

Ewa ŁOBOS-MOYSA, Mariusz DUDZIAK

Politechnika Śląska, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki  
ul. Akademicka 2A, 44-100 Gliwice

## Zastosowanie metody GC-MS do oznaczania zawartości kwasów tłuszczowych w ściekach zanieczyszczonych olejami jadalnymi

Ocenie poddano metodę oznaczania kwasów tłuszczowych w ściekach zaolejonych. Kwasy tłuszczowe wydzielano, stosując ekstrakcję ciecz-ciecz dichlorometanem, którą poprzedzono estryfikacją analitów w wodzie roztworem  $\text{BF}_3$  w metanolu. Do analizy jakościowo-ilościowej ekstraktu użyto GC-MS. Opracowana metoda umożliwia rozdział i identyfikację 12 kwasów tłuszczowych, w tym nasyconych: oktanowy (C8:0), dekanowy (C10:0), mirystynowy (C14:0), palmitynowy (C16:0), stearynowy (C18:0), arachidowy (C20:0), behenowy (C22:0) i lignocerynowy (C24:0), oraz nienasyconych: palmitoleinowy (C16:1), oleinowy (C18:1), linolowy (C18:2) i erukowy (C22:1). Granica oznaczenia metody była w zakresie od 6,3 do 35  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  w zależności od badanego związku. Opisana metoda została z powodzeniem zastosowana do oznaczeń kwasów tłuszczowych w ściekach modelowych i komunalnych.

**Słowa kluczowe:** kwasy tłuszczowe, GC-MS, ekstrakcja ciecz-ciecz, analiza ścieków zaolejonych, oleje jadalne

### Wstęp

Oleje roślinne są mieszaniną trójglicerydów, czyli estrów glicerolu i wyższych kwasów tłuszczowych, a ponadto zawierają fitosterole, alkohole alifatyczne, węglowodory oraz witaminy E i K [1, 2]. Kwasy tłuszczowe są nierozgałęzionymi związkami, zawierającymi w swym łańcuchu od 12 do 20 atomów węgla, które mogą być połączone wiązaniami pojedynczymi lub podwójnymi. Ze względu na rodzaj wiązania kwasy te dzielą się na nasycone i nienasycone. Wśród kwasów nasyconych najważniejszymi są palmitynowy - C16:0 i stearynowy - C18:0 [1]. W zależności od liczby wiązań podwójnych kwasy nienasycone występują jako jednonienasycone (oleinowy - C18:1) i wielonienasycone (linolowy - C18:2, linolenowy - C18:3) [1, 2].

Zawartość kwasów tłuszczowych (rodzaj i wzajemny stosunek) jest charakterystyczna dla danego rodzaju oleju i zależy m.in. od gatunku rośliny oleistej. Najpopularniejszymi kwasami występującymi w olejach rzepakowym i słonecznikowym oraz oliwie są: palmitynowy (C16:0) i stearynowy (C18:0) oraz oleinowy (C18:1), linolowy (C18:2) i linolenowy (C18:3) [3].

Z uwagi na fakt, że oleje i tłuszcze są jedną z trzech głównych grup produktów spożywczych, pojawiają się one także w ściekach komunalnych zarówno w formie

niezmienionej, jak i zmienionej, np. po termicznej obróbce. Oleje i tłuszcze stanowią jeden z głównych składników substancji organicznych w ściekach komunalnych określanych poprzez ChZT [4, 5]. Po osadniku wstępnym zawartość tych zanieczyszczeń może wahać się w granicach od 7 do 45% zanieczyszczeń oznaczanych jako ChZT [6]. Najczęściej oznaczanymi w ściekach komunalnych kwasami tłuszczowymi są: mirystynowy, oleinowy, palmitynowy [7].

Zawarte w ściekach oleje ulegają biodegradacji w warunkach beztlenowych i tlenowych [4]. Jako wskaźniki stopnia biodegradacji, oprócz wskaźnika BZT<sub>5</sub> oraz stosunku BZT<sub>5</sub>/ChZT, mogą być wykorzystane zanieczyszczenia specyficzne, tj. wyższe kwasy tłuszczowe [8]. Biorąc powyższe pod uwagę, istotnym zadaniem jest opracowanie procedury oznaczania kwasów tłuszczowych w ściekach zanieczyszczonych olejami, co jest celem niniejszej pracy.

## 1. Metodyka badań

Kwasy tłuszczowe w środowisku wodnym oznaczono, stosując do ich wydzielania metodę ekstrakcji ciecz-ciecz (LLE), natomiast do analizy jakościowo-ilościowej ekstraktu analizę GC-MS. Przed wydzielaniem anality poddawano de-rywatyzacji. W badaniach wykorzystano system analityczny Saturn 2100 T firmy Varian, w skład którego wchodził kapilarny chromatograf gazowy GC sprzężony *on-line* ze spektrometrem mas typu *ion trap*. Chromatograf wyposażono w kapilarną kolumnę chromatograficzną SLB<sup>TM</sup>-5ms o wymiarach 30 m×0,25 mm i grubości fazy stacjonarnej 0,25 μm firmy Varian. Jako gaz nośny zastosowano hel (5 N). Temperatura pułapki jonowej i źródła jonów wynosiła 200°C. Badane związki oznaczono po ich wcześniejszym upochodnieniu, które miało na celu zwiększenie czułości analizy.

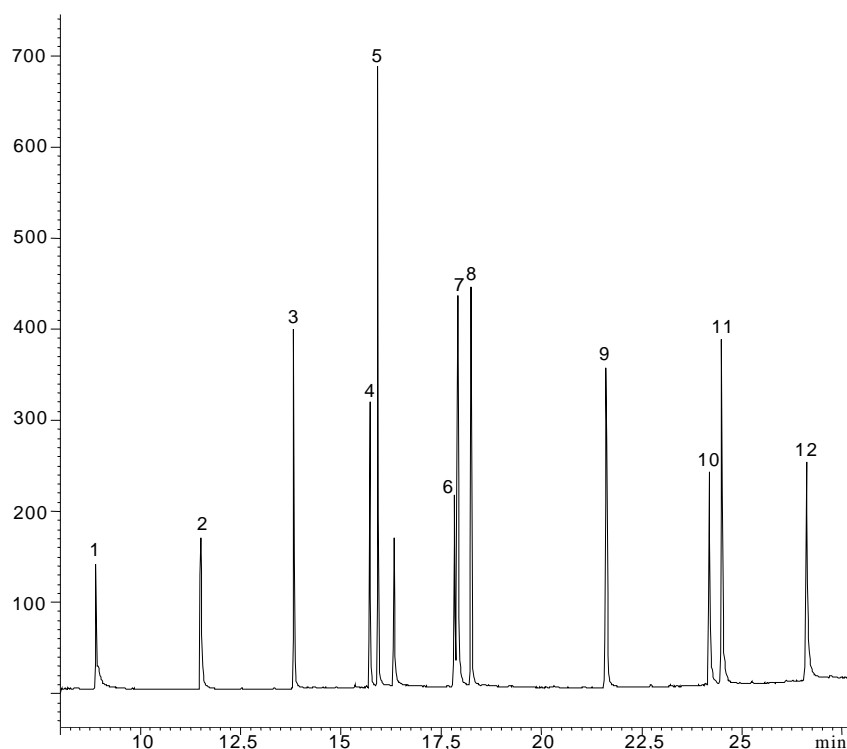
Mikrozanieczyszczenia wyekstrahowano z próbki wodnej o objętości 10 cm<sup>3</sup> i pH = 1 chlorkiem metylenu (w stosunku 1:10), po wcześniejszej estryfikacji roztworem metanolu w obecności BF<sub>3</sub> jako katalizatora reakcji. Próbkę zakwaszono roztworem HCl (2 mol/dm<sup>3</sup>). Ekstrakt analizowano w zakresie temperatury pieca chromatograficznego od 80 do 280°C (temp. dawkownika 280°C). Analizę ilościową prowadzono, rejestrując jony w zakresie m/z = 40÷400.

Wzorce kwasów tłuszczowych, tj. kwasy oktanowy (C8:0), dekanowy (C10:0), mirystynowy (C14:0), palmitoleinowy (C16:1), palmitynowy (C16:0), linolowy (C18:2), oleinowy (C18:1), stearynowy (C18:0), arachidowy (C20:0), erukowy (C22:1), behenowy (C22:0), lignocerynowy (C24:0) o stężeniu wzorców w zakresie 1,1÷0,5 mg/cm<sup>3</sup> w metanolu, oraz mieszanina do upochodnienia (BF<sub>3</sub>/metanol 14%) pochodziły z firmy Sigma-Aldrich. Do badań użyto dwóch roztworów wzorcowych wody zdejonizowanej z wzorcami kwasów tłuszczowych o różnej zawartości, po 1000 μg/dm<sup>3</sup> każdego z wzorców w jednym roztworze, a w drugim po 500 μg/dm<sup>3</sup>. W końcowym etapie badań przeprowadzono oznaczenie kwasów tłuszczowych w ściekach komunalnych (oczyszczalnia mechaniczno-biologiczna z terenu województwa śląskiego) i modelowych zanieczyszczonych olejem rzepa-

kowym. Ścieki modelowe były przygotowywane zgodnie z PN-87 C-04616/10 i zawierały bulion wzbogacony, skrobię, mocznik, octan sodu oraz związki mineralne. Dodatkowo ścieki zawierały zanieczyszczenie specyficzne w postaci emulsji olejowej (0,1% obj. oleju rzepakowego).

## 2. Wyniki badań i dyskusja

Na rysunku 1 przedstawiono chromatogram mieszaniny wzorców upochodnionych kwasów tłuszczowych. W przyjętych warunkach chromatograficznych uzyskano rozdział wszystkich składników mieszaniny (tab. 1).



Rys. 1. Chromatogram GC-MS pochodnych kwasów tłuszczowych: 1 - oktanowy, 2 - dekanowy, 3 - mirystynowy, 4 - palmitoleinowy, 5 - palmitynowy, 6 - linolowy, 7 - oleinowy, 8 - stearynowy, 9 - arachidowy, 10 - erukowy, 11 - behenowy, 12 - lignocerynowy

Tabela 2 zawiera dane charakteryzujące oznaczenie ilościowe opracowaną procedurą derywatywizacji-LLE-GC/MS. Analizowano czterokrotnie sporządzone roztwory wody zdejonizowanej z wzorcami o stężeniach po 1000 i 500  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ , przeprowadzając całą procedurę. Otrzymane wyniki były podstawą obliczenia odzysku (%) oznaczanych zawartości analitów. Średnie wartości tego parametru mieściły się w zakresie od ponad 69 do 108%. Powtarzalność wyników tej metody wyra-

żona przez średnie odchylenia standardowe jest zadowalająca (R.S.D. od ponad 4 do 15%). Granica oznaczenia metody (LOQ) była w zakresie od 6,3 do 35  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  w zależności od rodzaju kwasu tłuszczowego.

Tabela 1

## Parametry analizy jakościowej

Kwas tłuszczowy	Czas retencji ( $t_R \pm \text{SD}$ , n = 12 - ilość powtórzeń)	Współczynnik zmienności CV (%, n = 12)
Oktanowy	8,935 $\pm$ 0,001	0,01
Dekanowy	11,536 $\pm$ 0,001	0,01
Mirystynowy	13,874 $\pm$ 0,004	0,03
Palmitoleinowy	15,761 $\pm$ 0,008	0,05
Palmitynowy	15,964 $\pm$ 0,006	0,04
Linolowy	17,888 $\pm$ 0,007	0,04
Oleinowy	17,965 $\pm$ 0,008	0,04
Stearynowy	18,298 $\pm$ 0,006	0,03
Arachidowy	21,686 $\pm$ 0,016	0,07
Erukowy	24,248 $\pm$ 0,008	0,03
Behenowy	24,551 $\pm$ 0,016	0,06
Lignocerynowy	26,659 $\pm$ 0,026	0,10

Tabela 2

## Odzysk wzorców i powtarzalność metody derywatywacja-LLE-GC/MS

Kwas tłuszczowy	Stężenie				LOQ <sup>b</sup> , $\mu\text{g}/\text{dm}^3$
	1000 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$		500 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$		
	Odzysk <sup>a</sup> , %	R.S.D., %	Odzysk <sup>a</sup> , %	R.S.D., %	
Oktanowy	93	8,0	104	9,3	12
Dekanowy	108	13	103	11	10
Mirystynowy	69	11	88	10	6,3
Palmitoleinowy	90	15	94	13	10
Palmitynowy	79	15	102	15	13
Linolowy	97	7,1	96	12	19
Oleinowy	105	8,8	71	11	29
Stearynowy	89	12	75	5,3	21
Arachidowy	102	6,3	75	4,2	6,9
Erukowy	103	4,5	71	4,6	12
Behenowy	107	6,2	70	4,0	35
Lignocerynowy	101	4,0	69	8,1	24

<sup>a</sup> odzysk wyznaczono, powtarzając 4-krotnie procedurę; <sup>b</sup> granica oznaczenia (S/N > 10)

W tabeli 3 przedstawiono wyniki oznaczeń kwasów tłuszczowych w ściekach komunalnych i modelowych zanieczyszczonych olejami jadalnymi z wykorzystaniem opracowanej procedury analitycznej. W ściekach komunalnych badane kwasy tłuszczowe mogły pochodzić z odpadków kuchennych z gospodarstw domowych oraz lokali gastronomicznych. Natomiast w ściekach modelowych pochodziły z bulionu wzbożonego, który jest wyciągiem mięsnym oraz oleju roślinnego.

W badanych próbkach oznaczono 4 kwasy tłuszczowe w zakresie stężeń od 0 do 1702  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ . Wyższe stężenie kwasów oznaczono w ściekach komunalnych, co świadczy o znacznie większym stężeniu olejów i tłuszczów w tej próbie w odniesieniu do przygotowanych ścieków modelowych.

Oznaczanie kwasów tłuszczowych oraz produktów ich biodegradacji w ściekach rzeczywistych surowych oraz oczyszczonych umożliwia obserwację przebiegu procesu biodegradacji w oczyszczalni, co daje możliwość określenia, na jakim etapie oczyszczania nastąpiło pogorszenie efektywności pracy oczyszczalni oraz jaki wpływ będzie to miało na kolejne procesy.

Również kwasy te mogą określać zanieczyszczenie naturalnych wód powierzchniowych ściekami np. komunalnymi.

Tabela 3

Stężenie kwasów tłuszczowych w ściekach

Kwas tłuszczowy	Ścieki komunalne	Ścieki modelowe
	Stężenie (minimalne-maksymalne), $\mu\text{g}/\text{dm}^3$	
Palmitynowy (C16:0)	40÷292	59÷250
Linolowy (C18:2)	33÷1702	33÷51
Oleinowy (C18:1)	278÷347	80÷174
Stearynowy (C18:0)	0÷112	0÷33

## Wnioski

Opracowana procedura analityczna umożliwia rozdział i identyfikację 12 kwasów tłuszczowych oraz ich ilościowe oznaczenie w próbce wodnej na poziomie stężeń przekraczającym 6,3÷35  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  w zależności od badanego związku. Wykonywane oznaczenia charakteryzowały się wysokim stopniem odzysku analitów przekraczającym 69% i zadowalającą precyzją oznaczeń nieprzekraczającą 15%. Spośród kwasów tłuszczowych w ściekach komunalnych oznaczono 4 kwasy, tj. palmitynowy, linolowy, oleinowy i stearynowy, a ich stężenie było w zakresie od 0 do 1702  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ . Według danych literaturowych, ich zawartość może wynosić od 300 do 3730  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$  [9]. Te same kwasy oznaczono w ściekach modelowych zanieczyszczonych olejem rzepakowym, chociaż występowały one na niższym poziomie stężeń.

## Podziękowanie

*Praca naukowa została sfinansowana ze środków przeznaczonych na naukę w latach 2010-2012 jako projekt badawczy nr N N523 5535 38.*

## Literatura

- [1] Aparicio R., Aparicio-Ruiz R., Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques, *Journal of Chromatography*, 2000, 881, 1-2, 93-104.
- [2] Gawęcki J., Mossor-Pietraszewska T., *Kompendium wiedzy o żywności, żywieniu i zdrowiu*, WN PWN, Warszawa 2006.
- [3] Wroniak M., Ramotowska J., Matuszewska M., Obiedziński M., Możliwość zastosowania oznaczenia izomerów trans kwasów tłuszczowych i 3,5-stigmastadienu do badania autentyczności olejów tłoczonych na zimno, *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2006, 47, 2, 365-373.
- [4] Saatci Y., Arslan E.L., Konar V., Removal of total lipids and fatty acids from sunflower oil factory effluent by UASB reactor, *Bioresource Technology* 2003, 87, 3, 269-272.
- [5] Lefebvre X., Paul E., Mauret M., Baptiste P., Capdeville B., Kinetic characterization of saponified domestic lipid residues aerobic biodegradation, *Wastewater Research* 1998, 32, 10, 3031-3038.
- [6] Sophonsiri Ch., Morgenroth E., Chemical composition associated with different particle size fractions in municipal, industrial and agricultural wastewaters, *Chemosphere* 2004, 55, 691-703.
- [7] Man-hong Huang, Yong-mei Li, Guo-wei Gu, Chemical composition of organic matters in domestic wastewater, *Desalination* 2010, 262, 36-42.
- [8] Łobos-Moysa E., Dudziak M., Bodzek M., Badania wpływu kwasów tłuszczowych i steroli na skuteczność oczyszczania ścieków osadem czynnym w układzie porcjowym, *Ochrona Środowiska* 2010, 32, 2, 53-56.
- [9] Gonzalez Casado A., Alonso Hernandez E.J., Vilchez J.L., Determination of fatty acids (C8-C22) in urban wastewater by GC-MS, *Wastewater Research* 1998, 32, 10, 3168-3172.

## The Application of GC-MS Method for Determination of Fatty Acids Concentrations in Wastewater Containing Eatable Oils

A method for determination of fatty acids in oil wastewater, extracted with dichloromethane, was developed. In research lipid standards of following saturated acids were used: octanoic (C8:0), decanoic (C10:0), lauric myristic (C14:0), palmitic (C16:0), stearic (C18:0), arachidic (C20:0), behenic (C22:0), lignoceric (C24:0) and unsaturated acids: palmitoleic (C16:1), oleic (C18:1), linoleic (C18:2), erucic (C22:1). Fatty acids were esterified using BF<sub>3</sub> methanolic solution and gas chromatography-mass spectrometry analysis was performed. Limite of aqua nitrification was in range from 6.3 to 35 µg/dm<sup>3</sup>. The measurements characterized with the high degree of analytes recovery, which exceeded 69%. The precision of measurements below 15% was satisfied. The method was successfully applied to the wastewater containing eatable oils. 4 fatty acids (palmitic, stearic, oleic and linoleic) were analysed in the treated municipal watewaters collected in the mechanical-biological water treatment plant in Silesia (Poland). Their concentration varied from 0 to 1702 µg/dm<sup>3</sup>. The same acids were analysed in the symulated wastewaters with rape oil but in low concentrations form 0 to 250 µg/dm<sup>3</sup>.

**Keywords:** fatty acids, GC-MS, liquid-liquid extraction, oil wastewater analysis, edible oil