

Paulina NOWAK, Roman PAWŁOWICZ, Marian KAMIŃSKI*

¹ Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. Gabriela Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk, Polska

*Autor do korespondencji, e-mail: markamin@pg.gda.pl

Rozdzielanie, identyfikacja i oznaczanie składników osadu z produkcji olejów jadalnych w warunkach NP-HPLC

Streszczenie: Praca dotyczy badań nad wykorzystaniem rozdzielania w warunkach adsorpcyjnej w normalnych układach faz wysokosprawnej kolumnowej chromatografii cieczowej (NP-HPLC) w celu wyjaśnienia składu uciążliwego osadu tworzącego się w płytowym wymienniku ciepła jako jednego z modułów systemu przeznaczonych do odzysku nieskroplonego heksanu po ekstrakcji oleju z nasion. W badaniach wykorzystano spektrofotometrię w zakresie UV-VIS, detekcję spektrofotometryczną UV-VIS-DAD i refraktometrię (RID), a także fluorescencję rentgenowską (XRF). Badania wykazały, że praktycznie jedynym składnikiem osadu okazała się siarka elementarna. Praca przedstawia, także metodykę identyfikacji i oznaczania siarki wroztworze lub w zawieszynie w oleju.

Słowa kluczowe: proces produkcji oleju roślinnego, wysokosprawna kolumnowa chromatografia cieczowa, siarka rodzima, zakłócenia procesowe, osady

Separation, identification and determination of sediment components from the production of edible oils under conditions of NP-HPLC

Abstract: These research work concern the use of the separation adsorption conditions of the systems in normal phase column high performance liquid chromatography (NP-HPLC), in order to clarify the composition of inconvenient sediment formed in the plate heat exchanger, which is part of a system for recovery uncondensed hexane (after oil extraction from plant seeds). The study used UV-VIS spectrophotometry, the UV-VIS-DAD spectrophotometric and differential refractometric detection (RID), but also X-ray fluorescence (XRF). The results showed that practically the only component of sediment is elemental sulfur. The paper presents, also a methods for identification and determination of sulfur in solution or suspension in oil.

Key words: production process of vegetable oils, high performance liquid chromatography column, native sulfur, interference settlement process, sediments

1. Wstęp (Introduction)

Istotnym surowcem przemysłu spożywczego są oleje i tłuszcze pochodzenia roślinnego. Są to głównie triacyloglicerole kwasów tłuszczowych, które są ważnym elementem diety człowieka [1, 13-17].

Składniki olejów roślinnych pełnią funkcję izolacyjną i ochronną, ale także dostarczają wysokoenergetycznych substratów oddechowych oraz niezbędnych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach (A, D, E, K) [2, 10, 18]. Rośliny oleiste, takie jak rzepak, len, słonecznik, palma oleista, soja, oliwka europejska, kukurydza, bawełna oraz orzechy są głównym surowcem do pozyskiwania typowych olejów roślinnych obecnych na światowym rynku [1, 14].

Oleje roślinne pozyskuje się z różnych części roślin, w tym, z nasion, owoców, pestek, jąder nasiennych, ale także kielków roślinnych [3]. Mogą być otrzymywane metodą fizyczną oraz chemiczną [12].

Metoda fizyczna polega na mechanicznym wytlaczaniu tłuszczu w prasie śrubowej. Nasiona roślin oleistych zagniatane są w prasie, następnie rozcierane na miazgę, podczas gdy olej wytłaczany przechodzi przez drobne sита, które zatrzymują pozostałości. Istnieją dwie metody tłoczenia na zimno (temperatura kontrolowana nie wyższa niż 50°C) i na gorąco (temperatura od 160-200°C). W metodzie tłoczenia nie stosuje się środków chemicznych, używa się natomiast wysokich temperatur (w zależności od techniki pozyskiwania) [6, 11, 12].

Fizyko-chemiczna metoda produkcji olejów roślinnych polega na ekstrakcji (wyodrębnieniu) oleju za pomocą nisko polarnych rozpuszczalników przy jednoczesnym podgrzewaniu do względnie wysokich temperatur (nawet do ponad 100°C). Jako technologia produkcji oleju roślinnego w przemyśle uważana jest za najbardziej wydajną i najtańszą.

Jednakże podczas produkcji oleju tą metodą, utracie podlegają niektóre cenne składniki odżywcze. Istnieje również ryzyko pozostawiania śladowych ilości rozpuszczalnika organicznego w produkcie, w konsekwencji nie jest to najbardziej korzystna metoda otrzymywania olejów roślinnych [4, 7-9].

Najczęściej wykorzystywanym rozpuszczalnikiem do ekstrakcji olejów jest n-heksan (n-C6). W skali przemysłowej nie stosuje się zazwyczaj czystego heksanu, a mieszaninę węglowodorów nasyconych z 6-węglowym łańcuchem pochodzącą z ropy naftowej, otrzymywaną w procesie izomeryzacji. Zazwyczaj mieszanina składa się z 50-90% n-heksanu (objętościowo), ale także może zawierać izo-heksan lub metylopentan. Kluczową właściwością mieszaniny węglowodorów nasyconych wykorzystywanych w pozyskiwaniu oleju jest temperatura wrzenia, która powinna mieścić się w granicach 65-70°C. Należy unikać niskiej jakości heksanu, który może zawierać, takie zanieczyszczenia jak cyklo-alkany, a nawet benzen. Mogą one powodować nieprzyjemny zapach, a nawet toksyczność produkowanego oleju [4].

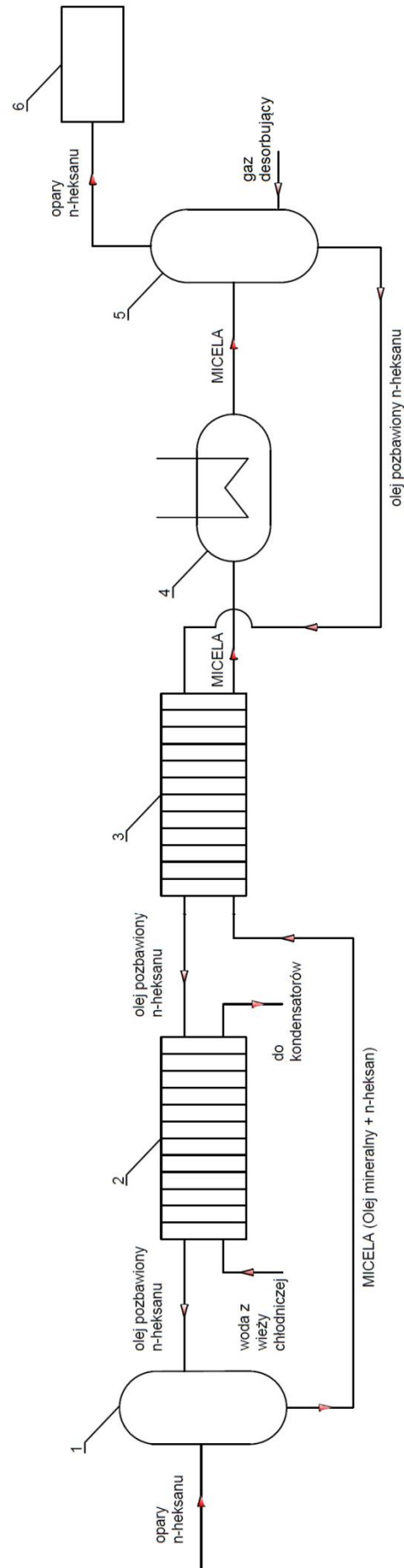
Proces ekstrakcji oleju roślinnego heksanem może się wiązać ze stratami rozpuszczalnika, które należy zredukować do minimum, aby obniżyć koszty produkcji. Odzyskiwanie rozpuszczalnika, który nie został skroplony w kondensatorach odbywa się za pomocą układu absorpcyjnego wykorzystującego olej mineralny dopuszczony do stosowania w przemyśle spożywczym [5].

Problem badany w niniejszej pracy dotyczy powstawania osadu o nieznanym składzie w wymienniku ciepła, który pracuje w układzie absorpcji i ma na celu odzyskiwać pozostałości heksanu, który nie został skroplony w układzie kondensatorów rurowych. Płytowy wymiennik ciepła wykorzystywany jest w celu wymiany energii cieplnej pomiędzy dwoma nośnikami, tzn. „miceli” (czynnik grzewczy) oraz wodą z chłodni wentylatorowej (czynnik chłodzący). W rezultacie ma miejsce całkowite usunięcie, a następnie skroplenie oparów n-heksanu oraz odzysk rozpuszczalnika.

Pierwszym modułem układu absorpcyjnego jest kolumna absorpcyjna o nazwie „120” (moduł nr 1, Rys. 1) gdzie podczas przepływu przez kolumnę oparów n-heksanu, które opłukiwane są „olejem płuczkowym” dochodzi do utworzenia „miceli” (roztworu oraz emulsji oleju mineralnego i n-heksanu). Następnie utworzona „micela” zostaje podgrzana na płytowym wymienniku ciepła o nazwie „181A” (moduł nr 3, Rys. 1) do temperatury 65°C, wymiennik ciepła działa w przeciwnym kierunku, gdzie z jednej strony płynie olej mineralny z heksanem, zaś po drugiej olej mineralny po usunięciu heksanu. Kolejny na podgrzewaczu o nazwie „121” (moduł nr 4, Rys. 1) „micela” zostaje podgrzana do temperatury 105-110°C, po czym trafia do kolumny desorpcyjnej o nazwie „122” (moduł nr 5, Rys. 1), gdzie pod wpływem podciśnienia zostaje odzyskany n-heksan - następuje rozdzielenie n-heksanu od oleju. Kolejny opary n-heksanu trafiają na kolumnę o nazwie „23D” (moduł nr 6, Rys. 1) i powraca do układu ekstrakcyjnego. Natomiast, olej mineralny pozbawiony n-heksanu, który został rozdzielony w kolumnie desorpcyjnej „122” (moduł nr 5, Rys. 1) zostaje schłodzony przez płytowy wymiennik ciepła „181A” (moduł nr 3 Rys.1) do temperatury 65,3°C, a następnie trafia do płytowego wymiennika ciepła o nazwie „181B” (moduł nr 2, Rys. 1) i zostaje schłodzony do temperatury 20-39°C. Olej mineralny po schłodzeniu trafia z powrotem do kolumny „120” i krąży w obiegu zamkniętym.

W praktyce procesowej stwierdza się w ostatnim czasie coraz bardziej intensywne powstawanie osadu nieznanego pochodzenia i składu w płytowym wymienniku ciepła (moduł 2, na Rys.1). W rezultacie powstający osad zakłóca otrzymanie odpowiedniej temperatury oleju mineralnego, a w konsekwencji po jakimś czasie płytowy wymiennik ciepła wymaga mechanicznego „oczyszczenia”.

Ten wymiennik ciepła zawiera pakiet profilowanych metalowych płyt, które tworzą system kanałów pomiędzy którymi dochodzi do wymiany ciepła. Media biorące udział w wymianie ciepła wpływają przez króćce umieszczone w zewnętrznych płytach osłonowych. Olej mineralny pozbawiony heksanu kierowany jest do co drugiej przestrzeni pomiędzy płytami, podczas gdy woda z chłodni wentylatorowej wpływa do pozostałych. Media przepływają w przeciwnym kierunku oraz na przemian - czynnik chłodzący-woda i grzewczy-olej mineralny - dzięki odpowiednio ukształtowanym uszczelkom. Pakiet płyt (zaciśnięty śrubami) znajduje się między płytą czołową, a płytą dociskową.



Rys. 1. Uproszczony schemat ideowy układu absorpcyjnego odzyskującego pozostałość heksanu, gdzie 1-kolumna absorpcyjna „120”, 2-płytkowy wymiennik ciepła „181B”, 3-płytkowy wymiennik ciepła „181A”, 4-podgrzewacz „121”, 5-kolumna desorbująca „122”, 6-kondensator - kolumna „23D”.

Fig. 1. A simplified scheme of absorbent system, which recovering the residue of hexane, where 1- absorption column “120”, 2- plate heat exchanger “181B”, 3- plate heat exchanger “181A”, 4-heater “121”, 5- desorption column “122”, 6- capacitor - column “23D”.

1.1. Zakres badań (Scope of research)

Do zakresu badań należało:

1. Wyjaśnienie składu chemicznego osadu dostarczonego w formie próbek o nazwie „P-120” oraz „P-122”, a także surowego osadu wydzielonego na powierzchni płyt wymiennika ciepła.
2. Wykazanie, czy w próbce świeżego oleju o nazwie „olej mineralny” występują również składniki w/w osadu, jeśli tak, dokonanie oznaczenia ich zawartości.

W celu identyfikacji oraz oznaczenia składników osadu w próbkach olejów „P-120” oraz „P-122”, a także osadu surowego, wykorzystano następujące techniki badań:

- spektrofotometria w zakresie UV-VIS,
- wysokosprawna kolumnowa chromatografia cieczowa w normalnych układach faz (NP-HPLC) z detekcją spektrofotometryczną UV-VIS-DAD i refraktometryczną (RID),
- fluorescencja rentgenowska (XRF).

2. Część eksperymentalna (Experimental)

2.1. Materiały (Materials)

2.1.1. Rozpuszczalnik - UV-VIS (Solvent - UV-VIS)

W badaniach techniką spektrofotometryczną zastosowano n-heksan (n-C6) do HPLC Merck (Niemcy) jako rozpuszczalnik.

2.1.2. Rozpuszczalnik – NP-HPLC (Solvent – NP-HPLC)

W badaniach techniką NP-HPLC zastosowano n-heksan (n-C6) do HPLC Merck (Niemcy) jako rozpuszczalnik.

2.1.3. Substancje wzorcowe i badane próbki – UV-VIS (Reference substances and examined samples- UV-VIS)

Wzorce wykorzystane w badaniu techniką spektrofotometrii w zakresie UV-VIS:

- 0,05300 mg siarki elementarnej rozpuszczonej w n-C6,
- 0,02650 mg siarki elementarnej rozpuszczonej w n-C6,
- 0,01325 mg siarki elementarnej rozpuszczonej w n-C6.

Badane próbki:

- 5 mg próbki oleju „P-120” rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 10 mg próbki oleju „P-120” rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 5 mg próbki oleju „P-122” rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 10 mg próbki oleju „P-122” rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 5 mg próbki oleju „P-120” filtrowanego, rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 5 mg próbki oleju „P-122” filtrowanego, rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 10 mg próbki oleju „mineralnego”, rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 100 mg próbki oleju „mineralnego”, rozpuszczonego w 1 ml n-C6.

2.1.4. Substancje wzorcowe i badane próbki - HPLC (Reference substances and examined samples- HPLC)

Wzorce wykorzystane w badaniu techniką NP-HPLC:

- 0,05300 mg siarki elementarnej rozpuszczonej w n-C6,
- 0,02650 mg siarki elementarnej rozpuszczonej w n-C6,
- 0,01325 mg siarki elementarnej rozpuszczonej w n-C6.

Badane próbki:

- 1 mg próbki oleju „P-120” rozpuszczonego w 1 ml n-C6,

- 10 mg próbki oleju „P-120” rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 100 mg próbki oleju „P-120” rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 1 mg próbki oleju „P-122” rozpuszczonego w1 ml n-C6,
- 10 mg próbki oleju „P-122” rozpuszczonego w1 ml n-C6,
- 100 mg próbki oleju „P-122” rozpuszczonego w1 ml n-C6,
- 10 mg próbki oleju „P-120” filtrowanego, rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 100 mg próbki oleju „P-120” filtrowanego, rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 10 mg próbki oleju „P-122” filtrowanego, rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 100 mg próbki oleju „P-122” filtrowanego, rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 100 mg próbki oleju „mineralnego”, rozpuszczonego w 1 ml n-C6,
- 100 mg próbki oleju „mineralnego” z dodatkiem siarki elementarnej, rozpuszczona w1 ml n-C6,
- 1 mg osadu rozpuszczonego w 1 ml n-C6.

2.2. Aparatura i wyposażenie- UV-VIS (*Instruments and equipments–UV-VIS*)

Stosowano spektrofotometr HP DAD Model 8452A wraz z oprogramowaniem Chemstation UV -VIS oraz kuwety kwarcowe o długości drogi optycznej 1 cm.

2.3. Aparatura i wyposażenie- HPLC (*Instruments and equipments -HPLC*)

Aparatura oraz wyposażenie użyte do badań techniką wysokosprawnej kolumnowej chromatografii ciekowej w normalnych układach faz (NP-HPLC) przedstawione zostały w tabeli nr 1.

Tabela 1. Aparatura oraz wyposażenie zastosowane w analizach techniką NP-HPLC.

Table 1. Instruments and equipment used in analyzes by NP-HPLC technique.

Aparatura /wyposażenie (<i>Apparatus/ equipment</i>)	Charakterystyka (opis) (<i>Characteristics (description)</i>)
Aparat chromatograficzny (<i>Chromatographic apparatus</i>)	Chromatograf ciekowy LaChrom (Merck-Hitachi, Niemcy-Japonia), wyposażony w czterokanałowy system elucji gradientowej z zaworami proporcjonującymi, wyposażony w pompę Hitachi L-7110, zawór dozujący Rhodyne Rh-7125i z pętlą dozującą 1200 µL, termostat COBRABiD 7350i-Polska
Detektory (<i>Detectors</i>)	Detektor spektrofotometryczny z matrycą fotodiodową typu UV-DAD L-7450A oraz detektor refraktometryczny RID L-7490 –połączone szeregowo
Oprogramowanie (<i>Software</i>)	Oprogramowanie HSM-7000, wersja 3.1.1. Merck – Hitachi (Niemcy-Japonia)
Strzykawka (<i>Syringe</i>)	Mikrostrzykawka chromatograficzna o maksymalnej pojemności 100 µL
Wirówka (<i>Centrifuge</i>)	Wirówka model D-78532 Tuttlingen, Typ 2001, produkcji Hettich EBA 8S, do odwirowania osadu w fiolkach z roztworami i zawiesiną

2.4. Warunki chromatograficzne - HPLC (*Chromatographic conditions – HPLC*)

Warunki chromatograficzne wykorzystane w badaniu techniką wysokosprawnej kolumnowej chromatografii ciekowej w normalnych układach faz (NP-HPLC) przedstawione zostały w tabeli nr 2.

Tabela 2. Warunki chromatograficzne zastosowane w badaniu techniką HPLC (NP-HPLC).
 Table 2. Chromatographic conditions used in HPLC technique (NP-HPLC).

Objętość dozowanej próbki (<i>Volume of dosing sample</i>)	50 μ L
Przepływ (<i>Flow</i>)	2 ml/min
Kolumna Macherey-Nagel HPLC 250x4 mm, pakowana Nucleosil SiO ₂ , 100Å, 3 μ m (Niemcy)	
Faza ruchoma (<i>mobile phase</i>)	n-heksan (n-C6)

2.5. Przygotowanie badanych próbek (*Preparation of tested samples*)

W celu przygotowania roztworów próbek nważono kolejno odpowiednią masę oleju (masa zależna od przygotowanej próbki 1, 5, 10 lub 100 mg) do fiołki, a następnie dodano 1 ml rozpuszczalnika (n-heksanu). Energicznie potrząsano fiołką przez około 2 min.

2.6. Przygotowanie roztworów wzorcowych (*Preparation of standards solutions*)

W celu przygotowania roztworów wzorcowych siarki nważono kolejno odpowiednią wagę siarki elementarnej (0,1320 mg / 0,0265 mg / 0,053 mg) do fiołki, a następnie dodano 1 ml rozpuszczalnika. Energicznie potrząsano fiołką przez około 2 min.

2.7. Metody postępowania- UV-VIS (*Methods- UV-VIS*)

Dla dostarczonych próbek olejów oraz osadu wykonano widma w zakresie UV. Widma wykonano dla roztworów w heksanie.

Osad kilkukrotnie przemyto heksanem w celu usunięcia oleju. Do otrzymanych w ten sposób żółtych kryształów dodano heksan. Otrzymano roztwory dla których wykonano widma w zakresie UV. Heksan stosunkowo silnie absorbuje światło o długościach fali poniżej 220 nm, dlatego widma roztworów heksanowych wykonywano w zakresie od 220 do 450 nm. Niewielka absorpcja światła przez heksan w zakresie 220-240 nm jest korygowana przez krzywą „blank”, wykonaną dla heksanu, która jest odejmowana od widm badanych roztworów.

Otrzymane nasycone roztwory charakteryzowały się bardzo silną absorpcją w zakresie UV dlatego musiały być wielokrotnie rozcieńczone w celu uzyskania prawidłowego widma UV. Widma w zakresie UV wykonano również dla następujących próbek:

- olej mineralny
- olej „P-120”
- olej „P-120” filtrowany (w celu usunięcia ewentualnego drobnoziarnistego osadu)
- olej „P-122”
- olej „P-122” filtrowany (w celu usunięcia ewentualnego drobnoziarnistego osadu)

Analizowano roztwory w heksanie o różnym stężeniu. Jak wcześniej wspomniano oleje „P-120” i „P-122” poddano filtracji aby usunąć ewentualny drobnoziarnisty osad zawieszony w oleju. W przypadku oleju „P-120” praktycznie nie stwierdzono różnic w widmach przed i po filtracji. Dla oleju „P-122” po filtracji można zaobserwować nieznacznie niższą absorpcję światła. Spektrofotometrię UV podobnie jak opisaną później metodę HPLC zastosowano do ilościowego oznaczenia siarki w olejach. Sporządzono trzy roztwory siarki w heksanie o znanym stężeniu w celu wyznaczenia krzywej kalibracyjnej.

2.8. Metody postępowania- NP-HPLC (*Methods- NP-HPLC*)

Ustabilizowano układ chromatograficzny. Ustawiono prędkość przepływu eluentu 2,0 ml/min. Następnie wprowadzono do pętli zaworu dozującego (za pomocą strzykawki chromatograficznej) kolejno próbki o objętości 50 μ L.

3. Wyniki (Results)

3.1. Wyniki – identyfikacja siarki w próbkach oleju – XRF (Results - identification of sulfur in the oil samples – XRF)

Badania wykonano metodą XRF zgodnie z normą PN-EN 15309:2010. Oznaczenie zawartości pierwiastków wykonano z zastosowaniem techniki fluorescencji rentgenowskiej (XRF), z zastosowaniem tzw. programu „pół-ilościowego”. W badaniu wykorzystano spektrometr WD-XRF model S8 Tiger firmy Bruker. Wyniki, czyli skład pierwiastkowy zaolejonego osadu zbadany tą techniką przedstawiono w tabeli nr 3. Innych pierwiastków, niż wymienione w tabeli nr 3, o liczbie atomowej wyższej od sodu nie zaobserwowano na widmie wykonanym techniką fluorescencji rentgenowskiej. Pierwiastki o liczbie atomowej poniżej sodu – były niemożliwe do identyfikacji / oznaczenia.

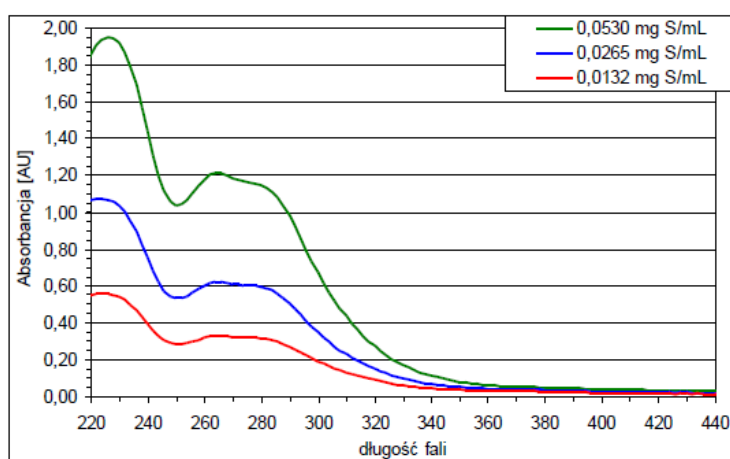
Tabela 3. Skład pierwiastkowy zaolejonego osadu – badania wykonane techniką XRF.
Table 3 The elemental composition oily sediment - research done by XRF technique.

Lp.	Pierwiastek	Orientacyjna zawartość [%]
1.	S	64,29
2.	Cl	0,04
3.	Ca	0,02
4.	Fe	0,01

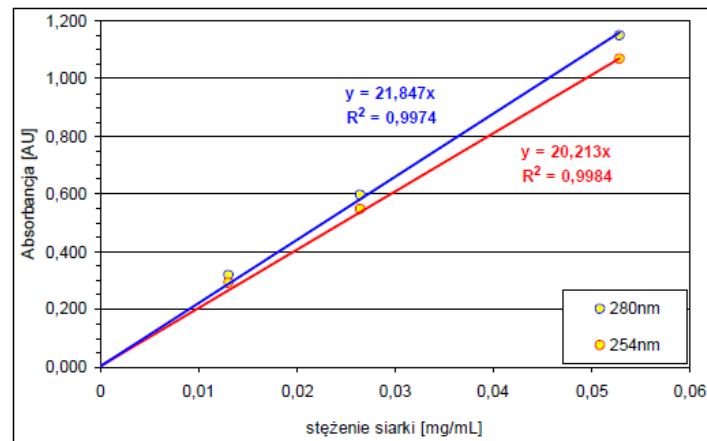
3.2. Wyniki – identyfikacja siarki w próbkach oleju – widma UV-VIS (Results - identification of sulfur in the oil samples - UV-VIS spectrums)

Spektrofotometrię UV podobnie jak opisaną później metodę HPLC zastosowano do oznaczenia siarki w olejach. Sporządzono trzy roztwory siarki w heksanie o znanych stężeniach w celu wyznaczenia krzywej kalibracyjnej. Widma otrzymane dla tych trzech roztworów przedstawiono na rysunku 2.

Krzywe kalibracyjne wyznaczono dla dwóch długości fali 254 i 280 nm. Krzywe te i odpowiadające im równania przedstawiono na rysunku 3. W tabeli 4 przedstawiono dane liczbowe wykorzystane przy sporządzaniu krzywych kalibracyjnych. Wykorzystując powyższe krzywe oraz wartości absorbancji wyznaczone podczas rejestracji widm obliczono zawartość siarki w roztworach heksanowych, a następnie w poszczególnych olejach. Dane te przedstawiono w tabeli 5.



Rys. 2. Widma UV dla trzech roztworów wzorcowych siarki.
Fig. 2. UV spectra of the three reference solutions of sulfur.



Rys. 3. Krzywe kalibracyjne dla heksanowych roztworów siarki wyznaczone dla dwóch długości fal.
Fig. 3. Calibration curves for hexane solutions of sulfur determined for the two wavelengths.

Tabela 4. Wartości liczbowe wykorzystane do sporządzenia krzywych kalibracyjnych do oznaczania zawartości siarki metodą spektrofotometrii UV.

Table 4. The numerical values used in the preparation of calibration curves for determination of sulfur content by UV spectrophotometry.

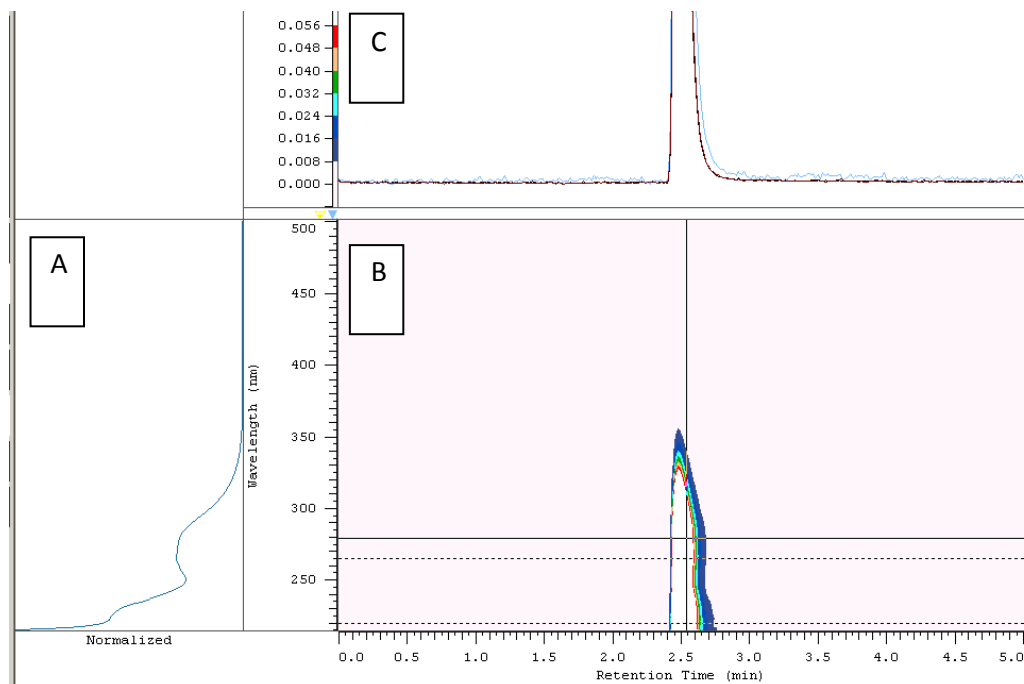
Stężenie siarki [mg/ml]	Absorbancja przy długości fali 280nm	Absorbancja przy długości fali 254 nm
0,0132	0,3130	0,2862
0,0265	0,5921	0,5424
0,053	1,1452	1,0631

Tabela 5. Wyniki oznaczeń zawartości siarki w olejach metoda spektrofotometrii UV-VIS.

Table 5 Test results sulfur content in oils by spectrophotometry UV-VIS method.

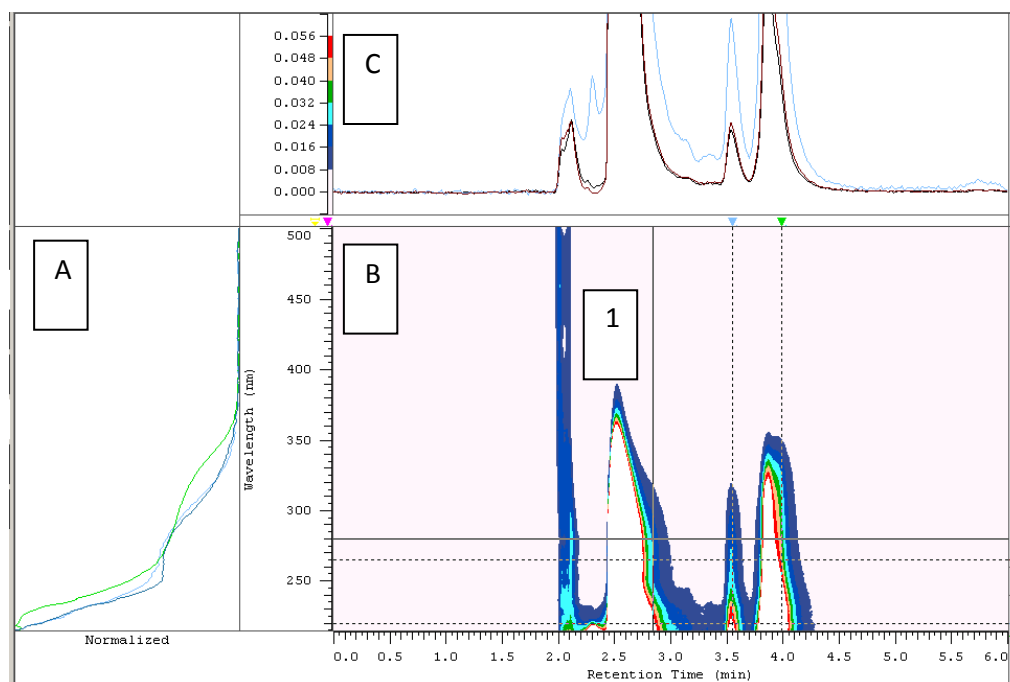
Próbka	Stężenie roztworu (oleju w rozpuszczalniku)	280 nm			254 nm		
		Absorbancja [AU]	Zawartość siarki [mg/ml]	Zawartość siarki [g/100g oleju]	Absorbancja [AU]	Zawartość siarki [mg/ml]	Zawartość siarki [g/100g oleju]
olej „P-120”	10 mg/ml	1,4388	0,066	0,66	1,3849	0,069	0,69
olej „P-120”	5g/ml	0,7204	0,033	0,66	0,6953	0,034	0,69
olej „P-120” filtr	5 mg/ml	0,7407	0,034	0,68	0,7126	0,035	0,71
olej „P-122”	10 mg/ml	1,7630	0,081	0,81	1,7184	0,085	0,85
olej „P-122”	5 mg/ml	0,9450	0,043	0,87	0,9007	0,045	0,89
olej „P-122” filtr	5 mg/ml	0,8825	0,040	0,81	0,8426	0,042	0,83
olej mineralny	10 mg/ml	0,009293	0,00043	0,0043	0,010895	0,00054	0,0054
olej mineralny	100 g/ml	0,026886	0,00123	0,0012	0,023575	0,00117	0,0012

3.3. Wyniki – identyfikacja siarki w próbkach oleju - techniką NP-HPLC (Results - identification of sulfur in the oil samples – by NP-HPLC technique)



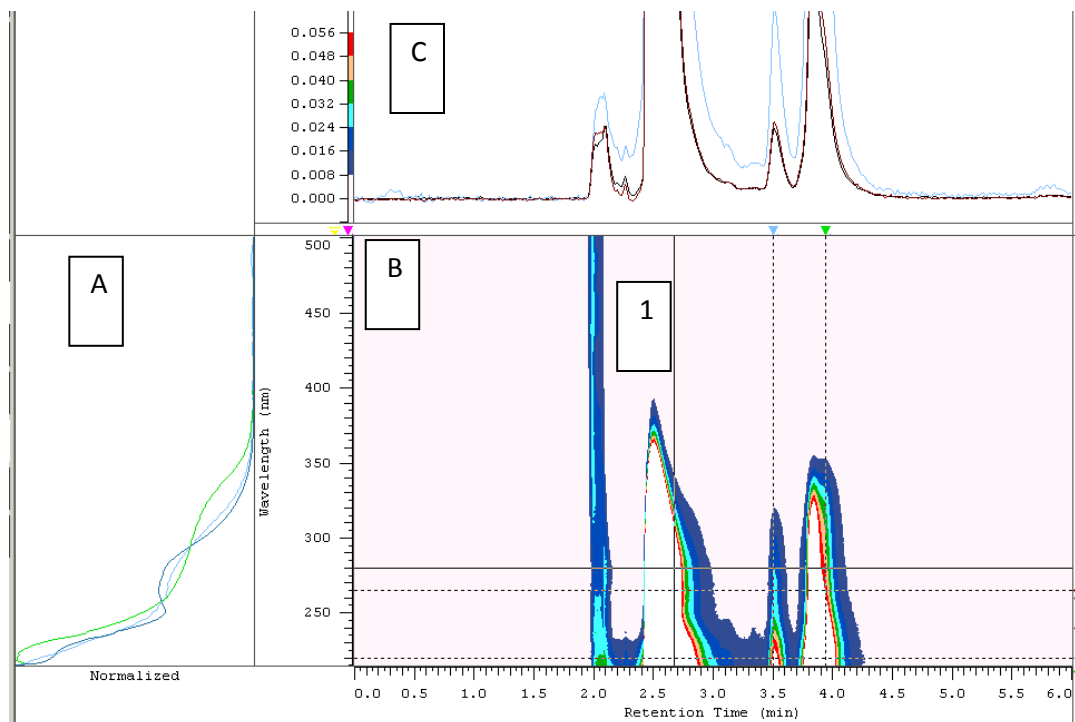
Rys 4. Chromatogram UV-VIS-DAD wzorca siarki S_8 (50 μ l 0,053 mg siarki elementarnej rozpuszczonej w n-C6), A - Widmo, B - chromatogram UV-VIS/DAD w odwzorowaniu trójwymiarowym, pik- siarka elementarna; C - nałożone chromatogramy dla 220, 265, 280 nm.

Fig.4. Chromatogram of standards of sulfur S_8 (50 μ l 0,053 mg sulfur dissolved in n-C6), A- Spectrum, B- chromatogram UV-VIS/DAD in a three-dimensional projection, peak-native sulfur, C- overlapped chromatograms for 220, 265, 280 nm.



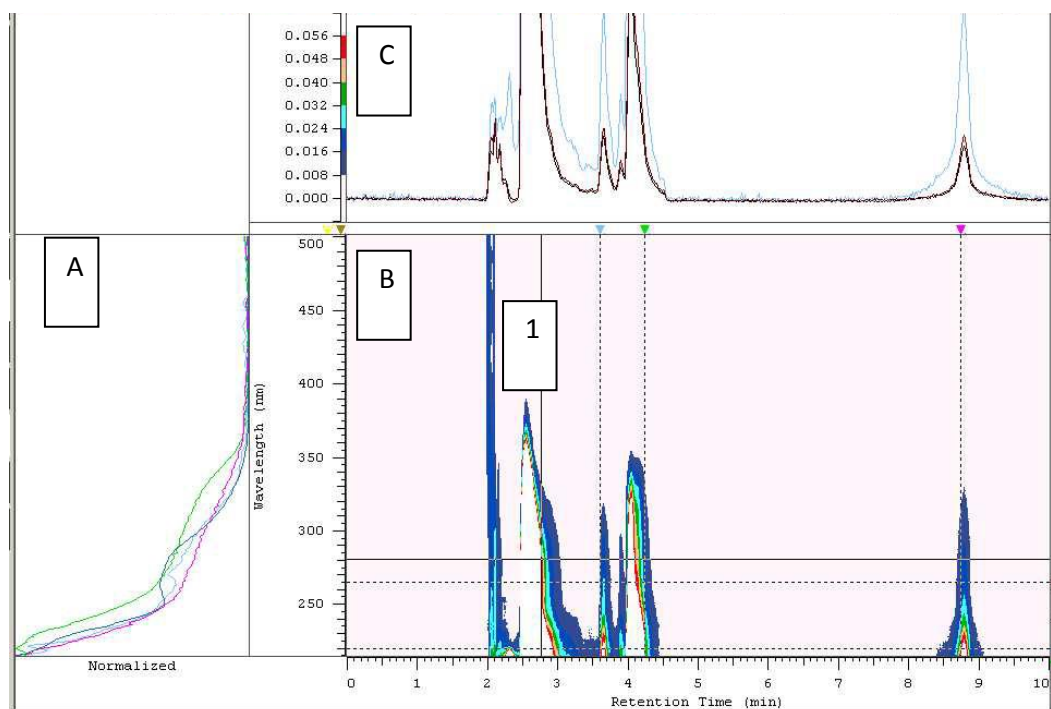
Rys 5. Chromatogram dla 50 μ l 100 mg próbki oleju „P-120” rozpuszczonego w n-C6, A - Widmo, B - chromatogram UV-VIS/DAD w odwzorowaniu trójwymiarowym, pik- siarka elementarna; C - nałożone chromatogramy dla 220, 265, 280 nm.

Fig. 6. Chromatogram of 50 μ l 100 mg of oil “P-120” sample dissolved in n-C6), A- Spectrum, B- chromatogram UV-VIS/DAD in a three-dimensional projection, peak-native sulfur, C- overlaid chromatograms for 220, 265, 280 nm.



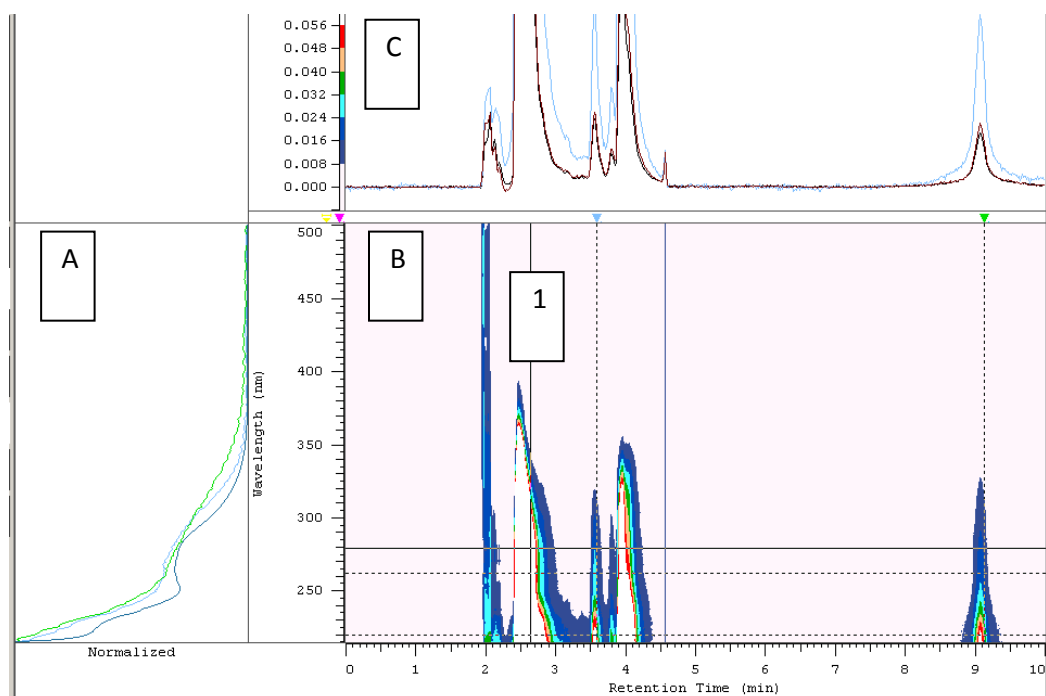
Rys 6. Chromatogram dla 50 μ l 100 mg próbki oleju „P-122” rozpuszczonego w n-C6, A - Widmo, B - chromatogram UV-VIS/DAD w odwzorowaniu trójwymiarowym, pik- siarka elementarna; C – nałożone chromatogramy dla 220, 265, 280 nm.

Fig. 6. Chromatogram of 50 μ l 100 mg of oil “P-122” sample dissolved in n-C6), A- Spectrum, B-chromatogram UV-VIS/DAD in a three-dimensional projection, peak-native sulfur, C- overlaid chromatograms for 220, 265, 280 nm.



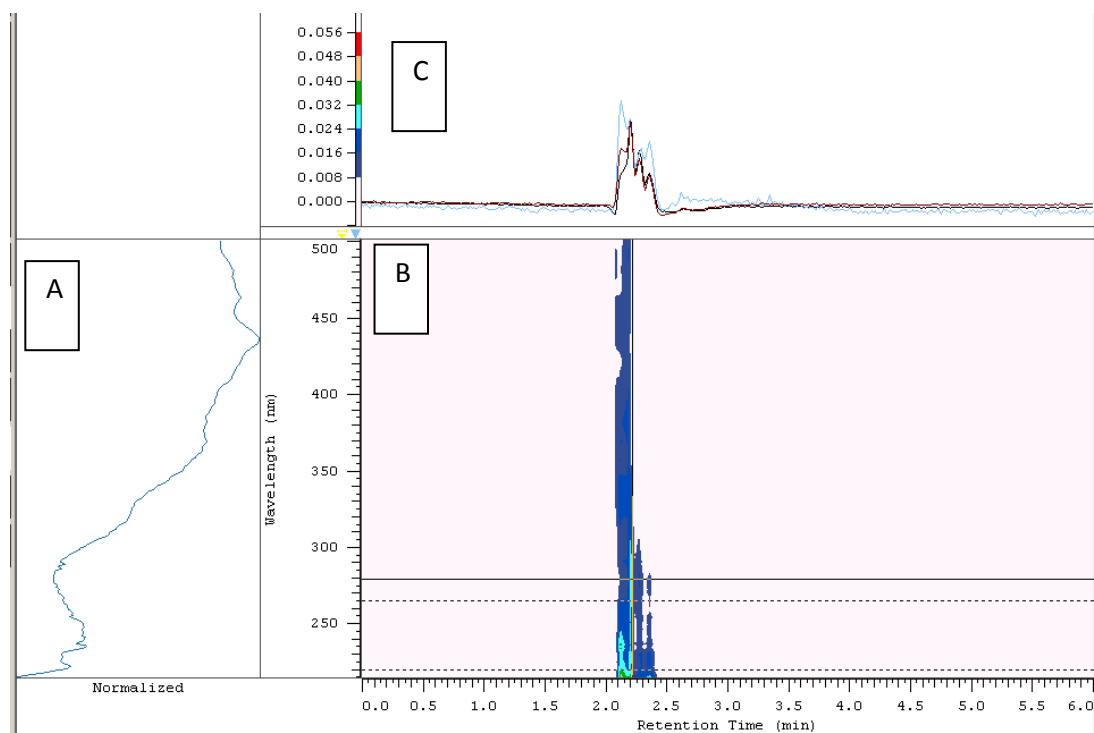
Rys 7. Chromatogram dla 50 μ l 100 mg próbki oleju „P-120” filtrowanego rozpuszczonego w n-C6, A - Widmo, B - chromatogram UV-VIS/DAD w odwzorowaniu trójwymiarowym, pik- siarka elementarna; C – nałożone chromatogramy dla 220, 265, 280 nm.

Fig. 7. Chromatogram of 50 μ l 100 mg of oil “P-120” sample filtrated dissolved in n-C6), A- Spectrum, B-chromatogram UV-VIS/DAD in a three-dimensional projection, peak-native sulfur, C- overlaid chromatograms for 220, 265, 280 nm.



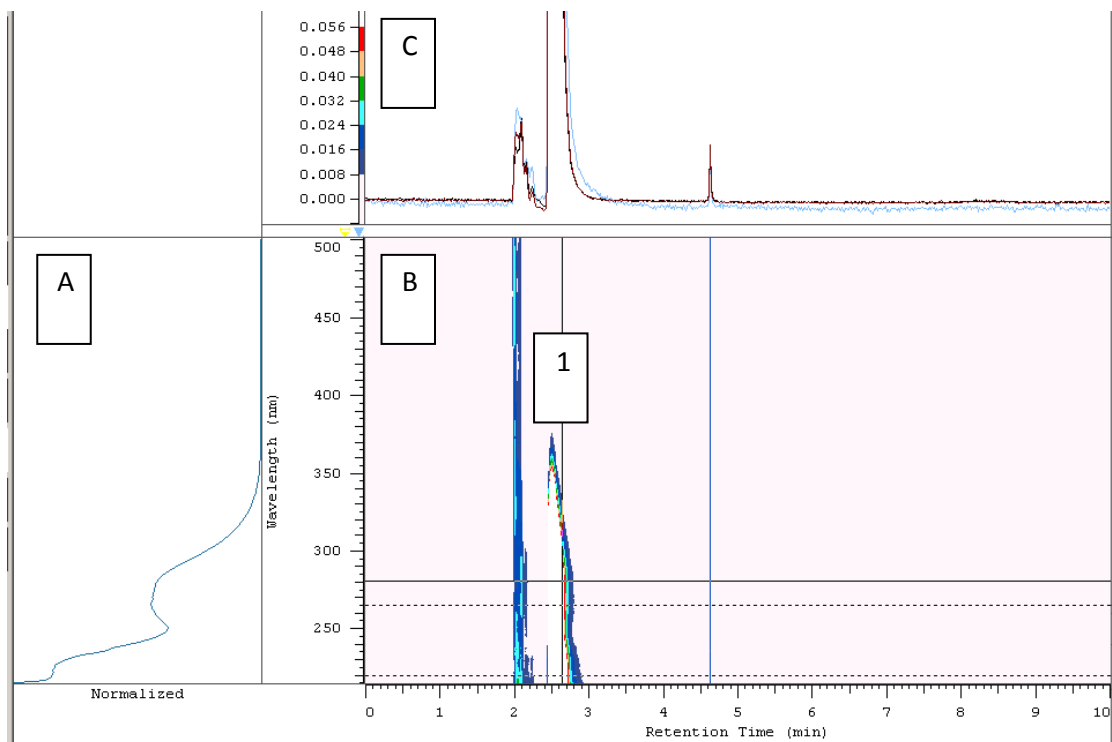
Rys 8. Chromatogram dla 50 μ l 100 mg próbki oleju „P-122” filtrowanego rozpuszczonego w n-C6, A - Widmo, B - chromatogram UV-VIS/DAD w odwzorowaniu trójwymiarowym, pik- siarka elementarna; C – nałożone widma chromatograficzne, dla 220, 265, 280 nm.

Fig. 8. Chromatogram of 50 μ l 100 mg of oil “P-122” sample filtrated dissolved in n-C6), A- Spectrum, B-chromatogram UV-VIS/DAD in a three-dimensional projection, peak-native sulfur, C- overlaid chromatographic spectrums, for 220, 265, 280 nm.



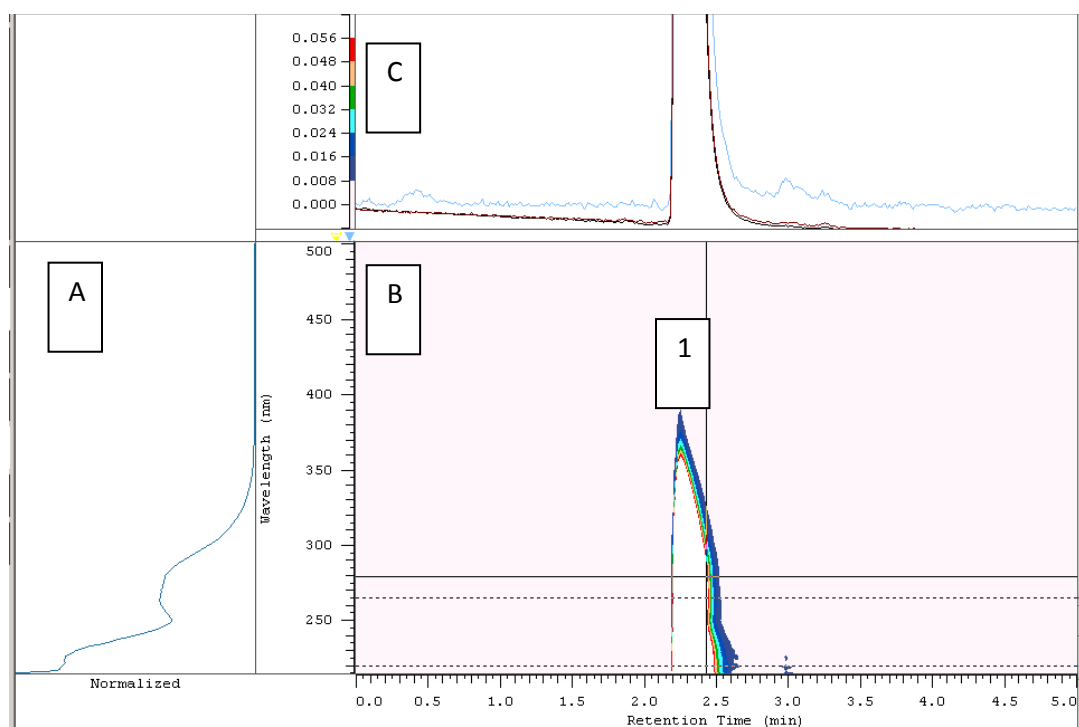
Rys 9. Chromatogram dla 50 μ l 100 mg próbki oleju „mineralnego” rozpuszczonego w n-C6, A - Widmo, B - chromatogram UV-VIS/DAD w odwzorowaniu trójwymiarowym, pik- siarka elementarna; C – nałożone chromatogramy dla 220, 265, 280 nm.

Fig. 9. Chromatogram of 50 μ l 100 mg of “mineral” oil dissolved in n-C6), A- Spectrum, B-chromatogram UV-VIS/DAD in a three-dimensional projection, peak-native sulfur, C- overlaid chromatograms for 220, 265, 280 nm.



Rys 10. Chromatogram dla 50 μ l mieszanki 100 mg próbki oleju „mineralnego” z dodatkiem siarki elementarnej rozpuszczonej w n-C6, A - Widmo, B - chromatogram UV-VIS/DAD w odwzorowaniu trójwymiarowym, pik-siarka elementarna; C – nałożone chromatogramy dla 220, 265, 280 nm.

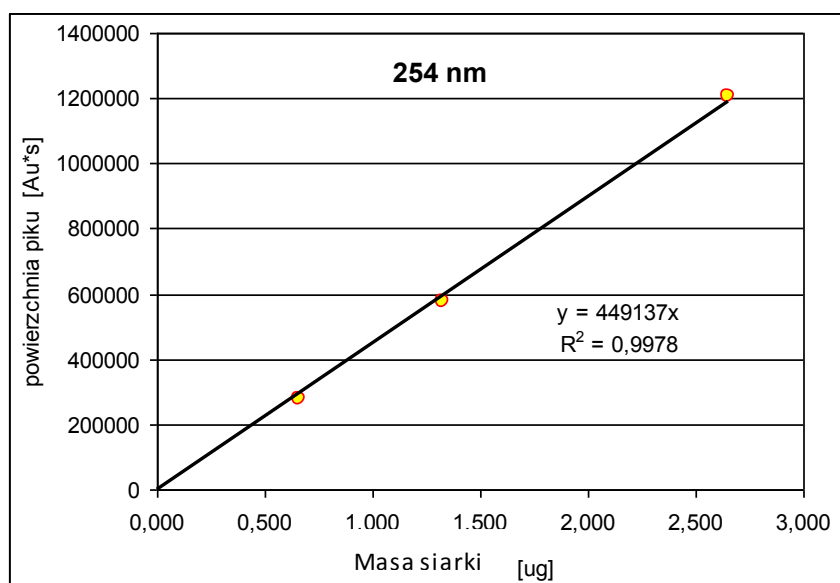
Fig. 10. Chromatogram of 50 μ l 100 mg mixture of “mineral oil” with addition of native sulfur dissolved in n-C6), A- Spectrum, B-chromatogram UV-VIS/DAD in a three-dimensional projection, peak-native sulfur, C- overlaid chromatograms for 220, 265, 280 nm.



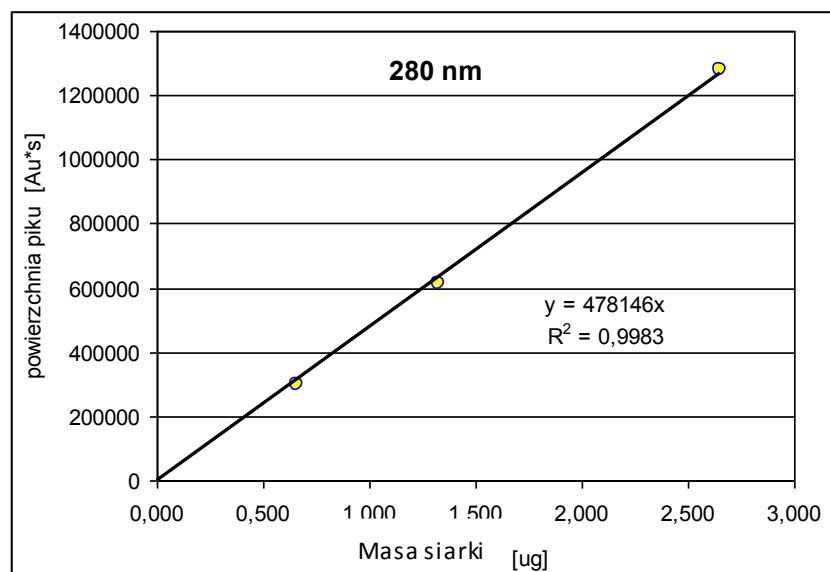
Rys 11. Chromatogram dla 50 μ l 1 mg osadu rozpuszczonego w n-C6, A - Widmo, B - chromatogram UV-VIS/DAD w odwzorowaniu trójwymiarowym, pik- siarka elementarna; C – nałożone chromatogramy dla 220, 265, 280 nm.

Fig. 11. Chromatogram of 50 μ l 1 mg of precipitate dissolved in n-C6, A- Spectrum, B-chromatogram UV-VIS/DAD in a three-dimensional projection, peak-native sulfur, C- overlaid chromatograms for 220, 265, 280 nm.

Wykorzystując chromatogramy roztworów wzorcowych siarki zarejestrowane przy 254 i 280 nm, wyznaczono krzywe kalibracyjne przedstawiające powierzchnie pików w funkcji masy siarki. Krzywe kalibracyjne przedstawiono na rysunkach 12 i 13, a dane liczbowe w tabeli 6.



Rys. 12. Krzywa kalibracyjna do oznaczania zawartości siarki metodą HPLC przy długości fali 254 nm
Fig. 12. A calibration curve for determining the sulfur content by HPLC at 254 nm



Rys. 13. Krzywa kalibracyjna do oznaczania zawartości siarki metodą HPLC przy długości fali 280 nm.
Fig. 13. A calibration curve for determining the sulfur content by HPLC at 280 nm

Tabela 6. Dane wykorzystane do sporządzenia krzywych kalibracyjnych do oznaczania zawartości siarki metodą HPLC z detektorem UV-Vis-DAD. Objętość dozowania 50 μ L.

Table 6. The data used for the preparation of calibration curves for determination of sulfur content by HPLC with UV-Vis-DAD. Injection volume 50 μ L.

Stężenie siarki [μ g/ μ L]	Masa siarki [μ g]	254 nm	280 nm
		powierzchnia pików [AU*s]	
0,053	2,650	1204720	1280720
0,0265	1,325	575960	614950
0,01325	0,6625	277820	299421

Wykorzystując krzywe kalibracyjne dla dwóch powyższych długości fali, na podstawie powierzchni pików pochodzących od siarki, otrzymanych dla badanych olejów obliczono zawartości siarki w tych olejach. Wyniki przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Wyniki oznaczeń zawartości siarki w olejach metodą HPLC. Dozowanie 50 uL.
Table 7. Test results sulfur content for HPLC. Dosage 50 uL.

Próbka	Stężenie roztworu [mg oleju/ml]	Masa oleju [ug]	280 nm			254 nm		
			Powierzchnia piku [Au*s]	Masa siarki [ug]	Zawartość siarki [g/100g oleju]	Powierzchnia piku [Au*s]	Masa siarki [ug]	Zawartość siarki [g/100g oleju]
olej P-120	1mg/ml	50	123675	0,2587	0,52	117400	0,26139	0,52
olej P-120	10mg/ml	500	1492540	3,1215	0,62	1434360	3,19359	0,64
olej P-120 filtr.	10mg/ml	500	1485320	3,1064	0,62	1418640	3,15859	0,63
olej P-122	1mg/ml	50	188245	0,3937	0,79	178126	0,39660	0,79
olej P-122	10mg/ml	500	1889060	3,9508	0,79	1810000	4,02995	0,81
olej P-122 filtr.	10mg/ml	500	1888860	3,9504	0,79	1808480	4,02657	0,81

4. Dyskusja (Discussion)

1) Badania wykonane metodą z zastosowaniem techniki fluorescencji rentgenowskiej (XRF), z zastosowaniem tzw. programu „pół-ilościowego” wykazały, że zaolejony osad to siarka elementarna z dodatkiem innych zanieczyszczeń (tabela nr 3).

2) Zostało również wykonane widmo w podczerwieni techniką MIR-FTIR próbek osadu osuszonego. Wyniki badania wykazały, iż osad jest substancją, która składa się z cząsteczek o wielu płaszczyznach przecinających się w jednym punkcie.

3) Badania wykazały bezspornie, że osad wytrącający się w wymienniku ciepła, a także, rozpuszczony i zawieszony w próbkach olejów „P-120” i „P-122”, to siarka (S₈). Jednocześnie, próbki P-120 i P-122, to „przesycone roztwory” siarki w „oleju mineralnym”, zawierające też niewielkie zawartości innych nisko i średnio polarnych składników organicznych, jednak całkowicie pozbawione jakichkolwiek zawartości acylo-gliceroli.

4) Zawartości siarki w próbkach „P-120” i „P-122” oznaczone metodą HPLC są zbliżone do otrzymanych z zastosowaniem metody spektrofotometrycznej i wynoszą około 0,6% (m/v) dla oleju P-120 i około 0,8% (m/v) dla oleju „P-122”.

5) Olej nazywany jako „mineralny”, nie zawiera na poziomie mierzalnym siarki. Nie jest też on naftowym olejem mineralnym. Jest to olej syntetyczny, najprawdopodobniej typu PAO (*poli-alfaolefinowego*), albo podobny (*np. izomeryzowany olej bazowy*), praktycznie nie zawierający węglowodorów aromatycznych (*podstawionych alifatycznie, lub/i alicyklicznie pochodnych benzenu bifenyli itp. składników*). Jest bezbarwny i wykazuje bardzo niską absorpcję światła w zakresie 250-800nm. Jednocześnie jednak, rozpuszczalność siarki w tym oleju, nazywanym „olejem mineralnym” jest niezwykle niska (poniżej ok. 0,8% m.m).

6) Siarka najprawdopodobniej dostaje się do procesu w rezultacie jej stosowania przez rolników w charakterze „ekologicznego” fungicydu, tzn. siarka jest doprowadzana do procesu z surowcem. W tej sytuacji możliwe do zastosowania wydają się dwa sposoby na wyeliminowanie problemu wydzielania się siarki w przedmiotowym wymienniku ciepła :

6.1) Jednym, jest zmiana rodzaju oleju, na znacznie lepiej rozpuszczający siarkę olej mineralny, zawierający w istotnym udziale alifatyczne / alicykliczne pochodne benzenu, toluenu, ksylenu, bifenyli, , w którym siarka jest stosunkowo dobrze rozpuszczalna. W tabeli 8 zamieszczono dane o rozpuszczalności siarki rombowej w standardowych rozpuszczalnikach. Rozpuszczalność w alifatycznych/ alicyklicznych pochodnych prostych rozpuszczalników zamieszczonych w tabeli 8 będzie najprawdopodobniej niższa, ale znacznie wyższa, niż w bazowym oleju syntetycznym;

Tabela 8. Rozpuszczalność siarki w rozpuszczalnikach.

Table 8. Sulfur solubility in solvents.

Lp.	Rozpuszczalnik (Solvent)	Rozpuszczalność (Solubility)	Bibliografia (Bibliography)
1.	Aceton	604, 623, 610 (µg/ml)	[5]
2.	Dichlorometan	6185, 6089, 6720 (µg/ml)	
3.	Chloroform	6670 (µg/ml)	
4.	Metanol	260, 247, 265 (µg/ml)	
5.	Etanol	0,066 % masy	[6]
6.	Eter dimetylowi	0,181 % masy	
7.	Formamid dimetylowy (DMF)	0,191% masy	
8.	n-Heksan	0,40% masy	
9.	Czterochlorek węgla	0,832 % masy	
10.	Nitrobenzen	0,856 % masy	
11.	Chloroform	1,164 % masy	
12.	Anilina	1,259 % mas	
13.	Ksylen	2,051 % masy	
14.	Toluen	2,070 % masy	
15.	Benzen	2,093 % masy	
16.	Chlorobenzen	2,370 % masy	
17.	Disiarczek węgla	34,8 % masy	

6.2) Jeśli – ze względu na współczesne regulacje prawne – nie jest możliwe zastosowanie rady wg p. 6.1. i konieczne jest stosowanie syntetycznego oleju parafinowego, to pozostaje możliwość okresowego rozpuszczania i wymywania zaolejonego „osadu” w wymienniku ciepła, bez otwierania wymiennika, z zastosowaniem okresowego przepompowywania przez wymiennik – toluenu, albo ksylenu, albo tzw. „reformatu” z rafinerii ropy naftowej, nie zawierającego benzenu na poziomie powyżej 10 ppm, w których to rozpuszczalnikach siarka jest względnie dobrze rozpuszczalna, znacznie lepiej, niż w stosowanym „oleju mineralnym”.

Wielokrotnie lepszą rozpuszczalność posiada siarka w di-siarczku węgla (CS₂) jednak ze względu na toksyczność oparów di-siarczku węgla, ten rozpuszczalnik nie jest zalecany.

5. Wnioski (Conclusions)

Wnioski końcowe

- 1) Badania wykazały, iż osad zawieszony w oleju to siarka elementarna (S₈).
- 2) Próbkę olejów „P-120” oraz „P-122” to praktycznie przesycony roztwór siarki. Zawartości siarki oznaczone metoda HPLC, jako roztwór w oleju, są zbliżone do otrzymanych z zastosowaniem metody spektrofotometrycznej i wynoszą ok. 0,6% m/v dla oleju „P-120” i ok. 0,8% m/v dla oleju „P-122”.
- 3) „Olej mineralny” to olej syntetyczny, który nie zawiera mierzalnej zawartości siarki.
- 4) Otwartym problemem badawczym pozostaje przyczyna przedostawania się dużej ilości siarki do olejów. Najprawdopodobniej ma to miejsce dzięki stosowaniu w siarki w rolnictwie, jako fungicydu

Conclusions

- 1) Research has shown that the sediment suspended in the oil is elemental sulfur (S₈).
- 2) Samples of oil “P-120” and “P-122” are a practical saturated solution of elemental sulfur. Sulfur content determination by the HPLC method are similar to those obtained using the spectrophotometric method and amount to approx. 0.6% m/v for “P-120” oil and approx. 0.8% m/v for oil “P-122”.
- 3) “Mineral oil” is a synthetic oil, which does not contain measurable amount of sulfur.
- 4) An open research issue stay the manner in which such a large amount of sulfur occur in oils. Most probably it takes place through the uses of sulfur in agriculture as a fungicide.

Podziękowania

Autorzy publikacji składają serdeczne podziękowania Zakładom Tłuszczowym za dostarczenie próbek, sfinansowanie badań oraz umożliwienie ich publikacji.

Praca jest kontynuacją badań wykonywanych w ramach projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki pt.: „Wykorzystanie chromatografii wykluczania i adsorpcji do rozdzielania i oznaczania grupowego lipidów i produktów konwersji w tłuszczach jadalnych” N N312 417237, numer umowy 4172/B/PO1/2009/37.

6. Literatura (Literature)

1. I. Nakonieczna, R. Bonikowski, E. Rój, R. Jańczak, K. Kozłowski, A. Dobrzyńska-Inger, *Frakcjonowanie olejów z nasion roślin jagodowych metodą ekstrakcji przeciwprądowej nadkrytycznym ditlenkiem węgla*, Przemysł Chemiczny, Wyd. SIGMA-NOT, 93(4), 2014, I. Żak, *Lipidy i pochodne*, Chemia Medyczna, Katowice, 2001.
2. Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne: *Farmakopea Polska X*. Warszawa: Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, 2014.
3. L. Chappell, *Vegetable Oil Production: Industry Profile, Economics Research*, 1998.
4. Sivaraous, N. Kumar, A. Aidy, Taufik, S. D. Malingam, M.S. Kassim, M.A. Sulaiman, *Heat exchanger Analysis to Reduce Hexane Loss in Palm Kernel Oil Extraction Plant*, International Journal of Mechanical & Mechatronics Engineering, 13(4), 2016.
5. “Development and validation of analytical methods for elemental sulfur in Alberta soils”, Maxxam Analytics, Government of Alberta, 2015.
6. M. Bamberg, *Gmelin Handbuch der Anorganischen Chemie*, Schwefel, Teil A, Lieferung 3, VCH, Weinheim, 1953., Dissertation, Univ. Saarbrücken, 1959.
7. T. Płatek, M. Jerzewska, J. Węgrowski, A. Katzer, *Obserwacja procesów przemysłowej rafinacji oleju z nasion rzepiku potrójnie ulepszanego*, Rośliny Oleiste, 19, 1998.
8. F.D. Gunstone, *Vegetable oils in food technology: Composition, Properties and Uses*, Blackwell, ISBN 1-84127-331-7, 2002.
9. H. Niewiadomski, *Technologia tłuszczów jadalnych*, WNT, Warszawa, 1993.
10. J. Orsavova, L. Misurcova, J. Vavra Ambrozova, R. Vicha, J. Mlcek, *Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids*, International Journal of Molecular Sciences, 16, 12871-12890, 2015.
11. A. Obiedzińska, B. Waszkiewicz-Robak, *Oleje tłoczone na zimno jako żywność funkcjonalna*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1, 80, 27-44, 2012.
12. K. Krygier, M. Wroniak, K. Dobczyński, I. Kiełt, S. Grześkiewicz, M. Obiedziński, *Charakterystyka wybranych rynkowych olejów roślinnych tłoczonych na zimno*, Rośliny Oleiste, 19, 573-583, 1998.
13. J. McMurry, *Chemia organiczna*, PWN, Warszawa, ISBN 83-01-14406-8, 1028-1029, 2005.
14. E. Lamer-Zarawska, C. Chwała, A. Gwardys, *Rośliny w kosmetyce i kosmetologii przeciwstarzeniowej*, Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa, 2012.
15. E. Sonestedt, *Do both heterocyclic amines and omega-6 polyunsaturated fatty acids contribute to the incidence of breast cancer in postmenopausal women of the Malmö diet and cancer cohort?.*, „The International Journal of Cancer”, 1637-1643, 2008.
16. H. Bojarowicz, B. Woźniak, *Wielonienasycone kwasy tłuszczowe oraz ich wpływ na skórę*, Problemy Higieny i Epidemiologii, 89, 471-475, 2008.
17. A. Berger, P.J. Jones, S.S. Abumweis, *Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients*, Lipids in Health and Disease, 7, 3-5, 2004.
18. K. Łoźna, A. Kita, M. Styczyńska, J. Biernat, *Skład kwasów tłuszczowych olejów zalecanych w profilaktyce chorób cywilizacyjnych*, Problemy Higieny i Epidemiologii, 93, 4, 871- 875, 2012.