

Možnosti dostupného stanovení methanolu vedle ethanolu

Martin Hájek

Bakalářská práce
2015



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martin Hájek**

Osobní číslo: **T12793**

Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**

Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**

Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Možnosti dostupného stanovení methanolu vedle ethanolu**

Zásady pro vypracování:

1. Prostudujte doporučenou literaturu a vyznačte možné směry realizace tématu.
2. Provedte laboratorní pokusy stanovení methylalkoholu vedle ethylalkoholu dle Willstättera a Ultzingerera a spektrofotometricky s kyselinou chromotropovou.
3. Pokusy směřujte tak, aby z nich vyplynuly hranice stanovení toxického methanolu.
4. Výsledky posuďte z hlediska možného, praktického využití a formulujte závěry.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

Bude upřesněno podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce:

prof. Ing. Jan Kupec, CSc.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

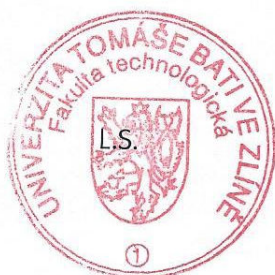
20. ledna 2015

Termín odevzdání bakalářské práce:

22. května 2015

Ve Zlíně dne 10. února 2015


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: HÁJEK MARTIN.....

Obor: 102P.....

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně 15. 5. 2015.....

Hájek.....

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na možnosti stanovení toxického methanolu, především metodami proveditelnými v běžné laboratoři, která není vybavena speciálními instrumentálními metodami, jako je plynová chromatografie. Tato práce rovněž pojednává o bezpečném množství methanolu, které nepředstavuje nebezpečí pro lidský organizmus, dále pak o možnostech léčby intoxikací methanolem. Byla zkoumána spektrofotometrická metoda využívající selektivní indikátor kyselinu chromotropovou, další ze zkoumaných metod je založena na gravimetrii. Výsledky laboratorního stanovení byly srovnány s výsledky analýzy plynovou chromatografií pro zjištění přesnosti laboratorní analýzy.

Klíčová slova: Methanol, toxikologie, kyselina chromotropová, formaldehyd, fomepizol

ABSTRACT

This thesis is focused on the determination of toxic methanol, first and foremost by the means of methods that can be carried out in common laboratories that are not equipped with a gas chromatograph. This thesis is also about the determination of tolerable amount of methanol in alcoholic drinks that does not cause any ill effect to human body. Furthermore, possible cures for methanol intoxication are addressed. One of the methods to determine methanol content uses chromotropic acid as a selective indicator. The second of the proposed methods uses gravimetric analysis to determine the methanol content. The results of the laboratory determination were compared to the results of the gas chromatography to assess the accuracy of the proposed methods.

Key words: Methanol, toxicology, chromotropic acid, formaldehyde, fomepizole

Na tomto místě bych rád poděkoval mému vedoucímu bakalářské práce prof. Ing. Janu Kupcovi, CSc. za cenné připomínky a rady, které mi poskytl během vypracování mé práce. Dále bych rád poděkoval mé rodině za podporu během studia.

*„Nehovořte o chybách,
ty budou hovořit samy za sebe.“*

Sir Winston Churchill

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 METHANOL	12
1.1 ZÁKLADNÍ FYZIKÁLNÍ A CHEMICKÉ VLASTNOSTI METHANOLU	12
1.2 VÝROBA METHANOLU	12
2 TOXICITA METHANOLU PRO LIDSKÝ ORGANIZMUS	13
2.1 TOXIKOKINETIKA METHANOLU.....	13
2.2 TOLEROVATELNÉ MNOŽSTVÍ METHANOLU A TOXICKÉ MNOŽSTVÍ METHANOLU	13
2.3 METABOLIZMUS METHANOLU A PROTILÁTKY	14
2.3.1 Ethanol jako protilátka oddalující metabolismus methanolu	14
2.3.2 Fomepizol	15
3 LEGISLATIVA TÝKAJÍCÍ SE POVOLENÉHO MNOŽSTVÍ METHANOLU V LIHOVINÁCH	16
3.1.1 Povolené množství methanolu v lihových nápojích.....	16
4 STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU	17
4.1 STANOVENÍ METHOXY- A ETHOXY- SKUPIN DLE WILLSTÄTTERA A UTZINGERA	17
4.1.1 Chemické reakce stanovení Willstättera a Utzingera.....	17
4.2 SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU.....	18
4.2.1 Kyselina chromotropová	18
4.2.2 Chemizmus stanovení methanolu pomocí kyseliny chromotropové.....	19
4.2.3 Spektrofotometrické stanovení.....	19
4.3 STANOVENÍ METODOU PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE (GC)	19
4.3.1 Popis funkce plynového chromatografu	20
5 CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE	21
II PRAKTICKÁ ČÁST	22
6 MATERIÁL POUŽITÝ K ANALÝZE JEDNOTLIVÝMI METODAMI	23
6.1 VZORKY DESTILÁTU	23
6.2 CHEMIKÁLIE	24
7 STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU VE VZORCÍCH PLYNOVÝM CHROMATOGRAFEM (GC-FID)	25
7.1 PŘÍPRAVA VZORKŮ	25
7.2 PODMÍNKY MĚŘENÍ.....	25
7.3 ANALÝZA VZORKŮ METODOU KALIBRAČNÍ KŘIVKY	25
7.3.1 Výsledky analýzy	26
8 STANOVENÍ METHANOLU KYSELINOU CHROMOTROPOVOU	27

8.1	PŘÍPRAVA VZORKŮ PŘED ANALÝZOU.....	27
8.2	APLIKACE SELEKTIVNÍHO INDIKÁTORU	27
8.3	MĚŘENÍ ABSORBANCE CHROMOGENU A STANOVENÍ KONCENTRACE METHANOLU METODOU KALIBRAČNÍ KŘIVKY	28
8.4	VÝSLEDKY SPEKTROFOTOMETRICKÉHO STANOVENÍ A POROVNÁNÍ S GC-FID	29
8.5	INTERFERUJÍCÍ LÁTKY.....	29
8.6	LIMIT DETEKCE.....	30
9	STANOVENÍ METHANOLU METODOU DLE WILLSTÄTTERA A UTZINGERA	31
9.1	PODMÍNKY A TECHNIKA POUŽITÁ K ANALÝZE	31
9.2	POSTUP STANOVENÍ.....	31
9.3	VÝSLEDKY ANALÝZY	32
9.4	LIMIT DETEKCE.....	33
10	DISKUSE VÝSLEDKŮ.....	34
	ZÁVĚR.....	35
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	36
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	39
	SEZNAM OBRÁZKŮ	40
	SEZNAM TABULEK.....	41

ÚVOD

Pro stanovení obsahu všech alkoholů v lihových nápojích je předepsaná instrumentální metoda plynové chromatografie. Tato práce je především pokusem o nalezení a implementaci metody stanovení toxického methanolu v alkoholických nápojích, která je proveditelná i na pracovištích, která nejsou vybavena plynovým chromatografem. Základními požadavky pro tuto metodu jsou především jednoduchost provedení, malé nároky na vybavení laboratoře k provedení zkoušky a dostatečná přesnost určení obsahu methanolu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 METHANOL

Methanol (dřevný líh) je nejjednodušším alkoholem. Je to bezbarvá kapalina alkoholického zápachu. Zkoumání jeho obsahu v destilátech je nezbytné, protože má nižší teplotu varu než ethanol a jeho obsah je v prvotní fázi destilace poměrně vysoký. Technologickými postupy je methanol během destilace odstraňován, jeho přítomnost je však daná tvorbou azeotropické směsi.

1.1 Základní fyzikální a chemické vlastnosti methanolu

Bod varu: 64,7°C

Hořlavost: hořlavá kapalina I. třídy nebezpečnosti

Rozpustnost ve vodě: mísí se s vodou, ethanolem a acetonem

Teplota tání/tuhnutí: -98°C

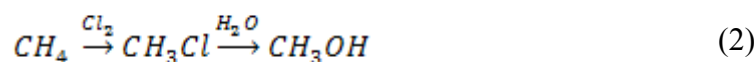
Nejnižší smrtelná dávka (LDLO) orálně: člověk: 143 mg/kg [13]

1.2 Výroba methanolu

Zastaralý způsob výroby methanolu spočívá v zahřívání dřeva bez přístupu vzduchu. Odtud pochází zastaralý název pro methanol *dřevný líh*. Dnes se methanol vyrábí téměř výhradně hydrogenací oxidu uhelnatého. Optimální podmínky pro reakci jsou tlak kolem 20 MPa a teplota 350°C; katalyzátorem je směs oxidu zinečnatého a oxidu chromitého [14-16]



Methanol lze rovněž získat chlorací methanu hydrolyzou produktu reakce



2 TOXICITA METHANOLU PRO LIDSKÝ ORGANIZMUS

Methanol je po požití postupně enzymaticky metabolizován alkoholdehydrogenázou. Vznikají produkty oxidace methanolu, tj. formaldehyd a kyselina mravenčí. Tyto metabolity jsou pro lidský organizmus toxické a mají rovněž negativní vliv na funkci očního nervu. Jejich zvýšená koncentrace v těle způsobuje slepotu a následný kolaps organismu, který končí smrtí. Enzym alkoholdehydrogenáza má 20 krát vyšší afinitu k ethanolu než k methanolu [2,3], proto konzumace podezřelého či svépomocí získaného alkoholického nápoje nemusí nutně přivodit příznaky otravy právě z důvodu podstatně vyššího množství ethanolu.

Obsah methanolu v lihových nápojích je Evropskou unií regulován. V této práci nastíníme souvislost mezi povoleným množstvím methanolu a maximálním množstvím, které je nebezpečné pro lidský organizmus.

2.1 Toxikokinetika methanolu

Studie prokázaly, že poločas eliminace methanolu z krevního řečiště je 140 minut [4,5]. Jak již bylo zmíněno, ethanol je metabolizován přednostně [1-3]. Pokud je ethanol obsažen v krvi v dávkách vyšších, než 100 mg/dl, je katalýza methanolu alkohol dehydrogenázou úplně zastavena. V tomto případě je methanol odstraňován z těla pouze močí a ve vydechovaném vzduchu. Obsah methanolu v krvi při koncentraci ethanolu 100 mg/dl klesá velmi pomalu, literatura [1] uvádí pokles 1-2 % methanolu v krvi za hodinu. Hladina ethanolu v krvi 100 mg/dl je dosažena konzumací 36 g ethanolu (přibližně 100 ml 40 % lihoviny) v intervalu 1 hodiny a následnou pravidelnou konzumací 6,5 gramu ethanolu za hodinu. Při těchto podmínkách je methanol obsažený v krvi z poloviny odstraněn fyziologickými procesy asi po 40 hodinách [1].

2.2 Tolerovatelné množství methanolu a toxické množství methanolu

Literatura [1] uvádí údaj o koncentraci methanolu 1mg/dl krve jako přirozenou. Dále se uvádí, že koncentrace methanolu vyšší než 20mg/dl krve je koncentrace vyžadující lékařské ošetření. Na základě těchto dvou údajů lze bezpečně tvrdit, že koncentrace methanolu 5 mg/dl krve nepředstavuje nebezpečí pro lidský organizmus [1]. Pro zjištění limitní koncentrace methanolu v lihovině byl vytvořen následující model.

Osoba vážící 70 kg s obsahem vody v těle 55 % (39 litrů) dosáhne koncentrace methanolu v krvi 5mg /dl po požití 1950 mg methanolu. Pro konzumaci tohoto množství methanolu během 1-2 hodin uvažujeme 4 dávky lihoviny o objemu 25 ml a obsahu ethanolu 40 % obj. Pro dosažení výše uvedené koncentrace methanolu v krvi musí lihovina obsahovat 2 % obj. methanolu. Tyto údaje platí při uvážení následujících hypotéz:

- 1) míra absorpce je mnohem vyšší, než míra eliminace methanolu z těla
- 2) množství požitého ethanolu současně s methanolem neurychlí eliminaci díky svým močopudným účinkům
- 3) množství methanolu 5mg/dl krve nepředstavuje nebezpečí pro lidský organizmus

Třetí hypotéza je potvrzena v praxi [6], kdy byl sledován zdravotní stav dobrovolníků, kteří dosáhli koncentrace methanolu 7,6 mg/dl krve. Tato koncentrace byla zkoumána 2 hodiny po konzumaci 5845 mg methanolu na 70 kg lidské váhy.

Shrnutím výše uvedených poznatků lze usoudit, že množství methanolu 5 mg/dl krve je dávka, která nepředstavuje riziko pro lidské zdraví, a to po libovolně dlouhou dobu, po kterou tato koncentrace přetrvává [1].

2.3 Metabolismus methanolu a protilátky

Methanol je metabolizován enzymem alkoholdehydrogenázou na formaldehyd, a následně na kyselinu mravenčí. Tyto látky způsobují metabolickou acidózu, kardiovaskulární nestabilitu a často smrt [11]. Enzym alkoholdehydrogenáza však přednostně katalyzuje odbourávání ethanolu [1], proto je zvýšení množství ethanolu v krvi jednou z metod první pomoci při otravě methanolem [8]. Jednou z dalších možností je použití látky s názvem Fomepizol [10].

2.3.1 Ethanol jako protilátka oddalující metabolismus methanolu

Zvýšení množství ethanolu v krvi je základním opatřením při intoxikaci methanolem. Jedná se však o zásah, který pouze oddálí metabolismus methanolu, protože ethanol je rovněž metabolizován jaterním cytochromem P450 2E1 [9]. Z tohoto důvodu je ochranná funkce ethanolu coby protilátky brzy vyčerpána. Jak již bylo zmíněno výše, inhibice metabolismu methanolu alkoholdehydrogenázou nastává při množství ethanolu v krvi 100 mg/dl. Methanol je v tomto případě odstraněn beze změn vylučovací soustavou.

Pacient však musí být důsledně kontrolován, protože je intoxikován ethanolem a musí se zabránit selhání jater či hypoglykémii [10].

2.3.2 Fomepizol

Fomepizol (4-methylpyrazol) je inhibitorem enzymu alkoholdehydrogenázy. Tato sloučenina je použitelná jako protilátka nejen při intoxikaci methanolem, ale také ethylenglykolem [12]. V jedné ze studií [10] byla tato látka použita ve více případech intoxikace methanolem jako protilátka a byly zkoumány její účinky na pacientech. Fomepizol byl podáván intravenózně, dávka 15 mg na 1 kg tělesné váhy. Následně byly podávány dávky 10 mg na 1 kg tělesné váhy každých 12 hodin. Tyto dávky se opět zvýšily na 15 mg na 1 kg tělesné váhy po 48 hodinách. Podávány byly každých 12 hodin, aby se zabránilo metabolismu Fomepizolu. Pacienti byli tímto způsobem léčeni až do okamžiku, kdy koncentrace methanolu v krvi klesla pod hodnotu 20 mg/dl krve. Doba léčby Fomepizolem trvala průměrně 30 hodin. Objevily se však i vedlejší příznaky spojené s touto léčbou. U některých pacientů byly pozorovány stavy úzkosti, rozrušení či škytavka [10].

3 LEGISLATIVA TÝKAJÍCÍ SE POVOLENÉHO MNOŽSTVÍ METHANOLU V LIHOVINÁCH

3.1.1 Povolené množství methanolu v lihových nápojích

V níže uvedené tabulce jsou uvedeny povolená množství methanolu v jednotlivých destilátech, dle prováděcí vyhlášky k zákonu o lihu č. 141/1997 Sb. [7].

Tabulka 1 Maximální přípustné množství methanolu ve vybraných destilátech

Druh lihu-ovocné a jiné destiláty	Obsah methanolu [g/la]
borovičkový	15
hruškový	15
jablečný	15
meruňkový	15
slivovicový	15
třešňový	15
vinný	2
whiskový	15
broskvový	15
višňový	15
obilný	15

Jednotka obsahu methanolu v lihovině g/la určuje hmotnost methanolu v jednom litru 100 % obj. ethanolu [7]. Předpokládejme následující příklad: Destilát jiný než vinný o obsahu ethanolu 50 % obj. má dle výše uvedené tabulky povolený obsah methanolu 7,5 g/l. Uvažujme hustotu čistého methanolu 0,79 g/ml. Objem methanolu o hmotnosti 7,5 g odpovídá hodnotě 9,5 ml. Procentuálně vyjádřeno, povolené množství methanolu v tomto modelu je 0,95 % obj. Srovnajme nyní vypočítanou hodnotu s výsledky, které dle publikované literatury [1] představují stále bezpečné množství methanolu, které nezpůsobí zdravotní komplikace, tj. 2% methanolu v lihovině o koncentraci ethanolu 40 % obj. Vyhláškou daný limit stanovuje množství, které nepředstavuje bezpečnostní riziko a k hodnotě 2% obj., kterou v této práci uvádím jako bezpečnou, se nepřibližuje a představuje tak značnou rezervu.

4 STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU

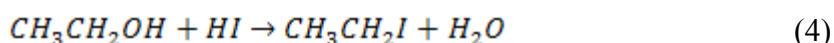
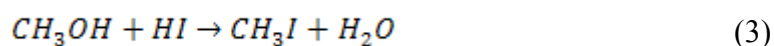
Alkoholy jako methanol a ethanol jsou látky rozpustné ve vodě; získávají se destilací jejich vodných roztoků-zkvašených přírodních produktů obsahujících cukr. S vodou tvoří azeotropickou směs; proto vodu nelze odstranit běžným procesem destilace. Přítomnost většího množství methanolu je, jak již bylo nastíněno výše, naprosto nepřipustná z důvodu jeho toxicity. Odlišit methanol od ethanolu senzorycký je nemožné, protože lihovina vždy obsahuje buď příměsi ovlivňující chuť produktu, nebo je chuť destilátu ovlivněna přírodní surovinou použitou k jeho výrobě. Zkoušky založené na barvě plamene jsou též diskutabilní a rozhodně je nelze jako věrohodné doporučit, protože většina alkoholických nápojů neobsahuje dostatečné množství ethanolu, aby mohlo dojít k zažehnutí plamene. Navíc se jedná o směs obou alkoholů a barva plamene je vždy ovlivněna oběma spalovanými látkami. Je proto nutné stanovit tyto alkoholy jiným způsobem. Optimální je použití instrumentálních metod, zejména plynové chromatografie nebo Ramanovy spektroskopie. V této práci se zabývám metodami proveditelnými v běžné chemické laboratoři.

4.1 Stanovení methoxy- a ethoxy- skupin dle Willstättera a Utzingera

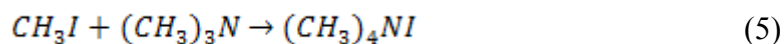
Jedná se o metodu založenou na sledu několika relativně jednoduchých chemických reakcí. Cílem je převedení methanolu a ethanolu na sloučeninu o vyšší molekulové hmotnosti. Stanovení methanolu touto metodou provedli Harold S. King a Adam C. Bell [19].

4.1.1 Chemické reakce stanovení Willstättera a Utzingera

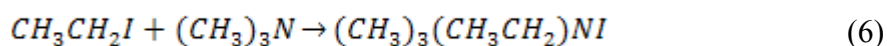
Nejprve jsou oba alkoholy převedeny na alkyl-jodidy reakcí s koncentrovanou kyselinou jodovodíkovou.



Následujícím krokem je reakce alkyl-jodidů s trimethylaminem za vzniku alkylamoniových solí. Reakce probíhají v roztoku trimethylaminu (TMA) v absolutním alkoholu.



Produktem této reakce je v ethanolu nerozpustná sraženina tetramethylamonium jodidu, která indikuje obsah methanolu ve vzorku. Analogicky vzniká trimethyl(ethyl)amonium jodid, který zůstává rozpuštěn v alkoholickém roztoku TMA.



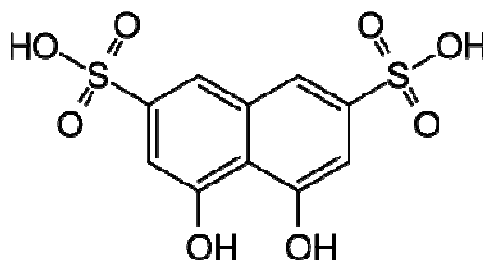
Vznik sraženiny indikuje obsah methanolu. Hmotnost vzniklého tetramethylamonium jodidu pak kvantitativně udává obsah methanolu ve vzorku. Odstraněním sraženiny a odpařením rozpouštědla lze analogickým způsobem kontrolně určit obsah ethanolu.

4.2 Spektrofotometrické stanovení obsahu methanolu

Při spektrofotometrickém stanovení koncentrace vzniká chromogen. Intenzita barvy je přímo úměrná koncentraci zkoumané látky. V případě methanolu je nutné zvolit vysoce selektivní indikátor, jehož funkce není ovlivněna dalšími příměsemi, které se mohou v lihovinách vyskytovat. V této práci byla jako indikátor zvolena kyselina chromotropová, kterou použil i tým Mohammada Delirrada [17] v roce 2012.

4.2.1 Kyselina chromotropová

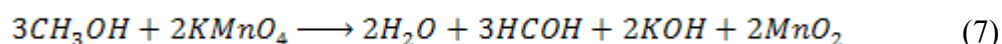
Jedná se o derivát naftalenu (4,5- dihydroxy-2,7- naftalendisulfonová kyselina, obr. 1). V silně kyselém prostředí indikuje přítomnost formaldehydu tvorbou červenofialového chromogenu.



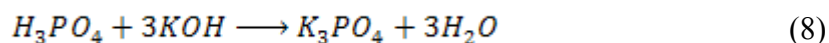
Obrázek 1 Chemický vzorec kyseliny chromotropové

4.2.2 Chemizmus stanovení methanolu pomocí kyseliny chromotropové

Jak již bylo popsáno výše, kyselina chromotropová je indikátorem formaldehydu. Proto je nutné nejprve převést alkoholy ve vzorku na odpovídající aldehydy vhodným oxidovadlem. Je možné použít například dichroman draselný či manganistan draselný. Níže uvedená reakce alkoholu s manganistanem draselným byla použita pro praktickou část práce ke stanovení methanolu ve vzorcích lihovin.



Reakce probíhá v kyselém prostředí kyseliny ortho-fosforečné, ta reaguje se vznikajícím hydroxidem za vzniku fosforečnanu a vody.



Vznikající MnO_2 tvoří hnědou sraženinu, jejíž přítomnost by zkreslovala následné stanovení, které je podmíněno tvorbou chromogenu. Sraženinu lze odstranit přidáním roztoku disiřičitanu sodného nebo draselného, který roztok odbarví. Kyselina chromotropová vytvoří chromogen až po přidavku koncentrované kyseliny sírové; některé studie [18] uvádějí rovněž možnost použití kyseliny fosforečné, chlorovodíkové a chloristé.

4.2.3 Spektrofotometrické stanovení

Po vytvoření chromogenu je možné provést kalibraci standardními roztoky o známém obsahu methanolu; intenzita barvy je přímo úměrná obsahu methanolu.

4.3 Stanovení metodou plynové chromatografie (GC)

Plynová chromatografie slouží ke stanovení těkavých látek lehce převeditelných do plynného skupenství. Látky stanovitelné touto metodou musí mít dostatečný tlak nasycených par, musí být tepelně stálé a relativní molekulová hmotnost nesmí překročit 1000 g/mol. Použití metody není možné například pro stanovení makromolekulárních látek, organických a anorganických solí. Naopak těkavé organické látky, mezi něž patří námi zkoumané alkoholy, lze touto metodou spolehlivě stanovit. Analýza vzorků plynovou chromatografií v našem výzkumu posloužila jako referenční metoda ke srovnání přesnosti stanovení obsahu methanolu metodami chemickými [20].

4.3.1 Popis funkce plynového chromatografu

Aby bylo možné vzorek analyzovat, musí se přeměnit v páry. To se děje okamžitě po vstříknutí do vyhřívaného dávkovače; zpravidla vstříkujeme jen několik μl látky. Páry jsou transportovány nosným plynem (mobilní fází) do vyhřívané kolony, kde dochází k separaci jednotlivých složek vzorku na základě různé afinity ke stacionární fázi. Do detektoru látky vstupují jednotlivě, každá po určitém čase, který nazýváme retenční. K analýze vzorků v této práci byl použit plamenově-ionizační detektor. Po vstupu látky do detektoru dojde k ionizaci plamene a tím ke zvýšení vodivosti prostoru detektoru. Tento výkyv je zaznamenán na chromatogramu; na základě tvaru křivky lze určit, o jakou látku se jedná, plocha pod křivkou určuje množství zkoumaného analytu [20].

5 CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Cílem bakalářské práce bylo shromáždit dostupné informace o metodice stanovení methanolu a provést laboratorní stanovení na základě získaných teoretických poznatků. Dále bylo nutné zjistit přesnost daných laboratorních metod srovnáním výsledků měření s výsledky získanými měřením pomocí plynové chromatografie za použití reálných vzorků lihovin. Následně poznatky shrnout a zvážit vhodnost použití metodiky v běžné laboratorní praxi.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 MATERIÁL POUŽITÝ K ANALÝZE JEDNOTLIVÝMI METODAMI

6.1 Vzorky destilátu

Pro aplikaci metod popsaných v teoretické části této práce byly zkoumány vzorky destilátů vyrobených v pěstitelské pálenici. Přírodní materiál pro kvas a následnou destilaci se v jednotlivých případech lišil. V tabulce 2 jsou uvedeny veškeré údaje o složení vzorků, obsah ethanolu a druh suroviny použité k výrobě dané lihoviny.

Tabulka 2 Charakteristika vzorků lihovin

Označení	Surovina	Obsah ethanolu
1	Švestka	52%
2	Mirabelka	52%
3	Švestka	46%
4	Hrozen	není známo
5	Domácí pivo	není známo
6	Švestka	46%
7	Špendlík, švestka, ryngle	47%
8	Švestka	není známo
9	Švestka	není známo

6.2 Chemikálie

-ethanol pro UV spektroskopii; výrobce: Lachema; obsah ethanolu min. 96% obj.

-methanol; výrobce: Dorapis, Bacílek; obsah methanolu min. 99,5%

-kyselina jodovodíková; výrobce: Merck; koncentrace: 57% hm.; čistota p.a.

-trimethylamin; roztok v absolutním ethanolu; výrobce Sigma-Aldrich; koncentrace 31-35%; čistota p.a.

-kyselina sírová; výrobce Penta; koncentrace min. 96%; čistota p.a.

-manganistan draselný; výrobce Lachema; čistota p.a.

-disiřičitan draselný; výrobce Lachema; čistota p.a.

-kyselina ortho-fosforečná; výrobce Lachema; koncentrace 86 %; čistota p.a.

-kyselina chromotropová; výrobce Lachema; čistota p.a.

7 STANOVENÍ OBSAHU METHANOLU VE VZORCÍCH PLYNOVÝM CHROMATOGRAFEM (GC-FID)

Aby bylo možné vyhodnotit přesnost stanovení methanolu pomocí laboratorních metod popsaných v teoretické části, byly vzorky nejprve zkoumány metodou plynové chromatografie. Pro analýzu byl použit přístroj Agilent Technologies 7890A s plamenově ionizačním detektorem. Pro zjištění obsahu methanolu byla použita metoda kalibrační křivky a koncentrace methanolu ve vzorcích byla vypočtena na základě regresní analýzy kalibrační křivky.

7.1 Příprava vzorků

Vzorky byly před analýzou naředěny, a to následujícím způsobem: 1 ml vzorku byl pipetován do odměrné baňky o objemu 5 ml, doplněn vodou po rysku a dokonale promíchán. Do kolony bylo injektováno 5 μ l takto připraveného roztoku.

7.2 Podmínky měření

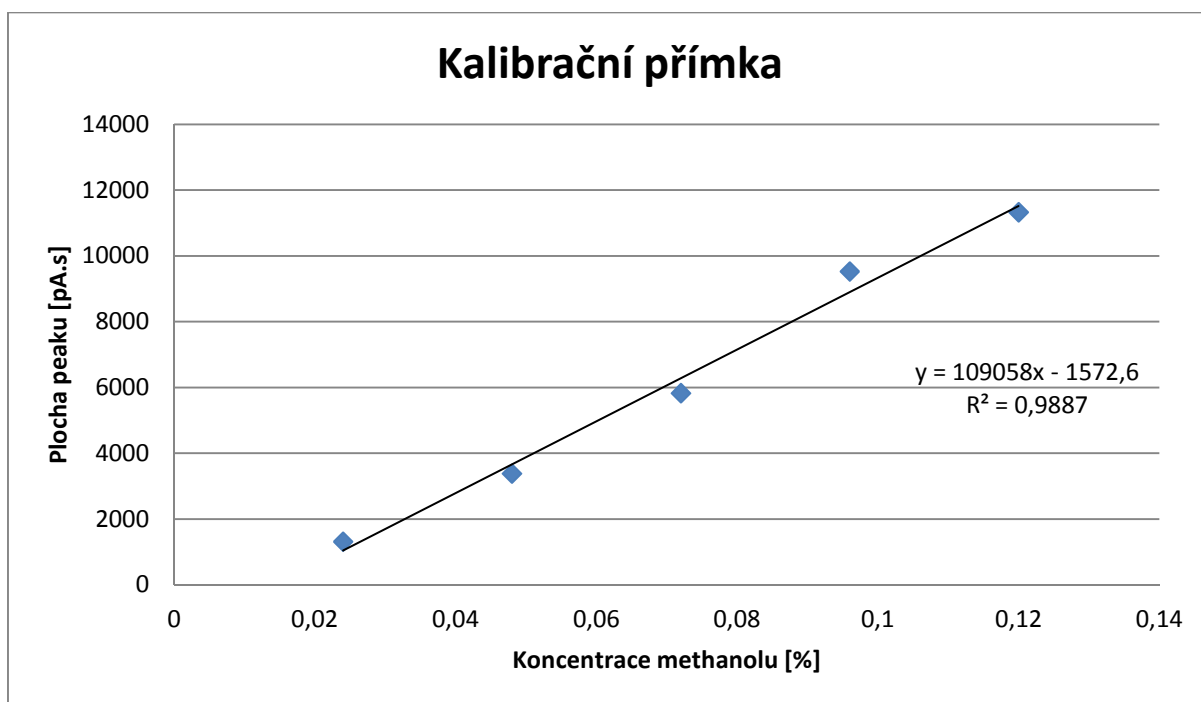
Jako nosný plyn bylo použito helium, průtok plynu 2 ml/min. Teplota nástřiku vzorku byla nastavena na 250 °C. Kolona byla vyhřívána na 300 °C. Množství vzorku vstříkovaného do dávkovače bylo 5 μ l.

7.3 Analýza vzorků metodou kalibrační křivky

Pro kalibraci plynového chromatografu byly použity vodné roztoky o koncentraci 0,024; 0,048; 0,072; 0,096 a 0,12 % obj. methanolu. K jejich přípravě byl použit zásobní roztok o koncentraci 0,6% obj. MeOH.

Tabulka 3 Hodnoty plochy peaku odpovídající koncentracím MeOH použitých pro kalibraci

Kalibrační roztok č.	Obsah MeOH [%]	Plocha peaku [pA.s]
1	0,024	1318
2	0,048	3386
3	0,072	5831
4	0,096	9530
5	0,120	11333



Obrázek 2 Kalibrační přímka

7.3.1 Výsledky analýzy

Po provedení kalibrace byly postupně analyzovány jednotlivé vzorky. Výsledné hodnoty koncentrace MeOH jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4 Koncentrace MeOH ve vzorcích lihovin stanovené pomocí GC-FID

Vzorky	Plocha peaku [pA.s]	Koncentrace;5x ředěno [%]	Koncentrace [%]
1	8140	0,0891	0,4453
2	9099	0,0979	0,4893
3	11676	0,1215	0,6074
4	2326	0,0357	0,1787
5	147	0,0158	0,0788
6	8070	0,0884	0,4421
7	4867	0,0590	0,2952
8	7065	0,0792	0,3960
9	11272	0,1178	0,5889

Vzorek číslo 5 obsahuje dle analýzy pomocí GC-FID nižší koncentraci methanolu, než odpovídá dané kalibrační závislosti. Výsledek proto uvádím jako podlimitní.

8 STANOVENÍ METHANOLU KYSELINOU CHROMOTROPOVOU

Po zjištění obsahu methanolu ve vzorcích destilátů předepsanou metodou- plynovou chromatografií- byly vzorky podrobeny analýze pomocí kyseliny chromotropové. Cílem tohoto stanovení je zjištění přesnosti této analýzy porovnáním výsledků s GC-FID. Dále byla zkoumána složitost úkonů vedoucích ke stanovení obsahu methanolu a uvedena diskuse možné implementace této metody do laboratorní praxe.

8.1 Příprava vzorků před analýzou

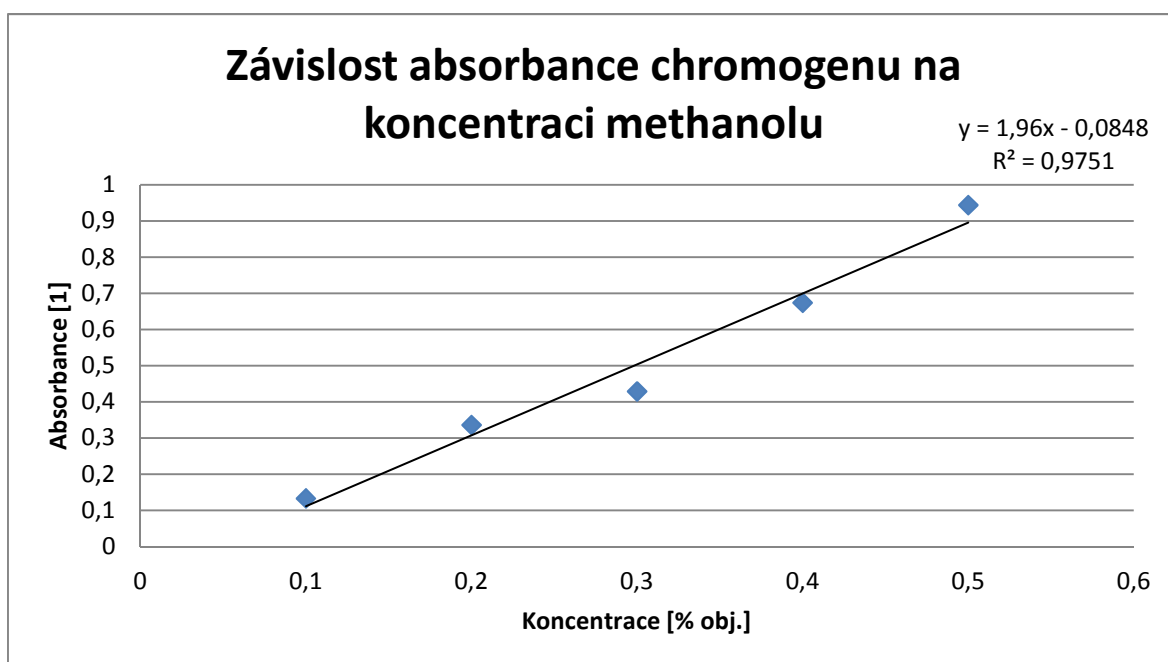
0,1 ml vzorku bylo pipetováno do zkumavky o objemu 20 ml. Ke vzorku bylo přidáno 0,1 ml 37 % obj. ethanolu. Tento krok je nutný, jelikož ředění vzorku vodou vykazovalo v pozdějším měření absorbance chromogenu odchylky. Každý takto připravený vzorek byl oxidován na příslušné alkyl-aldehydy dle rovnice (7), respektive dle rovnice (8). K obsahu zkumavky bylo pipetováno 0,4 ml vodného roztoku obsahující 3 % manganistanu draselného a 15 % kyseliny ortho-fosforečné. Oxidace probíhala přibližně po dobu 5 minut a její úplnost je indikována vznikem hnědé sraženiny MnO_2 . Pro přehlednost nutno dodat, že k úplné oxidaci dojde po vymizení fialového zbarvení, které nastane po spotřebování veškerého manganistanu.

8.2 Aplikace selektivního indikátoru

Vzorky alkoholů byly oxidovány manganistanem draselným na aldehydy. Aby bylo možné spektrofotometricky stanovit koncentraci methanolu, respektive formaldehydu, je nutné vzorek odbarvit. Sraženina MnO_2 by zkreslovala analýzu, proto je ke vzorku nutno po kapkách přidat 10 % roztok disiřičitanu sodného nebo draselného. Dojde k úplnému odbarvení reakční směsi, kdy veškerý MnO_2 je redukován až na Mn^{2+} ionty, které jsou bezbarvé. Takto připravená čirá a bezbarvá reakční směs může být použita k analýze. Selektivním indikátorem formaldehydu je v našem případě 5% roztok kyseliny chromotropové. Ke vzorkům bylo pipetováno 0,2 ml tohoto roztoku, ke vzniku chromogenu dochází po přidání 3 ml kyseliny sírové o koncentraci 96%. Vzniká červenofialové zbarvení, jehož intenzita je přímo úměrná koncentraci formaldehydu ve vzorku. Množství formaldehydu je ekvivalentní množství methanolu za předpokladu, že došlo k dokonalé oxidaci alkoholů.

8.3 Měření absorbance chromogenu a stanovení koncentrace methanolu metodou kalibrační křivky

Chromogen byl vytvořen ihned po přidání silné koncentrované kyseliny. Intenzita barvy byla však přílišná i pro malé koncentrace formaldehydu/methanolu. Z tohoto důvodu bylo z každé reakční směsi pipetováno 1 ml do odměrné baňky o objemu 5 ml a doplněno po rysku koncentrovanou kyselinou sírovou (96%). Použití kyseliny je nevyhnutelné, protože ředění vodou okamžitě destabilizuje chromogen a ten se začne rozkládat a ztrácet intenzitu. Pro stanovení kalibrační závislosti bylo pipetováno 0,2 ml standardu do reakčních zkumavek a podrobena stejným krokům, jako tomu bylo u vzorků o neznámé koncentraci. Byly použity standardy o koncentracích 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 % obj. methanolu. K ředění vzorků byl použit 37% obj. roztok ethanolu pro UV spektroskopii, standardy se neředily.



Obrázek 3 Závislost absorbance chromogenu na koncentraci methanolu

Tabulka 5 Hodnoty absorbance chromogenu odpovídající koncentraci standardu

Koncentrace [% obj.]	Absorbance [1]
0,1	0,133
0,2	0,336
0,3	0,429
0,4	0,674
0,5	0,944

8.4 Výsledky spektrofotometrického stanovení a porovnání s GC-FID

S použitím kalibrační závislosti (obr. 3) byly analyzovány vzorky lihovin výše popsanou metodou využívající kyselinu chromotropovou jako indikátor formaldehydu-ten vznikl po chemické oxidaci vzorků. Tabulka 6 obsahuje výsledky analýzy touto metodou. Absorbance chromogenu byla měřena pomocí přístroje Philips PU8800 UV/VIS spectrophotometer. Pro srovnání jsou uvedeny též koncentrace methanolu získané analýzou GC-FID.

Tabulka 6 Výsledky spektrofotometrického stanovení methanolu ve srovnání s GC

Označení vzorku	Absorbance[1]*	Koncentrace methanolu [% obj.]	Koncentrace methanolu GC [% obj.]	Odchylka [%]
1	0,335	0,43	0,45	-4
2	0,327	0,42	0,49	-14
3	0,425	0,53	0,61	-13
4	0,135	0,22	0,18	22
6	0,366	0,47	0,44	7
7	0,170	0,26	0,30	-13
8	0,319	0,41	0,40	3
9	0,383	0,48	0,59	-18

* vzorky byly dvakrát ředěny

8.5 Interferující látky

Lihoviny, jejichž složení je popsáno výše, byly čiré kapaliny bez přidaných dochucovacích látek či barviv. Proto byla provedena analýza karamellem obarveného, hořkého likéru s citrusovou příchutí. Barvivo (dle etikety se jedná o karamel) bylo rozloženo během oxidace manganistanem draselným. Před přidáním kyseliny chromotropové byl roztok čirý, stejně jako v případě analýzy destilátů. Avšak po přidání kyseliny sírové došlo k reakci, jejíž produkty měly temně hnědou barvu a tvorbu chromogenu nebylo díky této skutečnosti možné prokázat, ani změřit. V případě popisovaného likéru se s největší pravděpodobností interferující látkou stal cukr, který po přidání kyseliny sírové zuhelnatěl.

8.6 Limit detekce

Chromogen je vytvořen po přidání kyseliny sírové ke zkoumanému vzorku či standardu. Avšak se snižující se koncentrací methanolu byla pozorována i nižší stabilita vzniklého chromogenu. Jinými slovy, při nižší koncentraci methanolu barevný roztok rychle degraduje a měření absorbance je zatíženo velkou chybou. Nárůst rychlosti degradace byl pozorován při koncentracích nižších než 0,1% objemových methanolu. Proto koncentraci methanolu 0,1% objemových uvádím jako limit detekce s tím, že nižší koncentrace ještě vykazují rozdílnou absorbanci oproti blanku, ale barevnost roztoku rychle degraduje.

9 STANOVENÍ METHANOLU METODOU DLE WILLSTÄTTERA A UTZINGERA

Stanovení obsahu methanolu touto metodou je založeno na reakci methyl- jodidu s trimethyl aminem. Methyl- jodid vzniká reakcí methanolu s kyselinou jodovodíkovou. Výsledným produktem reakce je sraženina nerozpustného tetramethylamonium- jodidu, jejíž hmotnost je přímo úměrná koncentraci methanolu ve vzorku. Ethanol a vyšší alkoholy podstupují tuto reakci stejným principem, avšak za vzniku sloučenin rozpustných v ethanolu, jež slouží jako rozpouštědlo pro trimethylamin.

9.1 Podmínky a technika použita k analýze

Aparatura potřebná k provedení analýzy sestává z topného hnízda, ve kterém je v zabroušené baňce zahřívána reakční směs vzorku lihoviny a kyseliny jodovodíkové. Baňka je opatřena vrtanou zátkou, přes kterou je zaveden teploměr, a skleněná trubička pro odvod par. Páry jsou vedeny krátkou skleněnou trubičkou do roztoku trimethylaminu v absolutním alkoholu. V celé aparatuře je vytvářen slabý přetlak pomocí kompresoru, aby se zabránilo zpětnému vtáhnutí trimethylaminu do směsi zahřívané v baňce.

9.2 Postup stanovení

Nejprve byly použity standardy o známé koncentraci methanolu, aby bylo možné zjistit přesnost stanovení. Roztoky měly koncentraci 0,4; 0,5; 0,8; 1; 2% obj. v 37% obj. ethanolu. 1 ml roztoku standardu byl pipetován do varné baňky, která byla umístěna do topného hnízda. Poté bylo přidáno 5 ml 57% kyseliny jodovodíkové. Baňka byla uzavřena zátkou s teploměrem, trubičkou pro odvod par a přívodem vzduchu. Opačný konec trubičky byl vložen do zkumavky obsahující 10 ml 10% roztoku trimethylaminu v absolutním alkoholu. V dalším kroku bylo zapnuto topení a přívod vzduchu tak, aby se v roztoku trimethylaminu objevovaly přibližně 2 bublinky za sekundu. Teplota byla regulována tak, aby nedocházelo k přílišnému varu. Po cca 10 minutách zahřívání se začala vytvářet bílá sraženina s jemnými krystaly tetramethylamonium- jodidu. Tvorba sraženiny ustala ve všech případech po přibližně 20 minutách zahřívání.

9.3 Výsledky analýzy

Obsah zkumavky obsahující sraženinu byl přefiltrován na fritě S4 a vysušen do konstantní hmotnosti při 105°C. Uvažujeme-li molární hmotnost tetramethylamonium jodidu 201,07 g/mol a průběh reakce dle rovnice (5), můžeme vypočítat látkové množství vzniklé sraženiny. Protože v reakcích (3) a (5) látky reagují v molárním poměru 1:1, odpovídá látkové množství sraženiny látkovému množství methanolu. Následným přepočtem na objemová procenta získáme obsah methanolu ve vzorku. Výsledky analýzy standardů uvádím v tabulce 7.

Tabulka 7 Výsledky analýzy dle Willstättera a Utzingerera

Koncentrace standardu [% obj.]	Výtěžek [g]	Teoretický výtěžek [g]	Odchylka [%]
2	0,0812	0,0992	-18
1	0,0324	0,0496	-35
0,8	0,0150	0,0399	-62
0,5	0,0147	0,0248	-41
0,4	0,0057	0,0198	-71

Z výsledků je patrné, že přesnost stanovení touto metodou je velmi malá. Se snižující se koncentrací standardu pozorujeme ve většině případů nárůst odchylky od teoreticky vypočítaného množství sraženiny. Nepřesnost tohoto stanovení zavrhuje použití této metody ke kvantitativnímu stanovení obsahu methanolu. Vzorky lihovin proto nebyly podrobeny gravimetrické analýze, při použití postupu dle Willstättera a Utzingerera však ukázaly pozitivní reakci ve formě jemné sraženiny tetramethylamonium jodidu. Použití této metody ke kvalitativní analýze je však velmi výhodné z důvodu selektivity a netečnosti vůči dalším látkám obsažených ve vzorcích. Ne vždy je možné k analýze použít GC či selektivní indikátor vzhledem k povaze vzorku a příměsových látek v něm obsažených. Pokud však požadujeme pouze zjištění přítomnosti methanolu a jeho kvantitativní stanovení není důležitým parametrem zkoumání, lze tuto metodu doporučit.

9.4 Limit detekce

V případě této metody je pojem limit detekce poněkud zavádějící z důvodu malé přesnosti stanovení. Avšak při stanovení koncentrací nižších než 0,4% obj. se sraženina buď nevy-skytuje vůbec, nebo pouze ve velmi malém množství. Proto považuji koncentraci 0,4% obj. methanolu za limitní.

10 DISKUSE VÝSLEDKŮ

Vzorky 1 až 9 byly nejprve analyzovány pomocí plynové chromatografie kvůli získání přesných hodnot obsahu methanolu. Všechny vzorky vyjma vzorku 5 obsahovaly množství methanolu odpovídající kalibrační závislosti. Vzorek 5 obsahoval podlimitní množství methanolu, proto byl ze zkoumání vyřazen a další měření obsahu methanolu u něj neprobíhalo. Dle analýzy vzorek 5 představuje zástupce s nejnižším množstvím methanolu. Vzorek 3, složením se jedná o slivovici, se svým obsahem 0,61 % obj. představuje zástupce s nejvyšším obsahem methanolu. Každý ze vzorků však odpovídá limitu stanoveného zákonem o lihu č. 141/1997 Sb.

Následně byly vzorky podrobeny analýze pomocí kyseliny chromotropové. Získané výsledky nyní konfrontujeme s analýzou GC-FID. Výsledky analýzy chemickou cestou se výrazně lišily pouze v případě vzorku 4 a 9, v ostatních případech byly hodnoty obsahu methanolu velmi blízké hodnotám získaným pomocí GC-FID. Vzorek 8 vykazoval nejnižší odchylku, vzorek 4 pak odchylku nejvyšší.

Stanovení dle Willstättera a Utzingera se ukázalo jako velmi nepřesné, co se kvantitativně týká. Po několika sériích měření standardů potvrzeno, že kvantitativní analýza touto metodou je velmi nepřesná a nelze ji doporučit k praktickému využití. Avšak indikace přítomnosti methanolu, přesněji methoxy- sloučenin ve vzorku, je touto metodou spolehlivě proveditelné. Výhodou je, že s trimethylaminem reagují patřičné alkyl-jodidy, ostatní látky, které by mohly interferovat, zůstávají díky nižší tenzi par v reakční baňce a neovlivňují analýzu.

ZÁVĚR

Stanovení obsahu methanolu v lihovinách je běžně prováděno pomocí plynové chromatografie. V této práci byly zkoumány další dvě metody, které umožňují stanovení obsahu methanolu bez použití nákladného přístroje. Současně se jedná o metody proveditelné jednoduchými postupy, které nevyžadují speciální vybavení. Další výhodou je časová a finanční nenáročnost chemických metod.

Spektrofotometrické stanovení pomocí kyseliny chromotropové představuje dle získaných výsledků spolehlivě použitelnou doplňkovou metodu stanovení obsahu methanolu v lihovinách. Stejně jako tomu je v případě metody dle Willstättera a Utzingera, je stanovení kyselinou chromotropovou proveditelné v běžné laboratoři. Není zapotřebí žádné speciální vybavení. Porovnáním výsledků získaných pomocí GC-FID bylo zjištěno, že přesnost spektrofotometrického stanovení je dostatečná, a proto lze tuto metodu doporučit ke stanovení methanolu (formaldehydu) v běžné laboratorní praxi.

Kvantitativní stanovení methanolu metodou dle Willstättera a Utzingera se po stanovení série standardů ukázalo jako velmi nepřesné, odchylky od teoretického množství sraženiny se velmi lišily a s klesající koncentrací methanolu se snižoval i výtěžek. Z tohoto důvodu byla tato metoda stanovení methanolu vedle ethanolu shledána nespolehlivou. Nespornou výhodou však představují její možnosti využití ke kvalitativní analýze. Jedná se totiž o spolehlivý indikátor methoxy- sloučenin v téměř libovolné matici či směsi materiálů, protože sraženinu po reakci s trimethylaminem tvoří pouze methyl-jodid, jenž je produktem jodace methanolu. Ostatní složky směsi neovlivní tvorbu sraženiny a s trimethylaminem netvoří produkty negativně ovlivňující stanovení obsahu methoxy-sloučenin.

Výsledky získané v této bakalářské práci mohou posloužit v případech, kdy není dostupná či je z jakýchkoli důvodů nepoužitelná metoda plynové chromatografie a je zapotřebí ověřit přítomnost methanolu v lihovině. V případě zkoumané spektrofotometrické metody lze získat poměrně přesné výsledky, gravimetrická metoda spolehlivě poskytuje pouze informaci o přítomnosti methanolu. Vzhledem k nedávným případům otrav methanolem se právě možnosti stanovení této látky jeví jako důležité téma, jež zasluhuje velkou pozornost.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PAINE, A.J. a A.D. DAYAN. Defining a tolerable concentration of methanol in alcoholic drinks. *Human* [online]. **20**(11): 563-568 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.1191/096032701718620864. ISSN 14770903. Dostupné z: <http://het.sagepub.com/cgi/doi/10.1191/096032701718620864>
- [2] TEPHLY, Thomas R. 1991. The toxicity of methanol. *Life Sciences* [online]. **48**(11): 1031-1041 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.1016/0024-3205(91)90504-5. ISSN 00243205. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0024320591905045>
- [3] HAFFNER, Hans-Thomas, Heinz-Dieter WEHNER, Klaus-Dieter SCHEYTT a Kurt BESSERER. 1992. The elimination kinetics of methanol and the influence of ethanol. *International Journal Of Legal Medicine* [online]. **105**(2): 111-114 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.1007/BF02340834. ISSN 0937-9827. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02340834>
- [4] JONES, A. W.; STERNEBRING, B. Kinetics of ethanol and methanol in alcoholics during detoxification. *Alcohol and Alcoholism*, 1992, 27.6: 641-647.
- [5] MEDINSKY, Michele A. a David C. DORMAN. 1995. Recent developments in methanol toxicity. *Toxicology Letters* [online]. **82-83**: 707-711 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.1016/0378-4274(95)03515-X. ISSN 03784274. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/037842749503515X>
- [6] LEAF, G. a L. J. ZATMAN. 1952. A Study of the Conditions under which Methanol may Exert a Toxic Hazard in Industry. *Occupational and Environmental Medicine* [online]. **9**(1): 19-31 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.1136/oem.9.1.19. ISSN 1351-0711. Dostupné také z: <http://oem.bmj.com/cgi/doi/10.1136/oem.9.1.19>
- [7] Vyhláška č. 141/1997 Sb. : *Sbírka zákonů*. 1997. Dostupné z: <http://www2.lekarnici.cz/download/povinne-info/B21.HTM>
- [8] JACOBSEN, Dag, Rhonda WEBB, Timothy D. COLLINS a Kenneth E. MCMARTIN. 1988. Methanol and Formate Kinetics in Late Diagnosed Methanol Intoxication. *Medical Toxicology and Adverse Drug Experience* [online]. **3**(5): 418-423 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.1007/BF03259893. ISSN 0113-5244. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF03259893>

- [9] KLOTZ, U. a E. AMMON. 1998-4-3. Clinical and toxicological consequences of the inductive potential of ethanol. *European Journal of Clinical Pharmacology* [online]. **54**(1): 7-12 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.1007/s002280050412. ISSN 0031-6970. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s002280050412>
- [10] BRENT, Jeffrey, Kenneth MCMARTIN, Scott PHILLIPS, Cynthia AARON a Ken KULIG. 2001. Fomepizole for the Treatment of Methanol Poisoning. *New England Journal of Medicine* [online]. **344**(6): 424-429 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.1056/NEJM200102083440605. ISSN 0028-4793. Dostupné také z: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM200102083440605>
- [11] JACOBSEN, Dag a Kenneth E. MCMARTIN. 1997. Antidotes for Methanol and Ethylene Glycol Poisoning. *Clinical Toxicology* [online]. **35**(2): 127-143 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.3109/15563659709001182. Dostupné z: <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/15563659709001182?journalCode=ctx>
- [12] BRENT, Jeffrey, Kenneth MCMARTIN, Scott PHILLIPS, Keith K. BURKHART, J. Ward DONOVAN, Melanie WELLS a Ken KULIG. 1999. Fomepizole for the Treatment of Ethylene Glycol Poisoning. *New England Journal of Medicine* [online]. **340**(11): 832-838 [cit. 2015-05-09]. DOI: 10.1056/NEJM199903183401102. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199903183401102>
- [13] Bezpečnostní list. *Sigma Aldrich* [online]. [cit. 2015-03-07]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=CZ&language=cs&productNumber=322415&brand=SIAL&PageToGoToURL=http%3A%2F%2Fwww.sigmaaldrich.com%2Fcatalog%2Fproduct%2Fsial%2F322415%3Flang%3Den>
- [14] MCMURRY, John. *Organická chemie*. Vyd. 1. V Brně: VUTIUM, 2007, xxv, 1176, 61, 31 s. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 978-80-214-3291-8.
- [15] ČERVINKA, Otakar. *Chemie organických sloučenin. Díl I*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1985. 1131 s
- [16] MCMURRY, John. *Organic chemistry with biological applications*. 2nd ed. Belmont, Calif.: Brooks/Cole Cengage Learning, c2011, xxiii, 1044, 53, 30 p. ISBN 978-049-5391-470.

-
- [17] DELIRRAD, Mohammad, et al. Determination of Methanol Content in Herbal Distillates Produced in Urmia Using Spectrophotometry. *Iranian Journal of Toxicology Volume*, 2012, 6.16.
- [18] GEORGHIOU, Paris E. a Jimmy HO. 1989. The chemistry of the chromotropic acid method for the analysis of formaldehyde. *Canadian Journal of Chemistry* [online]. **67**(5): 871-876 [cit. 2015-03-15]. DOI: 10.3403/02569902. Dostupné z: <http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/v89-135>
- [19] King, H.S., & Bell, A.C. (1932). The detection of methanol in the presence of ethyl alcohol. *Proceedings of the Nova Scotian Institute of Science*, 18(1), 11-13
- [20] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-863-6907-2.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

g/la Hmotnost methanolu v jednom litru čistého (100% obj.) lihu

GC Gas chromatography-plynová chromatografie

FID Flame ionized detector- plamenově ionizační detektor

LDLO Nejnižší smrtelná dávka

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Chemický vzorec kyseliny chromotropové	18
Obrázek 2 Kalibrační přímka	26
Obrázek 3 Závislost absorpance chromogenu na koncentraci methanolu	28

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Maximální přípustné množství methanolu ve vybraných destilátech.....	16
Tabulka 2 Charakteristika vzorků lihovin.....	23
Tabulka 3 Hodnoty plochy peaku odpovídající koncentracím MeOH použitých pro kalibraci	25
Tabulka 4 Koncentrace MeOH ve vzorcích lihovin stanovené pomocí GC-FID	26
Tabulka 5 Hodnoty absorbance chromogenu odpovídající koncentraci standardu	28
Tabulka 6 Výsledky spektrofotometrického stanovení methanolu ve srovnání s GC	29
Tabulka 7 Výsledky analýzy dle Willstättera a Utzingera.....	32