

Imię i nazwisko autora rozprawy: mgr inż. Paulina Karolina Dyguła (p.v. Nowak)  
Dyscyplina naukowa: Nauki Chemiczne

### **ROZPRAWA DOKTORSKA**

Tytuł rozprawy w języku polskim: Badania nad rozdzielaniem grupowym i analityką składu grupowego olejów bazowych i smarowych, zwłaszcza o szerokim zakresie polarności składników.

Tytuł rozprawy w języku angielskim: Research on group separation and analysis of group-type composition of base and lubricating oils, especially those with a wide range of component polarity.

Promotor	Promotor pomocniczy
<i>podpis</i>	<i>podpis</i>
prof. dr hab. inż. Marian Kamiński	dr inż. Karolina Kucharska



## OŚWIADCZENIE

Autor rozprawy doktorskiej: mgr inż. Paulina Karolina Dyguła (p.v. Nowak)

Ja, niżej podpisany(a), oświadczam, iż jestem świadomy(a), że zgodnie z przepisem art. 27 ust. 1 i 2 ustawy z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych (t.j. Dz.U. z 2021 poz. 1062), uczelnia może korzystać z mojej rozprawy doktorskiej zatytułowanej:

Badania nad rozdzielaniem grupowym i analityką składu grupowego olejów bazowych i smarowych, zwłaszcza o szerokim zakresie polarności składników.

do prowadzenia badań naukowych lub w celach dydaktycznych.<sup>1</sup>

Świadomy(a) odpowiedzialności karnej z tytułu naruszenia przepisów ustawy z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie autorskim i prawach pokrewnych i konsekwencji dyscyplinarnych określonych w ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U.2021.478 t.j.), a także odpowiedzialności cywilno-prawnej oświadczam, że przedkładana rozprawa doktorska została napisana przeze mnie samodzielnie.

Oświadczam, że treść rozprawy opracowana została na podstawie wyników badań prowadzonych pod kierunkiem i w ścisłej współpracy z promotorem prof. dr hab. inż. Marianem Kamińskim, promotorem pomocniczym dr inż. Karoliną Kucharską.

Niniejsza rozprawa doktorska nie była wcześniej podstawą żadnej innej urzędowej procedury związanej z nadaniem stopnia doktora.

Wszystkie informacje umieszczone w ww. rozprawie uzyskane ze źródeł pisanych i elektronicznych, zostały udokumentowane w wykazie literatury odpowiednimi odnośnikami, zgodnie z przepisem art. 34 ustawy o prawie autorskim i prawach pokrewnych.

Potwierdzam zgodność niniejszej wersji pracy doktorskiej z załączoną wersją elektroniczną.

Gdańsk, dnia .....

.....  
*podpis doktoranta*

Ja, niżej podpisany(a), wyrażam zgodę na umieszczenie ww. rozprawy doktorskiej w wersji elektronicznej w otwartym, cyfrowym repozytorium instytucjonalnym Politechniki Gdańskiej.

Gdańsk, dnia .....

.....  
*podpis doktoranta*

<sup>1</sup> Art. 27. 1. Instytucje oświatowe oraz podmioty, o których mowa w art. 7 ust. 1 pkt 1, 2 i 4–8 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, mogą na potrzeby zilustrowania treści przekazywanych w celach dydaktycznych lub w celu prowadzenia działalności naukowej korzystać z rozpowszechnionych utworów w oryginale i w tłumaczeniu oraz zwielokrotnić w tym celu rozpowszechnione drobne utwory lub fragmenty większych utworów.

2. W przypadku publicznego udostępniania utworów w taki sposób, aby każdy mógł mieć do nich dostęp w miejscu i czasie przez siebie wybranym korzystanie, o którym mowa w ust. 1, jest dozwolone wyłącznie dla ograniczonego kręgu osób uczących się, nauczających lub prowadzących badania naukowe, zidentyfikowanych przez podmioty wymienione w ust. 1.





## **OPIS ROZPRAWY DOKTORSKIEJ**

**Autor rozprawy doktorskiej:** mgr inż. Paulina Karolina Dyguła (p.v. Nowak)

**Tytuł rozprawy doktorskiej w języku polskim:** Badania nad rozdzielaniem grupowym i analityką składu grupowego olejów bazowych i smarowych, zwłaszcza o szerokim zakresie polarności składników.

**Tytuł rozprawy w języku angielskim:** Research on group separation and analysis of group-type composition of base and lubricating oils, especially those with a wide range of component polarity.

**Język rozprawy doktorskiej:** polski

**Promotor rozprawy doktorskiej:** prof. dr hab. inż. Marian Kamiński

**Promotor pomocniczy rozprawy doktorskiej:** dr inż. Karolina Kucharska

**Data obrony:**

**Słowa kluczowe rozprawy doktorskiej w języku polskim:** chemiczna analityka techniczna; kontrola jakości; ochrona środowiska; oleje smarowe; oleje bazowe; mineralne oleje naftowe; oleje roślinne; węglowodory nasycone; węglowodory aromatyczne; acyloglicerole; rozdzielanie grupowe; skład grupowy; TLC; TLC-FID; HPLC; żel krzemionkowy; impregnacja; sól berberyny; fluorescencja; spektrofotometria UV-Vis; FT-MIR;

**Słowa kluczowe rozprawy doktorskiej w języku angielskim:** chemical technical analysis; quality control; environmental protection; lubricating oils; base oils; mineral petroleum oils; vegetable oils; saturated hydrocarbons; aromatic hydrocarbons; acylglycerols; group separation; group composition; TLC; TLC-FID; HPLC; silica gel; impregnation; berberine salt; fluorescence; UV-Vis spectrophotometry; FT-MIR;

**Streszczenie rozprawy w języku polskim:** Rozprawa to studia i badania nad rozdzielaniem i analityką składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników. Studium literatury wykazało brak metodyk badania udziału frakcji naftowej i roślinnej w takich olejach oraz nieadekwatność w tym celu HPLC. Pierwsza część pracy to badania nad opracowaniem wielokrotnie zastosowanej w praktyce terenowej metodyki i wyposażenia dla zastosowania fluorescencji w świetle UV 365 nm do przesiewowych terenowych badań olejów smarnych pilarek oraz laboratoryjnej procedury oceny obecności i zawartości naftowej/roślinnej frakcji w oleju z zastosowaniem: fluorescencji, spektrometrii UV, FT-MIR, szczególnie, NP-TLC. Druga część to badania nad opracowaniem procedury grupowego rozdzielania i analityki składu grupowego olejów o szerokim zakresie polarności składników techniką TLC-FID jako separacyjno-analityczną techniką rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów z wykorzystaniem techniki NP-TLC z adsorbentem impregnowanym solą berberyny (po udoskonaleniu metodyki impregnacji) w obszernych badaniach pilotowych. Wyniki i wnioski z badań mogą mieć znaczenie w analityce składu grupowego i kontroli technicznej wszystkich rodzajów olejów bazowych i smarowych, w monitoringu zanieczyszczenia środowiska, jak również w analityce żywności.



**Streszczenie rozprawy w języku angielskim:** The dissertation is the study and research of separation and analysis of the group-type composition of base and lubricating oils with a wide range of component polarity. The study of the literature showed the lack of methodologies for examining the share of crude oil fraction and botanicals in such oils and the inadequacy of HPLC for this purpose. The first part of the work is research into the development of a methodology that has been repeatedly used in field practice and equipment for the use of fluorescence in UV 365 nm light for screening field tests of lubricating oils of chainsaws and a laboratory procedure for assessing the presence and the petroleum/vegetable fraction content of the oil using: fluorescence, UV spectrometry, FT-MIR, especially, NP-TLC. The second part is research on the development of a procedure for group separation and analysis of the group-type composition of oils with a wide range of component polarity using the TLC-FID technique as a separation and analytical technique for separation and determination of the group-type composition of oils, using the NP-TLC technique with an adsorbent impregnated with a berberine salt (after improving the impregnation methodology) in extensive pilot studies. The results and conclusions from the tests may be important in the analysis of group-type composition and technical control of all types of base and lubricating oils, in environmental pollution monitoring as well as in food analytics.





*Składam ogromne podziękowania mojemu Promotorowi prof. dr hab. inż. Marianowi Kamińskiemu,  
który wielokrotnie wykraczał swoją wiedzą, ideą oraz kreatywnością poza znane schematy,  
za opiekę merytoryczną, włożony trud, poświęcony czas oraz okazane wsparcie.*

*Bardzo dziękuję mojej Promotor pomocniczej dr inż. Karolinie Kucharskiej,  
za naukę otwartości umysłu w pokonywaniu wyzawań,  
przybliżenie świata nowoczesnej nauki oraz wsparcie merytoryczne.*

*Dziękuję również wszystkim Współpracownikom oraz Koleżankom i Kolegom  
z Katedry Inżynierii Procesowej i Technologii Chemicznej  
za okazaną pomoc, wsparcie oraz za wspaniałą atmosferę pracy.*

*Dedykuję tą pracę moim Rodzicom w podziękowaniu za trud włożony w moje wychowanie,  
ogrom cierpliwości i serca, ale przede wszystkim za to jakim człowiekiem dzięki Wam jestem.*

*Szczególne podziękowania dla mojego Męża i dzieci, którzy dali mi ogromne wsparcie,  
przestrzeń oraz motywację w dążeniu do spełniania swoich celów,  
a także wielokrotnie udowodnili że nie ma rzeczy niemożliwych.*



# SPIS TREŚCI

WYKAZ SKRÓTÓW I AKORNIMÓW .....	14
WPROWADZENIE .....	16
PRZEGLĄD LITERATURY .....	18
1. Współczesne oleje bazowe i smarowe .....	18
1.1. Ogólna charakterystyka olejów smarowych .....	18
1.2. Charakterystyka olejów bazowych .....	19
1.2.1. Mineralne oleje bazowe .....	19
1.2.2. Syntetyczne oleje bazowe .....	21
1.2.3. Oleje bazowe pochodzenia naturalnego .....	21
1.3. Znaczenie znajomości składu grupowego olejów bazowych i smarowych .....	23
2. Rozdzielanie grupowe i oznaczanie składu grupowego olejów bazowych oraz smarowych .....	23
2.1. Standardowe znormalizowane procedury opisujące badanie składu grupowego olejów bazowych i smarowych oraz przyczyny szczególnych trudności rozdzielania olejów bazowych w sekwencji S/A .....	23
2.2. Techniki chromatografii i techniki detekcji stosowane do rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych opisane w literaturze .....	28
2.2.1. Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) .....	28
2.2.2. Cienkowarstwowa Chromatografia Cieczowa (TLC) .....	34
2.2.3. Cienkowarstwowa Chromatografia Cieczowa sprzężona z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (TLC-FID) .....	36
2.3. Techniki i metody spektroskopowe w ocenie składu grupowego olejów bazowych oraz smarowych .....	38
2.3.1. Zjawisko fluorescencji w ocenie obecności i zawartości węglowodorów aromatycznych ...	38
2.3.2. Badanie widma w zakresie średniej podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-MIR) w ocenie obecności i zawartości acylogliceroli i ich pochodnych .....	39
2.3.3. Badanie widma absorpcji światła w zakresie UV .....	40
3. Problem emisji olejów mineralnych pochodzenia naftowego do środowiska oraz znaczenie prostych metodyk kontroli technicznej olejów smarowych emitowanych do środowiska lub stanowiących potencjalne zagrożenie dla środowiska .....	41
3.1. Skala problemu emisji olejów mineralnych do środowiska .....	41
3.2. Wpływ różnego rodzaju mineralnych olejów bazowych i smarowych na środowisko i zdrowie.	42
3.3. Regulacje dotyczące ograniczeń stosowania olejów smarowych emitowanych do środowiska oraz zalecane tam metody badań .....	43
3.4. Idea opracowania prostych terenowych oraz laboratoryjnych procedur z wykorzystaniem chromatografii oraz obecności i zawartości określonych grup organicznych związków chemicznych z wykorzystaniem metod spektroskopowych kontroli technicznej olejów bazowych i smarowych o szerokich zakresach polarności składników, zwłaszcza olejów emitowanych do środowiska - na zasadzie badania składu grupowego .....	45
4. CEL PRACY .....	45
5. CZĘŚĆ BADAWCZA .....	47
5.1. Materiały .....	47
5.1.1. Badane materiały .....	47
5.1.2. Rozpuszczalniki, fazy ruchome i elenty .....	48
5.1.3. Fazy stacjonarne .....	48
5.1.4. Inne odczynniki i materiały .....	49
5.2. Aparatura, wyposażenie oraz oprogramowanie .....	49
5.3. Metodyka badań dla opracowania procedur kontroli obecności i oceny zawartości naftowej/naturalnej frakcji w olejach do urządzeń tnących i metodyka raportowania rezultatów .....	53
5.3.1. Polowa, przesiewowa, kroplowa metodyka identyfikacji oraz oceny orientacyjnej zawartości aromatycznych ropopochodnych składników w olejach - badanie fluorescencji oleju w świetle UV 365 nm w zaciemnionej komorze prostopadłościenną .....	53

5.3.2. Metodyka oceny obecności i zawartości frakcji aromatycznej w olejach z wykorzystaniem widma w zakresie UV oraz sposób statystycznego opracowania wyników .....	54
5.3.3. Metodyka badań obecności i zawartości grupy estrowej i karbonylowej w olejach z wykorzystaniem widma FT-MIR oraz sposób statystyczne opracowanie wyników .....	55
5.3.4. Metoda badań techniką NP-TLC z zastosowaniem standardowych płytek TLC z żelem krzemionkowym F254.....	55
5.3.5. Metodyka NP-HPLC-BF-UV-Vis/DAD-RID, jako metodyka uzupełniająca w celu potwierdzenia wniosków z badań fotometrycznych oraz TLC na płytkach z żelem krzemionkowym .....	56
5.4. Metodyka badań nad opracowaniem procedury grupowego rozdzielania oraz oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników.....	56
5.4.1. Metodyka badań wstępnych nad zastosowaniem HPLC-UV-Vis/DAD-RID-LLSD-BF do grupowego rozdzielania oraz badania składu grupowego olejów o szerokim zakresie polarności składników .....	56
5.4.2. Metody techniką NP-TLC z zastosowaniem płytek TLC z żelem krzemionkowym F254 impregnowanych solą berberyny.....	57
5.4.2.1. Metodyka impregnacji płytek TLC siarczanem berberyny żelu krzemionkowego na powierzchni płytek TLC .....	57
5.4.2.2. Dozowanie, rozwijanie chromatogramów, wizualizacja plamek, dokumentowanie wyników rozdzielania TLC .....	57
5.4.2.3. Wyznaczanie parametrów retencji, selektywności, rozdzielczości, sposób oceny zawartości składników / składu grupowego.....	59
5.4.2.4. Statystyczne opracowanie wyników TLC .....	60
5.4.3. Metodyka badań techniką TLC-FID.....	60
5.4.3.1. Aktywacja pręcików i nakładanie próbek na pręciki TLC-FID .....	60
5.4.3.2. Kondycjonowanie adsorbentu na powierzchni pręcików Chromarod SIII, rozwijanie chromatogramów TLC-FID, rejestracja chromatogramów .....	60
5.4.3.3. Wyznaczanie parametrów – retencji, selektywności, rozdzielczości, oznaczania składu grupowego .....	61
5.4.3.4. Statystyczne opracowanie wyników TLC-FID .....	61
6. WYNIKI I DYSKUSJA.....	62
CZĘŚĆ 1.....	62
6.1. Badania i prace nad „polową” oraz laboratoryjną procedurą kontroli obecności i oceny zawartości naftowej / naturalnej frakcji w olejach smarnych urządzeń tnących i metodyka raportowania rezultatów .....	62
6.1.1. Idea oraz podstawy do opracowania procedury kontroli obecności i oceny zawartości naftowej/ naturalnej frakcji w olejach smarnych urządzeń tnących.....	62
6.1.2. Badania i prace nad wyposażeniem i metodyką w warunkach in situ identyfikacji oraz oceny zawartości ropopochodnych węglowodorów aromatycznych w olejach smarowych z wykorzystaniem fluorescencji w świetle UV $\lambda = 365$ nm oraz nad walidacją procedury .....	63
6.1.3. Badania nad możliwością identyfikacji oraz oceny zawartości węglowodorów aromatycznych w olejach z wykorzystaniem spektrofotometrii w zakresie UV .....	66
6.1.4. Badania nad potwierdzeniem obecności i oceną zawartości frakcji naturalnej w olejach bazowych i smarowych z wykorzystaniem widma FT-MIR .....	70
6.1.5. Badania nad potwierdzeniem obecności i oceną zawartości określonych grup składników w olejach z wykorzystaniem rozdzielania grupowego techniką NP-TLC, na standardowych płytek żelu krzemionkowego F-254 i trzystopniowego rozwijania chromatogramu TLC .....	75
6.1.6. Badania nad wykorzystaniem techniki NP-HPLC i warunków rozdzielania grupowego dla potwierdzenia obecności i oceny zawartości określonych grup składników w olejach bazowych/smarowych .....	79
6.1.7. Podsumowanie dot. opracowania procedury kontroli obecności oraz oceny zawartości naftowej/roślinnej frakcji w olejach do urządzeń tnących .....	87

CZĘŚĆ 2.....	92
6.2. Badania nad opracowaniem procedury grupowego rozdzielania oraz oznaczania grupowego składu olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników.....	92
6.2.1. Wprowadzenie do opracowania procedury grupowego rozdzielania oraz oznaczania grupowego składu olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników...	92
6.2.2. Studium możliwości wykorzystania NP-HPLC do grupowego rozdzielania i oznaczania grupowego składu olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników...	92
6.2.3. Pilotowe dla TLC-FID badania retencji i selektywności rozdzielania składników i grup składników olejów bazowych oraz smarowych o szerokim zakresie polarności w warunkach NP-TLC na płytkach żelu krzemionkowego impregnowanych solą berberyny.....	95
6.2.3.1. Opracowanie korzystnej metodyki impregnacji żelu krzemionkowego siarczanem berberyny oraz wpływ impregnacji na retencję i selektywność rozdzielania - badania nad upewnieniem się, że płytki TLC z żelem krzemionkowym mogą zostać zastosowane w badaniach pilotowych dla TLC-FID.....	95
6.2.3.2. Badania retencji i selektywności rozdzielania składników i grup składników olejów bazowych i smarowych w warunkach NP-TLC z jedno-/wieloskładnikowymi fazami ruchomymi oraz jedno-/wielostopniowym rozwijaniem chromatogramu – badania pilotowe dla TLC-FID..	99
6.2.3.3. Zbadanie wpływu wzrostu/spadku siły elucyjnej fazy ruchomej w kolejnych etapach rozwijania chromatogramu TLC.....	105
6.2.4. Badania nad opracowaniem korzystnych warunków grupowego rozdzielania oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych techniką cienkowarstwowej chromatografii cieczowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (TLC-FID) .....	107
6.2.5. Wyniki oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności z zastosowaniem TLC-FID oraz podstawowe parametry walidacyjne metodyki .....	114
7. Streszczenie I wnioski końcowe .....	119
BIBLIOGRAFIA.....	123
ANEKS NR 1. Materiały dodatkowe do badań nad procedurą kontroli obecności i oceny zawartości naftowej / naturalnej frakcji w olejach do urządzeń tnących .....	136
A1. Zestawienie widm UV składników i grup składników olejów bazowych oraz smarowych (wg wykazu próbek z tabeli 4) .....	136
A2. Zestawienie widm FT-MIR składników oraz grup składników olejów bazowych oraz smarowych (wg wykazu próbek z tabeli 4) .....	138
A3. Przykład rozszerzonego raportu z badań 5 olejów smarowych z wykorzystaniem opracowanej procedury (metoda kroplowa, badanie widm UV-Vis i FT-MIR oraz NP-TLC) dla RDLP w Gdańsku .....	147
DOROBEK NAUKOWY .....	161

## WYKAZ SKRÓTÓW I AKORNIMÓW

**A** - podstawione alifatycznie lub/i alicyklicznie węglowodory aromatyczne (ang. *aliphatic or / and alicyclic substituted aromatic hydrocarbons*);

**A<sub>1</sub>** – alifatycznie i/lub alicyklicznie podstawione jednopierścieniowe węglowodory aromatyczne (ang. *aliphatic and / or alicyclic substituted mono-ring aromatic hydrocarbons*);

**A<sub>2</sub>** - alifatycznie i/lub alicyklicznie podstawione dwupierścieniowe węglowodory aromatyczne (ang. *aliphatic and / or alicyclic substituted bi-ring aromatic hydrocarbons*);

**A<sub>3</sub>** - alifatycznie i/lub alicyklicznie podstawione trójpierścieniowe węglowodory aromatyczne (ang. *aliphatic and / or alicyclic substituted tri-ring aromatic hydrocarbons*);

**A<sub>3+</sub>** - trój- i powyżej pierścieniowe podstawione alifatycznie i/lub alicyklicznie węglowodory aromatyczne (ang. *di- and multi-ring aliphatic and / or alicyclic substituted aromatic hydrocarbons*);

**AcCN** – acetonitryl (ang. *Acetonitrile*);

**ADD** – dodatki uszlachetniające (ang. *enriching additives*);

**AG** – acyloglicerole (ang. *Acylglycerols*);

**Asph** - asfalteny (ang. *Asphaltenes*);

**BF** - przepływ zwrotny eluentu w kolumnie (ang. *Back Flash mobile phase flow in the column*);

**DAG** - diacyloglicerole (ang. *Diacyloglycerols*);

**DAD** - detektor absorcyjometryczny z rejestracją widma w zakresie ultrafioletu (UV), lub ultrafioletu i światła widzialnego (UV-Vis) z tzw. tablicy fotoelementów (detektor typu DAD-UV, lub typu DAD – UV-Vis) (ang. *Diode Array type of UV-Vis Detector*);

**DCM** - dichlorometan (ang. *Dichloromethane*);

**ETBP** – końcowa temperatura destylacji (ang. *End True Boiling Point*);

**FAE** - estry wyższych kwasów tłuszczowych (ang. *Free Fatty Acids Esters*);

**FAEE** - estry etylowe wyższych kwasów tłuszczowych (ang. *Fatty Acids Ethyl Esters*);

**FAME** - estry metylowe wyższych kwasów tłuszczowych (ang. *Fatty Acid Methyl Esters*);

**FFA** - wolne kwasy tłuszczowe (ang. *Free Fatty Acids*);

**FT-MIR** - spektroskopia w zakresie średniej podczerwieni z transformacją Fouriera (ang. *Fourier Transformation Mid Infrared Reflectance spectroscopy*);

**GC** - chromatografia gazowa (ang. *Gas Chromatography*);

**GDLP** - Generalna Dyrekcja Lasów Państwowych;

**GL** - glicerol (tzw. gliceryna) (ang. *Glycerol*);

**HPLC** - wysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. *High-Performance Liquid Chromatography*);

**I<sub>2</sub>** – jod krystaliczny (ang. *crystal Iodine*);

**IPA** - izopropanol (ang. *IsoPropyl Alcohol*);

**ITBP** – początkowa temperatura destylacji (ang. *Initial True Boiling Point*);

**LC** - chromatografia cieczowa (ang. *Liquid Chromatography*);

**LLSD** - detektor laserowy fotodyspersyjny (ang. *Laser Light Scattering Detector*);

**LLE** – ekstrakcja ciecz-ciecz (ang. *Liquid-Liquid Extraction*);



**MAG** - monoacyloglicerole (ang. *Monoacylglycerols*);

**MeOH** - metanol (ang. *Methanol*);

**MTBE** - eter metylowo - tert-butyłowy- (ang. *Methyl Tert-butyl ether*);

**N** –nafteny (podstawione alifatycznie węglowodory alicykliczne) (ang. *Naphthenes*);

**n-C5** - n-pentan (ang. *n-petane*);

**n-C6** - n-heksan (ang. *n-hexane*);

**n-C7** - n-heptan (ang. *n-heptane*);

**NP-HPLC** - wysokosprawna chromatografia cieczowa w normalnym układzie faz (ang. *Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography*);

**NP-TLC** - cienkwarstwowa chromatografia cieczowa w normalnym układzie faz (ang. *Normal-Phase Thin-Layer (liquid) Chromatography*);

**O** – olefiny (ang. *olefins*);

**OECD** – Organizacja Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (ang. *Organisation for Economic Co-operation and Development*);

**P** –parafiny (*potocznie*: głównie długo łańcuchowe, bardzo nisko lotne izo-alkany) (ang. *Paraphines*);

**PAO** – syntetyczny olej bazowy typu polialfolefinowego (ang. *PolyAlphaOlefin's - Synthetic base oil*);

**R** – tzw. żywice (polarne, bardzo nisko lotne organiczne związki chemiczne) (ang. *Resins*);

**RID** – różnicowy detektor refraktometryczny (ang. *Refractive Index Detector*);

**REACH** - Rejestracja, Ocena i Autoryzacja Chemikaliów (ang. *Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals*);

**RP-HPLC** - wysokosprawna chromatografia cieczowa w odwróconym układzie faz (ang. *Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography*);

**RP-TLC** - cienkwarstwowa chromatografia cieczowa w odwróconych układach faz (ang. *Reversed-Phase Thin-Layer (liquid) Chromatography*);

**S** – tzw. węglowodory nasycone (bardzo nisko lotne długołańcuchowe węglowodory alifatyczne, w olejach bazowych / smarowych - głównie izo-alkany) (ang. *Saturated Hydrocarbons; Sarurates* );

**SPE** - ekstrakcja do fazy stałej (ang. *Solid Phase Extraction*);

**Sq** – tu, skwalen (ang. *Squalene*);

**TAG** - triacyloglicerole (ang. *TriAcyloGlycerols*);

**TFA** - kwas tri-fluorooctowy (ang. *TriFuoroacetic Acid*);

**TLC** - cienkwarstwowa chromatografia cieczowa (ang. *Thin-Layer Chromatography*);

**TLC-FID** - cienkwarstwowa chromatografia cieczowa sprzężona z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (ang. *Thin-Layer Chromatography - Flame Ionization Detection*);

**UV** – Ultrafiolet (ang. *Ultra Violet*);

**UV-Vis** - spektrofotometria w zakresie ultrafioletu i światła widzialnego (ang. *Ultraviolet-Visible Spectroscopy*);

**VI** – wskaźnik lepkości (ang. *Viscosity Index*);

**ΔTBP** – zakres tzw. “prawdziwej temperatury destylacji”, ściślej temperatura destylacji (ang. *range of True Boiling Point*).



## WPROWADZENIE

Chromatografia jako grupa sorpcyjno – desorpcyjnych technik i metodyk rozdzielania składników i grup składników różnego rodzaju mieszanin związków chemicznych, w sprzężeniu z instrumentalną detekcją, osiągnęła współcześnie bardzo wysoki poziom rozwoju oraz ogromny obszar zastosowań w analityce farmaceutycznej, chemicznej, kontroli środowiska, różnego rodzaju badaniach naukowych (w medycynie, chemii, biologii itp.), a także w przemysłowej kontroli jakości produktów oraz przemysłowej laboratoryjnej analityce technicznej.

W przypadku bardzo złożonych mieszanin związków chemicznych rozdzielanie wszystkich składników i wykonanie pełnej analityki składu chemicznego, mimo wykorzystywania bardzo wysoko sprawnych układów rozdzielczych, warunków elucji gradientowej, lub stopniowej zawsze wiąże się z poważnym problemem separacyjnym, stąd, analitycznym. Szczegółowe rozdzielanie jest bardzo trudne, czasochłonne i kosztowne, niekiedy wręcz niemożliwe. W konsekwencji, analityka szczegółowego składu chemicznego bardzo złożonych mieszanin jest również niemożliwa. Rozwiązaniem staje się rozdzielanie grupowe oraz oznaczanie składu grupowego, polegające na ustaleniu zawartości określonych grup składników w analizie. W przypadku tego rodzaju złożonych mieszanin związków chemicznych skład grupowy determinuje parametry fizykochemiczne badanego materiału, a także decyduje o jakości i jego właściwościach użytkowych.

Płynnymi materiałami o ogromnej liczbie składników są oleje smarowe uważane przez inżynierów mechaników jako płynny element konstrukcyjny maszyny. Składają się one z oleju bazowego (ponad 85% v/v) oraz dodatków uszlachetniających. Im wyższej klasy jakościowej jest olej smarowy, tym większe jest zróżnicowanie oraz łączny procentowy udział dodatków uszlachetniających - współcześnie aplikowanych w formie tzw. pakietów. Dodatki uszlachetniające stosowane w olejach smarowych są prawie wyłącznie produktami nowoczesnego przemysłu chemicznego. Oleje bazowe ze względu na pochodzenie można podzielić na trzy podstawowe grupy - oleje ropopochodne (tzw. oleje mineralne), syntetyczne oraz naturalne (roślinne). Nierzadko, jako tzw. baza olejowa oleju smarowego, stosowane są mieszaniny różnego typu olejów bazowych.

Oleje smarowe najwyższej klasy zawierają syntetyczny olej bazowy, najczęściej typu polialfaolefinowego. Oleje średniej i niższej klasy, szczególnie zużywane w dużych objętościach, to współcześnie i pewnie długo jeszcze tzw. mineralne oleje bazowe otrzymywane z ropy naftowej w procesie głębokiej rafinacji frakcji, lub pozostałości z destylacji próżniowej. Są to oleje okrętowe, do maszyn górniczych, pojazdów szynowych, obrabiarek przemysłowych itp.

Mineralne oleje bazowe to matryce analityczne o ogromnej liczbie składników o stosunkowo niewielkim zróżnicowaniu charakterystyki chemicznej, w ramach poszczególnych grup. Składają się nisko lotnych organicznych związków chemicznych, płynnych w szerokim zakresie temperatury, o tzw. początkowej temperaturze destylacji (tzw. ITBP – ang. *Initial True Boiling Point*) powyżej 360°C. W zależności od lepkościowej klasy oleju - o końcowej temperaturze destylacji do nawet 650°C (tzw. ETBP – ang. *End True Boiling Point*). W skład mineralnych olejów bazowych wchodzi głównie długołańcuchowe izo-alkany oraz alifatycznie i alicyklicznie podstawione cykloalkany, łącznie zwane węglowodorami nasyconymi (S – ang. *Saturates*). Mineralne oleje zawierają również od kilku do kilkunastu procent objętościowych alifatycznie i alicyklicznie podstawionych głównie tzw. jednopierścieniowych węglowodorów aromatycznych zwanych węglowodorami aromatycznymi (A – ang. *Aromatics*). W składzie tego typu olejów znajdują się również poniżej ok. 2% objętościowych tzw. żywice (R – ang. *Resines*). Grupa R to bardzo polarne węglowodory, będące prawie w całości alifatycznie i alicyklicznie podstawionymi heterocyklicznymi węglowodorami aromatycznymi, posiadającymi azot, siarkę, czasem tlen w strukturze molekularnej.

Syntetyczne oleje bazowe to głównie tzw. polialfaolefiny (PAO). Zdecydowanie rzadziej stosuje się je do produkcji olejów smarowych zużywanych w dużych objętościach ze względu na stosunkowo wysoką cenę. Najczęściej wykorzystywane są do produkcji olejów silnikowych, przekładniowych w pojazdach samochodowych różnego typu oraz w lotnictwie.

W ostatnich latach wraca się do komponowania olejów smarowych z wykorzystaniem naturalnych, rafinowanych olejów roślinnych i ich pochodnych, jako olejów bazowych. Rafinowane oleje roślinne



to głównie ciekłe i niskolotne triacyloglicerole (TAG), a także ich pochodne diacyloglicerole (DAG), monoacyloglicerole (MAG), wolne kwasy tłuszczowe (FFA) i glicerol (GL). Niekiedy oleje bazowe pochodzenia roślinnego „wzbogacone” są w estry metylowe (FAME), bądź etylowe (FAAE) wyższych kwasów tłuszczowych. Zaletą olejów pochodzenia naturalnego jest łatwe uleganie rozkładowi w naturalnym środowisku. Tego typu oleje bazowe stosuje się szczególnie w olejach smarowych emitowanych do środowiska podczas użytkowania (oleje smarujące łańcuchy tnące - manualnych i kołowych maszyn tnących - w leśnictwie, ogrodnictwie, w gospodarce komunalnej itp.). Stosowanie naturalnych olejów jako olejów bazowych jest także zalecane w produkcji olejów hydraulicznych, wówczas można uniknąć ryzyka poważnego skażenia środowiska w rezultacie awarii lub rozszczelnienia przewodów olejowych maszyny eksploatowanej w naturalnym środowisku. Naturalne oleje bazowe pochodzenia roślinnego mają wiele korzystnych właściwości tribologicznych, jednak, nie są odporne na utlenianie oraz są podatne na hydrolizę w obecności wody (już w środowisku słabo kwaśnym, szczególnie w podwyższonej temperaturze).

W przypadku naftowych, a także syntetycznych olejów bazowych szczegółowe rozdzielanie i oznaczenie szczegółowego składu jest niemożliwe. Być może nawet nigdy nie będzie możliwe. W przypadku rafinowanych olejów roślinnych i ich pochodnych - bez uwzględniania izomerów optycznych – szczegółowe rozdzielanie i oznaczanie jest możliwe, lecz wymaga dużo czasu i jest pracochłonne.

W praktyce w technicznej kontroli procesowej, kontroli jakości, a także, dla kontroli zanieczyszczenia środowiska naturalnego analityka chemicznego składu olejów bazowych i smarowych zostaje ograniczona do zbadania składu grupowego. W przypadku naftowego oleju bazowego z reguły badany jest skład grupowy w sekwencji S/A/R, co zostało już dość dobrze opanowane. Bardziej szczegółowe oznaczanie składu grupowego mineralnego oleju bazowego w sekwencji S/A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub>/A<sub>3+</sub>/R (A<sub>1</sub>-alifatycznie i/lub alicyklicznie podstawione jednopierścieniowe węglowodory aromatyczne; A<sub>2</sub>-alifatycznie i/lub alicyklicznie podstawione dwupierścieniowe węglowodory aromatyczne; A<sub>3+</sub>-trój- i powyżej pierścieniowe podstawione alifatycznie i/lub alicyklicznie węglowodory aromatyczne) nie jest już łatwe, chociaż jest możliwe. Badanie grupowe rafinowanych olejów roślinnych i pochodnych powinno mieć miejsce w sekwencji TAG/FFA/DAG/MAG/GL. Rozdzielanie w tej sekwencji dotychczas jest tylko częściowo opanowane w literaturze. Z punktu widzenia ewentualnych sfałszowań może też mieć znaczenie zbadanie w oleju tego rodzaju, obecności i zawartości względnie lotnych estrów metylowych, albo/i etylowych kwasów tłuszczowych. W przypadku mieszanin olejów naftowych i roślinnych oraz pochodnych olejów roślinnych, w ramach niniejszego studium literatury nie znaleziono prac opisujących metodyki grupowego rozdzielania w sekwencji S/A/R/TAG/FFA/DAG/MAG/GL.

Należy zwrócić uwagę, że informacje dotyczące składu grupowego różnego rodzaju olejów bazowych, czy olejów smarowych znajdujących się na rynku są objęte tajemnicą handlową przez producentów. W certyfikatach jakościowych podawane są tylko parametry użytkowe. Czasem w przypadku tzw., olejów semi-syntetycznych podawana jest informacja o udziale syntetycznego i mineralnego oleju bazowego.

Niniejsza praca doktorska dotyczy badań nad rozdzielaniem grupowym, identyfikacją grup składników oraz analityką składu grupowego olejów bazowych i smarowych, typu naftowego, syntetycznego, pochodzenia roślinnego oraz ich mieszanin.

Pierwsza część dotyczy badań nad opracowaniem nowych metodyk oraz procedury kontroli technicznej w warunkach in situ oraz procedur laboratoryjnej weryfikacji zgodności z wymaganiami ochrony środowiska emitowanych do otoczenia olejów smarowych, szczególnie stosowanych w urządzeniach z otwartym układem tnącym (takich jak pilarka czy harwester). Rezultaty badań 1 części pracy mają też znaczenie w kontroli spalniania wymagań ochrony środowiska w przypadku olejów hydraulicznych eksploatowanych w takich warunkach, gdy olej może potencjalnie stanowić poważne zanieczyszczenie środowiska w rezultacie awarii maszyny (na polach, w lasach, w pracach hydrotechnicznych itp.). Jest kontynuacją wcześniejszych badań nad opracowaniem procedur określania składu grupowego olejów bazowych i smarowych. pochodzenia wyłącznie naftowego i frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej w warunkach NP-HPLC w sekwencji: S/A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub>/A<sub>3+</sub>/R jak również w sekwencji SARA techniką TLC i TLC-FID. W badaniach położono nacisk na opracowanie

procedur identyfikacji i oceny zawartości w oleju bazowym i smarowym oleju pochodzenia naftowego, roślinnego i pochodnych, lub mieszaniny tych olejów. Szczególną uwagę zwrócono na trudno biodegradowalne, szczególnie szkodliwe dla zdrowia i środowiska, nielotne ropopochodne węglowodory aromatyczne - składniki olejów bazowych pochodzenia naftowego. Badania obejmowały również identyfikację i ocenę zawartości w oleju łatwo biodegradowalnych składników pochodzenia naturalnego (roślinnego) – acylogliceroli i ich pochodnych.

Drużga część pracy jest kontynuacją pierwszej i dotyczy opracowania procedur rozdzielania grupowego i oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych w konwencji S/A/R/TAG/FFA/DAG/MAG/GL z uwzględnieniem FAME/FAEE.

Rezultaty badań drugiej części niniejszej dysertacji powinny mieć znaczenie w procesowej analityce technicznej oraz kontroli jakości każdego rodzaju olejów bazowych i smarowych. Mogą znaleźć zastosowanie w monitoringu środowiska, jak również, w analityce naturalnych olejów i tłuszczów nie zawierających fosfolipidów oraz pochodnych tego rodzaju olejów.

## **PRZEGLĄD LITERATURY**

### **1. Współczesne oleje bazowe i smarowe**

#### **1.1. Ogólna charakterystyka olejów smarowych**

Oleje smarowe stanowią „ciekły element konstrukcyjny” w każdej maszynie o ruchomych elementach mechanicznych, jak przekładnie zębate i ślimakowe, silniki tłokowe, łożyska różnego rodzaju, sprzęgła, łańcuchy przekazywania napędu, łańcuchy tnące, popychacze mimośrodowe, siłowniki hydrauliczne itp. elementy maszyn [1,2].

Najważniejszą funkcją oleju smarowego jest stworzenie warstwy mikrofilmu pomiędzy ruchomymi elementami urządzenia, w celu ochrony elementów metalowych przed bezpośrednim tarcie i szybkim zużywaniem, czy wręcz tzw. zatarciem [3]. Bez odpowiednio dobranego oleju smarowego współpracujące w ruchu elementy maszyny ulegną szybkiemu zużyciu i maszyna w krótkim czasie ulegnie awarii. Im większa wzajemna siła nacisku, liniowa prędkość ruchu współpracujących elementów maszyny, czym dokładniejsze tzw. pasowanie i czym wyższa temperatura, tym większe wymagania stawiane są systemowi smarowania. Oleje smarowe pełnią też wiele innych funkcji, takich jak odprowadzenie ciepła z węzłów tarcia, odprowadzenie zanieczyszczeń powstających w czasie eksploatacji układu smarowego, ochrona przed korozją powodowaną szkodliwym oddziaływaniem otoczenia na „pracujące” elementy maszyn, doszczelnienie współpracujących elementów, tłumienie drgań oraz hałasu, wyłukiwanie tzw. żywici i laków oraz wody [3,4]. Aby spełnić wszystkie funkcje olej smarowy musi charakteryzować się korzystnymi właściwościami fizykochemicznymi, do których należą specyficzne właściwości opisywane za pomocą tzw. wskaźnika lepkości (VI), stabilność termiczno-oksydacyjna, właściwości niskotemperaturowe, odporność hydrolityczna, właściwości myjąco-dyspergujące, odporność na pienie, właściwości tribologiczne oraz inne specyficzne właściwościami związane z konkretnym przeznaczeniem danego rodzaju oleju smarowego [3,5]. Nowe kompozycje olejów smarowych emitowanych do otoczenia z maszyn tnących różnego rodzaju, czy mogących w wyniku awarii stanowić poważne zanieczyszczenie środowiska (jak potencjalnie w przypadku olejów hydraulicznych) powinny uwzględniać nie tylko właściwości aplikacyjne, ale również środowiskowe, tzn. olej smarowy powinien wykazywać względnie łatwą i szybką biodegradowalność [6].

Klasyfikacji olejów smarowych można dokonać według różnych kryteriów. Norma ISO 6743 [7] klasyfikuje oleje na grupy według ich dominujących zastosowań. Każdy produkt objęty zakresem stosowania tej normy można przyporządkować do smarowanego przez olej układu lub pełnionej głównej funkcji, tzn. układu smarowania przelotowego (A), ochrony form przed korozją (B), przekładni (C), sprzężarek powietrza do maszyn chłodniczych i pomp próżniowych (D), silnika wewnętrznego spalania (E), wrzeciona, łożyska i sprzęgła współpracującego (F), przewodnicy ślizgowej (G), układów hydraulicznych (H), obróbki metali (M), izolacji elektrycznej (N), narzędzi pneumatycznych (P),

przenoszenia ciepła (Q), czasowej ochrony przed korozją (R), turbiny (T), obróbki cieplnej (U), urządzeń wymagających zastosowania smarów (X), innych zastosowań (Y) oraz cylindrów parowych (Z) [7]. Dodatkowo, w każdej grupie można podzielić oleje smarowe wg klasy lepkości wg normy ISO 3448 [8]. Klasyfikacji olejów można również dokonać na podstawie ich stanu skupienia, wyróżniając materiały smarowe płynne, plastyczne oraz stałe [9]. Najczęściej stosowanym, zwyczajowym podziałem olejów smarowych jest ich podział ze względu na pochodzenie oleju bazowego, czyli ich głównego komponentu [3]. Wyróżnia się trzy podstawowe grupy olejów bazowych: oleje tradycyjne (tzw. mineralne – z procesu głębokiej rafinacji ropy naftowej), syntetyczne (głównie typu PAO) oraz naturalne (rafinowane oleje roślinne i ich pochodne) [3,10,11].

## 1.2. Charakterystyka olejów bazowych

### 1.2.1. Mineralne oleje bazowe

Mineralne oleje bazowe są produktami głębokiej rafinacji bezasfaltenowych frakcji z próżniowej destylacji ropy naftowej [12,13]. Jest to głównie niskolotna mieszanina ciekłych węglowodorów izo-alfatycznych o długich łańcuchach węglowych (od 20-45 atomów węgla w cząsteczce) i początkowej temperaturze destylacji powyżej 350 – 450°C, zależnie od klasy lepkościowej oleju [3,14]. Rozgałęzione łańcuchy węglowodorowe obecne w różnych strukturach molekularnych w porównaniu ze strukturami molekularnymi posiadającymi nierozgałęzione łańcuchy alifatyczne poprawiają właściwości lepkościowe i nisko temperaturowe oleju. Jednocześnie zmniejszają biodegradowalność [15]. Oleje bazowe wykorzystywane do produkcji olejów smarowych powinny charakteryzować się wysoką wartością tzw. wskaźnika lepkości (co najmniej 90), trwałością pod wpływem działania powietrza i podwyższonej, czasem wysokiej temperatury, a także innymi wymaganiami formułowanymi i badanymi w ramach dyscypliny wiedzy zwanej tribologią.

Proces technologiczny rafinacji ropy naftowej, otrzymywania mineralnych olejów bazowych z frakcji z próżniowej destylacji ropy naftowej jest wieloetapowy [11,12,14,16]. W ostatnich latach oleje bazowe bywają również otrzymywane w rezultacie rafinacji tzw. pozostałościowej frakcji z procesu katalitycznego hydrokrakingu frakcji z próżniowej destylacji ropy naftowej [17].

Pierwszym etapem otrzymywania mineralnych olejów bazowych z ropy naftowej jest proces de-aromatyzacji z wykorzystaniem operacji ciągłej przeciwprądowej ekstrakcji furfurałem. Usuwana jest zasadnicza część alifatycznie/alicyklicznie podstawionych węglowodorów aromatycznych, przede wszystkim di- i wielo- pierścieniowych.

Kolejno, następuje proces rozpuszczalnikowego odparafinowania z wykorzystaniem butanonu-2 lub mieszaniny DI-ME (dichlorometanu i dichloroetanu w proporcji objętościowej 1:1 (v/v)). Usuwane są praktycznie wszystkie niepodstawione długołańcuchowe n-alkany oraz w bardzo niewielkim stopniu podstawione alifatycznie nisko lotne łańcuchowe alkany.

Ostatnim etapem jest proces tzw. hydro-rafinacji, tzn. katalitycznego uwodornienia ewentualnych wiązań olefinowych, pozostałych ewentualnie dwu i wyżej- pierścieniowych węglowodorów aromatycznych, a przede wszystkim, usunięcie ze struktur molekularnych - atomów siarki w formie siarkowodoru ( $H_2S$ ), azotu w formie amoniaku ( $NH_3$ ) oraz ewentualnie obecnych atomów tlenu w formie wody ( $H_2O$ ) [3,18,19].

Niezależnie do którego zakresu lepkościowego należy otrzymany olej bazowy, w rezultacie w/w procesów rafinacyjnych, zostaje on w stosunku do odpowiedniej frakcji z destylacji próżniowej w zasadniczym stopniu wzbogacony w izo-alkany, alifatycznie podstawione cykloalkany (tzw. N - nafteny) oraz w zasadniczym stopniu zubożony w węglowodory aromatyczne, a także, w „żywicę” zawierające atomy siarki, azotu, ewentualnie tlenu w strukturach molekularnych.

Pod względem tzw. klasy lepkościowej naftowe oleje bazowe tradycyjnie dzieli się na trzy grupy: SAE 10, SAE 30 oraz tzw. Brighstock. Pierwsze dwie grupy otrzymywane są z tzw. frakcji bocznych z próżniowej destylacji ropy naftowej. Najbardziej lepki, stosowany w warunkach szczególnie wysokich obciążeń Brighstock - z rafinacji pozostałości po próżniowej destylacji ropy.

Mineralny olej bazowy niezależnie do której klasy lepkościowej należy, zawiera ogromną liczbę organicznych związków chemicznych różniących się strukturą molekularną, masą molową oraz

- w pozostałych jeszcze „żywicach” - związkami chemicznymi zawierającymi siarkę, azot czy tlen w strukturze molekularnej [3,20]. Jak wspomniano we wprowadzeniu, nie jest możliwe i celowe zbadanie szczegółowego składu molekularnego naftowego oleju bazowego należącego do jakiegokolwiek klasy lepkościowej.

Budowa chemiczna mineralnych olejów bazowych zależy przede wszystkim od charakterystyki ropy naftowej, z której zostały otrzymywane, ale również od zakresu tzw. prawdziwej temperatury destylacji ( $\Delta TBP$  – *True Boiling Point Difference*) frakcji z procesu próżniowej destylacji, co warunkuje zakres lepkości oleju bazowego [3,21].

Skład grupowy mineralnych olejów bazowych opisuje się w sekwencji SAR. Uwzględnia się łączną procentową wagową zawartość alkanów (tzw. P - parafin) złożonych z niskolotnych, ciekłych rozgałęzionych węglowodorów alifatycznych, głównie izo-alkanów oraz podstawionych alifatycznie węglowodorów alicyklicznych, tzw. naftenów. Ta niepolarna frakcja węglowodorów jest nazywana węglowodorami nasyconymi. Jest sumą parafin oraz naftenów ( $S=P+N$ ) [3,14,16,22]. Jej udział w olejach bazowych z rafinacji frakcji z destylacji ropy naftowej wynosi powyżej 85% v/v.

Kolejna grupa to podstawione alifatycznie lub/i alicyklicznie węglowodory aromatyczne, głównie jednopierścieniowe, tzw. aromaty (A) o zawartości od 5% do 15%, tym wyższej, im wyższej klasy lepkościowej jest olej bazowy. Grupa A w mineralnych olejach bazowych, to w zasadniczej części alifatycznie i alicyklicznie podstawione jedno-pierścieniowe węglowodory aromatyczne. W zasadniczym udziale - pochodne benzenu, toluenu, ksylenu itd. W niewielkim udziale pochodne bifenyli oraz di-fenylo metanu [14,16,22].

W składzie grupowym mineralnych olejów bazowych określa się także zawartość (z reguły - bardzo niewielką – poniżej 2% v/v) bardziej polarnych organicznych związków chemicznych – żywic [23]. W skład grupy R wchodzi organiczne tzw. heterocykliczne węglowodory, głównie alifatycznie/alicyklicznie podstawione pochodne pirydyny i w bardzo niskiej zawartości, innych organicznych cyklicznych związków chemicznych zawierających atom azotu w strukturze molekularnej [3,14]. W bardzo niewielkim udziale, zawierają w strukturach molekularnych siarkę i w śladowym, albo są całkowicie pozbawione – tlen. Zawartość żywic zależy w pewnym stopniu od rodzaju ropy naftowej, z której go otrzymano i od klasy lepkościowej oleju. Jest tym wyższa im do wyższej klasy lepkościowej należy olej bazowy [3,11,14,24]. Przede wszystkim zależy od efektywności procesu katalizacyjnej hydrowyafinacji (tzw. procesu finishingu), którego celem jest usunięcie w/w pierwiastków w formie struktur takich jak odpowiednio: amoniak, siarkowodor i woda. Żywice są bardziej polarne od względnie nisko polarnych składników grupy A olejów bazowych. Tym bardziej, oczywiście, od niepolarnych składników grupy S [14,20].

Mineralne oleje bazowe są najczęściej stosowanymi olejami bazowymi na świecie [25]. Dzięki wykorzystaniu wieloetapowej rafinacji charakteryzują się korzystną stabilnością chemiczną, termiczną i oksydacyjną [26], wystarczającymi dla bardzo wielu zastosowań wartościami tzw. wskaźnika, lub indeksu lepkości, tzn. parametru, który określa zmianę lepkości oleju w funkcji temperatury. Jednakże te parametry dla mineralnych olejów bazowych są dużo mniej korzystne niż w przypadku tzw. syntetycznych olejów bazowych. Cena naftowych olejów bazowych jest dużo niższa od syntetycznych, czy roślinnych [25].

Oleje smarowe pochodzące z ropy naftowej należą do najbardziej złożonych matryc analitycznych pod względem liczby organicznych związków chemicznych w obrębie poszczególnych grup S/A/R [20]. Wszystkie składniki mineralnych olejów są niepolarne i względnie nisko polarne, oprócz żywic, obecnych w tych olejach w udziale na poziomie do ok. 2% . Żywice należy zaliczyć do grupy średnio polarnych organicznych związków chemicznych. W konsekwencji, składniki grup S oraz A podlegają migracji na żelu krzemionkowym z zastosowaniem n-heksanu (n-C6) lub n-heptanu (n-C7) jako fazy ruchomej. Natomiast składniki grupy R pozostają na szczycie kolumny do wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), lub na starcie na płytkach do cienkowarstwowej chromatografii cieczowej (TLC) z żelem krzemionkowym, jako fazą stacjonarną. Przez fazę ruchomą n-C6, czy n-C7 mogą zostać z kolumny usunięte tylko w warunkach przepływu zwrotnego eluentu (BF) [14,27]. Na płytce TLC z polarnym adsorbentem, takim jak, żel krzemionkowy, tlenek glinu, krzemian magnezu, czy typu  $NH_2$ , Diol, czy  $NO_2$  składniki grupy R migrują dopiero pod wpływem fazy ruchomej o wyższej polarności (o wyższej sile elucyjnej), niż alkanany.



## 1.2.2. Syntetyczne oleje bazowe

Syntetyczne oleje bazowe są to najczęściej tzw. polialfaolefiny (PAO) będące produktami nowoczesnego przemysłu chemicznego [28]. Są to płynne w szerokich zakresach temperatur mieszaniny syntetycznych węglowodorów alifatycznych o strukturze izoalkanów, zawierające w łańcuchach tzw. rdzenia alifatycznego od 8 do 12 atomów węgla [3]. Zupełnie nie zawierają struktur aromatycznych. W praktyce przemysłowej są otrzymywane podczas procesu katalitycznej oligomeryzacji liniowych  $\alpha$ -olefin, lub z gazu ziemnego w rezultacie hydrokatalitycznej przebudowy szkieletu węglowodorowego [3]. Do grupy tzw. syntetycznych baz olejowych zalicza się też tzw. polibuteny, polinektolefiny (PIO), alkilaty lub płynne poliglikole (PAG) [3,12]. Pewne znaczenie jako syntetyczne oleje bazowe mają również estry kwasu bursztynowego i wyższych alkoholi alifatycznych [29].

Coraz bardziej powszechne stosowanie syntetycznych olejów bazowych typu PAO wynika stąd, że w porównaniu do olejów mineralnych cechują się korzystnymi wartościami temperatury płynięcia, bardzo małą lotnością, jednocześnie wysokim wskaźnikiem lepkości, a także, znikomą toksycznością. Jako izo-alkany są całkowicie niepolarne i bardzo odporne na utlenianie również w wysokiej temperaturze użytkowania. Syntetyczne oleje bazowe nie powodują korozji [3]. Wadą PAO jest ich wysoka cena w porównaniu do ceny mineralnych olejów bazowych. Jednak, długi okres użytkowania między kolejnymi wymianami oleju w znacznym stopniu kompensuje wysoką cenę. W konsekwencji, w nowoczesnych pojazdach samochodowych każdego typu współcześnie stosowane są wyłącznie syntetyczne oleje smarowe, głównie z olejami bazowymi typu PAO.

Kompozycja syntetycznych olejów bazowych grupy PAO jest również bardzo złożona pod względem liczby składników stanowiących tzw. indywidua chemiczne. Do tego w praktyce często bywają one mieszaniną kilku rodzajów olejów syntetycznych typu PAO różnych klas lepkościowych [30]. Wszystkie są izo-alkanami, stąd są bardzo nisko polarne. W praktyce należy wszystkie uznać za niepolarne. Na żelu krzemionkowym i podobnych polarnych adsorbentach w warunkach HPLC są wluowane bez retencji pod wpływem niepolarniej fazy ruchomej, jak n-C6, n-C7, czy podobnych [14,27]. W warunkach cienkowarstwowej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-TLC) czy w cienkowarstwowej chromatografii cieczowej sprzężonej z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (TLC-FID) wykazują pewną retencję, podobnie jak grupa S naftowych olejów bazowych, a także, podobnie jak skwalan roślinnych olejów bazowych. Przyczyna tego zostanie bliżej wyjaśniona dalej.

## 1.2.3. Oleje bazowe pochodzenia naturalnego

Naturalne tłuszcze zwierzęce typu łoje, czy tłuszcze zwierząt polarnych, ryb, lub wielorybów, były najwcześniej wykorzystywanymi środkami smarnymi, także w starożytności. Na etapie tzw. rewolucji przemysłowej zaczęły być użytkowane na dużą skalę. Już w roku 1735 sugerowano, aby powierzchnie różnego rodzaju łożyskowań kół jezdnych, wałów korbowych maszyn parowych itp. Mechanizmów smarować łojem, smalcem lub odwodnionym na drodze gotowania olejem roślinnym z tłoczenia na prasie mechanicznej zmielonych i wysuszonych ziaren roślin oleistych [31].

Oleje bazowe pochodzenia naturalnego są pozornie mniej złożone pod względem składu molekularnego, jeśli nie brać pod uwagę chiralności. Rafinowane oleje roślinne to głównie (95-98%) ciekłe i niskotne TAG, tzn. estry glicerolu z trzema długołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi [32,33]. W podwyższonej temperaturze w trakcie procesu hydrolizy już w słabo kwaśnym, lub alkalicznym środowisku, w obecności nawet minimalnych ilości zdyspergowanej wody tworzą się DAG, MAG, FFA oraz GL [33]. Proces zachodzi tym intensywniej, im wyższa jest temperatura. Niekiedy oleje bazowe pochodzenia roślinnego, dla obniżenia ceny są „wzbogacane” w estry metylowe, bądź etylowe wyższych kwasów tłuszczowych z procesu transestryfikacji tłuszczów w procesie produkcji FAME, lub FAEE, stosowanych na co dzień jako tzw. tlenowe dodatki do oleju napędowego, albo główne składniki samochodowego paliwa Diesla. Służą też niekiedy jako swego rodzaju „rozcieńczalnik” oleju palmowego. W uzupełnieniu należy dodać, że w składzie niektórych

rafinowanych olejów roślinnych, szczególnie oleju z oliwki, amarantusa, Inu, lub z trzciny cukrowej, jest również obecny naturalny izo-alkan - skwalan [34]. W rafinowanym oleju Inianym nawet do 3.5% (v/v).

Badania Stołyhwo i współpr. [35,36], a także inne opisane w literaturze [37–39] wykazały, że w przypadku rafinowanych olejów roślinnych jest możliwe rozdzielanie z wykorzystaniem NP-HPLC (wysokosprawnej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz) oraz elucji gradientowej wszystkich głównych składników oleju, bez uwzględniania chiralności. Jednak, proces rozdzielania jest bardzo skomplikowany i czasochłonny. Konieczne jest zastosowanie detektora LLS (ang. *Laser light scattering detector* – detektor laserowy fotodispersyjny), lub sprzężenia LC-MS (ang. *liquid chromatography-mass spectrometry* - spektrometria mas sprzężona z wysokosprawną chromatografią cieczą) [35,36]. Dodatkowo rutynową analitykę poważnie komplikuje konieczność czasochłonnego i kosztownego powrotu do pierwotnej aktywności adsorbentu przed dozowaniem i rozdzielaniem kolejnej próbki.

Współcześnie na świecie na największą skalę produkowany jest rafinowany olej palmowy. Ze względu na to, że jest znacznie tańszy niż inne oleje roślinne. Jednak, ma on niekorzystne właściwości lepkościowe i nisko-temperaturowe jako olej smarowy. Do produkcji szybko biodegradowalnych olejów smarowych pochodzenia roślinnego znacznie bardziej korzystne właściwości posiada rafinowany olej sojowy, słonecznikowy lub rzepakowy [32].

Obecnie do produkcji niektórych olejów smarowych wykorzystuje się wyłącznie rafinowane oleje roślinne, produkowane procedurą ekstrakcyjną [24]. Często dla obniżenia kosztów w mieszaninie z pochodnymi produktami hydrolizy (DAG, MAG, a także, co nie jest korzystne, z FFA oraz GL), uzyskiwanymi w rezultacie chemicznej konwersji tzw. zużytych olejów roślinnych, lub produktów odpadowych z produkcji rafinowanych roślinnych olejów spożywczych. Oleje roślinne i w/w ich pochodne powstające w rezultacie hydrolizy, są znacznie łatwiej biodegradowalne, w porównaniu z olejami bazowymi o charakterze węglowodorowym [15]. Ponadto oleje pochodzenia naturalnego, w zastosowaniu jako olej bazowe, posiadają lepsze właściwości smarne, w porównaniu do olejów mineralnych [2]. Charakteryzują się bardzo wysokim wskaźnikiem lepkości wynoszącym około 220 (dla typowych naftowych olejów mineralnych wynosi około 90-100). Posiadają też wyższą temperaturę zapłonu od naftowych olejów bazowych podobnej klasy lepkości. Z kolei wady rafinowanych olejów roślinnych jako olejów bazowych dla olejów smarnych, to podatność na hydrolizę, niska odporność oksydacyjna oraz niekorzystne właściwości niskotemperaturowe, zwłaszcza oleju palmowego, a także, znacznie wyższa cena od mineralnych olejów otrzymywanych z ropy naftowej [40].

W ostatnich latach mają miejsce prace naukowe i o charakterze badawczo – rozwojowym poświęcone syntezie chemicznych pochodnych acylogliceroli, szczególnie oleju palmowego, które będą posiadały jednocześnie bardzo korzystne właściwości smarne i korzystne parametry nisko-temperaturowe oraz dobrą odporność oksydacyjną [41].

TAG są średnio polarne. Natomiast, MAG czy GL są wysoko polarne [42–44]. DAG, czy FFA charakteryzują się pośrednią polarnością. W konsekwencji oleje bazowe pochodzenia naturalnego, mogą charakteryzować się względnie szerokim, lub bardzo szerokim zakresem polarności. W mieszaninie z naftowymi olejami, zakres polarności jest względnie mniej szeroki gdy w mieszaninie znajduje się tylko rafinowany olej roślinny i bardzo szeroki, gdy są też w/w pochodne TAG.

W urządzeniach z tzw. otwartym układem tnącym (takich jak pilarki czy harvestery), gdzie cały olej smarowy emitowany jest do otoczenia podczas użytkowania regulacje prawne wymagają stosowania wyłącznie łatwo biodegradowalnych olejów smarowych na bazie rafinowanych olejów roślinnych, bądź ich pochodnych [18,45,46]. Wówczas, zgodnie ze współczesnymi regulacjami międzynarodowymi obowiązującymi w wielu krajach świata, powinny być stosowane wyłącznie łatwo biodegradowalne o względnie niskiej szkodliwości zdrowotnej oleje pochodzenia roślinnego. (stopień biodegradacji  $\geq 60\%$  w czasie 28 dni i całkowita w ciągu kolejnych 10 dni w warunkach standardowego testu biodegradowalności [15]), a także, brak toksyczności dla środowiska i zdrowia [34,41,47].

Zaleca się również by oleje pochodzenia roślinnego stanowiły główny komponent olejów hydraulicznych użytkowanych w takich warunkach, gdy w wyniku awarii maszyny może dojść do poważnego skażenia środowiska w przypadku, gdyby olej hydrauliczny był charakteru ropopochodnego [1].

### **1.3. Znaczenie znajomości składu grupowego olejów bazowych i smarowych**

Badania niniejszej pracy dotyczą chemicznego składu grupowego olejów bazowych i smarowych. Rozdzielanie grupowe oraz oznaczanie składu grupowego polega na zbadaniu zawartości poszczególnych rodzajów chemicznych grup składników w badanym materiale. Skład grupowy w powiązaniu z zakresem wartości masy molekularnej determinuje parametry fizykochemiczne olejów. Charakteryzuje jakość i właściwości użytkowe [48]. W przypadku olejów smarowych emitowanych do środowiska, lub mogących stanowić poważne zanieczyszczenie środowiska w rezultacie awarii maszyny użytkowanej na terenie środowiska naturalnego, na podstawie znajomości składu grupowego, można wykazać, które produkty, a dokładniej które ich frakcje w zakresie składu grupowego i w jakim stopniu są potencjalnie szkodliwe dla środowiska i zdrowia. W sposób racjonalny monitorować zanieczyszczenie środowiska [49,50].

Powyższe uzasadnia celowość dysponowania umiejętnością badania składu grupowego, tak olejów bazowych stosowanych do komponowania olejów smarowych, jak gotowych olejów smarowych. Powyższe jest przedmiotem niniejszej pracy. Należy dodać, że badania niniejszej rozprawy doktorskiej są swego rodzaju kontynuacją badań pracy doktorskich Kartanowicza [14] oraz Gudebskiej [11].

## **2. Rozdzielanie grupowe i oznaczanie składu grupowego olejów bazowych oraz smarowych**

### **2.1. Standardowe znormalizowane procedury opisujące badanie składu grupowego olejów bazowych i smarowych oraz przyczyny szczególnych trudności rozdzielania olejów bazowych w sekwencji S/A**

Rozdzielanie grupowe węglowodorów nasyconych od aromatycznych składników olejów bazowych i smarowych na drodze adsorpcji – desorpcji, a szczególnie, elucyjnej kolumnowej chromatografii cieczowej jest bardzo trudne. Jest to spowodowane przeszkodami sferycznymi ze strony grup alifatycznych i alicyklicznych obecnych w strukturze molekularnej grupy A olejów. Stąd, podobieństwem pod względem energii adsorpcji składników grupy A do grupy S [51–54].

W tabeli 1 zestawiono i scharakteryzowano standardowe znormalizowane procedury grupowego rozdzielania i oznaczania składu grupowego wysokowrzących produktów naftowych na drodze adsorpcji - desorpcji [52] lub rozwijania chromatogramu TLC na pręcikach Chromarode SIII<sup>®</sup> [55]. Większość metod wykorzystuje adsorpcję i klasyczne preparatywne lub semi-preparatywne szklane kolumny wypełnione żelazem krzemionkowym, tlenkiem glinu, lub dwoma różnymi adsorbentami oraz wielostopniową desorpcję, co najmniej dwustopniową, tzn., separację grupową na drodze stopniowej adsorpcji-desorpcji w warunkach ciecz – ciało stałe z polarnym, porowatym adsorbentem upakowanym w standardowych szklanych kolumnach oraz z desorbentami o wzrastającej polarności (rosnącej stopniowo sile elucyjnej). Następnie grawimetryczne oznaczanie po usunięciu lotnego desorbentu na drodze odparowania w rotacyjnej wyparce próżniowej [35, 37, 39, 40, 43]. Metodyki zamieszczone w tabeli 1. dotyczą frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej oraz otrzymanych z tych frakcji niskolotnych produktów naftowych niezawierających asfaltenów, w tym, mineralnych olejów bazowych.

Najczęściej stosowanym adsorbentem jest aktywowany żel krzemionkowy, niekiedy tlenek glinu, lub dwa adsorbenty, np. żel krzemionkowy i naturalny adsorbent (o nazwie Attapulcus Clay). Jak to ma miejsce w najczęściej na całym świecie od lat stosowanej metodyce ASTM D-2007 grupowego rozdzielania oraz oznaczania składu grupowego nisko lotnych frakcji i produktów naftowych nie zawierających asfaltenów, albo o bardzo niskiej ich zawartości, o ITBP powyżej 360°C [52]. Adsorpcja zachodzi po naniesieniu na szczyt kolumny badanej próbki w roztworze w lotnym alkanie. Desorpcja poszczególnych frakcji następuje w kolejności wzrostu polarności desorbowanych grup, z wykorzystaniem początkowo niepolarnych, kolejno nisko polarnych ciekłych desorbentów



o wzrastającej polarności. Desorpcji i kolekcji eluatu podlegają kolejno: parafiny z alkanem (n-C<sub>5</sub>, n-C<sub>7</sub>, lub izo-C<sub>8</sub>, albo tzw. eterem naftowym) jako desorbentem. Następnie, węglowodory aromatyczne z nieco bardziej polarnym desorbentem. Czasem kolejno żywice są desorbowane jeszcze bardziej polarnym desorbentem. Udział poszczególnych frakcji w badanym oleju jest oznaczany grawimetrycznie po odparowaniu eluentu w rotacyjnej wyparce próżniowej (do osiągnięcia tzw. stałej masy) [51–58]. Często frakcja R nie jest desorbowana, a jej zawartość oblicza się jako uzupełnienie do 100%.

Inna powszechnie na świecie stosowana metoda opisana w normie ASTM D 4124 umożliwia rozdzielenie i oznaczenie grupy węglowodorów nasyconych, aromatycznych, żywic oraz asfaltenów (Asph) [52,53]. Rutynowo stosuje się ją do rozdzielania na 4 frakcje S/A/R/Asph - asfaltów, pozostałości z destylacji próżniowej i podobnych frakcji i produktów naftowych zawierających znaczne udziały asfaltenów. Stąd ta procedura nazywana jest skrótowo „SARA”, jako umożliwiająca analitykę składu grupowego w konwencji S/A/R/Asph. Można ją również wykorzystać do rozdzielania i izolowania nasyconych, aromatycznych i polarnych grup organicznych związków chemicznych w konwencji S/A/R, w przypadku frakcji i produktów destylacji próżniowej ropy naftowej nie zawierających asfaltenów, takich jak, tzw. ekstrakty, gacze parafinowe, rafinaty, pozostałości z hydrokrakingu, lub hydrorafinacji, a także, wysoce rafinowane naftowe oleje bazowe [53].

Metoda zawarta w normie ASTM D 2549 pozwala na rozdzielenie i oznaczenie frakcji aromatycznej i niearomatycznej mieszaninach ropopochodnych węglowodorów o  $\Delta TBP$  w zakresie od 232°C do 538°C [54]. Żywice są zaliczane do frakcji aromatycznej. Rozdzielanie w sekwencji S/(A+R). Metodyka jest przeznaczona dla frakcji i produktów destylacji próżniowej o względnie bardzo niskiej lepkości, w tym olejów bazowych używanych do smarowania bardzo precyzyjnych mechanizmów.

W przypadku każdej z wyżej opisywanych metodyk, kolumna po każdym rozdzielaniu jest rozładowywana i ponownie wypełniana aktywowanym adsorbentem/dwoma warstwami adsorbentu przed kolejnym rozdzielaniem.

W normie IP 368 opisano metodykę grupowego rozdzielania nisko lotnych materiałów naftowych w sekwencji: S/(A+R) z zastosowaniem techniki średnio ciśnieniowej kolumnowej adsorpcji – desorpcji w skali preparatywnej w normalnych układach faz [57]. Metoda dotyczy rozdzielania i oznaczania węglowodorów nasyconych i aromatycznych w bazach olejów smarowych wrzających powyżej 270°C [57]. Grupy A oraz R są desorbowane łącznie zaliczane do grupy A. Pod względem pracochłonności i czasochłonności o tyle różni się od metodyk z zastosowaniem szklanych kolumn, że możliwe jest zastosowanie znacznie wyższego ciśnienia, stąd wyższej prędkości liniowej fazy ruchomej. Jednak kolumna musi zostać do kolejnego rozdzielania ponownie napełniona i po każdym kolejnym, opróżniona.

Wszystkie opisane metodyki wykorzystują technikę adsorpcji – desorpcji w szklanych kolumnach wypełnionych adsorbentami są bardzo czasochłonne. Oprócz metodyki IP 368, wykonanie jednego rozdzielania i oznaczenia trwa ok. 8 godzin [48]. Metody wykorzystujące rozdzielanie w szklanych kolumnach charakteryzują się również niekorzystną powtarzalnością i odtwarzalnością, zwłaszcza, gdy analityk nie dysponuje dużym doświadczeniem w przygotowywaniu kolumn o łukowym profilu przepływu eluentu w każdym poprzecznym przekroju wypełnienia kolumny. Ma miejsce duże zużycie eluentów i sorbentów. Jednak ważną ich zaletą jest okoliczność, że są bezwzględnie metodykami analitycznymi. Skład grupowy jest oznaczany bezpośrednio grawimetrycznie.

Wprowadzone powszechnie do praktyki przed około 20 lat metodyki rozdzielania i oznaczania składu grupowego średnio lotnych olejów napędowych wykorzystują technikę HPLC [74,80]. Zaleca się tam standardowe kolumny HPLC wypełnione mikroziarnistym polarnym adsorbentem o średniej wielkości ziaren  $dp = 3$ , albo 5  $\mu m$ , o wysokich wartościach powierzchni właściwej i o średniej wielkości porów wewnątrz-ziarnowych 5 – 6 nm (50-60 Å) [51,57,58]. Jako adsorbent zalecany jest adsorbent typu NH<sub>2</sub>, tzn. mikroziarnisty żel krzemionkowy z kowalencyjnie związaną na powierzchni sorpcyjnej żelu krzemionkowego alkilo-aminą. W celu zapewnienia wystraszającej sprawności rozdzielania wyrażanej za pomocą wartości liczby półek teoretycznych (N) zaleca się stosowanie dwóch szeregowo połączonych kolumn [79, 74], dla zapewnienie wyższej od określonej w normach wartości rozdzielczości (R) dwóch określonych w normach „traserów” stosowanych dla badania



przydatności kolumn pod względem parametru rozdzielczości pików  $R (R_s)$ . grup S/A. Wynika to z teoretycznej zależności (1), która pokazuje, że w warunkach elucyjnej kolumnowej chromatografii cieczerwowej rozdzielczość pików  $R (R_s)$  jest proporcjonalna do pierwiastka kwadratowego wartości liczby pól teoretycznych ( $N$ ) kolumny rozdzielczej [59]:

$R (R_s) = \frac{\sqrt{N}}{4} \cdot \frac{\alpha - 1}{\alpha} \cdot \frac{k_2}{k_2 + 1}$	1.
--	----

gdzie:

$R (R_s)$  – rozdzielczość dwóch sąsiadujących pików na chromatogramie HPLC/sąsiadujących stref w warstwie adsorbentu (dawniej nazywana stopniem lub współczynnikiem rozdzielania ( $R_s$ )) [-],

$N$  – liczba pól teoretycznych kolumny lub zespołu szeregowo połączonych kolumn [-],

$\alpha$  – współczynnik selektywności [-],

$k_2$  –współczynnik retencji dla pików drugiego z dwóch rozpatrywanych pików/sąsiadujących stref w warstwie adsorbentu [-].

W przypadku rozdzielania grupowego olejów bazowych oraz smarowych z wykorzystaniem HPLC, z powodu tzw. przeszkód sterycznych problemem staje się selektywność kolumny w zakresie rozdzielania grupowego S/A. Oleje bazowe to grupa związków chemicznych posiadających dzięki procesowi rafinacji wiele łańcuchów alifatycznych oraz struktury alicykliczne otaczające pierścienie aromatyczne. To powoduje, że pierścienie aromatyczne węglowodorów grupy A są oddalone od powierzchni adsorpcyjnej – izolowane zupełnie niepolarnymi grupami alifatycznymi i alicyklicznymi. Na skutek tego oddziaływania adsorpcyjne pierścieni aromatycznych są bardzo osłabione, podobne do niezwykle słabych oddziaływań struktur alifatycznych i alicyklicznych. W konsekwencji, im wyższa masa cząsteczkowa węglowodoru z grupy A, tym niższa energia oddziaływania pierścienia aromatycznego z żelazem krzemionkowym, czy innym adsorbentem o polarnej powierzchni sorpcyjnej.

Należy również dodać, że im wyższą masą cząsteczkową charakteryzuje się rozdzielny materiał, tym wyższa jest również lepkość. Co ma znaczenie w przypadku dozowania względnie stężonych roztworów oleju bazowego, czy smarowego w takim eluencie, jak np. n-C7.

Jedyną standardową metodyką rozdzielania grupowego i oznaczania składu grupowego w sekwencji SARA, w produktach naftowych i surowcach o ITBP = 300°C, jest norma IP 469 [55]. Procedura TLC-FID opisana w normie wykorzystuje technikę cienkowarstwowej chromatografii cieczerwowej w połączeniu z detekcją płomieniowo-jonizacyjną, z detektorem FID o specyficznej konstrukcji i zasadzie działania [60,61].

Żadna ze standardowych metodyk nie umożliwia rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów bazowych, zawierających acyloglicerole i ich pochodne, albo mieszaniny tychże z mineralnymi olejami bazowymi w sekwencji S/A/FAME/TAG/FFA/DAG/MAG/GL. W konsekwencji procedury opisane w normach są nieadekwatne do oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników.

Tabela 1. Zestawienie znormalizowanych procedur grupowego rozdzielania i oznaczania składu grupowego wysokowrzących niskolotnych frakcji i produktów naftowych z zastosowaniem chromatografii cieczowej w normalnych układach faz

Norma (zakres stosowania)	Technika	Adsorbent/ Adsorbenty w poszczególnych warstwach (faza stacjonarna)	Desorbent/Faza ruchoma/Eluent (dla poszczególnych opcji metodyki - w poszczególnych etapach rozdzielania)	Technika detekcji oraz metodyka oznaczania	Rozdzielane/oznaczane grupy	Lit.
PN-72/C-04025 Metoda A oraz B Oznaczenie składu grupowego węglowodorów w produktach naftowych o temperaturze początku wrzenia powyżej 180°C metodą chromatografii elucyjnej	LC	żel krzemionkowy, tlenek glinu	Metoda A 1) Eter naftowy 2) mieszaniny: eter naftowy:benzen (kolejno: 95:5 v/v i 80:20 v/v) Metoda B 1) benzen, 2) etanol:benzen (50:50 v/v)	Zbieranie frakcji na podstawie objętości (bez detektora), grawimetrycznie	Metoda A węglowodory nasycone / aromatyczne (z wydzieleniem 3-ech podgrup - w funkcji liczby pierścieni aromatycznych w cząsteczce) / żywice S/A (A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub> /A <sub>2+</sub> )/R Metoda B węglowodory nasycone / aromatyczne / żywice S/A/R	[56]
ASTM D 2007 oznaczanie związków nasyconych, aromatycznych i polarnych w produktach naftowych i surowcach o temperaturze wrzenia atmosferycznego minimum 300 EC przy 5% odzyskanej próbce	LC	Żel krzemionkowy Analiza sitowa >30 wielkości sita, maksymalnie 5% (masy); >50 rozmiar sita, 45 % (masy) min >100 rozmiar sita, 80% (masa) min >200 wielkości sita, 94 % (masy) min, Attapulugus Clay 500 -250µm (30-60 mesh)	n-C5 toluen, toluen:aceton (50:50 v/v)	Zbieranie frakcji na podstawie objętości (bez detektora), grawimetrycznie	węglowodory nasycone, aromatyczne oraz żywice S/A/R	[52]
ASTM D 4124 (metodyka potencjalnie przydatna dla rozdzielania grupowego olejów bazowych, jednak w zakresie stosowania Normy zalecana tylko	LC	Tlenek glinu kolumna chromatograficzna o długości 70 cm i wewnętrznej 1,5 cm	n-C7 toluen trichloroetylen : metanol 50:50 v/v	Zbieranie frakcji na podstawie objętości (bez detektora), grawimetrycznie	węglowodory nasycone, aromatyczne, żywice oraz asfalteny (asfalteny wydzielane uprzednio jako frakcja	[53]



dla asfaltów)		średnica (objętość, 124 cm <sup>3</sup> )			nierozpuszczalna w lotnych węglowodorach alifatycznych (n-C5, n-C7, izo-C8)) S/A/R/Asph	
ASTM D 2549 rozdzielanie i oznaczanie frakcji aromatycznych i niearomatycznych z mieszanin węglowodorów wrzących w temperaturze od 232°C do 538°C (450°F i 1000°F)	LC	Żel krzemionkowy (100-200 mesh), Tlenek glinu (20-60 mesh)	n-C5, eter dietylowy, chloroform, etanol	Zbieranie frakcji na podstawie objętości (bez detektora, grawimetrycznie)	węglowodory nasycone, aromatyczne łącznie z żywicami S/A+R	[54]
IP 368 rozdzielanie i oznaczanie węglowodorów nasyconych i aromatycznych w bazach olejów smarowych wrzących powyżej 270°C	HPLC	Żel krzemionkowy	n-C6	RI, grawimetrycznie	węglowodory nasycone, aromatyczne łącznie z żywicami S/A+R	[57]
IP 469 oznaczanie związków nasyconych, aromatycznych i polarnych w produktach naftowych i surowcach o temperaturze wrzenia atmosferycznego minimum 300 EC przy 5% odzyskanej próbce	TLC-FID	Żel krzemionkowy Chromarode SIII®	n-C7 – 100% wysokości warstwy adsorbentu toluen:n-C7 (80:20) – 60% wysokości warstwy adsorbentu dichlorometan:metanol (95:5) – 20 % wysokości warstwy adsorbentu	TLC-FID	węglowodory nasycone, aromatyczne oraz żywice S/A/R	[55]

LC-chromatografia cieczowa, TLC-FID-cienkowarstwowa chromatografia cieczowa sprzężona z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym, RI-detektor refraktometryczny, n-C5-pentan; n-C6-n-heksan, n-C7-heptan, S-węglowodory nasycone, A-węglowodory aromatyczne, R-żywice, Asph-Asfalteny, A<sub>1</sub>- węglowodory aromatyczne jednopierścieniowe, A<sub>2</sub>-węglowodory aromatyczne dwupierścieniowe, A<sub>3</sub>-węglowodory aromatyczne trójpierścieniowe, A<sub>2+</sub>-węglowodory aromatyczne wielopierścieniowe (powyżej 2-pierścieniowe)

## 2.2. Techniki chromatografii i techniki detekcji stosowane do rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych opisane w literaturze

### 2.2.1. Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)

W tabeli 2 przedstawiono opublikowane w literaturze metodyki opracowane w celu rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów pochodzenia naftowego z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Problem w analityce olejów mineralnych wynika z obecności struktur alifatycznych i alicyklicznych związanych z węglem w pierścieniach aromatycznych. To powoduje wspomniane powyżej przeszkody steryczne adsorpcji. Autorzy wielu publikacji [62,63] sugerują, że remedium może być odpowiednio dobrana faza stacjonarna, zapewniająca zwiększony dystans i podwyższoną energię oddziaływań adsorpcyjnych, np. poprzez wykorzystanie oddziaływań adsorpcyjnych orbitali d. To powinno zwiększyć wartość retencji węglowodorów aromatycznych podstawionych łańcuchami alkilowymi/alicyklicznymi [62].

W 1965 roku L. R. Snyder [64] opublikował jedną z pierwszych procedur służących do rozdzielania grupowego i oznaczania składu grupowego każdego produktu naftowego o temperaturze wrzenia w zakresie od 400°C do 1000°C. Metoda umożliwiła rozdzielanie i oznaczenia grupy węglowodorów nasyconych, aromatycznych (z podziałem na podgrupy) oraz żywice wykorzystując kolumnową chromatografię cieczową z elucją stopniową i detekcją UV do ustalenia granic pomiędzy wymywanymi grupami węglowodorów rozdzielanej mieszaniny [64,65].

Ze względu na potrzebę szybkiej oceny składu grupowego wysokowrzących produktów naftowych, czasochłonność opracowano alternatywne metodyki wykorzystujące wysokosprawną chromatografię cieczową. Matsunaga i Yagi [66] opracowali metodę z elucją gradientową bazującą na technice HPLC, która nie wymagała oznaczania grawimetrycznego.

W kolejnych badaniach dążono do zwiększenia szczegółowości rozdzielanych grup. Istotnym problemem analizy ciężkich frakcji ropy naftowej w tym zakresie było uzyskanie dobrej rozdzielczości pomiędzy olefinami, a węglowodorami monoaromatycznymi. McKay i Latham [67] wykorzystując technikę HPLC rozszerzyli analitykę produktów wysokowrzących o rozdzielanie węglowodorów nasyconych, olefin (O) oraz węglowodorów aromatycznych stosując dwie kolumny. Jedną z żelem krzemionkowym, drugą z żelem krzemionkowym modyfikowanym azotanem srebra. Dodatkowo zastosowali różnicowy detektor refraktometryczny (RID). Kolejną modyfikacją było wykorzystanie kolumny wypełnionej żelem krzemionkowym modyfikowanym  $\text{NH}_2$ , co umożliwiło separację węglowodorów nasyconych, aromatycznych, żywic, asfaltenów [68], a także zastosowanie dwóch kolumn do rozdzielania grupowego węglowodorów nasyconych, olefin, węglowodorów aromatycznych oraz żywice [62].

Quiang i Lu [69] wykorzystując technikę HPLC opracowali system złożony z kilku kolumn, który umożliwił rozdzielanie wysokowrzących destylatów ropy naftowej (350°C – 500°C) na frakcję węglowodorów nasyconych, aromatycznych (z podziałem na jedno- dwu-, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne) oraz żywice. Metoda charakteryzowała się dobrą selektywnością, krótkim czasem analizy oraz zdolnością adaptacji do produktów o wysokiej temperaturze wrzenia [69].

Fan i Buckley [70] opracowali metodę wykorzystując technikę HPLC, której wyniki są porównywalne z wynikami otrzymanymi zgodnie z procedurą ASTM D 2007. Opracowana metoda bazowała na wykorzystaniu dwóch szeregowo połączonych kolumn oraz najpierw elucji n-C6, aby rozdzielić węglowodory nasycone oraz aromatyczne. Następnie zastosowano zwrotny przepływ fazy ruchomej w kolumnie rozdzielczej oraz mieszaninę n-C6: dichlorometan (DCM) (7:3 v/v), jako fazę ruchomą, aby eluować pozostałe żywice. Należy podkreślić, że stosowano BF dopiero po 3 kolejnych dozowaniach analitu. Ta metodyka w porównaniu do opisanej w normie ASTM D 2007 jest zdecydowanie mniej czasochłonna [70].

Inna opisana w literaturze efektywna metodyka rozdzielania oznaczania składu grupowego nisko lotnych i nielotnych frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej, a także tego rodzaju produktów

naftowych wykorzystuje wielokolumnowy układ aparatu HPLC [25]. Kamiński i Kartanowicz [72] opracowali i zastosowali w badaniach inny układ wielokolumnowego aparatu HPLC z zastosowaniem dodatkowo zwrotnego przepływu eluentu w kolumnach rozdzielczych jako propozycji sposobu rozdzielania grupowego naftowych olejów bazowych, niskolotnych frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej oraz innych produktów naftowych otrzymywanych z tzw. destylatów próżniowych z podziałem na S/O/A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub>A<sub>3+</sub>/R. Procedura składała się z dwóch etapów obejmujących: wydzielenie i grawimetryczne oznaczenie żywic z wykorzystaniem ekstrakcji do fazy stałej (SPE) oraz rozdzielanie pozostałej części analitu w wielokolumnowym układzie HPLC z n-C6 jako fazą ruchomą oraz z zastosowaniem szeregowo połączonych detektorów RID oraz UV-Vis/DAD.

Karevan i inni [71] opracowali zautomatyzowany wysokosprawny chromatograf cieczowy, wyposażony w trzy kolumny wypełnione różnymi fazami stacjonarnymi (1- poli(tetrafluoroetylenem) PTFE, 2-żelem krzemionkowym, 3- żelem krzemionkowym modyfikowanym CN) połączone automatycznymi sześcioportowymi zaworami przełączającymi, które mogą kontrolować ścieżkę przepływu faz ruchomych System pozwalał na otrzymanie szybkich, powtarzalnych, dokładnych wyników składu grupowego w sekwencji S/A/R/Asph w sposób automatyczny, nie wymagający nadzoru już w 3 godz. [71]. Opracowana metoda bazuje na procedurze wykorzystującej szklane kolumny preparatywne opracowanej przez Jewell i innych [73].

Wszystkie wymienione wyżej metodyki wymagają specjalistycznej aparatury, są skomplikowane, a jednocześnie umożliwiają wyłącznie rozdzielanie i oznaczanie składu grupowego olejów pochodzenia naftowego. Cechami wspólnymi metodyk są wykorzystanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz, zastosowanie żelu krzemionkowego oraz zastosowanie w warunkach izokratycznych bardzo nisko polarnego eluentu (n-C5, n-C6 lub n-C7) do rozdzielania węglowodorów nasyconych od węglowodorów aromatycznych [11,14,27,35,74]. W niektórych z metodyk wykorzystywany jest też tzw. zwrotny przepływ eluentu w kolumnie separacyjnej, szczególnie do elucji podgrupy A<sub>3+</sub> razem z żywicami, albo obie grupy oddzielnie, zastosowaniem układu wielokolumnowego. Jako detektory głównie wykorzystuje się RID, uzupełniając w celu identyfikacji węglowodorów aromatycznych lub poszczególnych podgrup węglowodorów aromatycznych – detektor UV lub UV-Vis/DAD. W przeciwieństwie do detektora UV-Vis/DAD z tablicą fotoelementów, detektor refraktometryczny wymaga warunków izokratycznych, umożliwiając identyfikację i oznaczenie nisko polarnych frakcji węglowodorów nasyconych (P+N), nie absorbujących światła UV powyżej  $\lambda=200$  nm. Wykorzystując przebieg sygnału widm grup związków chemicznych absorbujących UV, zarejestrowanych przez detektor UV jest możliwe zidentyfikowanie przynależności grupowej składników aromatycznych.

Oznaczenie składu grupowego jest wykonywane z wykorzystaniem chromatogramu detektora refraktometrycznego metodą tzw. normalizacji prostej na podstawie udziału powierzchni pików określonej grupy w stosunku do sumy powierzchni pików wszystkich grup, albo metodyką kalibracji z odniesieniem powierzchni pików określonej grupy do powierzchni oraz zawartości w mieszaninie kalibracyjnej pików poszczególnych tzw. przedstawicieli określonych grup – np. skwalanu dla grupy S, pirenu dla grupy A+R. Były też podejmowane próby zastosowania w układach wielokolumnowych - kolumn preparatywnych oraz grawimetrycznego oznaczania po kolekcji frakcji eluatu i wydzieleniu określonych grup składników na drodze odparowania fazy ruchomej.

Tabela 2. Zestawienie metodyk rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów bazowych/smarowych produkowanych pochodzących z ropy naftowej techniką kolumnowej elucyjnej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-HPLC) przydatnych też dla bazowych/smarowych olejów syntetycznych na bazie PAO

Technika	Faza stacjonarna	Faza ruchoma	Technika detekcji /oznaczania	Rozdzielane / oznaczane grupy	Lit.
LC	Tlenek glinu kolumna szklano-teflonowa o wymiarach 42,5 cm x12 mm wypełniona 4% H <sub>2</sub> O-Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	n-C5, Eter etylowy:pentan (1:1 v/v), n-C5:benzene (3:1 v/v), Benzen:methanol (1:1 v/v)	UV / Zbieranie frakcji na podstawie objętości - Grawimetrycznie	węglowodory nasycone, aromatyczne (z podziałem na jedno- dwu-, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne), żywice S/A(A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub> /A <sub>+</sub> )/R	[64]
HPLC	Tlenek glinu kolumna o wymiarach 50 cm x0,23 cm, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> LVoelm, typu N18 (aktywowany)	n-C6, DCM	UV (270 nm)	węglowodory nasycone, jednopierścieniowe węglowodory aromatyczne, suma węglodorów dwu-, oraz wielopierścieniowych z żywicami S/A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub> +A <sub>+</sub> +R	[66]
HPLC	Żel krzemionkowy, Żel krzemionkowy modyfikowany Ag <sup>+</sup> - obie kolumny wykonane ze stali nierdzewnej o wymiarach 61 cm x7,8 mm	Cykloheksan, Benzen Cykloheksan (1:4 v/v), Benzen:Metanol (2:3 v/v)	UV, RI / Zbieranie frakcji na podstawie objętości - Grawimetrycznie	węglowodory nasycone, olefiny, węglowodory aromatyczne S(P+N)/O/A	[67]
HPLC	Żel krzemionkowy modyfikowany NH <sub>2</sub> , μ-Bondapak NH <sub>2</sub> o wymiarach 40,6 cm x 1,3 cm	n-C6	RI / Zbieranie frakcji na podstawie objętości - Grawimetrycznie	węglowodory nasycone, aromatyczne, żywice oraz asfalteny S/A/R/Asph	[68]
HPLC	Żel krzemionkowy, Żel krzemionkowy modyfikowany NH <sub>2</sub>	n-C6	UV, RI	węglowodory nasycone, olefiny, węglowodory aromatyczne oraz żywice S(P+N)/O/A/R	[62]
HPLC/ LC	Żel krzemionkowy modyfikowany SCX-Ag <sup>+</sup> Nucleosil 10SA, Macherey-Nagel Niemcy, 10 μm, o wymiarach 10 cm x 3,9 mm Żel krzemionkowy modyfikowany CN	n-C6, Cykloheksan, DCMn	UV, MS, FID	węglowodory nasycone, aromatyczne (z podziałem na jedno- dwu-, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne), żywice S/A(A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub> /A <sub>+</sub> )/R	[69]
HPLC	Żel krzemionkowy, Żel krzemionkowy modyfikowany NH <sub>2</sub> Microorb™ o wymiarach 250 x 10 mm, 5 μm, 100°A	n-C6	RI, UV-DAD	węglowodory nasycone, jedno-, dwu-, trój- i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne S/A(A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub> /A <sub>3</sub> /A <sub>+</sub> ) węglowodory nasycone, węglowodory aromatyczne	[75]

				S/A	
HPLC	Żel krzemionkowy modyfikowany NH <sub>2</sub> dwie kolumny μ-Bondapak NH <sub>2</sub> o wymiarach 30 cm x 3,9 mm, 10 μm	n-C6, n-C6:DCM (7:3 v/v)	UV, RI	węglowodory nasycone, aromatyczne, żywice oraz asfalteny S/A/R/Asph	[70]

HPLC-wysokosprawiana chromatografia cieczowa, FID–detektor płomieniowo-jonizacyjny, RI-detektor refraktometryczny, UV-detektor UV, n-C5-pentan; n-C6-n-heksan, DCM-dichlorometan, S–węglowodory nasycone, A–węglowodory aromatyczne, R-żywice, Asph-Asfalteny, (A<sub>1</sub>-węglowodory aromatyczne jednopierścieniowe, A<sub>2</sub>-węglowodory aromatyczne dwupierścieniowe, A<sub>3</sub>-węglowodory aromatyczne trójpierścieniowe, A<sub>4</sub>-węglowodory aromatyczne wielopierścieniowe, O-olefiny, P-parafiny, N-nafteny



W rozdzielaniu i oznaczaniu grup oraz poszczególnych związków chemicznych zawartych w olejach pochodzenia naturalnego ma również technika chromatografii – HPLC oraz TLC [33,39,76–78].

Do rozdzielania grupowych składników olejów roślinnych pod względem polarności znajduje zastosowanie wyłącznie wysokosprawna chromatografia cieczowa w normalnych układach faz [35,36,79]. Natomiast, do rozdzielania pod względem stopnia hydrofobowości w literaturze szeroko stosuje się technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej w odwróconych układach faz (RP-HPLC) [36,39,78–81].

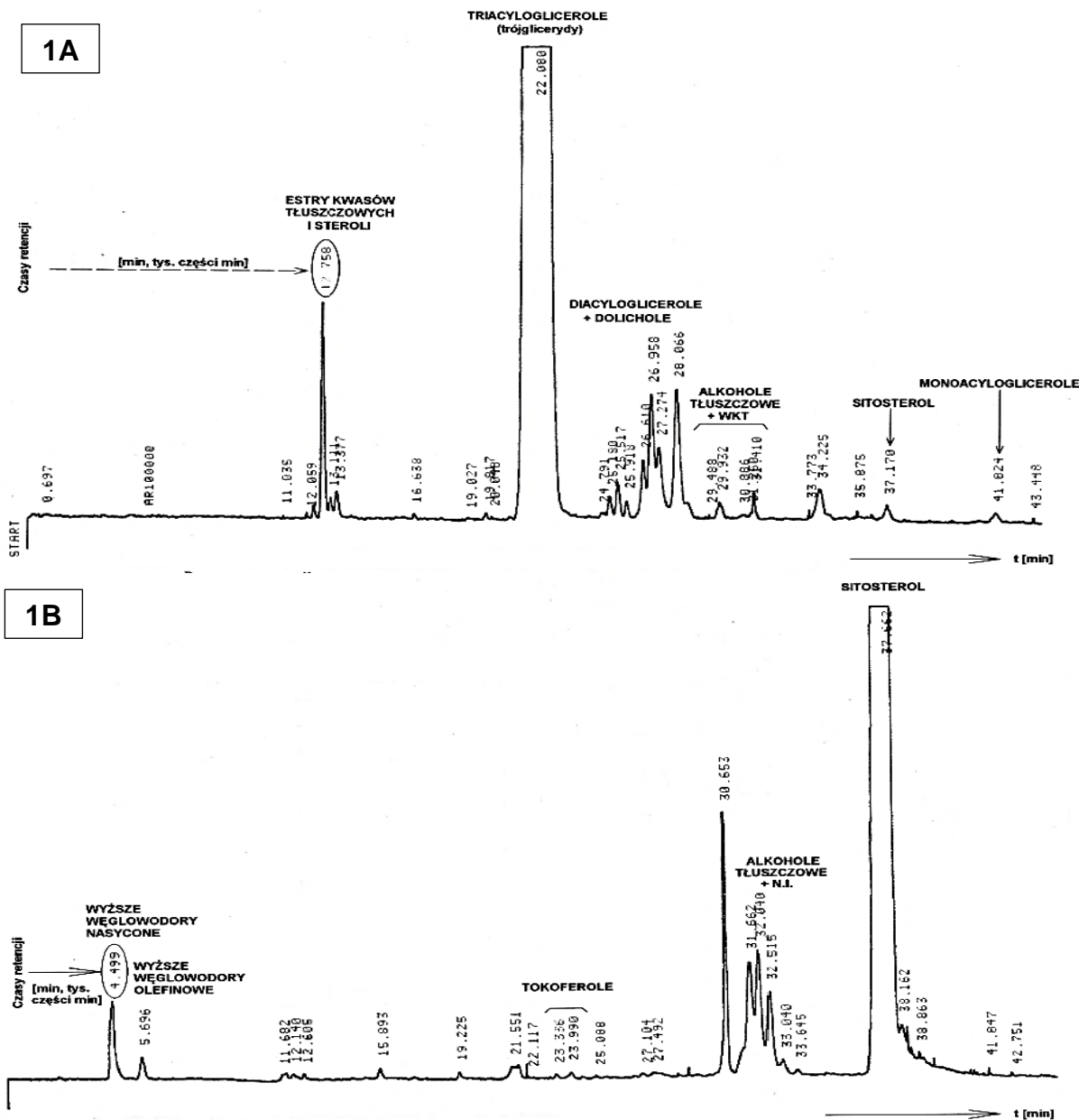
Przełomowym odkryciem znaczącym dla rozwoju techniki HPLC w aspekcie rozdzielania lipidów było opracowanie przez Stołyhwo i innych [82] detektora rozproszenia światła, umożliwiającego detekcję nielotnych i nisko lotnych związków i grup związków chemicznych, które nie posiadają aktywnego chromoforu o absorpcji światła UV powyżej  $\lambda = 200/205$  nm i są obecne w złożonych mieszaninach, wymagających zastosowania elucji gradientowej w czasie rozdzielania, gdy niemożliwe jest stosowanie detektora RI.

Stołyhwo i inni [35,36] prowadzili szczegółowe badania zawartości różnych grup organicznych związków chemicznych zawartych w olejach, szczególnie z wiesiołka dziwnego (rysunek 1), amarantusa, a także w tłuszczach, zwłaszcza z kobiecego mleka. Podobne badania, szczególnie dla olejów z soi wykonywał Pesek i inni [42]. Wykorzystywali warunki NP-HPLC z żel krzemionkowym jako fazą stacjonarną i z elucją gradientową dla ustalania szczegółowo składu grupowego oleju, lub tłuszczu. Następnie warunki RP-HPLC z elucją gradientową dla określenia usytuowania kwasów tłuszczowych w strukturze acylogliceroli należących do grup TAG/DAG/MAG. Współczesna lipidomika wykorzystuje wnioski z tych badań z zastosowaniem techniki 2D-UPLC-(NP/RP)-MS-MS. W pierwszym tzw. wymiarze separacji następuje szczegółowe grupowe rozdzielanie lipidów, z wykorzystaniem warunków NP i elucji gradientowej - począwszy od całkowicie niepolarnego skwalanu, poprzez karetonoidy, TAG, DAG, FFA, MAG, fosfolipidy, sterole. W drugim wymiarze separacji, rozdzielanie szczegółowe składników poszczególnych grup z wykorzystaniem warunków RP-HPLC i elucji izokratycznej lub gradientowej, gdy eluentem jest mieszanina AcCN i DCM. W ten sposób można otrzymać ogromny zasób informacji ważnych z punktu widzenia lipidomiki, jednak zdecydowanie nadmiernych z punktu widzenia potrzeb analityki technicznej, czy badań związanych z monitoringiem lub ochroną środowiska i dotyczących olejów bazowych, czy smarowych. Wówczas wystarczy zbadać ogólny skład grupowy.

Do rozdzielania tzw. klas lipidów stosuje się również NP-HPLC oraz różne fazy stacjonarne, takie jak żel krzemionkowy modyfikowany alkoholem poliwinylowym (PVA-Sil) [83] lub tzw. monolityczne kolumny HPLC z żel krzemionkowym [84]. Metody te wykorzystują detektory MS lub LLSD oraz eluenty, które są nieadekwatne do stosowania z detektorem UV [39]. Istnieje kilka prac dotyczących opracowania metodyk rozdzielania lipidów z wykorzystaniem techniki NP-HPLC, w których fazą stacjonarną jest żel krzemionkowy, a detekcję wykonuje się detektorem UV przy długościach fali  $\lambda = 210 - 230$  nm [37,38]. Wymienione metody nie obejmują rozdzielania w sekwencji TAG/DAG/MAG [39].

Kotapati i Bates [39] opracowali dwustopniową metodę NP-HPLC, w której zastosowali jako fazę stacjonarną PVA-Sil, gradientowy program elucji z czterema układami eluentów (propanol, heksan, metanol oraz mieszanina propanolu, wody i kwasu octowego). Zastosowane eluenty wykazywały minimalne tło przy długości fali  $\lambda = 210$  nm w czasie elucji gradientowej. Procedura umożliwiła rozdzielanie próbki w zakresie TAG/FFA/DAG/MAG.





Rysunek 1. „Chromatogram 1A. Chromatogram klas lipidów niepolarnych i średniopólnych oleju z wiesiołka dziwnego. Chromatogram 1B. Chromatogram substancji nie ulegających zmydleniu SNZ z tego oleju.

Parametry separacji: kolumna 3x15 cm, 3,3 ID SGX 7  $\mu$ m (żel krzemionkowy 60 A) Tessek, Czechosłowacja, faza ruchoma: A: n- heksan, B: chlorek metylenu + 1,5% v/v propanolu – 2; gradient od O do 100 B liniowo w 45 min; natężenie 0,6 ml/min. detektor: laserowy fotodyspersyjny LLSD (konstrukcja własna)” [85]

Oleje bazowe pochodzenia naturalnego otrzymywane w procesie rafinowania olejów roślinnych są podgrupą szerszej grupy lipidów, tzn. związków chemicznych występujących w naturze, do których zaliczają się tłuszcze, woski, sterole, rozpuszczalne w tłuszczach witaminy, MAG, DAG, fosfolipidy i wiele innych grup organicznych naturalnych związków chemicznych.

W ostatnich latach bardzo intensywnie rozwijają się nowe dyscypliny wiedzy o nazwach metabolomika i lipidomika [86–89]. Ostatnia traktowana jako część metabolomiki, która wykorzystuje jako narzędzia badawcze przede wszystkim techniki HPLC–MS–MS oraz GC–MS–MS [88]. W konsekwencji, publikowane jest bardzo wiele prac naukowych dotyczących charakterystyki różnych organizmów, czy tkanek pod względem lipidów [86–88]. Jednakże tak szeroka wiedza o szczegółowym składzie chemicznym badanej próbki stanowi nadmiarowość z punktu widzenia technicznej analityki olejów naturalnych i ich pochodnych, jako olejów bazowych i smarowych.

Ogrom informacji przynosi też standardowa od lat wykorzystywana procedura charakteryzowania olejów naturalnych pod względem kwasów tłuszczowych istniejących w strukturze molekularnej acylogliceroli [38,44,90,91]. Procedura polega na wydzieleniu na drodze hydrolizy wszystkich kwasów tłuszczowych obecnych w strukturze molekularnej acylogliceroli, przekształceniu ich w estry metylowe i oznaczeniu z wykorzystaniem technik GC-FID oraz GC-MS z zastosowaniem ultra wysokosprawnej kapilarnej kolumny (co najmniej 50 tys. pól teoretycznych) oraz programu temperatury w zakresie od ok. 30°C do 360°C [92]. Jest to pracochłonna i czasochłonna procedura. Wynik tej procedury informuje o rodzaju i zawartości kwasów tłuszczowych znajdujących się w molekularnej strukturze oleju. Nie ma jednak informacji o ich usytuowaniu w strukturze acylogliceroli, ani o składzie grupowym naturalnego oleju, czy tłuszczu.

Żadna z istniejących metodyk nie umożliwia rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów bazowych, zawierających acyloglicerole i ich pochodne, albo mieszaniny tychże z mineralnymi olejami bazowymi [93]. Nie odnaleziono w ramach przeglądu literatury niniejszej rozprawy doktorskiej w literaturze normatywnej oraz w publikacjach procedur, które opisywałyby grupowe rozdzielanie i oznaczanie składu grupowego w sekwencji S/A/TAG/FAME/FFA/DAG/MAG z uwzględnieniem GL, który powstaje w rezultacie całkowitej hydrolizy acylogliceroli.

## 2.2.2. Cienkowarstwowa Chromatografia Cieczowa (TLC)

Cienkowarstwowa chromatografia cieczowa jest techniką separacyjno – analityczną stosowaną od lat [94–97]. W tym, jako technika pilotowa dla wstępnego doboru warunków rozdzielania techniką HPLC. Współcześnie istnieje też aparatura umożliwiająca sprzężenie TLC–UV-Vis/DAD, albo TLC-MS [96,98]. Istotnym ograniczeniem stosowania TLC jest nieprzydatność w badaniach lotnych i średnio lotnych związków chemicznych. Warunkiem stosowania TLC w sposób tradycyjny jest zapewnienie wizualizacji plamek rozdzielonych analitów na płytce w świetle widzialnym lub UV po rozwinięciu chromatogramu. TLC Warunkiem stosowania TLC do analityki ilościowej jest otrzymanie tzw. sygnału analitycznego. Korzystnie, by był proporcjonalny do masy składnika/grupy składników stanowiących plamkę chromatograficzną. Wówczas można zastosować tzw. skaner TLC sprzężony z komputerem [94]. W celu orientacyjnego oznaczenia masy określonych składników lub grup składników, można zastosować postępowanie podobne do metodyki krzywej kalibracyjnej. Tzn. porównać intensywność barwy plamek badanych składników lub grup składników z intensywnością barwy plamek standardów o znanych masach wprowadzonych na płytkę TLC.

TLC ma wiele zalet, do których należy niewielkie zużycie (wzajemnie mieszalnych) rozpuszczalników do utworzenia faz ruchomych (w porównaniu do HPLC), możliwość jednoczesnego rozdzielania wielu próbek (w praktyce w TLC do 20, w TLC-FID do 10), rozdzielanie może być stopniowe, ale również może być w każdej chwili zatrzymane. Ponad to próbki stosowane w TLC nie muszą być wstępnie oczyszczane. Technika umożliwia stosowanie różnych selektywnych sposobów wizualizacji chemicznej na drodze spryskiwania płytki TLC odpowiednimi odczynnikami wywołującymi barwę tylko określonych grup związków chemicznych/jonów w świetle widzialnym [97,99,100]. Stosując TLC do wstępnych badań i doboru optymalnych warunków rozdzielania dla HPLC, można znacznie obniżyć koszt badań [99].

W literaturze opisano chemiczne, fizyczne i biologiczne metody wizualizacji różnego rodzaju organicznych i nieorganicznych grup związków chemicznych, jonów, które nie absorbują światła widzialnego [101–104]. Należą do nich:

- wykorzystywanie płytek z fluoresceiną wykazującą luminescencję w świetle UV  $\lambda=254$  nm (emitowane przez nisko-ciśnieniową lampę rtęciową) – tzw. płytki F-254 - ma miejsce mało intensywna wizualizacja w postaci „szarych” plamek wszystkich związków chemicznych/jonów absorbujących światło  $\lambda=254$  nm,
- tworzenie przez wiele organicznych związków chemicznych nietrwałych brunatnych adduktów z jodem bardzo wielu organicznych związków chemicznych, w efekcie ekspozycji w oparach jodu plamek na płytkach TLC,
- derywatyzacja różnymi reagentami w celu utworzenia pochodnych barwnych w świetle widzialnym, albo wykazujących fluorescencję lub luminescencję pod wpływem światła UV,

- wykorzystanie zjawiska zwęglania niektórych grup organicznych związków chemicznych, szczególnie węglowodanów i niektórych ich pochodnych z zastosowaniem stężonego kwasu siarkowego VI.

Istotnym problemem w zastosowaniu TLC w badaniach grupowego rozdzielania nisko lotnych produktów naftowych jest brak wizualizacji węglowodorów nasyconych w/w tradycyjnymi sposobami [96]. Z pomocą przychodzi impregnacja fazy stacjonarnej na płytkach TLC [50]. Niektóre „barwniki fluorescencyjne” (fluorofory), jak berberyna, auryna, czy prymulina pod wpływem światła UV o długości fali  $\lambda = 365/405$  nm zwiększają emisję fluorescencji w obecności cząsteczek węglowodorowych, takich jak alkanany, lipidy i inne organiczne związki chemiczne zawierające, zwłaszcza długo – łańcuchowe struktury alifatyczne [105–107]. Odbywa się to bez zmiany długości fal emisji. Zmianę intensywności fluorescencji można zmierzyć [96,105,106]. Dla danego fluoroforu przyrost fluorescencji jest proporcjonalny do masy alkanu i długości łańcucha alifatycznego [105,106]. Intensywność emisji fluorescencji można modelować przez dobór konkretnego „barwnika fluoryzacyjnego”, jego stężenia i parametrów chromatograficznych [108]. Impregnacja adsorbentu na płytkach TLC dokonywana jest poprzez spryskanie lub zanurzenie płytki w roztworze określonego organicznego związku chemicznego. Niekiedy można też powodować zmianę luminescencji pod wpływem określonych organicznych związków chemicznych, lub grup tych związków zaadsorbowanych na płytkach TLC [107].

Wizualizacja z zastosowaniem zmiany fluorescencji fluoroforu w obrębie plamki TLC ma szczególne znaczenie w przypadku węglowodorów alifatycznych, alicyklicznych, alkoholi, poli-oli, amin alifatycznych i alicyklicznych itp., które charakteryzują się obecnością długołańcuchowych struktur alifatycznych  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ . Najbardziej powszechnie wykorzystywanym dotychczas sposobem uzyskania na płytkach TLC z żelazem krzemionkowym, wizualizacji alifatycznych lub alicyklicznych struktur molekularnych jest wykorzystanie impregnacji żelaza krzemionkowego na płytkach TLC solą berberyny [101]. W obecności „alifatycznych” struktur molekularnych, następuje wzmocnienie jasno błękitnej fluorescencji soli berberyny naświetlanej światłem UV  $\lambda = 365$  nm [101]. Intensywność wzmocnienia fluorescencji jest tym wyższa, im wyższe jest stężenie (w istocie, im większa masa) tych struktur w plamce TLC. Struktury molekularne (alifatyczne oraz alicykliczne struktury w cząsteczkach) wzmacniające fluorescencję berberyny są obecne we wszystkich grupach związków chemicznych i składnikach olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności, z wyjątkiem glicerolu.

Interakcja jon-cząsteczka między strukturą  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  i być może innymi strukturami oraz berberyną powoduje wzmocnienie jasno niebieskiej fluorescencji berberyny wzbudzonej przez światło UV 365 nm. Badania Cassio i innych [107] sugerują, że sąsiadujące grupy  $\text{CH}_2$  zapewniają niepolarnie środowisko kationowi berberyny, zwiększając w ten sposób intensywność sygnału fluorescencyjnego. Dzięki czemu zwiększa się nie tylko intensywność fluorescencji grup należących do olejów mineralnych, ale także grup acylogliceroli i ich pochodnych należących do olejów roślinnych [107], tzn. wszystkich organicznych związków chemicznych zawierających w strukturze molekularnej łańcuch/łańcuchy  $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n$ .

Stosowanie płytek TLC z żelazem krzemionkowym, albo innym nieorganicznym porowatym adsorbentem impregnowanym solą berberyny, lub innym w/w fluoroforem pozostaje obecnie jedyną możliwością wykorzystywania cienkowarstwowej chromatografii cieczowej w badaniach rozdzielania grupowego mineralnych olejów bazowych, czy smarowych wyprodukowanych z zastosowaniem mineralnych lub/i syntetycznych olejów bazowych w sekwencji S/A z rozwijaniem chromatogramu z zastosowaniem niepolarnego ciekłego lotnego alkanu, takiego, jak n-C6, n-C7, czy izo-C8 jako fazy ruchomej. Prawie wszystkie opublikowane tego rodzaju zastosowania TLC obejmują żel krzemionkowy lub tlenek glinu jako adsorbent. Wówczas frakcja tzw. żywicy pozostaje w punkcie startu (w punkcie naniesienia roztworu próbki na płytkę TLC).

Cienkowarstwowa chromatografia cieczowa w normalnych układach faz (NP-TLC) jest też często wybieraną techniką rozdzielania grupowego olejów roślinnych [96,100]. Najpopularniejszymi fazami stacjonarnymi do rozdzielania olejów roślinnych i ich pochodnych są żel krzemionkowy, tlenek glinu oraz krzemian magnezu [97,100]. W przypadku rozdzielania olejów bazowych wyprodukowanych z naturalnych olejów roślinnych i ich pochodnych, albo mieszanin olejów roślinnych i olejów pochodzenia naftowego, konieczne jest kilkustopniowe rozwijanie chromatogramu TLC z zastosowaniem faz ruchomych o różnej sile eluotropowej [109].

W normalnych układach faz, faza stacjonarna jest polarna, a faza ruchoma od bardzo nisko polarnej poprzez średnio polarną, do polarnej. Często stosuje się n-C6 jako niepolarną fazę ruchomą lub niepolarny składnik fazy ruchomej. Heksan jest nisko lepki i już nie tak bardzo lotny jak np. pentan, czy tzw. eter naftowy. W przypadku rozdzielania lipidów i ich pochodnych jako średnio polarny składnik fazy ruchomej stosuje się często chloroform, który charakteryzuje się szczególnie korzystną selektywnością w przypadku rozdzielania triacyloglicerole i ich pochodnych. Z wykorzystaniem stopniowego rozwijania chromatogramu TLC, n-C6 jest zwykle pierwszą fazą ruchomą, a mieszanina n-C6 z wzrastającą zawartością chloroformu w kolejnych stopniach rozwijania chromatogramu [35,36,110]. Do rozdzielania olejów w sekwencji TAG/FFA/DAG/MAG opisano też, zastosowanie mieszaniny n-C6: eter dietylowy i tzw. lodowaty kwas octowy w proporcji 70:30:1 (v/v/v) jako fazy ruchomej [111].

W przypadku rozdzielania próbek olejów naturalnych w celu wizualizacji zalecana jest często w literaturze ekspozycja płytki TLC z rozwiniętym chromatogramem w oparach jodu [112], czy impregnacja siarczanem miedzi (II) w celu wzmocnienia barwy plamek kwasów [113–115]. Impregnacja kwasem borowym-3 jest zalecana w celu rozdzielania TAG od produktów ich hydrolizy [101]. Azotanem srebra w celu rozdzielania i określenia geometrycznych i pozycyjnych izomerów kwasów tłuszczowych i różnych rodzajów TAG [116,117].

W ramach przeglądu literatury niniejszej rozprawy doktorskiej nie odnaleziono w literaturze metodyk wykorzystujących technikę TLC do rozdzielania i oceny składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników w sekwencji S/A/FAE/TAG/DAG/FFA/MAG/GL. Zastosowanie impregancji płytek TLC solą berberyny dla wizualizacja wszystkich w/w grup składników oprócz glicerolu nie zawierającego molekularnych struktur  $-CH_2-CH_2-$ , powinno być również efektywne.

### **2.2.3. Cienkowarstwowa Chromatografia Cieczowa sprzężona z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (TLC-FID)**

Technika cienkowarstwowej chromatografii cieczowej sprzężona z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym została opracowana w latach 70 XX wieku [118]. TLC-FID jest techniką separacyjno – analityczną o charakterze ilościowym [119]. Proces rozdzielania zachodzi na powierzchni w specjalny sposób spreparowanej cienkiej warstwy mikro ziarnistego żelu krzemionkowego znajdującego się na powierzchni kwarcowych pręcików umieszczonych w metalowej ramce. Detekcja ma miejsce po zakończeniu rozdzielania i po wysuszeniu adsorbentu, dzięki przemieszczaniu pręcika z tzw. plamkami chromatograficznymi przez płomień powietrzno – wodorowy w głowicy detektora płomieniowo – jonizacyjnego o specjalnej konstrukcji.

Z punktu widzenia rozdzielania technika TLC-FID jest tożsama z NP-TLC z nieimpregnowanym adsorbentem, albo o charakterze wąsko porowatego żelu krzemionkowego (pręciki typu SIII), bądź porowatego tlenku glinu.

Najczęściej zalecaną w literaturze metodyką oznaczania składu grupowego z zastosowaniem TLC-FID jest tzw. normalizacja prosta (bez określania wartości współczynników korekcyjnych i wszystkim przypisania wartości 1) [120]. Otrzymane w ten sposób wyniki opisujące skład grupowy mają ważne znaczenie porównawcze. Takie wyniki nie charakteryzują dokładnie składu grupowego, jak to ma miejsce z zastosowaniem znormalizowanych metodyk rozdzielania na drodze adsorpcji – desorpcji i grawimetrycznego oznaczania składu grupowego po odparowaniu desorbentu. Zbliżony do realnego składu grupowego można też uzyskać z wykorzystaniem metodyk kalibracyjnych poprzez zastosowanie doświadczalnie wyznaczonych wartości współczynników korygujących i zastosowanie normalizacji ze współczynnikami korygującymi [120]. Również poprzez zastosowane wprost metodyki krzywej kalibracyjnej. Jednak, w przypadku badań składu grupowego olejów, wyznaczanie wartości współczynników korygujących jest bardzo skomplikowane oraz czasochłonne. Do tego, jak wykazała Gudebska i inni [11,120] ich wartości zależą od zakresu masy molekularnej badanych materiałów pochodzenia naftowego [11,107,120].

Istotną zaletą techniki TLC-FID jest możliwość równoległego badania do 10 próbek. Jednocześnie, jak zawsze w TLC, ma miejsce niewielkie zużycie fazy ruchomej. Możliwe jest



wielokrotne użytkowanie tych samych pręcików do TLC-FID. Ponadto technikę TLC-FID można stosować do ciężkich frakcji o wysokich temperaturach wrzenia, które nie ulegają odparowaniu. Co uniemożliwia stosowanie techniki GC. W porównaniu do współcześnie coraz szerzej stosowanych sprzężeń GC, HPLC/UPLC/TLC-MS, lub -MS-MS, ma miejsce niski koszt oraz proste wymagania dotyczące aparatury oraz wyposażenia [118].

Technika TLC-FID jest wykorzystywana do badania różnych wieloskładnikowych nielotnych, lub bardzo nisko lotnych materiałów składających się z organicznych związków chemicznych, jeśli z ropy naftowej to z frakcji, lub pozostałości z destylacji próżniowej (tabela 3) [121–123]. Wiele prac dotyczy charakterystyki tzw. ciężkich frakcji ropy naftowej, nisko lotnych i nielotnych produktów naftowych, jak asfalty badane w konwencji SARA, ale też, smół powęglowych, czy badań gleb skażonych ropą naftową, lub nielotnymi produktami naftowymi [124,125]. W literaturze opisano m. in. zastosowania metodyki TLC-FID do badań składu grupowego takich materiałów, jak, oleje bazowe [134] oraz smarowe [126], ciężkie destylaty ropy naftowej [109], różnego rodzaju produkty ropopochodne [24], ciężkie oleje opałowe [127]. Badany był też skład grupowy mineralnych olejów bazowych, a także, syntetycznych olejów bazowych [16,24,120,127].

Większość procedur wykorzystywała jako fazę stacjonarną - Chromarods SIII oraz dwu- lub trój-stopniowe rozwijanie chromatogramu TLC-FID fazami ruchomymi o rosnącej polarności z jednocześnie zwiększaniem dystansu migracji fazy ruchomej w kolejnych etapach rozwijania chromatogramu (tabela 3) [120]. Heksan zapewnia na maksymalnym dystansie rozwijania chromatogramu migrację związków alifatycznych oraz alicyklicznych olejów w formie jednej plamki i grupowe ich rozdzielanie od węglowodorów aromatycznych. Te ostatnie są w następnym etapie rozwijania chromatogramu przez toluen formowane na średnim dystansie rozwijania chromatogramu w postaci pojedynczej plamki. W kolejnym (trzecim) etapie rozwijania na najmniejszym dystansie mieszanina dichlorometan: metanol powoduje migrację tzw. żywicy i ich rozdzielanie od najbardziej polarnych asfaltenów [52,120]. Barman [109,118] wykazał, że masa próbki powinna mieścić się w zakresie 5–10 µg co zapewnia optymalny stosunek sygnału do szumu. Karlsen i Larter oraz Cebolla [118,124,128] wykazali, że odpowiedź detektora aparatu TLC-FID zmniejsza się wraz ze wzrostem prędkości skanowania.

Tabela 3. Zestawienie warunków rozdzielania i oznaczania składu grupowego mineralnych olejów bazowych oraz tzw. ciężkich frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej techniką TLC-FID z zastosowaniem stopniowego rozwijania chromatogramu żelu krzemionkowego jako fazy stacjonarnej (pręciki Chromarode SIII) – ważniejsze publikacje

Faza ruchoma	Rozdzielane grupy	Lit.
n-C6, toluen, DCM:MeOH 95:5 (v/v)	Węglowodory nasycone, aromatyczne oraz żywice S/A/R	[129]
n-C6 10 cm, n-C6:toluen 90:10 (v/v) 5-6cm, toluen 4,5 cm	Węglowodory nasycone, aromatyczne oraz żywice S/A/R	[11]
toluen 5min, n-C7 30min	Węglowodory nasycone, aromatyczne i związki polarne S/A/R	[109]
toluen 5min, n-C7 30min	Węglowodory nasycone, aromatyczne oraz żywice S/A/R	[130]
n-C6 30min, toluen 10 min, DCM:MeOH 95:5 (v/v) 4 min	Węglowodory nasycone, aromatyczne oraz żywice S/A/R	[70]

S–węglowodory nasycone, A–węglowodory aromatyczne, R–żywice, AspH–Asfalteny, n-C6–n-heksan, DCM–dichlorometan, MeOH–metanol, n-C7–n-heptan

Technika TLC-FID wykorzystywana jest także do badań składu grupowego olejów pochodzenia roślinnego, szczególnie w analityce lipidów w żywności [34,115,121,131]. Harvey i inni [131,132] opracowali metodę oznaczania grupowego lipidów w ludzkim pęcherzyku żółciowym stosując jako fazę stacjonarną mieszaninę chloroform:metanol (1:1 v/v). Parrish i inni [133] opracowali

metodę oznaczania klas lipidów w wodzie morskiej z wykorzystaniem techniki TLC-FID stosując w pierwszym etapie mieszaninę n-C6: eter dietylowy: kwas mrówkowy (98:2:0,2, v/v/v) do rozdzielania węglowodorów alifatycznych, wosku i steroli oraz wolnych kwasów tłuszczowych, a w drugim etapie zastosowali mieszaninę n-C6: eter dietylowy: kwas mrówkowy (80:20:0,2, v/v/v) do rozdzielania TAG, wolnych alkoholi, wolnych steroli i polarnych lipidów. Striby i inni [134] opracowali dwuetapową procedurę analizy lipidów morskich do separacji i oznaczania ilościowego MAG i DAG we wzorcach i próbkach naturalnych stosując mieszaninę n-C6: eter dietylowy: kwas mrówkowy (70:30:0,2 v/v/v) oraz chloroform: aceton: kwas mrówkowy (99:1:0,2 v/v/v) służącą do rozdzielania TAG, wolnych kwasów tłuszczowych oraz izomerów DAG. Nahar i inni [121] opracowali jednoetapową procedurę TLC-FID do ilościowego oznaczania grupowego lipidów u gatunków *Rhodococcus* i *Williamsia* syntetyzujących kwas mikołowy stosując mieszaninę n-C6: eter dietylowy:kwas octowy (80:20:0,1 v/v/v) do rozdzielania klas lipidów w sekwencji TAG/FFA/DAG/MAG. Jak wynika z literatury w przypadku grupowego rozdzielania lipidów celowy jest dodatek kwasu mrówkowego/octowego do fazy ruchomej. Żadna z powyżej opisanych metodyk nie jest opisuje rozdzielania grupowego olejów bazowych i smarowych zawierających składniki ropopochodne.

Impregnacja fazy stacjonarnej w przypadku techniki TLC była dawniej dość częstą praktyką. Impregnować można również pręciki w przypadku techniki TLC-FID np. w celu poprawy separacji związków chemicznych z wiązaniami podwójnymi [131]. Sebedio i inni [117] opracowali metodę TLC-FID z pręcikami impregnowanymi azotanem srebra do rozdzielania TAG na tristearnian glicerolu, trioleinian glicerolu, trilinoleinian glicerolu i trilinolenin glicerolu różniące się stopniem nienasylenia.

W literaturze [16,50,122,128,129,135–139] technika TLC-FID znajduje szerokie zastosowanie do badań składu grupowego. Technika umożliwia rozdzielanie i oznaczanie składu szczegółowego lub grupowego mieszanin nielotnych lub nisko lotnych organicznych związków chemicznych, w tym, pochodzenia naturalnego, także mieszanin o stosunkowo szerokim zakresie polarność [16,112,115,128]. Najczęściej stosowana jest elucja stopniowa – dwu-, lub trójstopniowa [34,120,131,140]. Technikę TLC-FID zastosowano w tej pracy jako alternatywną dla techniki NP-HPLC w celu przeprowadzenia badań składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarność składników.

## **2.3. Techniki i metody spektroskopowe w ocenie składu grupowego olejów bazowych oraz smarowych**

### **2.3.1. Zjawisko fluorescencji w ocenie obecności i zawartości węglowodorów aromatycznych**

Rafinowane oleje bazowe z ropy naftowej zawierają, głównie trwale termicznie, odporne na utlenianie i zapewniające obniżenie w niewielkim stopniu wartości tzw. indeksu lepkości, podstawione alifatycznie oraz alicyklicznie bardzo nisko lotne jednopierścieniowe węglowodory aromatyczne, które charakteryzują się stosunkowo niewielkiej intensywności jasno niebieską fluorescencją wzbudzaną pod wpływem światła UV  $\lambda = 365$  nm. Również bardzo niewielkie zawartości w podobny sposób podstawionych alifatycznie i alicyklicznie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych o intensywnej jasno błękitnej fluorescencji z długościami fal wzbudzenia i widmami emisji zależnymi w pewnym stopniu od składu chemicznego oleju [141,142].

Camagni i inni [143] podjęli próbę zbadania zjawiska fluorescencji olejów mineralnych w celu określenia ich właściwości emisyjnych oraz absorpcyjnych. Wykazali, że wartość emisji jest silnie zależna od rodzaju badanego oleju. W przypadku większości olejów mineralnych związki chemiczne w nich zawarte, dają najsilniejszą emisję światła fluorescencyjnego, gdy stosuje się wiązkę światła wzbudzającego o długości fali w zakresie  $\lambda = 310-365$  nm [144]. Wzbudzenie fluorescencji przy  $\lambda = 365$  nm, obserwuje się szerokie pasmo emisji wyśrodkowane przy  $\lambda = 440$  nm, co wskazuje, że to wzbudzenie jest odpowiednie do zastosowania w diagnostyce obecności oleju w środowisku [145]. Należy dodać, że obecność fluorescencji może być spowodowana przez inne niż alifatycznie i/lub alicyklicznie podstawione węglowodory aromatyczne będące składnikami olejów, m.in. przez

pochodne fenolu. Jednak wtedy mamy do czynienia z odmienną niż niebieska fluorescencją wzbudzaną przez światło UV  $\lambda = 365 \text{ nm}$  [108,141].

Oleje roślinne nie wykazują fluorescencji [49]. W związku z nie istnieniem zjawiska fluorescencji olejów roślinnych oraz obecności fluorescencji olejów pochodzenia naftowego w świetle  $\lambda = 365 \text{ nm}$  w ramach niniejszej pracy postanowiono opracować szybki test przesiewowy wskazujący na obecność składników ropopochodnych w badanym oleju oraz umożliwiający ocenę zawartości oleju pochodzenia naftowego w oleju smarowym.

### **2.3.2. Badanie widma w zakresie średniej podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-MIR) w ocenie obecności i zawartości acylogliceroli i ich pochodnych**

Refleksyjne widma w zakresie średniej podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-MIR) w zakresie liczb falowych  $500 \text{ do } 4000 \text{ cm}^{-1}$  są charakterystyczne dla określonych grup funkcyjnych związków organicznych. Wynika to z faktu, że drgania rejestrowane dla określonych liczb falowych są charakterystyczne dla ugrupowań chemicznych. Widma IR są bardzo złożone i nie zdarza się, aby dwa różne związki chemiczne miały w całym zakresie MIR identyczne widma [146–148]. W literaturze opisano metodyki porównawczych badań i analizy widm FT-MIR, w zastosowaniu do wstępnej oceny składu oleju roślinnego [148]. Technika badania refleksyjnego widma w podczerwieni nie wymaga przygotowania próbki, ponieważ próbka nakładana jest bezpośrednio na diamentowy kryształ w okienku pomiarowym. Technika FT-MIR zapewnia laboratorium szybką, zautomatyzowaną i wysokowydajną analitykę badanego materiału [49].

W literaturze opisane są metody badania widm w zakresie średniej podczerwieni (MIR) stosowane do oceny jakości mineralnych olejów smarowych [145,149], smarów plastycznych [150], a także do oceny roślinnych olejów smarowych [49]. Morassuti i inni [145] wykazali, że badanie FT-MIR znajduje zastosowanie w analizie mineralnych olejów smarowych stosowanych w sprzężarkach tłokowych do wykrywania związków aromatycznych (dwaromatycznych i poliaromatycznych), a także do identyfikacji parafinowego oleju bazowego, ponieważ pasma intensywniejszej absorpcji w podczerwieni zidentyfikowano jako alkanany za pomocą drgań wibracyjnych rozciągających, zginających i kołysających. Van de Ven i inni [151] wykazali, że związki aromatyczne w olejach bazowych charakteryzują się absorpcją w średniej podczerwieni przy liczbie falowej  $1605 \text{ cm}^{-1}$  odpowiadającej drganiom rozciągającym  $\text{-C=C-}$  dla związków aromatycznych oraz absorpcji przy liczbie falowej  $815 \text{ cm}^{-1}$  odpowiadającą deformacjom poza płaszczyzną  $\text{-C-H}$ .

Badanie widma FT-MIR można zastosować dla charakterystyki różnych, materiałów, także do badania olejów pochodzenia roślinnego [152,153]. Już od 1997 roku stosuje się technikę spektroskopii w zakresie średniej podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-MIR) w badaniach olejów jadalnych oraz zwierzęcych, np. smalcu [154,155]. Guillen i Cabo [155] wykazali, że w zakresie liczb falowych  $3400\text{-}3520 \text{ cm}^{-1}$  obecne są drgania pierwszego nadtonu wiązania  $\text{-C=O}$ , które występują w estrach. Przy liczbie falowej  $3006 \text{ cm}^{-1}$  obserwowane są drgania rozciągające pochodzące od wiązania (cis)  $\text{=C-H}$ . W zakresie  $2989\text{-}2881 \text{ cm}^{-1}$  obecne są drgania rozciągające wiązania  $\text{-C-H}$  z maksimum absorpcji przy liczbach falowych  $2924 \text{ cm}^{-1}$  oraz  $2853 \text{ cm}^{-1}$  [155]. Drgania rozciągające w zakresie  $2850\text{-}3100 \text{ cm}^{-1}$ , odpowiadające pasmom grup  $\text{C-H}$ , są charakterystyczne dla prostych alkanów (w zakresie  $3000\text{-}2850 \text{ cm}^{-1}$ ) oraz dla alkenów i węglowodorów aromatycznych (w przedziale  $3100\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$ ). Drgania w zakresie  $2850\text{-}3100 \text{ cm}^{-1}$  opisujące grupy funkcyjne  $\text{-C-H}$  ( $\text{CH}_2$ ) występują zarówno w oleju mineralnym, syntetycznym typu PAO oraz oleju roślinnym. Guillen i inni [154] wykazali duże znaczenie określenia absorpcji światła podczerwonego w niektórych specyficznych zakresach długości fali dla scharakteryzowania olejów i tłuszczów jadalnych. Zaobserwowali że, drgania występujące przy liczbie falowej  $1747 \text{ cm}^{-1}$  pochodzą od pasm  $\text{-C=O}$ , które są charakterystyczne dla grupy estrów i karbonylowych. Wibracje tego typu występują w wiązaniu estrów oleju roślinnego. Nie występują w oleju naftowym ze względu na brak estrów oraz struktur karbonylowych, jako takich. Lerma-Garcia i inni [156] wykazali, że w zakresie liczb falowych  $1382\text{ - }1371 \text{ cm}^{-1}$  pojawia się pasmo o średniej intensywności, pochodzące od wiązania grupy metylowej dla drgań zginających. Sygnały w zakresie  $1450\text{-}1350 \text{ cm}^{-1}$  pochodzą z drgań kołyszących i nożycowych

wiązań C-H, które występują w łatwo biodegradowalnej bazie olejowej (pochodzenia roślinnego) oraz w bazie olejowej pochodzącej z ropy naftowej. Sygnały w tych obszarach nie dają możliwości różnicowania próbek. Safar i inni [157] przypisują pasma drgań zginających poza płaszczyznę dla liczby falowej  $1238\text{ cm}^{-1}$  do metylenu. Matwijczuk i inni [152] zastosowali badanie widma FT-MIR do oceny oleju ze dracocephalum. Wykazali ze, że dla próbki oleju roślinnego drgania przy liczbie falowej  $1160\text{ cm}^{-1}$  odpowiadają wiązaniom estrowym, natomiast drgania przy liczbie falowej  $1465\text{ cm}^{-1}$  odpowiadają za grupę karboksylową. Ponadto sygnał dla liczby falowej około  $1100\text{ cm}^{-1}$  odpowiada drganiom rozciągającym wiązań -C-O-, które są charakterystyczne dla struktur molekularnych estrów. Oleje ropopochodne nie wykazują w tym obszarze absorpcji światła, ponieważ jest to sygnał charakterystyczny dla olejów pochodzenia roślinnego. Wraz ze wzrostem zawartości oleju roślinnego wyraźnie wzrasta zawartość grup karbonylowych, o czym również informuje literatura [47,122,158]. Van de Voort i inni [159] wykazali, że dla niektórych olejów pasma przy liczbie falowej  $914\text{ cm}^{-1}$  związane są z drganiami zginającymi cis grupy olefinowej. Te same drgania Wolf i Miwa [160] przypisują grupom winylowym. Pasmo z maksimum przy liczbie falowej  $723\text{ cm}^{-1}$  pochodzić może od drgań kołyszących wiązania  $-(\text{CH}_2)_n-$  lub drgań zginających (poza płaszczyznę cząsteczki) wiązania  $-\text{HC}=\text{CH}-$  [161].

W 2018 roku ASTM opublikowało metodę monitorowania stanu eksploatowanych olejów smarowych z wykorzystaniem techniki FT-MIR [162]. Metoda obejmuje badanie zużycia dodatków, gromadzenia się zanieczyszczeń i degradacji bazy w smarach maszynowych, płynach hydraulicznych i innych płynach używanych podczas normalnej pracy maszyn. Umożliwia monitorowanie zanieczyszczeń olejów wodą, sadzą, glikolem etylenowym, paliwem oraz niewłaściwym olejem. Norma określa procedurę monitorowania procesów utleniania, nitrowania i sulfonowania surowców bazowych jako wskaźników degradacji. Celem procedury opisanej w normie jest diagnoza stanu eksploatacyjnego maszyny na podstawie stanów awaryjnych zaobserwowanych w oleju. Niestety ocena monitorowania stanu olejów, nie określa ich składu grupowego, który podczas użytkowania olejów ma znaczący wpływ na środowisko.

W niniejszej pracy badano możliwości zastosowania techniki FT-MIR dla potwierdzania obecności i oceny zawartości składników pochodzenia naturalnego – roślinnego w oleju bazowym i smarowym na podstawie struktur karbonylowych oraz estrowych .

### 2.3.3. Badanie widma absorpcji światła w zakresie UV

Technika spektrofotometrii w zakresie światła nadfioletowego i widzialnego (UV-Vis) ze względu na wysoką czułość to jedna z najstarszych i najszerzej stosowanych technik instrumentalnych w analizie chemicznej [163,164]. Powszechnie wykorzystuje się zakres długości fali światła od 200 do 800 nm. Analizując lokalizację maksimum absorpcji ( $\lambda_{\text{max}}$ ), można ocenić obecność określonych struktur chemicznych w konkretnym związku chemicznym, czy ich mieszaninie [165].

Badania widm w zakresie UV-Vis są szeroko wykorzystywane do kontroli jakości olejów roślinnych, w celu oceny ich składu grupowego, obecności zanieczyszczeń, pochodzenia, kontroli zmian podczas przechowywania i ogrzewania [77]. Badania widm UV-Vis bywają też wykorzystywane w przemyśle naftowym [166]. Poszczególne rodzaje olejów różnią się przebiegiem widm UV. Zwłaszcza oleje pochodzenia naftowego od tych pochodzenia roślinnego. Spektrofotometria absorpcyjna w obszarze światła ultrafioletowego (UV) umożliwia identyfikację obecności i orientacyjne określenie rodzaju oraz zawartości węglowodorów aromatycznych w bazie olejowej oraz zawartości w niej mineralnego oleju bazowego, zwłaszcza niskich zawartości [49,141,148].

Metody analityczne charakteryzowania rodzaju olejów bazowych w olejach mineralnych obejmują identyfikację węglowodorów aromatycznych w zakresie długości fali światła od  $\lambda=260\text{ nm}$  do  $\lambda=350\text{ nm}$  [167]. Cechą charakterystyczną obecności węglowodorów aromatycznych w badanym materiale jest słabo uformowane maksimum i wysoka absorpcja światła przy długości fali ok.  $\lambda=265\text{ nm}$  [147,158,168,169]. Technika spektrofotometrii w zakresie Vis ( $\lambda=400-800\text{ nm}$ ) pozwala również na identyfikację rodzaju i oznaczenie barwnika w oleju smarowym [49].

Oleje pochodzenia roślinnego posiadają maksimum absorpcji światła przy długości fali ok.  $\lambda=230\text{ nm}$ , które wskazuje na obecność acylogliceroli (TAG, DAG, MAG), a także, FAME.



Natomiast syntetyczna baza olejowa typu polialfaolefinowego (np. PAO4, PAO 6, PAO 8) pochłania światło UV tylko do ok.  $\lambda=220$  nm, bez maksimum [49].

Spektrofotometria UV-Vis powinna być przydatna dla potwierdzenia lub wykluczenia obecności oraz dla oceny zawartości węglowodorów aromatycznych w olejach bazowych i smarowych, w olejach smarowych tylko w przypadku niskich zawartości dodatków uszlachetniających. Powinna też zapewnić identyfikację rodzaju i ocenę stężenia barwnika [49,145,148].

### **3. Problem emisji olejów mineralnych pochodzenia naftowego do środowiska oraz znaczenie prostych metodyk kontroli technicznej olejów smarowych emitowanych do środowiska lub stanowiących potencjalne zagrożenie dla środowiska**

#### **3.1. Skala problemu emisji olejów mineralnych do środowiska**

Rynek środków smarnych jest jednym z czynników napędzających globalne zapotrzebowanie na ropę naftową [170]. Światowe zapotrzebowanie na środki smarne wynosi obecnie około 45 milionów ton rocznie (2021), a prognozuje się, że do 2025 r. wielkość globalnego rynku osiągnie 182,6 miliardów dolarów [171]. Odnotowuje się, że ponad 70% dostępnych na rynku smarów pochodzi z ropy naftowej [170]. Na przestrzeni lat oraz wraz z wzrastającymi wymaganiami stawianymi olejom smarowym emitowanym do środowiska z urządzeń tnących, a także, olejów hydraulicznych, które potencjalnie mogą stać się istotnym zanieczyszczeniem środowiska w wyniku awarii maszyny lub pojazdu, w tym, wymagania jakościowe olejów bazowych tego rodzaju olejów smarowych uległy istotnej zmianie. Uwarunkowane jest to postępowaniem technicznym, dążeniem do optymalnego wykorzystania zasobów surowcowych, przede wszystkim rosnącymi wymaganiami w obszarze ochrony środowiska i zdrowia [3,28,172]. Wzrost zainteresowania oceną wpływu olejów smarowych na środowisko i zdrowie motywuje ośrodki naukowe i przemysł do tworzenia nowych w pełni biodegradowalnych olejów smarowych [173]. Coraz częściej oleje bazowe stosowane w tzw. kompozycji w/w olejów smarowych są oleje pochodzenia naturalnego, tzn., rafinowane oleje roślinne i ich pochodne. W myśl wielu współczesnych regulacji prawnych [6,41,46,174] powinny być one wyłącznie stosowane w olejach smarowych emitowanych do środowiska, lub potencjalnie mogących stać się poważnym zanieczyszczeniem środowiska [175]. Negatywne oddziaływanie na środowisko spowodowane przez oleje mineralne (pochodzące z rafinacji ropy naftowej) jest przedmiotem wielu badań [28,47,176,177]. Najważniejszy wniosek to konieczność stosowania biosmarów (smarów, których materiał bazowy pochodzi z olejów roślinnych) jako alternatywy [170,178].

W niniejszej pracy skupiono się na olejach smarowych wykorzystywanych w urządzeniach z otwartym układem tnącym (m.in. pilarkach, herwesterach) w pracach leśnych, tj. wycinie drzew [179], ale również w ogrodnictwie, gospodarstwach domowych, czy w pielęgnacji zieleni miejskiej.

Pozyskanie drewna z wykorzystaniem w/w urządzeń oraz obróbka w miejscu wycinki, ma zauważalny wpływ na środowisko [28]. Skala problemu jest ogromna, ponieważ drewno wykorzystywane jest na szeroką skalę m.in. w budownictwie, górnictwie, energetyce, do produkcji maszyn rolniczych i przemysłowych, podłóg, mebli, płyt, papieru i opakowań, narzędzi, instrumentów muzycznych, sprzętu sportowego, zabawek czy materiałów biurowych [180]. Im bardziej rozwinięta i nowoczesna gospodarka, tym potrzebuje więcej drewna [180]. Zintensyfikowany handel międzynarodowy przyspieszył światowe pozyskiwanie i transport drewna oraz spowodował szereg problemów klimatycznych i środowiskowych [181]. Liderzy rynku drzewnego znajdują się przede wszystkim w Azji, następnie w Afryce i Europie [181]. Światowymi potęgami w pozyskiwaniu drewna ze względu na największą powierzchnię lasów (w procencie całkowitej powierzchni lasów na świecie) są Ameryka Północna (głównie USA), Azja (głównie Indie oraz Chiny), Ameryka Południowa (głównie Brazylia), a także Azja (głównie Rosja) [181]. Biorąc pod uwagę Europę, Szwecja, Niemcy, Francja i Finlandia mają największy potencjał pozyskiwania drewna [180].

### 3.2. Wpływ różnego rodzaju mineralnych olejów bazowych i smarowych na środowisko i zdrowie

Większość olejów smarowych stosowanych obecnie do smarowania urządzeń z otwartym układem tnącym w Polsce, a także w wielu krajach świata ciągle jeszcze zawiera olej bazowy pochodzenia naftowego [170]. Podczas pracy tego typu urządzeń cały olej smarowy emitowany jest do otoczenia w postaci mgły olejowej i mikro-kropel [28,172,182]. W konsekwencji oleje smarowe tego rodzaju wyprodukowane z mineralnych baz olejowych są bardzo szkodliwe dla środowiska oraz zdrowia operatora urządzenia i otaczających je osób [28]. Najbardziej szkodliwa dla zdrowia jest mgła olejowa, która powstaje podczas użytkowania urządzeń tnących [182]. Skutki oddziaływań mgły olejowej na zdrowie ściśle wiążą się z rodzajem składników wchodzących w skład oleju. Emisja mgły olejowej w przeliczeniu na określony obszar, wartość natężenia emisji zależy od czasu i częstotliwości pracy tego rodzaju urządzeń [183,184]. Zanieczyszczenie środowiska olejem może też mieć miejsce podczas niestarannego nalewu olejów do urządzenia lub pojemników transportowych [182].

W związku z tym, że biodegradowalność olejów mineralnych jest bardzo niska (tzw. potencjalna biodegradowalność nie przekracza 45% masy) [18], to emisja mineralnego oleju do środowiska, to również poważny problem dla gleb, które są złożonym elementem środowiska naturalnego, gdzie zachodzą wieloetapowe procesy fizyko-chemiczne. Mgła olejowa która spada na glebę, penetrując ją wchodzi z nią w interakcję, które prowadzą do zmiany form i rozkładu materii organicznej, w zakresie obiegu węgla, wody, azotu i fosforu [185,186]. Grunty zanieczyszczone olejami smarowymi pochodzenia naftowego stają się materią niebezpieczną, która zakłóca prawidłowe funkcjonowanie ekosystemu poprzez blokowanie znajdujących się w glebie wolnych przestrzeni, za pośrednictwem których odbywa się transport roztworu glebowego i powietrza [186]. Mineralny olej bazowy może zatykać pory w glebie, co skutkuje redukcją napowietrzenia oraz filtracji wody. Z powodu osadzania się związków ropopochodnych na powierzchni gruntów dochodzi do redukcji ich przepuszczalności oraz w konsekwencji degradacji na skutek deficytu tlenowego [185,186]. W przypadku zanieczyszczenia gleb olejami pochodzącymi z ropy naftowej konsekwencje zaolejenia mogą być nieodwracalne [28].

Zanieczyszczenie olejami smarowymi ze składnikami ropopochodnymi to również bardzo istotne zagrożenie dla ekosystemów wodnych. Za skażoną uznaje się wodę zawierającą 1 ppm oleju ropopochodnego [187]. Film mineralnego oleju smarowego na lustrze zbiornika wodnego może powodować zaburzenia w wymianie gazowej tlenu zachodzącej pomiędzy wodą a atmosferą, ale także może zmniejszyć dostęp światła do głębi zbiornika [183]. Ograniczenia te mogą prowadzić do zmian w funkcjonowaniu ekosystemu oraz zaburzeń metabolicznych organizmów wodnych, a w konsekwencji do powstawania przyduszy w przydennych częściach zbiornika. Redukcja procesu fotosyntezy oraz wzrost temperatury wody poprzez pochłanianie promieniowania słonecznego, może zagrażać prawidłowemu rozwojowi roślin wodnych oraz prowadzić do eutrofizacji zbiornika [183]. Remediacja gleb z zanieczyszczeń ropopochodnych jest procesem trudnym i długotrwałym [188,189].

Mgła olejowa emitowana podczas pracy urządzenia z otwartym układem tnącym to znaczący problem zdrowotny dla operatora tego urządzenia. Pilarz, poprzez charakter swojej pracy, szczególnie w pracach długotrwałych, takich jak wycinka lasów, przebywa w środowisku o wysokim poziomie zanieczyszczenia substancjami toksycznymi w tzw. mgle olejowej. Typowymi dolegliwościami zgłaszanymi po zakończonej pracy pilarza, są podrażnienia oczu i górnych dróg oddechowych [182,190]. W mgle olejowej pochodzenia mineralnego znajdują się alifatyczne i alicykliczne pochodne węglowodorów aromatycznych, ale w rezultacie rozkładu termicznego, także benzen, toluen, czy etylobenzen, które wpływają negatywnie na układ oddechowy i nerwowy operatora urządzenia. Mgła olejowa przedostając się do dróg oddechowych, powoduje zmiany chorobowe w tkance płuc. W przypadku dostania się do wnętrza organizmu, także w wątrobie, nerkach, nadnerczach oraz sercu [28]. Absorbowana przez skórę, powoduje znaczące konsekwencje zdrowotne, tzn. zmiany o charakterze drażniącym i reakcje alergiczne. Osoby narażone na długofalowy kontakt z mgłą olejową emitowaną podczas pracy urządzenia tnącego, wykazują wysoki stopień zachorowalności na nowotwory, najczęściej na nowotwór skóry [189,191].

Większość składników pochodzących z ropy naftowej ulega bardzo powolnej biodegradacji. Jednocześnie podlega nieuniknionym interakcjom ze składnikami środowiska. Nowopowstałe wtórne związki chemiczne pod wpływem światła słonecznego, tlenu z powietrza, wody i składników gleby są w większości dużo bardziej ekotoksyczne, a także często bardziej szkodliwe dla zdrowia, niż pierwotne formy chemiczne [189,192]. Przy tym należy brać pod uwagę, że podczas pracy urządzenia tnącego ma miejsce wysoka temperatura, która powoduje zmiany składu chemicznego oraz właściwości składników oleju smarowego. Oleje smarowe ulegają utlenieniu, zanieczyszczeniu cząstkami metali i produktami spalania (paliwa zasilającego urządzenie). Najbardziej znanym przykładem jest powstawanie rakotwórczej N-nitrozoaminy z trietanolanoaminy i azotynów, z związków chemicznych dodawanych do olejów smarowych jako środki antykorozyjne [10]. W olejach smarowych produkowanych z mineralnych olejów bazowych, które zawierają frakcję naftenową w ostrych warunkach temperaturowych może następować odwodornienie naftenów do związków aromatycznych i dalsza kondensacja między cząsteczkami aromatycznymi lub aromatycznymi i olefinowymi [10].

Osobną problematykę stanowi gospodarka tzw. zużytymi olejami smarowymi i efektywne technologie utylizacji/odzysku niektórych frakcji [193].

Podsumowując w środowisku naturalnym olej pochodzenia naftowego stwarza zagrożenia pierwotne, dla operatorów urządzeń tnących, a także zagrożenia wtórne [189]. Ekotoksyczność, niepełna biodegradowalność oraz potencjalna rakotwórczość [189,191] mineralnych olejów bazowych powoduje, że coraz częściej publikowane są prace o efektach zdrowotnych stosowania olejów produkowanych z ropy naftowej [45].

W konsekwencji niniejsza rozprawa niesie ze sobą również ogromny walor edukacyjny w powyższym zakresie. Praca oraz zawarta w niej argumentacja pozwala uświadomić społecznie oraz zrozumieć czytelnikowi skalę problemu oraz konsekwencje stosowania olejów smarowych, w którym skład wchodzi składniki ropopochodne.

### **3.3. Regulacje dotyczące ograniczeń stosowania olejów smarowych emitowanych do środowiska oraz zalecane tam metody badań**

Obecne regulacje prawne dotyczące olejów smarowych emitowanych do środowiska zawierają zalecenia oraz metody oceny biodegradowalności z wykorzystaniem standardowych testów [6,45]. Na terenie Unii Europejskiej obowiązuje Rozporządzenie Komisji (WE) nr 440/2008 z dnia 30 maja 2008 r., w którym zawarte są metodyki oceny biodegradowalności z wykorzystaniem testów opracowanych przez Organizację Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (OECD 301 A-F), ustalając metody zgodnie z Rozporządzeniem (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady Europy w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH), który to skrót oznacza „rejestrację” (**R**egistration), „ocenę” (**E**valuation), „autoryzację” (**A**uthorisation) i ograniczenia stosowania chemikaliów (**R**estriction of **C**hemicals)) [6].

Za łatwo biodegradowalny uważa się materiał, który spełnia warunki określonych testów przesiewowych biodegradowalności. Testy te są ściśle standaryzowane. Polegają na badaniu biodegradacji określonego materiału w środowisku wodnym w warunkach tlenowych w ściśle standaryzowanych warunkach. Materiał uważa się za łatwo ulegający biodegradacji, jeżeli w wyniku zastosowania procedury badawczej zużyciu ulega 70% tlenu, albo wykorzystaniu 60% teoretycznego zapotrzebowania na tlen lub ma miejsce wytworzenie 60% teoretycznej objętości di-tlenku węgla (w przypadku badania respirometrycznego) [175].

Każdy stosowany na terenie Unii Europejskiej olej smarowy emitowany do środowiska powinien spełniać w/w kryteria biodegradowalności opracowane przez OECD [194]. Do oceny biodegradowalności olejów smarowych wykorzystuje się test, który pozwala ocenić szybką lub potencjalną biodegradowalność substancji [28]. Do oceny szybkiej biodegradacji wykorzystuje się testy OECD 301 A-F oraz 310 [28,175,195,196]. Podczas biodegradacji dochodzi do rozkładu cząsteczek substancji w wyniku kompleksowego oddziaływania organizmów żywych, a także ich enzymów w określonym środowisku (tlenowym/beztlenowym/w glebie/w wodzie) [195]. Olej smarowy stosowany do urządzenia z otwartym układem tnący powinien spełniać wymagania testu OECD 301

B. Test pozwala śledzić szybkość biodegradacji oraz określić, czy dana substancja zalicza się do łatwo biodegradowalnych. Olej smarowy spełniający wymagania testu OECD 301 B powinien ulegać biodegradacji w warunkach testu na poziomie powyżej 60% w czasie 28 dni [194]. Zakłada się wówczas, że będzie miał miejsce całkowity rozkład pozostałej części w warunkach naturalnych. Wyniki badań wskazują, że takie założenie jest słuszne wyłącznie w przypadku olejów syntetycznych i naturalnych. Jeżeli olej jest mieszaniną również oleju mineralnego to jego część pozostaje niedegradowalna. Natomiast, większość składników pochodzących z ropy naftowej, ulega potem powolnej degradacji nawet kilkaset lat, a jednocześnie podlega różnym reakcjom chemicznym [175,189,192].

Niestety test OECD 301B może mieć słabą powtarzalność, ponieważ populacje bakterii mogą się różnić w zależności od położenia geograficznego lub pory roku i ewoluować w swoim naturalnym środowisku. Kolejną komplikacją wyników badań jest to, że bakterie mogą trawić tylko substancje, które są dostępne w przegrodzie wodnej, w której żyją, i mogą zmagać się z nierozpuszczalnymi materiałami o wysokiej lepkości, które nie są dobrze dyspergowane. Na wyniki ma również wpływ fizyczna forma badanej substancji [15].

Niektóre kraje regulują istniejący problem. W Niemczech i Skandynawii istnieje około 80 marek smarów produkowanych na bazie olejów roślinnych. W Austrii stosowanie olejów do pił łańcuchowych na bazie olejów mineralnych są zabronione [28,197].

Przepisy obowiązujące w Polsce, a także w wielu innych krajach Unii Europejskiej, poza Skandynawią, zezwalają na obecność około 40% oleju mineralnego w bazie olejowej i klasyfikują olej jako biodegradowalny, zgodnie z Decyzją Komisji Europejskiej z dnia 24 czerwca 2011r. w sprawie przyznania w Unii Europejskiej znaku ekologicznego olejom i smarom oraz wymogiem testu OECD [198]. Mimo ograniczeń zawartych w regulacjach prawnych, dostępne na rynku oleje smarowe zawierające do 50% składników ropopochodnych określane są jako częściowo biodegradowalne, co może wprowadzać w błąd użytkownika decydującego się na ich zakup. Nabywający ze względu na brak świadomości definicji częściowej biodegradowalności narażony jest poprzez zakup oleju smarowego ze składnikami ropopochodnymi na stwarzanie zanieczyszczeń środowiska oraz narażenie własnego zdrowia. Należy dodać, że w Polsce są też producenci olejów smarowych, które nie zawierają składników wytworzonych z ropy naftowej, czyli olejów całkowicie „przyjaznych” dla środowiska. Problem w tym, że olej ten jest droższy, zwłaszcza jeśli zawiera całkowicie biodegradowalne dodatki i biokomponenty o wysokim koszcie produkcji [28].

W Polsce obowiązuje Decyzja Generalnego Dyrektora Lasów Państwowych (GDLP) nr 2 z 11 stycznia 2021 r. w sprawie udostępnienia jednolitych wzorów dokumentów dotyczących zamawiania usług leśnych z zakresu gospodarki leśnej w jednostkach organizacyjnych Lasów Państwowych, która zobowiązuje do stosowania oleju biodegradowalnego do smarowania układów tnących w eksploatowanych piłach łańcuchowych i głowicach tnących oraz zestawów do pochłaniania oleju w urządzeniach eksploatowanych na terenie lasów. Na każde żądanie zamawiającego usługę wycinki drzewa na wskazanym terenie, wykonawca prac leśnych zobowiązany będzie przedstawić faktury zakupowe oleju wraz z „Kartą charakterystyki preparatu niebezpiecznego” potwierdzającego stopień biodegradowalności kupionego oleju, adekwatnie do ilości m<sup>3</sup> pozyskanego drewna. Ponadto wykonujący usługę jest zobowiązany do wyposażenia wszystkich maszyn oraz urządzeń pracujących na obszarze lasu w zestawy (sorbenty, maty sorpcyjne itp.) o chłonności umożliwiającej pochłonięcie rozlanego paliwa lub oleju oraz innych płynów technologicznych. Dopuszcza się posiadanie i używanie przez pilarzy kanistrów z bezpiecznymi końcówkami (dozownikami), uniemożliwiającymi rozlanie (przelanie) oleju i mieszanki paliwowej podczas tankowania pilarki (zastępczo za maty pochłaniające olej i paliwo. Wszystkie wytyczne mają na celu zapobieżenie skażeniu środowiska [28,46].

Obecne regulacje prawne oraz wykorzystywane w nich testy do oceny jakości i kontroli środków smarowych ograniczają się do badania szybkości ich biodegradowalności [45,175,199]. Sugeruje się, że niezbędna jest kontrola wieloetapowa, wydłużająca okres testu OECD powyżej 28 dni. Regulacje prawne powinny określać, że w przypadku emisji olejów smarowych do środowiska, powinny być stosowane wyłącznie ekologicznych, całkowicie biodegradowalnych i nieszkodliwych dla środowiska i zdrowia smarów, najlepiej pochodzenia naturalnego (na bazie olejów roślinnych). Oleje smarowe nie powinny zawierać nawet niewielkiej ilości składników ropopochodnych, a procedury



kontroli tego typów olejów powinny określać obecność oraz zawartość tego typu składników. Pozwoliłoby to wyeliminować negatywny wpływ składników ropopochodnych na środowisko i zdrowie. Dopóki nie nastąpi taki stan rzeczy, istnieje pilna potrzeba wprowadzenia nowych regulacji prawnych, które zawierałyby mało kosztowne, łatwe do wykonania procedury kontroli olejów smarowych, zapewniających możliwość bezspornego potwierdzenia lub wykluczenia składników ropopochodnych w oleju, a także o obecności i zawartości łatwo biodegradowalnych naturalnych składników. Tej problematyce w 1 części poświęcona jest niniejsza rozprawa doktorska.

### **3.4. Idea opracowania prostych terenowych oraz laboratoryjnych procedur z wykorzystaniem chromatografii oraz obecności i zawartości określonych grup organicznych związków chemicznych z wykorzystaniem metod spektroskopowych kontroli technicznej olejów bazowych i smarowych o szerokich zakresach polarności składników, zwłaszcza olejów emitowanych do środowiska - na zasadzie badania składu grupowego**

Współczesne oleje smarowe to materiały o zróżnicowanym składzie chemicznym. Stosowane w urządzeniach tnących i niektóre hydrauliczne charakteryzują się też szerokim zakresem polarności [49,178]. Rozdzielanie grupowe i analityka składu grupowego ma istotne znaczenie w kontroli jakości olejów bazowych i smarowych, a także, w monitoringu środowiska naturalnego. W literaturze normalizacyjnej i naukowej znajduje się niewiele metodyk badania składu grupowego olejów bazowych zastosowanych do wytwarzania olejów smarowych. Te, które są, dotyczą badań, identyfikacji grup składników i oznaczania składu grupowego olejów z rafinacji ropy naftowej, albo syntetycznych typu polialfaolefinowego [23,102,120,200–204]. Bazując na przeglądzie literatury niniejszej rozprawy doktorskiej stwierdzono zupełny brak procedur analityki składu grupowego olejów bazowych smarowych o szerokim zakresie polarności składników, zawierających w istotnym udziale węglowodory nasycone, aromatyczne triacyloglicerole i ich pochodne. Szczególnie jeśli mamy do czynienia z mieszaninami bazowych olejów roślinnych z olejami bazowymi z ropy naftowej. Dysponowanie takimi metodykami ma istotne znaczenie w technicznej kontroli jakości olejów smarowych, w identyfikacji zafałszowań. Może też mieć znaczenie dla monitoringu środowiska naturalnego. Dotyczy to szczególnie olejów smarnych emitowanych do środowiska podczas użytkowania maszyn tnących lub tzw. olejów hydraulicznych będących potencjalnie poważnym zanieczyszczeniem środowiska w rezultacie awarii. Ze względu na znaczne zróżnicowanie ich fizykochemicznych i spektralnych właściwości, a także, wartości parametrów kalibracyjnych, badanie składu grupowego takich olejów jest poważnym problemem separacyjnym oraz analitycznym.

Równocześnie opracowane w ten sposób metodyki analityczne powinny być przydatne do charakterystyki składu grupowego oraz kontroli technicznej i kontroli jakości zdecydowanej większości, olejów smarowych, a także smarów stałych, istniejących obecnie lub w przyszłości wprowadzonych na rynek, przynajmniej w formie tzw. fingerprintu.

## **4. CEL PRACY**

Celem rozprawy doktorskiej jest opracowanie nowych procedur analityki technicznej składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników, szczególnie olejów emitowanych do otoczenia z urządzeń tnących podczas użytkowania - z zastosowaniem badań technikami chromatografii cieczowej i spektrofotometrii – procedur, które powinny mieć zastosowanie w badaniach składu grupowego każdego rodzaju olejów bazowych i smarnych.

Można wyróżnić następujące cele cząstkowe:

1. Studium literatury normalizacyjnej, naukowej oraz aktualnych regulacji prawnych, w zakresie:

- Technik i metodyk identyfikacji, grup składników i oceny oraz oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim spektrum polarności składników; z wykorzystaniem rozdzielania technikami chromatografii cieczowej w normalnych układach faz oraz wybranych technik i metod spektrofotometrii;
- Znaczenia umiejętności badania składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników, szczególnie emitowanych do środowiska olejów smarnych urządzeń tnących lub olejów hydraulicznych stanowiących potencjalne istotne zagrożenie dla środowiska w rezultacie awarii pojazdu, maszyny, albo urządzenia;
- Problematyki standardowych metodyk badania biodegradowalności materiałów emitowanych do środowiska, szczególnie badania olejów mineralnych pochodzenia naftowego emitowanych do środowiska oraz znaczenia pod tym względem prostych metodyk kontroli technicznej olejów bazowych i smarowych.

2. Opracowanie z wykorzystaniem cienkowsarstwowej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-TLC) korzystnych procedur rozdzielaniem, identyfikacji oraz oceny składu grupowego olejów bazowych i smarowych z zastosowaniem jedno-/wieloskładnikowych faz ruchomych oraz z jedno-/wielostopniowym rozwijaniem z wykorzystaniem różnych sposobów wizualizacji plamek na chromatogramach:

- fluorescencji węglowodorów aromatycznych ropy naftowej pod wpływem wzbudzenia światłem średnio ciśnieniowej lampy rtęciowej w bliskim nadfiolecie -  $\lambda=365$  nm;
- absorpcji światła przez plamki grup składników oleju obniżające luminescencję luminoforu na płycie TLC typu F254 pod wpływem światła UV  $\lambda=254$  nm;
- brunatnej barwy plamek niektórych grup związków chemicznych powstającej w rezultacie tworzenia adduktów z jodem w rezultacie ekspozycji chromatogramu TLC w oparach jodu ( $I_2$ );
- wzmocnienia fluorescencji (luminescencji) berberyny przez alifatyczne i alicykliczne struktury molekularne pod wpływem światła UV  $\lambda=365$  nm po uprzedniej impregnacji płytki TLC solą berberyny przed rozwijaniem chromatogramu TLC oraz opracowanie korzystnych metodyk impregnacji płytek TLC solą berberyny.

3. Studium literatury i wstępne badania nad możliwością zastosowania kolumnowej elucyjnej wysokosprawnej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-HPLC) z elucją izokratyczną oraz ze zwrotnym przepływem eluentu w kolumnie rozdzielczej dla opracowania nowych metodyk i korzystnych warunków grupowego rozdzielania, identyfikacji grup składników oraz oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych, o szerokim zakresie polarności składników, z uwzględnieniem różnych technik oraz warunków detekcji (RID, ELSD, DAD-UV-Vis).

4. Badania nad opracowaniem stosowania techniki cienkowsarstwowej chromatografii cieczowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (TLC-FID) i ze stopniowym rozwijaniem chromatogramu TLC w rozdzielaniu grupowym i oznaczaniu składu grupowego olejów bazowych oraz smarowych o szerokim zakresie polarności grup składników, wykorzystując wyniki badań uzyskane techniką NP-TLC, jako techniką pilotową.

5. Zbadanie celowości i korzystnych warunków zastosowania wybranych technik spektrofotometrii dla badania obecności i oceny zawartości określonych grup składników w olejach bazowych oraz smarowych w zakresie:

- fluorescencji węglowodorów aromatycznych pod wpływem światła o długości fali  $\lambda=365$  nm, dla oceny obecności i zawartości ropopochodnych składników oraz opracowanie standardowego „testu polowego” i wyposażenia dla tego testu;
- widma absorpcji światła UV w zakresie  $\lambda= 200-400$ nm do identyfikacji i oceny zawartości w oleju węglowodorów aromatycznych oraz barwnika;
- widma FT-MIR dla liczby falowej w zakresie  $4\ 000\text{ cm}^{-1}$  do  $550\text{ cm}^{-1}$  identyfikacji obecności i oceny zawartości w oleju bazowym i smarowym naturalnych olejów roślinnych i niektórych



ich pochodnych z uwzględnieniem badania grup karbonylowych lub karboksylowych estrów kwasów tłuszczowych, innego typu estrów, albo innego rodzaju grup organicznych związków chemicznych, składników olejów roślinnych i ich pochodnych, , biodegradowalnych olejów bazowych.

6. Zbadanie najważniejszych parametrów walidacyjnych opracowanych metodyk rozdzielania i oceny składu grupowego współczesnych olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności.

## 5. CZĘŚĆ BADAWCZA

### 5.1. Materiały

#### 5.1.1. Badane materiały

Tabela 4 przedstawia zestawienie oraz charakterystykę materiałów wykorzystanych w badaniach.

Tabela 4. Zestawienie oraz charakterystyka materiałów wykorzystanych w badaniach

Lp.	Nazwa/charakterystyka próbki	Skrót	Czystość, Producent, Miasto, Kraj,
1.	<b>Gliceryna bezwodna</b> , glicerol	<b>GL</b>	czda, POCH, Gliwice, Polska
2.	<b>Monoacyloglicerol</b> 1-monopalmitoleoyl-rac-glicerol	<b>MAG</b>	≥99%, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Niemcy
3.	<b>Diacyloglicerol</b> 1,2 dioleoyli-rac-glicerol	<b>DAG</b>	≥99%, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Niemcy
4.	<b>Olej rzepakowy, jadalny</b>	<b>TAG1</b>	100% olej roślinny, EOL Polska, Szamotuły, Polska
5.	<b>Olej słonecznikowy, jadalny</b>	<b>TAG2</b>	100% olej roślinny, FHPU Marlibo Czekaj Jacek, Bolesław, Polska
6.	<b>TAG1+TAG2</b> 1:1 (v:v)	<b>TAG</b>	100% olej roślinny, FHPU Marlibo Czekaj Jacek, Bolesław, Polska oraz 100% olej roślinny, EOL Polska, Szamotuły, Polska
7.	<b>Wolny Kwas Tłuszczowy</b> , Kwas Oleinowy	<b>FFA</b>	≥99%, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Niemcy
8.	<b>FAME</b> Estry Metylowe Kwasów Tłuszczowych	<b>FAME</b>	Techniczne, użyczono: Rafineria LOTOS SA, Gdańsk, Polska
9.	<b>SKWALEN</b> węglowodór wielonienasycony	<b>Sq</b>	≥99%, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Niemcy
10.	<b>PAO 6</b> syntetyczna baza olejowa typu polialfaolefinowego	<b>PAO</b>	Chevron Phillips Chemical, Teksas, USA
12.	<b>SAE 10/90</b> Olej bazowy pochodzący z rafinacji ropy naftowej	<b>S10</b>	Użyczono: Rafineria LOTOS, Gdańsk, Polska
13.	<b>SAE 30/90</b> olej bazowy z rafinacji ropy naftowej	<b>S30</b>	Użyczono: Rafineria LOTOS, Gdańsk, Polska
14.	<b>Brighthstock</b> Olej bazowy pochodzący z rafinacji pozostałości próżniowej ropy naftowej	<b>BS</b>	Użyczono: Rafineria LOTOS, Gdańsk, Polska
15.	<b>Olej Hydrauliczny</b>	<b>H</b>	Użyczono: Rafineria LOTOS, Gdańsk, Polska
16.	<b>Olej Turbinowy</b>	<b>T</b>	Użyczono: Rafineria LOTOS, Gdańsk, Polska
17.	Olej smarowy produkowany na bazie mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego (produkowany w procesie rafinacji ropy naftowej)	<b>O1</b>	Komercyjnie dostępny, Malbork, Polska
18.	Olej maszynowy wyprodukowany na bazie z przerobu ropy naftowej	<b>O2</b>	Komercyjnie dostępny produkt, Orlen, Płock, Polska
19.	Olej smarowy produkowany na bazie	<b>O3</b>	Produkt komercyjnie dostępny, Gliwice, Polska

	roślinnej z pakietem dodatków uszlachetniających, komercyjnie dostępny		
20.	<b>Frytura</b> Olej roślinny jadalny - przetworzony,	<b>O4</b>	100% oleju roślinnego, Szamotuły, Polska
21.	Wysokiej jakości olej do pił łańcuchowych, komercyjnie dostępny	<b>O5</b>	Komercyjnie dostępny produkt, Gliwice, Polska
22.	Olej silnikowy, syntetyczny typu polialfaolefinowego, komercyjnie dostępny	<b>O6</b>	Komercyjnie dostępny produkt, Warszawa, Polska
23.	W pełni biodegradowalny preparat konserwująco-smarowy do układów tnących pilarek, nowego składu	<b>O7</b>	Komercyjnie dostępny produkt, Malbork, Polska
24.	Olej do smarowania układów tnących – pilarek, komercyjnie dostępny	<b>O8</b>	Użyczono: Mailoil, Malbork, Polska

### 5.1.2. Rozpuszczalniki, fazy ruchome i eluenty

W badaniach techniką HPLC zastosowano n-C6 (do HPLC, Merck, Darmstadt, Niemcy) jako rozpuszczalnik do wykonania próbek, a także, jako eluent.

Rozpuszczalniki materiałów badanych techniką TLC oraz TLC-FID:

- DCM (czda, Chempur, Piekary Śląskie, Polska),
- aceton (czda, Chempur, Piekary Śląskie, Polska).

W badaniach technikami TLC oraz TLC-FID zastosowano następujące składniki faz ruchomych lub/i jako fazy ruchome :

- n-C6 (do HPLC, Merck, Darmstadt, Niemcy),
- IPA (do HPLC, Merck, Darmstadt, Niemcy),
- MTBE (do HPLC, Merck, Darmstadt, Niemcy),
- chloroform (czda, POCH, Gliwice, Polska),
- DCM (czda, Chempur, Piekary Śląskie, Polska),
- toluen (do HPLC, Merck Darmstadt, Niemcy),
- MeOH (do HPLC, Merck, Darmstadt, Niemcy),
- TFA (czda, Merck, Darmstadt, Niemcy).

W badaniu widm UV jako rozpuszczalnik badanych próbek zastosowano n-C6 (do HPLC, Merck Darmstadt, Niemcy), który nie wykazuje absorpcji światła powyżej  $\lambda = 200$  nm.

W badaniu widm FT-MIR do czyszczenia diamentowego okienka nanoszenia materiały próbki w technice refleksyjnej stosowano aceton (czda, Chempur, Piekary Śląskie, Polska).

### 5.1.3. Fazy stacjonarne

W badaniach techniką HPLC wykorzystano 2 kolumny o wymiarach 250x4mm z wypełnieniem Lichrosphere SI 60 (żel krzemionkowy typu 60 A), o średniej wielkości ziaren 5  $\mu$ m (stosowano je osobno oraz połączone szeregowo).

W badaniach techniką TLC wykorzystano płytki TLC Silica GEL 60 F254s na blasze aluminiowej o wymiarach 200x200 mm (Merck, Darmstadt, Niemcy).

W badaniach techniką TLC-FID zastosowano dziesięciopręcikową ramkę Chromarod-S III® (mikroziarnisty żel krzemionkowy o specjalnej preparatyce i bardzo wysokiej powierzchni właściwej: powyżej 1000 m<sup>2</sup>/g).

#### 5.1.4. Inne odczynniki i materiały

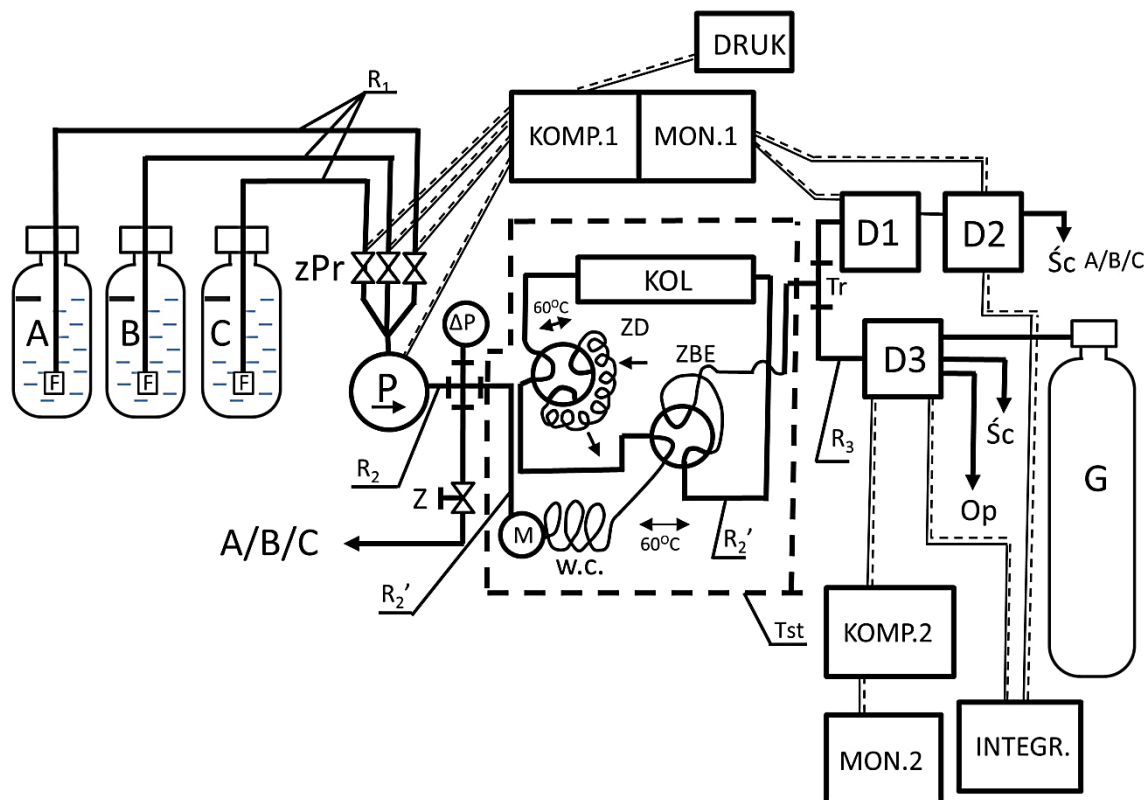
Do impregnacji płytek TLC zastosowano roztwór siarczanu berberyny (≥98%, Tokyo, Japonia, Sigma-Aldrich) w metanolu (do LC, Merck Darmstadt, Niemcy) o różnych stężeniach, głównie : 60mg/ml.

Do ekspozycji płytek TLC w oparach jodu stosowano jod krystaliczny (I<sub>2</sub>) (czda, Sigma-Aldrich, Poznań, Polska).

## 5.2. Aparatura, wyposażenie oraz oprogramowanie

Do rozdzielania techniką HPLC, cyfrowej rejestracji oraz odwzorowania chromatogramów na ekranie monitora komputerowego wykorzystano gradientowy chromatograf cieczerw LaChrom (Merck-Hitachi, Niemcy-Japonia), uzupełniony o dodatkowe moduły aparatury wyszczególnione poniżej, przedstawiony schematycznie na rysunku 2 oraz widoczny w postaci fotografii na rysunku 3, wyposażony w:

- przestawiany manualnie zawór dozujący Rheodyne Rh-7725i (Hamilton, USA), z pętlą dozującą o średnicy wewnętrznej 1 mm i o pojemności ok 1200 µL, w ten sposób usytuowanej w układzie aparatu, że praktycznie cała objętość próbki odmierzanej mikrostrzykawką wprowadzana do pętli dozującej „od strony kolumny”, była wprowadzana bezpośrednio do kolumny w momencie przestawienia położenia zaworu dozującego z położenia „load” do położenia „inject”;
- pompę L-6200 LaChrom (Merck-Hitachi, Japonia, Niemcy) z zespołem zaworów proporcjonujących tzw. nisko ciśnieniowego systemu gradientowego (z dwustawnymi membranowymi elektromagnetycznymi zaworami proporcjonującymi usytuowanymi po stronie ssącej pompy), w okresie gradientowej pracy pompy zawory proporcjonujące umożliwiały przełączanie kolejnych faz ruchomych wprowadzanych do kolumny „A”/„B”/„C”;
- interface D-6000 LaChrom (Merck-Hitachi, Japonia, Niemcy) – dwukanałowy 24 bitowej rozdzielczości przetwornik analogowo – cyfrowy (A/C) o poziomie szumów własnych poniżej 1µV i zakresie pomiarowym -50 mV do +1024 mV, umożliwiający rejestrację z częstotliwością do 10 Hz w czasie rzeczywistym do dwóch analogowych sygnałów z 2 detektorów chromatograficznych, albo z jednego detektora o sygnale analogowym oraz rejestrację i odwzorowanie w sposób poziomicowy na ekranie monitora komputerowego w czasie trwania elucji cyfrowego sygnału detektora UV-VIS DAD z częstotliwością do 10 Hz, z rozdzielczością 24 bitową, na osi długości fali 190 do 800 nm oraz osi czasu poprzez równoległe złącze cyfrowe IEE 488;
- dwupołożeniowy przestawiany manualnie zawór V 7226 (Knauer, Niemcy) do zmiany kierunku przepływu eluentu (BF) w kolumnie lub w „szeregowo” połączonych kolumnach,
- komputer z oprogramowaniem HSM-7000, wersja 3.1.1;
- detektor refraktometryczny RID L-7490 LaChrom (Merck-HITACHI, Niemcy-Japonia), przyłączony do interfejsu D-6000 poprzez wejście analogowe;
- detektor DAD UV-Vis L-7450 LaChrom (Merck-Hitachi, Niemcy-Japonia), przyłączony do interfejsu D-6000 poprzez tzw. równoległe złącze IEE 488;
- detektor laserowym detektorem rozproszenia światła LLS (PL-ELS 2100, Polymer Laboratories, Churh Stretton, Wielka Brytania) z cyfrowym wyjściem sygnału pomiarowego poprzez złącze RS 462, z dodatkowym komputerem sterującym i dodatkowym ekranowym monitorem komputerowym;
- szklana mikro-strzykawka o objętości 50µL lub 100 µL (Hamilton, Nevada, USA).



**Oznaczenia:**

— - przewody rurowe

- - - - - przewody sygnałowe

**A/B/C** - eluenty A/B/C i butle z eluentami

**F** - filtry ssawne ze spiekami porowatymi

**R<sub>1</sub>** - przewody ssawne (teflon)

dw=2/2,5mm / dz=1/8"

**R<sub>2</sub>/ R<sub>2</sub>'/ R<sub>3</sub>** -przewody transportowe  
wysociśnieniowe 1/16" ze stali  
kwasoodpornej R<sub>2</sub>/ R<sub>2</sub>' , z teflonu  
o średnicy wewnętrznej odpowiednio:  
0,5mm (R<sub>2</sub>)/0,1 ∅0,13mm (R<sub>2</sub>'/ R<sub>3</sub>)

**P** - pompa HPLC

**ΔP** - miernik ciśnienia z czujnikiem  
piezoelektrycznym

**ZD** - zawór dozujący z pętlą

**ZBF** - zawór przepływu zwrotnego eluentu  
w kolumnie

**KOL** - kolumna HPLC

**M** - mikser

**W.C.** - kapilara o roli wymiennika ciepła

**zPr** - zawór proporcjonujący

**Śc** - ścieki

**60°C** - kąt położenie zaworu dwustawnego

**D1** - detektor UV-Vis-DAD

**D2** - detektor refraktometryczny (RID)

**D3** - detektor ELSD (detektor laserowy  
rozproszenia światła przez odparowanie)

**KOMP.1** - komputer 1 z oprogramowaniem HSM  
oraz JEE488

**KOMP.2** - komputer 2 z oprogramowaniem do obsługi  
detektora LLSD

**MON.1** - monitor ekranowy 1

**MON.2** - monitor ekranowy 2

**DRUK** - drukarka

**INTEGR.** - integrator 2-kanałowy lub 2-kanałowy  
rejestrator

**G** - butla z gazem (CO<sub>2</sub>) do detektora ELSD

**Op** - opary z detektora ELSD

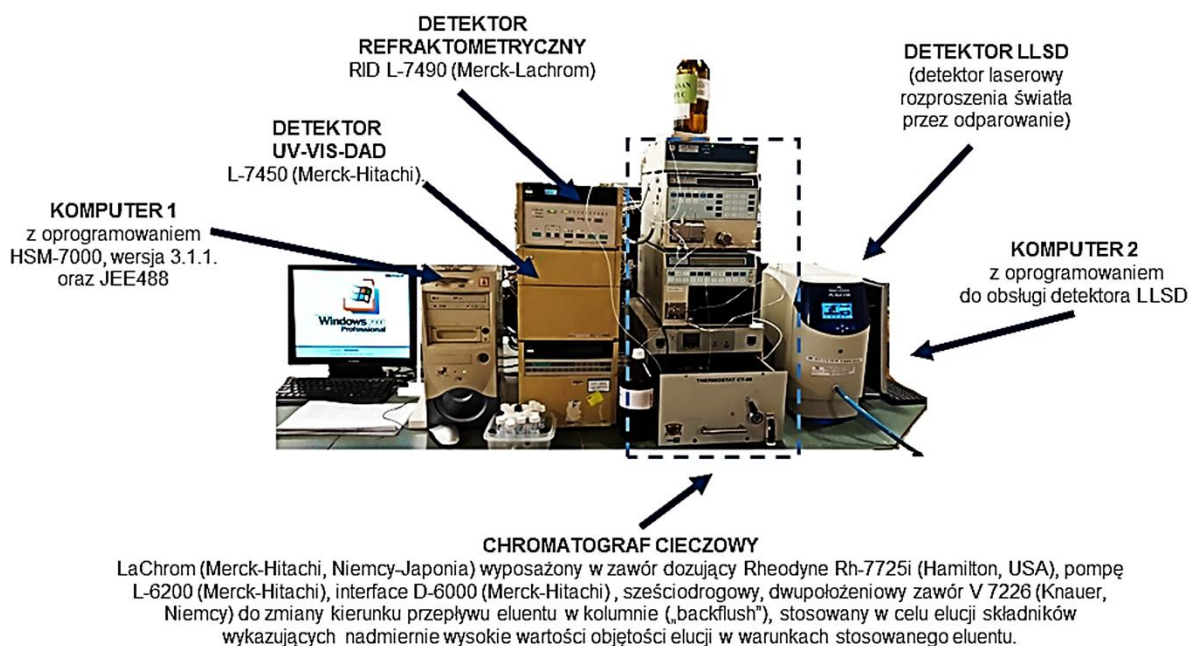
**Tr** - trójnik

**Tst** - termostat

**Z** - zawór boczny

Rysunek 2. Schemat ideowy stanowiska do badań retencji i selektywności rozdzielania techniką HPLC z zastopowaniem detekcji RI, DAD-UV-Vis oraz LLSD oraz z możliwością stosowania zwrotnego przepływu eluentu w kolumnie rozdzielczej lub w szeregowo połączonych kolumnach rozdzielczych





Rysunek 3. Fotografia (wraz z opisem) stanowiska do badań retencji i selektywności rozdzielania techniką HPLC z zastosowaniem detekcji RI, DAD-UV-Vis oraz LLSD oraz z możliwością stosowania zwrotnego przepływu eluentu w kolumnie rozdzielczej lub w szeregowo połączonych kolumnach rozdzielczych

Do rozdzielania techniką TLC, suszenia płytek chromatograficznych oraz wizualizacji wyników rozdzielania w świetle UV-Vis wykorzystano:

- szklaną komorę chromatograficzną o wymiarach 250x50x200mm (Duran, Lingeal Chemicals, Warszawa, Polska) ze szklaną pokrywą oraz celulozową bibułą filtracyjną (Merck Darmstadt, Niemcy), która komora była wyłożona wewnątrz na trzech ścianach;
- szklany eksykator o średnicy 250 mm, zawierający aktywny środek suszący (bezwodny siarczan sodu czda, WarChe, Warszawa, Polska);
- lampę UV (typ TB 02, UV TB Telbid, Warszawa, Polska);
- suszarkę do włosów (Silvercrest, Hamburg, Niemcy);
- szklany eksykator o średnicy 250 mm z jodem krystalicznym ( $30 \text{ g I}_2/\text{dm}^3$ );
- suszarkę TLC: TK-8 (Iatron Labs, Tokyo, Japonia);
- aparat fotograficzny (Xiaomi, Redmi A2 Lite, 12Mpix, Hon Hai Precision Industry Co., Shenzhen, Chiny);
- szklana mikro-strzykawką o objętości 5 $\mu\text{L}$  (Hamilton, Nevada, USA).

Do impregnacji płytek TLC solą berberyńską wykorzystano:

- szklany rozpylacz do TLC (kolba Erlenmeyera o pojemności 100 ml, z gniazdem NS 19/26, głowicą natryskową Duran (z rurki Ceran Duran) z zaciskiem i gumową główką (Lenz Laborglasinstrumente, Darmstadt, Niemcy).

Do aktywacji ramki z pręcikami do TLC-FID, rozdzielania, suszenia ramki z pręcikami oraz cyfrowej rejestracji analogowego sygnału detektora TLC-FID i odwzorowania chromatogramów z detektora TLC-FID na ekranie monitora komputerowego wykorzystano:

- analizator TLC-FID z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym: (Iatron Labs, Tokyo, Japonia); pomiarowy przetwornik analogowo-cyfrowy: A/C-4 (o zakresie pomiarowym: - 5V do



+5V, częstotliwości próbkowania 40 Hz ni rozdzielczością 5  $\mu$ V i dynamiką ponad 16-to bitową (AKORD, Pruszcz Gdański);

- dziesięciopręcikową ramkę do TLC-FID - Chromarod-S III® (mikro-ziarnisty żel krzemionkowy o specjalnej preparatyce i bardzo wysokiej powierzchni właściwej: powyżej 1000 m<sup>2</sup>/g);
- oprogramowanie obróbki danych z przetwornika A/C-4: „Chomik-2” wersja dla Windows - opracowane we własnym zakresie (Politechnika Gdańska, Gdańsk, Polska);
- dozownik próbek SES 3200/IS-01 (Iatron Labs, Tokyo, Japonia);
- szklaną komorę chromatograficzną o wymiarach 140x200x50mm z trzema ścianami wyłożonymi bibułą celulozową, ze szklaną pokrywą, uchwytem dla ramki z pręcikami Chromarod-S III i możliwością regulacji położenia ramki wzdłuż wysokości komory (Duran, Lingel Chemicals, Warszawa, Polska);
- suszarkę TLC: TK-8 (Iatron Labs, Tokyo, Japonia);
- szklany eksykator o średnicy 250 mm, zawierający aktywny środek suszący (bezwodny siarczan sodu czda, WarChe, Warszawa, Polska).

Do badań z wykorzystaniem metody kroplowej zastosowano:

- czarną matową płytkę wykonaną z kopolimeru akrylonitrylo-butadieno-styrenowego o wymiarach 90x50x10 mm z 8 cylindrycznymi otworami o średnicy 10 mm i głębokości 7mm (opracowaną we własnym zakresie, rysunki 4-5);
- pipetę automatyczną o pojemności 10-100  $\mu$ l, zmiennej nastawie (LABMATE PRO, Warszawa, Polska) wraz z jednorazowymi „tipsami”;
- komorę fotograficzną o wymiarach 200x200x150 mm z dwoma otworami, jednym do wykonywania fotografii oraz drugim do obserwacji wyników (schemat ideowy na rysunku 6);
- lampę rtęciową emitującą światło o długości fali  $\lambda = 365$  nm (producent: MR Chemie, Unna, Niemcy);
- aparat fotograficzny (Xioami, Redmi A2 Lite, 12 Mpix, Hon Hai Precision Industry Co., Shenzhen, Chiny).

Do wykonania widm FT-MIR wykorzystano:

- aparat Bruker Tensor 27 z nakładką ATR (Bruker, Tucson, stan Arizona, USA) wraz z komputerem stacjonarnym z oprogramowaniem OPUS (wersja oprogramowania 2.1b, Bruker, Tucson, stan Arizona, USA),
- szczelinomierz Yato YT- 100mm 002-1mm (TOYA S.A., Wrocław, Polska).

Do wykonania widm UV wykorzystano spektrofotometr HP DAD 8452A (Agilent, CA, USA) podłączony do komputera stacjonarnego z oprogramowaniem Chemstation UV-Vis (oprogramowanie B.02.01, Agilent, CA, USA) oraz kuwetę kwarcową o długości drogi optycznej 1 cm.

Inny sprzęt i wyposażenie

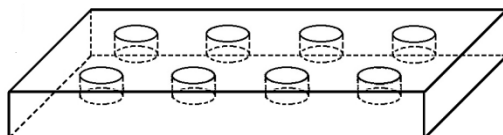
- suszarka laboratoryjna (model 30L PRO, Adverti, Łódź, Polska);
- waga analityczna (Radwag, Model: SBS-LW-300A, Warszawa, Polska);
- pipeta automatyczna o pojemności 10-100  $\mu$ l i 100-1000  $\mu$ l o regulowanej nastawie (LABMATE PRO, Warszawa, Polska) wraz z jednorazowymi tipsami;
- narzędzie do przecinania płytek TLC, gilotyna z trymerem ręcznym (Bigstren, Lublin, Polska);
- kolby miarowe klasy A o pojemności 200 ml ze szlifem 14/23 (Glassco, Gliwice, Polska);
- cylindry miarowe klasy A o pojemności 250 ml (Glassco, Gliwice, Polska).



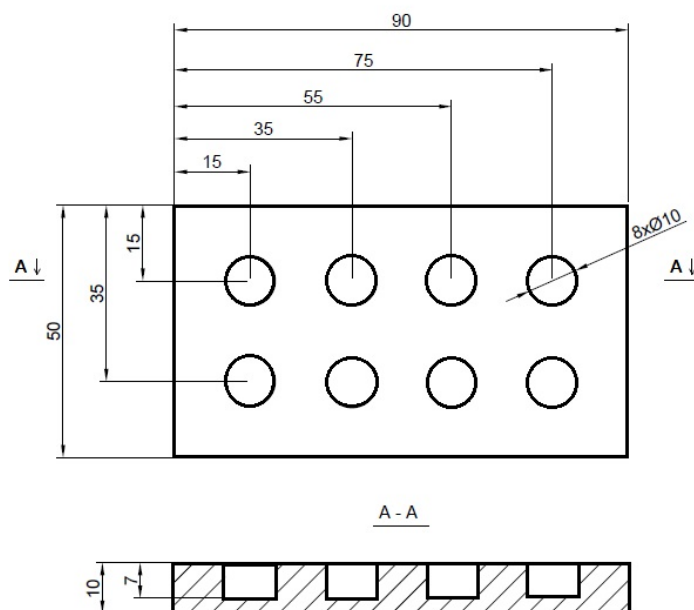
### 5.3. Metodyka badań dla opracowania procedur kontroli obecności i oceny zawartości naftowej/naturalnej frakcji w olejach do urządzeń tnących i metodyka raportowania rezultatów

#### 5.3.1. Polowa, przesiewowa, kropłowa metodyka identyfikacji oraz oceny orientacyjnej zawartości aromatycznych ropopochodnych składników w olejach - badanie fluorescencji oleju w świetle UV 365 nm w zaciemnionej komorze prostokątnej

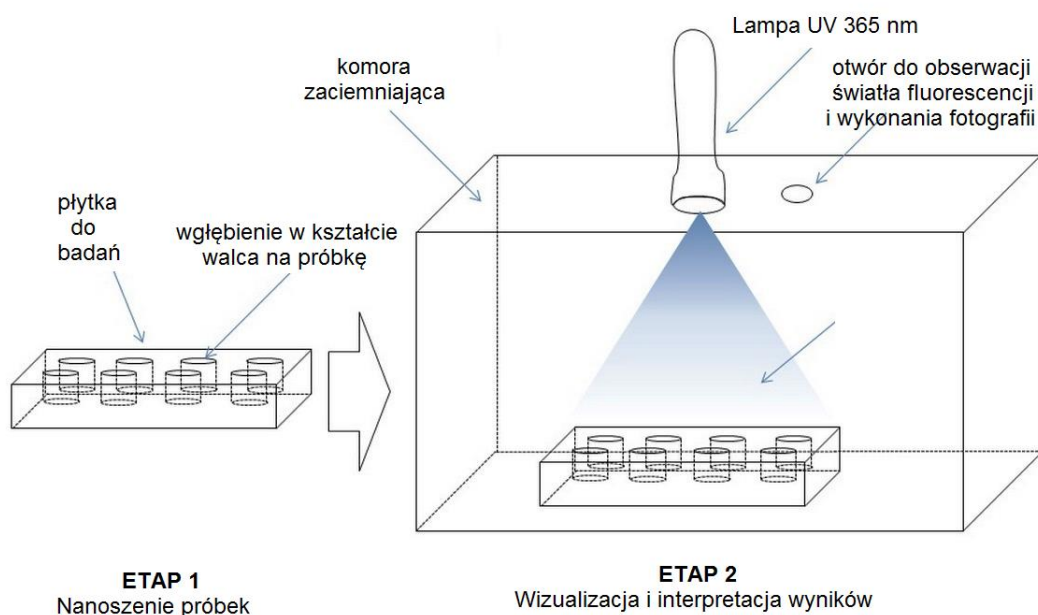
Sposób wykonania badania przedstawiono na rysunku 6 oraz opublikowano [49,142]. Próbki poszczególnych badanych materiałów o objętości 0,2 ml wprowadza się kolejno do cylindrycznych wgłębień w czarnej, matowej płytce przedstawionej na rysunkach 4 oraz 5. Po wprowadzeniu wszystkich badanych materiałów w-płytke, umieszcza się w prostokątnej komorze. Następnie płytka zostaje oświetlona światłem nadfioletowym o długości fali „wzbudzenia”  $\lambda = 365$  nm lampą typu LED, oceniona wizualnie i sfotografowana.



Rysunek 4. Płytkę do wykonywania badań fluorescencji kropli oleju za pomocą „testu kropłowego”



Rysunek 5. Wymiary płytki do wykonywania badań za pomocą testu kropłowego - rzut z góry oraz przekrój



Rysunek 6. Schemat wykonania badania oleju smarowego metodą kropłową

W celu walidacji metody, badanie wykonano dla mieszanin oleju roślinnego z olejem pochodzenia naftowego w proporcjach (v/v): 100:0, 99,7:0,3, 99,3:0,7, 99:1, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90 oraz 0:100. W przypadku każdej badanej próbki wykonano trzy pomiary intensywności koloru, a następnie wynik uśredniono. Do ustalenia intensywności koloru wykorzystano aplikację Paint (Microsoft, Waszyngton, Stany Zjednoczone). Fotografię utworzono za pomocą aplikacji, a następnie z wykorzystaniem próbnika do barw zidentyfikowano jej intensywność. Za LOD przyjęto najmniejszy wynik powyżej wartości 0. Za LOQ przyjęto 3-krotność LOD ( $LOQ = 3 \times LOD$ ).

### 5.3.2. Metodyka oceny obecności i zawartości frakcji aromatycznej w olejach z wykorzystaniem widma w zakresie UV oraz sposób statystycznego opracowania wyników

Materiał badawczy zestawiono w tabeli 4. Jako rozpuszczalnik próbek zastosowano n-C6. Stężenie próbek wynosiło 0,25 mg/ml rozpuszczalnika. Jako tło zastosowano widmo czystego n-C6, a widma próbek zarejestrowano sekwencyjnie w trzech powtórzeniach dla każdej próbki. Widma UV wykonano dla objętości próbki równej - 2,5 ml roztworów analitu, które kolejno umieszczano w kwarcowej kuwecie, którą między próbkami czyszczono. Badanie przeprowadzono przy prędkości skanowania 400 nm/min, w zakresie pomiarowym absorbancji od 0 do 1,6 oraz w zakresie długości fali od 200 do 800 nm. Test przeprowadzono w temperaturze  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Ze względu na ograniczenia liniowości wynikające z prawa Lamberta-Beera do porównania wartości absorpcji światła przez badany olej wybrano dwie długości fali  $\lambda=230$  i  $\lambda=265$  nm.

W celu statystycznego opracowania wyników wykonano widma UV dla 5 różnych stężeń dla próbek oleju roślinnego oraz oleju pochodzenia naftowego, tzn., dla 0,15; 0,25; 0,50; 0,75; 1 mg/ml. Na podstawie zarejestrowanych widm UV badanych próbek sporządzono krzywą kalibracyjną dla oleju ropopochodnego oraz oleju roślinnego. Granicę detekcji LOD wyznaczono na podstawie krzywych kalibracyjnych. Natomiast granica oznaczalności LOQ określono z zależności: ( $LOQ = 3 \times LOD$ ).

### 5.3.3. Metodyka badań obecności i zawartości grupy estrowej i karbonylowej w olejach z wykorzystaniem widma FT-MIR oraz sposób statystyczne opracowanie wyników

Wykonano widmo powietrza jako widmo odniesienia. Kolejno wykonano widma FT-MIR próbek badanych materiałów zestawionych w tabeli nr 4, dla każdego w pierwotnej postaci – sekwencyjnie w trzech powtórzeniach dla każdego badanego materiału.

Podczas wykonywania widm FT-MIR stosowano za każdym razem te same warunki badania:

- objętość próbki: 15  $\mu\text{l}$ ,
- rozdzielczość: 4  $\text{cm}^{-1}$ ,
- ilość skanów próbki: 256,
- ilość skanów tła: 256,
- zakres liczby falowej: 4000  $\text{cm}^{-1}$  do 600  $\text{cm}^{-1}$ ,
- szczelina: 0,5 cm (ustawiona z wykorzystaniem szczelinomierza),
- temperatura: w zakresie od 20°C do 25°C (temp. pokojowa).

Po wykonaniu widma próbki badanego materiału okienko pomiarowe oczyszczano niepyłącą chusteczką nasączoną acetonem. Kolejne próbki nakładano po odparowaniu acetonu.

W celu statystycznego opracowania metody wykonano widma FT-MIR 11 różnych mieszanin oleju roślinnego oraz oleju pochodzenia naftowego w proporcjach 1:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 oraz 0:1 (v/v). Na podstawie zarejestrowanych widm FT-MIR sporządzono krzywą kalibracyjną dla oleju ropopochodnego oraz oleju roślinnego.

Jako granicę detekcji (LOD) udziału zawartości % (v/v) frakcji roślinnej w mieszaninie (oleju roślinnego (TAG1) oraz pochodzenia naftowego (O2)) przyjmowano wysokość „pików” o 3-krotności średniej wartości amplitudy szumów na zarejestrowanych widmach FT-MIR. Natomiast granicę LOQ wyznaczono z równania ( $\text{LOQ} = 3 \times \text{LOD}$ ). Dla oleju roślinnego, tzn. struktur estrowych w nim zawartych badano wartość transmitancji dla liczby falowej 1100  $\text{cm}^{-1}$  oraz liczby falowej 1747  $\text{cm}^{-1}$ .

### 5.3.4. Metoda badań techniką NP-TLC z zastosowaniem standardowych płytek TLC z żelom krzemionkowym F254

Rozpuszczalnikiem badanych materiałów i ich mieszanin był dichlorometan. Stężenie próbek wynosiło 5 mg/ml rozpuszczalnika. Każdorazowo na płytkę TLC nakładano próbkę o objętości 3  $\mu\text{l}$  za pomocą szklanej mikro-strzykawki o pojemności 5  $\mu\text{l}$ . dbając o minimalną średnicę plamek. W ten sposób masa materiału próbki wynosiła 15  $\mu\text{g}$ , dzięki czemu wyeliminowano tzw. przeładowania zachowując zasadę: masa materiału próbki/masa adsorbentu w przestrzeni plamki startowej < 10<sup>-4</sup> g/g [205].

Próbki na płytce TLC nakładano w odstępach ok. 1,5 cm od brzegów płytki oraz 1 cm między plamkami pod nadmuchem zimnego powietrza (z typowej suszarki do włosów) umieszczonej na wysokości ok. 30 cm nad powierzchnią płytki. Po nałożeniu próbek, płytkę TLC umieszczano na 10 min w suszarce laboratoryjnej w temp. 105°C (doświadczalnie sprawdzono, że 10 minut jest w pełni wystarczające do całkowitego odparowania rozpuszczalnika próbek). Po odparowaniu rozpuszczalnika, płytkę TLC umieszczano w eksykatorze z aktywnym środkiem suszącym. Po naniesieniu plamek oraz wysuszeniu płytki TLC, fotografowano płytkę z plamkami pod lampą UV w świetle  $\lambda = 254 \text{ nm}$  oraz  $\lambda = 365 \text{ nm}$ .

Wysuszoną płytkę TLC z naniesionymi próbkami zawieszano na 10 min nad lustrem eluentu w zamkniętej komorze TLC o trzech ścianach wyłożonych bibułą celulozową zwilżoną na całej wysokości fazą ruchomą. To zapewniało ustalenie się stanu równowagi między oparami fazy ruchomej znajdującej się przy dnie komory TLC oraz powierzchnią sorpcyjną płytki TLC. Wysokość lustra fazy ruchomej nad dnem komory TLC (także TLC-FID) wynosiła 9 mm. Następnie dolny brzeg płytki zanurzano w fazie ruchomej, w ten sposób, aby dolny brzeg każdej plamki znajdował się nad lustrem fazy ruchomej. Chromatogram TLC rozwijano (pod wpływem sił kapilarnych) do momentu, aż faza ruchoma osiągnie określoną wysokość, zgodnie z warunkami określonymi indywidualnie dla każdego

określonego eksperymentu. Po każdym etapie rozwijania w określonej fazie ruchomej płytkę TLC suszono przez 10 min w suszarce laboratoryjnej w temp. 105°C.

W przypadku standardowej analityki w konwencji SARA, w pierwszym etapie chromatogram na płytce TLC rozwijano z wykorzystaniem mieszaniny DCM: metanol (95:5 v/v) do 30% wysokości strefy rozwijania, w drugim z wykorzystaniem toluenu do 60% wysokości strefy rozwijania, z wykorzystaniem n-C6 do 100% wysokości strefy rozwijania. Po zakończeniu rozwijania, płytkę TLC umieszczano w eksykatorze wypełnionym na dnie jodem krystalicznym na 15 min, temp. 35±2°C. Opisanie powyżej czynności wykonywano pod wyciągiem laboratoryjnym.

Ważne jest dokładne wysuszenie płytki TLC po każdym etapie rozwijania. Wizualizacja była wykonywana w formie fotografii pod lampą UV  $\lambda = 365$  nm,  $\lambda = 254$  nm, a także, w świetle widzialnym po ekspozycji w oparach jodu. Podczas wizualizacji pod lampą UV  $\lambda = 254$  nm oraz  $\lambda = 365$  nm obrysowywano plamki ołówkiem, odpowiednio: linią kreskową ( $\lambda = 254$  nm) i ciągłą ( $\lambda = 365$  nm).

### **5.3.5. Metodyka NP-HPLC-BF-UV-Vis/DAD-RID, jako metodyka uzupełniająca w celu potwierdzenia wniosków z badań fotometrycznych oraz TLC na płytkach z żel krzemionkowym**

Odważono badany materiał o masie 20 mg. Następnie dodano 2 ml n-C6, tak by stężenie próbki wynosiło 10 mg/ml. Przygotowaną próbkę filtrowano przez filtr hydrofobowy 0.45  $\mu$ m. Ustawiono przepływ eluentu (n-C6) na 2,0 ml/min. Próbkę o objętości 100  $\mu$ L wprowadzono do pętli zaworu dozującego za pomocą strzykawki chromatograficznej z płasko zakończoną igłą. Stosowano pętlę dozującą o średnicy wewnętrznej 1 mm o dużej objętości do zastosowań semi-preparatywnych. W związku z tym zadbane o to, aby próbka znajdowała się w pętli dozującej po stronie kolumny (by w momencie przestawienia położenia zaworu dozującego do pozycji „inject” była wprowadzana bezpośrednio do kolumny - by nie przepływała przez całą długość pętli dozującej). W 7 minucie rozdzielania chromatograficznego wykonywano przepływ zwrotny eluentu w kolumnie rozdzielczej (BF = 7 min). Całkowity czas rozdzielania i rejestracji chromatogramu HPLC wynosił 25 min. Rozdzielanie oraz elucję wsteczną wykonywano z zastosowaniem kolumny HPLC o wymiarach 250x4mm z wypełnieniem Lichrosphere SI 60 (żel krzemionkowy typu 60 A), o średniej wielkości ziaren 5  $\mu$ m (lub dwóch takich samych kolumn połączonych szeregowo). Eluat z kolumny HPLC przepływał przez 2 szeregowo połączone detektory HPLC: UV-Vis/DAD L-7450 oraz RID, których sygnały były rejestrowane cyfrowo w pamięci komputera z częstotliwością 10 Hz i z rozdzielczością 24 bitową w zakresie -50 mV do +1024 mV oraz w czasie rzeczywistym odwzorowywane na ekranie monitora komputerowego.

### **5.4. Metodyka badań nad opracowaniem procedury grupowego rozdzielania oraz oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników**

#### **5.4.1. Metodyka badań wstępnych nad zastosowaniem HPLC-UV-Vis/DAD-RID-LLSD-BF do grupowego rozdzielania oraz badania składu grupowego olejów o szerokim zakresie polarności składników**

Badania wykonano zgodnie z metodyką opisaną w pkt. 5.3.5. Dodatkowo w badaniach zastosowano detektor LLSD. Eluat z kolumny HPLC przepływał przez 2 szeregowo połączone detektory HPLC: UV-Vis/DAD L-7450 oraz RID, ale także równolegle do detektorów UV-Vis/DAD oraz RI połączony detektor LLSD.



## 5.4.2. Metody techniką NP-TLC z zastosowaniem płytek TLC z żelem krzemionkowym F254 impregnowanych solą berberyny

### 5.4.2.1. Metodyka impregnacji płytek TLC siarczanem berberyny żelu krzemionkowego na powierzchni płytek TLC

Komercyjnie dostępne płytki TLC o wymiarach 200x200 mm przecięto wzdłuż na 4 części o wymiarach 100x100 mm, które położono poziomo na celulozowej bibule na blacie pod włączonym wyciągiem laboratoryjnym. Przygotowano roztwór siarczanu berberyny w metanolu o stężeniu 60 mg/ml. Roztwór siarczanu berberyny rozpylano za pomocą szklanego rozpylacza do TLC umieszczonego na wysokości 30 cm nad płytką. Płytkę TLC spryskiwano równomiernie objętością 50 ml w/w roztworu. Po zakończonej impregnacji płytkę TLC suszono w suszarce laboratoryjnej w temp. 105°C do uzyskania stałej masy. Po odparowaniu rozpuszczalnika płytkę studzono w eksykatorze z materiałem suszącym. W celu określenia masy nałożonej berberyny płytkę TLC dwukrotnie ważono na wadze analitycznej z dokładnością do 0,1 mg. Po raz pierwszy suchą płytkę przed impregnacją, po raz drugi po impregnacji i wysuszeniu i ochłodzeniu do temperatury pokojowej.

### 5.4.2.2. Dozowanie, rozwijanie chromatogramów, wizualizacja plamek, dokumentowanie wyników rozdzielania TLC

Ten etap badań wykonywano zgodnie z opisem w pkt. 5.3.4. z tą różnicą, że stosowano płytki TLC z żelem krzemionkowym impregnowanym siarczanem berberyny, w sposób opisany w pkt. 5.4.4.1., a badania dotyczyły też znacznie większej liczby faz ruchomych (zestawionych poniżej). Badania były wykonywane z jedno-, dwu-, albo trójstopniowym rozwijaniem chromatogramu TLC. Siłę elucyjną poszczególnych rozpuszczalników odczytano z literatury [74,206]. Siłę elucyjną mieszaniny dwuskładnikowej wyznaczono na podstawie poniższej zależności (wzór 2) [74]. Natomiast siłę elucyjną mieszaniny trójskładnikowej wyznaczono najpierw obliczając siłę elucyjną mieszaniny dwóch składników o najniższych siłach, a następnie ich wspólną siłę elucyjną wykorzystano jako  $\epsilon_a$  we wzorze poniżej.

$\epsilon_{ab} = \epsilon_a + \frac{\log(N_b 10^{\alpha n_b (\epsilon_b - \epsilon_a)}) + 1 - N_b}{\alpha n_b}$	2.
---	----

gdzie:

$\epsilon_{ab}$  – siła elucyjna mieszaniny [-]

$\epsilon_a$  – siła elucyjna słabszego składnika fazy ruchomej (rozpuszczalnika) [-]

$\epsilon_b$  – siła elucyjna silniejszego składnika fazy ruchomej (rozpuszczalnika) [-]

$N_b$  – ułamek molowy silniejszego rozpuszczalnika [% mol]

$n_b$  - zredukowany (tj. względny) przekrój poprzeczny cząsteczki silniejszego rozpuszczalnika [-]

$\alpha$  - aktywność powierzchni adsorbentu (( $\alpha=1$  jeśli adsorbent jest bardziej aktywny;  $\alpha=0$  w przypadku pełnej dezaktywacji) [-]

Jedno stopniowe rozwijanie chromatogramów było wykonywane do 100% wysokości warstwy adsorbentu na płytce TLC impregnowanej siarczanem berberyny. Stosowano jedno- dwu- oraz trójskładnikowe fazy ruchome.

Jednoskładnikowymi fazami ruchomymi były:

- n-C6,
- cykloheksan,
- MTBE,
- chloroform,
- DCM.

Dwuskładnikowymi fazami ruchomymi - były mieszaniny n-C6: IPA (v/v) w proporcjach:

- n-C6: IPA 99,7: 0,3,

- n-C6: IPA 99,4: 0,6,
- n-C6: IPA 98,75: 1,25,
- n-C6: IPA 97,5: 2,5,
- n-C6: IPA 95: 5,
- n-C6: IPA 90: 10,
- n-C6: IPA 70: 30.

Trójskładnikowymi fazami ruchomymi były mieszaniny n-C6, IPA oraz MTBE w proporcjach (v/v/v):

- n-C6: IPA: MTBE 98,7: 0,3: 1,0,
- n-C6: IPA: MTBE 98,4: 0,6: 1,0,
- n-C6: IPA: MTBE 97,75: 1,25: 1,0,
- n-C6: IPA: MTBE 96,5: 2,5: 1,0,
- n-C6: IPA: MTBE 87,5: 5,0: 7,5,
- n-C6: IPA: MTBE 40: 10: 50.

Warunki dwustopniowego rozwijania chromatogramu TLC przedstawiono w tabeli 5. Natomiast trzystopniowego w tabeli 6. Rozwijanie stopniowe, wykonywano z zastosowaniem dwóch przeciwstawnych sekwencji:

- zwiększając siłę elucyjną fazy ruchomej w kolejnych etapach rozwijania, zmniejszając jednocześnie dystans rozwijania wzdłuż wysokości warstwy adsorbentu na płytce TLC,
- zmniejszając siłę elucyjną fazy ruchomej w kolejnych etapach rozwijania, jednocześnie zwiększając dystans rozwijania wzdłuż wysokości płytki TLC.

Tabela 5. Warunki 2-stopniowego rozwijania chromatogramów TLC, a także, TLC-FID

Kod metody rozwijania chromatogramów	Etap 1		Etap 2	
	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v/v)	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v/v)
<b>A1</b>	100%	n-C6	70%	n-C6: IPA: TFA 94,25: 5: 0,75
<b>B1</b>	70%	n-C6: IPA: TFA 94,25: 5: 0,75	100% +10min (TLC-FID) +5min (TLC)	n-C6
<b>A2</b>	100% +10min (TLC-FID)	n-C6	70%	n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75
<b>B2</b>	70%	n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75	100% +10min (TLC-FID)	n-C6
<b>A3</b>	100% +15min (TLC-FID) +7,5min (TLC)	n-C6	75%	n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75
<b>B3</b>	60%	n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75	100% +5min (TLC-FID) +2.5min (TLC)	n-C6

n-C6 – n-heksan, IPA – izopropanol, TFA – kwas trifluorooctowy

W przypadku warunków B1, B2, A3, B3, C1, D1, C2 oraz D2 w tabelach 5 oraz 6 zwiększono dystans rozwijania chromatogramu TLC fazą ruchomą o minimalnej sile elucyjnej, w ten sposób, żeby po osiągnięciu przez tzw. czoło fazy ruchomej n-C6 100% wysokości warstwy adsorbentu kontynuowano „rozwijanie” o określony, dobrany doświadczalnie okres czasu podany w tabeli 5 oraz 6 w celu zwiększenia stopnia rozdzielania grupowego S/A.

Po każdym etapie rozwijania, suszono płytki od fazy ruchomej. Zaznaczano położenie plamek obwodząc je ołówkiem linią przerywaną plamki widoczne w świetle  $\lambda=254$  nm oraz linią ciągłą w świetle  $\lambda=365$  nm. Także fotografowano powierzchnię wysuszonej płytki TLC pod lampą UV w świetle  $\lambda=254$  nm oraz  $\lambda=365$  nm. Następnie płytkę eksponowano przez 10 minut w oparach jodu w zamkniętym eksykatorze w temperaturze pokojowej. Po zakończonej ekspozycji w oparach jodu płytkę TLC ponownie fotografowano.



Tabela 6. Warunki 3-stopniowego rozwijania chromatogramów TLC oraz TLC-FID

Kod metody rozwijania chromatogramów	Etap 1		Etap 2		Etap 3	
	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v)	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v)	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v)
C1	100% +10min (TLC-FID) +5min (TLC)	n-C6	60%	toluen	40%	DCM:MeOH 95: 5
D1	40%	DCM:MeOH 95: 5	70%	toluen	100% +10min (TLC-FID) +5min (TLC)	n-C6
C2	100% +10min (TLC-FID)	n-C6	60%	toluen	50%	CHCl <sub>3</sub> :MeOH 97: 3
D2	50%	CHCl <sub>3</sub> :MeOH 97: 3	60%	toluen	100% +10min (TLC-FID)	n-C6

n-C6 – n-heksan, DCM- dichlorometan, MeOH-metanol, CHCl<sub>3</sub> – chloroform

#### 5.4.2.3. Wyznaczanie parametrów retencji, selektywności, rozdzielczości, sposób oceny zawartości składników / składu grupowego

Na podstawie otrzymanych chromatogramów obliczono wartości  $R_f$  i współczynników retencji ( $k$ ) dla poszczególnych plamek – określonych związków / grup związków chemicznych. Wartości parametru  $R_f$  obliczono z zależności (wzór 3) [101]:

$R_f = \frac{a}{b} [-]$	3.
-------------------------	----

gdzie:

$R_f$  – współczynnik opóźnienia [-],

$a$  - dystans od punktu startu do punktu najwyższej intensywności barwy / fluorescencji plamki na chromatogramie TLC [mm],

$b$  - dystans przebyty przez fazę ruchomą od punktu nałożenia plamki na płytkę TLC do końca strefy rozwijania z zastosowaniem określonej fazy ruchomej [mm].

W przypadku migracji powyżej wysokości strefy rozwijania (wysokości adsorbentu na płytce TLC), jako dystans ( $b$ ) zawsze przyjmowano odległość od punktu naniesienia plamki na płytkę TLC do końca wysokości warstwy adsorbentu na płytce TLC.

Współczynnik retencji ( $k$ ) obliczono z zależności (wzór 4) [101]:

$k = \frac{(1 - R_f)}{R_f} [-]$	4.
---------------------------------	----

Współczynnik selektywności ( $\alpha$ ) (obliczono na podstawie zależności [101]):

$\alpha = \frac{k_2}{k_1} [-]$	5.
--------------------------------	----

gdzie:

$k$  – współczynnik retencji [-],

$k_2$  - współczynnik retencji dla plamki migrującej wolniej (niżej) na płytce TLC [-],

$k_1$  – współczynnik retencji dla plamki migrującej szybciej (wyżej) w tych samych warunkach [-],

$\alpha$  – współczynnik selektywności [-].

#### 5.4.2.4. Statystyczne opracowanie wyników TLC

Dla porównania retencji na płytkach TLC nieimpregnowanych oraz impregnowanych obliczano rozstęp (R), z zależności (wzór 6):

$R =  (k_j - k_i)  \text{ dla wartości } k \text{ ok } 3 [-]$	6.
---	----

gdzie:

R – rozstęp parametrów retencji dla płytek TLC impregnowanych i nieimpregnowanych solą berberyny [-],  
 $k_j$  – wartość współczynnika retencji dla określonego związku chemicznego / grupy związków chemicznych (dla określonej plamki na chromatogramie TLC) z adsorbentem bez impregnacji,  
 $k_i$  – dla adsorbentu z impregnacją (jako wartość bezwzględna różnicy wartości współczynników retencji (k) dla określonego związku chemicznego / grupy związków chemicznych - określonych tych samych plamek na chromatogramie TLC z adsorbentem bez impregnacji oraz po impregnacji siarczanem berberyny).

#### 5.4.3. Metodyka badań techniką TLC-FID

##### 5.4.3.1. Aktywacja pręcików i nakładanie próbek na pręciki TLC-FID

Dziesięciopręcikową ramkę Chromarod SIII aktywowano przez „wypalanie” każdego z pręcików umieszczonych w ramce w płomieniu powietrzno - wodorowym w głowicy FID analizatora TLC-FID. Jednokrotne z prędkością 0,3 cm/s oraz dwukrotne z prędkością 0,2 cm/s. Tzn., przed dozowaniem roztworu rozdzielanej mieszaniny każdy pręcik był przeprowadzany ze stałą prędkością zaprogramowaną w analizatorze latroscan przez płomień powietrzno- wodorowy, łącznie trzykrotnie. Po aktywowaniu ramkę z pręcikami Chromarod SIII umieszczono w ekcykatorze z substancją suszącą na 10 min do czasu ostygnięcia.

Materiał badawczy rozdzielany i badany techniką TLC-FID w ramach badań tej pracy zestawiono w tabeli 4. Jako rozpuszczalnik próbek stosowano DCM lub aceton (aceton w przypadku MAG oraz DAG, bardzo słabo, lub nierozpuszczalnych w DCM). Stężenie próbek wynosiło 5 mg/ml rozpuszczalnika. Stężenie dobrano tak, aby uniknąć tzw. przeładowania zgodnie z zasadą: masa materiału próbki/ masa adsorbentu <  $10^{-4}$  g/g [205]. Próbki nakładano na pręciki TLC-FID umieszczone w ramce za pomocą automatycznego dozownika próbek. Nakładano 0,5  $\mu$ l próbki na pręcik, tzn. ok. 2,5  $\mu$ g.

Po nałożeniu próbek, ramkę TLC-FID umieszczano na 10 min w suszarce laboratoryjnej w temp. 105°C. Po całkowitym odparowaniu rozpuszczalnika, ramkę TLC-FID umieszczano w ekcykatorze z aktywnym środkiem suszącym - bezwodnym siarczanem sodu.

##### 5.4.3.2. Kondycjonowanie adsorbentu na powierzchni pręcików Chromarod SIII, rozwijanie chromatogramów TLC-FID, rejestracja chromatogramów

Dla ustalenia się stanu równowagi między oparami fazy ruchomej w komorze TLC oraz na powierzchni adsorpcyjnej pręcików Chromarod SIII, ramkę z naniesionymi na pręciki TLC-FID próbkami zawieszano na 10 min nad lustrem fazy ruchomej w zamkniętej komorze TLC o trzech ścianach wyłożonych bibułą celulozową zwilżoną na całej wysokości fazą ruchomą. Wysokość lustra fazy ruchomej wynosiła 20 mm nad dnem komory. Następnie ramkę z pręcikami TLC-FID zanurzano w fazie ruchomej w ten sposób by dolny brzeg plamek każdej próbki znajdował się nad lustrem fazy ruchomej. Pręciki TLC rozwijano do określonej wysokości wg warunków metody, którą stosowano. Opis warunków metod zastosowanych w badaniach TLC-FID przedstawiono w tabelach 5 oraz 6. Po każdym etapie rozwijania ramkę z pręcikami TLC-FID suszono w temperaturze 105°C przez 10 min. To zapewniało całkowite odparowanie fazy ruchomej. Przed każdym etapem rozwijania ramkę z wysuszonymi pręcikami TLC-FID umieszczano w ekcykatorze ze środkiem suszącym - bezwodnym siarczanem sodu.

### 5.4.3.3. Wyznaczanie parametrów – retencji, selektywności, rozdzielczości, oznaczania składu grupowego

Po ostatnim etapie rozwijania chromatogramu TLC-FID (w przypadku rozwijania w kilku etapach) i po całkowitym wysuszeniu powierzchni adsorbentu na powierzchni pręcików TLC-FID, ramkę z pręcikami umieszczano w analizatorze latroscan z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym o głowicy FID specjalnej konstrukcji (w analizatorze TLC-FID z analogowym sygnałem wyjściowym detektora FID). Podczas mechanicznego przemieszczania każdego pręcika ze stałą prędkością przez płomień wodoru – powietrze za pomocą mechanizmu analizatora TLC-FID, był „wykonywany” analogowej postaci chromatogram dla każdego pręcika oraz rejestrowano w sposób cyfrowy w pamięci komputera. Natężenie przepływu wodoru wynosiło 150 ml/min, powietrza 1,8 l/min. Prędkość przemieszczenia każdego pręcika przez płomień w głowicy detektora TLC-FID wynosiła 0,2 cm/s.

Dalszemu opracowaniu podlegały chromatogramy zapisane cyfrowo przez oprogramowanie Chomik z częstotliwością 40 Hz oraz rozdzielczością ok. 16 bitową. Piki na chromatogramach TLC-FID odpowiadające określonym związkom chemicznym, lub grupom związków chemicznych były „rozdzielane” metodą kropli. W celu „identyfikacji”, czyli określenia jakiego związku chemicznego/grupy związków chemicznych odpowiada określony pik na chromatogramie TLC-FID posilkowano się odpowiednimi rezultatami z badań TLC tego samego materiału. Było to z tego powodu z całą pewnością uzasadnione, że podczas badań wstępnych, a także na podstawie doniesień literatury stwierdzono całkowitą zgodność kolejności pików na chromatogramach TLC na płytkach żelu krzemionkowego impregnowanych solą berberyny i na pręcikach Chromarod SIII.

Piki na chromatogramach TLC-FID „rozdzielano” tzw. metodą kropli (minimum do minimum, albo linia zerowa – minimum, lub minimum – linia zerowa). Skład grupowy, lub % udział poszczególnych związków chemicznych w badanej mieszaninie obliczano podczas integracji powierzchni metodą normalizacji prostej (bez współczynników korygujących) jako udziały powierzchni poszczególnych pików (związków chemicznych, bądź grup związków chemicznych) w stosunku do sumy powierzchni wszystkich pików na chromatogramie TLC-FID.

Na podstawie maksimum każdego piku, obliczano wartości  $R_f$ . Na podstawie wartości  $R_f$  wartości współczynników retencji ( $k$ ). Kolejno, współczynniki selektywności ( $\alpha$ ) w sposób jak opisano dla TLC (pkt. 5.4.2.3.).

### 5.4.3.4. Statystyczne opracowanie wyników TLC-FID

Wartości parametrów retencji ( $k$ ) dla TLC oraz TLC-FID są wartościami średnimi otrzymanymi dla co najmniej dwóch niezależnych rozdzielających. Dla oceny rozrzutu wartości współczynników retencji ( $k$ ) obliczono odchylenia standardowe dla  $k \in (1,5; 5)$ .

W obliczeniach zawartości poszczególnych składników/grup składników zastosowano metodykę krzywej kalibracyjnej (*External Standard*) przy założeniu liniowego przebiegu funkcji kalibracyjnej oraz z tzw. z wymuszonym przejściem krzywej przez punkt (0,0).

Jako granicę detekcji (LOD) masy składnika/masy grupy składników dla TLC-FID przyjmowano wysokość pików o 3-krotności średniej wartości amplitudy szumów na zarejestrowanych cyfrowo chromatogramach TLC-FID w  $\mu V$ . Tzn., w przypadku średniej wartości amplitudy szumów wynoszącej ok. 50  $\mu V$ , średnia wysokość pików odpowiadających LOD wynosiła ok. 150  $\mu V$ . Natomiast jako LOQ przyjęto 6-krotność średniej amplitudy szumów na chromatogramie TLC-FID. Tzn.,  $3 \times LOD =$  ok 450  $\mu V$ . Graniczną masę składnika/grupy składników odpowiadających LOQ wyznaczono w  $\mu g$  na podstawie krzywych kalibracyjnych  $y=ax$  ( $y$  – masa składnika / grupy składników wprowadzonych na pręcik Chromarod SIII w  $\mu g$ ,  $x$  –powierzchnia piku w [ $\mu V \times sek$ ] o wysokości ok. 450  $\mu V$ ,  $a$  – współczynnik kierunkowy [ $\mu g/(\mu V \times sek)$ ]. W praktyce granicę oznaczalności LOQ obliczano na podstawie krzywych kalibracyjnych z zależności:  $LOQ=450/a$  (jako masę oznaczanego składnika/grupy składników odpowiadających pikom na chromatogramach TLC-FID o wysokości średniej ok 450  $\mu V$  (3-krotność LOD ( $LOQ = 3 \times LOD$ )).

## 6. WYNIKI I DYSKUSJA

### CZĘŚĆ 1.

#### 6.1. Badania i prace nad „polową” oraz laboratoryjną procedurą kontroli obecności i oceny zawartości naftowej / naturalnej frakcji w olejach smarnych urządzeń tnących i metodyka raportowania rezultatów

##### 6.1.1. Idea oraz podstawy do opracowania procedury kontroli obecności i oceny zawartości naftowej/ naturalnej frakcji w olejach smarnych urządzeń tnących

Każdy wysoko rafinowany olej pochodzenia naftowego otrzymany z ropy naftowej przydatnej do produkcji tzw. mineralnych olejów smarowych zawiera m. in. grupę nisko lotnych alifatycznie i alicyklicznie podstawionych, szczególnie jedno- oraz w niewielkim udziale dwu- i wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych [3,12,207]. Potwierdziły to także w sposób niewątpliwy badania Kamińskiego i innych, w tym w ramach prac doktorskich Gudebskiej i Kartanowicza [11,14,72,158]. Wszystkie tego rodzaju węglowodory aromatyczne w przypadku węglowodorów wielopierścieniowych charakteryzują się absorpcją światła UV w zakresie do nawet 420 nm. Jest ona niezwykle silna poniżej  $\lambda = 250$  nm oraz mają miejsce charakterystyczne widma absorpcyjne o maksimach w zakresie  $\lambda = 260$  do 320 nm (przykłady widm w zakresie UV olejów pochodzenia naftowego zamieszczono w „Aneksie pkt. A1” niniejszej pracy (rysunki A1-5, A1-6, A1-8, A1-11 oraz A1-12)). Równocześnie powszechnie wiadomo, że takie węglowodory aromatyczne charakteryzują się błękitną fluorescencją wzbudzaną przez światło UV  $\lambda = 365$  nm.

Oleje pochodzenia naturalnego są tri-estrami glicerolu i kwasów tłuszczowych. Natomiast ich bezpośrednie pochodne o charakterze produktów hydrolizy, to di-estry, mono-estry glicerolu, wolne kwasy tłuszczowe i bardzo trwałe, bardzo wysoko polarny glicerol (w przypadku całkowitej hydrolizy). Produkty utlenienia to organiczne związki chemiczne posiadające struktury tzw. tłuszczowych kwasów nadtlenowych zwanych czasem strukturami nad-kwasów tłuszczowych [3,41,93]. Wszystkie te organiczne związki chemiczne zawierają grupy karbonylowe  $>C=O$  w strukturze molekularnej, większość zawiera grupy estrowe  $-COOR$ , a część - karboksylową  $-COOH$  [161]. Te grupy związków chemicznych nie posiadają pierścieni aromatycznych. Stąd ich widma charakteryzują się absorpcją światła UV w zakresie poniżej  $\lambda = 250$  nm oraz często występowanie maksimum absorpcji w zakresie  $\lambda = 220-240$  nm (przykłady widm w zakresie UV olejów pochodzenia roślinnego zamieszczono w „Aneksie pkt. A1” niniejszej pracy (rysunki od A1-1 do A1-3 oraz A1-10)). Nie wykazują jakiegokolwiek fluorescencji pod wpływem światła UV  $\lambda = 365$  nm.

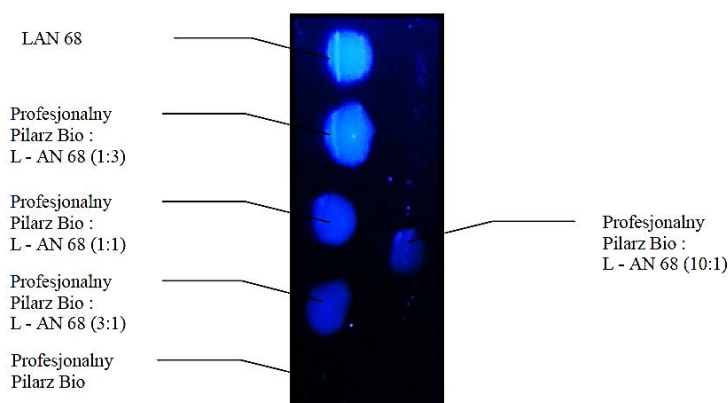
Powyższa wiedza stała się podstawą opracowania na rzecz Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych (RDLP) w Gdańsku, możliwie prostych do wykonania oraz jednocześnie prowadzących do bezspornych wniosków, terenowych (in situ) i laboratoryjnych metodyk oceny obecności i zawartości w oleju smarowym składników pochodzenia naftowego, czy oleju pochodzenia naturalnego, szczególnie w olejach smarnych urządzeń tnących. Metodyk, przydatnych też do oceny składu grupowego i grup składników w olejach smarnych każdego rodzaju.

Na podstawie tej wiedzy opracowano również stosunkowo szybkie i względnie proste do wykonania laboratoryjne spektrofotometryczne metodyki identyfikacji oraz oceny udziału oleju mineralnego i naturalnego w oleju smarowym na drodze badania obecności i „stężenia” określonych wymienionych powyżej struktur molekularnych, a także z wykorzystaniem badania składu grupowego oleju z wykorzystaniem stopniowej cienkowsarstwowej chromatografii cieczowej. Opracowane metodyki powinny być również przydatne dla oceny składu grupowego każdego oleju o charakterze smarnym, w tym, olejów hydraulicznych, które w przypadku awarii przewodów transportowych lub innych modułów maszyn, albo pojazdów pracujących w naturalnym środowisku mogą być przyczyną poważnego zanieczyszczenia środowiska. Pierwsza część niniejszej rozprawy jest poświęcona prezentacji ogólnie opisanych powyżej badań oraz wniosków sformułowanych na tej podstawie.

### 6.1.2. Badania i prace nad wyposażeniem i metodyką w warunkach in situ identyfikacji oraz oceny zawartości ropopochodnych węglowodorów aromatycznych w olejach smarowych z wykorzystaniem fluorescencji w świetle UV $\lambda = 365$ nm oraz nad walidacją procedury

W literaturze można znaleźć pracę, gdzie badano fluorescencję olejów, w ten sposób, że olej wylewano na powierzchnię wody, która była umieszczona w czarnym pojemniku. W przypadku stosowania tej metody obserwowano rozmycie próbek na powierzchni wody [82].

Wstępne badania przeprowadzono nakładając próbki olejów na kartce czarnej tzw. twardej bibuły celulozowej (rysunek 7). Krople oleju były w części wchłaniane przez papier. Średnica kropli oleju z czasem rosła. Część naniesionego na papier oleju pozostawała w formie ciekłej z wypukłym meniskiem, powodując refleksy niebieskiej części światła lampy UV  $\lambda = 365$  nm co utrudniało interpretację rezultatów.



Rysunek 7 Zestawienie plamek badanych olejów: L-AN 68 (O2-tabela 4), Profesjonalny Pilarz Bio (O5 – tabela 4) oraz ich mieszanin naniesionych na czarną bibułę, ujawnione pod wpływem promieniowania o długości fali  $\lambda = 365$  nm [208]

W celu udoskonalenia metodyki zaprojektowano płytkę z wgłębieniami w kształcie walca w wersji z 8 wgłębieniami, wykonaną i zastosowaną w ramach niniejszej pracy (pkt.5.3.1. – rysunek 4 i 5) [49]. W przypadku stosowania płytki do badań metodą kroplową próbki pozostały niezmiennione pod względem kształtu. A także co najważniejsze charakteryzowały się w przybliżeniu płaskim meniskiem, co zdecydowanie ułatwiało ocenę obecności i zawartości w oleju frakcji naftowej. We wgłębieniach umieszczano po 0,2 ml próbki („krople”) poszczególnych badanych olejów.

Metodyka badań z wykorzystaniem testu kroplowego opracowana w ramach niniejszej rozprawy pracy (opis metody w pkt. 5.3.1., rysunek 6) zastąpiła wcześniej niedoskonałą metodykę z wykorzystaniem kropli oleju umieszczanych na powierzchni czarnego papieru tworzących menisk wypukły, refleksy od lampy UV (rysunek 7). Metodyka została opublikowana [49].

Na rysunku 8 zamieszczono przykład rezultatów badanie fluorescencji 14 olejów wg wykazu w tabeli 4: gliceryny, olejów jadalnych - słonecznikowego oraz rzepakowego, technicznego FAME, bazy syntetycznej typu polialfaolefinowego, mineralnych baz olejowych SAE 10/90 i 30/90, oraz olejów komercyjnie dostępnych: oleju do smarowania układu tnącego maszyn tnących produkowanych z mieszaniny bazy roślinnej oraz mineralnej z dodatkami uszlachetniającymi, oleju maszynowego, mineralnego, oleju do smarowania układu tnącego produkowanego wyłącznie na bazie roślinnej z dodatkami uszlachetniającymi, frytury, oleju hydraulicznego oraz oleju turbinowego. W przypadku gliceryny, olejów roślinnych, frytury, FAME oraz oleju do smarowania układu tnącego produkowanego na bazie roślinnej nie obserwuje się fluorescencji (rysunek 8 – GL, TAG1, TAG2, FAME, O3). W przypadku oleju do smarowania układów tnących wyprodukowanego na bazie mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego (rysunek 8 – O1) obserwuje się słabą jasno niebieską barwę świadczącą o obecności w niewielkim stężeniu oleju bazowego pochodzenia naftowego. Natomiast w przypadku olejów pochodzących z ropy naftowej (rysunek 8- S10, S30, O2, H oraz T) obserwuje się wyraźną



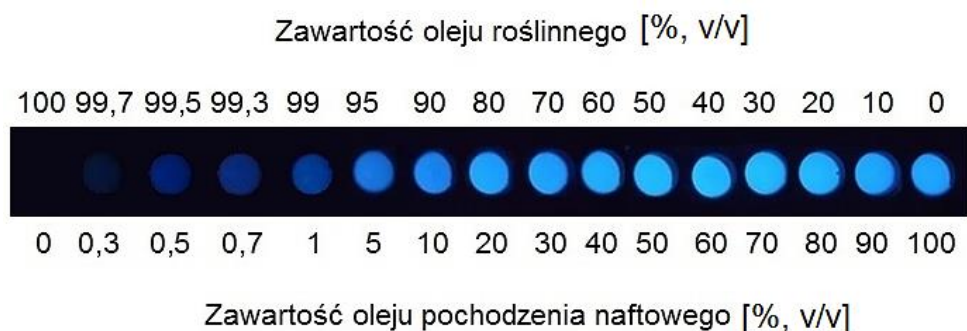
niebieską fluorescencją spowodowanej przez węglowodory aromatyczne podstawione alifatycznie i/lub alicyklicznie.



Rysunek 8. Zestawienie fotografii dla próbek nałożonych na czarną, matową płytkę, umieszczone w zaciemnionym miejscu i oświetlone lampą typu LED UV  $\lambda = 365$  nm; Próbki kolejno: GL-gliceryna bezwodna; TAG1- olej słonecznikowy; TAG2- olej rzepakowy; FAME- FAME techniczne; PAO-olejowa baza syntetyczna typu polialfaolefinowego; S10- mineralna baza olejowa SAE 10/90; S30- mineralna baza olejowa SAE 30/90; O1-olej do smarowania układu tnącego produkowanego z mieszaniny bazy roślinnej oraz mineralnej z dodatkami uszlachetniającymi; O2- olej maszynowy, mineralny; O3- olej do smarowania układu tnącego produkowanego na bazie roślinnej z dodatkami uszlachetniającymi; O4- frytura; H- olej hydrauliczny; T- olej turbinowy

Fotografia na rysunku 9 przedstawia fluorescencję 16 kropli modelowych mieszanin oleju roślinnego i mineralnego o wzajemnych proporcjach objętościowych podanych na tym rysunku. Na rysunku 9 – na górze przedstawiono objętościowy udział oleju roślinnego (TAG1 - olej roślinny, słonecznikowy) w %, v/v, a na dole odpowiednio: objętościowy udział oleju pochodzenia naftowego (O2 - olej maszynowy, mineralny, charakterystyka w tabeli 4) w %, v/v.

Wykonano 6 pomiarów wartości intensywności tła (stosując w programie graficznym próbnik koloru, który wskazywał wartość intensywności badanego koloru), wynik uśredniono. Do ustalenia intensywności koloru wykorzystano aplikację Paint (Microsoft, Waszyngton, Stany Zjednoczone). W przypadku każdej badanej próbki wykonano trzy pomiary intensywności koloru, a następnie wynik uśredniono. Fotografiię otworzono za pomocą aplikacji, a następnie z wykorzystaniem próbnika do barw zidentyfikowano jej intensywność. LOD przyjęto najmniejszy wynik powyżej wartości 0. Za LOQ przyjęto 3-krotność LOD ( $LOQ = 3 \times LOD$ ).



Rysunek 9. Fluorescencja mieszanin oleju roślinnego i naftowego w różnych proporcjach (objętościowych) oświetlona lampą UV LED,  $\lambda = 365$  nm

Na podstawie wykonanych badań (rysunek 9) można stwierdzić, że granica wykrywalności (LOD) dla opisywanej metodyki kroplowej wynosi ok. 1% (v/v) oleju mineralnego. Podczas gdy granica oznaczalności (LOQ) wynosi ok 3% (v/v) oleju mineralnego [49]. Zawartość wyższa niż 40% oleju mineralnego w próbce, nie zwiększa obserwowanej intensywności niebieskiej barwy kropli.

Opracowana metodyka kroplowa nie charakteryzuje wysoką czułością, pod względem określania zawartości ropopochodnych olejów bazowych w oleju smarnym. Jednakże, jest metodyką niezwykle prostą i łatwą do wykonania także w terenie (in situ).





Wiele wykonanych badań wykazało, że fluorescencyjny test kroplowy pozwala na podstawie wizualnej obserwacji wprawnego kontrolera stwierdzić wysoce prawdopodobną obecność w oleju smarnym oleju bazowego pochodzenia naftowego już na poziomie zawartości ok. 0.5% (v/v) z drugiej strony tak niska zawartość nie ma praktycznego znaczenia użytkowego z punktu widzenia tzw. fałszowania oleju. Stąd jako terenowa metodyka przesiewowa sprawdził się doskonale w praktyce w ramach współpracy z RDLP w Gdańsku.

Należy dodać, że niebieską fluorescencję może wykazywać nie tylko wysoko rafinowany olej bazowy pochodzący z ropy naftowej, ale także, nisko lotny tzw. alkilat, stosowany ostatnio jako olej bazowy do tzw. komponowania olejów smarnych, będący produktem przemysłu petrochemicznego, w istocie też pochodzenia z ropy naftowej. Oczywiście, także każdy olej innego rodzaju otrzymany na bazie oleju naftowego z ropy naftowej, jak olej hydrauliczny, turbinowy, przekładniowy, silnikowy mineralny i tzw. półsyntetyczny i inne. Obecność fluorescencji może być również spowodowana przez inne składniki oleju, niż alifatycznie i/lub alicyklicznie podstawione węglowodory aromatyczne, np. przez pochodne fenoli, czy przez barwniki stosowane do barwienia oleju, zanieczyszczenia chlorofilem lub pochodnymi chlorofilu itp. Jednak wówczas mamy do czynienia z inną, niż błękitna barwą fluorescencji wzbudzanej przez lampę UV  $\lambda=365$  nm.

Test kroplowy nie umożliwia również określenia obecności tzw. hydrokrakowanego lub izomeryzowanego oleju, produkowanych na bazie ropy naftowej. Tego typu bazy olejowe składają się z bardzo stabilnych nisko lotnych organicznych związków chemicznych strukturalnie podobnych do poli-izoetylenu, lub poli-izopropylenu, lub do syntetycznych poliestrów i ich różnych mieszanin. Wówczas nie występuje absorpcja światła UV w długości fali wzbudzenia  $\lambda=365$  nm i nie występuje zjawisko fluorescencji.

W przypadku braku fluorescencji podczas testu stwierdza się, że olej może zostać zakwalifikowany jako olej pochodzenia roślinnego lub syntetyczny (typu polialfaolefinowego lub poliestrowego).

Test kroplowy okazał się doskonałą, połową metodą kontroli technicznej olejów smarowych stosowanych w urządzeniach z otwartym układem tnącym na terenach leśnych, takich jak pilarki łańcuchowe czy harwestery. Jego wdrożenie do praktyki jest bardzo proste, a koszt bardzo niewielki. Standaryzacja takich terenowych kontroli technicznych staje się ułatwiona, gdy są stosowane 4 próbki olejów odniesienia (1-olej roślinny, rzepakowy, 2- olej smarowy na bazie roślinnej zawierający pakiet dodatków uszlachetniających, 3- olej mieszany w połowie roślinny oraz w połowie mineralny (v/v), 4- olej naftowy, maszynowy). W badaniu kontrolnym powinno się jedną próbkę pobierać ze zbiornika urządzenia, a drugą z kanistra z olejem. Metoda całkowicie eliminuje etap przygotowania próbki. Jej stosowanie nie wymaga wyspecjalizowanego pracownika. Jednak wymaga przeszkolenia w zakresie wykonywania testu. Jeżeli obecność fluorescencji została potwierdzona podczas testu kroplowego, powinno się przeprowadzić dodatkowe badania w celu potwierdzenia obecności i określenia zawartości oraz składu grupowego oleju. [49,142], jak to opisano w dalszych podrozdziałach niniejszej pracy.

#### Rezultaty powyższych badań uzasadniają poniższe wnioski:

1. Opracowano prosty test przesiewowy, wykorzystujący zjawisko fluorescencji oleju światło  $\lambda=365$  nm umieszczonego we wgłębieniu płytki wykonanej z czarnego materiału, umieszczonej w komorze bez dostępu światła z otoczenia do badania obecności i oceny zawartości frakcji węglowodorów aromatycznych w oleju oraz opracowanie adekwatnego wyposażenia technicznego (płytki do badań oraz komory wizualizującej) – (metodyka przesiewowa in situ).
2. Opracowano wyposażenie techniczne do wykonywania testu kroplowego w terenie - komorę wizualizacyjną oraz płytkę do wykonania badania, która wykonana jest z czarnego matowego materiału z 8 jednakowymi pod względem średnicy i objętości wydrążeniami, co zapewnia możliwość porównywania między sobą badanych materiałów.
3. Opracowana metodyka:
  - pomija etap przygotowania próbki,

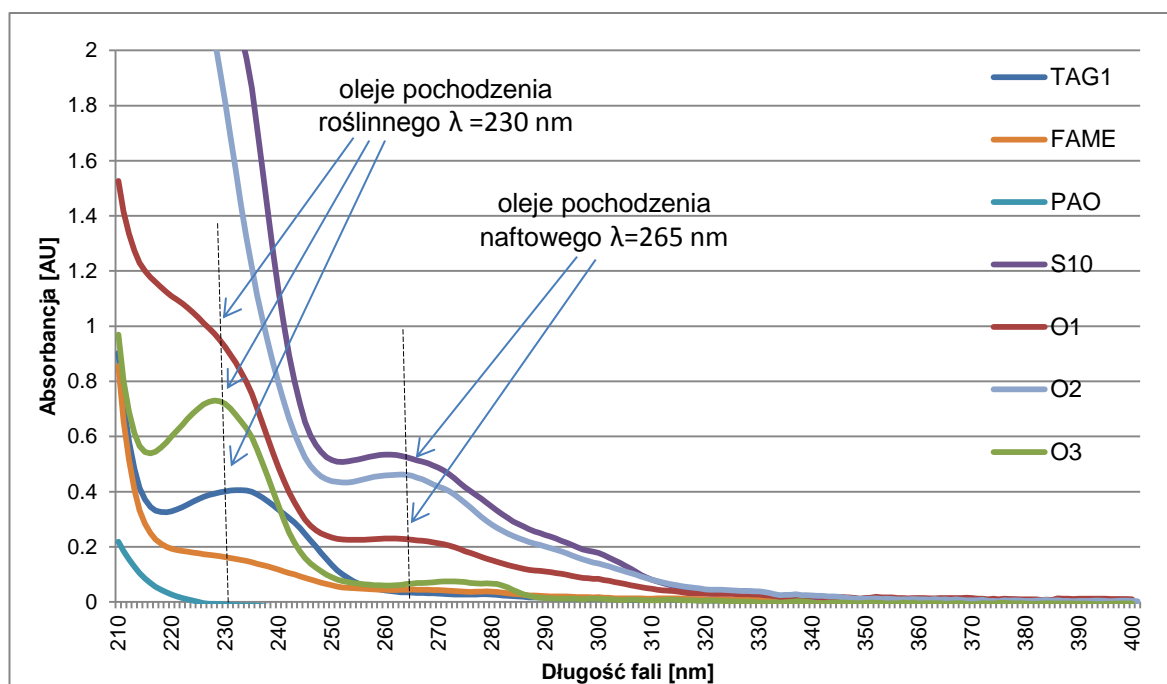
- można badać materiały pobrane bezpośrednio ze zbiornika harwestera (zbiornika oleju), z beczki, z kanistra, lub bezpośrednio z urządzenia tnącego (zbiornika na olej w pilarcie łańcuchowej),
  - jest łatwa w wykonaniu, szybka i ekonomiczna,
  - umożliwia wykonanie badania w terenie lub w laboratorium
  - nie wymaga odczynników chemicznych,
  - wymaga próbek odniesienia oraz krótkiego szkolenie dot. wykonania testu.
4. W przypadku badania oleju pochodzenia naftowego, zawierającego najbardziej toksyczne dla środowiska i zdrowia alifatycznie/alicyklicznie podstawione węglowodory aromatyczne, typowe dla tzw. mineralnych olejów bazowych z rafinacji ropy naftowej, ma miejsce jasno błękitna fluorescencja oleju. W przypadku braku naftowego oleju bazowego w badanym oleju smarowym, nie występuje niebieska fluorescencja.
  5. Występowanie błękitnej fluorescencji w teście kropkowym nie może być informacją rozstrzygającą o obecności oleju bazowego pochodzenia naftowego w badanym materiale, ponieważ podobną fluorescencję mogą wykazywać też niektóre dodatki uszlachetniające, albo tzw. znacznik lub barwnik organiczny dodany do oleju przez producenta. Dla uzyskania informacji o rzeczywistym składzie grupowym oleju konieczne są dodatkowe badania.

### **6.1.3. Badania nad możliwością identyfikacji oraz oceny zawartości węglodorów aromatycznych w olejach z wykorzystaniem spektrofotometrii w zakresie UV**

Z zastosowaniem spektrofotometru UV - HP DAD 8452A o amplitudzie szumów własnych w zakresie 220 do 400 nm poniżej  $10^{-3}$  AU, wykonano widma UV dla olejów wg wykazu w tabeli 4 w postaci ich roztworów stężeniu 0,25 mg oleju/ml n-C6. Widma UV wszystkich zbadanych materiałów wyszczególnionych w tabeli 4 zamieszczono w Aneksie nr 1, pkt. A1. Badania oraz ich wyniki zostały również opublikowane [49]. Widma UV wykonano dla: olejów jadalnych – słonecznikowego oraz rzepakowego, FAME, syntetycznego oleju bazowego typu polialfaolefinowego, mineralnych olejów bazowych SAE 10/90 oraz 30/90, komercyjnie dostępnych olejów smarowych: produkowanego z mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego z dodatkami uszlachetniającymi, oleju mineralnego, maszynowego, oleju do smarowania maszyn tnących produkowanego wyłącznie na bazie olejów roślinnych z dodatkami uszlachetniającymi, tzw. frytury (oleju jadalnego po wytwarzaniu frytek), standardowego naftowego oleju hydraulicznego oraz oleju turbinowego z ropy naftowej.

Na rysunku 10 przedstawiono zestawienie widm reprezentujących najważniejsze grupy zbadanych materiałów: oleje roślinne (TAG1- olej słonecznikowy), bazowe syntetyczne typu PAO 6 (PAO), typowy mineralny olej bazowy o niskiej lepkości SAE 10/90 (S10), estry metylowe kwasów tłuszczowych FAME, stosowane jako tlenowy dodatek do olejów napędowych (tzw. paliwa Diesla - FAME), a także widma reprezentatywne dla kilku rodzajów olejów smarowych o różnym składzie grupowym: olej smarowy do pilarek wytworzony z zastosowaniem oleju bazowego jako mieszaniny oleju roślinnego oraz mineralnego oleju bazowego (O1), naftowy, smarowy olej maszynowy niskiej klasy (O2), wysokiej jakości smarowy olej do urządzeń tnących typu Harvester wyprodukowany na bazie oleju roślinnego, zawierający pakiet dodatków uszlachetniających otrzymanych z olejów roślinnych i ich pochodnych (O3).

W celu doboru korzystnego stężenia roztworu badanych olejów i FAME w n-C6 wykonano widma UV dla stężeń 0,1; 0,25; 1 mg/ml n-C6. Stężenie 0,1 mg oleju/ml n-C6 okazało się zbyt niskie dla olejów roślinnych. Natomiast stężenie 1 mg oleju/ml n-C6, zbyt wysokie dla olejów pochodzenia naftowego. Najbardziej korzystne stężenie to 0,25 mg/ml n-C6, które zastosowano dla wykonania widm UV na rysunku 10 oraz zamieszczonych w Aneksie pkt. A1.



Rysunek 10. Zestawienie widm UV wybranych próbek olejów bazowych oraz smarowych (o stężeniu 0,25 mg oleju/ml n-C6). Oznaczenia: TAG1 - olej słonecznikowy; FAME - estry metylowe kwasów tłuszczowych, stosowane jako tlenowy dodatek do olejów napędowych (tzw. paliwa Diesla - FAME); PAO – olej bazowy syntetyczny typu PAO 6; S10 -typowy mineralny olej bazowy o niskiej lepkości SAE 10/90; O1 - olej smarowy do piarek wytworzony z zastosowaniem oleju bazowego jako mieszanki oleju roślinnego oraz mineralnego oleju bazowego; O2 - naftowy, smarowy olej maszynowy niskiej klasy; O3 - wysokiej jakości smarowy olej do urządzeń tnących typu Harvester wyprodukowany na bazie oleju roślinnego, zawierający pakiet dodatków uszlachetniających otrzymanych z olejów roślinnych i ich pochodnych

Analizując przebieg widm (rysunek10) oraz położenie maksimum absorpcji światła ( $\lambda_{max}$ ), można ocenić skład grupowy badanego oleju pod względem określonych grup składników. Widać, że dla olejów smarowych pochodzących z rafinacji ropy naftowej mają miejsce maksima absorpcji dla węglowodorów aromatycznych dla ok  $\lambda = 265$  nm (widma UV olejów pochodzenia naftowego, tj. bazy olejowej SAE 10/90, SAE 30/90, oleju maszynowego, oleju hydraulicznego oraz turbinowego charakteryzują się maksimum absorpcji dla  $\lambda = 265$  nm, co przypisuje się obecności jednopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (głównie alifatycznie/alicyklicznie podstawionemu benzenowi).

Dla olejów roślinnych, widma UV oleju słonecznikowego, rzepakowego, fryturzy, oleju do smarowania układów tnących produkowanego na bazie roślinnej z dodatkami uszlachetniającymi oraz dla FAME mają maksimum absorpcji przy długości fali światła UV w zakresie 230-235 nm ( $\lambda = 235$  nm - być może dla utlenionych składników olejów roślinnych – zawartych we fryturze). W przypadku oleju do pił łańcuchowych produkowanego na bazie mieszanki oleju roślinnego i naftowego widmo charakteryzuje się dwoma znaczącymi maksimami absorpcji dla  $\lambda = 230$  i  $\lambda = 265$  nm (rysunek 10 widmo O1).

Powyższe stwierdzenia są zgodne z wynikami badań Totten'a i innych [209], którzy badali widma olejów smarowych w zakresie UV-Vis. Maksymalną absorpcję dla węglowodorów mono-, di- i multi-aromatycznych zaobserwowano odpowiednio przy  $\lambda = 197$  nm,  $\lambda = 230$  nm i  $\lambda = 260$  nm. Natomiast Morassuti i inni [145] wykazali dwa główne pasma absorpcji z maksimum około  $\lambda = 230$  i  $\lambda = 260$  nm, odpowiadające regionom di- i poli-aromatycznym, zwanym także wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi.

Widmo UV dla syntetycznego oleju polialfaolefinowego (PAO) (rysunek 10, widmo UV dla PAO) charakteryzuje się niską absorpcją światła, tylko w zakresie  $\lambda = 200-220$  nm, bez maksimum.

Badania wykonane w ramach tej części pracy, jak również badania w literaturze wykazują że spektrofotometria absorpcyjna w zakresie nadfioletu umożliwia identyfikację struktur aromatycznych

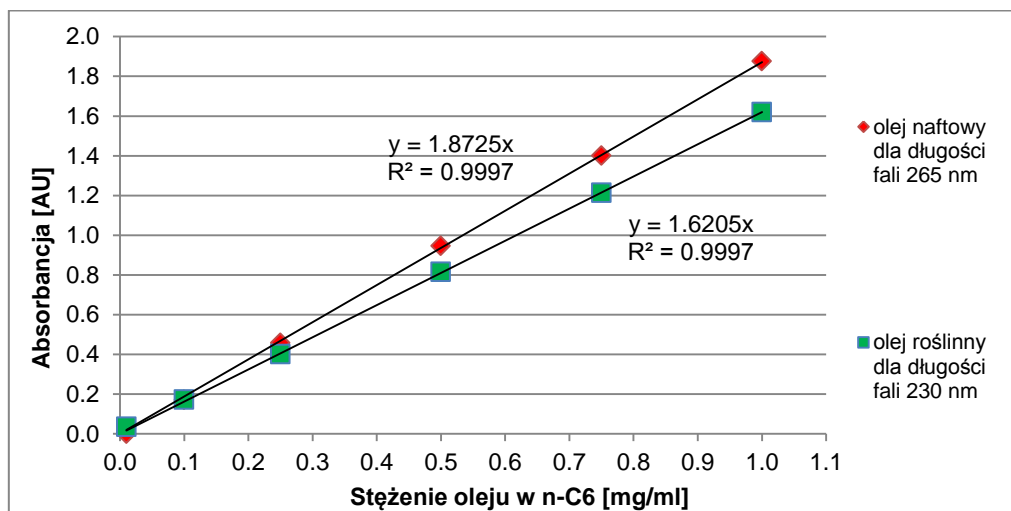
obecnych w olejach z ropy naftowej. Oleje roślinne wykazują maksimum absorpcji światła dla długości fali  $\lambda=230$  nm. Natomiast maksymalną absorbancją przy długości fali  $\lambda=265$  nm charakteryzują się oleje pochodzące z przetwarzania ropy naftowej [49].

W przypadku mieszanin olejów ropopochodnych z roślinnymi, przy niewielkiej zawartości frakcji naftowej, mają miejsce dwa maksima absorpcji światła UV – w rejonie  $\lambda=265$  nm i  $\lambda=230$  nm. Natomiast, w przypadku mieszanin zawierających wysokie zawartości frakcji naftowej, za pomocą widma w zakresie UV, obecności frakcji oleju roślinnego nie można w sposób wiarygodny stwierdzić. Warto tu dodać, że współcześnie na rynku krajowym znajduje się jeszcze ciągle wiele smarowych olejów do maszyn tnących będących mieszaniną ropopochodnego oleju bazowego oraz oleju roślinnego [2,49]. Można stwierdzić, że spektrofotometria w zakresie UV okazuje się być doskonałym narzędziem dla identyfikacji obecności frakcji naftowej w oleju smarnym. Natomiast obecność oleju roślinnego można w ten sposób stwierdzić tylko w przypadku całkowitej nieobecności naftowego oleju bazowego.

Dodatkowo można ocenić, czy olej bazowy jest wyłącznie syntetyczny typu polialfaolefinowego (PAO). Tego rodzaju syntetyczne oleje bazowe nie wykazują maksimum absorpcji w badanym zakresie powyżej  $\lambda=200$  nm (rysunek 10, widmo UV dla PAO). Z literatury wiadomo też, że widma UV-Vis można również wykorzystać do identyfikacji utlenionych składników w olejach jadalnych maksimum jest przesunięte powyżej  $\lambda=230$  nm, do  $\lambda=235$  nm, lub powyżej [210].

Spektrofotometria UV może też służyć dla oceny zawartości frakcji pochodzącej z ropy naftowej w oleju, czego dotyczyły badania opisane dalej.

W celu opracowania metodyki oceny procentowej zawartości frakcji ropopochodnej, lub oleju roślinnego w oleju na podstawie widm UV, wykonano krzywe kalibracyjne dla próbek oleju pochodzenia naftowego (O2- mineralny, olej maszynowy) oraz oleju roślinnego (TAG1- olej roślinny, słonecznikowy) dla 6 stężeń oleju w n-C6 (0,01; 0,15; 0,25; 0,50; 0,75; 1 mg/ml) (rysunek 11). Stwierdzono liniową zależność w przypadku obu funkcji kalibracyjnej ze współczynnikami korelacji, odpowiednio oleju roślinnego (dla  $\lambda=230$  nm)  $a=1,8725$ , a dla oleju naftowego dla długości fali ( $\lambda=265$  nm)  $a=1,6205$ , co wykazuje jednocześnie zgodność z prawem Lamberta-Beera.



Rysunek 11. Linie kalibracyjne dla oleju naftowego dla długości fali  $\lambda=265$  nm oraz oleju roślinnego dla  $\lambda=230$  nm. Oznaczenia: y – absorbancja [AU]; x – stężenie oleju w roztworze w n-C6 [mg/ml]

Na podstawie równań linii kalibracyjnych (rysunek 11), uwzględniając poziom szumów spektrofotometru zastosowanego w badaniach wyrażony w jednostkach absorbancji (AU), wyznaczono LOD i LOQ dla zawartości oleju słonecznikowego (TAG1) oraz dla oleju naftowego (O2). Granica wykrywalności LOD oleju pochodzącego z ropy naftowej (O2), charakteryzującego się maksimum absorpcji światła dla  $\lambda=265$  nm wynosi 0,013 mg/ml n-C6, natomiast granica oznaczalności LOQ, to 0,039 mg/ml. Odpowiednio, dla oleju słonecznikowego (TAG1) wartość LOD wynosi 0,011 mg/ml n-C6, natomiast granica oznaczalności LOQ, to 0,032 mg/ml.

Powyższe wartości LOQ są na tyle niskie, że na tak niskim poziomie nie ma praktycznego sensu określanie zawartości oleju naftowego, tym bardziej roślinnego. Jednak na tak niskich poziomach stężeń może być bardzo celowe badanie obecności naftowych olejów w środowisku naturalnym, w glebach, czy wodach powierzchniowych. W tym sensie rezultaty opisywanych tu badań mogą znaleźć istotne zastosowanie. Przy czym, w przypadku tego rodzaju zastosowań możliwe jest przygotowanie roztworów „ekstraktu” w n-C6 o znacznie wyższym stężeniu niż 0,25 mg/ml n-C6, i w ten sposób znaczne obniżenie LOD oraz LOQ.

W tabeli 7 przedstawiono rezultaty identyfikacji oraz oceny zawartości frakcji pochodzenia naftowego w badanych olejach na podstawie widm UV (Aneks, pkt A1), na podstawie wartości absorbancji zmierzonej dla długości fali  $\lambda = 265$  nm.

Tabela 7. Zestawienie orientacyjnych wartości procentowego udziału frakcji pochodzenia naftowego w oleju bazowym/smarowym określone na podstawie wartości ich absorbancji dla długości fali  $\lambda = 265$  nm z wykorzystaniem linii kalibracyjnych na rysunku 10

Nazwa i charakterystyka badanego oleju bazowego/smarowego (zgodnie z tabelą nr 4)	Obecność / brak absorpcji UV oraz max absorpcji dla $\lambda = 265$ nm	Wartość absorbancji dla $\lambda = 265$ nm	Stężenie oleju pochodzenia naftowego obliczone na (podstawie linii kalibracyjnej na rysunku 10)	Orientacyjny procentowy udział frakcji pochodzenia naftowego w badanym oleju	Uwagi
	[obecne / brak]	[AU]	[mg/ml]	[%]	
TAG1 - olej rzepakowy jadalny	brak	-	-	0%	
TAG2 - olej słonecznikowy jadalny	brak	-	-	0%	
FAME techniczne	brak	-	-	0%	
PAO 6 - bazowy olej syntetyczny typu polialfaolefinowego	brak	-	-	0%	
SAE10/90 mineralny olej bazowy o niskiej lepkości	obecne	0,485		100%	
SAE 30/90 mineralny olej bazowy o średniej lepkości	obecne	0,480		100%	
O1 - olej do smarowania układu tnącego produkowany na bazie mieszaniny roślinnego oraz mineralnego oleju bazowego z dodatkami uszlachetniającymi	obecne	0,227	0,13	53%	wysoka zawartość naftowej bazy olejowej ok. 50%
O2 – komercyjny mineralny maszynowy olej smarowy niskiej jakości	obecne	0,448	0,25	100%	
O3 – komercyjny olej do smarowania manualnych maszyn tnących produkowany na bazie oleju roślinnego z dodatkami uszlachetniającymi	brak	-	-	0%	
O4 - frytura	brak	-	-	0%	
H – komercyjny olej hydrauliczny produkowany z zastosowaniem naftowego oleju bazowego z dodatkami uszlachetniającymi	obecne	0,368	0,22	86%	prawdopodobnie olej na bazie naftowego oleju bazowego innego rodzaju, niż zastosowany dla kalibracji z tzw.



					<p>dodatki uszlachetniającymi nie absorbującymi UV <math>\lambda=265</math> nm</p>
<p>T - komercyjny olej turbinowy produkowany z zastosowaniem naftowego oleju bazowego z dodatkami uszlachetniającymi</p>	obecne	0,387	0,23	90%	<p>prawdopodobnie olej na bazie naftowego oleju bazowego innego rodzaju, niż zastosowany dla kalibracji z tzw. dodatkami uszlachetniającymi nie absorbującymi UV <math>\lambda=265</math> nm</p>

Celem zastosowania metody badania widm UV w procedurze kontroli technicznej nowoczesnych olejów smarowych jest potwierdzenie wyniku metody kroplowej oraz przede wszystkim identyfikacja i ocena zawartości frakcji ropopochodnej w badanym materiale (oleju smarowym /bazowym). Z tego powodu w ramach niniejszej pracy wykonano kolejne niżej opisane etapy badań mających na celu opracowanie procedury, która zastosowana w sposób bezsporny potrafi wytypować oleje pochodzenia naftowego oraz ocenić ich zawartość w badanym oleju.

#### Rezultaty powyższych badań uzasadniają poniższe wnioski:

1. Opracowano i wstępnie zwalidowano metodykę identyfikacji i oznaczania frakcji węglowodorów aromatycznych poprzez zbadanie widma rozcieńczonego roztworu oleju w n-C6 w zakresie UV  $\lambda= 210-400$  nm – widmo UV oleju pochodzenia naftowego charakteryzuje się dwoma znaczącymi maksimami absorpcji dla ok.  $\lambda= 265$  nm, tzn., w pasmach absorpcji węglowodorów aromatycznych.
2. W przypadku braku obecności węglowodorów aromatycznych z ropy naftowej oraz bardzo niskich zawartości dodatków uszlachetniających w badanym oleju, bada się także widmo roztworu oleju w zakresie  $\lambda= 200 - 250$  nm. To umożliwia szacunkową ocenę zawartości tri-estrów glicerolu i kwasów tłuszczowych oraz ich pochodnych po hydrolizie DAG, MAG, FAME, FAA, a także kwasów tłuszczowych z wyjątkiem glicerolu. Wszystkie te organiczne związki chemiczne wykazują maksymalną absorpcję światła UV około długości fali  $\lambda= 230$  nm. W ten sposób można oszacować zawartość w oleju bazowym w/w składników pochodzenia roślinnego, ewentualnie również estrów syntetycznych.
3. Widma UV-Vis dla syntetycznego poli-alfa-olefinowego oleju bazowego charakteryzowały się pochłanianiem światła tylko do  $\lambda= 220$  nm, bez maksimum, co pozwala na zróżnicowanie tego typu olejów bazowych od innych (np. roślinnych).

#### **6.1.4. Badania nad potwierdzeniem obecności i oceną zawartości frakcji naturalnej w olejach bazowych i smarowych z wykorzystaniem widma FT-MIR**

W części literaturowej oraz w pkt. 6.1.1. (we wprowadzeniu do pierwszej, badawczej części pracy), zwrócono uwagę, że analiza widm określonego materiału w zakresie średniej podczerwieni (MIR) może zostać wykorzystana do identyfikacji oraz oceny zawartości frakcji określonych składników w materiałach, jeśli charakteryzują takimi strukturami molekularnymi, które nie mają miejsca w przypadku innych składników badanego materiału. Jednocześnie konieczne jest, aby odpowiadające im elementy widma były charakterystyczne tylko dla tej grupy i nie występowały w widmach innych grup. W przypadku olejów i widm różnych grup ich składników taką strukturą tworzącą specyficzne elementy widma w zakresie MIR jest struktura karbonylowa. Jest charakterystyczna wyłącznie dla rafinowanych olejów roślinnych oraz ich bezpośrednich pochodnych, tzn., dla acylogliceroli (TAG, DAG, MAG), a także dla wolnych kwasów tłuszczowych, jako produktów hydrolizy acylogliceroli. Molekularna struktura karbonylowa, tworząca jak wiadomo charakterystyczne



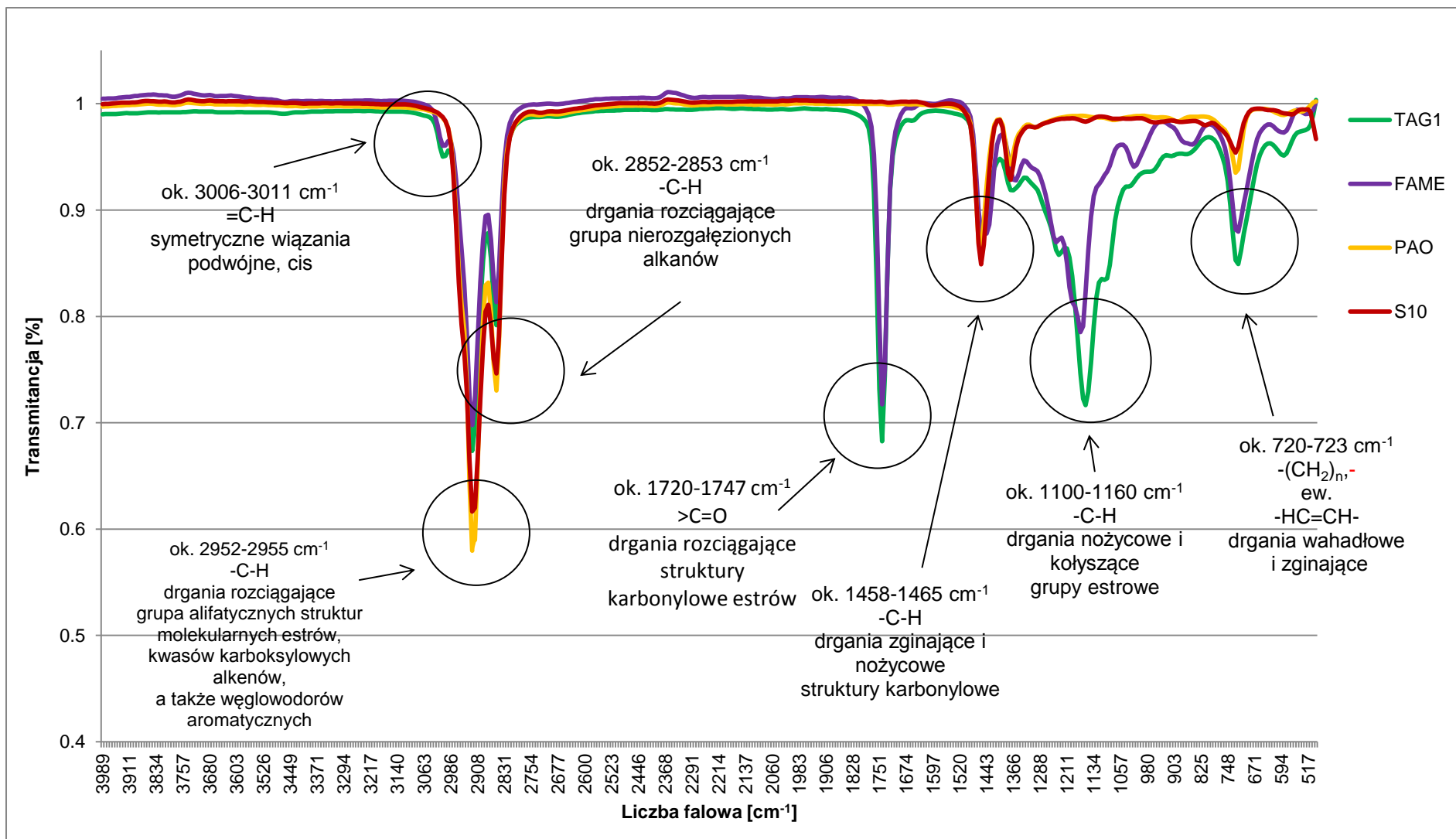
elementy widma w zakresie MIR nie ma miejsca w naftowych olejach bazowych, czy syntetycznych olejach typu PAO.

Bazując na powyższych informacjach, w ramach tej części pracy postanowiono zbadać możliwość wykorzystania charakterystycznych dla struktur karbonylowych elementów widm w zakresie MIR, zarówno do identyfikacji, jak i do oceny zawartości oleju roślinnego i jego bezpośrednich pochodnych w bazowych i użytkowych olejach smarowych. W tym celu wykonano badania widm FT-MIR dla próbek zestawionych w tabeli nr 4: olejów jadalnych - słonecznikowego i rzepakowego, technicznego FAME, frytury, bazy syntetycznej typu polialfaolefinowego, mineralnych baz olejowych SAE 10/90 oraz 30/90 (olejów bazowych z rafinacji frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej) oraz dla olejów komercyjnie dostępnych: oleju smarowego produkowanego na bazie mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego z pakietem dodatków uszlachetniających, oleju mineralnego, maszynowego, oleju smarowego produkowanego na bazie roślinnej z pakietem dodatków uszlachetniających, wysokiej jakości oleju do pił łańcuchowych, oleju silnikowego typu PAO, w pełni biodegradowalnego preparatu konserwująco-smarowego do układów tnących pilarek, nowej kompozycji, oleju smarowego układów tnących – pilarek, a także oleju hydraulicznego oraz turbinowego.

Zestawienie widm FT-MIR wyżej wymienionych materiałów przedstawiono w Aneksie (pkt. A2). Wartości transmitancji w zależności od liczby falowej przedstawiono w tabeli 8. Przykład nałożenia widm FT-MIR przedstawicieli głównych grup olejów bazowych - oleju roślinnego, FAME, mineralnego oleju bazowego SAE 10/90 oraz syntetycznej bazy olejowej typu polialfaolefinowego przedstawiono na rysunku 12. Badania oraz ich wyniki zostały również opublikowane [49].

Na podstawie danych w tabeli 8 oraz zestawienia nałożonych widm przedstawionym na rysunku 12, widm zamieszczonych w aneksie (pkt. A2) oraz uwzględniając dane z literatury stwierdza się, że widma FT-MIR oleju słonecznikowego, rzepakowego, frytury, oleju do smarowania układów tnących produkowanego na bazie roślinnej z dodatkami uszlachetniającymi oraz FAME charakteryzowały się występowaniem sygnału dla liczby falowej około  $1100\text{ cm}^{-1}$  oraz  $1747\text{ cm}^{-1}$ . Sygnał dla liczby falowej  $1100\text{ cm}^{-1}$  odpowiadał drganiom rozciągającym wiązań -C-O- charakterystycznym dla estrów. Sygnał dla liczby falowej około  $1747\text{ cm}^{-1}$  występował dzięki obecności karbonylowych struktur molekularnych i jest związany z drganiami rozciągającymi grupy karbonylowej >C=O, obecnej w wiązaniu estrowym olejów roślinnych i odpowiednich pochodnych jako produktów hydrolizy. Oleje naftowe, ani syntetyczne nie wykazują absorpcji światła w tym obszarze średniej podczerwieni. Potwierdza to widmo FT-MIR (rysunek 12) wykonane dla oleju naftowego. Te wnioski pokrywają się z danymi literaturowymi. Matwijczuk i in. [152] na podstawie widm FT-MIR olejów roślinnych stwierdzili obecność struktur karbonylowych estrów dla liczby falowej  $1160\text{ cm}^{-1}$  oraz dla struktury karbonylowej (dla FFA) z olejów roślinnych identyfikowalnej przy liczbie falowej  $1740\text{ cm}^{-1}$ . W przypadku oleju do pił łańcuchowych wyprodukowanego na bazie mieszaniny oleju roślinnego i naftowego – widmo charakteryzowało się znacznie mniejszą amplitudą sygnału dla liczby falowej około  $1100\text{ cm}^{-1}$  oraz  $1747\text{ cm}^{-1}$  niż dla czystego oleju roślinnego.

Na podstawie danych w tabeli 8 oraz zestawienia nałożonych widm przedstawionym na rysunku 12, widm zamieszczonych w Aneksie (pkt. A2) oraz uwzględniając dane z literatury stwierdza się, że widma FT-MIR oleju słonecznikowego, rzepakowego, frytury, oleju do smarowania układów tnących produkowanego na bazie roślinnej z dodatkami uszlachetniającymi oraz FAME charakteryzowały się występowaniem sygnału dla liczby falowej około  $1100\text{ cm}^{-1}$  oraz  $1747\text{ cm}^{-1}$ . Sygnał dla liczby falowej  $1100\text{ cm}^{-1}$  odpowiadał drganiom rozciągającym wiązań -C-O- charakterystycznym dla estrów. Sygnał dla liczby falowej około  $1747\text{ cm}^{-1}$  występował dzięki obecności karbonylowych struktur molekularnych i jest związany z drganiami rozciągającymi grupy karbonylowej >C=O, obecnej w wiązaniu estrowym olejów roślinnych i odpowiednich pochodnych jako produktów hydrolizy. Oleje naftowe, ani syntetyczne nie wykazują absorpcji światła w tym obszarze średniej podczerwieni (MIR). Potwierdza to widmo FT-MIR (rysunek 12) wykonane dla oleju naftowego. Te wnioski pokrywają się z danymi literaturowymi. Matwijczuk i inni [152] na podstawie widm FT-MIR olejów roślinnych stwierdzili obecność struktur karbonylowych estrów dla liczby falowej  $1160\text{ cm}^{-1}$  oraz dla struktury karbonylowej (dla FFA) z olejów roślinnych identyfikowalnej przy liczbie falowej  $1740\text{ cm}^{-1}$ .



Rysunek 12. Zestawienie nałożonych widm FT-MIR próbek: TAG1- olej słonecznikowy; FAME- FAME techniczne; PAO- syntetyczna baza olejowa typu polialfaolefinowego; S10- mineralna baza olejowa SAE 10/90 [152,154–156,160]

Tabela 8. Zestawienie wartości transmitancji w zależności od zakresu liczb falowych dla widm FT-MIR próbek zbadanych materiałów olejowych

Skrót	Nazwa próbki	Wartości transmitancji [%] dla podanych zakresów liczb falowych [cm <sup>-1</sup> ]								
		3006-3011	2952-2955	2920-2923	2852-2853	1720-1747	1458-1465	1361-1377	1100-1160	720-723
<b>TAG 1</b>	Olej roślinny, rzepakowy	0,94	-	0,63	0,73	0,58	0,85	0,91	0,70	0,83
<b>TAG 2</b>	Olej roślinny słonecznikowy	0,94	-	0,65	0,75	0,58	0,86	0,91	0,71	0,83
<b>FAME</b>	FAME techniczne	0,94	-	0,64	0,75	0,57	0,85	0,91	0,75	0,85
<b>PAO</b>	Olej syntetyczny typu polialfaolefinowego PAO 6	-	0,78	0,50	0,65	-	0,82	0,91	-	0,91
<b>S10</b>	Mineralny olej bazowy SAE 10/90	-	0,77	0,56	0,69	-	0,82	0,90	-	0,94
<b>S30</b>	Mineralny olej bazowy SAE 30/90	-	0,78	0,55	0,68	-	0,81	0,89	-	0,94
<b>BS</b>	Mineralna olej bazowy Brightstock	-	-	0,54	0,97	-	0,81	0,89	-	0,93
<b>H</b>	Olej hydrauliczny	-	0,77	0,55	0,69	-	0,81	0,87	-	0,94
<b>T</b>	Olej turbinowy	-	0,77	0,56	0,69	-	0,81	0,89	0,98	0,93
<b>O1</b>	Olej smarowy produkowany na bazie mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego	-	-	0,97	0,70	0,81	0,83	0,90	0,87	0,90
<b>O2</b>	Olej maszynowy, mineralny	-	0,77	0,56	0,70	-	0,81	0,89	-	0,93
<b>O3</b>	Olej smarowy produkowany na bazie roślinnej	0,94	-	0,65	0,75	0,58	0,86	0,92	0,71	0,87
<b>O4</b>	frytura	0,95	-	0,63	0,74	0,58	0,85	0,91	0,71	0,83
<b>O5</b>	Wysokiej jakości olej do pił łańcuchowych	0,96	-	0,60	0,72	0,68	0,84	0,91	0,80	0,88
<b>O6</b>	Olej silnikowy typu PAO	-	0,78	0,55	0,68	-	0,81	0,89	-	0,93
<b>O7</b>	W pełni biodegradowalny preparat konserwująco-smarowy do układów tnących pilarek, nowej kompozycji	0,94	-	0,63	0,73	0,58	0,84	0,91	0,71	0,83
<b>O8</b>	Olej smarowy układów tnących – pilarek	0,95	-	0,60	0,71	0,61	0,84	0,91	0,72	0,32

„-” – brak drgań dla danego zakresu liczb falowych

W przypadku oleju do pił łańcuchowych wyprodukowanego na bazie mieszaniny oleju roślinnego i naftowego – widmo charakteryzowało się znacznie mniejszą amplitudą sygnału dla liczby falowej około  $1100\text{ cm}^{-1}$  oraz  $1747\text{ cm}^{-1}$  niż dla czystego oleju roślinnego.

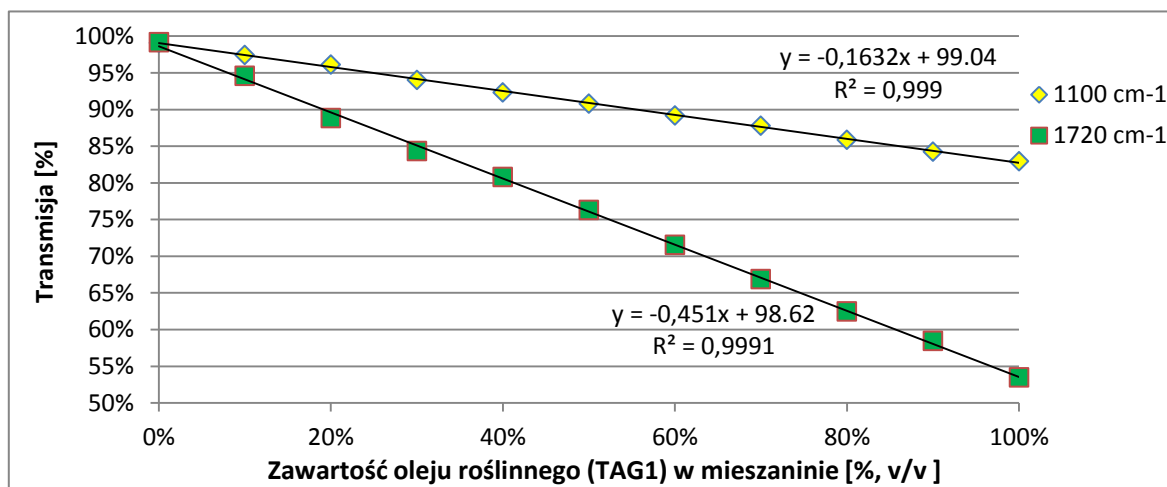
Sygnały w zakresie  $1450\text{--}1350\text{ cm}^{-1}$  pochodzą od drgań kołyszących i nożycowych C-H, które występują w oleju roślinnym oraz w olejach pochodzenia naftowego. Sygnały w tych obszarach nie umożliwiają różnicowania badanych materiałów. Drgania rozciągające w zakresie  $2850\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$  odpowiadają pasmom grup C-H, charakterystycznych dla alkanów, ale też innego rodzaju alifatycznych struktur molekularnych estrów, kwasów karboksylowych itd. (zakres  $3000\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ ), a także dla alkenów, węglowodorów aromatycznych (zakres  $3100\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ ). Drgania w zakresie  $2850\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$  występują zarówno w olejach mineralnych, jak i roślinnych.

W przypadku olejów słonecznikowego (widmo FT-MIR A2-1, aneks pkt. A2), rzepakowego (widmo FT-MIR A2-2, aneks pkt. A2), frytury (widmo FT-MIR A2-13, aneks pkt. A2), oleju do pił łańcuchowych na bazie roślinnej (widmo FT-MIR A2-12, aneks pkt. A2), a także FAME (widmo FT-MIR A2-3, aneks pkt. A2), widma jednoznacznie pokazują, że wymienione oleje są na bazie estrów lub, że zawartość oleju mineralnego jest poniżej LOD. Bazy olejowe SAE 10/90 (widmo FT-MIR A2-5, aneks pkt. A2) i SAE 30/90 (widmo FT-MIR A2-6, aneks pkt. A2), a także olej maszynowy pochodzenia naftowego (widmo FT-MIR A2-11, aneks pkt. A2), olej hydrauliczny (widmo FT-MIR A2-8, aneks pkt. A2) i turbinowy (widmo FT-MIR A2-9, aneks pkt. A2). mają typowe widmo olejów mineralnych, tj. brak sygnału przy liczbie falowej  $1100\text{ cm}^{-1}$  i znaczny sygnał przy liczbie falowej  $1774\text{ cm}^{-1}$ . Wraz ze wzrostem zawartości oleju roślinnego wyraźnie wzrasta zawartość grup karbonylowych, o czym również informuje się w literaturze [47,122,158].

Na podstawie powyższych wyników oraz wniosków można stwierdzić, że widma FT-MIR mogą być pomocne jako uzupełniające dane dla identyfikacji w olejach bazowych i smarowych grupy TAG. Jednocześnie widma FT-MIR nie mogą stanowić podstawy do określania obecności naftowych, czy syntetycznych olejów bazowych w olejach smarnych.

Wykorzystując spektrofotometrię FT-MIR w technice widm odbiciowych można dokonać identyfikacji naturalnej frakcji w oleju bazowym i smarowym, ale także, ocenić zawartość tej frakcji bazując na wartości transmitancji naturalnego rafinowanego oleju odniesienia – rzepakowego, lub słonecznikowego, ewentualnie sojowego.

Uwzględniając amplitudę „pików” w jednostkach transmitancji w widmach FT-MIR dla liczb falowych  $1100\text{ cm}^{-1}$  oraz  $1720\text{ cm}^{-1}$  dla 12 mieszanin rafinowanego oleju roślinnego, słonecznikowego (TAG1) i pochodzenia naftowego (O2) w proporcji objętościowej: 1:0; 9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8; 1:9; 0:1; (v/v) wykonano kalibrację na podstawie zależności amplitudy transmitancji od zawartości składników pochodzenia roślinnego w mieszaninie z bazowym olejem naftowym (rysunek 13).



Rysunek 13. Krzywe kalibracyjne na zawartość oleju roślinnego w mieszaninach (oleju roślinnego (TAG1) i naftowego (O2) proporcjach 1:0; 9:1; 8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8; 1:9; 0:1; (v/v) - dla liczb falowych  $1100\text{ cm}^{-1}$  oraz  $1720\text{ cm}^{-1}$  [49]

Na podstawie metody opisanej w pkt. 5.3.3. wyznaczono granice detekcji (LOD) i oznaczalności (LOQ) metody. LOD dla struktur estrowych (liczba falowa  $1100\text{ cm}^{-1}$ ) w olejach roślinnych wynosi ok. 1% (v/v), natomiast granica oznaczalności to ok. 3% (v/v). Granica wykrywalności w przypadku badania z wykorzystaniem liczba falowej  $1747\text{ cm}^{-1}$  wynosi ok. 1% (v/v), a oznaczalności ok. 3% (v/v).

W okresie kontroli technicznej olejów pilarek dla oleju do pił łańcuchowych produkowanego jako mieszanina olejów roślinnych i mineralnych (O1) stwierdzono, że zawiera on około 37% oleju pochodzenia naturalnego, co jest zgodne ze składem deklarowanym przez producenta.

Szczególną zaletą opracowanej i przedstawionej tu metody FT-MIR jest niezwykle krótki czas wykonania badania bez etapu przygotowania próbki i bez użycia jakichkolwiek odczynników chemicznych. W praktyce wykonanie badania zajmuje kilka sekund. Jednakże, wadą względnie wysoki koszt spektrofotometru FT-MIR. A także, konieczność codziennej dbałości i poprawne funkcjonowanie spektrofotometru. Z punktu widzenia technicznej kontroli olejów smarnych, wadą jest też brak możliwości identyfikacji i oceny zawartości oleju pochodzenia naftowego, a jedynie możliwość badania obecności i zawartości oleju roślinnego.

#### Rezultaty powyższych badań uzasadniają poniższe wnioski:

1. Opracowano i zwalidowano metodykę identyfikacji i oceny zawartości acylogliceroli i ich pochodnych z wykorzystaniem badania widma FT-MIR oleju dla liczby falowej ( $1/\lambda$ ) od  $4\ 000\text{ cm}^{-1}$  do  $550\text{ cm}^{-1}$ , wykorzystując pasma absorpcyjne grupy karbonylowej i karboksylowej (estrowej) może być wykorzystywana do badań oceny olejów smarowych.
2. Absorpcja w zakresie liczby falowej około  $1100\text{ cm}^{-1}$  odpowiada drganiom rozciągającym, które są charakterystyczne dla struktur molekularnych estrów, kwasów karboksylowych. Obecność absorbancji światła podczerwonego dla liczby falowej  $1747\text{ cm}^{-1}$  odpowiada strukturom karbonylu ( $>C=O$ ). Oleje ropopochodne nie wykazują absorpcji światła w tym zakresie liczb falowych. W miarę wzrostu zawartości oleju roślinnego w mieszaninie oleju naftowego i roślinnego oraz jego pochodnych wzrasta zawartość grupy karbonylowej, co umożliwia szacunkowe oznaczenie zawartości oleju roślinnego i pochodnych.
3. Bezpośrednie badanie refleksyjnego widma FT-MIR kropli oleju (bez etapu przygotowania próbki i bez stosowania chemikaliów) zajmuje kilkanaście sekund, zapewnia wstępną ocenę obecności i zawartości oleju roślinnego i pochodnych, albo/i syntetycznego oleju estrowego w badanym oleju bazowym lub smarowym.
4. Wykonanie badania wymaga jednak dysponowania przez laboratorium stosunkowo kosztowną aparaturą, której trzeba przeznaczać dużą dbałość.

#### **6.1.5. Badania nad potwierdzeniem obecności i oceną zawartości określonych grup składników w olejach z wykorzystaniem rozdzielania grupowego techniką NP-TLC, na standardowych płytek żelu krzemionkowego F-254 i trójstopniowego rozwijania chromatogramu TLC**

Opisane powyżej metodyki technicznej kontroli olejów bazowych/smarowych (pkt. 6.1.2.-6.1.4.) umożliwiają identyfikację oraz ocenę zawartości frakcji naftowej oraz roślinnej, jeżeli te składniki są obecne w kontrolowanym oleju bazowym i smarowym. W kolejnym etapie procedury badano olej, który wg w/w metodyk wykazuje niebieską fluorescencję pod wpływem światła  $\lambda = 365\text{ nm}$  oraz absorpcję światła UV w zakresie  $\lambda = 250$  do  $310\text{ nm}$  z maksimum około  $\lambda = 265\text{ nm}$ , lub/i absorpcję w podczerwieni dla liczb falowych  $1100$  i  $1720\text{ cm}^{-1}$ .

W celu opracowania metodyki technicznej kontroli olejów bazowych i smarowych, które bezspornie potwierdzają w sposób jakościowy oraz „półilościowy”, wnioski z prostych, szybkich w/w metod laboratoryjnych wykorzystano technikę NP-TLC z trójstopniowym rozdzielaniem, a wizualizacją chromatogramów TLC w świetle UV  $\lambda = 365\text{ nm}$  oraz wcześniej opracowaną w LOTOS Lab dla innych zastosowań procedurę stopniowego rozdzielania [29]. Metodyka pozwala na bezsporne potwierdzenie obecności frakcji naftowej w oleju smarowym, a także otrzymanie dodatkowych informacji na podstawie wyników badań dzięki niepublikowanym badaniom Kamińskiego i Gudebskiej okresu ich



pracy w latach 1993 do 2005 w Wydziale Kontroli Jakości (NKJ) Rafinerii Gdańskiej SA, później w LOTOS Lab w Grupa LOTOS SA [211], która później została dopracowana i opublikowana w ulepszonej wersji [212].

Bazując na powyższym w niniejszej rozprawie doktorskiej została opracowana metodyka bezspornie potwierdzająca obecność oraz jednocześnie zapewniająca ocenę składu grupowego oleju pod względem obecności i zawartości w oleju węglowodorów aromatycznych typowych dla wysoko rafinowanego oleju bazowego pochodzenia naftowego, a także, typowych składników oleju roślinnego. W istocie wykorzystano w zastosowaniu do TLC, znaną z literatury dla TLC-FID metodykę grupowego rozdzielania w konwencji SARA na standardowych płytkach żelu krzemionkowego F-254 z trzystopniowym rozwijaniem chromatogramu TLC. Dokładny opis metodyki tego etapu badań zawiera punkt 5.3.4. części metodycznej niniejszej pracy.

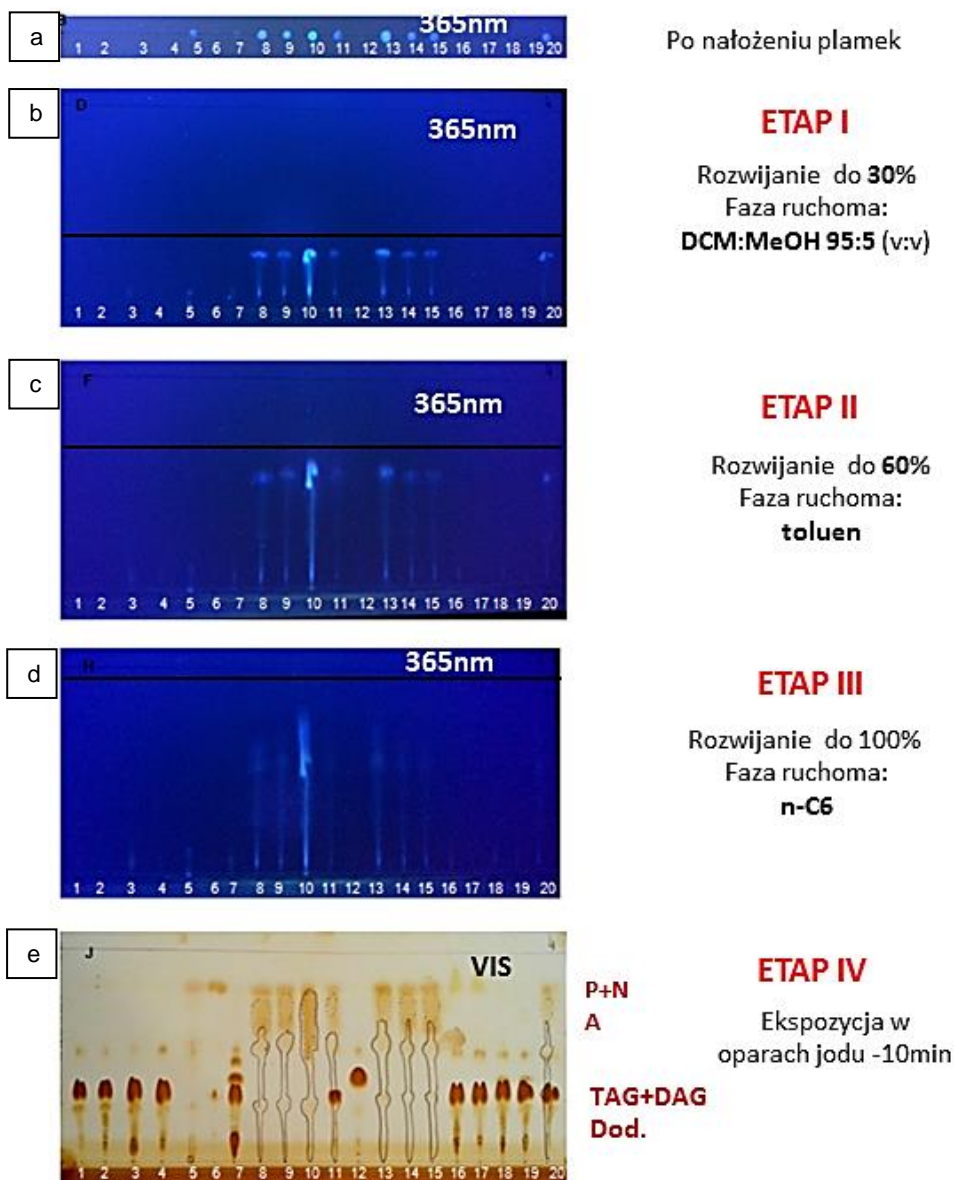
Na rysunku 14 zamieszczono fotografie przedstawiające chromatogramy TLC wizualizowane pod lampą emitującą światło o długości fali  $\lambda = 365$  nm, od góry: plamki po nałożeniu próbek, po pierwszym etapie rozwijania chromatogramu TLC do 30% wysokości płytki fazą ruchomą DCM: metanol 95:5 (v/v), kolejno: toluenem do 60 % wysokości fazy stacjonarnej oraz w trzecim – n-C6 do 100 % wysokości adsorbentu na płytce TLC.

Należy zwrócić uwagę, że rozwijanie chromatogramu TLC realizowano w sposób odmienny od zalecanego w literaturze, tzn. obniżając polarność (siłę elucyjną) fazy ruchomej w kolejnych etapach trójstopniowego rozwijania chromatogramu TLC - w taki sam sposób jaki to opracowano dla badania składu grupowego asfaltów lub asfaltenów w konwencji SARA, opublikowany w Camera Separatoria [213] oraz co jest przedmiotem publikacji znajdującej się obecnie w recenzji w Journal of Petroleum Science and Engineering [214].

Taką sekwencję stopniowego rozwijania chromatogramu TLC uważa się w w/w publikacjach/projektach publikacji za konieczną, jeśli jedna z faz ruchomych podczas etapowego rozwijania chromatogramu TLC nie jest wcale, albo jest bardzo złym rozpuszczalnikiem niektórych składników rozdzielanej mieszaniny. Wówczas ta faza ruchoma nie powinna, a w przypadku gdy ten nierozpuszczalny w jednej z faz ruchomych składnik mieszaniny tworzy w temperaturze pokojowej fazę stałą i znajduje się w badanej mieszaninie we względnie znacznym udziale - nie może być fazą ruchomą dla pierwszego etapu rozdzielania. Wynika, to stąd, że w przeciwnym razie nierozpuszczalny w fazie ruchomej składnik rozdzielanej mieszaniny powoduje okluzję innych składników rozpuszczalnych w tej fazie ruchomej. W konsekwencji, w pierwszym etapie stopniowego rozdzielania, ma miejsce migracja tylko części rozpuszczalnych w fazie ruchomej składników badanej mieszaniny. Pozostała część migruje w kolejnym etapie separacji, gdy wszystkie składniki rozdzielanej mieszaniny są w fazie ruchomej rozpuszczalne. To powoduje zaniżenie zawartości nierozpuszczalnych w pierwszej fazie ruchomej składników rozdzielanej mieszaniny. W przypadku badań niniejszej pracy opisywany problem może mieć miejsce dla n-C6 jako fazy ruchomej i MAG oraz oczywiście, dla gliceryny. Wynika to z faktu, że MAG i GL są całkowicie nierozpuszczalne w n-C6. Jednakże są lepкими cieczami, a nie ciałami stałymi, stąd stosowanie opisanej powyżej odwrotnej kolejności rozwijania chromatogramu TLC, nie jest tak ważne, gdyby składniki nierozpuszczalne w potencjalnej pierwszej fazie ruchomej były w postaci fazy stałej [214].

Na podstawie zestawienia chromatogramów na rysunku 14 (chromatogram a) wyraźnie widać jasno błękitną fluorescencję pod tzw. średnio ciśnieniową lampą rtęciową emitującą głównie światło UV o długości fali  $\lambda = 365$  nm. Prawdopodobnie wynika ona z obecności węglowodorów aromatycznych tak jak w przypadku ich obecności podczas badania przesiewowego - testu kropłowego. Jednakże, dopiero na podstawie położenia tych niebiesko fluoryzujących plamek po kolejnych poszczególnych etapach trójstopniowego rozwijania chromatogramu TLC i wizualizacji pod lampą  $\lambda = 365$  nm, nie ulega wątpliwości, że są to plamki pochodzące od grupy węglowodorów aromatycznych. Jednocześnie im wyższej klasy lepkościowej jest olej, tym wyższa jest zawartość węglowodorów aromatycznych (najbardziej intensywna barwa niebieska dla tzw. brighstocku, wysoko lepkiego oleju bazowego otrzymywanego (z pozostałości po próżniowej destylacji ropy naftowej - poz. 10, rysunek 14). Dla olejów bazowych i smarowych skomponowanych głównie z najniższej lepkiego oleju bazowego typu SAE 10 (poz. 8, rysunek 14), widać, że jasno błękitna fluorescencja jest najmniej intensywna. Dla średnio lepkiego oleju SAE 30, jest „pośrednio” intensywna (poz. 9, rysunek 14).





Rysunek 14. Zestawienie fotografii chromatogramów TLC w zależności od etapu rozwijania dla 20 próbek olejów: 1-(TAG1) – olej roślinny, słonecznikowy, 2-(TAG2) – olej roślinny, rzepakowy, 3- tran z dorsza (Mollers, Warszawa, Polska), 4-(O4) - olej zużyty, frytura, 5-(PAO) – olej bazowy typu polialfaolefinowego, 6-(O6) – olej silnikowy, typu polialfaolefinowego, 7-(O3) - olej smarowy produkowany na bazie roślinnej z dodatkami uszlachetniającymi, 8-(S10) - mineralna baza olejowa SAE10/90, 9-(S30)- mineralna baza olejowa SAE30/90, 10-(BS) - olej bazowy pochodzący z rafinacji pozostałości próżniowej ropy naftowej (brightstock), 11-(O1) – olej smarowy produkowany na bazie mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego z pakietem dodatków uszlachetniających, 12-(FAME) – FAME techniczne, 13-(O2) – mineralny, olej maszynowy, 14- (H) – olej hydrauliczny, 15-(T)- olej turbinowy, 16, 17-(O8) – oleje smarowe układ tnący pochodzenia naftowego, komercyjnie dostępne, 18-(07)- w pełni biodegradowalny preparat konserwująco-smarowy do układów tnących pilarek, nowego składu, 19-(05)- wysokiej jakości olej do pił łańcuchowych, komercyjnie dostępny, 19-olej smarowy układ tnących, komercyjnie dostępny (charakterystyka próbek zgodnie z tabelą 4)

Na podstawie rysunku 14. widać że oleje roślinne, lub dodatki do olejów nie zawierające pierścieni aromatycznych w strukturach molekularnych, nie wykazują fluorescencji w pod lampą emitującą światło o długości fali  $\lambda = 365 \text{ nm}$ . Wnioskuje się też, że oleje nie zawierające frakcji naftowej, w tym, FAME, nie wykazują fluorescencji w żadnym etapie procedury TLC. Natomiast, po ekspozycji w oparach jodu chromatogram TLC dla olejów roślinnych (chromatogram e, poz.1 oraz 2,

rysunek 14), czy FAME (chromatogram e, poz.12, rysunek 14), lub w miejscach plamek dodatków uszlachetniających otrzymanych z olejów roślinnych (chromatogram e, poz.7, rysunek 14).

Węglowodory nasycone jak również glicerydy (TAG, DAG, MAG, jako pochodne tzw. nasyconych kwasów tłuszczowych (kwasów alifatycznych), jak też same nasycone kwasy tłuszczowe, a także gliceryna nie tworzą adduktów z jodem, albo w bardzo niewielkim stopniu, w przypadku znacznej ich masy obecnej w plamce chromatograficznej. Stąd, ich wizualizacja za pomocą jodu ma w bardzo niewielkim stopniu miejsce i tylko w przypadku bardzo wysokich zawartości w badanym materiale (chromatogram e, poz.1 oraz 2, rysunek 14). Stąd, mimo wysokiej czułości wizualizacji za pomocą jodu, szczególnie organicznych związków chemicznych posiadających wiązania podwójne, ta metodyka ma ograniczone zastosowanie dla badania składu grupowego olejów z zastosowaniem TLC.

Chromatogramy TLC pokazane na rysunku 14 były też wizualizowane pod nisko ciśnieniową lampą rtęciową emitującą światło o długości fali  $\lambda = 254$  nm. Wówczas z użyciem płytek TLC F-254 posiadających luminofor charakteryzujący się luminescencją w zakresie światła widzialnego pod wpływem światła o długości fali  $\lambda = 254$  nm, w miejscu plamek węglowodorów aromatycznych w rezultacie absorpcji światła UV 254 nm powstawały szarawe plamki. Im większa była intensywność tej szarawej barwy, tym większa intensywność absorpcji światła  $\lambda = 254$  nm (mniej światła  $\lambda = 254$  nm powoduje luminescencję luminoforu). W praktyce, gdy bada się oleje posiadające olej bazowy tego samego rodzaju, to im większa intensywność błękitnej fluorescencji pod lampą  $\lambda = 365$  nm oraz im większa intensywność szarawej barwy plamki alifatycznie/alicyklicznie podstawionych węglowodorów aromatycznych (grupy A), tym wyższe stężenie składników absorbujących światło  $\lambda = 254$  nm w obrębie plamki chromatograficznej, tzn., tym wyższa zawartość grupy węglowodorów aromatycznych w określonym oleju bazowym. Natomiast, składniki badanego oleju wykazują równocześnie absorbancje światła  $\lambda = 254$  nm (szarawa plamka pod lampą  $\lambda = 254$  nm) oraz fluorescencję barwy niebieskiej pod wpływem światła  $\lambda = 365$  nm, to taka plamka na chromatogramach TLC podczas badania olejów bazowych, czy smarowych prawie z całą pewnością odpowiada frakcji węglowodorów aromatycznych i olejowi pochodzenia naftowego.

Podsumowując opisywany etap badań można stwierdzić, że opracowana metoda wykorzystująca trójstopniowe rozdzielanie z zastosowaniem NP-TLC w konwencji SARA, z wykorzystaniem płytek z żelazem krzemionkowym typu F-254, jako fazą stacjonarną z wizualizacją plamek w świetle  $\lambda = 365$  nm oraz  $\lambda = 254$  nm, a także dokumentowaniem fotograficznym po każdym z etapów procedury, dodatkowo, wywoływaniem brunatnej barwy plamek chromatograficznych pod wpływem par jodu po zakończeniu analizy, służy do identyfikacji i oceny składu grupowego oleju pod względem zawartości frakcji pochodzenia roślinnego (z wyjątkiem składników zawierających wyłącznie nasycone kwasy tłuszczowe), obecności niskolotnych węglowodorów aromatycznych pochodzenia naftowego, znacznej części dodatków uszlachetniających olej, tak pochodzenia naturalnego lub na bazie naturalnych olejów roślinnych, jak zawierających pierścienie aromatyczne w strukturze molekularnej. Opisywana procedura nie umożliwia, jednak identyfikacji frakcji S w oleju, a także acylogliceroli i ich pochodnych posiadających jedynie alifatyczne/ alicykliczne struktury molekularne, tak w postaci alkanów, jak glicerydów i ich pochodnych.

Zapisane w postaci cyfrowej fotografie płytek TLC mogą posłużyć do liczbowej oceny zawartości określonych rodzajów oleju w mieszaninie, jak również składu grupowego oleju pod względem węglowodorów aromatycznych oraz acylogliceroli, dzięki zastosowaniu odpowiednich programów komputerowych umożliwiających pomiar intensywności barwy (intensywności fluorescencji /absorpcji światła). W ramach niniejszej pracy takie badania nie były wykonywane, ponieważ dla „ocen”, jakim służyć miały rezultaty przedmiotowych badań, uznano to za niepotrzebne.

#### Rezultaty powyższych badań uzasadniają poniższe wnioski:

1. Opracowano metodykę bezspornie potwierdzającą obecność oraz jednocześnie zapewniającą określenie składu grupowego oleju pod względem obecności i oceny zawartości w oleju węglowodorów aromatycznych typowych dla wysoko rafinowanego oleju bazowego pochodzenia naftowego, a także, typowych składników oleju roślinnego. Z zastosowaniem standardowych

- płytek żelu krzemionkowego F-254. Wykorzystano znaną z literatury dla TLC-FID metodykę grupowego rozdzielania w sekwencji SARA - z trzystopniowym rozwijaniem chromatogramu TLC.
2. Stopniowe rozwijanie chromatogramu TLC realizowano w sposób odmienny od zalecanego w literaturze, tzn. obniżając polarność (siłę elucyjną) fazy ruchomej w kolejnych etapach stopniowego rozwijania chromatogramu TLC, jednocześnie zwiększając dystans migracji. W ten sposób zamierzano eliminować efekt okluzji składników rozpuszczalnych w całkowicie niepolarniej fazie ruchomej n-C6 przez nierozpuszczalny glicerol oraz MAG. W praktyce okazało się to niekonieczne wówczas gdy wszystkie składniki rozdzielanej mieszaniny są fazą płynną. Jednakże, nieoczekiwanie stwierdzono wyraźną poprawę selektywności rozdzielania;
  3. Opracowana metodyka z uwzględnieniem wywoływania brunatnej barwy plamek TLC w oparach jodu, zapewnia identyfikację i ocenę składu grupowego oleju pod względem zawartości składników pochodzenia roślinnego (z wyjątkiem zawierających wyłącznie nasycone kwasy tłuszczowe oraz skwalenu (Sq)). Zapewnia też identyfikację obecności oraz ocenę zawartości niskolotnych węglowodorów aromatycznych pochodzenia naftowego i znacznej części dodatków uszlachetniających pochodzenia roślinnego, a także, naftowego zawierających pierścienie aromatyczne w strukturze molekularnej. Nie umożliwia, jednak, identyfikacji, stąd i oceny zawartości grupy S, w tym, także skwalanu (Sk), nie wykazujących absorpcji UV, ani możliwości wywoływania barwy na drodze reakcji chemicznej.

#### **6.1.6. Badania nad wykorzystaniem techniki NP-HPLC i warunków rozdzielania grupowego dla potwierdzenia obecności i oceny zawartości określonych grup składników w olejach bazowych/smarowych**

Opisane powyżej metodyki (pkt. 6.1.2.-6.1.5.) zapewniają możliwość stwierdzenia obecności naftowego i lub roślinnego oleju w olejach smarowych. Informacje o oleju pochodzenia naftowego zapewnia stwierdzenie obecności grupy węglowodorów aromatycznych w badanym materiale albo/i z zastosowaniem metodyki kroplowej oraz badania absorpcji światła w zakresie UV albo/i z zastosowaniem NP-TLC za pomocą określenia obecności oraz oceny zawartości frakcji A. Natomiast, identyfikację obecności rafinowanego oleju roślinnego, który w postaci natywnej prawie w 100% składa się z triacylogliceroli długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, albo frakcji złożonej łącznie z TAG/FAME/DAG/FFA/MAG/GL zapewnia badanie opisaną powyżej metodyką FT-MIR, a także, NP-TLC z wywoływaniem oparami jodu brunatnej barwy plamek na płytkach po trójstopniowym rozwinięciu chromatogramu TLC i wysuszeniu. Jednakże w/w metodyki nie umożliwiają identyfikacji obecności, ani oceny zawartości frakcji węglowodorów nasyconych w oleju. W ten sposób nawet orientacyjne określenie zawartości w mieszaninie oleju naftowego i roślinnego wymaga przyjęcia założenia o zawartości frakcji A w oleju naftowym, przyjęcia założenia, że frakcja S stanowi główny składnik oleju pochodzenia naftowego oraz upewnienia się z wykorzystaniem NP-TLC i wywoływania plamki w oparach jodu, że olej roślinny to głównie TAG.

Dla opracowania bardziej dokładnej metodyki określenia zawartości oleju naftowego i roślinnego w ich mieszaninie wykonano badania z zastosowaniem techniki NP-HPLC z kolumną o polarnej fazie stacjonarnej z elucją izokratyczną niepolarnym eluentem (n-C6) oraz ze zwrotnym przepływem fazy ruchomej w kolumnie rozdzielczej wykonywanym po zakończeniu elucji piku pirenu, jako węglowodoru określającego elucję z kolumny praktycznie wszystkich wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Wykorzystano wnioski z badań w ramach prac doktorskich Kartanowicza [14] i Gudebskiej [11] oraz z niepublikowanych badań Kamińskiego i współpracowników realizowanych w Wydziale Kontroli Jakości (NKJ) Rafinerii Gdańskiej SA oraz w LOTOS SA w latach 1993 – 2005 [29] nad rozdzielaniem grupowym i oznaczania składu grupowego frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej, jak również, naftowych olejów bazowych w sekwencji S/A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub>/A<sub>3</sub>//BF-(A<sub>3</sub>+R), a także, na podstawie norm IP 391 [58] i PN-EN 12916 [51] dotyczących rozdzielania grupowego i oznaczania składu grupowego techniką NP-HPLC-RID ze zwrotnym przepływem eluentu różnego rodzaju lotnych i średnio i średnio lotnych frakcji z atmosferycznej destylacji ropy naftowej oraz produktów ich rafinacji, odpowiednio: tzw. benzyn, olejów napędowych oraz lekkich olejów opałowych. W odróżnieniu od metodyk opisanych w literaturze normalizacyjnej, uwzględniających

stosowanie jedynie różnicowego detektora refraktometrycznego, w opisanych badaniach stosowano dwa połączone szeregowo detektory: UV-Vis/DAD w zakresie długości fali  $\lambda = 200 - 800$  nm oraz RI [14,27,65,120]. Procedury opracowane w ramach cytowanych badań umożliwiały rozdzielanie grupowe w warunkach izokratycznych na trzy grupy. Pierwsza grupa to były węglowodory nasycone. Drugą grupę stanowiły węglowodory aromatyczne: jedno- do trój- pierścieniowych ( $A_{1-3}$ ). Trzecia grupa składała się z ewentualnie obecnych w badanym materiale alifatycznie/alicyklicznie podstawionych węglowodorów powyżej trój-pierścieniowych razem z najbardziej polarną grupą składników w wymienionych powyżej bezasfaltenowych materiałach i produktach naftowych, czyli tzw. żywic ( $A_{3+}+R$ ), eluowaną z kolumny rozdzielczej w warunkach zwrotnego przepływu eluentu w kolumnie w postaci jednego pikę.

W przypadku badania składu grupowego olejów stanowiących mieszaninę oleju naftowego i pochodzenia roślinnego z wykorzystaniem opisanych powyżej metodyk polarnej fazy stacjonarnej w kolumnie i niepolarnej fazy ruchomej uwzględniono konwencję grupowego rozdzielania:  $S/A_{1-3}/(\text{Suma: } A_{3+}+R+\text{TAG}+\text{DAG}+\text{FFA}+\text{MAG}+\text{GL})$ . Tzn. rozdzielanie węglowodorów nasycone, jako jedną grupę, jedno- do trój-pierścieniowych węglowodorów aromatycznych jako drugą oraz sumę  $A_{3+}+R+\text{TAG}+\text{DAG}+\text{FFA}+\text{MAG}+\text{GL}$  jako trzecią, wymywaną z kolumny w formie stosunkowo szerokiego pikę w warunkach zwrotnego przepływu fazy ruchomej w kolumnie rozdzielczej.

Na rysunkach 15. do 18 przedstawiono zestawienia chromatogramów UV-Vis/DAD oraz RID wykorzystując metodykę badań składu grupowego w sekwencji  $S/A_{1-3}/[A_{3+}+R+\text{TAG}+\text{DAG}+\text{FFA}+\text{MAG}+\text{GL}]$  (BF) z wykorzystaniem NP-HPLC z niepolarnym eluentem z detektorami UV-Vis/DAD oraz RI.

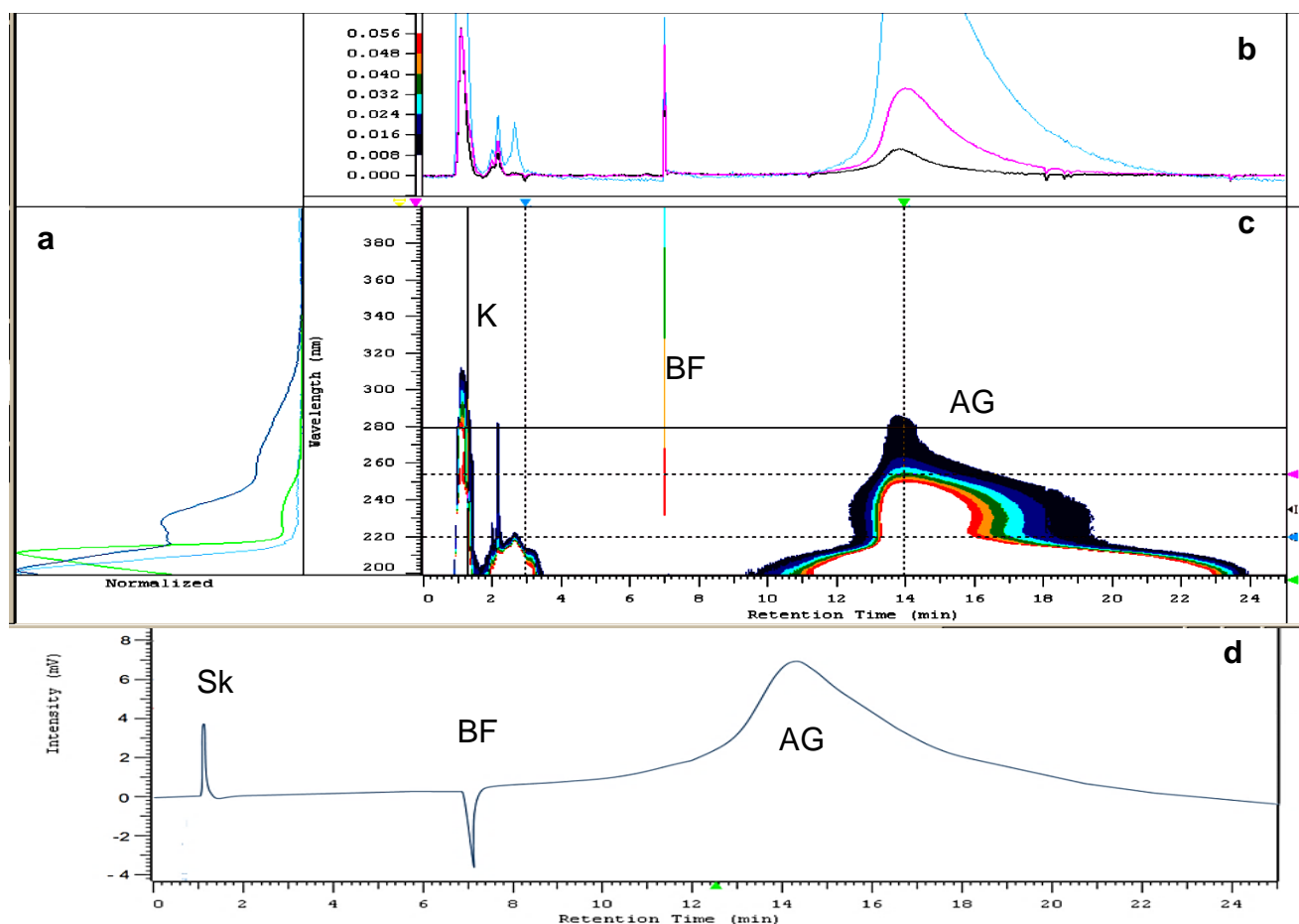
Cytowane powyżej badania [14,27,65,120] wykazały m.in., że dla zapewnienia praktycznie całkowitego rozdzielania grupowego  $S/A_1$  wysoko rafinowanych naftowych olejów bazowych, konieczne było zastosowanie kolumny wypełnionej polarnym adsorbentem żelom krzemionkowym lub typu DIOL o sprawności co najmniej 50 tys. pótek teoretycznych oraz jednocześnie o wysokim stopniu „aktywności adsorpcyjnej fazy stacjonarnej Kolumna HPLC o wysokiej sprawności i charakteryzująca się jednocześnie wysokim poziomem aktywności adsorpcyjnej jest konieczna w opisywanych badaniach dla zapewnienia rozdzielania grupowego  $S/A_1$ . Wynika to z okoliczności, iż w przypadku wysoko rafinowanych naftowych olejów bazowych bardzo trudne jest rozdzielanie całkowicie nieadsorbowanych węglowodorów S od jedno-pierścieniowych węglowodorów o bardzo niskiej energii adsorpcji, spowodowanej tzw. przeszkodami sterycznymi. Konkretnie, przestrzennym oddzieleniem pierścieni aromatycznych od powierzchni adsorbentu przez liczne i o względnie dużych wymiarach struktury alifatyczne i alicykliczne związane z pierścieniem aromatycznym [14,64,215].

Na rysunkach 15-18 przedstawiono przykłady chromatogramów otrzymanych dla tzw. smarowych olejów referencyjnych wykorzystywanych jako oleje odniesienia w kontroli zgodności z wymaganiami Zarządzenia Dyrektora RDLP, tzn., oleju roślinnego, rzepakowego (TAG2 – rysunek 15), oleju smarowego dla urządzeń tnących produkowanego na bazie roślinnej z pakietem dodatków uszlachetniających wytworzonych także na bazie pochodnych olejów roślinnych (O3 – rysunek 16), stosunkowo niskiej klasy oleju mineralnego, maszynowego na bazie naftowego oleju bazowego z dodatkami uszlachetniającymi jako produktami przemysłu petrochemicznego (O2 – rysunek 17) oraz oleju smarowego produkowanego na bazie mieszaniny oleju roślinnego i naftowego z pakietem dodatków uszlachetniających jako produktami przemysłu petrochemicznego (O1 rysunek 18) (charakterystyka materiałów w tabeli 4).

Górna część każdego z rysunków (b) jest chromatogramem detektora UV-Vis/DAD w odwzorowaniu poziomicowym dla długości fali światła UV  $\lambda = 200-400$  nm (c). Powyżej chromatogramów z oznaczeniem C znajdują się typowe chromatogramy dla długości fali światła pokazywanej przez usytuowanie odpowiednich poziomych kursorów (b). Po lewej stronie rysunków przedstawione są widma UV (a) odpowiadające wartości czasu retencji pokazywanego przez odpowiednie kursory pionowe. Poniżej chromatogramów dla detektora UV-Vis/DAD przedstawione są chromatogramy otrzymane z przyłączonego szeregowo różnicowego detektora refraktometrycznego (d), przedstawiające wszystkie piki w zakresie ich wysokości. Na rysunku 18, dodatkowo, wielokrotnie powiększony chromatogram RID (d2) - w zakresie różnic współczynnika załamania światła między eluatem i eluentem. Bardziej szczegółowe informacje zamieszczono w podpisach odpowiednich

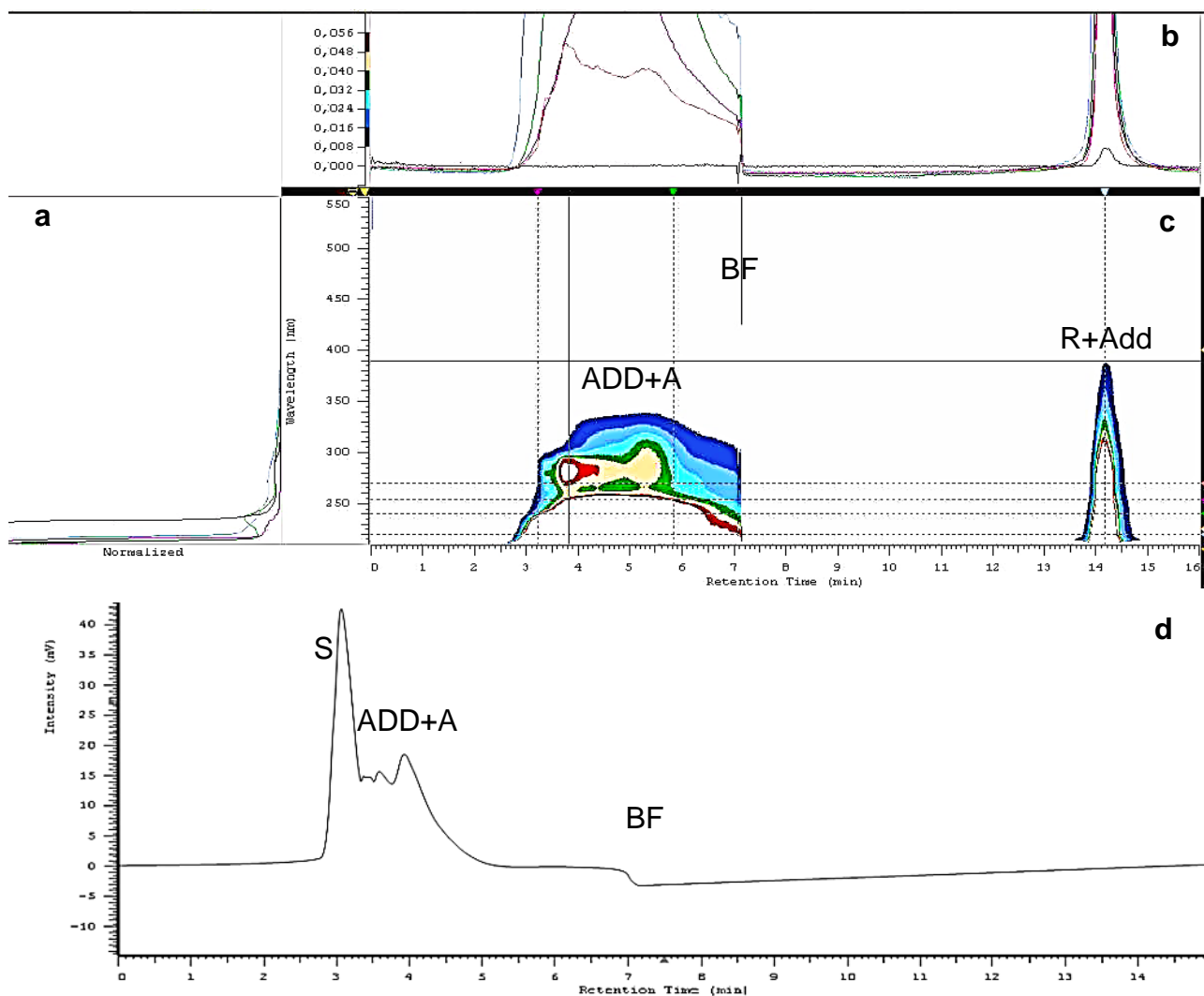


rysunków. Na rysunkach 15-18 zastosowano następujące oznaczenia pików: S—grupy węglowodorów nasyconych; A— węglowodorów aromatycznych, R— tzw. żywic w olejach bazowych pochodzenia naftowego; AG— (acylogliceroli i ich pochodnych) oleju roślinnego; ADD— dodatki uszlachetniające w oleju smarowym; K— karotenoidy, Sk-skwalan, Sq- skwalen itd.; BF – punkt czasu elucji, w którym dokonano zwrotnego przepływu fazy ruchomej w kolumnie rozdzielczej (zmiana o 60° kątowych położenia rotora).

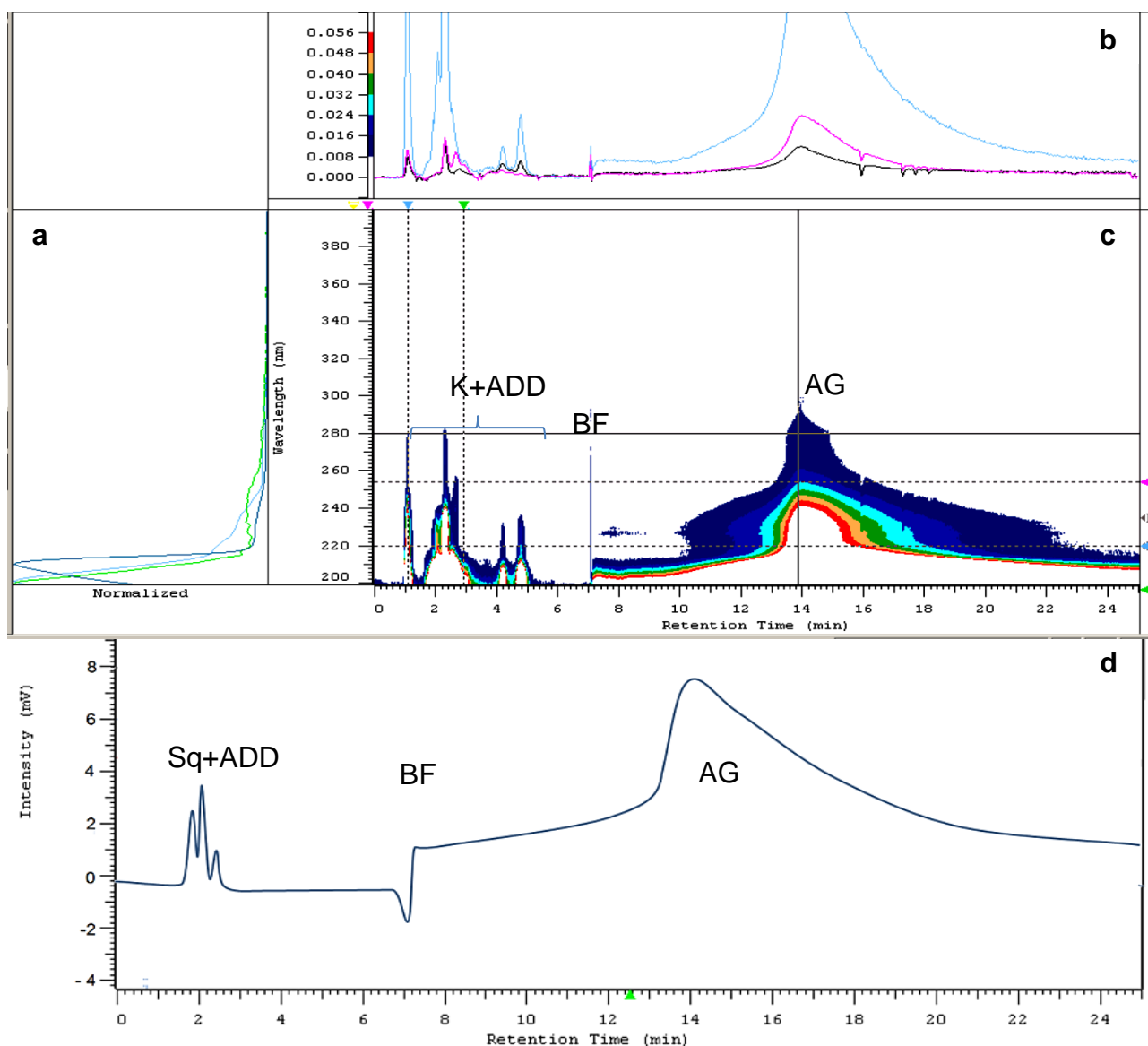


Rysunek 15. Zestawienie chromatogramów dla detektora UV/DAD oraz RI **oleju rzepakowego** (TAG2 – charakterystyka w tabeli 4) (kolumna: LiChrospher DIOL 100 (5  $\mu$ m), 250x4 mm, faza ruchoma: n-C6; przepływ 2,0 ml/min, BF=7min, dozowano: 100 $\mu$ l o stężeniu 10 mg/ml). **a**- widma; **b**- nałożone chromatogramy dla długości fal  $\lambda$ =220 nm (niebieski),  $\lambda$ =254 nm (fioletowy) oraz  $\lambda$ =270 nm (czarny); **c** – chromatogram UV/DAD w zakresie 200 – 400 nm w odwzorowaniu poziomicowym, piki: K- karotenoidy, AG-(acyloglicerole) olej pochodzenia roślinnego, BF – przepływ zwrotny; **d** – chromatogram RID, piki: Sk- skwalan, AG- (acyloglicerole) olej pochodzenia roślinnego, BF – przepływ zwrotny

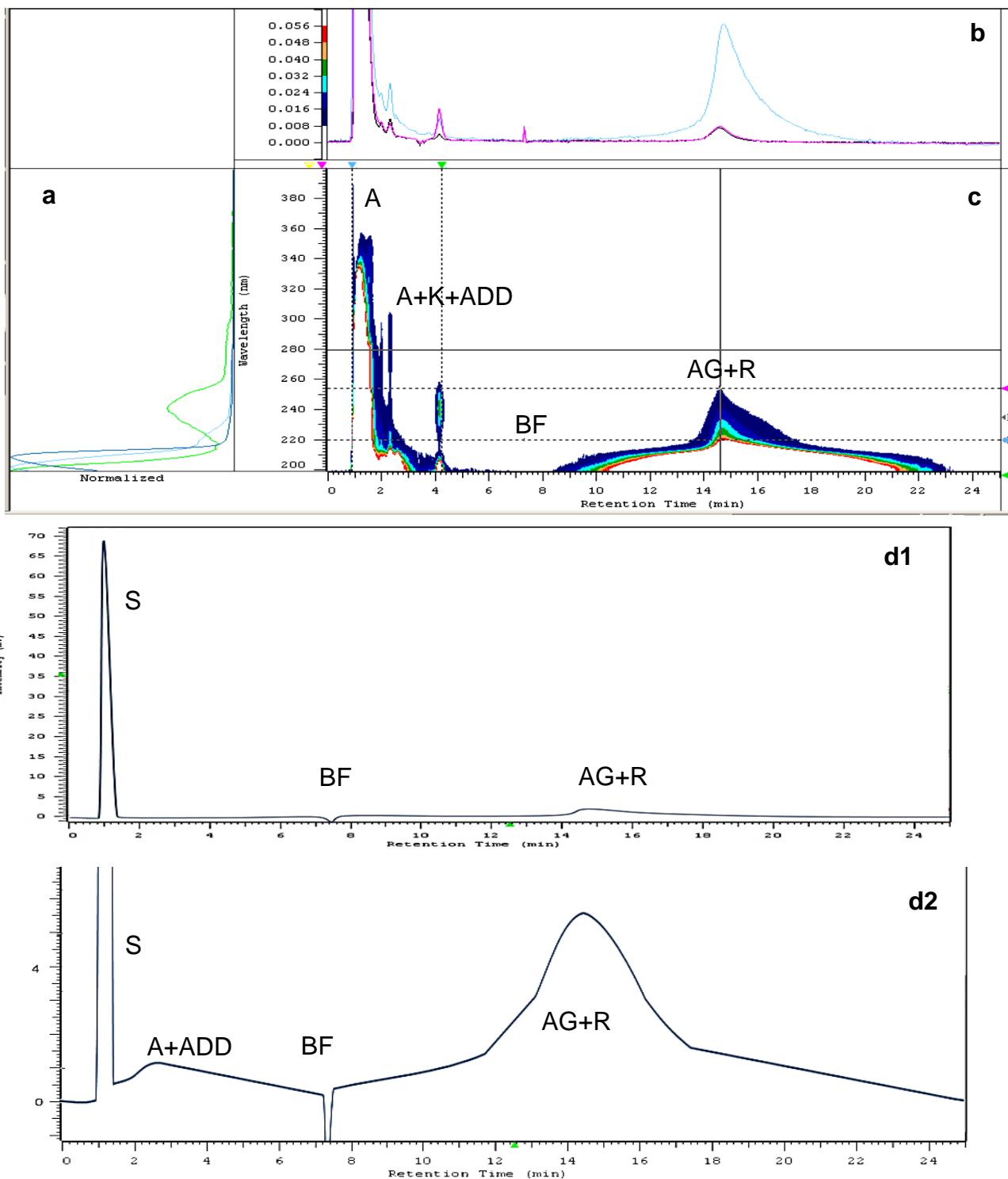




Rysunek 16. Zestawienie chromatogramów dla detektora UV-Vis/DAD oraz RI **oleju naftowego, maszynowego** (O2 – charakterystyka w tabeli 4) (kolumna: 2xLiChrospher DIOL 100 (5  $\mu\text{m}$ ), 250x4 mm, faza ruchoma: n-C6; przepływ 1,5 ml/min, BF=7min, dozowano: 10 $\mu\text{l}$  o stężeniu 10 mg/ml). **a**- widma; **b**- nałożone chromatogramy dla długości fal  $\lambda=230$  nm (niebieski),  $\lambda=254$  nm (fioletowy) oraz  $\lambda=270$  nm (czarny); **c** – chromatogram UV-Vis/DAD w zakresie 200 – 550 nm w odwzorowaniu poziomicowym, piki: ADD+A – Dodatki uszlachetniające (ADD) oraz węglowodory aromatyczne (A), R- żywice, BF – przepływ zwrotny; **d** – chromatogram RID, piki: S- węglowodory nasycone, ADD-dodatki uszlachetniające, A-węglowodory aromatyczne, BF-przepływ zwrotny



Rysunek 17. Zestawienie chromatogramów dla detektora UV/DAD oraz RI oleju do smarowania układów tnących produkowanego na bazie roślinnej z pakietem dodatków uszlachetniających (O3 – charakterystyka w tabeli 4) (kolumna: LiChrospher DIOL 100 (5  $\mu$ m), 250x4 mm, faza ruchoma: n-C6; przepływ 2,0 ml/min, BF=7min, dozowano: 100 $\mu$ l o stężeniu 10 mg/ml). a- widma; b- nałożone chromatogramy dla długości fal  $\lambda$ =220 nm (niebieski),  $\lambda$ =254 nm (fioletowy) oraz  $\lambda$ =270 nm (czarny); c – chromatogram UV/DAD w zakresie 200 – 400 nm w odwzorowaniu poziomocowym, piki: K+ADD- karetonoidy +pakiet dodatków uszlachetniających, AG-(acyloglicerole) olej roślinny, BF-przepływ zwrotny; d – chromatogram RID, piki: Sq+ADD- skwalen+ pakiet dodatków uszlachetniających, AG- (acyloglicerole) - olej roślinny, BF-przepływ zwrotny



Rysunek 18. Zestawienie chromatogramów dla detektora UV/DAD oraz RI oleju do smarowania układów tnących produkowanego na bazie mieszanki roślinnej i naftowej z pakietem dodatków uszlachetniających (O1 – charakterystyka w tabeli 4) (kolumna: LiChrospher DIOL 100 (5  $\mu\text{m}$ ), 250x4 mm, faza ruchoma: n-C6; przepływ 2,0 ml/min, BF=7min, dozowano: 100 $\mu\text{l}$  o stężeniu 10 mg/ml). **a**- widma; **b**- nałożone chromatogramy dla długości fal  $\lambda=220$  nm (niebieski),  $\lambda=254$  nm (fioletowy) oraz  $\lambda=270$  nm (czarny); **c** – chromatogram UV/DAD w zakresie 200 – 400 nm w odwzorowaniu poziomicowym, piki: A+K+ADD- węglowodory aromatyczne+karetonoidy+pakiet dodatków uszlachetniających, AG- (acyloglicerole) - olej roślinny, R- żywice, BF-przepływ zwrotny; **d1** – chromatogram RID, piki: S - węglowodory nasycone, ADD- pakiet dodatków uszlachetniających, AG- (acyloglicerole) - olej roślinny, BF-przepływ zwrotny; **d2** - chromatogram RID (powiększenie dla niskich zakresów intensywności) S - węglowodory nasycone, A+ADD-węglowodory aromatyczne+pakiet dodatków uszlachetniających, AG- (acyloglicerole) - olej roślinny, BF-przepływ zwrotny

Chromatogramy detektora UV/DAD w odwzorowaniu poziomicowym i standardowym oraz w formie widm a także, odpowiednie chromatogramy detektora RI dla oleju maszynowego, naftowego (O2) oraz oleju smarowego produkowanego na bazie mieszaniny oleju roślinnego oraz naftowego z pakietem dodatków uszlachetniających (O1), czyli olejów zawierających frakcję naftowe zostały przedstawione na rysunkach 16 oraz 18. Obecność pików o wartości  $k=0$  na chromatogramie detektora RI przy jednocześnie braku obecności odpowiedniego pików na chromatogramie detektora UV/DAD (rysunki 16 i 18.), świadczy o obecności grupy węglowodorów nasyconych w badanym oleju bazowym, lub smarowym. Przy czym może to być pik grupy S naftowego oleju bazowego, albo pik grupy PAO bazowego oleju syntetycznego. Wówczas, gdy na chromatogramie RID ma miejsce pik S, a na UV/DAD ma miejsce szeroki pik o maksimum absorpcji UV w zakresie długości fali ok  $\lambda= 260 - 280$  nm oraz o wysokiej absorpcji światła UV do ok.  $\lambda= 340 - 360$  nm, a także podobny na chromatogramie RID dla podwyższonej czułości detektora - w zakresie powyżej wartości czasu elucji odpowiadającej końcowej części pików grupy S, jednocześnie o widmach UV charakterystycznych dla węglowodorów aromatycznych, to stwierdza się obecność z grupy węglowodorów aromatycznych - w przypadku badania oleju bazowego. Natomiast w przypadku oleju smarowego może mieć miejsce nałożenie węglowodorów aromatycznych oleju bazowego oraz względnie nisko polarnych dodatków uszlachetniających wyprodukowanych petrochemicznie, jak na rysunku 16. Może też mieć miejsce nałożenie grupy A oleju bazowego, z tzw. alkilatami, jako olejem bazowym i dodatków uszlachetniających (rysunek 18). Na podstawie otrzymanych wyników badań stwierdzono, że w przeciwieństwie do detektora z matrycą fotoelementów (typu UV-Vis/DAD), różnicowy detektor refraktometryczny umożliwia identyfikację i oznaczanie frakcji niepolarnych węglowodorów nasyconych w oleju, w przeciwieństwie do detektora UV-VIS-DAD (węglowodory alifatyczne oraz alicykliczne całkowicie nie absorbują światła UV w zakresie długości fali światła UV powyżej ok.  $\lambda= 205$  nm).

Brak obecności szerokiego pików podczas zwrotnego przepływu eluentu w kolumnie rozdzielczej, dla długości fali  $\lambda= 220$  nm o wartości maksimum ok.  $2 \times t_{RF}$  oraz jednocześnie brak odpowiedniego pików na chromatogramie RID (rysunek 16) potwierdza, że badany materiał nie zawiera oleju roślinnego w formie TAG, ani składników będących pochodnymi rafinowanego oleju roślinnego. Jednoczesna obecność na chromatogramie w odwzorowaniu poziomicowym stosunkowo wąskiego pików o absorpcji światła do ok  $\lambda= 400$  nm, lub nawet powyżej  $\lambda= 400$  nm, świadczy o obecności w badanym oleju frakcji tzw. żywic, które charakteryzują się często żółtą barwą, stąd absorbują światło powyżej 400 nm (rysunek 16).

Chromatogramy detektora UV/DAD w odwzorowaniu poziomicowym i standardowym oraz w formie widm a także, odpowiednie chromatogramy detektora RI dla oleju rzepakowego (TAG1) oraz oleju smarowego produkowanego na bazie oleju roślinnego z pakietem dodatków uszlachetniających (O3) oraz oleju smarowego produkowanego na bazie mieszaniny oleju roślinnego oraz naftowego z pakietem dodatków uszlachetniających (O1) czyli olejów zawierających frakcję roślinne zostały przedstawione na rysunkach 15, 17 oraz 18. Obecność szerokiego pików dla długości fali  $\lambda= 220$  nm w warunkach przepływu zwrotnego fazy ruchomej w kolumnie rozdzielczej (rysunek 15, 17, 18), oznaczonych symbolem TAG informuje o obecności oleju roślinnego o charakterze triglicerydów, lub pochodnych. W przypadku obecności wyłącznie oleju roślinnego i/lub pochodnych na chromatogramie RID nie ma, ani wysokiego pików grupy S, ani szerokiego grupy A, a jedynie szeroki pik TAG eluowany z kolumny w warunkach zwrotnego przepływu fazy ruchomej (rysunek 15.). W przypadku mieszaniny obu rodzajów olejów bazowych w oleju smarowym stwierdza się obecność wszystkich trzech rodzajów pików: S, A oraz TAG (rysunek 18). Wówczas opisywana procedura może służyć nie tylko do celów „identyfikacyjnych”, czy do „oceny” zawartości jednego i drugiego rodzaju oleju w mieszaninie, ale także do oznaczenia w sposób orientacyjny zawartości każdego z rodzajów olejów w mieszaninie. W tym celu można by zastosować procedurę postępowania podobną do stosowanej w Normach IP 391 [58] lub później w PN-EN 12916 [51], odnosząc na podstawie pików detektora RI, zawartości poszczególnych grup składników w mieszaninie olejów do ich „reprezentantów”, odpowiednio np.: dla grupy S do skwalanu, dla grupy A do pirenu, oraz dla grupy TAG+FFA+DAG+MAG+GL – do świeżego rafinowanego oleju rzepakowego albo słonecznikowego.

W przypadku badania olejów smarowych zawierających dodatki uszlachetniające niniejsza metodyka NP-HPLC/BF/UV-Vis/DAD/RID umożliwia także ocenę obecności oraz ocenę zawartości niektórych rodzajów dodatków uszlachetniających (ADD) o względnie niskiej polarności, eluowanych przed przestawieniem położenia zaworu przepływu zwrotnego (rysunki 16 oraz 17).

Opisywana metodyka może także posłużyć do określenia czy olej bazowy oleju smarowego jest wyłącznie syntetycznym olejem typu PAO. Wówczas chromatogram detektora RI w warunkach niskiej czułości pokazuje tylko pik S, a chromatogram detektora UV-Vis, wyłącznie piki od dodatków uszlachetniających. Nie ma miejsca, ani szeroki pik grupy A (rysunek 15), ani stosunkowo wąski pik o widmie jedno pierścieniowych węglowodorów aromatycznych charakterystyczny dla tzw. alkylatu, jako oleju bazowego będącego produktem alkilacji najczęściej benzenu, czasem też toluenu, ksyłenu, albo tzw. kumenu (rysunek 18 – tu w mieszaninie z frakcją A pochodzenia naftowego).

Należy dodać, że dyskutowana tu procedura badania składu grupowego olejów w sekwencji S/A(BF) (TAG+R) z zastosowaniem kolumny HPLC z polaną fazą stacjonarną oraz niepolarną fazą ruchomą (n-C6) jest adekwatna dla olejów z ropy naftowej (rysunek 16). Natomiast, jest związana z poważnymi trudnościami praktycznego stosowania dla olejów pochodzenia roślinnego, szczególnie gdy oprócz TAG, olej zawiera też ich pochodne o wyższej polarności będące produktami hydrolizy TAG (DAG, FFA, MAG, GL), charakteryzujące się względnie wysokimi energiami adsorpcji do polarnej fazy stacjonarnej kolumny. Wówczas w warunkach zwrotnego przepływu eluentu w kolumnie rozdzielczej najbardziej polarne składniki MAG oraz GL wymagają bardzo długiego czasu ich wymywania z kolumny z zastosowaniem niepolarną fazą ruchomą n-C6 lub podobnej. Tym bardziej, że są w tak nisko polarnej fazie ruchomej prawie nierozpuszczalne. To powoduje, że po kilkunastu rozdzielaniach i zastosowaniu ograniczonego czasu elucji zwrotnej, faza stacjonarna kolumny ulega dezaktywacji i następuje znaczne pogorszenie rozdzielczości S/A. Wówczas konieczna jest ponowna aktywacja fazy stacjonarnej kolumny lub zastosowanie nowej kolumny NP-HPLC.

Podsumowując można stwierdzić, że technika NP-HPLC/BF/UV-Vis/DAD/RID zapewnia potwierdzenie obecności oraz oznaczenie orientacyjnej zawartości w oleju smarowym wszystkich podstawowych grup składników olejów bazowych (S/A/TAG+R), gdy inne metodyki badane w ramach niniejszej 1 części pracy (metoda kroplowa, NP-TLC, spektrofotometria: UV, FT-MIR) zapewniają identyfikację obecności i oceny zawartości albo tylko składników A, lub TAG, albo TAG (NP-TLC z wykorzystaniem światła UV  $\lambda = 365$  nm oraz wywoływaniem brunatnej barwy plamek w oparach jodu). Wykorzystując przebieg sygnału detektora UV-Vis/DAD (tzn. na podstawie parametrów retencji oraz przebiegu widma absorpcji światła w zakresie  $\lambda = 200-360$  nm) identyfikuje się różnego rodzaju składniki aromatyczne, estrowe oraz inne, a także oznacza nawet na poziomie śladowym zawartość aromatycznej frakcji naftowej w bazie olejowej. Ponadto (z mniejszą czułością) biodegradowalne składniki oleju pochodzenia roślinnego, a także inne grupy składników oleju w postaci dodatków uszlachetniających o względnie niskiej polarności (charakteryzujące się retencją poniżej retencji pirenu). Orientacyjną zawartość wyżej wymienionych składników można oznaczyć z wykorzystaniem różnicowego detektora refraktometrycznego.

#### Rezultaty powyższych badań uzasadniają poniższe wnioski:

1. Opracowano metodykę badań składu grupowego w sekwencji S/A<sub>1-3</sub> / [A<sub>3+</sub>+R+TAG+DAG+FFA+MAG+GL](BF) z wykorzystaniem wysokosprawnej kolumnowej elucyjnej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-HPLC) z niepolarnym eluentem n-C6, ze zwrotnym przepływem fazy ruchomej po elucji fenantrenu jako trasa węglowodorów aromatycznych A<sub>1-3</sub> w oleju, z połączonymi „szeregowo” detektorami UV-Vis/DAD oraz RID.
2. Metodyka dzięki zastosowaniu różnicowego detektora refraktometrycznego umożliwia identyfikację i oznaczenie w oleju orientacyjnej zawartości grupowej frakcji niepolarnych węglowodorów nasyconych i aromatycznych (A<sub>1-3</sub>), a także skwalanu, skwalenu, karotenoidów, nisko polarnych dodatków uszlachetniających w przypadku ich znacznej zawartości na podstawie przebiegu części chromatogramu otrzymanego w warunkach przepływu fazy ruchomej w sposób standardowy wzdłuż kolumny oraz na podstawie przebiegu drugiej części chromatogramu



- otrzymanego w warunkach zwrotnego przepływu fazy ruchomej, ocenić obecność i łączną zawartość składników: A<sub>3+</sub>+R+TAG+DAG+FFA+MAG+GL+średnio polarne oraz polarne dodatki uszlachetniające.
3. Detektor UV-Vis/DAD zapewnia identyfikację na podstawie charakterystyki widm UV tych składników i grup składników, które wykazują absorpcję światła UV w zakresie długości fali  $\lambda = 200$  do  $400$  nm, w tym dodatków uszlachetniających wykazujących tego rodzaju absorpcję światła UV.
  4. Wykorzystanie HPLC w warunkach izokratycznych z niepolarną fazą ruchomą n-C6 w myśl metodyki opracowanej uprzednio dla naftowych olejów napędowych, czy bazowych i smarowych otrzymanych z rafinacji frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej jest celowe dla identyfikacji oraz oznaczenia składu grupowego oleju w konwencji S/A. Umożliwia też ocenę obecności w oleju oraz zawartości frakcji olejów roślinnych i ich pochodnych, w tym, w mieszaninie z olejem naftowym. Nie umożliwia, jednak, oznaczania składu grupowego w zakresie wyżej polarnych składników. Występuje też inny poważny problem. Takie składniki olejów roślinnych jak MAG czy GL charakteryzujące się względnie wysokimi energiami adsorpcji do polarnej fazy stacjonarnej kolumny, są dodatkowo nierozpuszczalne w fazie ruchomej n-C6. W konsekwencji, z zastosowaniem niepolarniej fazy ruchomej n-C6 lub podobnej w warunkach zwrotnego przepływu eluentu w kolumnie rozdzielczej, wymagają bardzo długiego czasu ich wymywania z kolumny. To powoduje, że po kilkunastu rozdzielaniach i zastosowaniu ograniczonego czasu elucji zwrotnej następuje znaczne pogorszenie rozdzielczości S/A. Wówczas konieczna jest ponowna aktywacja fazy stacjonarnej kolumny lub zastosowanie nowej kolumny NP-HPLC.
  5. W rezultacie w badaniach kontrolnych olejów na rzecz RDLP w Gdańsku, HPLC nie była stosowana na co dzień.

### 6.1.7. Podsumowanie dot. opracowania procedury kontroli obecności oraz oceny zawartości naftowej/roślinnej frakcji w olejach do urządzeń tnących

Każdy wysoko rafinowany olej pochodzenia naftowego otrzymany z ropy naftowej przydatnej do produkcji tzw. mineralnych olejów smarowych zawiera grupę nisko lotnych alifatycznie i alicyklicznie podstawionych, szczególnie jedno-, a także - w niewielkim udziale - dwu- i wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Potwierdziły to także w sposób niewątpliwy badania Kamińskiego i innych, w tym w ramach prac doktorskich Gudebskiej i Kartanowicza [11,14,120,212]. Wszystkie tego rodzaju węglowodory aromatyczne charakteryzują się absorpcją światła UV w zakresie do ok.  $\lambda = 320$  nm dla węglowodorów jednopierścieniowych do nawet  $\lambda = 420$  nm w przypadku węglowodorów wielopierścieniowych, których zawartość w rafinowanych olejach bazowych jest względnie bardzo niska. Absorpcja światła jest szczególnie wysoka poniżej  $\lambda = 250$  nm. Mają miejsce charakterystyczne widma absorpcyjne o maksimach w zakresie  $\lambda = 260$  do  $\lambda = 280$  nm. Równocześnie takie węglowodory aromatyczne charakteryzują się błękitną fluorescencją wzbudzaną przez światło UV  $365$  nm.

Naturalne oleje roślinne to TAG, czyli tri-estry glicerolu i kwasów tłuszczowych. Natomiast ich bezpośrednie pochodne o charakterze produktów hydrolizy, to DAG, MAG, FFA oraz bardzo trwały bardzo wysoko polarny glicerol (powstaje w przypadku całkowitej hydrolizy TAG). **W zależności od stopnia hydrolizy** pozostają grupy estrowe  $-\text{COOR}$ , a część przekształca się w struktury karboksylowe  $-\text{COOH}$ . Produkty utlenienia to organiczne związki chemiczne posiadające struktury tzw. tłuszczowych kwasów nadtlenowych zwanych czasem strukturami nad-kwasów tłuszczowych. Wszystkie te organiczne związki chemiczne zawierają grupy karbonylowe  $>\text{C}=\text{O}$  w strukturze molekularnej. Nie posiadają pierścieni aromatycznych. Stąd charakteryzują się absorpcją światła UV w zakresie poniżej  $\lambda = 250$  nm. Często maksimum absorpcji w zakresie  $\lambda = 220-240$  nm. Nie wykazują jakiegokolwiek fluorescencji pod wpływem światła UV  $\lambda = 365$  nm.

Ta wiedza stała się podstawą opracowania na rzecz Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych w Gdańsku, możliwie prostych do wykonania oraz jednocześnie prowadzących do bezspornych wniosków, terenowych (in situ) i laboratoryjnych metodyk identyfikacji oraz oceny obecności i zawartości w oleju smarowym urządzeń tnących oleju pochodzenia naftowego oraz

roślinnego czy mieszanin tychże. Procedury umożliwiającej też ocenę składu grupowego w zakresie grupy składników o charakterze węglowodorów aromatycznych oraz grupy acylogliceroli i ich pochodnych, łącznie w olejach smarowych każdego rodzaju. Badania wykazały że w ramach terenowej przesiewowej metodyki kontroli technicznej olejów do urządzeń tnących można ograniczyć się do wykorzystania opisanej poniżej metodyki badania fluorescencji kropli oleju w warunkach braku oświetlenia z otoczenia.

Badania tej 1 części pracy dotyczyły także opracowania laboratoryjnych spektrofotometrycznych metodyk identyfikacji oraz oceny udziału oleju mineralnego i naturalnego oleju roślinnego w oleju smarnym na drodze badania obecności i „stężenia” określonych struktur molekularnych. Badania tej części pracy wykonano też z wykorzystaniem trójstopniowej cienkowarstwowej chromatografii cieczowej (3-St-TLC) w zakresie określenia składu grupowego różnych olejów bazowych i smarowych, szczególnie do smarowania łańcuchów tnących tzw. pilarek. Badania planowano w ten sposób by opracowane metodyki były również przydatne dla oceny składu grupowego przynajmniej w konwencji A/[TAG+DAG+MAG]/FFA/FAME i powinny być przydatne do badania każdego oleju bazowego i smarnego, w tym, olejów hydraulicznych, które w przypadku awarii przewodów transportowych lub innych modułów maszyn, albo pojazdów pracujących w naturalnym środowisku mogą być przyczyną poważnego zanieczyszczenia środowiska.

Pierwsza część niniejszej rozprawy jest poświęcona prezentacji rezultatów opisanych badań oraz wniosków, z nich wynikających.

Na zlecenie i we współpracy z RDLP w Gdańsku, na bazie badań opisanych w niniejszej 1 części pracy, została opracowana i wielokrotnie zastosowana w praktyce innowacyjna procedura analityczna, złożona z opisanych powyżej metodyk, zapewniająca określenie obecności (lub jej braku) i ocenę zawartości składników pochodzących z ropy naftowej, a także składników pochodzących z olejów roślinnych w olejach smarowych stosowanych w mechanicznych tnących, jako jeden z etapów projektu RDLP pt. „Rzetelne przedsiębiorstwo Leśne”.

Powyższa opracowana procedura zapewnia stosunkowo łatwe i szybkie (zdecydowanie łatwiejsze i szybsze od oficjalnych metodyk OECD, opisanych we wprowadzeniu do niniejszej pracy – pkt. 3.3.) badanie dowolnego oleju smarowego na obecność i zawartość, niezwykle trudno biodegradowalnych, w części nie biodegradowalnych i szczególnie ekotoksycznych niedopuszczalnych olejów ropopochodnych oraz łatwo biodegradowalnych, nieekotoksycznych pożądanych, olejów roślinnych w olejach smarowych urządzeń tnących, tak, w urządzeniach typu tzw. harwesterów, jak i manualnych zgodnie z wymaganiami zawartymi w Zarządzenia Dyrektora RDLP.

Opracowaną **PROCEDURE KONTROLI OBECNOŚCI ORAZ OCENY ZAWARTOŚCI NAFTOWEJ/ROŚLINNEJ FRAKCJI W OLEJACH DO URZĄDZEŃ TNĄCYCH** można opisać w następujący sposób:

#### → ETAP I – TERENOWY (IN SITU) – METODA KROPIOWA

- 1.1. Pobranie próbek poszczególnych kontrolowanych olejów – pierwszej z karteru olejowego urządzenia tnącego, drugiej z pojemnika z olejem który został wprowadzony do odpowiedniej maszyny tnącej (o objętości ok. 0,2 ml każda);
- 1.2. Specyfikacja pobranych próbek w tabeli danych o poszczególnych próbkach oraz oznaczenie powierzchni obok poszczególnych wgłębień symbolami pobranych próbek w płytce jak na rysunkach 4-6;
- 1.3. Wprowadzenie po ok. 0,2 ml odpowiednich próbek oleju do odpowiednich walcowych wgłębień w płytce na rysunkach 4-6;
- 1.4. Wprowadzenie płytki z olejami umieszczonymi w walcowych wgłębieniach w płytce do komory zaciemniającej (rys. 5);
- 1.5. Zbadanie fluorescencji próbek olejów we wgłębieniach płytki pod wpływem światła lampy LED  $\lambda = 365 \text{ nm}$  (metodą kropiową);
- 1.6. Zapisanie w tabeli informacji o fluorescencji i jej intensywności/braku fluorescencji poszczególnych badanych olejów;

- 1.7. Wytypowanie olejów wykazujących widoczną, nawet bardzo słabą fluorescencję pod wpływem światła UV  $\lambda = 365$  nm do przekazania do dalszych badań w laboratorium;
- 1.8. Przygotowanie laboratoryjnych próbek olejów wytypowanych do dalszych badań w laboratorium i oznaczenie ich etykietami;
- 1.9. Przekazanie do laboratorium do dodatkowych badań wytypowanych olejów wraz z ich specyfikacją;
- 1.10. Kwalifikacja pozostałych olejów, których próbki nie wykazały nawet słabo widocznej fluorescencji - jako spełniających wymagania przetargowe oraz obowiązującego Zarządzenia dyrektora RDLP w Gdańsku.

## → ETAP II – LABORATORYJNY

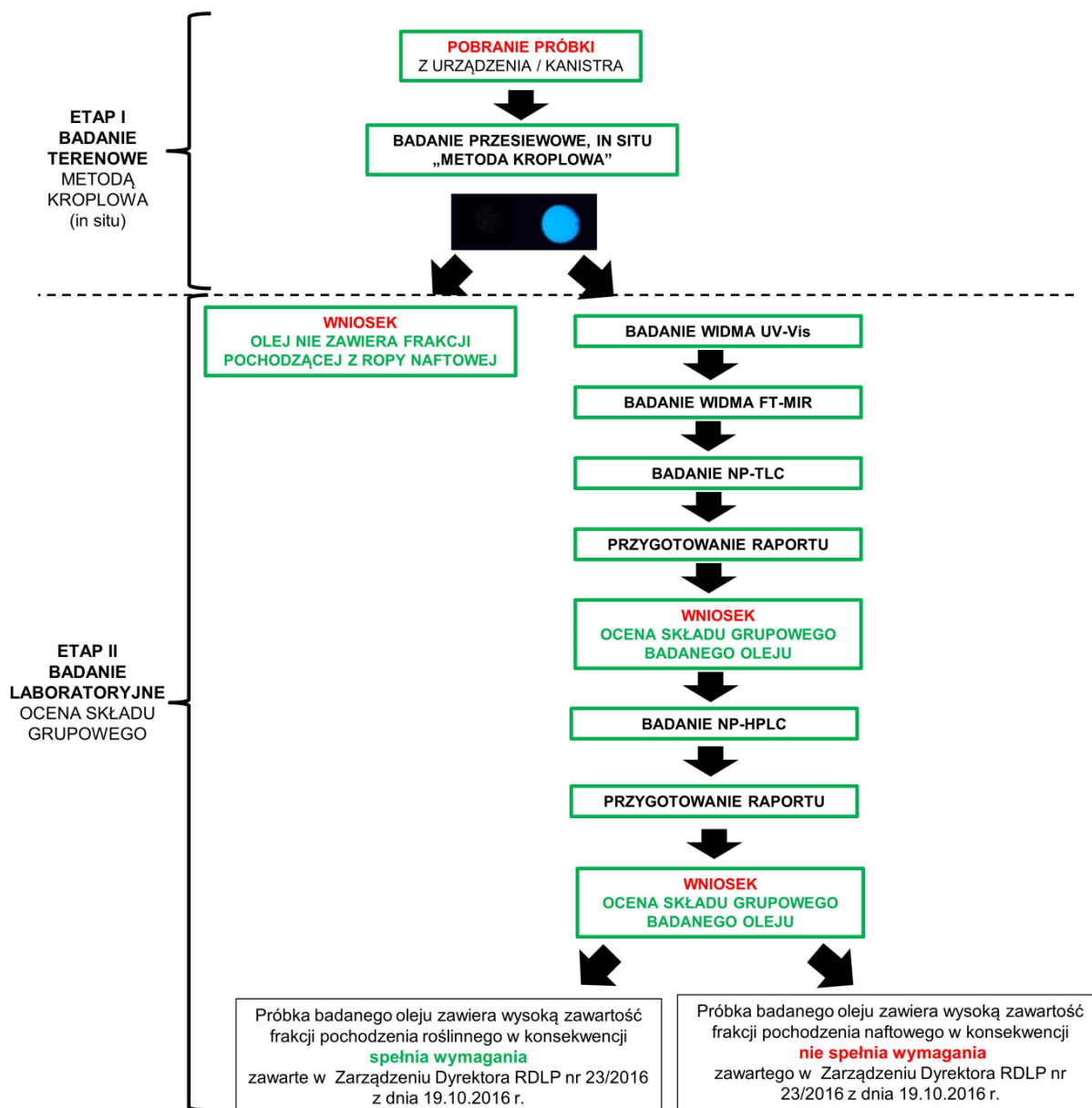
- 2.1. Specyfikacja próbek dostarczonych do laboratorium;
- 2.2. **Metoda kropłowa:** Zbadanie obecności i orientacyjnej zawartości oleju naftowego/roślinnego w próbkach dostarczonych do laboratorium z wykorzystaniem metodyki kropłowej i laboratoryjnego stanowiska do realizacji metodyki kropłowej, kolejno:
  - wprowadzenie poszczególnych próbek dostarczonych olejów o objętości ok. 0,2 ml do wgłębień w płytce;
  - wizualna obserwacja fluorescencji próbek i zapis rezultatów oceny wizualnej w tabeli specyfikacji badanych próbek;
  - wykonanie fotografii każdej płytki oświetlonej lampą LED  $\lambda = 365$  nm cyfrowym aparatem fotograficznym;
- 2.3. **Badanie widma UV:** Zbadanie obecności i orientacyjnej zawartości oleju naftowego w badanych próbkach z wykorzystaniem metodyki spektrofotometrii w zakresie UV:
  - przygotowanie laboratoryjnych próbek o stężeniu 0,25 mg każdego badanego oleju/ml n-C6 o objętości ok. 5 ml i umieszczenie ich w hermetycznie szczelnych fiolkach;
  - wprowadzenie każdej próbki do kwarcowej kuwety spektrofotometru z kwarcową pokrywą ze szlifem;
  - wprowadzenie unikalnych nazwy aktualnie badanej próbki do pamięci operacyjnej komputera spektrofotometru UV;
  - rejestracja widma UV próbki w zakresie  $\lambda = 200 - 400$  nm względem n-C6 użytego jako rozcieńczalnik oraz zapisanie wartości absorbancji dla  $\lambda = 265$  nm;
  - obliczenie szacunkowej zawartości oleju naftowego w badanej próbce i zapisanie wartości liczbowej w tabeli specyfikacji próbek dostarczonych olejów;
  - utworzenie pliku widma UV zbadanych próbek na twardym dysku komputera spektrofotometrii UV;
- 2.4. **Badanie widma FT-MIR:** Zbadanie obecności oraz ocena zawartości naturalnego oleju roślinnego i pochodnych oraz naftowego w oleju smarowym z wykorzystaniem spektrofotometru oraz analizy refleksyjnego („odbiciowego”) widma FT-MIR:
  - nałożenie kropli oleju na powierzchnię diamentowego okienka spektrofotometru;
  - rejestracja refleksyjnego widma FT-MIR próbki oleju w zakresie liczby falowej  $\lambda = 4000$  do  $500$   $\text{cm}^{-1}$  w pamięci trwałej komputera spektrofotometru MIR;
  - analiza widma FT-MIR dla  $\lambda = 1720 - 1747$  oraz dla  $\lambda = 1100 - 1160$   $\text{cm}^{-1}$  w celu określenia obecności (istnienie „piku” absorpcji IR) oraz orientacyjnej zawartości oleju roślinnego i pochodnych w badanym oleju (amplituda piku absorpcji IR), lub nie istnienia oleju roślinnego i pochodnych w badanym oleju bazowym lub smarowym (brak pików dla  $\lambda = 1720 - 1747$  oraz dla  $\lambda = 1100 - 1160$   $\text{cm}^{-1}$ );
  - uzupełniająco analiza amplitudy pików absorpcji IR w zakresie  $\lambda = 720 - 723$   $\text{cm}^{-1}$  dla struktur  $-(\text{CH}_2)_n-$  – dla oceny długości alifatycznego łańcucha w kwasach tłuszczowych/obecności i oceny zawartości struktur alifatycznych oraz alicyklicznych w badanym oleju bazowym oraz smarowym;

- 2.5. **Badanie techniką NP-TLC:** Zbadanie obecności oraz ocena zawartości grup składników w konwencji S/A/FAME/TAG/FFA/DAG/MAG w oleju z wykorzystaniem NP-TLC oraz 3-stopniowego rozwijania chromatogramu TLC z wizualizacją płytki TLC z wykonaniem fotografii aparatem cyfrowym w świetle  $\lambda = 365$  i  $\lambda = 254$  nm plamek próbek roztworu oleju w n-C6 po ich nałożeniu i wysuszeniu oraz po każdym kolejnym etapie rozwijania chromatogramu TLC i wysuszeniu płytki TLC, jak również po jej ekspozycji w oparach jodu po ostatnim etapie rozwijania chromatogramu i wysuszeniu płytki (szczegółowy opis procedury pkt. 5.3.4. w części metodycznej);
- wprowadzenie plików w/w fotografii do pamięci trwałej komputera oraz przygotowanie dokumentacji zawierającej wnioski z badań techniką NP-TLC z 3-stopniowym rozwijaniem chromatogramu i powyżej opisanych metod wizualizacji plamek na powierzchni płytki TLC – F-254;
- 2.6. **Badanie techniką NP-HPLC:** Zbadanie z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-HPLC) ze zwrotnym przepływem fazy ruchomej n-C6 w kolumnie po doświadczalnie określonym czasie elucji pirenu z kolumny, z detekcją UV/DAD oraz RID i ocena składu grupowego oleju w konwencji S/A/BF:(TAG+DAG+FFA+MAG+FAME+dodatki uszlachetniające jako pochodne olejów roślinnych+R) na podstawie chromatogramów UV/DAD w odwzorowaniu poziomicowym oraz RID;
- uzupełnienie dokumentacji badanych próbek o wnioski z etapu NP-HPLC/BF/UV/DAD.

Schemat ideowy opracowanej procedury przedstawiono na rysunku 19. Przykład raportu z badań (metodą kroplową, badania widma UV-Vis, FT-MIR oraz techniką NP-TLC) załączono w aneksie pkt. A3. W raporcie z tego typu badań (przykład w Aneksie pkt. A4) wykluczono, albo potwierdzono obecność zabronionego w Zarządzeniu Dyrektora RDLP naftowego oleju bazowego, i w przypadku obecności, oceniono zawartość na zasadzie: „więcej niż ...”, albo „mniej niż ...”.

Przedmiotowa procedura pozwala w sposób bezsporny wytypować oleje smarowe zawierające olej bazowy pochodzenia naftowego. Zapewnia możliwość określenia orientacyjnej zawartości naftowego oleju bazowego. Pozwala także na orientacyjne określenie składu grupowego oleju smarowego o szerokim zakresie polarności W konwencji S/A/BF: suma:(TAG+FAME+DAG+FFA+MAG+R+GL). Może zostać zastosowana do orientacyjnej oceny składu grupowego dowolnego oleju smarowego, a także dla nie zawierającego fosfolipidów rafinowanego oleju roślinnego i produktów pochodnych. Jednakże, nie umożliwia oznaczenia składu grupowego oleju w konwencji S/A/TAG/FAME/DAG/FFA/MAG/GL.

W latach 2015-16 opracowaną procedurę wg algorytmu na rysunku 19 zastosowano w nadleśnictwach województwa Pomorskiego w zakresie terenowej metodyki kroplowej. Ponad 280 próbek olejów pobranych przez służbę leśną - budzących wątpliwości co do zgodności z wymaganiami Zarządzenia nr 23 Dyrektora RDLP w Gdańsku zbadano w laboratorium z wykorzystaniem: powtórzenia testu kroplowego oraz dodatkowo wg opisanych powyżej w części 6.1.2. do 6.1.8. metodyk badania obecności i oceny zawartości roślinnej oraz naftowej frakcji w oleju smarnym urządzeń tnących, łącznie z testem kroplowym. Dodatkowo: procedur spektrofotometrii UV, FT-MIR, 3St-NP-.TLC. Niektóre także z wykorzystaniem NP-HPLC/BF/UV-Vis/DAD/RID.



Rysunek 19. Algorytm postępowania dla procedury kontroli obecności i oceny zawartości naftowej / naturalnej frakcji w olejach do urządzeń tnących realizowanej dla RDLP w Gdańsku

Rezultaty powyższych badań uzasadniają poniższe wnioski:

1. Na podstawie badań opracowano procedurę techniczną kontroli olejów smarowych do maszyn tnących w zakresie oceny obecności i oceny zawartości niedopuszczalnych pochodzenia naftowego/korzystnych pochodzenia roślinnego grup składników w oleju do urządzeń tnących.
2. Opracowane metodyki umożliwiają potwierdzenie lub wykluczenie obecności oraz ocenę zawartości oleju bazowego pochodzenia naftowego oraz roślinnego w olejach bazowych i smarowych.
3. Opracowana procedura stosowana była w latach 2016-2018 w kontroli technicznej olejów smarowych wykorzystywanych do smarowania układów tnących pilarek łańcuchowych, typu harvester na terenie województwa pomorskiego na zlecenie Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych w Gdańsku (raporty udokumentowane w bazie moja.pg).



## CZĘŚĆ 2.

### 6.2. Badania nad opracowaniem procedury grupowego rozdzielania oraz oznaczania grupowego składu olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników

#### 6.2.1. Wprowadzenie do opracowania procedury grupowego rozdzielania oraz oznaczania grupowego składu olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników

Celem badań niniejszej 2 części dysertacji było opracowanie procedury grupowego rozdzielania oraz badania składu grupowego olejów bazowych i smarowych niezależnie od zakresu polarności głównych składników i grup składników, tzn. w sekwencji: S/A/R/FAE/TAG/FFA/DAG/MAG/GL/ADD. Bazowano przy tym na części literaturowej niniejszej pracy, wynikach badań i wnioskach uzyskanych w ramach 1 części niniejszej rozprawy doktorskiej. Jak również, na wynikach i wnioskach pracy doktorskiej Kartanowicza [14], Gudebskiej [11] oraz na publikacjach powstałych w rezultacie tych badań [27,65,120,212], jak również, na publikacjach w literaturze dotyczących korzystnych warunków stosowania techniki TLC-FID w badaniu składu grupowego naftowych i innych rodzajów olejów [61,121,128,138,216]. W pracy uwzględniono technikę HPLC, TLC, TLC-FID w warunkach normalnych układów faz, gdyż do rozdzielania grupowego pod względem polarności składników mieszaniny predestynowane są wyłącznie adsorpcyjne układy faz normalnych [24,27,68,70,120,121,137].

W planowaniu badań niniejszej 2 części pracy szczególnie przydatne były rezultaty badań 1 części opisane w pkt. 6.1.5. wykonane techniką TLC z trójstopniowym rozwijaniem chromatogramów TLC w konwencji SARA. Reprezentatywny przykład wyników badań tą techniką zamieszczono dla 20 różnych olejów w 1 części pracy na rysunku 14 z zastosowaniem komercyjnych płytek TLC z żelem krzemionkowym F-254 s. Uwzględniając badanie niebieskiej fluorescencji plamek pod lampą  $\lambda = 365$  nm, szarych ściemnień pod lampą  $\lambda = 254$  nm oraz wywoływanie brunatnej barwy plamek pod wpływem oparów jodu, stwierdzono możliwość identyfikacji oraz scharakteryzowania retencji i selektywności w sekwencji A/TAG/FAME/DAG/FFA/MAG wszystkich grup organicznych związków chemicznych i tychże związków chemicznych, oprócz węglowodorów nasyconych i glicerolu.

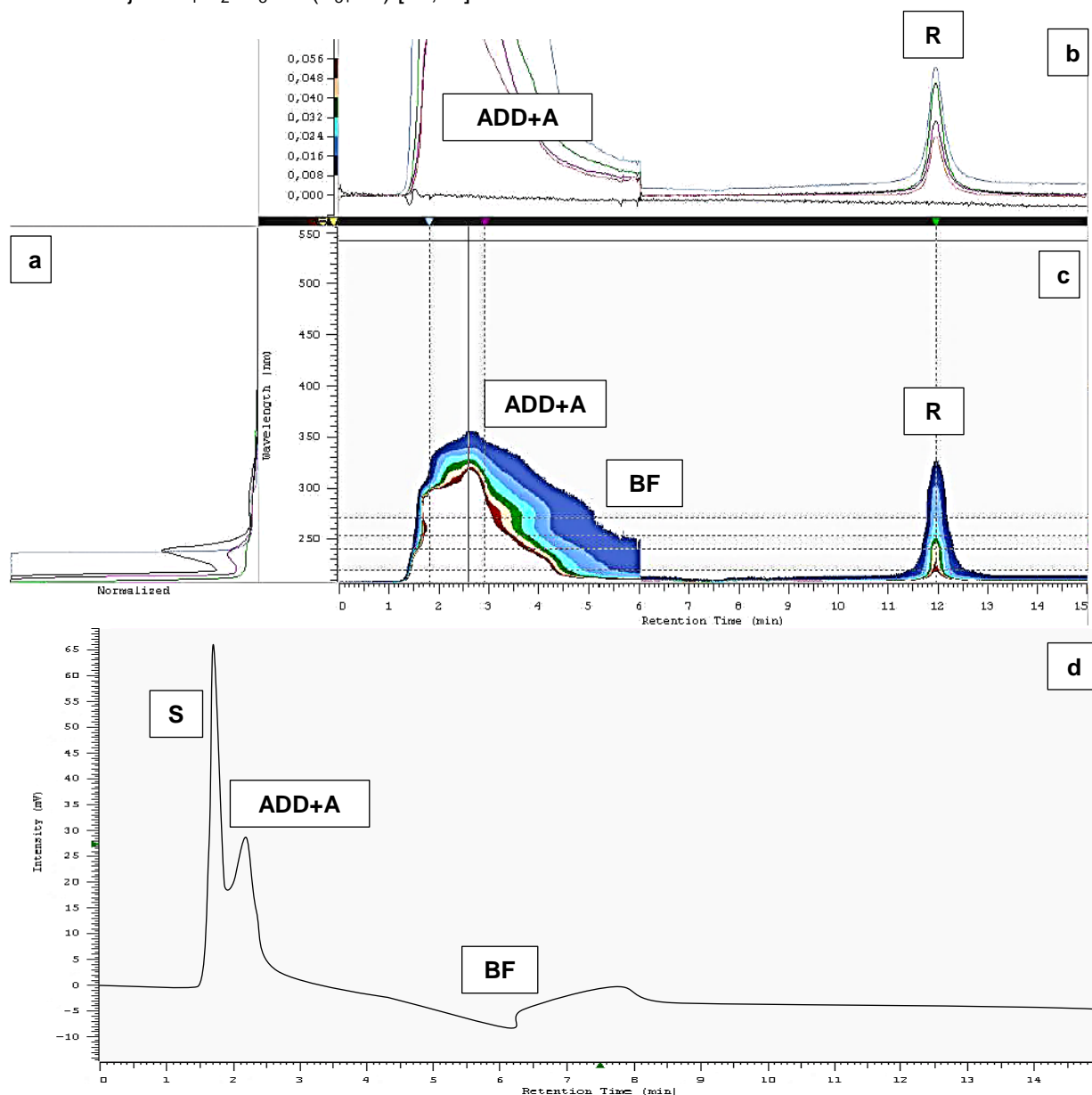
W związku z tym, konieczne było wykorzystanie płytek TLC impregnowanych solą berberyny. To zapewniało wizualizację na powierzchni płytek TLC wszystkich organicznych związków chemicznych charakteryzujących się łańcuchowymi alifatycznymi strukturami molekularnymi o charakterze  $(-\text{CH}_2-\text{CH}_2)_n$ . W praktyce umożliwiało wizualizację wszystkich składników olejów bazowych i smarowych, tak pochodzenia naftowego, jak i roślinnego. Również wizualizację zdecydowanej większości dodatków uszlachetniających dodawanych do olejów smarowych podczas tzw. komponowania.

W planowaniu badań uwzględniono również technikę NP-HPLC. Jednakże, jak to uzasadniono w kolejnych rozdziałach, zdecydowanie bardziej celowe jest wykorzystanie NP-TLC z żelem krzemionkowym impregnowanym solą berberyny, jako techniki pilotowej oraz TLC-FID, jako techniki separacyjno – analitycznej w badaniu składu grupowego olejów w sekwencji S/A/R/FAE/TAG/FFA/DAG/ MAG/GL, niż NP-HPLC.

#### 6.2.2. Studium możliwości wykorzystania NP-HPLC do grupowego rozdzielania i oznaczania grupowego składu olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników

Studium literatury dotyczącej grupowego rozdzielania i oznaczania składu grupowego frakcji z próżniowej destylacji ropy naftowej, otrzymanych z nich produktów, w tym, wysoko rafinowanych olejów bazowych w konwencji: S/A/R, a także wyniki badań opisane w części 1 niniejszej pracy zilustrowane na rysunkach: 14 (chromatogramy TLC), 16 (chromatogramy HPLC)

i 18 (chromatogramy HPLC), jak również - dodatkowo – poniżej na rysunku 20 (chromatogramy HPLC), prowadzą do wniosku, że technika NP-HPLC//BF/RID/UV-Vis/DAD z polarną fazą stacjonarną (żel krzemionkowy, DIOL, DNAP, itp.), kolumną HPLC o wysokiej sprawności, niepolarną fazą ruchomą (n-C6, n-C7 itp.), elucją izokratyczną i wykorzystaniem zwrotnego przepływu fazy ruchomej w momencie czasu określonym za pomocą czasu elucji np. piku pirenu, jest korzystną zasadą takiej analityki. W przypadku zastosowania układu kolumn rozdzielczych i systemu zaworów przełączania kolumn można też dokonać rozdzielania grupowego i analityki składu grupowego w/w materiałów w konwencji: S/A<sub>1</sub>/A<sub>2</sub> /A<sub>3</sub>//BF(A<sub>3+</sub>+R) [14,27].



Rysunek 20. Zestawienie chromatogramów dla detektora UV-Vis/DAD oraz RI **oleju naftowego, maszynowego** (O2 – charakterystyka w tabeli 4) (kolumna: LiChrospher DIOL 100 (5 μm), 250x4 mm, faza ruchoma: n-C6; przepływ 1,5 ml/min, BF=6min, dozowano: 10μl o stężeniu 10 mg/ml). **a**- widma; **b**- nałożone chromatogramy dla długości fal λ=230 nm (niebieski), λ=254 nm (fioletowy) oraz λ=270 nm (czarny); **c** – chromatogram UV-Vis/DAD w zakresie 200 – 550 nm w odwzorowaniu poziomowym, piki: ADD+A-dodatki uszlachetniające+węglowodory aromatyczne, R-żywice, BF – przepływ zwrotny; **d** – chromatogram RID, piki: S- węglowodory nasycone, ADD+A-dodatki uszlachetniające +węglowodory aromatyczne, BF-przepływ zwrotny

Przy czym detektor UV-Vis/DAD służy do identyfikacji zakresu elucji węglowodorów aromatycznych oraz tzw. żywic w eluacie wpływającym z kolumny (na podstawie widm w zakresie UV (λ= 200–400 nm). Natomiast detektor RI do określenia zakresu elucji wszystkich grup, ale również

do oznaczenia składu grupowego. Zastosowanie w tym celu tzw. normalizacji prostej, tzn., obliczenia % udziału powierzchni poszczególnych pików odpowiadających składnikom grup S/A/R badanego oleju w zasadniczym stopniu upraszcza analitykę.

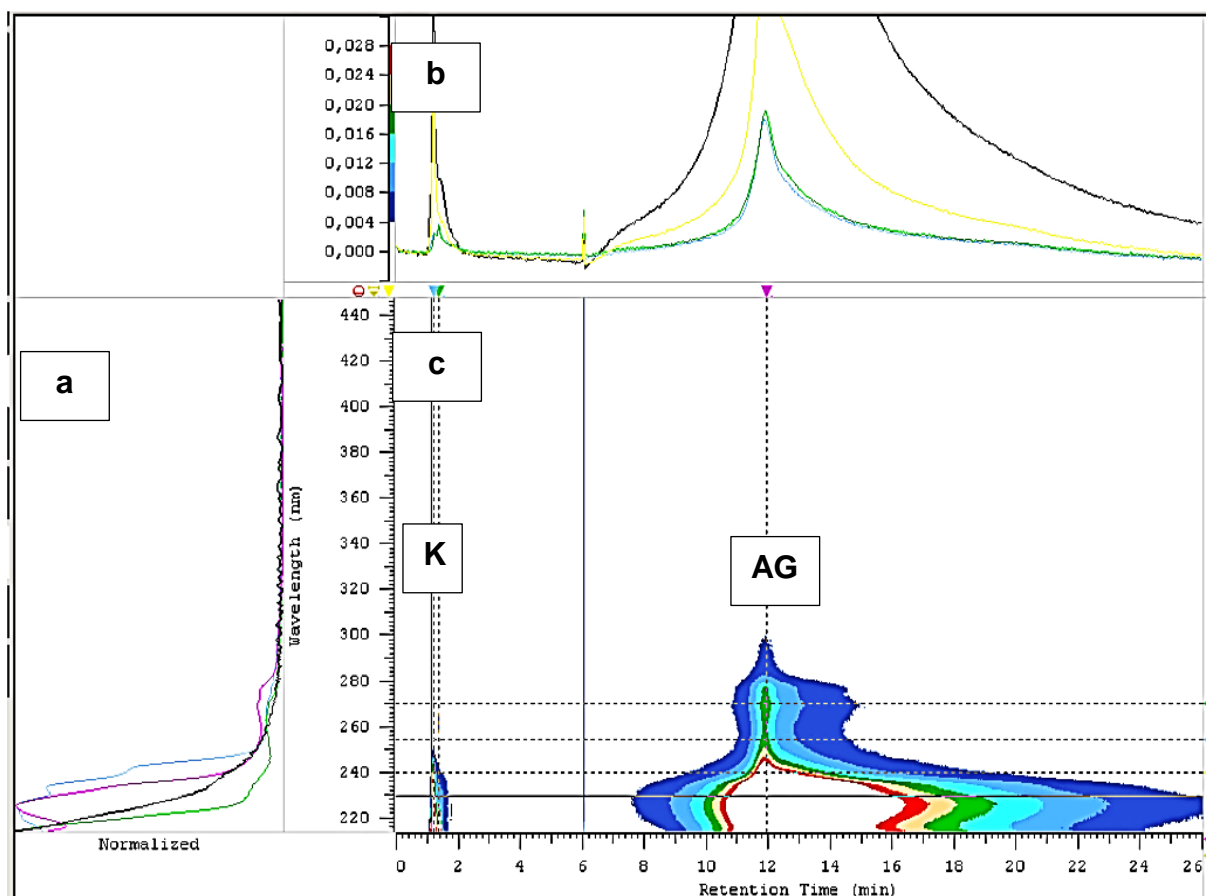
Taka uproszczona metodyka obliczenia składu grupowego oparta na założeniu, że średnie wartości współczynników załamania światła są jednakowe dla grup S, A i R ma znaczenie dla orientacyjnych charakterystyk, jak również w porównawczych badaniach różnego rodzaju olejów. Należy mieć świadomość, że rezultaty w ten sposób wykonanego badania nie odzwierciedlają rzeczywistego składu grupowego. Wynika to stąd, że na podstawie równania Wilk Chen'a [217], wiadomo, iż w rzeczywistości wartości dla tych samych „grupowo” składników, współczynników załamania światła ( $n$ ) mają tym wyższe wartości, im wyższa jest średnia masa cząsteczkowa badanego materiału. Z praktyki rafinerijno – petrochemicznej wiadomo też, że dla grup składników oleju o podobnych masach molekularnych wartości współczynnika załamania światła wzrastają w kolejności: S/A/R. W konsekwencji, skład grupowy obliczony na zasadzie tzw. prostej normalizacji ma znaczenie w badaniach porównawczych. Jednak, nie odzwierciedla rzeczywistego składu grupowego badanego materiału pochodzenia naftowego [14,27]. Późniejsze niepublikowane badania Kamińskiego i inni wykazały, że zastosowanie semi-praparatywnych kolumn HPLC, kolekcji odpowiednich frakcji eluatu, wyparki próżniowej i grawitacyjnego oznaczenia składu grupowego, zapewnia oznaczenie rzeczywistego składu grupowego olejów bazowych pochodzenia naftowego w konwencji S/A//BF(R) [218].

W zastosowaniu do badania składu grupowego olejów o szerokim zakresie polarności, w sekwencji: S/A/R/FAE/TAG/DAG/FFA/MAG/GL nie jest możliwe wykorzystanie techniki NP-HPLC oraz warunków elucji izokratycznej z niepolarną fazą ruchomą n-C<sub>6</sub>, lub podobną (rysunki 15-18). Konieczne jest zastosowanie takich warunków, aby miało miejsce rozdzielanie ogromnie szerokiego piku tworzącego się w warunkach zwrotnego przepływu niepolarniej fazy ruchomej w kolumnie na grupy składników: R/FAE/TAG/DAG/FFA/MAG/GL.

Możliwe są następujące dwie drogi postępowania. Pierwsza droga postępowania to zastosowanie elucji gradientowej w sposób podobny jak w badaniach A. Stołyhwy [85], których przykład zamieszczono w części literaturowej na rysunku 1. Druga to wstępne rozdzielanie badanego oleju o szerokim zakresie polarności składników na dwie frakcje: 1-S+A oraz 2-R+FAE+TAG+DAG+FFA+MAG+GL z wykorzystaniem SPE. Następnie rozdzielanie frakcji 1 i 2 stosując wielokolumnowy układ kolumn HPLC z zaworami przełączania kolumn, podobnego jaki zastosowano w doktoracie Kartanowicza [14,27]. Obie alternatywy wiążą się z poważnymi trudnościami metodycznymi, technicznymi, a także, wysokimi kosztami badań. Jednym z problemów stanowi konieczność czasochłonnej i kosztownej reaktywacji powierzchni sorpcyjnej kolumny NP HPLC po zakończeniu programu elucji z eluentem o względnie wysokiej polarności (sile elucji) do warunków zapewniających rozdzielanie grupowe S/A.

Innym problemem, z którym należało się liczyć jest bardzo niska rozpuszczalnością MAG oraz praktycznie brak rozpuszczalności GL w lotnych alkanach, w tym, w n-C<sub>6</sub> [219], gdy jednocześnie taki alkan musiał stanowić początkową fazę ruchomą w początkowym izokratycznym etapie programu elucji gradientowej lub stopniowej dla rozdzielania grupowego S/A. Należy też mieć świadomość, że wówczas, gdy któryś ze składników badanego oleju (czy ogólnie - jakiegokolwiek mieszaniny rozdzielanych składników mieszaniny dozowanej do kolumny HPLC jest praktycznie nierozpuszczalny w fazie ruchomej w momencie dozowania do kolumny HPLC, tworzą się szerokie asymetryczne piki oraz wyniki badania z reguły są obarczone poważnymi błędami

Tak, więc, mimo, iż pozornie technika NP-HPLC wydawała się być najbardziej korzystna do rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych w sekwencji S/A/FAE/TAG/FFA/DAG/MAG/GL, to bliższa analiza prowadzi do jednoznacznego wniosku, że w praktyce jest wręcz przeciwnie. Powyższa dyskusja, a także inne przesłanki wykazały, że w praktyce powstanie szczególnie trudny problem separacyjny.



Rysunek 21. Chromatogram UV-Vis/DAD próbki TAG2 – oleju roślinnego, rzepakowego (dozowano 100µl - 10mg/ml n-C6, przepływ zwrotny: 6 min, metoda A- tabela ) a-widmo, b-nałożone chromatogramy dla długości fal  $\lambda=230, 240, 254$  oraz 270 nm, c-UV-Vis/DAD, Piki: K-karetonoidy, AG- frakcja pochodzenia roślinnego

W związku z tym w niniejszej rozprawie zrezygnowano z badań nad wykorzystanie NP-HPLC do rozdzielania i analityki składu grupowego olejów bazowych i smarowych w sekwencji S/A/FAE/TAG/FFA/DAG/MAG/GL. Na podstawie studium literatury oraz wyników i wniosków 1 części pracy uznano, że znacznie bardziej korzystną alternatywą jest wykonanie odpowiednich badań z wykorzystaniem NP-TLC, jako techniki pilotowej dla doboru korzystnych warunków rozdzielania grupowego oraz TLC-FID, jako techniki separacyjno - analitycznej. Bazowano przy tym też na doniesieniach literatury [61,120,121] pokazujących, że technika TLC-FID może być w sposób efektywny wykorzystywana zarówno do badań składu olejów roślinnych (rozdzielania lipidów) [34,115,121], jak też grupowego rozdzielania konwencjonalnych, naftowych olejów (oznaczania składu grupowego pod względem rodzajów węglowodorów), czy w badaniach syntetycznych olejów bazowych [16,120,127,216].

### 6.2.3. Pilotowe dla TLC-FID badania retencji i selektywności rozdzielania składników i grup składników olejów bazowych oraz smarowych o szerokim zakresie polarności w warunkach NP-TLC na płytkach żelu krzemionkowego impregnowanych solą berberyny

#### 6.2.3.1. Opracowanie korzystnej metodyki impregnacji żelu krzemionkowego siarczanem berberyny oraz wpływ impregnacji na retencję i selektywność rozdzielania - badania nad upewnieniem się, że płytki TLC z żelem krzemionkowym mogą zostać zastosowane w badaniach pilotowych dla TLC-FID

Jak widać na podstawie pkt. 6.5.1. zamieszczonego w 1 części pracy oraz na rysunku 14 (chromatogramy TLC), pierwszym problemem, który należało rozwiązać, aby TLC mogło być techniką pilotową dla doboru korzystnych warunków rozdzielania dla TLC-FID, był brak wizualizacji grupy

węglowodorów nasyconych na płytkach TLC po rozwinięciu chromatogramu pod lampą UV  $\lambda = 254$  nm i  $\lambda = 365$  nm, jak też brak brunatnej barwy po wywołaniu plamek w oparach jodu. W celu zapewnienia wizualizacji grupy S wykorzystano płytki z żelazem krzemionkowym impregnowane solą berberyny, wykazującej efekt wzmocnienia jasno niebieskiej fluorescencji pod wpływem struktur molekularnych – CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- [102,103].

W literaturze opisano kilka sposobów impregnacji powierzchni płytki TLC roztworem soli berberyny [103,108,220]. Cebolla i inni [108] zaproponowali zanurzenie płytki TLC w roztworze 6 mg siarczanu berberyny /100 ml metanolu przez 20 sekund. Następnie suszenie poziomo usytuowanej płytki przez noc w temp. 40°C. Wykazali też, że stężenie roztworu siarczanu berberyny na żelu krzemionkowym oraz czas impregnacji płytki mają bezpośredni wpływ na odpowiedź skanera chromatogramów na płytkach TLC. Mamlok i inni [103] badali wpływ stężenia soli berberyny w zakresie 2, 4 i 6 mg/100 ml metanolu oraz czas impregnacji w zakresie 20 i 50 sekund, wykazując, że najbardziej korzystny czas impregnacji płytki TLC to 20 sekund. W badanym zakresie najwyższa czułość odpowiadała stężeniu siarczanu berberyny równym 6mg/100ml metanolu. Z badań nie wynika czy stężenie to należy zwiększać. W badaniach Cebolli i innych [220] zastosowano analogiczną procedurę, zmniejszając stężenie roztworu siarczanu berberyny do 3 mg/100 ml metanolu. W innej pracy Mamlok i inni [103], zastosowali spryskiwanie płytki roztworem 0,1% chlorku berberyny w etanolu zamiast zanurzania płytki. Mamlok i inni wykazali, że sól berberyny nie migruje na żelu krzemionkowym z wykorzystaniem większości faz ruchomych stosowanych w chromatografii cienkowarstwowej [103].

W ramach niniejszej pracy wykonano badania nad opracowaniem zmodyfikowanych korzystnych warunków impregnacji żelu krzemionkowego na płytkach TLC. Najpierw zastosowano procedurę zanurzania płytek TLC wg Vasco i innych [108]. W górnej części tabeli 9 zamieszczono wartości masy siarczanu berberyny zatrzymanego na płycie TLC otrzymane metodą zanurzania płytki TLC w metanolewym roztworze siarczanu berberyny. Obserwowano wyraźne smugi na powierzchni płytki TLC od lampą UV  $\lambda = 365$  nm i nierównomierne rozłożenie impregnatu na powierzchni płytki TLC. Plamki znajdujące się na granicy smug wykazywały zróżnicowaną intensywność fluorescencji. Stwierdzano też, jak widać w górnej części tabeli 9, zróżnicowanie masy siarczanu berberyny na powierzchni płytek TLC po impregnacji. Różnice wynosiły nawet 4 mg, tzn. ok. 4% całkowitej wartości nałożonej masy siarczanu berberyny (tabela 9). Niniejsze badania opublikowano [50].

Tabela 9. Zestawienie masy płytek TLC (o wymiarach 100x100 mm) przed i po impregnacją siarczanem berberyny

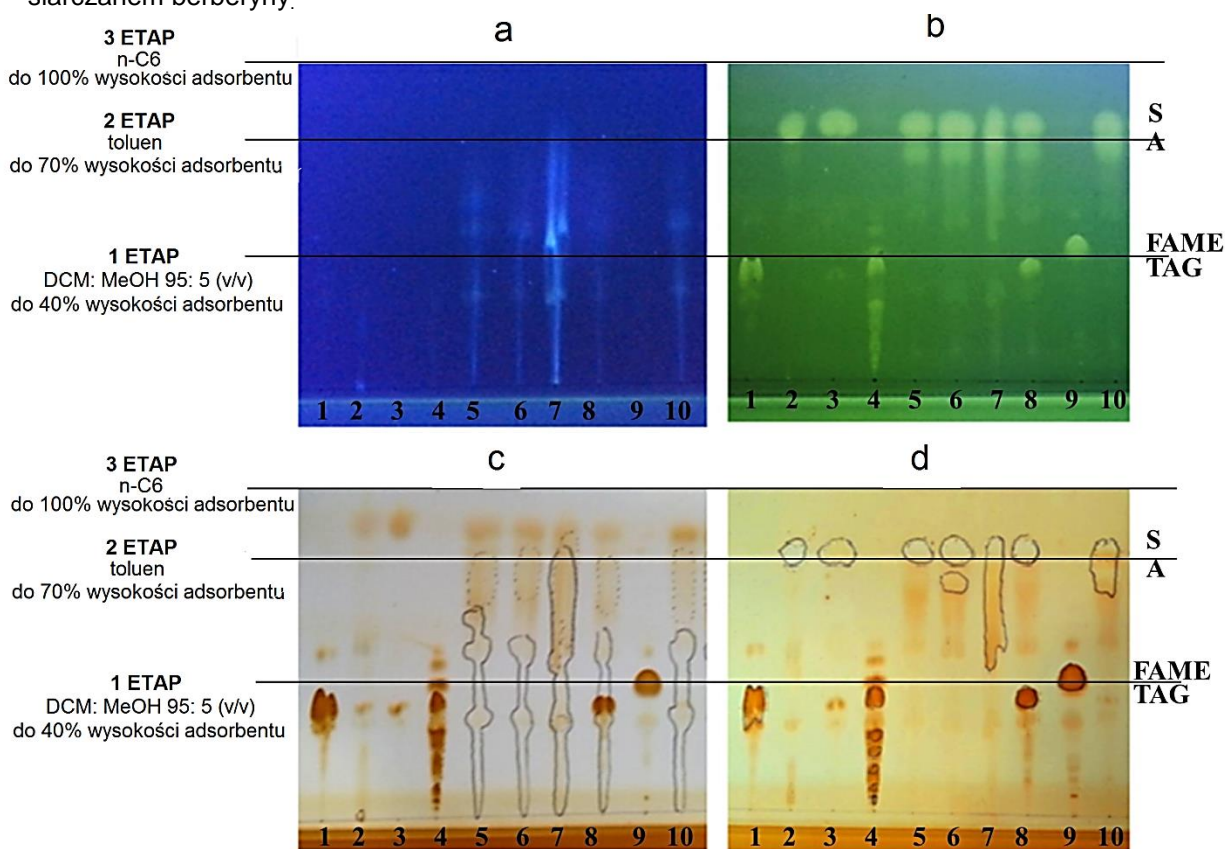
Numer płytki	Waga płytki przed impregnacją	Waga płytki po impregnacji	Masa siarczanu berberyny zabsorbowanego na powierzchni płytki
	[mg]	[mg]	[mg]
<b>Metoda zanurzania płytki TLC w metanolewym roztworze siarczanu berberyny [108]</b>			
1	1293,5	1385,7	92,2±4,2
2	1370,2	1482,3	112,1±5,0
3	1305,4	1395,4	90,0±4,5
<b>Metoda spryskiwania płytki TLC metanolewym roztworem siarczanu berberyny</b>			
4	1278,8	1394,0	115,2±0,3
5	1285,6	1400,4	114,5±0,1
6	1365,0	1480,7	115,7±0,8

W niniejszej pracy zastosowano koncepcję Mamloka i innych [57] impregnacji płytek TLC roztworem siarczanu berberyny za pomocą szklanego spryskiwacza do TLC. Impregnacja polegała na spryskiwaniu płytek TLC metanolewym roztworem siarczanu berberyny w sposób opisany w części metodycznej (pkt. 5.4.2.1.). Jak widać w dolnej części tabeli 9 – dopracowana metodyka w ramach niniejszej pracy okazała się bardzo korzystna. W świetle  $\lambda = 365$  nm nie stwierdzono zacieków, które mogłyby świadczyć o nierównomiernym rozkładzie soli berberyny na powierzchni płytki. Na tej



podstawie stwierdzono równomierny rozkład soli berberyny na powierzchni płytki. Różnica masy siarczanu berberyny naniesionego na płytkę TLC po impregnacji wynosiła 0,1-0,8 mg, tzn. nie więcej, niż 1% całkowitej masy siarczanu berberyny nałożonego na płytkę (tabela 9).

W literaturze sformułowano opinię [103], że impregnacja żelu krzemionkowego solą berberyny ma pomijalny wpływ na retencję. W ramach niniejszej pracy zbadano wpływ impregnacji płytek TLC siarczanem berberyny na retencję w warunkach rozdzielania grupowego w sekwencji: S/A/FAE/TAG/FFA/DAG/MAG/GL, w porównaniu do płytek nieimpregnowanych, z wykorzystaniem trójstopniowego rozwijania chromatogramu TLC w warunkach proponowanych w literaturze dla rozdzielania materiałów naftowych zawierających asfalteny w sekwencji SARA. Na rysunku 22 zamieszczono przykłady fotografii opisanych powyżej chromatogramów TLC po trójstopniowym rozwinięciu w konwencji SARA, wysuszeniu i wizualizacji, odpowiednio: pod lampą UV  $\lambda = 365$  nm oraz w świetle widzialnym po wywołaniu brunatnych plamek w oparach jodu (po 10 min od momentu wyjęcia płytki z komory z oparami jodu), stanowiących porównanie dwóch płytek bez i z impregnacją siarczanem berberyny.



Rysunek 22. Zestawienie chromatogramów TLC otrzymanych na płytkach żelu krzemionkowego F-254s impregnowanych siarczanem berberyny z zastosowaniem metodyki spryskiwania opracowanej w tej pracy – chromatogramy b i d, oraz nieimpregnowanej – chromatogramy a i c. Warunki rozwijania: 1 etap do 40% wysokości warstwy adsorbentu: DCM:MeOH 95: 5 (v/v), 2 etap: rozwijanie chromatogramu toluenem do 70% wysokości warstwy adsorbentu, 3 etap n-C6 do 100% wysokości strefy rozwijania. Po zakończonym rozwinięciu płytkę poddano najpierw wizualizacji w świetle UV  $\lambda = 365$  nm (chromatogramy a i b), następnie ekspozycji w oparach jodu (chromatogramy c i d) - wizualizacja w świetle widzialnym. Próbkki (tabela 4): 1 - Olej rzepakowy, (TAG2), 2 - syntetyczny olej bazaowy PAO 6, 3 - olej silnikowy, syntetyczny typu polialfaolefinowego, komercyjnie dostępny (O6), 4 - olej smarowy produkowany na bazie roślinnej z pakietem dodatków uszlachetniających, komercyjnie dostępny (O3), 5 - olej bazowy SAE10/90 (S10), 6 - olej bazowy SAE30/90 (S30), 7 -olej bazowy typu Brightstock (BS) z pozostałości po próżniowej destylacji ropy naftowej, 8 - olej smarowy produkowany na bazie mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego (O2), 9 - FAME, 10 - olej maszynowy produkowany na bazie z przerobu ropy naftowej (O1); Plamki: S – węglowodory nasycone, A – węglowodory aromatyczne; FAME – estry metylowe wyższych kwasów tłuszczowych, TAG – triacyloglicerole. Ołówkiem linią kreskową obwiedziono plamki wizualizowane w świetle  $\lambda = 245$  nm, ołówkiem linią ciągłą obwiedziono plamki wizualizowane w świetle  $\lambda = 365$  nm

Można stwierdzić, że w zastosowanych warunkach chromatograficznych impregnacja siarczanem berberyny na płytce TLC nie ma wpływu na retencję grup składników oraz poszczególnych rozdzielanych składników [50].

Na rysunku 22 widać, że na płytkach TLC nieimpregnowanych siarczanem berberyny pod lampą  $\lambda = 365$  nm (rysunek 22, chromatogram a) nie ma miejsca wizualizacja organicznych związków chemicznych grupy S. Występuje tylko słaba błękitna fluorescencja grupy węglowodorów aromatycznych pod wpływem światła UV  $\lambda = 365$  nm. Wynika to z obecności prawie wyłącznie, tzn., alifatycznych i alicykliczno – alifatycznych pochodnych benzenu w takich wysoko rafinowanych olejach bazowych z ropy naftowej (rysunek 22, chromatogramy c i d). Po ekspozycji w oparach jodu także praktycznie nie ma miejsca wizualizacja węglowodorów grupy S. Jest też bardzo słaba dla grupy A (o wysokim udziale alicyklicznych i izoalifatycznych struktur związanych z węglowodorami aromatycznymi) powodujących przeszkody steryczne dla addycji jodu do pierścienia aromatycznego. Jednocześnie, ekspozycja płytki TLC w oparach jodu, jako metoda wizualizacji jest wysoce czuła dla acylogliceroli i pochodnych zawierających nienasycone kwasy tłuszczowe (rysunek 22, chromatogramy c i d, próbki: 1-oleju roślinnego, 4- oleju do smarowania układu tnącego na bazie roślinnej oraz 9-FAME). Nienasycone kwasy tłuszczowe obecne w mono-, di- lub tri- podstawionych acyloglicerolach, albo estrach FAME, czy FAAE, jak i te w postaci natywnej powodują zwiększenie intensywności barwy plamek wywoływanej przez addukty z jodem. Natomiast, w oparach  $I_2$  niemożliwa, jest wizualizacja nasyconych kwasów tłuszczowych, ich estrów z alkoholami alifatycznymi, czy acylogliceroli będących estrami wyłącznie nasyconych kwasów tłuszczowych, a także m.in., alkoholi alifatycznych, poli-oli i amin alifatycznych.

Wówczas, gdy chromatogramach TLC jednocześnie miała miejsce jasno błękitna fluorescencja pod lampą emitującą światło  $\lambda = 365$  nm pod lampą oraz widoczne były szarawe plamki o długości fali  $\lambda = 254$  nm, identyfikowano takie grupy związków chemicznych jako węglowodory aromatyczne. Wówczas, gdy nie wykazywały „świecenia” pod lampą emitującą światło o długości fali  $\lambda = 365$  nm i jednocześnie widoczne były szarawe plamki pod lampą  $\lambda = 254$  nm identyfikowano jako frakcje roślinne, lub dodatki o innych strukturach molekularnych, które nie zawierają węglowodorów aromatycznych. Natomiast, jeśli plamki wykazujące równocześnie absorbancję światła  $\lambda = 254$  nm oraz fluorescencje barwy niebieskiej pod wpływem światła  $\lambda = 365$  nm, identyfikowano jako frakcje pochodzenia naftowego, zawierającą węglowodory aromatyczne.

Chromatogram TLC (rysunek 22, chromatogram d) pokazuje, że impregnacja żelu krzemionkowego na płytce TLC siarczanem berberyny pozwala na wizualizację plamek wszystkich grup składników: S/A/FAE/TAG/FFA/DAG/MAG/GL. Przy czym, pod wpływem GL pozostającego na starcie na płytkach TLC w zastosowanych warunkach rozwijania chromatogramów TLC, berberyna wykazuje granatową fluorescencję, co zostało po raz pierwszy stwierdzone w ramach niniejszej pracy.

W/w organiczne związki chemiczne (z wyjątkiem glicerolu, poli-oli), ale także nasycone kwasy tłuszczowe, ich estry, czy wyższe alkohole alifatyczne) są widoczne na płytkach TLC impregnowanych siarczanem berberyny, dzięki temu, że zawierają w cząsteczkach struktury alifatyczne lub alicykliczne  $(-CH_2-CH_2-)_n$ , których obecność w kontakcie z berberyny wzmacnia fluorescencję berberyny [101,103]. Struktury  $(-CH_2-CH_2-)_n$  są obecne we wszystkich grupach związków chemicznych olejów bazowych i smarowych każdego rodzaju, w tym, w olejach o szerokim zakresie polarności, z wyjątkiem glicerolu, który, jak też glikole oraz inne poli-ole, powodują, jask stwierdzono powyżej generują granatową, lub ciemno niebieską fluorescencję berberyny (chromatogram d, rysunek 22).

Konkludując, impregnacja solą berberyny płytek TLC z żelem krzemionkowym zapewnia możliwość wizualizacji, potwierdzenia obecności, a także, oceny zawartości, stąd orientacyjnego badania składu grupowego, zarówno olejów bazowych i smarowych pochodzenia naftowego, jak i o szerokim zakresie polarności składników w sekwencji S/A/FAE/TAG/FFA/DAG/MAG /GL/ADD.

Należy dodać, że natężenie zmiany intensywności fluorescencji berberyny spowodowane przez alifatyczne struktury molekularne nie jest wysokie. W konsekwencji wizualizacja w świetle  $\lambda = 365$  nm ma miejsce dla względnie wysokich mas składników/grup składników w obrębie plamek chromatograficznych na chromatogramach TLC. Dla węglowodorów nasyconych oraz węglowodorów aromatycznych, można oszacować wartość LOD na poziomie  $0,5 \mu\text{g}$ , Dla grup migrujących pod wpływem wyżej polarnej fazy ruchomej wartości LOD są nieco wyższe, tym wyższe, im wyższa jest

retencja. LOD dla FAME wynosi ok 0,7 µg, dla TAG: 1 µg, dla FFA: 1 µg DAG: 1 µg, MAG: 1 µg. Natomiast dla glicerolu pozostającego w punkcie dozowania LOD wynosi ok. 0.5 µg [49].

Najważniejszym wnioskiem wynikającym z przedmiotowych badań z zastosowaniem płytek TLC z żelem krzemionkowym impregnowanym solą berberyny (rysunek 22, chromatogram b) jest zapewnienie możliwości wizualizacji wszystkich składników i grup składników rozdzielanych mieszanin, stąd potwierdzono możliwość wykorzystania techniki TLC i płytek impregnowanych solą berberyny jako techniki pilotowej dla doboru korzystnych warunków rozdzielania dla TLC-FID. Powyższe badania zostały opublikowane [50].

### **6.2.3.2. Badania retencji i selektywności rozdzielania składników i grup składników olejów bazowych i smarowych w warunkach NP-TLC z jedno-/wieloskładnikowymi fazami ruchomymi oraz jedno-/wielostopniowym rozwijaniem chromatogramu – badania pilotowe dla TLC-FID**

Przegląd literatury pokazuje, że korzystne warunki rozdzielania w konwencji SARA bardzo nisko lotnych lub nielotnych frakcji i produktów naftowych, w tym, olejów bazowych z zastosowaniem techniki TLC/TLC-FID to trójstopniowe rozwijanie chromatogramu [70,120,126,129]. W pierwszym etapie rozwijanie do 100% wysokości adsorbentu na płytce TLC z użyciem n-C6 jako fazy ruchomej. Następnie do 60% wysokości płytki z toluenem jako fazą ruchomą. Na końcu do 30% wysokości płytki z rozwijaniem chromatogramu mieszaniną 95:5 DCM: MeOH (v/v) [70,120,126,129].

Wstępne badania z zastosowaniem TLC-FID oraz zastosowania tej procedury do grupowego rozdzielania olejów bazowych będących mieszaniną naftowego oleju bazowego oraz komercyjnego oleju smarowego do maszyn tnących na bazie oleju roślinnego pokazały, że powyższa 3-etapowa procedura jest wówczas nieefektywna. Nie umożliwia uzyskania rozdzielania grupowego w sekwencji S/A/TAG/DAG/FFA/MAG/GL/Add. W literaturze w ramach przeglądu literatury wykonanego w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej nie udało się znaleźć warunków, które by takie rozdzielanie zapewniały. W związku z tym konieczne były eksperymentalne badania nad opracowaniem korzystnych warunków rozdzielania w sekwencji j/w. Po opracowaniu programu badań, stwierdzono, że realizacja tegoż programu z wykorzystaniem TLC-FID będzie bardzo czasochłonna i jednocześnie kosztowna. Wstępne badania z zastosowaniem 3-etapowego rozdzielania tych samych mieszanin z wykorzystaniem TLC oraz TLC-FID wykazały, że wartości współczynników retencji (k), nie były identyczne dla warunków TLC z płytkami F-254 s i dla pręcików Chromarod SIII, jednak kolejność retencji pików była taka sama. Na tej podstawie zdecydowano wykorzystać technikę TLC, jako pilotową dla TLC-FID. To znacznie przyspieszyło oraz zmniejszyło koszty badań nad doбором korzystnych warunków rozdzielania dla TLC-FID.

W konsekwencji w ramach niniejszej części pracy wykonano obszerne badania doboru korzystnych warunków rozdzielania składu grupowego olejów bazowych i smarowych w sekwencji S/A/FAE/TAG/FFA/DAG/MAG/GL/ADD z wykorzystaniem NP-TLC, płytek TLC z żelem krzemionkowym impregnowanych siarczanem berberyny dla umożliwienia wizualizacji pod lampą  $\lambda = 365$  nm wszystkich składników i grup składników mieszaniny, w tym, węglowodorów nasyconych. W badaniach zastosowano nisko lub średnio polarne fazy ruchome, które wybrano na podstawie przeglądu literatury zawartym w niniejszej pracy. Warunki badań opisano w rozdziale metodyka badań NP-TLC (pkt. 5.4.2.).

Wyniki tych badań zamieszczono w tabelach 10 oraz 11. Tabela 10 przedstawia zestawienie wyników badań - warunków rozdzielania rozdzielanych związków / grup związków chemicznych, parametrów retencji (k) obliczonych na podstawie parametrów  $R_f$  i selektywności ( $\alpha$ ) obliczonych na podstawie współczynników retencji dla jednostopniowego rozwijania do 100% wysokości płytki TLC, dla jedno-, dwu- oraz trójskładnikowych faz ruchomych [50]. Tabela 11 przedstawia zestawienie wyników badań rozdzielania grupowego dla TLC oraz TLC-FID oraz warunków stopniowego rozwijania z uwzględnieniem rozwijania powyżej 100% wysokości warstwy adsorbentu z zastosowaniem fazy ruchomej n-C6.

Tabela 10. Zestawienie wyników badań rozwijania jednostopniowego do 100% wysokości płytki TLC dla jedno-, dwu- oraz trój-składnikowych faz ruchomych [50,74]

Faza Ruchoma [v/v] [v/v/v]	Siła elucyjna	GL	MAG	DAG		FFA		TAG		FAME		Sq	A		S (P+N)		
	$\epsilon^\circ$ [-]	k [-]	k [-]	$\alpha_{MAG/DAG}$	k [-]	$\alpha_{DAG/FFA}$	k [-]	$\alpha_{FFA/FAME}$	k [-]	$\alpha_{TAG/FAME}$ $\alpha_{FAME/TAG}$	k [-]	$\alpha_{FAME/Sq}$	k [-]	$\alpha_{Sq/A}$ $\alpha_{A/Sq}$	k [-]	$\alpha_{A/S}$	k [-]
<b>Fazy ruchome jednoskładnikowe</b>																	
n-C6	0.01	$\infty$	$\infty$	-	$\infty$	-	19	1,9	19	5,6	10	3,4	3,0	2,4	1,3	2,7	0,5
MTBE	0.20	$\infty$	2,6	5,0	0,5	1,2	0,5	1,7	0,3	1,0	0,3	1,0	0,3	1,2*	0,4	1,2	0,3
Chloroform	0.26	$\infty$	16	5,2	3,0	1,4	2,2	4,0	0,5	1,2*	0,6	2,0	0,3	1,0	0,3	1,0	0,3
DCM	0.30	$\infty$	32	5,3	6,1	4,8	1,3	3,9	0,3	1,2*	0,3	1,3	0,3	1,0	0,3	1,0	0,3
<b>Fazy ruchome dwuskładnikowe</b>																	
n-C6:IPA		k [-]	K [-]	$\alpha_{MAG/DAG}$	k [-]	$\alpha_{DAG/FFA}$	k [-]	$\alpha_{FFA/FAME}$	k [-]	$\alpha_{TAG/FAME}$ $\alpha_{FAME/TAG}$	k [-]	$\alpha_{FAME/Sq}$	k [-]	$\alpha_{Sq/A}$	k [-]	$\alpha_{A/S}$	k [-]
99,7:0,3	0.09			-		-	12	2,7	12	2,7	4,3	2,6	1,6	1,4	1,2	2,7	0,5
99,4:0,6	0.13	$\infty$	$\infty$	-	$\infty$	-	8	2,1	4,3	1,2	3,5	3,5	1,0	1,2	0,8	1,9	0,4
98,75:1,25	0.19	$\infty$	$\infty$	-	19	4,5	4,2	3,3	1,5	1,2	1,3	3,4	0,4	1,0	0,4	1,0	0,4
97,5:2,5	0.25	$\infty$	$\infty$	-	9,8	3,1	3,2	3,2	1,1	1,1	1,0	3,0	0,3	1,0	0,33	1,0	0,3
95:5	0.31	$\infty$	9	3,4	2,6	1,6	1,7	2,1	0,8	1,0	0,8	3,4	0,2	1,0	0,23	1,0	0,2
90:10	0.37	$\infty$	4,0	3,7	1,1	1,1	1,0	1,69	0,5	1,3*	0,6	3,3	0,2	1,0	0,2	1,0	0,2
70:30	0.48	$\infty$	0,5	3,2	0,1	1,0	0,1	2,3	0,1	1,3	0,1	1,2	0,1	1,0	0,1	1,0	0,1
n-C6:IPA:MTBE		<b>Fazy ruchome trójskładnikowe</b>															
98,7:0,3:1,0	0.03	$\infty$	$\infty$	-	$\infty$	-	5,7	2,2	5,7	2,2	2,6	1,9	1,4	1,7	0,8	1,7	0,5
98,4:0,6:1,0	0.10	$\infty$	$\infty$	-	39	7,6	5,2	2,6	3,0	1,5	2,0	3,8	0,5	1,0	0,5	1,2	0,4
97,8:1,25:1,0	0.17	$\infty$	$\infty$	-	32	7,5	4,3	2,6	2,0	1,2	1,7	4,5	0,4	1,0	0,4	1,0	0,4
96,5:2,5:1,0	0.24	$\infty$	32	4,6	7,0	3,2	2,2	2,2	1,1	1,1	1,0	3,0	0,3	1,0	0,3	1,0	0,3
87,5:5:7,5	0.30	$\infty$	9,0	5,4	1,7	1,7	1,0	1,9	0,5	1,0*	0,5	2,4	0,2	1,0	0,2	1,0	0,2
40:10:50	0.37	$\infty$	2,2	4,9	0,5	1,3	0,4	1,0	0,3	1,3*	0,4	1,9	0,2	1,0	0,2	1,0	0,2

\* W przypadku gdy obserwowano inną kolejność migracji dwóch składników, lub grup składników niż miało to miejsce najczęściej, współczynnik selektywności  $\alpha$  został obliczony zgodnie z definicją (na podstawie stosunku współczynników retencji plamki migrowanej później do migrowanej wcześniej), W celu zwrócenia uwagi na odwrotną kolejność migracji takie wartości parametru  $\alpha$  oznaczono \*, Odchylenie standardowe (SD) dla przedstawionych powyżej wyników wartości współczynników retencji (k), gdy k  $\in$  (1,5:10) mieści się w zakresie od  $\pm 0,01$  do  $\pm 0,03$ ,

Tabela 11. Zestawienie wyników badań rozdzielania grupowego dla TLC oraz TLC-FID i warunków rozwijania stopniowego z uwzględnieniem rozwijania powyżej 100% wysokości warstwy adsorbentu (warunki rozdzielania etapowego opisano dokładnie w części metodycznej w tabelach 5 i 6)

Metoda (dane w tab. 6 i 7)	Technika	GL	MAG	DAG		FFA		TAG		FAME		Sq	A		S (P+N)		
		k' [-]	k' [-]	$\alpha_{MAG/DAG}$	k' [-]	$\alpha_{DAG/FFA}$	k' [-]	$\alpha_{FFA/FAME}$	k' [-]	$\frac{\alpha_{TAG/FAME}}{\alpha_{FAME/TAG}}$	k' [-]	$\alpha_{FAME/Sq}$	k' [-]	$\frac{\alpha_{Sq/A}}{\alpha_{A/Sq}}$	k' [-]	$\alpha_{A/S}$	k' [-]
<b>Rozwijanie 2-stopniowe</b>																	
A1	TLC	∞	12	2,5	4,8	1,9	2,6	1,3	1,1	1,8*	2,1	2,2	0,9	1,6	0,6	2,9	0,2
	TLC-FID	∞	3,2	2,0	1,6	1,4	1,3	1,0	1,2	1,1*	1,3	1,9	0,7	1,7	0,4	2,6	0,2
B1	TLC	∞	22	3,7	5,8	1,5	3,9	1,9	2,1	1,0	2,1	2,4	0,9	1,2	0,7	2,1	0,4
	TLC-FID	∞	3,6	2,0	1,8	1,1	1,6	1,0	1,3	1,2*	1,5	2,7	0,6	1,7	0,3	2,8	0,1
A2	TLC-FID	∞	8,1	2,8	2,9	1,5	1,9	1,1	1,4	1,2*	1,6	1,3	1,3	1,6	0,8	1,9	0,4
B2	TLC-FID	∞	10	3,6	2,8	1,3	2,1	1,3	1,5	1,2*	1,6	1,8	0,9	2,0	0,5	1,9	0,3
A3	TLC	∞	27	3,8	7,0	1,5	4,7	1,7	1,6	1,5*	2,8	2,7	1,1	2,4	0,4	2,4	0,2
	TLC-FID	∞	5,3	2,0	2,6	1,6	1,6	1,4	0,7	1,2*	1,2	2,17	0,5	2,5	0,2	2,4	0,1
B3	TLC	∞	27	2,8	9	1,6	6,0	1,4	2,5	1,7*	4,3	2,0	2,1	3,6	0,6	2,2	0,3
	TLC-FID	∞	10	2,2	4,6	1,4	3,4	1,6	1,6	1,4*	2,1	2,0	1,1	2,3	0,5	2,0	0,2
<b>Rozwijanie 3-stopniowe</b>																	
C1	TLC	∞	11	4,0	2,8	1,0	2,8	2,0	1,4	1,0	1,4	2,0	0,7	1,5	0,5	1,8	0,3
	TLC-FID	∞	1,4	1,0	1,4	1,0	1,4	1,0	1,4	1,0	1,4	1,8	0,8	1,8	0,4	2,4	0,2
D1	TLC	∞	12	4,2	2,9	1,0	2,9	1,9	1,8	1,1	1,6	1,6	1,0	1,5	0,6	1,6	0,4
	TLC-FID	∞	2,2	1,5	1,5	1,2	1,3	1,0	1,3	1,0	1,3	1,2	1,1	5,4	0,2	2,9	0,1
C2	TLC-FID	∞	9,0	2,7	3,4	1,4	2,3	1,3	1,4	1,3*	1,8	2,1	0,9	1,8	0,5	2,6	0,2
D2	TLC-FID	∞	0,7	0,2	3,8	1,9	2,0	1,4	1,6	1,1	1,4	2,3	0,6	1,6	0,4	2,4	0,2

W przypadku gdy obserwowano inną kolejność migracji dwóch składników, lub grup składników niż miało to miejsce najczęściej, współczynnik selektywności  $\alpha$  został obliczony zgodnie z definicją (na podstawie stosunku współczynników retencji plamki migrowanej później do migrowanej wcześniej). W celu zwrócenia uwagi na odwrotną kolejność migracji takie wartości parametru  $\alpha$  oznaczono \*. Odchylenie standardowe (SD) dla przedstawionych powyżej wyników wartości współczynników retencji (k), gdy  $k \in (1,5:10)$  mieści się w zakresie od  $\pm 0,01$  do  $\pm 0,03$ ;  $k'$  – współczynnik retencji obliczony na podstawie wartości  $R_f$  wyznaczonej w każdym przypadku dla  $b=100\%$  wysokości adsorbentu



Rozwijano chromatogramy i rozdzielano określone grupy organicznych związków chemicznych lub określone związki chemiczne mogące stanowić składniki, lub reprezentować odpowiednie grupy składników lub składniki olejów bazowych i smarowych, zwłaszcza olejów dla maszyn tnących z wykorzystaniem faz ruchomych jedno-, dwu- oraz trójskładnikowych, a także rozwijania jedno-, dwu- oraz trzostopniowego.

W kolejnych podrozdziałach dokładniej omówiono wyniki zawarte w tabelach 10 i 11 oraz sformułowano wnioski stąd wynikające.

- **Jednostopniowe rozwijanie chromatogramu TLC - jednoskładnikowe fazy ruchome**

Dane w tabeli 10 potwierdzają wyniki wielu innych wcześniejszych badań [51,52,61,72,120], że rozdzielanie grupy S od A (grupy węglowodorów nasyconych od alifatycznie i alicyklicznie podstawionych węglowodorów aromatycznych olejów bazowych oraz smarowych) jest możliwe w temperaturze pokojowej jedynie z zastosowaniem fazy ruchomej o najniższej sile elucyjnej (tu: n-C6  $\epsilon^{\circ}=0,00$  [59],  $\alpha_{A/S}=2,7$ ). Stąd wniosek, że nie ma możliwości zastąpienia n-alkanu (tu n-C6) jako fazy ruchomej w rozdzielaniu grupowym S/A bazowych oraz smarowych oraz, że faza ruchoma o zerowej sile elucyjnej jest konieczna w tym etapie rozdzielania grupowego olejów. Dane w tabeli 10 pokazują, że siła elucyjna n-C6 jest na tyle niska, że praktycznie nie umożliwia migracji acylogliceroli i ich pochodnych z punktu startu na płytkach TLC z żelem krzemionkowym ( $k_{TAG}$  i  $k_{WKT}$  – ok. 19,  $k_{DAG, MAG, GI} \rightarrow \infty$ ). Ponadto n-C6 jest złym rozpuszczalnikiem DAG i nisko lotnych wolnych kwasów tłuszczowych, a monoacyloglicerole oraz glicerol są w n-C6, czy w innych alkanach o niskiej lepkości całkowicie nierozpuszczalne [219,221]. Z tego powodu nie jest możliwe utworzenie ich roztworu w n-C6 innej formie, jak koloidalnej [106].

Z tych też najprawdopodobniej powodów, rysunkach 15, 17, 18 oraz 21 (chromatogramy HPLC) otrzymane w warunkach BF n-C6 charakteryzują się wyjątkowo szerokimi pikami, gdy piki frakcji żywic oraz dodatków uszlachetniających otrzymane w warunkach zwrotnego przepływu tej samej fazy ruchomej dla olejów nie zawierających olejów roślinnych i ich pochodnych na rysunkach 16. i 20 są „zwykłymi” wąskimi pikami chromatograficznymi.

W ramach wcześniejszych badań stwierdzono [218], że takie cykloalkany, jak cykloheksan, czy metylocyklopentan też umożliwiają rozdzielanie S/A olejów bazowych i smarowych w warunkach TLC/TLC-FID, jednak z niższą selektywnością niż z zastosowaniem n-alkanów, jako fazy ruchomej.

Jednoskładnikowe fazy ruchome, które charakteryzują się wyższą siłą elucyjną od alkanów, umożliwiłyby migracje i rozdzielanie acylogliceroli i ich pochodnych, np. MTBE ( $\epsilon^{\circ}=0,20$  [59]), lub DCM ( $\epsilon^{\circ}=0,33$  [59]) - nie umożliwiają one jednak rozdzielania węglowodorów nasyconych od aromatycznych ( $\alpha_{A/S}=1,00$ ). Stąd wniosek, że procedura grupowego rozdzielania techniką TLC/TLC-FID olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności musi obejmować etap migracji z użyciem fazy ruchomej o charakterze alkanu, np. n-C6 i etap migracji z użyciem fazy ruchomej z eluentem o wyższej sile elucyjnej. Procedura rozdzielania S/A nie może być jednoetapowa. Konieczna jest co najmniej dwuetapowa procedura rozdzielania. Jednocześnie, etap rozdzielania S/A z zastosowaniem alkanu jako fazy ruchomej powinien być na możliwie jak najdłuższej drodze rozwijania chromatogramu TLC/TLC-FID.

- **Jednostopniowe rozwijanie chromatogramu TLC - dwuskładnikowe fazy ruchome**

W drugim etapie badań nad doбором korzystnych warunków rozdzielania grupowego składników olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności w warunkach TLC/TLC-FID zastosowano dwuskładnikowe fazy ruchome, z wykorzystaniem n-C6 jako jednego ze składników fazy ruchomej. Do n-C6, jako składnika o najwyższym udziale objętościowym dodano w różnych proporcjach izopropanolu (IPA), składnika o względnie wysokiej sile elucyjnej ( $\epsilon^{\circ}=0,63$  [59]), jednocześnie względnie dobrego rozpuszczalnika organicznych związków chemicznych od nisko polarnych do polarnych. Zwiększając udział bardziej polarnego składnika w fazie ruchomej zwiększano siłę elucyjną fazy ruchomej i zmieniono charakter oddziaływań adsorpcyjnych na powierzchni sorpcyjnej. Warunki chromatograficzne tego etapu badań zamieszczono w pkt. 5.4.2.,

a wyniki badań w tabeli 10. Stwierdzono, że migracja MAG z punktu startu jest możliwa, dopiero wówczas, gdy objętościowy udział IPA w eluencie jest wyższy niż 5% (v/v). Poniżej tej zawartości ( $k_{MAG} \Rightarrow \infty$ ) MAG pozostają w punkcie dozowania próbki („na starcie”). Fazy ruchome o proporcjach n-C6: IPA 99,7: 0,3, 99,4: 0,6, 99,75: 1,25 oraz 97,5: 2,5 (v/v) wykazywały zbyt niską siłę elucji, aby spowodować migrację MAG z punktu startu. Jednocześnie maksymalna zawartość izopropanolu, dla której plamki grup węglowodorów nasyconych i węglowodorów aromatycznych nie nakładają się na chromatogramach TLC, wynosi 0,75% (v/v). Stwierdzono też, że izopropanol jest składnikiem fazy ruchomej niekorzystnie wpływającym na rozdzielanie FAME (grupy składników „reprezentujących” estry nisko cząsteczkowych alkoholi i kwasów tłuszczowych) od triacylogliceroli. Plamki wymienionych grup organicznych związków chemicznych nakładały się.

Dokładna analiza danych w drugiej części tabeli 10 prowadzi do wniosku, że dwuskładnikowa faza ruchoma o składzie n-heksan: izopropanol, w żadnej proporcji tych składników nie jest wystarczająco selektywna, by można było w warunkach TLC (stąd i TLC-FID) w warunkach rozwijania jednostopniowego (jednoetapowego) uzyskać takie rozdzielanie by zapewnić możliwość oznaczenia składu grupowego w sekwencji: S/A/FAME/TAG/FFA/DAG/MAG/GL.

- **Jednostopniowe rozwijanie chromatogramu TLC - trójskładnikowe fazy ruchome**

Z literatury, w tym z badań Stołyhwo i innych [35,44] wiadomo, że chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) jest najbardziej korzystnym średnio polarnym dodatkiem do fazy ruchomej zawierającej alkan dla efektywnego „szczegółowego”, a także, grupowego rozdzielania składników naturalnych olejów roślinnych techniką HPLC na żelu krzemionkowym, w warunkach elucji gradientowej. Rezultaty tych badań [35,44] sugerują, że w warunkach TLC i rozwijania stopniowego, chloroform jako średnio polarny dodatek do fazy ruchomej powinien zapewnić rozdzielanie grupowe olejów bazowych i smarowych w sekwencji S/A/FAME/TAG/FFA/DAG/MAG/GL (GL pozostający w punkcie startu). W badaniach niniejszej pracy zrezygnowano jednak z chloroformu jako składnika fazy ruchomej z uwagi na wysoką toksyczność, niską trwałość w kontakcie powietrza (tworzenie się fosgenu w warunkach bez dodatku tzw. polarnego stabilizatora). Natomiast, zastosowanie stabilizatora wiąże się ze wzrostem polarności i siły elucyjnej chloroformu. W konsekwencji jako dodatek i trzeci składnik trójskładnikowej fazy ruchomej wytypowano MTBE, który jest dodatkiem o średniej sile elucyjnej i w porównaniu do proponowanego w literaturze chloroformu jest znacznie mniej toksyczny, mniej lotny i mniej szkodliwy dla sterfy ozonowej Ziemi.

Warunki chromatograficzne badań nad zastosowaniem trójskładnikowej fazy ruchomej zamieszono w pkt. 5.4.2., a wyniki badań w tabeli 10. Zastosowano n-C6 jako główny składnik fazy ruchomej, ponieważ wykazywał najlepszą selektywność rozdzielania grupy węglowodorów nasyconych od aromatycznych (S/A). Jako dwa pozostałe składniki trójskładnikowej fazy ruchomej zastosowano izopropanol jako składnik o względnie wysokiej sile elucyjnej oraz MTBE, jako składnik o „średnio – niskiej” sile elucyjnej, jednocześnie o dobrej selektywności rozdzielania trójacylogliceroli (TAG) i ich pochodnych o charakterze produktów hydrolizy TAG. W celu opracowania korzystnych warunków grupowego rozdzielania badano możliwość zastosowania w warunkach izokratycznych mieszaniny niepolarnego n-heksanu, z nieco bardziej polarnym MTBE i z bardzo niewielkim dodatkiem względnie polarnego IPA.

Wyniki tych badań w tabeli 10 wykazały, że MTBE jako dodatek do fazy ruchomej może zastąpić chloroform w rozdzielaniu olejów bazowych i smarowych zawierających acyloglicerole i ich pochodne. Fazą ruchomą, która umożliwia w warunkach TLC i żelu krzemionkowego (jako adsorbentu) rozdzielanie grupowe S/A olejów, jest mieszanina n-C6: IPA: MTBE w proporcji 98,7:0,3:1 (v/v/v) ( $\alpha_{A/S}=1,71$ ). Natomiast, korzystną fazą ruchomą, która umożliwia rozdzielanie acylogliceroli i ich pochodnych w sekwencji Sq/FAME/TAG/DAG/FFA/MAG/GL ( $\alpha_{MAG/DAG}=5,4$ ;  $\alpha_{DAG/FFA}=1,7$ ;  $\alpha_{FFA/FAME}=1,9$ ;  $\alpha_{TAG/FAME}=1,0$ ;  $\alpha_{FAME/A}=2,4$ ) jest n-C6: IPA: MTBE w proporcji 87,5: 5: 7,5 (v/v/v).

W badanej grupie faz ruchomych nie ma takiej fazy ruchomej, która jednocześnie byłaby na tyle „słaba”, aby umożliwić rozdzielanie grupowe S/A oraz na tyle „silna”, aby umożliwiła rozdzielanie w sekwencji Sq/FAME/TAG/DAG/FFA/MAG/GL.

Żadna z badanych trójskładnikowych faz ruchomych nie umożliwiła rozdzielania jednocześnie wszystkich grup współczesnych olejów smarowych i bazowych o szerokim zakresie polarności. Badania wykazały, że do grupowego rozdzielania olejów bazowych i smarowych w sekwencji S/A/Sq/FAME/TAG/DAG/FFA/MAG/GL w warunkach TLC oraz TLC-FID niezbędne jest co najmniej 2-stopniowe rozwijanie chromatogramu. W etapie rozdzielania grupowego S/A należy zastosować n-heksan, albo inny alkan jako jednoskładnikową fazę ruchomą oraz jednocześnie zapewnić możliwie długi dystans rozwijania chromatogramu TLC. Natomiast do rozdzielania alcylogliceroli i ich pochodnych - wieloskładnikową fazę ruchomą, aby uzyskać rozdzielanie grupowe Sq/FAME/TAG/DAG/FFA/MAG/GL. Jednocześnie, droga migracji fazy ruchomej o sile elucyjnej wyższej od alkanu, powinna być jak najdłuższa. Powinna zostać w ten sposób ustalona, by grupa węglowodorów aromatycznych utworzyła jedną plamkę bez pogarszania rozdzielczości S/A. W ramach tego etapu separacji powinno mieć miejsce rozdzielanie w sekwencji A/Sq/FAE/TAG/DAG/FFA/MAG/GL (plamka GL pozostająca w punkcie startu).

- **Badania z zastosowaniem tradycyjnego trzystopniowego rozwijania chromatogramu TLC - niewystarczająca selektywność; zbadanie hipotezy o efektywności dwustopniowego rozwijania**

W części 1 niniejszej pracy dla kontroli składu grupowego olejów pod względem spełniania wymagań RDLP w Gadńsku z zastosowaniem NP-TLC i płytek z nieimpregnowanym żelem krzemionkowym wykorzystano powszechnie stosowaną w literaturze, szczególnie dla grupowego rozdzielania naftowych materiałów zawierających asfalteny w konwencji SARA, procedurę 3-stopniowego rozwijania chromatogramu TLC. W następujący sposób: 1 etap: n-C6 do 100% wysokości adsorbentu; 2 etap: toluen, do 60 % wysokości; 3 etap: DCM: MeOH 95:5 (v/v) do 30% wysokości adsorbentu (przykład wyników rozdzielania na rysunku 14) [11,55,128]. W ramach badań niniejszej, 2 części pracy badano też inne wartości wysokości rozwijania chromatogramu TLC i TLC-FID w poszczególnych etapach oraz korelację rezultatów wieloetapowego rozdzielania w tych samych warunkach szczegółowo opisanych w pkt. 5.4.2.2 (tabele 5 i 6). Wyniki przedstawiono w tabeli 11.

Dla zwrócenia uwagi na odwrotną kolejność migracji określonych składników lub grup składników, która miała miejsce inaczej niż zwykle, współczynnik selektywności  $\alpha$  (obliczony zgodnie z definicją na podstawie stosunku współczynników retencji plamki migrowanej później do migrowanej wcześniej), oznaczono w tabeli 10 z gwiazdką (\*). Wyniki rozdzielania zamieszczone w tabeli 10 posłużyły do zaprojektowania korzystnych warunków rozdzielania grupowego techniką TLC-FID. Zostały też wzięte pod uwagę w formułowaniu wniosków z badań przeprowadzonych w tej pracy, w tym, dotyczących sprawy kolejności stopniowej w badaniach składu grupowego olejów o szerokim zakresie polarności składników.

Na podstawie wyników przedstawionych w tabeli 11, wnioskuje się, że 3-stopniowa procedura rozwijania proponowana w literaturze dla grupowego rozdzielania asfaltów lub ciężkich produktów naftowych zawierających asfalteny (metodyka C1, tabela 6) [70,120] jest nieskuteczna dla rozdzielania grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności w sekwencji: S/A/Sq/TAG/FAME/FFA/DAG/MAG/GL/ADD (glicerol w punkcie startu). Nie umożliwia selektywnego grupowego rozdzielania acylogliceroli i ich pochodnych (TAG/FAME/FFA/DAG/MAG/GL). Ma to miejsce niezależnie od tego, czy kolejne etapy rozwijania stopniowego są wykonywane w kierunku wzrostu, czy spadku siły elucyjnej fazy ruchomej (metoda C1 oraz D1, tabela 6).

Rezultaty badań zamieszczone w tabeli 11 oraz analiza ich rezultatów prowadzi do generalnego wniosku, że dwuetapowa procedura rozwijania powinna być najbardziej odpowiednia do grupowego rozdzielania olejów bazowych i smarowych w sekwencji: S/A/Sq/FAME/TAG/DAG/FFA/MAG/GL/ADD (pozostającego w punkcie dozowania). Jednocześnie, należy zapewnić możliwie jak najdłuższą drogę rozwijania w każdym z etapów.

W ramach badań tej pracy wykazano też, że dla możliwie najbardziej selektywnego rozdzielania węglowodorów nasyconych od węglowodorów aromatycznych korzystne jest nietypowe postępowanie polegające na wydłużeniu czasu rozwijania chromatogramu TLC z alkanem (n-C6), jako fazą ruchomą - powyżej wysokości warstwy adsorbentu. Polagające na tym, że po osiągnięciu przez tzw. czoło fazy ruchomej n-C6 górnej krawędzi fazy stacjonarnej płytki TLC, kontynuowane

jest rozwijanie chromatogramu za pomocą n-C6 jeszcze przez doświadczalnie określony okres czasu, w ten sposób, aby góna krawędź plamki grupy S osiągnęła rejon górnej krawędzi adsorbentu na płytce TLC. W tym czasie niskopolarna lotna faza ruchoma jest odparowywana z górnej krawędzi adsorbentu na płytce TLC. Przykład w ten sposób rozwiniętego chromatogramu TLC przedstawiono na rysunku 23.

Tę zasadę wydłużenia czasu rozwijania chromatogramu niepolarną fazą ruchomą w celu zwiększenia stopnia rozdzielania S/A zastosowano następnie w badaniach techniką TLC-FID. Wartość wydłużenia czasu rozwijania jest zróżnicowana dla TLC i TLC-FID, jak również dla zwiększania lub zmniejszania siły elucyjnej fazy ruchomej w kolejnych etapach rozwijania. Odpowiednie wartości należy dobrać eksperymentalnie, zapewniając by górna część plamki grupy S jeszcze nie osiągnęła ale by była blisko górnej granicy strefy rozwijania na płytce TLC lub pręciku TLC-FID. Warto dodać, że zastosowane w tej pracy nietypowe postępowanie sprzyja uzyskaniu zwiększenia rozdzielczości grupowej S/A.

### **6.2.3.3. Zbadanie wpływu wzrostu/spadku siły elucyjnej fazy ruchomej w kolejnych etapach rozwijania chromatogramu TLC**

Jak dotychczas jest regułą, że w przypadku rozdzielania grupowego składników materiałów o stosunkowo złożonym składzie grupowym techniką TLC lub TLC-FID, w literaturze proponowane jest rozdzielanie trójstopniowe ze zmniejszaniem dystansu migracji oraz jednocześnie, zwiększaniem siły elucyjnej fazy ruchomej w kolejnych etapach rozwijania chromatogramu TLC/TLC-FID [11,55,128]. Badania niniejszej pracy wykazały też, że rozdzielanie grupowe S/A jest możliwe tylko z alkanem (tu n-C6) jako fazą ruchomą oraz korzystny jest możliwie długi dystans rozwijania. Dla rozdzielania acylogliceroli oraz ich pochodnych jest oczywiście potrzebna faza ruchoma o wyższej sile elucyjnej, niż wykazują alkanany, czy cykloalkany. Dla zapewnienia migracji względnie polarnych MAG i polarnego GL, siła elucyjna fazy ruchomej powinna być znaczna ( $\epsilon^0 > 0,20$ ). W konsekwencji, jak wykazały badania niniejszej pracy grupowe rozdzielanie techniką TLC, TLC/FID w konwencji S/A/Sq/FAME/TAG/DAG/FFA/MAG/GL powinno być stopniowe, korzystnie, dwustopniowe.

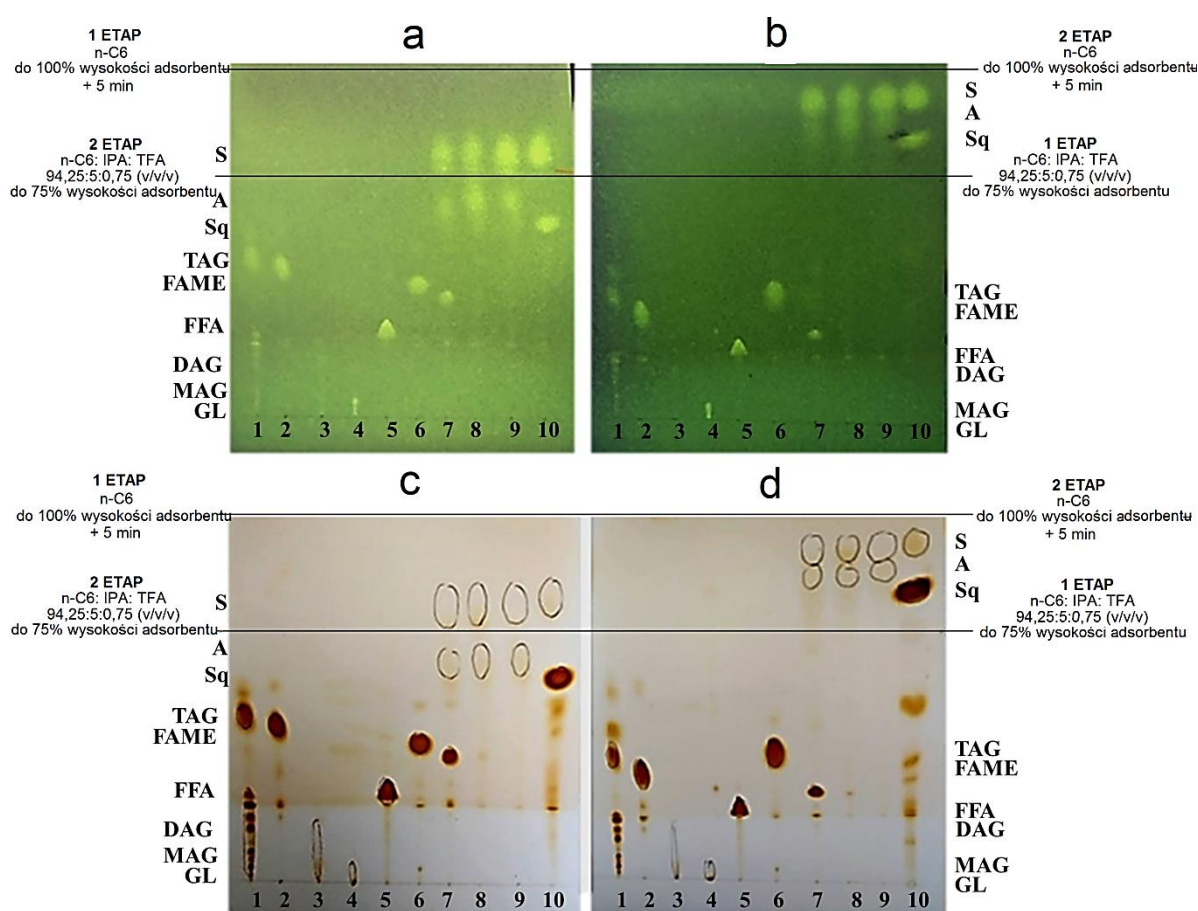
Badania Gudebskiej [11,120] nad opracowaniem korzystnych warunków 3-etapowego grupowego rozdzielania w konwencji SARA techniką TLC oraz TLC-FID materiałów naftowych (tzw. asfaltów drogowych, przemysłowych, lub pozostałości z destylacji ropy naftowej), zawierających nierozpuszczalne w alkanach asfalteny będące fazą stałą w temperaturze pokojowej, wykazały, że alkan w rodzaju n-C6, n-C7, izo-C8, nie powinien być fazą ruchomą w pierwszym etapie 3-etapowego rozwijania chromatogramu. Wówczas z powodu okluzji składników badanej mieszaniny przez asfalteny, ma miejsce istotne „zaniżanie” szczególnie grupy S, a także, w pewnym stopniu grupy A [11,29,214]. Bazowe i smarowe oleje o szerokim zakresie polarności mogą zawierać FFA, DAG, MAG oraz GL, bardzo słabo, lub praktycznie nierozpuszczalne, albo faktycznie nierozpuszczalne w n-C6, lub podobnych alkanach o niskiej lepkości. Co prawda, wszystkie grupy składników olejów bazowych i smarowych są płynne i żaden nie jest fazą stałą w temperaturze pokojowej. Stąd ewentualna okluzja nie powinna odgrywać tak istotnej roli, jak w przypadku asfaltów, i podobnych materiałów zawierających nierozpuszczalne w n-C6 asfalteny. Mimo to może odgrywać rolę. W ramach niniejszej pracy postanowiono także ten zbadać znaczenie tego problemu.

Rozwijanie chromatogramów TLC/TLC-FID wykonywano dwoma sposobami:

- zwiększając siłę elucyjną kolejnych faz ruchomych i jednocześnie zmniejszając wysokość rozwijania w kolejnych etapach rozwijania stopniowego (pierwszy etap z alkanem (n-C6) jako fazą ruchomą na maksymalnym dystansie rozwijania, kolejny- z fazą ruchomą o podwyższonej sile elucyjnej na mniejszym dystansie z suszeniem płytki do usunięcia śladów fazy ruichomej między kolejnymi etapami rozwijania),
- zmniejszając siłę elucji fazy ruchomej i zwiększając dystans rozwijania w kolejnych etapach (pierwszy etap z fazą ruchomą o podwyższonej sile elucyjnej na mniejszym dystansie, kolejny z alkanem jako fazą ruchomą na maksymalnym dystansie rozwijania z suszeniem płytki do usunięcia śladów fazy ruchomej między kolejnymi etapami rozwijania).



Na rysunku 23 przedstawiono porównanie odpowiednich chromatogramów TLC. Badania zostały opublikowane [50]. Widać, że kolejność zmiany siły elucyjnej fazy ruchomej w kolejnych etapach (stopniach) rozwijania ma istotny wpływ w warunkach TLC na rozdzielanie grupowe nisko polarnych grup S/A. Jest to najprawdopodobniej związane ze zróżnicowaniem aktywności powierzchni adsorbentu podczas etapu rozwijania alkanem, jako fazą ruchomą. Wówczas, gdy płytka TLC jest eksponowana w komorze TLC w atmosferze niepolarnych par alkanu i pierwszy etap rozwijania jest wykonywany tą fazą ruchomą, obserwuje się większą retencję i wyższą selektywność rozdzielania S/A (chromatogramy a, c na rysunku 23). W drugim przypadku, gdy ekspozycja płytki TLC odbywa się najpierw w oparach składników bardziej polarnej fazy ruchomej, ma miejsce w pewnym stopniu dezaktywacja powierzchni adsorpcyjnej żelu krzemionkowego przez opary metanolu i jednocześnie niższe wartości współczynników retencji ( $k$ ) nisko polarnych składników grup A/S (chromatogramy b, d na rysunku 23) [50].



Rysunek 23. Zestawienie fotografii przykładów chromatogramów TLC otrzymanych w warunkach 2 stopniowego rozwijania i rozdzielania tych samych próbek na płytkach żelu krzemionkowego impregnowanych siarczanem berberyny: A1 – chromatogramy a, c – wzrost polarności (siły elucyjnej fazy ruchomej), jednocześnie zmniejszanie drogi rozwijania w kolejnych etapach; B1 – chromatogramy b, d – spadek polarności (siły elucyjnej fazy ruchomej) w kolejnych etapach oraz wzrost drogi rozwijania; Warunki rozwijania w/g tabeli 5 (n-C6 – do 100 % wysokości płytki + 5 min.; n-C6: IPA: TFA 94,25: 5: 0,75 (v/v/v) – do 75% wysokości strefy rozwijania: Wizualizacja : a, b - w świetle UV  $\lambda = 365$  nm, c, d - w świetle widzialnym po ekspozycji chromatogramu TLC w oparach jodu; próbki: 1- mieszanina – naftowy olej bazowy SAE 30/90, Skwalen, TAG, DAG, FFA, MAG, glicerol, 2-mieszanina oleju roślinnego słonecznikowego oraz rzepakowego (1:1 v/v), 3-DAG, 4-MAG, 5-FFA, 6-FAME, 7- olej smarowy produkowany na bazie mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego, 8- olej maszynowy produkowany na bazie ropy naftowej, 9-SAE 30/90, 10-PAO 6 + skwalen (Sq) (charakterystyka materiału próbek tabela 4)

Ważnym wnioskiem wynikającym z fotografii na rysunku 23 oraz z tabel 10 i 11, jest potwierdzenie przydatności płytek impregnowanych solą berberyny do badań pilotowych grupowego rozdzielania olejów o szerokim spektrum polarności składników. Jednocześnie też, że czułość, tej metodyki nie jest wysoka. Na fotografiach na rysunku 23 widać, że w przypadku związków



chemicznych i grup związków chemicznych zdolnych do wywoływania brunatnej barwy w oparach jodu, czułość wizualizacji jest zdecydowanie wyższa, niż wizualizacji na drodze wykorzystania wzrostu fluorescencji berberyny.

#### 6.2.4. Badania nad opracowaniem korzystnych warunków grupowego rozdzielania oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych techniką cienkowarstwowej chromatografii cieczowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (TLC-FID)

W literaturze panuje powszechna opinia, że w przypadku badań składu „szczegółowego” oraz grupowego mieszanin bardzo nisko lotnych, albo nielotnych organicznych związków chemicznych, wysokosprawna chromatografia cieczowa, a współcześnie ultra wysokosprawna chromatografia cieczowa (UPLC), to najbardziej korzystne techniki badawcze w takich zastosowaniach [21,23,25,49,66,88,95]. Jak wykazano w niniejszej pracy opracowanie adekwatnej procedury rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów w sekwencji S/A/R/FAME/TAG/DAG/FFA/MAG/GL z wykorzystaniem HPLC jest bardzo trudne w praktyce. Procedura byłaby skomplikowana (przynajmniej kilkietapowa), czasochłonna, kosztowna w realizacji i niepraktyczna w codziennym użytkowaniu. Studium literatury, a przede wszystkim obszernie pilotowe badania wykonane techniką NP-TLC z płytkami impregnowanymi solą berberyny, których szczegółowe rezultaty zamieszczono w tabelach 10 i 11 oraz z dodatkową - wizualizacją plamek chromatograficznych po ekspozycji w oparach jodu, wykazały w powyższym zastosowaniu najbardziej korzystną techniką separacyjno – analityczną powinna być technika TLC-FID [50,121,122,124,128]. Do opracowania najbardziej korzystnej procedury separacyjno - analitycznej S/A/Sq/FAME/TAG/FFA/DAG/MAG/GL dla TLC-FID wykorzystano opisane powyżej rezultaty badań z wykorzystaniem TLC, zamieszczone w tabelach 10 i 11, dla których przykład reprezentatywnych chromatogramów TLC przedstawiono na rysunku 23.

Tabela 5. Warunki 2-stopniowego rozwijania chromatogramów TLC oraz TLC-FID - powtórzenie

Kod metody rozwijania chromatogramu	Etap 1		Etap 2	
	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v/v)	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v/v)
A1	100%	n-C6	70%	n-C6: IPA: TFA 94,25: 5: 0,75
B1	70%	n-C6: IPA: TFA 94,25: 5: 0,75	100% +10min (TLC-FID) +5min (TLC)	n-C6
A2	100% +10min (TLC-FID)	n-C6	70%	n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75
B2	70%	n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75	100% +10min (TLC-FID)	n-C6
A3	100% +15min (TLC-FID) +7,5min (TLC)	n-C6	75%	n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75
B3	60%	n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75	100% +5min (TLC-FID) +2.5min (TLC)	n-C6

n-C6 – n-heksan, IPA – izopropanol, TFA-kwas trifluorooctowy

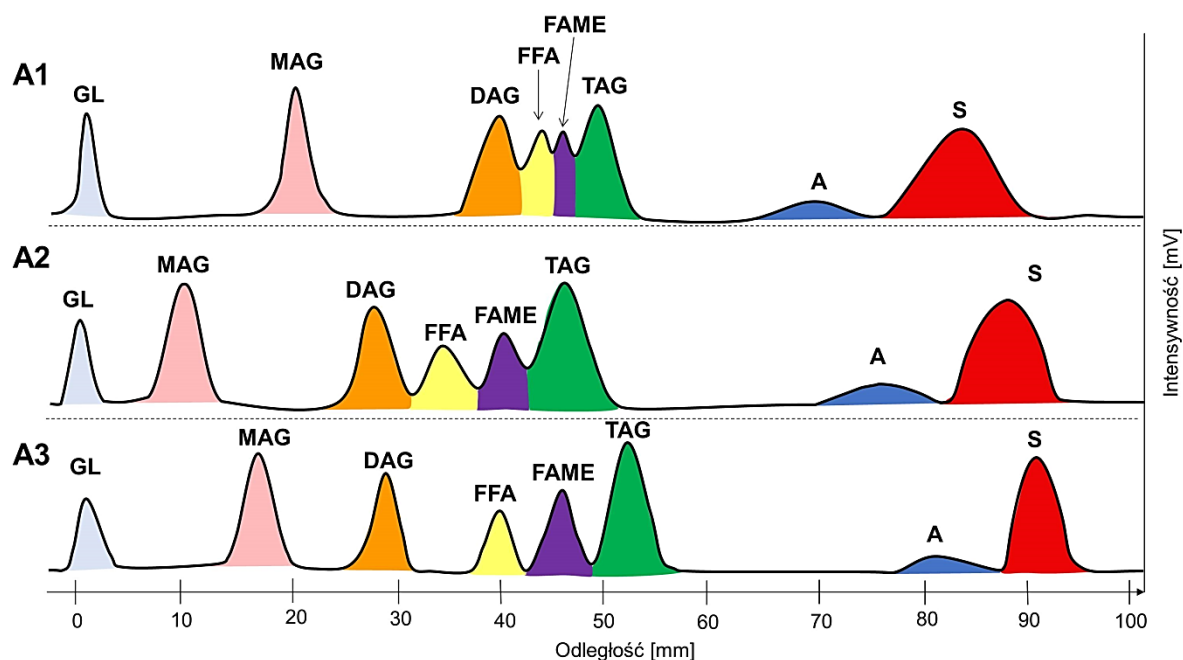
Powyższe badania wykazały, że stosując te same warunki rozwijania w TLC (rysunek 23) oraz TLC-FID (rysunek 24 oraz 25), otrzymujemy taką samą kolejność migracji rozdzielanych składników/grup składników. Na rysunku 26 przedstawiono porównanie chromatogramu otrzymanego metodą A3 techniką TLC oraz techniką TLC-FID. Wartości parametrów retencji i selektywności są zbliżone, jednak nieidentyczne (tabela 11, rysunek 26). To umożliwiło ograniczenie do minimum badań nad doбором korzystnych warunków rozdzielania, wykonanych bezpośrednio techniką TLC – FID. Należy też dodać, że czas rozwijania czoła n-heksanu do 100% wysokości płytki TLC o długości strefy rozwijania 10 cm wynosi ok. 13 min., natomiast pręcików TLC-FID o wysokości 10 cm warstwy

adsorbentu, ok. 26 min. W związku z tym dodatkowy czas rozwijania n-C6 dla TLC-FID dwukrotnie przedłużono w stosunku do warunków odpowiednich dla techniki TLC-FID, w stosunku do TLC – z 5 do 10 minut (tabele 5 i 6).

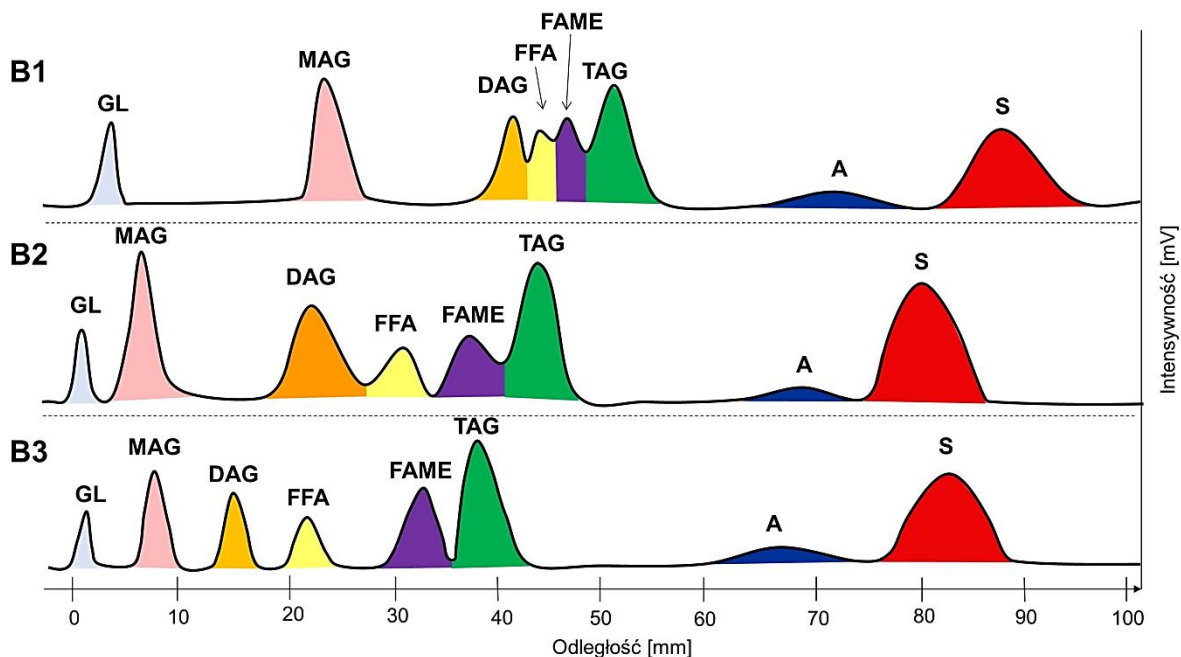
Tabela 6. Warunki rozwijania chromatogramów TLC oraz TLC-FID – rozwijanie 3-stopniowe- powtórzenie

Kod metody rozwijania chromatogramów	Etap 1		Etap 2		Etap 3	
	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v)	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v)	Wysokość rozwijania	Faza ruchoma (v/v)
C1	100% +10min (TLC-FID) +5min (TLC)	n-C6	60%	toluen	40%	DCM:MeOH 95: 5
D1	40%	DCM:MeOH 95: 5	70%	toluen	100% +10min (TLC-FID) +5min (TLC)	n-C6
C2	100% +10min (TLC-FID)	n-C6	60%	toluen	50%	CHCl <sub>3</sub> :MeOH 97: 3
D2	50%	CHCl <sub>3</sub> :MeOH 97: 3	60%	toluen	100% +10min (TLC-FID)	n-C6

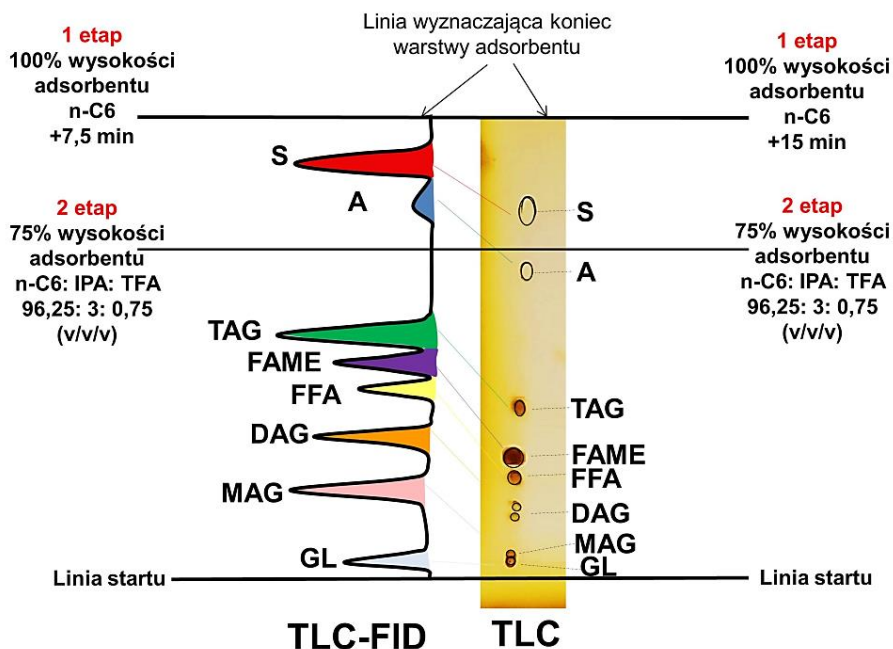
n-C6 – n-heksan, DCM- dichlorometan, MeOH-metanol, CHCl<sub>3</sub> – chloroform



Rysunek 24. Zestawienie chromatogramów TLC-FID otrzymanych dla metodyk **A1**, **A2** oraz **A3** (tabela 5): **A1**-1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6, 2 etap 70% wysokości adsorbentu n-C6:IPA:TFA 94,25:5:0,75 (v/v/v); **A2**- 1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +10 min, 2 etap 70% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v); **A3**-1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +15 min, 2 etap 75% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v); Dla próbki (mieszaniny): 1,42 µg GL, 1,42 µg TAG, 2 µg MAG, 1,42 µg DAG, 1,42 µg FFA, 1,42 µg FAME, 1,42 µg S30; Piki: GL- gliceryna, MAG-Monoacyloglicerole, DAG-Diacyloglicerole, FFA- Wolne Kwasy Tłuszczowe, FAME-FAME techniczne, A-Węglowodory aromatyczne, S-Węglowodory nasycone (parafiny i nafteny) (charakterystyka składników próbki w tabeli 4)



Rysunek 25. Zestawienie chromatogramów TLC-FID otrzymanych dla metodyk **B1**, **B2** oraz **B3** (tabela 5): **B1**- 1 etap 70% wysokości adsorbentu n-C6:IPA:TFA 94,25:5:0,75 (v/v/v); 2 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6; **B2**- 1 etap 70% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v); 2 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +10 min; **B3**- 1 etap 60% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v); 2 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +5 min; Dla próbki (mieszaniny): 1,42 µg GL, 1,42 µg TAG, 2 µg MAG, 1,42 µg DAG, 1,42 µg FFA, 1,42 µg FAME, 1,42 µg S30; Piki: GL- gliceryna, MAG-Monoacyloglicerole, DAG-Diacyloglicerole, FFA- Wolne Kwasy Tłuszczowe, FAME-FAME techniczne, A-Węglowodory aromatyczne, S-Węglowodory nasycone (parafiny i nafteny) (charakterystyka składników próbki w tabeli 4)



Rysunek 26. Zestawienie chromatogramów TLC (fotografii w świetle widzialnym po ekspozycji w oprach jodu ) oraz TLC-FID otrzymanych dla metodyki **A3** -1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +15 min (TLC-FID), +7,5min (TLC), 2 etap 75% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v); Dla próbki (mieszaniny): GL, TAG, MAG, DAG, FFA, FAME, S30; Piki: GL- gliceryna, MAG-Monoacyloglicerole, DAG-Diacyloglicerole, FFA- Wolne Kwasy Tłuszczowe, FAME-FAME techniczne, A-Węglowodory aromatyczne, S-Węglowodory nasycone (parafiny i nafteny)

Chromatogramy A1, A2 oraz A3 na rysunku 24 dotyczą rozwijania stopniowego ze wzrostem siły elucyjnej kolejnych faz ruchomych z jednoczesnym zmniejszaniem dystansu rozwijania chromatogramu TLC-FID w 2 etapie (do 70%, 75% wysokości warstwy adsorbentu na powierzchni pręcika Chromarod SIII - tabela 5). Chromatogramy TLC dla tych warunków przedstawiono na rysunku 23 chromatogram (ekspozycja pod lampą UV  $\lambda = 365$  nm), c (w świetle widzialnym po wywołaniu brunatnej barwy plamej w oparach jodu). W przypadku warunków rozdzielania metodą A1 zastosowano w pierwszym etapie n-C6 i rozwijanie do 100% wysokości adsorbentu. To umożliwiło pełne rozdzielanie grupy węglowodorów nasyconych od węglowodorów aromatycznych.

W drugim etapie rozwijania chromatogramu zastosowano mieszaninę n-C6: IPA: TFA (94,25: 5: 0,75 v/v/v). Faza ruchoma o tak względnie wysokiej sile elucyjnej uniemożliwiła rozdzielanie DAG/FFA/TAG/FAME (rysunek 24, chromatogram A1).

Warunki A2 to pierwszy etap rozwijania n-C6 do 100% wysokości adsorbentu z wydłużoną o 10 min wartością czasu migracji n-C6 „powyżej” górnej krawędzi adsorbentu na powierzchni pręcika Chromarod SIII. W drugim etapie rozwijania chromatogramu zmniejszono siłę elucji fazy ruchomej – stosując mieszaninę n-C6: IPA: TFA w proporcji 96,25: 3: 0,75 (v/v/v). To nie umożliwiło jeszcze pełnego rozdzielania grupowego acylogliceroli oraz ich pochodnych. Obniżenie siły elucji fazy ruchomej w drugim etapie poprawiło rozdzielanie pod względem składu grupowego w zakresie acylogliceroli i ich pochodnych. Metodę A2 zmodyfikowano do warunków A3. Ponownie zwiększono dodatkowy czas rozwijania w pierwszym etapie z 10 do 15 minut, a także zwiększono dystans rozwijania w 2 etapie z 70% do 75% wysokości warstwy adsorbentu. To umożliwiło otrzymanie pełnego rozdzielania w zakresie TAG/FAME/FFA/DAG/MAG/GL. Zwiększenie dodatkowego czasu rozwijania do 15 min. W konsekwencji uzyskano korzystne warunki rozdzielania w sekwencji S/A/TAG/FAME/FFA/DAG/MAG/GL.

Badano również rozwijanie stopniowe ze zmniejszaniem siły elucji faz ruchomych w kolejnych etapach rozwijania chromatogramu TLC-FID, stosując równocześnie zwiększanie dystansu rozwijania chromatogramu (n-C6) w drugim etapie rozwijania do 100% wysokości warstwy adsorbentu na powierzchni pręcika Chromarod SIII. Warunki chromatograficzne opisano w tabeli 6 dla metody B1, B2 oraz B3. Zestawienie odpowiednich reprazentatywnych chromatogramów TLC – FID przedstawiono na rysunku 25.

Rozdzielanie węglowodorów nasyconych od aromatycznych jest praktycznie takie same, dla chromatogramów A1, A2, A3 oraz B1, B2 i B3. W przypadku metody B1, zastosowana w 1 etapie rozdzielania faza ruchoma n-C6: IPA: TFA - 94,25: 5: 0,75 (v/v/v) ma nieco zbyt wysoką siłę elucyjną. Z tego powodu uzyskano niewielki stopień rozdzielania grupowego acylogliceroli oraz ich pochodnych. Zmodyfikowana metoda B2, w której zmniejszono siłę elucji mieszaniny n-heksanu, izopropanolu oraz TFA w proporcji 96,25: 3: 0,75 (v/v/v), analogicznie w przypadku metody A2, daje lepsze rozdzielanie tych grup, jednak jeszcze niezadowolające dla analityki składu grupowego. Znacznie bardziej korzystne rezultaty rozdzielania uzyskano w warunkach B3, gdy skrócono dystans rozwijania w pierwszym etapie z 70% do 60% wysokości strefy rozwijania, a także, zmniejszono dodatkowy czas rozwijania n-heksanem w drugim etapie o połowę (z 10 minut do 5). Węglowodory nasycone oraz aromatyczne już w pierwszym etapie podlegają migracji z czołem fazy ruchomej o wysokiej sile elucyjnej do 60% wysokości strefy rozwijania.

Porównanie rezultatów opisywanych badań prowadzi do ogólnego wniosku, że korzystne warunki dwuetapowego rozdzielania w warunkach TLC-FID dla oznaczania składu grupowego olejów o szerokim zakresie polarności składników, olejów mogących składać się z mieszanin olejów pochodzenia naftowego oraz roślinnych i ich pochodnych, w sekwencji: S/A/TAG/FAME/FFA/DAG/MAG/GL to alternatywnie warunki A3, albo B3. Przy czym należy preferować metodę A3 zapewniającą dłuższą drogę efektywnego rozdzielania S/A. Wówczas efektywne rozdzielanie w konwencji S/A ma miejsce wzdłuż całej wysokości adsorbentu od punktu dozowania plamki próbki na pręcik Chromarod S III do górnej krawędzi warstwy adsorbentu. Natomiast, w przypadku metodyki B3 ma miejsce migracja obu grup S+A w formie jednego pikę pod wpływem fazy ruchomej o względnie wysokiej sile elucyjnej na dystansie od punktu naniesienia plamki startowej do wysokości frontu tej fazy ruchomej. To powoduje zmniejszenie efektywnej drogi migracji i mniejszy dystans, na którym ma miejsce rozdzielanie grup S/A. Ma ono miejsce tylko



w zakresie części wysokości warstwy adsorbentu. Z tego powodu w przypadku metodyki B3 jest szczególnie korzystne stosowanie „dodatkowego czasu” migracji fazy ruchomej n-C6 „powyżej” górnej krawędzi warstwy adsorbentu na płycie TLC / pręciku TLC-FID.

Analiza przebiegu chromatogramów na rysunkach 24 i 25 prowadzi do wniosku, że trójskładnikowa faza ruchoma o składzie: n-C6: IPA: TFA w proporcji 96,25: 3: 0,75 (v/v/v) jest bardzo korzystna dla rozdzielania w konwencji składników olejów o szerokim zakresie polarności w sekwencji Sq/TAG/FAME/FFA/DAG/MAG/GL/ADD. Należy dodać, że badania wykazały, iż dodatek 0,75% objętościowych TFA do fazy ruchomej zdecydowanie poprawia selektywność rozdzielania grupowego w porównaniu do warunków bez obecności TFA w fazie ruchomej, a także, gdy dodatkiem do fazy ruchomej w formie kwasu jest kwas mrówkowy, czy octowy. Być może wyjaśnieniem korzystnego znaczenia obecności w bezwodnej organicznej fazie ruchomej mocnego w niewielkim stężeniu jest swego rodzaju solwatacja polarnych grup karboksylowych wolnych kwasów tłuszczowych FFA oraz grup hydroksylowych glicerolu w DAG i MAG obniżając ich „efektywną” polarność. Znaczenie może też mieć „blokowanie” przez TFA „nadaktywnych” zasadowych metalicznych centrów aktywnych na powierzchni żelu krzemionkowego.

Na podstawie chromatogramów na rysunkach 24 i 25 widać też, że celowe mogłyby być dalsze badania nad ustaleniem najbardziej korzystnej wysokości rozwijania chromatogramu TLC FID w etapie stosowania fazy ruchomej n-C6: IPA: TFA w proporcji 96,25: 3: 0,75 (v/v/v). W związku z tym, że warunki uzyskane podczas badań (A3 i B3) zapewniały poprawność oznaczania składu grupowego w sekwencji S/A/Sq/TAG/FAME/FFA/DAG/MAG/GL/ADD, z tego zrezygnowano.

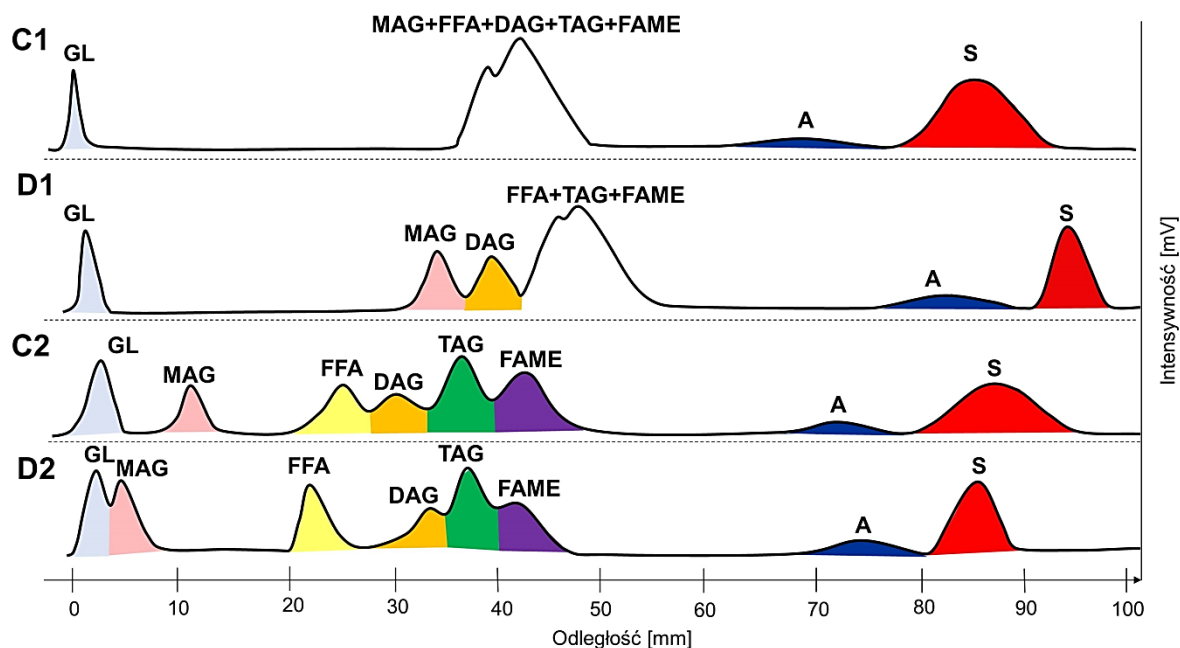
W ramach tej pracy badaniami wstępnymi objęto również możliwość zastosowania trójstopniowego rozwijania z wykorzystaniem techniki TLC-FID w warunkach standardowo wykorzystywanych w literaturze w badaniach materiałów zawierających asfalteny w konwencji SARA [16,136]. Zmodyfikowanych z sukcesem przez Gudebską w rozprawie doktorskiej [11] do badania składu grupowego naftowych olejów bazowych w konwencji S/A/R, a także w innych publikacjach w literaturze [70,120,126,129]. Metodyka polega na trójstopniowym rozwijaniu chromatogramu TLC/TLC-FID, w 1 etapie do 30% wysokości fazy stacjonarnej z użyciem mieszaniny DCM: MeOH 95: 5 (v/v) jako fazy ruchomej, następnie do 60% wysokości fazy stacjonarnej z użyciem toluenu jako fazy ruchomej. W ostatnim (3) etapie do 100% wysokości fazy stacjonarnej z użyciem n-C6 jako fazy ruchomej. Z dokładnym wysuszeniem płytki TLC/pręcików Chromarod SIII po naniesieniu plamek startowych oraz po każdym etapie rozwijania chromatogramu [70,120,126,129].

Jak wspomniano w pkt. 6.1.5. oraz w opublikowanych pracach [50,126], ta metodyka nie umożliwia rozdzielenia w zakresie acylgliceroli i ich pochodnych w sekwencji FAME/FFA/DAG/MAG/GL [50,126].

Podjęto próbę modyfikacji i adaptacji 3-etapowej metodyki w celu poprawienia rozdzielania TAG i pochodnych. Na rysunku 26 zamieszczono zestawienie chromatogramów TLC-FID dla tych zmodyfikowanych metodyk - D1, D2, C1 oraz C2. Warunki rozdzielania zamieszczono w tabeli 6. Modyfikacja polegała na zwiększeniu z ok. 30 mm do 40 mm wysokości strefy rozwijania fazą ruchomą o najwyższej sile elucyjnej DCM: MeOH 95:5 (v/v), a także zastosowano dodatkowy czas rozdzielania S/A poprzez odparowywanie n-C6 z powierzchni górnej krawędzi dsorbentu przez czas 5 lub 10 min. Ponadto w metodyce C2 oraz D2 dichlorometan zastąpiono chloroformem (CHCl<sub>3</sub>) (tabela 6).

Na rysunku 27 - chromatogram C2, a także chromatogram C3 widać, że zastąpienie bardziej polarnego dichlorometanu (DCM - CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), należącego do 5 grupy wg klasyfikacji Snydera, niżej polarnym chloroformem (CHCl<sub>3</sub>) należącym do 8 grupy wg tej klasyfikacji [222] z jednoczesnym zwiększeniem zawartości w fazie ruchomej chloroformu do 97% (v/v) w stosunku do 95 % DCM oraz zwiększenie dystansu rozwijania chromatogramu TLC-FID fazą ruchomą CHCl<sub>3</sub>: MeOH 97: 3 (v/v) z 30% dla fazy ruchomej DCM: MeOH do 40 % wysokości adsorbentu, spowodowało wyraźną poprawę rozdzielania grupowego FAME/TAG/DAG/FFA/MAG/GL (zwłaszcza chromatogram C2, rysunek 27). Wpłynęło też na zmianę kolejności pików FAME/TAG oraz DAG/FFA. Ostatnie jest najprawdopodobniej spowodowane innym charakterem oddziaływań adsorpcyjnych IPA, podobnych do DCM oraz zupełnie różnych w przypadku CHCl<sub>3</sub>.





Rysunek 27. Zestawienie chromatogramów TLC-FID otrzymanych dla metod **C1**, **D1**, **C2** oraz **D2** (tabela 7): **C1**- 1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +10min; 2 etap 60% wysokości adsorbentu toluen, 3 etap 40% wysokości adsorbentu DCM:MeOH 95:5 (v/v); **D1**- 1 etap 40% wysokości adsorbentu DCM:MeOH 95:5 (v/v), 2 etap 70% wysokości adsorbentu toluen, 3 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +10min; **C2**- 1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +10min; 2 etap 60% wysokości adsorbentu toluen, 3 etap 50% wysokości adsorbentu CHCl<sub>3</sub>:MeOH 97: 3 (v/v); **D2** – 1 etap 50% wysokości adsorbentu CHCl<sub>3</sub>:MeOH 97: 3 (v/v); 2 etap 60% wysokości adsorbentu toluen, 3 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +10min; Dla próbki (mieszanki): 1,42 µg GL, 1,42 µg TAG, 2 µg MAG, 1,42 µg DAG, 1,42 µg FFA, 1,42 µg FAME, 1,42 µg S30; Piki: GL- gliceryna, MAG- Monoacyloglicerole, DAG- Diacyloglicerole, FFA- Wolne Kwasy Tłuszczowe, FAME- FAME techniczne, A- Węglowodory aromatyczne, S- Węglowodory nasycone (parafiny i nafteny) (charakterystyka składników próbki w tabeli 4)

Na podstawie chromatogramów TLC-FID na rysunkach 24 oraz 25 wykonanych w różnych warunkach rozwijania podanych w tabeli 5 widać, że korzystne warunki rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów bazowych oraz smarowych o szerokim zakresie polarności składników to warunki rozwijania dwustopniowego zakodowane jako metoda A3 i B3. Konkretnie:

- **A3** – 1 etap n-C6 do 100% wysokości rozwijania +15min dla TLC-FID (+7,5 min dla TLC); 2 etap: n-C6: IPA: TFA 96,25: 3 : 0,75 (v/v/v) do 75% wysokości rozwijania;
- **B3** – 1 etap: n-C6: IPA: TFA 96,25: 3 : 0,75 (v/v/v) do 60% wysokości rozwijania; 2 etap: n-C6 do 100% wysokości rozwijania +5min dla TLC-FID (+2,5 min dla TLC) [50].

Warunki A3 wydają się nieco bardziej korzystne od B3 (tabela 11, rysunki 27 i 28), ponieważ umożliwiają bardzo efektywne wykorzystanie całej strefy rozwijania, ze względu na rozwijanie silniejszą fazą ruchomą do 75% wysokości strefy rozwijania. W praktyce mogą być stosowane alternatywnie zwłaszcza, gdy dla niskich stężeń próbek podczas 1 etapu rozdzielania z zastosowaniem alkanu jako fazy ruchomej nie obserwuje się niekorzystnych efektów spowodowanych brakiem rozpuszczalności określonych polarnych składników oleju w nisko polarnej fazie ruchomej.

Na podstawie przedstawionych rezultatów badań (tabela 11, rysunki 24 i 25) można stwierdzić, że problem niskiej rozpuszczalności określonych składników oleju w nisko polarnej fazie ruchomej podczas 1 etapu rozdzielania wydaje się mieć drugorzędne znaczenie dla olejów będących cieczami w temperaturze pokojowej oraz niewielkich mas próbek nakładanych na pręciki TLC-FID (płytki TLC). W przypadku dozowania większych mas próbek niż stosowano w niniejszych badaniach (większego stopnia przeładowania adsorbentu) metodyka B3 będzie prawdopodobnie bardziej korzystna, niż A3.

Warto dodać, że porównując chromatogramy TLC oraz TLC-FID zamieszczone w niniejszej pracy z chromatogramami HPLC w tej pracy, a także, ogromną liczbę innych tu nie zamieszczonych, można sformułować generalny wniosek, że rozdzielczość grupowa S/A jest wyraźnie lepsza dla TLC i TLC-FID, niż dla HPLC, z zastosowaniem tej samej fazy stacjonarnej i tego samej niepolarniej fazy ruchomej. Wynika to najprawdopodobniej stąd, że w warunkach HPLC faza stacjonarna znajduje się w stanie równowagi termodynamicznej z niepolarną fazą ruchomą i jest jakby w niewielkim stopniu zdezaktywowana. W konsekwencji energia oddziaływań adsorpcyjnych między alifatycznie / alicyklicznie podstawionych pierścieni aromatycznych jest nieco mniejsza, niż w przypadku fazy stacjonarnej TLC i TLC-FID, która jeszcze „nie zdążyła” uzyskać stanu równowagi termodynamicznej z fazą ruchomą.

#### Rezultaty powyższych badań uzasadniają poniższe wnioski:

1. Wywoływanie barwy plamek TLC w oparach jodu jest nieskuteczne dla węglowodorów nasyconych, nasyconych kwasów tłuszczowych, ich gliceroli, czy estrów metylowych, etylowych, jak również dla nisko lotnych alkoholi, lub poli-oli, w tym, dla glikoli etylenowych i propylenowych, a także, glicerolu. W rezultacie w badaniach pełnego składu grupowego olejów z wykorzystaniem TLC konieczne jest zastosowanie impregnacji płytek TLC siarczanem berberyny, co umożliwia wizualizację wszystkich grup znajdujących się w składzie olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników i zróżnicowanym składzie.
2. Bazując na opisach w literaturze udoskonalono metodę impregnacji płytki TLC roztworem siarczanu berberyny. Procedura polega na spryskiwaniu płytki TLC o wymiarach 100mmx100mm 50ml metanolowego roztworu siarczanu berberyny o stężeniu 60mg/ml metanolu z zastosowaniem standardowego nebulizera do TLC i całkowitym wysuszeniu impregnowanej płytki.
3. Parametry retencji selektywności są jednakowe na standardowych płytkach żelu krzemionkowego oraz na tego samego rodzaju płytkach impregnowanych solą berberyny z zastosowanymi w niniejszych badaniach niepolarnymi i średnio polarnymi fazami ruchomymi.
4. Badania wykazały, że technika NP-TLC może z powodzeniem zostać wykorzystana w badaniach pilotowych nad doбором korzystnych warunków rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów techniką TLC-FID. Nie można bezpośrednio przenosić parametrów retencji z TLC do TLC-FID, jednak kolejność grupowa plamek w TLC/pików w TLC-FID jest taka sama z wykorzystaniem takiego samego programu rozwijania chromatogramu. To zapewnia zasadnicze skrócenie czasu oraz zmniejszenie kosztów badań związanych z doбором korzystnych warunków badania składu grupowego olejów techniką TLC-FID.
5. Badania pilotowe wykazały, że niekorzystne jest stosowanie elucji 3-stopniowej w sposób podobny jaki powszechnie jest wykorzystywany do rozdzielania grupowego nisko lotnych materiałów węglowodorowych zawierających asfalteny. Wykazano, że zdecydowanie bardziej korzystna, jest elucja 2-stopniowa. Rozwijanie 2-etapowe zmniejsza czas wykonania badania przy zachowaniu wyższej selektywności rozdzielania, niż rozwijanie 3-stopniowe.
6. W jednym z etapów elucji 2-stopniowej powinno zostać zapewnione rozdzielanie grupowe S/A z niepolarną fazą ruchomą (n-heksan, albo inny alkan, lub ich mieszanina). Jednocześnie celowe jest zapewnienie możliwie długiego dystansu migracji fazy ruchomej w tym z zapewnieniem możliwie długiej drogi migracji poza zakres warstwy porowatej adsorbentu na płytce TLC/pręciku TLC-FID - (z odparowaniem fazy ruchomej z poziomu górnej krawędzi adsorbentu), w ten sposób, by górna granica plamki frakcji S nie osiągnęła jeszcze górnej granicy adsorbentu. To zapewnia poprawę rozdzielania S/A (nisko lotnych głównie rozgałęzionych węglowodorów alifatycznych oraz alifatycznie podstawionych węglowodorów alicyklicznych oleju, migrujących równocześnie (S=P+N), od alifatycznie/alicyklicznie podstawionych węglowodorów aromatycznych z odparowaniem fazy ruchomej z poziomu górnej krawędzi adsorbentu). Wartość wydłużenia czasu rozwijania należy zróżnicować dla TLC i TLC-FID, jak również w przypadku zwiększania, lub zmniejszania siły elucyjnej faz ruchomych stosowanych w kolejnych etapach rozwijania chromatogramu TLC.

7. Odpowiednie wartości przedłużenia czasu rozwijania niepolarnym eluentem należy dobrać eksperymentalnie, zapewniając by górna część plamki grupy S nie osiągnęła górnej granicy strefy rozwijania na płytce TLC / pręciku TLC-FID;
8. Do rozdzielania naturalnych składników olejów, zawierających acyloglicerole i ich pochodne, konieczna jest faza ruchoma o wyższej sile elucyjnej od węglowodorów alifatycznych. Badania wykazały, że powinna to być wieloskładnikowa faza ruchoma, zawierająca jako jeden ze składników lotny alkan, lub cykloalkan (niekoniecznie ten sam alkan, który zastosowano/zamierza się zastosować do rozdzielania w sekwencji S/A). Jednocześnie droga rozwijania fazą ruchomą o wyższej sile elucyjnej od alkanu powinna być jak najdłuższa. Powinna zostać w ten sposób ustalona, by grupa węglowodorów aromatycznych utworzyła jedną plamkę bez pogarszania rozdzielczości S/A. W ramach tego etapu powinno mieć miejsce rozdzielanie w sekwencji S/A/TAG/FAME/FFA/DAG/MAG/GL (plamka GL pozostająca w punkcie startu).
9. Kolejność zmiany siły elucyjnej fazy ruchomej w kolejnych etapach rozwijania stopniowego w warunkach TLC a także, w TLC-FID ma istotny wpływ na wartości parametrów retencji i na selektywność rozdzielania grupowego. Jest to związane ze zróżnicowaniem aktywności powierzchni adsorbentu podczas etapu rozwijania alkanem, jako fazą ruchomą, lub fazą ruchomą o wyższej sile elucyjnej zastosowaną w pierwszym etapie rozwijania. Wówczas, gdy płytka TLC (lub ramka z pręcikami TLC-FID) jest eksponowana w komorze TLC w atmosferze niepolarnych par alkanu i pierwszy etap rozwijania jest wykonywany tą fazą ruchomą, obserwuje się większą retencję i wyższą selektywność rozdzielania S/A. W drugim przypadku, gdy przed pierwszym etapem rozwijania, ekspozycja płytki TLC odbywa się w oparach składników bardziej polarnej fazy ruchomej, ma miejsce pewien stopień dezaktywacji powierzchni adsorpcyjnej żelu krzemionkowego i jednocześnie niższe wartości współczynników retencji (k) oraz nieco niższe wartości współczynnika selektywności ( $\alpha$ ) i rozdzielczości (R) nisko polarnych składników grup A/S. Nieoczekiwanie stwierdzono też wyraźnie bardziej korzystną selektywność rozdzielania gdy w faza ruchoma o wyższej sile elucyjnej przeznaczona do rozdzielania acylogliceroli i pochodnych zostaje zastosowana w drugim etapie stopniowego rozdzielania.

### 6.2.5. Wyniki oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności z zastosowaniem TLC-FID oraz podstawowe parametry walidacyjne metodyki

W tabeli 12 zamieszczono podstawowe parametry statystyczne dotyczące oznaczania masy składników lub grup składników naftowych lub roślinnych olejów bazowych, lub smarowych otrzymanych techniką TLC-FID z wykorzystaniem metodyki A3, wyznaczone zgodnie z opisem zamieszczonym w metodyce pkt. 5.4.3.2. (tabela 5).

Tabela 12. Zestawienie parametrów statystycznych dla oznaczania masy składnika / grupy składników w rozdzielaniu grupowym techniką TLC-FID metodą A3 (warunki chromatograficzne opisane w tabeli 5)

Grupa	GL	MAG	DAG	FFA	FAME	TAG	Sq	A	S	
<b>Funkcja regresji</b>	y=1,61x	y=1,74x	y=1,13x	y=1,33x	y=1,09x	y=1,38x	y=1,94x	y=0,52x	y=2,72x	
<b>R<sup>2</sup></b>	0,97	0,99	0,98	0,99	0,98	0,99	0,98	0,99	0,99	
<b>LOD</b>	<b>[µg]</b>	0,09	0,09	0,13	0,11	0,14	0,11	0,08	0,29	0,06
<b>LOQ</b>	<b>[µg]</b>	0,28	0,26	0,40	0,34	0,41	0,33	0,23	0,87	0,18

y - powierzchnia piku określonego składnika / grupy składników próbki na chromatogramie TLC-FID [µV sek]  
 x-masa określonego składnika / grupy składników w próbce dozowanej na pręcik TLC-FID [µg]

Metodykę A3 (Tabela 5) zastosowano do rozdzielania oraz zależności kalibracyjne w tabeli 12 do obliczenia masy składnika /grupy składników badaniach składu grupowego wybranych, dostępnych komercyjnie olejów bazowych oraz smarowych roślinnych, syntetycznych i pochodzenia naftowego. Rezultaty tych badań zamieszczono w formie chromatogramów na rysunkach 28- 30 oraz w formie

wartości składu grupowego w tabeli 13. Nazwy określonym pikom przypisano na podstawie kolejności migracji odpowiednich składników lub grup składników oraz wartości odpowiednich parametrów retencji otrzymanych w TLC dla warunków odpowiadających metodyce A3 (rysunek 30). Udział masowy poszczególnych składników / grup składników w oleju obliczono metodą tzw. normalizacji prostej (o wartości 1.0 współczynników kalibracyjnych dla wszystkich pików). Jak zwrócono uwagę we wprowadzeniu, w ten sposób określony skład grupowy ma istotne znaczenie porównawcze dla różnych olejów, jednak nie odzwierciedla ściśle rzeczywistego masowego udziału poszczególnych składników / grup składników w oleju. obecność w oleju tylko grupy S, przy nieobecności grupy A świadczy o tym, że olej bazowy jest olejem syntetycznym typu PAO.

Tabela 13. Rezultaty oznaczania składu grupowego w komercyjnie dostępnych produktach – olejach bazowych oraz smarowych z zastosowaniem techniki TLC-FID i metodą A3 (1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +15 min, 2 etap 75% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v))

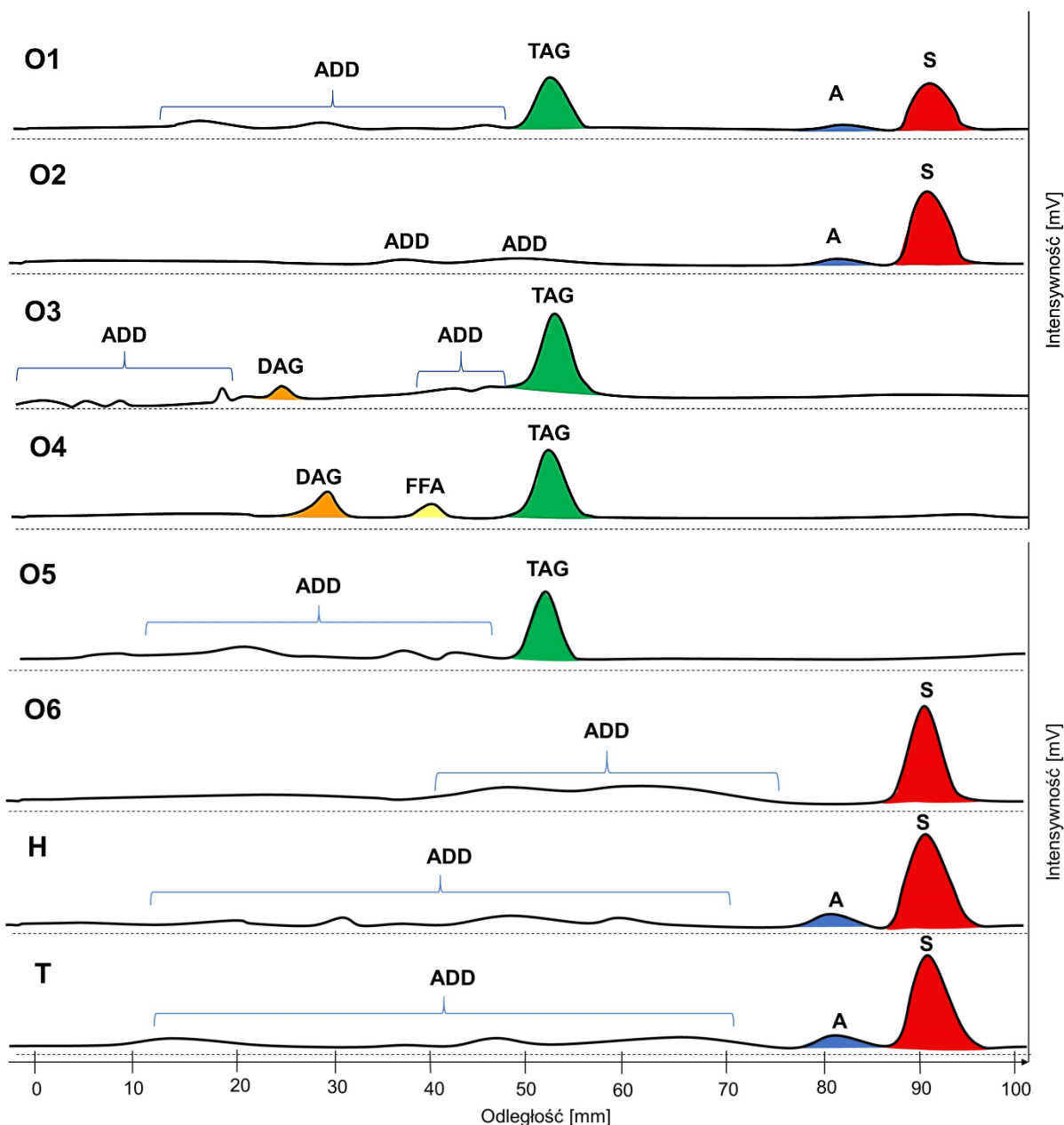
Grupa/ Badana próbka (charakterystyka szczegółowe w tabeli 4)		DAG	FFA	FAME	TAG	A	S	Inne składniki	
O1	Olej smarowy produkowany na bazie mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego (produkowany w procesie rafinacji ropy naftowej)	[%]	-	-	-	38,9	8,2	44,2	8,7
O2	Olej maszynowy wyprodukowany na bazie naftowej	[%]	-	-	-	-	10,0	74,2	15,8
O3	Olej smarowy produkowany na bazie roślinnej z pakietem dodatków uszlachetniających, komercyjnie dostępny	[%]	4,24	-	-	84,8	-	-	10,9
O4	Frytura - Olej roślinny jadalny - przepracowany	[%]	7,5	5,3	-	85,1	-	-	2,1
O5	Wysokiej jakości olej do pił łańcuchowych, komercyjnie dostępny	[%]	-	-	-	91,2	-	-	8,9
O6	Olej silnikowy, syntetyczny typu polialfaolefinowego, komercyjnie dostępny	[%]	-	-	-	-	-	92,1	7,9
H	Olej Hydrauliczny	[%]	-	-	-	-	22,5	76,2	1,3
T	Olej Turbinowy	[%]	-	-	-	-	21,2	73,59	5,2

Odchylenie standardowe (SD) dla przedstawionych w tabeli zawartości grup związków chemicznych mieści się w zakresie od  $\pm 0,0$  do  $\pm 0,4$  [ $\mu\text{g}$ ] /  $\pm 0,20$  do  $\pm 0,40$  [m/m]

Warto dodać, że brak grup S oraz A i jednocześnie wysoka zawartość grupy TAG świadczy o obecności głównie bazowego oleju roślinnego. Wówczas, w zależności od zawartości FFA, otrzymujemy informację o stopniu zaawansowania hydrolizy oleju roślinnego.

Wyniki zamieszczone w tabeli 13 oraz zilustrowane na rysunku 28, można uznać za adekwatne dla wszystkich rodzajów olejów bazowych, tzn., naftowych, syntetycznych półsyntetycznych (mieszanin bazowego oleju naftowego i syntetycznego), a także dla olejów roślinnych i produktów ich konwersji. W tym, mieszanin w/w olejów bazowych. Dla olejów smarowych zawierających dodatki uszlachetniające, mają miejsce dodatkowe piki od tychże „dodatków” (np. chromatogram O3, rysunek 28), jak również, może mieć miejsce nałożenie pików od dodatków uszlachetniających na piki od składników olejów bazowych (np. chromatogram O5, rysunek 28). Wówczas wyniki zamieszczone w tabeli 13 mają tylko orientacyjny charakter dla opisu składu grupowego oleju [50].

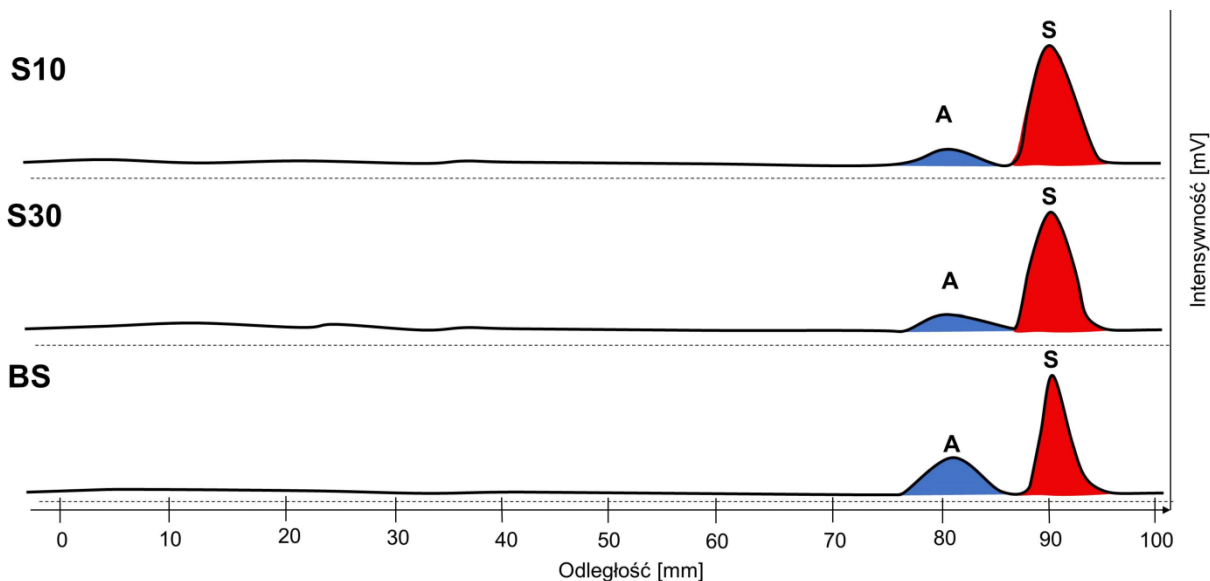
Pomimo powyższych zastrzeżeń, należy stwierdzić, że badania niniejszej pracy doprowadziły do znacznego postępu w zakresie opracowania korzystnych warunków grupowego rozdzielania olejów o szerokim spektrum polarnośći składników, zawierających wyłącznie acyloglicerole i ich pochodne, albo ich mieszaniny z olejem pochodzenia naftowego, lub syntetycznego. Zapewniają możliwość nie tylko „oceny”, ale też „oznaczenia” orientacyjnej zawartości naftowej i roślinnej frakcji w oleju smarowym emitowanym do otoczenia z maszyn tnących, lub oleju hydraulicznego, który może potencjalnie stanowić istotne zanieczyszczenie środowiska w rezultacie awarii maszyny.



Rysunek 28. Zestawienie chromatogramów TLC-FID otrzymanych dla metodyki **A3** (tabela 6):

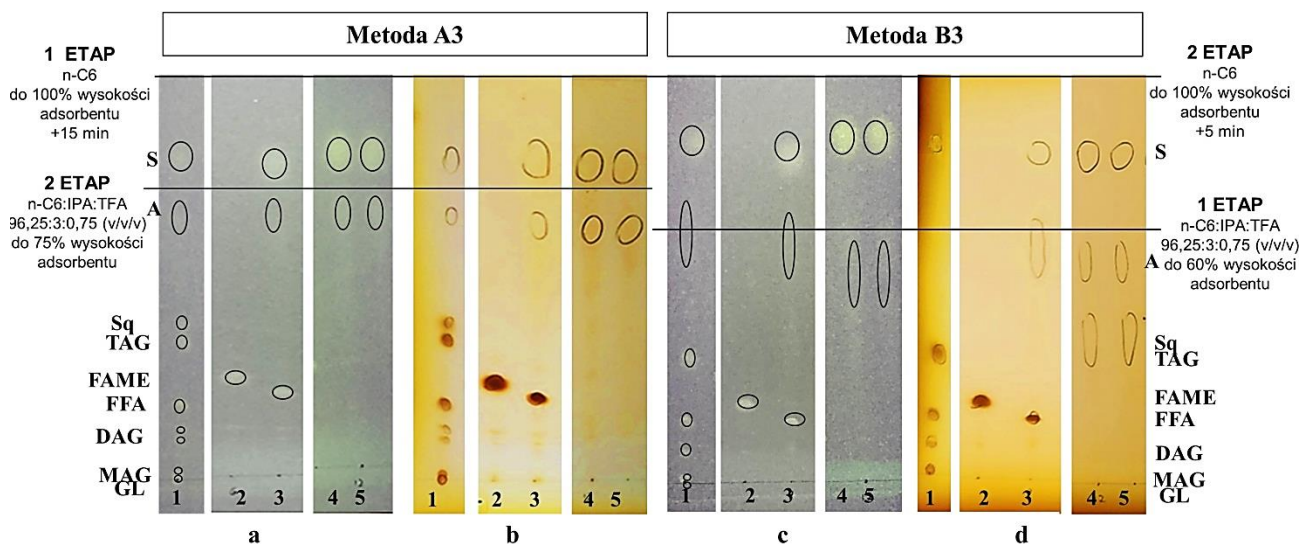
**A3**-1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +15 min, 2 etap 75% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v); Dla próbek: **O1** - Olej smarowy produkowany na bazie mieszanki oleju roślinnego i mineralnego (produkowany w procesie rafinacji ropy naftowej); **O2**- Olej maszynowy wyprodukowany na bazie z przerobu ropy naftowej; **O3** - Olej smarowy produkowany na bazie roślinnej z pakietem dodatków uszlachetniających, komercyjnie dostępny; **O4** - Frytura - Olej roślinny jadalny – przepracowany; **O5** - Wysokiej jakości olej do pól łańcuchowych, komercyjnie dostępny; **O6** - Olej silnikowy, syntetyczny typu polialfaolefinowego, komercyjnie dostępny; **H** – olej hydrauliczny, **T** – Olej turbinowy; Piki: DAG-Diacyloglicerole, FFA- Wolne Kwasy Tłuszczowe, FAME-FAME techniczne, A-Węglowodory aromatyczne, S-Węglowodory nasycone (parafiny i nafteny), ADD – dodatki uszlachetniające





Rysunek 29. Zestawienie chromatogramów TLC-FID otrzymanych dla metodyki **A3** (tabela 6):

**A3**-1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +15 min, 2 etap 75% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v); Dla próbek **S10** – Olej bazowy, naftowy SAE10/90, **S30** – Olej bazowy, naftowy SAE30/90; **BS** – Olej bazowy, naftowy, Brightstock; Piki: A-Węglowodory aromatyczne, S-Węglowodory nasycone (parafiny i nafteny)



Rysunek 30. Przykład fotografii chromatogramów TLC otrzymanych dla dwustopniowej elucji w warunkach A3 (1 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +15 min, 2 etap 75% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v)) oraz B3 (1 etap 60% wysokości adsorbentu n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v); 2 etap 100% wysokości adsorbentu n-C6 +5 min); a,b: wzrost polarności i siły elucyjnej eluentu w kolejnych stopniach elucji; c,d – spadek polarności i siły elucyjnej eluentu w kolejnych stopniach elucji; Wizualizacja: a,c: w świetle UV  $\lambda = 365\text{nm}$ , b,d: w świetle widzialnym po ekspozycji chromatogramu TLC w oparach jodu; Próbki: 1- mieszanina – naftowy olej bazowy SAE 30/90, Skwalen, TAG, DAG, FFA, MAG, glicerol; 2-FAME, 3- olej smarowy do maszyn tnących produkowany na bazie mieszaniny oleju roślinnego i mineralnego (naftowego), 4-SAE10/90, 5-SAE 30/90

Rezultaty badań niniejszej pracy mają też bardziej ogólne znaczenie. Zapewniają możliwość orientacyjnego oznaczenia składu grupowego dowolnego oleju bazowego: pochodzenia naftowego, roślinnego, syntetycznego, a także mieszanin tychże. Umożliwiają również bliższą charakterystykę olejów smarowych dowolnego rodzaju pod względem oleju bazowego, a także, dokonanie orientacyjnej charakterystyki dodatków uszlachetniających w oleju smarowym o charakterze organicznych związków chemicznych. Dotychczas, jak pokazuje przegląd literatury, możliwe było rozdzielanie i oznaczanie składu grupowego olejów bazowych i smarowych jedynie otrzymanych na

bazie naftowej, syntetycznej, bądź tzw. semi-syntetycznej (mieszanki bazowego oleju naftowego i syntetycznego), z wykorzystaniem trójstopniowej metody rozwijania chromatogramu TLC-FID [52,120,129].

Zaletą opracowanej metodyki rozdzielania jest dwustopniowe rozwijanie chromatogramu TLC-FID. W ten sposób procedura separacyjna jest łatwiejsza i może być szybciej wykonana, niż procedura 3-etapowa.

Badania tej pracy mają znaczenie w szeroko rozumianej ochronie środowiska i zdrowia. W ramach badań 1 części pracy zapewniono możliwość identyfikacji obecności w oleju frakcji pochodzenia naftowego zawierającej bardzo trudno biodegradowalną grupę węglowodorów nasyconych oraz wyjątkowo szkodliwą dla środowiska i zdrowia - grupę węglowodorów aromatycznych [189,223–225], a także obecności oraz ocenę łącznej zawartości składników i grup składników pochodzenia roślinnego. Badania 2 części zapewniają możliwość oznaczenia orientacyjnej zawartości frakcji pochodzenia naftowego oraz roślinnego w oleju. Dzięki wykorzystaniu płytek TLC impregnowanych solą berberyny zapewniono wizualizację w świetle UV  $\lambda = 365\text{nm}$  wszystkich składników i grup składników zawierających alifatyczne łańcuchowe struktury molekularne, tym przede wszystkim grupy S, a także - w sposób proporcjonalny do ich masy w zakresie plamek chromatograficznych - składników / grup składników: A/FAME/TAG/DAG/FFA/MAG/GL/ADD.

#### Rezultaty powyższych badań uzasadniają poniższe wnioski:

1. Badania wykazały, że korzystne warunki dwustopniowego rozwijania rozdzielania oraz oceny składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności opracowane z wykorzystaniem NP-TLC oraz płytek z żelom krzemionkowym, impregnowanym solą berberyny są także odpowiednie w warunkach TLC-FID i wykorzystania pręcików Chromarode SIII oraz dwuetapowej aktywacji pręcików w płomieniu powietrzno-wodorowym w czasie 35 i 50 sekund. Pierwszy etap rozwijania w celu rozdzielania grupowego w sekwencji S/A powinien być realizowany z zastosowaniem n-heksanu lub innego podobnego alkanu z rozwijaniem do 100% wysokości rozwijania +15 min dla TLC-FID oraz +7,5 min dla TLC, wówczas, gdy jest to pierwszy etap rozwijania, albo: do 100% wysokości rozwijania +5 min dla TLC-FID oraz + 2,5 min dla TLC, wówczas, gdy jest to drugi etap rozwijania fazą ruchomą o bardzo niskiej sile elucyjnej. Etap rozwijania przeznaczony do rozdzielania grupowego w sekwencji: FAE/TAG/FFA/DAG/MAG/GL (plamka GL w punkcie startu) powinien mieć miejsce z wieloskładnikową fazą ruchomą o wyższej sile elucji od węglowodorów alifatycznych, czy alicyklicznych, z wykorzystaniem w formie fazy ruchomej - mieszanki n-C6: IPA: TFA w proporcji objętościowej 96,25: 3,0: 0,75 (v/v/v) - do 60% wysokości rozwijania, jeśli jest to pierwszy etap rozwijania dwustopniowej, lub do 75% wysokości rozwijania na pręcikach Chromarode SIII, gdy jest to 2 etap rozwijania.
2. Opracowane metodyki są odpowiednie dla rozdzielania grupowego olejów bazowych i smarowych pochodzenia naftowego, roślinnego oraz mieszanin tychże. Mają potencjalnie szersze znaczenie w kontroli technicznej oraz kontroli jakości procesów rafinacji, przetwarzania, użytkowania, czy utylizacji olejów bazowych i smarowych dowolnego typu, tzw. mineralnych pochodzenia naftowego, naturalnych rafinowanych nisko lotnych olejów roślinnych wraz z pochodnymi, mieszanin w/w. Także w analizie technicznej składu grupowego wszelkiego rodzaju olejów bazowych i smarowych otrzymanych na drodze rafinacji ropy naftowej, olejów syntetycznych z grupy polialfaolefin (PAO) i tzw. semi-syntetycznych olejów smarowych stanowiących mieszanki i naftowych olejów bazowych. Powinny też umożliwiać badanie składu grupowego produktów lub strumieni procesowych, w celu oceny stopnia hydrolitycznego rozkładu triacylogliceroli, jako głównych składników olejów roślinnych / tłuszczów zwierzęcych.
3. Opracowane procedury mogą też znaleźć ważne zastosowanie w monitoringu zanieczyszczeń środowiska naturalnego nisko lotnymi i nielotnymi bez-asfaltenowymi frakcjami i produktami naftowymi, w tym olejami bazowymi i smarowymi różnego rodzaju.

## 7. Streszczenie I wnioski końcowe

Niniejsza rozprawa doktorska to dwuczęściowa w zakresie części badania i dyskusji praca badawcza dotycząca ogólnej problematyki grupowego rozdzielania oraz analityki składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników, złożonych z wysoko rafinowanych frakcji z destylacji próżniowej ropy naftowej, z olejów roślinnych i ich pochodnych, lub mieszanin tych komponentów. W tym również identyfikacji oraz oceny zawartości określonych rodzajów olejów bazowych w olejach smarowych na drodze identyfikacji grup składników oraz oceny ich zawartości. Praca dotyczy szczególnie olejów smarowych urządzeń tnących emitowanych do otoczenia podczas użytkowania. Ma m.in. znaczenie w ochronie środowiska nie tylko w związku z emisją do otoczenia mgły i mikro-kropeł olejów smarowych z urządzeń tnących, ale również w przypadkach awaryjnych rozlewów oleju, np. hydraulicznego w rezultacie awaryjnego rozszczelnienia systemów transportowych lub siłowych. Studium literatury oraz część metodyczna pracy dotyczą obu jej części wyróżnionych jako integralne rozdziały w zakresie części „wyniki i dyskusja”.

W ramach niniejszej rozprawy doktorskiej wykonano studium literatury normalizacyjnej oraz naukowej w zakresie technik i metodyk rozdzielania, identyfikacji oraz oznaczania składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim spektrum polarności składników z wykorzystaniem adsorpcji – desorpcji chromatografii. W przeglądzie literatury uwzględniono metodyki badania składu grupowego bez-asfaltenowych bardzo nisko lotnych frakcji próżniowej destylacji ropy naftowej i produktów ich rafinacji, szczególnie, naftowych olejów bazowych, olejów roślinnych i produktów ich hydrolizy, jak również, mieszanin w/w olejów, ale również wyniki i wnioski z pracy doktorskiej Kartanowicza, Gudebskiej oraz z publikacji powstałych w rezultacie tych badań. Jak pokazuje przegląd literatury, możliwe było rozdzielanie i oznaczanie składu grupowego olejów bazowych i smarowych jedynie otrzymanych na bazie naftowej, syntetycznej, bądź tzw. semi-syntetycznej (mieszaniny bazowego oleju naftowego i syntetycznego), z wykorzystaniem trójstopniowej metody rozwijania chromatogramu TLC-FID. Ponad to pierwsza część pracy oraz zawarte w niej badania wstępne wykazała nieadekwatność zastosowanie techniki HPLC w tym celu. Studium literatury niniejszej rozprawy doktorskiej uwzględnia także aktualne regulacje w zakresie biodegradowalności materiałów emitowanych do środowiska, szczególnie dotyczące badania olejów mineralnych emitowanych do środowiska oraz znaczenie dysponowania prostymi metodykami kontroli technicznej olejów bazowych i smarowych emitowanych do środowiska z urządzeń tnących oraz innych olejów, które mogą stać się poważnym zanieczyszczeniem środowiska w rezultacie awarii, szczególnie olejów hydraulicznych.

Pierwsza część badawcza pracy dotyczy badań i prac o charakterze badawczo – rozwojowym nad opracowaniem nowych, terenowych oraz laboratoryjnych procedur technicznej kontroli składu grupowego olejów bazowych i smarnych, aby na tej podstawie w sposób bezsporny określić obecności oraz ocenić zawartość bazowego oleju pochodzenia naftowego, lub roślinnego, albo, mieszaniny obu rodzajów olejów bazowych w oleju smarowym - na podstawie zbadania obecności oraz oceny zawartości określonych grup składników.

W ramach badań pierwszej części pracy opracowano kilku etapową procedurę (metodyki, wyposażenie) kontroli technicznej obecności i zawartości oleju pochodzenia naftowego oraz roślinnego w oleju smarowym, zwłaszcza wykorzystywanym do urządzeń tnących (taki jak pilarka czy harwester) oraz wykonano uproszczoną walidację. wykorzystuje spektrofotometrię fluorescencyjną i absorpcyjną, chromatografię cienkowarstwową (TLC) i wysokosprawną kolumnową (HPLC) w normalnych układach faz (NP). Procedura składa się z etapu terenowego (in situ) oraz kilku etapów - metodyk jednoznacznej laboratoryjnej weryfikacji niejednoznacznych ustaleń z etapu terenowego. Składa się z następujących metodyk, które umożliwiają sformułowanie następujących wniosków:

- Terenowej, a także, laboratoryjnej przesiewowej metodyki identyfikacji oraz oceny zawartości naftowej frakcji w oleju z wykorzystaniem fluorescencji węglowodorów aromatycznych oleju naftowego pod wpływem światła UV  $\lambda = 365$  nm realizowanej w ramach badań laboratoryjnej części niniejszej pracy z wykorzystaniem wyposażenia opracowanego i opisanego w pracy.

- Laboratoryjnej metodyki badania olejów smarowych z uwzględnieniem identyfikacji i oceny zawartości węglowodorów aromatycznych z wykorzystaniem widm absorpcyjnych rozcieńczonego roztworu oleju w n-heksanie (n-C6) w zakresie ultrafioletu (UV  $\lambda = 200 - 400$  nm). Badanie widm UV umożliwiło potwierdzenie obecności oraz ocenę zawartości węglowodorów aromatycznych poprzez zbadanie widma rozcieńczonego roztworu oleju w zakresie UV w paśmie absorpcji pierścieni aromatycznych.
- Laboratoryjnej metodyki wykorzystania spektrofotometrii w zakresie tzw. średniej podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-MIR) na drodze badania przebiegu widma refleksyjnego próbki oleju, w zakresie średniej podczerwieni (MIR) oraz pasm absorpcji struktur karbonylowych, estrowych i karboksylowych dla identyfikacji obecności w oleju i oceny zawartości frakcji roślinnej w oleju smarowym (acylogliceroli i pochodnych).
- Laboratoryjnej metodyki zastosowania cienkowarstwowej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-TLC) na płytkach z żelom krzemionkowym, z trój-stopniowym rozwijaniem chromatogramu, z niekonwencjonalną metodyką stopniowego rozwijania chromatogramu - ze zmniejszaniem siły elucyjnej fazy ruchomej w kolejnych etapach rozwijania chromatogramu i jednocześnie zwiększaniem dystansu migracji - z wizualizacją plamek: w świetle UV  $\lambda = 365$  nm i  $\lambda = 254$  nm oraz w świetle widzialnym po wywołaniu barwy plamek w oparach jodu dla oceny składu grupowego badanego oleju w sekwencji A/FAE/TAG/DAG/FFA/MAG, stąd, oceny obecności i zawartości frakcji naftowej w oleju w rezultacie oceny obecności i zawartości grupy węglowodorów aromatycznych (A) na podstawie intensywności fluorescencji w świetle UV  $\lambda = 365$  nm, a także – dodatkowo - absorpcji światła  $\lambda = 254$  nm, jak również oceny obecności i zawartości frakcji natywnego oleju roślinnego (obecność oraz intensywność brunatnej barwy plamki chromatograficznej TAG), lub/i składników pochodnych oleju roślinnego (identyfikacja obecności i ocena intensywności brunatnej barwy grup składników: DAG/FFA/MAG, jak również, identyfikacja ewentualnej obecności i ocena intensywności plamki FAE).
- Laboratoryjnego zastosowania wysokosprawnej elucyjnej kolumnowej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-HPLC) z polarną fazą stacjonarną kolumny, niepolarną fazą ruchomą (n-C6), z różnicowym detektorem refraktometrycznym (RID) i detektorem UV-Vis/DAD, z wykorzystaniem zwrotnego przepływu eluentu (BF) po elucji z kolumny węglowodorów aromatycznych punkcie określonym na podstawie czasu retencji pirenu. To zapewnia opis składu grupowego oleju w sekwencji S/A/(R+FAE+TAG+DAG+FFA+MAG+GL+(ADD)), tzn., określenia obecności i zbadania składu grupowego oleju w zakresie grup S oraz A, z uwzględnieniem pozostałych bardziej polarnych składników oleju jako grupy eluowanej z kolumny w formie jednego pików w warunkach zwrotnego przepływu fazy ruchomej. Jest jedyną metodyką badaną w przedmiotowym zastosowaniu, która umożliwi nie tylko „ocenę”, ale także oznaczenie składu grupowego oleju w zakresie grup S/A. Tzn., zastosowanie również HPLC, pozwala też na określenie zawartości w oleju grupy S, czego nie zapewniają inne w/w metodyki uwzględnione w badaniach 1-szej części niniejszej pracy.

W wersji bez uwzględniania metodyki HPLC, opisana innowacyjna procedura analityki technicznej została wielokrotnie z powodzeniem zastosowana w kontroli szkodliwości olejów smarowych do prac leśnych dla naturalnego środowiska na obszarze Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych w Gdańsku (RDLP - teren województwa Pomorskiego), jako jeden z etapów projektu pt. „Rzetelne Przedsiębiorstwo Leśne”. Procedura zapewnia stosunkowo łatwe i szybkie (zdecydowanie łatwiejsze i szybsze od oficjalnych metodyk OECD) określenie obecności (lub jej braku) i ocenę zawartości składników pochodzących z ropy naftowej, a także składników pochodzących z olejów roślinnych w olejach smarowych stosowanych w mechanicznych urządzeniach tnących (takich jak pilarki czy harwestery). Nie opisuje biodegradowalności oleju, tak, jak oficjalne metodyki OECD. Ma to miejsce w sposób pośredni, poprzez identyfikację i ocenę zawartości w oleju frakcji węglowodorów aromatycznych i wnioskowania w ten sposób o stopniu szkodliwości oleju dla środowiska i zdrowia. Byłoby celowe gdyby projekt RDLP „Rzetelne przedsiębiorstwo leśne” został reaktywowany i wdrożony na terenie całego kraju, korzystnie, z uwzględnieniem, dodatkowo, niektórych z wniosków wynikających z drugiej części niniejszej pracy, opisanych poniżej.



Procedura opracowana w ramach pierwszej części pracy, zwłaszcza w wersji z uwzględnieniem HPLC, może znaleźć znacznie szersze zastosowań, zarówno w monitoringu zanieczyszczenia środowiska różnymi nielotnymi i bardzo nisko lotnymi organicznymi materiałami ropopochodnymi i innego rodzaju, jak, w technicznej analityce rafineryjno-petrochemicznej, a także, w analityce technicznej w technologii żywności.

Druga część niniejszej rozprawy doktorskiej została zrealizowana z wykorzystaniem wniosków z badań części pierwszej oraz jako kontynuacja wcześniejszych niepublikowanych badań, dotyczy opracowania metodyki analityki składu grupowego olejów bazowych i smarowych o szerokim zakresie polarności składników - pochodzenia naftowego, z rafinowanych olejów roślinnych wraz z produktami hydrolizy albo ich mieszanin.

Przedmiotem drugiej części pracy w zakresie „badania i dyskusja” jest opracowanie korzystnych warunków rozdzielania grupowego oraz analityki składu grupowego olejów o szerokim zakresie polarności składników w sekwencji: S/A/R/FAE/TAG/FFA/DAG/MAG GL cienkowarstwową chromatografią w sprzężeniu z detekcją płomieniowo – jonizacyjną (TLC-FID), jako separacyjno-analityczną techniką rozdzielania i oznaczania składu grupowego olejów bazowych oraz smarowych. Uprzednio wykonano obszerne badania pilotowe z wykorzystaniem standardowej cienkowarstwowej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-TLC) na płytkach żelu krzemionkowego, impregnowanych solą berberyny w sposób zmodernizowany. Badania TLC w zasadniczym stopniu przyczyniły się do ograniczenia czasochłonności i kosztów badań techniką TLC-FID.

Pilotowe badania techniką NP-TLC wykonano z jedno- oraz kilku-stopniowym rozwijaniem chromatogramu TLC, stosując metody wizualizacji, jak w części pierwszej (w świetle UV  $\lambda = 365$  nm oraz w świetle widzialnym po ekspozycji chromatogramu TLC w oparach jodu. Impregnacja płytek TLC siarczanem berberyny zapewniła wizualizację plamek wszystkich grup i składników rozdzielanych mieszanin, w tym, grupy S - dzięki zmianie fluorescencji berberyny poprzez alifatyczne struktury molekularne. W badaniach pilotowych uwzględniono m.in., znaną z literatury metodykę grupowego rozdzielania w sekwencji SARA asfaltów i innych nielotnych produktów naftowych zawierających asfalteny, z trzystopniowym rozwijaniem chromatogramu TLC. Jednakże, to nie umożliwiło rozdzielania TAG od DAG. Badania pilotowe TLC wykazały, że najbardziej korzystne jest dwustopniowe rozwijanie chromatogramu. W 1 etapie rozwijanie n-C6 do 100% wysokości adsorbentu plus dodatkowy doświadczalnie określony czas rozwijania, co umożliwi efektywne rozdzielanie S/A. W 2 etapie rozwijanie chromatogramu mieszaniną n-C6: IPA: TFA 96,25: 3: 0,75 (v/v/v) do 75% wysokości adsorbentu, co zapewnia rozdzielanie w sekwencji: FAE/TAG/FFA/DAG/MAG/GL (plamka GL w punkcie startu). W warunkach TLC-FID potwierdzono efektywność wykorzystania TLC jako techniki pilotowej dla TLC-FID. Wartości parametrów retencji nie są identyczne w przypadku obu technik i takich samych warunków rozdzielania, jednak kolejność pików jest taka sama.

W ramach badań niniejszej drugiej części badań pracy opracowano procedurę grupowego rozdzielania i analityki składu grupowego olejów bazowych i smarowych wykorzystaniem techniki TLC-FID, adekwatnej dla olejów pochodzenia naftowego; roślinnych z uwzględnieniem pochodnych w rezultacie hydrolizy oraz ich mieszanin. Rezultaty badań niniejszej pracy zapewniają możliwość składu grupowego dowolnego oleju bazowego: pochodzenia naftowego, roślinnego, syntetycznego, a także mieszanin tychże. Umożliwiają również bliższą charakterystykę olejów smarowych dowolnego rodzaju pod względem oleju bazowego, a także, dokonanie orientacyjnej charakterystyki dodatków uszlachetniających w oleju smarowym o charakterze organicznych związków chemicznych, co ma znaczenie w analityce składu grupowego i kontroli technicznej wszystkich rodzajów olejów bazowych i smarowych, w tym, emitowanych do środowiska, lub mogących potencjalnie stanowić zanieczyszczenie środowiska w rezultacie awarii maszyny.

Korzystnym kierunkiem dalszych badań w związku z dobrze poznaną w literaturze możliwością przenoszenia warunków z TLC do tzw. *Flush Chromatography* (FI-Chr), jest wykorzystanie właśnie tej ostatniej techniki separacyjnej z laserowym detektorem rozproszenia światła (LLSD) umieszczonym na tzw. boczniku, w ten sposób, aby do detektora dopływała tylko niewielka część eluatu wypływającego z kolumny do *Flush Chromatography* w zastosowaniu do grupowego rozdzielania olejów w sekwencji S/A/FAE/TAG/FFA/DAG/MAG/GL. Zasadnicza część eluatu powinna być zbierana w postaci frakcji eluatu zawierających poszczególne grupy składników rozdzielanej



w sposób grupowy mieszaniny. Obiektywny skład grupowy zostać oznaczony grawimetrycznie po odparowaniu eluatu każdej z frakcji do tzw. stałej masy. W miejsce kolumny do Flush Chromatography mogłaby zostać zastosowana kolumna typu HPLC, użytkowana w sposób typowy dla Flush Chromatography, tzn., z wysuszeniem i aktywacją żelu krzemionkowego stanowiącego wypełnienie kolumny rozgrzanym azotem w okresach pomiędzy kolejnymi etapami elucji realizowanej wg opracowanej w tej pracy procedury elucyjnej z zastosowaniem zwiększania siły elucyjnej eluentu w kolejnych etapach rozdzielania stopniowego. Wyniki badań niniejszej pracy mogą stanowić podstawę do racjonalnego zaprojektowania efektywnej procedury opisanego rozdzielania i badania składu grupowego oleju. Realizacja praktyczna w zasadniczym stopniu przekracza zakres niniejszej pracy doktorskiej, może stać się obiektem prac realizowanych w przyszłości.

## BIBLIOGRAFIA

1. Zainal, N.A.; Zulkifli, N.W.M.; Gulzar, M.; Masjuki, H.H. A review on the chemistry, production, and technological potential of bio-based lubricants. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2018**, *82*, 80–102.
2. Syahir, A.Z.; Zulkifli, N.W.M.; Masjuki, H.H.; Kalam, M.A.; Alabdulkarem, A.; Gulzar, M.; Khuong, L.S.; Harith, M.H. A review on bio-based lubricants and their applications. *J. Clean. Prod.* **2017**, *168*, 997–1016.
3. Beran, E. *Wpływ budowy chemicznej bazowych olejów smarowych na ich biodegradowalność i wybrane właściwości eksploatacyjne*; Wydawnictwo Politechniki Wrocławskiej: Wrocław, 2008; ISBN 1896-4532.
4. Tang, Z.; Li, S. A review of recent developments of friction modifiers for liquid lubricants (2007–present). *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* **2014**, *18*, 119–139.
5. Podniało, A. *Paliwa, oleje i smary w ekologicznej eksploatacji*; Wydawnictwa Naukowo-Techniczne: Warszawa, 2009; ISBN 9788320426526.
6. *Rozporządzenie Komisji (WE) nr 440/2008 z dnia 30 maja 2008 r. ustalające metody badań zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń*; 2008;
7. *ISO 6743-99:2002, Lubricants, industrial oils and related products (class L) — Classification — Part 99: General*;
8. *PN-ISO 3448:2009 Przemysłowe ciekłe środki smarowe -- Klasyfikacja lepkościowa ISO*;
9. Kajdas, C. *Industrial lubricants, w: Chemistry and technology of lubricants.*; R.M. Mortier, Orszulik, S.T., Eds.; Blackie Academic and Professional, Chapman & Hall London, 1997;
10. Kijeńska, D. Oleje mineralne-metody oznaczania. *Bezpieczeństwo Pr. Nauk. i Prakt.* **2000**, *11*, 24–25.
11. Gudebska, J. *Rozprawa doktorska: Chromatografia cieczowa w oznaczaniu składu grupowego olejów bazowych i asfaltów drogowych*; Politechnika Gdańska: Gdańsk, 1999;
12. Leslie R. R. *Synthetics, Mineral Oils, and Bio-Based Lubricants: Chemistry and Technology*; Chemical Industries, Ed.; 2nd ed.; CRC Press, 2013; ISBN 9781439855379.
13. Speight, J.G. The chemical and physical structure of petroleum: effects on recovery operations. *J. Pet. Sci. Eng.* **1999**, *22*, 3–15.
14. Kartanowicz, R. *Rozprawa doktorska: Wysokosprawna chromatografia cieczowa w oznaczaniu składu grupowego oraz w analityce technicznej i procesowej produktów naftowych*; Politechnika Gdańska: Gdańsk, 2004;
15. Canter, N. Biodegradable lubricants: Working definitions, review of key applications and prospects for growth. *Soc. Tribol. Lubr. Eng.* **2020**.
16. Kim, E.; Cho, E.; Moon, S.; Park, J.-I.; Kim, S. Characterization of Petroleum Heavy Oil Fractions Prepared by Preparatory Liquid Chromatography with Thin-Layer Chromatography, High-Resolution Mass Spectrometry, and Gas Chromatography with an Atomic Emission Detector. *Energy & Fuels* **2016**, *30*, 2932–2940.
17. Pan, H.; Li, X.; Shen, Y.; Wu, X.; Ju, F.; Li, Y.; Wu, G.; Ai, B.; Xu, B.; Ling, H. Novel design of lubricant-type vacuum distillation process for lube base oils production from hydrocracking tail oil. *Chinese J. Chem. Eng.* **2022**, *45*, 121–132.
18. Haus, F.; Boissel, O.; Junter, G.A. Primary and ultimate biodegradabilities of mineral base oils and their relationships with oil viscosity. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2004**, *54*, 189–192.

19. Owuna, F.J.; Dabai, M.U.; Sokoto, M.A.; Dangoggo, S.M.; Bagudo, B.U.; Birnin-Yauri, U.A.; Hassan, L.G.; Sada, I.; Abubakar, A.L.; Jibrin, M.S. Chemical modification of vegetable oils for the production of biolubricants using trimethylolpropane: A review. *Egypt. J. Pet.* **2020**, *29*, 75–82.
20. Grzechowiak, J.R. *Chemia ropy naftowej*; Wyd. Pol. Wroc., 1987;
21. Bartels, T.; Bock, W.; Braun, J.; Busch, C.; Buss, W.; Dresel, W.; Freiler, C.; Harperscheid, M.; Heckler, R.-P.; Hörner, D.; et al. Lubricants and Lubrication. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2003.
22. Barman, B.N.; Cebolla, V.L.; Membrado, L. Chromatographic Techniques for Petroleum and Related Products. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2000**, *30*, 75–120.
23. Weber, S.; Schmidt, T.; Schumacher, P.; Kuballa, T.; Mildau, G.; Walch, S.G.; Hartwig, A.; Lachenmeier, D.W. Quantification of Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons (MOAH) in Anhydrous Cosmetics Using <sup>1</sup>H NMR. *J. Chem.* **2019**, *2019*, 1–10.
24. Ali, M.A.; Hassan, A. HYDROCARBON GROUP TYPES ANALYSIS OF PETROLEUM PRODUCTS: A COMPARATIVE EVALUATION OF HPLC AND TLC ANALYTICAL PERFORMANCE. *Pet. Sci. Technol.* **2002**, *20*, 751–762.
25. Zheng, G.; Ding, T.; Huang, Y.; Zheng, L.; Ren, T. Fatty acid based phosphite ionic liquids as multifunctional lubricant additives in mineral oil and refined vegetable oil. *Tribol. Int.* **2018**, *123*, 316–324.
26. Bartz, W.J. Lubricants and the environment. *Tribol. Int.* **1998**, *31*, 35–47.
27. Kamiński, M.; Kartanowicz, R. Studies on selectivity of hydrocarbon group-type separation of petroleum vacuum distillates and base oils by HPLC. *Chem. Analityczna* **2003**, *48*, 531–542.
28. Nowak, P.; Kucharska, K.; Kamiński, M. Ecological and Health Effects of Lubricant Oils Emitted into the Environment. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2019**, *16*, 3002.
29. Kamiński, M. *Unpublished data from research at LOTOS Lab, 1993-2005, LOTOS SA.*;
30. Kamiński, M. *Badania naukowe, materiały niepublikowane*;
31. Dowson, D. *History of tribology*; 2nd ed.; Longmans Green: New York, 1998; ISBN 978-1-860-58070-3.
32. Shashidhara, Y.M.; Jayaram, S.R. Vegetable oils as a potential cutting fluid—An evolution. *Tribol. Int.* **2010**, *43*, 1073–1081.
33. Aluyor, E.O.; Ibom, A. Chromatographic analysis of vegetable oils: A review. *Sci. Res. essays* **2009**, *4*, 191–197.
34. Buchgraber, M.; Ulberth, F.; Emons, H.; Anklam, E. Triacylglycerol profiling by using chromatographic techniques. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2004**, *106*, 621–648.
35. Stołyhwo, A. Analityczne kryteria jakości zdrowotnej oleju z wiesiołka i innych bio-olejów z surowców naturalnych. *Camera Separatoria* **2016**, *8*, 112–118.
36. Chylińska-Ptak, M.; Lau, S.; Stołyhwo, A. Separation of fatty acids, their methyl esters and triacylglycerols by non-aqueous electrochromatography and HPLC. *Chem. Analityczna* **2004**, *49*, 855–867.
37. Yandrasitz, J.R.; Berry, G.; Segal, S. High-performance liquid chromatography of phospholipids with UV detection: optimization of separations on silica. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* **1981**, *225*, 319–328.
38. Hamilton, J.G.; Comai, K. Separation of neutral lipids and free fatty acids by high-performance liquid chromatography using low wavelength ultraviolet detection. *J. Lipid Res.* **1984**, *25*, 1142–

- 1148.
39. Kotapati, H.K.; Bates, P.D. A normal phase high performance liquid chromatography method for the separation of hydroxy and non-hydroxy neutral lipid classes compatible with ultraviolet and in-line liquid scintillation detection of radioisotopes. *J. Chromatogr. B* **2018**, *1102–1103*, 52–59.
  40. Jokai, R.; Wilson, B. Use of Vegetable-Based Hydraulic Oil in Forestry Operations: An Evaluation. *Environ. Sci.* **1995**.
  41. Cecilia, J.A.; Ballesteros Plata, D.; Alves Saboya, R.M.; Tavares de Luna, F.M.; Cavalcante, C.L.; Rodríguez-Castellón, E. An Overview of the Biolubricant Production Process: Challenges and Future Perspectives. *Processes* **2020**, *8*, 257.
  42. Hamilton, R. Synthesis in lipid chemistry. *Chromatographia* **1997**, *46*, 325–325.
  43. EL-HAMDY, A.H.; PERKINS, E.G. High Performance Reversed-Phase Chromatography of Natural Triglyceride Mixtures. *Lipids* **1975**, *10*.
  44. Myher, J.J.; Kuksis, A. General strategies in chromatographic analysis of lipids. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* **1995**, *671*, 3–33.
  45. Beran, E. Experience with evaluating biodegradability of lubricating base oils. *Tribol. Int.* **2008**, *41*, 1212–1218.
  46. *Decyzja nr 2 Dyrektora Generalnego Lasów Państwowych z dnia 11 stycznia 2021r. w sprawie udostępniania jednolitych wzorów dokumentów oraz stosowania standardów odnoszących się do wszystkich istotnych cech przedmiotu zamówienia dotyczących zamawiana usług;*
  47. Adhvaryu, A.; Liu, Z.; Erhan, S.Z. Synthesis of novel alkoxyated triacylglycerols and their lubricant base oil properties. *Ind. Crops Prod.* **2005**, *21*, 113–119.
  48. Fall, J. *Rozprawy Monografie 202: Techniki i metody chromatografii w analityce, klasyfikacji i technologii niskolotnych produktów naftowych*; Wydawnictwo Akademii Górniczo Hutniczej: Kraków, 2010; ISBN 978-83-7464-293-4.
  49. Nowak, P.; Kucharska, K.; Kaminski, M.A. The New Test Procedure for Group-Type Composition of Base Oils of Lubricating Oils, Especially Emitted into the Environment. *Energies* **2020**, *13*, 3772.
  50. Dygula, P.; Kucharska, K.; Kamiński, M. Separation and determination of the group-type composition of modern base and lubricating oils with a wide range of polarity, especially emitted to the environment. *J. Chromatogr. B* **2022**, *1192*, 123–137.
  51. PN EN 12916:2016. Przetwory naftowe -- Oznaczanie grup węglowodorów aromatycznych w średnich destylatach -- Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detektorem współczynnika załamania światła.
  52. ASTM D 2007:2019. Standard Test Method for Characteristic Groups in Rubber Extender and Processing Oils and Other Petroleum-Derived Oils by the Clay-Gel Absorption Chromatographic Method.
  53. ASTM D 4124 - 09:2018. Standard Test Method for Separation of Asphalt into Four Fractions.
  54. ASTM D 2549 - 02:2017. Standard Test Method for Separation of Representative Aromatics and Nonaromatics Fractions of High-Boiling Oils by Elution Chromatography.
  55. IP 469/01:2006. Determination of saturated, aromatic and polar compounds in petroleum products by thin layer chromatography and flame ionization detection.
  56. PN-72/C-04025:1972. Przetwory naftowe -- Oznaczanie składu grupowego węglowodorów metodą chromatografii elucyjnej. (norma wycofana).

57. IP 368:2006. Determination of hydrocarbon types in lubricating oil basestocks - Preparative high performance liquid chromatography method.
58. IP 391: 2019. Petroleum products - Determination of aromatic hydrocarbon types in middle distillates - High performance liquid chromatography method with refractive index detection.
59. Meyer, V.R. *Practical High-Performance Liquid Chromatography*, 5th ed.; Wiley: Switzerland, 2010; ISBN 9780470682180.
60. Kosińska, J.; Gałęzowska, G.; Zalewski, S.; Kamiński, M. Chromatografia cienkowarstwowa i technika TLC-FID w badaniach składu grupowego, szczególnie, tłuszczów i produktów ich konwersji. *Camera Separatoria* **2015**, 7, 52–69.
61. Vela, J.; Cebolla, V.L.; Membrado, L.; Andres, J.M. Quantitative hydrocarbon group type analysis of petroleum hydroconversion products using an improved TLC-FID system. *J. Chromatogr. Sci.* **1995**, 33, 417–425.
62. Félix, G.; Thoumazeau, E.; Colin, J.-M.; Vion, G. Hydrocarbon Groups Type Analysis of Petroleum Products by HPLC on Specific Stationary Phases. *J. Liq. Chromatogr.* **1987**, 10, 2115–2132.
63. Heshka, N.E. Applications of High Performance Liquid Chromatography in the Petroleomic Analysis of Crude Oil: A Mini-Review. *Energy & Fuels* **2021**, 35, 18104–18115.
64. Snyder, L.R. Routine Compound Class Separation and Analysis of Heavy Petroleum Fractions by Adsorption Chromatography. *Anal. Chem.* **1965**, 37, 713–717.
65. Kamiński, M.; Kartanowicz, R.; Gilgenast, E.; Namieśnik, J. High-Performance Liquid Chromatography in Group-Type Separation and Technical or Process Analytics of Petroleum Products. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2005**, 35, 193–216.
66. Matsunaga, A.; Yagi, M. Separation of aromatic compounds in lubricant base oils by high performance liquid chromatography. *Anal. Chem.* **1978**, 50, 753–756.
67. McKay, J.F.; Latham, D.R. High performance liquid chromatographic separation of olefin, saturate, and aromatic hydrocarbons in high-boiling distillates and residues of shale oil. *Anal. Chem.* **1980**, 52, 1618–1621.
68. Galya, L.G.; Suatoni, J.C. Rapid SARA Separations by High Performance Liquid Chromatography. *J. Liq. Chromatogr.* **1980**, 3, 229–242.
69. Qiang, D.; Lu, W. Hydrocarbon group-type analysis of high boiling petroleum distillates by HPLC. *J. Pet. Sci. Eng.* **1999**, 22, 31–36.
70. Fan, T.; Buckley, J.S. Rapid and Accurate SARA Analysis of Medium Gravity Crude Oils. *Energy & Fuels* **2002**, 16, 1571–1575.
71. Karevan, A.; Sadeghi Yamchi, H.; Aghajamali, M.; Zirrahi, M.; Hassanzadeh, H. Automated High-Performance Liquid Chromatography for SARA Analysis (SARA-HPLC). *Energy & Fuels* **2021**, 35, 17642–17650.
72. Kamiński, M.; Kartanowicz, R.; Przyjazny, A. Application of high-performance liquid chromatography with ultraviolet diode array detection and refractive index detection to the determination of class composition and to the analysis of gasoline. *J. Chromatogr. A* **2004**, 1029, 77–85.
73. Jewell, D.M.; Weber, J.H.; Bungler, J.W.; Plancher, H.; Latham, D.R. Ion-exchange, coordination, and adsorption chromatographic separation of heavy-end petroleum distillates. *Anal. Chem.* **1972**, 44, 1391–1395.
74. Snyder, L. *Principles of adsorption chromatography: the separation of nonionic organic compounds*; Marcel Dekker, Inc.: New York, 1968; ISBN 0824716396.



75. Sarowha, S.L.; Sharma, B.K.; Bhatia, B.M.L.; Sharma, C.D.; Madbwal, D.C. Determination of hydrocarbon group types in middle distillates a modification proposed for method IP -391/95. *Pet. Sci. Technol.* **2000**, *18*, 1089–1106.
76. Christie, W.W. *Preparation of Ester Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis. Advances in Lipid Methodology – Two*; Oily Press.; Dundee, 1993; Vol. 2;.
77. Gromadzka, J.; Wardencki, W. Trends in edible vegetable oils analysis. Part B. Application of different analytical techniques. *Polish J. Food Nutr. Sci.* **2011**, *61*, 89–99.
78. Andrade, D.F. de; Mazzei, J.L.; D'Avila, L.A. Separation of Acylglycerols from Biodiesel by High Performance Liquid Chromatography and Solid-Phase Extraction. *Rev. Virtual Química* **2011**, *3*.
79. Herslöf, B.; Podlaha, O.; Töregård, B. HPLC of triglycerides. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1979**, *56*, 864–866.
80. WADA, S.; HOANG, T.T.; Koizumi, C. Molecular Species of Triglycerides in Soybean Oil. *J. Japan Oil Chem. Soc.* **1985**, *34*, 433–440.
81. Aparicio, R.; Aparicio-Ruiz, R. Authentication of vegetable oils by chromatographic techniques. *J. Chromatogr. A* **2000**, *881*, 93–104.
82. Stolyhwo, A.; Colin, H.; Guiochon, G. Use of light scattering as a detector principle in liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **1983**, *265*, 1–18.
83. Deschamps, F.S.; Chaminade, P.; Ferrier, D.; Baillet, A. Assessment of the retention properties of poly(vinyl alcohol) stationary phase for lipid class profiling in liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **2001**, *928*, 127–137.
84. Graeve, M.; Janssen, D. Improved separation and quantification of neutral and polar lipid classes by HPLC–ELSD using a monolithic silica phase: Application to exceptional marine lipids. *J. Chromatogr. B* **2009**, *877*, 1815–1819.
85. Stolyhwo, A. Technologia pozyskiwania i główne składniki oleju z nasion wiesiołka dziwnego (*Oenothera paradoxa* Hudziok). In *Proceedings of the Olej z nasion wiesiołka w profilaktyce i terapii.*; Agropharm: Łódź, 1992; pp. 9–22.
86. B, A.; Waseem, M.; Kashif, M.; Srinivasan, H. Lipidomics: An excellent tool for chronic disease detection. *Curr. Res. Transl. Med.* **2022**, *70*, 103346.
87. Khanna, R.K.; Catanese, S.; Emond, P.; Corcia, P.; Blasco, H.; Pisella, P.-J. Metabolomics and lipidomics approaches in human tears: A systematic review. *Surv. Ophthalmol.* **2022**, *67*, 1229–1243.
88. Wang, R.; Li, B.; Lam, S.M.; Shui, G. Integration of lipidomics and metabolomics for in-depth understanding of cellular mechanism and disease progression. *J. Genet. Genomics* **2020**, *47*, 69–83.
89. Wang, S.; Liu, Z.; Song, Y.; Zhang, Y.; Zhao, L.; Zhang, L.; Lü, X.; Wang, H.; Zhang, X.; Zhang, J.; et al. Characterization and comparison of lipids from human and ewe colostrum based on lipidomics analysis. *Food Chem.* **2023**, *400*, 133998.
90. Sebedio, J.L.; Ratnayake, W.M.N.; Ackman, R.G.; Prevost, J. Stability of polyunsaturated omega-3 fatty acids during deep fat frying of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Food Res. Int.* **1993**, *26*, 163–172.
91. ALALAWI, A.; VANDEVOORT, F.; SEDMAN, J.; GHETLER, A. Automated FTIR Analysis of Free Fatty Acids or Moisture in Edible Oils. *J. Assoc. Lab. Autom.* **2006**, *11*, 23–29.
92. Ichihara, K.; Fukubayashi, Y. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. *J. Lipid Res.* **2010**, *51*, 635–640.

93. Salimon, J.; Salih, N.; Yousif, E. Biolubricants: Raw materials, chemical modifications and environmental benefits. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2010**, *112*, 519–530.
94. Wall, P.E. Thin-Layer Chromatography: A Modern Practical Approach By Peter E. Wall. Royal Society of Chemistry: Cambridge. *Org. Process Res. Dev.* **2006**, *10*, 849–849.
95. Petruczynik, A.; Waksmundzka-Hajnos, M.; Hajnos, M.Ł. The Effect of Chromatographic Conditions on the Separation of Selected Alkaloids on Silica Layers. *J. Planar Chromatogr. – Mod. TLC* **2005**, *18*, 78–84.
96. Cebolla, V.L.; Lázaro, M.J.; Herod, A.A. Petroleum Products—Thin Layer (Planar) Chromatography☆. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*; Elsevier, 2016.
97. Wilson, I.D.; Poole, C.F. Planar chromatography – Current practice and future prospects. *J. Chromatogr. B* **2023**, *1214*, 123553.
98. Heep, J.; Tuchecker, P.H.K.; Gebhardt, C.R.; Dürr, M. Combination of Thin-Layer Chromatography and Mass Spectrometry Using Cluster-Induced Desorption/Ionization. *ACS Omega* **2019**, *4*, 22426–22430.
99. Makuch, B. Chromatografia cienkowarstwowa planarna TLC. In *Chromatografia cieczowa*; Politechnika Gdańska: Gdańsk, 2004; pp. 174–191.
100. Sherma, J.; Fried, B. *Handbook of Thin-Layer Chromatography, 3rd edition*; 3rd ed.; Chromatographic Science Series, 2003; ISBN 0-8247-0895-4.
101. Skorupa, A.; Gierak, A. Detection and visualization methods used in thin-layer chromatography. *J. Planar Chromatogr. – Mod. TLC* **2011**, *24*, 274–280.
102. Matt, M.; Galvez, E.; Cebolla, V.; Membrado, L.; Vela, J.; Gruber, R. Planar chromatography for the hydrocarbon group type analysis of petroleum middle distillates and coal-derived products. *Fuel Process. Technol.* **2002**, *77–78*, 245–253.
103. Mamlok, L. Technical Note: Berberine Hydrochloride for Detection (as a Detector) in Thin-Layer Chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* **1981**, *19*, 53–55.
104. Sherma, J. Detection (Visualization) of TLC Zones. In *Encyclopedia of Chromatography, Second Edition*; CRC Press, 2005; pp. 449–455.
105. Gálvez, E.M.; Matt, M.; Cebolla, V.L.; Fernandes, F.; Membrado, L.; Cossío, F.P.; Garriga, R.; Vela, J.; Guermouche, M.H. General Contribution of Nonspecific Interactions to Fluorescence Intensity. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 3699–3705.
106. Cebolla, V.L.; Mateos, E.; Garriga, R.; Jarne, C.; Membrado, L.; Cossío, F.P.; Gálvez, E.M.; Matt, M.; Delgado-Camón, A. Changes in Fluorescent Emission Due to Non-covalent Interactions as a General Detection Procedure for Thin-Layer Chromatography. *ChemPhysChem* **2012**, *13*, 291–299.
107. Cossío, F.P.; Arrieta, A.; Cebolla, V.L.; Membrado, L.; Domingo, M.P.; Henrion, P.; Vela, J. Enhancement of Fluorescence in Thin-Layer Chromatography Induced by the Interaction between n -Alkanes and an Organic Cation. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 1759–1766.
108. Cebolla, V.L.; Membrado, L.; Domingo, M.P.; Henrion, P.; Garriga, R.; Gonzalez, P.; Cossio, F.P.; Arrieta, A.; Vela, J. Quantitative Applications of Fluorescence and Ultraviolet Scanning Densitometry for Compositional Analysis of Petroleum Products in Thin-Layer Chromatography. *J. Chromatogr. Sci.* **1999**, *37*, 219–226.
109. Barman, B. N. Hydrocarbon-Type Analysis of Base Oils and Other Heavy Distillates by Thin-Layer Chromatography with Flame-Ionization Detection and by the Clay-Gel Method. *J. Chromatogr. Sci.* **1996**, *34*, 219–225.

110. Waksmundzka-Hajnos, M.; Sherma, J.; Kowalska, T. *Thin layer chromatography in phytochemistry*; Cazes, J., Ed.; CRC Press: New York, 2008; ISBN 9788490225370.
111. Fuchs, B.; Süß, R.; Teuber, K.; Eibisch, M.; Schiller, J. Lipid analysis by thin-layer chromatography—A review of the current state. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 2754–2774.
112. Banerjee, A.K.; Ratnayake, W.M.N.; Ackman, R.G. Effect of oxalic acid impregnation of chromarods on the separation of phospholipids for determination by the Iatroscan TLC/FID. *Lipids* **1985**, *20*, 121–125.
113. Kaimal, T.N.B.; Shantha, N.C. Quantitative analysis of lipids on copper(II) sulphate-impregnated chromarods. *J. Chromatogr. A* **1984**, *288*, 177–186.
114. Kramer, J.K.G.; Fouchard, R.C.; Farnworth, E.R. Resolution of phospholipids on copper(II) sulphate-impregnated Chromarods. *J. Chromatogr. A* **1986**, *351*, 571–573.
115. Indrasena, W.M.; Henneberry, K.; Barrow, C.J.; Kralovec, J.A. Qualitative and Quantitative Analysis of Lipid Classes in Fish Oils by Thin-Layer Chromatography with an Iatroscan Flame Ionization Detector (TLC-FID) and Liquid Chromatography with an Evaporative Light Scattering Detector (LC-ELSD). *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2005**, *28*, 2581–2595.
116. Sebedio, J.-L.; Ackman, R.G. Chromarods-S Modified with Silver Nitrate for the Quantitation of Isomeric Unsaturated Fatty Acids. *J. Chromatogr. Sci.* **1981**, *19*, 552–557.
117. Sebedio, J.L.; Farquharson, T.E.; Ackman, R.G. Quantitative analyses of methyl esters of fatty acid geometrical isomers, and of triglycerides differing in unsaturation, by the Iatroscan TLC/FID technique using AgNO<sub>3</sub> impregnated rods. *Lipids* **1985**, *20*, 555–560.
118. Wang, S.; Guo, G.; Yan, Z.; Lu, G.; Wang, Q.; Li, F. The development of a method for the qualitative and quantitative determination of petroleum hydrocarbon components using thin-layer chromatography with flame ionization detection. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 368–374.
119. Holm, T. Aspects of the mechanism of the flame ionization detector. *J. Chromatogr. A* **1999**, *842*, 221–227.
120. Kamiński, M.; Gudebska, J.; Górecki, T.; Kartanowicz, R. Optimized conditions for hydrocarbon group type analysis of base oils by thin-layer chromatography–flame ionisation detection. *J. Chromatogr. A* **2003**, *991*, 255–266.
121. Nahar, A.; Baker, A.L.; Nichols, D.S.; Bowman, J.P.; Britz, M.L. Application of Thin-Layer Chromatography-Flame Ionization Detection (TLC-FID) to Total Lipid Quantitation in Mycolic-Acid Synthesizing *Rhodococcus* and *Williamsia* Species. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 1670.
122. Shankar, R.; Jung, J.-H.; Loh, A.; An, J.G.; Ha, S.Y.; Yim, U.H. Environmental significance of lubricant oil: A systematic study of photooxidation and its consequences. *Water Res.* **2020**, *168*, 115183.
123. Makowska, M.; Pellinen, T. Thin layer chromatography performed in stages to identify the presence of aromatic like fraction in chosen bitumen modifiers. *J. Traffic Transp. Eng. (English Ed.)* **2021**, *8*, 453–466.
124. Karlsen, D.A.; Larter, S.R. Analysis of petroleum fractions by TLC-FID: applications to petroleum reservoir description. *Org. Geochem.* **1991**, *17*, 603–617.
125. Karlsen, D.A.; Larter, S. A rapid correlation method for petroleum population mapping within individual petroleum reservoirs: applications to petroleum reservoir description. In *Correlation in Hydrocarbon Exploration*; Springer Netherlands: Dordrecht, 1989; pp. 77–85.
126. Nowak, P.; Kosińska, J.; Glinka, M.; Kamiński, M. The Thin-Layer Microchromatography ( $\mu$ TLC) and TLC-FID Technique as a New Methodology in the Study of Lubricating Oils. *J. AOAC Int.* **2017**, *100*, 922–934.
127. Jiang, C.; Larter, S.R.; Noke, K.J.; Snowdon, L.R. TLC-FID (Iatroscan) analysis of heavy oil

and tar sand samples. *Org. Geochem.* **2008**, 39, 1210–1214.

128. Vela, J.; Membrado, L.; Cebolla, V.L.; Ferrando, A.C. Suitability of Thin-Layer Chromatography-Flame Ionization Detection with Regard to Quantitative Characterization of Different Fossil Fuel Products. II. Calibration Methods Concerning Quantitative Hydrocarbon-Group Type Analysis. *J. Chromatogr. Sci.* **1998**, 36, 487–494.
129. Sharma, B.K.; Sarowha, S.L.S.; Bhagat, S.D.; Tiwari, R.K.; Gupta, S.K.; Venkataramani, P.S. Hydrocarbon group type analysis of petroleum heavy fractions using the TLC-FID technique. *Fresenius. J. Anal. Chem.* **1998**, 360, 539–544.
130. Barman, B.. Behavioral differences between group I and group II base oils during thermo-oxidative degradation. *Tribol. Int.* **2002**, 35, 15–26.
131. Anyakudo, F.; Adams, E.; Van Schepdael, A. Thin-Layer Chromatography–Flame Ionization Detection. *Chromatographia* **2020**, 83, 149–157.
132. Harvey, H.R.; Rigler, M.W.; Patton, J.S. The use of the Iatroscan TH-10 analyzer to quantify total lipids in a variety of sample types and lipid classes in human gallbladder bile. *Lipids* **1985**, 20, 542–545.
133. Itoh, T.; Tanaka, M.; Kaneko, H. Quantitative determination of lipids and their constituents by the Chromarod TLC-FID system. *Lipids* **1985**, 20, 552–554.
134. Striby, L.; Lafont, R.; Goutx, M. Improvement in the Iatroscan thin-layer chromatographic–flame ionisation detection analysis of marine lipids. Separation and quantitation of monoacylglycerols and diacylglycerols in standards and natural samples. *J. Chromatogr. A* **1999**, 849, 371–380.
135. Nciri, N.; Cho, N. Laboratory Methods for Identification of Geologic Origins of Natural Asphalts with Special Emphasis on their Potential Uses: The Case of Trinidad Pitch and Utah Bitumen. *Mater. Today Proc.* **2018**, 5, 25730–25739.
136. Dunn, K.; Chilingarian, G. V.; Lian, H.; Wang, Y.Y.; Yen, T.F. Analysis of asphalt and its components by thin-layer chromatography. In *Asphaltenes and asphalts*, 2; 2000; pp. 305–317.
137. Khan, S.A.; Sarfraz, S.; Price, D. TLC-FID calibration and accurate weight determination of SARA fractions in heavy crude oil. *Pet. Sci. Technol.* **2012**, 30, 2401–2406.
138. Sharma, B.K.; Sarowha, S.L.S.; Bhagat, S.D.; Tiwari, R.K.; Gupta, S.K.; Venkataramani, P.S. Analysis of insolubles of petroleum vacuum residues using TLC-FID. *Pet. Sci. Technol.* **1999**, 17, 319–332.
139. Cebolla, V.L. TLC-FID in quantitative hydrocarbon group type analysis of asphaltenes and other heavy fossil fuels. *Fuel Energy Abstr.* **1997**, 38, 220.
140. Totten, G.E.; Shah, R.J.; Forester, D.R. *Fuels and Lubricants Handbook: Technology, Properties, Performance, and Testing, 2nd Edition*; Totten, G.E., Westbrook, S.R., Shah, R.J., Eds.; ASTM International: 100 Barr Harbor Drive, PO Box C700, West Conshohocken, PA 19428-2959, 2019; ISBN 978-0-8031-7089-6.
141. Steffens, J.; Landulfo, E.; Courrol, L.C.; Guardani, R. Application of Fluorescence to the Study of Crude Petroleum. *J. Fluoresc.* **2011**, 21, 859–864.
142. Nowak, P.; Kucharska, K.; Kamiński, M.; Rybarczyk, P.; Kucharska, K.; Rybarczyk, P. A new method and equipment for the detection of presence and estimation of the content of the petroleum-based fraction in lubricating oils, especially those emitted to the atmosphere. *Apar. Badaw. i Dydak.* **2019**, 2, 245–250.
143. Camagni, P.; Colombo, A.; Koechler, C.; Omenetto, N.; Qi, P.; Rossi, G. Fluorescence response of mineral oils: spectral yield vs absorption and decay time. *Appl. Opt.* **1991**, 30, 26.
144. Kasa, J.; Bajnoczy, G. Spectrofluorometric determination of mineral oil content in waste waters. *Period. Polytech.* **1975**, XX, 169–177.

145. Morassuti, C.Y.; Lima, S.M.; Dos Santos, F.A.; Andrade, L.H.D.C. Fluorescence spectroscopy applied in lubricant oils. *Orbital Electron. J. Chem.* **2018**, *10*.
146. Sharma, K.; Sharma, S.P.; Lahiri, S.C. Characterization and Identification of Petroleum Hydrocarbons and Biomarkers by GC-FTIR and GC-MS. *Pet. Sci. Technol.* **2009**, *27*, 1209–1226.
147. Silva, S.L.; Silva, A.M.S.; Ribeiro, J.C.; Martins, F.G.; Da Silva, F.A.; Silva, C.M. Chromatographic and spectroscopic analysis of heavy crude oil mixtures with emphasis in nuclear magnetic resonance spectroscopy: A review. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *707*, 18–37.
148. Mannu, A.; Poddighe, M.; Garroni, S.; Malfatti, L. Application of IR and UV–VIS spectroscopies and multivariate analysis for the classification of waste vegetable oils. *Resour. Conserv. Recycl.* **2022**, *178*, 106088.
149. van de Voort, F.R.; Sedman, J.; Pinchuk, D.; Toms, A.; Dean, S.W. An Overview of Progress and New Developments in FTIR Lubricant Condition Monitoring Methodology. *J. ASTM Int.* **2011**, *8*, 103344.
150. Pawelec, E.; Eksploatacji, I.T. Zastosowanie spektrofotometrii FT-IR do oceny zmiany składu smaru plastycznego wskutek wymuszeń mechanicznych nauka • technika. **2011**.
151. Van De Ven, A.M.C.; Jansen, L.; Heijer, J. Den An infrared analysis method to determine the aromatic carbon content of mineral lubricant base oils based on correlation with carbon-13 NMR aromaticities. *Lubr. Sci.* **1995**, *7*, 197–209.
152. Matwijczuk; Oniszczyk; Matwijczuk; Chruściel; Kocira; Niemczynowicz; Wójtowicz; Combrzyński; Wiącek Use of FTIR Spectroscopy and Chemometrics with Respect to Storage Conditions of Moldavian Dragonhead Oil. *Sustainability* **2019**, *11*, 6414.
153. Rohman, A.; Che Man, Y.B. The use of Fourier transform mid infrared (FT-MIR) spectroscopy for detection and quantification of adulteration in virgin coconut oil. *Food Chem.* **2011**, *129*, 583–588.
154. Guillén, M.D.; Cabo, N. Relationships between the Composition of Edible Oils and Lard and the Ratio of the Absorbance of Specific Bands of Their Fourier Transform Infrared Spectra. Role of Some Bands of the Fingerprint Region. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1788–1793.
155. Guillén, M.D.; Cabo, N. Infrared spectroscopy in the study of edible oils and fats. *J. Sci. Food Agric.* **1997**, *75*, 1–11.
156. Lerma-García, M.J.; Ramis-Ramos, G.; Herrero-Martínez, J.M.; Simó-Alfonso, E.F. Authentication of extra virgin olive oils by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Food Chem.* **2010**, *118*, 78–83.
157. Safar, M.; Bertrand, D.; Robert, P.; Devaux, M.F.; Genot, C. Characterization of edible oils, butters and margarines by Fourier transform infrared spectroscopy with attenuated total reflectance. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, *71*, 371–377.
158. Nowak, P.; Kamiński, M. Wykorzystanie zjawiska fluorescencji i spektrofotometrii dla metod wstępnej oceny grupowego składu olejów i ich komponentów. In Proceedings of the IX Kongres Technologii Chemicznej; Politechnika Gdańska: Gdańsk, 2018.
159. Sedman, J.; van de Voort, F.R.; Ismail, A.A.; Maes, P. Industrial validation of fourier transform infrared trans and iodine value analyses of fats and oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**, *75*, 33–39.
160. Wolff, I.A.; Miwa, T.K. Effect of unusual acids on selected seed oil analyses. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1965**, *42*, 208–215.
161. Wójcicki, K. *Rozprawa Doktorska: Zastosowanie wybranych technik spektroskopowych do oceny jakości olejów roślinnych*; Uniwersytet Ekonomiczny w Poznaniu, 2013;



162. ASTM E 2412 - 10:2018. *Standard Practice for Condition Monitoring of In-Service Lubricants by Trend Analysis Using Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectrometry.*;
163. Zieliński, W.; Rajca, A. *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*; Wydawnictwa Naukowo-Techniczne: Warszawa, 2000; ISBN 8320424798.
164. Szafran, M.; Dega-Szafran, Z. *Określanie struktury związków organicznych metodami spektroskopowymi. Tablice i ćwiczenia.*; Państwowe Wydawnictwo Naukowe: Warszawa, 1988; ISBN 83-01-06272-X.
165. Kyriakids, N.; Skarkalis, P. Fluorescence Spectra Measurement of Olive Oil and Other Vegetable Oils. *J. AOAC Int.* **2000**, 83, 1435–1439.
166. Ryder, A.G. Analysis of Crude Petroleum Oils Using Fluorescence Spectroscopy. In *Reviews in Fluorescence 2005*; Springer US: Boston, MA, 2005; pp. 169–198.
167. Mang, T. Lubricants and their Market. In *Lubricants and Lubrication*; Mang, T., Dresel, W., Eds.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2006; pp. 1–6.
168. Coutinho, D.M.; França, D.; Vanini, G.; Mendes, L.A.N.; Gomes, A.O.; Pereira, V.B.; Ávila, B.M.F.; Azevedo, D.A. Rapid hydrocarbon group-type semi-quantification in crude oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Fuel* **2018**, 220, 379–388.
169. Baszanowska, E.; Otremba, Z. Ultraviolet-induced fluorescence of lubricate oils. *Combust. Engines* **2015**, 163, 21–25.
170. Almasi, S.; Ghobadian, B.; Najafi, G.; Soufi, M.D. A review on bio-lubricant production from non-edible oil-bearing biomass resources in Iran: Recent progress and perspectives. *J. Clean. Prod.* **2021**, 290, 125830.
171. Markets and markets Lubricants Market by Base Oil (Mineral Oil, Synthetic Oil, Bio-based Oil), Product Type (Engine Oil, Hydraulic Fluid, Metalworking Fluid), Application (Transportation and Industrial lubricants), Region - Global Forecast to 2025 Available online: <https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/lubricants-market-182046896.html> (accessed on Jun 16, 2022).
172. Stanovský, M.; Schürger, J.; Jankovský, M.; V.Messingerová; Hnilica, R.; Kučera, M. The Effect of Lubricating Oil on Temperature of Chainsaw Cutting System. *Croat. J. For. Eng.* **2013**, 34, 83–90.
173. Shahabuddin, M.; Masjuki, H.H.; Kalam, M.A.; Bhuiya, M.M.K.; Mehat, H. Comparative tribological investigation of bio-lubricant formulated from a non-edible oil source (Jatropha oil). *Ind. Crops Prod.* **2013**, 47, 323–330.
174. *Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 440/2008 z dnia 30 maja 2008 r. metoda OECD 301 A-F*; 2008;
175. OECD *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3: Test No. 301: Ready Biodegradability*; OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 3; OECD, 1992; ISBN 9789264070349.
176. Habibullah, M.; Masjuki, H.H.; Kalam, M.A.; Ashraful, A.M.; Habib, M.A.; Mobarak, H.M. Effect of Bio-Lubricant on Tribological Characteristics of Steel. *Procedia Eng.* **2014**, 90, 740–745.
177. Luna, F.M.T.; Cavalcante, J.B.; Silva, F.O.N.; Cavalcante, C.L. Studies on biodegradability of bio-based lubricants. *Tribol. Int.* **2015**, 92, 301–306.
178. Ho, C.K.; McAuley, K.B.; Peppley, B.A. Biolubricants through renewable hydrocarbons: A perspective for new opportunities. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2019**, 113, 109261.
179. López-Toro, A.A.; Pardo-Ferreira, M.C.; Martínez-Rojas, M.; Carrillo-Castrillo, J.A.; Rubio-Romero, J.C. Analysis of occupational accidents during the chainsaws use in Andalucía. *Saf. Sci.* **2021**, 143, 105436.

180. Bank Danych o lasach Lasy na świecie i w Europie Available online: <https://www.bdl.lasy.gov.pl/portal/lasy-na-swiecie> (accessed on May 1, 2022).
181. Zhang, Q.; Li, Y.; Yu, C.; Qi, J.; Yang, C.; Cheng, B.; Liang, S. Global timber harvest footprints of nations and virtual timber trade flows. *J. Clean. Prod.* **2020**, *250*, 119503.
182. Gawęda, E.; Bednarek, K.; Szydło, Z. Oznaczanie mgły olejowej w powietrzu na stanowiskach pracy metodą wagową. *Bezpieczeństwo Pr.* **2005**, *12*, 11–14.
183. Włodarczyk-Makuła, M. Zagrożenie zanieczyszczenia środowiska wodnego związkami ropopochodnymi. *LAB Lab. Apar. Badania* **2013**, *21*, 12–16.
184. Wojtkowiak, R.; Tomczak, R.J. Analiza porównawcza wybranych właściwości olejów smarujących układ tnący pilarki łańcuchowej. *Rośliny Oleiste* **2003**, *XXIV*, 317–325.
185. Abosede, E.E. Effect of Crude Oil Pollution on some Soil Physical Properties. *IOSR J. Agric. Vet. Sci.* **2013**, *6*, 14–17.
186. Dmochowska, A.; Dmochowski, D.; Biegugnis, S. Charakterystyka biorekultywacji gleb skażonych produktami ropopochodnymi metodą przyzmożenia ex situ. *Annu. Set Environ. Prot.* **2016**, *18*, 759–771.
187. Stelmaszuk, W.; Linowska, E.; Podedworny, I.; Antoniuk, N. Wpływ produktów ropopochodnych na organizmy żywe. In Proceedings of the Związki ropopochodne – kryteria i metodyka oceny skażenia; Materiały Ogólnopolskiego Sympozjum Naukowego: Karwice, 1994.
188. Podsiadło, Ł.; Krzyśko-Lupicka, T. Techniki bioremediacji substancji ropopochodnych i metody oceny ich efektywności. *Inżynieria i Ochr. Środowiska* **2013**, *16*, 459–476.
189. Aluyor, E.O.; Ori-jesu, M. Biodegradation of mineral oils – A review. *African J. Biotechnol.* **2009**, *8*, 915–920.
190. Neri, F.; Foderi, C.; Laschi, A.; Fabiano, F.; Cambi, M.; Sciarra, G.; Aprea, M.C.; Cenni, A.; Marchi, E. Determining exhaust fumes exposure in chainsaw operations. *Environ. Pollut.* **2016**, *218*, 1162–1169.
191. Krzemińska, S.; Irzmańska, E. Zagrożenie olejami mineralnymi na stanowiskach pracy. *Med. Pr.* **2011**, *62*, 435–443.
192. Rogoś, E.; Urbański, A. Charakterystyki tribologiczne roślinnych olejów bazowych dla olejów hydraulicznych. *Tribologia* **2010**, *5*, 201–212.
193. M. A. Ramadan, K. Biodegradation of used lubricating and diesel oils by a new yeast strain *Candida viswanathii* KA-2011. *AFRICAN J. Biotechnol.* **2012**, *11*, 14166–14174.
194. Beran, E. Ocena biodegradowalności słabo rozpuszczalnych w wodzie związków organicznych na przykładzie olejów smarnych. *Probl. Ekol.* **2008**, *12*, 153–159.
195. Beran, E. Biodegradowalność jako nowe kryterium w ocenie jakości olejów smarowych. *Przem. Chem.* **2005**, *5*, 320–328.
196. Zajezińska, A.; Ptak, S. Badania biodegradowalności smarów plastycznych. *Nafta-Gaz* **2015**, *LXXI*, 793–799.
197. Garrett, S. Vegetable oil for lubricating chain saws. *United States Dep. Agric. For. Serv.* **1998**, *5100*, 1–4.
198. *Decyzja komisji UE z dnia 24 czerwca 2011 r. ustanawiająca kryteria ekologiczne przyznawania oznakowania ekologicznego UE smarom;*
199. Bank Danych o lasach Lasy na świecie i w Europie Available online: <https://www.bdl.lasy.gov.pl/portal/lasy-na-swiecie> (accessed on May 1, 2022).

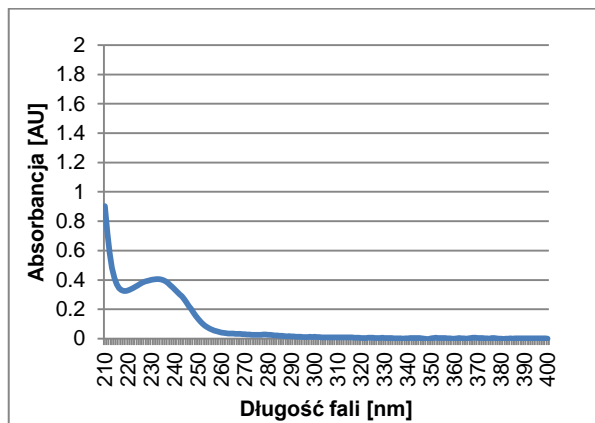
200. Krasodomski, W.; Krasodomski, M. GC/MS application in the structural group analysis of basic lubricant oils. Part I – State of knowledge. *Naft. Gaz* **2010**, *8*, 711–718.
201. Kamiński, M.; Gilgenast, E.; Przyjazny, A.; Romanik, G. Procedure for and results of simultaneous determination of aromatic hydrocarbons and fatty acid methyl esters in diesel fuels by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1122*, 153–160.
202. Weber, S.; Schrag, K.; Mildau, G.; Kuballa, T.; Walch, S.G.; Lachenmeier, D.W. Analytical Methods for the Determination of Mineral Oil Saturated Hydrocarbons (MOSH) and Mineral Oil Aromatic Hydrocarbons (MOAH)—A Short Review. *Anal. Chem. Insights* **2018**, *13*, 117739011877775.
203. Bissada, K.K. (Adry); Tan, J.; Szymczyk, E.; Darnell, M.; Mei, M. Group-type characterization of crude oil and bitumen. Part I: Enhanced separation and quantification of saturates, aromatics, resins and asphaltenes (SARA). *Org. Geochem.* **2016**, *95*, 21–28.
204. de Koning, S.; Janssen, H.-G.; Brinkman, U.A.T. Group-type characterisation of mineral oil samples by two-dimensional comprehensive normal-phase liquid chromatography–gas chromatography with time-of-flight mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A* **2004**, *1058*, 217–221.
205. Stahla, E. *Chromatografia cienkowarstwowa -- podręczniki laboratoryjne.*; Springer-Verlag: Berlin, 1967; ISBN xx001045739.
206. Meyer, V.R.; Palamareva, M.D. New graph of binary mixture solvent strength in adsorption liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **1993**, *641*, 391–395.
207. Starek, A. Oleje mineralne wysokorafinowane z wyłączeniem cieczy obróbkowych – frakcja wdychalna. *Pod. i Metod. Oceny Środowiska Pr.* **2013**, *2*, 95–120.
208. Kucharska, K.; Rybarczyk, P.; Glinka, M.; Kamiński, M. *Raport z badań olejów biodegradowalnych*; Gdańsk, 2015;
209. G. E. Totten, S.R. Westbrook, R.J.S. *Fuels and Lubricant Handbook: Technology, Properties, Performance and Testing (ASTM manual series)*; ASTM International, 2003;
210. Drabik, J.; Pawelec, E. *Monitorowanie stabilności oksydacyjnej oleju rzepakowego na różnych etapach procesu termooksydacji metodą spektrofotometrii UV-VIS*; Instytut Technologii Eksploatacji – Państwowy Instytut Badawczy: Radom, 2011;
211. Gudebska, J.; Kamiński, M. The method of identification of low-volatile petroleum products utilizing thin-layer chromatography. *Chem. Analityczna* **1998**, *43*, 859–865.
212. Kosińska, J.; Boczkaj, G.; Gudebska, J.; Kamiński, M. Fingerprinting niskolotnych frakcji i produktów naftowych techniką cienkowarstwowej chromatografii cieczowej (TLC) w identyfikacji przecieków procesowych oraz skażenia środowiska. *Camera Separatoria* **2013**, *5*, 56–69.
213. Chruszczyk, D.; Kamiński, M. Stopniowa chromatografia cienkowarstwowa w normalnych układach faz (NP-TLC), jako technika rozdzielania i oceny składu grupowego frakcji asfaltenowych z utleniania pozostałości próżniowej ropy naftowej. *Camera Separatoria* **2016**, *8*, 32–44.
214. Wojewódka, D.; Dyguła, P.; Kamiński, M.; Przyjazny, A. Improved conditions of the group-type separation of asphaltenes-containing materials by TLC-FID for quantitative SARA analysis - w recenzji. *J. Pet. Sci. Eng.*
215. Snyder, L.R. *Principles of adsorption chromatography*; Marcel Dekker: New York, 1968;
216. Ali, M.; Hassan, A. Hydrocarbon group types analysis of petroleum products: a comparative evaluation of HPLC and TLC analytical performance. *Pet. Sci. Technol.* **2002**, *20*, 771–782.
217. Itakura, M.; Sato, K.; Lusenкова, M.A.; Matsuyama, S.; Shimada, K.; Saito, T.; Kinugasa, S.

Molecular weight dependency of refractive index increment of polystyrene determined by uniform oligomers. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, *94*, 1101–1106.

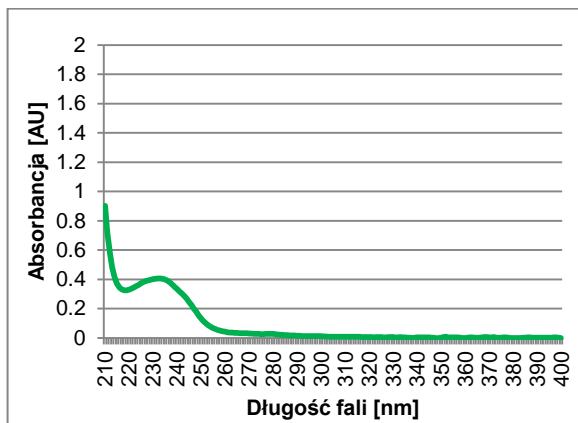
218. Kamiński, M. *Badania własne, niepublikowane*; 2019;
219. Kosińska, J.; Kamiński, M. *Badania niepublikowane nad rozpuszczalnością różnego rodzaju lipidów*; Gdańsk, 2017;
220. Cebolla, V.L.; Membrado, L.; Vela, J.; Garriga, R.; Henrion, P.; Domingo, M.P.; González, P. Determination of Hydrocarbon Types in Petroleum and Coal-Derived Products by Thin-Layer Chromatography/Densitometry. *J. AOAC Int.* **2000**, *83*, 1474–1479.
221. Johnson, L.A.; Lusas, E.W. Comparison of alternative solvents for oils extraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1983**, *60*, 229–242.
222. Snyder, L.R. Classification of the solvent properties of common liquids. *J. Chromatogr. A* **1974**, *92*, 223–230.
223. Cecutti, C.; Agius, D. Ecotoxicity and biodegradability in soil and aqueous media of lubricants used in forestry applications. *Bioresour. Technol.* **2008**, *99*, 8492–8496.
224. Klamerus-Iwan, A.; Błońska, E.; Lasota, J.; Kalandyk, A.; Waligórski, P. Influence of Oil Contamination on Physical and Biological Properties of Forest Soil After Chainsaw Use. *Water, Air, Soil Pollut.* **2015**, *226*, 389.
225. Damjanović, Z.; Davidović, T.; Spasojevic-Santic, T. Ecological and Economical Aspects of Use of Bio-Lubricants and Conventional Lubricants. *Goriva Maz.* **2016**, *55*, 188–199.

# ANEKS NR 1. Materiały dodatkowe do badań nad procedurą kontroli obecności i oceny zawartości naftowej / naturalnej frakcji w olejach do urządzeń tnących

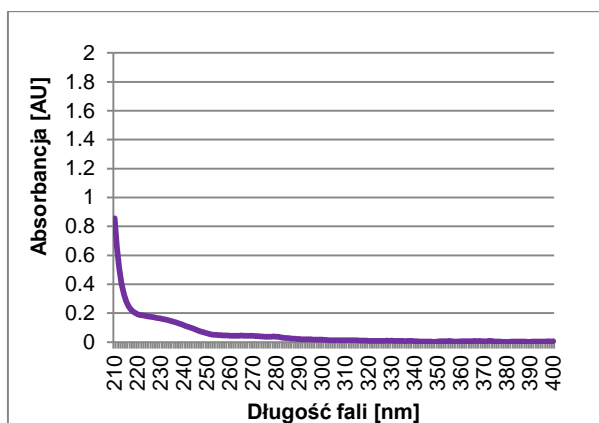
## A1. Zestawienie widm UV składników i grup składników olejów bazowych oraz smarowych (wg wykazu próbek z tabeli 4)



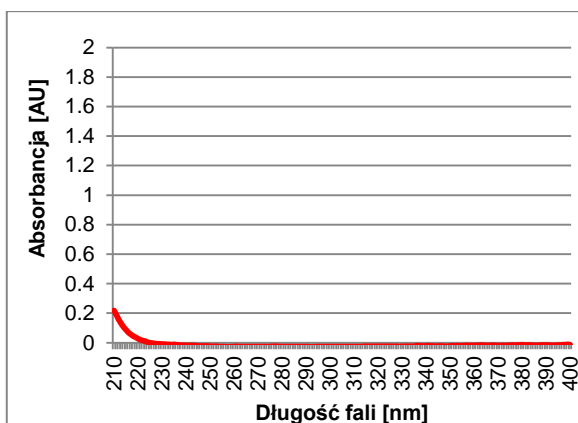
Rysunek A1-1. Widmo UV TAG1 - oleju rzepakowego jadalnego (0,25 mg oleju/ml n-C6)



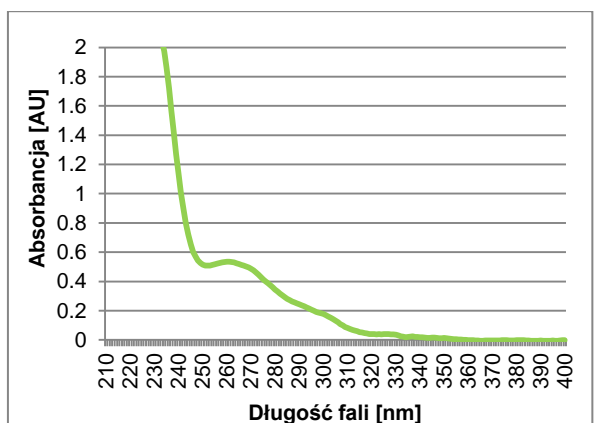
Rysunek A1-2. Widmo UV TAG2 - oleju słonecznikowego jadalnego (0,25 mg oleju/ml n-C6)



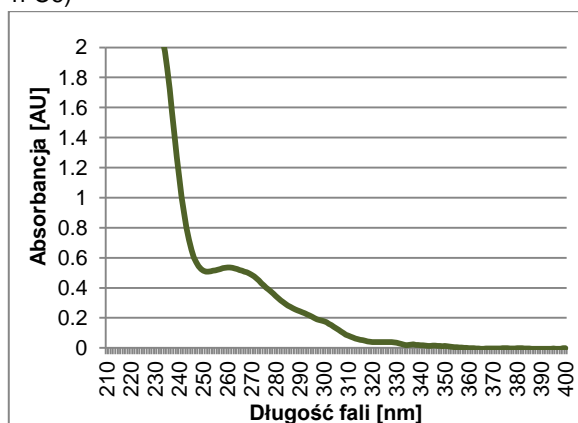
Rysunek A1-3. Widmo UV FAME techniczne (0,25 mg oleju/ml n-C6)



Rysunek A1-4. Widmo UV PAO 6 - bazy olejowej syntetycznej typu polialfaolefinowego (0,25 mg oleju/ml n-C6)

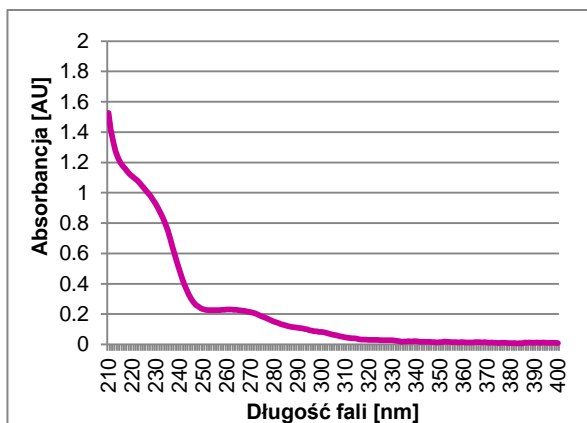


Rysunek A1-5. Widmo UV SAE10/90 mineralnej bazy olejowej (0,25 mg oleju/ml n-C6)

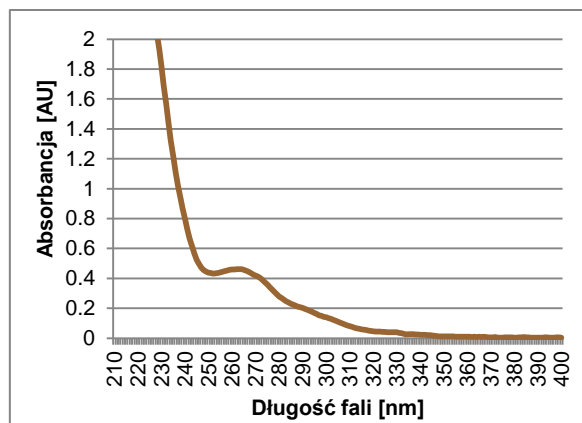


Rysunek A1-6. Widmo UV SAE 30/90 mineralnej bazy olejowej (0,25 mg oleju/ml n-C6)

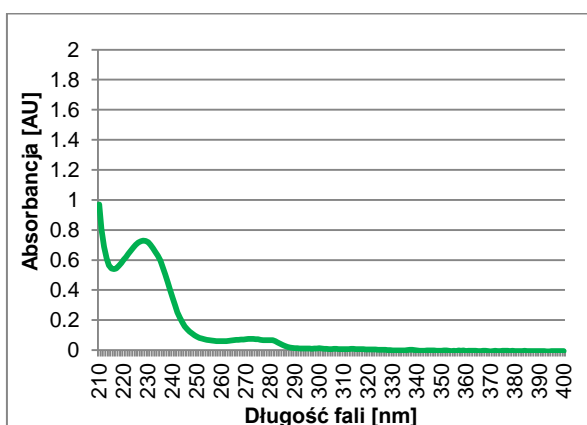




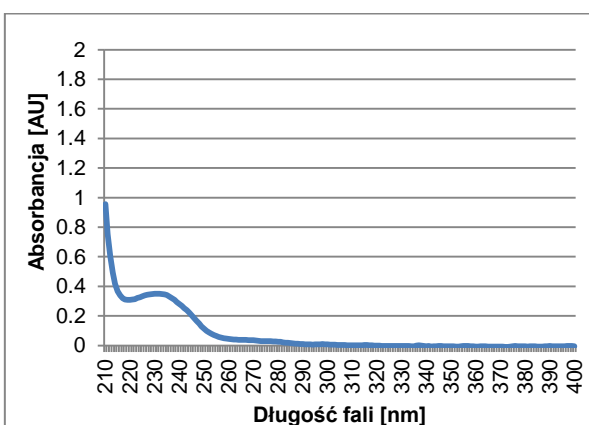
Rysunek A1-7. Widmo UV O1 - oleju do smarowania układu tnącego produkowanego na bazie mieszanki baz roślinnej oraz mineralnej z dodatkami uszlachetniającymi (0,25 mg oleju/ml n-C6)



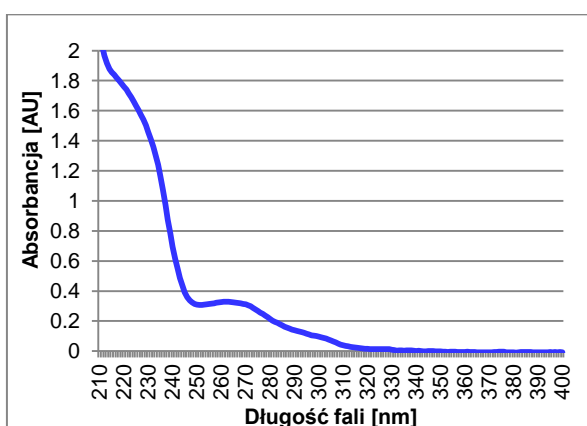
Rysunek A1-8. Widmo UV O2 - oleju maszynowego, mineralnego (0,25 mg oleju/ml n-C6)



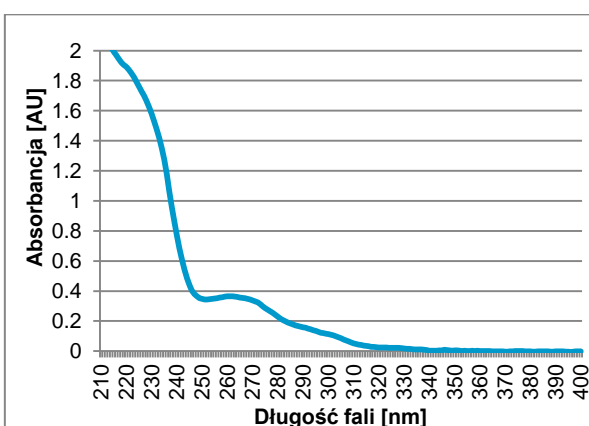
Rysunek A1-9. Widmo UV O3 - oleju do smarowania układu tnącego produkowanego na bazie roślinnej z dodatkami uszlachetniającymi (0,25 mg oleju/ml n-C6)



Rysunek A1-10. Widmo UV O4 - frytury (0,25 mg oleju/ml n-C6)



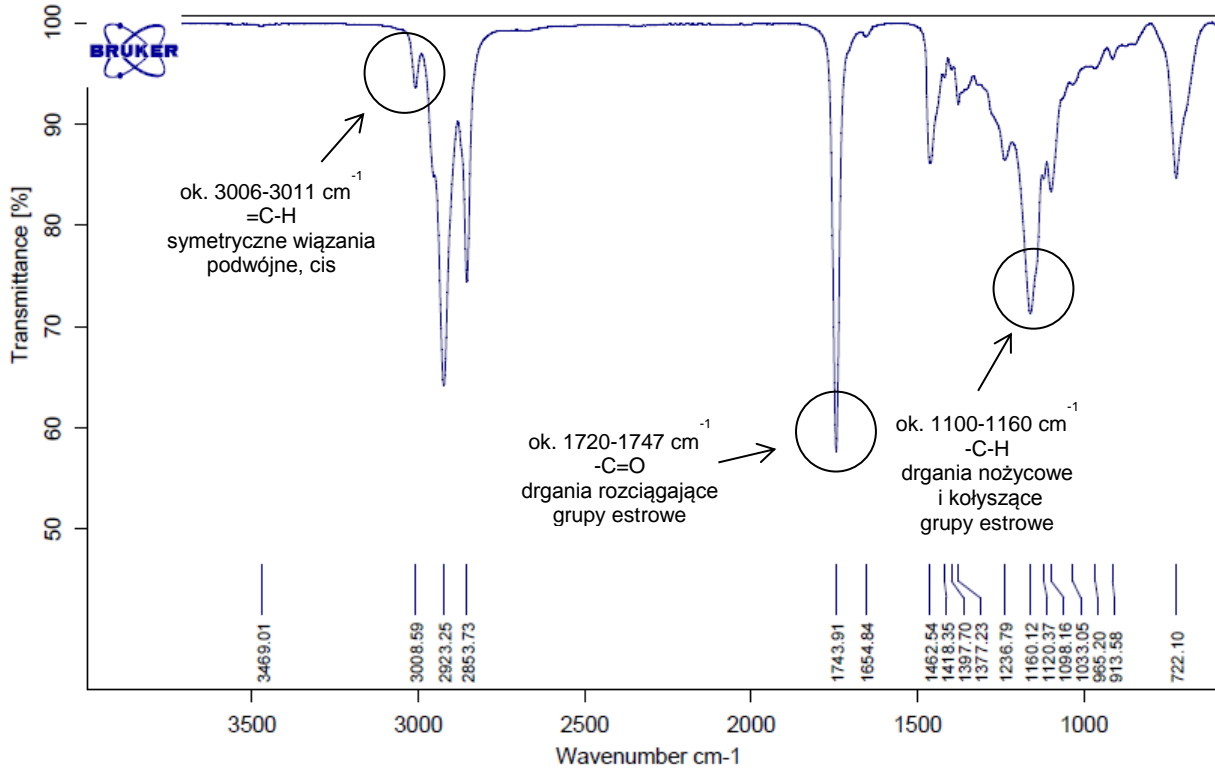
Rysunek A1-11. Widmo UV H - oleju hydraulicznego (0,25 mg oleju/ml n-C6)



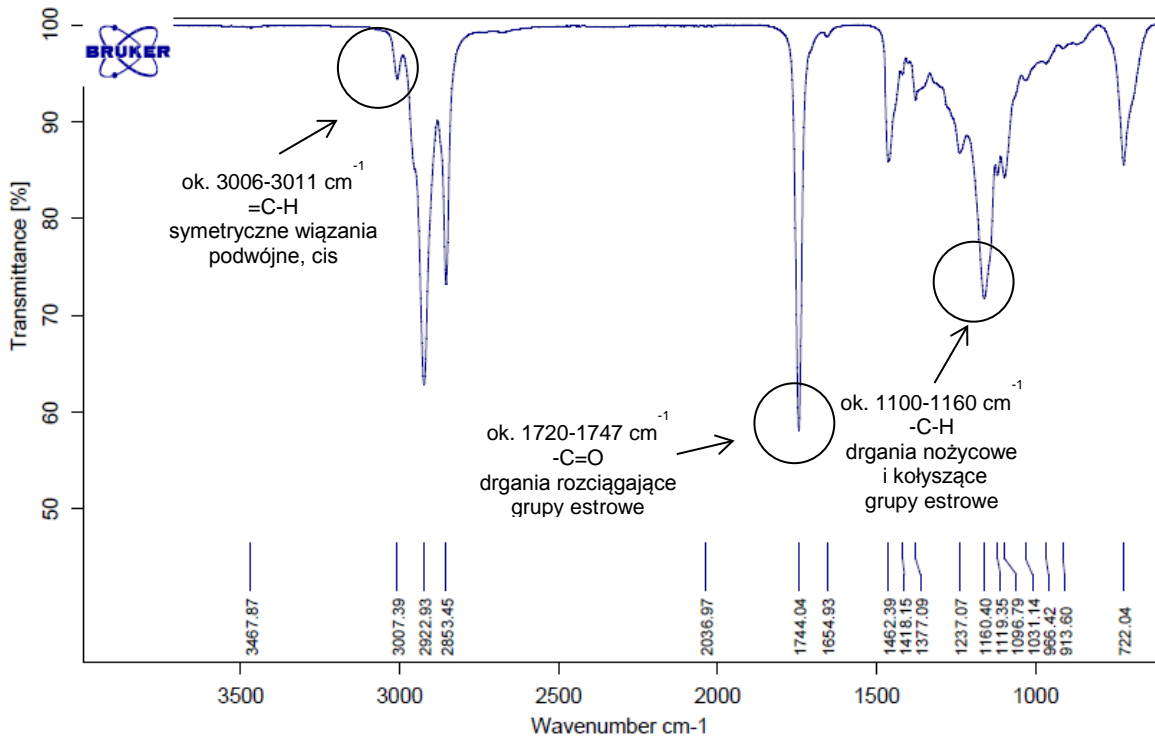
Rysunek A1-12. Widmo UV T - oleju turbinowego (0,25 mg oleju/ml n-C6)

## A2. Zestawienie widm FT-MIR składników oraz grup składników olejów bazowych oraz smarowych (wg wykazu próbek z tabeli 4)

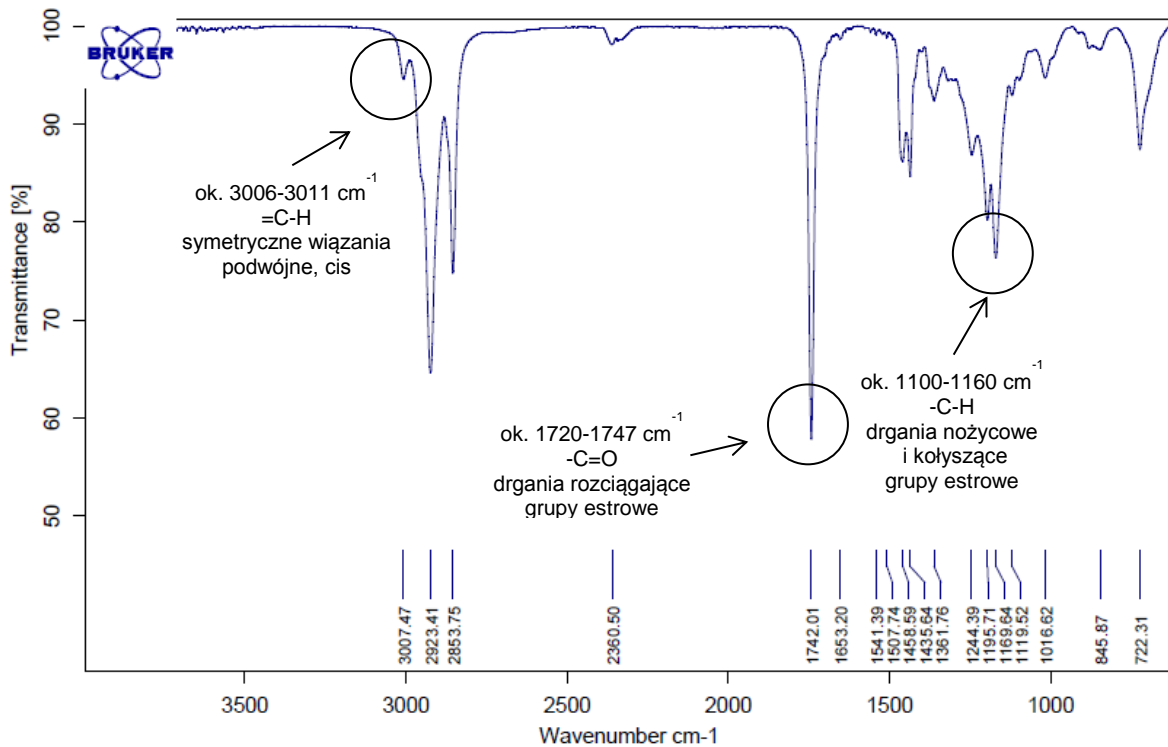
Na poniższych widmach FT-MIR oznaczono wybrane fragmenty, charakterystyczne dla olejów pochodzenia naturalnego(roślinnego).



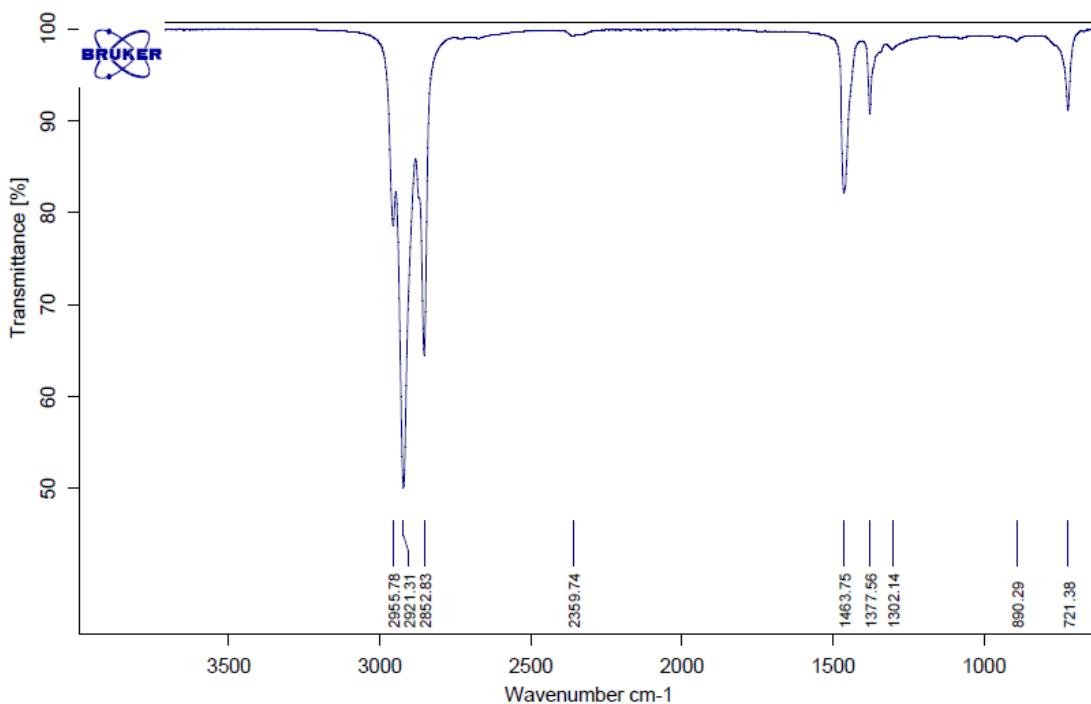
Rysunek A2-1. Widmo FT-MIR oleju słonecznikowego, jadalnego (TAG1)



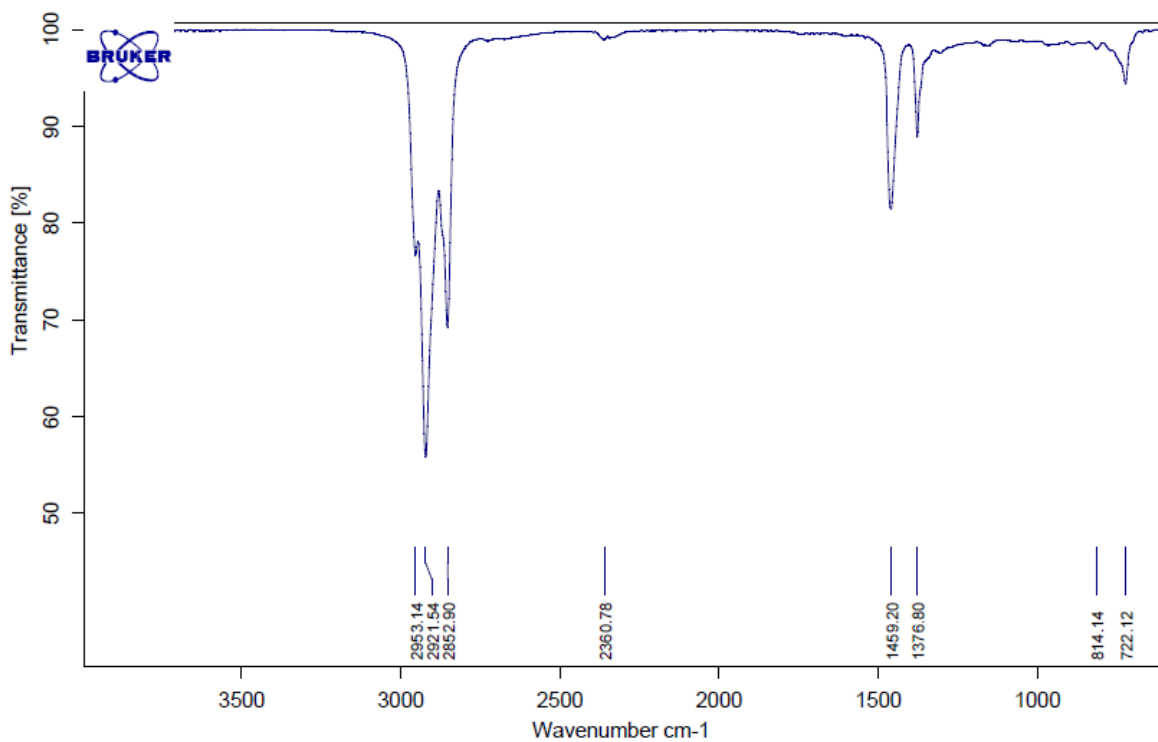
Rysunek A2-2. Widmo FT-MIR oleju rzepakowego, jadalnego (TAG2)



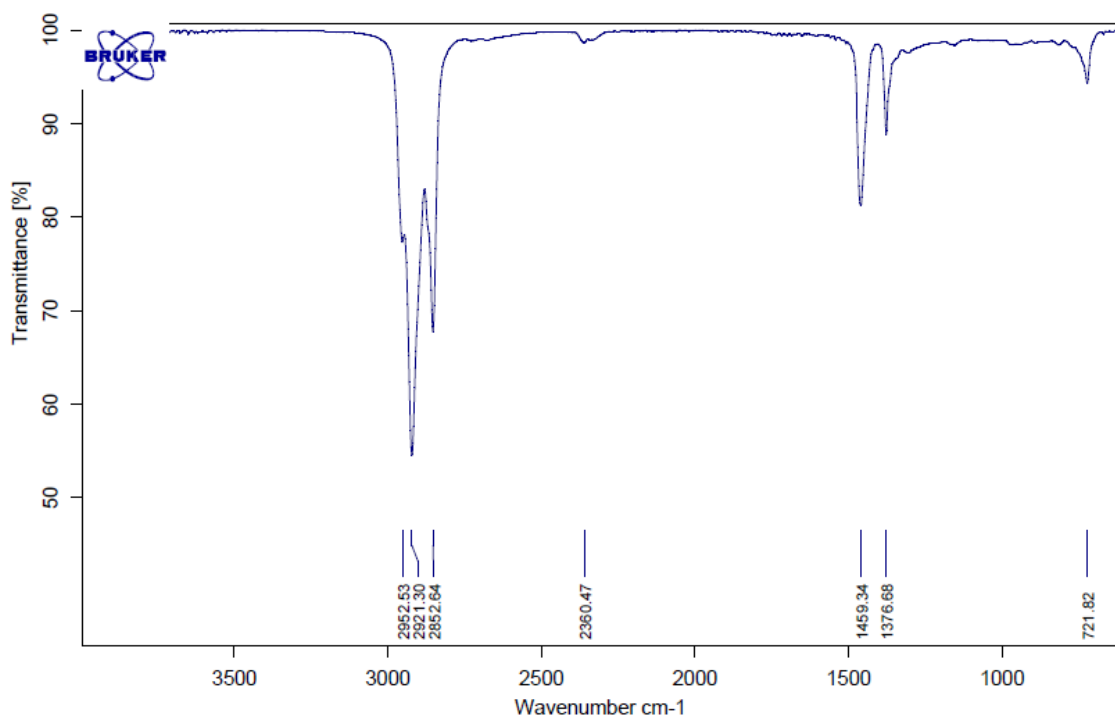
Rysunek A2-3. Widmo FT-MIR FAME techniczne (FAME)



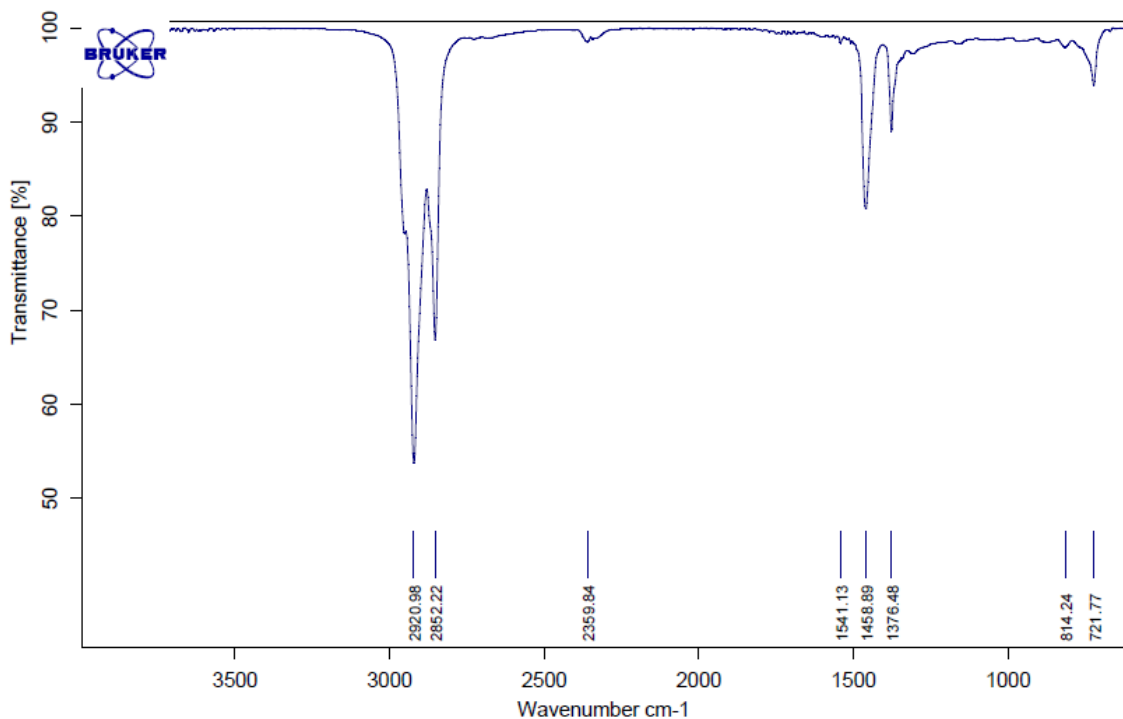
Rysunek A2-4. Widmo FT-MIR bazy olejowej syntetycznej typu polialfaolefinowego (PAO)



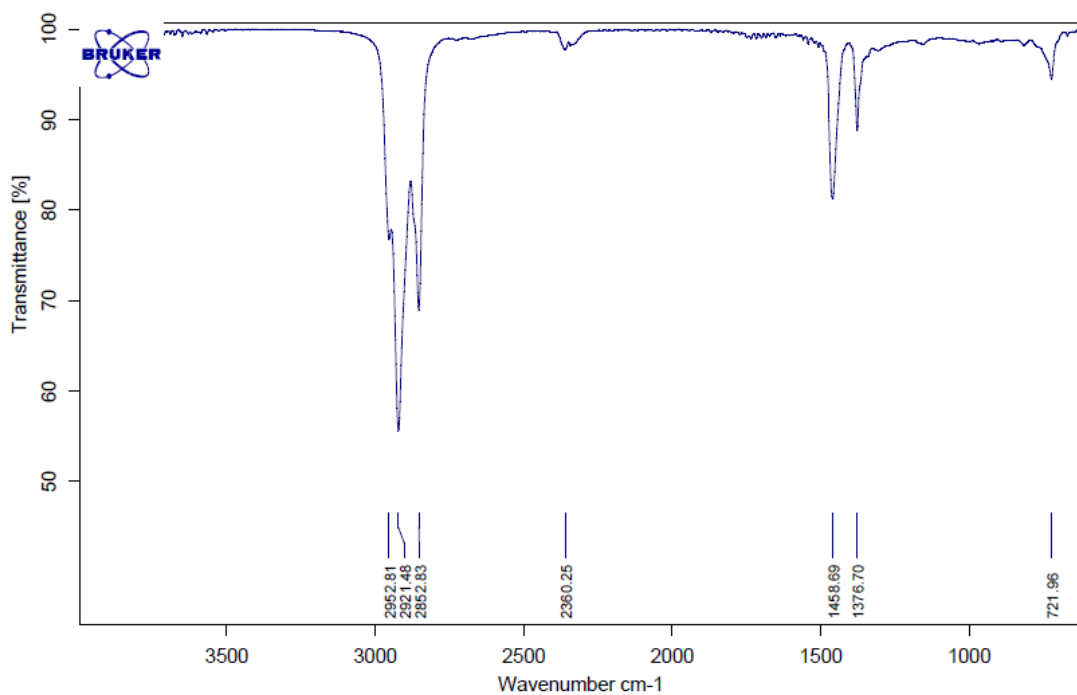
Rysunek A2-5. Widmo FT-MIR mineralnej bazy olejowej SAE 10/90 (S10)



Rysunek A2-6. Widmo FT-MIR mineralnej bazy olejowej SAE 30/90 (S30)

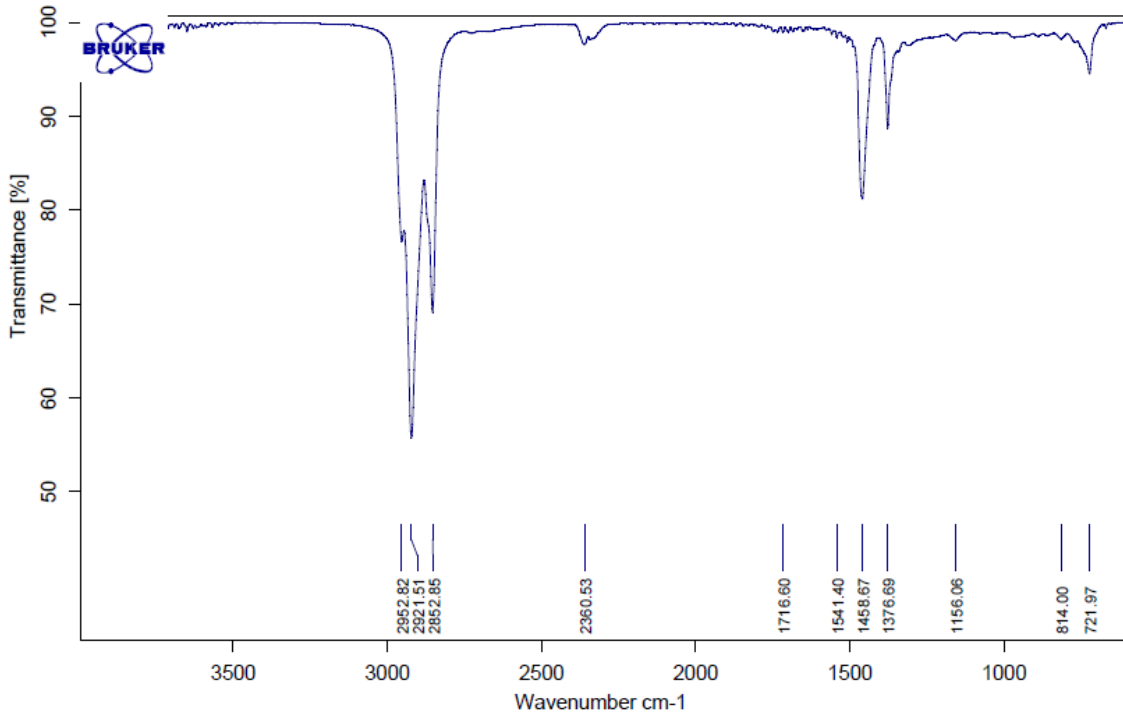


Rysunek A2-7. Widmo FT-MIR Brightstock'u – olej bazowy pochodzący z rafinacji pozostałości próżniowej ropy naftowej (BS)

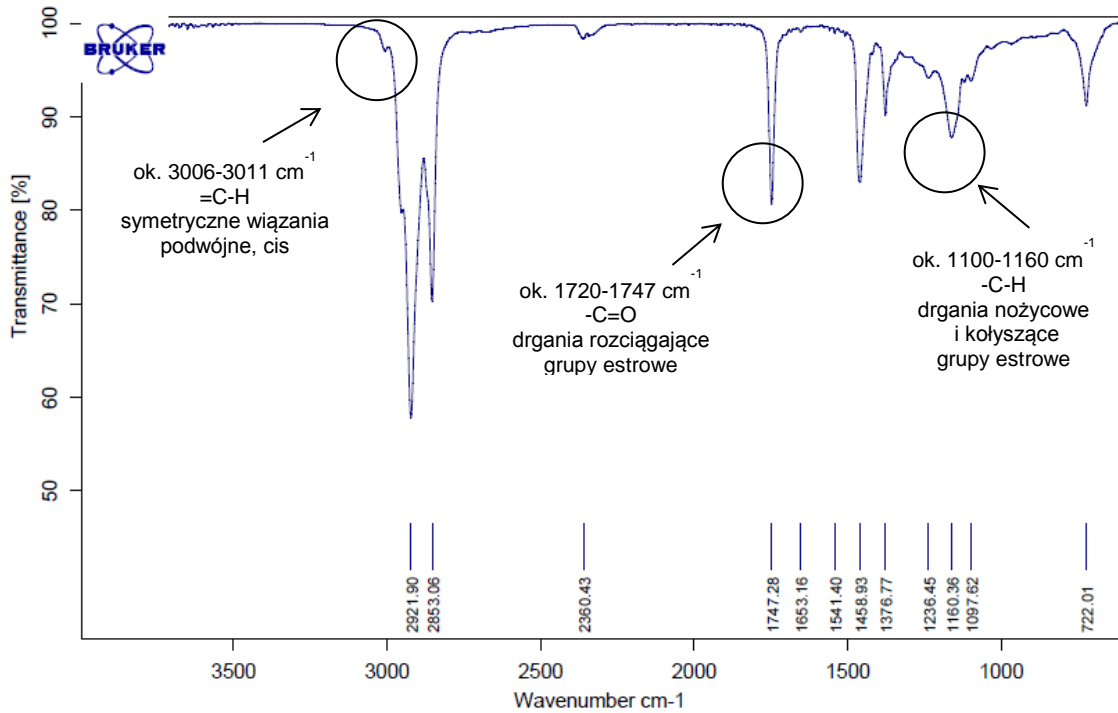


Rysunek A2-8. Widmo FT-MIR oleju hydraulicznego (H)

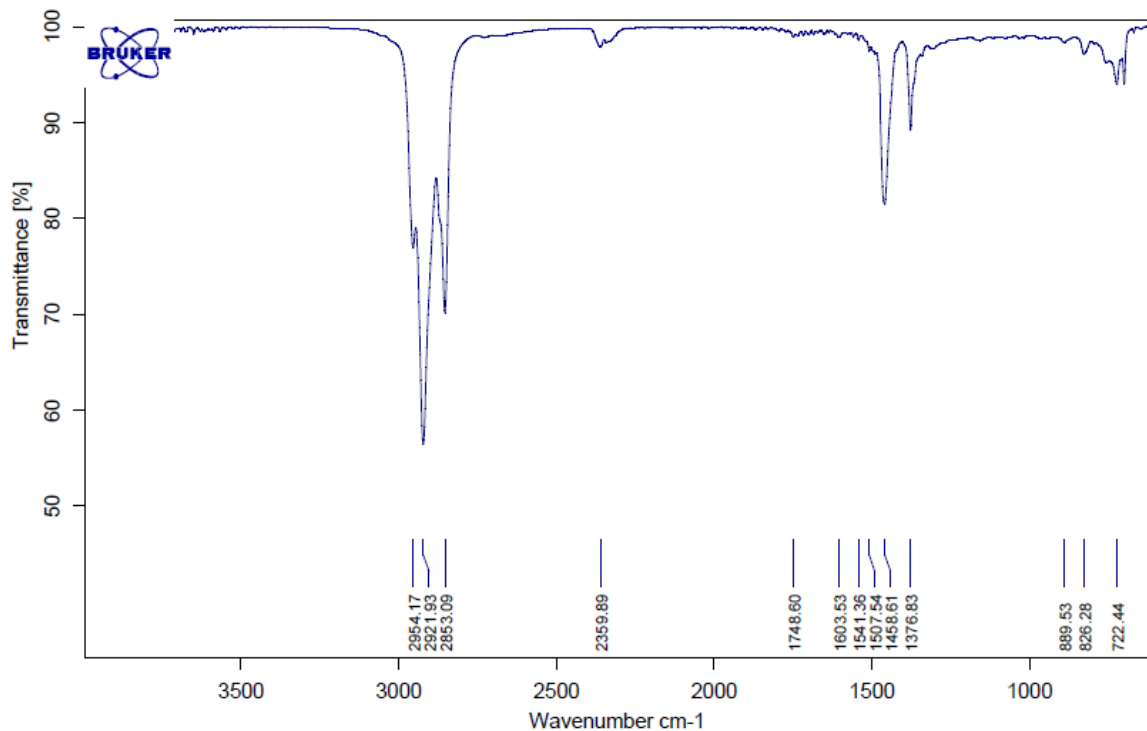




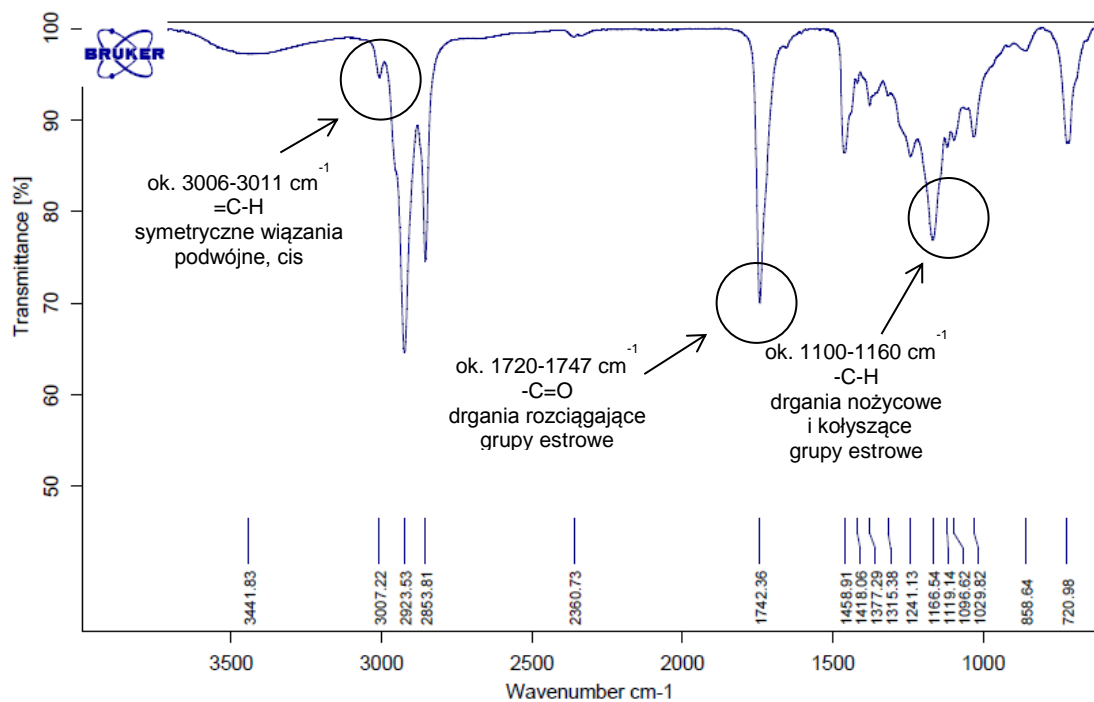
Rysunek A2-9. Widmo FT-MIR oleju turbinowego (T)



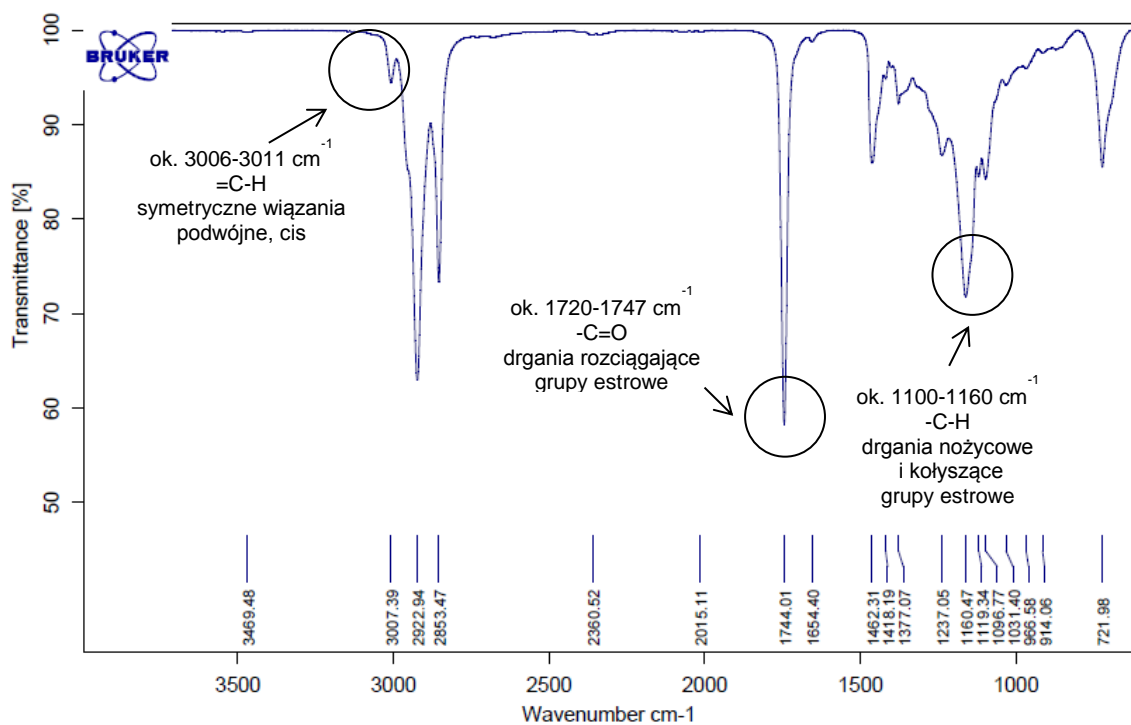
Rysunek A2-10. Widmo FT-MIR oleju do smarowania układu tnącego produkowanego na bazie mieszaniny baz roślinnej oraz mineralnej z dodatkami uszlachetniającymi (O1)



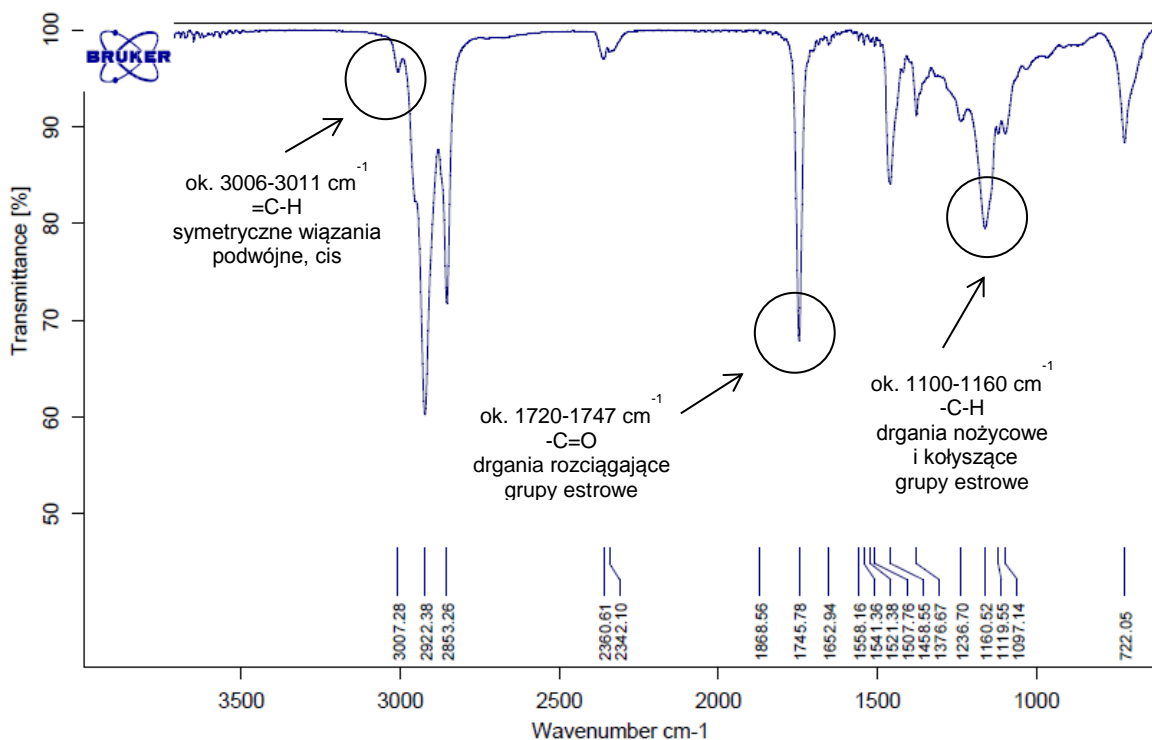
Rysunek A2-11. Widmo FT-MIR oleju maszynowego, mineralnego (O2)



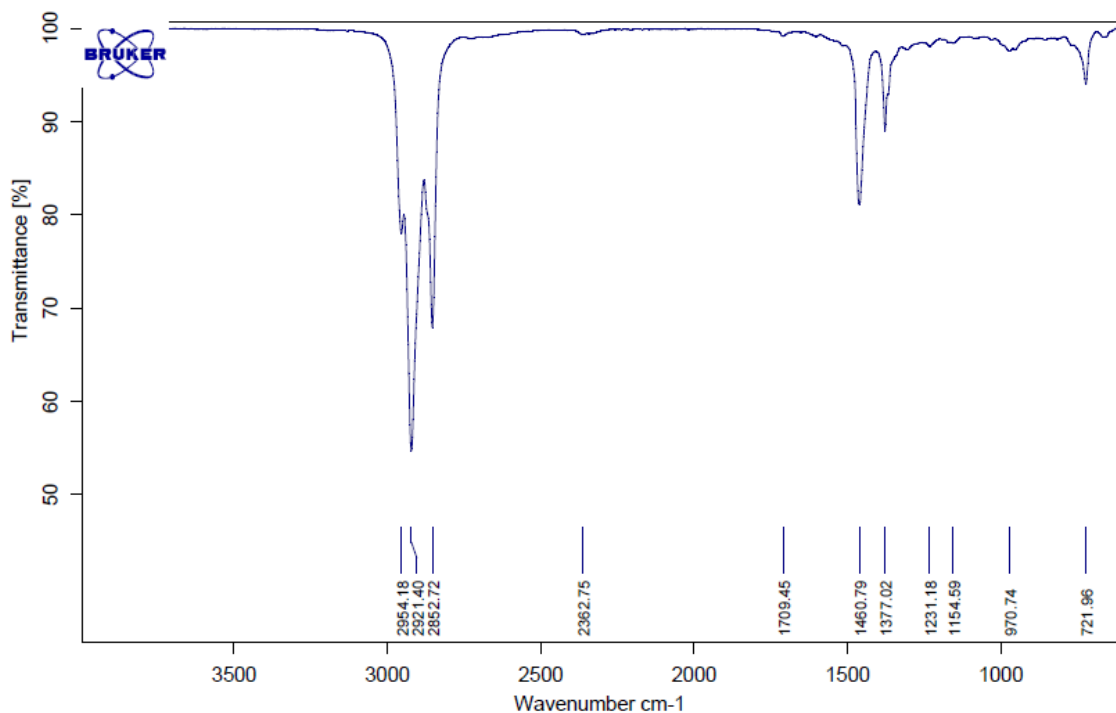
Rysunek A2-12. Widmo FT-MIR oleju do smarowania układu tnącego produkowanego na bazie roślinnej z dodatkami uszlachetniającymi (O3)



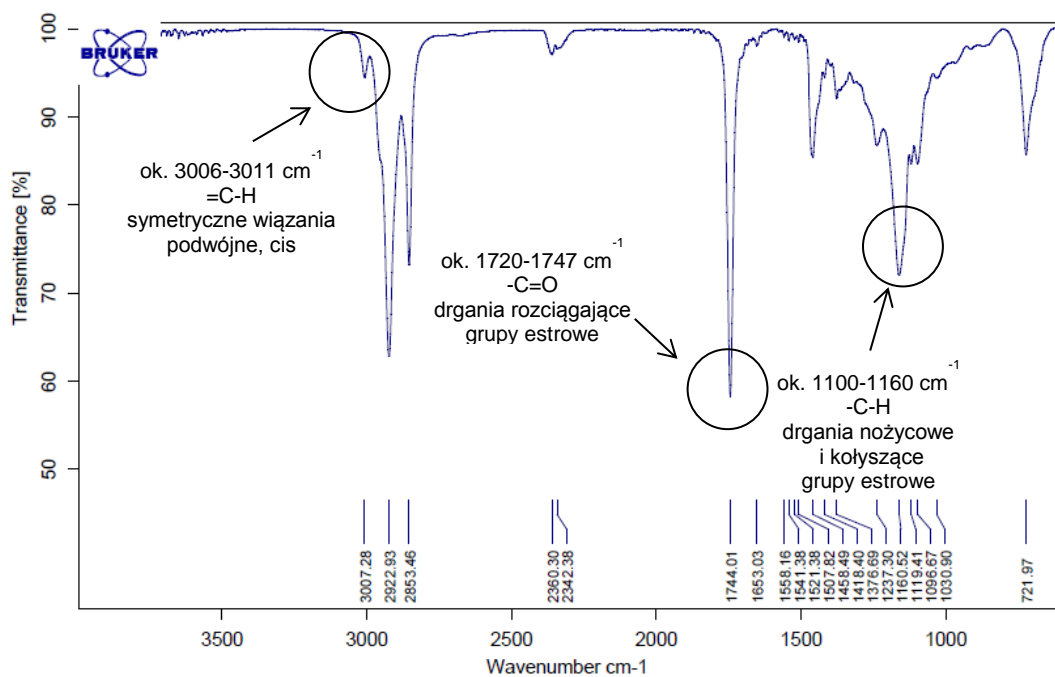
Rysunek A2-13. Widmo FT-MIR oleju zużytego - frytury (O4)



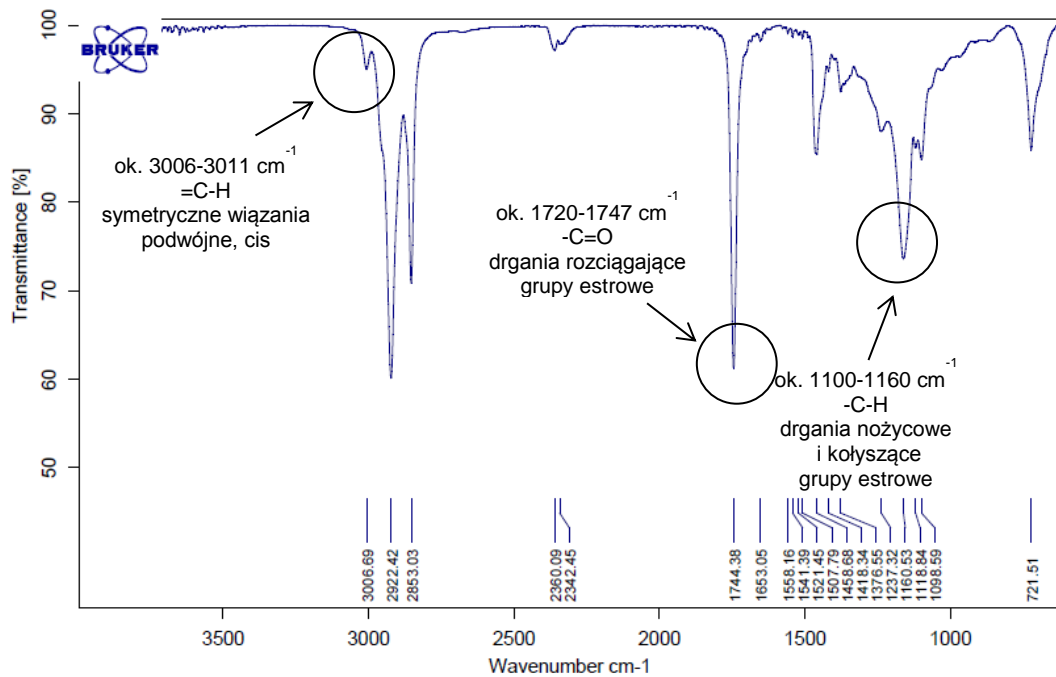
Rysunek A2-14. Widmo FT-MIR wysokiej jakości oleju smarowego do pił łańcuchowych, komercyjnie dostępnego (O5)



Rysunek A2-15. Widmo FT-MIR oleju silnikowego, syntetycznego typu polialfaolefinowego, komercyjnie dostępnego (O6)



Rysunek A2-16. Widmo FT-MIR w pełni biodegradowalnego preparatu konserwująco-smarowego do układów tnących pilarek, nowej kompozycji (O7)



Rysunek A2-17. Widmo FT-MIR oleju do smarowania układów tnących- pilarek, komercyjnie dostępny (O8)



### A3. Przykład rozszerzonego raportu z badań 5 olejów smarowych z wykorzystaniem opracowanej procedury (metoda kroplowa, badanie widm UV-Vis i FT-MIR oraz NP-TLC) dla RDLP w Gdańsku

Kolorem żółtym zostały oznaczone dane wrażliwe

Gdańsk, 15.12.2017r.

Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny  
Katedra Inżynierii Chemicznej i Procesowej  
ul. G. Narutowicza 11/12 80-233 Gdańsk  
prof. dr hab. inż. Marian Kamiński, prof. zw. PG

#### RAPORT z BADAŃ

Dotyczy: Zlecenie na wykonanie badań próbek olejów do urządzeń tnących z dnia 28.11.2017r.

#### INFORMACJE PODSTAWOWE

Lp.	Nazwa Próbkki	Data badania terenowego (dzień.miesiąc.rok)	Punkt pobrania próbki (kanister/zbiornik urządzenia tnącego)	Adres leśny	Deklarowany producent oleju
1.	Próbka 1	31.10.2017r.	Kanister	Dane wrażliwe	Dane wrażliwe
2.	Próbka 2	31.10.2017r.	Kanister	Dane wrażliwe	Dane wrażliwe
3.	Próbka 3	31.10.2017r.	Zbiornik urządzenia tnącego	Dane wrażliwe	Dane wrażliwe
4.	Próbka 4	15.10.2017r.	Kanister	Dane wrażliwe	Dane wrażliwe
5.	Próbka 5	23.10.2017r.	Zbiornik urządzenia tnącego	Dane wrażliwe	Dane wrażliwe

#### Oleje referencyjne (odniesienia):

- TAG1 – olej roślinny, rzepakowy, spożywczy (komercyjnie dostępny)
- O1 – olej do smarowania łańcuchów pilarek, produkowany jako mieszanina olejów pochodzenia naftowego oraz roślinnego (komercyjnie dostępny)
- O2 – olej maszynowy, mineralny wyprodukowany na bazie pochodzenia naftowego (komercyjnie dostępny)
- O3 – olej smarowy produkowany na bazie roślinnej z pakietem dodatków uszlachetniających, komercyjnie dostępny

## ZAKRES BADAŃ

1. „Test kroplowy” – potwierdzenie lub wykluczenie obecności bazy olejowej oraz innych składników oleju pochodzenia naftowego w badanym oleju.
2. Ocena składu grupowego próbek oleju z wykorzystaniem trójstopniowej elucji w warunkach cienkowarstwowej chromatografii cieczowej w normalnym układzie faz (NP-TLC) oraz wizualizacji plamek w świetle  $\lambda = 365$  nm,  $\lambda = 254$  nm i po wywołaniu w oparach jodu w podwyższonej temperaturze.
3. Ocena składu grupowego próbek olejów do smarowania układów tnących pilarek z wykorzystaniem spektrofotometrii w zakresie ultrafioletu (UV)
4. Ocena składu grupowego próbek olejów do smarowania układów tnących pilarek z wykorzystaniem spektroskopii w średniej podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-MIR)

## OPIS I WYNIKI BADAŃ

### POTWIERDZENIE LUB WYKLUCZENIE W BADANYCH PRÓBKACH OLEJÓW OBECNOŚCI BAZY OLEJOWEJ ORAZ SKŁADNIKÓW OLEJU POCHODZENIA NAFTOWEGO Z WYKORZYSTANIEM METODY KROPLOWEJ

#### Aparatura i wyposażenie

Do badań z wykorzystaniem metody kroplowej zastosowano:

- czarną matową płytkę wykonaną z kopolimeru akrylonitrylo-butadieno-styrenowego o wymiarach 90x50x10 mm z 8 cylindrycznymi otworami o średnicy 10 mm i głębokości 7 mm (projekt własny),
- pipetę automatyczną o pojemności 10-100  $\mu$ l o zmiennej nastawie (LABMATE PRO, Warszawa, Polska) wraz z jednorazowymi tipsami,
- komorę fotograficzną o wymiarach 200x200x150 mm z dwoma otworami, jednym do wykonywania fotografii oraz drugim do obserwacji wyników,
- lampę rtęciową emitującą światło o długości fali  $\lambda = 365$  nm (producent: MR Chemie, Unna, Niemcy),
- aparat fotograficzny (Xiaomi, Redmi A2 Lite, 12Mpix, Hon Hai Precision Industry Co., Shenzhen, Chiny).

#### Wykonanie badania

##### Zasada metody

Badany materiał w objętości 0,25 ml wprowadza się do cylindrycznego wgłębienia w czarnej, matowej płytce wykonanej z kopolimeru akrylonitrylo-butadieno-styrenowego. Po wprowadzeniu badanej próbki na płytkę, umieszcza się ją w komorze fotograficznej. Następnie na płytkę emituje się światło nadfioletowe o długości fali „wzbudzenia”  $\lambda = 365$  nm przez lampę typu LED. Oświetlana płytka jest fotografowana i oceniana.

W przypadku, gdy próbka oleju zawiera olej mineralny (olej pochodzenia naftowego) lub inne składniki pochodzące z ropy naftowej w stężeniu wyższym od limitu detekcji opisywanej metodyki (LOD – Limit of Detection), tzn. 3% , kropla oleju oświetlona światłem lampy UV 365 nm wykazuje jasnoniebieską lub niebieską fluorescencję.

Obecność opisywanej powyżej fluorescencji umożliwia potwierdzenie obecności, a intensywność fluorescencji, ocenę zawartości składników oleju pochodzących z ropy naftowej (pochodzenia naftowego) - olejowej lub/i składników oleju. W przypadku niebiesko – granatowej fluorescencji (świecenia) plamki oleju, olej zawiera z bardzo wysokim prawdopodobieństwem tylko jednopierścieniowe struktury benzenu i jego alifatyczne i alicykliczne pochodne. Może to być bardzo wysoko rafinowany olej bazowy pochodzenia naftowego, niskolotny tzw. alkilat, albo naftowy olej zużyty,

np., zużyty olej turbinowy, lub innego rodzaju naftowy olej poddany procesowi katalitycznej hydrowy rafinacji. Jeśli próbka badanego oleju nie wykazuje fluorescencji, można stwierdzić, że taki olej nie zawiera naftowej bazy olejowej, ani pochodnych tejże, w zawartości powyżej ok. 3% bez oznaczania orientacyjnej zawartości tej frakcji.

Olej smarowy do pilarek, niewykazujący fluorescencji nie zawiera składników pochodzących z ropy naftowej. Jest to z reguły olej pochodzenia roślinnego, lub zwierzęcego, ewentualnie mieszanina tychże olejów, bez dodatków uszlachetniających. Olej smarowy do pilarek może zawierać biodegradowalną syntetyczną poliestrową bazę olejową i inne składniki tego typu (najczęściej pochodne kwasu bursztynowego) lub bazę olejową i inne składniki typu polialfaolefinowego (PAO), czy mieszaniny syntetycznych składników poliestrowych i polialfaolefinowych, stosowane obecnie w silnikowych olejach smarowych wysokiej jakości. Może też zawierać hydrokrakowaną, lub izomeryzowaną bazę olejową pochodzenia naftowego, całkowicie pozbawioną frakcji węglowodorów aromatycznych. Tego typu olej składają się z bardzo trwałych najczęściej syntetycznych związków chemicznych, podobnych do poliizoetylenu, czy poliizopropylenu, jednak o niższych masach cząsteczkowych, lub z syntetycznych poliestrów oraz mieszanin tych organicznych związków chemicznych. Wówczas, nie ma miejsca zjawisko absorpcji światła UV w zakresie od ok. 250 nm, ani zjawisko fluorescencji w widzialnym zakresie długości fali światła.

## Wyniki badań



Rysunek Z4-1. Fotografia zestawienia wyników badań dla olejów referencyjnych i badanych próbek w świetle  $\lambda = 365 \text{ nm}$

## Wnioski

Badania (rysunek Z4-1) wykazały, że:

- Oleje odniesienia O1 oraz O2, a także badane próbki 1,3,4, oraz 5 wykazują wyraźną jasno niebieską fluorescencję pod wpływem światła UV o długości fali 365 nm, co oznacza, że każdy z tych olejów zawiera istotne udziały składników pochodzenia naftowego;
- Oleje odniesienia TAG1 oraz O3, a także próbka 2 nie wykazują fluorescencji pod wpływem światła UV o długości fali 365 nm, co oznacza, że nie zawierają składników pochodzenia naftowego;

## BADANIE SKŁADU GRUPOWEGO PRÓBEK OLEJÓW DO SMAROWANIA UKŁADÓW TNĄCYCH PILAREK Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROFOTOMETRII UV-Vis

### Zasada metody

Frakcja pochodzenia naftowego charakteryzuje się wyraźnym maksimum w zakresie  $\lambda = 265 \text{ nm}$  zakresem absorpcji światła UV do ok.  $\lambda = 310 \text{ nm}$ . Frakcja pochodzenia roślinnego charakteryzuje się wysoką absorpcją światła przy długości fali ok.  $\lambda = 230 \text{ nm}$ . Przy nieobecności frakcji węglowodorów

aromatycznych możliwa jest ocena obecności i zawartości składników naturalnego oleju roślinnego, - maksimum absorpcji przy długości fali ok. 212 nm i zakres do ok. 250 nm.

### **Odczynniki i materiały**

Rozpuszczalnikiem badanych próbek był n-heksan (n-C<sub>6</sub>) (czystość do HPLC, Merck Darmstadt, Niemcy), który nie wykazywał absorpcji światła powyżej 200 nm.

### **Aparatura i wyposażenie**

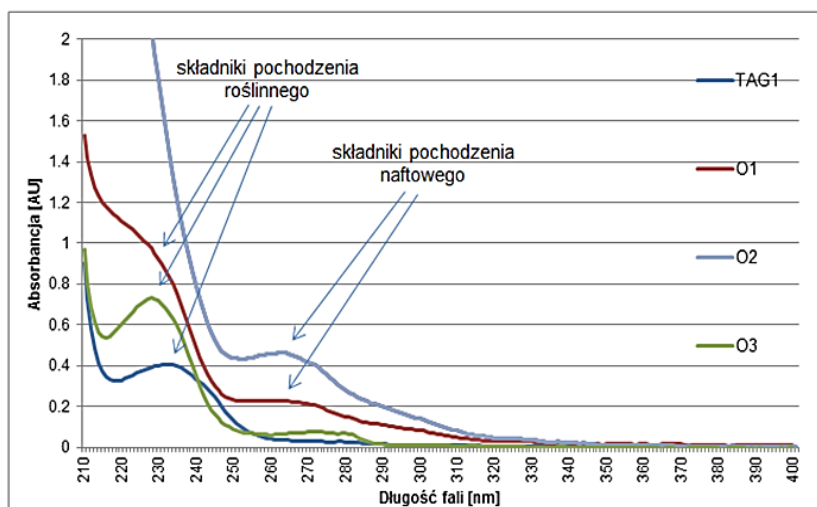
Do wykonania badań widm UV-Vis wykorzystano:

- kuwetę kwarcową o długości drogi optycznej 1 cm,
- pipetę automatyczną o pojemności 100-1000  $\mu$ l o zmiennej nastawie (LABMATE PRO, Warszawa, Polska) wraz z jednorazowymi tipsami,
- spektrofotometr HP DAD 8452A (Agilent, Kalifornia, USA) podłączony do komputera stacjonarnego z oprogramowaniem Chemstation UV (oprogramowanie B.02.01, Agilent, Kalifornia, USA).

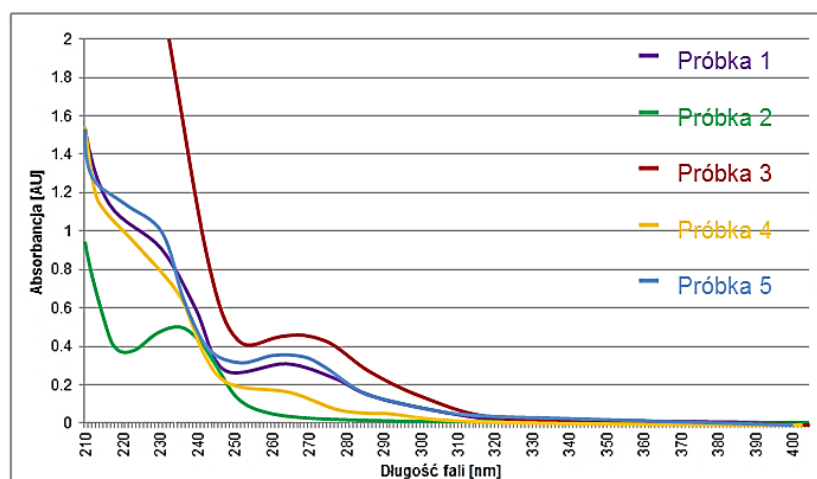
### **Wykonanie badania**

Przygotowano roztwór badanej próbki w n-heksanie uzyskując stężenie 0,25 mg/ml. Jako tło zastosowano widmo czystego n-heksanu, a widmo próbki zarejestrowano sekwencyjnie w trzech powtórzeniach dla każdej próbki, aby otrzymać jednoznaczne i powtarzalne wyniki. Widma UV wykonywano dla objętości próbki równej - 2,5 ml roztworów analitu, umieszczonej w kwarcowej kuwecie. Po wykonaniu widma UV, a przed nałożeniem nowej próbki oczyszczano kuwetę pomiarową czystym n-heksanem. Badanie prowadzono przy prędkości skanowania 400 nm/min, w zakresie pomiarowym absorpcji od 0 do 1,6 oraz w zakresie długości fali od 200 do 400 nm. Test należy przeprowadzić w temperaturze 20°C $\pm$ 1°C.

## Wyniki badań



Rysunek A4-2. Nałożone widma UV 4 próbek olejów odniesienia o stężeniu 0,25 mg oleju /ml n-heksanu dla zakresu długości fal od 210-400 nm (TAG1 – olej roślinny, rzepakowy, jadalny, O1-olej smarowy produkowany na bazie mieszanki oleju roślinnego oraz naftowego, O2- olej maszynowy, mineralny, O3- olej smarowy produkowany na bazie roślinnej z dodatkami uszlachetniającymi)



Rysunek A4-3. Nałożone widma UV 5 próbek badanych olejów o stężeniu 0,25 mg oleju/ml n-heksanu dla zakresu długości fal od 210-400 nm

## Wnioski

Badania (rysunek A4-2 oraz A4-3) wykazały, że:

- Oleje odniesienia O1 oraz O2, a także badane próbki 1,3,4, oraz 5 charakteryzują się słabo wykształconym maksimum absorpcji przy długości fali ok.  $\lambda=230$  nm oraz wyraźnym maksimum absorpcji przy długości fali w zakresie  $\lambda=265$  nm, co oznacza, że każdy z tych olejów zawiera istotne udziały składników pochodzenia naftowego;
- Oleje odniesienia TAG1 oraz O3, a także próbka 2 charakteryzują się wykształconym maksimum absorpcji przy długości fali ok.  $\lambda=230$  nm oraz brakiem maksimum absorpcji przy długości fali w zakresie  $\lambda=265$  nm, co świadczy o braku obecności frakcji węglowodorów aromatycznych, oraz obecności frakcji olejów pochodzenia roślinnego.



# BADANIE SKŁADU GRUPOWEGO PRÓBEK OLEJÓW DO SMAROWANIA UKŁADÓW TNAĆYCH PILAREK Z WYKORZYSTANIEM SPEKTROSKOPII W ZAKRESIE ŚREDNIEJ PODCZERWIENI Z TRANSFORMACJĄ FOURIERA (FT-MIR)

## Zasada metody

Analiza widm FT-IR pozwala stwierdzić, że w badanych próbkach olejów w zakresie liczb falowych 3006-3011  $\text{cm}^{-1}$ , który odpowiada wiązaniu =C-H, charakterystycznym dla symetrycznych wiązań podwójnych cis obecnych w grupach estrowych, które występują w olejach pochodzenia roślinnego. Można również zaobserwować występowanie sygnału dla pasma ok. 1720  $\text{cm}^{-1}$ . W tym obszarze można spodziewać się sygnału związanego z drganiami rozciągającymi grupy karbonylowej C=O występującymi w wiązaniu estrowym. Drgania te nie występują w oleju naftowym, z uwagi na brak frakcji roślinnej. Pewna niewielka obecność tych fragmentów widma może mieć miejsce w przypadku dodania do oleju niektórych grup tzw. przeciwutleniaczy. Ponadto, ze wzrostem udziału oleju roślinnego w mieszaninie z olejem naftowym, sygnał rośnie. Sygnał występujący ok. 1100  $\text{cm}^{-1}$  odpowiada drganiom rozciągającym wiązania C-O-C z grupy estrowej. Jest to sygnał charakterystyczny w przypadku obecności olejów jadalnych i nie występuje w oleju naftowym.

## Odczynniki

W badaniu widm FT-MIR do czyszczenia okienka pomiarowego stosowano aceton (czda, Chempur, Piekary Śląskie, Polska).

## Aparatura i wyposażenie

Do wykonania badań widm FT-MIR wykorzystano:

- pipetę automatyczną o pojemności 10-100  $\mu\text{l}$  o regulowanej nastawie (LABMATE PRO, Warszawa, Polska) wraz z jednorazowymi tipsami,
- aparat Bruker Tensor 27 z nakładką ATR (Bruker, Tucson, stan Arizona, USA) wraz z komputerem stacjonarnym z oprogramowaniem OPUS (wersja oprogramowania 2.1b, Bruker, Tucson, USA),
- szczelinomierz Yato YT- 100mm 002-1mm (TOYA S.A., Wrocław, Polska).

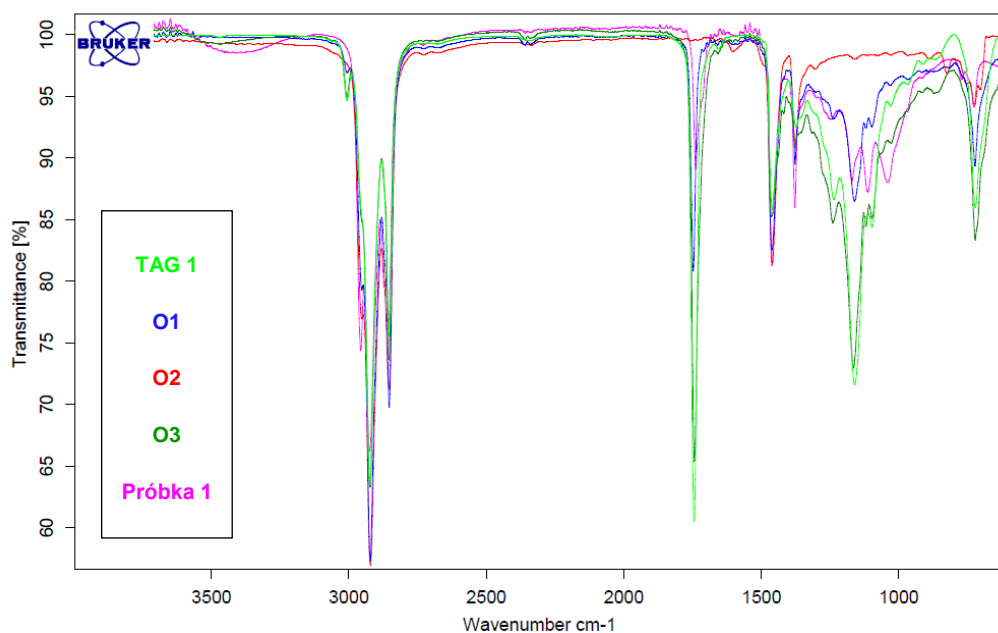
## Wykonanie badania

Wykonano widmo powietrza jako widmo odniesienia. Na powierzchnię okienka pomiarowego aparatu Bruker Tensor 27 z nakładką ATR nanoszono próbkę badanego oleju w surowej postaci bez rozcieńczania. Badanie wykonano sekwencyjnie w trzech powtórzeniach dla każdej próbki (dla każdej próbki wykonano 3 widma), aby utrzymać spójne i powtarzalne wyniki. Badanie widm wykonano FT-MIR stosując za każdym razem te same warunki badania:

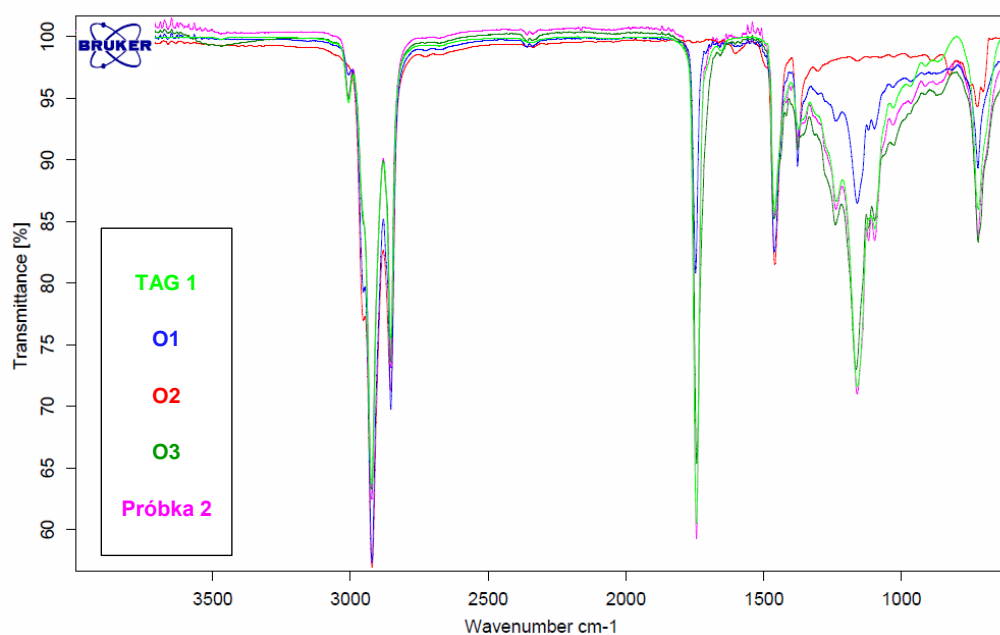
- objętość próbki: 15  $\mu\text{l}$ ,
- rozdzielczość: 4  $\text{cm}^{-1}$ ,
- ilość skanów próbki: 256 skanów,
- ilość skanów tła: 256 skanów,
- zakres liczby falowej: 4000  $\text{cm}^{-1}$  do 600  $\text{cm}^{-1}$ ,
- szczelina: 0,5 cm (ustawiona z wykorzystaniem szczelinomierza),
- temperatura: w zakresie od 15 do 25°C (temp. pokojowa).

Po wykonaniu widma badanej próbki, każdorazowo należy oczyszczać okienko pomiarowe niepyłącą chusteczką nasączoną acetonem. Kolejne próbki należy nakładać dopiero po odparowaniu acetonu.

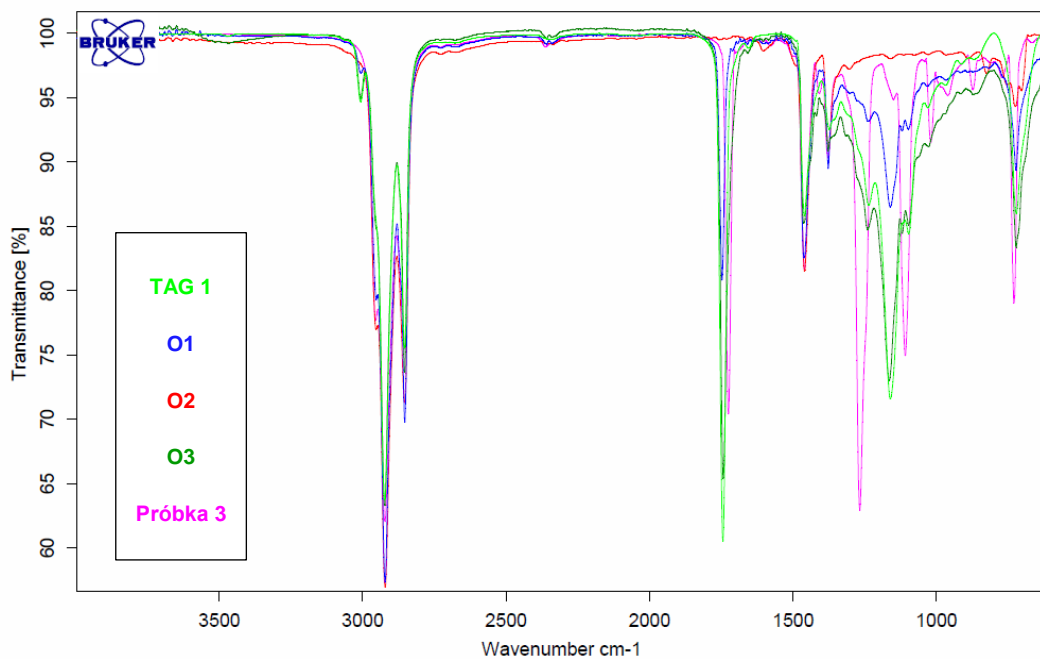
## Wyniki badań



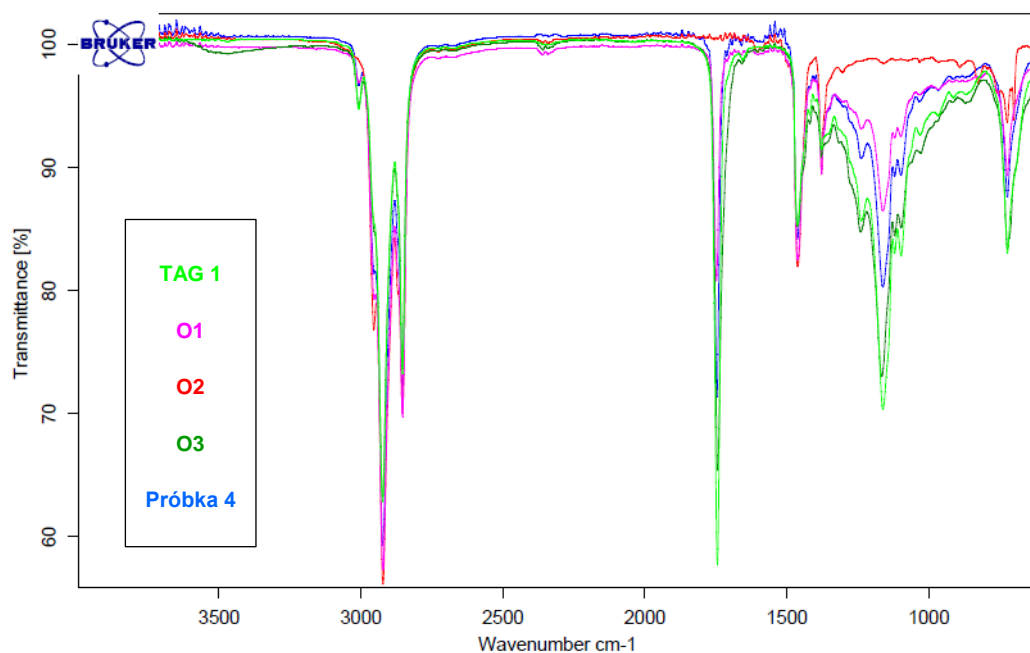
Rysunek A4-4. Nałożone widma FT-MIR dla: TAG1– olej roślinny, rzepakowy, jadalny; O1 - olej do smarowania łańcuchów pilarek, mieszanka olejów pochodzenia naftowego oraz roślinnego; O2- olej maszynowy, mineralny; O3- w pełni biodegradowalny olej do smarowania łańcuchów pilarek; próbka 1



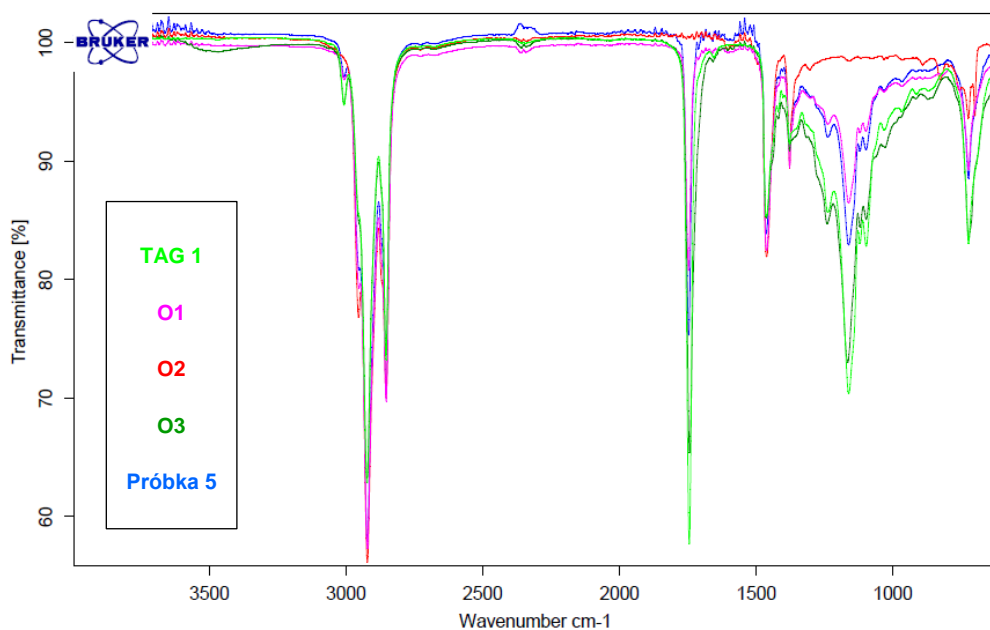
Rysunek A4-5. Nałożone widma FT-MIR dla: TAG1– olej roślinny, rzepakowy, jadalny; O1 - olej do smarowania łańcuchów pilarek, mieszanka olejów pochodzenia naftowego oraz roślinnego; O2- olej maszynowy, mineralny; O3- w pełni biodegradowalny olej do smarowania łańcuchów pilarek; próbka 2



Rysunek A4-6. Nałożone widma FT-MIR dla: TAG1– olej roślinny, rzepakowy, jadalny; O1 - olej do smarowania łańcuchów pilarek, mieszanka olejów pochodzenia naftowego oraz roślinnego; O2- olej maszynowy, mineralny; O3- w pełni biodegradowalny olej do smarowania łańcuchów pilarek; próbka 3



Rysunek A4-7. Nałożone widma FT-MIR dla: TAG1– olej roślinny, rzepakowy, jadalny; O1 - olej do smarowania łańcuchów pilarek, mieszanka olejów pochodzenia naftowego oraz roślinnego; O2- olej maszynowy, mineralny; O3- w pełni biodegradowalny olej do smarowania łańcuchów pilarek; próbka 4



Rysunek A4-8. Nałożone widma FT-MIR dla: TAG1– olej roślinny, rzepakowy, jadalny; O1 - olej do smarowania łańcuchów pilarek, mieszanina olejów pochodzenia naftowego oraz roślinnego; O2- olej maszynowy, mineralny; O3- w pełni biodegradowalny olej do smarowania łańcuchów pilarek; próbka 5

## Wnioski

Na podstawie analizy wyników (rysunki od A4-4 do A4-8) można stwierdzić, że:

- Olej odniesienia O1, a także badane próbki 1,3,4, oraz 5 charakteryzują się podobnym widmem, co oznacza, że każdy z tych olejów zawiera istotne udziały składników pochodzenia naftowego;
- Oleje odniesienie TAG1 oraz O3, a także badane próbki 4 oraz 5 charakteryzują się występowaniem sygnału dla pasma ok.  $1720\text{ cm}^{-1}$ , w tym obszarze można spodziewać się sygnału związanego z drganiami rozciągającymi grupy karbonylowej C=O występującymi w wiązaniu estrowym oraz występowaniem sygnału ok.  $1100\text{ cm}^{-1}$ , który odpowiada drganiom rozciągającym wiązania C-O-C z grupy estrowej, który jest sygnałem charakterystycznym w przypadku obecności olejów roślinnych i nie występuje w oleju naftowym;
- Olej w próbce 2 to nie zawiera składników pochodzenia naftowego, a wyłącznie składniki oleju roślinnego.

# BADANIE SKŁADU GRUPOWEGO PRÓBEK OLEJÓW DO SMAROWANIA UKŁADÓW TNĄCYCH PILAREK Z WYKORZYSTANIEM CIENKOWARSTWOWEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ W NORMALNYM UKŁADZIE FAZ (NP-TLC)

## Zasada metody

Plamki rozdzielanej próbki ujawnione za pomocą oparów jodu lub pod światłem o długości fali  $\lambda = 254 \text{ nm}$  i  $\lambda = 365 \text{ nm}$  porównuje się z plamkami wzorca. Następnie wyznacza się parametry takie jak: współczynnik  $R_f$  (stosunek drogi przebytej przez środek plamki analizowanej substancji,  $a$ , do drogi czoła fazy ruchomej,  $b$ ), współczynnik retencji  $k$ , oraz współczynnik  $R_m$  ( $R_m = \log k$ ).

## Materiały i odczynniki

Rozpuszczalnikiem badanych próbek z wykorzystaniem techniki TLC były dichlorometan (czda, Chempur, Piekary Śląskie, Polska).

Wykorzystano płytki TLC Silica GEL 60 F254s na blasze aluminiowej o wymiarach 200x200mm (Merck, Darmstadt, Niemcy).

Jako fazy ruchome zastosowano:

- Heksan, cz. do HPLC (Merck, Niemcy),
- Toluen, czda (POCH, Polska),
- Dichlorometan, czda (Chempur, Polska),
- Metanol, czda (Merck, Niemcy).

## Aparatura i wyposażenie

Do rozdzielania techniką TLC, suszenia płytek chromatograficznych oraz wizualizacji wyników rozdzielania w świetle UV-Vis wykorzystano:

- szklaną komorę chromatograficzną o wymiarach 250x50x200mm (Duran, Lingeal Chemicals, Warszawa, Polska) ze szklaną pokrywą oraz celulozową bibułą filtracyjną (Merck Darmstadt, Niemcy), która wyłożona była na trzech ścianach komory,
- szklany eksykator o średnicy 250 mm, zawierający aktywny środek suszący (bezwodny siarczan sodu czda, WarChe, Warszawa, Polska),
- lampę UV (typ TB 02, UV TB Telebid, Warszawa, Polska),
- szklany eksykator o średnicy 250 mm z jodem krystalicznym ( $30 \text{ g I}_2 / \text{dm}^3$ ),
- suszarkę TLC: TK-8 (Iatron Labs, Tokyo, Japonia),
- aparat fotograficzny (Xioami, Redmi A2 Lite, 12Mpix, Hon Hai Precision Industry Co., Shenzhen, Chiny),
- szklana mikro-strzykawka o objętości 5 $\mu\text{L}$  (Hamilton, Nevada, USA),
- suszarka do włosów z zimnym nadmuchem powietrza (Silvercrest, Hamburg, Niemcy).

## Wykonanie badania

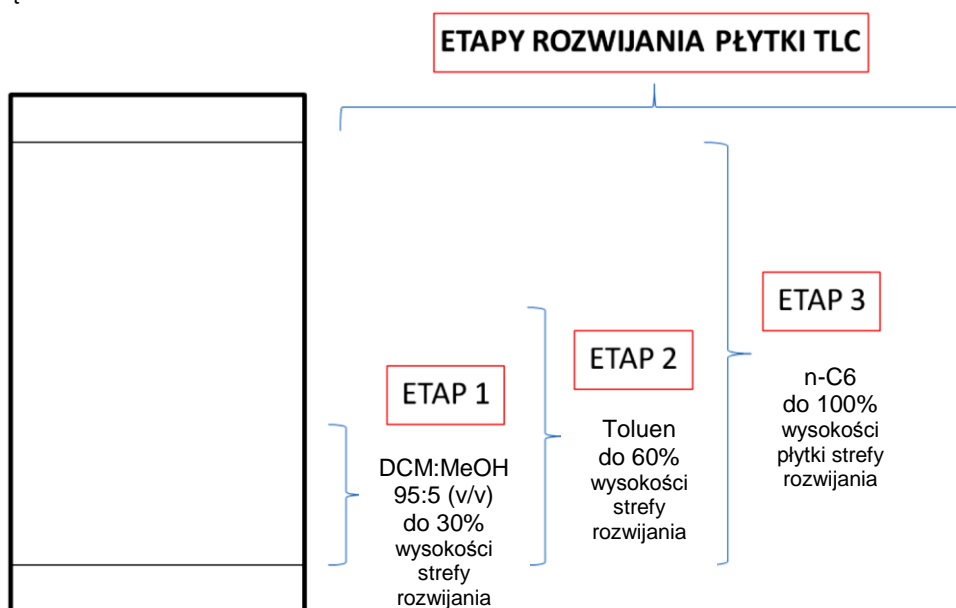
Na płytkę TLC nanoszono 5  $\mu\text{l}$  roztworu badanych próbek olejów o stężeniu 20 mg/ml, rozpuszczonych w dichlorometanie (DCM), za pomocą mikro-strzykawki. Zapewniono możliwie jak najmniejszą wielkość nanoszonej plamki. W tym celu podczas nanoszenia plamek roztworów olejów stosowano nadmuchi zimnego powietrza. Po odparowaniu rozpuszczalnika, płytkę umieszczano w komorze TLC zawierającej określoną fazę ruchomą. W zależności od etapu tzw. rozwijania chromatogramu TLC stosowano inną fazę ruchomą, a rozwijanie realizowano do różnej ustalonej wysokości (rysunek A4-9):

- 1 etap - pierwsze rozwijanie – mieszaniną dichlorometan: metanol 95:5 (v/v), do około 1/3 odległości między linią naniesienia próbek i górnym poziomem rozwijania chromatogramu TLC,
- 2 etap - drugie rozwijanie – toluenem do około 2/3 odległości między linią naniesienia próbek i górnym poziomem rozwijania chromatogramu TLC,



- 3 etap - trzecie rozwijanie n-heksanem do 100% odległości między linią naniesienia próbek i górnym poziomem rozwijania chromatogramu TLC.

Etapy rozwijania na płytce NP (Silicagel 60 F254, HX55003535 (Merck, Niemcy)- malejąca siła elucyjna).



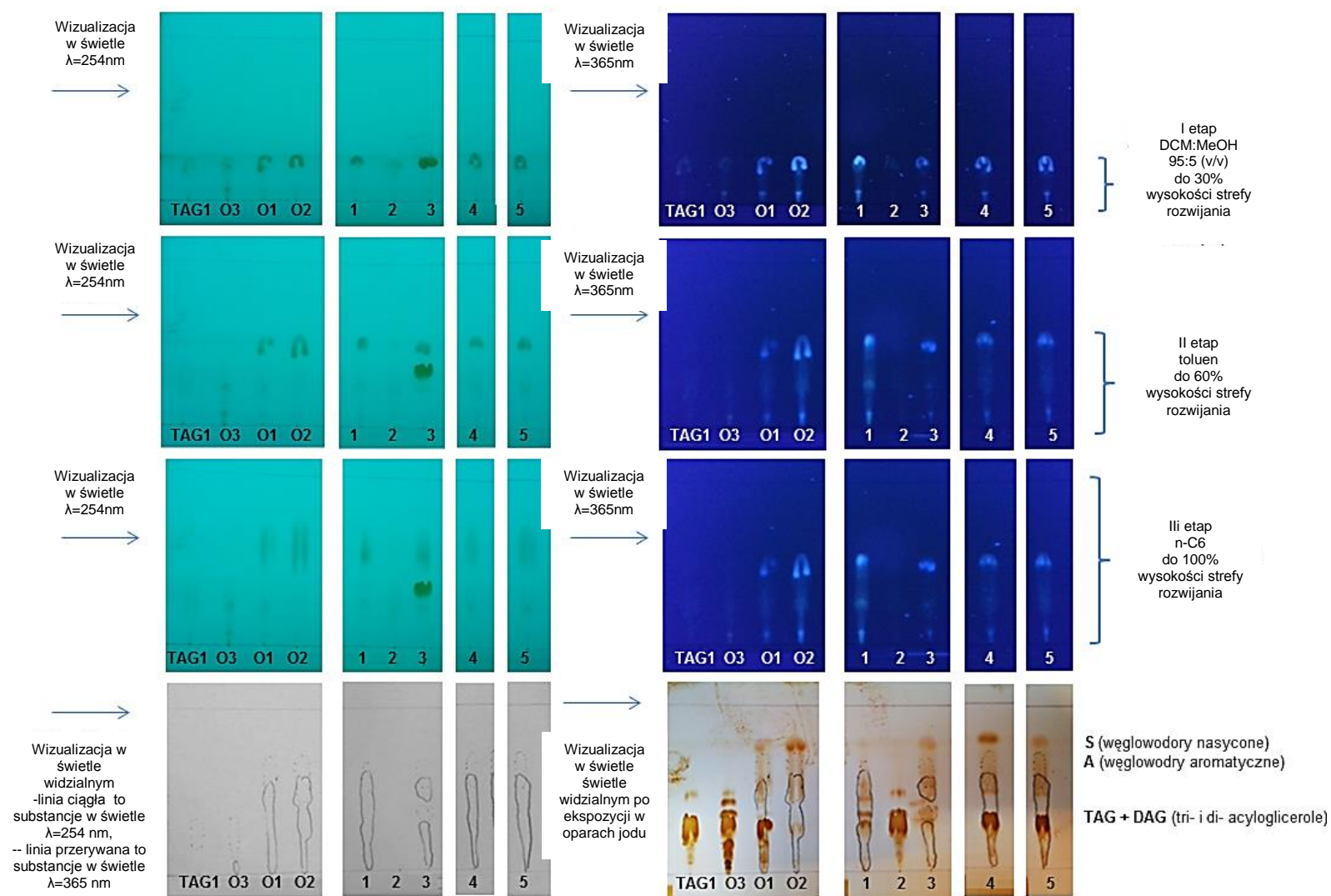
Rysunek A4-9. Schemat rozwijania chromatogramu NP-TLC

Po każdym etapie rozwijania chromatogramu TLC, płytkę wyjmowano z komory i suszono w suszarce w temperaturze 105°C przez 10 minut - w celu całkowitego odparowania fazy ruchomej. Następnie wykonywano fotografie powierzchni płytki pod lampą UV, przy oświetleniu płytki, oddzielnie - światłem o długości fali światła 254 oraz 365 nm. Po każdym etapie wykonania w/w fotografii po lampą UV zaznaczano ołówkiem linie na obwodzie plamek widocznych w warunkach odpowiedniego oświetlenia lampą 365 nm – linia ciągła (—) oraz 254 nm – linia przerywana (- - -).

Po ostatnim etapie rozwijania oraz po wysuszeniu i wykonaniu w/w fotografii, płytkę umieszczano w ekcykatorze z jodem na czas ok. 15 min. Ekcykator przed oraz w czasie badania podgrzewano do temperatury ok. 35-40°C. Po upływie wskazanego czasu, płytkę wyjmowano z ekcykatora i fotografowano.

Opisane powyżej czynności wykonywano pod wyciągiem.

## Wyniki badań



Rysunek A4-10. Zestawienie chromatogramów dla próbek odniesienia: TAG1, O1, O2, O3 oraz badanych próbek 1, 2, 3, 4 oraz 5

## Wnioski

Na podstawie analizy wyników (rysunek A4-10) można stwierdzić, że:

- porównanie plamek na chromatogramach NP-TLC materiałów odniesienia (olejów TAG1, O1, O2 oraz O3) odpowiadających plamkom na chromatogramach TLC badanych olejów pokazuje, że oleje oznaczone jako próbki 1 oraz 3 zawierają frakcję pochodzącą z ropy naftowej oraz praktycznie nie zawierają frakcji o charakterze olejów naturalnych;
- porównanie plamek na chromatogramach NP-TLC materiałów odniesienia (olejów TAG1, O1, O2 oraz O3) odpowiadających plamkom na chromatogramach TLC badanych olejów pokazuje, że olej oznaczony jako próbka 2 zawiera wyłącznie frakcję o charakterze olejów roślinnych;
- porównanie plamek na chromatogramach NP-TLC materiałów odniesienia (olejów TAG1, O1, O2 oraz O3) odpowiadających plamkom na chromatogramach TLC badanych olejów pokazuje, że oleje oznaczone jako próbki 4 oraz 5 zawierają zarówno frakcję pochodzenia roślinnego oraz w większej części pochodzenia naftowego.

## WNIOSKI KOŃCOWE

W tabeli A4-1 zestawiono wyniki badań z zastosowaniem wszystkich technik wykorzystanych w niniejszych badaniach. Na podstawie wniosków zawartych w tabeli opracowano wnioski końcowe.

Tabela A4-1. Zestawienie wyników badań dla wszystkich badanych próbek w zależności od zastosowanej metody badania

Nazwa Próbki	Metoda badań				Wniosek
	Metoda kropłowa	Badanie widma UV-Vis	Badanie widma FT-MIR	Badanie NP-TLC	
<b>Próbka 1</b>	Wykazuje fluorescencje w świetle 365 nm - olej zawiera znaczny udział frakcji pochodzenia naftowego	Olej zawiera znaczny udział frakcji pochodzenia naftowego	Potwierdzono obecność bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej	Potwierdzono obecność bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej	Olej na bazie oleju naftowego
<b>Próbka 2</b>	Nie wykazuje fluorescencji w świetle 365 nm - olej nie zawiera znaczny udział frakcji pochodzenia naftowego	Olej zawiera frakcje pochodzenia roślinnego, nie zawiera znacznego udziału frakcji pochodzenia naftowego	Potwierdzono obecność wysokiej zawartości bazowego oleju pochodzenia roślinnego, lub zwierzęcego oraz wykluczono obecność bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej	Potwierdzono obecność wysokiej zawartości bazowego oleju pochodzenia roślinnego, lub zwierzęcego oraz wykluczono obecność bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej	Olej na bazie oleju roślinnego
<b>Próbka 3</b>	Wykazuje fluorescencje w świetle 365 nm - olej zawiera znaczny udział frakcji pochodzenia naftowego	Olej zawiera znaczny udział frakcji pochodzenia naftowego	Potwierdzono obecność bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej	Obecność bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej	Olej na bazie oleju naftowego
<b>Próbka 4</b>	Wykazuje fluorescencje w świetle 365 nm - olej zawiera znaczny udział frakcji pochodzenia	Olej zawiera znaczny udział frakcji pochodzenia naftowego	Potwierdzono obecność wysokiej zawartości bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej, ale także potwierdzono	Potwierdzono obecność wysokiej zawartości bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej, ale także potwierdzono	Olej na bazie mieszaniny oleju naftowego oraz roślinnego, z dużą przewagą oleju naftowego

	naftowego		obecność zawartości bazy olejowej pochodzenia roślinnego	obecność zawartości bazy olejowej pochodzenia roślinnego	
<b>Próbka 5</b>	Wykazuje fluorescencje w świetle 365 nm - olej zawiera znaczny udział frakcji pochodzenia naftowego	Olej zawiera znaczny udział frakcji pochodzenia naftowego	Potwierdzono obecność wysokiej zawartości bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej, ale także potwierdzono obecność zawartości bazy olejowej pochodzenia roślinnego	Potwierdzono obecność wysokiej zawartości bazy olejowej pochodzącej z ropy naftowej, ale także potwierdzono obecność zawartości bazy olejowej pochodzenia roślinnego	Olej na bazie mieszaniny oleju naftowego oraz roślinnego, z dużą przewagą oleju naftowego

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdza się, że:

- 1) Próbka 1 zawiera wysoką zawartość frakcji pochodzenia naftowego w konsekwencji **nie spełnia wymagań** zawartych w Zarządzeniu Dyrektora RDLP nr 23/2016 z dnia 19.10.2016 r.
- 2) Próbka 2 zawiera wysoką zawartość frakcji pochodzenia roślinnego w konsekwencji **spełnia wymagań** zawartych w Zarządzeniu Dyrektora RDLP nr 23/2016 z dnia 19.10.2016 r.
- 3) Próbka 3 zawiera wysoką zawartość frakcji pochodzenia naftowego w konsekwencji **nie spełnia wymagań** zawartych w Zarządzeniu Dyrektora RDLP nr 23/2016 z dnia 19.10.2016 r.
- 4) Próbka 4 zawiera wysoką zawartość frakcji pochodzenia naftowego w konsekwencji **nie spełnia wymagań** zawartych w Zarządzeniu Dyrektora RDLP nr 23/2016 z dnia 19.10.2016 r.
- 5) Próbka 5 zawiera wysoką zawartość frakcji pochodzenia naftowego w konsekwencji **nie spełnia wymagań** zawartych w Zarządzeniu Dyrektora RDLP nr 23/2016 z dnia 19.10.2016 r.

**Uwagi:** brak

**Badania wykonała i raport wstępny opracowała:**

mgr inż. Paulina Dyuła (p.v. Nowak)

**Raport sprawdził, uzupełnił i zatwierdził:**

prof. dr hab. inż. Marian Kamiński

Raport zawiera 14 ponumerowanych stron.  
Załączniki: brak

*Bez zgody autora Raport może być powielany / rozpowszechniany tylko w całości.  
Powielanie / rozpowszechnianie fragmentów Raportu wymaga pisemnej zgody autora.*

## DOROBEK NAUKOWY

### Publikacje z listy JCR

1. **P. Nowak**, J. Kosińska, M. Glinka, M. Kamiński, *Thin-Layer Micro-chromatography ( $\mu$ TLC) and TLC-FID technique as new methodology for lubricant oils examination*, J AOAC Int 47 (2017) doi.org/10.5740/jaoacint.17-0167. IF 1,087 (2017), Q4
2. R. Łukajtis, K. Kucharska, I. Hołowacz, P. Rybarczyk, K. Wychodnik, E. Słupek, **P. Nowak**, M. Kamiński, *Comparison and Optimization of Saccharification Conditions of Alkaline Pre-Treated Triticale Straw for Acid and Enzymatic Hydrolysis Followed by Ethanol Fermentation*, Energies 11 (2018) 11 doi.org/10.3390/en11030639. IF 2,707 (2018), Q3
3. **P. Nowak**, K. Kucharska, M. Kamiński, *Ecological and Health Effects of Lubricant Oils Emitted into the Environment*, International Journal of Environmental Research and Public Health, 16, (2019) doi.org/10.3390/ijerph16163002. IF 2,849 (2019), Q2
4. **P. Nowak**, K. Kucharska, M. Kamiński, *The New Test Procedure for Group-Type Composition of Base Oils of Lubricating Oils, Especially Emitted into the Environment*, Energies, 13 (2020)15 doi.org/10.3390/en13153772. IF 3,004 (2020), Q3
5. **P. Dyguła**, K. Kucharska, M. Kamiński, *Separation and determination of the group-type composition of modern base and lubricating oils with a wide range of polarity, especially emitted to the environment*, Journal of Chromatography B, 1192 (2021) doi.org/10.1016/j.jchromb.2022.123137. IF 3,318 (2022), Q2
6. D. Wojewódka, **P. Dyguła**, M. Kamiński, *Improved conditions of the group-type separation of asphaltene-containing materials by TLC-FID for quantitative SARA analysis*, Journal of Petroleum Science and Engineering IF= 4,346, Q2 – w recenzji

### Pozostałe publikacje w czasopiśmie recenzowanych

1. **P. Nowak**, M. Kamiński, *Alternatywne metodyki wydzielenia, identyfikacji oraz oznaczania siarki elementarnej w glebie z wykorzystaniem ekstrakcji do nisko polarnej cieczy, chromatografii cieczowej i spektrofotometrii*, Camera Separatoria 1 (2016) 5-22.
2. **P. Nowak**, R. Pawłowicz, M. Kamiński *Rozdzielanie, identyfikacja i oznaczanie składników osadu z produkcji olejów jadalnych w warunkach NP-HPLC*, Camera Separatoria 2 (2016) 75-90.
3. M. Glinka, **P. Nowak**, M. Kamiński, *Wpływ rodzaju kwaśnego dodatku do eluentu oraz właściwości fazy stacjonarnej na rozdzielanie średnio i nisko hydrofobowych kwaśnych organicznych związków chemicznych w odwróconych układach faz kolumnowej elucyjnej wysokosprawnej chromatografii cieczowej - RP HPLC*, Camera Separatoria 2 (2017) 106-130.
4. **P. Nowak**, R. Łukajtis, M. Kamiński, *Zastosowanie wysokosprawnej kolumnowej chromatografii cieczowej w odwróconych układach faz (RP-HPLC) do rozdzielania i wstępnej identyfikacji składników hydrofilowych mieszanin po hydrolizie zasadowej biomasy ligno-celulozowej (BMLC)*, Camera Separatoria, 2 (2017) 131-154.
5. M. Glinka, R. Łukajtis, **P. Nowak**, M. Kamiński, *Techniki chromatografii cieczowej, stosowane w analityce technicznej procesów hydrolizy biomasy ligno-celulozowej - BMLC*, Przegląd, Camera Separatoria 2 (2017) 92-105.



6. **P. Nowak**, I. Hołowacz, S. Kokocha, M. Kamiński, *Proces konwersji biomasy lignocelulozowej na drodze hydrolizy zasadowej i utleniania*, Materiały konferencyjne- XIII Konferencja DLA MIASTA i ŚRODOWISKA Politechnika Warszawska 28.11.2016 r, Gospod, Odpadami, EWiT 2 (2017) 24-27.
7. **P. Nowak**, M. Kamiński, K. Kucharska, P. Rybarczyk, *A new method and equipment for the detection of presence and estimation of the content of the petroleum-based fraction in lubricating oils, especially those emitted to the atmosphere*, Aparatura Badawcza i Dydaktyczna 2 (2019) 151-158.

### **Wystąpienia konferencyjne**

#### **Referaty**

1. **P. Nowak**, K. Kucharska, M. Kamiński, *Oleje smarowe, emitowane do środowiska - wpływ na środowisko, zdrowie oraz metody kontroli*, XIV Konferencja Dla Miasta i Środowiska – Problemy Unieszkodliwiania Odpadów, Warszawa, 26.11.2018 r.
2. **P. Nowak**, M. Kamiński, *Nowe procedury kontroli składu grupowego olejów smarowych pod względem szkodliwości dla środowiska*, IX Kongres Technologii Chemicznej, Politechnika Gdańska, 3-7.09.2018 r.
3. **P. Nowak**, K. Kucharska, *Distribution of the distillation temperature of lubricating oils*, Komunikat, Konferencja IAKOS 2020, 15-17.09.2020 r.

#### **Postery:**

1. **P. Nowak**, I. Hołowacz, S. Kokocha, M. Kamiński, *Proces konwersji biomasy lignocelulozowej na drodze hydrolizy zasadowej i utleniania*, Materiały konferencyjne- XIII Konferencja DLA MIASTA i ŚRODOWISKA, Politechnika Warszawska, Warszawa, 28.11.2016 r.
2. K. Kucharska, **P. Nowak**, K. Wychodnik, E. Słupek, M. Kamiński, *Spectrophotometry techniques used to determine the conversion degree of lignocellulosic biomass during alkaline hydrolysis process*, 44th International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering, Słowacja, 2017 r.
3. **P. Nowak**, P. Rybarczyk, M. Kamiński, *Development of new procedures for the technical control of the group composition of chainsaw lubricating oils*, 44th International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering, Słowacja, 2017 r.
4. **P. Nowak**, M. Kosikowska, M. Kamiński, *Procedura oznaczania składu grupowego ścieków z oksydacji asfaltów z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej*, III Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska, Gdańsk, 2018 r.
5. **P. Nowak**, M. Kamiński, *Wykorzystanie impregnacji siarczanem berberyny w badaniach składu grupowego olejów smarowych, szczególnie emitowanych do środowiska, techniką cienkowarstwowej chromatografii cieczowej w normalnych układach faz (NP-TLC)*, III Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska, Gdańsk, 2018 r.
6. **P. Nowak**, M. Kamiński, *Wykorzystanie zjawiska fluorescencji i spektrofotometrii dla metod wstępnej oceny grupowego składu olejów i ich komponentów*, IX Kongres Technologii Chemicznej, Gdańsk, 2018 r.

7. **P. Nowak**, K. Kucharska, M. Kamiński, *Oleje smarowe, emitowane do środowiska - wpływ na środowisko, zdrowie oraz metody kontroli*, XIV Konferencja Dla Miasta i Środowiska – Problemy Unieszkodliwiania Odpadów, Warszawa, 26.11.2018 r.
8. **P. Nowak**, K. Kucharska, M. Kamiński, *Metody kontroli olejów smarowych emitowanych do środowiska*, XIV Konferencja Dla Miasta i Środowiska – Problemy Unieszkodliwiania Odpadów, Warszawa, 26.11.2018 r.
9. **P. Nowak**, K. Kucharska, M. Kamiński, *Oleje smarowe do pilarek -problem dla miasta i środowiska*, XIV Konferencja Dla Miasta i Środowiska – Problemy Unieszkodliwiania Odpadów, Warszawa, 26.11.2018 r.
10. K. Kucharska, **P. Nowak**, *Mineral Oil polluted soil purification via phytoremediation*, IV Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska, Gdańska, 2019 r.
11. **P. Nowak**, K. Kucharska, M. Kamiński, *Current legal regulations regarding the emission of lubricating oils to the environment*, IV Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska 2019, Gdańsk, 2019 r.
12. **P. Nowak**, K. Kucharska, M. Kamiński, *Uniwersalny układ stanowiska badawczego do rozdzielania i badania składu grupowego współczesnych olejów bazowych techniką kolumnowej elucyjnej wysokosprawnej chromatografii cieczowej - HPLC*, Poster, V Interdyscyplinarna Akademicka Konferencja Ochrony Środowiska 2020, Gdańsk, 2020 r.