A 679**, 461-468 (1995).

Liên hệ: Lê Thị Thanh Hương

Khoa Công nghệ Hóa học

Trường Đại học Công nghiệp Tp. Hồ Chí Minh

Số 12 Nguyễn Văn Bảo, Phường 4, Quận Gò Vấp, Thành phố Hồ Chí Minh

Email: huong.lethanh@gmail.com

Điện thoại: 0903-880-245.