

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI

FAKULTA PEDAGOGICKÁ

KATEDRA CHEMIE

**Stanovení vybraných složek v ovocném destilátu  
metodou plynové chromatografie**

Bakalářská práce

**Klára Sloupová**

*Chemie se zaměřením na vzdělávání – prohlubující modul*

Vedoucí práce: Ing. Jan Hrdlička, Ph.D.

**Plzeň 2019**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s použitím uvedené literatury a zdrojů informací.

V Plzni, 30. 4. 2019

.....  
vlastnoruční podpis

Na tomto místě bych chtěla především poděkovat vedoucímu mé práce Ing. Janu Hrdličkovi, Ph.D., za čas a vstřícnost, kterou mi věnoval hlavně v laboratoři a za cenné odborné rady a připomínky, kterými přispěl ke vzniku této bakalářské práce. Děkuji také rodině a přátelům za trpělivost a podporu při práci.

## OBSAH

|   |    |
|---|----|
| 1. ÚVOD.....  | 1  |
| 2. TEORETICKÁ ČÁST.....   | 2  |
| 2.1. PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE.....  | 2  |
| 2.1.1. Princip plynové chromatografie.....                                    | 2  |
| 2.1.2. Kolony.....  | 2  |
| 2.1.3. Nástřik vzorku.....  | 3  |
| 2.1.4. Detektor.....  | 4  |
| 2.1.5. Kvalitativní analýza.....  | 5  |
| 2.1.6. Kvantitativní analýza.....   | 7  |
| 2.1.7. Pracovní techniky kvantitativní analýzy v plynové chromatografii.....  | 7  |
| 2.2. VÝROBA DOMÁCÍCH DESTILÁTŮ.....   | 7  |
| 2.2.1. Historie výroby domácích slivovic a pálenek.....                       | 7  |
| 2.2.2. Výběr a zpracování ovoce.....  | 8  |
| 2.2.3. Kvašení a příprava rmutu.....  | 9  |
| 2.2.4. Destilace.....   | 10 |
| 2.2.5. Výtěžnost ethanolu.....  | 10 |
| 2.2.6. Ethanol a jeho účinky na zdraví jedince.....                           | 12 |
| 2.2.7. Methanol a jeho účinky na zdraví jedince.....                          | 12 |
| 3. PRAKTICKÁ ČÁST.....  | 14 |
| 3.1. POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....  | 14 |
| 3.2. PLYNOVÝ CHROMATOGRAF DANI MASTER.....                                    | 14 |
| 3.2.1. Kolona ZB – WAXPlus.....   | 14 |
| 3.3. PLYNOVÝ CHROMATOGRAF CLARUS 500.....                                     | 15 |
| 3.3.1. Kolona DB-624.....   | 15 |
| 3.4. MĚŘENÍ DOMÁCÍCH DESTILÁTŮ NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU CLARUS 500.....      | 16 |
| 3.4.1. Měření kalibračních křivek.....  | 16 |
| 3.4.2. Měření vzorků destilátů.....   | 18 |
| 3.4.3. Výpočet koncentrace methanolu a 2-propanolu ve vzorcích destilátů..... | 21 |
| 3.5. MĚŘENÍ DOMÁCÍCH DESTILÁTŮ NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU DANI MASTER.....     | 23 |
| 3.5.1. Měření kalibračních křivek.....  | 23 |
| 3.5.2. Měření vzorků destilátů.....   | 28 |
| 3.5.3. Výpočet koncentrace methanolu a ethanolu ve vzorcích destilátů.....    | 28 |
| 3.6. POROVNÁNÍ OBSAHU METHANOLU VE VZORCÍCH RŮZNÉHO STÁŘÍ.....                | 30 |
| 4. DISKUSE.....   | 31 |
| 5. ZÁVĚR.....   | 33 |
| 6. RESUMÉ.....  | 34 |
| 7. SEZNAM LITERATURY.....   | 35 |
| SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK, GRAFŮ A DIAGRAMŮ.....                                | 37 |
| PŘÍLOHY.....  | I  |

## **SEZNAM ZKRATEK**

GC – plynová chromatografie

FID – plamenově ionizační detektor

ADH – alkoholdehydrogenasa

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Plynová chromatografie, methanol, ethanol, kalibrační křivka, ovocný destilát, vnitřní standard, koncentrace, lihovitost, 2-propanol, slivovice.

## 1. ÚVOD

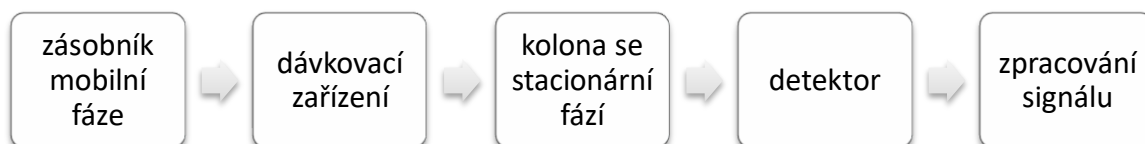
Plynová chromatografie je vhodná metoda pro stanovení těkavých látek ve složitějších vzorcích. Využívá se různé síly interakce mezi analytem a stacionární fází při průchodu jednotlivých analytů kolonou naplněnou stacionární fází. Dochází k separaci plynů a par unášených mobilní fází. Vzorek musí být plyn nebo těkavá kapalina o dostatečné koncentraci analytu, jenž nesmí tepelně degradovat. Jednou z typických skupin organických látek, které lze analyzovat metodou plynové chromatografie jsou alkoholy. V této práci jsou použity různé standardy alkoholů (methanol, ethanol, 2-propanol, 1-propanol, oktan-1-ol, hexanol, pentanol, t-butanol, isobutanol) a analyzovanými vzorky jsou domácí pálenky. Na základě interakce stacionární fáze s analyzovanými látkami jsou od sebe separovány jednotlivé fragmenty vzorků. K určení kvantitativního složení vzorků je použita metoda kalibrační křivky. Cílem práce je jednak zjistit obsah methanolu ve vzorcích domácích pálenek a následně porovnat koncentrace methanolu ve vzorcích různého stáří. Za druhé pak porovnat složení jednotlivých pálenek z hlediska obsahu dalších alkoholů.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1. PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

#### 2.1.1. PRINCIP PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE

Plynová chromatografie (dále GC) je analytická separační metoda, která rozděluje jednotlivé fragmenty vzorku na základě jejich interakce se stacionární fází v chromatografické koloně. Metoda je určena ke stanovení plynů, kapalin a pevných látek s bodem varu do cca 400 °C. Stacionární fáze může být složena z látek vysoce polárních až po látky nepolární v kapalném nebo pevném skupenství. Vzorek je kolonou unášen pomocí mobilní fáze, která je tvořena inertním plynem a se vzorkem neinteraguje. Jako nosný plyn se používá dusík, vodík nebo helium. Průtok mobilní fáze kolonou je dán expanzí plynu z tlakové lahve a je počítán ze vstupního tlaku. Zóny jednotlivých složek vstupují z kolony na detektor, který stanovuje jejich koncentraci v mobilní fázi. Signál z detektoru se vhodně upravuje a vzniká graf, který se nazývá chromatogram. Zobrazuje závislost signálu detektoru na čase průchodu fragmentů kolonou. Průchod vzorku kolonou je zobrazen na Obrázku 1.



Obrázek 1: Blokové schéma chromatografu.<sup>1</sup>

#### 2.1.2. KOLONY

Kolonu můžeme použít buď náplňovou, nebo kapilární. Náplňová kolona je tvořena sklem nebo nerezovou ocelí, plní se porézním inertním nosičem a má nižší separační schopnost než kolona kapilární. Kolona kapilární je tvořena z křemene, jehož povrch je z vnějšku pokryt vrstvou polymeru. „Podle umístění stacionární fáze v kapilární koloně rozlišujeme dva druhy. První jsou kolony s potaženou vnitřní stěnou, které mají stacionární fázi nanesenou v tenké vrstvě na vnitřní stěně kapiláry (WCOT, wall-coated open tubular). Druhé jsou kolony, které mají imobilizovanou tenkou vrstvu materiálu na vnitřní stěně kapiláry, na jehož povrchu je adsorbována stacionární fáze

(*SCOT, support-coated open tubular*). Kapilární kolony s chemicky vázanou stacionární fází se vyznačují vysokou separační schopností, umožňující separovat i více než 100 složek vzorku.<sup>1</sup> Detailní charakteristika jednotlivých parametrů náplňové a kapilární kolony je uvedena v Tabulce 1.

Kolony jsou během měření vyhřívány na určitou teplotu. Ta může zůstat po dobu měření konstantní nebo se může měnit. Změnou teploty dochází k analýze vzorků nehomogenních směsí látek s různými body varu. Při využití teplotního gradientu dochází ke zkrácení doby analýzy nebo k zlepšení tvaru chromatografických píků např. k zúžení signálů a vyšší citlivosti.<sup>4</sup>

Tabulka 1: **Charakteristika kolon pro GC.**<sup>5</sup>

|                                 | Náplňové         | Kapilární        |
|---------------------------------|------------------|------------------|
| vnitřní průměr d [mm]           | 2 – 5            | 0,2 – 0,7        |
| délka L [m]                     | 0,5 – 4          | 10 – 60          |
| permeabilita [cm <sup>2</sup> ] | 10 <sup>-7</sup> | 10 <sup>-5</sup> |
| výška teoretického patra [mm]   | 1                | 0,3              |

### 2.1.3. NÁSTRÍK VZORKU

Metoda plynové chromatografie se využívá pro analýzu těkavých látek, které je možné převést do plynného stavu.<sup>2</sup> Dávkovat se může vzorek v kapalném nebo plynném skupenství, který je dostatečně těkavý, ve vhodné koncentraci a tepelně stabilní, aby nedocházelo k jeho degradaci. Vzorek v plynné fázi je dávkován pomocí dávkovacích ventilů (injektorů). Vzorek v kapalně fázi je dávkován pomocí injekční stříkačky přes septum ze silikonové gumy, které odděluje vnitřní prostor injektoru od vnějšího prostředí, do vyhřívané dávkovací komory. Dochází k zplynění vzorku ve skleněném lineru, který by měl mít dostatečnou teplotu k zplynění vzorku. Předtím než se páry dostanou do kolony, prochází přes dělič toku, který do kolony přivádí pouze potřebné množství vzorku, které si stanovíme.



**„Analytická metoda plynové chromatografie se používá pro analýzu:**

1. *Plynných vzorků,*
  - a. *bez úpravy,*
  - b. *po jejich zkoncentrování*
    - i. *v kapalinách a následném dávkování plynné fáze nad kapalinou (headspace)*
    - ii. *v kapalinách a následném dávkování kapalné fáze*
    - iii. *na tuhých sorbentech a následné tepelné desorpci*
    - iv. *vymražením a následné tepelné desorpci,*
2. *kapalných vzorků*
  - a. *bez úpravy, přímým nástřikem nebo nástřikem plynné fáze nad kapalinou (headspace)*
  - b. *po jejich převedení na těkavé sloučeniny chemickou reakcí*
3. *tuhých vzorků*
  - a. *po jejich rozpuštění ve vhodném rozpouštědle,*
  - b. *po jejich derivatizaci, po jejich kontrolovaném tepelném rozkladu, pyrolýze.*“<sup>3</sup>

**2.1.4. DETEKTOR**

Na detektor vstupují zóny jednotlivých složek z kolony, ve kterých se stanovuje koncentrace složky v mobilní fázi. Detektor má mít vyšší teplotu než plyny vycházející z kolony. Pokud by byl detektor chladnější, než plyn vycházející z kolony, mohlo by docházet ke kondenzaci některých analytů. Existuje více druhů, ale pro analýzu vzorků v této práci byl použit plamenově ionizační detektor (flameionizationdetector – dále FID).

**Plamenově ionizační detektor:**

Detektor je opatřen mikrohořákem, na který je přivedena ocelová tryska s přívodem nosného plynu – vodíku a vzduchu (kyslíko-vodíkovým plamenem). Složky unášené nosným plynem se spálí a hydrogenují v plameni na ionty, umožňují elektrický tok mezi elektrodami umístěnými u plamene, na které je vloženo stabilizované

stejnoseměrné napětí a vzniká signál. Detektor je citlivý na velké množství organických látek, zejména uhlovodíků. Naopak je málo citlivý na neuhlovodíkové plyny, páry, oxidy a udává nízkou odezvu na nosný plyn.

### 2.1.5. KVALITATIVNÍ ANALÝZA

Kvalitativní analýzou vzorku určujeme, ze kterých složek se vzorek skládá. Retenční čas ( $t_R$ ) je základním parametrem pro popis složky v plynové chromatografii. Jeho signál je funkcí obsahu analytu ve vzorku a citlivosti detekčního zařízení. Je závislý na experimentálních podmínkách, jako jsou rozměry kolony a průtoková rychlost nosného plynu. Není tedy možné porovnávat výsledky získané při různých podmínkách měření.

#### **Retenční čas analytu:**

$$t_R = \frac{L}{u'}$$

kde  $L$  je délka kolony v cm a  $u'$  je průměrná lineární rychlost analytu. Retenční čas udává dobu, která uběhne od nástřiku vzorku k vrcholu píku.

Retenční čas vychází z definice mrtvého času ( $t_M$ ). Ten udává retenční čas látky, která neinteraguje se stacionární fází.

#### **Mrtvý čas ( $t_M$ ):**

$$t_M = \frac{L}{u}$$

kde  $L$  je délka kolony v cm a  $u$  je lineární rychlost mobilní fáze v koloně.

Retenční čas analytu lze také vyjádřit jako tzv. redukovaný retenční čas ( $t_R'$ ), který charakterizuje dobu, po kterou analyt interagoval se stacionární fází.

$$t_R' = t_R - t_M$$

Retenční faktor ( $k$ ) je důležitá veličina pro určení retenčních vlastností analytu. Retenční faktor popisuje poměr redukovaného retenčního času ( $t_R'$ ) a mrtvého času ( $t_M$ ).

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M} = \frac{t_R'}{t_M}$$

Výška teoretického patra ( $H$ ) je charakterizována poměrem délky kolony ( $L$ ) a počtem teoretických pater ( $n$ ).

$$H = \frac{L}{n}$$

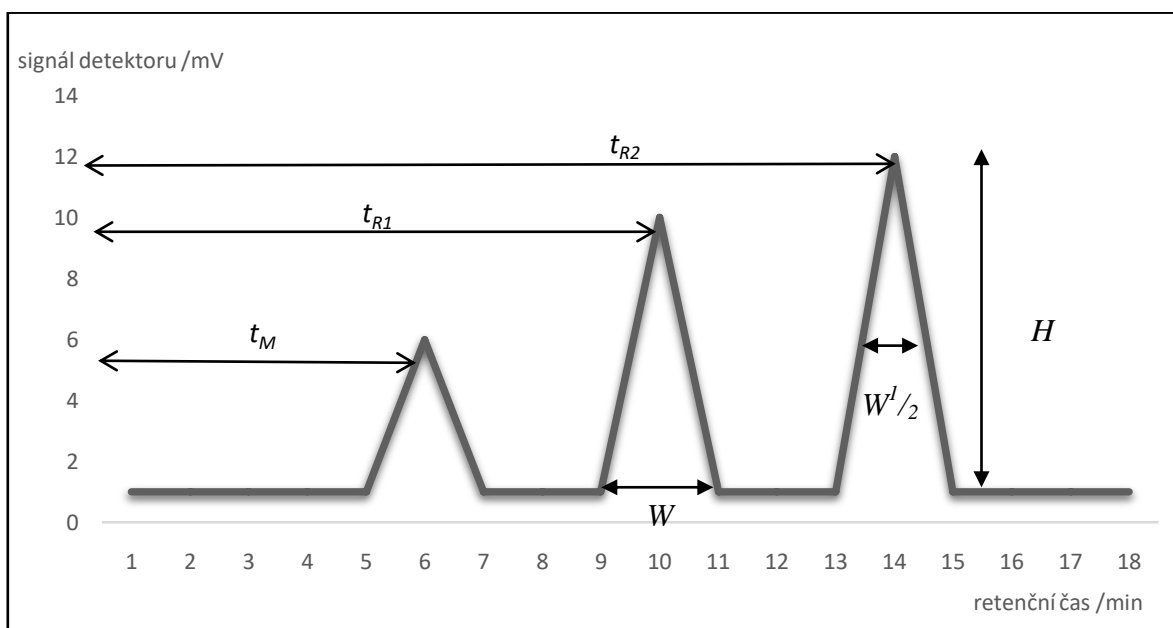
$$n = 5,545 \left( \frac{t_R}{w^{1/2}} \right)^2$$

Kde  $t_R$  je retenční čas posledního detekovaného analytu a  $w^{1/2}$  představuje šířku tohoto píku v polovině jeho výšky. Faktor před závorkou 5,545 ( $= 8 \ln 2$ ) je spojen s určením šířky celého píku v polovině výšky.

Důležitá je také úroveň separace analytů neboli rozlišení dvojice analytů ( $R$ ):

$$R_{1,2} = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{w_1 + w_2}$$

kde  $t_{R2}$ ,  $t_{R1}$  jsou retenční časy stanovovaných analytů a  $w_{1,2}$  je šířka píku v základně, která slouží k výpočtům separace, rozlišení dvou sousedních píků nebo výpočtu plochy píku.<sup>1,3</sup> Příklad chromatogramu pro dvě analyzované složky a mrtvý čas látky, která neinteragovala se stacionární fází, je uveden na Grafu I.



**Graf I: Chromatogram závislosti signálu detektoru na čase průchodu fragmentů kolonou.**

### 2.1.6. KVANTITATIVNÍ ANALÝZA

Kvantitativní analýza nám pomáhá určit množství nebo koncentraci jednotlivých složek ve vzorku. Množství vzorku prošlého detektorem charakterizuje plocha píku. Plynová chromatografie pracuje v nanogramové a pikogramové oblasti, proto je důležitá správná příprava a dávkování vzorku, správný odběr reprezentativního vzorku, derivatizace nebo ředění vzorku před nástřikem.

### 2.1.7. PRACOVNÍ TECHNIKY KVANTITATIVNÍ ANALÝZY V PLYNOVÉ CHROMATOGRAFII

Ke stanovení obsahu analytu ve vzorku je možné využít celou řadu metod, jako jsou:

- 1) Metoda absolutní kalibrace – dochází k dávkování známých množství analyzovaného vzorku a standardu za identických podmínek.
- 2) Metoda vnitřního standardu – do vzorku se přidá známé množství látky, která neinteraguje s ostatními píky ve vzorku.
- 3) Metoda standardního přídávku – ke známému množství vzorku se přidává známé množství stanovované složky.
- 4) Metoda vnitřní normalizace – procentuální zastoupení jednotlivých složek ve směsi se vypočítá na základě změřených ploch všech píků.
- 5) Metoda kontrolované vnitřní normalizace.<sup>5,7</sup>

Pro stanovení v této práci byla použita metoda absolutní kalibrace, a to konkrétně technika kalibrační křivky. Dochází k dávkování známých množství analyzovaného vzorku a standardu za identických podmínek. Byla změřena kalibrační křivka tak, že bylo dávkováno stejné množství různě koncentrované směsi do injektoru. Každý ze standardních roztoků obsahující standard byl dávkován dvakrát po sobě pro potvrzení linearitu odezvy. Ze změřených dat byla v Excelu vytvořena kalibrační křivka závislosti plochy píku A na koncentraci analytu  $\varphi$ . Množství jednotlivých analytů ve vzorku bylo zjištěno porovnáním naměřených ploch nebo výšek s kalibrační křivkou.

## 2.2. VÝROBA DOMÁCÍCH DESTILÁTŮ

### 2.2.1. HISTORIE VÝROBY DOMÁCÍCH SLIVOVIC A PÁLENEK

Produkty lihového kvašení znalo lidstvo od pradávna. Nebyly známy přesné postupy výroby ani to, co se při procesu kvašení nebo destilace odehrává za chemické děje. Lidstvo si předávalo postupy výroby opojného moku z generace na generaci.

Později se naučili do vzniklého alkoholu macerovat různé drogy a byliny. Nebylo známo nic o činnosti kvasinek nebo mikroorganismů, které způsobovaly fermentaci. Věřilo se, že vzniklý nápoj jim byl seslán bohy. Destilaci ovocných šťáv pravděpodobně poprvé zkusili lidé z Egypta nebo Číny. Jejich učení se šířilo dále díky Arabům do celého světa. Právě Arabové pojmenovali tento nápoj jako al-khol, nebo-li „jemná látka“ (od toho naše pojmenování alkohol). Alkoholů přisuzovali léčivé schopnosti, používal se při výrobě voňavek a éterických olejů. Způsob destilace využívali i námořníci na moři, aby získali pitnou vodu. Roku 1800 byla poprvé sestavena chemická rovnice lihového kvašení Francouzem Gay-Lussacem. Popsal děj, kdy z jedné molekuly jednoduchého cukru vznikají dvě molekuly ethanolu a dvě molekuly oxidu uhličitého. V rovnici však nebyla zahrnuta činnost kvasinek, které jsou iniciátory děje. Louis Pasteur byl prvním, který prokázal přítomnost živých organismů při procesu fermentace. První pálenice u nás byla založena roku 1400 v Kutné Hoře králem Václavem IV.. Pálení destilátů se rozšiřovalo po celé zemi a začínalo se pálit i z obilí, medu, brambor nebo melasy. Všechny odpad z pálení byl poté zkrmován. Dnes má domácí výroba slivovice oblibu hlavně na území Moravy.<sup>11</sup>

### 2.2.2. VÝBĚR A ZPRACOVÁNÍ OVOCE

Výběr vhodného ovoce je jedním z nejdůležitějších faktorů k získání dobrého destilátu. V dnešní době lze zpracovat téměř jakýkoliv druh ovoce, který splňuje vhodné podmínky. Mezi tyto podmínky patří například zralost ovoce, která dále udává jeho chemické složení, aroma, chuť a vybarvení. Je třeba ho důkladně očistit od pylu, větviček nebo hnilých částí. Následně můžeme přejít k drcení nebo mačkání, tím zrychlíme proces kvašení. U peckovin nesmí dojít k drcení pecek, přičemž by se uvolňoval amygdalin, který se enzymatickým rozkladem přeměňuje na zdraví škodlivý kyanovodík a benzaldehyd. Proto je vhodné peckové ovoce před zpracováním vypeckovat.<sup>8,9,10</sup> Schéma doporučeného procesu úpravy ovoce na výrobu ovocných destilátů je uveden na Obrázku 2.



Obrázek 2: Proces úpravy ovoce na výrobu ovocných destilátů.

### 2.2.3. KVAŠENÍ A PŘÍPRAVA RMUTU

Rmut vzniká rozmělněním a drcením očištěného ovoce. Ve šťávě obsažený cukr začne kvasit. Alkoholové kvašení je biochemický proces, který probíhá díky působení kvasinek. Ty spotřebovávají cukr z ovoce a pomocí enzymů z něj dělají alkohol. Kvasinky jsou přítomny v ovoci, ale při výrobě destilátů se přidávají do výroby další, aby urychlily proces kvašení. Vedle kvasinek začínají ve šťávě vznikat i bakterie a plísňe, které je třeba omezit.

Kvašení je možné urychlit propagací kvasinek, přidáním živných solí, enzymatickým odbouráváním pektinových látek, okyselováním kvasu nebo zvyšováním teploty. Při kvašení vzniká kromě alkoholu i oxid uhličitý, který vytváří ochranou atmosféru před nežádoucími organismy vyháněním kyslíku z kvasu. Rmut je uložen v kvasných nádobách, kde kvasí až 100 dní. Nádoby by měly být plněné do 3/4 objemu a uloženy na vhodné místo s teplotou okolo 20 °C. Nádoba je uzavřena hermetickou závěrou, která propouští vznikající oxid uhličitý ven a zabraňuje přístupu kyslíku. Ovocná drť se nechá samovolně kvasit a každý den se musí kontrolovat, zda dochází k bublání směsi, má-li kvas správnou teplotu, chuť a vůni. Na hladině se tvoří matolinový klobouk, který je třeba každých pár dní promíchat a dostat ho tak pod hladinu. Aromatické látky vázány na pevných částicích tak zůstávají v kontaktu s kapalinou, do které postupně přecházejí. Pokud klobouk nemícháme, může vznikat nežádoucí slámové aroma. Kvašení můžeme považovat za hotové, dosáhneme-li správné hodnoty alkoholu ve směsi, nevzniká žádný oxid uhličitý, zmizel-li nám matolinový klobouk nebo je-li kvas chuťově trpký. Před destilací je vhodné nechat kvas nějakou dobu stát. Dochází k esterifikačním pochodům, které nám zvyšují aroma destilátu. Kvas se před destilací nefiltruje, ztrácí se tím aromatické látky obsažené v pevném podílu kvasu.<sup>8, 9, 10</sup>

#### 2.2.4. DESTILACE

Destilace je fyzikálně-chemický proces oddělení směsi dvou kapalin na základě rozdílu jejich bodu varu a následné kondenzaci par. V našem případě jde o oddělení ethanolu a vody. Kvas se čerpá do kotle a ihned se převede k varu. Obsahem kotle je nutné celou dobu míchat, aby nedošlo k připálení směsi. Doba destilace závisí na obsahu ethanolu v kvasu. Při destilaci rozlišujeme tři podíly: úkap, prokap a dokap. Úkap je první podíl destilace, který má nejnižší teplotu páry. Vzniká převážně při destilaci chybných kvasů. Čím méně bude nečistot v původním kvasu, tím méně bude úkapu. Poznáme ho podle štiplavého zápachu a jeho správné oddělení je důležité pro chuť a vůni destilátu. Prokap obsahuje žádaný alkohol, tedy ethanol s ovocným aroma. Dokap je tvořený látkami pocházejícími ze vstupních surovin, které se vlivem dlouhého vaření rozložily. Destilát lze dále zpracovat na čistý ethanol bez aromat. Je vhodné destilovat dvakrát, aby se dosáhlo vyššího obsahu ethanolu v produktu. Obsah ethanolu v jádře je vyšší, než je stanovená norma, proto se musí upravit. Jádro má obsah 60 – 80 obj. % ethanolu, ředí se vodou zhruba na 50 obj. %, což zvýší chuť ovoce. Množství ethanolu je závislé na obsahu cukru v surovinách. Po destilaci je třeba upravit sílu alkoholu, zfiltrovat nebo čířit pálenku. Před konzumací je vhodné pálenky nechat uležet, aby získaly jemnější chuť.<sup>8,9,10</sup>

#### 2.2.5. VÝTĚŽNOST ETHANOLU

Množství získaného ethanolu z domácích pálenek je závislé především na množství cukru, který je obsažen v použitém ovoci na výrobu destilátu. V ovoci vhodném k pálení je nejčastěji obsažen invertní cukr. K přípravě 60 litrů destilátu je přibližně potřeba zpracovat 100 kg daného cukru. Při kvašení dochází k rozkladu cukru z ovoce na alkohol a oxid uhličitý, ale mimo těchto dvou látek vznikají i vyšší alkoholy, aldehyd nebo glycerin. Část cukru se spotřebovává také při působení kvasinek, které ho používají ke své výživě a ke stavbě nových buněk. Z těchto důvodů nemůžeme dosáhnout 100% výtěžku. K dosažení co největší výtěžnosti je třeba při procesu kvašení použít co nejkvalitnější kvasničnou kulturu a přídavek živin a vitamínů pro kvasinky. K ztrátám alkoholu dochází i při nedostatečném působení kvasnic. Může se stát, že kvasnice nemohou zkvasit veškerý cukr, který byl použit při výrobě. Nevhodnou nebo neodbornou manipulací s destilátem si může způsobit ztrátu alkoholu sám výrobce. Chybu je možné způsobit například v pozdním přechodu k destilaci, pokud není kvas vhodně uložen. Alkohol se může vypařovat v špatně uzavřených nebo utěsněných

nádobách. K dalším ztrátám dochází při uskladnění vykvašených břeček ve vysokých teplotách. Pokud nám při kvašení nastane bakteriální kvašení, kromě ztrát alkoholu začínají vznikat například organické kyseliny, které nám ovlivňují chuť finálního destilátu. Ani samotná destilace se neobejde bez ztrát získaného alkoholu. Pokud na destilačním zařízení budou netěsná místa nebo nebude dosaženo dostatečné kondenzace, například malým přívodem chladicí vody k chladiči. Pokud použijeme nevhodný destilační přístroj nebo pokud dojde k neodborné manipulaci s přístrojem, nemusí dojít k celkové destilaci a určitý podíl alkoholu zůstane ve výpalkách. Bude-li správně provedena destilace, tak největší výtěžek alkoholu se dá předpokládat u třešní a švestek, kdy ze 100 kg ovoce je možné získat 4 až 8 litrů čistého alkoholu. Naopak při použití bobulovitých plodů jsou výtěžky alkoholu poměrně nízké, stejně jako při zpracování ovocných výtlačků po špatně zpracovaném lisování, kde bylo použité nadbytečné množství vody.

Po vypálení domácího destilátu se upravuje jeho lihovitost pomocí destilované nebo měkké vody. Takto upravený destilát je možné rovnou konzumovat nebo ho může pěstitel skladovat v demižonech a skleněných lahvích. Pokud majitel počítá s tím, že bude destilát skladován delší dobu, je výhodné jej skladovat v tmavších lahvích v tmavé místnosti při nižších teplotách. Není vhodné skladovat destilát v plastových lahvích, protože může dojít k vyluhování nepatřičných složek z plastu, které mohou být pro konzumenta zdravotně závadné. Po vypálení destilátu by měly být lahve, ve kterých je skladován destilát alespoň deset dní otevřené. Dochází k odpaření malého množství destilátu, ale také se odpaří nepatřičné látky, které by v budoucnu způsobovaly nepříjemný zápach lihoviny. K uzavření lahví je vhodné použít korkové zátky, které jsou předem povařeny ve vodě, protože tím se pěstitel zbaví plísně v jejich pórech. Pokud jsou dodrženy podmínky správného skladování lahví, může dojít například k esterifikaci alkoholů a kyselin. Tyto procesy způsobují zlepšení jakosti domácích destilátů.

Stanovení vzniklého obsahu ethanolu v destilátu je možné pyknometricky a následným porovnáním s alkoholickými tabulkami. Toto stanovení je časově náročné, jelikož se po dobu celého měření musí udržovat konstantní teplota, proto se tato metoda používá pouze v laboratořích. Dále je možné použít úředně ověřený lihoměr, který se používá v pálenicích nebo při domácí výrobě destilátu. Poslední z používaných metod je pomocí plynové chromatografie, která byla použita i při našem měření.<sup>11, 15, 16</sup>



### 2.2.6. ETHANOL A JEHO ÚČINKY NA ZDRAVÍ JEDINCE

Ethanol je považován za návykovou látku a je možné ho zařadit i mezi populární drogy dnešní doby. Závislost na ethanolu má negativní vliv na lidské tělo a zdraví jedinců. Může docházet k ovlivnění činnosti srdce, zánětům zažívacích orgánů, potenci, zánětům nervů, rozpadu jater, demenci a mnoha jiným dopadům na lidské zdraví. Ethanol po požití přechází zažívacím traktem do krve a dále až do mozku. Tento proces probíhá velice rychle a prvním příznakem požití ethanolu je opojení, které je doprovázeno zpomalením reflexů a řeči, nejistou chůzí nebo ztrátou orientačních schopností. Ethanol se váže na excitační receptory v mozku, inhibuje je a tak zeslabuje nervové impulzy. Nejvíce ovlivňuje glutamátové receptory, které vážou glutamát a umožňují průchod kationtů membránou. Alkohol zpomaluje tuto činnost a poté dochází ke zpomalení našich reflexů a řečové schopnosti. Ethanol se nejprve vstřebává do krve, až poté nastává jeho rozklad a postupné odbourávání, které probíhá pomalu a nezávisí na jeho koncentraci v krvi. Rozklad probíhá v játrech díky enzymatickým procesům. Přeměnu alkoholu na aldehyd katalyzuje enzym alkoholdehydrogenasa (ADH), která se vyskytuje v játrech a odbourává jak alkohol, který je produkovaný díky střevní mikroflóře, tak i alkohol, který člověk konzumuje. Vliv alkoholdehydrogenasy se snižuje při sklonu k alkoholismu. Část ethanolu se vylučuje v nezměněné formě například močí nebo potem. Urychlení přechodu alkoholu do krve umožňují například sycené nápoje oxidem uhličitým nebo cukr. Naopak tučné pokrmy, voda a mléko tento proces zpomalují. Požívání ethanolu způsobuje rozšiřování cév, dokonce požití v malém množství má pozitivní vliv na sekreci žaludečních šťáv a to způsobuje zvýšenou chuť k jídlu. Při požívání nadbytečného množství alkoholu hrozí vážné poškození žaludku.<sup>11,14</sup>

### 2.2.7. METHANOL A JEHO ÚČINKY NA ZDRAVÍ JEDINCE

Methanol se vyrábí katalytickou tlakovou syntézou ze syntézního plynu, tedy směsi vodíku s oxidem uhelnatým nebo dusíkem. Používá se jako rozpouštědlo, k výrobě formaldehydu, methylaminu a jiných sloučenin. Je velice dobře rozpustný ve vodě a je vysoce těkavý. V malém množství je přítomný v alkoholických nápojích. Smrtelná dávka methanolu se pohybuje okolo 1ml/kg. U některých jedinců se může smrtelná dávka pohybovat již okolo 30 ml nebo může způsobit slepotu. Při požití menšího množství může dojít k podráždění žaludku a střevním potížím. Způsobuje také bolesti hlavy, svalovou slabost, jeho požití může vést i k bezvědomí. Při požití je

nejrychlejší pomocí vypít 30-40 ml ethanolu a nevyvolávat zvracení. V nejbližší možnou dobu vyhledat lékařskou pomoc.<sup>17</sup>

### 3. PRAKTICKÁ ČÁST

Cílem této bakalářské práce bylo zaměřit se na sedm vzorků domácích destilátů a díky dvěma plynovým chromatografům s nastavenou odlišnou metodou měření porovnat zjištěné koncentrace methanolu. Na základě naměřených dat pak byla ověřována tenze o možném snižování koncentrace methanolu s přibývajícím stářím domácího destilátu. Dále byla pozornost věnována analýze výskytu některých vyšších alkoholů v daných vzorcích domácích destilátů.

#### 3.1. POUŽITÉ CHEMIKÁLIE

Ethanol, 2-propanol, methanol, tetrahydrofuran, 1-propanol, oktan-1-ol, hexanol, pentanol, t-butanol nebo isobutanol.

#### 3.2. PLYNOVÝ CHROMATOGRAF DANI MASTER

Měření standardů alkoholů a vzorků destilátů probíhalo na plynovém chromatografu DANI Master. Při měření na plynovém chromatografu byla k nástřiku použita mikrostříkačka Hamilton o celkovém objemu 10  $\mu\text{l}$ , přičemž byl dávkován 1  $\mu\text{l}$  příslušného vzorku. Při odběru vzorků bylo dbáno na to, aby se v odebraném množství neobjevovaly bublinky vzduchu, které by rušily stanovení. Nástřík byl aplikován do injektoru. Vzorek procházel kolonou Zebron ZB – WAXPlus, která byla délky 30 m s průměrem 0,25 mm a tloušťkou naneseného filmu na povrchu kolony 0,25  $\mu\text{m}$ . Jako nosný plyn byl použit dusík s rychlostí průchodu kolonou 1,5 ml/min.

K detekci analytů byl použit plamenově ionizační detektor, do kterého ústily plyny: vodík s průtokem 40 ml/min, dusík s průtokem 25 ml/min a vzduch s průtokem 280 ml/min. Maximální operační teplota temperované pece se mohla pohybovat v rozmezí od 5 °C nad laboratorní teplotu do 500 °C, která byla ovlivněna maximální možnou teplotou injektoru a detektoru při měření. Teplota injektoru a detektoru, která byla použita v dané metodě k měření, byla nastavena na 200 °C.<sup>6</sup>

Bylo měřeno s využitím teplotního programu. Po nástřiku se pět minut držela teplota kolony na 35 °C, následoval nárůst po 10 °C/min až do 85 °C, poté byl nárůst 25 °C/min až do 260 °C.

##### 3.2.1. KOLONA ZB – WAXPLUS

Kolony typu WAXPlus jsou tvořeny polymerem, který poskytuje optimální podmínky měření pro vodné roztoky nebo vodné fáze nacházející se v alkoholech. U

dříve používaných kolon s polyethylenglykolovou fází, se vyskytovaly problémy, neboť stacionární fáze nebyla dostatečně stabilní při kontaktu s vodou obsaženou v analyzovaných vzorcích. V současnosti používaný vnitřní povrch kolony způsobuje zvýšenou stabilitu při opakovaných nástřicích vodné fáze. Mimo jiné je kolona vysoce inertní také vůči kyselým roztokům, poskytuje dobré rozlišení u vzorků z farmakologického průmyslu (analýza aldehydů a esterů), z potravinářského průmyslu (stanovení glykolů) nebo při konfirmační analýze reziduálních rozpouštědel. Poskytuje vysokou retenci vůči alkoholům a chlorovaným rozpouštědlům. Ideální teplota pro použití kolony se nachází kolem 20 °C.<sup>13</sup>

### 3.3. PLYNOVÝ CHROMATOGRAF CLARUS 500

K měření kalibrační křivky methanolu, 2-propanolu a vzorků domácích pálenek byl použit také plynový chromatograf CLARUS 500. Nástřik do injektoru probíhal pomocí autosampleru. Vzorek procházel kolonou DB-624, která byla délky 60 m s průměrem 0,32 mm a tloušťkou naneseného filmu na povrchu kolony 1,8 μm. Jako nosný plyn bylo použito helium s rychlostí průchodu kolonou 2 ml/min.

K detekci analytů byl použit plamenově ionizační detektor, do kterého ústily plyny: vodík s rychlostí průchodu 40 ml/min a vzduch s rychlostí průchodu 280 ml/min. Maximální operační teplota temperované pece se mohla pohybovat v rozmezí od 5 °C nad laboratorní teplotu do 500 °C. Maximální teplota injektoru a detektoru, která mohla být použita k měření, byla 300 °C. Bylo měřeno v teplotním programu. Po nástřiku se deset minut měřilo při 40 °C, následoval nárůst po 5 °C/min až do 80 °C, poté byl nárůst 30 °C/min až do 200 °C.

#### 3.3.1. KOLONA DB-624

Kolona DB-624 od firmy Agilent je tvořena polymery, které poskytují vhodné prostředí pro analýzu těkavých organických sloučenin, farmaceutických výrobků, vonných přísad a testování rozpouštědel určených pro separaci organických sloučenin. Její stacionární fáze je tvořena z 6 % kyanopropylfenylem a z 94 % dimetylpolysiloxanem a je nanesena ve velké tloušťce, která způsobuje dobrou retenci všech sloučenin. Stacionární fáze má nízkou krvácivost a tak se využívá pro GC/MS systémy. Teplota kolony se může pohybovat od -20 °C až do 260 °C. Její zvýšený teplotní limit umožňuje rychlejší ustálení i analýzy vzorků.<sup>13</sup>

### 3.4. MĚŘENÍ DOMÁCÍCH DESTILÁTŮ NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU CLARUS 500

#### 3.4.1. MĚŘENÍ KALIBRAČNÍCH KŘIVEK

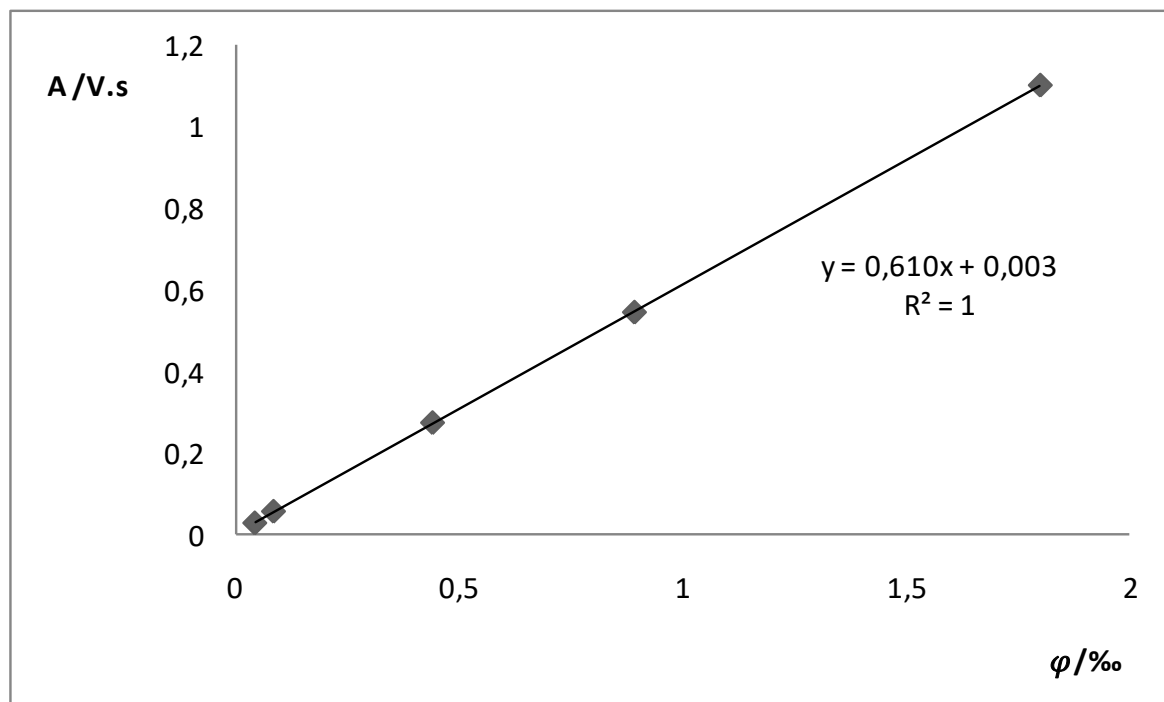
Před měřením samotných destilátů byla proměřena kalibrační křivka methanolu a 2-propanolu. Do 100 ml baňky byl připraven zásobní roztok methanolu a 2-propanolu a vnitřní standard. Byly připraveny roztoky V1 - V5 o různých koncentracích do 50 ml baněk podle Tabulky 2. Od každého roztoku byly pro ověření přesnosti změřeny dva nástřiky po nastavení teplotního režimu. Vzorokly byly dávkovány pomocí autosampleru.

Tabulka 2: Použité objemy pro roztoky používané k měření.

|                  |   |
|------------------|---|
| Zásobní roztok   | 94 ml 40% ethanolu<br>3 ml methanolu<br>3 ml 2-propanolu                                |
| Vnitřní standard | 3 ml tetrahydrofuranu<br>97 ml 40% ethanolu   |
| V1               | zásobní roztok 25 $\mu$ l<br>vnitřní standard 0,5 ml<br>doplněno 40% ethanolem po rysku |
| V2               | zásobní roztok 50 $\mu$ l<br>vnitřní standard 0,5 ml<br>doplněno 40% ethanolem po rysku |
| V3               | zásobní roztok 0,25 ml<br>vnitřní standard 0,5 ml<br>doplněno 40% ethanolem po rysku    |
| V4               | zásobní roztok 0,5 ml<br>vnitřní standard 0,5 ml<br>doplněno 40% ethanolem po rysku     |
| V5               | zásobní roztok 1 ml   |

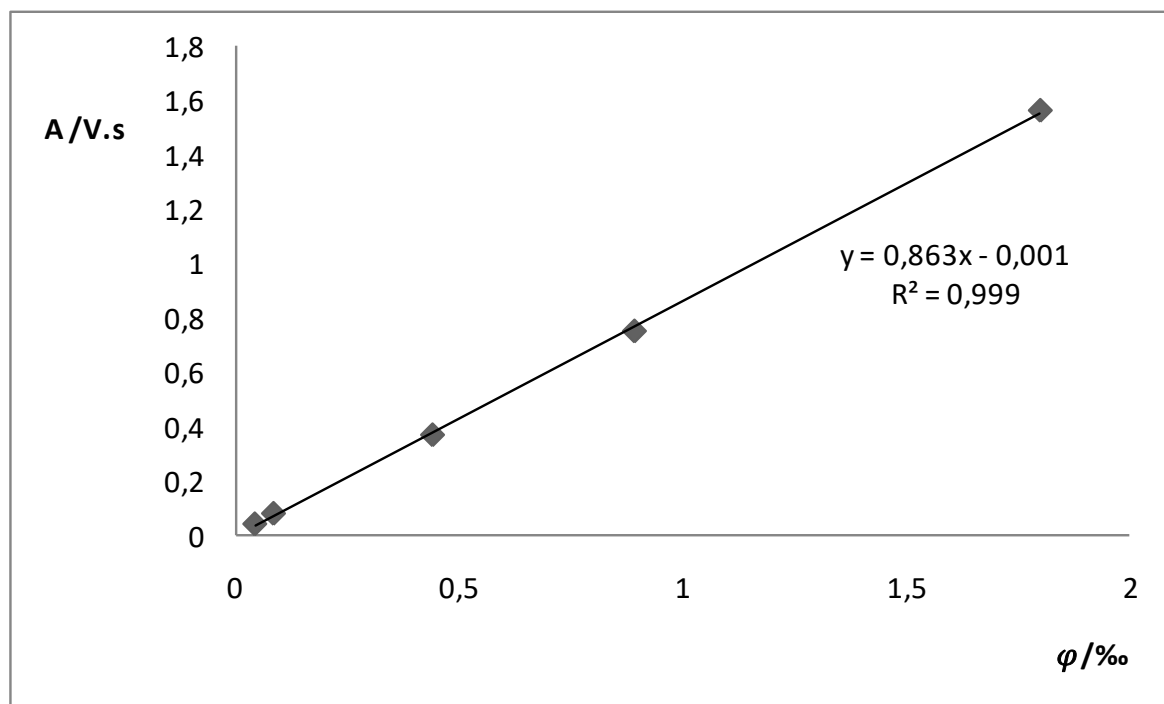
|    |  |
|----|--|
| V5 | vnitřní standard 0,5 ml<br>doplněno 40% ethanolem po rysku |
|----|--|

Naměřené hodnoty byly dále zpracovávány v programu Excel. Byla sestrojena kalibrační křivka pro methanol závislosti plochy píku A na koncentraci analytu  $\varphi$ , znázorněna na Grafu II.



**Graf II: Kalibrační křivka methanolu závislosti plochy píku A na koncentraci analytu  $\varphi$ .**

Poté byla sestrojena kalibrační křivka pro 2-propanol závislosti plochy píku A na koncentraci analytu  $\varphi$ , znázorněna na Grafu III.



Graf III: Kalibrační křivka 2-propanolu závislosti plochy píku A na koncentraci analytu  $\varphi$ .

#### 3.4.2. MĚŘENÍ VZORKŮ DESTILÁTŮ

K měření byly použity vzorky domácích destilátů od soukromého sběratele. Destiláty byly vybrány různého stáří, místa výpalu a rozdílného použitého ovoce. Po odběru byly destiláty uchovávány ve tmě a chladu. Všechny údaje o původu vzorků jsou popsány v Tabulce 3.

Tabulka 3: Popis použitých domácích destilátů.

| Označení vzorku | Druh        | Stáří | Oblast      |
|-----------------|-------------|-------|-------------|
| Sliv A          | Slivovice   | 2017  | Morava      |
| Sliv B          | Slivovice   | 2015  | Morava      |
| Sliv C          | Slivovice   | 2016  | Cejkovice   |
| Sliv D          | Meruňkovice | 2012  | Morava      |
| Sliv E          | Slivovice   | 2011  | Slovensko   |
| Sliv F          | Ořechovice  | 2017  | Jižní Čechy |
| Sliv G          | Slivovice   | 2014  | Německo     |

K měření si bylo ještě potřeba připravit baňky se-zásobním roztokem, výplachem, vnitřním standardem a slepým vzorkem. K přípravě těchto roztoků bylo třeba si připravit ještě roztoky 1, 2.

### **Výplach:**

Výplach byl připravený do litrové baňky, jelikož se používal i při přípravě zbylých roztoků. Byl použit čistý ethanol. Pomocí odměrného válce bylo odměřeno 600 ml destilované vody a 400 ml ethanolu. Oba objemy byly slity do odměrné baňky a celý obsah byl důkladně promíchán.

### **Roztok 1:**

Roztok byl připraven do 100 ml odměrné baňky. Pomocí odměrného válce bylo odměřeno 60 ml 40% ethanolu. Do odměrné baňky k ethanolu byly přidány 3 ml methanolu ze zásobní lahve a 3 ml 2-propanolu také ze zásobní lahve. Roztok byl doplněn po rysku destilovanou vodou a důkladně promíchán.

### **Roztok 2:**

Roztok byl připraven do 100 ml odměrné baňky. Pomocí odměrného válce bylo odměřeno 60 ml 40% ethanolu. Do odměrné baňky k ethanolu byly přidány 3 ml tetrahydrofuranu. Roztok byl doplněn po rysku 40% ethanolem a důkladně promíchán.

### **Vnitřní standard:**

Roztok byl připraven do 100 ml odměrné baňky. Pomocí odměrného válce bylo odměřeno 60 ml 40% ethanolu. Do odměrné baňky byly dále přidány 2 ml z roztoku 2. Roztok v odměrné baňce byl doplněn po rysku 40% ethanolem a důkladně promíchán.

### **Slepý vzorek:**

Roztok byl připraven do 100 ml odměrné baňky. Pomocí odměrného válce bylo odměřeno 60 ml 40% ethanolu. Do odměrné baňky byl dále přidán 1 ml z roztoku 2. Roztok v odměrné baňce byl doplněn po rysku 40% ethanolem.

### **Zásobní roztok:**

Roztok byl připraven do 10 ml odměrné baňky. Pomocí odměrného válce bylo odměřeno 5 ml roztoku 1. Do odměrné baňky bylo následně přidáno 5 ml vnitřního standardu a roztok byl důkladně promíchán.



Do připravených vialek označených „zásobní roztok, výplach a slepý vzorek“ byl pomocí automatické pipety odebrán 1 ml z připravených příslušných roztoků. Do připravených a označených vialek Sliv A – Sliv G byl pomocí automatické pipety napipetován 0,5 ml příslušného destilátu a 0,5 ml z baňky označené jako vnitřní standard. Všechny vialky byly důkladně promíchány a připraveny do autosampleru k měření. Byly měřeny vždy dva nástřiky pro každý vzorek.

Naměřené hodnoty byly převedeny do programu Excel a byly sestrojeny grafy, které jsou znázorněny v Příloze 1 - 14. Následně byly z grafů odečteny plochy píku pro methanol a 2-propanol, uvedeny v Tabulce 4.

**Tabulka 4: Změřené plochy píku A[V.s] methanolu a 2-propanolu pro vzorky destilátů, vždy uvedeny hodnoty pro oba nástřiky vzorku.**

| Název vzorku | Plocha píku methanolu | Název vzorku | Plocha píku methanolu | Název vzorku | Plocha píku 2propanolu | Název vzorku | Plocha píku 2propanolu |
|--------------|-----------------------|--------------|-----------------------|--------------|------------------------|--------------|------------------------|
| Sliv A1      | 0,9                   | Sliv D2      | 0,5                   | Sliv A1      | 0,002                  | Sliv D2      | 0,002                  |
| Sliv A2      | 0,9                   | Sliv E1      | 1,6                   | Sliv A2      | 0,005                  | Sliv E1      | 0                      |
| Sliv B1      | 1,0                   | Sliv E2      | 1,6                   | Sliv B1      | 0,001                  | Sliv E2      | 0                      |
| Sliv B2      | 1,0                   | Sliv F1      | 0,004                 | Sliv B2      | 0                      | Sliv F1      | 0                      |
| Sliv C1      | 1,8                   | Sliv F2      | 0,004                 | Sliv C1      | 0,002                  | Sliv F2      | 0                      |
| Sliv C2      | 1,8                   | Sliv G1      | 0,3                   | Sliv C2      | 0,003                  | Sliv G1      | 0,003                  |
| Sliv D1      | 0,5                   | Sliv G2      | 0,3                   | Sliv D1      | 0                      | Sliv G2      | 0,02                   |

### 3.4.3. VÝPOČET KONCENTRACE METHANOLU A 2-PROPANOLU VE VZORCÍCH DESTILÁTŮ

Pro zjištění koncentrace methanolu a 2-propanolu ve vzorcích byla použita metoda kalibrační křivky. Z grafu kalibrační křivky pro methanol byla odečtena rovnice přímky (bod 1.) Z rovnice přímky byla vyjádřena hodnota x (bod 2.). Za hodnotu y byla dosazena hodnota plochy píku pro methanol Sliv A, tedy 0,9V.s (bod 3.). Byla vypočtena hodnota x, tedy koncentrace methanolu ve vzorku destilátu Sliv A (bod 4.).

Bod 1:  $y = 0,610x + 0,003$

Bod 2:  $x = \frac{y-0,003}{0,610}$

Bod 3:  $x = \frac{0,9-0,003}{0,610}$

Bod 4:  $x = 1,5\%$

Stejným způsobem bylo postupováno při výpočtu všech ostatních vzorků destilátů i při výpočtu koncentrace 2-propanolu ve vzorku. Vypočtené koncentrace methanolu a 2-propanolu ve vzorcích destilátů z kalibrační křivky, jsou uvedeny v Tabulce 5.

Tabulka 5: Vypočtené koncentrace methanolu a 2-propanolu ve vzorcích destilátů.

| Název vzorku | $\varphi$ methanolu | Název vzorku | $\varphi$ methanolu | Název vzorku | $\varphi$ 2propanolu | Název vzorku | $\varphi$ 2propanolu |
|--------------|---------------------|--------------|---------------------|--------------|----------------------|--------------|----------------------|
| Sliv A1      | 1,5                 | Sliv D2      | 0,8                 | Sliv A1      | 0                    | Sliv D2      | 0                    |
| Sliv A2      | 1,5                 | Sliv E1      | 2,6                 | Sliv A2      | 0                    | Sliv E1      | 0                    |
| Sliv B1      | 1,6                 | Sliv E2      | 2,6                 | Sliv B1      | 0                    | Sliv E2      | 0                    |
| Sliv B2      | 1,6                 | Sliv F1      | 0                   | Sliv B2      | 0                    | Sliv F1      | 0                    |
| Sliv C1      | 2,9                 | Sliv F2      | 0                   | Sliv C1      | 0                    | Sliv F2      | 0                    |
| Sliv C2      | 2,9                 | Sliv G1      | 0,5                 | Sliv C2      | 0                    | Sliv G1      | 0                    |
| Sliv D1      | 0,8                 | Sliv G2      | 0,5                 | Sliv D1      | 0                    | Sliv G2      | 0,02                 |

Některé naměřené hodnoty koncentrace pro methanol a 2-propanol byly tak nízké, že bylo možné jejich hodnotu zanedbat. Tyto nízké koncentrace jsou v tabulce uvedeny pod nulovou hodnotou.

### 3.5. MĚŘENÍ DOMÁCÍCH DESTILÁTŮ NA PLYNOVÉM CHROMATOGRAFU DANI MASTER

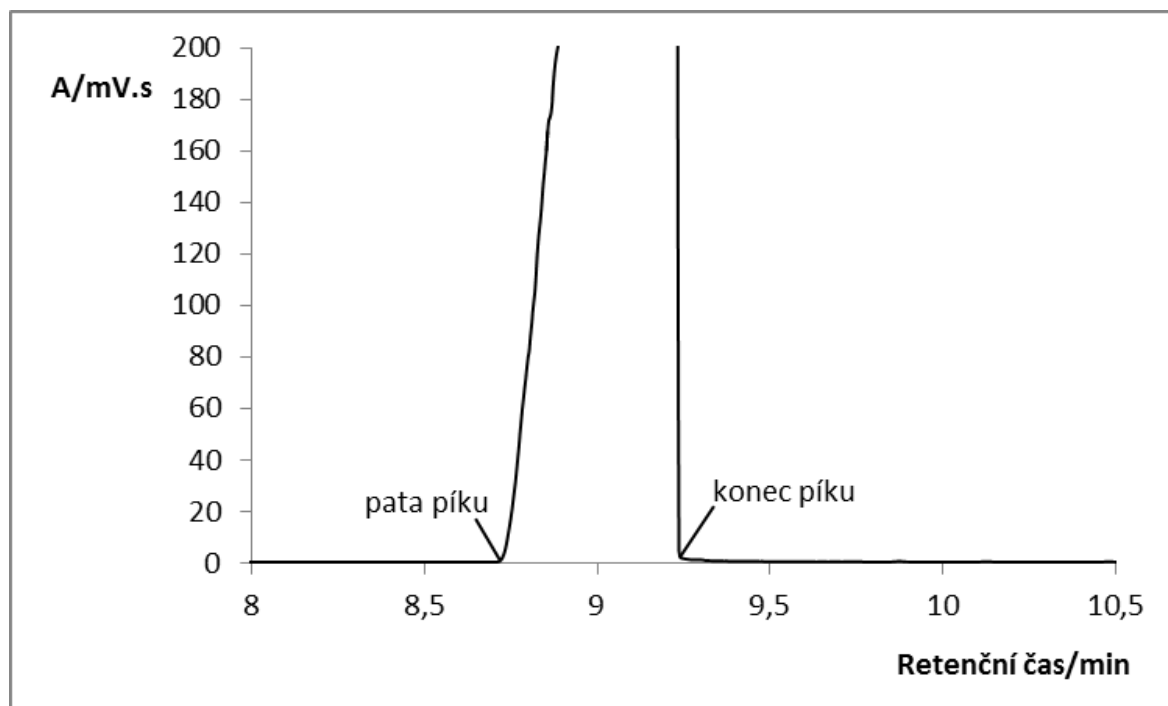
#### 3.5.1. MĚŘENÍ KALIBRAČNÍCH KŘIVEK

Před měřením kalibračních křivek a jednotlivých destilátů byly provedeny zkušební nástřiky čistých alkoholů pro následnou identifikaci jednotlivých píků v domácích destilátech. Měřen byl čistý 2-propanol, 1-propanol, oktan-1-ol, hexanol, pentanol, t-butanol a isobutanol. Naměřené retenční časy jednotlivých alkoholů jsou uvedeny v Tabulce 6.

Tabulka 6: Retenční časy v minutách pro jednotlivé alkoholy.

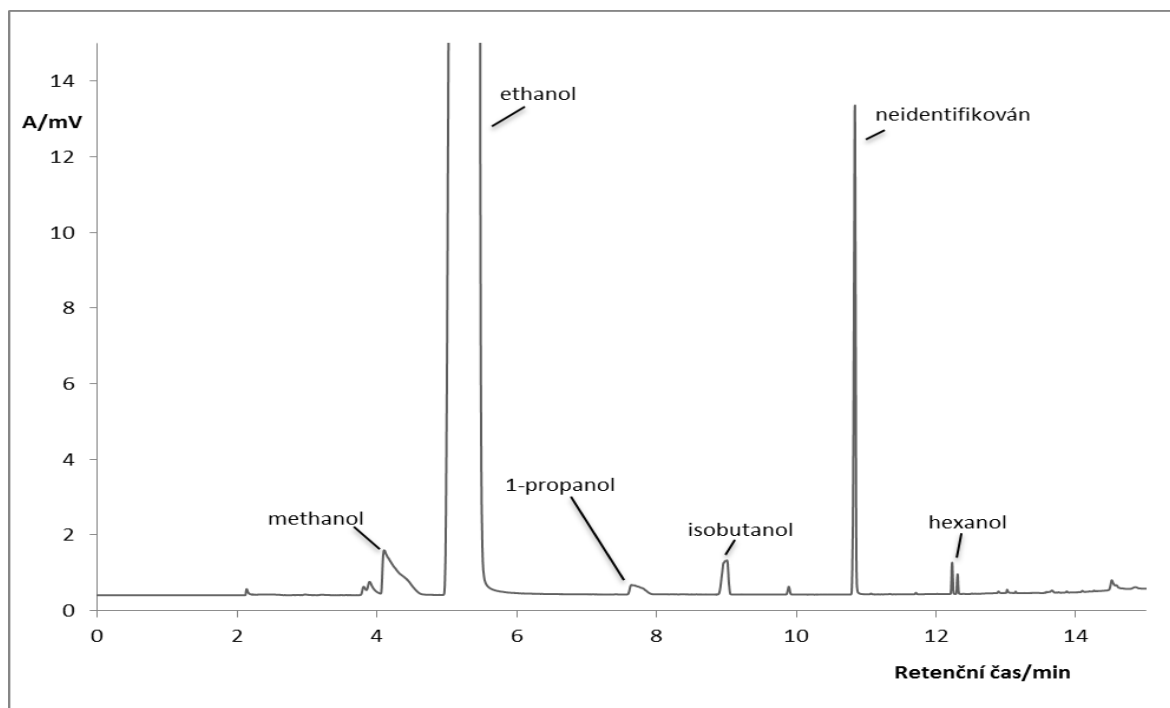
| Jméno alkoholu | Retenční čas [min.] |
|----------------|---------------------|
| 2-propanol     | 4:82                |
| 1-propanol     | 7:54                |
| oktan-1-ol     | 13:65               |
| hexanol        | 12:28               |
| pentanol       | 11:31               |
| t-butanol      | 4:16                |
| isobutanol     | 8:69                |

Retenční časy standardů jsou počítány od paty plochy píků. Při vyhodnocování neznámých ploch píků v domácích destilátech je započítávána odchylka retenčního času, která se zvyšuje s rostoucí koncentrací měřeného analytu. Než se objevil při měření standardů celý pík znázorňující koncentraci daného analytu, uběhlo delší časové rozmezí. Přiřazené alkoholy k plochám píků v destilátech jsou tedy brány s malou odchylkou od retenčního času paty píku čistého standardu. Časový rozptyl u isobutanolu je znázorněn na Grafu IV. Pata píku u isobutanolu se nacházela v čase 8:69, vrchol píku v čase 9:22 a konec píku v čase 9:25. Proto pro sjednocení výsledků jsou všechny retenční časy udávány od paty píku.

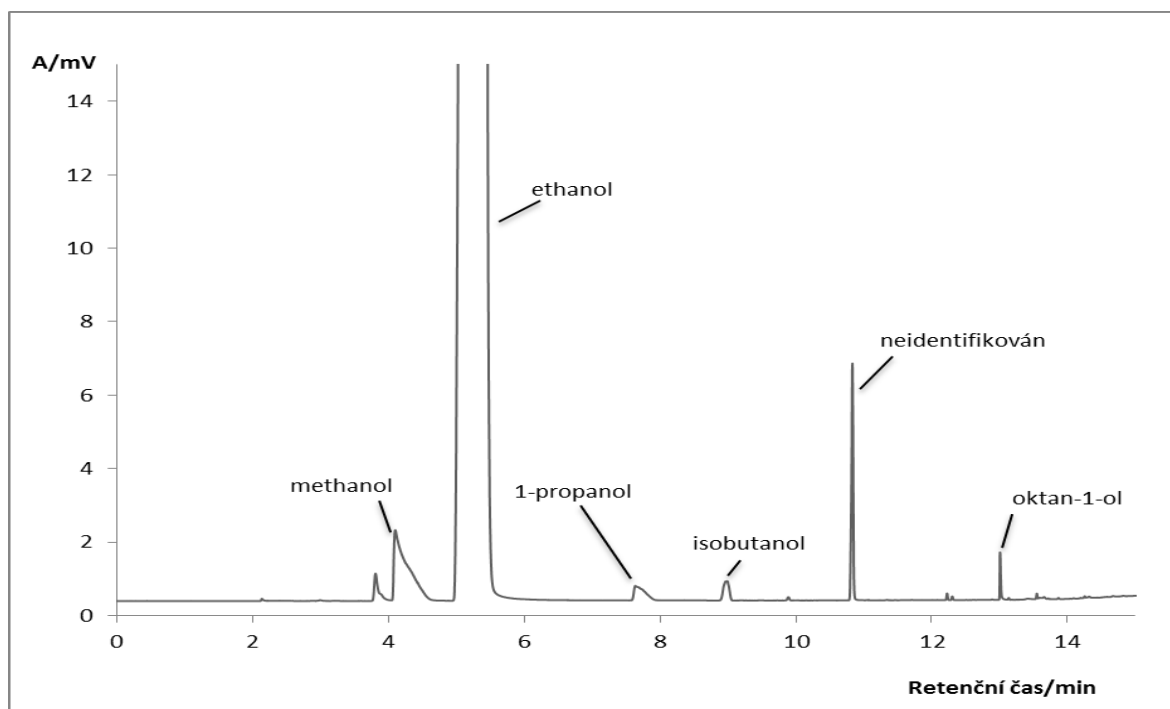


**Graf IV: Graf závislosti plochy píku na retenčním čase, na kterém je znázorněn časový rozptyl při tvorbě píku.**

Po analýze vzorků domácích destilátů byly přiřazeny hodnoty retenčních časů alkoholů k neznámým plochám píků. Ve vzorku domácího destilátu Sliv B1 byly přiřazeny k neznámým píkům pravděpodobné alkoholy: methanol, ethanol, 1-propanol, isobutanol, pentanol a hexanol. Přiřazené alkoholy jsou znázorněny na Grafu V. Pro porovnání byl stejný postup proveden i u vzorku destilátu Sliv E1, kde byly přiřazeny k neznámým píkům pravděpodobné alkoholy: methanol, ethanol, n-propylalkohol, izobutylalkohol, amylalkohol, octylalkohol. Přiřazené alkoholy jsou znázorněny na Grafu VI. Všechny naměřené grafy se znázorněnými přiřazenými píky k jednotlivým alkoholům se nachází v Příloze 15-28.



Graf V: Graf nalezených alkoholů ve vzorku destilátu SlivB1.



Graf VI: Graf nalezených alkoholů ve vzorku destilátu Sliv E1.

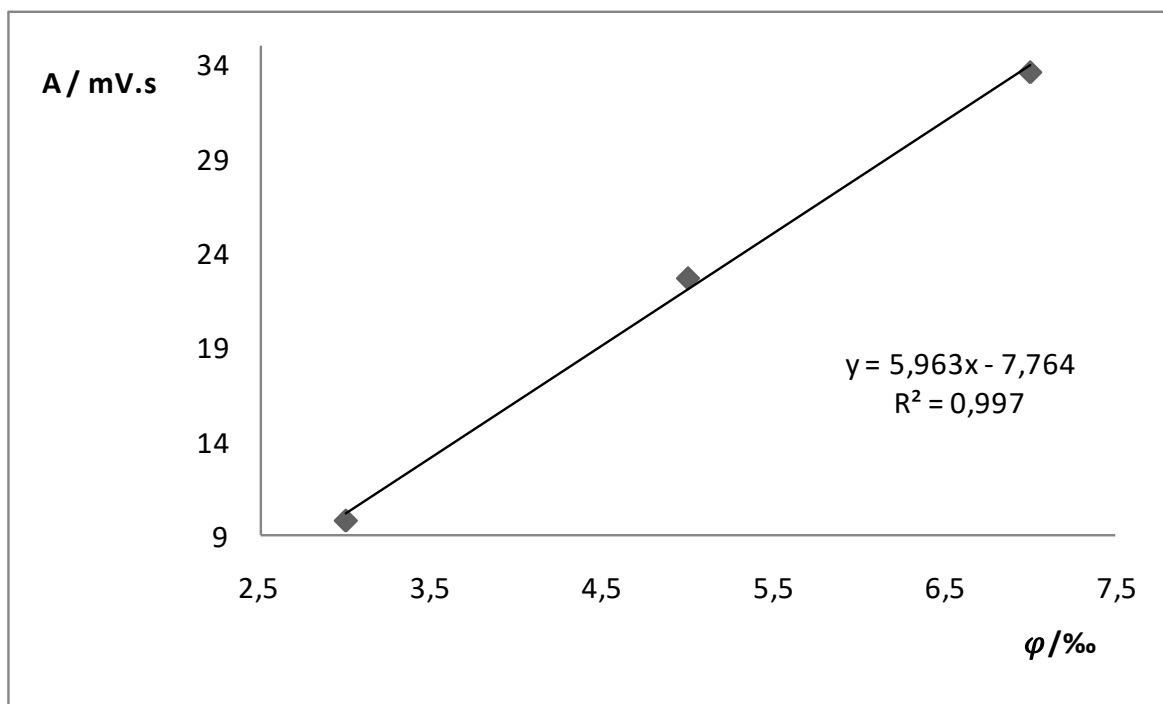
Před měřením samotných destilátů byla proměřena kalibrační křivka methanolu a ethanolu. Byly připraveny roztoky K1 - K5 o různých koncentracích. Do vialek byl vždy připraven roztok o objemu 1 ml podle Tabulky 7. Od každého roztoku byly pro ověření přesnosti změřeny dva nástřiky po nastavení teplotního režimu. Vzorky byly

dávkovány pomocí mikrostříkačky Hamilton. U kalibrační přímky methanolu byly změřeny pouze 3 různé koncentrace pro stanovení kalibrační přímky.

Tabulka 7: **Objemy methanolu, ethanolu a destilované vody potřebné k přípravě roztoků.**

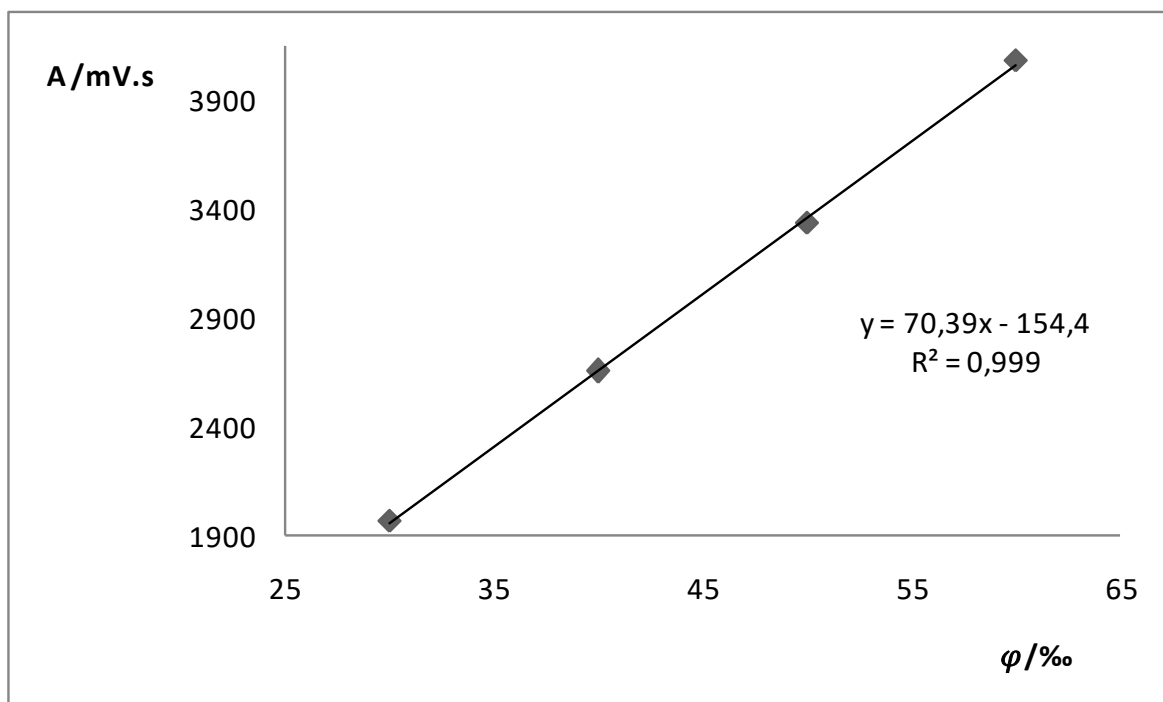
| Název vialky | Ethanol |  | Methanol |  |
|--------------|---------|--|----------|--|
| K1           | 30%     | 300 $\mu$ l<br>ethanol<br>700 $\mu$ l voda | 0,3%     | 3 $\mu$ l methanol<br>997 $\mu$ l voda |
| K2           | 40%     | 400 $\mu$ l<br>ethanol<br>600 $\mu$ l voda | 0,5%     | 5 $\mu$ l methanol<br>995 $\mu$ l voda |
| K3           | 50%     | 500 $\mu$ l<br>ethanol<br>500 $\mu$ l voda | 0,7%     | 7 $\mu$ l methanol<br>993 $\mu$ l voda |
| K4           | 60%     | 600 $\mu$ l<br>ethanol<br>400 $\mu$ l voda | -        | -                                      |
| K5           | 70%     | 700 $\mu$ l<br>ethanol<br>300 $\mu$ l voda | -        | -                                      |

Naměřené hodnoty byly dále zpracovávány v programu Excel. Byla sestrojena kalibrační křivka závislosti plochy píku A na koncentraci analytu  $\varphi$  pro methanol, zobrazena na Grafu VII.



Graf VII: Kalibrační křivka methanolu závislosti plochy píku A na koncentraci analytu  $\varphi$ .

Poté byla sestrojena kalibrační křivka závislosti plochy píku A na koncentraci analytu  $\varphi$  pro ethanol, zobrazena na Grafu VIII. Bod pro 70% roztok ethanolu byl považován za odlehlý výsledek a do sestrojené kalibrační křivky nebyl počítán.



Graf VIII: Kalibrační křivka ethanolu závislosti plochy píku A na koncentraci analytu  $\varphi$ .



### 3.5.2. MĚŘENÍ VZORKŮ DESTILÁTŮ

K měření byly použity vzorky domácích destilátů stejné jako u měření pomocí plynového chromatografu DANI Master. Z vialek označených Sliv A – Sliv G byl vždy odebrán 1  $\mu$ l destilátu a pomocí mikrostříkačky Hamilton byl dávkován do dávkovací komory. Od každého vzorku byly provedeny dva nástřiky. Naměřené hodnoty byly převedeny do programu Excel a byly sestrojeny grafy zobrazené v Příloze 15-28 . Následně byly z grafů odečteny plochy píku pro methanol a ethanol, které jsou uvedeny v Tabulce 8.

**Tabulka 8: Změřené plochy píku A[mV.s] methanolu a ethanolu pro vzorky destilátů, vždy uvedeny hodnoty pro oba nástřiky vzorku.**

| Název vzorku | Plocha píku methanolu | Název vzorku | Plocha píku methanolu | Název vzorku | Plocha píku ethanolu | Název vzorku | Plocha píku ethanolu |
|--------------|-----------------------|--------------|-----------------------|--------------|----------------------|--------------|----------------------|
| Sliv A1      | 15,5                  | Sliv D2      | 6,4                   | Sliv A1      | 3361,1               | Sliv D2      | 3563,3               |
| Sliv A2      | 15,4                  | Sliv E1      | 26,6                  | Sliv A2      | 3329,2               | Sliv E1      | 3362,0               |
| Sliv B1      | 18,7                  | Sliv E2      | 26,1                  | Sliv B1      | 3560,1               | Sliv E2      | 3287,5               |
| Sliv B2      | 17,8                  | Sliv F1      | -                     | Sliv B2      | 3428,9               | Sliv F1      | 1665,9               |
| Sliv C1      | 30,9                  | Sliv F2      | -                     | Sliv C1      | 3106,9               | Sliv F2      | 1674,6               |
| Sliv C2      | 31,9                  | Sliv G1      | -                     | Sliv C2      | 3203,8               | Sliv G1      | 2767,0               |
| Sliv D1      | 5,5                   | Sliv G2      | 2,2                   | Sliv D1      | 3426,6               | Sliv G2      | 2654,9               |

### 3.5.3. VÝPOČET KONCENTRACE METHANOLU A ETHANOLU VE VZORCÍCH DESTILÁTŮ

Pro zjištění koncentrace methanolu a ethanolu ve vzorcích byla použita metoda kalibrační křivky. Z grafu kalibrační křivky pro methanol byla odečtena rovnice přímky

(bod 1.) Z rovnice přímky byla vyjádřena hodnota  $x$  (bod 2.). Za hodnotu  $y$  byla dosazena hodnota plochy píku pro methanol Sliv A, tedy 15,5mV (bod 3.). Byla vypočtena hodnota  $x$ , tedy koncentrace methanolu ve vzorku destilátu Sliv A (bod 4.).

$$\text{Bod 1: } y = 5,9635x - 7,7648$$

$$\text{Bod 2: } x = \frac{y+7,7648}{5,9635}$$

$$\text{Bod 3: } x = \frac{15,5+7,7648}{5,9635}$$

$$\text{Bod 4: } x = 3,9\%$$

Stejným způsobem bylo postupováno při výpočtu všech ostatních vzorků destilátů. Vypočtené koncentrace methanolu a ethanolu ve vzorcích destilátů z kalibrační křivky, jsou uvedeny v Tabulce 9.

**Tabulka 9: Vypočtené koncentrace  $\varphi$  methanolu [%] a ethanolu [%] ve vzorcích destilátů.**

| Název vzorku | $\varphi$ methanolu | Název vzorku | $\varphi$ methanolu | Název vzorku | $\varphi$ ethanolu | Název vzorku | $\varphi$ ethanolu |
|--------------|---------------------|--------------|---------------------|--------------|--------------------|--------------|--------------------|
| Sliv A1      | 3,9                 | Sliv D2      | 2,4                 | Sliv A1      | 49,9               | Sliv D2      | 52,8               |
| Sliv A2      | 3,9                 | Sliv E1      | 5,8                 | Sliv A2      | 49,5               | Sliv E1      | 50,0               |
| Sliv B1      | 4,4                 | Sliv E2      | 5,7                 | Sliv B1      | 52,8               | Sliv E2      | 48,9               |
| Sliv B2      | 4,3                 | Sliv F1      | 0                   | Sliv B2      | 50,9               | Sliv F1      | 25,9               |
| Sliv C1      | 6,5                 | Sliv F2      | 0                   | Sliv C1      | 46,3               | Sliv F2      | 26                 |
| Sliv C2      | 6,7                 | Sliv G1      | 0                   | Sliv C2      | 47,7               | Sliv G1      | 41,5               |
| Sliv D1      | 2,2                 | Sliv G2      | 1,7                 | Sliv D1      | 50,9               | Sliv G2      | 39,9               |

Některé naměřené hodnoty koncentrace pro methanol a ethanol byly tak nízké, že byly pod mezí detekce dané metody a je možné jejich hodnotu zanedbat. Tyto nízké koncentrace jsou v tabulce uvedeny pod nulovou hodnotou.

### 3.6. POROVNÁNÍ OBSAHU METHANOLU VE VZORCÍCH RŮZNÉHO STÁŘÍ

Byly vybrány tři vzorky domácích destilátů a to: Sliv A, Sliv B a Sliv C. Tyto vzorky byly vybrány z důvodu stejného výběru ovoce k pálení a stejného způsobu skladování. Jedná se o slivovice různého stáří. Ve vzorcích byla stanovena koncentrace methanolu na plynovém chromatografu CLARUS 500 i na plynovém chromatografu DANI Master. Sledovala se závislost stáří slivovice na obsahu methanolu ve vzorku. Naměřené koncentrace byly mezi sebou porovnány. Stanovené hodnoty jsou uvedeny v Tabulce 10. Předpokládal se úbytek methanolu s přibývajícím stářím destilátu. Tento předpoklad vycházel z faktu, že mezi vlastnosti methanolu patří vysoká těkavost.

Tabulka 10: Naměřené hodnoty koncentrací [ $\varphi$ ] pro vybrané vzorky.

| Označení vzorku | Oblast    | Koncentrace<br>změřená na<br>přístroji<br>CLARUS 500 | Koncentrace<br>změřená na<br>přístroji DANI<br>Master |
|-----------------|-----------|--|---|
| Sliv A          | Morava    | 1,5  | 3,9   |
| Sliv A          | Morava    | 1,5  | 3,9   |
| Sliv B          | Morava    | 1,6  | 4,4   |
| Sliv B          | Morava    | 1,6  | 4,3   |
| Sliv C          | Cejkovice | 2,9  | 6,5   |
| Sliv C          | Cejkovice | 2,9  | 6,7   |

## 4. DISKUSE

Plynovou chromatografií s použitím plamenově ionizačního detektoru a použitím plynového chromatografu DANI Master byla potvrzena pomocí standardů alkoholů přítomnost jiných látek, než je jen ethanol a methanol, ve vzorcích domácích destilátů. Ve vzorcích se nacházel také 2-propanol, 1-propanol, oktan-1-ol, hexanol, pentanol, t-butanol, isobutanol. Pík nacházející se v čase 10:51 min nebyl v této práci identifikován. Je pravděpodobné, že by se mohlo jednat o isoamylalkohol, tedy derivát pentanolu.

Methanol je vysoce těkavý a jeho hodnota tenze par (při 20 C) 12,8 kPa je také vysoká. Předpokládalo se, že při dlouhodobém skladování methanolu by mohlo docházet k jeho odpařování ze směsi domácího destilátu a jeho obsah se tak bude snižovat. Vzorky byly skladovány v chladu a tmě v lahvi s dostatečně kvalitním uzávěrem. Při porovnání naměřených koncentrací u Sliv A, Sliv B a Sliv C nebyl potvrzen předpoklad, že obsah methanolu ve vzorcích klesá se zvyšujícím se stářím destilátu. Tyto vzorky byly vybrány záměrně. Jsou vypáleny ze stejného druhu ovoce a v přibližně stejné podnebné lokalitě. Na jednoznačné potvrzení nebo vyvrácení této teorie by bylo pravděpodobně zapotřebí provést rozsáhlejší studii. Bylo by vhodné nasbírat alespoň deset vzorků domácích destilátů od stejného pěstitele různého stáří, aby mohly být výsledky považovány za prokazatelné.

Při porovnávání koncentrací z obou použitých metod, tedy z chromatografu DANI Master i z chromatografu CLARUS 500 byly zjištěny rozdíly v naměřených koncentracích. Koncentrace z chromatografu DANI Master jsou zřetelně vyšší než při použití druhého chromatografu CLARUS 500. Je možné, že použitím vnitřního standardu tetrahydrofuranu se snížila citlivost detekce koncentrace jednotlivých analytů. Ve vzorku domácího destilátu Sliv F1, Sliv F2, Sliv G1, Sliv G2 nebyly detekovány pomocí chromatografu DANI Master žádné vyšší alkoholy. Při porovnání s grafy z plynového chromatografu CLARUS 500 je patrné, že se v destilátu některé vyšší alkoholy nacházejí. Nelze říct, která metoda je správná bez dalšího měření nebo bez srovnání metod pomocí vnějšího standardu, který by měl známé parametry a ověřil by nám tak správnost použitých metod.

Je také možné, že u vzorků Sliv F1, Sliv F2, Sliv G1 a Sliv G2 byl použit jiný postup pálení a proto je destilát kvalitnější a neobsahuje vyšší alkoholy.

U grafů z plynového chromatografu CLARUS 500 dochází k pozdějšímu výskytu píků methanolu a ethanolu. Jejich retenční časy jsou vyšší, než u použité metody DANI Master. Zde je zřejmý vliv délky kolony, která je u přístroje CLARUS dvojnásobná a tím pádem k pomalejší eluci analytů z kolony.

## 5. ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývala identifikací jednotlivých alkoholů ve vzorcích domácích destilátů. Analýza byla provedena u sedmi vzorků na dvou plynových chromatografech s použitím dvou metod měření. Domácí destiláty byly vybrány různého stáří a jejich složení bylo v mnoha případech podobné. Nejprve došlo k měření čistých standardů a poté byly jejich retenční časy porovnávány s retenčními časy neznámých píků. Následně byla porovnána koncentrace methanolu ve vybraných vzorcích různého stáří. Použitými metodami měření nebyla prokázána závislost stáří domácího destilátu na koncentraci methanolu. Ve většině vzorků byla zjištěna přítomnost vyšších alkoholů na základě porovnání retenčních časů neznámých píků s retenčními časy naměřených standardů. Bylo zjištěno, že použitím dvou metod měření bylo dosaženo rozdílných koncentrací methanolu ve vzorcích domácích destilátů. Naměřené hodnoty retenčních časů standardů by se daly dále použít k dalšímu vyhodnocování složení destilátů.

## 6. RESUMÉ

Téma bakalářské práce je zaměřeno na stanovení obsahu methanolu, ethanolu a 2-propanolu v různě starých vzorcích domácích destilátů pomocí plynové chromatografie. V teoretické části práce je krátká zmínka o plynové chromatografii, možnostech kvantitativní a kvalitativní analýzy, způsobu detekce, výrobě domácích destilátů nebo o účincích ethanolu a methanolu na lidské zdraví. V praktické části jsou popsány specifikace použitých plynových chromatografů a postupy měření domácích destilátů. Nejprve byly zjištěny přítomnosti jiných látek ve vzorcích díky porovnání retenčních časů čistých alkoholů s nalezenými píky v destilátu. Cílem práce bylo zjistit změny koncentrace methanolu v domácích destilátech při použití dvou různých plynových chromatografů s odlišnou metodou měření. Dále byly porovnány změny koncentrace methanolu v různě starých vzorcích domácích destilátů. Kolísání koncentrací může být způsobeno těkavostí alkoholů ve vzorcích, způsobem skladování nebo například stádiem zralosti použitého ovoce.

## RESUMÉ

The topic of the bachelor thesis is focused on the determination of the content of methanol, ethanol and 2-propanol in differently old samples of domestic distillates with the use of gas chromatography. In the theoretical part there is a short mention of gas chromatography, possibilities of quantitative and qualitative analysis, method of detection, production of domestic distillates or effects of ethanol and methanol on human health. The practical part describes the specifications of used gas chromatographs and procedures for measuring domestic distillates. First, the presence of other substances in the samples was found by comparing the retention times of pure alcohols with the peaks found in the distillate. The aim of the study was to determine the changes in methanol concentration in domestic distillates using two different gas chromatographs with different measurement methods. Furthermore, the changes in methanol concentration in differently old samples of domestic distillates were compared. Fluctuations in concentrations may be due to volatility of alcohols in the samples, to the method of storage or, for example, to the stage of ripeness of the fruit used.

## 7. SEZNAM LITERATURY

1. ZÁRUBA K. a kol.: *Analytická chemie (1. díl)*. Praha: VŠCHT, 2016.  
ISBN 978-80-7080-950-1.
2. OPEKAR F. a kol.: *Základní analytická chemie*. Praha: Karolinum Praha 1, 2002. ISBN 80-246-0553-8.
3. ŠTULÍK K. a kol.: *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum Praha 1, 2005. ISBN 80-246-0852-9.
4. Plynová chromatografie (GC) Dostupné z:  
<https://is.muni.cz/el/1431/jaro2009/C6390/7480488/uvod.pdf?html=1> (staženo dne: 10. únor 2019)
5. VOLKA K. a kol.: *Analytická chemie II*. Praha: VŠCHT, 1995.  
ISBN 80-7080-227-8.
6. HODEK O.: *Stanovení vybraných analytů metodou plynové chromatografie*. Plzeň, 2013. Bakalářská práce. ZČU. Vedoucí práce Ing. Jan Hrdlička, Ph.D.  
(staženo 10. únor 2019)
7. *Plynová chromatografie (GC)* [online]. Dostupné z:  
<https://1url.cz/1MGE9> (staženo dne: 16. 2. 2019)
8. SCHMICKLOVÁ H., MALLEOVÁ B.: *Domácí výroba lihovin*. Praha: BETA, 2004. ISBN 80-7306-144-9.
9. UHROVÁ H.: *Domácí výroba slivovice: a ostatních destilátů, ovocných šťáv, sirupů a vín*. Praha: Víkend, 2009. ISBN 978-80-7433-014-8.
10. RYCHTERA M.: *Ušlechtilé destiláty: Praktická kniha o pálení*. Praha: Ivo Železný, nakladatelství, 2002. ISBN 80-237-3642-6.
11. JÍLEK J. a ZENTRICH J. A.: *Příprava ovocných kvasů na výrobu slivovice: Výroba slivovice a její léčivé účinky*. Olomouc: Dobra a FONTANA, 1999.  
ISBN 80-86179-28-1.
12. PISCHL J.: *Vyrábíme ušlechtilé destiláty*. Praha: Ivo Železný, nakladatelství, 1997. ISBN 80-237-3441-5.



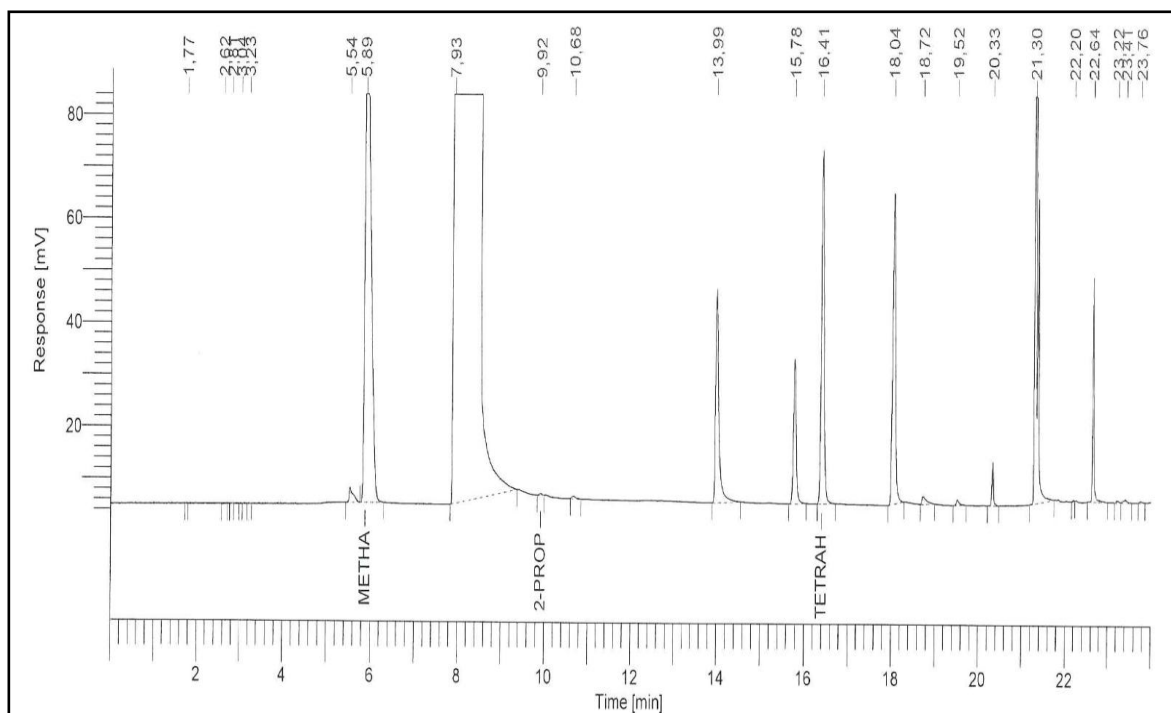
13. *CHROMSERVIS s.r.o.* [online]. Dostupné z: <https://1url.cz/pM3HV>  
(staženo dne: 27. 3. 2019)
14. KODÍČEK M., VALENTOVÁ O. a HYNEK R.: *Biochemie: chemický pohled na biologický svět*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2015.  
ISBN 978-80-7080-927-3.
15. VONDRÁČEK O.: Chemická technologie, Technologie kvasného průmyslu, *Výroba lihu a ušlechtilých pálenek z ovoce výroba octa: Svazek III, sešit 2., 2.* Praha: Nákladem české společnosti chemické tiskem české grafické unie, 1945.
16. VONDRÁČEK O.: Chemická technologie, Technologie kvasného průmyslu, *Výroba lihu a ušlechtilých pálenek z ovoce výroba octa: Svazek III, sešit 2. 1.* Praha: Nákladem české společnosti chemické tiskem české grafické unie, 1930.
17. Bezpečnostní list pro methanol. Dostupné z: <https://1url.cz/VMkLb>  
(staženo dne: 9. 4. 2019)

## SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK, GRAFŮ A DIAGRAMŮ

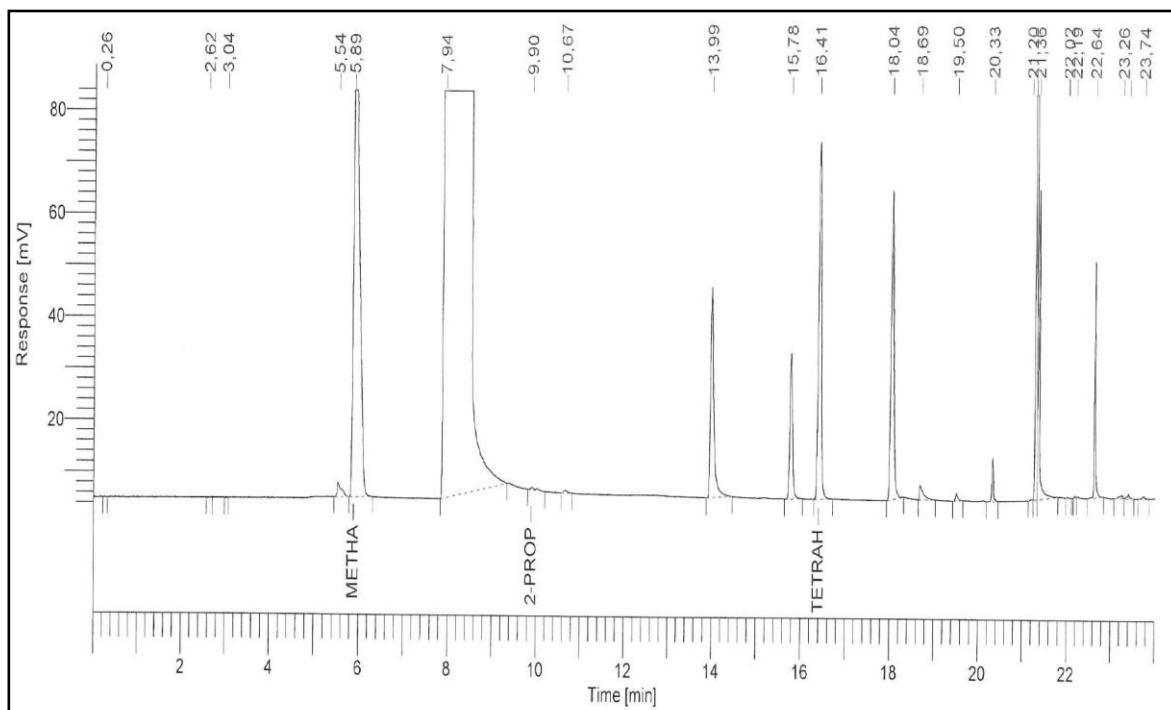
|  |    |
|--|----|
| Obrázek 1: <b>Blokové schéma chromatografu.</b> <sup>1</sup> .....   | 2  |
| Obrázek 2: <b>Proces úpravy ovoce na výrobu ovocných destilátů</b> .....   | 9  |
| Tabulka 1: <b>Charakteristika kolon pro GC.</b> <sup>5</sup> .....   | 3  |
| Tabulka 2: <b>Použité objemy pro roztoky používané k měření.</b> .....   | 16 |
| Tabulka 3: <b>Popis použitých domácích destilátů.</b> .....  | 18 |
| Tabulka 4: <b>Změřené plochy píku A[V.s] methanolu a 2-propanolu pro vzorky destilátů, vždy uvedeny hodnoty pro oba nástříky vzorku.</b> ..... | 20 |
| Tabulka 5: <b>Vypočtené koncentrace methanolu a 2-propanolu ve vzorcích destilátů.</b> .....   | 22 |
| Tabulka 6: <b>Retenční časy v minutách pro jednotlivé alkoholy.</b> .....  | 23 |
| Tabulka 7: <b>Objemy methanolu, ethanolu a destilované vody potřebné k přípravě roztoků.</b> .....   | 26 |
| Tabulka 8: <b>Změřené plochy píku A[mV.s] methanolu a ethanolu pro vzorky destilátů, vždy uvedeny hodnoty pro oba nástříky vzorku.</b> .....   | 28 |
| Tabulka 9: <b>Vypočtené koncentrace <math>\varphi</math> methanolu [%] a ethanolu [%] ve vzorcích destilátů.</b> .....                         | 29 |
| Tabulka 10: <b>Naměřené hodnoty koncentrací [<math>\varphi</math>] pro vybrané vzorky.</b> .....   | 30 |
| Graf I: <b>Chromatogram závislosti signálu detektoru na čase průchodu fragmentů kolonou.</b> .....   | 6  |
| Graf II: <b>Kalibrační křivka methanolu závislosti plochy píku A na koncentraci analytu <math>\varphi</math>.</b> .....                        | 17 |
| Graf III: <b>Kalibrační křivka 2-propanolu závislosti plochy píku A na koncentraci analytu <math>\varphi</math>.</b> .....                     | 18 |
| Graf IV: <b>Graf závislosti plochy píku na retenčním čase, na kterém je znázorněn časový rozptyl při tvorbě píku.</b> .....                    | 24 |
| Graf V: <b>Graf nalezených alkoholů ve vzorku destilátu SlivB1.</b> .....  | 25 |
| Graf VI: <b>Graf nalezených alkoholů ve vzorku destilátu Sliv E1.</b> .....  | 25 |
| Graf VII: <b>Kalibrační křivka methanolu závislosti plochy píku A na koncentraci analytu <math>\varphi</math>.</b> .....                       | 27 |
| Graf VIII: <b>Kalibrační křivka ethanolu závislosti plochy píku A na koncentraci analytu <math>\varphi</math>.</b> .....                       | 27 |
| Příloha 1: <b>Chromatogram destilátu Sliv A1 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b> .....   | I  |
| Příloha 2: <b>Chromatogram destilátu Sliv A2 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b> .....   | I  |
| Příloha 3: <b>Chromatogram destilátu Sliv B1 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b> .....   | II |
| Příloha 4: <b>Chromatogram destilátu Sliv B2 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b> .....   | II |

|  |      |
|--|------|
| Příloha 5: <b>Chromatogram destilátu Sliv C1 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b> | III  |
| Příloha 6: <b>Chromatogram destilátu C2 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b>      | III  |
| Příloha 7: <b>Chromatogram destilátu D1 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b>      | IV   |
| Příloha 8: <b>Chromatogram destilátu D2 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b>      | IV   |
| Příloha 9: <b>Chromatogram destilátu E1 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b>      | V    |
| Příloha 10: <b>Chromatogram destilátu E2 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b>     | V    |
| Příloha 11: <b>Chromatogram destilátu F1 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b>     | VI   |
| Příloha 12: <b>Chromatogram destilátu F2 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b>     | VI   |
| Příloha 13: <b>Chromatogram destilátu G1 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b>     | VII  |
| Příloha 14: <b>Chromatogram destilátu G2 z plynového chromatografu CLARUS 500.</b>     | VII  |
| Příloha 15: <b>Chromatogram destilátu A1 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | VIII |
| Příloha 16: <b>Chromatogram destilátu A2 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | VIII |
| Příloha 17: <b>Chromatogram destilátu B1 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | IX   |
| Příloha 18: <b>Chromatogram destilátu B2 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | IX   |
| Příloha 19: <b>Chromatogram destilátu C1 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | X    |
| Příloha 20: <b>Chromatogram destilátu C2 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | X    |
| Příloha 21: <b>Chromatogram destilátu D1 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | XI   |
| Příloha 22: <b>Chromatogram destilátu D2 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | XI   |
| Příloha 23: <b>Chromatogram destilátu E1 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | XII  |
| Příloha 24: <b>Chromatogram destilátu E2 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | XII  |
| Příloha 25: <b>Chromatogram destilátu F1 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | XIII |
| Příloha 26: <b>Chromatogram destilátu F2 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | XIII |
| Příloha 27: <b>Chromatogram destilátu G1 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | XIV  |
| Příloha 28: <b>Chromatogram destilátu G2 z plynového chromatografu DANI Master.</b>    | XIV  |
| Příloha 29: <b>Desatero výroby kvalitních destilátů</b>                                | XV   |

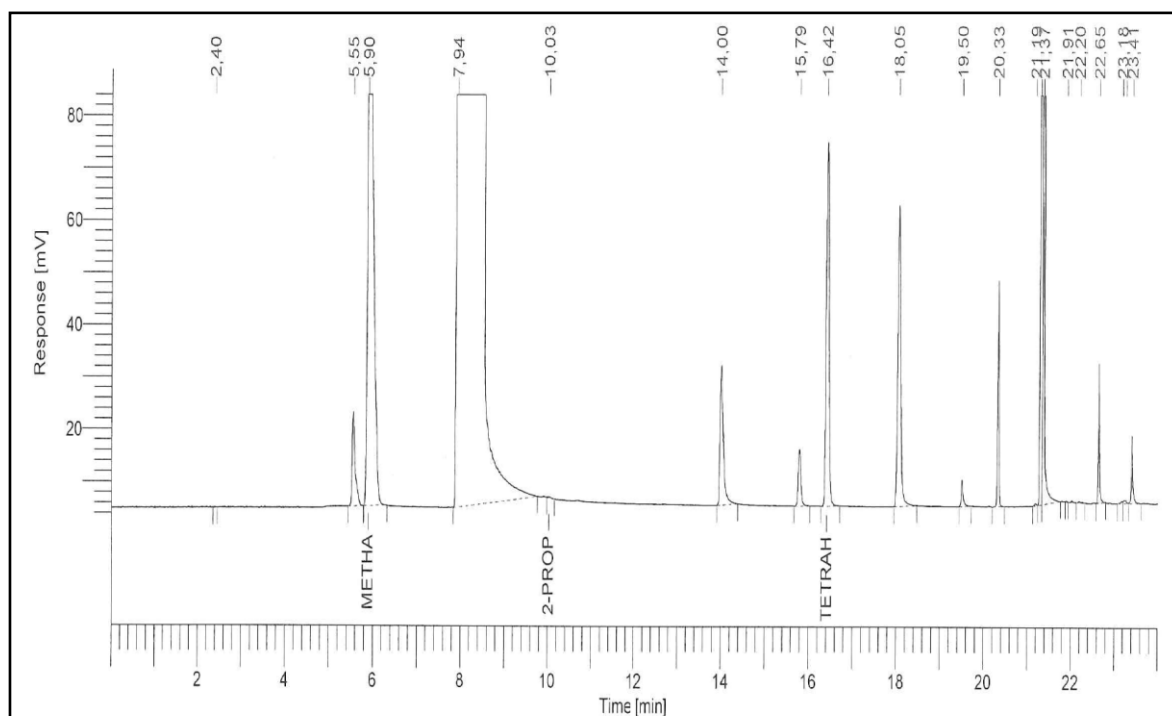
## PŘÍLOHY



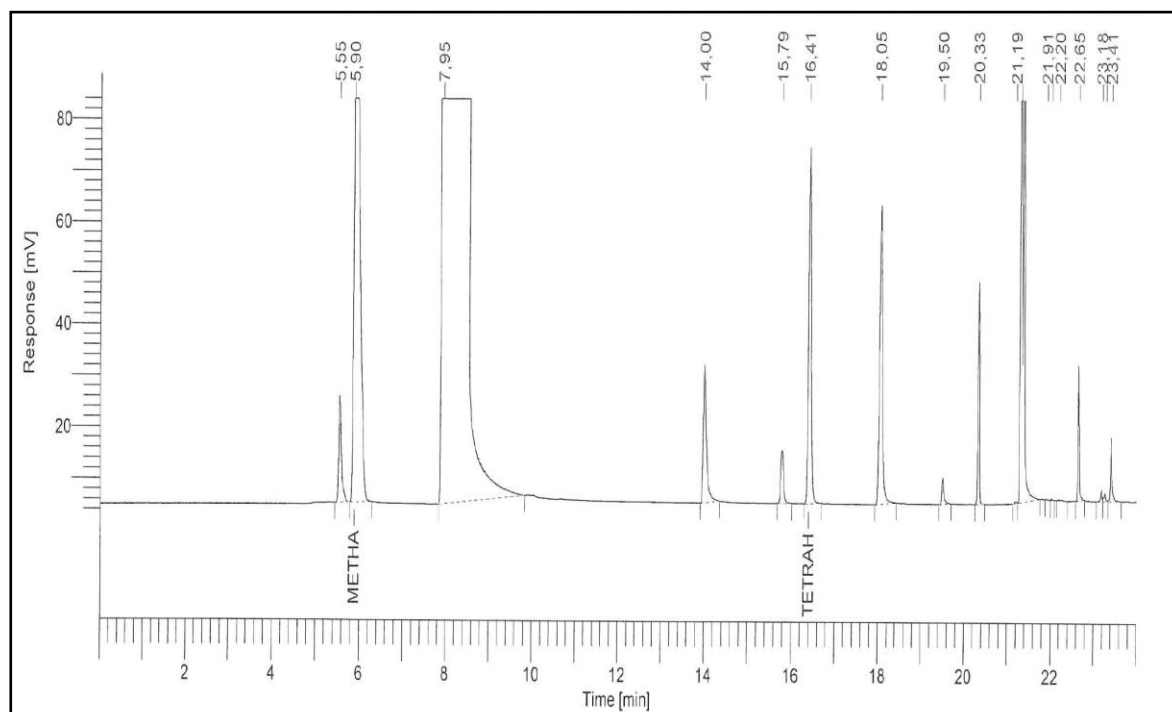
Příloha 1: Chromatogram destilátu Sliv A1 z plynového chromatografu CLARUS 500.



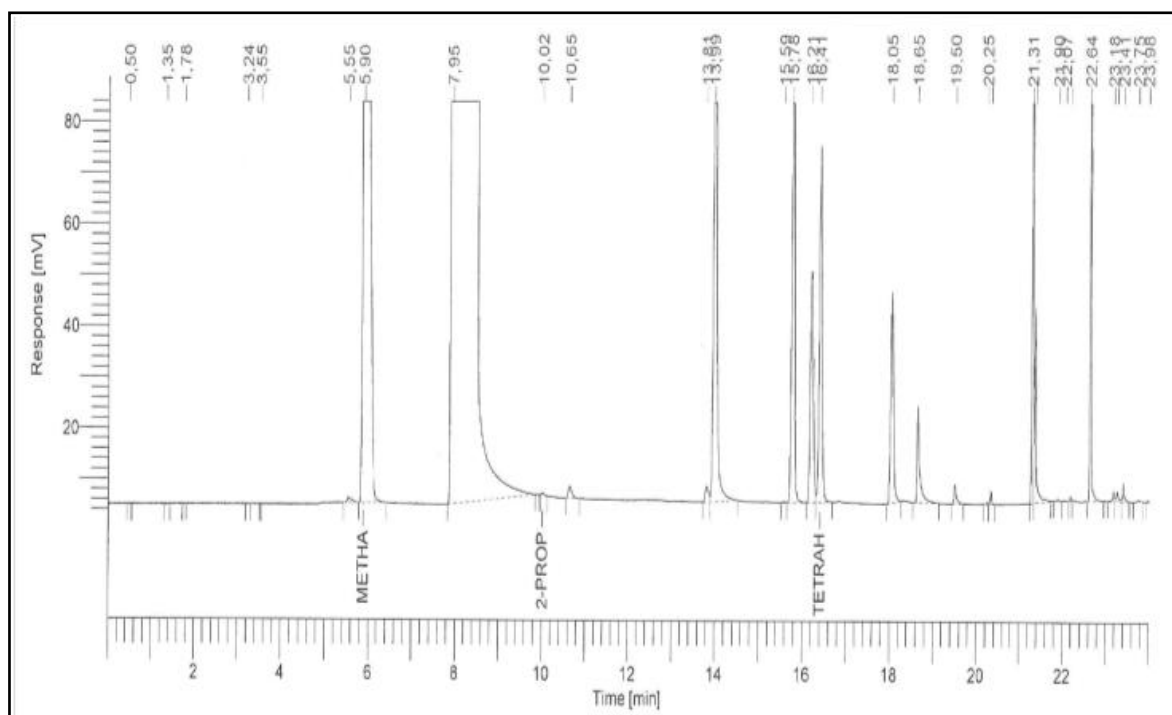
Příloha 2: Chromatogram destilátu Sliv A2 z plynového chromatografu CLARUS 500.



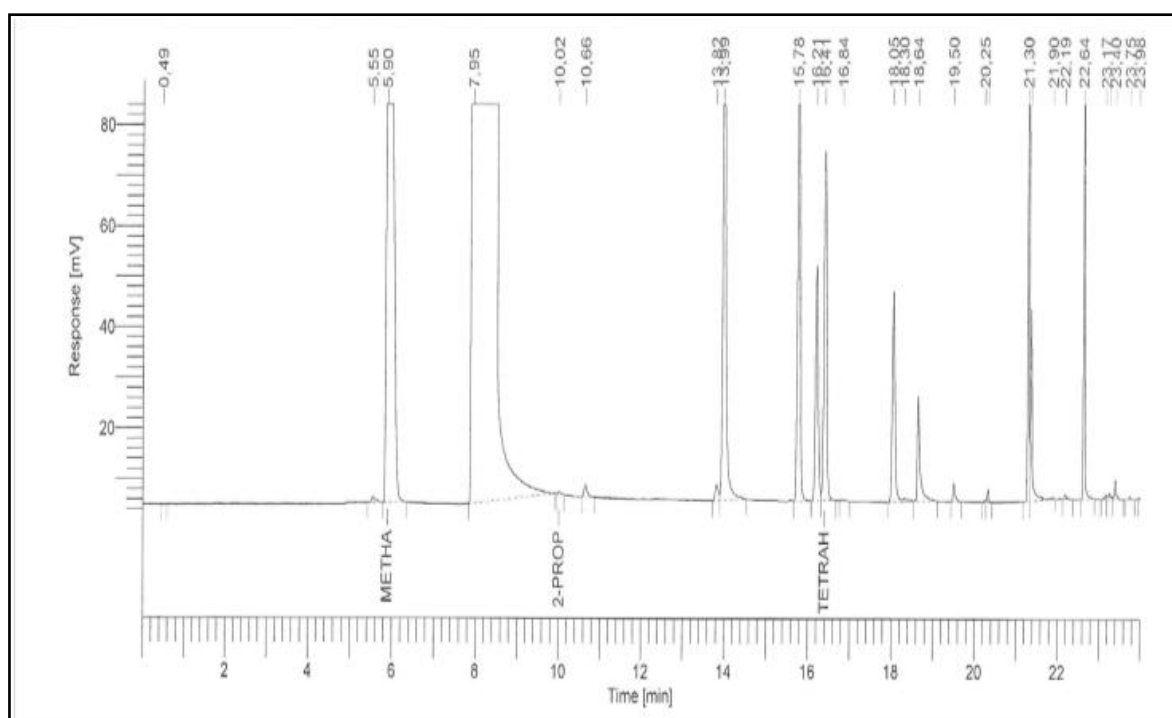
**Příloha 3: Chromatogram destilátu Sliv B1 z plynového chromatografu CLARUS 500.**



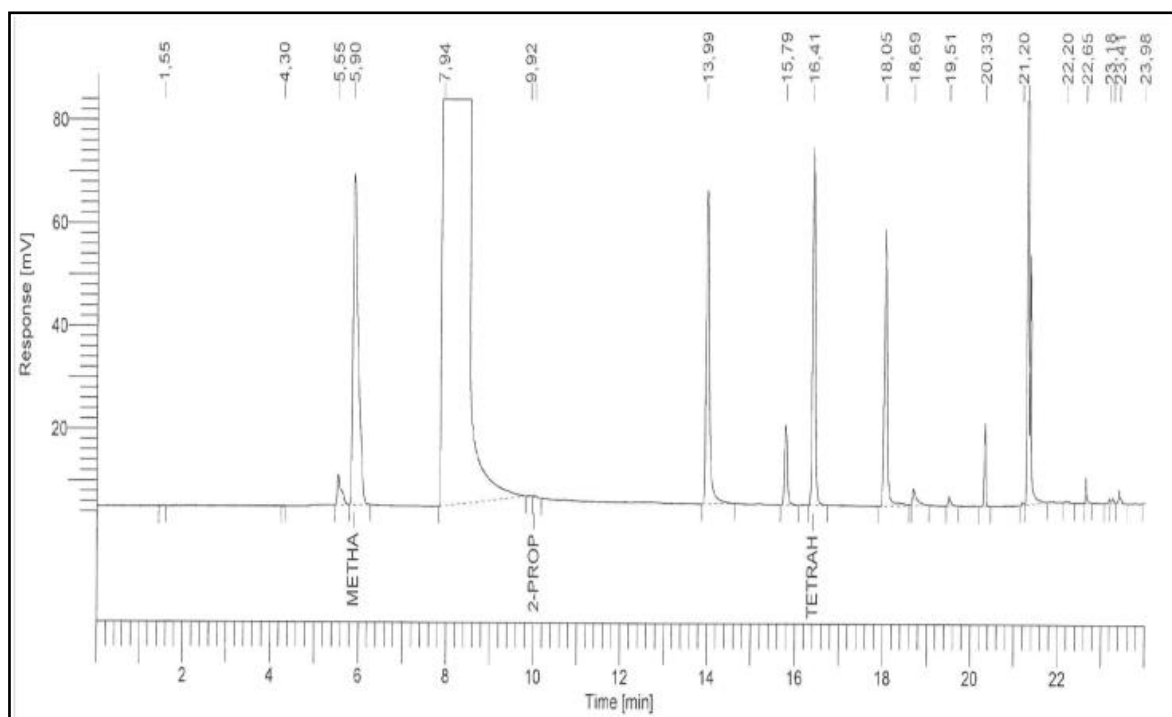
**Příloha 4: Chromatogram destilátu Sliv B2 z plynového chromatografu CLARUS 500.**



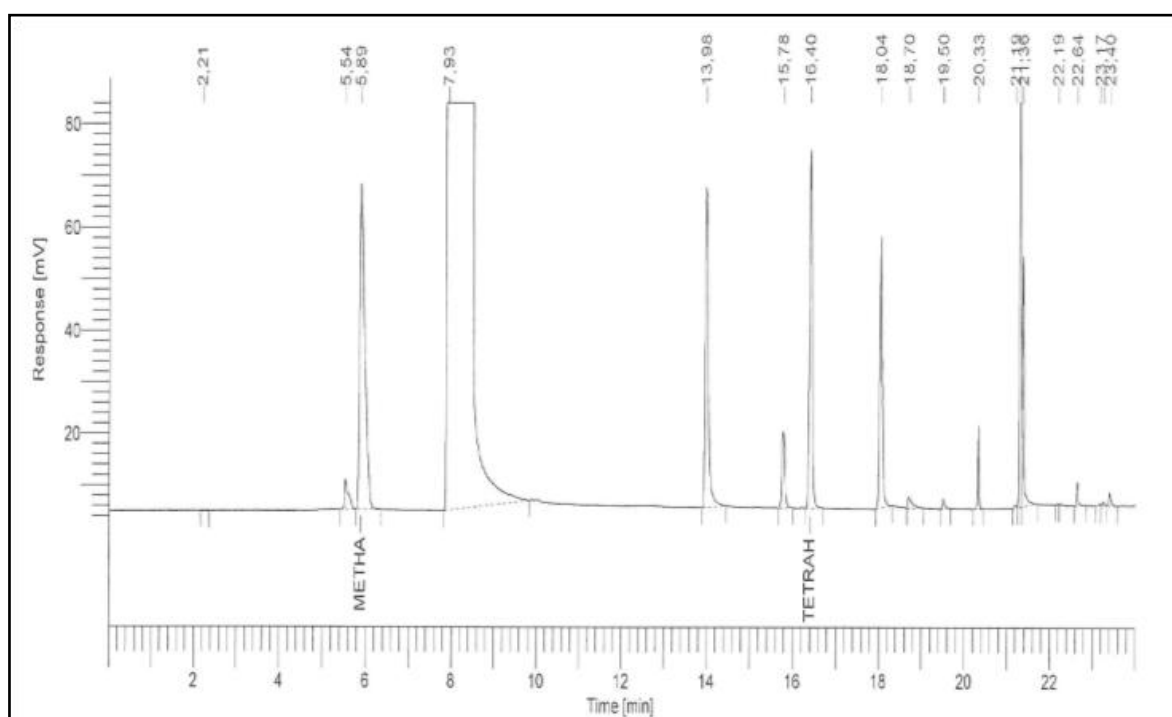
Příloha 5: Chromatogram destilátu Sliv C1 z plynového chromatografu CLARUS 500.



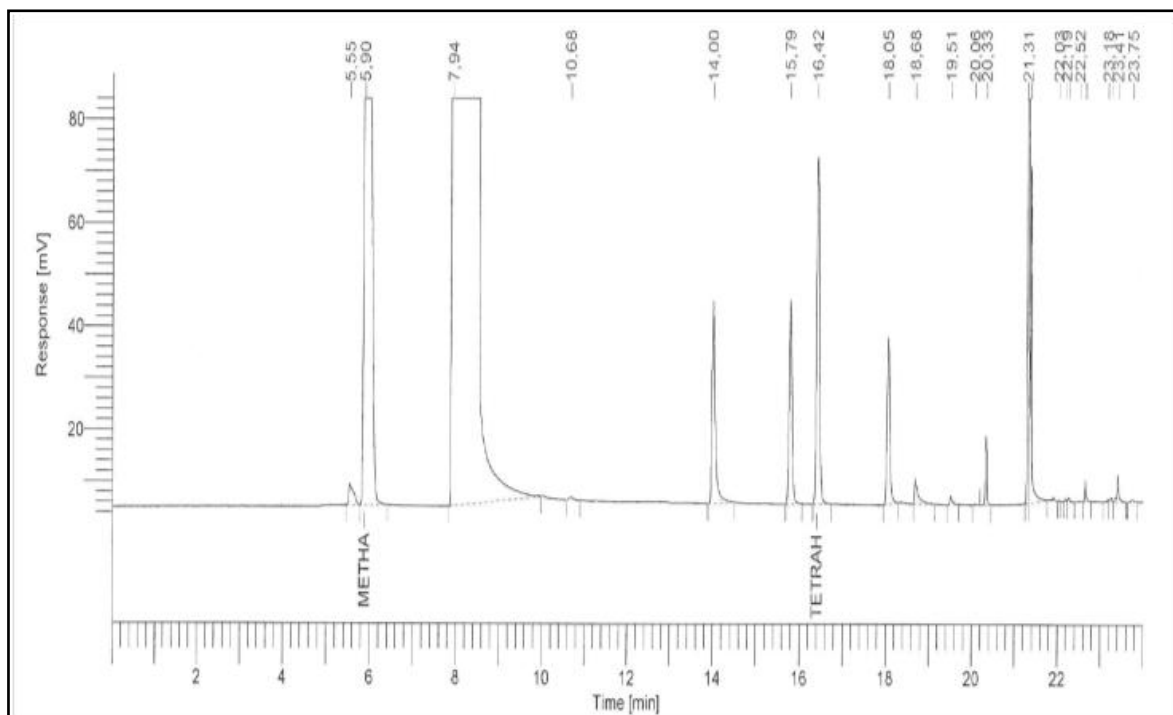
Příloha 6: Chromatogram destilátu C2 z plynového chromatografu CLARUS 500.



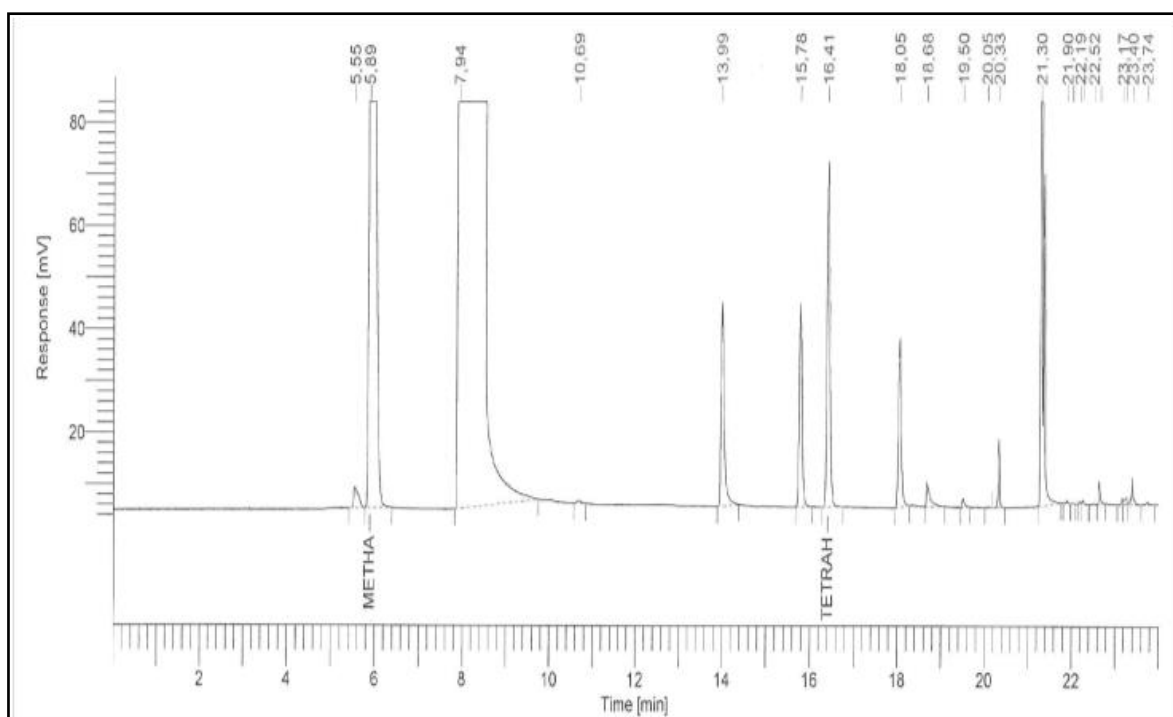
Příloha 7: Chromatogram destilátu D1 z plynového chromatografu CLARUS 500.



Příloha 8: Chromatogram destilátu D2 z plynového chromatografu CLARUS 500.

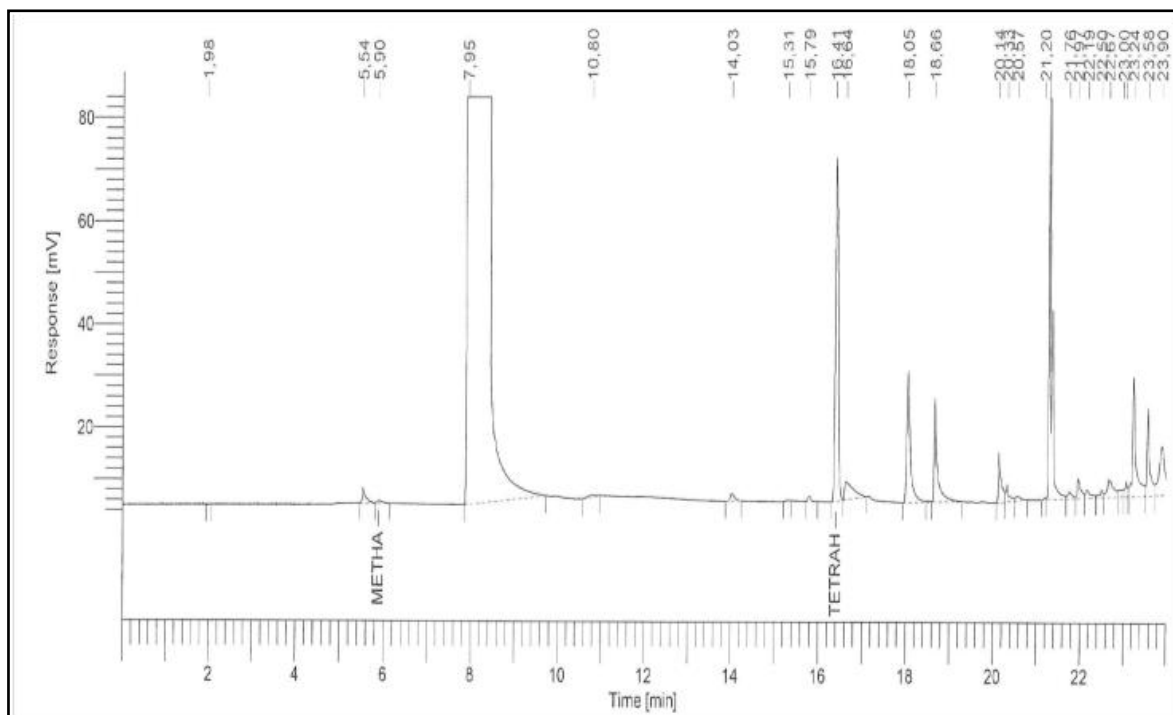


Příloha 9: Chromatogram destilátu E1 z plynového chromatografu CLARUS 500.

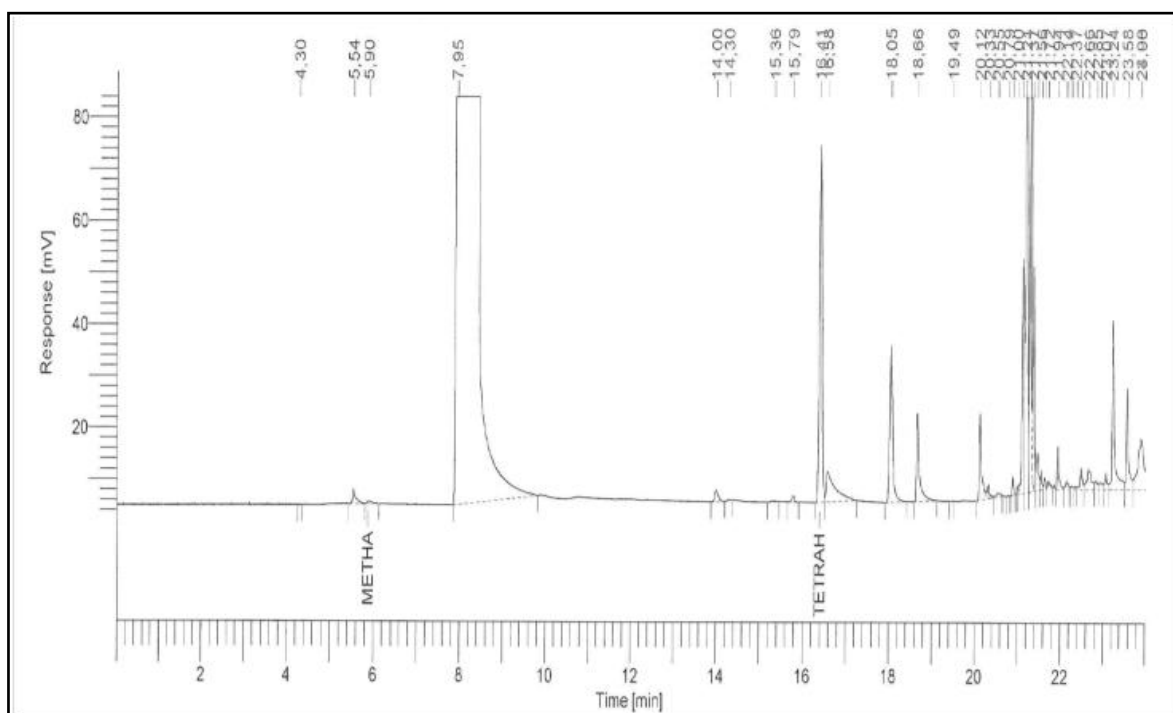


Příloha 10: Chromatogram destilátu E2 z plynového chromatografu CLARUS 500.

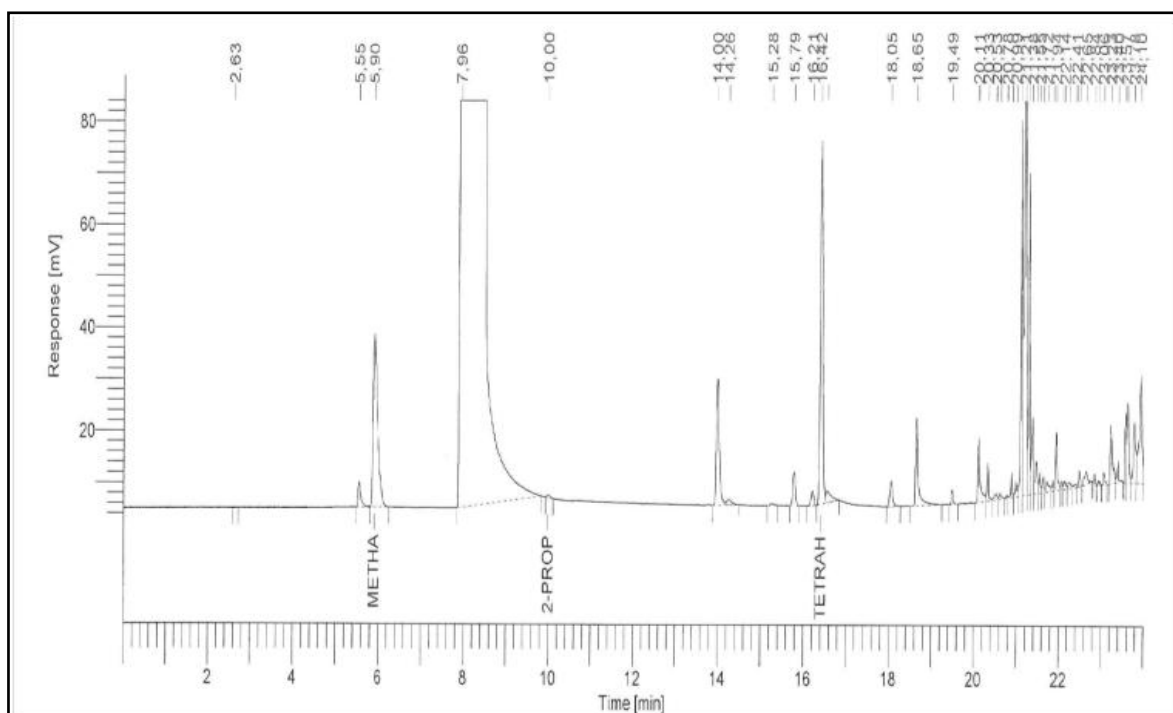




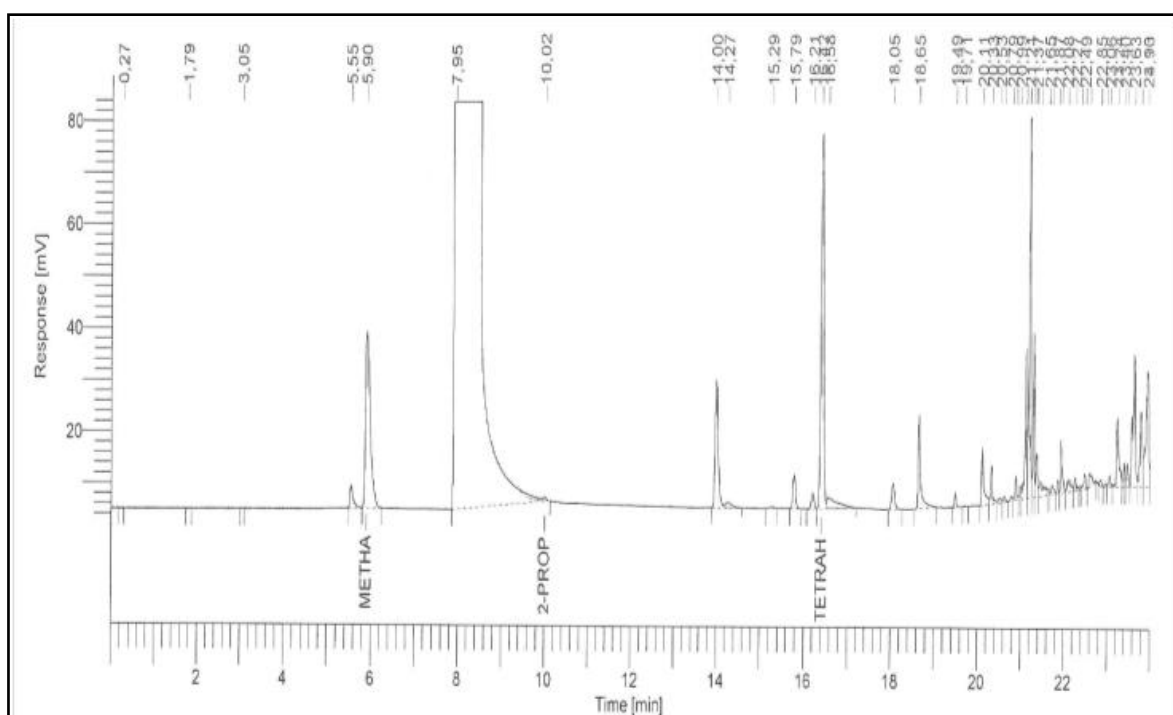
Příloha 11: Chromatogram destilátu F1 z plynového chromatografu CLARUS 500.



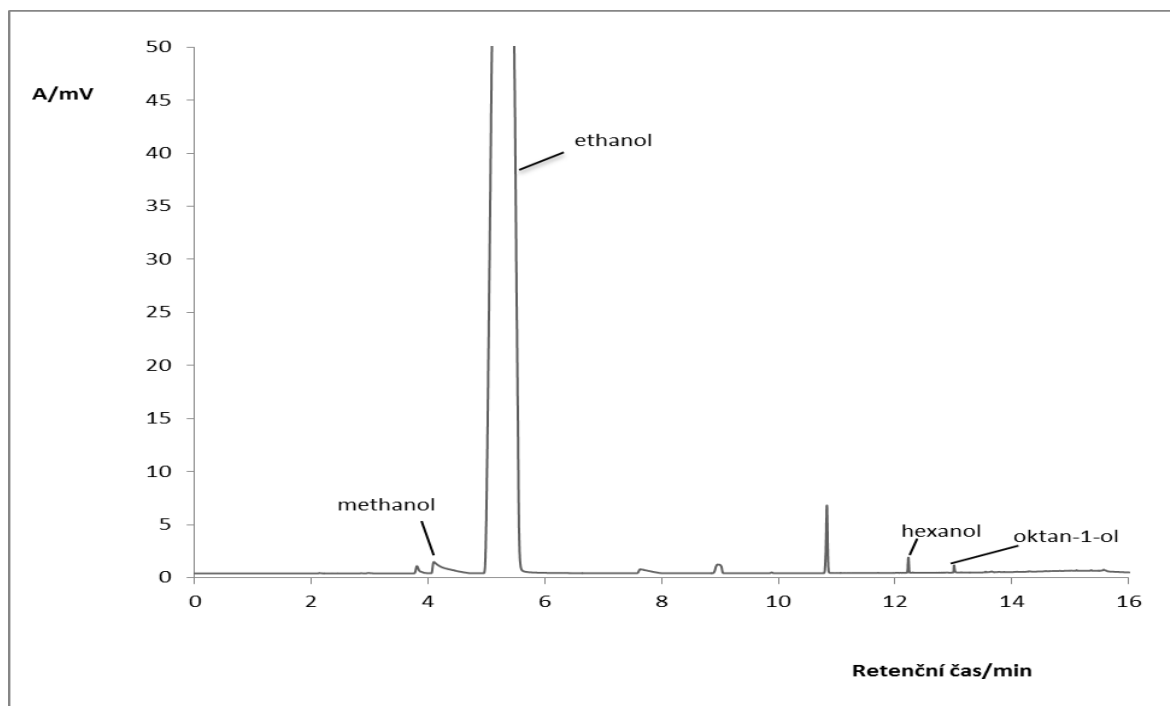
Příloha 12: Chromatogram destilátu F2 z plynového chromatografu CLARUS 500.



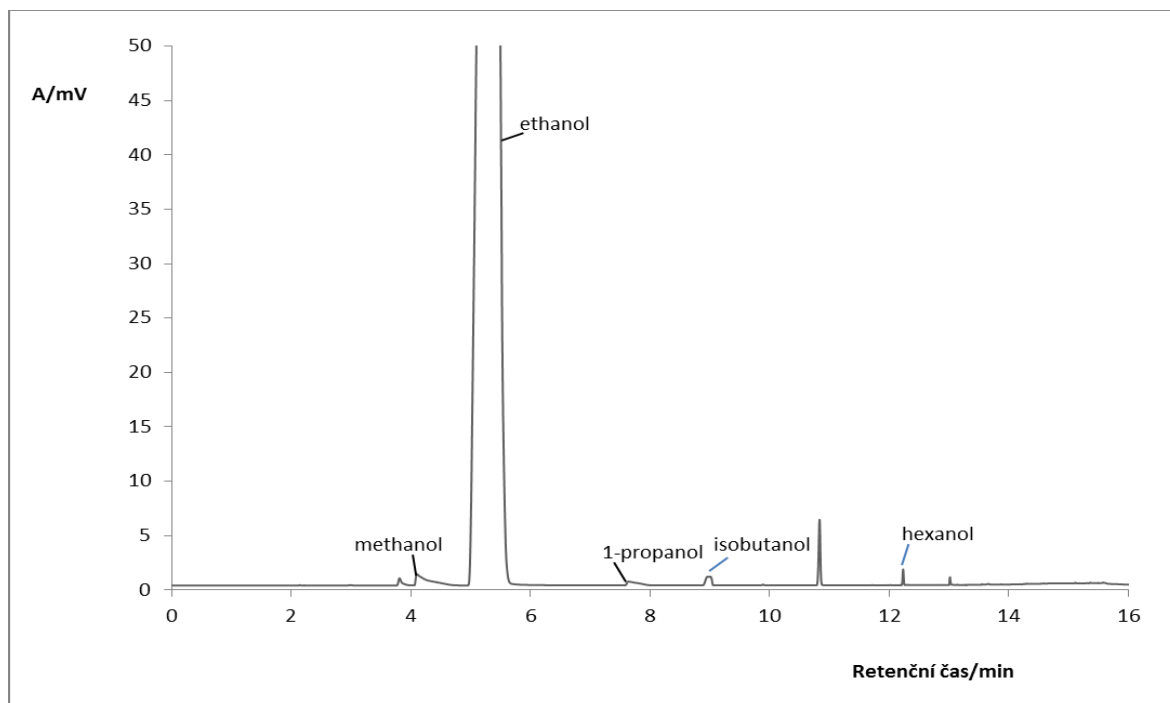
Příloha 13: Chromatogram destilátu G1 z plynového chromatografu CLARUS 500.



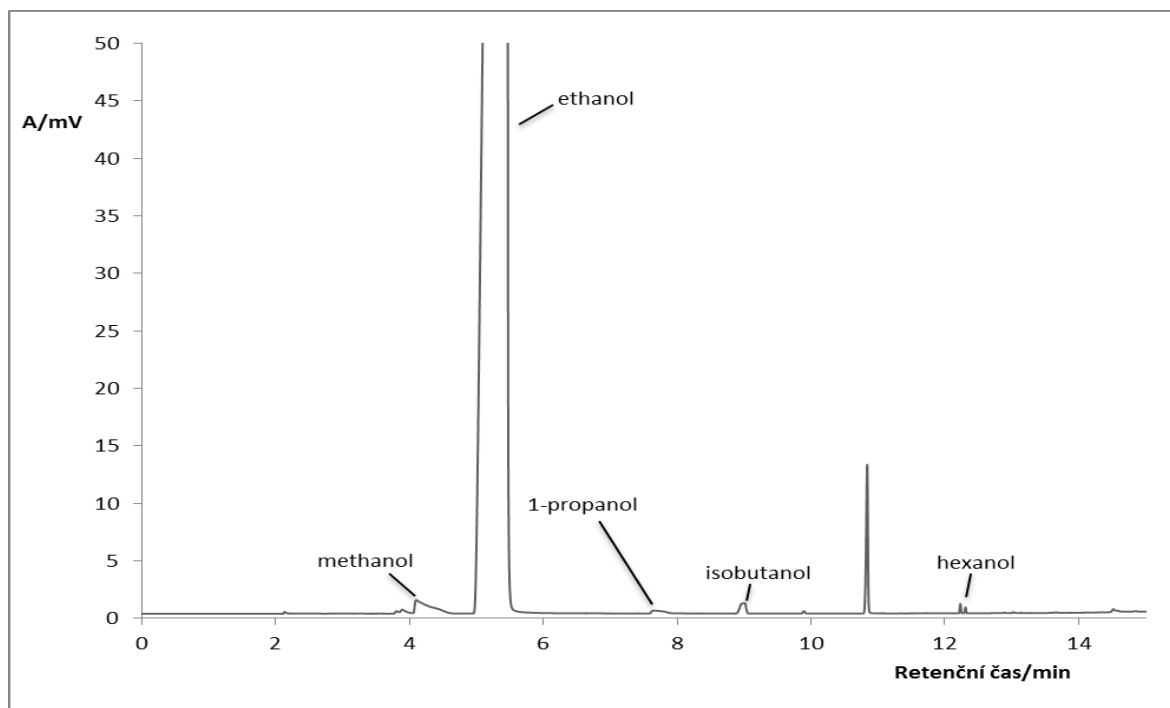
Příloha 14: Chromatogram destilátu G2 z plynového chromatografu CLARUS 500.



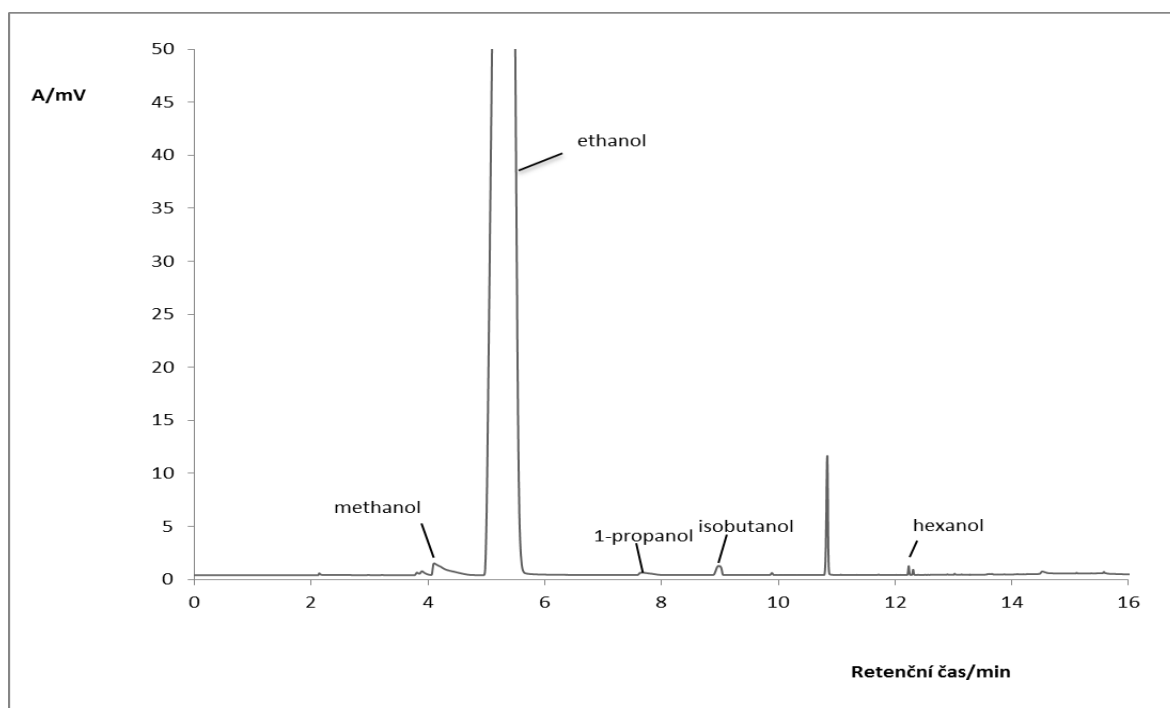
Příloha 15: Chromatogram destilátu A1 z plynového chromatografu DANI Master.



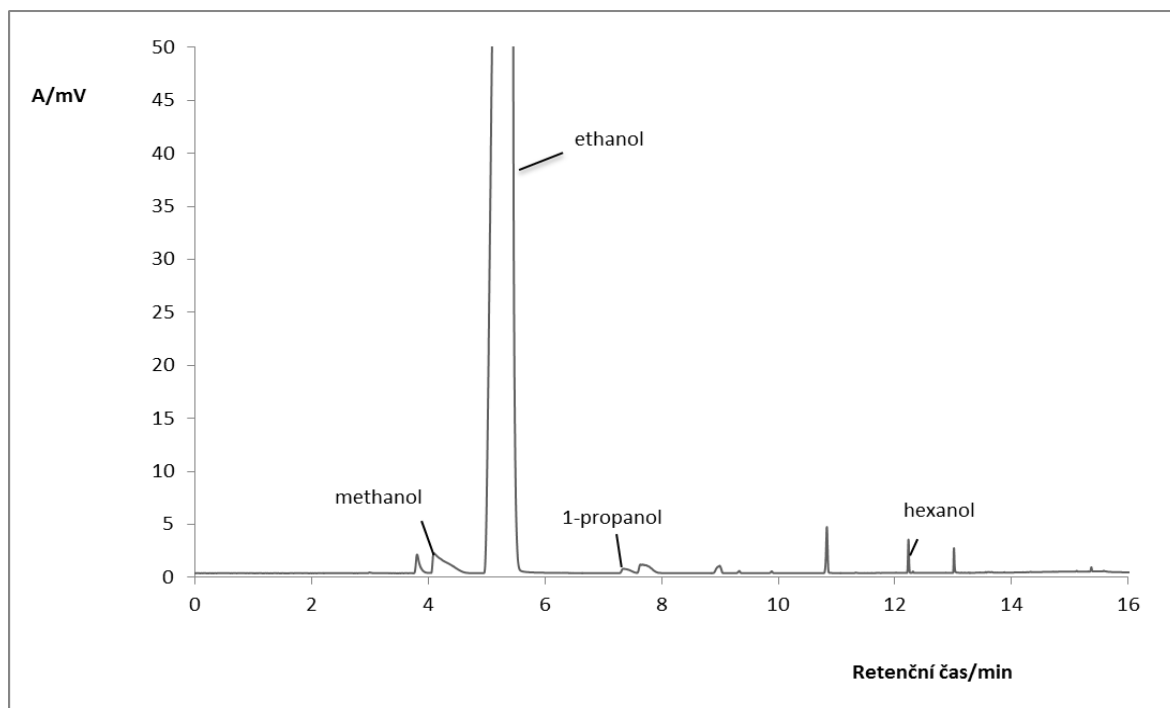
Příloha 16: Chromatogram destilátu A2 z plynového chromatografu DANI Master.



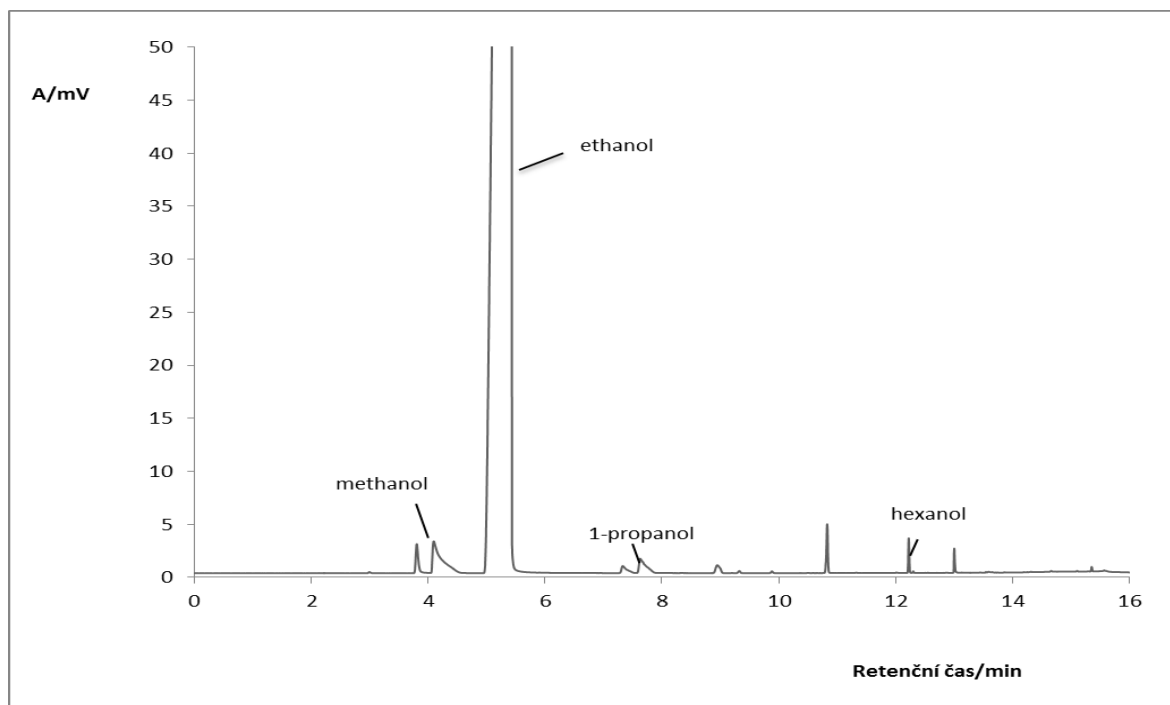
Příloha 17: Chromatogram destilátu B1 z plynového chromatografu DANI Master.



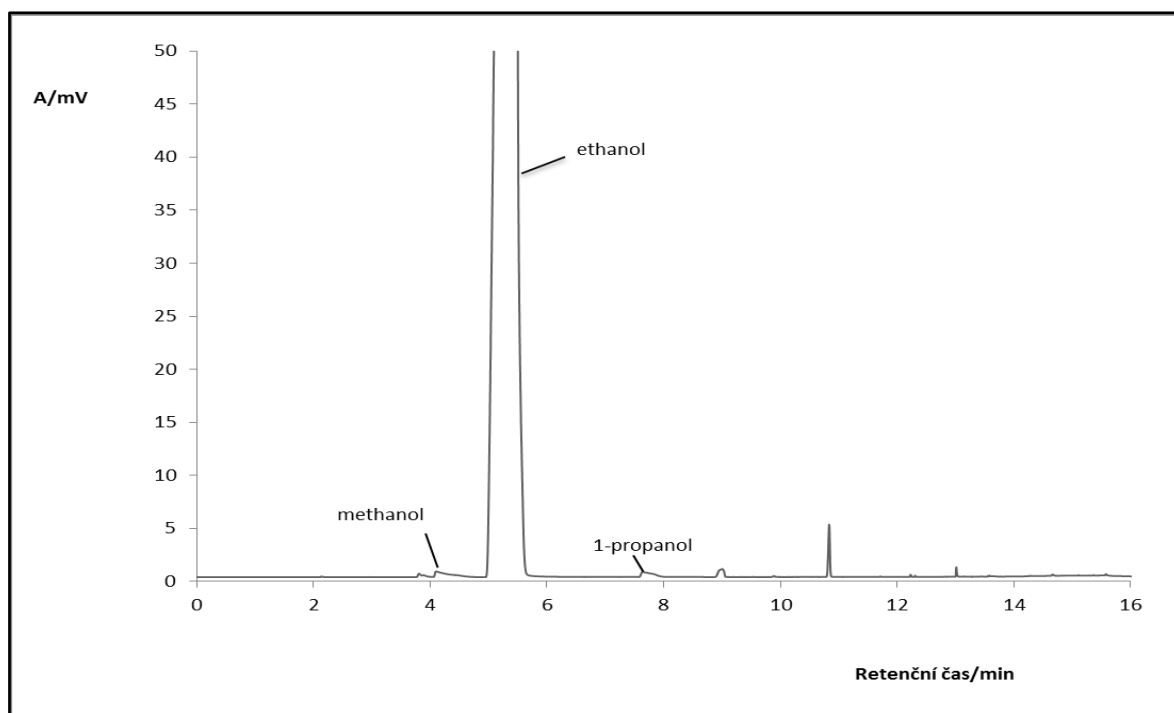
Příloha 18: Chromatogram destilátu B2 z plynového chromatografu DANI Master.



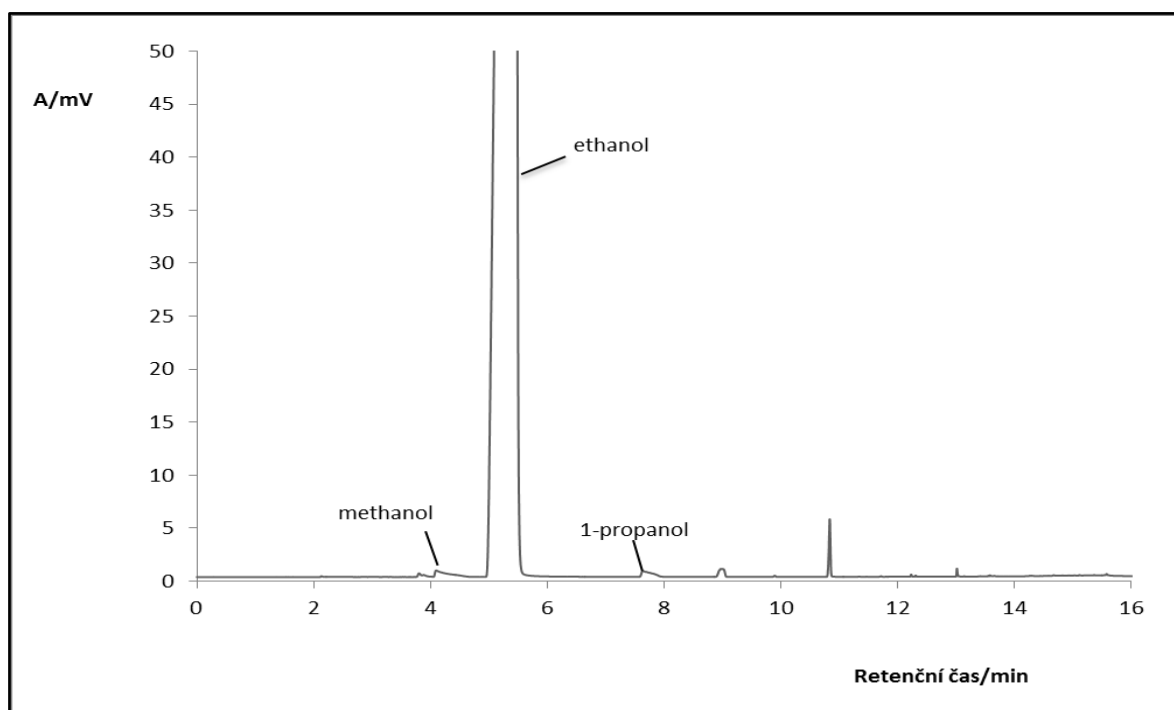
Příloha 19: Chromatogram destilátu C1 z plynového chromatografu DANI Master.



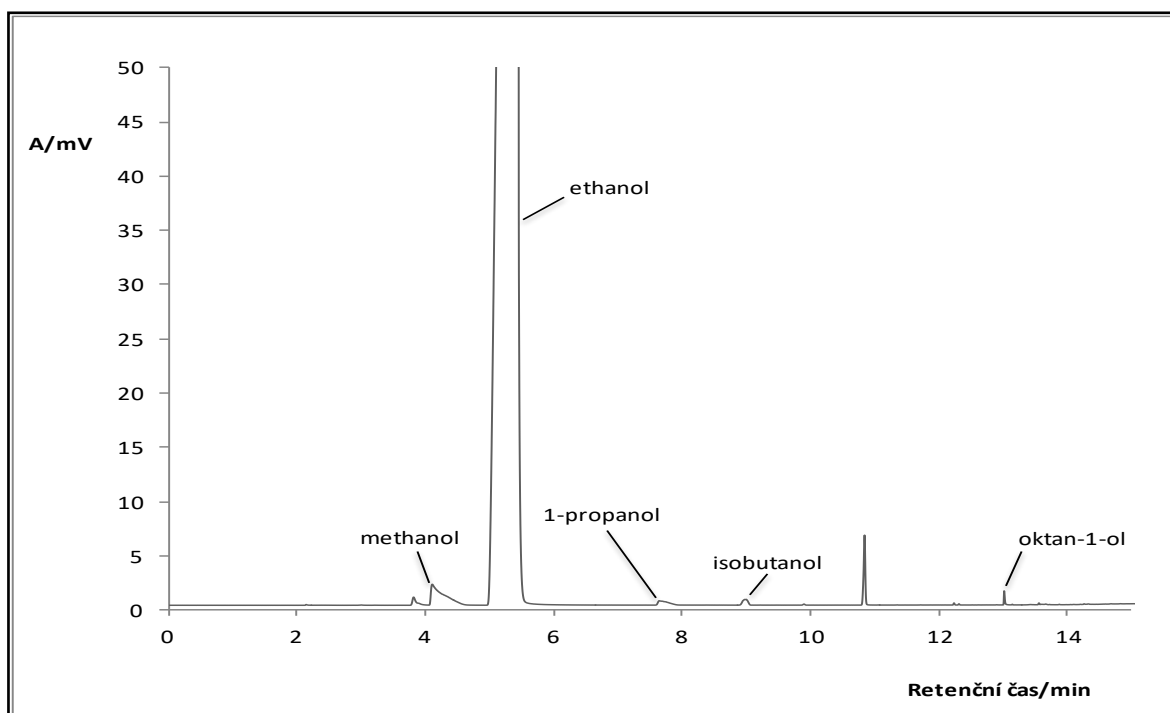
Příloha 20: Chromatogram destilátu C2 z plynového chromatografu DANI Master.



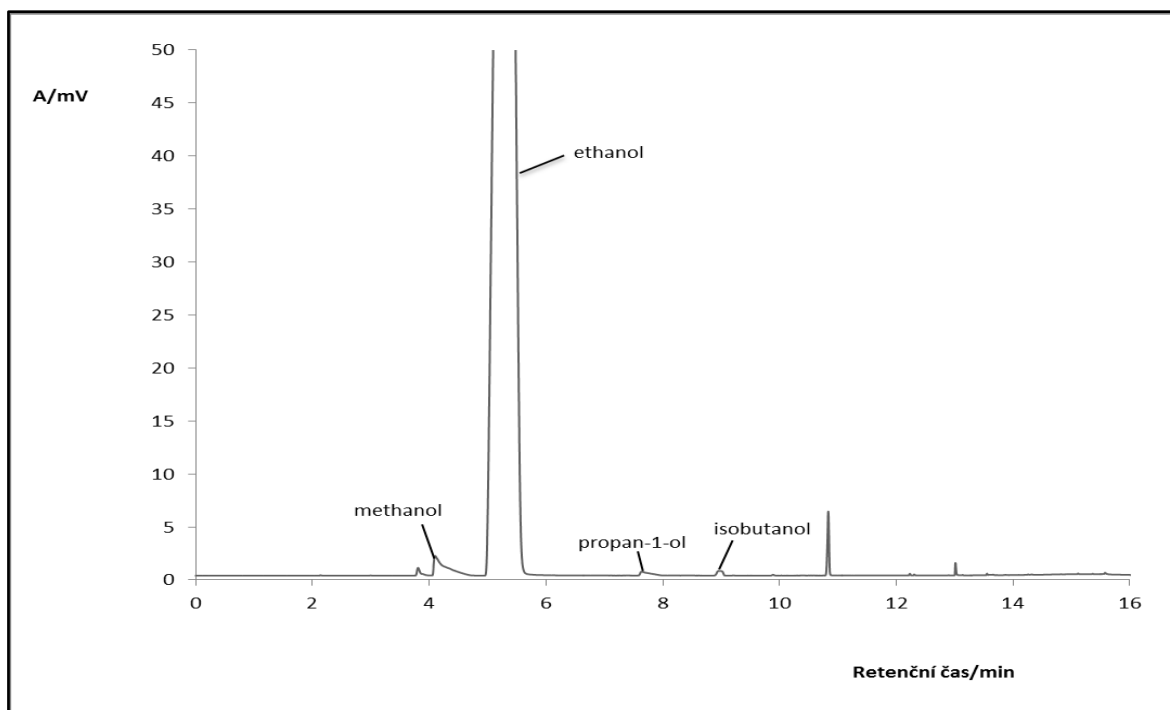
Příloha 21: Chromatogram destilátu D1 z plynového chromatografu DANI Master.



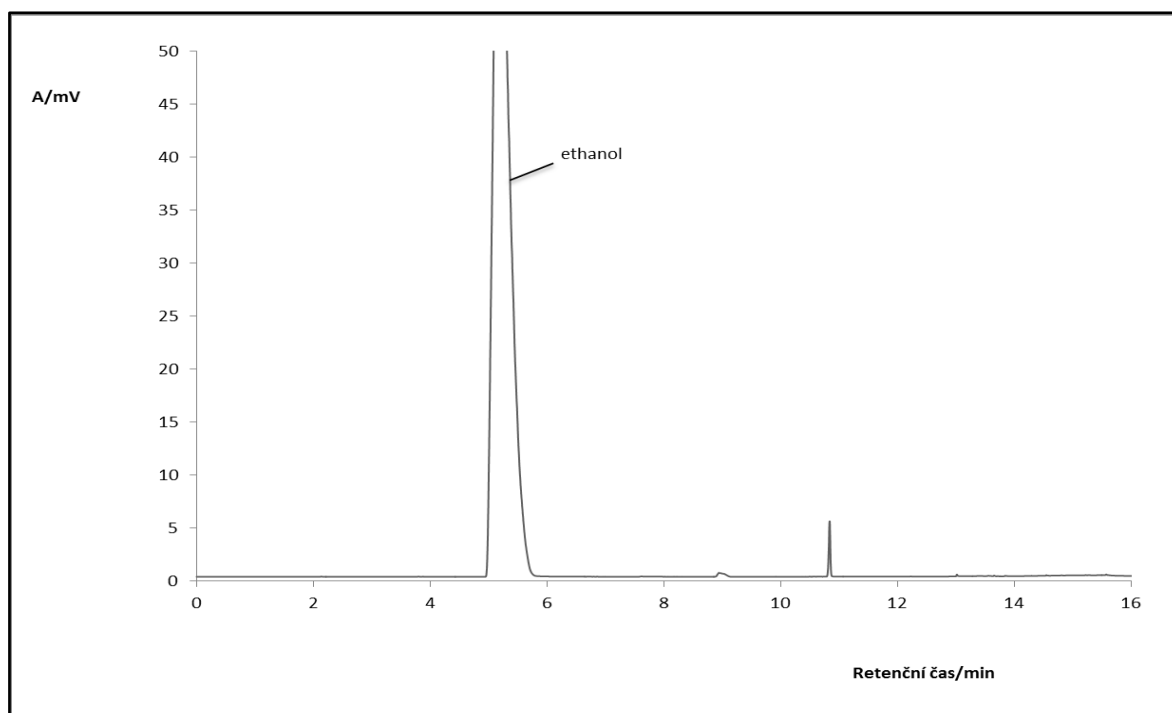
Příloha 22: Chromatogram destilátu D2 z plynového chromatografu DANI Master.



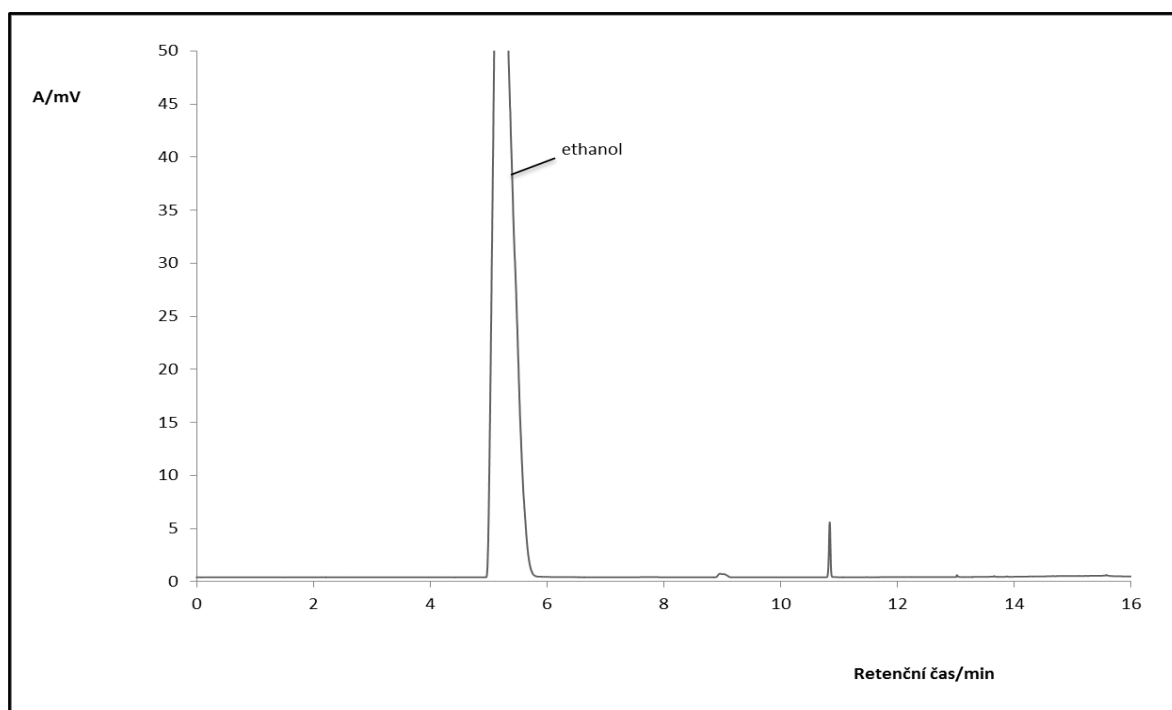
Příloha 23: Chromatogram destilátu E1 z plynového chromatografu DANI Master.



Příloha 24: Chromatogram destilátu E2 z plynového chromatografu DANI Master.

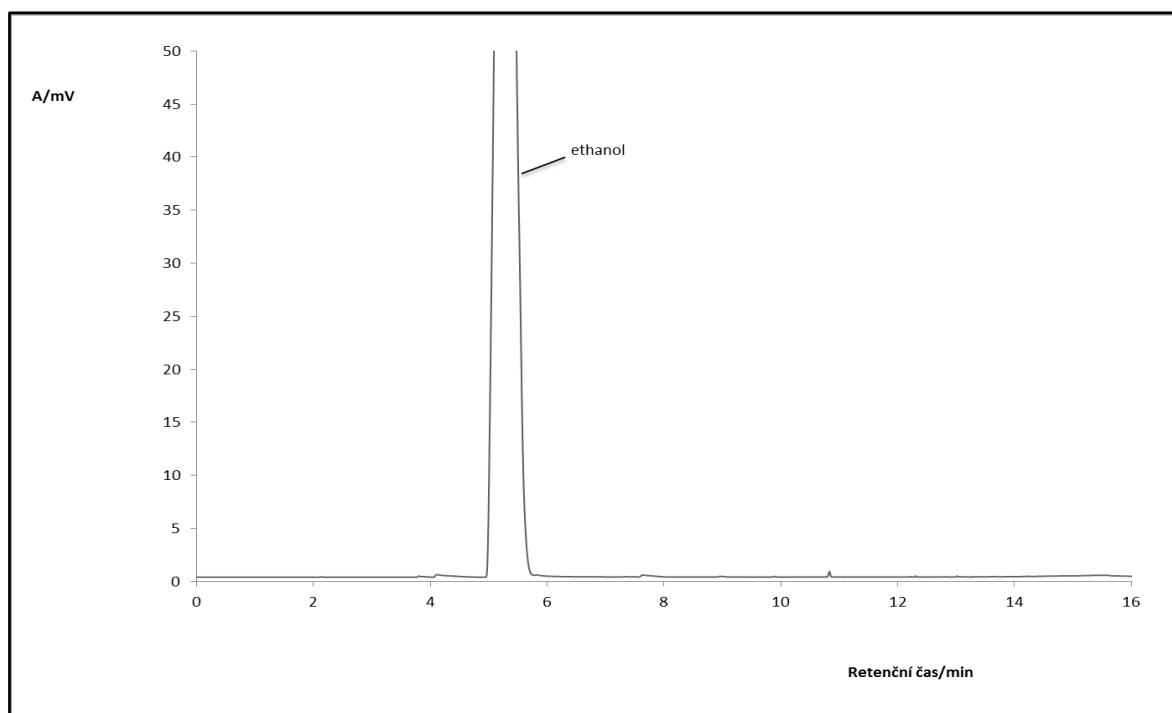


Příloha 25: Chromatogram destilátu F1 z plynového chromatografu DANI Master.

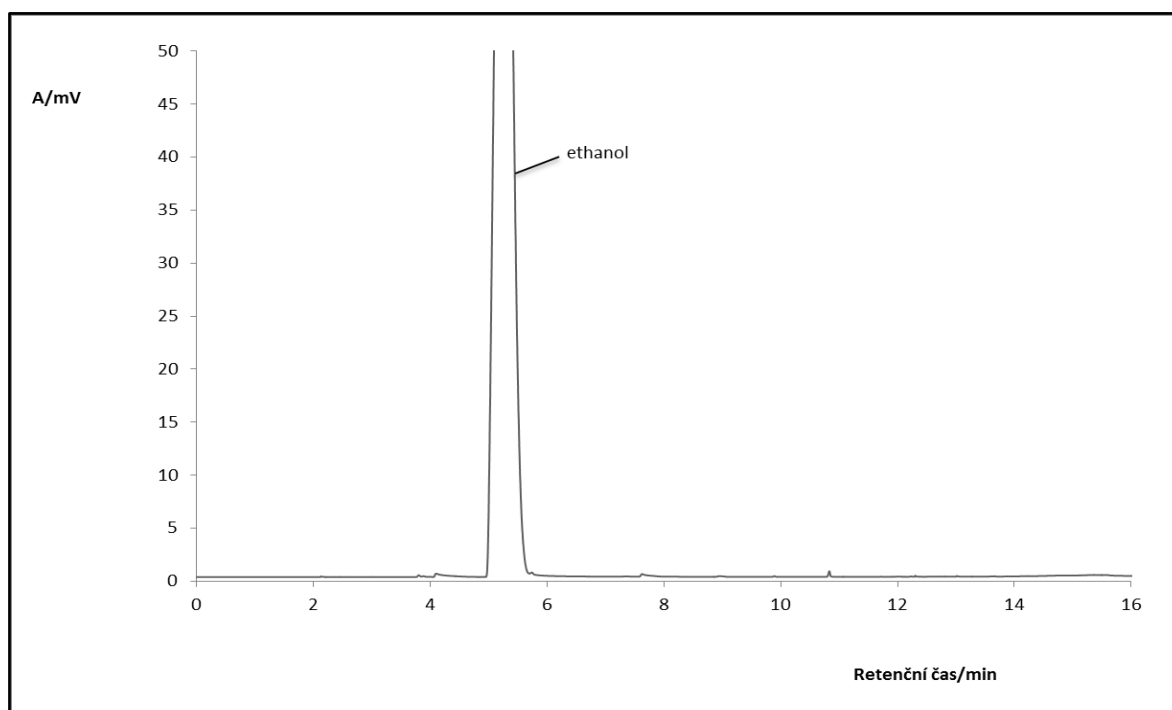


Příloha 26: Chromatogram destilátu F2 z plynového chromatografu DANI Master





**Příloha 27: Chromatogram destilátu G1 z plynového chromatografu DANI Master.**



**Příloha 28: Chromatogram destilátu G2 z plynového chromatografu DANI Master.**

**Příloha 29: Desatero výroby kvalitních destilátů**

Abychom si mohli být jisti nezávadností vypáleného destilátu, vyplatí se nám dodržovat zásady desatera výroby kvalitních destilátů. V deseti bodech jsou v něm shrnuty zásady, které vedou k nezávadnosti výrobku.

1. *„Použiješ jen zralé, zdravé a čisté ovoce. Nečistota, plíseň a hniloba vedou k chybám kvasu a destilátu.*
2. *Jádrové ovoce i drobné ovoce dobře rozmělníš a peckové ovoce rozmačkáš, jádra a pecky musí zůstat celé.*
3. *Použiješ jen čisté, alkoholu odolné, dobře uzavíratelné a pro potraviny vhodné nádoby s kvasnou zátkou.*
4. *Budeš dbát na čisté kvašení, tím že budeš přidávat do kvasu čisté kultury kvasinek, enzymy a v případě nutnosti i kyselinu.*
5. *Budeš udržovat kvasnou teplotu 16-20 °C (u Williamsovy čáslavky a malin 16-18 °C). Ovoce musí mít při přípravě rmutu kvasnou teplotu, aby rychle naběhlo kvašení.*
6. *Kvas budeš pálit při dozrívajícím kvašení nebo při ukončeném kvašení. Pokud to není možné, je třeba kvas vhodně skladovat.*
7. *První destilaci provedeš pozvolna a druhou ještě velmi citlivě. Úkap, prokap a dokap co nejlépe oddělíš.*
8. *Prokap budeš skladovat v teple a za mírného přístupu vzduchu, aby se zmírnila a zakulatila hrubá a neharmonická chuť.*
9. *Destilát zředíš vodou na odpovídající koncentraci, případně jej budeš filtrovat, ještě chvíli skladovat a pak jej nabídneš v odpovídajícím obalu k prodeji.*
10. *Budeš poctivý a budeš prodávat jen takovou pálenku, která byla vyrobena za 100 procent ovoce a do níž už nebylo jinak nic přidáno.“<sup>12</sup>*