

Metody methyl-esterifikací olejů

Bc. Nikola Kostková

Diplomová práce
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Nikola Kostková**
Osobní číslo: **T16584**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Metody methyl-esterifikací olejů**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Analýza tukovin
2. Plynová chromatografie
3. Derivatizace vzorků pro plynovou chromatografii
4. Mechanismy esterifikací
5. Popis kyselých a bazických katalyzovaných esterifikací

II. Praktická část

1. Reakce olejů, mastných kyselin s kyselými katalyzátory, fluorid boritý a kyselina sírová
2. Reakce olejů, mastných kyselin s bazickými katalyzátory, methanolát sodný a methanolický hydroxid
3. Analýza vzorků pomocí GC-FID

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] CHRISTIE W. W. Preparation of Ester

Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis, Advances in Lipid Methodology Two. AOCS Lipid Library, 1993, aktualizace 18. 7. 2011. [online 11. 5. 2017]

<http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=40374>.

[2] CHRISTIE W. W. Methylation of fatty acids a beginner's guide, AOCS Lipid Library, aktualizace 20. 7. 2011. [online 11. 5. 2017]

<http://lipidlibrary.aocs.org/History/content.cfm?ItemNumber=40363>.

[3] ICHIHARA, K. a Y. FUKUBAYASHI. Preparation of fatty acid

methyl esters for gas-liquid chromatography, The Journal of Lipid Research. 2010, 51, 3 635640, DOI: 10.1194/jlr.D001065.

[4] ORSAVOVÁ J., MIŠURCOVÁ L., AMBROŽOVÁ J. a kol.

Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. International Journal of Molecular Sciences. 2015, 16, 6, 1287112890. DOI: 10.3390/ijms160612871. ISSN 1422-0067.

[5] ČERVINKA a kol. Mechanismy organických reakcí, SNTL/Alfa, 1976, Praha. McMURRY J. Organická chemie, VUT Vutium/VŠCHT, 2007. Brno, Praha. ISBN 978-80-214-3291-8 a 978-80-7080-637-1.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Ondřej Rudolf, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky


Datum zadání diplomové práce:

5. února 2018

Termín odevzdání diplomové práce:

18. května 2018

Ve Zlíně dne 5. února 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.

děkan



doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.

ředitel ústavu

Příjmení a jméno: NIKOLA KOSTKOVÁ


Obor: T.T.P.K.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 14.5.2018



¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídí k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Obsahem teoretické části diplomové práce je zopakování základů tuků a olejů. Značná část se skládá z popisu plynové chromatografie, která byla při praktické části využívána jako analytická koncovka. Pro následné využití plynové chromatografie byla popsána kapitola derivatizace vzorku. V poslední kapitole byly popsány jednotlivé metody derivatizace (kyselá a bazická), ke kterým byly přiřazeny mechanismy esterifikačních a transesterifikačních reakcí.

V praktické části byly popsány bazicky katalyzované esterifikace s hydroxidem draselným a methanolátem sodným. Za skupinu kyselé katalyzované esterifikace byly popsány esterifikace s kyselinou sírovou a fluoridem boritým. Jako modelové vzorky byly použity komerčně dostupné oleje – olivový, řepkový a slunečnicový. Všechny vzorky byly po derivatizaci analyzovány pomocí plynové chromatografie a následně zhodnoceny a mezi sebou porovnány.

Klíčová slova: Mastná kyselina, methyl-ester, plynová chromatografie, derivatizace, esterifikace, transesterifikace.

ABSTRACT

The content of the theoretical part of diploma thesis is repetition of basic information of fats and oils. A large part consists of the description of gas chromatography, which was used in the practical part like a analytical tip. For subsequent use of gas chromatography has been described chapter derivatization samples. In the last chapter were described the individual methods of derivatization (acidic and basic) to which the mechanisms of esterification and transesterification reactions have been assigned.

In the practical part was described basic catalyzed esterification with acid, hydroxide and sodium methoxide. In the group of the acid catalyzed esterification was described esterification with sulfuric acid and boron fluoride. As the model samples were used commercially oils – olive, rapeseed and sunflower oils. All samples were analyzed by gas chromatography after derivatization and subsequently evaluated and compared.

Keywords: Fatty acid, methyl-ester, gas chromatography, derivatization, esterification, transesterification.

Ve své diplomové práci bych ráda poděkovala svému vedoucímu, panu Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ph.D. za cenné rady, připomínky, odborné vedení a hlavně trpělivost a čas, který mi věnoval při zpracování této práce. Děkuji za velké obohacení vědomostí v praktické části diplomové práce, které jsem poté díky němu mohla využít ve své pracovní příležitosti. Velká část poděkování patří mé rodině a příteli, kteří mě při studiu podporovali.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 ANALÝZA TUKOVIN	12
1.1 LIPIDY, MASTNÉ KYSELINY.....	12
1.2 IZOLACE.....	12
1.3 SKUPINOVÉ REAKCE – TUKOVÁ ČÍSLA.....	13
1.3.1 Číslo kyselosti.....	13
1.3.2 Číslo zmýdelnění.....	13
1.3.3 Esterové číslo.....	14
1.3.4 Jodové číslo.....	14
2 PLYNOVÁ CHROMATOGRFIE	15
2.1 POPIS PROCESU.....	15
2.2 MOBILNÍ FÁZE.....	16
2.3 STACIONÁRNÍ FÁZE – KOLONY.....	17
2.3.1 Náplňové kolony.....	17
2.3.2 Kapilární kolony.....	17
Kolona WCOT (Wall Coated Open Tubular).....	17
Kolona SCOT (Support Coated Open Tubular).....	18
Kolona PLOT (ParousLayer Open Tubular).....	18
2.4 INJEKTOR.....	18
2.5 KOLONOVÝ TERMOSTAT.....	19
2.6 DETEKTORY.....	19
2.6.1 Plamenově ionizační detektor (Flame Ionization Detector, FID).....	19
2.6.2 Tepelně vodivostní detektor (katarometr, Thermal Conductivity Detector, TCD).....	20
2.6.3 Detektor elektronového záchytu (Electron Capture Detector, ECD).....	20
3 DERIVATIZACE VZORKŮ PRO PLYNOVOU CHROMATOGRFII	22
3.1 SELEKTIVITA.....	22
3.2 DETEKOVATELNOST (CITLIVOST).....	22
3.3 DERIVATIZAČNÍ ČINIDLA.....	23
3.4 TYPY DERIVATIZAČNÍCH REAKCÍ.....	23
3.4.1 Alkylace.....	23
3.4.2 Acylace.....	24
3.4.3 Silylace.....	24
4 METODY ESTERIFIKACE A TRANSESTERIFIKACE Z POHLEDU MASTNÝCH KYSELIN A OLEJŮ	25
4.1 MECHANISMY ESTERIFIKAČNÍCH A TRANSESTERIFIKAČNÍCH REAKCÍ.....	26
(A) Kysele katalyzovaná esterifikace volné kyseliny.....	26
(B) Kysele katalyzovaná esterifikace volné kyseliny.....	27
Kysele katalyzovaná transesterifikace TAG na methyl-estery.....	27
Bazicky katalyzovaná transesterifikace TAG na methyl-estery.....	27
II PRAKTICKÁ ČÁST	29

5	CÍL PRÁCE	30
6	MATERIÁL A METODY	31
6.1	ROSTLINNÉ OLEJE.....	31
	Olivový olej.....	31
	Řepkový olej.....	31
	Slunečnicový olej.....	32
6.2	CHEMIKÁLIE.....	32
6.3	PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ.....	33
6.4	METODY PŘÍPRAV METHYL-ESTERŮ	34
6.4.1	Bazicky katalyzovaná esterifikace s KOH.....	34
6.4.2	Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH ₃ ONa a toluenem.....	34
6.4.3	Kysele katalyzovaná esterifikace s H ₂ SO ₄	35
6.4.4	Kysele katalyzovaná esterifikace s H ₂ SO ₄ a toluenem	35
6.4.5	Kysele katalyzovaná esterifikace s BF ₃	35
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	37
7.1.1	Bazicky katalyzovaná esterifikace s KOH, slunečnicový olej.....	37
7.1.2	Bazicky katalyzovaná esterifikace s KOH, olivový olej.....	39
7.1.3	Bazicky katalyzovaná esterifikace s KOH, řepkový olej.....	40
7.1.4	Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH ₃ ONa a toluenem, slunečnicový olej.....	42
7.1.5	Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH ₃ ONa a toluenem, olivový olej.....	43
7.1.6	Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH ₃ ONa a toluenem, řepkový olej.....	45
7.1.7	Kysele katalyzovaná esterifikace s H ₂ SO ₄ , nepolární kolona.....	46
7.1.8	Kysele katalyzovaná esterifikace s H ₂ SO ₄ a toluenem, polární kolona	48
7.1.9	Kysele katalyzovaná esterifikace s BF ₃ , slunečnicový olej	51
7.1.10	Kysele katalyzovaná esterifikace s BF ₃ , olivový olej	52
7.1.11	Kysele katalyzovaná esterifikace s BF ₃ , řepkový olej	54
	ZÁVĚR	57
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	59
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	66
	SEZNAM OBRÁZKŮ	68
	SEZNAM TABULEK.....	69
	SEZNAM PŘÍLOH.....	70

ÚVOD

Tuky a oleje jsou nezbytné pro vstřebávání vitamínů v lidském těle. Tvoří řadu metabolických funkcí a ve srovnání se sacharidy a bílkovinami poskytují nejvíce energie. Podle původu můžeme tuky rozdělit na rostlinné oleje a živočišné tuky (sádlo, lůj, máslo). Základní složkou jsou mastné kyseliny, které jsou z chemického hlediska karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem. Obsahují nejméně čtyři nebo více atomů uhlíků v řetězci. Mastné kyseliny vyskytující se v přirozených tucích, obvykle obsahují sudý počet atomů uhlíku. Nejběžnějšími nasycenými mastnými kyselinami je kyselina palmitová a stearová, nejběžnější nenasycené jsou kyselina olejová a linolová. Důležitou součástí z výživového hlediska jsou nenasycené mastné kyseliny (hlavně esenciální mastné kyseliny) obsahující ve své struktuře dvojnou vazbu. Díky dvojným vazbám jsou mastné kyseliny náchylné k oxidaci tzv. žluknutí tuků. Výsledkem tohoto procesu jsou nežádoucí produkty, které poté negativně působí na zdravotní stav, mají ovšem i nepříjemný chuťový projev a vůni. Pokud se olej podrobil žluknutí, můžeme si tuto skutečnost ověřit stanovením charakteristických vlastností tuků a olejů např. stanovením čísla kyselosti.

Pro stanovení obsahu mastných kyselin v jednotlivých jedlých olejích se využívá mnoho separačních metod. Jednou z nejčastěji užívaných je plynová chromatografie. Aby se tato technika mohla využít, musí být oleje převedeny na těkavé deriváty – methyl-estery. Neexistuje ovšem jeden jediný postup esterifikace, které by bylo možné použít pro všechny typy olejů. Cílem praktické části diplomové práce je studie vhodných metod převedení methyl-esterů.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 ANALÝZA TUKOVIN

Tuky považujeme za jednu z elementárních živin pro metabolismus člověka. Jsou základními mediátory mnoha signalizačních cest a plní různou funkci membránových systémů. V případě jakékoliv změny metabolismu může dojít k závažným kardiovaskulárním nebo metabolickým onemocněním. Dalšími důsledky mohou být i mozkové dysfunkce, zvláště pokud je ovlivněn metabolismus sfingolipidů. [1]

1.1 Lipidy, mastné kyseliny

V současnosti jsou lipidy pojmem s nejednoznačnou definicí. Lipidy mohou být definovány jako skupinu přirozeně se vyskytujících látek obsahující ve své molekule vázanou mastnou kyselinu. Jelikož tato definice nezahrnuje řadu bioaktivních látek lipidické povahy, které můžeme nalézt v chemické souvislosti s nimi, je proto lépe je definovat jako skupinu přirozeně se vyskytujících látek se vztahem k mastným kyselinám.

Základní složkou lipidů jsou mastné kyseliny. Jde o karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem. Nejméně obsahuje čtyři, ale z pravidla více atomů uhlíku. V přírodních tucích se mastná kyselina sestává z nerozvětveného řetězce se sudým počtem atomů uhlíku. Několik mastných kyselin má rozvětvené řetězce, jiné obsahují kruhové struktury nebo lichý počet atomů uhlíku. Mastné kyseliny se přirozeně nenacházejí ve volném stavu v přírodě, obvykle však existují v kombinaci s glycerolem ve formě triacylglycerolů (TAG). [2] [3] [4]

1.2 Izolace

Pro profilování neutrálních a polárních lipidů využíváme metody jako extrakce, superkritická fluidní extrakce (SFE), tenkovrstvá chromatografie (TLC) a plynová chromatografie spojená s plamenovým ionizačním detektorem GC-FID. Při využití extrakce rozpouštědlem závisí na výběru rozpouštědla, které volíme podle polarity přítomných lipidů. Při polárních lipidech volíme polární rozpouštědla a při nepolárních využíváme rozpouštědla nepolární. Extrakci lze provést pomocí hexanu, petroletheru nebo diethyletheru, kdy se následně rozpouštědlo nechá odpařit na vakuové odparce a vysušený odparek se váží do konstantní hmotnosti. Výhodou nepřítomnosti organických rozpouštědel má SFE. Technika je ovšem náročnější na vyšší tlaky. Využívá se CO₂ v superkritickém stavu (31 °C, 7,3 MPa), tzv. scCO₂. Většina postupů extrakce rozpouštědlem extrahuje současně polární i nepolární lipidy. Abychom analyzovali obsah

polárních lipidů, je nutné je nejprve oddělit od neutrálních. Toho lze dosáhnout pomocí TLC. Jakmile jsou polární lipidy odděleny od neutrálních lipidů, může být provedena další analýza a přezkoumání složení. TLC a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) mohou být použity k analýze různých tříd fosfolipidů. Při TLC může být použita mobilní fáze obsahující např. fosfatidylcholin (PC). Podobné oddělení lze také dosáhnout použitím HPLC, při které se využívá sloupec silikagelu a mobilní fáze obsahující propan-2-ol, chloroform a vodu. [5], s. 173-190] [6]

1.3 Skupinové reakce – tuková čísla

Mezi charakterizaci typických vlastností tuků a olejů patří především stanovení tzv. tukových čísel. Řadíme zde číslo kyselosti, číslo zmýdelnění, esterové číslo a jodové číslo. Dále lze stanovit oxidační stabilitu tuků a olejů, a to např. pomocí peroxidového čísla. Stanovení tukových čísel je na provedení jednoduché, informativní, levné a relativně rychlé.

1.3.1 Číslo kyselosti

Číslo kyselosti je považováno jako míra obsahu volných mastných kyselin v tuku a je definováno jako množství KOH v miligramech potřebné k neutralizaci volných mastných kyselin v 1 gramu vzorku. Stanovení je založeno na titraci odměrným roztokem KOH na vhodný indikátor (fenolftalein nebo thymolftalein). Přírůstek množství volných mastných kyselin ve vzorku oleje nebo tuku naznačuje hydrolyzu TAG. Taková reakce nastává působením enzymů a je ukazatelem nedostatečných podmínek zpracování a skladování jako jsou vysoké teploty nebo relativní vlhkost. Zdrojem enzymů může být tkáň, ze které byl olej extrahován nebo se může jednat o kontaminant z jiných buněk, včetně mikroorganismů. [3], s. 122] [7] [8]

1.3.2 Číslo zmýdelnění

Hodnota je vyjádřena množstvím miligramu KOH požadované k neutralizaci volných mastných kyselin a celkové zmýdelnění esterů 1 gramu vzorku tuku. Je mírou obsahu volných a esterově vázaných mastných kyselin. Vzorek tuku se neutralizuje a hydrolyzuje varem pod zpětným chladičem s přebytkem alkoholického roztoku KOH. Přebytek KOH se poté stanoví zpětnou titrací roztokem HCl. [3][8]

1.3.3 Esterové číslo

Hodnotu esterového čísla můžeme vyjádřit jako počet miligramů KOH potřebných k hydrolýze esterů mastných kyselin obsažených v 1 gramu tuku. Vyjadřuje obsah esterově vázaných mastných kyselin ve vzorku. [3]

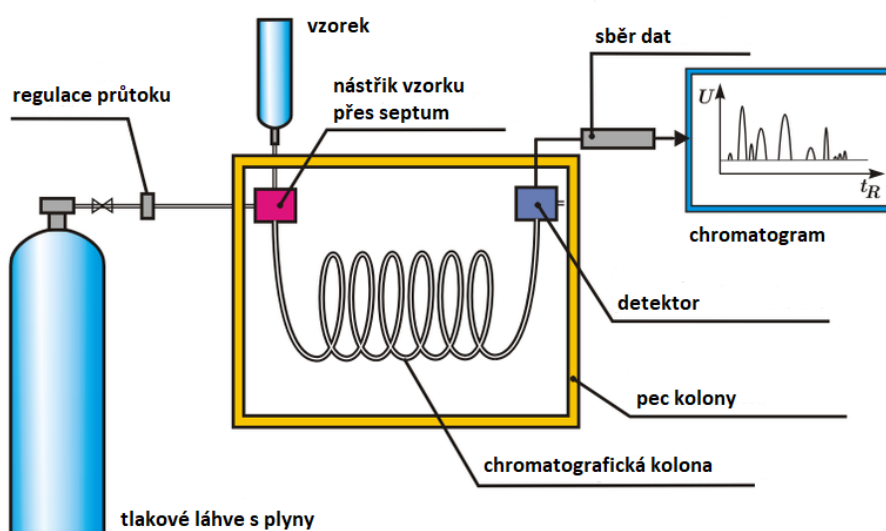
1.3.4 Jodové číslo

Jodové číslo stanovuje míru obsahu dvojných vazeb, tedy míru stupně nenasycenosti daného tuku. Udává procento halogenu (přepočteno na jod), který je navázaný na tuk za daných podmínek. Principem stanovení je adice známého množství halogenu na dvojnou vazbu a zjištění nezreagovaného činidla následnou titrací thiosíranem. Využívá se jodometrická titrace metodou odměrné analýzy. [3] [10]

2 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

Chromatografie je metoda separace, při níž se rozdělí několik chemických látek podle rozdílu v rozdělovacích koeficientech. Analyty jsou odděleny pro následnou analýzu mezi nepohyblivou (stacionární) fází, která má obvykle velký povrch, a fází pohyblivou (mobilní). V plynové chromatografii je mobilní fáze tzv. nosný plyn, který unáší analyzovanou látku chromatografickou kolonou. Stacionární fáze je umístěna v koloně, její schopností je různě silně zadržovat složky analyzované látky podle vlastností jednotlivých analytů. [11], [12] [13]

První procesy separace jsme mohli pozorovat v přírodě již odedávna, například při rozdělování chloroplastových pigmentů z rostlinných extraktů. Samotný název chromatografie proto pochází ze slov *chromos* – barva a *graphein* – psaní. [12] [14] [15]



Obr. 1. Schéma plynové chromatografie, schéma upraveno dle [16]

2.1 Popis procesu

Plynová chromatografie je zvláště vhodná metoda pro sloučeniny, které jsou těkavé, tepelně stabilní s relativní molekulovou hmotností menší než 1000. Je určena k separaci plyných, kapalných i pevných analytů s bodem varu nejvýše okolo 400 °C.

Nosný plyn je veden z tlakových láhví do chromatografické kolony přes čističe kyslíku a uhlovodíku tzv. trapy, regulátory tlaku a průtoku. Pomocí trapů (Obr. 2), které pracují jako čistící patrony, jsou eliminovány nečistoty plynů. Vzorek se vstříkuje do proudu nosného plynu a odpařuje se do plynného stavu vysokou teplotou uvnitř injektoru předtím,

nežli je veden do kolony. Kolona je umístěna v termostatu. Pohyblivý proud plynu, který se pohybuje stálou rychlostí, separuje složky analytů v určitém pořadí. Pro detekci a kvantifikaci separovaných složek se používají různé vhodné detektory. Pomocí počítače je dále signál z detektoru zpracováván na chromatografický výstup – chromatogram. [17]



Obr. 2. Trapy pro čištění plynů

2.2 Mobilní fáze

Většina současných přístrojů plynové chromatografie pracuje s heliem, jako nosným plynem, a to hlavně díky jeho dobré difuzivitě a viskozitě. Stojí za uvážení, zda v některých případech, lze použít vodík namísto helia, a to hlavně z hlediska efektivity, bezpečnosti a nákladů. Při výběru nosného plynu je nutné zohlednit také čistotu plynu, cenu i typ použitého detektoru. Vodík je stejně žádaným nosným plynem, má podobnou difuzivitu jako helium. Z hlediska bezpečnosti není příliš vhodný, je hořlavý se vzduchem a je schopný vytvořit explozivní směs. Pro všechny plyny obecně platí: se zvyšující se teplotou viskozita roste. Se zvyšující se teplotou se také zvyšuje rozdíl v účinnosti mezi vodíkem a heliem. U helia viskozita stoupá značně rychleji než u vodíku a výsledkem jsou i kratší časy analýzy. Dále se používá dusík, který je kvůli své pomalejší difúzi určen v laboratořích spíše těm, kteří na výsledky analýzy nespěchají a musí tak počítat s delší dobou separace. Ve skutečnosti všechny nosné plyny poskytují podobnou účinnost separace, a to za předpokladu, že jsou odpovídajícím způsobem upraveny podmínky analýzy. Dalšími používanými plyny jsou argon nebo oxid uhličitý. [19] [20] [21] [22]

2.3 Stacionární fáze – kolony

Jedním z rozhodujících faktorů pro dosažení správných analytických podmínek je chromatografická kolona, ve které probíhá separační proces. Tato část je často označována jako srdce chromatografu a můžeme ji považovat za ústřední bod chromatografického systému. Volba typu a rozměrů kapilární kolony určuje proveditelnost, kvalitu a dobu analýzy.

2.3.1 Náplňové kolony

Nejčastější rozměry náplňových chromatografických kolon jsou od desítek centimetrů po několik metrů dlouhé, s vnitřním průměrem 2–5 mm. Kolony naplněné sorbenty (adsorpční mechanismus, GSC – Gas Solid chromatography) oddělují složky v proudu nosného plynu adsorpcí. V řadě vědeckých publikací je uvedeno pro GSC použití silikagelu nebo oxidu hlinitého (alumina). Silikagel a oxid hlinitý nabízejí široké spektrum povrchových vlastností. Silikagel je amorfni forma SiO_2 s velmi porézní strukturou. Povrch je pokryt hydroxylovými skupinami, tyto skupiny mohou být rozděleny na volné nebo vázané hydroxylové skupiny. Aktivita oxidu hlinitého je ovlivněna dvěma hlavními faktory, a to chemickou povahou, která zahrnuje počet hydroxylových skupin a poté počet kyselých míst na povrchu, které závisí na velikosti póru a jejich rozložení. Tyto obalové materiály jsou vyznačovány vysokou selektivitou, tepelnou stabilitou a odolností vůči různým vnějším faktorům. [23] [24] [25]

2.3.2 Kapilární kolony

Kapilární kolony jsou vyrobeny z taveného oxidu křemičitého potažené ochranným povlakem z polymeru, poly(imid). Délky kolony se pohybují v rozmezí od 15–100 metrů s vnitřním průměrem přibližně 100–500 μm . Kapilární kolony mají obsaženy tři základní typy stacionární fáze.

Kolona WCOT (Wall Coated Open Tubular)

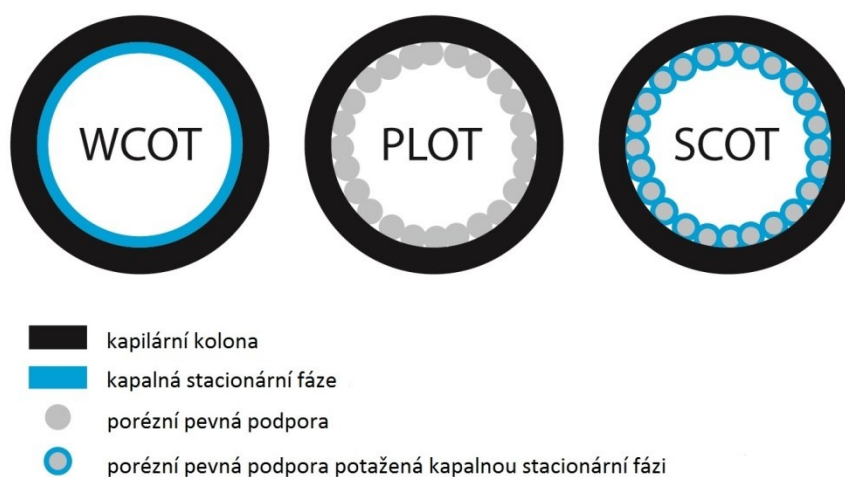
Kolona je na vnitřní stěně kapiláry pokrytá tenkou vrstvou stacionární fáze, na které dochází k vlastní separaci vzorku. Síla stacionární fáze se může pohybovat v rozmezí 0,1–0,5 μm , nejčastěji o tloušťce 0,25 μm .

Kolona SCOT (Support Coated Open Tubular)

Vnitřní stěna kapiláry je tvořena tenkou vrstvou pevného nosiče, na který je adsorbována kapalná fáze. Účinnost separace kolony SCOT je více účinná než kolony WCOT, díky větší ploše povrchu stacionární fáze.

Kolona PLOT (PorousLayer Open Tubular)

V této pórovité koloně je typickým příkladem adsorbentu molekulární síť z oxidu hlinitého a silikagelu, která je připojena k vnitřní stěně kapiláry.



Obr. 3. Typy uspořádání kapilárních kolon, upraveno dle [26]

Délka kolony, typ a síla stacionární fáze jsou považovány za nejdůležitější parametry ovlivňující nejen průběh separace, ale vůbec i její uspokojivou proveditelnost. O něco méně časté parametry kolon může být vlastnost užití ve spojení s hmotnostním spektrometrem, teplotní rozsah použití anebo substrátová specifická kolony (pesticidy, léčiva, aromáty, chiralita aj.). [26] [27]

V současné době přitahuje pozornost jako stacionární fáze pro kapilární plynovou chromatografii oxid grafitu (GO), také nazývaný jako grafitový oxid. Oxid grafitu je sloučenina uhlíku, kyslíku a vodíku. Jedinečnými vlastnosti a možnými aplikacemi je zkoumáno využití nanovláken GO jako stacionární fáze. [28]

2.4 Injektor

Nástřik vzorků do plynového chromatografu závisí na povaze vzorků. Vzorek se vstříkuje přes pryžovou přepážku nazývanou septum. Vstříkovaný objem vzorku by měl být co

nejmenší, obecně se pohybuje v rozmezí od 0,5–5,0 μl . Vzorek je vstřikován do vyhřívané skleněné vložky, liner, kde dojde k odpaření a promíchání par vzorku s mobilní fází. Pro zavádění vysoce koncentrovaných vzorků do kapilárních kolon jsou používány injektory s děličem toku nosného plynu, tzv. splitter. Používaná technika s děličem toku nadávkuje jen část (rozdělovací režim) nebo celý vzorek (režim bez rozdělení) do kolony. Režim bez rozdělení lze využít při stopové analýze. [29]

2.5 Kolonový termostat

Při plynové chromatografii je vztah mezi chromatografickými píky a teplotou kolony zásadní. V mnoha případech se tedy vyplatí kolonu nějakým způsobem termostatovat. Změny teploty způsobují významné retenční posuny. Chromatografické píky závisí jinak na teplotě kolony pro eluci izotermální (konstantní teplota kolony během analýzy) a jinak pro teplotně naprogramovanou eluci, gradientový ohřev. V obou případech je ale kontrola teploty velice zásadní. Dodržením teplotních závislostí zabráníme změnám tvarů a rozlišení chromatografických píků nebo docílíme zkrácení doby analýzy. [14] [30]

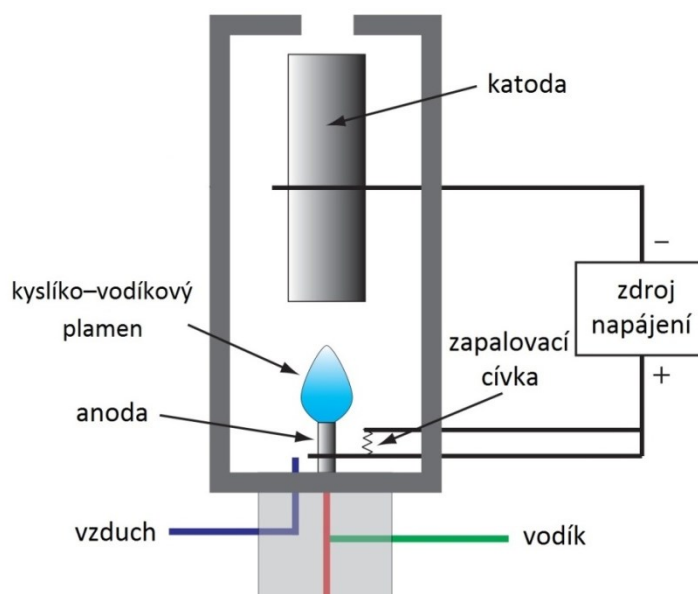
2.6 Detektory

Detektor je schopen reagovat na přítomnost analytu a vysílat signál, který je poté zaznamenáván v závislosti na čase. Mezi jeho žádoucí vlastnosti řadíme vysokou citlivost, selektivitu a stabilitu, která je spojená s maximální rychlostí odezvy, pokud jde o změnu ve složení plynu, který opouští chromatografickou kolonu. Vycházející mobilní fáze se vzorkem z kolony by měl mít nižší teplotu než detektor. [14] [31]

2.6.1 Plamenově ionizační detektor (Flame Ionization Detector, FID)

Je jedním z nejpoužívanějších detektorů. Je vhodný pro široké rozmezí koncentrací, je citlivý na molekuly většiny sloučenin obsahujících uhlík. Hořením uhlíkových sloučenin v plameni vznikají ionty, díky nimž následně dojde ke změnám elektrické vodivosti. Tyto změny jsou poté měřeny. Množství vzniklých iontů v plameni detektoru je úměrné množství přítomné uhlíkové sloučeniny. Ze spodní části detektoru vstupuje do kolony nosný plyn, je smíchán s vodíkovým plynem a volitelným inertním plynem, nejčastěji dusíkem v oblasti pod plamenem. Tato směs se pak kombinuje se vzduchem a spálí se těsně nad tryskou vedoucí do hořáku. Detektor je opatřen dvěma elektrodami, na které se vkládá stejnosměrné napětí. V plameni spalováním uhlovodíků vznikají elektrony

a organické kationty, které se shromažďují pod vlivem elektrického pole, elektrická vodivost a proud je zvýšen a vysokofrekvenční komponenty jsou odfiltrovány. FID je téměř univerzálním detektorem organických sloučenin, kromě karbonylových a karboxylových skupin. Většina anorganických sloučenin a mnoho plynů, jako je H_2O a CO_2 nejsou detekovány. [14], [31][32] [33]



Obr. 4. Plamenově ionizační detektor FID, upraveno dle [26]

2.6.2 Tepelně vodivostní detektor (katarometr, Thermal Conductivity Detector, TCD)

Jedná se o detektor nedestruktivní, chemicky nereaguje s rozpuštěnými látkami, ale reaguje na změnu tepelné vodivosti čistého nosného plynu ve srovnání s vodivostí směsi analyzované látky a nosného plynu. Citlivost TCD na různé rozpuštěné látky je předepsána tepelnými vodivostmi rozpuštěných látek vzhledem k nosiči. Větší citlivost vytvářejí látky, které se v tepelné vodivosti od nosného plynu liší. To dělá TCD univerzální bez závislosti na specifických chemických prvcích nebo strukturách. Detektor má vysokou citlivost u plynů s vyšší tepelnou vodivostí (He , H_2 , CH_4). [32] [34]

2.6.3 Detektor elektronového záchytu (Electron Capture Detector, ECD)

Detektor elektronového záchytu je příkladem selektivního detektoru, je vysoce výběrový vůči rozpouštědlům s elektronegativními funkčními skupinami, jako jsou halogeny a nitrosloučeniny. Detektor se skládá z β -zářiče, jako je ^{63}Ni . Pokud do detektoru vstupují

molekuly, které obsahují elektronegativní funkční skupiny, zachycují některé z elektronů a tím dochází ke snížení ionizačního proudu. ECD je pravděpodobně nejcitlivější z detektorů, lze ho využít pro stopovou analýzu halogenovaných organických sloučenin, jako jsou chlor-organické pesticidy, herbicidy a halogenované uhlovodíky v řadě typů vzorků. [27] [32]

3 DERIVATIZACE VZORKŮ PRO PLYNOVOU CHROMATOGRAFII

Derivatizační reakce jsou určeny k přeměně analytu pro plynovou nebo kapalinovou chromatografii (GC, LC). Jde o reakce, které lze definovat jako techniky, které modifikují funkční skupiny a tím pádem i chemické a fyzikálně-chemické vlastnosti analytu. Zvyšují šanci na lepší detekovatelnost či schopnost účinnějšího chromatografického dělení na koloně.

Proces derivatizace snižuje adsorpci analytu v chromatografickém systému, zvyšuje těkavost vzorku, zlepšuje stabilitu a odezvu detektoru, dělení píků a poskytuje dobrou symetrii. Výběr metody derivatizace pro analýzu sloučenin bude záviset na analytech, dostupných činidlech a typech reakcí, které mohou poskytovat požadované výsledky v plynové chromatografii.

Pro GC představují problém sloučeniny, které mají tendenci tvořit intermolekulární vodíkové vazby a výrazně ovlivňují těkavost sloučenin. Jsou to především sloučeniny, které obsahují funkční skupiny s aktivním vodíkem; Skupiny thiolová -SH, hydroxylová -OH, primární nebo sekundární aminoskupina -NH a v neposlední řadě skupina karboxylová -COOH. [35] [36] [37]

3.1 Selektivita

Derivatizace může být použita pro zlepšení chromatografického výkonu a tvaru píku. Výsledný derivát má poskytnout symetrický pík odpovídající výchozí sloučenině. Problematické funkční skupiny polárních sloučenin nejsou dobře detekovány, protože mají tendenci adsorbovat do plochy sloupce píku, což způsobuje špatnou nebo žádnou odezvu. [36][38]

3.2 Detekovatelnost (Citlivost)

Detekovatelnost je signál výsledku, který vychází z interakce mezi analytem a detektorem. Zvýšení detekovatelnosti lze dosáhnout buď zvýšením objemu sloučeniny, nebo zavedením funkčních skupin, které může detektor snadněji zachytit. [35] [36] [38]

3.3 Derivatizační činidla

Derivatizační činidlo je látka, která je využita k chemické modifikaci sloučeniny za vzniku nové sloučeniny. Aby výchozí sloučenina odpovídala požadovaným vlastnostem pro analýzu v GC, musí splňovat následující kritéria:

- při tvorbě derivátu nesmí docházet ke strukturním změnám,
- činidlo nesmí přispívat ke ztrátě vzorku během reakce,
- derivát musí být stabilní i s ohledem na čas,
- derivát musí být vhodný pro použitý detektor.

Důležitou úvahou při volbě derivatizačního činidla pro vzorky olejů je ohled na složení mastných kyselin ve vzorcích, které mají být derivatizovány. Příkladem zohlednění je přítomnost mastných kyseliny s krátkým řetězcem nebo volné mastné kyseliny. S polynenasycenými mastnými kyselinami musí být zacházeno opatrně a nesmí být vystavovány agresivnějším podmínkám, než je nezbytně nutné. Je třeba si uvědomit, že činidla, která jsou při použití za optimálních podmínek vyhovující, mohou být pro mastné kyseliny destruktivní. [35] [36] [37] [39] [40]

3.4 Typy derivatizačních reakcí

Mastné kyseliny se mohou vyskytovat v přirozeně volném stavu, nejčastěji se vyskytují jako estery spojené s glycerolem, cholesterolem nebo alifatickými alkoholy s dlouhým řetězcem. Mohou být izolovány jako čisté lipidy nebo jako směsný lipidový extrakt. Neexistuje jediný postup esterifikace, který by mohl být použit ve všech případech. Derivatizační reakce používané pro GC spadají do tří oblastí obecných reakcí; Alkylace, jejichž obecným procesem je esterifikace; dále Acylace a Silylace. [35][37]

3.4.1 Alkylace

Alkylace často bývá prvním krokem pro další derivatizaci. Často bývá používána jako způsob ochrany aktivních vodíků ve vzorku molekuly. Ovšem hlavním použitím této reakce je přeměna organických kyselin na estery, zejména methyl-estery, které produkují hodnotnější chromatogramy v GC než volné kyseliny. Alkylace je vhodná pro přípravu analýzy karboxylových kyselin, aminů, amidů, alkoholu, thiolů a sulfonamidů. Jako katalyzátor se doporučuje anorganická kyselina, například kyselina chlorovodíková.

Získané alkyl-estery nabízejí vynikající stabilitu a v případě potřeby mohou být izolovány a skladovány i po delší dobu. [35] [36]

3.4.2 Acylace

Derivatizace acylací je typ reakce, ve které je acylová skupina zavedena do organické sloučeniny. Jde o reakci, která je oblíbená pro výrobu těkavých derivátů vysoce polárních a těkavých organických materiálů. Sloučeniny, které obsahují aktivní vodíky, mohou být acylací převedeny na estery, thioestery a amidy. V této reakci se acylační činidla zaměřují na vysoce polární, multifunkční sloučeniny, jako jsou sacharidy a aminokyseliny. Zřetelnou výhodu poskytují zavedením skupin zachycující elektrony, které zvyšují citlivost během analýzy. Tato činidla jsou dostupná jako anhydridy kyselin, acylové deriváty nebo acylhalogenidy. Anhydridy kyselin jsou k dispozici v řadě fluorovaných konfigurací a používají se především při použití ECD nebo FID detektorů. Fluorované anhydridy se často používají při derivatizaci vzorků při potvrzení zneužívání drog. [35] [36] [38]

3.4.3 Silylace

Patří mezi převládající derivatizační metodu. Silylací zavádíme silylové skupiny do molekuly, obvykle nahrazením aktivního vodíku. Nahrazením dochází ke snížení polarity sloučeniny. Sloučeniny obsahující aktivní atomy vodíku, které lze přeměnit silylací, jsou kyseliny, alkoholy, thioly, amidy, aminy, ketony a aldehydy. Po silylaci jsou mnohé hydroxylové a aminosloučeniny úspěšně analyzovány, jinak jsou považovány za netěkavé nebo nestabilní při 200–300 °C. Silylované deriváty jsou méně polární, těkavější a tepelně stabilnější, a tím poskytují úzké a symetrické píky. Mohou také sloužit ke zvýšení hmotnostních spektrometrických vlastností derivátů. Volba silylového činidla je založena na jeho reaktivitě a selektivitě ke sloučenině. Činidla jsou kompatibilní s většinou detekčních systémů, pokud nejsou používány v přebytku. [35] [36][41]

4 METODY ESTERIFIKACE A TRANSESTERIFIKACE Z POHLEDU MASTNÝCH KYSELIN A OLEJŮ

Esterifikacím mastných kyselin a k transesterifikacím olejů se vyskytuje velké množství literárních zdrojů primárního charakteru anebo vědeckých shrnutí.

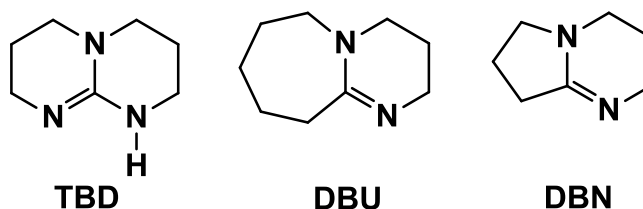
Základním dokumentem může být brán souhrnný text W. W. Christieho [42] o metodách příprav esterů mastných kyselin v olejích a tucích pro chromatografickou analýzu ať pro GC nebo LC uspořádání.

Samotná esterifikace nebo transesterifikace bez přítomnosti katalyzátoru neběží anebo velmi pomalu. Proto se s výhodou k reakční směsi přidávají různé typy katalyzátorů. Základními katalyzátory jsou činidla kyselého nebo bazického charakteru.

Jako charakteristické kyselé činidla jsou uváděny roztoky Brønstedových kyselin v alkoholu, např. chlorovodík nebo H_2SO_4 , Lewisových kyselin, např. BF_3 a nebo jiných jako jsou $AlCl_3$, kyselina *para*-toluensulfonová nebo iontoměnič v silně kyselém módu. Nastíněné mechanismy esterifikace mastné kyseliny a transesterifikace TAG jsou uvedeny níže v samostatných kapitolách.

Mezi používané bazické katalyzátory můžeme nalézt roztoky hydroxidů či uhličitánů sodného či draselného a alkoholáty, jako ionické zástupce. Jako neionické báze jsou udávány látky charakteru organických bází, viz *Obr. 5*. Mechanismus transesterifikace TAG je popsán v kapitole níže.

POZOR! Esterifikace volných mastných kyselin bazickými katalyzátory jako jsou alkoholáty nebo anorganické hydroxidy **NEPROBÍHÁ!**



Obr. 5. Zleva: 1,5,7-Triazabicyklo[4.4.0]dek-5-en (TBD), 1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (DBU), 1,5-Diazabicyklo[4.3.0]non-5-en (DBN) [48]

K esterifikacím a k transesterifikacím mastných kyselin a olejů je na místě uvést některé další obecné informace. Je nutné uvažovat, že tyto typy reakcí jsou zásadně rovnovážné. Pokud chceme ovlivnit výtěžek námi požadovaných produktů je potřeba rovnováhu

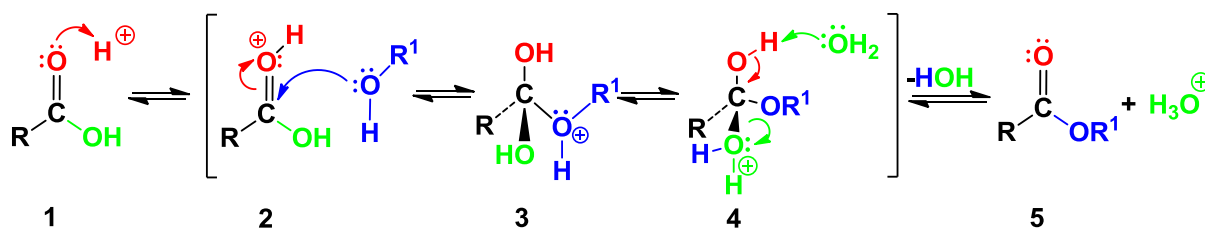
výrazně posunout na pravou stranu reakce, např. odebráním vedlejších produktů (reaktivní jmače vody, tzv. *waterscavengers*, 2,2-dimetroxypropan) nebo velkým přebytkem použitého alkoholu. U polynenasycených olejů je potřeba brát v potaz i bočné reakce na dvojných vazbách při práci s koncentrovanějšími činidly nebo za delších reakčních časů. V dostupných publikacích je taktéž vyzdvihováno, aby se volba alkoholu, který má sloužit jako esterifikační člen reakce nevolil pouze methanol, ale např. pro tuky s kratšími kyselinami alkohol s vyšším počtem uhlíků, tedy až butan-1-ol. Sníží se tak v tomto případě znatelnější těkavost butyl-esteru od methyl-esteru.

4.1 Mechanismy esterifikačních a transesterifikačních reakcí

Tato část je do práce vložena z důvodu, že mohou nastítnit, osvětlit složitost těchto typů reakcí. Také se v literních zdrojích např. pro esterifikaci v kyselém prostředí vyskytuje jen jedna ze dvou možností.

(A) Kyselé katalyzovaná esterifikace volné kyseliny

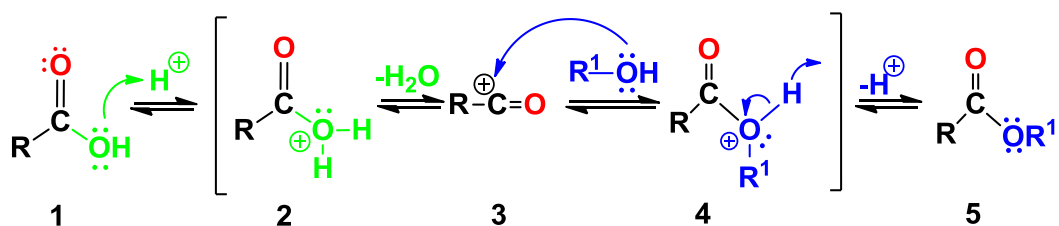
Protonací karbonylové skupiny se docílí aktivace karboxylové kyseliny **1** k nukleofilnímu napadení alkoholem **2**, kdy vzniká tetraedrický intermediát **3**. Přesunem protonu z jednoho atomu kyslíku na druhý vzniká druhý tetraedrický intermediát **4**. Z tetraedrického intermediátu je vodou odštěpen proton, regeneruje se kyselý katalyzátor. Přeskupením vazeb dochází k eliminaci vody a vzniká požadovaný ester **5**.



Obr. 6. Mechanismus esterifikace volné kyseliny [44]

(B) Kyselě katalyzovaná esterifikace volné kyseliny

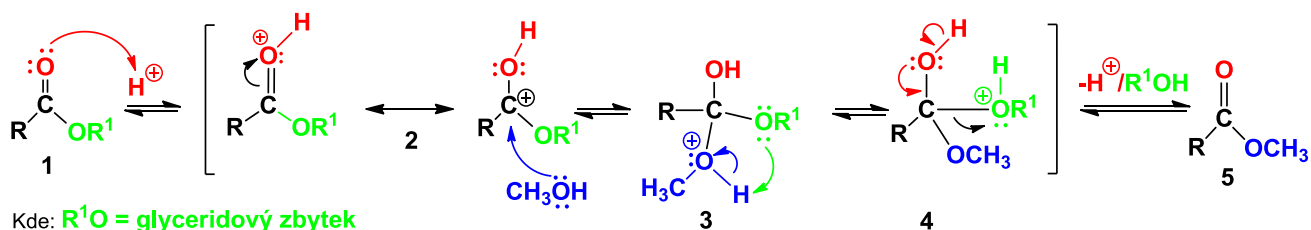
Reakce je zahájena protonací hydroxylové skupiny karboxylové kyseliny **1**. Z meziproductu **2** se odštěpí voda za vzniku karbokationu **3**. Karbokation je atakován volným elektronovým párem na atomu kyslíku alkoholem. Vzniklý meziproduct **4** přechází na požadovaný ester **5** eliminací protonu.



Obr. 7. Mechanismus esterifikace volné kyseliny v kyselém prostředí [46]

Kyselě katalyzovaná transesterifikace TAG na methyl-estery

Protonace karbonylové skupiny esteru **1** vede ke karbokationu **2**, který má dvě rezonanční podoby. Po nukleofilnímu útoku alkoholem (metanol) vzniká tetraedrický meziproduct **3**. U tohoto meziproductu dojde k přenosu protonu a následně se z meziproductu **4** eliminuje glyceridový zbytek. Během eliminace vzniká i žádaný methyl-ester **5**.



Obr. 8. Transesterifikace TAG na methyl-ester v kyselém prostředí [46]

Bazicky katalyzovaná transesterifikace TAG na methyl-estery

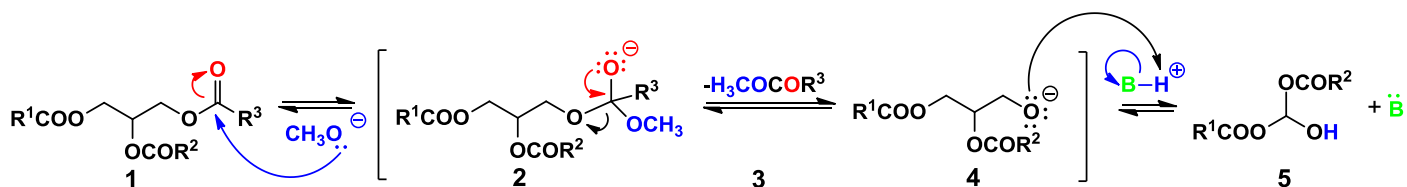
Prvním krokem je reakce báze **B** s alkoholem za vzniku alkoxidu a proponovaného katalyzátoru.



Obr. 9. Reakce báze **B** s alkoholem za vzniku alkoxidu [46]

Druhým krokem je již samotná reakce alkoxidu (methanolátu) s TAG **1**. Dochází k nukleofilnímu napadení karbonylové skupiny TAG **1** s alkoxidem, přičemž se vytváří tetraedrický meziproduct **2**. Meziproduct **2** po přeskupení vazeb odštěpuje chtěný

methyl-ester **3** a sám přechází na glyceridový anion **4**, který z proponované báze odebírá proton. Takto se regeneruje báze **B** a vzniká dialkylglycerid **5**, z něhož se tvoří alkylester a odpovídající anion diglyceridu. Podobně reagují i diacyl- a monoacylglyceroly. [44], [45][46] [47]



Obr. 10. Vznik dialkylglyceridu [48]

PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce je vývoj a ověření vhodného postupu přípravy methyl-esterů mastných kyselin obsažených ve vzorcích olejů a tuků, např. methoxidem sodným, za katalýzy fluoridem boritým. Esterifikace methanolickým hydroxidem draselným a kyselinou sírovou jsou metody na Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky známy a používané. Dalším krokem je analýza takto připravených esterů mastných kyselin pomocí plynové chromatografie na dvou typech chromatografických kolon (polární/nepolární fáze) a porovnání zastoupení jednotlivých analytů a postupů.

6 MATERIÁL A METODY

6.1 Rostlinné oleje

Metody příprav methyl-esterů byly testovány na třech vzorcích jedlých olejů dostupných v obchodních řetězcích v České republice.

Z vědeckých publikací byly získány procentuální zastoupení mastných kyselin. Obsahy jedlých olejů, které byly testovány, jsou uvedeny v *Tab. 1*.

Tab. 1 – Obecné složení jedlých olejů [49] [50] [51] [52] [53] [54]

Mastná kyselina	Rostlinný olej		
	Slunečnicový [%]	Olivový [%]	Řepkový [%]
Kyselina palmitová C16:0	5–7	9–15	2–4
Kyselina palmitolejová C16:1 (9) cis	<0,1	0,4–3	0,2–0,6
Kyselina stearová C18:0	5–9	1–2	1–3
Kyselina olejová C18:1 (9) cis	14–34	47–79	52–66
Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	57–79	2–8	9–22
Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	<0,1	0,5–1	4–14

Na základě srovnání testovaných olejů z vědeckých publikací lze konstatovat, že obsahy našich vzorků byly shodné.

Olivový olej

Komerční název vzorku: Extra Virgin Olivový olej

Množství: 500 ml

Původ: Španělsko

Výrobce: Gaston, spol. s r.o.

Řepkový olej

Komerční název vzorku: Amphora 100% Řepkový olej

Množství: 1000 ml

Původ: Německo

Výrobce: COP Cargill Oil Packers

Slunečnicový olej

Komerční název vzorku: Lukana Slunečnicový olej

Množství: 1000 ml

Původ: Česká republika

Výrobce: Glencore Grain Czech s.r.o.

6.2 Chemikálie

Čisté použité chemikálie a rozpouštědla.

- Methanol koncentrovaný p.a.; (IPL, Ing. Petr Lukeš, CAS: 67-56-1)
- Hydroxid draselný (PENTA, Ing. Petr Švec, CAS: 1310-58-3)
- Hexan, 99 % p.a.; (VWR Chemicals, CAS: 110-54-3)
- Petrolether p.a.; (Ing. Petr Lukeš, CAS: 64752-49-0)
- Kyselina sírová, H₂SO₄, 96% p.a.; (mikroCHEM, CAS: 7664-93-9)
- Fluorid boritý, BF₃·MeOH, 20 %; (VWR Chemicals, CAS: 16045-88-8)
- Methoxid sodný/methanolát sodný, 98 % (Alfa Aesar, CAS: 124-41-4)
- NaCl p.a. (Ing. Petr Lukeš, CAS: 7647-14-5)
- Síran sodný (Na₂SO₄) bezvodý Ph. Eur.; (IPL, Ing. Petr Lukeš, CAS: 7757-82-6)

Činidla připravována

- Methanolický roztok KOH

Příprava 1M methanolickeho KOH

$$m = c \cdot V \cdot M$$

$$m = 1 \frac{\text{mol}}{\text{l}} \cdot 0,1 \text{ l} \cdot 56,106 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$m = 5,6106 \text{ g}$$

- Methanolický roztok H₂SO₄

Příprava 10% methanolicke H₂SO₄

$$c_1 \cdot V_1 = c_2 \cdot V_2$$

$$0,96 \frac{\text{mol}}{\text{l}} \cdot V_1 = 0,1 \frac{\text{mol}}{\text{l}} \cdot 0,025 \text{ l}$$

$$V_1 = 0,0026 \text{ l} ; 2,6 \text{ ml}$$

Kde:

m – hmotnost navážky [g]

c_1 – koncentrace H_2SO_4 [mol/l]

c – požadovaná koncentrace KOH [mol/l]

c_2 – požadovaná koncentrace [mol/l]

M – molární hmotnost KOH [g/mol]

V_2 – objem připravovaného roztoku [l]

V – objem připravovaného roztoku [l]

6.3 Přístroje a vybavení

- Plynový chromatograf Shimadzu GC – 14A s FID detektorem. Polární kolona Agilent Technologies DB-WAX.

Chromatografická stanice CSW 32.

Popis použité metody a nastavení přístroje během analýz:

Nastavení nástříku – teplota = 225 °C, průtok = 2,5 kg·cm⁻², s děliče toku, poměr blíže neurčen, oplach septa 0,5 kg·cm⁻².

Objem nastříkovaného vzorku a rozpouštědlo – 2 µl; hexan nebo petrolether.

Nastavení teplotního profilu termostatu – DB-WAX, GC kapilární kolona 25 m × 0,2 mm × 0,2 µm.

Teplotní profil – počátek 110 °C po 3 min, ohřev na 220 °C rychlostí 15 °C/min → konec 10 min při 220 °C.

Celkový čas analýzy – 20,33 min.

Nastavení detektoru – FID, teplota = 230 °C, průtok = vodík 0,5 kg·cm⁻², vzduch 0,4 kg·cm⁻².

- Plynový chromatograf DANI MASTER GC Fast Gas Chromatograph s FID detektorem. Nepochární kolona Phenomenex Zebron™ ZB-5MS.

Chromatografická stanice Clarity.

Popis použité metody a nastavení přístroje během analýz:

Nastavení nástříku – teplota = 230 °C, průtok = 1 ml·min⁻¹, dělič toku 1 : 25, oplach septa 5 ml·min⁻¹.

Objem nastříkovaného vzorku a rozpouštědlo – 1 µl; hexan nebo petrolether.

Nastavení teplotního profilu termostatu – Zebron™ ZB-5MS, GC kapilární kolona 30 m × 0,25 mm × 0,5 µm.

Teplotní profil – počátek 110 °C ohřev na 240 °C rychlostí 5 °C/min → od 240 °C do 280 °C rychlostí 2 °C/min → konec 20 min při 280 °C.

Celkový čas analýzy – 66 min.

Nastavení detektoru – FID, teplota = 300 °C, průtok = dusík 25 ml·min⁻¹, vodík 40 ml·min⁻¹, vzduch 280 ml·min⁻¹.

6.4 Metody příprav methyl-esterů

V praktické části diplomové práce byly tři vzorky jedlých olejů (olivový, řepkový a slunečnicový) připravovány různými metodami. Pro každou metodu byly vedle sebe z jednoho oleje připraveny tři vzorky k analýze na GC. Postupně docházelo k vývoji a ověření vhodného postupu přípravy methyl-esterů mastných kyselin potřebného k analýze plynové chromatografie.

Jako činidla bazická byly vybrány methanolický KOH a methoxid sodný. Ke kyselé katalyzované esterifikaci byl použit roztok BF₃ nebo H₂SO₄ v methanolu.

Jako s vodou nemísitelné rozpouštědlo byl použit u následných postupů hexan a nebo petrolether.

6.4.1 Bazicky katalyzovaná esterifikace s KOH

Postup: Do 100ml varné baňky bylo s přesností 0,001 g naváženo 2 g vzorku oleje. K vzorku bylo přidáno 20 ml methanolu a 1 ml methanolického 1M KOH. Takto připravená směs byla ponechána vařit pod zpětným chladičem alespoň 30 minut. Poté byla baňka ochlazená a její obsah byl převeden do dělicí nálevky. Baňka byla promyta 10 ml rozpouštědla a roztok byl přidán do dělicí nálevky spolu s 20 ml 15% roztoku NaCl. Celý obsah byl řádně protřepán, vodná fáze byla oddělena do druhé dělicí nálevky a bylo k ní přidáno dalších 5 ml rozpouštědla. Obsah druhé dělicí nálevky byl opět protřepán, vodná a organická fáze byla oddělena. Organické extrakty z první a druhé dělicí nálevky byly spojeny a nakonec protřepány 15 ml 20% roztokem NaCl. Po oddělení vodné fáze byla fáze organická vysušena přes bezvodý Na₂SO₄. Poté byly vzorky převedeny do 5ml odměrných baněk pro analýzu dále ředěny podle typu přístroje. [49]

6.4.2 Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH₃ONa a toluenem

Postup: Do 100ml varné baňky bylo s přesností 0,001 g naváženo přibližně 0,5 g vzorku oleje. K vzorku bylo přidáno 7,5 ml 1% CH₃ONa v metanolu a 1 ml toluenu. Takto připravená směs byla ponechána vařit pod zpětným chladičem alespoň 15 minut. Poté byla

baňka ochlazená a její obsah byl převeden do dělicí nálevky. Baňka byla promyta 5 ml hexanu a roztok byl přidán do dělicí nálevky spolu s 5 ml 15% roztoku NaCl. Celý obsah byl řádně protřepán, vodná fáze byla oddělena. Bylo přidáno dalších 5 ml NaCl a opět protřepáno. Po oddělení vodné fáze byla hexanová fáze vysušena přes bezvodý Na_2SO_4 . Poté byly vzorky převedeny do 5ml odměrných baněk a pro analýzu dále ředěny podle typu přístroje. [50]

6.4.3 Kyselá katalyzovaná esterifikace s H_2SO_4

Postup: Do 100ml varné baňky bylo s přesností 0,001 g naváženo přibližně 1 g vzorku oleje. K vzorku bylo přidáno 5 ml rozpouštědla a 25 ml 10% H_2SO_4 v methanolu. Takto připravená směs byla ponechána vařit pod zpětným chladičem alespoň 30 minut. Poté byla baňka ochlazená a její obsah byl převeden do dělicí nálevky. Baňka byla promyta dalšími 10 ml rozpouštědla a roztok byl přidán do dělicí nálevky. Celý obsah byl řádně protřepán, vodná fáze byla oddělena od organické. Organická část byla zneutralizována vytřepáním s nasyceným roztokem NaHCO_3 tolikrát, dokud se z roztoku neuvolňoval CO_2 . Pro kontrolu bylo zkoušeno pH roztoku, které má být neutrální. Organická část byla poté oddělena a vysušena bezvodým Na_2SO_4 . Vzorky byly převedeny do 5ml odměrných baněk a pro analýzu dále ředěny podle typu přístroje. [53]

6.4.4 Kyselá katalyzovaná esterifikace s H_2SO_4 a toluenem

Postup: Do 100ml varné baňky bylo s přesností 0,001 g naváženo přibližně 1 g vzorku oleje. K vzorku bylo přidáno 25 ml 10% H_2SO_4 v metanolu a 1 ml toluenu. Takto připravená směs byla ponechána vařit pod zpětným chladičem alespoň 30 minut. Poté byla baňka ochlazená a její obsah byl převeden do dělicí nálevky. Baňka byla promyta přibližně 10 ml rozpouštědla a roztok byl přidán do dělicí nálevky. Celý obsah byl řádně protřepán, vodná fáze byla oddělena od organické. Organická část byla zneutralizována vytřepáním s nasyceným roztokem NaHCO_3 tolikrát, dokud se z roztoku neuvolňoval CO_2 . Pro kontrolu bylo zkoušeno pH roztoku, které má být neutrální. Organická část byla poté oddělena a vysušena bezvodým Na_2SO_4 . Vzorky byly převedeny do 5ml odměrných baněk a pro analýzu dále ředěny podle typu přístroje. [55]

6.4.5 Kyselá katalyzovaná esterifikace s BF_3

Postup: Do 100ml varné baňky bylo s přesností 0,001 g naváženo přibližně 1 g vzorku oleje. K vzorku byly přidány 4 ml methanického 1M KOH. Takto připravená směs byla

ponechána vařit pod zpětným chladičem alespoň 30 minut. Po uplynuté době byl ohřev přerušen a baňka lehce ochlazena. Ke směsi bylo přidáno 5 ml 20% BF_3 v metanolu. Směs byla poté opět ponechána vařit přibližně další 2 minuty. Po ukončení varu byla baňka promyta 10 ml rozpouštědla a roztok byl přelit do dělicí nálevky spolu se 40 ml 15% roztoku NaCl . Celý obsah byl řádně protřepán. Organická část byla poté oddělena a vysušena bezvodým Na_2SO_4 . Vzorke byly převedeny do 5ml odměrných baněk a pro analýzu dále ředěny podle typu přístroje. [52]

7 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem praktické části práce byla příprava methyl-esterů různými metodami s kyselými a bazickými činidly. Po převedení jednotlivých rostlinných olejů na methyl-estery byly vzorky přichystány pro analýzu plynovou chromatografií, a to vhodným naředěním. K měření byly využity dva chromatografy s rozlišným charakterem kolony, a to s nepolární a polární. Pro každou metodu byly vedle sebe z jednoho oleje připraveny tři vzorky k analýze na GC. Výsledky jednotlivých metod přípravy byly zhodnoceny a porovnány mezi sebou.

Ve výčtu signálů byli vybráni tři zástupci mastných kyselin s nejvyšším procentuálním obsahem ve vzorcích. Přesněji kyselina palmitová, olejová, linolová a případně linolenová podle typu oleje.

7.1.1 Bazicky katalyzovaná esterifikace s KOH, slunečnicový olej

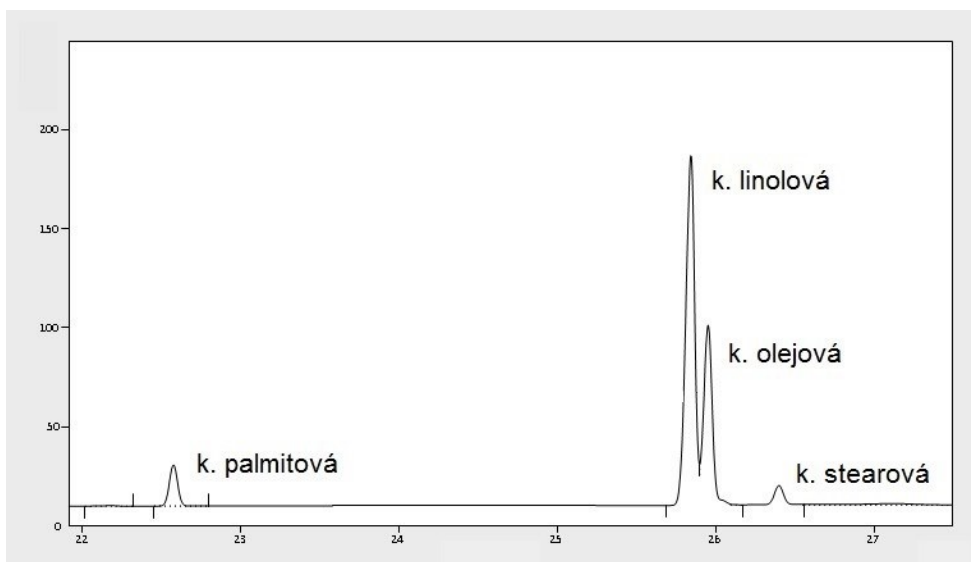
Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 1000 μ l hexan : 50 μ l vzorek.

Tab. 2 – Hodnoty slunečnicového oleje s KOH pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	58,4	56,6
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	32,3	31,9
	Kyselina palmitová C16:0	6,7	8,6
2	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	58,6	54,8
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	32,7	32,6
	Kyselina palmitová C16:0	6,7	8,9
3	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	58,9	55,8
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	33,3	31,4
	Kyselina palmitová C16:0	6,8	8,1

V každém ze vzorku slunečnicového oleje byly stanoveny jen nejvíce zastoupené mastné kyseliny. Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v Tab. 2. Ve vzorcích slunečnicového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny

linolové. Průměrné procentuální zastoupení tří analyzovaných vzorků bylo 58,4 %; 58,6 % a 58,9%. Dále zastoupena byla kyselina olejová a to v množství 32,3 %; 32,7 % a 33,3 %. V nejmenším množství byla zastoupena kyselina palmitová v množství 6,7 %; 6,7 % a 6,8 %.



Obr. 11. Chromatogram slunečnicového oleje s KOH pro nepolární kolonu

Další typy chromatogramů z ostatních metod jsou přidány v přílohách.

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 800 μ l hexan : 200 μ l vzorek.

Tab. 3 – Hodnoty slunečnicového oleje s KOH pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	59,1	57,3
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	29,5	30,6
	Kyselina palmitová C16:0	6,7	8,3
2	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	59,7	53,0
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	29,5	32,7
	Kyselina palmitová C16:0	6,9	9,9
3	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	59,9	56,3
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	30,1	31,2
	Kyselina palmitová C16:0	6,1	8,7

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v Tab. 3. Ve vzorcích slunečnicového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny linolové

v množství 59,1 %; 59,7 % a 59,9 %. Dále zastoupena byla kyselina olejová a to v množství 29,5 %; 29,5 % a 30,1 %. V nejmenším množství byla zastoupena kyselina palmitová v množství 6,7 %; 6,9 % a 6,1 %.

V porovnání z hlediska polární a nepolární kolony se zastoupení jednotlivých mastných kyselin nelišilo.

7.1.2 Bazicky katalyzovaná esterifikace s KOH, olivový olej

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 1000 μ l hexan : 25 μ l vzorek.

Tab. 4 – Hodnoty olivového oleje s KOH pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	77,7	76,9
	Kyselina palmitová C16:0	10,2	11,3
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	6,6	6,9
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	78,1	72,9
	Kyselina palmitová C16:0	10,3	14,1
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	5,6	6,6
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	78,9	73,3
	Kyselina palmitová C16:0	10,0	13,9
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	5,6	6,6

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v Tab. 4. Ve vzorcích olivového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 77,7 %; 78,1 % a 78,9 %. Dále zastoupena byla kyselina palmitová a to v množství 10,2 %; 10,3 % a 10,0 %. V nejmenším množství byla zastoupena kyselina linolová v množství 6,6 %; 5,6 % a 5,6 %.

Pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 800 μ l hexan : 200 μ l vzorek.

Tab. 5 – Hodnoty olivového oleje s KOH pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	76,6	73,2
	Kyselina palmitová C16:0	10,6	14,8
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	7,4	7,0
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	79,2	63,7
	Kyselina palmitová C16:0	10,1	19,9
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	6,3	10,9
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	75,8	69,0
	Kyselina palmitová C16:0	10,3	16,2
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	7,0	8,8

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v Tab. 5. Ve vzorcích olivového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 76,6 %; 79,2 % a 75,8 %. Dále zastoupena byla kyselina palmitová a to v množství 10,6 %; 10,1 % a 10,3 %. V nejmenším množství byla zastoupena kyselina linolová v množství 7,4 %; 6,3 % a 7,0 %.

V porovnání z hlediska polární a nepolární kolony se zastoupení jednotlivých mastných kyselin nelišilo.

7.1.3 Bazicky katalyzovaná esterifikace s KOH, řepkový olej

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 1000 µl hexan : 25 µl vzorek.

Tab. 6 – Hodnoty řepkového oleje s KOH pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	70,1	70,2
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	18,4	19,3
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	4,6	5,4
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	71,1	69,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	19,4	20,5
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	4,4	5,3
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	71,0	70,0
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	19,3	20,3
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	4,5	5,2

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v *Tab. 6*. Ve vzorcích řepkového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 70,1 %; 71,1 % a 71,0 %. Dále zastoupena byla kyselina linolová v množství 18,4 %; 19,4 % a 19,3 %. V nejmenším množství byla zastoupena kyselina α -linolenová v množství 4,6 %; 4,4 % a 4,5 %.

Pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 800 μ l hexan : 200 μ l vzorek.

Tab. 7 – Hodnoty řepkového oleje s KOH pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	60,4	57,2
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	20,2	22,9
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	8,4	8,7
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	61,5	59,9
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	20,1	21,7
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	8,7	8,0
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	62,0	56,5
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	20,0	21,9
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	8,6	9,1

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v *Tab. 7*. Ve vzorcích řepkového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 60,4 %; 61,5 % a 62,0 %. Dále zastoupena byla kyselina linolová v množství 20,2 %; 20,1 % a 20,0 %. V nejmenším množství byla zastoupena kyselina α -linolenová v množství 8,4 %; 8,7 % a 8,6 %.

V porovnání z hlediska polární a nepolární kolony se lišilo množství kyseliny olejové. Řepkový olej měl procentuální zastoupení kyseliny olejové při polární koloně přibližně o 10 % nižší. Kyselina α -linolenová byla u řepkového oleje přibližně o 4 % vyšší. Při měření mohlo dojít ke špatnému dělení na koloně, které mělo vliv na symetrii píku.

7.1.4 Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH_3ONa a toluenem, slunečnicový olej

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 950 μl hexan : 50 μl vzorek.

Tab. 8 – Hodnoty slunečnicového oleje s CH_3ONa a toluenem pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	57,3	56,6
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	29,9	31,5
	Kyselina palmitová C16:0	6,1	6,6
2	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	58,0	56,7
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	29,7	31,7
	Kyselina palmitová C16:0	6,2	6,7
3	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	58,9	56,7
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	29,9	31,4
	Kyselina palmitová C16:0	6,2	6,7

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v Tab. 8. Ve vzorcích slunečnicového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny linolové v množství 57,3 %; 58,0 % a 58,9 %. Dále zastoupena byla kyselina olejová a to v množství 29,9 %; 29,7 % a 29,9 %. Nejméně zastoupena byla kyselina palmitová v množství 6,1 %; 6,2 % a 6,2 %.

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou byl vzorek dávkován v množství 2 μl bez ředění.

Tab. 9 – Hodnoty slunečnicového oleje s CH_3ONa a toluenem pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	59,1	57,0
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	28,7	31,5
	Kyselina palmitová C16:0	7,9	7,9
2	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	59,4	53,7
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	31,5	32,8
	Kyselina palmitová C16:0	7,1	11,2
3	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	59,3	54,7
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	29,8	31,6
	Kyselina palmitová C16:0	7,5	8,9

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v *Tab. 9*. Ve vzorcích slunečnicového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny linolové v množství 59,1 %; 59,4 % a 59,3 %. Dále zastoupena byla kyselina olejová a to v množství 28,7 %; 31,5 % a 29,8 %. Nejméně zastoupena byla kyselina palmitová v množství 7,9 %; 7,1 % a 7,5 %.

V porovnání z hlediska polární a nepolární kolony se zastoupení jednotlivých mastných kyselin nelišilo. Procentuální složení se nelišilo ani v porovnání s přípravou metody za použití KOH.

7.1.5 Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH_3ONa a toluenem, olivový olej

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 950 μl hexan : 50 μl vzorek.

Tab. 10 – Hodnoty olivového oleje s CH_3ONa a toluenem pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	78,7	78,4
	Kyselina palmitová C16:0	7,9	9,0
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	5,8	6,3
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	79,1	78,3
	Kyselina palmitová C16:0	8,0	9,2
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	5,9	6,5
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	78,9	78,5
	Kyselina palmitová C16:0	7,9	8,9
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	5,9	6,4

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v *Tab. 10*. Ve vzorcích olivového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 78,7 %; 79,1 % a 78,9 %. Dále zastoupena byla kyselina palmitová a to v množství 7,9 %; 8,0 % a 7,9 %. Nejméně zastoupená byla kyselina linolová v množství 5,8 %; 5,9 % a 5,9 %.

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou byl vzorek dávkován v množství 2 μl bez ředění.

Tab. 11 – Hodnoty olivového oleje s CH_3ONa a toluenem pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	81,7	69,9
	Kyselina palmitová C16:0	9,1	16,4
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	8,1	13,0
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	84,6	76,8
	Kyselina palmitová C16:0	9,4	14,5
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	8,1	13,3
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	80,4	75,6
	Kyselina palmitová C16:0	9,3	15,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	8,1	13,2

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v *Tab. 11*. Ve vzorcích olivového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 81,7 %; 84,6 % a 80,4 %. Dále zastoupena byla kyselina palmitová a to v množství 9,1 %; 9,4 % a 9,3 %. Nejméně zastoupená byla zastoupena kyselina linolová v množství 8,1 %; 8,1 % a 8,1 %.

V porovnání z hlediska polární a nepolární kolony se zastoupení jednotlivých mastných kyselin nelišilo. Procentuální složení se nelišilo ani v porovnání s přípravou metody za použití KOH.

7.1.6 Bazicky katalyzovaná esterifikace s CH_3ONa a toluenem, řepkový olej

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 950 μl hexan : 50 μl vzorek.

Tab. 12 – Hodnoty řepkového oleje s CH_3ONa a toluenem pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9)	64,6	65,4
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	17,8	19,1
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	3,6	4,8
2	Kyselina olejová C18:1 (9)	69,8	69,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	18,9	20,1
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	4,5	4,9
3	Kyselina olejová C18:1 (9)	66,8	64,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	17,9	20,3
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	4,1	4,8

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v Tab. 12. Ve vzorcích řepkového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 64,6 %; 69,8 % a 66,8 %. Dále zastoupena byla kyselina linolová v množství 17,8 %; 18,9 % a 17,9 %. Nejméně zastoupena byla kyselina α -linolenová v množství 3,6 %; 4,5 % a 4,1 %.

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou byl vzorek dávkován v množství 2 μl bez ředění.

Tab. 13 – Hodnoty řepkového oleje s CH_3ONa a toluenem pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9)	61,5	59,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	20,6	25,3
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	10,2	9,3
2	Kyselina olejová C18:1 (9)	60,6	59,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	20,1	24,8
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	10,1	9,3
3	Kyselina olejová C18:1 (9)	61,1	59,7
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	20,2	24,3
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	10,2	9,3

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v *Tab. 13*. Ve vzorcích řepkového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 61,5 %; 60,6 % a 61,1 %. Dále zastoupena byla kyselina linolová v množství 20,6 %; 20,1 % a 20,2 %. Nejméně zastoupena byla kyselina α -linolenová v množství 10,2 %; 10,1 % a 10,2 %.

V porovnání z hlediska polární a nepolární kolony se vyskytly rozdíly. Řepkový olej měl procentuální zastoupení kyseliny linolové při polární koloně přibližně o 3 % vyšší. Zastoupení kyseliny olejové bylo o 5 % nižší. Vyšší množství o 6 % oproti nepolární koloně bylo také u kyseliny α -linolenové. Při měření mohlo dojít ke špatnému dělení na koloně, které mělo vliv na symetrii píku.

7.1.7 Kyselkatalyzovaná esterifikace s H_2SO_4 , nepolární kolona

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 950 μ l hexan : 50 μ l vzorek.

Tab. 14 – Hodnoty slunečnicového oleje s H_2SO_4 pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	61,9	56,8
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	22,9	23,3
	Kyselina palmitová C16:0	5,8	10,2
2	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	58,5	59,8
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	25,9	26,7
	Kyselina palmitová C16:0	6,8	7,2
3	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	54,7	58,7
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	24,1	25,9
	Kyselina palmitová C16:0	6,4	7,2

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v *Tab. 14*. Ve vzorcích slunečnicového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny linolové v množství 61,9 %; 58,5 % a 54,7 %. Dále zastoupena byla kyselina olejová a to v množství 22,9 %; 25,9 % a 24,1 %. Nejméně zastoupena byla kyselina palmitová v množství 5,8 %; 6,8 % a 6,4 %.

V této metodě byly menší rozdíly v zastoupení kyseliny linolové. Ze vzorku č. 1 bylo průměrné množství kyseliny linolové 61,9 % oproti vzorku č. 3, s množstvím 54,7 %.

Procentuální složení se nelišilo v porovnání s přípravou metody za použití KOH nebo CH₃ONa.

Tab. 15 – Hodnoty olivového oleje s H₂SO₄ pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	69,1	70,7
	Kyselina palmitová C16:0	8,9	10,1
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	5,0	6,3
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	70,0	69,9
	Kyselina palmitová C16:0	10,3	13,1
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	6,4	7,2
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	76,5	73,5
	Kyselina palmitová C16:0	8,7	12,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	7,8	6,9

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v Tab. 15. Ve vzorcích olivového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 69,1 %; 70,0 % a 76,5 %. Dále zastoupena byla kyselina palmitová a to v množství 8,9 %; 10,3 % a 8,7 %. Nejméně zastoupená byla kyselina linolová v množství 5,0 %; 6,4 % a 7,8 %.

V této metodě byly menší rozdíly v zastoupení kyseliny olejové. Ze vzorku č. 1 bylo průměrné množství kyseliny olejové 69,1 % oproti vzorku č. 3, s množstvím 76,5 %. Procentuální složení se nelišilo v porovnání s přípravou metody za použití KOH nebo CH₃ONa.

Tab. 16 – Hodnoty řepkového oleje s H_2SO_4 pro nepolární kolonu

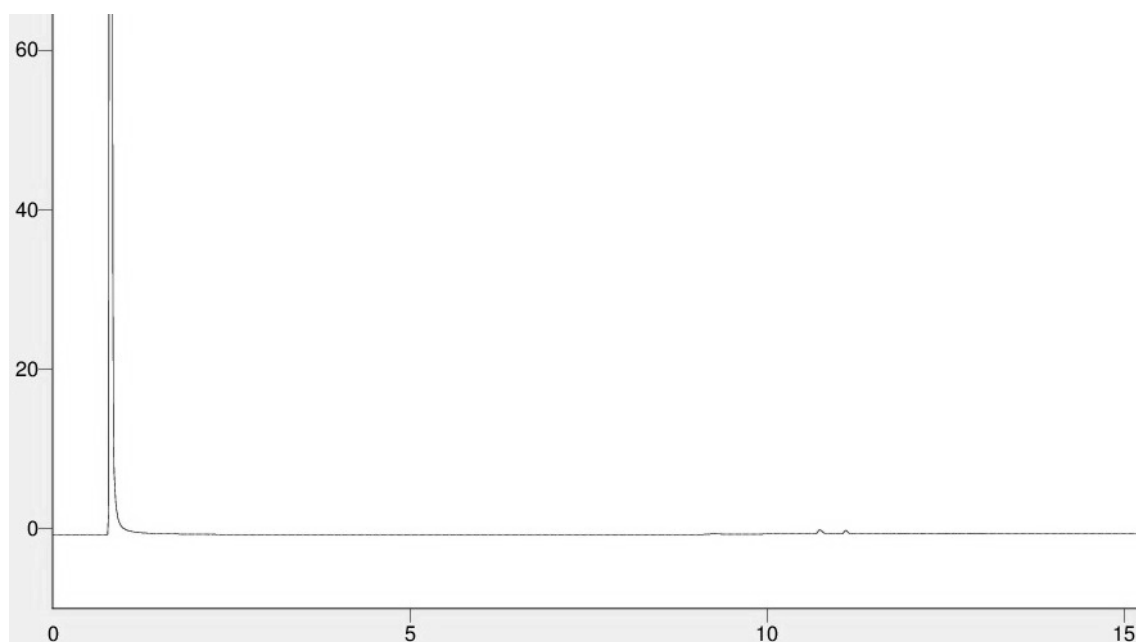
Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	68,5	69,4
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	16,7	18,4
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	5,0	6,4
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	67,6	69,1
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	17,5	19,1
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	5,0	7,1
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	68,9	69,3
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	16,4	18,7
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	5,1	6,8

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v Tab. 16. Ve vzorcích řepkového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 68,5 %; 67,6 % a 68,9 %. Dále zastoupena byla kyselina linolová v množství 16,7 %; 17,5 % a 16,4 %. Nejméně zastoupena byla kyselina α -linolenová v množství 5,0 %; 5,0 % a 5,1 %.

Procentuální složení se nelišilo v porovnání s přípravou metody za použití KOH nebo CH_3ONa .

7.1.8 Kyselí katalyzovaná esterifikace s H_2SO_4 a toluenem, polární kolona

Předchozí způsob přípravy vzorku pro polární kolonu nebyl zcela vhodný. Signály získané z přístroje byly velmi nízké a příliš se nelišily od šumu. Pravděpodobný důvodem byla nedostatečná transesterifikace vzorku vlivem jiné polaritě oleje, esterifikačního činidla a methanolu. Proto jsme při další přípravě přidávali do reakční směsi malé množství toluenu pro zvýšení mísitelnosti. Je zvláštní a nedokážeme si zcela vysvětlit, že podobně bez toluenu zpracovaný vzorek analyzovaný na přístroji s polární kolonou se podařilo analyzovat.



Obr. 12. Chromatogram slunečnicového oleje s H_2SO_4 pro polární kolonu (nízké signály)

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou byl vzorek dávkován v množství 2 μ l bez ředění.

Tab. 17 – Hodnoty slunečnicového oleje s H_2SO_4 a toluenem pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	76,6	74,1
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	13,6	13,2
	Kyselina palmitová C16:0	8,6	10,0
2	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	74,9	75,1
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	16,3	14,9
	Kyselina palmitová C16:0	8,3	9,5
3	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	71,9	75,7
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	15,3	14,9
	Kyselina palmitová C16:0	8,4	9,1

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v Tab. 17. Ve vzorcích slunečnicového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny linolové v množství 76,6 %; 74,9 % a 71,9 %. Dále zastoupena byla kyselina olejová a to v množství 13,6 %; 16,3 % a 15,3 %. Nejméně zastoupena byla kyselina palmitová v množství 8,6 %; 8,3 % a 8,4 %.

Procentuální složení mělo mírné rozdíly v případě kyseliny palmitové. Procentuální množství bylo přibližně o polovinu menší v porovnání s ostatními metodami i v porovnání s použitím nepolární kolony.

Tab. 18 – Hodnoty olivového oleje s H_2SO_4 a toluenem pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	72,2	75,5
	Kyselina palmitová C16:0	14,8	15,1
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	10,7	10,3
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	70,2	75,0
	Kyselina palmitová C16:0	18,9	14,9
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	10,9	10,1
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	74,5	75,4
	Kyselina palmitová C16:0	14,6	15,0
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	10,9	10,6

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v Tab. 18. Ve vzorcích olivového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 72,2 %; 70,2 % a 74,5 %. Dále zastoupena byla kyselina palmitová a to v množství 14,8 %; 18,9 % a 14,6 %. Nejméně zastoupená byla kyselina linolová v množství 10,7 %; 10,9 % a 10,9 %.

Procentuální složení se příliš nelišilo v porovnání s přípravou metody za použití KOH nebo CH_3ONa .

Tab. 19 – Hodnoty řepkového oleje s H_2SO_4 a toluenem pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9)	67,7	72,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	22,0	24,5
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	10,3	7,9
2	Kyselina olejová C18:1 (9)	64,3	69,2
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	23,1	22,7
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	9,8	8,1
3	Kyselina olejová C18:1 (9)	67,8	70,2
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	20,8	23,7
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	8,9	8,3

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v *Tab. 19*. Ve vzorcích řepkového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 67,7 %; 64,3 % a 67,8 %. Dále zastoupena byla kyselina linolová v množství 22,0 %; 23,1 % a 20,8 %. Nejméně zastoupena byla kyselina α -linolenová v množství 10,3 %; 9,8 % a 8,9 %.

Procentuální složení se nelišilo v porovnání s přípravou metody za použití KOH nebo CH_3ONa .

7.1.9 Kyselí katalyzovaná esterifikace s BF_3 , slunečnicový olej

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 800 μl hexan : 200 μl vzorek.

Tab. 20 – Hodnoty slunečnicového oleje s BF_3 pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	56,6	54,9
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	29,3	32,3
	Kyselina palmitová C16:0	6,2	6,9
2	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	56,8	54,2
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	29,6	33,2
	Kyselina palmitová C16:0	6,1	6,8
3	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	57,1	54,6
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	29,5	33,1
	Kyselina palmitová C16:0	6,2	6,9

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v *Tab. 20*. Ve vzorcích slunečnicového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny linolové v množství 56,6 %; 56,8 % a 57,1 %. Dále zastoupena byla kyselina olejová a to v množství 29,3 %; 29,6 % a 29,5 %. Nejméně zastoupena byla kyselina palmitová v množství 6,2 %; 6,1 % a 6,2 %.

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou byl vzorek dávkován v množství 2 μl bez ředění.

Tab. 21 – Hodnoty slunečnicového oleje s BF_3 pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	56,9	56,0
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	33,3	33,0
	Kyselina palmitová C16:0	6,6	7,4
2	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	54,2	61,8
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	32,3	34,6
	Kyselina palmitová C16:0	6,5	6,9
3	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	55,9	59,8
	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	33,4	32,3
	Kyselina palmitová C16:0	6,4	7,2

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v Tab. 21. Ve vzorcích slunečnicového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny linolové v množství 56,9 %; 54,2 % a 55,9 %. Dále zastoupena byla kyselina olejová a to v množství 33,3 %; 32,3 % a 33,4 %. Nejméně zastoupena byla kyselina palmitová v množství 6,6 %; 6,5 % a 6,4 %.

V porovnání z hlediska polární a nepolární kolony se zastoupení jednotlivých mastných kyselin nelišilo. Procentuální složení se nelišilo ani v porovnání s přípravou metody za použití KOH, CH_3ONa ani s esterifikací za použití H_2SO_4 .

7.1.10 Kyselí katalyzovaná esterifikace s BF_3 , olivový olej

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 950 μ l hexan : 50 μ l vzorek.

Tab. 22 – Hodnoty olivového oleje s BF_3 pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	71,6	70,4
	Kyselina palmitová C16:0	8,4	9,4
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	7,2	8,6
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	73,8	73,1
	Kyselina palmitová C16:0	8,6	9,1
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	7,3	8,6
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	72,3	72,4
	Kyselina palmitová C16:0	8,9	9,3
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	7,1	8,7

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v Tab. 22. Ve vzorcích olivového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 71,6 %; 73,8 % a 72,3 %. Dále zastoupena byla kyselina palmitová a to v množství 8,4 %; 8,6 % a 8,9 %. Nejméně zastoupená byla kyselina linolová v množství 7,2 %; 7,3 % a 7,1 %.

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou byl vzorek dávkován v množství 2 μ l bez ředění.

Tab. 23 – Hodnoty olivového oleje s BF_3 pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	76,9	68,7
	Kyselina palmitová C16:0	8,6	13,3
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	6,8	11,2
2	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	76,2	67,7
	Kyselina palmitová C16:0	8,2	16,1
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	8,1	12,6
3	Kyselina olejová C18:1 (9) cis	78,4	66,9
	Kyselina palmitová C16:0	9,1	12,8
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	7,4	11,6

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v Tab. 23. Ve vzorcích olivového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 76,9 %; 76,2 % a 78,4 %. Dále zastoupena byla kyselina palmitová a to

v množství 8,6 %; 8,2 % a 9,1 %. Nejméně zastoupená byla zastoupena kyselina linolová v množství 6,8 %; 8,1 % a 7,4 %.

V porovnání z hlediska polární a nepolární kolony se lišilo množství kyseliny olejové. Řepkový olej měl procentuální zastoupení kyseliny olejové při polární koloně přibližně o 4 % vyšší.

7.1.11 Kyselí katalyzovaná esterifikace s BF_3 , řepkový olej

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf DANI MASTER GC s nepolární kolonou bylo použito ředění hexanem v poměru 950 μl hexan : 50 μl vzorek.

Tab. 24 – Hodnoty řepkového oleje s BF_3 pro nepolární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9)	66,1	66,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	17,9	19,4
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	4,1	4,9
2	Kyselina olejová C18:1 (9)	66,4	66,8
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	17,9	19,2
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	4,1	4,9
3	Kyselina olejová C18:1 (9)	66,7	67,2
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	18,2	19,4
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	4,2	5,0

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro nepolární kolonu je uvedeno v Tab. 24. Ve vzorcích řepkového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 66,1 %; 66,4 % a 66,7 %. Dále zastoupena byla kyselina linolová v množství 17,9 %; 17,9 % a 18,2 %. Nejméně zastoupena byla kyselina α -linolenová v množství 4,1 %; 4,1 % a 4,2 %.

Pro tuto metodu pro plynový chromatograf Shimadzu GC s polární kolonou byl vzorek dávkován v množství 2 μl bez ředění.

Tab. 25 – Hodnoty řepkového oleje s BF_3 pro polární kolonu

Číslo vzorku	Mastná kyselina	Plocha [%]	Výška [%]
1	Kyselina olejová C18:1 (9)	62,6	63,6
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	21,2	21,6
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	9,9	8,1
2	Kyselina olejová C18:1 (9)	61,6	56,9
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	20,2	24,1
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	9,9	9,6
3	Kyselina olejová C18:1 (9)	63,9	66,4
	Kyselina linolová C18:2 (9,12) all-cis	22,2	23,3
	Kyselina α -linolenová C18:3 (9,12,15) all-cis	12,2	8,6

Jednotlivé zastoupení mastných kyselin pro polární kolonu je uvedeno v Tab. 25. Ve vzorcích řepkového oleje bylo analyzováno nejvyšší zastoupení kyseliny olejové v množství 62,6 %; 61,6 % a 63,9 %. Dále zastoupena byla kyselina linolová v množství 21,2 %; 20,2 % a 22,2 %. Nejméně zastoupena byla kyselina α -linolenová v množství 9,9 %; 9,9 % a 12,2 %.

V porovnání z hlediska polární a nepolární kolony se lišilo množství kyseliny olejové. Z výsledků nepolární kolony měl řepkový olej procentuální zastoupení kyseliny olejové přibližně o 5 % vyšší. Vyšší množství o 4 % u polární kolony bylo také u kyseliny linolové a kyseliny α -linolenové. Při měření mohlo dojít ke špatnému dělení na koloně, které mělo vliv na symetrii píku.

Z námi provedených pokusů chceme vyvodit několik praktických poznámek pro další práci v této oblasti. Je vhodné pro lepší průběh derivatizace k reakčním směsím, pro jakoukoliv metodu přidávat menší množství mírně polárního rozpouštědla, které zajistí dostatečné promísení reaktantů, např. toluen nebo xylen. Dále je vhodnější i podle doporučení z literatury využívat bezvodá, sušená rozpouštědla, např. methanol. U metody s methanolickým KOH je bezvodé prostředí problematický úkol, neboť hydroxid se v čistě alkoholním prostředí rozpouští velmi problematicky. Dalším vylepšením může být přidáváním činidla odebírající vznikající vodu z esterifikací volných kyselin, např. molekulové síto. Posledním vylepšením či poznámkou může být zavedení reakčních podmínek vedených pod inertní atmosférou dusíku nebo argonu.

Výsledky a jejich vzájemné porovnávání se nemusí jevit jako zcela správné. Je to způsobeno především použitím typů chromatografických kolon, které nejsou primárně určeny jako kolony k analýze methyl-esterů mastných kyselin. U kolony ZB-5ms nedochází i přes úpravu chromatografické metody k dokonalému rozdělení nenasycených kyselin, olejové, linolové a linolenové. Podle jejich vzájemného poměru si mohou navzájem uměle navyšovat nebo snižovat relativní procenta obsahu kyselin ve vzorku mezi sebou navzájem. Tomuto problému by se dalo zabránit použitím specifitějších kolon. Jako příklady můžeme uvést kolony např. Phenomenex[®] Zebron ZB-23 vhodnou pro rybí olej a omega-3 mastné kyseliny (stacionární fáze – kyanopropyl : methylpolysiloxan, 50 : 50), Phenomenex[®] Zebron ZB-88 doporučenou pro hydrogenované oleje a olej olivový (kyanopropyl : arylpolysiloxan, 88 : 12) anebo speciální kolonu Phenomenex[®] Zebron ZB-FAME (100 % fáze kyanopropylová) určenou k analýze hlavně methyl-esterů mastných kyselin. Podle katalogů obdobné kolony nabízejí i jiní výrobci, jako Supelco, Restek nebo Agilent.

ZÁVĚR

První část diplomové práce byla věnována základní charakteristice olejů a tuků. Veškerá stanovení v této diplomové práci byla prováděna pomocí plynové chromatografie. Vzorky analyzované pomocí této metody musí být převedeny, a to derivatizací, která byla popsána v další kapitole. Metody esterifikace a transesterifikace z další části práce byly prováděny v praktické části.

Cílem praktické části bylo provést analýzu jedlých olejů (slunečnicový, olivový, řepkový) pomocí bazicky a kyselě katalyzovaných esterifikací. Základní metoda bazicky katalyzované esterifikace s KOH, která bývá využívána jako laboratorní návod, poskytuje rychle zpracovaný vzorek pro následné použití plynové chromatografie. Metoda poskytuje dobré rozlišení píků ve výsledném chromatogramu, ve kterém byly porovnávány tři nejvíce procentuálně se vyskytující mastné kyseliny ve vzorcích olejů. Méně využívaný bazický katalyzátor je methoxid sodný v methanolu. Spolu s KOH patří mezi stabilní katalyzátory a při měření na polární a nepolární koloně se u slunečnicového a olivového oleje nevyskytly značné rozdíly v obsahu mastných kyselin. U řepkového oleje se v porovnání s kolonami vyskytly malé rozdíly, které ovšem mohly být způsobeny špatným dělením na koloně.

Z kyselě katalyzovaných metod byla prováděna esterifikace s methanolicou H_2SO_4 . Při převedení vzorku pomocí této metody bylo zjištěno, že není příliš vhodná pro polární kolonu. Signály z výsledného chromatogramu poskytovaly velmi nízké až žádné píky. Lze polemizovat o tom, zda šlo o nedostatečnou transesterifikaci vzorku, když se jiný vzorek zpracován bez toluenu na polární koloně analyzovat podařilo. Proto je lepší pro jakoukoliv metodu přidávat malé množství mírně polárního rozpouštědla např. toluenu, které zvýší mísitelnost. Zástupcem kyselých činidel byl otestován i BF_3 . Jedná se o nestabilní katalyzátor a je potřeba ho použít jako čerstvě připravený roztok. V této metodě se vyskytly menší rozdíly v obsahu mastných kyselin u olivového a řepkového oleje.

Ve výsledku všechny zkoumané metody poskytují stanovitelný obsah mastných kyselin, který se shoduje v obecném složení (viz *Tab. 1*). Vzájemné porovnávání mezi výsledky ovšem nemusí být rozhodující. Při použití kolony ZB-5ms nedochází k dokonalému rozdělení nenasycených kyselin, a proto není úplně vhodná k analýze methyl-esterů mastných kyselin. Podle vzájemného poměru kyselin si mohou procenta obsahu kyselin navzájem uměle navyšovat nebo snižovat. Při použití specifitějších kolon bychom tomuto problému mohli předcházet.

Při převádění atypických olejů na methyl-estery se jednotlivé zastoupení mastných kyselin může lišit, a to z důvodu rozdílného původu a způsobů jejich získávání. Tyto oleje také obsahují navíc minoritní látky, které mohou přípravu a následnou analýzu GC ovlivnit.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ED. BY FRANK D. GUNSTONE. *Vegetable oils in food technology composition, properties and uses*. 2nd ed. Oxford [etc.]: Wiley-Blackwell, 2011. ISBN 9781444339925.
- [2] Fatty acid: Chemical compound. *Encyclopaedia Britannica* [online]. Encyclopaedia Britannica, 2018, září 27, 2016 [cit. 2018-04-24]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/fatty-acid>.
- [3] DAVIDEK, Jiří a Jan VELÍŠEK. *Analýza potravin*. 2.vyd. Praha: VŠCHT, 1992, s. 122.
- [4] KAŠPÁRKOVÁ, Věra. *Chemie a technologie tuků II*, Zlín. Učební text.
- [5] GUIHÉNEUF, Freddy, Matthias SCHMID a Dagmar B. STENGEL. Lipids and Fatty Acids in Algae: Extraction, Fractionation into Lipid Classes, and Analysis by Gas Chromatography Coupled with Flame Ionization Detector (GC-FID). STENGEL, Dagmar B. a Solène CONNAN, ed. *Natural Products From Marine Algae* [online]. New York, NY: Springer New York, 2015, s. 173-190 [cit. 2018-03-21]. *Methods in Molecular Biology*. DOI: 10.1007/978-1-4939-2684-8_11.
- [6] Extraction and analysis of polar lipids. *AARHUS UNIVERZITY: Department of Engineering* [online]. Navitas, Inge Lehmanns Gade 10, 8000 Aarhus C: Aarhus University, 2018, 25.01.2018 [cit. 2018-03-21]. Dostupné z: <http://eng.au.dk/en/research/laboratory-facilities/lipid-biotechnology-and-engineering-laboratory/>.
- [7] Gas Chromatography. *Chemistry: LibreTexts* [online]. United States: MindTouch, 2017 [cit. 2017-11-30]. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/General_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_ChemPRIME_\(Moore_et_al.\)/14Ionic_Equilibria_in_Aqueous_Solutions/14.09%3A_Titration_Curves/Foods%3A_Acid_Value_and_the_Quality_of_Fats_and_Oils](https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/General_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_ChemPRIME_(Moore_et_al.)/14Ionic_Equilibria_in_Aqueous_Solutions/14.09%3A_Titration_Curves/Foods%3A_Acid_Value_and_the_Quality_of_Fats_and_Oils).

- [8] VINKLEROVÁ, Kateřina. *Netradiční oleje s antimikrobními účinky* [online]. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2015 [cit. 2018-05-03]. Dostupné z: <http://digilib.k.utb.cz/handle/10563/33086>. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce Doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.
- [9] RIEMAN, III, William. Determination of Saponification Number of Fats and Oils Elimination of the Blank. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition* [online]. 1943, **15**(5), 325-326 [cit. 2018-04-29]. DOI: 10.1021/i560117a010.
- [10] GLUSHENKOVA, A. I. a A. L. MARKMAN. The iodine number and the unsaturation number of fats. *Chemistry of Natural Compounds* [online]. 1970, **6**(6), 685-688 [cit. 2018-03-28]. DOI: 10.1007/BF00565331.
- [11] OSORNO, Oscar, Leonardo CASTELLANOS, Freddy A. a Catalina ARVALOFERRO. Gas Chromatography as a Tool in Quorum Sensing Studies. SALIH, Bekir, ed. *Gas Chromatography - Biochemicals, Narcotics and Essential Oils* [online]. InTech, 2012 [cit. 2017-11-28]. DOI: 10.5772/32833. ISBN 978-953-51-0295-3.
- [12] MIKEŠ, Otakar. *Laboratorní chromatografické metody*. Praha: SNTL - Nakladatelství technické literatury, 1980.
- [13] ZIMA, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. 3., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2013. ISBN 978-80-7492-062-2.
- [14] PURNELL, Howard. *Plynová chromatografie*. Praha: SNTL - nakladatelství technické literatury, 1966, 463, s., 1 l. obr. příl.: Řada chemické literatury.
- [15] KÁŠ, Jan, Milan KODÍČEK a Olga VALENTOVÁ. *Laboratorní techniky biochemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-7080-586-2.
- [16] Schéma plynového chromatografu [online]. [cit. 2018-05-14]. Dostupné z: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/81/SchemaGC.png>.
- [17] Gas chromatography: Module 3: Introduction to Gas Chromatography and Its Parts. *Lab-training.com: Experience beyond books* [online]. New Delhi: Arbro Pharmaceuticals Pvt. Ltd. (Analytical Division), 2017 [cit. 2017-11-28]. Dostupné z: <http://lab-training.com/landing/gc-module-3/>.

- [18] Trapy pro čištění plynů. *Labicom: Agilent Technologies* [online]. Olomouc: LABICOM, 2018 [cit. 2018-05-16]. Dostupné z: <https://www.labicom.cz/produkty/spotrebni-material/plynova-chromatografie-prislusenstvi/trapy-pro-cisteni-plynu>.
- [19] Carrier Gases in Capillary GC. *Agilent: Trusted Answers* [online]. United States: Agilent Technologies, 2017 [cit. 2017-11-28]. Dostupné z: https://www.agilent.com/cs/library/eseminars/public/Carrier%20Gases%20in%20Capillary%20GC%20Analysis_021511.pdf.
- [20] Carrier Gases for GC. *Pure Chromatography* [online]. United States: Restek Corporation, 2017 [cit. 2017-11-28]. Dostupné z: http://www.restek.com/Technical-Resources/Technical-Library/Editorial/editorial_A017.
- [21] Plynová chromatografie. *Technické plyny Česká republika: The Linde group* [online]. Praha 9: Linde Gas, 2016 [cit. 2017-11-28]. Dostupné z: http://www.linde-gas.cz/internet.lg.lg.cze/cs/images/PlynovaChromatogr_4_6_200979_15729.pdf?v=2.0]
- [22] Plynová chromatografie. *Vodík jako alternativa helia v plynové chromatografii: The Linde group* [online]. Praha 9: Linde Gas, 2016 [cit. 2018-02-27]. Dostupné z: http://www.linde-gas.cz/internet.lg.lg.cze/cs/images/Aplikacni_list_vodik_jako_alternativa_helia_v_GC-web79_117459.pdf
- [23] Gas chromatography: Module 7: Types of Stationary Phases. *Lab-training.com: Experience beyond books* [online]. New Delhi: Arbro Pharmaceuticals Pvt. Ltd. (Analytical Division), 2017 [cit. 2017-11-27]. Dostupné z: <http://lab-training.com/landing/gc-module-7/>.
- [24] BAIULESCU, George. a V. A. ILIE. *Stationary phases in gas chromatography*. New York: Pergamon Press, 1975. ISBN:978-0-08-018075-5.
- [25] FARAMAWY, S., A.Y. EL-NAGGAR, A.M. EL-FADLY, S.M. EL-SABAGH a A.A. IBRAHIM. Silica, alumina and aluminosilicates as solid stationary phases in gas chromatography. *Arabian Journal of Chemistry* [online]. 2016, **9**, S765-S775 [cit. 2017-11-27]. DOI: 10.1016/j.arabjc.2011.08.015.

- [26] Gas Chromatography. *Chemistry: LibreTexts* [online]. United States: MindTouch, 2017 [cit. 2017-11-30]. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Analytical_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_Analytical_Chemistry_2.0_\(Harvey\)/12_Chromatographic_and_Electrophoretic_Methods/12.4%3A_Gas_Chromatography](https://chem.libretexts.org/Textbook_Maps/Analytical_Chemistry_Textbook_Maps/Map%3A_Analytical_Chemistry_2.0_(Harvey)/12_Chromatographic_and_Electrophoretic_Methods/12.4%3A_Gas_Chromatography).
- [27] Gas chromatography: Module 6: Types of Gas Chromatography Columns. *Lab-training.com: Experience beyond books* [online]. New Delhi: Arbro Pharmaceuticals Pvt. Ltd. (Analytical Division), 2017 [cit. 2017-11-28]. Dostupné z: <http://lab-training.com/landing/gc-module-6/>.
- [28] FENG, Yu, Chuan-Gang HU, Mei-Ling QI, Ruo-Nong FU a Liang-Ti QU. Separation performance of graphene oxide as stationary phase for capillary gas chromatography. *Chinese Chemical Letters* [online]. 2015, **26**(1), 47-49 [cit. 2018-05-03]. DOI: 10.1016/j.ccllet.2014.10.001.
- [29] Gas chromatography: Module 5: Types of Gas Chromatography Injectors. *Lab-training.com: Experience beyond books* [online]. New Delhi: Arbro Pharmaceuticals Pvt. Ltd. (Analytical Division), 2017 [cit. 2017-11-27]. Dostupné z: <http://lab-training.com/landing/gc-module-5/>.
- [30] Gas Chromatography Ovens. *LCGC Chromatographyonline.com: Solutions for separation Scientists* [online]. UBM, 2017 [cit. 2017-11-28]. Dostupné z: <http://www.chromatographyonline.com/gas-chromatography-ovens>.
- [31] Gas chromatography: Module 8: Types of Gas Detectors. *Lab-training.com: Experience beyond books* [online]. New Delhi: Arbro Pharmaceuticals Pvt. Ltd. (Analytical Division), 2017 [cit. 2017-11-28]. Dostupné z: <http://lab-training.com/landing/gc-module-8/>.
- [32] VON MÜHLEN, Carin, Weeraya KHUMMUENG, Claudia ALCARAZ ZINI, Elina BASTOS CARAMÃO a Philip J. MARRIOTT. Detector technologies for comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Separation Science* [online]. 2006, **29**(12), 1909-1921 [cit. 2017-11-30]. DOI: 10.1002/jssc.200500443.
- [33] The Flame Ionization Detector. *LCGC Chromatographyonline.com: Solutions for separation Scientists* [online]. UBM, 2017 [cit. 2017-11-29]. Dostupné z: <http://www.chromatographyonline.com/flame-ionization-detector>.

- [34] The Thermal Conductivity Detector. *LCGC Chromatographyonline.com: Solutions for separation Scientists* [online]. UBM, 2017 [cit. 2017-11-28]. Dostupné z: <http://www.chromatographyonline.com/thermal-conductivity-detector>.
- [35] ORATA, Francis. Derivatization Reactions and Reagents for Gas Chromatography Analysis. ALI MOHD, Mustafa, ed. *Advanced Gas Chromatography – Progress in Agricultural, Biomedical and Industrial Applications* [online]. InTech, 2012, 2012-03-21 [cit. 2018-03-18]. DOI: 10.5772/33098.
- [36] MICHEL Frank. Derivatization of polar compounds for GC, [online], 2010, [cit. 2018-03-19]. Sigma-Aldrich®. Dostupné z: <https://pdfs.semanticscholar.org/presentation/c0fc/ded4>.
- [37] CHRISTIE, W.W. MRS Lipid Anylysis Unit. *Preparation of ester derivates of acids for chromatographic analysis*. 2006, vol. 43, issue 3. Dostupné z: <http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=40374>.
- [38] Derivatization Reagents For Selective Response and Detection in Complex Matrices, [online]. 2011, [cit. 2018-04-19]. Sigma-Aldrich®. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/migrationresource4/Derivatization%20Rgts%20brochure.pdf>.
- [39] CARVALHO, Ana P. a F. Xavier MALCATA. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Chromatographic Analysis of Marine Lipids: Insight Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2005, **53**(13), 5049-5059 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1021/jf048788i.
- [40] ICHIHARA, Ken'ichi a Yumeto FUKUBAYASHI. Preparation of fatty acid methylesters for gas-liquid chromatography. *Journal of Lipid Research* [online]. 2010, **51**(3), 635-640 [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1194/jlr.D001065.
- [41] Silylation Derivatization Reagent. *SIGMA-ALDRICH* [online]. Německo: Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates., 2018 [cit. 2018-05-17]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/analytical-reagents/derivatization-reagents/silylation.html>.

- [42] CHRISTIE, W. W. (1993) *Preparation of Ester Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis*. *Advances in Lipid Methodology*, 2, 69-111. [cit. 2018-04-15] Dostupné z: <http://lipidlibrary.aocs.org/Analysis/content.cfm?ItemNumber=40374>.
- [43] MCMURRY, John. *Organická chemie*. V Brně: VUTIUM, 2007. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 978-80-214-3291-8.
- [44] [EDITED BY] R.E. KIRK AND D.F. OTHMER. *Encyclopedia of chemical technology*. 4th ed. New York: Wiley, 1994. ISBN 9780471526773.
- [45] DEMIRBAS, Ayhan. Comparison of transesterification methods for production of biodiesel from vegetable oils and fats. *Energy Conversion and Management* [online]. 2008, 49(1), 125-130 [cit. 2018-05-17]. DOI: 10.1016/j.enconman.2007.05.002.
- [46] FUKUDA, Hideki Akihiko KONDO a Hideo NODA. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering* [online]. 2001, 92(5), 405-416 [cit. 2018-05-17]. Dostupné z: [http://sphinxsai.com/2014/vol6pt4/5/\(2568-2576\)Jul-Aug14.pdf](http://sphinxsai.com/2014/vol6pt4/5/(2568-2576)Jul-Aug14.pdf).
- [47] WESTON, T. R., J. D. DERNER, C. M. MURRIETA, D. C. RULE a B. W. HESS. Comparison of Catalysts for Direct Transesterification of Fatty Acids in Freeze-Dried Forage Samples. *Crop Science* [online]. 2008, 48(4), 1636- [cit. 2018-05-17]. DOI: 10.2135/cropsci2007.07.0376sc.
- [48] SCHUCHARDT, Ulf, Ricardo SERCHELI a Rogério Matheus VARGAS. Transesterification of vegetable oils: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society* [online]. 1998, 9(3), - [cit. 2018-05-17]. DOI: 10.1590/S0103-50531998000300002.
- [49] POIANA, Marco a Antonio MINCIONE. Fatty acids evolution and composition of olive oils extracted from different olive cultivars grown in Calabrian area. *Grasas y Aceites* [online]. 2004, 55(3), - [cit. 2018-05-17]. DOI: 10.3989/gya.2004.v55.i3.190.

- [50] ZARROUK, Wissem, Bechir BACCOURI, Wael TAAMALLI, Ahmed TRIGUI, Douja DAOUD a Mokhtar ZARROUK. Oil fatty acid composition of eighteen Mediterranean olive varieties cultivated under the arid conditions of Boughrara (southern Tunisia). *Grasas y Aceites* [online]. 2009, **60**(5), 500-508 [cit. 2018-05-17]. DOI: 10.3989/gya.021109. ISSN 1988-4214.
- [51] ZIMMERMAN, D. C. a G. N. FICK. Fatty acid composition of sunflower (*Helianthus annuus L.*) oil as influenced by seed position. *Journal of the American Oil Chemists Society* [online]. 1973, **50**(8), 273-275 [cit. 2018-05-17]. DOI: 10.1007/BF02641352.
- [52] ORSAVOVA, Jana, Ladislava MISURCOVA, Jarmila AMBROZOVA, Robert VICHA a Jiri MLCEK. Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2015, **16**(12), 12871-12890 [cit. 2018-05-20]. DOI: 10.3390/ijms160612871.
- [53] BAUER, B., KOSTIK V., GJORGJESKA B. (2015) *Fatty acid composition of seed oil obtained from different canola varieties*. Farmaceutski glasnik, 71 (1). 1-7. [cit. 2018-05-11]. Dostupné z: <http://eprints.ugd.edu.mk/12760/1/FG%201-2015%20-%20Znanstveni%20rad.pdf>.
- [54] SAKHNO, L. O. Variability in the fatty acid composition of rapeseed oil: Classical breeding and biotechnology. *Cytology and Genetics* [online]. 2010, **44**(6), 389-397 [cit. 2018-05-21]. DOI: 10.3103/S0095452710060101.
- [55] Methanolic H₂SO₄ (10% v/v), [online]. 1997, [cit. 2018-05-17]. Supelco, Sigma-Aldrich®. Dostupné z: <https://www.sigma-aldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4800/4786.pdf>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BF ₃	Fluorid boritý.
DBN	1,5-Diazabicyklo[4.3.0]non-5-en
DBU	1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en
ECD	Detektor elektronového záchytu.
FID	Plamenově ionizační detektor.
GC	Plynová chromatografie.
GC–FID	Plynová chromatografie spojená s plamenovým ionizačním detektorem.
GO	Oxid grafitu.
GSC	Adsorpční chromatografie.
H ₂ SO ₄	Kyselina sírová.
HCl	Kyselina chlorovodíková.
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.
CH ₃ ONa	Methoxid sodný.
KOH	Hydroxid draselný.
LC	Kapalinová chromatografie.
NaCl	Chlorid sodný.
NaHCO ₃	Hydrogenuhličitan sodný.
PC	Fosfatidylcholin
PLOT	ParousLayer Open Tubular.
SCOT	Support Coated Open Tubular.
SiO ₂	Oxid křemičitý.
TAG	Triacylglyceroly.
TBD	1,5,7-Triazabicyklo[4.4.0]dek-5-en
TCD	Tepelně vodivostní detektor.

TLC Tenkovrstvá chromatografie.

WCOT Wall Coated Open Tubular.

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Schéma plynové chromatografie</i>	15
<i>Obr. 2. Trapy pro čištění plynů.....</i>	16
<i>Obr. 3. Typy uspořádání kapilárních kolon.....</i>	18
<i>Obr. 4. Plamenově ionizační detektor FID.....</i>	20
<i>Obr. 5. Zleva: 1,5,7-Triazabicyklo[4.4.0]dek-5-en (TBD), 1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undek-7-en (DBU), 1,5-Diazabicyklo[4.3.0]non-5-en (DBN)</i>	25
<i>Obr. 6. Mechanismus esterifikace volné kyseliny</i>	26
<i>Obr. 7. Mechanismus esterifikace volné kyseliny v kyselém prostředí.....</i>	27
<i>Obr. 8. Transesterifikace TAG na methyl-ester v kyselém prostředí.....</i>	27
<i>Obr. 9. Reakce báze B s alkoholem za vzniku alkoxidu</i>	27
<i>Obr. 10. Vznik dialkylglyceridu</i>	28
<i>Obr. 11. Chromatogram slunečnicového oleje s KOH pro nepolární kolonu</i>	38
<i>Obr. 12. Chromatogram slunečnicového oleje s H₂SO₄ pro polární kolonu (nízké signály).....</i>	49

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Obecné složení jedlých olejů</i>	31
<i>Tab. 2. Hodnoty slunečnicového oleje s KOH pro nepolární kolonu</i>	37
<i>Tab. 3. Hodnoty slunečnicového oleje s KOH pro polární kolonu</i>	38
<i>Tab. 4. Hodnoty olivového oleje s KOH pro nepolární kolonu</i>	39
<i>Tab. 5. Hodnoty olivového oleje s KOH pro polární kolonu</i>	40
<i>Tab. 6. Hodnoty řepkového oleje s KOH pro nepolární kolonu</i>	40
<i>Tab. 7. Hodnoty řepkového oleje s KOH pro polární kolonu</i>	41
<i>Tab. 8. Hodnoty slunečnicového oleje s CH₃ONa a toluenem pro nepolární kolonu</i>	42
<i>Tab. 9. Hodnoty slunečnicového oleje s CH₃ONa a toluenem pro polární kolonu</i>	42
<i>Tab. 10. Hodnoty olivového oleje s CH₃ONa a toluenem pro nepolární kolonu</i>	43
<i>Tab. 11. Hodnoty olivového oleje s CH₃ONa a toluenem pro polární kolonu</i>	44
<i>Tab. 12. Hodnoty řepkového oleje s CH₃ONa a toluenem pro nepolární kolonu</i>	45
<i>Tab. 13. Hodnoty řepkového oleje s CH₃ONa a toluenem pro polární kolonu</i>	46
<i>Tab. 14. Hodnoty slunečnicového oleje s H₂SO₄ pro nepolární kolonu</i>	46
<i>Tab. 15. Hodnoty olivového oleje s H₂SO₄ pro nepolární kolonu</i>	47
<i>Tab. 16. Hodnoty řepkového oleje s H₂SO₄ pro nepolární kolonu</i>	48
<i>Tab. 17. Hodnoty slunečnicového oleje s H₂SO₄ a toluenem pro polární kolonu</i>	49
<i>Tab. 18. Hodnoty olivového oleje s H₂SO₄ a toluenem pro polární kolonu</i>	50
<i>Tab. 19. Hodnoty řepkového oleje s H₂SO₄ a toluenem pro polární kolonu</i>	50
<i>Tab. 20. Hodnoty slunečnicového oleje s BF₃ pro nepolární kolonu</i>	51
<i>Tab. 21. Hodnoty slunečnicového oleje s BF₃ pro polární kolonu</i>	52
<i>Tab. 22. Hodnoty olivového oleje s BF₃ pro nepolární kolonu</i>	53
<i>Tab. 23. Hodnoty olivového oleje s BF₃ pro polární kolonu</i>	53
<i>Tab. 24. Hodnoty řepkového oleje s BF₃ pro nepolární kolonu</i>	54
<i>Tab. 25. Hodnoty řepkového oleje s BF₃ pro polární kolonu</i>	55

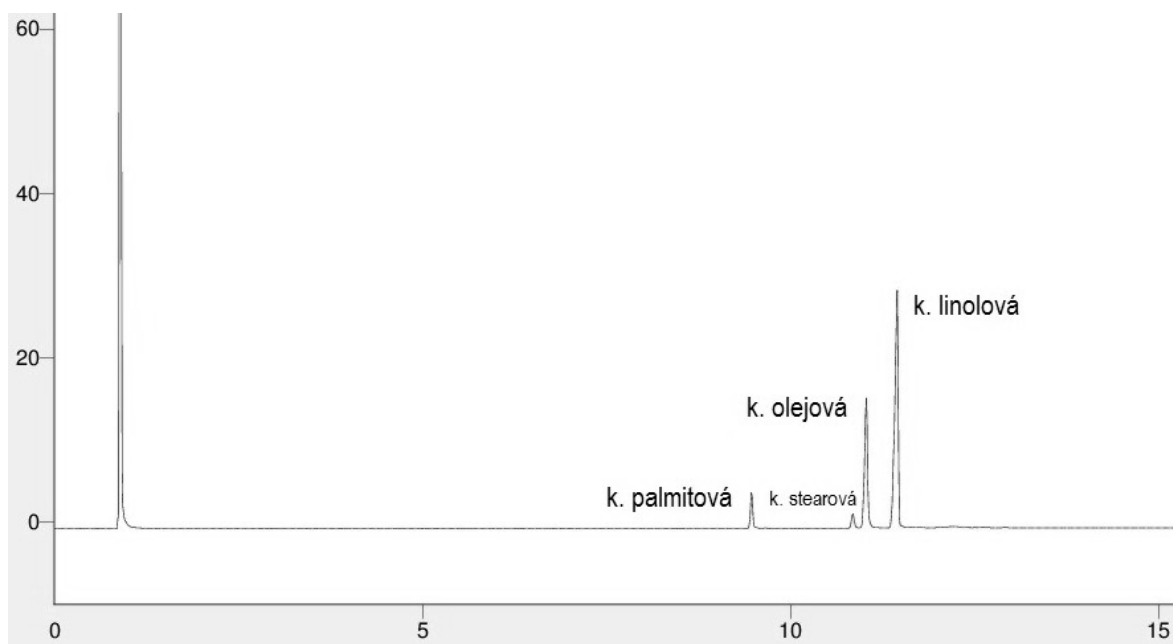
SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1 – Chromatogram slunečnicového oleje s KOH pro polární kolonu

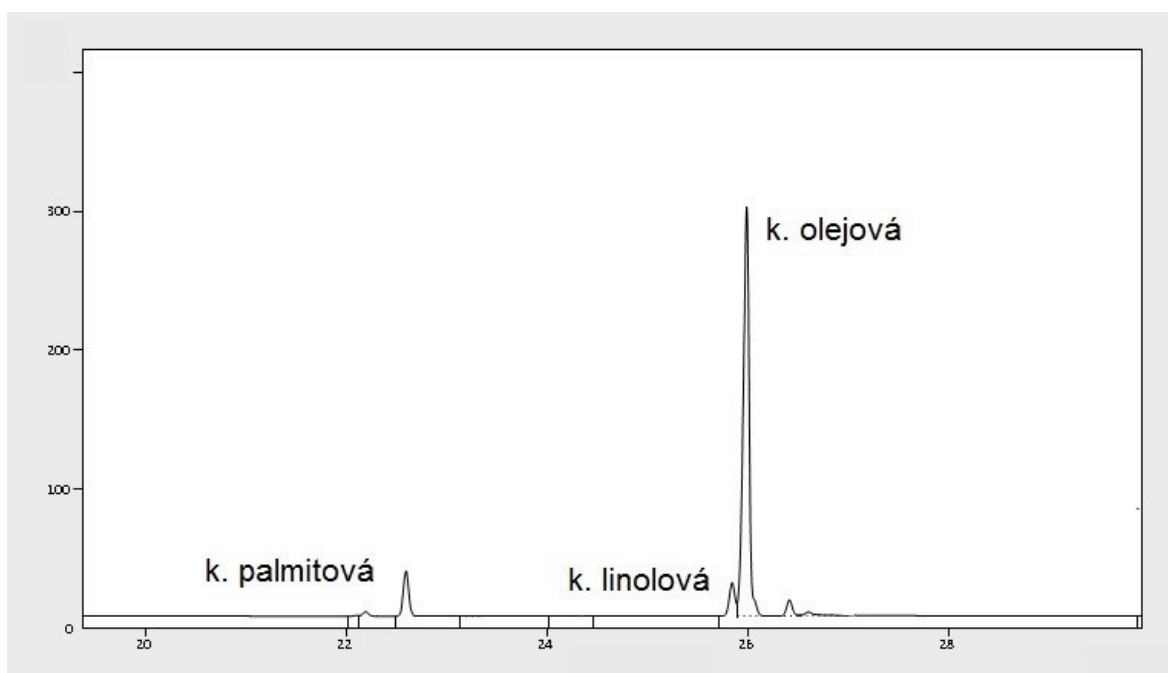
Příloha č. 2 – Chromatogram olivového oleje s CH₃ONa pro nepolární kolonu

Příloha č. 3 – Chromatogram řepkového oleje s H₂SO₄ pro nepolární kolonu

Příloha č. 1 – Chromatogram slunečnicového oleje s KOH pro polární kolonu



Příloha č. 2 – Chromatogram olivového oleje s CH₃ONa pro nepolární kolonu



Příloha č. 3 – Chromatogram řepkového oleje s H_2SO_4 pro nepolární kolonu

