



INNOVHUB
STAZIONI SPERIMENTALI
PER L'INDUSTRIA

SSOG

STAZIONE SPERIMENTALE
PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

Innovazione e ricerca

Determinazione di monogliceridi totali e saturi in biodiesel

Paolo Bondioli, Laura Della Bella, Gabriele Rivolta

INNOVHUB - SSI - Div. SSOG



BACKGROUND

- Evoluzione di EN 14214 → riduzione di monogliceridi totali e saturi
- Lo standard attuale EN 14105 non è utilizzabile per concentrazioni $<0.30\%$ (totali)
- EN 14105 non è utilizzabile per determinazione di monogliceridi saturi
- Accoppiare FAME saturi + mono totali non ha sufficiente precisione



INNOVHUB
STAZIONI SPERIMENTALI
PER L'INDUSTRIA

SSOG

STAZIONE SPERIMENTALE
PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

Innovazione e ricerca

BACKGROUND

Conclusioni di TC 19/JWG

1. I metodi esistenti non risolvono il problema, EN 14105 già a max performance, impossibili nuovi miglioramenti
2. Necessità di nuove metodiche



INNOVHUB
STAZIONI SPERIMENTALI
PER L'INDUSTRIA

SSOG

STAZIONE SPERIMENTALE
PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

Innovazione e ricerca

ANTEFATTO

Problemi determinazione monogliceridi in biodiesel da PFAD

- La presenza di Squalene, coeluito con gliceril monostearato OTMS porta a sopravvalutazione della concentrazione di monogliceridi
- La concentrazione di Gliceril monopalmitato e monostearato non era coerente con la concentrazione dei corrispondenti FAME.



INNOVHUB
STAZIONI SPERIMENTALI
PER L'INDUSTRIA

SSOG

STAZIONE SPERIMENTALE
PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

Innovazione e ricerca

SQUALENE

(2,6,10,15,19,23-hexamethyl 2,6,10,14,18,20-tetracosahexaene)

- ❑ Idrocarburo terpenico ubiquitario in diverse concentrazioni in tutti gli oli vegetali
- ❑ La maggiore concentrazione in olio di oliva (800 - 5000 mg/kg)
- ❑ Tipica materia prima: shark liver oil (> 30 %)
- ❑ Concentrazioni importanti si ritrovano nei distillati da physical refining (e. g. PFAD 5000 - 15000 mg/kg)



APPROCCIO AL PROBLEMA

- I Monogliceridi sono sensibili alla derivatizzazione TMS, non lo Squalene
- Cambio del reagente di derivatizzazione
- Veloce reazione di acetilazione, pyridine free. catalizzatore N-metil imidazolo



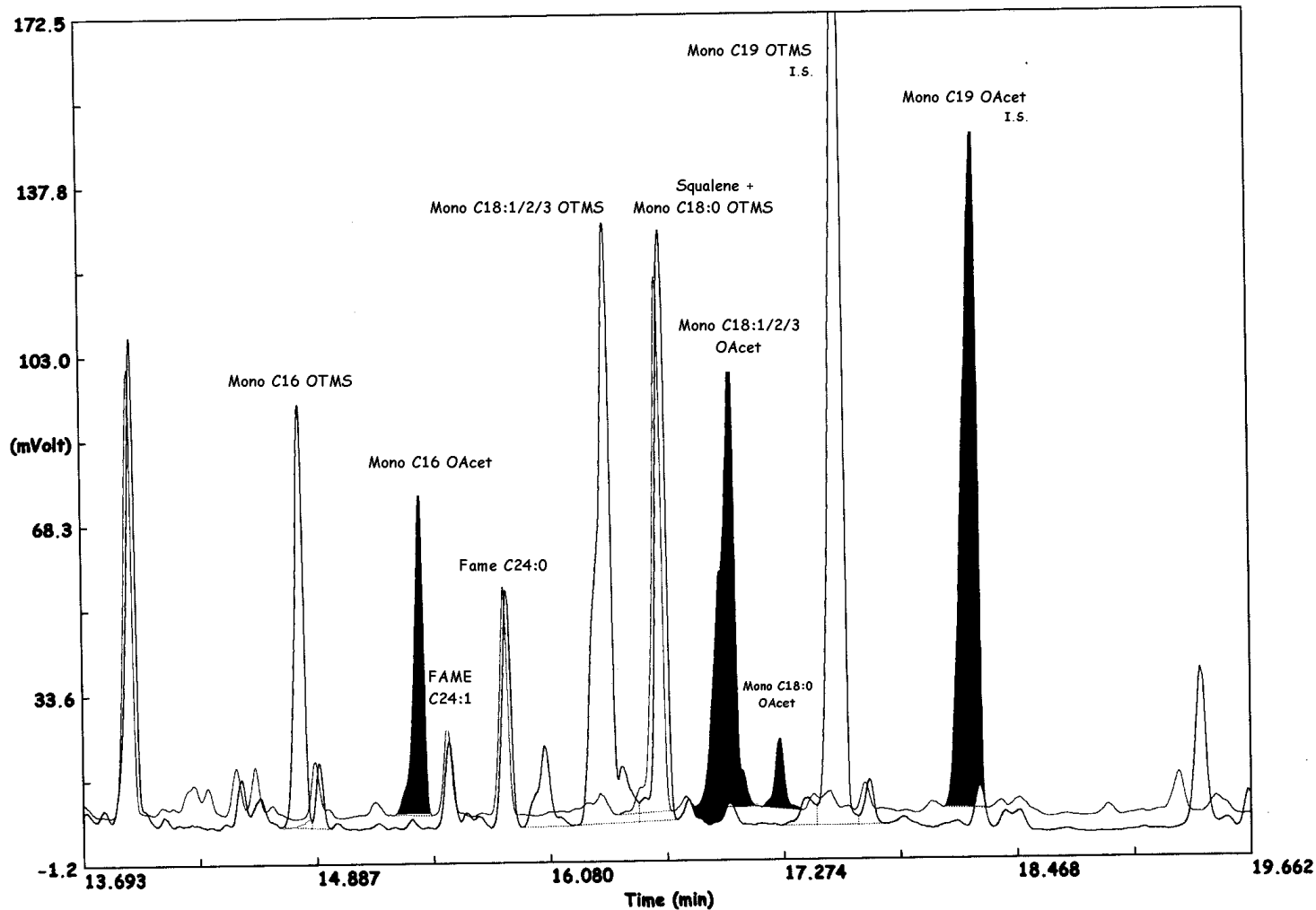
INNOVHUB
STAZIONI SPERIMENTALI
PER L'INDUSTRIA

SSOG

STAZIONE SPERIMENTALE
PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

Innovazione e ricerca

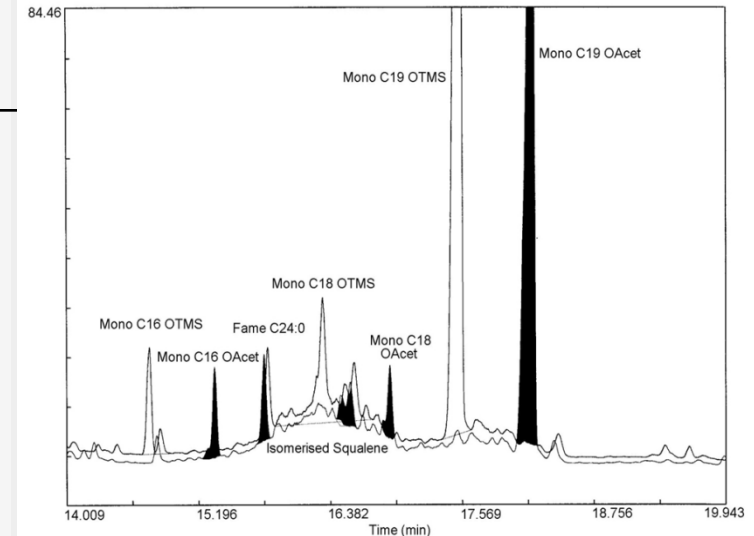
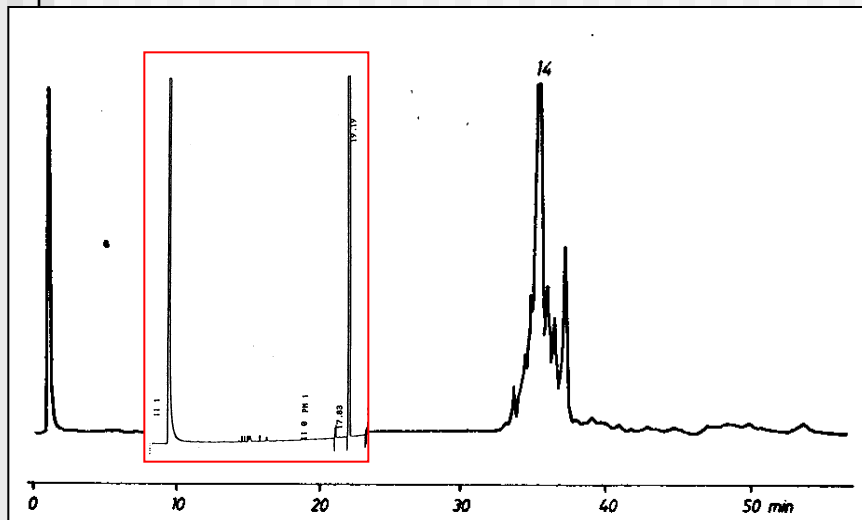
Nuovo tracciato GC





Isomerizzazione dello squalene

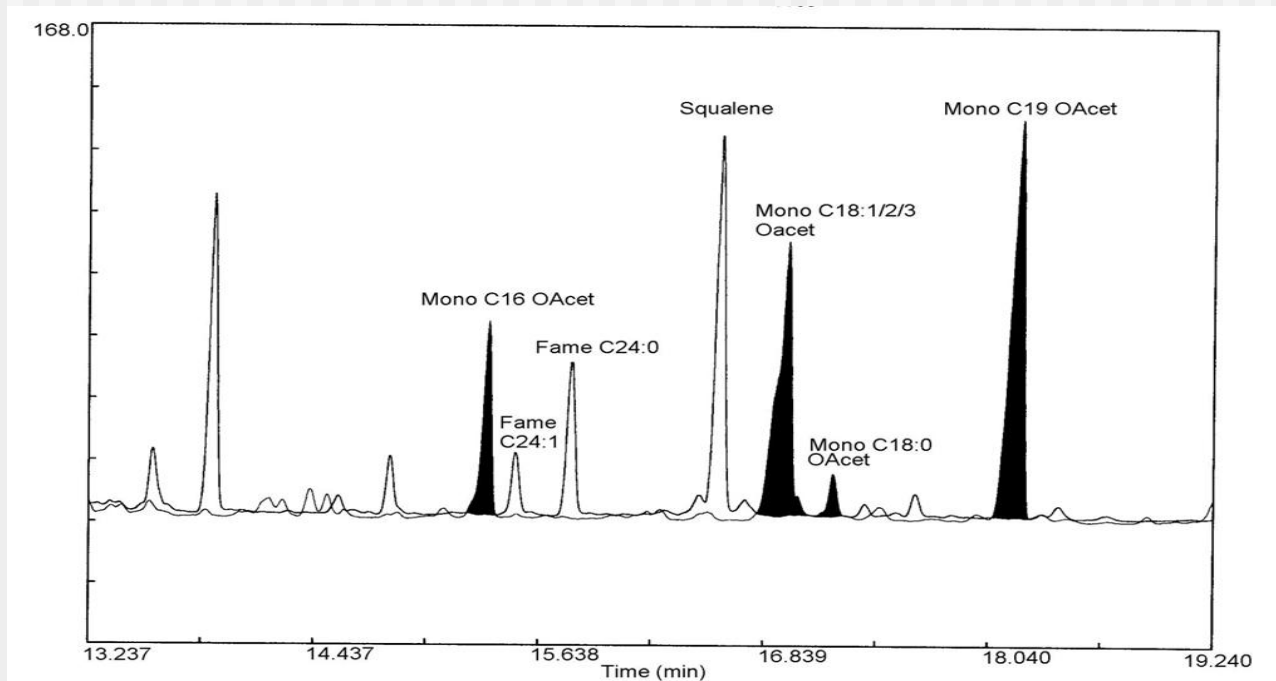
- Lo Squalene isomerizza in presenza di calore o catalizzatori acidi
- Gli isomeri dello Squalene hanno un profilo GC caratteristico
- La questione è stata ampiamente studiata nel caso dell'olio di oliva [Mariani *et al.* RISG 69, 393 (1992); Lanzon *et al.* JAOCS 71, 285 (1994)]



L'acetilazione non risolve questo problema !!



Acetilazione + separazione SPE (frazione apolare e polare)



Problema risolto - Monogliceridi quantificati



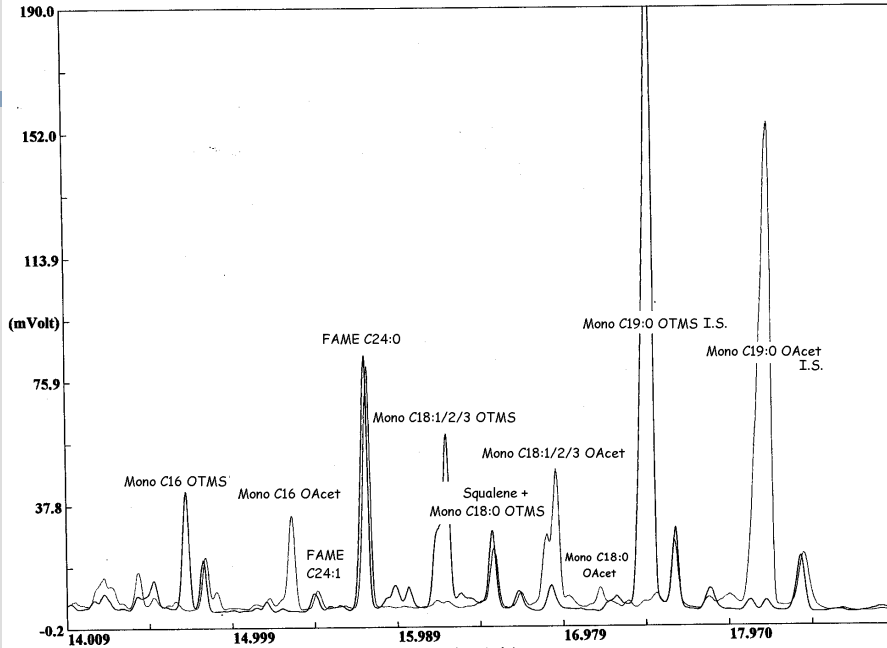
INNOVHUB
STAZIONI SPERIMENTALI
PER L'INDUSTRIA

SSOG

STAZIONE SPERIMENTALE
PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

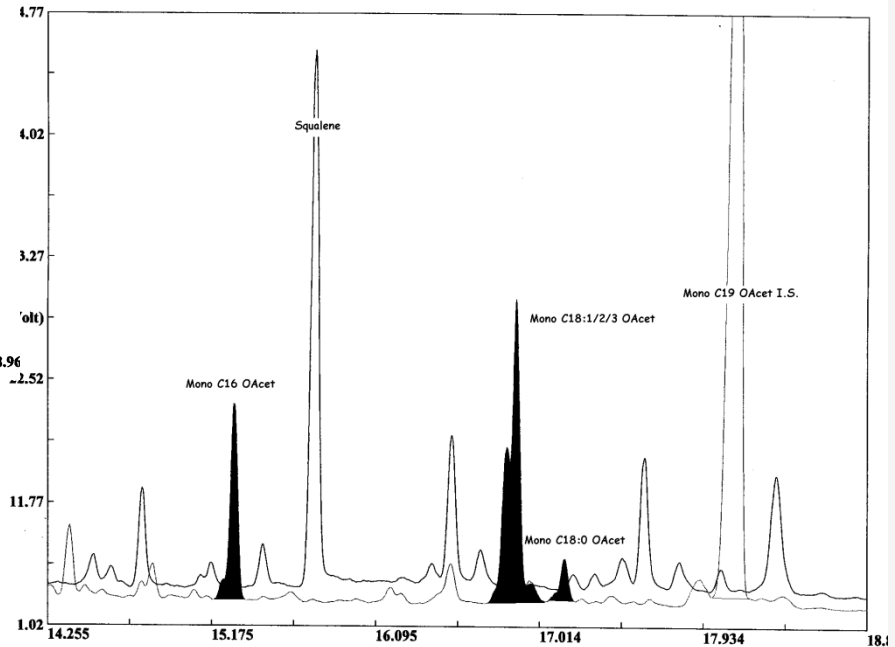
Innovazione e ricerca

Secondo Esempio: campione G



TMS vs. Acetilazione

Non polare vs. polare





Verso un'applicazione più generale

- 8 campioni di biodiesel
- Acetilazione del campione in presenza di I.S., separazione SPE in frazioni apolare e polare, analisi GC
- Frazione apolare: contiene FAME e Squalene
- Frazione polare: contiene FAME residui, gliceridi e glicerolo acetilati
- 3 tests indipendenti per ciascun campione



Risultati

Monogliceridi totali (% m/m). Determinati secondo la procedura acetilazione/SPE

Sample	Test 1	Test 2	Test 3	AVG	STD	STD %
A	0,129	0,124	0,130	0,128	0,003	2,5
B	0,128	0,125	0,132	0,128	0,004	2,7
C	0,223	0,225	0,223	0,224	0,001	0,5
D	0,264	0,249	0,249	0,254	0,009	3,4
E	0,508	0,518	0,535	0,520	0,014	2,6
F	0,326	0,328	0,332	0,329	0,003	0,9
G	0,227	0,229	0,202	0,219	0,015	6,9
H	0,474	0,447	0,462	0,461	0,014	2,9



INNOVHUB
STAZIONI SPERIMENTALI
PER L'INDUSTRIA

SSOG

STAZIONE SPERIMENTALE
PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

Innovazione e ricerca

Confronto con EN 14105:2011

Sample	EN 14105	Acetylation	(% m/m)
A	0,16	0,13	
B	0,13	0,13	
C	0,27	0,22	
D	0,30	0,25	
E	0,55	0,52	
F	0,36	0,33	
G	0,26	0,22	
H	0,51	0,46	

Mono più elevati EN 14105 (7 casi su 8) !!!



Monogliceridi saturi

Sample	Test 1	Test 2	Test 3	AVG	STD	STD %
A	0,084	0,080	0,083	0,082	0,002	2,5
B	0,083	0,081	0,084	0,083	0,002	1,8
C	0,077	0,078	0,072	0,076	0,003	4,2
D	0,080	0,080	0,080	0,080	0,000	0,0
E	0,066	0,067	0,067	0,069	0,001	0,8
F	0,160	0,161	0,162	0,161	0,001	0,6
G	0,064	0,064	0,057	0,062	0,004	6,6
H	0,057	0,053	0,055	0,055	0,002	3,6

Gliceril monopalmitato (% m/m)

Gliceril monostearato (% m/m)

Sample	Test 1	Test 2	Test 3	AVG	STD	STD %
A	0,004	0,003	0,003	0,003	0,001	17,3
B	0,004	0,004	0,004	0,004	0,000	0,0
C	0,009	0,009	0,009	0,009	0,000	0,0
D	0,010	0,011	0,010	0,010	0,001	5,6
E	0,016	0,017	0,017	0,017	0,001	3,5
F	0,015	0,017	0,016	0,016	0,001	6,3
G	0,015	0,018	0,012	0,015	0,003	20,0
H	0,026	0,025	0,025	0,025	0,001	2,3



Monogliceridi saturi

Monogliceridi saturi totali (% m/m)

Sample	Test 1	Test 2	Test 3	AVG	STD	STD %
A	0,088	0,083	0,086	0,086	0,003	2,9
B	0,087	0,085	0,088	0,087	0,002	1,8
C	0,086	0,087	0,081	0,085	0,003	3,8
D	0,090	0,091	0,090	0,090	0,001	0,6
E	0,082	0,084	0,084	0,083	0,001	1,4
F	0,175	0,178	0,178	0,177	0,002	1,0
G	0,079	0,082	0,069	0,077	0,007	8,9
H	0,083	0,078	0,080	0,080	0,003	3,1



INNOVHUB
STAZIONI SPERIMENTALI
PER L'INDUSTRIA

SSOG

STAZIONE SPERIMENTALE
PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

Innovazione e ricerca

Confronto tra metodiche

	EN 14105:2011	Acetylation procedure
Sample amount	100 mg	100 mg
Internal standards	200 μ l	200 μ l
Derivatisation agent	MSTFA	Acetic anhydride
Derivatisation conditions	20 min x 25 °C	15 min x 80 °C
Sample recovery	NO	YES
Sample fractionation	NO	YES
Solvent removal	NO	YES
Dilution before GC	YES	YES
GC system	The same	



Bibliografia

- P. Bondioli, L. Della Bella, G. Rivolta: *Evaluation of monoglyceride content in biodiesel samples prepared from PFAD (Palmoil Fatty Acids Distilled)*. Riv. It. Sostanze Grasse 2012, **89**, 240-246
- P. Bondioli, L. Della Bella, G. Rivolta: *Evaluation of total and saturated monoglyceride content in biodiesel at low concentration*. Manuscript submitted to Eur. J. Lipid Sci. Technol.



INNOVHUB
STAZIONI SPERIMENTALI
PER L'INDUSTRIA

SSOG

STAZIONE SPERIMENTALE
PER LE INDUSTRIE DEGLI OLI E DEI GRASSI

Innovazione e ricerca

Determinazione di monogliceridi totali e saturi in biodiesel

Paolo Bondioli, Laura Della Bella, Gabriele Rivolta

INNOVHUB - SSI - Div. SSOG