

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Ovlivnění nízkoteplotních vlastností bionafty

Eliška Ťopková

Bakalářská práce

2025

University of Pardubice

Faculty of Chemical Technology

Influence on low-temperature properties of biodiesel

Eliška Ťopková

Bachelor Thesis

2025

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Eliška Ťopková**
Osobní číslo: **C22085**
Studijní program: **B0531A130025 Chemie**
Téma práce: **Ovlivnění nízkoteplotních vlastností bionafty**
Téma práce anglicky: **Influence on low-temperature properties of biodiesel**
Zadávací katedra: **Katedra fyzikální chemie**

Zásady pro vypracování

1. Popište rostlinné oleje a živočišné tuky jako zdroje pro výrobu bionafty (získávání a vlastnosti, složení, výhody a nevýhody).
2. Proveďte rešerši o přípravě bionafty, zejména se zaměřte na nízkoteplotní vlastnosti, jejich ovlivnění a měření.
3. Dále se zaměřte na amidy vyšších mastných kyselin (původ, vlastnosti, reakce, analýza...).
4. Pokuste se separovat amidy z esterů za různých podmínek a výsledky zhodnoťte.

Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPCE č. 7/2019 "Pravidla pro odevzdání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací" v platném znění.

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

Seznam doporučené literatury:

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

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2025**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

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

L.S.

doc. Ing. Alena Komersová, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlášení autora

Prohlašuji:

Práci s názvem Ovlivnění nízkoteplotních vlastností bionafty 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 26. 06. 2025

Eliška Ťopková v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Jako první bych chtěla poděkovat Univerzitě Pardubice, a především Fakultě chemicko-technologické, protože jsem zde měla možnost rozvíjet své schopnosti v rámci bakalářské práce. Velice si vážím toho, že mi na spoustě kateder všichni vyšli vstříc, pokud bylo potřeba v rámci bakalářské práce cokoliv dořešit.

Velké díky patří doc. Ing. Martinu Hájkovi, Ph.D., který mi dal možnost pracovat na Katedře fyzikální chemie. Vážím si času, který mi věnoval při konzultacích k bakalářské práci, a jeho ochoty mi pomáhat s plánováním experimentální části.

Nemohu zapomenout poděkovat Ing. Davidu Kociánovi, který mi byl obrovskou oporou při práci v laboratoři. Oceňuji, že si na mě vždy udělal čas a byl mi v laboratoři ochoten se vším pomoci.

Samozřejmě musím poděkovat své rodině, která mi při psaní bakalářské práce dopřála potřebný klid a čas. Především děkuji rodičům za jejich podporu mého studia.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat mým spolužákům z oboru Chemie, se kterými jsme si po celou dobu studia byli oporou.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá vlivem amidů mastných kyselin na nízkoteplotní vlastnosti bionafty, zejména jejich odstraněním a tím zlepšením nízkoteplotních vlastností. Teoretická část se zaměřuje na výrobu bionafty, vlastnosti lipidů, metody charakterizace a amidy samotné. V rámci experimentální práce byly analyzovány vzorky FAME s obsahem amidů pomocí infračervené spektroskopie a GC-MS. Pro GC-MS se podařilo rozlišit amidy mastných kyselin palmitové, stearové a olejové. Dále byla prováděna hydrolyza, stanovení čísla kyselosti, bodu filtrovatelnosti a bodu tání amidů. Cílem bylo zjistit, zda lze ovlivněním (odstraněním) obsahu amidů zlepšit nízkoteplotní vlastnosti bionafty. Výsledky ukazují, že filtrace a dekantace mohou částečně odstranit amidy nasycených mastných kyselin, čímž se snižují (zlepšují) body zakalení a filtrace.

KLÍČOVÁ SLOVA

bionafta, amidy, nízkoteplotní vlastnosti, transesterifikace, hydrolyza

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with the influence of fatty acid amides on the low-temperature properties of biodiesel, with a particular focus on their removal and the consequent improvement of these properties.. The theoretical part focuses on biodiesel production, lipid properties, analytical characterization methods and the amides themselves. In the experimental part, FAME samples containing amides were analyzed using infrared spectroscopy and GC-MS. The GC-MS analysis successfully identified fatty acid amides of palmitic, stearic, and oleic acids. Furthermore, hydrolysis, acid number determination, cold filter plugging point (CFPP), and melting point measurements of the amides were performed. The aim was to determine whether modifying (removing) the amide content could improve the low-temperature properties of biodiesel. The results show that filtration and decantation can partially remove saturated fatty acid amides, which leads to a decrease (improving) in the cloud point and cold filter plugging point.

KEYWORDS

biodiesel, amides, low-temperature properties, transesterification, hydrolysis

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	9
SEZNAM TABULEK	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
ÚVOD	12
1 TEORETICKÁ ČÁST	13
1.1 Lipidy.....	13
1.1.1 Triacylglyceroly	14
1.1.2 Metody získávání tuků a olejů	16
1.2 Bionafta.....	18
1.2.1 Nízkoteplotní vlastnosti	20
1.2.2 Amidy VMK.....	22
1.3 Metody separace a charakterizace látek.....	24
1.3.1 Krystalizace a rozpustnost	24
1.3.2 Filtrace a dekantace	24
1.4 Principy analytických metod	25
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
2.1 Postupy práce.....	29
2.2 Analýza	29
3 VÝSLEDKY A DISKUZE	31
3.1 Stanovení amidů	31
3.2 Rozpustnost amidů.....	32
3.3 Hydrolýza.....	35
4 ZÁVĚR	37
5 POUŽITÁ LITERATURA	38

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Rozdělení lipidů na základě chemického složení [3].....	13
Obrázek 2: Chemický vzorec TAG [2].....	14
Obrázek 3: Rovnice zmýdelnění VMK [2].....	17
Obrázek 4: Transesterifikace TAG za bazické katalýzy NaOH [21].....	18
Obrázek 5: Resonanční struktury amidů [2].....	22
Obrázek 6: Rovnice hydrolyzy amidů	24
Obrázek 7: Příklad křivek rozpustnosti NaCl a KNO ₃ [39].....	24
Obrázek 8: Stříkačkové filtry [40].....	25
Obrázek 9: Schéma plynového chromatografu [43].....	26
Obrázek 10: Příklad infračerveného spektra cyklohexanu [43].....	27
Obrázek 11: Aparatura pro stanovení CFPP dle normy ASTM D6371 [44].....	28
Obrázek 12: IČ spektra jednotlivých vzorků	31
Obrázek 13: Chromatogram vzorku FAME s amidy.....	32
Obrázek 14: Graf závislosti koncentrace amidů na teplotě pro vzorky A a B.....	33
Obrázek 15: Graf obsahu amidů ve vzorku C před a po filtraci s dvěma druhy filtračního papíru	34
Obrázek 16: Graf závislosti bodu zakalení na obsahu amidů pro vzorek C	35

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Seznam nejčastějších VMK v olejích a tucích [7].....	15
Tabulka 2: Hodnoty CFPP pro naftu používanou v ČR [30].....	21
Tabulka 3: Nejčastější amidy v živočišných tucích a jejich teploty tání [7]	23
Tabulka 4: Hodnoty obsahu amidů a nízkoteplotních vlastností pro vzorek C	35
Tabulka 5: Výsledky stanovení čísla kyselosti	36

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

- CFPP...bod ucpání studeného filtru [°C]
- CP...bod zakalení [°C]
- EVA...kopolymer ethylenu a vinylacetátu
- FAME...estery mastných kyselin
- GC...plynová chromatografie
- IČ...infračervená spektroskopie
- MK...mastné kyseliny
- MS...hmotnostní spektrometrie
- MUFA...mononenasycené mastné kyseliny
- MĚŘO...metylester řepkového oleje
- PFAA...primární amidy mastných kyselin
- PP...bod tuhnutí [°C]
- PUFA...polynenasycené mastné kyseliny
- SAFA...nasycené mastné kyseliny
- TAG...triacylglyceroly
- VMK...vyšší mastné kyseliny

ÚVOD

Od 18. století, kdy došlo díky objevu parního stroje k rozmachu průmyslu, se stále zvyšuje poptávka po zdrojích energie. Mezi ty nejvyužívanější patří uhlí, ropa a zemní plyn, které jsou známé pod pojmem fosilní nebo neobnovitelné zdroje, což odkazuje na skutečnost, že jsou jejich zásoby omezené. Další nevýhodou těchto paliv je, že jejich spalováním dochází k uvolňování velkého množství uhlíku do atmosféry během krátké doby. To narušuje koloběh uhlíku v přírodě. Z toho důvodu se v dnešní době do popředí dostávají obnovitelné zdroje energie.

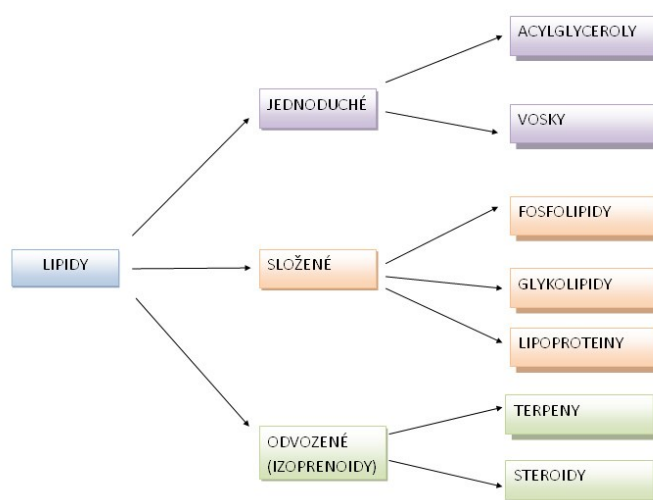
Mezi obnovitelné zdroje patří na prvním místě ty, které využívají přírodní procesy. Jedná se o větrné a vodní elektrárny, které využívají pohybu vody a vzduchu, a o solární panely, které přeměňují sluneční záření. Druhou variantou je přepracování biomasy na vhodné palivo, kam řadíme bioplyn (vzniká anaerobní fermentací biomasy) a bionaftu.

Bionafta, vyráběná nejčastěji přeměnou rostlinných olejů na jejich metylestery, se hojně využívá jako náhrada fosilní nafty pocházející z ropy. Další možností je místo rostlinných olejů využít kafilerních tuků, pro které by jinak nebylo další využití. Všechny tyto druhy paliva, nafta i oba typy bionafty, vykazují ovšem značné problémy za nízkých teplot, kdy tuhnou. To způsobuje problémy v motorech automobilů, proto je jejich bod tuhnutí často upravován.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Lipidy

Lipidy patří mezi tři základní skupiny biomolekul. Na rozdíl od sacharidů (polyhydroxyaldehydy nebo polyhydroxyketony a jejich deriváty) a proteinů (dlouhé řetězce aminokyselin) se jedná o strukturně nesourodou skupinu, která je obecně málo rozpustná ve vodě, a naopak dobře rozpustná v nepolárních nebo málo polárních rozpouštědlech (toluen, benzín, a jiné). Jde tedy o látky lipofilní a hydrofobní povahy. Kvůli jejich rozdílnému chemickému složení se dělí do velkého množství skupin (viz Obrázek 1). Díky tomu jsou však schopny v rostlinné i živočišné říši zastávat nespočetné množství funkcí [1; 2].



Obrázek 1: Rozdělení lipidů na základě chemického složení [3]

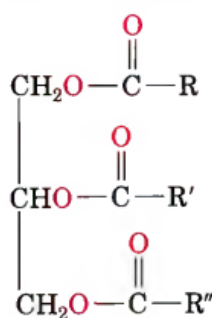
Jednoduché lipidy obsahují esterovou vazbu mezi alkoholem a vyššími mastnými kyselinami. V případě acylglycerolů je alkoholem glycerol. U vosků se jedná o alkohol jiný, obvykle alifatický a s dlouhým řetězcem (např. C₃₀ triakontanol) [2]. Jedná se o velmi nepolární sloučeninu, čehož využívají především rostliny, které mají vosky pokryté povrchy listů, plodů a semen. Vosky zabraňují vysychání rostlin a chrání je před průnikem nežádoucích mikroorganismů [1]. Zvláštním případem je rostlina *Echeveria carnicolor*, jejíž voskový povrch tvoří na listech neobvyklá zbarvení v závislosti na vegetačním stádiu rostliny [4].

Složené lipidy obsahují na rozdíl od těch jednoduchých i jinou vázanou složku, než je alkohol a vyšší mastné kyseliny (VMK). V případě fosfolipidů hovoříme o kyselině fosforečné, která je na alkoholu navázána esterovou vazbou, díky čemuž stoupá polární charakter sloučeniny. Kyselina fosforečná zde vystupuje nejčastěji jako diester, kdy druhou esterovou část tvoří zpravidla aminoalkohol. Hlavní funkcí fosfolipidů je funkce stavební, tvoří složku buněčných

membrán, tzv. lipidovou dvojvrstvou, která je bariérou proti průniku nežádoucích látek. Fosfolipidy obsahují polární a nepolární konec. V buněčné membráně jsou k sobě nepolární konce přitahovány dovnitř a na povrchu zůstávají polární konce. Nepolární vnitřní část zabraňuje průchodu polárních látek, které mohou projít pouze za pomoci speciálních proteinů v membráně [5]. Mezi další složené lipidy patří glykolipidy (vázan sacharid) a lipoproteiny (komplexy lipidů a proteinů) [1].

1.1.1 Triacylglyceroly

Triacylglyceroly (TAG) patří mezi jednoduché lipidy. Z názvu je patrné, že jde o estery glycerolu s vyššími mastnými kyselinami [1]. Jejich chemický vzorec je zobrazen na obrázku 2.



Obrázek 2: Chemický vzorec TAG [2]

Mastné kyseliny

Do skupiny TAG spadají živočišné tuky a rostlinné oleje. Díky velkému množství kombinací jednotlivých navázaných mastných kyselin se jedná o velice obsáhlou skupinu, neboť VMK dále určují vlastnosti výsledného TAG. Kyseliny s dvojnou vazbou v řetězci mají nižší teploty tání než nasycené mastné kyseliny (MK), proto jsou rostlinné oleje, které obsahují více nenasycených acylových zbytků, převážně kapalného skupenství. Naopak živočišné tuky (sádlo, máslo, ...) obsahují větší zastoupení nasycených MK a jsou za běžných podmínek pevné [1; 2].

Mastné kyseliny jsou monokarboxylové kyseliny s dlouhým alifatickým řetězcem, v praxi se využívá jejich triviálních názvů. Dále je dělíme podle počtu dvojných vazeb v řetězci na:

- Nasycené MK (SAFA – saturated fatty acids) neobsahují v řetězci žádnou dvojnou vazbu, díky tomu jsou velmi stabilní. Mezi nejznámější zástupce se řadí kyselina máselná, stearová a palmitová [1; 2].

- Mononenasyčené MK (MUFA – monounsaturated fatty acids) obsahují jednu dvojnou vazbu, jedná se například o kyselinu olejovou či palmitolejovou [1; 2].
- Polynenasycené kyseliny (PUFA – polyunsaturated fatty acids) obsahují více dvojných vazeb. Do této skupiny řadíme kyseliny linolovou a linoleovou [1; 2]

Nenasycené VMK jsou kvůli přítomnosti dvojných vazeb méně stabilní než nasycené. Degradace olejů je převážně způsobena reakcí na dvojných vazbách s kyslíkem, tedy oxidací. Dochází ke vzniku nežádoucích produktů jako jsou alkoholy a ketony, které značně ovlivňují nejen chuť a vůni, ale také nutriční hodnoty. Oxidaci značně urychluje vysoká teplota a působení světla, proto je nutno dbát na vhodné skladování olejů [6].

Tabulka 1: Seznam nejčastějších VMK v olejích a tucích [7]

Triviální název	x:y*	IUPAC název	Teplota tání [°C]
Laurová	12:0	Dodekanová	43,8
Myristová	14:0	Tetradekanová	54,2
Palmitová	16:0	Hexadekanová	62,5
Stearová	18:0	Oktadekanová	69,3
Palmitolejová	16:1	Hexadec-9-enová	0,5
Olejová	18:1	Oktadec-9-enová	13,4
Linolová	18:2	Oktadec-9,12-dienová	-7
Linolenová	18:3	oktadec-9,12,15-trienová	-11
Arachidonová	20:4	Ikosa-5,8,11,14-tetraenová	-49,5

*vzorec (x:y): x odpovídá počtu uhlíků v molekule, y odpovídá počtu dvojných vazeb

Množství dvojných vazeb v molekule kyseliny lze ovlivnit parciální hydrogenací katalyzované Raneyovým niklem. Proces je znám pod názvem ztužování tuků. Touto reakcí získáme margaríny, které zůstávají i při běžné teplotě tuhé a méně podléhají degradaci oxidací, čehož se hojně využívá k potravinářským účelům. Při reakci (hydrogenaci) dochází nejen k navázání

vodíku na dvojnou vazbu, ale také ke zvětšení procentuálního zastoupení trans izomerů, které mají negativní vliv na lidské zdraví. Zvyšují hladinu LDL („špatného“) cholesterolu, a tedy zvyšují riziko srdečních onemocnění, proto je ve většině zemí už množství těchto izomerů v potravinách zákonem omežováno. Využití průmyslově zpracovaných TAG ovšem nenajdeme pouze v potravinářství [8; 9].

1.1.2 Metody získávání tuků a olejů

Tuky a oleje v dnešní době stále častěji se využívají jako surovina pro spoustu chemických výrob. Výhodou je, že se jedná o suroviny příznivé pro životní prostředí, neboť jsou obnovitelné a snadno biologicky odbouratelné na rozdíl od jejich ropných ekvivalentů [10]. Hlavním zdrojem olejů pro oleochemický průmysl jsou olejniny, kam patří rostliny několika čeledí (brukvovité – brukev řepka olejka, hvězdnicovité – slunečnice roční, ...). Jejich společným znakem je obsah velkého množství olejů v různých částech rostliny, nejčastěji v semenech. V České republice okolo 15 % orné půdy bývá každoročně oseto olejinami, největší zastoupení má brukev řepka olejka, ovšem většina jí je produkována pro potravinářský průmysl. Celosvětově je nejvíce pěstována sója [11; 12].

Ze semen olejin se oleje získávají dvěma způsoby – lisováním a extrakcí. V dnešní době jsou však u jednotlivých výrobců tyto pochody kombinovány. Prvním krokem je namletí semen, aby došlo k snazšímu uvolnění oleje. Namletá semena jsou poté lisována, zbylé výlisky jsou v dalším kroku extrahovány, nejčastěji pomocí hexanu, takový olej však není možné používat pro potravinářské účely. Vylisovaný olej a extrahovaný olej jsou dále společně upravovány. Pokrutiny a šrot, které zůstávají po extrakci, se využívají do krmných směsí díky obsahu velkého množství bílkovinných složek [10; 12].

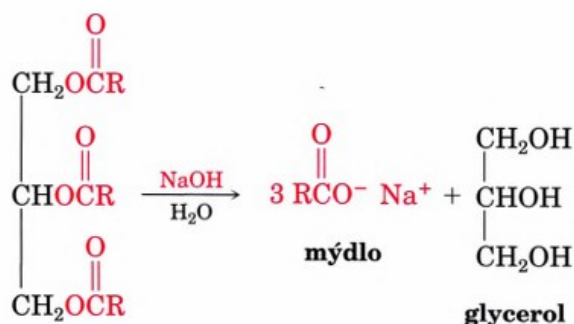
Rozdílné vlastnosti oleje lze získat také podle druhu lisování, které může být prováděno za studena a za tepla. Za studena lisované oleje, označované také jako panenské oleje, kdy teplota lisování nepřesahuje 60 °C, jsou zdravější variantou, neboť si zachovávají více živin, ovšem výtěžnost semen je o polovinu nižší než v případě lisování za tepla, což zvyšuje cenu takového oleje. Oleje lisované za tepla (teploty do 120 °C) jsou nutričně méně kvalitní, ale cenově více dostupné. Také obsahují větší množství vonných látek [13].

Celosvětově dochází ke zvýšení spotřeby rostlinných olejů, které jsou využívány především pro potravinářské účely. Kromě rozšířeného smažení potravin na oleji je třeba vyzdvihnout i využití olejů jako konzervantu. Olej zabrání přístupu vody a vzduchu k potravine, vytvoří tedy nevhodné prostředí pro množení mikroorganismů, které by mohly potraviny znehodnotit [14].

Své využití nachází oleje i v kosmetickém průmyslu jako součást hydratačních a zjemňujících krémů, v masážích se zase využívá éterických olejů. TAG se však nemusí používat pouze v surové formě, ale mohou se pomocí několika reakcí přeměnit na další cenné produkty [10].

K úpravě se odedávna využívají živočišné tuky, které zůstávají jako odpad na konci procesu porážky zvířat. Patří sem například vepřové sádlo či hovězí lůj. Z tukové tkáně se získává procesem zvaným rendering, který bývá obecně označován jako škvareň. Provádí se dvěma technikami: suchou a mokrou cestou. Suchý způsob renderingu je zahřívání tukové tkáně na velmi vysoké teploty bez přidání vody do doby, až se tuk oddělí od tkáně. Mokrý rendering probíhá za přítomnosti vody, ve které se tuková tkáň vaří a tuk se postupně uvolňuje. Protože je tuk ve vodě nerozpustný, dá se odebrat z povrchu vody či oddělit na odstředivce. Tato metoda je také méně destruktivní, nedochází při ní k přepalování tuku, a ten je tedy ve finále světlejší barvy [15].

Jednou z nejstarších reakcí lipidů je bezesporu zmýdelnění. Mýdla jsou povrchově aktivní látky, z chemického hlediska se jedná o alkalické soli vyšších mastných kyselin. První zmínky o zmýdelnění pocházejí už z období 3 000 let př.n.l. Během středověku se vyráběla mýdla reakcí tuků s popelem, který obsahoval zásadité látky. Obdobím největšího rozmachu výroby mýdla bylo 19. století. V dnešní době se mýdla vyrábějí reakcí TAG s hydroxidy nebo uhličitany, možná je i reakce s VMK. Jako vedlejší produkt vzniká glycerol (Obrázek 3) [2; 10; 16].



Obrázek 3: Rovnice zmýdelnění VMK [2]

Mýdla mají výborné emulgační schopnosti, což je dáno rozdílnými vlastnostmi jejich molekul. Karboxylátová část je polární, a tedy hydrofilní, rozpouští se ve vodě. Dlouhá uhlovodíková část je lipofilní a rozpouští se v tuku. Při rozpuštění mýdla ve vodě dochází ke vzniku micel, kdy se hydrofobní část naváže na organickou nečistotu a hydrofilní směřuje do okolního

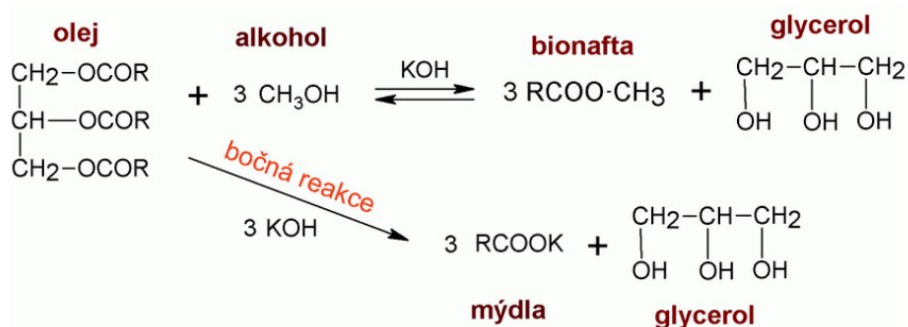
vodného prostoru. Nečistoty jsou tedy emulgovány ve vodě a je možné je vodou opláchnout [2].

Velmi významné je zpracování TAG na palivo. Výhodou takového paliva je jeho zapojení do koloběhu uhlíku v přírodě. Při spalování paliva dochází k uvolnění CO₂ do atmosféry, který je z atmosféry pomocí procesu fotosyntézy zabudován rostlinami do biomasy. Rostlina, v našem případě pomyslně olejnina, je poté zpracována při výrobě oleje, z oleje je dále vyrobeno palivo, které je následně spalováno a proces se opakuje. Takové palivo by tedy teoreticky nemělo zvyšovat množství CO₂ v atmosféře [17].

1.2 Bionafta

Jedním z nejvyužívanějších biopaliv je bezesporu bionafta. Pojem bionafta je souhrnné označení pro FAME – fatty acid methyl esters. V České republice se spíše setkáme se zkratkou MEŘO – metylestery řepkového oleje, neboť právě řepkový olej je zde k přípravě bionafty nejvíce využíván. V jiných částech světa se na prvních příčkách často objevuje olej sójový. K reakci se využívá nejen vylišovaných olejů, ale je zde snaha i o přeměnu odpadních druhů lipidů, jako jsou použité fritovací oleje či kafilerní tuky. FAME se vyrábí transesterifikací TAG, kdy je glycerol na esterové vazbě nahrazen za jiný alkohol. Nejčastěji se jedná o metanol, který je levnou a snadno dostupnou surovinou, a navíc je velmi reaktivní [18; 19; 20].

Reakci je třeba provádět s využitím katalyzátoru, kdy nejrozšířenější je bazická homogenní katalýza. Jako katalyzátor je využit roztok silného hydroxidu (KOH, NaOH) rozpuštěný v metanolu, který je posléze smíchán s olejem. Dále se může využít homogenní kyselá katalýza a velice selektivní enzymatická katalýza, která je však vhodná pouze pro laboratorní účely. Enzymy a kyseliny je vhodné využít v případě, že zpracovávaný tuk obsahuje velké množství volných VMK, které při bazické katalýze podléhají neutralizaci a spotřebovávají katalyzátor za vzniku mýdel (Obrázek 4) [20].



Obrázek 4: Transesterifikace TAG za bazické katalýzy NaOH [21]

Z podobného důvodu se také pro transesterifikaci nevyužívá ethanol, který je sice méně toxický než methanol a dá se získat z obnovitelných zdrojů (kvasné procesy), ovšem je v něm často přítomna zbytková voda. Ta může způsobit hydrolyzu TAG a vzniklé VMK mohou spotřebovat bazický katalyzátor za vzniku mýdel. Pokud bychom z ethanolu chtěli vodu odstranit, bylo by to velmi energeticky náročné. Využití metanolu je tedy vhodné jak z ekonomického, tak z chemického hlediska [20; 22].

Bionafta má své zastánce i odpůrce. Z hlediska ekologie se jedná o lepší volbu, než jsou produkty petrochemického průmyslu. Při spalování bionafty dochází ke snížení emisí, ale hlavně nedochází k uvolňování polycyklických aromatických uhlovodíků. Protože bionafta neobsahuje síru, nedochází k uvolňování oxidů síry do atmosféry, což snižuje výskyt kyselých dešťů. Problém ovšem nastává s motory automobilů [18; 22].

Klasická motorová nafta má oproti benzínu nevýhodu při používání v nízkých teplotách. Zatímco benzínové motory mohou bez problémů pracovat až do $-45\text{ }^{\circ}\text{C}$, nafta při nízkých teplotách krystaluje, přesněji řečeno látky voskové povahy v ní, což ucpává palivové filtry v motoru a brání provozu vozidla. Podobný problém nastává i v případě FAME, ve které také dochází ke krystalizaci látek. Mnoho zemí (i ČR) využívá tzv. směsnou bionaftu. Od roku 2007 byla kvůli legislativě Evropské unie nutnost přidávat biopaliva do fosilních paliv v množství 5 %. Tato povinnost byla v roce 2022 zrušena, ovšem stále k využívání směsné nafty dochází, neboť výrobci musí snižovat emise CO_2 . Navíc FAME přidané do klasické nafty zlepšují spalovací proces a snižují emise oxidů dusíku, neboť snižují teplotu spalování. Dále zvyšují cetanové číslo nafty, které udává, jak snadno dochází ke vznícení paliva. Výrobu FAME je nutno i nadále podporovat, neboť v současné době dochází k rozmachu využití glycerolu, který je druhým produktem transesterifikace [18; 22].

Glycerol

Glycerol, který vzniká jako druhý produkt při transesterifikaci, systematickým názvem propan-1,2,3-triol, je velmi viskózní bezbarvá tekutina sladké chuti a bez zápachu. Glycerol je silně hygroskopický, což je dáno schopností hydroxylových skupin vázat na sebe vodu, čehož se podobně jako jeho sladké chuti využívá v potravinářství. Na etiketách potravin je označován jako E 422. Bývá využíván jako sladidlo pro diabetiky, přidává se do cukrovinek jako změkčovač, či do uzenin a masa jako zvlhčující látka, která brání vysychání povrchu. Také se v masném průmyslu využívá jeho schopnosti inhibovat rozklad [23; 24; 25].

V kosmetickém průmyslu je glycerol hojně přidáván do hydratačních krémů. Vhodné je využít jej jako emulgátor, kdy je např. základem šamponu vodná složka, do které je přidán přírodní olej (jojobový, kokosový, ...). Do zubních past je přidáván často jako zvlhčovač, ale také napomáhá ochraně dásní. Pro využití ve farmaceutickém průmyslu je třeba získat glycerol vysoké kvality a čistoty, čehož se dosahuje několika procesy čištění. Ve farmacii se opět využívá jeho vlastnosti vázat vodu. Krémy s glycerolem jsou vhodné pro léčbu ekzému. Sladká chuť je využívána v sirupech. Využívá se jako nositel léčivé látky v čípcích, kdy funguje i jako lubrikant. Při tvorbě lékových kapslí je do želatiny přidáván pro zvýšení měkkosti. Využívá se i jeho projímavého účinku, kdy díky možnosti vázat vodu zvlhčuje stolicí [25].

Samotný glycerol jde dále zpracovávat. Cyklické acetaly (reakce glycerolu a ketonů za vhodných podmínek) a ethery (etherifikace s alkoholy nebo alkeny) se přidávají jako aditiva do nafty nebo benzínu. Pokud jsou přidány do nafty, zlepšují spalování a nízkoteplotní vlastnosti a zabraňují vzniku tuhých částic, které by mohly poškodit motor [20; 23].

Známým zpracováním glycerolu je výroba nitroglycerinu neboli glyceroltrinitrátu. Jedná se o bezbarvou výbušnou kapalinu s vasodilatačními účinky, která byla poprvé připravena roku 1847 nitrací glycerolu s nitrací směsí (kyselina dusičná a kyselina sírová). Až do dnešních dob je ve farmaceutickém průmyslu využíván ke zmírnění bolesti při angině pectoris a pro snížení krevního tlaku. Z nitroglycerinu se po zavedení do organismu uvolňuje oxid dusnatý, který ovlivňuje svalstvo cév tak, že dojde k jejich rozšíření. Velmi známé je využití nitroglycerinu jako výbušniny pod názvem dynamit. Dynamit, jehož vynálezcem je Alfred Nobel, je směs křemeliny a nitroglycerinu, kterou je možno dále tvarovat [26; 27].

1.2.1 Nízkoteplotní vlastnosti

Klasická ropná nafta vykazuje při nízkých teplotách zhoršené vlastnosti, vyšší viskozitu a vylučování krystalů parafínu, což zanáší palivové filtry, které jsou součástí motorů pro zachycení mechanických nečistot (krystaly se nesmí dostat do trysek). V případě bionafty je nárůst viskozity s klesající teplotou ještě markantnější než u klasické motorové nafty [22].

Při hodnocení nafty/bionafty z hlediska nízkoteplotních vlastností se stanovují tři důležité teplotní body. Nejvýše položený bod je Cloud Point (CP), ve starší publikacích označován jako teplota vylučování parafínů. Jedná se o teplotu, při které dojde k vyloučení parafínu pevného skupenství, což se projeví zákalem kapaliny. Nejnižší leží Pour Point (PP). Při této teplotě palivo ztuhne úplně [18; 22].

Mezi CP a PP leží teplota začátku ucpávání filtru (CFPP – Cold Filter Plugging Point). Při této teplotě dochází k neschopnosti provozu vozidla z důvodu ucpání palivového filtru vykrystalizovanými látkami. CFPP nafty je upravováno podle místa použití, tedy spíše podle teplot, které se v určitém místě běžně v daných obdobích vyskytují. V České republice se o dodržování hodnot CFPP stará norma ČSN EN 590 [22].

CFPP se stanovuje pomocí laboratorních testů, při kterých se simulují podmínky, při kterých dochází k ucpávání filtru v motorech. Ve zkratce se jedná o postupné ochlazování paliva a měření času jeho průchodu skrz definovanou překážku [28]. Pro úpravu CFPP se využívá několika metod. Běžně je prováděno míchání motorové nafty s bionaftou. V případě směsné nafty B5, která obsahuje 5 % bionafty, nedošlo téměř k žádným nežádoucí změnám vlastností klasické motorové nafty [29].

Tabulka 2: Hodnoty CFPP pro naftu používanou v ČR [30]

Druh nafty	Období	Teplota CFPP [°C]
Letní	15.4. – 30.9.	0
Přechodová	1.3. – 14.4. 1.10. – 15.11.	-10
Zimní	16.11. – 28.2.	-20
Arktická	Pro vysokohorské oblasti	-32

CFPP bionafty je z velké části předem ovlivněno původem TAG, které byly využity při transesterifikaci. Body tání nasycených VMK jsou vyšší než body tání nenasyčených VMK, což platí i pro jejich metylestery. Z hlediska CFPP je tedy vhodnější vyrábět bionaftu spíše z rostlinných než živočišných zdrojů. Nevýhodou nenasyčených FAME je ovšem jejich oxidační nestabilita a při jejich skladování se musí dodržovat přísnější podmínky. Oba tyto problémy (CFPP nasycených a nestabilita nenasyčených FAME) se často řeší jejich vzájemným smísením v poměru, který je vhodný pro dané využití, či výběrem vhodné suroviny pro transesterifikaci [31].

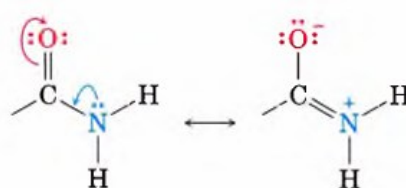
Pokud to následné využití povoluje, je možné nasycené FAME od nenasyčených oddělit úplně. Dražším způsobem separace, a proto méně využívaným, je destilace, která má sice dobré

výsledky, ale její náročnost zvyšuje značně cenu biopaliva. Druhou variantou oddělení nasyčených a nenasycených FAME je vymrazování. Palivo se ochladí pod CP a pevné částice se poté odfiltrují od kapaliny. Vymrazování se může provést několikrát pro dostatečné snížení CP a PP. Ani jedna z těchto metod ovšem není z energetického (a tedy ani z ekonomického) hlediska vhodná pro průmyslové využití. Běžně využívanou variantou v případě klasické nafty je přidání aditiv, ovšem i zde se jedná o nákladnou položku [29; 32].

Jako aditiva se často využívají tzv. depresory bodu tuhnutí. Jejich funkcí je zabránění růstu krystalů a jejich shlukování. Jedním z nich je kopolymer ethylenu s vinylacetátem (EVA), který má velmi blízkou strukturu se vznikajícími parafíny. Při jejich vykrytalizování se EVA naváže na jejich povrch, čímž zabrání dalšímu růstu, a díky polaritě vinylacetátových skupin se částice budou odpuzovat. FAME mohou v některých případech zvyšovat aktivitu aditiv, ovšem vše záleží na původu motorové nafty, neboť efekt může být i opačný v závislosti na disperzi parafínů v ní. Důležitý je ovšem i původ samotných TAG pro výrobu FAME, neboť mohou obsahovat další látky, které mohou snižovat CFPP. Jednou skupinou těchto látek, které byla nalezena převážně v bionaftě pocházející z živočišných TAG, jsou amidy [33].

1.2.2 Amidy VMK

Amidy řadíme mezi funkční deriváty karboxylových kyselin. Reakce amidů vyžadují speciální podmínky, jako jsou vysoká teplota či tlak, neboť jsou stabilní díky dvěma rezonančním strukturám. Díky těmto strukturám dochází k delokalizaci volného elektronového páru dusíku (z toho důvodu nejsou amidy bazické). Amidová vazba může být také známa jako peptidová vazba, která vzniká mezi dvěma aminokyselinami při jejich spojování do bílkovinných řetězců [2].



Obrázek 5: Resonanční struktury amidů [2]

Primární amidy VMK (PFAA – primary fatty acid amides) vznikají reakcí MK s amoniakem, popřípadě s aminy. Dochází k reakci, při které je skupina $-NH_2$ navázána na karboxylovou skupinu VMK. Amidy jsou důležitými složkami živých organismů, u zástupců živočišné říše byly nalezeny ve větším množství v plazmě a mozkomíšním moku. V organismu slouží jako bioaktivní signální lipidy, v případě oleamidu bylo prokázáno, že indukuje spánek. Další jejich

společnou vlastností je rozpustnost v polárních rozpouštědlech, jako je např. chloroform. Nejsou rozpustné v nepolárních sloučeninách, mezi které patří i metylestery vznikající při transesterifikaci [34; 35].

Tukové tkáně, které zůstávají jako odpad po porážce a zpracování zvířat, se dále zpracovávají škvařením, při kterém se čistý živočišný tuk z tkáně uvolňuje. Je zde předpoklad, že právě při tomto tavení vzniká velká část amidů reakcí TAG či VMK s amoniakem, který se uvolňuje z bílkovin. Při transesterifikaci zůstávají PFAA stabilní a ve výsledné bionaftě se může dostat jejich obsah až k 2 % [34; 36].

V dnešní době je kladen větší důraz na kontrolu vstupních surovin a předcházení vzniku amidů v tucích než na separaci amidů z výsledné bionafty [36]. Využívanou metodou stanovení amidů v tucích je analýza GC-FID (plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem), které předchází separace na tuhé fázi (kolony jsou plněny silikagelem) pro oddělení TAG a PFAA. Ke srovnání se používá také GC-MS (plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií) [34].

V odpadních tucích mají největší zastoupení amidy: palmitamid, stearamid a oleamid, často se vyskytuje i linoleamid. To odpovídá VMK, které jsou součástí TAG živočišných tuků. Jejich jednotlivé procentuální zastoupení dále závisí na zvířeti, ze kterého tuk pochází [34].

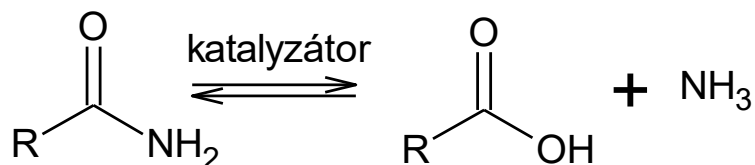
Tabulka 3: Nejčastější amidy v živočišných tucích a jejich teploty tání [7]

Amid	x:y*	Molekulový vzorec	Teplota tání [°C]
Palmitamid	16:0	C ₁₆ H ₃₃ NO	107
Stearamid	18:0	C ₁₈ H ₃₇ NO	109
Oleamid	18:1	C ₁₈ H ₃₅ NO	76
Linoleamid	18:2	C ₁₈ H ₃₃ NO	52

*vzorec (x:y): x odpovídá počtu uhlíků v molekule, y odpovídá počtu dvojných vazeb

Díky schopnosti amidů tvořit mezi sebou vodíkové můstky, jsou teploty tání amidů vyšší než teploty tání samotných VMK, ze kterých amidy vycházejí [37]. Kvůli vysokým bodům tání a špatné rozpustnosti v bionaftě je patrné, že při nízkých teplotách dochází k vykrytalizování amidů. Tyto amidy poté zvyšují CFPP a zabraňují využití takové bionafty v motorech, neboť by došlo k ucpání filtru.

Známou reakcí funkčních derivátů karboxylových kyselin je hydrolyza, při které obecně z derivátu vzniká kyselina. Reakce amidů probíhá ve vodném prostředí kyseliny nebo zásady, použitý katalyzátor ovlivňuje mechanismus reakce. Protože jsou amidy díky rezonančním strukturám stabilní, je třeba při reakci směs zahřívat. V případě hydrolyzy amidů VMK dochází ke vzniku amoniaku a VMK (Obrázek 6) [2].

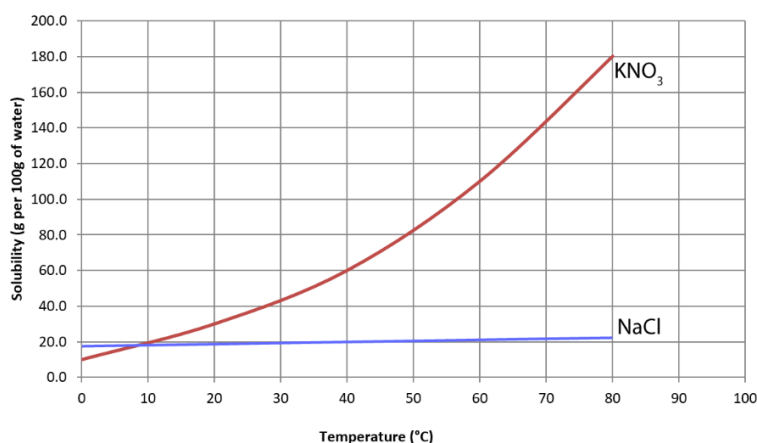


Obrázek 6: Rovnice hydrolyzy amidů

1.3 Metody separace a charakterizace látek

1.3.1 Krystalizace a rozpustnost

Krystalizace je fyzikální proces, při kterém dochází k vyloučení krystalů z roztoků nebo tavenin. Často se využívá k separaci nebo čištění látek. Rozpustnosti látek v kapalině jsou tabelované veličiny závislé na teplotě obecně známé jako křivka rozpustnosti. Při daných teplotách je stanoveno maximální množství rozpuštěné látky v rozpouštědle tzv. nasycenost roztoku. Pro většinu látek se rozpustnost s rostoucí teplotou zvyšuje. Výjimkou může být např. $\text{Yb}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, jehož rozpustnost se s rostoucí teplotou snižuje, nebo NaCl , jehož rozpustnost s měnící se teplotou je téměř konstantní [38].



Obrázek 7: Příklad křivek rozpustnosti NaCl a KNO₃ [39]

1.3.2 Filtrace a dekantace

Pojmem filtrace je označováno oddělování fází suspenze od sebe, tedy pevné látky a kapaliny. K oddělení se využívá filtrační přepážka, kterou projde pouze kapalná fáze a na které pevná

látku vytvoří filtrační koláč. Hnací silou je v případě jednoduché filtrace gravitační síla. Rychlost filtrace se dá ovlivnit několika faktory. Prvním z nich je celkové složení suspenze. Před samotnou filtrací se často provádí dekantace (usazení částic na dno nádoby), aby výška vznikajícího filtračního koláče byla co nejnižší. Důležitou roli hraje i velikost a hustota filtrační přepážky, které se musí volit tak, aby jí oddělované částice neprocházely. Další možností je zvýšit rozdíl tlaků před a za filtrační přepážkou. Pro filtraci za sníženého tlaku se nejčastěji používá laboratorní aparatura sestavená z Büchnerovy nálevky a odsávací baňky, na kterou se připojuje vývěva či vakuum [38].

Speciálním druhem filtrační přepážky jsou stříkačkové filtry (Obrázek 8), které se mohou využívat pro malé objemy nebo ve zdravotnictví pro sterilizaci roztoků. Nasazují se přímo na stříkačku a hnací silou je zde mechanická síla stlačení pístu, jejich použití je jednorázové [40].



Obrázek 8: Stříkačkové filtry [40]

1.4 Principy analytických metod

Pro hodnocení tuků se používají tzv. tuková čísla, která slouží k charakterizaci jejich vlastností. Mezi nejznámější tuková čísla patří číslo kyselosti (množství volných mastných kyselin) a jodové číslo (stupeň nenasycenosti tuku). Dále je možné zmínit číslo peroxidové a hydroxylové [41].

Číslo kyselosti

Číslo kyselosti se používá pro vyhodnocení obsahu volných MK v tuku. Stanovuje se titrací tuku, který je rozpuštěn v ethanolovém rozpouštědle. Titruje se pomocí hydroxidu (NaOH, KOH). Zvykem je číslo kyselosti vyjadřovat v jednotce mg (KOH) /g, vyjadřuje tedy množství KOH, které je potřebné k neutralizaci volných MK v 1 g tuku. Titruje se na indikátory

použitelné při dané změně pH, nejčastěji fenolftalein do růžového zbarvení. Výpočet se provádí dle rovnice 1 [41].

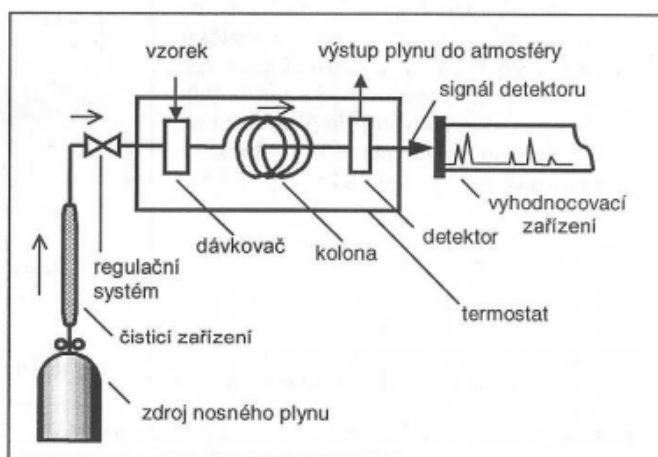
$$\check{C}K = \frac{M_{KOH} \cdot 10^3 \cdot c_{OH^-} \cdot V_{hydroxidu}}{m_{tuku}} \text{ [mg/g]} \quad (1)$$

Bod tání

Bod tání je teplota, při které je v rovnováze tuhá a kapalná fáze látky. V organické chemii je využívá k identifikaci látek či k stanovení čistoty, neboť jej nečistoty velice ovlivňují. Stanovení se provádí v bodotávku, do kterého je vložena kapilára se vzorkem a za postupně se zvyšující teploty dochází ke sledování vzorku. Stanovuje se interval dvou teplot, kdy první teplota je odečtena v momentě objevení se kapalně fáze a druhá, když zmizí veškerá pevná fáze. Čím širší interval teplot je, tím více je látka znečištěná, tedy obsahuje více látek, neboť pro čistou látku je bodem tání přesná teplota [42].

Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC-MS)

Chromatografie je separační metoda, při které se oddělují jednotlivé složky obsažené ve vzorcích. V koloně chromatografu jsou dvě nemísitelné fáze, fázi stacionární a mobilní. Mobilní fáze přes stacionární prochází a při tomto pohybu se jednotlivé složky vzorku separují na základě rozdílné afinity k stacionární fázi. V případě plynové chromatografie je mobilní fází plyn. Do nosného plynu je dávkován vzorek a společně dále prochází stacionární fází, na které se jednotlivé složky zachycují [43].

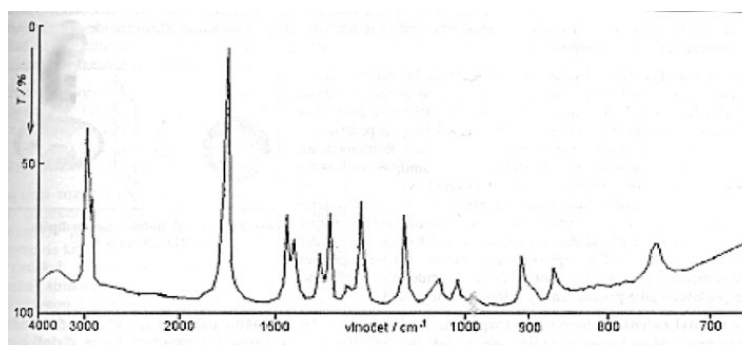


Obrázek 9: Schéma plynového chromatografu [43]

Oddělené složky jsou dále vedeny do hmotnostního spektrometru, který v tomto případě splňuje funkci detektoru. Složky jsou převedeny na ionizovanou plynnou fázi a vzniklé ionty se separují na základě poměru jejich hmotnosti a náboje. Zapojení, kdy se po plynové chromatografii jako detektor využívá hmotnostní spektrometrie, se hojně využívá při analýze organických látek, neboť umožňuje určení jejich struktury a molekulové hmotnosti [43].

Infračervená spektroskopie (IČ)

Principem této metody je absorpce infračerveného záření (0,78 až 1000 μm) molekulami látek ve vzorku. Absorbováno je to záření, jehož energie odpovídá vibračním a rotačním přechodům molekuly. Při této metodě se častěji využívá hodnoty vlnočtu (cm^{-1}) než vlnové délky. Jednotlivé pásy na grafu jsou podle svých vlnočtů přiřazeny k funkčním skupinám či vazbám mezi atomy. IČ spektrum se často vyhodnocuje za pomoci tabulek, neboť jsou některé vlnočty obecně známy [43].



Obrázek 10: Příklad infračerveného spektra cyklohexanu [43]

Stanovení bodu filtrovatelnosti

Pro stanovování CFPP platí mezinárodně uznávané normy. V EU se jedná o normu EN 116, která je velmi podobná anglickým a americkým verzím IP 309 a ASTM D6371. Přístroje mohou být jak manuální, tak plně automatické [44].

Aparatura je válcovitá skleněná nádoba s přesně definovaným objemem a ryskou (45 ml) pro správné naplnění vzorkem. Před naplněním musí být vzorek přefiltrován přes suchý filtrační papír (4–6 μm) pro odstranění mechanických nečistot. Nádoba se uzavře zátkou s pipetou a teploměrem a umístí se do chladicí lázně. Pipeta obsahuje přesně stanovené drátěné sítko. Po vytemperování na námi požadovanou teplotu je pomocí podtlaku, který musí být při všech měřeních totožný a je stanoven výrobcem, nasáto 20 ml vzorku do pipety, proměřován je čas potřebný k naplnění pipety. Po provedení je vzorek ponechán volně stéct zpět do nádoby. Poté je vzorek temperován při teplotě o 1 $^{\circ}\text{C}$ nižší, a pokus se opakuje do doby, než čas potřebný

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V experimentální části se pracuje se třemi vzorky FAME s amidy, které byly získány z firmy Temperator s.r.o. Vzorky A a B byly analyzovány pro zjištění obsahu amidů a podrobeny hydrolýze na mastné kyseliny. Pro vzorek C byly stanovovány body filtrovatelnosti v závislosti na koncentraci amidů.

2.1 Postupy práce

Rozpustnost oleamidu v esterech řepkového oleje

Byla stanovována rozpustnost čistého oleamidu v esterech řepkového oleje za rostoucí teploty. Do 40 g esterů byla vložena vláknová UV/VIS sonda, které pomocí spektrometru detekovala vznikající zakalení. Do oleje bylo přidáváno po 0,02 g oleamidu, dokud nebylo při dané teplotě detekováno zakalení. Poté byla teplota o 5 °C zvýšena a přidávání oleamidu se opakovalo. Bylo zaznamenáváno množství přidaného oleamidu při dané teplotě.

Hydrolýza

Byla provedena hydrolýza vzorků FAME s amidy, neboť touto reakcí dochází k odstranění amidů jejich přeměnou na VMK a amoniak (viz obr. 6). Ze vzorků A a B bylo do kádinky odváženo přibližné množství 50 g a k nim přidáno 10 g H_3PO_4 a 90 g H_2O . Reakce směsi probíhala při teplotě 60 °C po dobu 24 hodin. Produkty byly odděleny v děličce a několikrát promyty vodou pro odstranění kyseliny. Voda byla odstraněna vakuovou destilací. Pro kontrolu reakce byla provedena hydrolýza 10 g oleamidu v 18 g vody a 2 g H_3PO_4 za stejných podmínek jako vzorky.

2.2 Analýza

Stanovení čísla kyselosti

Vzorek FAME s amidy byl promíchán, aby byl získán homogenní vzorek, neboť pevné amidy samovolně sedimentují na dno. Ze vzorku byly do dvou titračních baněk naváženy přibližně 2 g, do každé bylo přidáno 30 ml směsi ethanolu a toluenu v poměru 1:1 a několik kapek fenolftaleinu. Roztok byl titrován pomocí 0,1 M roztoku NaOH v ethanolu do růžového zbarvení. Ze získaných objemů NaOH bylo vypočteno číslo kyselosti. Titrovány byly vzorky A a B před hydrolýzou a po hydrolýze.

Filtrace a příprava vzorků na GC-MS

Pro získání křivek rozpustnosti bylo nutno vzorky A a B odebírat za různých teplot. Vzorky byly vloženy do vodní lázně a zahřívány na stanovené teploty (pokojová teplota, 30, 40, 50 a 60 °C). Pro zachování homogenního prostředí byly vzorky míchány za pomoci magnetického míchadla po celou dobu zahřívání. Při dosažení jednotlivých teplot byly vzorky odebrány do stříkaček, na které byl následně nasazen stříkačkový filtr. Přefiltrované vzorky byly převedeny do lékovek a poslány na analýzu. Využity byly metody IČ a GC-MS.

Pro vzorek C bylo za teploty 30 °C odebráno dvakrát 10 ml, které byly za sníženého tlaku (pomocí připojení na vakuum) filtrovány přes filtry o velikosti 0,7 a 2,5 µm.

Stanovení bodu filtrovatelnosti (CFPP)

Vzorky pro analýzu na CFPP byly odebírány ze vzorku C. Bylo odebráno celkem pět vzorků po 100 ml při různých teplotách (23, 30, 37, 47 °C a při teplotě, kdy byly veškeré amidy rozpuštěny cca 60 °C). Vzorky byly za stálého míchání ohřívány ve vodní lázni na požadovanou teplotu. Po dosažení dané teploty bylo míchadlo vypnuto a byla provedena dekantace po dobu přibližně 12 hodin. Takový čas byl nutný z důvodu ustanovení rovnováhy mezi rozpuštěnou a nerozpuštěnou fází amidů. Po ukončení dekantace byla vrchní část vzorku přelita do připravených nádob. U vzorků byl stanoven bod filtrovatelnosti a množství rozpuštěných amidů metodou GC-MS.

Stanovení bodu tání

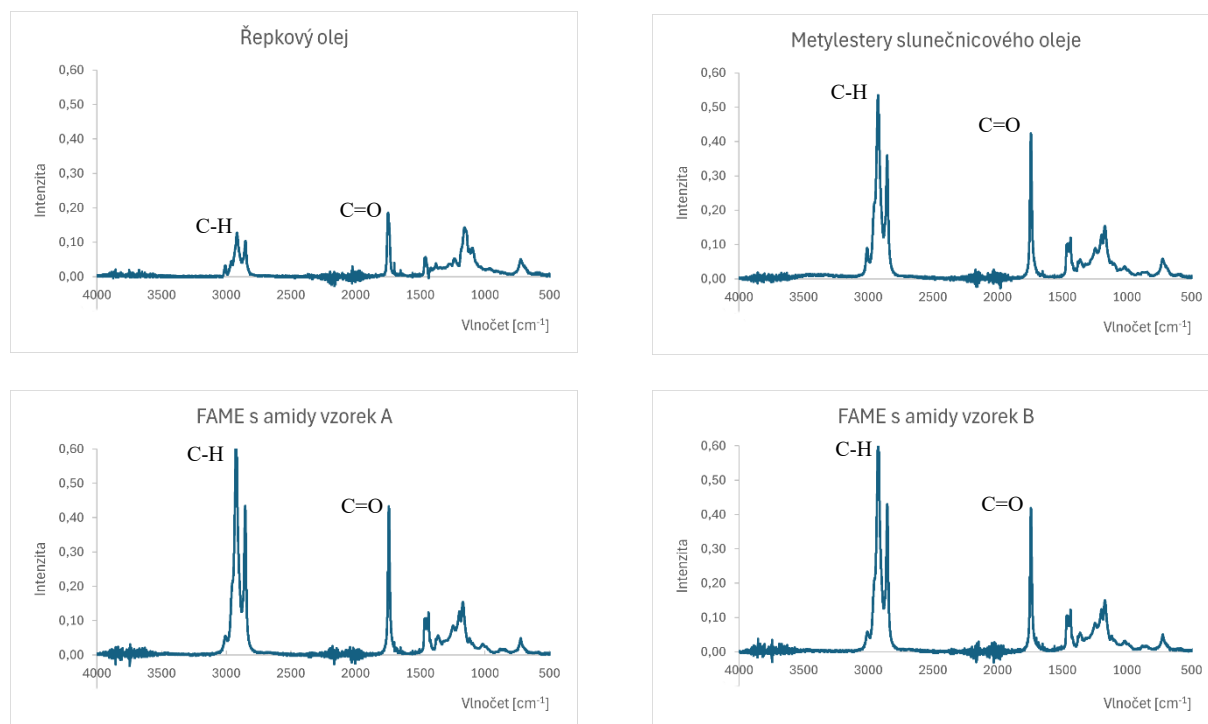
Pro stanovení bodu tání amidů bylo nutné vzorek C zfiltrovat. Filtrace 20 ml promíchaného vzorku C byla provedena za sníženého tlaku. Filtrační papír s pevnou fází byl vysoušen za laboratorní teploty po dobu pěti dnů. Získané amidy byly dvakrát analyzovány pomocí bodotávku.

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Stanovení amidů

Stanovení amidů pomocí infračervené spektroskopie

Pro stanovení pevných látek ve vzorcích A a B byla využita metoda infračervené spektroskopie. Získané grafy vzorků FAME s amidy byly porovnávány s grafem metylesteru slunečnicového oleje a s grafem řepkového oleje. Pík charakteristický pro amidy se obvykle nachází v rozmezí vlnočtu 3400–3500 cm^{-1} . Na grafech jsou patrné píky pro skupiny C-H (2890–2880 cm^{-1}) a C=O (1750–1720 cm^{-1}). Metodou IČ nebyly stanoveny žádné jiné látky, které by se ve vzorcích FAME mohly nacházet, neboť jsou grafy vzorků velmi podobné grafu metylesteru a pík charakteristický pro amidy se na nich nenachází. Metoda IČ tedy není pro tuto analýzu vhodná [45].

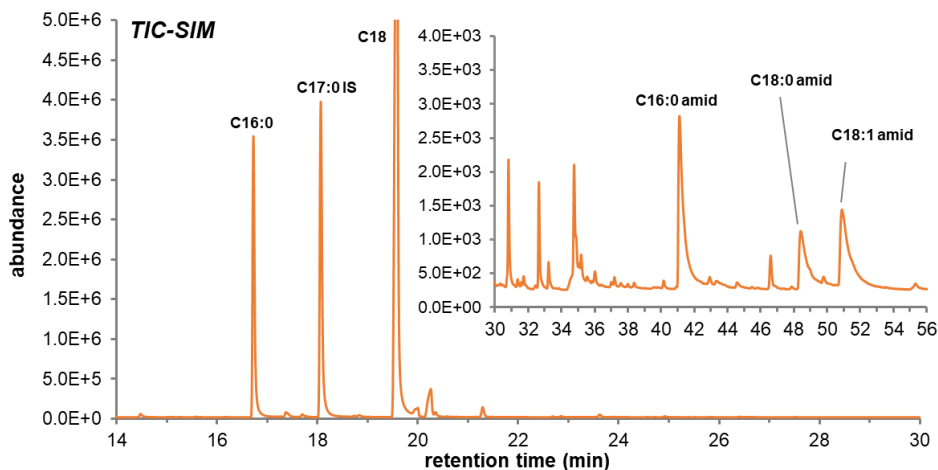


Obrázek 12: IČ spektra jednotlivých vzorků

Stanovení amidů pomocí GC-MS

Protože metoda IČ neprokázala přítomnost $-\text{NH}_2$ skupiny, byly vzorky A a B analyzovány metodou GC-MS. Jak je patrné na chromatogramu (Obrázek 13), byly ve vzorcích pomocí standardu identifikovány tři majoritní typy amidů: palmitamid (C16:0 amid), stearamid (C18:0 amid) a oleamid (C18:1 amid). Tyto amidy odpovídají esterům VMK, které byly ve vzorku také

stanoveny, tedy esteru kyseliny palmitové (C16:0), stearové (C18:0) a olejové (C18:1). Tyto VMK se běžně vyskytují v živočišných tucích (Tabulka 3). Na chromatogramu jsou patrné píky (např. 46. minuta), které nebyly pomocí standardu identifikovány. Ty mohou značit přítomnost dalších amidů (např. C14:0 a C18:2), jejichž kyseliny se v živočišných tucích také běžně vyskytují.



Obrázek 13: Chromatogram vzorku FAME s amidy

Stanovení bodu tání

Bod tání pevné fáze získané filtrací vzorku C byl stanovován na bodotávku Buchi B-540. Měření bylo prováděno dvakrát z téhož vzorku. Při prvním měření se teplota tání pohybovala v rozmezí 110–112 °C, při druhém v rozmezí 109–113 °C. Tyto teploty tání odpovídají tabelovaným bodům tání palmitamidu a stearamidu (Tabulka 3).

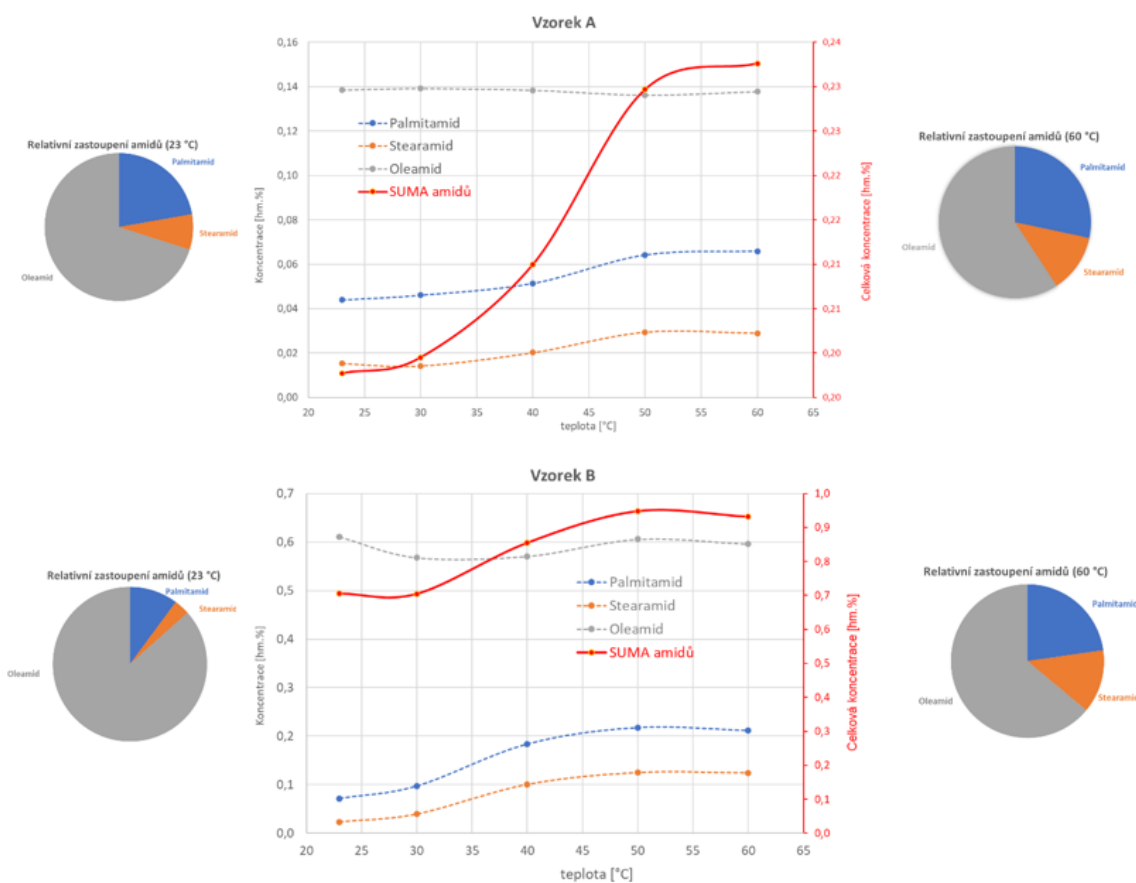
3.2 Rozpustnost amidů

Rozpustnost oleamidů v methylesterech řepkového oleje

Rozpustnost čistého oleamidů ve FAME nebylo možné stanovit, neboť již při mírném zvýšení teploty (přibližně na 30 °C) nebylo detekováno zakalení roztoku ani po přidání 20 g oleamidů, protože se veškerý oleamid rozpustil. Po vypnutí topného zařízení a následném ochlazení roztoku na laboratorní teplotu došlo k okamžitému ztuhnutí oleamidů. Velké množství rozpuštěného oleamidů v malém množství (40 g) esterů je vysvětlováno nízkým bodem tání (Tabulka 3), který mohl být ovlivněn také tím, že se oleamid nacházel právě v esterech řepkového oleje.

Rozpuštnost stanovená pomocí GC-MS

Aby bylo možné získat závislosti množství rozpuštěných amidů na teplotě, musely být jednotlivé vzorky pro analýzu odebírány za různých teplot. Teploty se pohybovaly v rozmezí 20 až 60 °C. Z naměřených hodnot obsahu amidů, které byly získány pomocí metody GC-MS, byly sestrojeny grafy závislosti množství rozpuštěných amidů na teplotě, při které byly vzorky odebírány. Z grafů (Obrázek 14) je patrné, že s rostoucí teplotou se zvyšuje množství rozpuštěných amidů, což bylo očekáváno, neboť tomu tak je u většiny látek (Obrázek 7). K veškerému rozpuštění amidů dochází mezi teplotami 50 a 60 °C, mezi kterými již nedochází k růstu obsahu amidů. Vzorek B obsahuje při teplotě 60 °C, kdy je vše rozpuštěno, skoro čtyřnásobné množství amidů oproti vzorku A.



Obrázek 14: Grafy závislosti koncentrace amidů na teplotě pro vzorky A a B

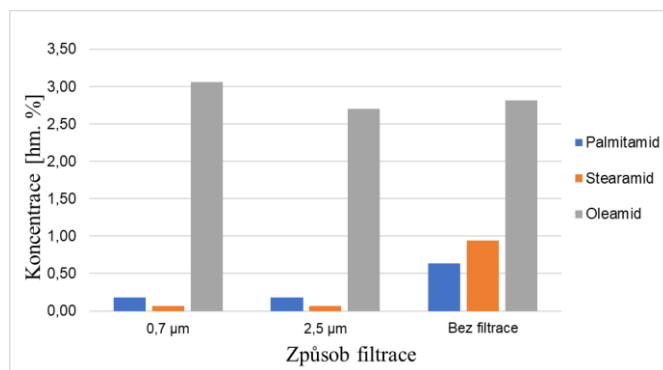
V případě pamitamidu a stearamidu dochází s klesající teplotou i k poklesu obsahu těchto látek ve vzorcích, bylo by tedy možné je ochlazením a filtrací alespoň částečně odstranit. V případě vzorku B by toho odstranění bylo markantnější, neboť vzorek obsahoval větší množství amidů. To bylo patrné i vizuálně. Při promíchání každého ze vzorků, byl vzorek B zakalenější než

vzorek A. Při ochlazení vzorku B z teploty 60 °C na laboratorní teplotu a následné filtraci pevných částic se obsah amidů snížil z cca 0,9 % na 0,7 %. Snížil se hlavně zastoupení stearamidu a palmitamidu.

Oleamid vykazuje v závislosti na teplotě stále stejné hodnoty. Lze tedy předpokládat, že oleamid je i při laboratorních teplotách všechen rozpuštěn. Nebylo by tedy možné jej odstranit prostým zchlazením vzorku na teplotu okolo 20 °C a následnou filtrací jako zbylé dva nasycené amidy. Pro takové odstranění by bylo třeba pokračovat v chlazení i na nižší teploty, kde ovšem hrozí ztuhnutí dalších složek FAME.

Filtrace

Vzorky odebrané ze vzorku C, které byly filtrovány pomocí vakua přes filtrační papíry s velikostí pórů 0,7 a 2,5 μm. Z grafu (Obrázek 15) je patrné, že po filtraci dochází k poklesu obsahu stearamidu a palmitamidu. Z hlediska rychlosti filtrace je lepší využít filtrační papír s většími póry, protože menší velikost pórů nezaručuje větší účinnost filtrace (obsahy palmitamidu a stearamidu po filtraci jsou téměř totožné). Stále stejné obsahy oleamidu před i po filtracích potvrzují, že oleamid se ve vzorcích i při laboratorní teplotě nenachází v pevném skupenství. Není jej tedy za laboratorní teploty možné filtrací, popřípadě dekantací, odstranit.



Obrázek 15: Graf obsahu amidů ve vzorku C před a po filtraci s dvěma druhy filtračního papíru

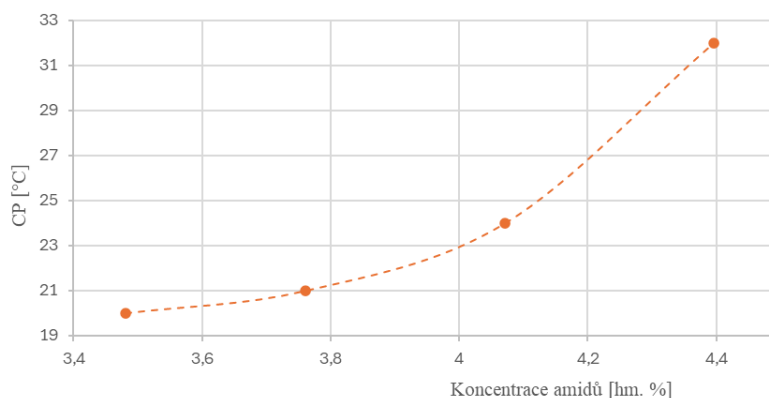
Stanovení nízkoteplotních vlastností

Vzorky odebrané z FAME C, kdy byly amidy odstraňovány dekantací za rozdílných teplot, byla analyzována metodou GC-MS pro zjištění obsahu amidů. Z Tabulky 4 je patrné, že s rostoucí teplotou roste množství rozpuštěných hlavně nasycených amidů, palmitamidu a stearamidu. V případě oleamidu je růst obsahu detekován jen nepatrně mezi teplotami 23 °C a 37 °C. Získané hodnoty obsahu byly porovnávány s hodnotami bodu filtrovatelnosti (CFPP) a bodu zakalení (CP) naměřené ve firmě Temperator. S rostoucím obsahem amidů, a tedy i s vyšší

teplotou, při které byl vzorek dekantován, dochází k růstu teplot nízkoteplotních vlastností, tj. horší filtrovatelnost a zákal při nižší teplotě (Obrázek 16). S nárůstem obsahu okolo 1 % došlo ke zvýšení bodu filtrovatelnosti z 22 na 30 °C. V praxi to znamená, že by FAME dekantovaná při 60 °C nemohla být používána při teplotách nižších než 30 °C.

Tabulka 4: Hodnoty obsahu amidů a nízkoteplotních vlastností pro vzorek C

Teplota odběru [°C]	Obsah amidů [hm. %]				CFPP [°C]	CP [°C]
	Palmitamid	Stearamid	Oleamid	Suma amidů		
23	0,17	0,07	3,25	3,48	22	20
30	0,28	0,14	3,33	3,76	18	21
37	0,40	0,37	3,63	4,40	28	22
47	0,31	0,34	3,42	4,07	28	24
60	0,64	0,94	2,82	4,40	30	32



Obrázek 16: Graf závislosti bodu zakalení na obsahu amidů pro vzorek C

3.3 Hydrolýza

Hydrolýza FAME s amidy byla provedena za účelem přeměnění amidů na VMK a amoniak. Pro určení, zda hydrolýza vzorků proběhla, bylo před a po hydrolýze stanovováno číslo kyselosti (které obecně roste s růstem obsahu volných VMK) a jejich hodnoty byly vzájemně porovnány. U vzorku A k nárůstu čísla kyselosti nedošlo. Reakce u tohoto vzorku buď neproběhla, nebo změna nebyla detekována, protože vzorek obsahuje jen nepatrné množství

amidů (0,235 %). V případě vzorku B došlo k více než dvanáctinásobnému nárůstu, což potvrzovalo nárůst VMK. Je ovšem možné, že hydrolýze nepodlehly pouze amidy ale také methylestery ve vzorku přítomné. Pro další ujištění byla provedena hydrolýza čistého oleamidu (bez přítomnosti FAME), u které došlo ke znatelnému nárůstu čísla kyselosti. Reakce tedy probíhala dle očekávání.

Tabulka 5: Výsledky stanovení čísla kyselosti

Vzorek	Číslo kyselosti [mgKOH/g]	
	Před hydrolýzou	Po hydrolýze
A	1,4	1
B	1,9	24,2
Oleamid	0,3	55,5

4 ZÁVĚR

V teoretické části bakalářské práce byly popsány rostlinné oleje a živočišné tuky jako zdroje pro výrobu bionafty, jejich získávání i nejčastější zpracování. Byla popsána výroba bionafty a využití druhého produktu glycerolu. Dále byla práce zaměřena na nízkoteplotní vlastnosti bionafty, jejich stanovení a úpravu. Byl popsán rozdíl mezi bionaftou získanou z rostlinných olejů a živočišných tuků a jejich rozdílné složení se zaměřením na amidy, které se nacházejí především v bionaftě vyráběné z živočišných tuků, a jejich analýza.

V experimentální části bylo prováděno především stanovení rozpustnosti amidů na teplotě. Jako možnost jejich odstranění byla využita filtrace, která byla prováděna za rozdílných teplotních podmínek. Byla provedena analýza jednotlivých vzorků metodou infračervené spektroskopie, která nepřinesla potřebné výsledky. Tytéž vzorky byly analyzovány metodou GC-MS, při které byly analyzovány amidy kyseliny olejové, stearové a palmitové. Z výsledků byly stanoveny křivky rozpustnosti amidů ve FAME. Vybrané vzorky odebírané za rozdílných teplot byly analyzovány na přístroji pro stanovení bodu filtrovatelnosti a zakalení. Druhou metodou odstranění amidů byla jejich hydrolýza, jejíž produkty (vyšší mastné kyseliny) byly charakterizovány pomocí stanovení čísla kyselosti.

Z výsledků analýzy GC-MS bylo zjištěno, že metoda filtrace bionafty za nízkých teplot je vhodná pro odstranění amidů nasycených VMK (palmitamid a stearamid), ovšem nedochází k odstranění amidu kyseliny olejové. Amidy získané filtrací ze vzorků FAME vykazovaly body tání charakteristické pro amidy nasycených VMK. Bylo potvrzeno, že s rostoucím obsahem amidů ve vzorku rostou také teploty bodů zakalení a filtrovatelnosti. Hydrolyzované vzorky FAME vykazovaly nárůst čísla kyselosti. Hydrolýza by tedy byla možností pro odstranění amidů VMK.

5 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] DRABINA, Pavel. *Bioorganická chemie*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2020. ISBN 978-8-07560-316-6.
- [2] MCMURRY, John. *Organická chemie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, nakladatelství VUTIUM, 2015. ISBN 978-80-214-4769-1.
- [3] *Rozdělení lipidů*. Online. In: Elektronická učebnice. 2025. Dostupné z: <https://eluc.ikap.cz/lekce/rozdeleni-lipidu>. [cit. 2025-05-21].
- [4] *VOSKOVÁ KOUZLA českého léta*. Online. Sukulenty.estranky.cz. 2025. Dostupné z: <https://sukulenty.estranky.cz/clanky/zivotni-projevy-rostlin/voskova-kouzla-ceskeho-leta.html>. [cit. 2025-05-21].
- [5] *Lipid Bilayer*. Online. Biology Dictionary. 2025. Dostupné z: <https://biologydictionary.net/lipid-bilayer/>. [cit. 2025-05-21].
- [6] *STABILITA OLEJŮ*. Online. SANTAI. 2025. Dostupné z: <https://www.santai.cz/nase-novinky/stabilita-oleju/>. [cit. 2025-05-21].
- [7] HAYNES, William M.; LIDE, David R. a BRUNO, Thomas J. (ed.). *CRC handbook of chemistry and physics: a ready-reference book of chemical and physical data*. 97th edition (2016-2017). Boca Raton: CRC Press, 2016. ISBN 978-1-4987-5428-6.
- [8] HASTERT, Robert. *Hydrogenation: proceedings of an AOCS colloquium*. Champaign: American Oil Chemists' Society, 1987. ISBN 0-935315-16-0.
- [9] Usnesení Evropského parlamentu ze dne 26. října 2016 o transmastných kyselinách. In: . 2016.
- [10] ČEPIČKA, Jaroslav. *Obecná potravinářská technologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 80-7080-239-1.
- [11] *SITUAČNÍ A VÝHLEDOVÁ ZPRÁVA OLEJNINY*. Online. Ministerstvo zemědělství, 2023. Dostupné z: https://mze.gov.cz/public/portal/mze/-a46374---IDrzkxmww/publikace-situacni-a-vyhledova-zprava-olejniny-2022-2023?_linka=a578148. [cit. 2025-05-24].
- [12] *Olejniny*. Online. Polní plodiny - Field crops. 2006. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/vegetabilie/plodiny/czech/olejniny.htm>. [cit. 2025-05-24].

- [13] *Edible oil cold pressing vs hot pressing*. Online. Oil Mill Plant. Neuvedeno. Dostupné z: <https://oil-mill-plant.com/edible-oil-making-information/hot-pressing-and-cold-pressing.html>. [cit. 2025-05-24].
- [14] *Dobroty v láku – 4. díl o uchovávání potravin*. Online. Nutriadapt. Neuvedeno. Dostupné z: <https://www.nutriadapt.cz/zajimave-cteni/dobroty-v-laku>. [cit. 2025-05-24].
- [15] ADEWALE, Peter; DUMONT, Marie-Josée a NGADI, Michael. Recent trends of biodiesel production from animal fat wastes and associated production techniques. Online. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015, roč. 45, č. 1, s. 574-588. ISSN 13640321. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.02.039>. [cit. 2025-05-24].
- [16] *Zajímavá historie mýdla*. Online. Rehabilitace.info. 2025. Dostupné z: <https://www.rehabilitace.info/zajimavosti/zajimava-historie-mydla/>. [cit. 2025-05-24].
- [17] *Koloběh uhlíku*. Online. THE GLOBE PROGRAM. Neuvedeno. Dostupné z: <https://www.globe.gov/documents/10157/59263168/Kolobeh+uhliku+Metodika2012.pdf/7be7a570-b3ab-428f-a13a-774b55070bae>. [cit. 2025-05-24].
- [18] MATĚJOVSKÝ, Vladimír. *Automobilová paliva*. Online. Praha: Grada, 2005. ISBN 80-247-0350-5. Dostupné také z: <https://www.bookport.cz/kniha/automobilova-paliva-1512/>.
- [19] VLK, František. *Alternativní pohony motorových vozidel: [zemní plyn CNG, ropný plyn LPG, biopaliva, etanol a metanol, elektrina, vodík]*. Brno: Nakladatelství a vydavatelství Vlk, 2004. ISBN 80-239-1602-5.
- [20] YAN, Jinyue (ed.). *Handbook of clean energy systems*. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons, 2015. ISBN 978-1-118-38858-7.
- [21] *Příprava methylesteru řepkového oleje (MEŘO)*. Online. In: Fakulta stavební ČVUT v Praze. Neuvedeno. Dostupné z: <https://people.fsv.cvut.cz/~vydra/files/EZ1-Navody/bionafta.pdf>. [cit. 2025-05-24].
- [22] SANTOS, Shella M.; WOLF-MACIEL, Maria R. a FREGOLENTE, Leonardo V. Cold flow properties: Applying exploratory analyses and assessing predictive methods for biodiesel and diesel-biodiesel blends. Online. *Sustainable Energy*

- Technologies and Assessments*. 2023, roč. 57, č. 1, s. 1-19. ISSN 22131388.
Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.seta.2023.103220>. [cit. 2025-05-24].
- [23] CHARAKTERIZACE ACETALŮ A ETHERŮ GLYCEROLU – BIOSLOŽEK DO MOTOROVÝCH PALIV. Online. *Chemické listy*. 2012, roč. 106, č. 9, s. 836-843.
Dostupné z: <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/856/856>. [cit. 2025-05-24].
- [24] *Glycerin a jeho použití*. Online. Oleje.cz. 2025. Dostupné z: <https://www.oleje.cz/poradna/glycerin-a-jeho-pouziti>. [cit. 2025-05-24].
- [25] Glycerol In Food, Cosmetics And Pharmaceutical Industries: Basics And New Applications. Online. *INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENTIFIC & TECHNOLOGY RESEARCH*. 2019, roč. 8, č. 12, s. 553-558. Dostupné z: <https://www.ijstr.org/final-print/dec2019/Glycerol-In-Food-Cosmetics-And-Pharmaceutical-Industries-Basics-And-New-Applications.pdf>. [cit. 2025-06-09].
- [26] *Nitroglycerine and Dynamite*. Online. The nobel prize. 2025. Dostupné z: <https://www.nobelprize.org/alfred-nobel/nitroglycerine-and-dynamite/>. [cit. 2025-05-24].
- [27] A SHORT HISTORY OF NITROGLYCERINE AND NITRIC OXIDE IN PHARMACOLOGY AND PHYSIOLOGY. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. 2000, roč. 27, č. 4, s. 313-319.
- [28] *Nafta a měření její filtrovatelnosti*. Online. Portál řidiče. Neuvedeno. Dostupné z: <https://www.portalridice.cz/clanek/nafta-a-mereni-jeji-filtrovatelnosti>. [cit. 2025-05-24].
- [29] BOUAID, Abderrahim; ILIUTA, Gabriel a MARCHETTI, Jorge Mario. Cold flow properties of biodiesel from waste cooking oil and a new improvement method. Online. *Heliyon*. 2024, roč. 10, č. 17, s. 1-15. ISSN 24058440. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36756>. [cit. 2025-05-24].
- [30] *Nafta motorová*. Online. ČEPRO. Neuvedeno. Dostupné z: https://ceproas.movisio.com/files/Dokumenty/EuroOil/Cepro_nafta_motorova.pdf. [cit. 2025-05-24].
- [31] DE FREITAS, Osmar Nunes; CARDOSO RIAL, Rafael; FONTOURA CAVALHEIRO, Leandro; DOS SANTOS BARBOSA, Joyce Mara; DOMINGUES NAZÁRIO, Carlos Eduardo et al. Evaluation of the oxidative stability and cold filter

- plugging point of soybean methyl biodiesel/bovine tallow methyl biodiesel blends. Online. *Industrial Crops and Products*. 2019, roč. 140, č. 1, s. 1-7. ISSN 09266690. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111667>. [cit. 2025-05-24].
- [32] TAJIMA, Hideo; ABE, Masahiro; KOMATSU, Hiroyuki a YAMAGIWA, Kazuaki. Feasibility of additive winterization of biodiesel fuel derived from various eatable oils and fat. Online. *Fuel*. 2021, roč. 305, č. 1, s. 1-11. ISSN 00162361. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121479>. [cit. 2025-05-24].
- [33] KUZMIN, Kirill A.; KOSOLAPOVA, Sofia M. a RUDKO, Viacheslav A. Investigating the mechanism of action of polymer pour point depressants on cold flow properties of biodiesel fuels. Online. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2024, roč. 702, č. 1, s. 1-12. ISSN 09277757. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2024.134971>. [cit. 2025-05-24].
- [34] JOVANOVIĆ, Milica; SCHÖBER, Sigurd a MITTELBACH, Martin. GC Analysis of Primary Fatty Acid Amides in Animal Fat. Online. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2021, roč. 123, č. 7, s. 1-6. ISSN 1438-7697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/ejlt.202000323>. [cit. 2025-05-24].
- [35] MADL, Tobias a MITTELBACH, Martin. Quantification of primary fatty acid amides in commercial tallow and tallow fatty acid methyl esters by HPLC-APCI-MS. Online. *The Analyst*. 2005, roč. 130, č. 4, s. 565–570. ISSN 0003-2654. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/b415779f>. [cit. 2025-05-24].
- [36] FARRELL, Emma K.; CHEN, Yuden; BARAZANJI, Muna; JEFFRIES, Kristen A.; CAMEROAMORTEGUI, Felipe et al. Primary fatty acid amide metabolism: conversion of fatty acids and an ethanolamine in N18TG2 and SCP cells. Online. *Journal of Lipid Research*. 2012, roč. 53, č. 2, s. 247-256. ISSN 00222275. Dostupné z: <https://doi.org/10.1194/jlr.M018606>. [cit. 2025-05-24].
- [37] *Amidy*. Online. PCC. Neuvedeno. Dostupné z: <https://www.products.pcc.eu/cs/academy/amidy-2/>. [cit. 2025-05-24].
- [38] HANDLÍŘ, Karel; MOŠNER, Petr; NÁDVORNÍK, Milan a VLČEK, Miroslav. *Laboratorní cvičení z obecné a anorganické chemie I. 2*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2011. ISBN 978-80-7395-385-0.

- [39] *Rozpustnost*. Online. In: Grade Gorilla. 2025. Dostupné z: https://www.gradegorilla.com/chemistry/i_EDE/Solubility/IEsolubility1.php. [cit. 2025-05-24].
- [40] *Stříkačkové filtry*. Online. In: Pragolab. 2023. Dostupné z: <https://www.pragolab.cz/chromatografie-a-ms/spotrebni-material/priprava-vzorku/strikackove-filtry>. [cit. 2025-05-24].
- [41] *Lipidy*. Online. VŠCHT Praha. 2025. Dostupné z: <https://web.vscht.cz/~koplikr/Lipidy2.pdf>. [cit. 2025-05-24].
- [42] MACHÁČEK, Vladimír. *Návody pro laboratorní cvičení z organické chemie*. Vyd. 2. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2004. ISBN 80-7194-646-X.
- [43] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2. Dostupné také z: <http://krameriusndk.nkp.cz/search/handle/uuid:79f8ee60-54bf-11e2-8888-005056827e51>.
- [44] *ASTM D6371-17a*. Online. AYALYTICAL. 2024. Dostupné z: <https://ayalytical.com/astm-d6371/>. [cit. 2025-05-24].
- [45] *Infračervená spektrometrie - Tabulky*. Online. VŠCHT Praha. 2025. Dostupné z: https://old.vscht.cz/anl/dolensky/uvodstrukturyleciva/soubory/05_UvDoStAnFaLa_I_R_Tabulky.pdf. [cit. 2025-06-09].