

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Význam a využití tuků a olejů v potravinářských a chemických procesech

Pavλίna Musilová

Bakalářská práce

2024

University of Pardubice

Faculty of Chemical Technology

The Importance and Use of Fats and Oils in Food and Chemical Processes

Pavína Musilová

Bachelor Thesis

2024

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Pavína Musilová**
Osobní číslo: **C20085**
Studijní program: **B0531A130024 Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Význam a využití olejů/tuků v potravinářských a chemických procesech**
Téma práce anglicky: **Importance and use of oils/fats in food and chemical processes**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Proveďte rešerši o lipidech, jejich výskytu, vlastnostech, složení a dělení podle různých hledisek.
2. Zaměřte se zejména na rostlinné oleje/živočišné tuky (získávání a vlastnosti).
3. Popište použití olejů/tuků pro různé aplikace.
4. Proveďte transesterifikaci a poté epoxidaci netradičních olejů a výsledky zhodnoťte.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Martin Hájek, Ph.D.**
Katedra fyzikální chemie

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. června 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2024

Prohlášení autora

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 9/2012, bude práce zveřejněna v Univerzitní knihovně a prostřednictvím digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 22.5.2024

Pavλίna Musilová

Poděkování

Především bych chtěla poděkovat Katedře fyzikální chemie Univerzity Pardubice za možnost provedení experimentální části v rámci bakalářské práce. Velmi si vážím toho, že mi katedra vyšla vstříc, a mohla jsem se tak nadále držet potravinářského oboru a současně být trochu blíže k výzkumné činnosti.

Díky patří zejména Ing. Karlu Frolichovi, Ph.D. a doc. Ing. Martinu Hájkovi, Ph.D., kteří mě s nabídkou oslovili. Konkrétně chci hlouběji poděkovat doc. Ing. Martinu Hájkovi, Ph.D. za jeho čas, který mi věnoval, když jsem ho potřebovala ohledně konzultací bakalářské práce, a hlavně oceňuji jeho lidský přístup.

Dále bych chtěla poděkovat Ing. Davidu Kociánovi za pomoc v laboratoři během provádění experimentu týkající se transesterifikace a epoxidace rostlinných olejů. Cením si toho, že dokázal být časově flexibilní podle mých potřeb.

Samozřejmě nemohu zapomenout na svou rodinu. Velký dík patří rodičům mého partnera, protože mi poskytli čas a prostor pro psaní této bakalářské práce. Svému partnerovi musím velmi poděkovat za jeho trpělivost a důvěru ve mě.

Anotace

Bakalářská práce popisuje využití olejů a tuků v potravinářském a chemickém průmyslu pomocí transesterifikace. Oleje se získávají výhradně ze semen rostlin lisováním a extrahováním. Následně je získaný olej rafinován. V potravinářském průmyslu se transesterifikace využívá při přípravě strukturního tuku pro výrobu margarínů a v chemickém se získávají látky, které jsou využívány jako obnovitelný zdroj paliva namísto ropy (methylestery vyšších mastných kyselin). Po následné epoxidaci mohou být využity jako biolubrikanty. Jsou popsány i metody používané pro analýzu olejů a produktů vzniklých transesterifikací a epoxidací. Experimentální část se zaměřuje na transesterifikaci a následnou epoxidaci vzniklých esterů netradičních rostlinných olejů (hroznový, mandlový, meruňkový, malinový a mrkvový). Produkty jsou analyzovány pomocí jodového čísla, epoxidového ekvivalentu, GC-MS a IČ spektrometrie. Z výsledků experimentu vychází, že nejlépe se epoxiduje malinový a mrkvový olej, které obsahují více než 50 % kyseliny linolové oproti ostatním olejům.

Klíčová slova

rostlinné oleje, transesterifikace, epoxidace, methylester, plynová chromatografie

Annotation

The bachelor thesis describes the use of oils and fats in food and chemical industry by transesterification. Oils are taken specifically from seeds of plants, seeds are pressed and extracted. Subsequently, oil is refined. Transesterification uses for preparation of structural fat to production of margarines in food industry. Transesterified oils are used as renewable source of energy instead of crude oil in chemical industry (methylesters of higher fatty acids). By epoxidation is possible to use these substances as biolubricants. The thesis includes the methods for analysis of oils and products from transesterification and epoxidation. Experimental part is focused on transesterification and epoxidation of esters from untraditional vegetable oils (grapeseed, almond, apricot, raspberry, and carrot oil) The products are analysed by iodine number, epoxide equivalent, GC-MS and IR spectroscopy. The results of experiment show that raspberry and carrot oil are best epoxidized which contain more than 50 % of linoleic acid in comparison with other oils.

Keywords

vegetable oils, transesterification, epoxidation, methylester, gas chromatography

Obsah

0 Úvod.....	12
1 Teoretická část	13
1.1 Lipidy	13
1.2 Tuky a oleje	14
1.3 Transesterifikace	21
1.4 Epoxidace	25
1.5 Analytické metody	28
2 Experimentální část.....	33
2.1 Chemikálie a zařízení	33
2.2 Příprava epoxidů	34
2.3 Analýza	35
3 Výsledky a diskuse	38
3.1 Jodové číslo	38
3.2 Plynová chromatografie	39
3.3 Účinnost epoxidace	41
3.4 Infračervená spektrometrie.....	43
4 Závěr	45
5 Literatura.....	46
6 Přílohy.....	50

Seznam ilustrací

Obrázek 1: <i>Triacylglycerol s obsahem nasycených a cis nenasycených mastných kyselin: C10:0, C10:0, cis C10:1</i> [9].....	15
Obrázek 2: <i>Technologie výroby malinového oleje: lis (A), superkritický fluidní extraktor (B), extraktor (C)</i> [17].	19
Obrázek 3: <i>Rafinace rostlinného oleje, Farmet, Maďarsko</i> [18].	20
Obrázek 4: <i>A – Mechanismus kyselí katalyzované esterifikace (mastná kyselina + alkohol)</i> [21]. <i>B – Mechanismus alkalicky katalyzované transesterifikace (triacylglycerol + alkohol)</i> [22].	23
Obrázek 5: <i>Transesterifikace: TAG a MeOH (vlevo), G a ME (vpravo)</i> [25].....	23
Obrázek 6: <i>Mechanismus epoxidace ME pomocí kyseliny permravnění</i> [31,33].	25
Obrázek 7: <i>ME C18:3 a jeho možné izomery epoxidů v závislosti na počtu a poloze oxiranových kruhů; A– 1 oxiranový kruh, B– 2 oxiranové kruhy, C– 3 oxiranové kruhy</i> [32].	26
Obrázek 8: <i>Otevření oxiranového kruhu při nadbytku kyseliny</i> [30].	26
Obrázek 9: <i>Hydratace epoxidu methylesteru C18:1 za vzniku dvojsytného alkoholu</i> [34].	27
Obrázek 10: <i>Vznik epoxidu z nenasycené mastné kyseliny v lidském metabolismu, enzymaticky katalyzováno</i> [35].	27
Obrázek 11: <i>13-hydroperoxylinolová kyselina</i> [37].	28
Obrázek 12: <i>Princip Hanušovy metody pro stanovení jodového čísla</i> [36].	29
Obrázek 13: <i>Princip stanovení epoxidového ekvivalentu</i> [38].	30
Obrázek 14: <i>Schéma plynového chromatografu</i> [39].	30
Obrázek 15: <i>Reaktor pro transesterifikaci a epoxidaci s napojeným termostatem (vlevo) a míchadlem s volbou nastavení otáček (nahore)</i>	34
Obrázek 16: <i>Chemický vzorec beta-karotenu s obsahem dvojných vazeb (červeně zvýrazněno), které je I₂ schopno adovat (spodní vzorec)</i>	36
Obrázek 17: <i>Rafinovaný slunečnicový olej s obsahem beta-karotenu o koncentracích: 0; 0,02; 0,1; 0,5; 1 hm.% v porovnání s volně dostupným obarveným olejem</i> [49].	36
Obrázek 18: <i>Zastoupení jednotlivých methylesterů připravených z netradičních rostlinných olejů a jejich porovnání s odbornou literaturou</i>	40
Obrázek 19: <i>Zastoupení epoxidů vzniklých z jednotlivých olejů</i>	41
Obrázek 20: <i>IČ spektrum methylesterů a epoxidů</i>	44

Seznam tabulek

Tabulka 1: <i>Chemické složení olejů [43] a jodová čísla použitých rostlinných olejů.</i>	33
Tabulka 2: <i>Navážky olejů podle předpokládaného jodového čísla [48]</i>	35
Tabulka 3: <i>Experimentálně stanovená jodová čísla připravených methylesterů před a po epoxidaci</i>	38
Tabulka 4: <i>Účinnost epoxidace methylesterů (plynová chromatografie, jodové číslo)</i>	43
Tabulka 5: <i>Epoxidové ekvivalenty připravených epoxidů</i>	43

Seznam zkratek a značek

ACN...acetonitril

AG...acylglycerol

DAG...diacylglycerol

EPO...epoxid

EPO ME...epoxidovaný methylester

G...glycerol

GC...plynová chromatografie

MAG...monoacylglycerol

ME...methylester

MeOH...methanol

MK...mastná kyselina

MS...hmotnostní spektrometr

TAG...triacylglycerol

VS...vnitřní standard

A_s ...rovnovážná koncentrace látky ve stacionární fázi (mol/dm^3)

A_m ...rovnovážná koncentrace látky v mobilní fázi (mol/dm^3)

Area...detekovaný signál

ČK...číslo kyselosti (mg KOH/g)

ČZ...číslo zmýdelnění (mg KOH/g)

EČ...esterové číslo (mg KOH/g oleje)

EE...epoxidový ekvivalent (mol O/kg)

I...intenzita signálu

JČ...jodové číslo ($\text{g I}_2/100 \text{ g}$)

K_c ...distribuční konstanta (-)

PČ...peroxidové číslo (mol O/kg)

t_{vz} ...teplota vzplanutí ($^{\circ}\text{C}$)

0 Úvod

Tuky a oleje v lidském životě zastupují velmi důležitou roli. Setkáváme se s nimi a využíváme je prakticky každý den nejen ve vlastní výživě, ale také v kosmetickém či automobilovém průmyslu.

Tuky a oleje patří mezi živiny, které dávají základ naší výživě. Jedná se o velmi bohatý zdroj energie oproti ostatním živinám, jako jsou sacharidy a bílkoviny. Princip velkého vzniku energie z těchto zdrojů je podmíněn jejich molekulovou strukturou. Metabolickým zpracováním uvedených molekul vznikají další molekuly, v kterých jsou obsaženy makroergické vazby, v kterých je tato energie uchována. Proto nachází tuky a oleje využití i v jiných směrech pro získávání energie jinými způsoby, a to zejména v petrochemickém průmyslu jako bionafta nebo jako další látky.

Význam tuků a olejů ale nepředstavuje pouze zdroj energie pro fungování lidského organismu, v lidském těle také slouží k termoregulaci a ochranně vnitřních orgánů, nachází se v membránách každé buňky, čímž ovlivňují jejich složení, a tím tak přístup dalších molekulárních látek do vnitřního prostoru buňky, a vytváří nepolární prostředí vhodné pro rozpouštění vitamínů a hormonů.

Jak již bylo zmíněno, tuky a oleje nachází využití i v petrochemickém průmyslu, jejichž přeměnou pomocí transesterifikace za přítomnosti methanolu a katalyzátoru vznikají látky zvané methylestery (ME), které se svými vlastnostmi podobají vlastnostem nafty. Nachází tak využití jako obnovitelný zdroj energie v podobě bionafty. Při spalování se sice uvolňuje méně tepla (36 MJ/litr) než při spálení nafty (38,9 MJ/litr), čímž se spotřeba paliva zvyšuje, na druhou stranu cetanové číslo u bionafty dosahuje podobné hodnoty jako u nafty (okolo 40) [1]. Cetanové číslo podmiňuje kvalitu paliva procentuálním zastoupením hexadekanu, a tím tak jak snadno se palivo dokáže vznítit [1], [2], [3].

1 Teoretická část

1.1 Lipidy

Mezi lipidy patří sloučeniny s vyšší molekulovou hmotností nepřesahující 1500 g/mol [4]. Na rozdíl od sacharidů a bílkovin, jakožto makromolekulárních polymerních sloučenin nevytváří lipidy polymerní řetězce, a tím se tak v tomto aspektu liší od sacharidů a bílkovin [5]. Vzhledem k existenci mnoha druhů lipidů nelze jejich chemickou strukturu jednoznačně definovat. Kvůli tomu se lipidy dělí do dalších podskupin. Lipidy jsou látky převážně hydrofobní povahy, nerozpustné ve vodě. Naopak jsou tyto látky schopny se rozpouštět v nepolárních rozpouštědlech, jako je např. diethylether či benzín. Existují i lipidy rozpustné v polárních rozpouštědlech v důsledku přítomnosti navázaných hydrofilních látek, které zvyšují polaritu lipidů. Jedná se například o fosfáty (PO_3^{2-}) či glukózu [4].

Lipidy se dělí na lipidy (i) zmýdelnitelné jednoduché, složené a (ii) nezmýdelnitelné. Mezi jednoduché zmýdelnitelné lipidy řadíme acylglyceroly a vosky. Acylglyceroly se skládají z glycerolu a mastných kyselin, vosky se skládají z jednosytného alkoholu a vyšších mastných kyselin. Složené lipidy mají ve svých strukturách obsaženy například molekuly glukózy nebo fosfátovou skupinu [4]. Mezi složené lipidy patří biochemicky odvozené sloučeniny, jako jsou například glycerofosfolipidy, sfingolipidy či glykolipidy [5]. Nezmýdelnitelné lipidy jsou označovány jako isoprenoidy, jejichž základní jednotku tvoří 2-methylbuta-1,3-dien. Do skupiny isoprenoidů patří terpeny a steroly [4]. Speciální skupinou spadající do skupiny lipidů jsou polyketidy, které jsou tvořeny hlavními jednotkami methylenové a karbonylové skupiny $\text{CH}_2\text{-CO}$. Jedná o sekundární metabolity, které vznikají při katabolismu či anabolismu tuků v organismu [5].

Obecně lze tvrdit, že veškeré zmýdelnitelné lipidy mají jednu společnou složku, kterou jsou mastné kyseliny a jež jsou hlavní složkou přítomnou v tucích a olejích. Tuky a oleje spadají do skupiny acylglycerolů. Oleje jsou za běžných podmínek acylglyceroly v kapalném skupenství, tuky jsou za běžných podmínek acylglyceroly v tuhém skupenství [4]. Podrobněji popsány budou i funkčně odvozené deriváty mastných kyselin, kterými jsou estery a epoxidované estery.

1.2 Tuky a oleje

Výskyt

Tuky a oleje se vyskytují v potravinách ve formě triacylglycerolů. Mohou však dále obsahovat 1-10 % parciálních esterů glycerolu (mono a diacylglyceroly), menší množství fosfolipidů a asi 1 % doprovodných látek (barviva a antioxidanty). V závislosti na původu tuku a oleje rozlišujeme živočišné a rostlinné tuky [6].

Mezi hlavní zdroje tuku živočišného původu patří zejména maso a ryby, které jsou uloženy v podkožní tukové tkáni, ale mohou se také ukládat do svaloviny či vnitřností. Dále se tuky živočišného původu nachází ve vejcích a výrobcích mlékárenského průmyslu, jako jsou máslo a sýry vyrobené z živočišného mléka. Mezi hlavní zdroje tuku a oleje rostlinného původu patří převážně semena (tradičně například z řepky olejky, slunečnice, podzemnice olejné, sóji luštěnaté či kakaovníku) a méně často i ořechy (například vlašské či kokosové ořechy) [6].

Rostlinný tuk či olej je získáván výhradně ze semen rostlin (40-50 % v sušině) [6,7], či z dužiny, ačkoli v ořechích je zastoupení tuků a olejů patrně vyšší (43-71 % v sušině) [8]. Ořechy nejsou tradiční surovinou pro získávání tuků a olejů, protože jsou lepším zdrojem polynenasycených mastných kyselin než semena, obsahují důležité bílkoviny, minerály a vitamíny, které by při zpracování ořechů mohly být znehodnoceny, a nachází tak využití jako plnohodnotnější zdroj živin ve výživě člověka [8].

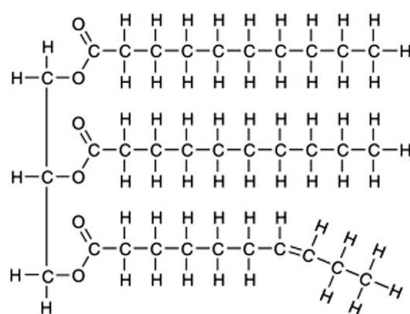
V semenech se nachází vyšší zastoupení lipidů jako zásobárna energie, neboť v semenech dochází ke klíčení nové rostliny, čímž je k tomuto ději potřeba velké množství energie. Ve velmi malém množství (0,5 – 2 % v sušině) se jinak obecně nachází rostlinný tuk v každé buňce rostliny v intracelulární buněčné membráně, kde zastupuje esenciální roli zajišťující metabolismus celé rostliny. Triacylglyceroly se v rostlinách nevyskytují samostatně a často jsou vázány k jiným lipidickým i nelipidickým složkám přítomných v buněčné stěně či jejím okolí, což narušuje výtěžnost při získávání oleje během zpracování semen. Může se jednat například o fosfolipidy, glykolipidy, bílkoviny či dokonce škrob [7].

S rostoucím množstvím vázaných bílkovin se zvyšuje polarita komplexu tuk-bílkovina. Komplex je tak možno rozpustit ve vodě, a proto není možné pro získání tuku z rostlinných pletiv využít nepolární rozpouštědla, běžně využívaná při extrakci tuků a olejů. Vázaný tuk je možno získat použitím méně polárního rozpouštědla, například nižší alkoholy, či zahřátím, aby došlo k rozpadu komplexu [7].

Chemická struktura tuků a olejů

Triacylglyceroly

Tuky a oleje se chemicky nazývají triacylglyceroly (TAG). Základní kostru triacylglycerolů tvoří glycerol (G) a k němu navázané 3 mastné kyseliny (MK), které jsou ke glycerolu navázány skrze alkoholovou skupinu glycerolu a svoji karboxylovou skupinu (Obr. 1). Složení triacylglycerolů je proměnlivé a závislé na druhu a kvantitativním zastoupení mastných kyselin v molekule. V závislosti na počtu vázaných mastných kyselin ke glycerolu dále rozeznáváme monoacylglyceroly s jednou vázanou mastnou kyselinou na glycerol a diacylglyceroly s dvěma vázanými mastnými kyselinami.



Obrázek 1: *Triacylglycerol s obsahem nasycených a cis nenasycených mastných kyselin: C10:0, C10:0, cis C10:1 [9].*

Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) jsou považovány za vyšší kyseliny, které tvoří uhlíkaté řetězce různých délek, jejichž poslední uhlík je zakončen karboxylovou skupinou. Dle počtu atomů uhlíku v řetězci rozeznáváme nižší mastné kyseliny (C4 – C6), mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem (C8 – C12), s dlouhým řetězcem (C14 – C18), s velmi dlouhým řetězcem (C20 – C26) a s ultra dlouhým řetězcem (C28 – C38) [6].

V závislosti na přítomnosti dvojných vazeb mezi uhlíky rozeznáváme nasycené a nenasycené mastné kyseliny. Nasycené mastné kyseliny ve svém řetězci neobsahují žádnou dvojnou vazbu, zatímco nenasycené mastné kyseliny mají ve svém řetězci obsaženu nejméně jednu dvojnou vazbu (monoenoové mastné kyseliny). V případě, že se v uhlíkatém řetězci nachází dvě a více dvojných vazeb, mluvíme o tzv. polyenoových mastných kyselinách. Některé nenasycené mastné kyseliny jsou považovány za esenciální mastné kyseliny, které hrají ve výživě člověka velmi důležitou roli, neboť lidský organismus díky absenci enzymů není schopen tyto látky v těle vytvořit, a je tak nutné tyto mastné kyseliny přijímat pouze ze stravy. Existují i podmíněně

esenciální mastné kyseliny, které je lidský organismus schopen vytvořit, ale pouze z esenciálních mastných kyselin.

V rámci nenasycených mastných kyselin dále rozeznáváme izomery *cis* a *trans* nenasycených mastných kyselin. Liší se prostorovou polohou vodíků vázaných na uhlících, mezi nimiž se nachází dvojná vazba. *Cis*-nenasycené mastné kyseliny obsahují vodíky umístěné v jedné rovině mezi dvojnou vazbou, čímž tvoří zlomené řetězce, zatímco *trans*-nenasycené mastné kyseliny mají vodíky umístěny v opačných rovinách, a vytváří tak rovné řetězce. Ačkoli se jedná chemicky o totožné látky, rozdílná konfigurace v poloze vodíků má vliv na odlišné fyzikální vlastnosti a metabolismus v lidském těle. Konfigurace *cis* se přirozeně nachází v rostlinných zdrojích tuků a olejů. Zdrojem *trans*-MK může být kravské mléko, v němž *trans*-MK vznikají anaerobní fermentací neboli biohydrogenací v bachoru krav. Obsah *trans*-MK může být regulován stravou a zdravím zvířete. I v mateřském mléce by evidována přítomnost *trans*-MK, jejichž množství lze redukovat příjmem rybího oleje s obsahem omega-3 a omega-6 mastných kyselin. Další možností vzniku *trans* izomerů je hydrogenace tuků a olejů pro výrobu margarínů, kdy se tuky a oleje s obsahem nenasycených mastných kyselin sytí vodíkem, čímž dochází nejen k zvyšování stupně nasycenosti ale také k přesunům atomů vodíků, což potencionálně může vést i ke vzniku *trans*-MK [10]. *Trans*-MK mohou vznikat i při zahřívání oleje s obsahem nenasycených mastných kyselin při smažení (160-220 °C) [11].

Vzhledem k velkému počtu existujících mastných kyselin došlo pro praktické účely k zavedení triviálních názvů u obvyklých mastných kyselin převládajících v běžné praxi. Současně byly i zavedeny zkratky pro zápis mastných kyselin ve formě N:M, kde N je počet atomů uhlíku v molekule a M je počet dvojných vazeb [6].

Vlastnosti mastných kyselin

Na základě rozdílných délek MK, rozdílného stupně nenasycenosti a polohy dvojných vazeb mezi uhlíky MK se tak odvíjí i rozdílné vlastnosti MK:

Skupenství: Obecně platí, že s rostoucí délkou uhlíkatého řetězce a s tím i navyšující se molekulovou hmotností mastné kyseliny roste bod tání a varu, čímž naopak klesá její těkavost [12,13]. Naopak se zvyšujícím se stupněm nenasycenosti mastné kyseliny, tedy se zvyšujícím se počtem dvojných vazeb dochází k poklesu bodu tání [13]. To je například důvodem, proč se kokosový tuk, který obsahuje převážně nasycené mastné kyseliny (zvyšující bod tání), nachází

za běžných podmínek v tuhém skupenství v porovnání s ostatními rostlinnými oleji, které obsahují nenasycené mastné kyseliny [12].

Rozpustnost: S rostoucím uhlíkatým řetězcem MK dochází k poklesu její polariry, a tím tak klesá její rozpustnost v polárních rozpouštědlech (např. voda) a roste její rozpustnost v nepolárních rozpouštědlech (např. chloroform) [13].

Kinematická a dynamická viskozita: S rostoucím uhlíkatým řetězcem MK roste i viskozita MK, naopak se zvyšující se nenasyceností MK dochází k poklesu viskozity [14]. Viskozita se dále snižuje, jestliže jsou v oleji obsaženy trans-MK [10]. Další faktorem, na kterém je závislá viskozita MK, je obecně teplota. Se zvyšující se teplotou klesá viskozita MK [14].

Získávání tuků a olejů

Úprava semen

Výchozími rostlinnými surovinami pro výrobu tuků a olejů jsou semena, boby, jádra a dužina plodů. Vzhledem k tomu, že sklizené plody, z kterých se následně tuky a oleje vyrábí, podléhají rychlé zkáze, je potřeba tyto suroviny okamžitě zpracovat již na místě sklizně. Jedná se převážně o olivy, avokáda, palmové ořechy či kokos, a tak je jejich výroba podmíněna lokálnímu zpracování. Semena plodů lze uchovávat delší dobu, a není tudíž potřeba tyto suroviny okamžitě zpracovávat pro výrobu olejů. [15]

Po sklizni semen a před jejich následném uskladnění je potřeba, aby byla semena řádně pročištěna a odseparována od nezralých, mechanicky poškozených, cizích či připálených semen. Sušením (při 60 °C) se redukuje komplikace během dalšího zpracování [15, 16]. Sušením jsou semena zbavena přebytečné vlhkosti pod stanovenou mez, aby se semena mohla skladovat (pod 11 % hm. vlhkosti). Díky snížení vlhkosti, vytržení špatných semen a vhodnou úpravou teploty skladování je zabráněno vzniku biochemických transformací. Zanedbáním sušení a třídění semen může docházet například k enzymatické činnosti lipáz, které jsou schopny štěpit TAG za vzniku mastných kyselin. Díky průběhu této reakce dochází ke snížení výtěžnosti oleje ze semen [15].

Mletí a klimatizace semena

Semena jsou mleta v mlecích stolicích při tlacích v řádech MPa, aby získávání olejů probíhalo co nejnadhěji a nejučinněji. Na rozdíl od lisování se mletí liší v tom, že semena pomocí mletí jsou pouze rozstřížena mezi dvěma točícími se válci, kdy jeden válec se točí rychleji než druhý, a tím tak dochází pouze k narušení buněčné stěny. [15]

Druhou úpravou semene je tzv. klimatizace semena, která probíhá v nahřívacích pánvích. Principem této úpravy je pronikání syté vodní páry o teplotě 85–110 °C do buněčné stěny semene v horní části nahřívací pánve, čímž dochází i k nárůstu vlhkosti semene (12-15 hm. %). Látky přítomné v buněčné stěně, které jsou ve vodě rozpustné (hlavně polysacharidy a bílkoviny), vytváří hydrofilní gely, čímž dochází k dalšímu narušení buněčné stěny, a průstup oleje je tak usnadněn. Následně jsou hydratovaná semena sušena v dolní části nahřívací pánve ze stálého míchaní do dosažení 4–6 % hm. vlhkosti dle optimálních mechanických vlastností konkrétního semena. [15]

Lisování

Principem lisování je mechanické uvolnění oleje z kapilár rostlinných pletiv vlivem pravidelného působícího tlaku v šnekovém lisu, ve kterém dochází střídavě ke kompresi a expanzi (200 MPa). Při lisování je usnadněn výtok oleje ze semene nebo je usnadněn průstup extrakčního rozpouštědla do semene během extrakce. Provádí se pouze v případě, jestliže se v semenech nachází alespoň 20-25 % oleje [15,16]. Lisovaný olej obsahuje zhruba 1-10 % nečistot, které jsou filtračně odděleny na semikontinuálních deskových filtrech [15].

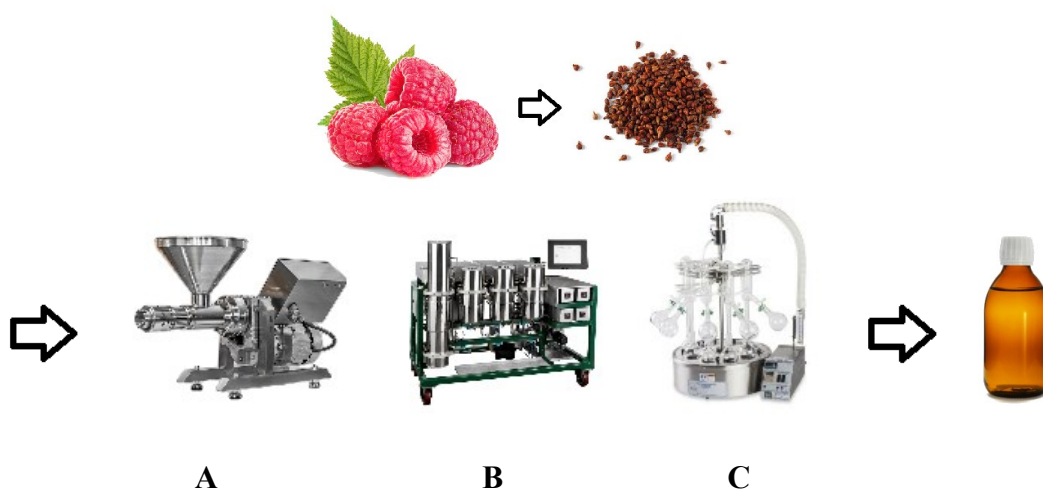
Před lisováním hraje důležitou roli úprava semen, od které se následně odvíjí i výsledná kvalita oleje. Pro získání cenných látek přítomných v oleji se využívá lisování za studena. Vysušená a očištěná semena jsou lisována při 20 °C, ale vzhledem k nárůstu tlaku během lisování dochází i k zahřívání oleje, proto je teplota udržována pomocí chladicího systému. Díky této technologii dochází ke zvýšení kvality oleje, které jsou bohaté na antioxidantní látky. Mezi hlavní výhody patří úspora energií. Hlavní nevýhodou je naopak nižší výtěžnost, v semenech zůstává ještě asi 7 % oleje. [16]

Extrakce

Principem extrakce je separace oleje od rostlinných pletiv extrakčním rozpouštědlem, ve kterém se dokáže rozpustit hlavně olej na rozdíl od ostatních složek přítomných v semenu. Extrahovat lze již i vylisovaná semena pro vyšší výtěžnost oleje, neboť účinnost lisování nikdy není 100 %. Účinnost extrakce je závislá na rychlosti toku rozpouštědla skrze narušenou buněčnou stěnu. Použití konkrétního vhodného extrakčního činidla je závislé na mnoha faktorech, kterými jsou vysoká rozpustnost oleje za nízkých teplot, vysoká selektivita, chemická inertnost, nízká toxicita vůči lidem i životnímu prostředí, hořlavost a výbušnost, nízká viskozita a povrchové napětí, nízká spotřeba energie, nemísitelnost s vodou, nízké rozmezí bodu varu, nízké výparné teplo. V praxi neexistuje žádné extrakční činidlo, které by vyhovovalo všem zmíněným nárokům, avšak nejčastěji se v praxi využívá extrakční benzín či

v lepším případě technický hexan, jehož destilační rozmezí je užší než destilační rozmezí extrakčního benzínu. [15]

Speciálním extrakčním činidlem je superkritický oxid uhličitý CO_2 , který se při superkritickém stavu (304 K, 7,4 MPa) nachází současně v kapalném a plynném skupenství, čímž zvyšuje výtěžnost oleje. Během superkritické fluidní extrakce (SFE) nepoškozuje látky cenné a využívané ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu pro své anti-zánětlivé, antioxidační a antibakteriální účinky (Obr. 2). Výhodou této techniky je snížená spotřeba energií, zkrácení doby extrakce, redukce používaných látek toxických vůči životnímu prostředí a lepší kvalita olejů. [17]



Obrázek 2: Technologie výroby malinového oleje: lis (A), superkritický fluidní extraktor (B), extraktor (C) [17].

Extrakce probíhá za atmosférického tlaku a za teploty nižší, než je teplota bodu varu extrakčního činidla, obvykle v rozmezí 50–55 °C. V dnešní době se extrakce uskutečňuje v protiproudém extraktoru, kdy na jedné straně vstupuje do extraktoru extrakční činidlo, na druhé straně upravená či vylišovaná semena. Po extrakci jsou produkty procesu pokrutiny, které se dále využívají pro krmné účely, a miscela o koncentraci oleje minimálně 30 % (extrakční rozpouštědlo + olej). Miscela je nejprve zfiltrována na talířových semikontinuálních filtrech a olej z miscely je následně získán pomocí destilace za sníženého tlaku ve třech stupních. [15]

Rafinace lisovaného a extrahovaného oleje

Tzv. surový olej je olej, který je prvotně získán procesem lisování a extrakce. Během procesů se do oleje dostávají i jiné látky, které je následně potřeba oddělit, aby byl získán olej o vysoké čistotě s minimální koncentrací fosfolipidů, volných mastných kyselin, barviv a se senzoricky

neutrální chuti a vůni. Proto surový olej podléhá rafinaci v několika procesech v závislosti na typu odstraňované látky (Obr. 3). [15]



Obrázek 3: Rafinace rostlinného oleje, Farmet, Maďarsko [18].

Pomocí hydratace (tzv. odslizení) jsou z oleje odstraňovány látky hydrofilní povahy. Celkově tento rafinační proces slouží ke snížení obsahu fosforu v oleji. Odstraňovanými látkami jsou například glykolipidy či fosfolipidy, jež jsou přirozenou složkou buněčných pletiv semen. Po jejich separaci jsou nadále využívány jako emulgátory, jedním z nich je takzvaný lecitin. Do surového oleje se přidává H_2O o teplotě 60–90 °C či 2–3 % kyselina citrónová nebo fosforečná pro účinnější rafinaci. Při kontaktu horké vody s hydrofilními látkami dochází k tzv. koagulaci, hydrofilní látky se začnou k sobě shlukovat a vytvářet sediment, který je pomocí talířové odstředivky odstraněn. [15]

Alkalická rafinace slouží k odstranění volných mastných kyselin přítomných v oleji (0,5 – 3 hm. %). Její princip spočívá v neutralizaci mastných kyselin pomocí roztoku NaOH (3–20 hm. %) za vzniku mýdel rozpuštěných v H_2O (mýdlový kal). Neutralizace probíhá při 50–90 °C v závislosti na koncentraci NaOH. S rostoucí koncentrací NaOH klesá teplota, při které neutralizace probíhá, aby se zabránilo uvolnění velkého množství tepla. Alkalická rafinace probíhá v několika stupních. V prvním stupni dochází k hydrataci oleje pomocí H_3PO_4 , v druhém stupni dochází k neutralizaci, ve třetím stupni dochází k sušení na vakuových sušičích. [15]

Bělení olejů se využívá pro odstranění karotenoidních a feofytinových barviv na základě adsorpce barviv probíhající na bělicí hlince horninového (bentonitového) typu. Lze využít i aktivní uhlí, jestliže barviva jsou těžce adsorbovatelná. Bělení probíhá v kontinuálních bělicích za sníženého tlaku při 80–95 °C po dobu 25–35 minut, kdy se do proudu oleje dávkuje bělicí hlinka, která je následně odstraněna na semikontinuálních filtrech. [15]

Posledním procesem v rámci rafinace je deodorace oleje k dosažení neutrální chuti a vůně. Deodorace je založena na destilaci s vodní parou při teplotě 180–240 °C. Destilují se těkavější látky s vyššími hodnotami parciálního tlaku oproti parciálnímu tlaku oleje. Mezi těkavé látky snižující sensorickou jakost oleje patří například aldehydy, ketony, alkoholy či zbytky volných mastných kyselin po alkalické rafinaci. Během deodorace současně dochází k narušení nutriční a oxidační stability vlivem ztráty sterolů a tokoferolů [15]. Vlivem půdní výživy semene se mohou dostat do rafinovaných fritovacích olejů kovy (železo, měď, mangan) až do koncentrací 40 ppm katalyzující autooxidační procesy [7]. Proto se do rafinovaných olejů přidává například kyselina citrónová jako inhibitor železa (0,02 – 0,04 hm. %) [15].

Speciálním typem rafinace je fyzikální rafinace. Jedná se o destilační postup separace volných mastných kyselin (1,5 hm. %) za analogicky stanovených podmínek, jako probíhá deodorace. Nutnou podmínkou pro provedení fyzikální rafinace je předchozí hydratace a bělení oleje s dosažením nízkého obsahu fosforu (3–5 ppm). Pro dosažení nízkého obsahu fosforu v oleji se během bělení využívá i SiO₂, který je schopen přednostně na sebe vázat fosfolipidy. [15]

1.3 Transesterifikace

Estery mastných kyselin

Estery mastných kyselin jsou funkční deriváty, které se skládají z mastné kyseliny a alkoholu. V závislosti na délce uhlíkatého řetězce mastné kyseliny, alkoholu a sytosti alkoholu, rozeznáváme několik typů esterů mastných kyselin, od nichž se odvíjí i využití v reálném životě. Mezi známé estery mastných kyselin patří nejen acylglyceroly, ale také vosky [4]. Estery MK mohou vznikat reakcí zvanou esterifikace či transesterifikace. Mechanismus uvedených reakcí je odlišný, neboť do reakce vstupují odlišné reaktanty, čímž se tak mění i typ použitého katalyzátoru.

Esterifikované a transesterifikované mastné kyseliny nachází pestré využití. V potravinářském průmyslu slouží při výrobě margarínů a v kosmetickém průmyslu se používají jako emulgátory ve formě monoglycerolů nebo diacylglycerolů [6,7,12]. Emulgátory jsou látky obsahující polární i nepolární část, čímž jsou tak schopny spojit dvě nemísitelné fáze (např. olej a voda). V chemickém průmyslu se transesterifikace využívá pro přípravu methylesterů (bionafta), biologicky odbouratelných látek. Pro estery využívané jako biopaliva jsou typické estery skládající se nejčastěji z mastných kyselin o délce 16–18 uhlíků a nižšího jednosytného

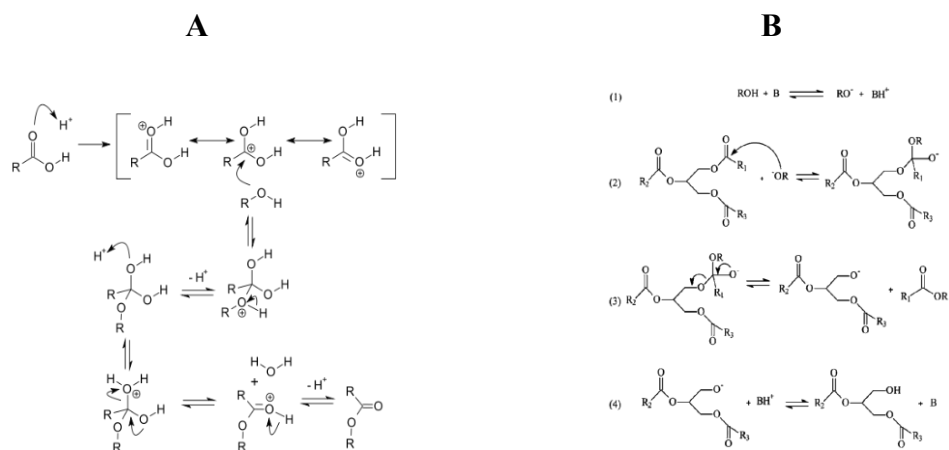
alkoholu [19]. Transesterifikace se hojně využívá při analýze zastoupení mastných kyselin v tucích a olejích pomocí plynové chromatografie ve formě methylesterů [20].

Reakční mechanismus esterifikace a transesterifikace

U transesterifikace reagují acylglyceroly (estery) s jednosytným alkoholem za alkalické či kyselé katalýzy opět za vzniku esteru. U esterifikace reaguje mastná kyselina s jednosytným alkoholem za kyselé katalýzy a vzniká ester. Pro esterifikaci není možná alkalická katalýza, neboť by došlo k neutralizaci volných kyselin, a tím tak ke vzniku mýdel (soli mastných kyselin) a nikoli ke vzniku esteru [19].

Esterifikace mastných kyselin je nejčastěji katalyzována pomocí silné minerální kyseliny (H_2SO_4) [19]. Mechanismem kyselě katalyzované esterifikace je vznik několika rezonančních struktur mastné kyseliny atakované protonem vodíku na karbonylovou skupinu. Díky tomu vzniká kladný náboj na uhlíku, který je tak schopen na sebe navázat alkoholovou skupinu z jednosytného alkoholu. Přesunem protonu vodíku z alkoholové skupiny jednosytného alkoholu na původní karbonylovou skupinu přítomnou v mastné kyselině dochází k odštěpení molekuly vody a následně i protonu vodíku jakožto katalyzátoru za vzniku esteru (Obr. 4 A).

Transesterifikace acylglycerolů je podmíněna bazickou katalýzou nejčastěji pomocí KOH, který jako velmi silná báze na sebe váže proton vodíku z alkoholové skupiny jednosytného alkoholu, díky čemuž je jednosytný alkohol schopen atakovat uhlík v rámci karboxylové skupiny s parciálním kladným nábojem, a dochází tak ke vzniku meziproduktu, který umožňuje odštěpit molekulu mastné kyseliny se současně esterově navázaným alkylem, která představuje v závislosti na použití jednosytného alkoholu příslušný alkylester. Následně je proton vodíku z báze přenesen zpět do původní molekuly již ochuzené o jednu odštěpenou mastnou kyselinu (Obr. 4 B).

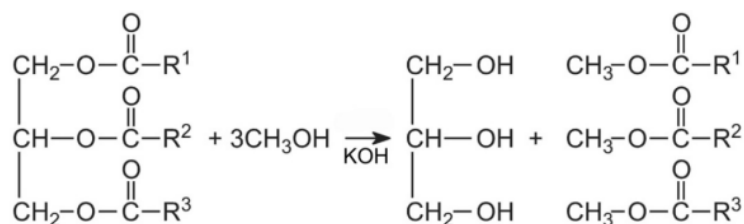


Obrázek 4: A – Mechanismus kyselého katalyzované esterifikace (mastná kyselina + alkohol) [21]. B – Mechanismus alkalicky katalyzované transesterifikace (triacylglycerol + alkohol) [22].

Z pohledu kinetiky je jedním z faktorů, na kterém závisí průběh reakce, teplota. Pro esterifikaci i transesterifikaci platí, že reakce musí probíhat za vyšší teploty, než je pokojová teplota (18–25 °C) [23,24]. Obecně platí, že čím je dosaženo vyšší teploty (40–65 °C), tím dochází k nárůstu rychlosti reakce a dochází k rychlejšímu ustanovení rovnováhy [23].

Transesterifikace v chemickém průmyslu

Methylestery se nejčastěji připravují z rostlinných olejů, jedlých i nejedlých. ME lze připravit i z již využitých olejů a živočišných tuků (Obr 5) [19].



Obrázek 5: Transesterifikace: TAG a MeOH (vlevo), G a ME (vpravo) [25].

Vzniklé methylestery se svými vlastnostmi velmi podobají vlastnostem nafty tím, že obě látky jsou schopny se vznítit za velmi podobných podmínek [1]. Schopnost vznícení je závislá na teplotě vznícení, při které se za přesně definovaných podmínek vytváří nad hladinou hořlavé kapaliny takové množství par, že jejich směs se vzduchem začne hořet. [3,26] Tím se tedy rozumí, že čím je teplota vznícení nižší, tím ochotněji je látka schopna se vznítit, hořet a uvolnit energii, čehož se v automobilovém průmyslu hodně využívá, aby byl motor rychle nastartován a zahřán. Methylestery jsou schopny se vznítit za velmi podobných podmínek jako hexadekan,

od jehož procentuálního obsahu v palivu je odvozeno cetanové číslo (t_{vz} (hexadekan) = 201 °C [2], t_{vz} (methylestery mastných kyselin C16-C18 a C18-nenasycených) = 173 ± 1 °C [27]). Jedná se tedy o málo těkavé látky, jejichž samovznícení je podpořeno vysokým tlakem [2].

Bionafta neobsahuje aromatické uhlovodíky s obsahem dusíku a síry, čímž se tak redukuje vypuštěné emise do ovzduší při spalování paliva ve formě oxidů dusíku a síry, snižuje se i produkce CO₂ [1].

Transesterifikace v potravinářském průmyslu

Esterifikace se v potravinářském průmyslu využívala k výrobě emulgátorů, avšak v dnešní době se s ní již často nesetkáme. Oproti esterifikaci se začala více využívat transesterifikace [6].

Princip katalyzované transesterifikace neslouží pouze k výrobě alkylesterů využívaných v chemickém průmyslu, ale také ke změně polohy acylů vázaných na glycerol v molekule triacylglycerolu a k výměně acylů mezi dvěma molekulami triacylglycerolů, čímž vznikají nové triacylglyceroly s odlišnými chemicko-fyzikálními vlastnostmi [12]. Kombinací pomocí transesterifikace triacylglycerolů s obsahem nasycených a nenasycených mastných kyselin vznikají triacylglyceroly, které mají ve svých strukturách již obsaženy nasycené i nenasycené mastné kyseliny. Transesterifikací ze dvou různých TAG různých chemicko-fyzikálních vlastností vzniká jeden nový TAG, který má stejné vlastnosti. Tato reakce, zvaná také jako esterová výměna, se využívá v potravinářském průmyslu při přípravě strukturního tuku obsaženého v tukové násadě margarínu. Ve výsledné rovnovážné směsi je rozložení acylů mastných kyselin v triacylglycerolech nahodilé, a tedy zcela odlišné od složení acylů mastných kyselin v původních přírodních triacylglycerolech. Jedná se o tzv. randomizaci [6].

Reakce probíhá rychle při 50–160 °C v závislosti na tom, zdali je reakce katalyzována alkalicky či enzymově, aby se zabránilo kondenzačním reakcím mezi estery [6,12]. Jako alkalický katalyzátor se v potravinářství nejčastěji používá hydroxid sodný nebo methoxid sodný, jako enzymový katalyzátor se používá enzym lipáza, pankreatická lipáza (EC 3.1.1.3), která je schopna štěpit triacylglyceroly až na glycerol a mastné kyseliny a je schopna katalyzovat už při nízkém obsahu rozpuštěné vody v oleji [6,28].

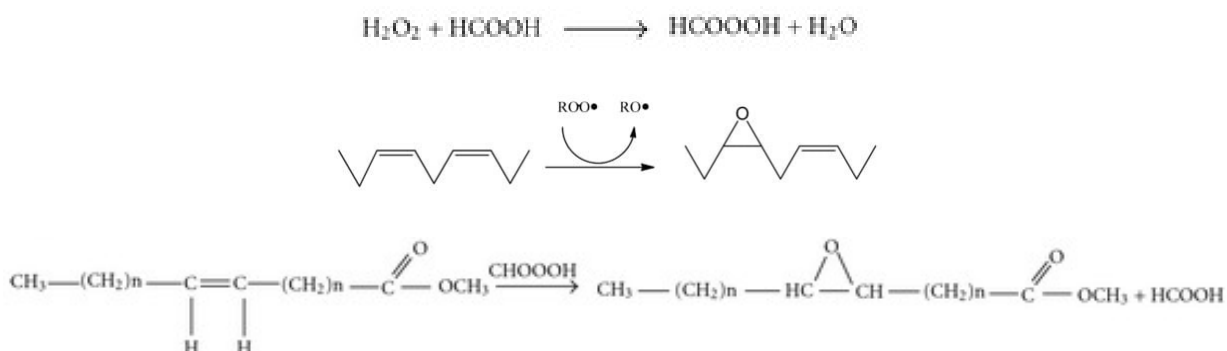
Reakci je možno řídit snižováním teploty, aby došlo ke krystalizaci nejvýše tající složky, tím k ustanovení rovnováhy, a tím tak k ukončení reakce. TAG v pevném skupenství se nemohou transesterifikace účastnit [6].

1.4 Epoxidace

Epoxidy methylesterů nenasycených mastných kyselin

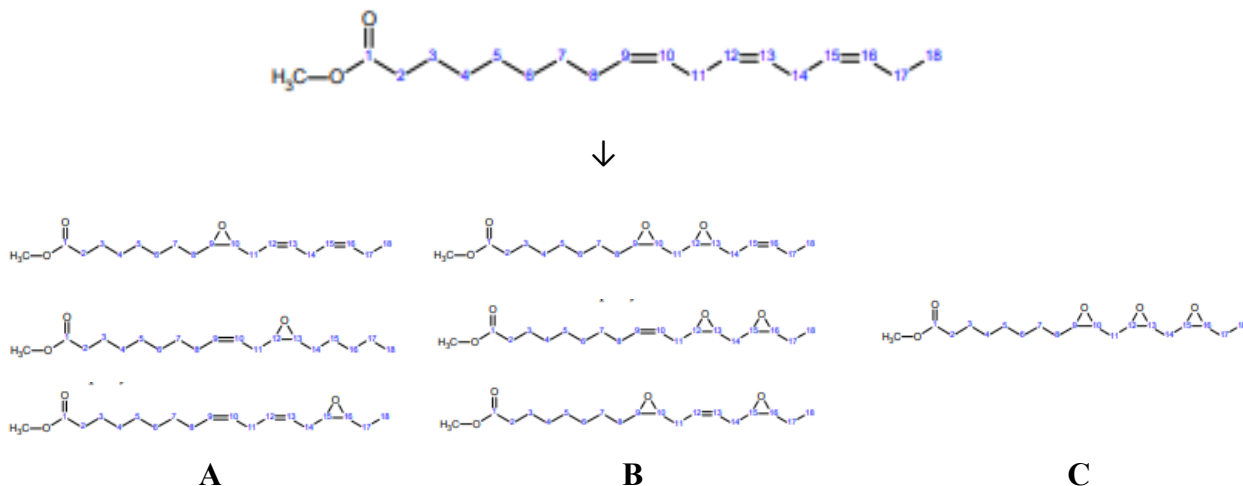
Epoxidy jsou sloučeniny, jež mají ve své struktuře zabudovaný kyslík ve formě oxiranového kruhu. Jedná se o velmi reaktivní látky, neboť oxiranový kruh svými chemickými vazbami svírá nízký úhel mezi atomy [29].

Epoxidy ME se připravují synteticky kyselé katalyzovanou radikálovou adicí [30,31]. Aby bylo možno epoxidy ME připravit, je nutné, aby v ME byly obsaženy nenasycené mastné kyseliny. Peroxid vodíku H_2O_2 je pomocí kyselé katalýzy „převeden“ na rozpustnější peroxokyselinu, která ochotněji přenáší kyslík na dvojnou vazbu mezi uhlíky v organickém prostředí. Jako katalyzátor se využívá kyselina mravenčí HCOOH (octová CH_3COOH). ME reagují s peroxokyselinou podle uvedeného schématu (Obr. 6) [30]. Jako produkty vznikají epoxidy různých kombinací, tj. s odlišnou polohou a počtem oxiranového kruhu či geometrické cis a trans izomery (Obr. 7). S rostoucím počtem oxiranových kruhů a dvojných vazeb v poloze cis roste bod varu epoxidu [32].

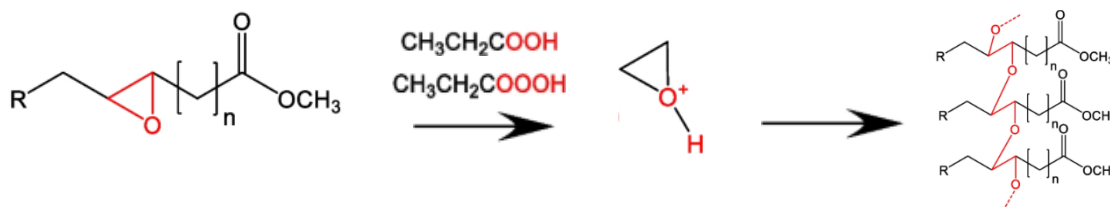


Obrázek 6: Mechanismus epoxidace ME pomocí kyseliny permravenčí [31,33].

Nevýhodou použití kyseliny permravenčí (či peroctové) je její termická nestabilita. Pokud se v průběhu reakce i po ukončení epoxidace, která probíhá při 60 °C, nachází v prostředí nadbytek nezreagované karboxylové kyseliny, může dojít k otevření oxiranového kruhu, a tím tak k zániku epoxidů (Obr. 8). Pro zabránění rozpadu se nadbytek kyselin neutralizuje pomocí slabé zásady po ukončení epoxidace (např. pomocí Na_2CO_3), a dochází tak k zastavení reakce [30].



Obrázek 7: ME C18:3 a jeho možné izomery epoxidů v závislosti na počtu a poloze oxiranových kruhů; A– 1 oxiranový kruh, B– 2 oxiranové kruhy, C– 3 oxiranové kruhy [32].



Obrázek 8: Otevření oxiranového kruhu při nadbytku kyseliny [30].

Epoxidace v chemickém průmyslu

Přeměnou rostlinných olejů a živočišných tuků na methylestery a jejich následnou úpravou na epoxidy nebo přímou epoxidací rostlinných olejů a živočišných tuků vznikají látky s příznivými vlastnostmi, které nachází využití jako změkčovadla, stabilizátory, prekurzory či meziproducty při výrobě polymerů [30,31]. Epoxidy se mohou také využívat jako složky maziv, nátěrových hmot nebo gelů [30]. Pomocí maziv dochází ke snížení opotřebení a tření mezi styčnými plochami. Současně mohou působit jako těsnící a chladící prostředky a brání proti vzniku koroze [31].

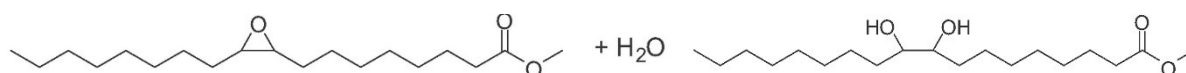
Mezi největší výhody těchto aplikací je zejména nízká toxicita a biodegradabilita surovin jakožto jedlých tuků a olejů v porovnání s ropou, která primárně sloužila jako zdroj pro výrobu epoxidů. Další výhodou je současně fakt, že rostlinné oleje a tuky patří mezi obnovitelné zdroje oproti ropě [30,31].

Na přípravu epoxidů se preferují ME, které mají nižší viskozitu oproti TAG. V technologické praxi lze směs v reaktoru během epoxidace lépe míchat [31]. Dalším důvodem pro přípravu epoxidů z ME je glycerol, který vzniká jako vedlejší produkt během transesterifikace

a zastupuje nenahraditelnou roli například v kosmetickém nebo farmaceutickém průmyslu. Důležitým faktorem pro přípravu epoxidů je nenasycenost neboli hodnota jodového čísla methylesterů. Na epoxidaci se upřednostňují ME s jodovým číslem vyšším než 120 g I₂/100 g oleje dle normy EN 14214, neboť tyto ME mají nízkou oxidační stabilitu a nemohou být tak využity jako palivo [32].

Mezi hlavní rozdíly epoxidů připravených z TAG a ME patří jejich závislost viskozity na teplotě. U epoxidů připravených z TAG je kinematická viskozita silně závislá na teplotě. Se zvyšující se teplotou prudce klesá viskozita. U epoxidů připravených z ME se viskozita při změnách teploty méně nemění [31].

Epoxidy mohou dále reagovat kromě s organickými kyselinami i s vodou či peroxidem vodíku za vzniku alkoholů, čímž tak dochází k otevření oxiranového kruhu (Obr. 9) [32].



Obrázek 9: Hydratace epoxidu methylesteru C18:1 za vzniku dvojsytného alkoholu [34].

Epoxidace v potravinářském průmyslu

Epoxidy patří mezi škodlivé látky, které se mohou dostat do lidského metabolismu. Epoxidy jakožto látky o vysoké reaktivitě mohou reagovat s molekulou DNA, a tím tak poškodit genetický kód. Reakcí epoxidů s lipidy dochází k jejich oxidaci a vzniku peroxidů, které hrají důležitou roli v karcinogenezi [29].

Při kontaktu epoxidu s molekulárním kyslíkem může dojít ke vzniku reaktivních forem kyslíku ve formě superoxidového anion-radikálu ($\bullet\text{O}_2^-$) či hydroxylového radikálu ($\bullet\text{OH}$) narušující buněčné struktury [29]. Reaktivní formy kyslíku mohou být dále enzymaticky katalyzovány až na peroxid vodíku, který je schopen reagovat s nenasycenými mastnými kyselinami za vzniku peroxokyselin, které se izomericky mění na epoxidy (Obr. 10) [35].

Proto epoxidace v potravinářském průmyslu nenachází uplatnění.



Obrázek 10: Vznik epoxidu z nenasycené mastné kyseliny v lidském metabolismu, enzymaticky katalyzováno [35].

1.5 Analytické metody

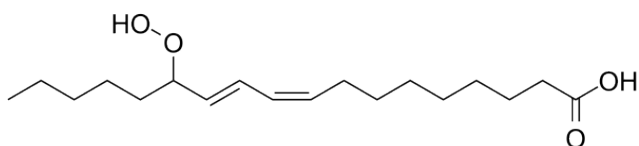
Analýza tuků a olejů

Tuková čísla

Číslo kyselosti (ČK) vyjadřuje obsah volných mastných kyselin přítomných v esterech. Udává se jako množství hydroxidu draselného (KOH) v miligramech potřebného na neutralizaci veškerých volných mastných kyselin v 1 gramu oleje. Číslo kyselosti se stanoví a vypočítá na základě spotřeby 0,1 M NaOH při zružování fenolftaleinu, který se přepočítá na množství KOH. Číslo zmýdelnění (ČZ) vyjadřuje obsah veškerých mastných kyselin přítomných v tucích či olejích (volných a esterově vázaných). Udává se jako množství hydroxidu draselného KOH v miligramech potřebného na neutralizaci veškerých mastných kyselin v 1 gramu oleje. Rozpuštěný tuk či olej je při varu pod zpětným chladičem zahříván po dobu 1,5 hodiny společně se známým množstvím ethanolickeho roztoku KOH, aby došlo k rozpadu esterově vázaných mastných kyselin v TAG a k reakci MK s KOH za vzniku mýdel. Nezareagované množství KOH je ještě za horka titrováno pomocí HCl do odbarvení růžového zbarvení fenolftaleinu a číslo zmýdelnění je spočítáno na základě spotřeby HCl.

Esterové číslo (EČ) vyjadřuje obsah esterově vázaných mastných kyselin v TAG, a tím i čistotu oleje v porovnání s číslem zmýdelnění. Udává se jako množství hydroxidu draselného KOH v miligramech potřebného na neutralizaci vázaných mastných kyselin v 1 gramu oleje. Z rozdílu hodnot čísla zmýdelnění a čísla kyselosti se získá hodnota esterového čísla.

Peroxidové číslo (PČ) vyjadřuje obsah vázaného kyslíku ve formě hydroperoxidů (Obr. 11), které vznikají v první fázi žluknutí tuků a olejů. Udává se jako množství kyslíku (O) v milimolech na 1 kilogram oleje. Přítomnost kyslíku se zjišťuje pomocí nepřímé jodometrické titrace. Část známého množství jodidu draselného KI se za omezeného přístupu světla a vzduchu oxiduje na jod I_2 vlivem přítomnosti hydroperoxidů v tucích a olejích v prostředí kyseliny octové. Vyloučený I_2 je následně titrován pomocí thiosíranu sodného $Na_2S_2O_3$ do odbarvení modrofialového zbarvení škrobového mazu [36]. Peroxidové číslo se vypočítá z rozdílu spotřeb $Na_2S_2O_3$ na slepý vzorek a titraci vzorku.

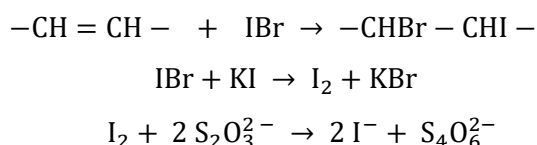


Obrázek 11: 13-hydroperoxylinolová kyselina [37].

Jodové číslo

Jodové číslo (JČ) charakterizuje stupeň nenasyčenosti neboli obsah dvojných vazeb v tucích a olejích (methylesterech). Vyjadřuje se jako množství halogenu potřebného na adici veškerých dvojných vazeb mezi uhlíky ve 100 gramech tuku či oleje. Obecně platí, že čím je jodové číslo vyšší, tím je vyšší i stupeň nenasyčenosti tuku či oleje [36].

Jodové číslo lze stavit dle Hanušovy (IBr) či Wijsovovy metody (ICl) pomocí zpětné jodometrické titrace, kdy známe množství jodidu draselného reaguje s nezreagovaným bromidem jodným (chloridem jodným) za vyloučení jodu, který je titrován pomocí thiosíranu sodného do odbarvení modrofialového zbarvení škrobového mazu (Obr. 12) [36]. Jodové číslo se vypočítá z rozdílu spotřeb $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na slepý vzorek a titraci vzorku (1).



Obrázek 12: Princip Hanušovy metody pro stanovení jodového čísla [36].

$$J\check{C} [I_2/100 g] = \frac{100 \cdot c_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \cdot (V_1 - V_2) \cdot 0,1269}{m_{\text{navážka}}} \quad (1)$$

kde V_1 je spotřeba $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ na slepý pokus [ml], V_2 je spotřeba $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při titraci vzorku [ml], $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$ je koncentrace thiosíranu sodného [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$] a $m(\text{navážka})$ je navážka vzorku [g].

V rámci analýzy tuků a olejů se měří několik dalších důležitých charakteristik, kterými je například hydroxylové číslo udávající obsah parciálních esterů glycerolu v tucích a olejích (ve formě mono a diacylglycerolu) či p-anisidinové a thiobarbiturové číslo udávající obsah aldehydů v tucích a olejích jakožto sekundární produkty oxidace lipidů [36].

Analýza epoxidů

Epoxidový ekvivalent

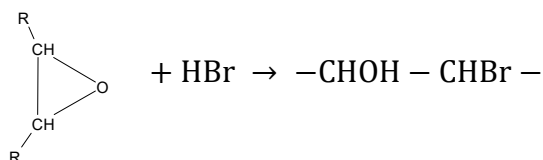
Epoxidový ekvivalent (EE) udává, kolik kyslíku je na epoxidované množství sloučeniny navázáno ve formě oxiranu. Vyjadřuje se jako množství kyslíku (O) v molech vztahované na 1 kilogram vzorku.

Vzorek je nejdříve rozpuštěn v chloroformu. Dále se ke stanovení využívají kvartérní amonné soli (např. tetraethylamoniumbromid či hexadecyltrimethylamoniumbromid) a kyselina chloristá HClO_4 . K rozpuštěnému vzorku se přidá kvartérní amonná sůl a titruje se pomocí HClO_4 na krystalovou violet z fialového do světle modrého až tyrkysového zbarvení. Přídavkem HClO_4 ke směsi se z kvartérní amonné soli generuje kyselina bromovodíková HBr ,

kteřá je schopna otevřít oxiranový kruh (Obr. 14) [38]. Ze spotřeby a koncentrace HClO₄ lze stanovit epoxidový ekvivalent (2).

$$EE [mol O/kg] = \frac{V_{HClO_4} \cdot c_{HClO_4}}{m_{navážka}} \quad (2)$$

$$(C_2H_5N)^+ Br^- + HClO_4 \rightarrow (C_2H_5N)^+ ClO_4^- + HBr$$

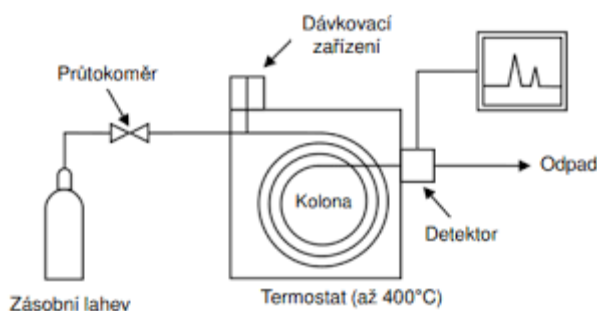


Obrázek 13: Princip stanovení epoxidového ekvivalentu [38].

Analýza methylesterů a epoxidů pomocí plynové chromatografie

Princip

Zařzení, na kterém probíhá analýza methylesterů a epoxidů se nazývá plynový chromatograf skládající se z dávkovače, vysokotlaké plynové bomby, kolony umístěné v termostatu a detektoru (Obr. 15). Plynová chromatografie současně představuje jedinou analytickou separační metodu, která umožňuje identifikovat jednotlivé izomery epoxidů a zároveň identifikovat jednotlivé izomery ve směsi methylesterů a epoxidů v jedné analýze. Výhodou plynové chromatografie je, že se jedná o jednoduchou, vysoce citlivou a zautomatizovanou metodu s vysokou přesností a reprodukovatelností. Pomocí plynové chromatografie lze lépe korigovat průběh epoxidace identifikací produktů a meziproduktů [32].



Obrázek 14: Schéma plynového chromatografu [39].

Plynová chromatografie umožňuje analýzu organických vzorků v plynném, kapalném i pevném skupenství, kdy vzorky v pevném skupenství musí být ještě před analýzou rozpuštěny ve vhodném rozpouštědle. Principem plynové chromatografie je průtok mobilní fáze s obsahem analyzovaného vzorku skrze kolonu, ve které se nachází stacionární fáze (kapalná – silikagel) [40]. Kapalně a pevně vzorky musí být zplyněny ještě před tím, než se s nosným plynem dostanou do kolony. Mezi dávkovačem a vstupem do kolony dochází ke zplynění vzorku při

teplotách přesahujících nejnižší bod varu vzorku (300 °C, v případě směsi EPO a ME) [32,40]. Mobilní fázi je inertní plyn (helium) uložený v tlakové lahvi o vysoké čistotě 99,995 – 99,9995 % s minimálním obsahem vody a kyslíku [32,40,41]. Plyn nikterak neinteraguje se vzorkem ani stacionární fází.

Na základě rozdílné afinity složek vzorku vůči stacionární fázi dochází k separaci složek v koloně umístěné v termostatu, zajišťující stabilní teplotu. Látky afinitnější ke stacionární fázi jsou v koloně zadržovány déle než látky, které se stacionární fází interagují velmi málo. Tyto vlastnosti jsou charakterizovány pomocí distribuční konstanty K_c , která popisuje koncentrační rovnováhu konkrétní látky mezi stacionární a mobilní fází řízenou termodynamicky. Distribuční konstanta se vyjadřuje jako podíl $[A_s]/[A_m]$ [41]. Čas, za který látka projde celou kolonou, se nazývá retenční čas, pro každou látku je specifický a jeho znalost se využívá při kvalitativní analýze. Během separace dochází ke změnám teploty (tzv. teplotní gradient), aby z kolony mohly být uvolněny látky s vyšším bodem varu, afinitnější ke stacionární fázi. Díky teplotnímu gradientu se tak krátí retenční čas [40].

Po průchodu složek vzorku kolonou dochází ke kvantitativní analýze jednotlivých složek pomocí detektoru. Základem všech detektorů je detekce signálu, který je přímo úměrný koncentraci. Při kvantitativní analýze methylesterů a epoxidů se jako detektor využívá hmotnostní spektrometr s elektronovou ionizací v elektromagnetickém poli s kvadrupólovým filtrem [32,42]. Principem hmotnostního spektrometru je ionizace jednotlivých složek vzorku ve vakuu. Míra ionizace je závislá na množství jednotlivých složek. V závislosti na poměru (m/z) je zaznamenána příslušná odezva signálu. (m) představuje hmotnost iontu a (z) představuje náboj iontu [42].

Před vstupem do hmotnostního spektrometru prochází analyt membránou, kde dochází k separaci od nosného plynu, který uvnitř hmotnostního spektrometru zvyšuje tlak. Následně dochází k ionizaci analytu ve vakuu. Analyt je atakován proudem elektronů, jejichž tok je urychlen pomocí elektromagnetického pole pro dosažení požadované kinetické energie. Při průletu elektronu kolem molekuly analytu dochází k přenesení kinetické energie z letícího elektronu na valenční elektron, který je následně schopen se vytrhnout z elektronového obalu, čímž dochází ke vzniku iontu s kladným nábojem [42].

Ionizované molekuly jsou pomocí elektromagnetického pole dále urychleny k hmotnostnímu analyzátoru. Ionty prolétají přes kvadrupólový filtr skládající se ze 4 elektrod. V prvním cyklu jsou 2 elektrody umístěné vertikálně kladně nabitě, 2 elektrody umístěné horizontálně jsou

záporně nabité. V prvním cyklu se ionty pohybují v horizontální rovině, během druhého cyklu se polarizace elektrod obrací a ionty se pohybují ve vertikální rovině. Cykly se střídají, čímž je umožněn pohyb iontů v 3D prostoru. Trajektorie iontů je vlnovou funkcí, jejíž frekvence a amplituda je závislá právě na velikosti náboje a hmotnosti. Měřením těchto charakteristik pomocí skenování dochází přepočtem ke vzniku konečné hodnoty signálu zaznamenané detektorem [42].

Pro vyhodnocení analýzy se používá vnitřní standard (ME C17:0, v případě směsi EPO a ME), látka chemicko-fyzikálně podobná ostatním složkám analyzovaného vzorku, která se v samotném vzorku přirozeně nenachází [32]. Tato látka se přidává ke každému analyzovanému vzorku ve známém množství a o známém retenčním čase. Porovnáním signálu příslušícímu vnitřnímu standardu s ostatními zaznamenanými signály lze stanovit procentuální zastoupení jednotlivých identifikovaných složek.

Analýza methylesterů a epoxidů pomocí infračervené spektrometrie

Princip

Vzorek je vystaven elektromagnetickému záření o vlnových délkách 0,25 – 2,5 mm ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) odpovídající střední oblasti infračerveného spektra. S rostoucí vlnovou délkou klesá energie elektromagnetického záření. V závislosti na struktuře molekuly dochází k rozdílné absorpci při vystavení proti záření v uvedeném intervalu vlnových délek. Energie elektromagnetického záření je schopna svou absorpcí do molekuly vyvolat změny v rotačních a vibračních stavech vazeb mezi jednotlivými atomy. Výsledkem je absorpční pás udávající závislost absorpce na vlnočtu ($1/\lambda$). V závislosti na tom, při jakých vlnočtech dochází k výrazné absorpci (v absorpčním spektru se ukáže jako pík), lze identifikovat vazby mezi konkrétními atomy a definovat tak přesnou strukturu molekuly.

Methylestery nasycených mastných kyselin ve svých strukturách obsahují vazby C-C, C-H, C-O a C=O. Methylestery nenasycených mastných kyselin mají navíc kromě uvedených vazeb ve svých strukturách obsaženou vazbu C=C, kterou lze dále v absorpčním spektru rozlišit v rámci konfigurace cis a trans [50]. Při vzniku epoxidů dochází k tvorbě oxiranového kruhu, a tím tak ke vzniku vazeb C-(O)-C a zániku vazeb C=C. Epoxidace se v absorpčním pásu projeví zánikem píku identifikující vazbu C=C a vznikem nového píku identifikující oxiranový kruh, neboť je taktéž schopen absorbovat infračervené záření konkrétní vlnové délky, a tím se také projevuje v absorpčním spektru [32].

2 Experimentální část

Prvotním cílem experimentu je připravit methylestery a epoxidované methylestery z netradičních rostlinných olejů. Dalším cílem je chromatograficky stanovit zastoupení mastných kyselin v používaných olejích, míru transesterifikace a epoxidace olejů a porovnat analyzované charakteristiky jednotlivých esterů i epoxidů. Složení matrice jednotlivých rostlinných olejů je uvedeno v Tabulce 1.

2.1 Chemikálie a zařízení

500 ml rostlinných a za studena lisovaných olejů z jader plodin, PharmaFit Czech s.r.o., Renovality (5 × 100 ml – hroznový, malinový, mandlový, meruňkový, mrkvový)

methanol (Merck KGaA, Německo, min. 99,99 %)

hydroxid draselný (PENTA s.r.o., Česká republika, min. 84,5 %)

kyselina fosforečná (Merck KGaA, Německo, 85 %)

peroxid vodíku (PENTA s.r.o., Česká republika, 29–32 %)

kyselina mravenčí (PENTA s.r.o., Česká republika, min. 85 %)

uhlíčan sodný (Lach-Ner s.r.o., Česká republika, min. 99,8 %)

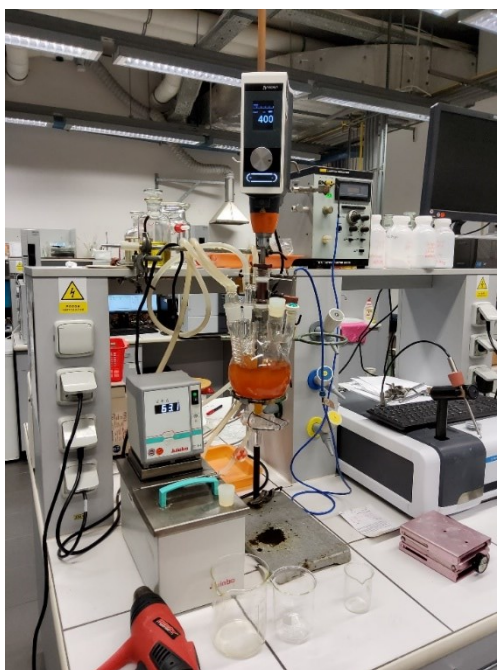
Plynový chromatograf Agilent 7890B/5977A Series GC/MSD (Agilent Technologies, Waldbronn, Německo)

Infračervený spektrometr Nicolet iS50 FT-IR (Nicolet, Praha, Česká republika)

Tabulka 1: *Chemické složení olejů [43] a jodová čísla použitých rostlinných olejů.*

Druh oleje	JČ [g I ₂ /100 g]	Složení
hroznový	128-150 [44]	olej ze semínek vinné révy, vitamín E, vitamín B, minerály
malinový	158,5 [45]	olej ze semínek ostružiníku maliníku, vitamín E
mandlový	95-105 [46]	olej z mandlových semen kaprinové/ kaprylové triglyceridy
meruňkový	95-110 [44]	olej ze semen meruňky
mrkvový	137-138 [47]*	olej ze semen mrkve, alpha-pinene, beta-pinene, oxid, karyoflyen, limonen, geraniol, methyl eugenol

*údaj je brán čistě jako orientační vzhledem k věrohodnosti zdroje



Obrázek 15: *Reaktor pro transesterifikaci a epoxidaci s napojeným termostatem (vlevo) a míchadlem s volbou nastavení otáček (nahore)*

2.2 Příprava epoxidů

Transesterifikace rostlinných olejů

Jako první byla provedena transesterifikace rostlinných olejů. Byly připraveny roztoky z 1-1,2 hm. % KOH, který byl rozpuštěn v MeOH vůči navážce olejů v přibližném molárním poměru 1:5 (olej:MeOH). Přibližně 90 g rostlinného oleje bylo smícháno v reaktoru s methanolickým roztokem KOH a směs se následně reagovala za míchání při 60 °C po dobu 1,5 hodiny v reaktoru.

Po uplynutí času byl nezreagovaný KOH neutralizován pomocí kyseliny fosforečné H_3PO_4 a nezreagovaný MeOH byl odstraněn v odsávací baňce za varu a sníženého tlaku během současného míchání (2-3 kPa, 60 °C). Směs byla převedena do dělicí nálevky, kde došlo k rozdělení fází na dolní glycerolovou (GL) a horní methylesterovou (ME). Vrchní fáze se směsí methylesterů byla odpipetována a dále analyzována na plynovém chromatografu [32].

Epoxidace methylesterů

Cca 80 g methylesterů bylo smícháno s cca 7–10 g kyseliny mravenčí $HCOOH$ (dle přesné navážky ME). Takto připravená směs se nechala míchat při 300 RPM po dobu 3 hodin při 60 °C. Do reaktoru se za stálého míchání po kapkách přidávalo 60–80 g H_2O_2 po dobu zhruba 1 hodiny, aby nedocházelo k rozkladu H_2O_2 vlivem uvolňování tepla během jeho rozpouštění.

Po ukončení epoxidace byla směs převedena do dělicí nálevky, kde došlo k oddělení vodné a esterové fáze. Spodní vodná fáze se nechala odpusťit a k esterové fázi byl přidán roztok Na_2CO_3 , směs byla vytřepána a následně se fáze nechaly odstát. Opět došlo k oddělení vodné a esterové fáze. Spodní vodná fáze byla opět vypuštěna. Zůstatek v dělicí nálevce byl převeden do odsávací baňky, kde po přidání methanolu byl za varu a sníženého tlaku odstraněn zbytek H_2O (2-3 kPa, 60 °C). Následně byla směs epoxidovaných methylesterů analyzována na plynovém chromatografu [32].

2.3 Analýza

Jodové číslo

Po přípravě methylesterů a epoxidů bylo stanoveno jodové číslo. Porovnáním hodnot jodových čísel před a po epoxidaci byla stanovena účinnost epoxidace (3). Podle teoretického předpokladu jodového čísla příslušných rostlinných olejů byly připraveny navážky methylesterů (Tab. 2). K cca 0,11 – 0,18 g methylesterů a k cca 0,5 – 1 g epoxidovaných methylesterů bylo do titrační baňky přidáno 5 ml chloroformu a 12,5 ml Hanušova činidla (0,1 M IBr) a směs se nechala reagovat po dobu 30 minut ve tmě. Následně bylo k směsi přidáno 7,5 ml 10 % KI, 25 ml H_2O a 3 ml škrobového mazu a vyloučený nezreagovaný jód byl titrován 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do odbarvení škrobového mazu.

$$\text{účinnost epoxidace} = \frac{J\check{c}_{\text{před}} - J\check{c}_{\text{po}}}{J\check{c}_{\text{před}}} \cdot 100 \quad (3)$$

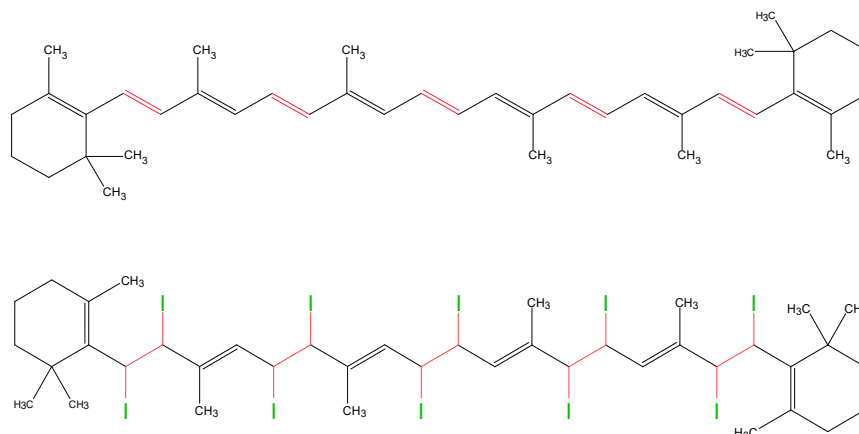
kde $J\check{c}_{\text{před}}$ je jodové číslo směsi methylesterů před epoxidací [g $\text{I}_2/100$ g] a $J\check{c}_{\text{po}}$ je jodové číslo směsi methylesterů po epoxidaci [g $\text{I}_2/100$ g].

Tabulka 2: Navážky olejů podle předpokládaného jodového čísla [48]

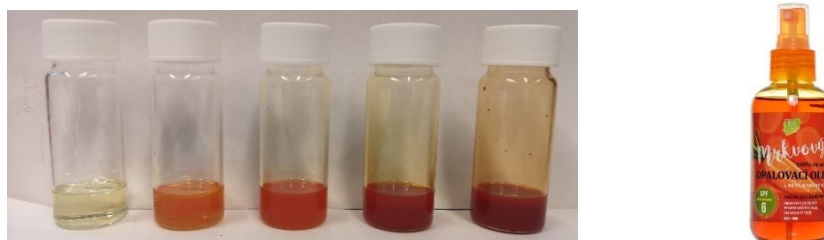
JČ [I ₂ /100 g oleje]	100	150	200
navážka oleje [g]	0,15	0,1	0,075

Vliv beta-karotenu na stanovení jodového čísla

Bylo ověřeno, zdali beta-karoteny ovlivňují stanovení jodového čísla. Byly připraveny navážky rafinovaného slunečnicového oleje o jodovém čísle 125,15 g $\text{I}_2/100$ g oleje, do kterých bylo přidáno známé množství beta-karotenu o koncentracích 0; 0,02; 0,1; 0,5 a 1 hm. %. Jodové číslo bylo stanoveno stejným způsobem jako jodová čísla methylesterů a epoxidů pro vzorky olejů s koncentrací betakarotenu 0,02 a 0,1 hm. %, jejichž zbarvení bylo srovnatelné s dostupnými kosmetickými oleji v obchodě (Obr. 17).



Obrázek 16: Chemický vzorec beta-karotenu s obsahem dvojných vazeb (červeně zvýrazněno), které je I_2 schopno adovat (spodní vzorec)



Obrázek 17: Rafinovaný slunečnicový olej s obsahem beta-karotenu o koncentracích: 0; 0,02; 0,1; 0,5; 1 hm.% v porovnání s volně dostupným obarveným olejem [49].

Plynová chromatografie – Methylestery a epoxidy

Směsi methylesterů a epoxidů byly analyzovány na plynovém chromatografu s hmotnostním spektrometrem [32]. Z každé směsi methylesterů a epoxidů bylo odebráno 0,25 g vzorku, která se nechala rozpustit ve 3 g acetonitrilu. Ke každé směsi bylo přidáno 0,05 g vnitřního standardu (VS, ME C17:0) o známém retenčním čase. Po provedení analýzy bylo z první směsi stanoveno a identifikováno hmotnostní zastoupení methylesterů. V druhé směsi bylo stanoveno a identifikováno zastoupení vzniklých epoxidů a neepoxidovaných methylesterů. Zastoupení jednotlivých methylesterů a epoxidů bylo stanoveno porovnáním hodnot signálů jednotlivých složek vůči signálu vnitřního standardu (4) a (5). Dále byla stanovena účinnost epoxidace (6).

$$I_{ME/EPO ME} = \frac{Area_{ME/EPO ME}}{Area_{VS}} \quad (4)$$

$$Zastoupení ME/EPO [hm. \%] = \frac{I_{ME/EPO ME}}{\sum I_{ME/EPO ME}} \cdot 100 \quad (5)$$

kde $I_{ME/EPO ME}$ je intenzita signálu methylesteru/epoxidovaného methylesteru vůči vnitřnímu standardu [bezrozměrné číslo], $Area_{ME/EPO ME}$ je detekovaný signál příslušící

methylesteru/epoxidovanému methylesteru [bezrozměrné číslo] a A_{reaVS} je detekovaný signál [bezrozměrné číslo].

$$\text{účinnost epoxidace} = \frac{I_{\text{před}} - I_{\text{po}}}{I_{\text{před}}} \cdot 100 \quad (6)$$

kde $I_{\text{před}}$ je intenzita signálu methylesteru po epoxidaci [bezrozměrné číslo] a I_{po} je intenzita signálu methylesteru před epoxidací.

Epoxidový ekvivalent

Po přípravě epoxidů byl stanoven epoxidový ekvivalent. Bylo naváženo 0,3 g epoxidů, které byly následně rozpuštěny v 25 ml chloroformu. Ke směsi byl následně přidán 1 g amonné soli hexadecyltrimethylamoniumbromid a 3 kapky indikátoru krystalové violeti a roztok byl titrován pomocí 0,1 M HClO_4 z fialového do světle modrého až tyrkysového zbarvení. Ze spotřeby HClO_4 byl vypočítán epoxidový ekvivalent (2).

Infračervená spektrometrie

Methylestery a epoxidy z jednotlivých olejů byly změřeny na infračerveném spektrometru. Při měření každého vzorku bylo na pracovní plochu nanášeno několik kapek vždy po důkladném očištění pracovní plochy ethanolem. Po měření byly z absorpčního spektra vyhodnoceny jednotlivé píky pro různé vlnočty identifikující charakteristické skupiny a meziatomární vazby.

3 Výsledky a diskuse

3.1 Jodové číslo

Byla stanovena a porovnána jodová čísla methylesterů (před epoxidací) s předpokládanými jodovými čísly nalezenými v odborné literatuře (Tab. 3). V závislosti na odlišném kvantitativním zastoupením mastných kyselin v olejích vlivem existence různých odrůd plodů mohou mít stejné druhy oleje odlišná jodová čísla. Proto lze nalézt v odborné literatuře hodnoty jodových čísel uvedených v příslušných intervalech. Experimentálně stanovená jodová čísla se nacházela v rozmezí předpokládaných jodových čísel, kromě mrkvového oleje.

Podle získaných hodnot jodových čísel analyzovaných vzorků se nacházelo nejvíce nenasyčených mastných kyselin v malinovém oleji. Naopak nejméně nenasyčených mastných kyselin se nacházelo v mandlovém oleji.

Vliv beta-karotenů na stanovení jodového čísla

Stanovení jodového čísla vzorků se známým přidaným množstvím beta-karotenu potvrdilo, že I₂ je schopen adovat dvojně vazby mezi uhlíky beta-karotenu (Obr. 16). S rostoucím obsahem beta-karotenu se zvyšovalo i jodové číslo obarveného oleje. Ale vzhledem k velmi nízkému obsahu beta-karotenů v kosmetických olejích do 0,1 hm. % (vůči porovnání v Obr. 17) dochází k ovlivnění stanovení jodového čísla pouze do 0,5 %. Tuto změnu lze však přisuzovat i chybě, která mohla být způsobena během provedení měření lidskou činností. Beta-karoteny mají tím pádem zanedbatelný vliv na stanovení jodového čísla při nízkých koncentracích (do 0,1 hm. %).

Tabulka 3: *Experimentálně stanovená jodová čísla připravených methylesterů před a po epoxidaci*

Druh ME	z odborné literatury	JČ [g I ₂ /100 g ME]	
		před epoxidací	po epoxidaci
mandlový	95–105	98,5	25,5
meruňkový	95–110	105,9	23,9
malinový	158,5	147,2	36,6
mrkvový	137–138	123,9	32,8
hroznový	128–150	142,7	29,6

3.2 Plynová chromatografie

Po provedení analýz bylo stanoveno kvalitativní a kvantitativní zastoupení vzniklých methylesterů a epoxidů v transesterifikovaných a následně epoxidovaných rostlinných olejích (Obrázek 18 a 19).

Různé stereoizomery cis a trans methylesterů nenasycených mastných kyselin C18:1, C18:2 a C18:3 nebyly při vyhodnocování rozlišeny a jejich celkové množství bylo bráno jako součet stereoizomerů od každého příslušného methylesteru. Methylestery s obsahem nižším než 1 % jsou v grafu zahrnuty jako „Ostatní“, mezi nimiž se nachází methylestery mastných kyselin C16:1, C20:0, C20:1, C22:0 a C24:0.

Nalezené epoxidy methylesterů nenasycených mastných kyselin jsou v grafech označeny pod zkratkou CN:M (X)-EPO, kde písmeno N značí počet uhlíků, písmeno M znamená počet dvojných vazeb a (X)-EPO označuje počet epoxidovaných dvojných vazeb v uhlíkatém řetězci, kdy X může nabývat hodnot 1–3. Identifikované izomery epoxidů odlišující se polohou oxiranového kruhu či cis trans stereoizomery epoxidů nebyly při vyhodnocování rozlišeny a jejich celkové množství bylo bráno jako součet izomerů od každého příslušného epoxidu.

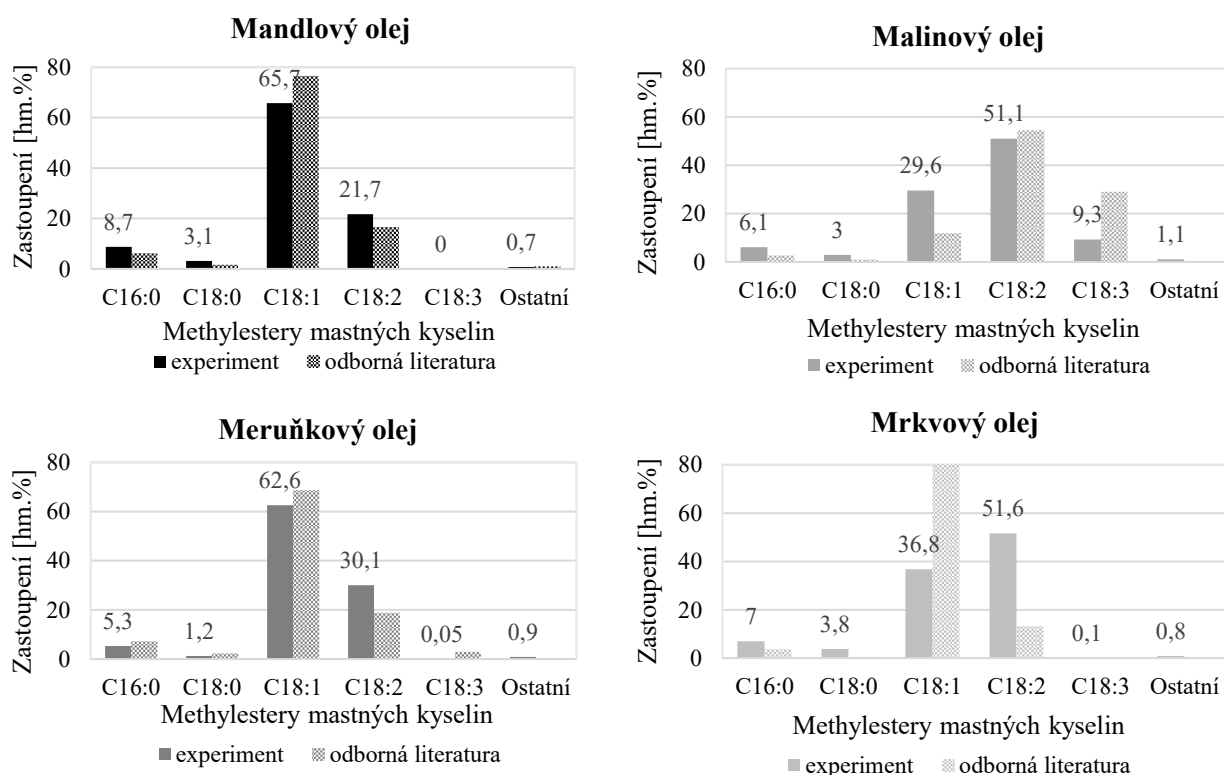
Methylestery

Během analýzy methylesterů připravených z hroznového oleje nebyly identifikovány žádné methylestery, a tím pádem ani žádné epoxidy. Po přípravě methylesterů z hroznového oleje pravděpodobně došlo k hydrolyze a vzniku vyšších mastných kyselin, které plynová chromatografie nedokázala identifikovat, neboť vyšší mastné kyseliny mají vyšší bod varu (360 °C, C18:1) oproti methylesterům vyšších mastných kyselin (300 °C). Z infračerveného spektra nelze rozlišit, zdali k hydrolyze skutečně došlo. Spektra pro methylestery vyšších mastných kyselin a spektra pro vyšší mastné kyseliny jsou velmi podobná. IČ spektrum navíc nepotvrdilo přítomnost vody, která by hydrolyzu způsobila. Důvodem k neúspěšné analýze pomocí GC může být tedy hydrolyza nebo špatná příprava vzorků. Vzhledem k neznalosti kvalitativního a kvantitativního složení methylesterů a epoxidů z hroznového oleje nebyl hroznový olej pro následující porovnání zařazen do finálního vyhodnocení. Naměřené hodnoty jodového čísla methylesterů z hroznového oleje před a po epoxidaci, hodnoty epoxidového ekvivalentu a IČ spektrum jsou však v tabulkách uvedeny pro orientační porovnání.

Získaná data byla porovnána s daty nalezenými v odborné literatuře (Obr. 18) [51,52,53,54]. Dle očekávání methylestery připravené z malinového, meruňkového, mandlového a mrkvového oleje obsahovaly stejné mastné kyseliny. Procentuální zastoupení převážně

kyseliny olejové (C18:1) a linolové (C18:2) se však značně lišilo co do porovnání vůči odborné literatuře a co do porovnání mezi jednotlivými analyzovanými vzorky. Velmi podobné složení k sobě měly methylestery z olejů mandle-meruňka a malina-mrkev.

Oleje se vyrábí ze semen plodin různých odrůd. Složení semen jedné plodiny je tak odlišné v závislosti nejen na vlastnostech půdy, ale i na klimatických a enviromentálních podmínkách [52]. Důležitou roli na výslednou kvalitu oleje má i genotyp rostliny a extrakční techniky [17]. Proto získané hodnoty nelze jednoznačně porovnat s hodnotami odborné literatury vzhledem k neznalosti konkrétního původu a odrůdy olejů, které byly v experimentu použity. Můžeme si však všimnout, jak velký vliv má typ odrůdy na celkové složení mastných kyselin v oleji. Příkladem toho může být například malinový olej s vysokým obsahem C18:3 (29,1 %), zatímco konkrétní vzorek malinového oleje obsahoval pouze 9,3 % C18:3. Dalším příkladem může být mrkvový olej s vysokým obsahem C18:1 (82,2 %) a nízkým obsahem C18:2 (13,2 %), zatímco konkrétní vzorek mrkvového oleje obsahoval 36,8 % C18:1 a 51,6 % C18:2.

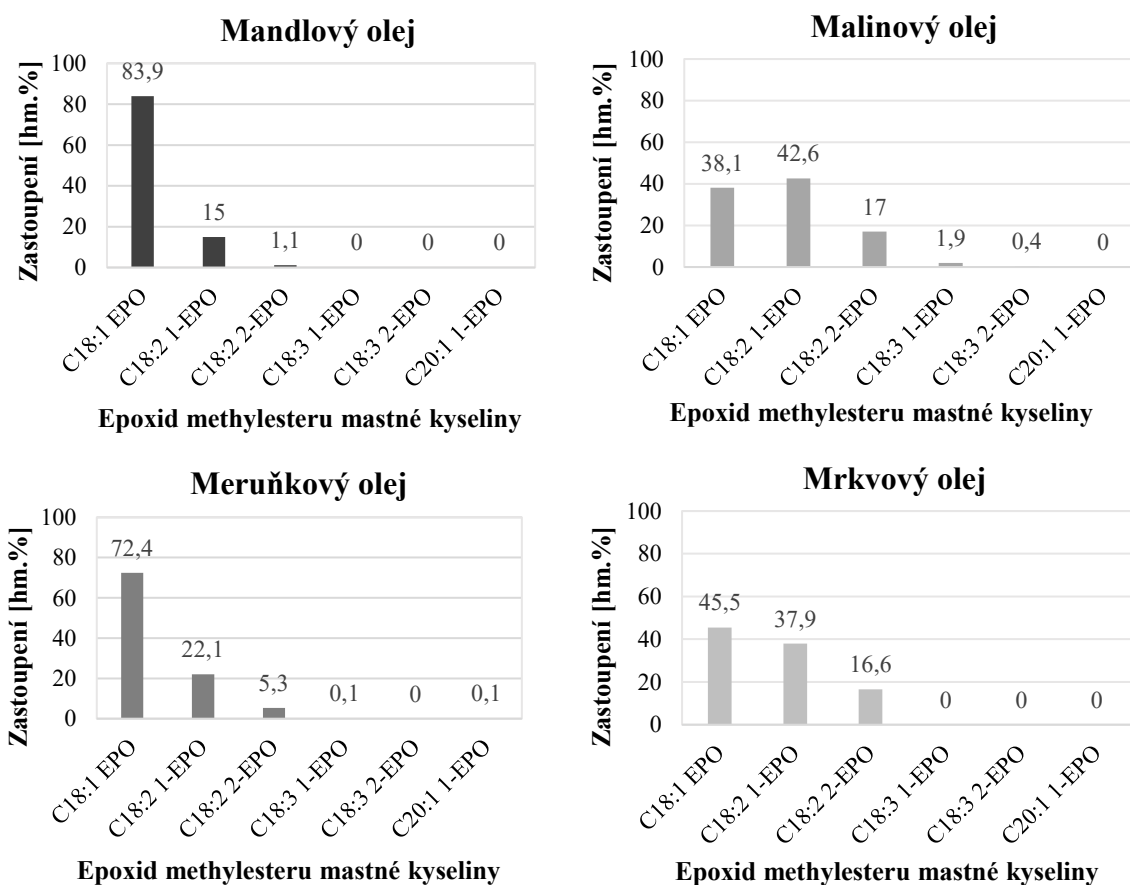


Obrázek 18: Zastoupení jednotlivých methylesterů připravených z netradičních rostlinných olejů a jejich porovnání s odbornou literaturou

Epoxidy

Po epoxidaci methylesterů byly identifikovány vzniklé epoxidy (Obr. 19). Nebyla nalezena souvislost, která by potvrzovala, že by některé methylestery byly přednostně epoxidovány.

Epoxidy od jednotlivých methylesterů vznikají v přibližně stejném poměru jako je poměr zastoupených methylesterů v původní směsi před epoxidací. Příkladem může být epoxidace methylesterů připravených z malinového oleje. Poměrové zastoupení methylesterů C18:1 a C18:2 ve směsi je 1:1,7. Po epoxidaci vznikly epoxidy od methylesterů C18:1 a C18:2 v poměru 1:1,6. Dále bylo zjištěno, že čím více druhů nenasyčených methylesterů se ve směsi nachází, tím i následně více vzniká druhů epoxidů. Příkladem je opět malinový olej s nejvyšším obsahem mastné kyseliny C18:3 (9,3 %), z kterého bylo připraveno nejvíce druhů epoxidů. Pro účely přípravy různých druhů epoxidů se tak jako nejlepší ukázal malinový a meruňkový olej.



Obrázek 19: Zastoupení epoxidů vzniklých z jednotlivých olejů

3.3 Účinnost epoxidace

Byla stanovena účinnost epoxidace pomocí plynové chromatografie, jodometrické titrace a pomocí stanovení epoxidového ekvivalentu (Tab. 6). Hodnoty účinnosti epoxidace jsou odlišné vzhledem k odlišným použitým analytickým metodám.

Pomocí plynové chromatografie se sleduje úbytek methylesterů, které se přeměnily v epoxidy. Plynová chromatografie je schopna identifikovat každý vzniklý epoxid z methylesterů. Do epoxidů se zahrnuje každá molekula, která ve své struktuře obsahuje nejméně jeden oxiranový

kruh (nehledě na počtu zbývajících nezreagovaných dvojných vazeb). Tím se tak účinnost epoxidace zvyšuje, protože se vztahuje na každou molekulu epoxidu.

Rozdíl stanovených jodových čísel před a po epoxidaci pomocí jodometrická titrace umožňuje sledovat úbytek dvojných vazeb ve vzorku. Pomocí této metody lze pouze zjistit, zdali v průběhu reakce došlo k úbytku dvojných vazeb, ale ne na jaké produkty (epoxidy, alkoholy, ...). Tato metoda může být i zatížena chybou v důsledku opožděného postřehnutí barevné změny indikátoru při bodu ekvivalence. Navíc, doprovodné látky přítomné v oleji jakožto barviva či antioxidanty s obsahem dvojných vazeb mezi uhlíky (např. beta-karoten) mohou nepatrně ovlivnit stanovení do 0,5 % při koncentracích do 0,1 hm. %.

Důvod rozdílných účinností epoxidace spočívá v pozorování jiných změn před a po epoxidaci. Obě tyto metody nejsou schopny identifikovat vedlejší produkty vzniklé v průběhu epoxidace, např.: polymery epoxidů a vícesytné alkoholy (Obr. 8 a 9). Proto jsou stanovené účinnosti epoxidace stále pouze orientační.

Stanovením epoxidového ekvivalentu lze zjistit, kolik kyslíku ve formě oxiranu bylo v průběhu epoxidace doopravdy navázáno (Tab. 5). Touto metodou nelze stanovit skutečnou účinnost epoxidace, ale je schopna rozlišit, v jaké míře k epoxidaci ve směsi epoxidů skutečně došlo.

Množství vzniklých epoxidů je závislé na nenasycenosti ME. S rostoucí nenasyceností methylesterů roste i množství vzniklých epoxidů. Pomocí chromatografické analýzy se nejúčinněji epoxidovaly methylestery připravené z mrkvového oleje, naopak nejhůře se epoxidovaly methylestery z mandlového oleje. Tuto skutečnost potvrdila i analýza epoxidového ekvivalentu, avšak podle analýzy epoxidového ekvivalentu se nejúčinněji epoxidovaly ME z malinového oleje. Vzhledem k nejvyššímu obsahu mastné kyseliny C18:3 v malinovém oleji lze usuzovat, že díky vyššímu počtu dvojných vazeb se současně spotřebuje více kyslíku na epoxidaci.

Z analýzy bylo zjištěno, že nejvíce kyslíku bylo navázáno na methylestery připravené z malinového (a hroznového) oleje, nejméně pak na methylestery připravené z mandlového oleje.

Tabulka 4: Účinnost epoxidace methylesterů (plynová chromatografie, jodové číslo)

Epoxidy připravené z oleje	Účinnost epoxidace [%]	
	Plynová chromatografie	Jodové číslo
mandlový	82,5	74,1
meruňkový	86,9	77,4
malinový	93,5	75,1
mrkvový	94	73,5
hroznový	-	79,3

Tabulka 5: Epoxidové ekvivalenty připravených epoxidů

Druh epoxidů	Epoxidový ekvivalent [mol oxiranu/kg]
mandlový	2,54
meruňkový	2,85
malinový	3,4
mrkvový	3,17
hroznový	3,36

3.4 Infračervená spektrometrie

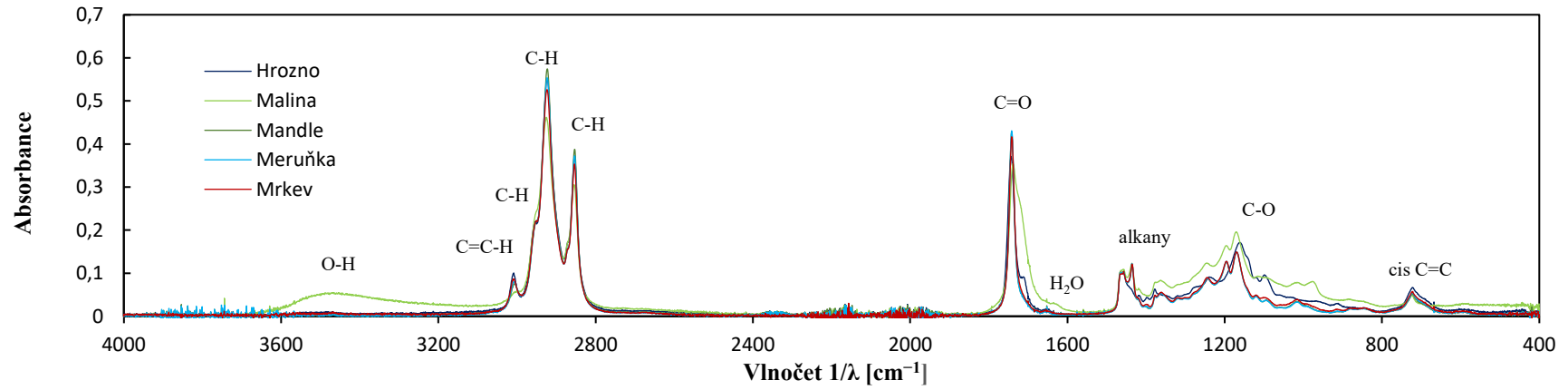
Naměřená IČ spektra vzorků methylesterů a epoxidů se shodovala s IČ spektry uvedenými v odborné literatuře a tvar mezi jednotlivými vzorky byl přibližně stejný (Obr. 20) [32].

Z absorpčního pásu byla vyhodnocena přítomnost karbonylové skupiny odpovídající vlnočtu 1740 cm^{-1} , dále přítomnost vody a alkoholové skupiny odpovídající vlnočtu 1640 cm^{-1} pro H_2O a 3417 cm^{-1} pro OH skupinu (pro tento vlnočet nelze mezi sebou rozlišit alkohol a vodu). Dále byla vyhodnocena přítomnost dvojných vazeb odpovídající vlnočtu 3010 cm^{-1} pro všechny dvojně vazby [32]. Vlnočet 720 cm^{-1} odpovídá dvojným vazbám v poloze cis [50]. Byla také sledována přítomnost oxiranového kruhu odpovídající vlnočtu 820 cm^{-1} [32].

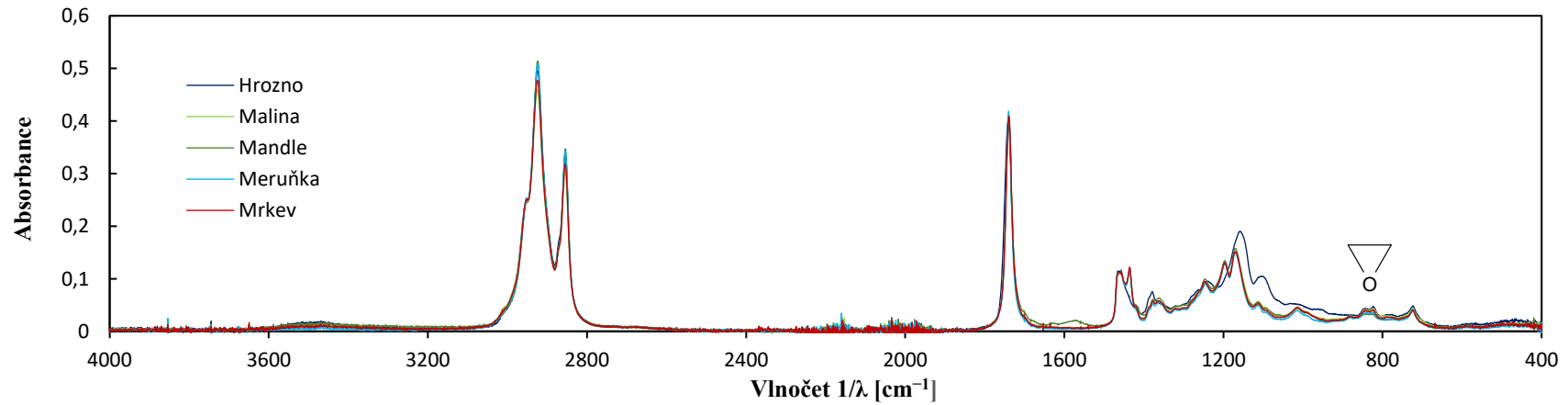
Ve vzorku methylesterů připravených z malinového oleje byla identifikována pravděpodobná přítomnost vody nebo methanolu, který po přípravě ME nemusel být dostatečně odsán. Další důvodem může být špatně provedená analýza, která byla v důsledku nedostatku času provedena pouze jednou.

V IČ spektru methylesterů lze dále pozorovat přítomnost dvojných vazeb $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ odpovídající píku 3005 cm^{-1} a přítomnost dvojných vazeb v poloze cis odpovídající píku 716 cm^{-1} [50]. Po epoxidaci dochází k úbytku dvojných vazeb, jejichž zánikem vznikají oxiranové kruhy pozorovatelné v IČ spektru epoxidů a současně se tím pádem výrazně snižují píky identifikující dvojně vazby. Úbytek dvojných vazeb potvrdila i analýza jodového čísla před a po epoxidaci.

IČ spektrum - Methylestery



IČ spektrum - Epoxidy



Obrázek 20: IČ spektrum methylesterů a epoxidů

4 Závěr

V teoretické části bakalářské práce byly popsány základní charakteristiky tuků a olejů včetně jejich získávání. Bylo komplexně představeno a porovnáno zpracování rostlinných olejů pomocí transesterifikace, která se používá v potravinářském průmyslu pro přípravu margarínů a v chemickém průmyslu pro přípravu bionafty. Práce byla dále zaměřena na epoxidaci transesterifikovaných olejů, díky které mohou být produkty epoxidace využity jako biolubrikanty, a dále byla v práci popsána analýza produktů (methylestery + jejich epoxidy).

V experimentální části byly transesterifikovány a následně epoxidovány netradiční oleje sloužící ke kosmetickým účelům – konkrétně mandlový, meruňkový, malinový, mrkvový a hroznový. Cílovými připravenými produkty byly různé methylestery v závislosti na zastoupení mastných kyselin v olejích a jejich epoxidy. Produkty byly analyzovány pomocí plynové chromatografie, jodového čísla a epoxidového ekvivalentu. Plynová chromatografie umožnila stanovit původní zastoupení mastných kyselin v olejích a vzniklé epoxidy, jodové číslo celkovou nenasycenost všech methylesterů z jednotlivých olejů a epoxidový ekvivalent množství vázaného kyslíku ve formě oxiranu ve směsi epoxidovaných methylesterů.

Z výsledků analýzy bylo zjištěno, že procentuální zastoupení mastných kyselin v různých olejích je odlišné a porovnáním výsledků s odbornou literaturou bylo zjištěno, že olej získaný ze stejné plodiny může mít rozdílné procentuální zastoupení mastných kyselin v závislosti na její odrůdě (bylo očekáváno). Největší rozdíly v zastoupení mastných kyselin byly pozorovány u kyseliny olejové (C18:1) a kyseliny linolové (C18:2). Podobný obsah mastných kyselin měly k sobě oleje mandle-meruňka a malina-mrkev. Methylestery a jejich epoxidy z hroznového oleje se nepodařilo analyzovat v důsledku pravděpodobné hydrolýzy methylesterů pro jejich přípravě.

Míra epoxidace je závislá na nenasycenosti mastných kyselin. S rostoucí nenasyceností roste i míra epoxidace. Pomocí plynové chromatografie i stanovení epoxidového ekvivalentu bylo zjištěno, že nejúčinněji se epoxidovaly methylestery připravené z malinového a mrkvového oleje. Tyto oleje měly nejvyšší hodnoty jodových čísel (dvojně vazby C=C-H identifikovány pomocí infračervená spektrometrie potvrdila) a současně i plynová chromatografie potvrdila přibližně dvojnásobný obsah kyseliny C18:2 oproti mandlovému a meruňkovému oleji.

Beta-karoteny nemají vliv na stanovení jodového čísla při jejich obsahu v olejích o koncentraci do 0,1 hm. %.

5 Literatura

- [1] PORTILLO, Germán. Bionafta. *Obnovitelný Zelený* [online]. 2016 [cit. 2023-11-06]. Dostupné z: <https://www.renovablesverdes.com/cs/biodiesel/>
- [2] Hexadekan. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. 2006, 6.8.2021 [cit. 2023-11-06]. Dostupné z: <https://cs.wikipedia.org/wiki/Hexadekan>
- [3] Základní vlastnosti látek. *E_CHEMBOOK.EU* [online]. [cit. 2023-11-06]. Dostupné z: <http://e-chembook.eu/zakladni-vlastnosti-latek>
- [4] BŘÍŽĎALA, Jan. E-ChemBook: Biochemie – Lipidy. In: BŘÍŽĎALA, Jan. *E-ChemBook* [online]. [cit. 2023-11-17]. Dostupné z: <http://e-chembook.eu/cz/biochemie/Lipidy.pdf>
- [5] Schmidt H., Introduction to lipids. Prezentace prezentována v: [Přednášky Přírodovědecká fakulta Univerzity Tübingen; 2022 Listopad; Tübingen, Německo.]
- [6] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ a spol. Tuky a jiné lipidy. In: VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin I.* 3. Praha: OSSIS, 2009, s. 87–204. ISBN 978-80-86659-15-2.
- [7] NICHOLS, David S., ed. Principles of Lipid Analysis, Frying Fats. In: SIKORSKI, Zdzislaw E. a Anna KOLAKOWSKA. *Chemical and Functional Properties of Food Lipids*. 1. Florida: CRC Press, 2003, s. 167-188, 333. ISBN 1-558716-105-2.
- [8] DODEVSKA, Margarita, Jelena KUKIC MARKOVIC, Ivana SOFRENIC, Vele TESEVIC, Milica JANKOVIC, Brizita DJORDJEVIC a Nevena DJ. IVANOVIC. Similarities and differences in the nutritional composition of nuts and seeds in Serbia. *Frontiers in Nutrition*. 2022, **9**, 1-18 [cit. 2024-03-31]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1003125>
- [9] LICHTENSTEIN, A.H. Fats and oils. In: CABALLERO, Benjamin, ed. *Encyclopedia of Human Nutrition* [online]. 3. Academic Press, 2013, s. 201-208 [cit. 2024-04-08]. ISBN 978-0-12-384885-7. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375083-9.00097-0>
- [10] FILIP, Sebastjan, Rok FINK, Janez HRIBAR a Rajko VIDRIH. Trans Fatty Acids in Food and Their Influence on Human Health. *Trans Fatty Acids in Food, Food Technol. Biotechnol.* . 2010, **48**(2), 135-142 [cit. 2024-03-31]. ISSN 1330-9862. Dostupné z: <https://1url.cz/puxJo>
- [11] TSUZUKI, Wakako. Study of Formation of trans Fatty Acids in Model Oils (triacylglycerols) and Edible Oils during the Heating Process. *JARQ*. 2012, **46**(3), 215-220 [cit. 2024-03-31]. Dostupné z: <https://doi.org/10.6090/jarq.46.215>
- [12] FILIP, Vladimír. Technologie olejů, tuků, detergentů a kosmetiky. In: KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Přehled tradičních potravinářských výroby*. 1. Ostrava: KEY Publishing, 2012, s. 301–322. ISBN 978-80-7418-145-0.
- [13] Mastné kyseliny (MK). *Potravinářská chemie* [online]. 2018, 18.12.2018 [cit. 2024-01-18]. Dostupné z: https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=8474
- [14] NOUREDDINI, Hossein, B C. TEOH a L Davis CLEMENTS. Viscosities of vegetable oils and fatty acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society* . 1992, **69**(12), 1189-1191 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02637678>
- [15] FILIP, Vladimír a Jan ŠMIDRKAL, ed. Technologie olejů, tuků, detergentů a kosmetiky. In: KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH, Michal VOLDŘICH a kol. *Co byste měli vědět*

- o výrobě potravin?* Ostrava: KEY Publishing, 2009, s. 295–334. ISBN 978-80-7418-051-4.
- [16] ÇAKALOĞLU, Büşra, Vasfiye Hazal ÖZYURT a Semih ÖTLEŞ. Cold press in oil extraction. *Ukrainian Food Journal*. 2018, 7(4), 640-654 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: http://nbuv.gov.ua/UJRN/UFJ_2018_7_4_9
- [17] ISPIRYAN, Audronė, Jonas VIŠKELIS a Pranas VIŠKELIS. Red Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Seed Oil: A Review. *Plants*. 2021, 10(5), 994 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/plants10050944>
- [18] Refining of vegetable oil at capacity 30t of oil per day. In: *Farmet* [online]. 2024 [cit. 2024-02-09]. Dostupné z: <https://www.farmet.cz/en/refining-of-vegetable-oil-at-capacity-30t-of-oil-per-day>
- [19] VÍŠEK, Luboš a Michal POKORNÝ. Výroba esterů mastných kyselin (bionafty) z odpadních živočišných tuků. *Chem. Listy*. 2013, (107), 476-478 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2013_06_476-478.pdf
- [20] CHRISTIE, William W. Gas Chromatography-Mass Spectrometry Methods for Structural Analysis of Fatty acids. *Lipids*. 1998, 33(4), 343 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11745-998-0214-x>
- [21] Fischerova–Speierova esterifikace. In: *Wikipedie* [online]. 23. 11. 2023 [cit. 2024-01-18]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Fischerova–Speierova_esterifikace
- [22] CANCELA, Angeles, Rocio MACEIRAS, Santiago URREJOLA a Angel SANCHEZ. Microwave-Assisted Transesterification of Macroalgae. *Energies*. 2012, 5, 864 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/en5040862>
- [23] DING, Jincheng, Zheng XIA a Jie LU. Esterification and Deacidification of a Waste Cooking Oil (TAN 68.81 mg KOH/g) for Biodiesel Production. *Energies*. 2012, 5, 2683-2691 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/en5082683>
- [24] HIGHINA, Bitrus Kwaji a Bobboi UMAR. Biodiesel production from *Jatropha caucis* oil in a batch reactor using zinc oxide as catalyst. *Journal of Petroleum Technology and Alternative Fuels*. 2011, 2(9), 146-149 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://academicjournals.org/journal/JPTAF/article-full-text-pdf/F0FDFC79603>
- [25] EL-SHEEKH, Mostafa a Abdelfatah ABOMOHR, ed. Biodiesel production from Microalgae. In: GARG, N. a A. AERON. *Industrial Microbiology: Microbes in Action*. New York: Nova Science Publishers, 2016, s. 9 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/287391840_Biodiesel_Production_from_Microalgae
- [26] Hořlavé a vysoce hořlavé látky (kapaliny). Rozdíly, klasifikace, bod vzplanutí a vznícení. *BOZP.cz Bezpečnost práce* [online]. 2020 [cit. 2023-11-06]. Dostupné z: <https://www.bozp.cz/aktuality/horlave-a-vysoce-horlave-latky/>
- [27] Methylestery mastných kyselin C16 – C18 a C18 – nenasycených; CAS No. 67762-38-3; 267-015-4; ver. 1; Preol a. s.: Lovosice, 25. 1. 2023. https://www.ceproas.cz/public/files/userfiles/Produkty_sluzby/BL_MSDS-FAME-v2r1-310113.pdf (7.11.2023)
- [28] Information on EC 3.1.1.3 - triacylglycerol lipase. *BRENDA* [online]. 2023 [cit. 2024-02-09]. Dostupné z: <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=3.1.1.3>

- [29] SCHEJBAL, Jan. *Využití enzymů imobilizovaných na magnetických mikročásticích při studiu metabolismu léčiv*. Brno, 2014. Dostupné také z: https://is.muni.cz/th/mzeac/Diplomova_prace.pdf. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Fakulta přírodovědecká, Ústav biochemie.
- [30] MENG, Yudong, Nasreddine KEBIR a Sebastien LEVENEUR. Reactivity and structure: epoxidation of cottonseed oil and the corresponding fatty acid methyl ester. *Biomass Conversion and Biorefnery*. 2023, 1,2,5 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13399-023-04985-1>
- [31] PAUL, Atanu Kumar, Venu Babu BORUGADDA a Vaibhav V. GOUD. In-Situ Epoxidation of Waste Cooking Oil and Its Methyl Esters for Lubricant Applications: Characterization and Rheology. *Lubricants*. 2021, 9(27), 1-14 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/lubricants9030027>
- [32] HÁJEK, Martin, Tomáš HÁJEK, David KOCIÁN, Karel FROLICH a András PELLER. Epoxidation of Methyl Esters as Valuable Biomolecules: Monitoring of Reaction. *Molecules*. 2023, 28(2819), 12 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules28062819>
- [33] ADEWUYI, Adewale, Andrea GÖPFERT, Thomas WOLFF, B. V. S. K. RAO a R. B. N. PRASAD. Synthesis of Azidohydrin from Hura crepitans Seed Oil: A Renewable Resource for Oleochemical Industry and Sustainable Development. *ISRN Organic Chemistry*. 2012, 2012, 3 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.5402/2012/873046>
- [34] BEHR, Arno, Nils TENHUMBERG a Andreas WINTZER. An efficient reaction protocol for the ruthenium-catalysed epoxidation of methyl oleate. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2012, 114(8), 905-910 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ejlt.201200036>
- [35] SUSTAITA-RODRÍGUEZ, Alejandro, Víctor H. RAMOS-SÁNCHEZ, Alejandro A. CAMACHO-DÁVILA, Gerardo ZARAGOZA-GALÁN, José C. ESPINOZA-HICKS a David CHÁVEZ-FLORES. Lipase catalyzed epoxidation of fatty acid methyl esters derived from unsaturated vegetable oils in absence of carboxylic acid. *Chemistry Central Journal* [online]. 2018, 12(39), 6 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0409-2>
- [36] VŠCHT. *Lipidy* [PDF]. <https://web.vscht.cz/~koplkr/Lipidy2.pdf>.
- [37] (±)13-HpODE (Synonyms: 13-Hydroperoxylinoleic acid; Linoleic acid 13-hydroperoxide). *MedChemExpress* [online]. 2019 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://www.medchemexpress.com/racemic-13-hpode.html>
- [38] JAY, R.R. Direct Titration of Epoxy Compounds and Aziridines. *Analytical chemistry*. 1964, 36(3), 667 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac60209a037>
- [39] PHAM, T. T. Vývoj katalyzátoru pro epoxidaci methylesterů. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/138515>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí.
- [40] Gas Chromatography. *LibreTexts CHEMISTRY* [online]. [cit. 2024-02-11]. Dostupné z: https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_

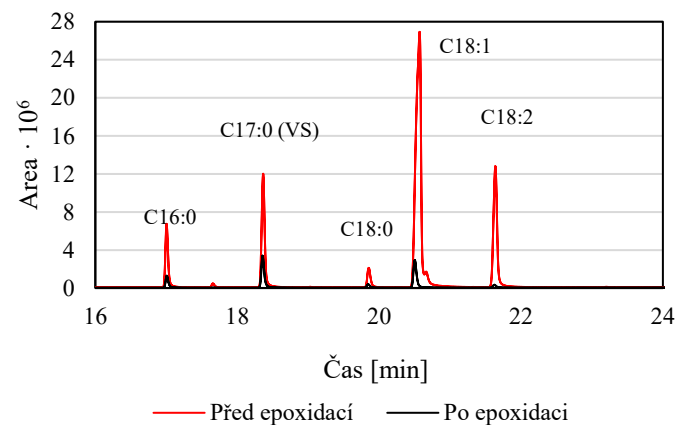
- (Analytical_Chemistry)/Instrumentation_and_Analysis/Chromatography/Gas_Chromatography
- [41] MCNAIR, Harold M.; MILLER, James M.; SNOW, Nicholas H. *Basic gas chromatography* [online]. John Wiley, 2019, s. 16 [cit. 2024-04-08]. ISBN 9781119450795. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/9781119450795>
- [42] VAN BRAMER, Scott E. *An Introduction to Mass Spectrometry*. 1997. s. 4-16 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://copbela.org/downloads/2020/SELF%20LEARNING%20MATERIAL%20BPHARMA/semester%208/BPHM%20802/MODULE%2006.pdf>
- [43] Kosmetické oleje. *Renovality* [online]. [cit. 2024-01-18]. Dostupné z: <https://www.renovality.cz/kosmeticke-oleje/>
- [44] G.BALESTRINI. *Statement – Technical data sheet: Grapeseed oil refined, Apricot kernel oil refined* [PDF]. Miláno, Itálie, 2013.
- [45] NHR, Organic essential oils. *Certificate of Analysis Sheet Organic Raspberry Seed Oil (Rubus idaeus)* [online]. 2020, [cit. 2024-01-18]. Dostupné z: <https://www.nhrorganicoils.com/uploads/certs>
- [46] G. BALESTRINI. *Statement – Technical data sheet: Almond oil cosmetic* [PDF]. Miláno, Itálie, 2012.
- [47] K.P., Aromatics. *Certificate of analysis of carrot seed oil* [online]. [cit. 2024-01-18]. Dostupné z: <https://5.imimg.com/data5/SELLER/Doc/2021/2/RP/WE/MW/3507010/carrot-seed-oil.pdf>
- [48] ČSN ISO 3001 (640332). ČESKÝ NORMALIZAČNÍ INSTITUT. *Plasty - Epoxidové sloučeniny - Stanovení epoxidového ekvivalentu*. 1. Praha, 1999.
- [49] VIVACO 100% PŘÍRODNÍ MRKVOVÝ OPALOVACÍ OLEJ SPF 6 150 ML. In: *Krása a zdraví* [online]. [cit. 2024-05-17]. Dostupné z: <https://www.mj-krasazdravi.cz/vivaco-100--prirodni-mrkvovy-opalovaci-olej-spf-6-150-ml/>
- [50] Infračervená spektrometrie. VŠCHT [online]. [cit. 2024-05-06]. Dostupné z: https://web.vscht.cz/~koplikr/IR_4.pdf
- [51] ÖZCAN, Mehmet Musa, Ahmet ÜNVER, Esin ERKAN a Derya ARSLAN. Characteristics of some almond kernel and oils. *Scientia Horticulturae*. 2011, **127**(3), 330-333 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.10.027>
- [52] ORHAN, Ilkay, Ufuk KOCA, Sinem ASLAN, Murat KARTAL a Senay KUSMENOGLU. Fatty Acid Analysis of Some Turkish Apricot Seed Oils by GC and GC-MS Techniques. *Turk J. Pharm. Sci.* 2007, **5**(1), 29-34 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://1url.cz/fuxQK>
- [53] OOMAH, B.Dave, Stephanie LADET, David V. GODFREY, Jun LIANG a Benoit GIRARD. Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. *Food chemistry*. 2000, **69**(2), 187-193 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(99\)00260-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(99)00260-5)
- [54] PARKER, T.D., D.A. ADAMS, K. ZHOU, M. HARRIS a L. YU. Fatty Acid Composition and Oxidative Stability of Cold-pressed Edible Seed Oils. *Journal of Food Science*. 2003, **68**(4), 1240-1243 [cit. 2024-04-08]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09632.x>

6 Přílohy

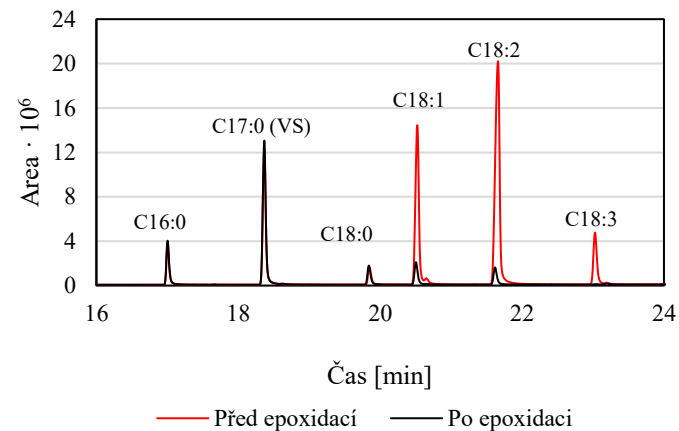
Příloha 1: Chromatogramy methylesterů mastných kyselin	51
Příloha 2: Chromatogramy epoxidů.....	52

Příloha 1: Chromatogramy methylesterů mastných kyselin

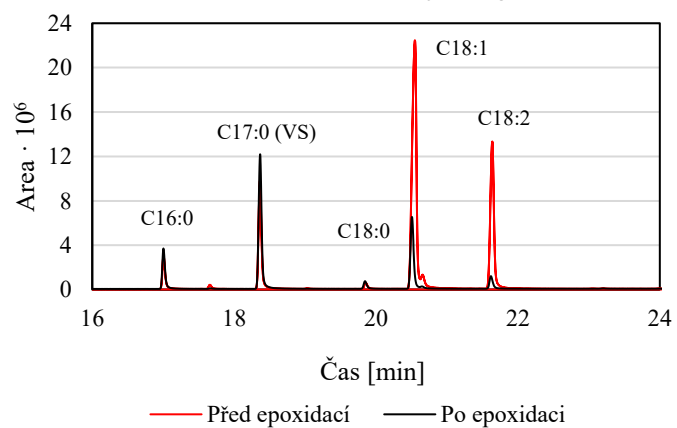
Mandlový olej



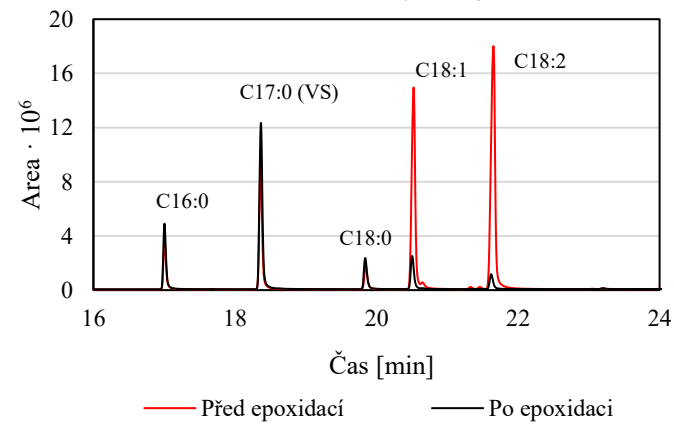
Malinový olej



Meruňkový olej



Mrkvový olej



Příloha 2: Chromatogramy epoxidů

Poznámka: Čísla uvedená v závorce uvádí počty oxiranových skupin.

