

9. 生質柴油之品質與檢驗

9.1 總脂肪酸甲酯與次麻油酸甲酯含量測定法

測定轉酯化產物或油脂衍生物 (Fat and oil derivatives) 之脂肪酸甲酯 (Fatty acid methyl ester; FAME)、游離甘油 (Free glycerin)、單酸甘油酯 (Monoglycerides)、雙酸甘油酯 (Diglycerides)、三酸甘油酯 (Triglycerides) 與甲醇含量之方法，除常見之薄層層析法 (Thin film chromatography; TLC)、氣相層析法 (Gas chromatography)、高效液相層析技術 (High Performance Liquid Chromatography; HPLC)、凝膠滲透層析法 (Gel permeation chromatography; GPC) 外，還有 ^1H 核磁共振法 (^1H Nuclear magnetic resonance; ^1H NMR) 與近紅外光譜法 (Near infrared spectroscopy; NIR) 等。其中，以層析法為基準之測定方法，雖有待測樣品製備程序複雜與時間冗長等問題，但因發展歷史較久，相關之設備較為普及，是各國制定國家標準時最為常採用之測定方法。

9.1.1 層析法

層析法為一種將混合各種成分之試料樣品，透過層析作用後予以分開，再利用適當之方法予以測定，以求出試料樣品成分之方法。用於層析之儀器系統主要是由試料樣品注射器 (Injector)、分離柱或管柱 (Column)、偵測器 (Detector) 與記錄器 (Recorder) 等四個部分所組成。而分離試料樣品之部分，則由固定相 (Stationary phase) 與流動相 (Mobile phase) 所構成，二者各有不同之極性，加上試料樣品因自身極性強弱差異，與固定相及流動相之親和力自然不相同，與固定相親和力較大者，易留滯在原地，與流動相親和力較大者，易隨流動相流動，因而達成分離之目的。

層析法所使用之固定相可以是填充凝膠或離子交換樹脂之管柱、濾紙、塗佈吸收劑之薄層，流動相可以是氣體或液體；其中，流動相是氣體者，稱為氣相層析 (Gas chromatography; GC)，流動相是液體者，稱為液相層析 (Liquid chromatography; LC)，流動相是超臨界流體者，稱為超臨界流層析 (Supercritical fluid chromatography; SFC)。

臺灣國家標準中關於油脂衍生物—脂肪酸甲酯之總脂肪酸甲酯與次麻油酸甲酯 (Linolenic acid methyl esters) 之測定法 (CNS15051)，係利用氣相層析法，並以十七烷酸甲酯 (Heptadecanoic acid methyl ester) 作為內標物，以測定總脂肪酸甲酯與次麻油酸甲酯含量之方法。在氣相層析部分，使用之氣相層析儀配備分流式注入口與火焰離子化偵測器 (Flame ionization detector; FID)，注入埠與 FID 須配備獨立之溫控裝置與氣體流量調節器，使用之載氣為氮氣或氬氣，壓力 30~100 kPa，分流氣體流速為 20~100 ml/min，溫度可達 250°C 以上，以適合毛細管柱層析，搭配之管柱為惰性材料 (如玻璃或熔融矽膠) 所製作之毛細管柱，內徑 0.2~0.8 mm，長度 25~30 m，固定相則建議使用極性化合物，如聚乙二醇 (Polyethylene glycol 20000; PEG)、聚酯 (Butanediol polysuccinate) 或中等極性之聚矽氧烷等，以儘量能分離脂肪酸甲酯之成分，並避免使用高極性之聚矽氧烷管柱，

否則可能會有 $C_{18,3}$ 次麻油酸甲酯與 C_{20} 之脂肪酸甲酯不易分離鑑別之情形。在待測樣品之製備部分，先以 50 ml 之量瓶精秤約 500 mg 之十七烷酸甲酯，再添加庚烷 (Heptane) 至量瓶刻度，均勻混合，依精秤量計算溶液之十七烷酸甲酯濃度 C_{EI} ，然後於 10 ml 之螺旋蓋玻璃瓶 (瓶蓋內襯聚四氟乙烯 PTFE 膜面之墊片) 精秤 250 mg 之樣品，再以定量吸管加入 5 ml (V_{EI}) 之十七烷酸甲酯，蓋上瓶蓋均勻混合，再以手動或自動液體注射器將 0.1~1.0 μ l 之樣品注射到分流注入口，進行層析分析，所使用之層析條件，如樣品注入量、管柱溫度、載氣壓力或流量、分流比等必須要能清楚區分出 $C_{24,0}$ 與 $C_{24,1}$ 之脂肪酸甲酯成分波峰。層析後，由獲得之層析圖與波峰積分報告，可以計算總脂肪酸甲酯之含量 C (m/m)：

$$C = \frac{\sum A - A_{EI}}{A_{EI}} \times \frac{C_{EI} \times V_{EI}}{m} \times 100\%$$

其中， $\sum A$ ： C_{14} 至 $C_{24,1}$ 脂肪酸甲酯成分峰之間所有成分峰隻積分總面積

A_{EI} ：內標物十七烷酸甲酯之波峰面積

C_{EI} ：內標物十七烷酸甲酯之濃度 (mg/ml)

V_{EI} ：內標物十七烷酸甲酯之體積 (ml)

m ：製備待測樣品時所精秤之樣品質量 (mg)

次麻油酸甲酯之含量 L (m/m)：

$$L = \frac{A_L}{\sum A - A_{EI}} \times 100\%$$

其中， $\sum A$ ： C_{14} 至 $C_{24,1}$ 脂肪酸甲酯成分峰之間所有成分峰隻積分總面積

A_{EI} ：內標物十七烷酸甲酯之波峰面積

A_L ：次麻油酸甲酯之波峰面積

9.1.2 ^1H 核磁共振法

核磁共振 (Nuclear magnetic resonance, NMR) 是處於磁場中具有核自旋 (Nuclear spin) 之原子核在另一交變磁場作用下所發生之物理現象。而 NMR 技術即為核磁共振光譜技術，為將核磁共振現象應用於分子結構測定之一項技術。對於有機分子結構之測定而言，核磁共振光譜扮演了非常重要之角色，與紫外光譜、紅外光譜、質譜一起被有機化學家們稱為「四大名譜」。目前對核磁共振光譜之研究主要集中在 ^1H 和 ^{13}C 兩類原子核之圖譜。

由於原子核帶有電荷，會於自旋下產生磁矩，此磁矩方向與原子核自旋方向相同，大小與自旋角動量成正比。依據實驗結果顯示，自旋角動量係由原子核之自旋量子數決定，不同類型之原子核自旋量子數也不同：

1. 質量數和質子數均為偶數之原子核，自旋量子數為 0；
2. 質量數為奇數之原子核，自旋量子數為半整數；
3. 質量數為偶數，質子數為奇數之原子核，自旋量子數為整數。

當原子核置於磁場，且原子核磁矩方向與磁場方向不同，則原子核磁矩會繞外加磁場方向旋轉，稱為進動（Precession）；進動之頻率由磁場之強度和原子核本身之性質決定，對於某一特定原子而言，在一定強度之磁場下為固定不變，至於進動之能量則與磁場、原子核磁矩、磁矩和磁場之夾角有關；依據量子力學原理，原子核磁矩與磁場之夾角並非連續分佈，而是由原子核之磁量子數決定，原子核磁矩之方向只能在磁量子數間跳躍，而非平滑變化。當原子核在磁場中接受其他來源之能量輸入後，即可由較低之能階躍遷到較高之能階，而這些能量通常是透過外加之電磁波來提供。

以氫原子核為例，當外加電磁波之光子能量 $h\nu$ 恰巧等於磁場所造成之能階差 ΔE ，氫原子就會對該電磁波發生共振吸收（Resonance absorption），由於能階差與磁場強度 H_0 成正比，故氫原子核發生核磁共振光譜之條件為：

$$\Delta E = h\nu = \frac{\mu H_0}{I}$$

其中， h 為浦郎克常數（Planck constant）， μ 為氫原子核因自轉而產生之磁動量， I 為自轉量子數， H_0 為磁場強度， ν 為電磁波之光子能量。

對於孤立之原子核而言，同一種原子核在同樣強度之磁場中，只對某一特定頻率之電磁波敏感。但對處於分子結構中之原子核而言，則因核外電子雲（Electron cloud）之屏蔽作用（Shielding），使得真正作用於原子核之磁場強度 H_0 變成：

$$H_0 = H + H_c$$

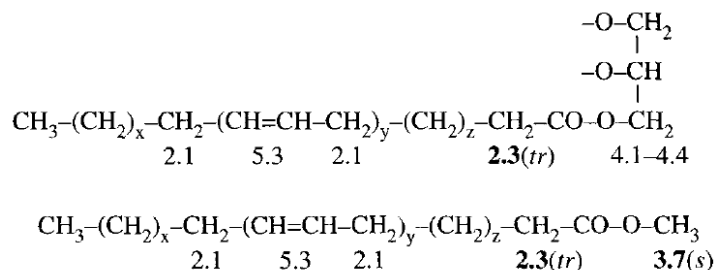
其中， H 為磁鐵所產生之磁場強度， H_c 為核外電子雲分佈不同所產生之不同磁場總和，係由原子核附近之化學鍵（Chemical bond）和電子雲分佈狀況（統稱為化學環境（Chemical Environment））而定。由於 H_0 為定值， H 因 H_c 而變，意即核磁共振信號將因原子核外電子雲分佈不同而產生不同之化學環境，導致頻率位置之變化，故稱為化學位移（Chemical shift）。

在實際應用上，常以四甲基矽烷 $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ (Tetramethylsilane, TMS) 作為化學位移之參考物質 (內標)，該信號在磁場強度座標上之位置即為化學位移之基準點， $\delta = 0$ ppm。不同之有機物官能機上之氫原子核核磁共振化學位移 δ 是固定的，因此由有機物化合物之核磁共振光譜信號之化學位移，即可推出該化合物之分子結構有哪些官能基。

發生核磁共振之原子核，不僅受到其外圍電子雲之影響，也受到鄰近原子核自旋角動量之相互影響，這種原子核自旋角動量之相互作用會改變原子核進動能階之分布狀況，造成能階之分裂，使得一條 NMR 光譜線，出現分裂成數條線之現象，此一現象稱為自旋耦合現象；而分裂之光譜線數為耦合氫原子核總數或相鄰碳原子鏈接之氫原子核總數 (n) 加 1，至於分裂後之光譜線強度，當 $n=2$ 時，強度比為 1:2:1，當 $n=3$ 時，強度比為 1:3:3:1，當 $n=4$ 時，強度比為 1:4:6:4:1，當 $n=5$ 時，強度比為 1:5:10:10:5:1。其餘依此類推。

除了化學位移與自旋耦合兩項信息外，信號強度也是 NMR 光譜之一項重要信息，對處於相同化學環境之原子核而言，透過信號峰強度之解析可獲知原子核之數量。因此透過解析 NMR 光譜波形之變化，可以推測出分子結構中各原子間之連接關係。

Gelbard 等人 (1995) 利用有機強鹼 NaOH 作為催化劑，以甲醇對菜籽油 (Rapeseed oil) 進行轉酯化反應，並透過反應物與產物之 ^1H 核磁共振光譜 (Nuclear magnetic resonance spectroscopy) 來量化反應物內之甲酯產量，並計算反應產率 (Yield)。下圖為甘油酯 (Glycerides) 與甲酯 (Methyl esters) 之官能基化學位移：



其中，用於積分之信號範圍為出現在 $\delta = 3.7$ ppm，位於甲酯之甲氧基 (Methoxy groups, O-CH_3)，為一單線峰 (Singlet)，與出現在 $\delta = 2.3$ ppm，位於所有脂肪酸衍生物 (Fatty acid derivatives) 之 α -羰基次甲基 (α -carbonyl methylene groups, CH_2)；由於後者為三線峰 (Triplet)，必須使用解析度較高之光譜儀，才能與位於 $\delta = 2.1$ ppm 之烯丙基 (Allylic group, $\text{H}_2\text{C=CH-CH}_2$ -) 分離清楚，才能獲得較準確的測定結果，本研究使用 100 MHz 者，已可獲得很好之解析度，但仍建議使用 200 MHz 者。

在轉酯化部分，係於螺旋蓋容器 (Screw-cap vessel) 內將 4 g 之菜籽油、0.5 g 之甲醇與 2 molar % 之 NaOH 激烈攪拌混合，並於 70°C 下進行轉酯化反應，反應期間抽樣冷卻至室溫，取其上層反應物，利用鹽水 (Brine) 清洗二次，移除其中之甘油與催化劑，再以硫酸鎂乾燥後，即可進行 NMR 分析。至於純甲酯之製作，則以相同之轉酯化條件持續反

應 45 分鐘，並經 NMR 與凝膠滲透層析法 (Gel permeation chromatography ; GPC) 確認其純度達 $98\pm 2\%$ ，且在 $\delta = 4.1\sim 4.4$ ppm 範圍內沒有甘油相關之信號出現。在驗證 ^1H 核磁共振技術之可行性上，以重氫氯仿 (CDCl_3) 作為溶劑，將已知量之菜籽油與純甲酯混合，先以使用之純甲酯重量除以油脂之分子量 293 算出產率，再將混合物進行 NMR 分析，由 NMR 光譜信號之波峰面積計算產率：

$$Y\% = 100 \times (2A_1/3A_2)$$

其中， A_1 與 A_2 分別為甲氧基與次甲基相對之波峰面積。

兩項結果相當符合，顯示在不考慮正確之中間產物如單酸甘油酯 (Monoglycerides) 與雙酸甘油酯 (Diglycerides) 下，以 NMR 光譜分析轉酯化之甲酯產量是可行的。該研究也指出 (該論文沒有提出相對之佐證資料)，於反應期間抽樣進行 NMR 分析，以監控轉酯化反應速率，誤差在 2% 以內。

Neto 等人 (2004) 利用黃豆油轉酯化製備乙酯，並與純黃豆油調配出不同黃豆油/乙酯比例之混合物，再以 NMR 技術測定 $\delta = 4.05\sim 4.40$ ppm 間之波峰面積，建立波峰面積與黃豆油/乙酯比例之關聯與校正曲線，所得之結果再與測定之黏度 (Viscosity)、總甘油 (Total glycerol) 比較，並成功地應用於脂解酶催化轉酯反應上。本研究使用之黃豆油為食用級，碘價為 128.2，游離脂肪酸含量為 0.044%。使用之黏度測定儀為 Brookfield viscometer (LVDVIIICP CP 42)。密度之測定採用密度儀 (Pycnometer)、測定之溫度為 25°C 。使用之 NMR 光譜儀為 Bruker Advance 200 MHz，以重氫氯仿 (CDCl_3) 作為溶劑，四甲基矽烷 $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ (Tetramethylsilane, TMS) 作為內標。黃豆油之轉酯方面，以 1 g 之 NaOH 溶於 50 ml 之乙醇中，經 24 小時後加到 100 ml 之黃豆油中，加熱至反應溫度後，反應 8 小時，冷卻後抽取上層反應物，以醋酸中和，再以鹽水清洗 2 次，確定完全移除其中之甘油，並以無水硫酸鎂乾燥，再利用活化鐵鋁氧 (鐵礬石) 顆粒 (Activated granular bauxite) 層析管柱過濾除去單酸甘油酯與雙酸甘油酯，製備出黃豆油乙酯，測得之轉酯化前後密度為 0.926 與 0.8810 g/cm^3 ，黏度為 52.64 與 6.12 $\text{mPa}\cdot\text{s}$ ，總甘油含量為 11.4% 與 0.2%。在校正曲線建置方面，以製得之乙酯配置 13 種不同黃豆油/乙酯比例之混合物：100:0、95:5、90:10、80:20、70:30、60:40、50:50、40:60、30:70、20:80、10:90、5:95、0:100 (v/v)，再進行 NMR 分析，由 NMR 光譜計算 $\delta = 4.05\sim 4.40$ ppm 間兩組波峰面積比 A_1/A_2 ，並繪製 A_1/A_2 與黃豆油/乙酯之關係圖，即為黃豆油乙酯化之校正曲線，兩者間之相關係數 (Correlation coefficient) 達 0.9911；其中， A_1 為代表純黃豆油之 Glycerol methylenic hydrogen 之波峰面積， A_2 為代表 Ester ethoxy 之波峰面積。由於純黃豆油之 NMR 光譜為多線峰 (Multiplet)，乙酯為四線峰 (Quartet)，故 $\delta = 4.05\sim 4.40$ ppm 間出現純油之多線峰與乙酯之四線峰重疊現象。對純油而言， $A_1/A_2=1$ ，對乙酯而言， $A_1/A_2=0$ 。至於混合物內之乙酯含量，除了利用 NMR 技術測定外，亦可採用 AOCS: Official Method Ca 14-56 method 量測，或根據 de Filippis 等人 (1995) 之黏度與乙酯相關式，由測定之混合物黏度推估之。本研究發現，測得之黏度與黃豆油/乙酯比例間之相關係數達 0.9981。在脂解酶催化轉酯反應方面，使用之脂解酶為 Lipozyme RM IN，反應溫

度為 35°C，反應時間為 12 小時，若以精煉之黃豆油為原料，轉酯率達 98%，若使用去膠黃豆油 (Degummed)，轉酯率為 65%，若使用丟棄油 (Discarded oil)，轉酯率僅為 35%。

9.1.3 近紅外光譜法

9.1.4 其他

用來測定轉酯化產物或油脂衍生物之層析法、核磁共振法與紅外線光譜法，確實有靈敏度較高、可測定項目較多等優點，但不免有待測樣品製備過程繁瑣、分析時間過長、分析技術難度高與設備昂貴等缺點，因此要藉由這些方法達到線上監控轉轉化進程之目的，是有相當大之困難；於是有些替代方式被發展出來，希望透過較為簡易測定之對象，如黏度、密度、氫氧根含量或折射指數等 (de Filippis et al., 1995; Xie and Li, 2006)，達到測定轉酯化進程之目的，進而做為線上監控之工具。

de Filippis 等人 (1995) 針對黃豆油之轉酯化製程，發展出一套可於轉酯化過程中快速評估反應物之甲酯含量之分析方法。該方法係於 500 ml、配備有機械式攪拌器、溫度計與逆流冷凝器之反應瓶內，以 KOH 作為催化劑，於溫度 60°C、25 種不同油 / 醇 (MeOH) / NaOH 莫耳比與反應時間下對黃豆油進行轉酯化反應，並於反應後除去甘油層，取得之粗甲酯 (Crude methyl ester) 先以硫酸抑制催化劑之活性，再於低壓下蒸餾移除過量之甲醇，然後以離心方式分離殘餘之微量甘油，以確保灰分含量 (Ash content) 低於 0.01%、鈉含量低於 0.01 ppm、甲醇濃度約 100 ppm，然後分別利用氣相層析儀 (HP 5890/II)、黏度測定儀 (Hoeppler microviscometer) 與比重瓶 (Pycnometer) 測定單酸甘油酯 (MG)、雙酸甘油酯 (DG)、三酸甘油酯 (TG) 與甲酯 (ME) 之含量、黏度與密度。然後分別以線性方程式 $w = a \times \ln \eta + b$ 與 $w = c \rho + d$ 建立甲酯產率 w 與黏度 η 、甲酯產率 w 與密度 ρ 之相關性。使用之黃豆油為精煉過之食用級油，皂值 (Saponification number) 為 192、碘價 (Iodine number) 為 133、酸價 (Acid number) 為 0.06、含水量低於 0.15%。使用之氣相層析儀配置火焰離子化偵測器 (Flame ionization detector; FID)，並搭配 15 m (長度) \times 0.53 mm (內徑)、膜厚 0.1 μm 之管柱，層析之條件包括：注入樣品之溫度為 75°C；FID 溫度為 350°C；管柱之初溫為 75°C，經過幾分鐘之恆溫停留後，先以 24°C/min 之升溫速度加熱至 140°C，再以 8°C/min 之升溫速度加熱至 330°C，停留 2 分鐘後，最後以 12°C/min 之升溫速度加熱至 345°C，並停留 12 分鐘；載氣為氦氣，氣體流量為 8.5 ml/min。研究結果顯示：於溫度 20°C 下，氣相層析法測得之甲酯產率與黏度之關係式為 $w = -38.46645 \pm 0.1308 \times \ln \eta + 166.32644 \pm 0.2289$ ，於溫度 37.8°C 下，則為 $w = -38.74190 \pm 0.6887 \times \ln \eta + 148.92468 \pm 1.5252$ ；於溫度 20°C 下，氣相層析法測得之甲酯產率與密度之關係式為 $w = -1531.64744 \pm 50.9822 \times \rho + 1456.42409 \pm 54.8513$ ，於溫度 37.8°C 下，則為 $w = -1546.87374 \pm 51.4981 \times \rho + 1451.46164 \pm 47.3720$ ；若進一步比較氣相層析法測得之甲酯產率與利用黏度或密度推估之甲酯產率，可知以溫度 20°C 下測定轉酯化反應物之黏度，推估甲酯產率之精確度最高。

Xie and Li (2006b) 利用固態鹼作為催化劑，以甲醇對黃豆油進行轉酯化反應，並發展出一種可靠且快速之分析方法，以監控轉酯化之進程，無須先對測定之樣品矽烷化。由於甘油 (Glycerin)、單酸甘油酯 (MG)、雙酸甘油酯 (DG)、三酸甘油酯 (TG) 與甲酯 (ME) 具有不同之氫氧根含量 (Hydroxy content) 與折射指數 (Refractive index)，加上轉酯化機制中，每一個分子甲酯之形成，即意味著一個游離醇 (Free alcohol) 從三酸甘油酯釋放出來，換言之，反應物中增加多少量之甲酯，就會伴隨著氫氧根含量 (Hydroxy content) 之增加；因此將反應物殘留之甲醇完全移除後，即可以滴定法分析 MG、DG 與甘油上之游離醇含量，進而判斷甲酯之轉換率；故發展之方法即以反應物之氫氧根含量 (Hydroxy content) 或折射指數 (Refractive index) 作為轉酯化過程之甲酯轉換率之指標。該研究為了建立兩種指標與其他分析方法之相關性，選擇利用 NMR 技術，由反應物之 NMR 光譜中出現在 $\delta=3.7$ ppm (甲酯之甲氧基) 與 2.3 ppm (脂肪酸衍生物之 α -羧基次甲基) 處之波峰面積比來判斷甲酯之轉換率，進而分別建立由 NMR 技術判斷之轉換率與氫氧根含量、折射指數間之相關性。使用之黃豆油為食用級，先精煉降低游離脂肪酸與水分含量，並利用氣相層析測得脂肪酸組成為 Palmitic acid 12.3%、Stearic acid 5.8%、Oleic acid 26.5%、Linoleic acid 49.4% 與 Linolenic acid 5.9%，酸值低於 0.1 mg KOH/g，平均分子量為 874 g/mol。在轉酯化反應部份，於 250 ml、配有機械式攪拌器與水冷式冷凝器之雙頸玻璃瓶內，加入 30 g (34.3 mmol) 之黃豆油、20 ml (494.3 mmol) 之甲醇與 2% (w/w) 之催化劑，於激烈攪拌與逆流下反應 0.5~10 小時，抽取反應物為待測樣品，並於 334K、真空下利用 Rotary evaporator 蒸餾去除甲醇後，測定氫氧根含量。在純甲酯之製備部分，則使用甲醇鈉 (Sodium methylate) 作為催化劑，將包含 8.0 g 之黃豆油、20 ml 之甲醇與 0.2 g (2.5%, w/w) 之甲醇鈉混合物，於逆流與激烈攪拌下反應 30 分鐘，製得之甲酯純度經以 NMR 與 GC 檢驗，確定在 $\delta=4.1\sim 4.4$ ppm 範圍內沒有與甘油相關之信號。氫氧根含量之測量，係採用 AOCS: Official method Cd 13-60，先將待測物於 368~373K 與激烈攪拌下，醋酸酐 (Acetic anhydride, $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$) 與吡啶 (Pyridine) 予以乙醯化 (Acetylated)，加入適量之蒸餾水，再加熱 10 分鐘，讓醋酸酐轉換成醋酸 (Acetic acid)，然後以 KOH 溶液滴定，同時準備空白溶液，於相同之條件下以 KOH 滴定，再依 Hydroxyl content = $\frac{56.1 \times T \times (V_0 - V)}{m} + \text{A.V.}$ 計算氫氧根含量。NMR 分析之待測物樣品製備方面，先將已分離出甲醇之液相，以飽和含水之 NaCl 溶液清洗三次去除甘油，然後以傾析方式 (Decantation) 分離出有機相 (Organic phase)，再以硫酸鎂 (Magnesium sulfate, MgSO_4) 乾燥。NMR 分析方面，使用之儀器為德國 Bruker 公司之 Bruker DPX-400，使用之溶劑為 CDCl_3 ，內標 (Internal standard) 為 TMS，而轉換率之判定則以 3.68 ppm (Methoxy groups of the methyl ester) 與 2.30 ppm (α -carbon CH_2 groups of all fatty acid derivatives) 之信號比為準。折射指數則於 303.15K 下，以 Refractometer 測定。本研究先假設氫氧根含量與甲酯轉換率間存在線性之關係，分別測定與計算純黃豆油與純甲酯之氫氧根含量，前者為 8.0 mg KOH/g，後者為 173.51 mg KOH/g，然後依據轉酯化進程中抽取之待測樣品之氫氧根含量 X，推估甲酯轉換率 $Y\% = 100 \times (X - 8.0) \div (173.51 - 8.0)$ ；在折射指數與轉換率之關係方面，亦先假設為線性，並分別測定純黃豆油與純甲酯之折射指數，前者為 1.4704，後者為 1.4515。最後在利用 NMR 光譜判斷轉換率方面，結果顯

示以 NMR 技術判斷轉換率與以氫氧根含量或折射指數判斷轉換率，存在極為線性之相關性，顯示本研究利用氫氧根含量或折射指數作為判斷甲酯轉換率之指標，可靠性相當高。