

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Magdaléna Vařeková

**POSOUZENÍ VHODNOSTI RAMANOVY SPEKTROMETRIE A FTIR-ATR S
PRŮTOČNOU CELOU JAKO TECHNIK PRO ON-LINE ANALÝZU
PRODUKTŮ VYBRANÝCH HYDROGENAČNÍCH REAKCÍ**
Assessing the suitability of Raman spectrometry and FTIR-ATR with a flow cell as
techniques for on-line analysis of selected hydrogenation reaction products

Typ závěrečné práce:

Diplomová práce

Vedoucí práce/Školitel: doc. Ing. Petr Klusoň, Dr., DSc.

Konzultant: Ing. Petr Stavárek, Ph.D.

Praha, 2025

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 15. 5. 2025

Magdaléna Vařeková

Abstrakt

Hydrogenace nenasycených aldehydů na nenasycené alkoholy je důležitý proces v průmyslu speciálních chemikálií. Hydrogenace dvojně vazby C=C je termodynamicky schůdnější než hydrogenace aldehydu C=O, pro selektivní hydrogenaci C=O vazby je tedy důležitá jak volba katalyzátoru, tak způsob provedení reakce. Pro vědecké i průmyslové aplikace je zároveň přínosné tento typ reakcí průběžně sledovat a výsledky zpracovávat, takže výběr vhodné analytické metody je klíčový.

Proto se tato studie zaměřuje na studium dvou hydrogenačních reakcí prováděných ve vsádkovém systému. V první fázi je pro zjednodušení použita modelová reakce hydrogenace 1-okten-3-olu na 3-oktanol a v druhé fázi je studována selektivní hydrogenace cinnamaldehydu na cinnamylalkohol, jež je vonnou látkou, hojně využívanou v kosmetickém, parfumářském i farmaceutickém průmyslu. Hlavním zaměřením této práce je srovnání vhodnosti dvou analytických metod na sledování těchto hydrogenačních reakcí. Vzorky získané v rámci hydrogenačních reakcí jsou analyzovány pomocí Ramanovy a FTIR-ATR spektroskopie s průtočnou celou. Vybraná metoda je dále validována pomocí paralelních analýz vzorků na plynovém chromatografu s hmotnostním detektorem (CG-MS).

Klíčová slova

Speciální chemikálie, analýza GC-MS, Ramanova spektroskopie, FTIR-ATR, regioselektivní hydrogenace

Abstract

Hydrogenation of unsaturated aldehydes into unsaturated alcohols is an important process in the specialty chemicals industry. Hydrogenation of the double bond C=C is thermodynamically more feasible than hydrogenation of aldehyde C=O, therefore the choice of a suitable catalyst and the method of reaction is crucial for the process. Therefore, this study focuses on the study of two model hydrogenation reactions performed in the batch system. The main focus of this thesis is to compare the suitability of two analytical methods for these hydrogenation reactions. The target application is selective hydrogenation of cinnamaldehyde on cinnamyl alcohol, which is a fragrance, widely used in the cosmetic, perfumery and pharmaceutical industries. In the first phase,

a model reaction of hydrogenation of 1-octen-3-ol will be used for simplification. The samples obtained in the hydrogenation reaction will be analyzed using Raman spectroscopy and FTIR-ATR with a flow-through cell. The selected method will be further validated using parallel analysis of samples on gas chromatograph with mass detector (GC-MS).

Key Words

Fine chemicals, GC-MS, Raman spectroscopy, FTIR-ATR, Regioselective Hydrogenation

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala svému vedoucímu práce doc. Ing. Petru Klusoňovi, Dr., DSc. za vstřícnost, trpělivost a odborné vedení této práce. Dále bych ráda poděkovala svému konzultantovi Ing. Petru Stavárkovi, Ph.D. za podporu, ochotu a cenné rady v rámci vedení experimentální části práce. Nakonec bych ráda vyjádřila díky své rodině za velkou podporu, motivaci a trpělivost.

Seznam zkratk a symbolů

ATR	zeslabený úplný odraz (anglicky Attenuated Total Reflectance)
c	molární koncentrace
CAL	cinnamaldehyd
COL	cinnamylalkohol
E-CAL	trans-cinnamaldehyd
F	faktor interního standardu
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (anglicky Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (anglicky Gas Chromatography-Mass Spectrometry)
HCAL	hydrocinnamaldehyd
HCOL	hydrocinnamylalkohol (3-fenylpropanol)
HEX	hexanol
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti (anglicky Human Immunodeficiency Virus)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (anglicky High-Performance Liquid Chromatography)
IPA	propan-2-ol
IR	infračervené (anglicky Infrared)
IS	interní standard
k	rychlostní konstanta
LOD	mez detekce (anglicky Limit of Detection)
LOQ	mez stanovitelnosti (anglicky Limit of Quantification)
MAD	průměrná absolutní odchylka (anglicky Mean Absolute Deviation)
OCTA	3-oktanol
OCTE	1-okten-3-ol
p	p-hodnota párového t-testu
PA	plocha píku (anglicky Peak Area)
PAT	procesní analytické technologie (anglicky Process Analytical Technology)
Pd/C	palladium na aktivním uhlí
PLS	metoda částečných nejmenších čtverců (anglicky Partial Least Squares)
r	Pearsonův korelační koeficient
R^2	koeficient determinace
RMSD	střední kvadratická odchylka (anglicky Root Mean Square Deviation)
RMSE	střední kvadratická chyba (anglicky Root Mean Square Error)
RMSEP	střední kvadratická chyba predikce (anglicky Root Mean Square Error of Prediction)
SE	standardní chyba (anglicky Standard Error)
T	teplota
t	čas
$t_{1/2}$	poločas reakce
Z-CAL	cis-cinnamaldehyd

Obsah

1.	Úvod	9
2.	Cíle práce	10
3.	Teoretická část	11
3.1.	Selektivní hydrogenace	11
3.1.1.	Historie a současnost	11
3.1.2.	Mechanismus hydrogenace	13
3.2.	1-Okten-3-ol	15
3.2.1.	Využití a vlastnosti 1-okten-3-olu	16
3.2.2.	Hydrogenace 1-okten-3-olu	17
3.3.	Cinnamaldehyd	17
3.3.1.	Využití a vlastnosti cinnamaldehydu	18
3.3.2.	Hydrogenace cinnamaldehydu	20
3.4.	Analytické metody pro stanovení vybraných látek	21
3.4.1.	Ramanova spektroskopie	21
3.4.2.	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)	24
3.4.3.	Online analýza	28
3.4.4.	Využití Ramanovy spektroskopie a FTIR pro online analýzu	30
4.	Experimentální část	35
4.1.	Použité chemikálie a přístroje	35
4.1.1.	Seznam chemikálií	35
4.1.2.	Seznam přístrojů a programů	35
4.2.	Pracovní postup použitých metod	36
4.2.1.	Vsádkový autokláv	36
4.2.2.	Ramanova spektroskopie	37
4.2.3.	FTIR-ATR	38
4.2.4.	GC-MS	40

4.3.	Zpracování naměřených dat.....	41
5.	Výsledky a diskuze.....	41
5.1.	Spektrální analýza čistých látek	41
5.1.1.	Spektra 1-okten-3-olu.....	41
5.1.2.	Spektra 3-oktanolu.....	45
5.1.3.	Spektra cinnamaldehydu.....	48
5.1.4.	Spektra hydrocinnamaldehydu	51
5.1.5.	Spektra cinnamylalkoholu	52
5.2.	Kalibrační řady	62
5.2.1.	Interní standard.....	62
5.2.2.	1-Okten-3-ol	64
5.2.3.	Cinnamaldehyd.....	67
5.2.4.	Hydrocinnamaldehyd.....	73
5.2.5.	Cinnamylalkohol	75
5.3.	Hydrogenační reakce	78
5.3.1.	Hydrogenace 1-okten-3-olu.....	78
5.3.2.	Hydrogenace cinnamaldehydu	82
6.	Závěr.....	94
7.	Seznam použité literatury	96

1. Úvod

Výroba speciálních chemikálií, zejména hydrogenace nenasycených aldehydů na nenasycené alkoholy, představuje významný segment chemického průmyslu. Tyto procesy vyžadují přesnou kontrolu a monitorování, aby byla zajištěna kvalita produktu a efektivita procesů. Selektivní hydrogenace funkčních skupin představuje zvláštní výzvu, protože hydrogenace dvojných vazeb C=C je termodynamicky upřednostňována před vazbami C=O, což ztěžuje dosažení požadované selektivity v průmyslových aplikacích.

Tato práce se zaměřuje na hodnocení dvou slibných analytických technik – Ramanovy spektroskopie a FTIR-ATR s průtočnou celou – pro jejich potenciál v online monitorování hydrogenačních reakcí. Pro systematické hodnocení těchto metod jsou zkoumány dvě různé hydrogenační reakce, nejprve zjednodušený model s hydrogenací 1-okten-3-olu na 3-oktanol a na základě výsledků této modelové reakce komplexnější selektivní hydrogenace cinnamaldehydu na cinnamylalkohol. Druhá reakce je zvláště důležitá díky významu cinnamylalkoholu jako široce využívané látky v kosmetických, parfumářských i farmaceutických aplikacích.

Srovnávací analýza těchto spektroskopických metod bude validována podle stanoveného analytického standardu plynové chromatografie s hmotnostním detektorem (GC-MS). Tato validace je zásadní pro stanovení spolehlivosti a praktické použitelnosti těchto technik pro monitorování reakcí v reálném čase jak v laboratořích, tak v průmyslovém prostředí. Studium těchto metod může přispět k rozvoji efektivnějších a přesnějších monitorovacích metod pro selektivní hydrogenační procesy.

2. Cíle práce

Cílem této diplomové práce je posouzení a srovnání vhodnosti dvou analytických metod, Ramanovy spektrometrie a FTIR-ATR s průtočnou celou, pro on-line analýzu hydrogenačních reakcí. K dosažení tohoto cíle bude nejprve studováno provedení modelové hydrogenační reakce 1-okten-3-olu ve vsádkovém systému a optimalizace podmínek měření pro obě zmíněné spektroskopické metody. Získané poznatky budou využity pro sledování hydrogenační reakce cinnamaldehydu na cinnamylalkohol jako průmyslově významnější reakce. K validaci obou spektroskopických metod bude využita paralelní analýza vzorků na plynovém chromatografu s hmotnostním detektorem (GC-MS). Hlavním cílem této diplomové práce je vyhodnocení výhod a limitací jednotlivých metod pro on-line sledování průběhu hydrogenačních reakcí z hlediska přesnosti a spolehlivosti měření, časové náročnosti analýzy, praktické využitelnosti pro průmyslové aplikace a technické náročnosti implementace.

3. Teoretická část

3.1. Selektivní hydrogenace

3.1.1. Historie a současnost

Počátky hydrogenace sahají do konce 90. let 19. století, kdy francouzský chemik a nositel Nobelovy ceny Paul Sabatier (1854–1941) vyvinul společně s Jeanem Baptistem Senderensem (1856–1937), francouzským chemikem a duchovním, základní metody hydrogenace par s využitím jemně rozptýlených kovů jako katalyzátorů. Na jejich práci navázal německý chemik Wilhelm Normann (1870–1939), který v roce 1901 prokázal, že hydrogenovat lze také kapalně oleje, a v roce 1902 si tento proces nechal patentovat.^{1–3}

Normannova inovace umožnila přeměnu nenasycených mastných kyselin v kapalných olejích, jako je například rybí nebo velrybí tuk, na nasycené tuky, což je stabilizovalo pro lidskou spotřebu. Ve svém patentu zdůraznil katalytické vlastnosti kovů, které i Sabatier a Senderens dříve označili za vhodné pro hydrogenaci, jako jsou železo, kobalt, měď a především nikl. Normann aplikoval tyto principy na nenasycené mastné kyseliny, přičemž využil jemně rozptýlený nikl nanesený na nosiči, například na pemze.^{2,4}

Proces spočíval ve využití niklového prášku redukováném průchodem vodíku skrz systém. Tento prášek byl následně přidán do chemicky čisté kyseliny olejové, což vedlo k její přeměně na kyselinu stearovou s vysokou účinností. Tato metoda vyžadovala minimální množství niklu, probíhala za snadno reprodukovatelných podmínek a umožňovala opětovné použití katalyzátoru, což z ní činilo průlomový pokrok v průmyslové hydrogenaci.⁴

Koncept selektivní hydrogenace byl poprvé formulován na počátku 20. století. V roce 1923 publikovali Thomas Percy Hilditch a Charles Watson Moore článek s názvem *Selective Hydrogenation*, ve kterém definovali tento termín jako „preferenční saturaci jedné nebo více dvojných vazeb ve sloučeninách obsahujících několik nenasycených center.“ Ke květnu 2020 je tento článek považován za nejstarší známý dokument, který obsahuje termín „selektivní hydrogenace“ nebo jej má v názvu.^{5–7}

V roce 1925 Edward Frankland Armstrong a Thomas Percy Hilditch popsali selektivní hydrogenaci jako proces, ve kterém dochází k preferenčnímu navázání vodíku v přítomnosti katalyzátoru na jedno ze dvou nebo více center nenasycenosti. Uvedli, že

i když nakonec dochází k hydrogenaci všech přítomných nenasycených skupin, proces je postupný a různé nenasycené skupiny nejsou primárně napadány současně.^{5,6}

V následujících letech se selektivní hydrogenace stala klíčovým procesem v průmyslu, s významnými aplikacemi v rafinaci ropy, potravinářství nebo syntéze chemikálií a paliv. Široce se také využívá ve farmaceutickém průmyslu, kde usnadňuje výrobu specifických meziproductů a aktivních farmaceutických látek. Kromě toho hraje selektivní hydrogenace důležitou roli při výrobě speciálních chemikálií, barviv, agrochemikálií a dalších specializovaných produktů.⁸⁻¹⁰

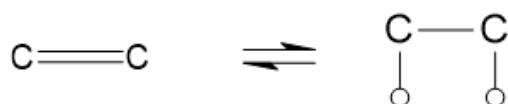
V průběhu let pokročily také technologie katalyzátorů, což vedlo k významnému zlepšení účinnosti a selektivity hydrogenačních reakcí. Pro tyto procesy se používají dva hlavní typy katalyzátorů: homogenní a heterogenní. Homogenní kovové komplexy vykazují vysokou aktivitu a selektivitu, ale jejich využití je omezeno výzvami, jako je obtížnost oddělování, nízká možnost opakovaného použití a kontaminace produktů. Heterogenní katalyzátory, zejména na bázi kovů, jako jsou palladium, platina a nikl, prošly významným vývojem a dominují kapalným hydrogenačním reakcím díky své vynikající katalytické aktivitě. Jejich vysoké náklady a relativně nízká selektivita však omezují jejich využití v rozsáhlých aplikacích. Katalyzátory na bázi běžných kovů představují ekonomičtější alternativu, avšak často vyžadují náročné reakční podmínky – například vysoké teploty, zvýšené tlaky, dlouhé reakční doby nebo toxická rozpouštědla – což vede k vyšší spotřebě energie a negativním dopadům na životní prostředí. Volba vhodného katalyzátoru je tedy nadále důležitým nástrojem k dosažení optimálních výsledků.⁹⁻¹²

V posledních letech je selektivní hydrogenace vnímána jako důležitý nástroj pro řešení globálních výzev, včetně vyčerpávání fosilních zdrojů a potřeby udržitelné chemické výroby. Využití obnovitelných zdrojů je považováno za slibnou cestu k dosažení uhlíkové neutrality. Na rozdíl od fosilních zdrojů je například biomasa přirozeně bohatá na kyslík, což z ní činí ideální surovinu pro selektivní hydrogenaci za účelem produkce široké škály kyslíkatých chemikálií. Integrací principů zelené chemie a pokročilých katalytických technologií selektivní hydrogenace nadále podporuje inovace a udržitelnost v různých průmyslových odvětvích. Výhodou selektivní hydrogenace na poli udržitelnosti je nižší environmentální zátěž – reakce často probíhají za mírných podmínek, s nízkými spotřebami rozpouštědel i katalyzátorů a samotná selektivita umožňuje snížení nákladů i dopadu na životní prostředí, jelikož se tvoří pouze žádaný produkt.^{10,13}

3.1.2. Mechanismus hydrogenace

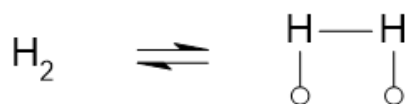
V průběhu let bylo navrženo několik důležitých mechanismů katalytické hydrogenace. Armstrong a Hilditch navrhli mechanismus zahrnující dvě hlavní fáze: rychlou rovnovážnou adsorpci alkenu na povrchu niklu, následovanou pomalejší interakcí adsorbovaného alkenu s vodíkem. Později japonský chemik Juro Horiuti (1901–1979) a maďarsko-britský vědec Michael Polanyi (1891–1976) představili nový model mechanismu katalytické reakce. Jejich model zahrnoval tvorbu "polohydrogenovaného stavu", který mohl buď reagovat s druhým adsorbovaným vodíkem za vzniku konečného produktu, nebo se přeměnit zpět na modifikovaný alken. Britští vědci Eric Rideal (1890–1974) a Daniel Douglas Eley (1914–2015) navrhli odlišný mechanismus, kde byla na katalyzátoru chemisorbována pouze jedna z reagujících látek, zatímco druhá reagující látka byla buď přímo v plynné fázi, nebo byla držena blízko katalyzátoru van der Waalsovými silami. Pozdější výzkumy ukázaly, že počáteční adsorpce alkenu zahrnovala interakci π orbitalu dvojně vazby s d-orbitaly na povrchových atomech kovu.^{12,14,15}

Horiuti-Polanyi mechanismus, který je považován za „obecný“ popis katalytické reakce probíhá v několika krocích. V prvním kroku (Obr. 3.1) je alken adsorbován na povrchu kovového katalyzátoru, pomocí interakce mezi π orbitální dvojnou vazbou alkenu a d-orbitálů atomů kovového katalyzátoru.



Obr. 3.1 První krok hydrogenačního mechanismu Horiuti-Polanyi

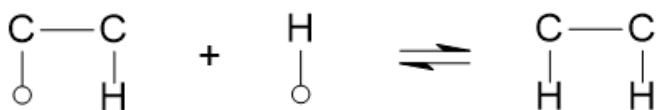
V tomto kroku je i vodík adsorbován na povrch katalyzátoru (Obr. 3.2). Tato fáze hydrogenačního mechanismu se označuje jako počáteční adsorpční stav a je považovaná za rozhodující krok co se týče volby produktu.



Obr. 3.2 Druhá fáze prvního kroku hydrogenačního mechanismu Horiuti-Polanyi

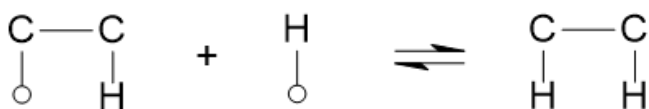
V další fázi alken adsorbovaný na povrchu katalyzátoru reaguje s jedním atomem vodíku adsorbovaným v jeho blízkosti také na povrchu katalyzátoru. Tomuto kroku se

říká „polohydrogenovaný stav“ (Obr. 3.3) a je důležitý pro určení následné reakční dráhy a je také krokem určujícím rychlost reakce.



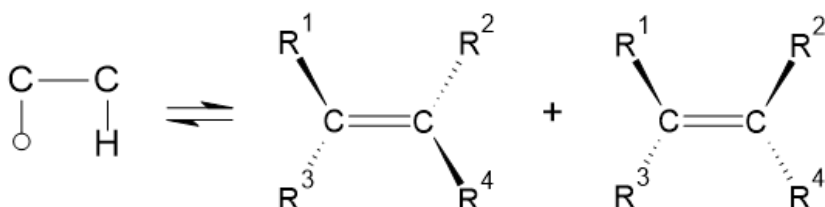
Obr. 3.3 Polohydrogenovaný stav, druhý krok hydrogenačního mechanismu Horiuti-Polanyi

V posledním kroku existují dvě možné reakční dráhy, kde buď dochází ke kompletní hydrogenizaci nebo k isomerizaci původního alkenu. U kompletní hydrogenace (Obr. 3.4) reaguje polohydrogenovaný meziproduct s druhým adsorbovaným atomem vodíku a tvoří se plně hydrogenovaný alkan, který se uvolní z povrchu katalyzátoru.



Obr. 3.4 Závěrečný krok hydrogenačního mechanismu Horiuti-Polanyi, kompletní hydrogenace

U isomerizační dráhy (Obr. 3.5) dochází k readsorpci jedné C-H vazby a regeneruje se alken, který je modifikován buď na cis/trans isomery nebo poziční isomery (regioisomery). Modifikovaný alken následně desorbuje z povrchu katalyzátoru.¹²



Obr. 3.5 Závěrečný krok hydrogenačního mechanismu Horiuti-Polanyi, isomerizační dráha

Adsorpce vodíku na katalyzátor mechanisticky probíhá v několika základních krocích. Klíčovým faktorem pro selektivitu reakce je způsob aktivace, která může probíhat dvěma základními mechanismy, homolytickou disociací nebo heterolytickou disociací.

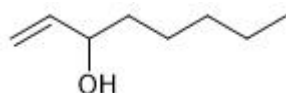
Při homolytické disociaci se molekula H₂ štěpí na dva hydridové anionty na povrchu kovu. Tento mechanismus je typický pro kovy VIII. skupiny (Pt, Pd, Rh), jejichž částečně obsazené d-orbitaly mohou přijímat elektrony z σ vazby H₂ a současně fungovat jako donor elektronů do σ* protivazebného orbitalu.

U heterolytické disociace dochází ke štěpení H_2 za vzniku H^+ a H^- . Tento mechanismus je typický pro systémy obsahující jak nukleofilní, tak elektrofilní centra (např. rozhraní kov-nosič). Výhodou tohoto mechanismu je preferenční redukce polárních skupin, což může vést k vyšší chemické selektivitě.

Po aktivaci vodíku následuje adsorpce substrátu na povrchu katalyzátoru. Způsob adsorpce je klíčový pro selektivitu reakce a závisí především na následujících parametrech: geometrické a elektronové struktury aktivních center, jejich koordinačním okolí a na složení a struktuře katalyzátoru.¹¹

Ačkoliv hydrogenační mechanismus není dodnes plně pochopen a popsán, jsou tyto modely široce využívány k popisu jednotlivých fází katalytické hydrogenace a byly úspěšně použity k vysvětlení hydrogenace různých alkinů, alkenů a ketonů.

3.2. 1-Okten-3-ol



Obr. 3.6 1-okten-3-ol

1-okten-3-ol, $C_8H_{16}O$, (Obr. 3.6) je těkavá bezbarvá látka, z chemického hlediska se jedná o sekundární alkohol. Tato organická sloučenina se přirozeně vyskytuje v širokém spektru biologických zdrojů, včetně hub, rostlin a živočišných organismů. Při pokojové teplotě se jedná o kapalinu s charakteristickým pachem připomínajícím houby a plíseň, přičemž houbovou vůni je typický většinový enantiomer *R* a „zatuchlou“ vůni dodává méně zastoupený enantiomer *S*. Její fyzikálně-chemické vlastnosti zahrnují molekulární hmotnost 128.22 g/mol, bod varu 173-175 °C a hustotu 0.833. Ve vodě je látka téměř nerozpustná.^{16,17}

1-okten-3-ol je významně zastoupen v houbách, kde působí jako klíčová aromatická složka, díky tomu získal i přezdívku "houbový alkohol". Zvláště vysoké koncentrace byly zjištěny v japonských houbách Matsutake (*Tricholoma matsutake*), což vedlo k vytvoření alternativního triviálního názvu "Matsutake alkohol". Významné množství této sloučeniny bylo detekováno také v žampionu dvouvrstvěm (*Agaricus bisporus*), kde může tvořit až 70 % těkavých látek. Kromě jedlých hub se látka vyskytuje také v různých druzích plísní, především rodů *Penicillium* a *Aspergillus*. Přirozeně se vyskytuje také v jeteli, rybách, hrachu, sójových bobech, pšeničném chlebu a čaji. V živočišné říši lze 1-okten-3-ol nalézt v kožních sekretech savců, a je také přítomen v lidském dechu a potu.

U některých přežvýkavců je 1-okten-3-ol kairomonem (feromonem kořisti), takže přitahuje různé druhy hmyzu. U hub z rodu chorošovitých se zvyšuje produkce 1-okten-3-olu v období sporulace, aby pomocí přitahování hmyzu byla zajištěna lepší disperze spor.¹⁷⁻¹⁹

3.2.1. Využití a vlastnosti 1-okten-3-olu

V potravinářském průmyslu nachází 1-okten-3-ol široké uplatnění jako aromatická přísada právě díky své charakteristické chuti i vůni. Je využíván v potravinových koncentrátech, jako ochucovadlo v instantních polévkách a přidává se do některých sýrů pro zvýraznění chuti.²⁰

Významnou aplikační oblastí je také kontrola škůdců, kde má tato látka široké využití díky své s antifungální, insekticidní, a herbicidní aktivitě. Nejdůležitější je však v této oblasti jeho aktivita jako repelent či atraktant pro různé druhy nežádoucího hmyzu, zejména komárů. Jako repelent působí u některých druhů komárů, ale především se používá jako atraktant. Jak bylo zmíněno výše, 1-okten-3-ol složkou potu a dechu savců, což přitahuje nežádoucí hmyz, například mouchy tse-tse nebo komáry přenášející malárii a žlutou zimnici. V kombinaci s oxidem uhličitým se využívá ve vysoce účinných elektronických odchyťových zařízeních, které představují ekologickou alternativu k syntetickým pesticidům a slouží k regulaci populace hmyzu ohrožujícího lidské zdraví v městských oblastech.^{17,21-23}

Rostoucí význam má 1-okten-3-olu i v kontrole škůdců v rámci ochrany zemědělských plodin, což se odráží i v nárůstu výzkumu – v souvislosti s globální potravinovou nejistotou, změnou klimatu a klesající účinností syntetických pesticidů je zvýšen zájem o přírodní produkty (biopestidy), což vedlo v posledních letech k rapidnímu nárůstu publikací studujících právě tuto sloučeninu.^{21,23}

Biosyntéza 1-okten-3-olu v přírodních systémech vychází z kyseliny linolové. Proces zahrnuje oxidaci mastných kyselin přes C8 vinylalkohol jako meziproduct. Klíčovou roli v této přeměně hraje enzym 10-hydroxyperoxidasa, který byl identifikován jako důležitý meziproduct této biosyntetické dráhy. Experimentální proces zahrnoval zmrazení čerstvě sklizených plodnic houby *L. decadetes* a následnou analýzu, která prokázala vysokou enzymatickou aktivitu při výrobě 1-okten-3-olu z kyseliny linolové. Následná analýza plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) pomohla odhalit přítomné sloučeniny včetně právě 1-okten-3-olu.^{17,20}

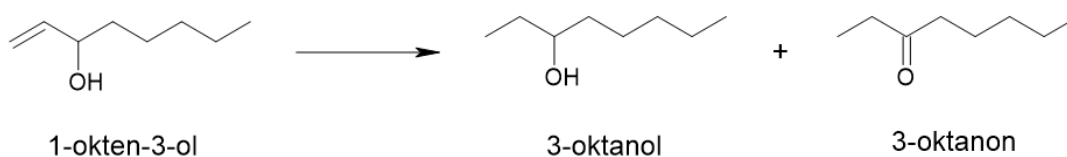
Pro průmyslovou výrobu existuje několik způsobů syntézy 1-okten-3-olu. Jednou z možností je reakce pentylmagnesium-bromidu s akrylaldehydem, další využívá Friedel-Craftovu reakci hexanoyl-chloridu s ethylenem a dvě další využívají Grignardovu reakci – buď za použití amyl-magnesiumbromidu a akroleinu nebo vinyl bromidu s hexanalem.^{24,25}

3.2.2. Hydrogenace 1-okten-3-olu

Hydrogenace 1-okten-3-olu je důležitou reakcí v organické chemii, zejména v oblasti redukce allylových alkoholů, kde může být využita jako modelová reakce. V jejím průběhu dochází k přeměně 1-okten-3-olu primárně na 3-oktanol, přičemž jako meziprodukt nebo vedlejší produkt může vznikat 3-oktanon. Obvykle se pro tuto hydrogenační metodu využívají katalyzátory jako Pd/C nebo PtO₂ s molekulárním vodíkem.²⁶

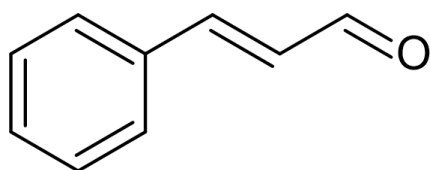
Hydrogenace 1-okten-3-olu (Obr. 3.7) probíhá na povrchu katalyzátoru a hlavním produktem této reakce je nasycený alkohol, 3-oktanol. Isomerizací může vznikat vedlejší produkt, nasycený keton (3-oktanon).²⁷

Selektivní hydrogenace allyl-alkoholů, jako je 1-okten-3-ol, má značný význam při syntéze speciálních chemikálií a farmaceutických meziproduktů. V těchto aplikacích je často klíčové zachování integrity ostatních funkčních skupin při současné selektivní redukci specifických alkenových vazeb. Proto je vývoj selektivních katalytických systémů pro tyto transformace předmětem intenzivního výzkumu.²⁶



Obr. 3.7 Hydrogenace 1-okten-3-olu

3.3. Cinnamaldehyd



Obr. 3.8 Cinnamaldehyd

Cinnamaldehyd, C_9H_8O , (Obr. 3.8) systematicky 3-fenylprop-2-enal, je organická sloučenina přirozeně se vyskytující zejména ve skořicové kůře, kde tvoří 65-80 % esenciálního oleje. Při pokojové teplotě se jedná o žlutou olejovitou kapalinu s charakteristickou skořicovou vůní a chutí. Jeho fyzikálně-chemické vlastnosti zahrnují molekulovou hmotnost 132,16 g/mol, bod varu 250-252°C a hustotu 1,05 g/cm³. Ve vodě je látka prakticky nerozpustná (1,1 g/L při 20 °C), ale je dobře mísitelná s většinou organických rozpouštědel.²⁸

V přírodě vyskytuje převážně jako trans-cinnamaldehyd a poprvé jej izolovali v roce 1834 francouzští vědci Jean-Baptiste Dumas (1800–1884) a Eugène-Melchior Péligot (1811–1890) z kůry čínské skořice.^{29,30}

3.3.1. Využití a vlastnosti cinnamaldehydu

Cinnamaldehyd nachází rozsáhlé průmyslové uplatnění především v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu. Přes 95 % spotřeby cinnamaldehydu připadá na aromatické aplikace, kde je požadována skořicová vůně. Používá se v mnoha potravinářských produktech, v pekařských výrobcích, cukrovinkách a nápojích. Skořicové aroma cinnamaldehydu a jeho výrazný charakter se využívají i v široké škále dalších běžných produktů, např. zubních pastách, ústních vodách, žvýkačkách nebo osvěžovačích vzduchu.^{9,31}

V kosmetickém průmyslu se cinnamaldehyd uplatňuje jako vonná složka v parfémeh, mýdlech a dalších kosmetických přípravcích. Jeho deriváty vznikající hydrogenací mají také široké pole uplatnění. Například cinnamylalkohol (přezdívaný skořicový alkohol) je ceněn pro svou květinovou vůni, takže se využívá pro kompozici aromat jako je lilie, konvalinka, jasmín nebo hyacint, jako přídavek do přípravků s příchutí bobulí, ořechů a koření. Jeho využití se neomezuje na kosmetický průmysl, má velkou škálu dalších průmyslových aplikací – výroba fotosenzitivních senzorů, příprava barevných inkoustů pro tisk nebo repelent/atraktant pro hmyz.^{9,29,31}

Skořicový alkohol představuje významný farmaceutický intermediát využívaný při syntéze léčiv zaměřených na kardiovaskulární či cerebrovaskulární onemocnění, především při produkci cinarizinu a flunarizin dihydrochloridu. Současné průmyslové výrobní postupy skořicového alkoholu však vykazují několik zásadních nedostatků, jež dosud nebyly uspokojivě vyřešeny. Mezi tyto limitace patří zejména suboptimální výtěžnost reakcí, nedostatečná čistota výsledných produktů a problematická krystalická

morfologie, přičemž tyto faktory zásadním způsobem ovlivňují konečnou kvalitu izolovaného skořicového alkoholu.¹⁶

Zatímco cinnamylalkohol je převážně používán ve vůních a parfémeh, hydrocinnamaldehyd má využití například i při syntéze anti-HIV látek, jako inhibitor HIV proteáz nebo v zemědělství jako inhibitor klíčení bramborových hlíz.^{32,33} Hydrocinnamová kyselina se také používá při přípravě léčiv, včetně zmíněných proteázových inhibitorů používaných při léčbě HIV.^{9,34}

Farmaceutický význam cinnamaldehydu spočívá v jeho široké škále biologických aktivit. Výzkumy prokázaly jeho protizánětlivé, antimikrobiální (a to jak na Gram pozitivní, tak na Gram negativní bakterie), antioxidační a antifungální účinky. V parazitologii se také využívá díky své insekticidní, antitermitické, larvicidní a antimykotické aktivitě.^{28,35}

Zvláště významný je jeho potenciál v léčbě diabetu typu 2. V laboratorních studiích bylo zjištěno, že trans-cinnamaldehyd zvyšuje absorpci glukózy, což zlepšuje citlivost organismu na insulin v tukových i svalových tkáních. Následně dochází k řadě dalších procesů zlepšujících metabolismus glukózy a celkově zlepšení problematických parametrů u diabetických pacientů. Zvyšuje se syntéza glykogenu v játrech a potlačuje dysfunkce pankreatických ostrůvků. Byl sledován i pozitivní efekt cinnamaldehydu u diabetické nefropatie a kognitivních poškození spojených s diabetem mellitem.²⁹

Kromě toho vykazuje také úspěchy v oblasti kardiovaskulární ochrany, jelikož snižuje riziko ischemie a srdeční hypertrofie.³⁶ Významnou roli by také mohl hrát v léčbě rakoviny, protože způsobuje apoptózu nádorotvorných buněk, zabraňuje buněčné invazi a proliferaci rakovinových buněk.^{29,37}

Jednou z nových oblastí zájmu je i využití cinnamaldehydu pro léčbu a prevenci Alzheimerovy choroby, neboť inhibuje vytváření agregátů tau proteinu a zabraňuje hromadění amyloidu β , což jsou významné procesy etiologie této choroby.³⁸

Průmyslová výroba cinnamaldehydu může probíhat buď extrakcí ze skořicové kůry, nebo synteticky. Skořicová kůra se získává ze stromů z rodu *Cinnamomum*, který zahrnuje přibližně 250 různých druhů, nejčastěji se používá *C. cassia*, nejběžnější druh z tohoto rodu nebo také *C. verum*, kterému se přezdívá „pravá skořice“.³⁹

Pro extrakci se využívá několik metod, včetně parní destilace, hydrodestilace, extrakce rozpouštědlem, superkritické fluidní extrakce a dalších. Syntetická výroba zahrnuje řadu různých přístupů. Tradiční metodou je aldolová kondenzace benzaldehydu s acetaldehydem v přítomnosti hydroxidu sodného jako katalyzátoru. Mezi další možné

Cinnamylalkohol je velmi žádoucí, ale jeho tvorbu často doprovázejí vedlejší produkty hydrogenace vazby C=C, kdy může dojít buď pouze k hydrogenaci na hydrocinnamaldehyd nebo také úplné redukci na hydrocinnamylalkohol. Selektivní redukce vazby C=O lze dosáhnout stoechiometricky s boronovými a hliníkovými hydridy, ale takové metody jsou nedostatečné pro velkovýrobu, zejména s ohledem na rostoucí poptávku po ekologičtějších procesech a jednodušších postupech při práci.⁴³

Byly studovány i procesy, ve kterých je cinnamaldehyd hydrogenován za účelem výroby hydrocinnamaldehydu. Ten může být následně oxidován pomocí prostředí obsahujícího molekulární kyslík za účelem výroby hydrocinnamové kyseliny.³⁴

Selektivní hydrogenace karbonylové funkční skupiny α,β -nenasycených karbonylových sloučenin poskytuje průmyslově důležité allylalkoholy. Nicméně dosažení selektivní redukce karbonylové skupiny v přítomnosti aktivovaného olefinického řetězce je náročné. Proto je vývoj vysoce selektivního, efektivního a recyklovatelného katalyzátoru pro tuto transformaci velmi žádoucí z průmyslového a environmentálního hlediska.⁴⁴

3.4. Analytické metody pro stanovení vybraných látek

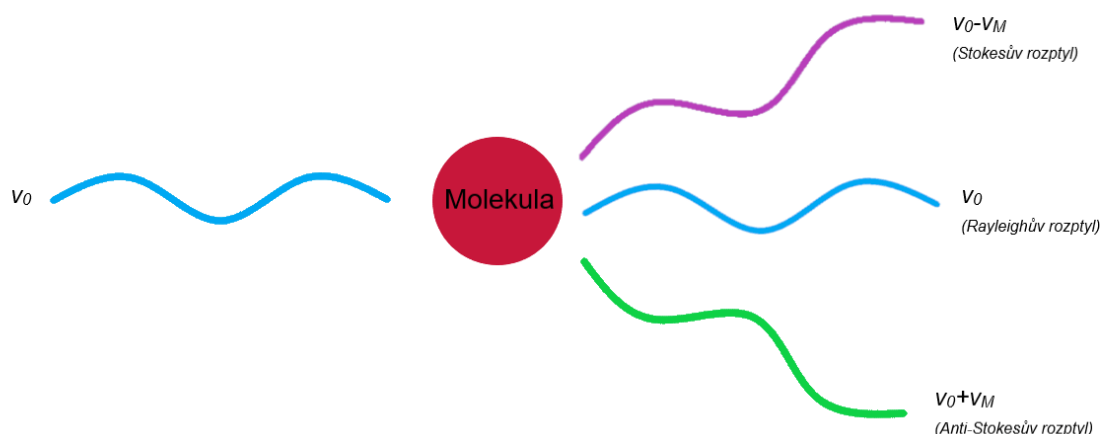
Pro efektivní sledování průběhu hydrogenačních reakcí výše popsaných látek je klíčový výběr vhodných analytických metod, které umožňují citlivou detekci a kvantifikaci výchozích látek i produktů. Tato práce se zaměřuje na stanovení vybraných látek, 1-okten-3-olu, cinnamaldehydu a jejich hydrogenačních produktů za využití Ramanovy a FTIR-ATR spektroskopie.

3.4.1. Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie je významná analytická metoda původně objevená indickým fyzikem Chandrasekharem Venkatou Ramanem (1888–1970). Fenomén neelastického rozptylu světla byl již předtím navržen rakouským teoretickým fyzikem Adolfem Smekalem (1895–1959) v roce 1923. C. V. Raman tento fenomén poprvé experimentálně dokázal v roce 1928, za což mu byla udělena Nobelova cena. Ve stejném roce byl tento fenomén nezávisle popsán i sovětskými vědci Grigorijem Samuilovičem Landsbergem (1890–1957) a Leonidem Isaakovičem Mandelštamem (1879–1944). Do studia Ramanova jevu se významně zapsal i československý fyzik Georg Placzek (1905–1955).^{45–47}

V Ramanově prvním experimentu bylo pomocí teleskopu zaměřeno sluneční světlo na analyt (pročištěnou kapalinu nebo páru), následně byl poblíž analytu umístěn systém čoček a optických filtrů, které zaznamenaly rozptýlené fotony, čímž bylo dokázáno, že část dopadající radiace prochází neelastickým rozptylem a má jinou frekvenci než dopadající světlo.^{45,46}

Při dopadu monochromatického světla s frekvencí ν_0 na molekulu dochází převážně k elastickému (Rayleighovu) rozptylu, při němž fotony zachovávají stejnou frekvenci ν_0 . Pouze jeden z 10^6 až jeden z 10^8 fotonů podstupuje neelastický rozptyl známý jako Ramanův jev nebo Ramanův rozptyl. Zde je frekvence fotonu po průchodu molekulou změněna ($\nu_0 \pm \nu_M$). Během tohoto procesu může rozptýlené světlo ve srovnání s dopadajícím světlem buď ztrácet energii ($\nu_0 - \nu_M$), což se označuje jako Stokesův rozptyl, nebo energii získávat ($\nu_0 + \nu_M$), což označujeme jako anti-Stokesův rozptyl, viz. Obr. 3.10. Změna energie je charakteristická pro molekulární strukturu analyzovaného materiálu a vytváří jedinečný „otisk prstu“, který lze použít k identifikaci dané látky.^{45,48,49}



Obr. 3.10 Schéma dopadu monochromatického světla na molekulu, adaptované z⁴⁹

Technika vyžaduje laser jako zdroj fotonů, typicky v ultrafialové, viditelné nebo blízké infračervené oblasti spektra. Ultrafialová a viditelná oblast nabízí vyšší intenzitu, avšak hrozí vznik fotochemických reakcí, zatímco blízká infračervená oblast vyžaduje vyšší výkon laseru, ale způsobuje menší poškození vzorku.^{46,47}

Ramanova spektroskopie má řadu výhod, které jí poskytují široké pole využití. Jedná se o nedestruktivní metodu, takže umožňuje analýzu vzorku bez jeho poškození nebo zničení. Pomocí Ramanovy spektroskopie se dají analyzovat jak organické, tak

anorganické sloučeniny, a zvláště vysokou účinnost má při detekci sloučenin s násobnými vazbami. Mezi další výhody patří schopnost rozlišení různých forem opticky aktivních chemických látek, které v jiných analytických metodách rozlišitelné nejsou. Analyty mohou být kapalné, plynné i pevné (i polymerizované). Další výhodou je snadná příprava vzorků – mohou být analyzované ve skleněných vialkách, kapilárních trubicích, skleněných lahvích i v polymerových nádobách, a to za pokojové teploty a atmosférického tlaku.⁵⁰

Ramanova spektroskopie nachází uplatnění v široké řadě vědních oborů díky své schopnosti jednoznačně identifikovat a charakterizovat prvky a molekuly.^{45,46}

Možnost analyzovat anorganické materiály z Ramanovy spektroskopie činí významný nástroj v geologickém výzkumu. Vývoj přenosných a dálkových zařízení významně rozšířil možnosti terénního výzkumu, včetně vývoje speciálních systémů pro průzkum povrchu Marsu. Metoda umožňuje jednoznačnou identifikaci prvků jako uhlík, germanium, síra, křemík a halogeny.^{46,51}

V oblasti umění a archeologie nabízí Ramanova spektroskopie zásadní výhodu spočívající v minimálně invazivním zkoumání cenných artefaktů. Využití jiných analytických metod je často limitováno, jelikož jakýkoliv zásah do díla způsobuje snížení jeho hodnoty. Ramanova spektroskopie dokáže identifikovat typy pigmentů, barviv a pryskyřic použitých v uměleckých dílech, stanovit chronologii jejich použití a pomoci rozlišit původní díla od restaurovaných nebo padělaných. Lze zároveň určit stáří daného díla podle použitých materiálů, do 19. století pocházely barviva téměř výhradně z anorganických pigmentů a přírodních barviv a jejich používání/složení se v různých dobách lišilo. Možnost studovat artefakty bez poškození nebo snížení jejich historické i finanční hodnoty umožnila využití Ramanovy spektroskopie pro analýzu egyptských mumií, antických šperků, renesančních maleb a mnoha dalších významných artefaktů.^{47,52}

Polymery představují další oblast výzkumu, kde Ramanova spektroskopie nachází rozsáhlé uplatnění. Metoda umožňuje identifikovat typ polymeru, sledovat stupeň polymerizace a míru degradace materiálu. Lze ji aplikovat ve všech skupenstvích – v pevném stavu, tavenině, filmu i emulzi. Zvláštní význam má při charakterizaci elektronických materiálů, kde poskytuje informace o krystalické struktuře, orientaci krystalů a strukturálních vadách.^{46,47}

Forenzní věda využívá Ramanovu spektroskopii pro rychlou a přesnou identifikaci látek. Metoda dokáže detekovat drogy, výbušniny a další forenzně významné látky, a to i ve stopových množstvích. Umožňuje analýzu vzorků bez kontaminace, identifikaci

cizorodých látek v potravinách, ověřování pravosti dokumentů a stopová vyšetřování, včetně analýzy stop krve nebo výstřelových reziduí.⁴⁶

Biologické vědy těží z jedinečných vlastností Ramanovy spektroskopie při molekulární analýze. Metoda umožňuje identifikaci a charakterizaci biologických vzorků včetně DNA, buněk, bakterií a spor. Lze detekovat specifické molekulární skupiny jako karbonyly, aminy, amidy, sulfidické můstky a aromatické struktury. V genomice a proteomice poskytuje detailní informace o molekulární struktuře, včetně kvantifikace jednotlivých DNA bází a sledování proteinových interakcí.^{45,51}

Medicínské aplikace zahrnují pokročilé diagnostické techniky. Ramanova spektroskopie umožňuje vyšetřování tkání v hloubce pod povrchem, rozlišení zdravé a nádorové tkáně bez nutnosti biopsie a vývoj specializovaných sond pro včasnou detekci onemocnění. Významný je například vývoj sondy pro detekci Barrettova jícnu nebo analýzu nádorových tkání přímo během chirurgických zákroků.^{45,46}

Ve farmaceutickém průmyslu představuje metoda klíčový nástroj kontroly kvality. Umožňuje analýzu léčiv přímo v obalu, sledování distribuce účinných látek v tabletách a kontrolu stability farmaceutických přípravků. Zvláštní výhodou je minimální manipulace se vzorky a schopnost rozlišit mezi účinnými látkami, přídatnými látkami a obaly.^{46,47}

Praktické výhody Ramanovy spektroskopie zahrnují tedy zejména jednoduchou přípravu vzorků, možnost analyzovat širokou řadu látek, měření vzorků přímo v jejich původních obalech i rychlou a citlivou analýzu. Přestože Ramanova spektroskopie nabízí řadu výhod, pro komplexní strukturní analýzu je nezbytné porozumět i infračervené spektroskopii, především metodě FTIR, která bude předmětem následující kapitoly Ramanova spektrometry podává s infračervenou spektroskopií komplementární informace – často platí, že nejslabší signály v IR spektru jsou nejsilnějšími signály v Ramanově spektru.^{47,48,53}

3.4.2. Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

Infračervené záření, které je základním kamenem infračervené spektroskopie, bylo objeveno německo-britským vědcem Frederickem Williamem Herchelem (1738–1822). Ten v roce 1800 provedl řadu experimentů se solárními spektry – umístěním citlivého teploměru do různých oblastí slunečního spektra vyzoroval, že nárůst teploty se rozšiřuje za viditelné červené světlo a objevil to, co nyní známe jako infračervené záření.

Zpočátku se diskutovalo o tom, zda se tyto neviditelné „tepelné paprsky“ zásadně liší od viditelného světla. Následné studie jejich chování – včetně jejich reflexních, refrakčních a emisních vlastností – však nakonec odhalily, že infračervené a viditelné záření mají stejný charakter, liší se pouze vlnovou délkou.^{54,55}

Oblast infračervené spektroskopie se dále rozvíjela díky společnému úsilí celé řady vědců během několika desetiletí. Po Herschelově počátečním objevu byl vývoj oboru urychlen objevem termoelektriny v roce 1823 Thomasem Johannem Seebeckem (1770–1831) a jejím následným využitím Macedoniem Mellonim (1798–1854), který vyvinul vysoce citlivý termočlánek. Melloniho dlouholetá práce s tímto novým přístrojem přinesla zásadní poznatky, včetně důkazu, že infračervené záření se skládá z mnoha různých paprsků analogických různým barvám viditelného světla.^{54,55}

Významný pokrok přinesl poli infračervené spektroskopie Samuel Pierpont Langley (1834–1906) vývojem bolometru v roce 1881, čímž poskytl bezprecedentní zvýšení citlivosti při detekci infračerveného záření. Základy moderní molekulární analýzy pomocí infračervené spektroskopie položili výzkumníci jako Willem Henri Julius (1860–1925), který objevil, že organické sloučeniny obsahující skupiny CH_2 a CH_3 mají podobná spektra, a William Coblentz (1873–1962), jehož rozsáhlá měření přenosů sloučenin mezi 1 a 16 mikrometry se stala základním referenčním zdrojem pro rané infračervené spektroskopy.^{54,55}

Infračervená spektroskopie byla však omezena nízkou citlivostí a rozlišením, což vedlo k dalšímu výzkumu. Hledání pokročilejších metod dosáhlo průlomu s příchodem FTIR spektroskopie (infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací) v polovině 20. století, která nese jméno francouzského chemika Jeana-Baptista Josepha Fouriera (1768–1830). Tato technika způsobila revoluci v oboru použitím interferometrických principů a Fourierovy transformace ke zvýšení spektrálního rozlišení a citlivosti. Tyto změny byly klíčové pro rozšíření možností využívání infračervené spektroskopie, čímž se FTIR dostala do popředí v poli analytické chemie a vědeckého výzkumu širokého množství molekul a interakcí.^{56,57}

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací nabízí oproti starším disperzním spektrometrům několik významných výhod, které ji činí cenným nástrojem pro chemickou analýzu.

Jedním z nejvýznamnějších aspektů, kterými se FTIR vyznačuje, je téměř univerzální použitelnost metody. Většina molekul vykazuje silnou absorpční vlnu v oblasti středního infračerveného záření, což umožňuje analýzu širokého spektra vzorků včetně pevných

látek, kapalin, plynů, prášků, polymerů, organických i anorganických sloučenin, biologických materiálů, čistých látek i směsí.^{56,57}

Další předností FTIR spektroskopie je, že získaná spektra obsahují velké množství informací. Polohy píků poskytují informace o struktuře molekul ve vzorku, intenzita píků umožňuje stanovení koncentrací jednotlivých složek a šířky píků jsou zase citlivé na chemické prostředí vzorku (včetně jeho pH a vodíkových vazeb).⁵⁷

Z praktického hlediska je významná také rychlost a jednoduchost měření. Přestože povaha vzorku a zvolená technika vzorkování mohou ovlivnit rychlost a náročnost analýzy, většinu vzorků lze analyzovat během několika minut. U některých vzorků a technik lze kvalitní spektra získat v řádu sekund, což představuje významnou výhodu oproti chromatografickým metodám jako plynová či kapalná chromatografie, kde analýza jednoho vzorku může trvat 15 až 45 minut. Systém navíc používá vestavěný laser pro kalibraci, což eliminuje potřebu externí kalibrace.⁵⁷

Ekonomickou výhodou FTIR je také relativně nízká cena instrumentace v porovnání s jinými analytickými technikami. FTIR spektrometry jsou běžně několikanásobně levnější než například nukleární magnetická rezonance, plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií nebo kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií.⁵⁷

Z hlediska citlivosti je FTIR schopna detekovat vzorky v miligramových až mikrogramových množstvích. Při spojení s plynovou chromatografií lze běžně detekovat nanogramová množství. Za speciálních podmínek, kdy je eluát z plynového chromatografu zmrazen na IR transparentním okénku, lze dosáhnout až pikogramové citlivosti, což je srovnatelné s hmotnostní spektrometrií.^{56,57}

Metoda však má i určitá omezení. Některé materiály nemají měřitelná spektra v oblasti středního IR záření. Jedná se především o jednotlivé atomy (např. vzácné plyny), monoatomické ionty či homonukleární dvouatomové molekuly (např. O₂, N₂), jelikož buď nemají vibrace detekovatelné v infračervené oblasti.

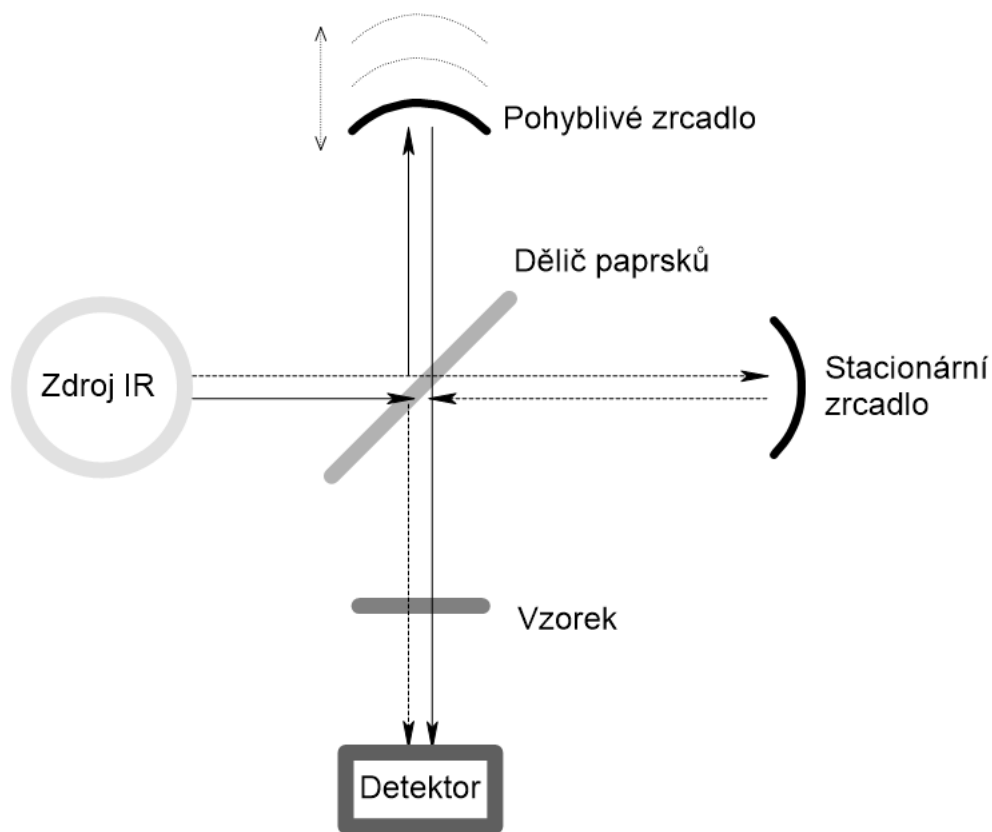
Významným praktickým omezením je analýza směsí. Se zvyšující se komplexitou složení vzorku roste i složitost spektra a obtížnost přiřazení píků jednotlivým molekulám. Tento problém lze řešit několika způsoby, jako je purifikace vzorku před analýzou, využitím softwaru pro spektrální subtrakci nebo použitím spektrálních knihoven pro „manuální“ spektrální subtrakci.

Specifickým problémem je přítomnost vody ve vzorku. Voda v kapalném stavu vytváří široké a intenzivní píky, které mohou maskovat/rušit spektra rozpuštěných látek.

Z tohoto důvodu není možné ve vodných roztocích detekovat analyty s nízkou koncentrací.

Kromě kapalné vody může analýzu komplikovat i vodní pára, která vytváří charakteristické ostré píky v oblasti kolem 3700 a 1600 cm^{-1} . Tento problém lze minimalizovat promýváním přístroje suchým dusíkem nebo jeho utěsněním a vysušením. Interference vodní páry lze také řešit spektrální subtrakcí, přestože žádná z těchto technik není dokonalá.^{57,58}

Spektrometr s Fourierovou transformací v infračervené oblasti funguje pomocí systému optických komponentů soustředěných kolem tzv. interferometru. V přístroji se nachází zdroj infračerveného záření, dělič paprsků, dvě zrcadla (z nichž jedno je stacionární a druhé je pohyblivé) a detektor.



Obr. 3.11 Schéma FTIR interferogramu, adaptované z⁵⁸

Proces zobrazený na Obr. 3.11 začíná, když infračervené záření dopadne na dělič paprsků, který rozdělí světlo na dva samostatné paprsky. Jeden paprsek putuje ke stacionárnímu zrcadlu, zatímco druhý se odráží od zrcadla, které se během měření

pohybuje konstantní rychlostí. Když se tyto paprsky po odrazu znovu spojí, vytvoří interferenční vzory známé jako interferogram, vznikající v důsledku různých vzdáleností, které paprsky urazily. Tento kombinovaný paprsek poté prochází analyzovaným vzorkem a detektor současně zaznamenává všechny vlnové délky. Výsledkem toho měření je právě interferogram. Dále jsou tato data pomocí Fourierovy transformace informaticky zpracována a interferogram je převeden na čitelné IR spektrum.

Zeslabený úplný odraz (anglicky Attenuated Total Reflectance, ATR) představuje revoluční přístup k analýze vzorků, který doplňuje technologii FTIR. V ATR prochází infračervený paprsek krystalem vyrobeným z materiálu s vysokým indexem lomu, typicky z diamantu, selenidu zinečnatého (ZnSe) nebo germania (Ge). Když paprsek dopadne na povrch krystalu pod úhlem větším než kritický úhel, dochází k úplnému vnitřnímu odrazu. Tento fyzikální proces vytváří takzvanou "evanescentní vlnu", která se šíří skrz povrch krystalu a proniká až do vzorku, do hloubky typicky 0,5 – 5 mikrometrů. Pokud vzorek absorbuje jakékoliv IR záření, tato vlna je zeslabena. Po jednom nebo více odrazech uvnitř krystalu paprsek vystupuje a dopadá na detektor, přičemž s sebou přináší detailní informace o složení vzorku.

ATR v kombinaci s FTIR spektroskopem představuje výkonný analytický nástroj, který překonává mnoho omezení obvykle spojených s IR spektroskopií. Tato kombinace nabízí velmi dobrou reprodukovatelnost mezi vzorky a snižuje variabilitu mezi uživateli. Vyžaduje minimální přípravu vzorků a může přímo analyzovat pevné i kapalné vzorky, bez speciální přípravy. Jedním z nejdůležitějších faktorů je fakt, že se jedná o nedestruktivní analytickou metodu, což znamená, že nepoškozený vzorek může být po měření znovu analyzován nebo jinak využit. Technologie může být dokonce přizpůsobena pro měření *in-situ* pomocí flexibilních sond, což umožňuje analýzu v reálném čase v různých prostředích. Tato všestrannost učinila ATR-FTIR důležitým nástrojem v mnoha oblastech, od farmaceutické analýzy až po vědy zabývající se studiem materiálů.⁵⁸

3.4.3. Online analýza

Online monitorování chemických reakcí představuje důležitý analytický přístup v moderní chemii a chemickém inženýrství. V posledních letech zaznamenalo toto odvětví významný rozvoj, zejména díky pokrokům ve spektroskopických metodách. Kontinuální sledování reakčních podmínek a průběhu reakcí v reálném čase umožňuje lepší kontrolu procesů, optimalizaci výtěžků a zvýšení kvality produktů.

Spektroskopické techniky, včetně Ramanovy a FTIR spektroskopie, se ukázaly jako mimořádně účinné nástroje pro online monitorování chemických reakcí. Tyto metody poskytují cenné informace o reakčních mechanismech, kinetice a transformacích molekulárních struktur bez nutnosti odběru vzorků či přerušení procesu.^{59,60}

Monitorování chemických reakcí v reálném čase nachází uplatnění v široké řadě odvětví, zejména však v kontinuální farmaceutické výrobě, kde tyto pokročilé techniky sledování procesů umožňují produkci vysoce kvalitních aktivních farmaceutických látek i v mobilních výrobních systémech. Významnou oblastí, kde se online analýza využívá je také výzkum katalytických procesů. Využití *in-situ* a *operando* spektroskopických metod (jako Ramanova spektroskopie a FTIR) umožňuje sledovat strukturální změny katalyzátorů a povrchové meziproducty během reakce za reálných podmínek. Díky těmto technikám lze identifikovat aktivní místa katalyzátorů, interakce mezi kovovými částicemi a jejich nosiči, a také příčiny vedoucí k deaktivaci katalyzátorů.⁶¹

Ramanova spektroskopie nabízí pro online monitorování reakcí řadu výhod. Mezi ně patří zejména to, že generuje informačně bohatá data o složení reakčních směsí v reálném čase, snadno se implementuje do existujících procesů a je možné ji použít i na biologické a jiné vodné vzorky, díky minimální interferenci způsobené přítomností vody. Díky vysokému rozlišení a rychlosti sběru dat umožňuje tato metoda studovat chemické složení s vysokou časovou efektivitou.⁶⁰

Navzdory těmto výhodám existují stále určité výzvy, které je třeba překonat. Komplikované může být v některých případech dosažení dostatečného rozlišení a citlivosti, či zajištění spektrální homogenity vzorků. V některých případech vykazují spektrální data přílišnou variabilitu mezi jednotlivými vzorky, což komplikuje interpretaci výsledků. Přes tyto výzvy zůstává Ramanova spektroskopie klíčovým nástrojem pro online monitorování hydrogenačních a jiných reakcí, kde umožňuje detailní pohled na probíhající chemické procesy bez narušení reakčního systému.^{60,62}

FTIR spektroskopie představuje další účinný nástroj, který umožňuje jak kvalitativní, tak kvantitativní studium chemického složení prostřednictvím identifikace charakteristických absorpčních píků funkčních skupin přítomných v molekulách. Metoda našla široké uplatnění ve výzkumu i průmyslu, kde umožňuje monitorování reakcí v reálném čase bez nutnosti provádět off-line analýzy. FTIR spektroskopie je obzvláště vhodná pro identifikaci speciálních chemikálií.

I tato metoda má však určitá úskalí. Když je IR senzor umístěn mimo hlavní proud látky, může docházet k tvorbě stagnační vrstvy, což může způsobit výrazné zpoždění

odezvy měřicího systému. Problematická je také analýza tmavě zbarvených vzorků nebo zachycení rychle se měnících přechodných meziproductů. Tyto limitace vyžadují modifikace v konfiguraci průtočných cel s cílem zlepšit dobu odezvy a stabilitu signálu.⁵⁹

Získávání informací o chemických procesech a vlastnostech materiálů v reálném čase má zásadní význam pro zrychlení a zjednodušení průmyslových a vědeckých procesů, což přináší nové možnosti pro vývoj účinnějších a udržitelnějších postupů.

3.4.4. Využití Ramanovy spektroskopie a FTIR pro online analýzu

Studie z americké univerzity Virginia Commonwealth University (Miyai a kol., 2021) se ve využití těchto metod pro online analýzu zaměřila na procesní analytické technologie (PAT) pro farmaceutické účely. Jak uvádí autoři, výběr spektroskopické metody pro kontinuální monitoring závisí na specifických podmínkách daného reakčního kroku. Pro vícestupňovou syntézu antibiotika ciprofloxacinu byla použita Ramanova i FTIR spektroskopie, přičemž každá byla vybrána na základě konkrétních parametrů jednotlivých reakčních kroků. Ramanova spektroskopie byla využita pro monitoring čtvrtého a pátého kroku procesu syntézy vzhledem k přítomnosti vody, která ovlivňuje IR spektra v těchto reakčních krocích. FTIR spektroskopie byla naopak využita pro sledování kroků 1 – 3, kde bylo méně omezení. Model Ramanovy spektroskopie pro krok 5 byl vytvořen s využitím předem zpracovaných spekter pro predikci koncentrace ciprofloxacinu a vykazoval silnou korelaci s HPLC daty, dosahující koeficientu determinace (R^2) 0,969. Verifikační experimenty pro Ramanův model kroku 5 poskytly koncentrace ciprofloxacinu blízké těm, které byly stanoveny offline HPLC, s relativními chybami v rozmezí od 0 % do 6,5 % napříč několika experimenty.

FTIR model byl vytvořen s použitím kalibračního souboru 97 vzorků po odstranění odlehlých hodnot a dosáhl hodnoty R^2 0,987. FTIR systém byl nakonfigurován pro sběr dat ve spektrálním rozsahu od 650 do 4000 cm^{-1} s rozlišením 4 cm^{-1} , přičemž vzorkování probíhalo při 128 skenech na vzorek, zatímco systém Ramanovy spektroskopie sbíral data v rozsahu od 35 do 3300 cm^{-1} s integračním časem 200 ms a výkonem laseru 200 mW. Autoři vyvinuli modely metodou částečných nejmenších čtverců (PLS) pro analýzu výsledků obou technik a využili Matlab pro analýzu spektrálních dat. Obě techniky byly integrovány do systému Pharmacy on Demand (česky Lékárna na vyžádání) pro monitoring syntézního procesu. Na základě těchto výsledků autoři vyvodili, že obě metody jsou cenné pro kontinuální farmaceutickou výrobu a mají potenciál širšího využití pro sledování reakcí v reálném čase.⁶¹

Další studie zabývající se kontinuální analýzou chemických procesů za pomoci Ramanovy a FTIR-ATR spektroskopie byla provedena skupinou vědců Ferchichi a kol. z několika výzkumných institucí (IFP Energies Nouvelles, Université Claude Bernard Lyon 1, LAGEPP a CP2M). V této studii se zabývali metodikou pro online monitorování rozpouštění polypropylenu pomocí *in-situ* spektroskopických metod s cílem optimalizovat proces recyklace plastů. Výzkumníci porovnávali dvě spektroskopické techniky: Ramanovu spektroskopii využívající spektrometr Kaiser Optical Systems RXN2 s laserem 785 nm (400 mW) a ponornou sondou 12 mm, a FTIR-ATR používající spektrometr Nicolet iS50 s diamantovou ATR ponornou sondou.

Experimenty byly prováděny pod argonovou atmosférou, aby bylo zabráněno degradaci polymeru. Pro kalibraci modelů bylo použito 20 různých koncentrací polypropylenu (1-20 %w/v) při teplotách 135-160°C v různých rozpouštědlech (xylen, n-dekan, dekahydronaftalen a 1,2,4-trichlorbenzen), které byly vybrány na základě Hansenových parametrů rozpustnosti. Data byla analyzována pomocí metody nejmenších čtverců s externím parametrickým zpracováním pro eliminaci teplotních vlivů. V rámci srovnání spektroskopických metod autoři konstatují, že u Ramanovy spektroskopie dosáhli lepších výsledků v rámci odečtu teplotních vlivů než u FTIR-ATR. U infračervené spektroskopie také popisují větší variabilitu výsledků, nižší rozlišení a omezený spektrální rozsah. Výsledky ukázaly, že Ramanova spektroskopie poskytovala přesnější predikce (standardní chyba odhadu (RMSEP) 0,14-1,07 %w/v) než FTIR-ATR (RMSEP 0,87-1,38 %w/v). Výzkumníci dospěli k závěru, že Ramanova spektroskopie je účinná, rychlá a spolehlivá analytická metoda pro *in-situ* monitoring rozpouštění polypropylenu v reálném čase, což má aplikace při optimalizaci technologií recyklace plastů, výběru efektivních rozpouštědel a studiu kinetiky rozpouštění.⁶³

Studie výzkumníků Rokhsefid a Shishehbore (2019) z iránské univerzity v Yazdu se zabývala využitím spektroskopických metod pro charakterizaci elektrod vývojem elektrochemického senzoru pro simultánní detekci tramadolu a acetaminofenu. Autoři použili Ramanův spektrometr SENTERRA od firmy Bruker s laserovou vlnovou délkou 785 nm a FTIR spektrometr od stejné značky pro charakterizaci grafenových nanočástic. Získaná Ramanova a FTIR spektra byla využita pro potvrzení úspěšné syntézy a modifikace grafenových nanočástic před jejich použitím v elektrochemickém senzoru. FTIR analýza odhalila charakteristické píky oxidu grafenu v oblasti 3400 cm⁻¹ (OH vazby), 1730 cm⁻¹ (CO vazby), 1225 cm⁻¹ (COH vazby) a 1050 cm⁻¹ (CO vazby), zatímco Ramanova spektroskopie prokázala po redukci změnu poměru intenzit D-pásu (1340 cm⁻¹

¹) a G-pásu (1570 cm^{-1}), důležitých oblastí pro analýzu grafenů. Tyto spektroskopické metody tedy poskytly klíčové informace o struktuře a vlastnostech připravených nanomateriálů, což umožnilo optimalizaci vyvíjeného senzoru. Na základě takto charakterizovaných materiálů autoři vyvinuli senzor schopný detekovat tramadol s detekčním limitem $0,82\text{ }\mu\text{M}$ a vykazující lineární závislost v rozsahu $1,0\text{--}100,0\text{ }\mu\text{M}$ s relativní standardní odchylkou (RSD) $0,04\%$ ($n=15$) pro opakovaná měření $16,0\text{ }\mu\text{M}$ tramadolu. Statistická analýza reálných vzorků potvrdila dobrou opakovatelnost měření s RSD v rozmezí $1,0\text{--}1,2\%$ a výtěžnost $97,1\text{--}104,8\%$.⁶⁴

V následující studii výzkumníků z Pekingu se autoři Liu a kol. (2020) zabývali fúzí Ramanovy a FTIR-ATR spektroskopie v kombinaci s chemometrickou analýzou pro stanovení chemické kvality jedlých olejů, stanovením peroxidového čísla a čísla kyselosti u studovaných látek během tepelné oxidace. V rámci této studie byly analyzovány čtyři druhy olejů (sójový, řepkový, slunečnicový a podzemnicový) zahřívané na různé teploty ($50\text{--}260\text{ }^{\circ}\text{C}$) po dobu $30\text{--}35$ minut. FTIR spektra byla zaznamenána na spektrometru Nicolet 5700 v rozsahu $670\text{--}1900\text{ cm}^{-1}$ pomocí ATR sondy se spektrálním rozlišením 4 cm^{-1} a zaznamenáváním 32 skenů na vzorek. Ramanova spektra byla získána pomocí inVia Qontor konfokálního Ramanova mikroskopu, ve stejném rozsahu jako u FTIR-ATR. U této metody bylo pro každý vzorek zaznamenáno 16 skenů. Pro obě spektrální metody byly vzorky měřeny bez speciální přípravy.

Pro výběr klíčových spektrálních proměnných byly použity algoritmické metody a následně byla aplikována regresní metoda nejmenších čtverců. Nejlepší výsledky poskytla fúze dat z obou spektroskopických metod s využitím proměnných vybraných metodou postupných algoritmických projekcí. Výzkum prokázal, že píky spojené s vibracemi vazeb $\text{C}=\text{O}$ a $\text{C}=\text{C}$ významně korelují s hodnotami peroxidového čísla a čísla kyselosti. Autoři na základě těchto výsledků konstatují, že navržená fúze Ramanovy a FTIR-ATR spektroskopie představuje rychlý, přesný a nedestruktivní přístup k hodnocení kvality jedlých olejů.⁶⁵

Další studie, která se zabývá tímto tématem byla vypracována skupinou výzkumníků Helgers a kol. (2021) z Technické Univerzity Clausthal a prezentuje komplexní přístup k využití více spektroskopických metod pro on-line analýzu v kontinuální výrobě monoklonálních protilátek. Pro monitoring vstupního zpracování buněčných kultur a vodné dvofázové extrakce byly aplikovány Ramanova spektroskopie s laserem 785 nm ($1,5\text{ mW}$), se sběrem tří spekter s integrační dobou 1 s na vzorek, měřené na přístroji Ocean Insight se sondou InPhotonics Raman, a FTIR-ATR spektroskopie, měřené na

přístroji Alpha II, Bruker s automatickým sběrem 24 spekter se stejnou integrační dobou 1 s na vzorek. Spektra byla zpracována chemometrickými metodami, především PLS (metoda částečných nejmenších čtverců), pro predikci koncentrace monoklonálních protilátek a dalších kritických atributů kvality. Autoři porovnali různé způsoby předzpracování spekter včetně derivace a korekce rozptylu.

Výsledky ukazují, že Ramanova spektroskopie byla nejvšestrannější a nejrobustnější metodou pro sledované procesy a precipitaci s koeficienty determinace $R^2 > 0,99$ pro titraci monoklonálních protilátek, přičemž RMSE odpovídalo 1,4 % konečné koncentrace. FTIR-ATR vykazovala mírně nižší spolehlivost ($R^2 = 0,983$) s RMSE 5,1 % konečné koncentrace. Výsledky byly následně použity pro návržení strategie pokročilého řízení procesů využívající digitální dvojče procesu. Studie představuje komplexní postup pro implementaci procesní analytické technologie v kontinuálních bioprocesech a dokazuje, že spektroskopické metody mohou umožnit reálný monitoring procesů a řízení kvality v reálném čase.⁶⁶

Z těchto výsledků můžeme vyvodit konkrétní výhody a výzvy spojené s využitím Ramanovy a FTIR spektrometrie pro kontinuální analýzu i srovnání vhodnosti obou metod pro různé aplikace. Mezi výhody Ramanovy spektrometrie patří minimální interference vody, ve srovnání s FTIR byla citlivější pro pozorování změn ve struktuře katalytického povrchu a pro detekci C=C vibrací, které jsou v IR spektru slabé, zatímco FTIR spektrometrie poskytovala výsledky s vyšší citlivostí zejména u C=O vazeb. V mnoha případech podávala Ramanova spektrometrie statisticky přesnější výsledky. Nevýhodou může být u této metody nutnost korekce základní linie u fluorescenčních vzorků. U obou analytických technik byla mezi výhody řazena možnost analýzy bez předchozí úpravy vzorků, rychlost měření i snadná identifikace látek pomocí oblasti „otisku prstu“.

Předložené studie demonstrují, že Ramanova a FTIR spektroskopie představují výkonné analytické metody s širokým spektrem aplikací, zejména s využitím monitoringu v reálném čase a *in-situ*, což otevírá cestu k průběžné kontrole kvality a optimalizaci procesů v průmyslových podmínkách. Napříč studiemi se konzistentně projevuje, že tyto dvě metody poskytují komplementární informace díky odlišným fyzikálním principům, na kterých jsou založeny. Zatímco jednotlivé studie se soustředí na specifické aplikace, společným východiskem je úspěšná integrace těchto metod do existujících procesů.

V návaznosti na tato zjištění se tato diplomová práce zaměřuje na systematické porovnání vhodnosti Ramanovy spektrometrie a FTIR-ATR s průtočnou celou pro online

analýzu hydrogenačních reakcí. Pro tento účel byly zvoleny hydrogenace 1-okten-3-olu a cinnamaldehydu, které představují ideální objekty studia díky jasně definovaným strukturním změnám během hydrogenace. Cílem je kvantitativně a kvalitativně vyhodnotit obě metody z hlediska jejich přesnosti, rychlosti odezvy a spolehlivosti při sledování zvolených reakcí.

4. Experimentální část

4.1. Použité chemikálie a přístroje

4.1.1. Seznam chemikálií

- 1-okten-3-ol, 98%, od firmy Sigma Aldrich (Saint Louis, USA)
- cinnamaldehyd, >98%, od firmy Fisher Chemical – součást Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA)
- cinnamylalkohol, 98%, od firmy Acros Organics – součást Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA)
- 3-fenylpropionaldehyd, 95%, od firmy Acros Organics – součást Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA)
- 3-oktanol, 99%, od firmy Sigma Aldrich (Saint Louis, USA)
- propan-2-ol, 99,96%, od firmy Lach-Ner (Neratovice, Česká republika)
- acetonitril, 99%, od firmy Lach-Ner (Neratovice, Česká republika)
- hexanol, 98%, od firmy Acros Organics – součást Thermo Fisher Scientific (Waltham, USA)

4.1.2. Seznam přístrojů a programů

- FTIR spektrometr, značky Thermo Nicolet Avatar System 360 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) s ATR značky Pike MIRacle (PIKE Technologies, Madison, USA)
- FTIR spektrometr, značky Thermo Nicolet iS5 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), s ATR a průtočnou celou, značky SpecAc Golden Gate (Specac, Orpington, Spojené království)
- Ramanův spektrometr, značky Thermo iXR (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), s průtočným systémem značky Ehrfeld (Ehrfeld Mikrotechnik, Wendelsheim, Německo)
- Vsádkový tlakový autokláv značky Parr (Parr Industries, Moline, USA)
- Plynový chromatograf, značky Thermo Scientific Trace 1310, ve spojení s hmotnostním spektrometrem ISQ 7000 (jednoduchý kvadrupólový

analyzátor) nebo ve spojení s plamenově-ionizačním detektorem a autosamplerem TriPlus 100 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), s kapilární kolonou Rxi-17 Sil MS 60 m x 0,25 mm x 0,25 μm (Restek, Bellefonte, USA)

- Omnic Software, pro Ramanovu spektroskopii a FTIR-ATR (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)
- Chromeleon Software, pro GC-MS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA)

4.2. Pracovní postup použitých metod

4.2.1. Vsádkový autokláv

Pro hydrogenační reakce v autoklávu Paar (Obr. 4.1) byl nejprve celý systém omyt propan-2-olem. Následně byla do vsádkového reaktoru zavedena první část reakční směsi obsahující propan-2-ol a katalyzátor. Jako katalyzátor bylo u všech reakcí využito palladium na aktivním uhlí (Pd/C, 2% Pd), předem rozdrcené na jemný prášek. Po zavedení katalyzátoru s rozpouštědlem byl systém pečlivě uzavřen, pětkrát propláchnut dusíkem pod tlakem 20 barů a byla provedena tlaková zkouška. Následně byl reaktor pětkrát propláchnut vodíkem pod tlakem 20 barů. Do zásobního reaktoru byla poté zavedena druhá část reakční směsi (reaktant v rozpouštědle) a zásobní reaktor byl stejným způsobem propláchnut plynem. Pro aktivaci katalyzátoru byla nastavena teplota 40-60°C, tlak 20-30 barů a míchání na 800-1000 otáček za minutu. Aktivace katalyzátoru probíhala za těchto podmínek po dobu jedné hodiny. Následně byl do reaktoru zaveden reaktant se zbývajícím rozpouštědlem.



Obr. 4.1 Vsádkový autokláv Paar, připojen na tlakové nádoby obsahující vodík a dusík, hlavní reaktor (uprostřed) je vybaven tlakoměrem a systémem pro kontrolu teploty, zásobní reaktor (vlevo nahoře) je také vybaven tlakoměrem a je od hlavního reaktoru oddělen řadou uzávěrů

4.2.2. Ramanova spektroskopie

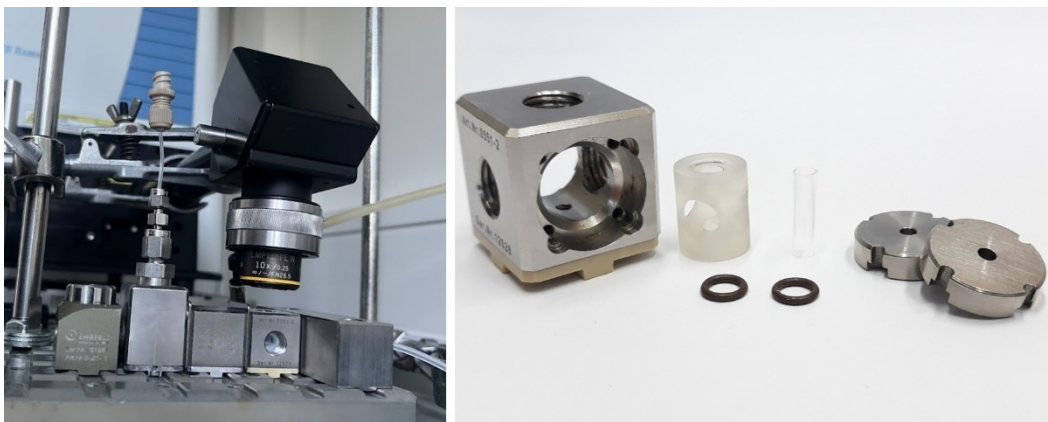
Před každým měřením byl Ramanův spektrometr Thermo iXR (Obr. 4.2) zkalibrován vzorkem acetonitrilu a na přístroji byly nastaveny potřebné parametry (výkon laseru 100 mW, rozsah měření 300–3300 cm^{-1}). Po kalibraci a zaměření laseru byl průtočný systém pročištěn stlačeným vzduchem.

Pro měření pomocí Ramanova spektrometru nebyla potřeba žádná příprava studovaných vzorků. Vzorky byly do průtočného systému Ehrfeld (Obr. 4.3) zavedeny pomocí Terumo injekčních stříkaček s Luer Lockem, přičemž vzhledem k vnitřnímu objemu systému 0,9 ml byl používán nástřík 1 ml. Během zavádění vzorků byla provedena vizuální kontrola, zda se v průtočné cele nenachází vzduchová bublina, která by měření narušila. Aparatura byla po dobu měření překryta černým sukrem, aby bylo zamezeno vlivu slunečního světla.

V rámci měření vzorků hydrogenační reakce byl průtočný systém mezi jednotlivými vzorky pročištěn pouze stlačeným vzduchem, u měření čistých látek a kalibračních řad byl před stlačeným vzduchem do systému zaveden i propan-2-ol či acetonitril.



Obr. 4.2 Ramanův spektrometr Thermo iXR s průtočným systémem

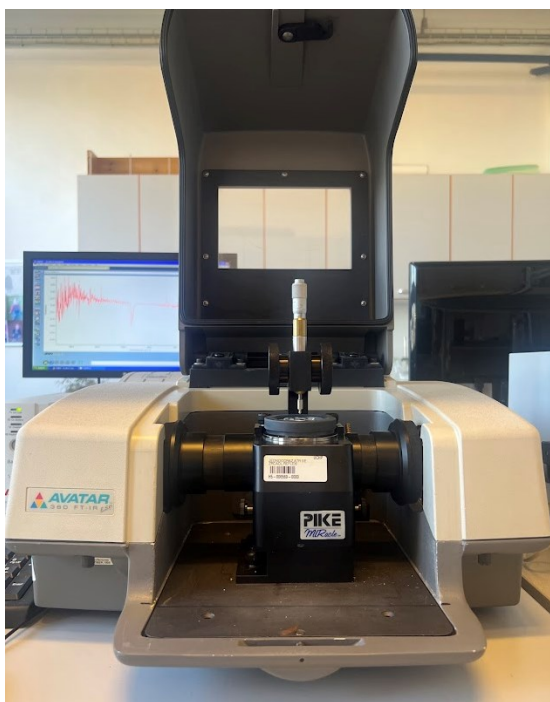


Obr. 4.3 Ehrfeld průtočný systém s optickou celou

4.2.3. FTIR-ATR

Pro analýzu vzorků pomocí FTIR-ATR nebyla potřeba žádná předchozí příprava vzorků ani kalibrace přístroje, na začátku každé analýzy řady vzorků bylo však změřeno pozadí.

Pro měření na FTIR-ATR Thermo Nicolet Avatar System 360 (Obr. 4.4) byly vzorky nanášeny na ATR krystal pomocí pipety. Při pozdějších analýzách byl využit teflonový nástavec pro zadržení kapaliny v kombinaci s mikroskopickým sklíčkem. Mezi jednotlivými měřeními byl ATR krystal očištěn ethanolem.

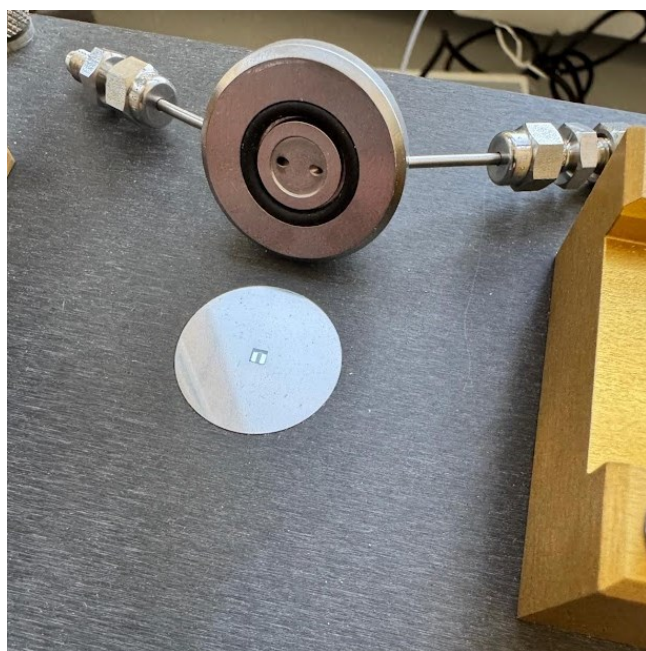


Obr. 4.4 FTIR Thermo Nicolet Avatar System 360 s ATR nástavcem PIKE MIRacle

U měření na FTIR-ATR Thermo Nicolet iS5(Obr. 4.5) s průtočnou celou (Obr. 4.6) byly vzorky zavedeny do průtočné cely pomocí Terumo injekčních stříkaček s Luer Lockem. Vnitřní objem průtočné cely byl stanoven na 0,4 ml, takže se pro nástřik používal objem 0,5 ml. Při analýze vzorků hydrogenačních reakcí byl systém čištěn stlačeným vzduchem. U měření čistých látek a kalibračních řad byla nejprve aparatura propláchnuta stlačeným vzduchem, následně byla průtočná ceta demontována a krystal byl omyt ethanolem.



Obr. 4.5 FTIR spektrometr Thermo Nicolet iS5 s ATR nástavcem Specac Golden Gate



Obr. 4.6 Průtočná cela Specac Golden Gate a ATR krystal

4.2.4. GC-MS

Před analýzou na plynovém chromatografu bylo nutné vzorky naředit a přidat interní standard. První série vzorků byly připravovány pipetováním 10 μl interního standardu přímo do vialky obsahující 10 μl analyzovaného vzorku pomocí automatické nebo Hamiltonovy pipety. Následně bylo do každé vialky přidáno 980 μl rozpouštědla automatickou pipetou. U pozdějších analýz byl připraven zásobní roztok interního standardu v odměrné baňce o objemu 100 ml, která byla po navážení standardu doplněna

rozpouštědlem po rysku. Vzorky pro GC-MS byly poté připraveny smícháním 100 μ l analyzovaného vzorku s 900 μ l tohoto zásobního roztoku.

4.3. Zpracování naměřených dat

Výsledky naměřené pomocí Ramanovy nebo FTIR-ATR spektroskopie byly následně zpracovány a vyhodnoceny pomocí programu Omnic pro spektrální analýzu.

Výsledky naměřené na plynovém chromatografu byly zpracovány pomocí programu Chromeleon.

5. Výsledky a diskuze

Výsledky získané v rámci této práce jsou pro přehlednost rozděleny do tří oddílů. Nejprve je popsána spektrální analýza čistých látek, kde jsou zpracována spektra výchozích látek (1-okten-3-olu a cinnamaldehydu) a vybraných hydrogenačních produktů (3-oktanol, hydrocinnamaldehyd a cinnamylalkohol) získaná pomocí Ramanovy a FTIR-ATR spektrometrie. Následně jsou zpracovány výsledky z kalibračních řad vybraných látek, srovnána spektra naměřená na obou spektrometrech s výsledky získanými GC-MS analýzou. Na závěr jsou popsány výsledky hydrogenačních reakcí, analýza reakčních směsí Ramanovou a FTIR spektrometrií a srovnání získaných výsledků s validační metodou GC-MS.

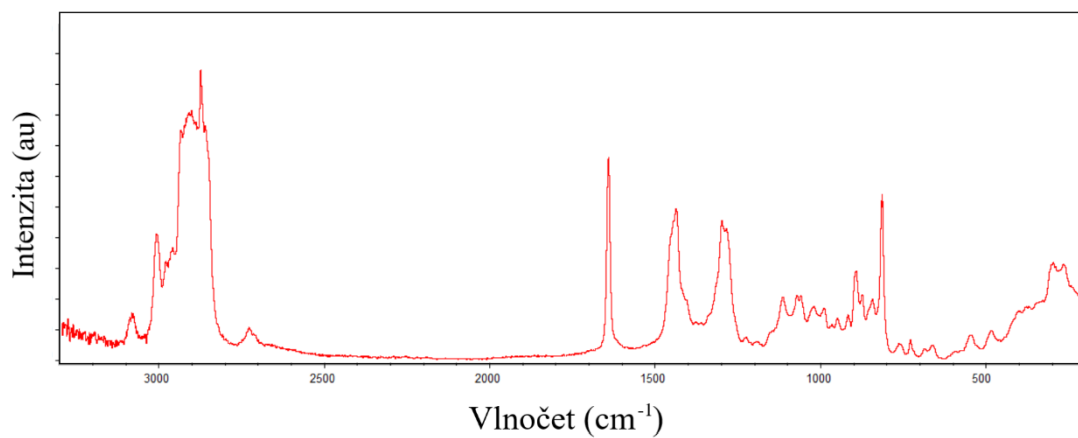
5.1. Spektrální analýza čistých látek

V rámci analýzy získaných dat byla nejprve provedena spektrální analýza zvolených látek, 1-okten-3-olu a cinnamaldehydu, a jejich hydrogenačních produktů. Zvláštní pozornost byla při analýze spekter věnována oblastem, ve kterých se projeví rozdíly v rámci hydrogenace.

5.1.1. Spektra 1-okten-3-olu

Spektra zvolená pro detailní spektrální charakterizaci 1-okten-3-olu (OCTE) a 3-oktanolu (OCTA) byla naměřena na Ramanovu spektrometru Thermo iXR s průtočnou celou (32 skenů, síla laseru 100 mW) a na FTIR-ATR spektrometru Nicolet iS5 s průtočnou celou (200 skenů, rozlišení 4 cm^{-1}).

Ramanovo spektrum OCTE, viz. Obr. 5.1, vykazuje řadu píků charakteristických pro jeho molekulární strukturu, odrážející přítomnost dvojné vazby, alifatického řetězce a OH skupiny sekundárního alkoholu.



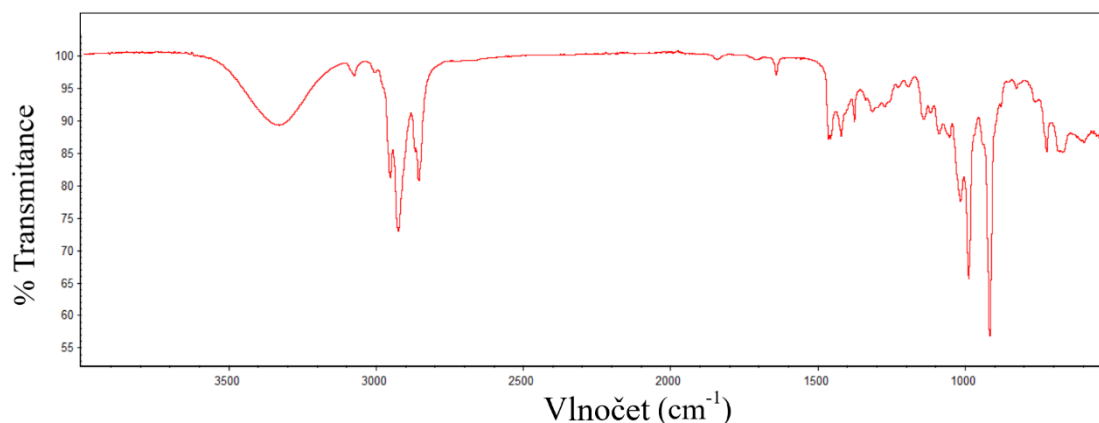
Obr. 5.1 Ramanovo spektrum OCTE, naměřeno na Raman iXR spektrometru s průtočnou celou

Tab. 5.1 Spektrální analýza Ramanova spektra OCTE, vs = velmi silný, s = silný, m = střední intenzita, w = slabý, vw = velmi slabý pík

Poloha píků (cm^{-1})	Intenzita	Interpretace spektra
3086	w	CH_2 valenční vibrace
3011	m	$=\text{CH}$ valenční vibrace
2904	vs	C-H valenční vibrace
2877	vs	$=\text{CH}_2$ symetrická valenční vibrace
2731	vw	C-H valenční vibrace
1644	vs	C=C valenční vibrace
1439	m	O-H rovinná deformační vibrace
1301	m	CH deformační vibrace
1115, 1073, 1024	w	C-O valenční vibrace
951	w	C-H mimorovinná vibrace
920	w	CH_3 kyvadlová deformační vibrace
896, 846, 817	w, w, s	CCO valenční vibrace
731	vw	$-(\text{CH}_2)_n-$ deformační vibrace
665	vw	CH kývavá deformační vibrace
548	vw	C-C-O deformační vibrace
486	vw	CO rovinná deformační vibrace
299	m	C=C skeletální vibrace

Ramanovo spektrum 1-okten-3-olu vykazuje několik analyticky významných píků (Tab. 5.1). Nejintenzivnější píky se nacházejí v oblasti $2904\text{-}2876\text{ cm}^{-1}$, které odpovídají C-H a $=\text{CH}_2$ symetrickým valenčním vibracím alifatického řetězce. Pro tuto studii nejvýznamnější je velmi výrazný pík v oblasti 1644 cm^{-1} charakteristický pro C=C valenční vibraci, který jednoznačně potvrzuje přítomnost dvojné vazby v molekule. Významný je rovněž pík 817 cm^{-1} značící CCO valenční vibraci a pík 298 cm^{-1} odpovídající skeletální vibraci C=C vazby.

FTIR spektrum 1-okten-3-olu (Obr. 5.2) také vykazuje řadu charakteristických píků, které umožňují identifikaci této molekuly (Tab. 5.2).



Obr. 5.2 FTIR spektrum OCTE, naměřeno na FTIR-ATR Nicolet iS5 spektrometru s průtočnou celou

Tab. 5.2 Spektrální analýza FTIR spektra OCTE, vs = velmi silný, s = silný, m = střední intenzita, w = slabý, vw = velmi slabý pík

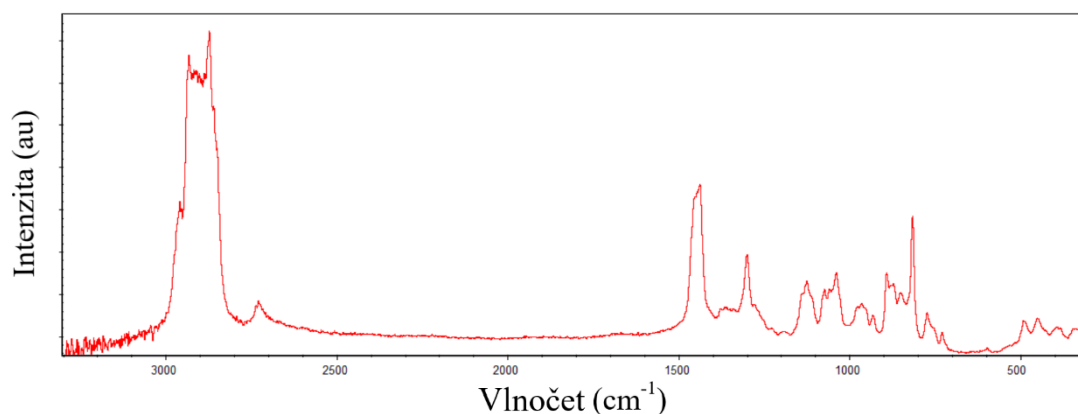
Poloha píků (cm ⁻¹)	Intenzita	Interpretace spektra
3334	m	O-H valenční vibrace
3079	vw	=CH valenční vibrace
2955	s	CH ₃ asymetrická valenční vibrace
2928	vs	CH valenční vibrace
2858	s	CH ₂ symetrická valenční vibrace
1644	vw	C=C valenční vibrace
1458	s	CH ₂ a OH deformační vibrace
1423	m	O-H rovinná deformační vibrace
1379	m	C-H kývavá deformační vibrace
1143, 1055, 1018	m, m, vs	C-O valenční vibrace
990	vs	CH mimorovinná deformační vibrace
918	vs	CH deformační vibrace
725	s	-(CH ₂) _n - deformační vibrace
671	s	CH kývavá deformační vibrace

FTIR spektrum OCTE je charakterizováno středně intenzivním píkem O-H valenční vibrace při 3333 cm⁻¹, který potvrzuje přítomnost hydroxylové skupiny. Velmi intenzivní píky se objevují v oblasti 2955-2858 cm⁻¹ a odpovídají C-H valenčním vibracím. Na rozdíl od Ramanova spektra je v FTIR pík C=C valenční vibrace u 1644 cm⁻¹ velmi slabý.

Velmi výrazné jsou naopak píky C-O valenční vibrace (1018 cm^{-1}) a CH mimorovinné deformační vibrace (989 cm^{-1} a 918 cm^{-1}). Z tohoto srovnání se zdá, že je pro sledování hydrogenační reakce OCTE vhodnější Ramanova spektrometrie, kde jsou píky odpovídající dvojným vazbám v reaktantu silnější.

5.1.2. Spektra 3-oktanolu

Pro posouzení schopnosti obou spektroskopických metod detekovat změny způsobené hydrogenací byla následně analyzována spektra 3-oktanolu (OCTA), což je produkt úplné hydrogenace OCTE. Porovnání spekter výchozí látky a produktu umožňuje potvrdit vhodnost sledování klíčových spektrálních oblastí, které lze využít pro monitoring průběhu hydrogenační reakce. Nejprve bylo studováno Ramanovo spektrum 3-oktanolu (Obr. 5.3), které je detailně popsáno v Tab. 5.3.



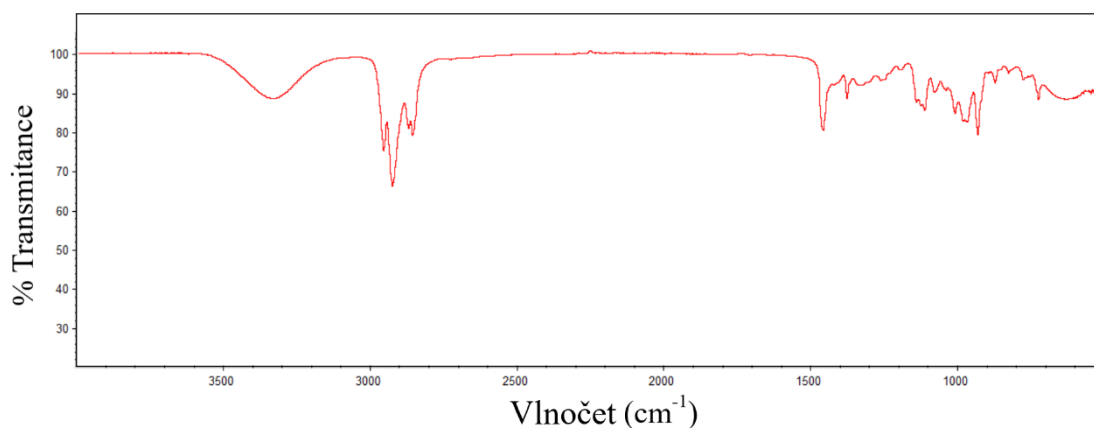
Obr. 5.3 Ramanovo spektrum OCTA, naměřeno na Raman Thermo iXR spektrometru s průtočnou celou

Tab. 5.3 Spektrální analýza Ramanova spektra OCTA, naměřeno na Raman Thermo iXR spektrometru s průtočnou celou, vs = velmi silný, s = silný, m = střední intenzita, w = slabý, vw = velmi slabý pík

Poloha píků (cm^{-1})	Intenzita	Interpretace spektra
2962	s	CH_3 asymetrická valenční vibrace
2936	vs	CH_2 valenční vibrace
2877	vs	CH_3 symetrická valenční vibrace
2732	w	C-H valenční vibrace
1441	s	O-H rovinná deformační vibrace
1304	m	CH deformační vibrace
1129, 1077, 1042	w, w, m	C-O valenční vibrace
968	w	C-C valenční vibrace
936	vw	C-C-O skeletální vibrace
895	m	C-C skeletální vibrace
854, 819	w, m	C-C-O valenční vibrace
1030	m	C-H deformační vibrace
777	vw	CH_2 deformační vibrace
732	vw	$-(\text{CH}_2)_n-$ deformační vibrace
495	vw	C-C-O deformační vibrace

Ramanovo spektrum hydrogenovaného produktu OCTA vykazuje podobné intenzivní píky v oblasti $2962\text{-}2876\text{ cm}^{-1}$ jako výchozí látka, odpovídající C-H valenčním vibracím. Výrazné jsou také píky u 1441 cm^{-1} (O-H rovinná deformační vibrace) a 1042 cm^{-1} (C-O valenční vibrace). Zásadním rozdílem oproti spektru OCTE je, že zde chybí pík v oblasti 1644 cm^{-1} (C=C valenční vibrace), což jednoznačně potvrzuje absenci dvojně vazby. Tento pík se tedy zdá jako vhodná volba pro sledování hydrogenační reakce.

Následně byla provedena obdobná analýza pro FTIR spektrum 3-oktanolu (Obr. 5.4) popsaná v Tab. 5.4.



Obr. 5.4 FTIR spektrum OCTA, naměřeno na FTIR-ATR Nicolet iS5 spektrometru s průtočnou celou

Tab. 5.4 Spektrální analýza FTIR spektra OCTA, naměřeno na FTIR-ATR Nicolet iS5 spektrometru s průtočnou celou, vs = velmi silný, s = silný, m = střední intenzita, w = slabý, vw = velmi slabý pik

Poloha píků (cm ⁻¹)	Intenzita	Interpretace spektra
3329	m	O-H valenční vibrace
2957	vs	CH ₃ asymetrická valenční vibrace
2927	vs	CH ₂ valenční vibrace
2872	s	CH ₃ symetrická valenční vibrace
2858	vs	CH ₂ symetrická valenční vibrace
1459	s	CH ₂ a OH deformační vibrace
1378	m	OH rovinná a CH deformační vibrace
1340	w	C-H deformační vibrace
1262	w	OH deformační vibrace
1196	vw	C-C valenční vibrace
1113, 1080, 1010	s, m, s	C-O valenční vibrace
968	s	CH ₂ kývavá deformační vibrace
872, 827	w	C-C valenční vibrace
776	w	CH ₂ kývavá deformační vibrace
725	m	-(CH ₂) _n - deformační vibrace
629	m	OH mimorovinná deformační vibrace

FTIR spektrum 3-oktanolu obsahuje pik O-H valenční vibrace střední intenzity u 3328 cm⁻¹, velmi silné píky C-H valenčních vibrací v oblasti 2957-2858 cm⁻¹ a výrazné

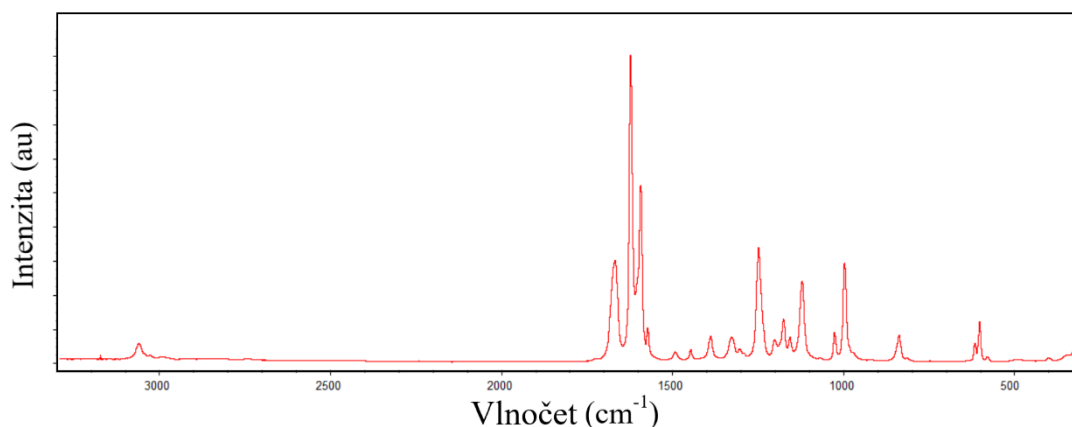
píky C-O valenčních vibrací (1113, 1079 a 1009 cm^{-1}). Stejně jako v Ramanově spektru i zde chybí pík charakteristický pro C=C valenční vibraci, což potvrzuje absenci dvojné vazby.

U obou analyzovaných látek je patrné, že je FTIR citlivější metodou pro OH skupiny. Píky odpovídající O-H a C-O vazbám jsou ve FTIR spektrech výraznější než u Ramanovy spektrometrie. Ramanova spektrometrie naopak poskytuje lepší výsledky pro analýzu dvojných vazeb, jelikož jsou u OCTE výrazně silnější píky odpovídající =CH i C=C vazbám.

5.1.3. Spektra cinnamaldehydu

Detailní spektrální charakterizace byla poté provedena pro tři klíčové látky hydrogenačního procesu: výchozí látku cinnamaldehyd (CAL), a jeho dva hydrogenační produkty -- cinnamylalkohol (COL) a hydrocinnamaldehyd (HCAL). Tyto spektrální profily poskytují základ pro následné sledování hydrogenačních reakcí a identifikaci produktů.

Ramanovo spektrum CAL (Obr. 5.5) vykazuje řadu charakteristických píků, které odpovídají jeho molekulární struktuře obsahující aromatické jádro, konjugovanou dvojnou vazbu a aldehydovou skupinu. Spektrum bylo měřeno v rozsahu 300-3300 cm^{-1} , přičemž byly identifikovány píky charakteristické pro jednotlivé funkční skupiny.



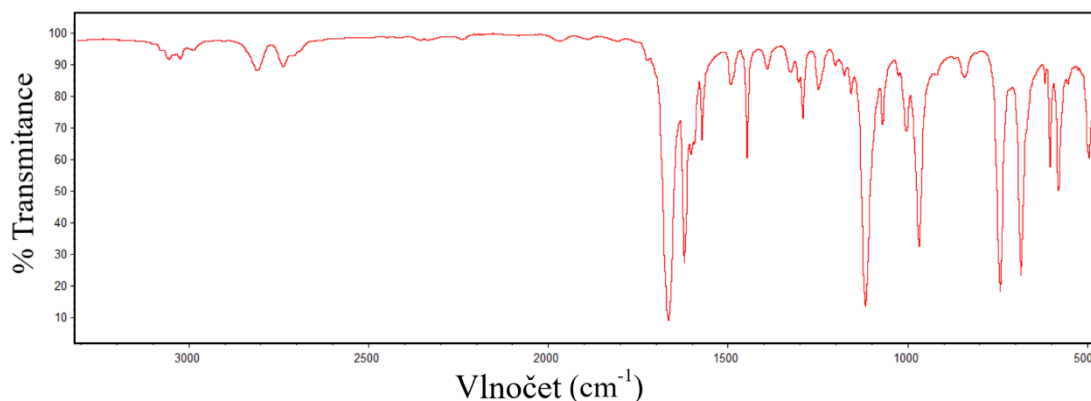
Obr. 5.5 Ramanovo spektrum CAL, naměřeno na Ramanově spektrometru s průtočnou celou

Tab. 5.5 Spektrální analýza Ramanova spektra CAL, vs = velmi silný, s = silný, m = střední intenzita, w = slabý, vw = velmi slabý pík

Poloha píků (cm^{-1})	Intenzita	Interpretace spektra
3065	m	C-H valenční vibrace aromatického jádra
2977, 2919, 2879	vw	C-H valenční vibrace
1673	s	C=O valenční vibrace aldehydu
1627, 1597	vs	C=C valenční vibrace aldehydu
1577, 1497	m, w	Valenční vibrace aromatického jádra
1451, 1393	w, m	C-H deformační vibrace
1331	m	C-C valenční vibrace
1307	w	C-H deformační vibrace
1252	vs	C-C valenční vibrace
1205, 1179, 1160	m	C-H deformační vibrace
1125	s	C-C valenční vibrace
1030	m	C-H deformační vibrace
1001	vs	Dýchací vibrace aromatického jádra
842, 818	m, m	Deformační vibrace konjugovaného C=C systému
620, 606, 584	m, m, vw	Deformační vibrace aromatického jádra

Nejvýznamnějšími píky v Ramanově spektru cinnamaldehydu (viz Tab. 5.5) jsou tedy pík v poloze 1627 cm^{-1} odpovídající C=C valenční vibraci, pík 1252 cm^{-1} odpovídající C-C valenční vibraci, pík 1001 cm^{-1} odpovídající dýchací vibraci aromatického jádra a pík 1673 cm^{-1} odpovídající C=O valenční vibraci. Tyto píky vykazují nejvyšší intenzitu a jsou charakteristické pro cinnamaldehyd, což je činí vhodnými pro jeho identifikaci a kvantifikaci.

FTIR-ATR spektrum cinnamaldehydu (Obr. 5.6) poskytuje komplementární informace k Ramanově spektru, přičemž některé vibrace, které jsou slabé v Ramanově spektru, jsou výrazné v IR spektru a naopak.



Obr. 5.6 FTIR spektrum CAL, naměřeno na FTIR-ATR spektrometru s průtočnou celou

Tab. 5.6 Spektrální analýza FTIR spektra CAL, naměřeno na FTIR-ATR Nicolet iS5 spektrometru s průtočnou celou, vs = velmi silný, s = silný, m = střední intenzita, w = slabý, vw = velmi slabý pik

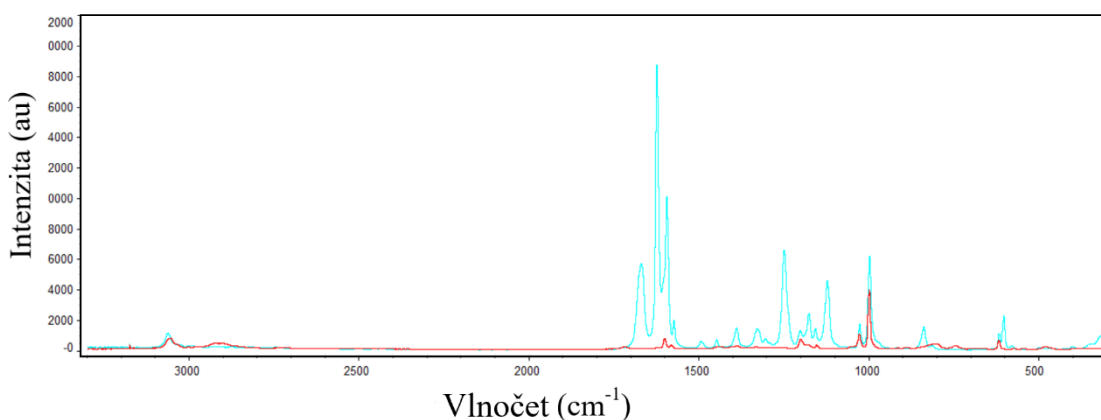
Poloha píků (cm ⁻¹)	Intenzita	Interpretace spektra
3028	vw	C-H valenční vibrace aromatického jádra
2812, 2741	vw	C-H valenční vibrace
1668	vs	C=O valenční vibrace aldehydu
1624, 1605	s, w	C=C valenční vibrace
1575, 1495	vw	Valenční vibrace aromatického jádra
1449, 1392	w, vw	C-H deformační vibrace
1327	vw	C-H deformační vibrace
1294, 1250	vw	C-C valenční vibrace
1203, 1178, 1159	vw	C-H deformační vibrace
1119	vs	C-C valenční vibrace
1072	vw	C-H deformační vibrace
1006	vw	Dýchací vibrace aromatického jádra
970, 843	s, vw	C-H mimorovinná deformační vibrace
744, 686	s	C-H deformační vibrace monosubstituovaného benzenu
620 – 467	vw – m	Deformační vibrace aromatického jádra

Z hlediska analytického využití jsou nejvýznamnějšími píky v IR spektru cinnamaldehydu pik 1668 cm⁻¹ (C=O valenční vibrace), 1624 cm⁻¹ (C=C valenční

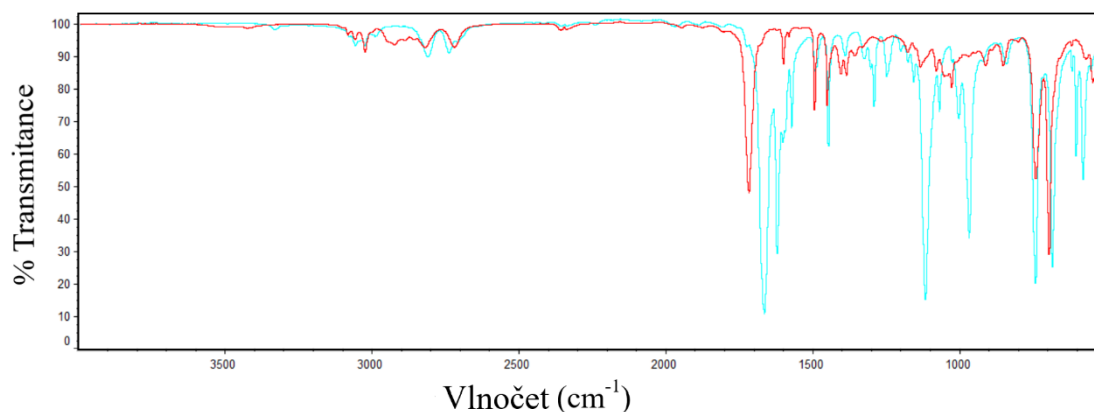
vibrace), 1119 cm^{-1} (C-C valenční vibrace), 744 cm^{-1} a 686 cm^{-1} (C-H deformační vibrace monosubstituovaného benzenu). Tyto píky vykazují nejvyšší intenzitu a jsou charakteristické pro cinnamaldehyd (Tab. 5.6).

5.1.4. Spektra hydrocinnamaldehydu

Následně byla stejná analýza provedena pro jeden z produktů hydrogenační reakce cinnamaldehydu – hydrocinnamaldehyd. Spektra hydrocinnamaldehydu a cinnamaldehydu získaná na Ramanově (Obr. 5.7) a FTIR-ATR (Obr. 5.8) spektrometru vykazují několik klíčových rozdílů, které přímo odrážejí strukturální změnu způsobenou hydrogenací dvojně vazby.



Obr. 5.7 Ramanovo spektrum HCAL (červeně) ve srovnání s CAL (modře)



Obr. 5.8 FTIR spektrum HCAL (červeně) ve srovnání s CAL (modře)

Nejzřetelnější odlišnost mezi spektry cinnamaldehydu (CAL) a hydrocinnamaldehydu (HCAL) je patrná u C=O valenční vibrace, která se u HCAL posouvá k vyšším vlnovým délkám (1721 cm^{-1} v Ramanově spektru a 1720 cm^{-1} v FTIR) ve srovnání s CAL (1673 cm^{-1} v Ramanově spektru a 1668 cm^{-1} v FTIR). Tento posun je

důsledkem ztráty konjugace mezi karbonylovou skupinou a dvojnou vazbou po hydrogenaci, což zvyšuje energii vibrační frekvence C=O vazby.

Ve spektrech HCAL je také viditelná absence intenzivních píků odpovídajících valenčním vibracím C=C konjugovaného systému v oblasti 1620-1630 cm^{-1} , které jsou u CAL dominantní. Místo toho spektrum HCAL vykazuje výraznější signály CH_2 skupin vzniklých hydrogenací, což se projevuje intenzivnějšími píky v oblasti 2800-3000 cm^{-1} a charakteristickými deformačními vibracemi methylenových skupin kolem 1450-1460 cm^{-1} .

Obě látky sdílejí charakteristický pík dýchací vibrace aromatického jádra kolem 1000-1002 cm^{-1} , nicméně jeho relativní intenzita se liší, což odráží změnu v elektronové hustotě molekuly. V oblasti 700-800 cm^{-1} lze u obou sloučenin pozorovat charakteristické píky pro monosubstituovaný benzen, které však u HCAL vykazují mírně odlišné polohy a intenzity (748,44 cm^{-1} v Ramanově spektru a 743,35 cm^{-1} ve FTIR spektru) oproti CAL (841,65 cm^{-1} a 817,85 cm^{-1} v Ramanově spektru, 744,25 cm^{-1} a 686,35 cm^{-1} ve FTIR spektru).

Tyto spektrální rozdíly poskytují spolehlivý základ pro sledování průběhu hydrogenační reakce a kvantitativní určení míry konverze výchozí látky na produkt. Podobně jako u 1-okten-3-olu, i zde se ukazuje, že Ramanova spektroskopie poskytuje výraznější signály pro C=C vazby, zatímco FTIR lépe charakterizuje karbonylové skupiny.

5.1.5. Spektra cinnamylalkoholu

Pro ověření přesnosti a spolehlivosti použitých spektroskopických metod byla provedena validace získaných spektrálních dat porovnáním s referenčními údaji z literatury. Z analyzovaných látek byl pro podrobné srovnání s literaturou vybrán cinnamylalkohol, a to především díky jeho důkladnému popisu v literatuře. Tato sloučenina představuje ideální modelový systém pro ověření přesnosti a spolehlivosti použitých spektroskopických metod. Vzhledem k dostupnosti detailních referenčních dat bylo možné provést komplexní statistickou analýzu experimentálně získaných spekter a potvrdit tak, že naměřené výsledky odpovídají očekávaným standardům. Srovnání experimentálních a literárních hodnot u této sloučeniny zároveň slouží jako validace použité metodiky pro ostatní látky analyzované v rámci této práce.

V rámci validace metody pro FTIR-ATR bylo provedeno srovnání výsledků získaných experimentálně s výsledky z literatury. Byly porovnávány polohy píků na

spektrogramech získaných na FTIR-ATR Nicolet iS5 s průtočnou celou (200 skenů, rozlišení 4 cm^{-1}), FTIR-ATR Avatar System 360 s teflonovým nástavcem (200 skenů, rozlišení 4 cm^{-1}) a Avatar System 360 bez teflonového nástavce (100 skenů, rozlišení 4 cm^{-1}). Pro srovnání byly využity výsledky ze studie z King Fahd University of Petroleum & Minerals, ze Saudské Arábie, kde vědci Badawi a Förner. popsali vibrační spektra cinnamylalkoholu a hydrocinnamylalkoholu (3-fenylpropanolu) získaná na FTIR spektrometru Perkin Elmer 16F PC FTIR.⁶⁷

V Tab. 5.7 byla provedena interpretace FTIR spektra cinnamylalkoholu s detailním přiřazením jednotlivých charakteristických vibrací k naměřeným píkům.

Tab. 5.7 Spektrální analýza FTIR spektra COL, naměřeno na FTIR-ATR Nicolet iS5 s průtočnou celou, vs = velmi silný, s = silný, m = střední intenzita, w = slabý, vw = velmi slabý pík

Poloha píků (cm ⁻¹)	Intenzita	Interpretace spektra
3304	w	OH valenční vibrace
3080, 3058	vw	CH symetrická valenční vibrace u aromatických sloučenin
3025	w	CH symetrická valenční vibrace u aromatických sloučenin
2862	w	CH ₂ symetrická a asymetrická valenční vibrace
1657, 1598	vw	Valenční vibrace aromatického jádra
1493, 1448	m	CH ₂ deformační vibrace
1371	w	CH deformační rovinná vibrace
1293	w	=CH rovinná deformační vibrace, C-C valenční vibrace, valenční vibrace aromatického jádra
1202	w	CH ₂ kroutivá deformační vibrace, OH rovinná deformační vibrace
1091, 1069	s, m	C-C valenční vibrace aromatického jádra, C-O valenční vibrace
1007	s	Dýchací a deformační vibrace aromatického jádra
964	vs	C-C valenční vibrace aromatického jádra, C-O valenční vibrace
919, 834	m, w	CH deformační vějířová vibrace
732	vs	CH a =CH deformační vějířová vibrace, deformační vibrace aromatického jádra
690, 607	vs, m	Deformační vibrace aromatického jádra
527	s	Deformační vibrace aromatického jádra, C-C-O deformační vibrace

Následně byly v Tab. 5.8 seskupeny výsledky z jednotlivých FTIR měření ve srovnání s literárními hodnotami. Pro tyto výsledky byla poté provedena statistická analýza pro porovnání shody experimentálních hodnot s literaturou. Pro každý soubor experimentálních dat byl proveden výpočet průměrné absolutní odchylky, úrovně shody pomocí metody střední kvadratické odchylky (RMSD), Pearsonova korelačního koeficientu a párového t-testu, pro zjištění, zda soubory dat vykazují statisticky významné rozdíly.

Tab. 5.8 Srovnání experimentálních hodnot poloh píků z FTIR-ATR s literárními hodnotami

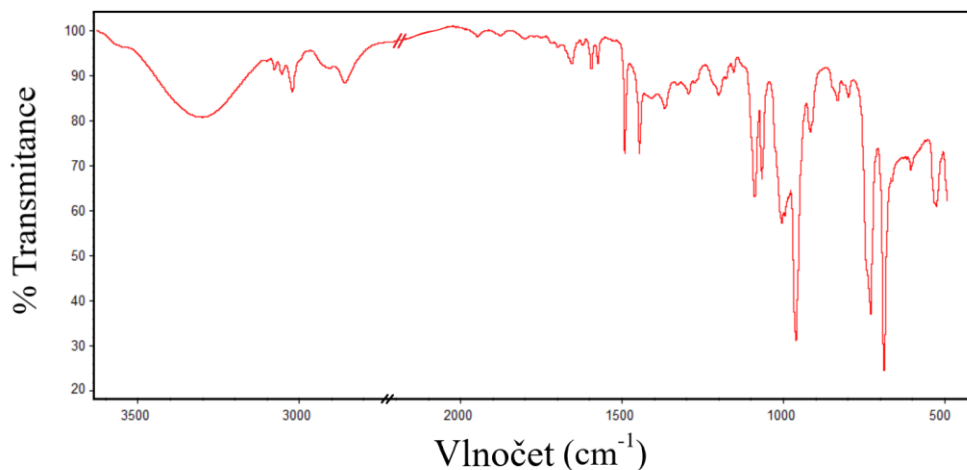
Nicolet iS5 s průtočnou celou (cm^{-1})	Avatar System 360 s nástavcem (cm^{-1})	Avatar System 360 bez nástavce (cm^{-1})	Literární hodnoty ⁶⁷ (cm^{-1})
3304	3324	3287	3307
3080	-	-	3079
3058	3059	3058	3057
3025	3028	3028	3026
2862	2865	2861	2860
1657	1655	1655	1660
1598	1598	1599	1597
1493	1494	1494	1492
1448	1449	1449	1447
1371	-	-	1371
1293	-	-	1297
1202	1203	1203	1202
1091	1092	1092	1091
1069	1069	1069	1067
1007	1008	1009	1005
964	965	965	963
919	920	920	916
834	834	832	832
732	733	733	736
690	690	691	688
607	-	-	606
527	-	-	528

Dle analýzy poloh píků v Tab. 5.8 lze konstatovat, že experimentální FTIR spektrum cinnamylalkoholu naměřeno na spektrometru FTIR-ATR Nicolet iS5 s průtočnou celou (Obr. 5.9) vykazuje dobrou korelaci s hodnotami z literatury (Obr. 5.10), s průměrnou absolutní odchylkou $1,61 \text{ cm}^{-1}$ napříč všemi píky. Statistická analýza potvrzuje tuto vysokou úroveň shody s RMSD $1,97 \text{ cm}^{-1}$ a velmi vysokým Pearsonovým korelačním

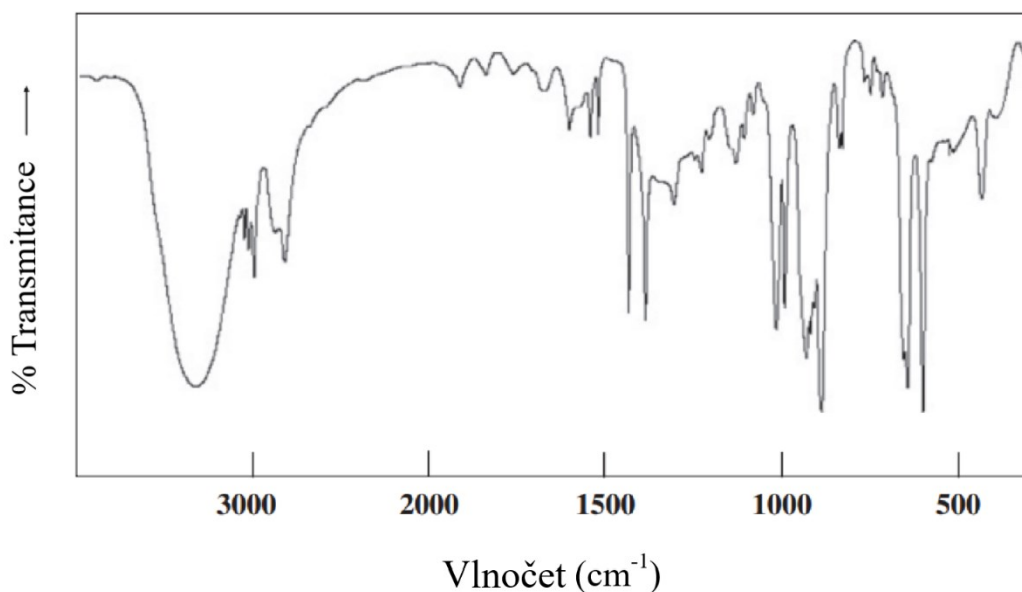
koeficientem 0,999998. Párový t-test s hodnotou 0,807 neukazuje žádný statisticky významný rozdíl mezi experimentálními a literárními soubory dat.

Všechny absorpce klíčových funkčních skupin se shodují v přijatelných rozmezích, přičemž 100 % srovnávaných poloh píku spadá do $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$ hodnot z literatury a 77 % do přísnějšího prahu $\pm 3 \text{ cm}^{-1}$. Zvláště důležité jsou vibrace charakteristické pro tuto sloučeninu – OH valenční vibrace ($\sim 3304 \text{ cm}^{-1}$), C=C valenční vibrace ($\sim 1657 \text{ cm}^{-1}$) a vibrace aromatických prstenců ($\sim 1598 \text{ cm}^{-1}$), které všechny vykazují vynikající shodu s referenčními údaji.

Bylo pozorováno několik menších rozdílů: v experimentálním spektru chybí vrcholy uváděné v literatuře při 2926 , 1618 , 1406 , 1157 , 806 a 486 cm^{-1} , přičemž vykazuje další pík při 1574 cm^{-1} nepopsaný ve zmíněné studii.⁶⁷ Tyto nesrovnalosti mohou být připsány rozdílům v přípravě vzorku, rozlišení přístroje nebo potenciálně odchylkám v čistotě, ale významně neovlivňují celkovou validaci metody.



Obr. 5.9 FTIR spektrum cinnamylalkoholu, experimentální hodnoty naměřeno na FTIR spektrometri Nicolet iS5 s průtočnou celou



Obr. 5.10 FTIR spektrum cinnamylalkoholu, přejaté z ⁶⁷

Dále byly se stejným souborem dat srovnány dvě předchozí měření, obě provedené na FTIR-ATR spektrometru Avatar System 360 – první z těchto experimentů byl proveden bez zvláštních úprav a u druhého byl využit teflonový nástavec pro zadržení kapaliny. Uspořádání bez teflonového nástavce poskytlo průměrnou absolutní odchylku $MAD = 3,05 \text{ cm}^{-1}$ a vykazovalo střední kvadratickou odchylku $5,36 \text{ cm}^{-1}$, což ukazuje na vyšší variabilitu v jednotlivých polohách píku. Statistická analýza odhalila vysoký korelační koeficient ($r = 0,999985$) a příznivé výsledky t-testu ($p = 0,855$), přičemž 94 % píků se nacházelo v rozmezí $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$ a 70 % v rozmezí $\pm 3 \text{ cm}^{-1}$ od literárních hodnot.

I nastavení s teflonovým nástavcem vykazovalo dobrou korelaci s referenčními daty (Pearsonův korelační koeficient $r = 0,999991$), ale vykazovalo vyšší odchylky ($MAD 3,34 \text{ cm}^{-1}$, a $RMSD 4,91 \text{ cm}^{-1}$) ve srovnání s metodou průtokové cely. Tato konfigurace zachytila 17 charakteristických píků, s identickou statistikou maximální tolerance, kde 94 % spadalo do $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$ hodnot z literatury a 70 % do užšího rozmezí $\pm 3 \text{ cm}^{-1}$. U obou těchto metod bylo oproti literárním hodnotám zaznamenáno méně píků než u metody s průtočnou celou, což může být vysvětleno hlavně větším poměrem šumu k signálu.

Experimentální konfigurace s průtočnou celou prokázala vynikající spektrální shodu, s nejnižší odchylkou od hodnot z literatury a ostatními statistickými parametry ukazuje téměř nulový statistický rozdíl od referenčních dat. Zatímco všechny metody vykazovaly vynikající korelační koeficienty a udržovaly 94-100 % píků v rozmezí $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$ literárních

hodnot, metoda s průtočnou cely poskytovala výrazně lepší výsledky, zejména pro kritickou oblast OH valenční vibrace ($\sim 3307 \text{ cm}^{-1}$). Toto srovnání ukazuje, že ačkoliv všechny tři metody poskytují spolehlivou identifikaci cinnamylalkoholu, Nicolet iS5 s průtočnou celou nabízí nejvyšší přesnost a spolehlivost, což z něj činí preferovanou metodu pro kvantitativní a kvalitativní analýzu této sloučeniny.

Následně bylo pro cinnamylalkohol provedeno stejné srovnání pro píky z Ramanova spektrometru v Tab. 5.9.

Tab. 5.9 Spektrální analýza Ramanova spektra COL, vs = velmi silný, s = silný, m = střední intenzita, w = slabý, vw = velmi slabý pik

Poloha píku (cm^{-1})	Intenzita	Interpretace spektra
3061, 3011	m, w	CH symetrická valenční vibrace
2930, 2864	w, vs	CH ₂ symetrická a asymetrická valenční vibrace
1657	s	C=C valenční vibrace
1599	w	Aromatická valenční vibrace
1578	vw	Aromatická valenční vibrace, CH rovinná deformační vibrace
1495	w	CH ₂ nůžková deformační vibrace
1451	m	CH ₂ deformační vějířová vibrace
1296	m	C-C valenční, =CH rovinná deformační a aromatická valenční vibrace
1277	m	C-C valenční a CH deformační vibrace
1208	m	CH ₂ kroutivá deformační a OH rovinná deformační vibrace
1180, 1157	w, m	C-H rovinná deformační vibrace
1030	vs	=CH kroutivá a vějířová deformační vibrace
1001	w	Dýchací (breathing) a deformační vibrace aromatického jádra
850	w	Dýchací vibrace aromatického jádra a C-C valenční vibrace
833	w	C-H vějířová deformační vibrace
818	vw	=CH kroutivá a vějířová deformační vibrace
620	m	Deformační vibrace aromatického jádra
405	w	Rovinná deformační vibrace aromatického jádra a =CHC kývavá deformační vibrace
329	w	OH torzní vibrace

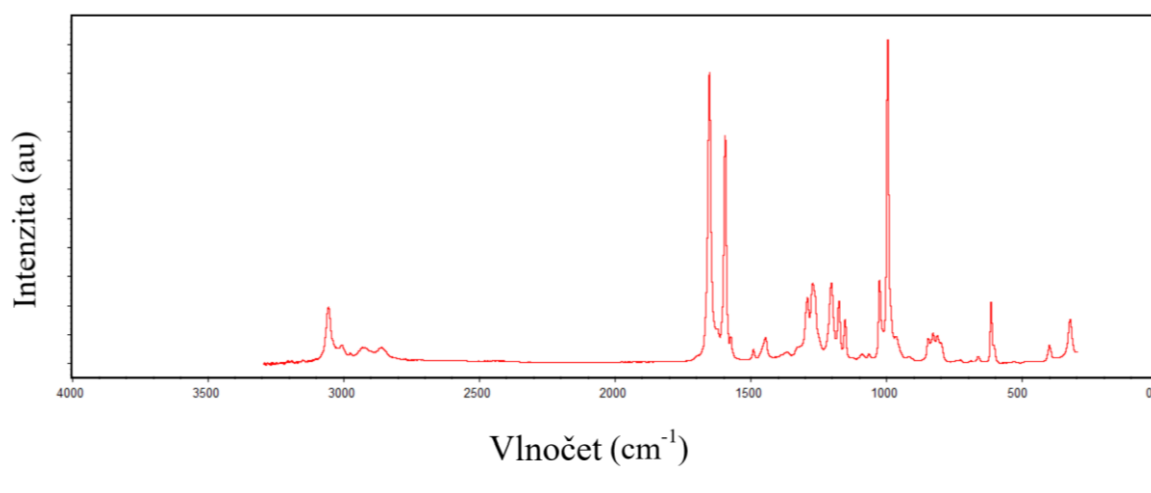
Badawi a Förner provedli měření na Ramanově spektrometru Nicolet 6700 FTIR NXR Raman Module a experimentální data byla v rámci této studie získána na Ramanově spektrometru Thermo iXR s průtočnou celou Ehrfeld (32 skenů, síla laseru 100 mW).⁶⁷

Tab. 5.10 Srovnání experimentálních hodnot poloh píků s literárními hodnotami

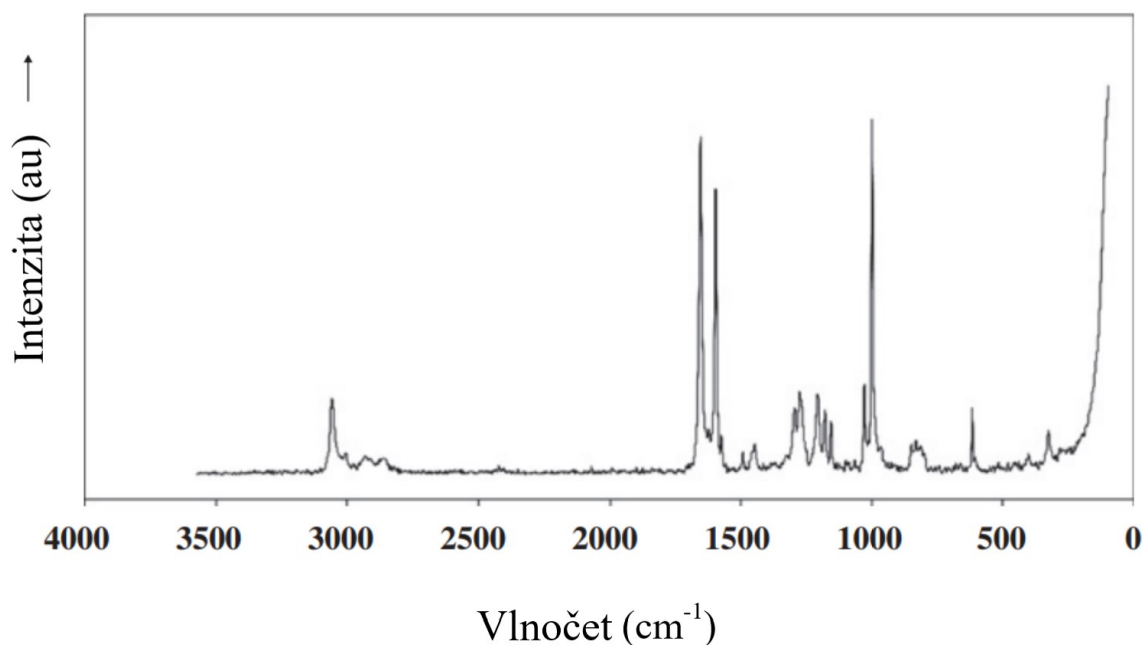
Thermo iXR s průtočnou celou (cm^{-1})	Literární hodnoty ⁶⁷ (cm^{-1})
3061	3060
3011	3010
2930	2929
2864	2858
1657	1656
1599	1598
1578	1577
1495	1495
1451	1450
1297	1295
1277	1276
1208	1208
1180	1179
1157	1157
1030	1030
1001	1000
850	844
833	832
818	828
620	619
405	405
329	329

Experimentální měření Ramanovy spektroskopie cinnamylalkoholu také vykazují vynikající shodu s literárními hodnotami, viz Tab. 5.10, s průměrnou absolutní odchylkou $1,60 \text{ cm}^{-1}$ napříč všemi píky. Statistická analýza potvrzuje tuto vysokou míru souladu s RMSD $2,89 \text{ cm}^{-1}$ a vysokým Pearsonovým korelačním koeficientem ($r = 0,999994$). Párový t-test ($p = 0,340$) neukazuje žádný statisticky významný rozdíl mezi experimentálními a literárními soubory dat. Všechny charakteristické vibrace funkčních skupin jsou v přijatelných rozmezích, přičemž 86 % srovnávaných poloh píků spadalo do

$\pm 5 \text{ cm}^{-1}$ hodnot z literatury, z čehož všechny spadaly i do užšího prahu 3 cm^{-1} . Zvláště významné vibrace pro tuto sloučeninu, CH symetrická valenční vibrace ($\sim 3061 \text{ cm}^{-1}$), C=C valenční vibrace ($\sim 1657 \text{ cm}^{-1}$) a vibrace aromatických jader ($\sim 1599 \text{ cm}^{-1}$ a $\sim 1578 \text{ cm}^{-1}$), vykazují vynikající shodu s referenčními údaji. Na rozdíl od analýzy FTIR nebyly mezi experimentálním Ramanovým spektrem (Obr. 5.11) a literárními hodnotami (Obr. 5.12) pozorovány žádné chybějící píky.



Obr. 5.11 Ramanovo spektrum cinnamylalkoholu naměřeno na Raman Thermo iXR spektrometru



Obr. 5.12 Ramanovo spektrum cinnamylalkoholu, přejaté z ⁶⁷

Při porovnání obou technik, založeném výhradně na úspěšně detekovaných píkách, vykazovala FTIR srovnatelnou korelaci ($>0,9999$) a nižší RMSD než Ramanova spektrometrie ($1,97$ oproti $2,89 \text{ cm}^{-1}$), a také vyšší procento píků v rozmezí $\pm 5 \text{ cm}^{-1}$ (100% pro FTIR oproti 86% pro Raman). Ramanova spektroskopie však prokázala lepší úplnost v detekci píků bez jakýchkoliv chybějících vibrací oproti literárním hodnotám. Společně tyto komplementární techniky poskytují robustní ověření identity a čistoty vzorku.

Provedená spektrální analýza čistých látek a jejich hydrogenačních produktů poskytla detailní charakterizaci jejich strukturních vlastností a umožnila identifikaci klíčových spektrálních markerů pro sledování průběhu hydrogenačních reakcí. Bylo prokázáno, že jak Ramanova spektroskopie, tak FTIR-ATR jsou vhodnými metodami pro analýzu studovaných sloučenin, přičemž každá z metod poskytuje specifické výhody. Ramanova spektroskopie je citlivější pro detekci C=C vazeb, zatímco FTIR-ATR poskytuje lepší charakterizaci OH skupin a C=O vazeb. Validace spektrálních dat porovnáním s literárními hodnotami potvrdila vysokou přesnost a spolehlivost obou použitých metod. Na základě těchto výsledků byly následně vytvořeny kalibrační řady pro kvantitativní analýzu sledovaných látek a jejich hydrogenačních produktů.

5.2. Kalibrační řady

Klíčovým krokem pro kvantitativní analýzu hydrogenačních reakcí bylo sestavení spolehlivých kalibračních modelů. Pro zajištění přesné kvantifikace výchozích látek a produktů byla nejprve zvolena vhodná metodika přípravy kalibračních roztoků a ověřena pomocí plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS).

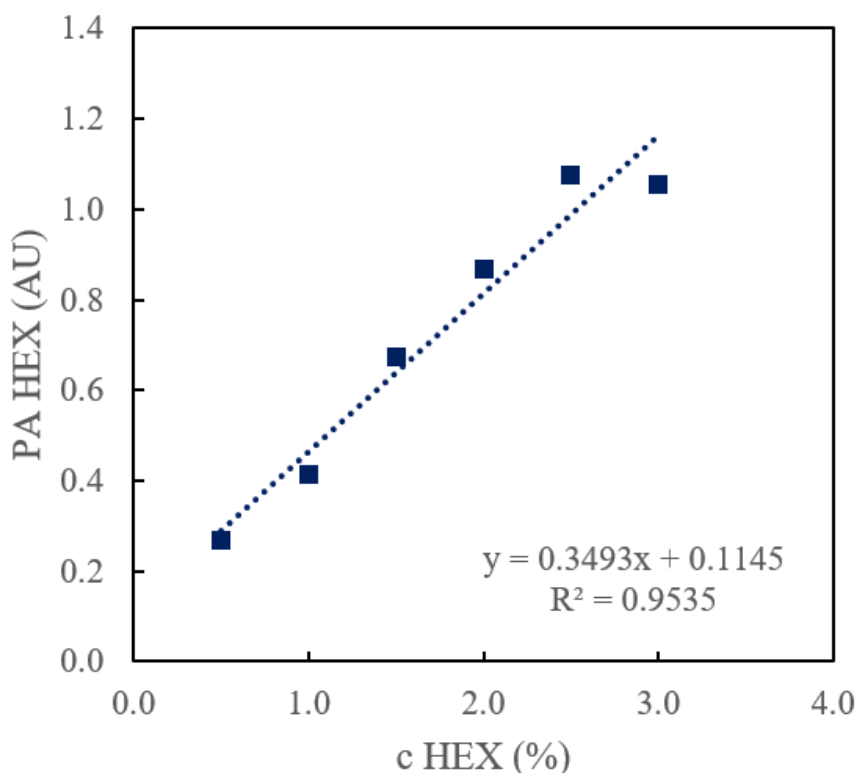
5.2.1. Interní standard

V první řadě experimentů byl jako interní standard pro GC-MS využit tert-butanol, což se však ukázalo jako nevhodné řešení. Při GC-MS analýze tert-butanol eluoval v příliš krátkém retenčním čase, blízkém propan-2-olu, který byl použit jako rozpouštědlo, což znemožňovalo jeho kvantifikaci. Po vyhodnocení chromatografických vlastností několika potenciálních interních standardů byl proto pro další měření zvolen 1-hexanol (HEX). Tento alkohol vykazoval optimální chromatografické chování – eluoval v retenčním čase dostatečně vzdáleném od vybraných analytů i rozpouštědla, což zabránilo překryvům píků a umožnilo jeho spolehlivou detekci na chromatogramech.

Pro ověření vhodnosti 1-hexanolu jako interního standardu a stanovení optimální koncentrace pro analytické účely byla připravena kalibrační řada s koncentracemi

hexanolu v rozmezí 0,5-3 %v/v při konstantní koncentraci 1-okten-3-olu (OCTE, 2,5 %v/v). Jako rozpouštědlo byl ve všech případech použit propan-2-ol (IPA). Pro analýzu pomocí GC-MS byly vzorky následně vhodně naředěny – z každé vialky bylo odebráno 10 µl vzorku, který byl zředěn 1 ml propan-2-olu (100násobné zředění).

Měření ukázalo, že navzdory detekovanému znečištění vykazovala kalibrační závislost v oblasti nižších koncentrací (kolem 1 %v/v) přijatelnou linearitu. Pro následné analýzy byla tedy zvolena koncentrace 1 %v/v hexanolu jako interního standardu. Lineární regresní analýza (Obr. 5.13) poskytla koeficient determinace $R^2 = 0,9535$ s rovnicí kalibračního modelu $y = 0,3493x + 0,1145$, kde y reprezentuje normalizovanou plochu píku a x je koncentrace hexanolu v objemových procentech. Normalizace byla provedena vydělením plochy píku hexanolu plochou píku OCTE, což minimalizuje vliv instrumentálních fluktuací na výsledná data.

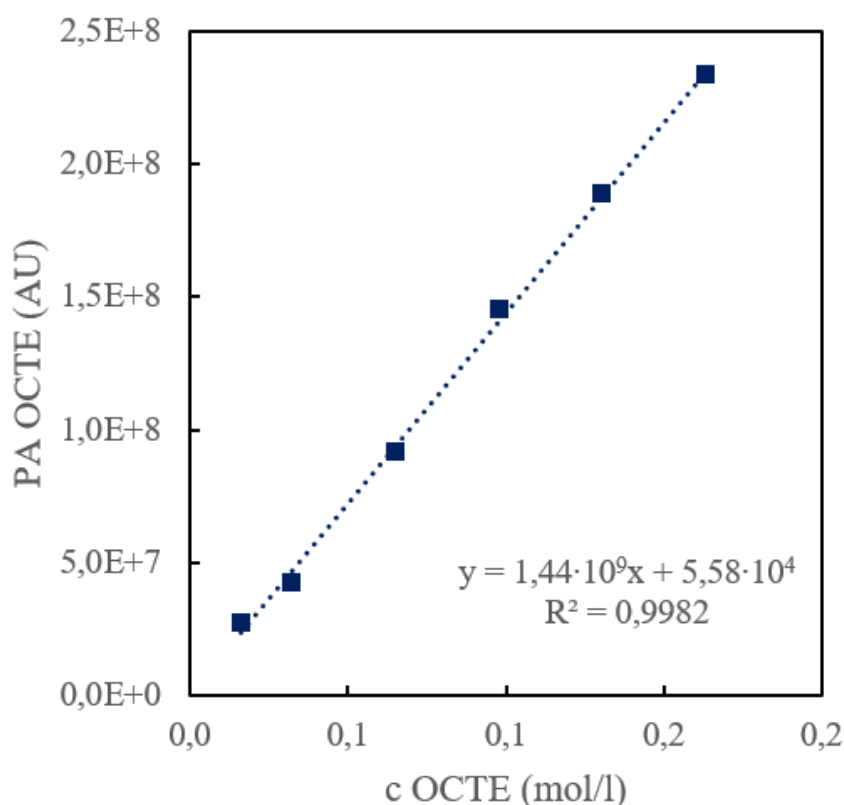


Obr. 5.13 Kalibrační křivka HEX, PA normalizovaná vydělením PA OCTE, naměřeno na GC-MS

5.2.2. 1-Okten-3-ol

Po stanovení vhodné koncentrace interního standardu byla připravena kalibrační řada pro 1-okten-3-ol s přidáním 1%v/v hexanolem. Pro tuto kalibraci bylo použito šest různých koncentrací OCTE (0,25 – 2,5 %v/v), připravených přesným odměřením příslušných objemů čistých látek a rozpouštědla.

GC-MS analýza těchto kalibračních standardů poskytla vysoce lineární závislost (Obr. 5.14) s koeficientem determinace $R^2 = 0,9982$ a rovnicí regresního modelu $y = 1,44 \cdot 10^9 x + 5,58 \cdot 10^4$, kde y reprezentuje plochu pík OCTE a x je molární koncentrace OCTE. Vysoká hodnota koeficientu determinace potvrzuje velmi dobrou linearitu metody v celém rozsahu studovaných koncentrací a zajišťuje spolehlivost kvantitativních analýz.



Obr. 5.14 Kalibrační křivka OCTE, naměřeno na GC-MS

Z kalibrační řady byl následně vypočítán faktor interního standardu podle rovnice

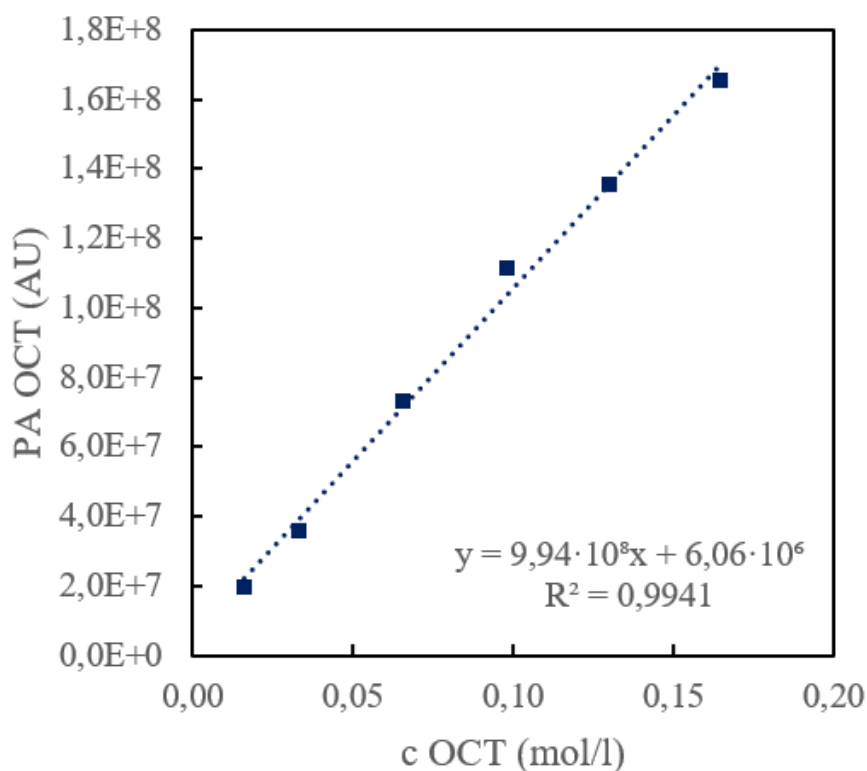
$$F = \frac{PA_a}{c_a} \cdot \frac{c_{IS}}{PA_{IS}}$$

kde PA_a označuje plochu píku analytu, c_a koncentraci analytu, PA_{IS} plochu píku interního standardu (zde HEX) a c_{IS} koncentraci interního standardu.

Pro tuto kalibrační řadu byl vypočítán průměrný faktor interního standardu $F = 1,60$.

Pro ověření přesnosti výsledků a eliminaci potenciálních chyb způsobených pipetováním byla kalibrační řada znovu připravena se stejným koncentračním rozsahem, kdy bylo místo pipetování využito analytických vah s přesností na 0,1 mg. Tímto postupem bylo dosaženo vyšší přesnosti při stanovení koncentrací jednotlivých kalibračních bodů.

GC-MS analýza těchto kalibračních standardů opět poskytla vysoce lineární závislost (Obr. 5.15) s koeficientem determinace $R^2 = 0,9941$ a rovnicí regresního modelu $y = 9,94 \cdot 10^8 x + 6,06 \cdot 10^6$. Pro tuto kalibrační řadu připravenou navázkou byl vypočítán průměrný faktor interního standardu $F = 1,53$.



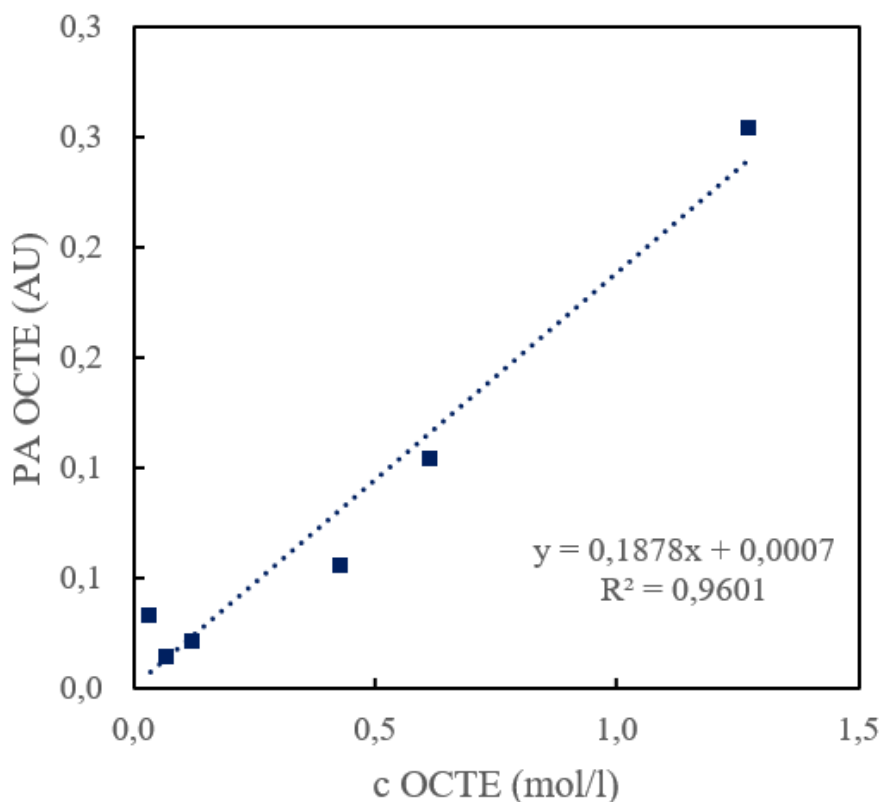
Obr. 5.15 Kalibrační křivka OCTE, naměřeno na GC-MS

Pro srovnání obou kalibračních postupů byly vyhodnoceny klíčové charakteristiky jednotlivých metod. Kalibrační řada připravená pipetováním vykazovala mírně vyšší linearitu ($R^2 = 0,9982$ oproti $R^2 = 0,9941$) a větší směrnici kalibrační přímky ($1,44 \cdot 10^9$ oproti $9,94 \cdot 10^8$). Naproti tomu kalibrační řada připravená navázkou poskytla nižší relativní směrodatnou odchylku faktoru interního standardu (2,22 % oproti 7,50 %), což indikuje vyšší přesnost a lepší reprodukovatelnost této metody.

Na základě těchto výsledků byly vzorky pro další kalibrační řady připravované s využitím navážky.

Následně byly pro kvantitativní analýzu 1-okten-3-olu byly vytvořeny kalibrační řady pro obě studované spektroskopické metody.

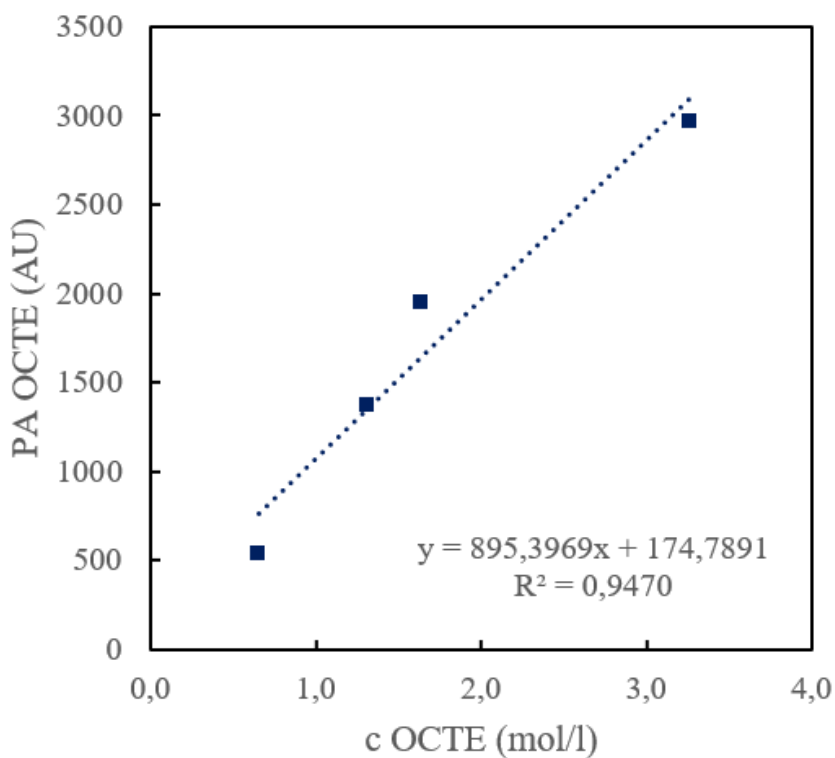
Pro FTIR-ATR měření s průtočnou celou byl vybrán charakteristický pík v oblasti $1006-975\text{ cm}^{-1}$. Kalibrace byla provedena v koncentračním rozsahu $0,035-1,275\text{ mol/l}$.



Obr. 5.16 Kalibrační křivka OCTE, naměřeno na FTIR Avatar System 360

Lineární regresní analýza zobrazena na Obr. 5.16 poskytla rovnici $y = 0,1878x + 0,0007$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,9601$. Na základě standardní chyby regrese (0,0203) byly vypočteny mez detekce $0,32\text{ mol/l}$ a mez stanovitelnosti $1,08\text{ mol/l}$.

Pro Ramanovu spektroskopii byl sledován charakteristický pík odpovídající valenční vibraci C=C vazby v oblasti $1659 - 1631\text{ cm}^{-1}$. Kalibrace byla provedena v koncentračním rozsahu $0,653 - 3,264\text{ mol/l}$.



Obr. 5.17 Kalibrační křivka OCTE, naměřeno na Raman iXR spektrometru

Získaná kalibrační závislost (Obr. 5.17) poskytla rovnici $y = 895,4x + 174,8$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,9470$. Z těchto dat byly stanoveny mez detekce 0,77 mol/l a mez stanovitelnosti 3,02 mol/l.

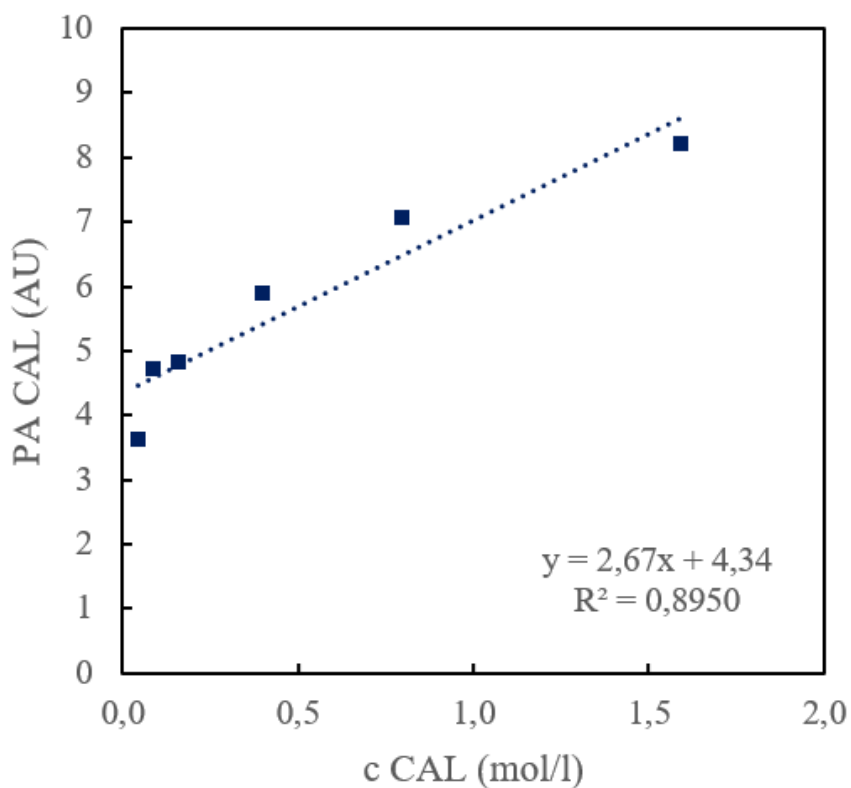
Porovnání obou metod ukazuje, že FTIR-ATR vykazuje v tomto případě lepší citlivost pro detekci 1-okten-3-olu než Ramanova spektroskopie, což je patrné z nižších hodnot *LOD* a *LOQ*. Nicméně obě metody poskytují dostatečnou linearitu ($R^2 > 0,94$) pro spolehlivou kvantifikaci v testovaném koncentračním rozsahu.

5.2.3. Cinnamaldehyd

Po charakterizaci modelového systému 1-okten-3-olu byla pozornost zaměřena na hlavní cílové analyty této práce – cinnamaldehyd a jeho hydrogenační produkty

Pro cinnamaldehyd (CAL) byla připravena kalibrační řada v koncentračním rozsahu 0,5–20 %v/v. Jednotlivé vzorky byly připraveny s využitím analytických vah, kdy byl analyt i rozpouštědlo přesně naváženy pro následný výpočet molárních koncentrací. Pro analýzu byl využit Avatar System 360 FTIR-ATR spektrometr, přičemž vzorky byly aplikovány přímo na ATR krystal pomocí pipety.

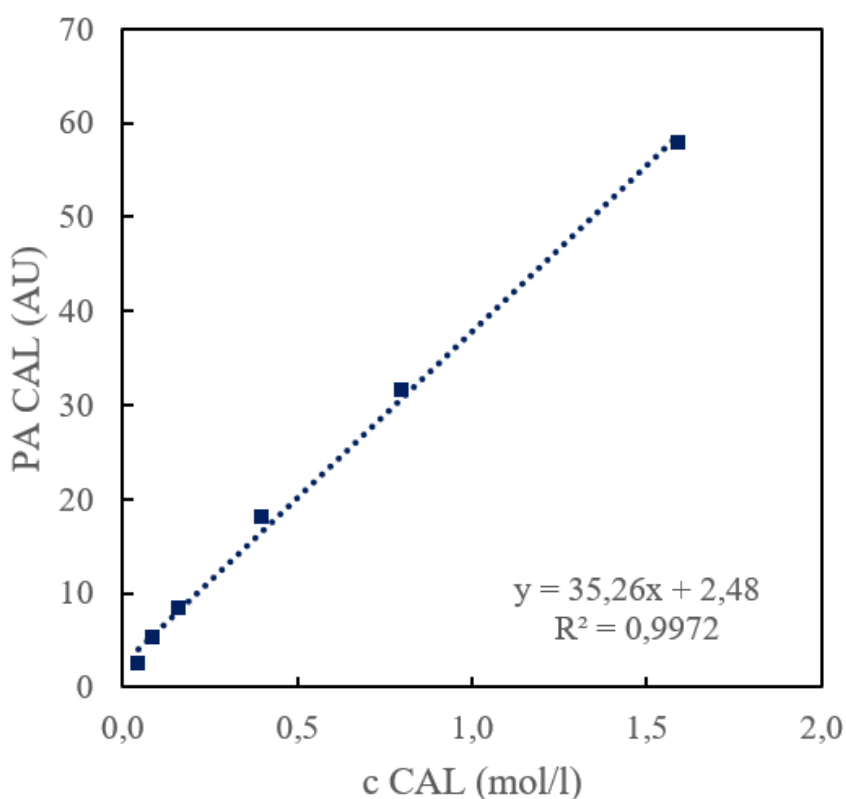
Pro kvantifikaci CAL byl vybrán výrazný pík v oblasti 1670 cm^{-1} , charakteristický pro valenční vibraci C=O vazby, který není přítomen ve spektru rozpouštědla, a tudíž nedochází k interferenci.



Obr. 5.18 Kalibrační křivka CAL, naměřeno na FTIR-ATR Avatar System 360

Výsledky této analýzy na Obr. 5.18 však vykazovaly nedostatečnou linearitu, zejména v oblasti nízkých koncentrací, kde byly hodnoty absorbance výrazně vyšší, než by odpovídalo lineárnímu modelu. Lineární regresní analýza poskytla koeficient determinace $R^2 = 0,8930$ s rovnicí kalibračního modelu $y = 2,79x + 3,32$, což naznačovalo systematickou chybu v měření. Pro ověření správnosti připravených koncentrací byly

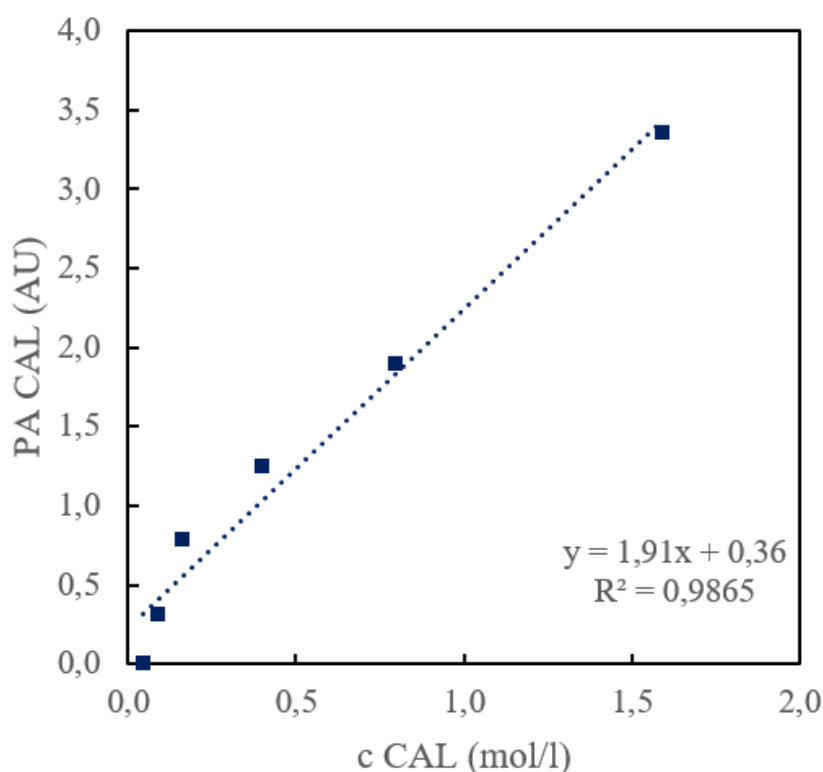
vzorky z kalibrační řady naředěny zásobním roztokem IPA s přidavkem interního standardu (hexanolu) a podrobeny validační analýze pomocí GC-MS.



Obr. 5.19 Kalibrační křivka CAL, naměřeno na GC-MS, PA normalizovaná vydělením PA HEX

Výsledky GC-MS analýzy, zobrazené na Obr. 5.19, potvrdily, že připravené vzorky obsahovaly očekávané koncentrace cinnamaldehydu a nelinearita pozorovaná v FTIR-ATR spektrech musela být způsobena jinými faktory. Pro identifikaci zdroje této nelinearity byly formulovány dvě hlavní hypotézy. První předpokládala vliv nestabilní základní linie, která se mezi jednotlivými vzorky lišila. Tato hypotéza byla vyvrácena, když matematická korekce základní linie poskytla téměř identické výsledky jako původní měření. Druhá hypotéza, která se ukázala jako pravděpodobná, připisovala pozorovanou nelinearitu odparu rozpouštědla během měření. Propan-2-ol má relativně nízkou viskozitu a nízké povrchové napětí, což vede k vysoké smáčivosti povrchu ATR krystalu a tvorbě tenkého filmu, který během měření rychle vysychá. Tento jev je zvláště výrazný u vzorků s nízkou koncentrací analytu, kde dochází k rychlejšímu odparu rozpouštědla a následnému koncentrování analytu na povrchu krystalu, což vede ke zvýšení hodnot absorbance.

Pro validaci této teorie byla provedena nová řada měření se stejnými vzorky, u kterých byl však použit teflonový nástavec pro zadržení kapalin a mikroskopické sklíčko pro snížení odparu rozpouštědla. Jak samotný nástavec, tak nástavec se sklíčkem byly změřeny v podmínkách nastavených pro vzorky, aby bylo zjištěno, zda nemají rušivý signál ve výsledném spektru. Jejich přítomnost neovlivňovala žádným způsobem měřená spektra. Experiment byl tedy v ostatních ohledech proveden za stejných podmínek jako původní měření.



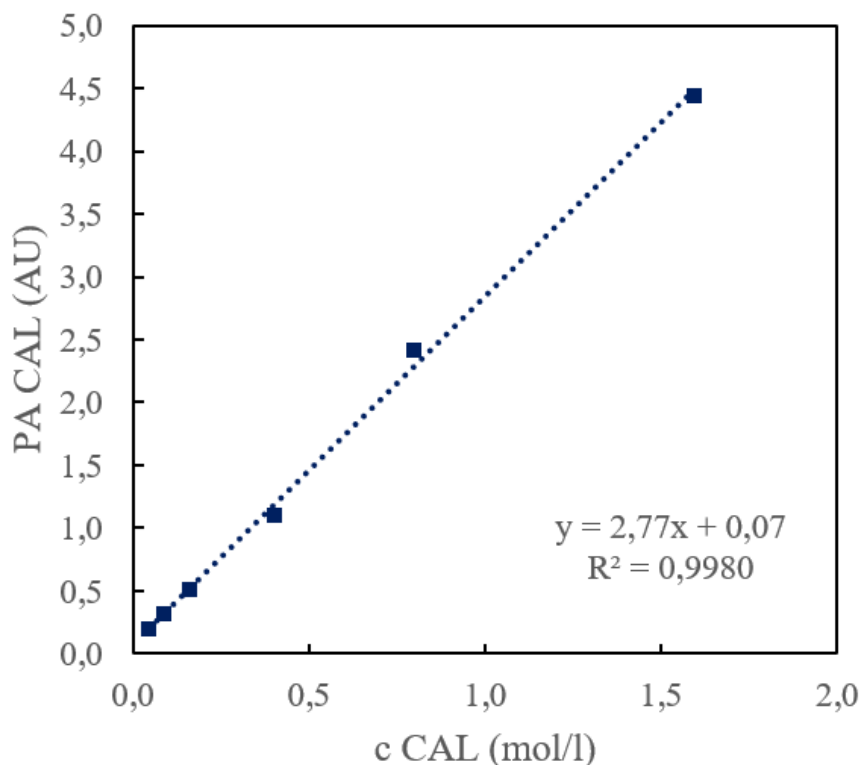
Obr. 5.20 Kalibrační křivka CAL, naměřeno na FTIR-ATR Avatar System 360 s použitím nástavce pro zadržení kapalin

V tomto optimalizovaném experimentu byla pozorována výrazně lepší linearita v celém koncentračním rozsahu, včetně oblasti nízkých koncentrací, kde hodnoty absorbance vykazovaly očekávanou závislost blížíci se nule pro nejnižší koncentrace. Nejnižší měřená koncentrace (0,046 mol/l) však nebyla ve spektru kvantifikovatelná. Lineární regresní analýza (Obr. 5.20) poskytla koeficient determinace $R^2 = 0,9865$ s rovnicí kalibračního modelu $y = 1,91x + 0,36$, což představuje významné zlepšení oproti původnímu experimentu.

Tyto výsledky potvrdily, že odpar rozpouštědla měl významný negativní vliv na přesnost měření, zejména u nižších koncentrací analytu. Toto zjištění podpořilo

rozhodnutí využívat pro následná kvantitativní měření průtočnou celu, kde je problém odparu rozpouštědla zcela eliminován díky uzavřenému systému.

Měření provedená na FTIR-ATR spektrometru Nicolet iS5 s průtočnou celou tyto závěry potvrdilo. Kalibrační řada získaná touto metodou (Obr. 5.21) vykazovala vynikající linearitu s koeficientem determinace $R^2 = 0,9981$ a rovnicí lineární regrese $y = 2,31x - 0,02$.



Obr. 5.21 Kalibrační křivka CAL, naměřeno na FTIR-ATR Nicolet iS5 s průtočnou celou

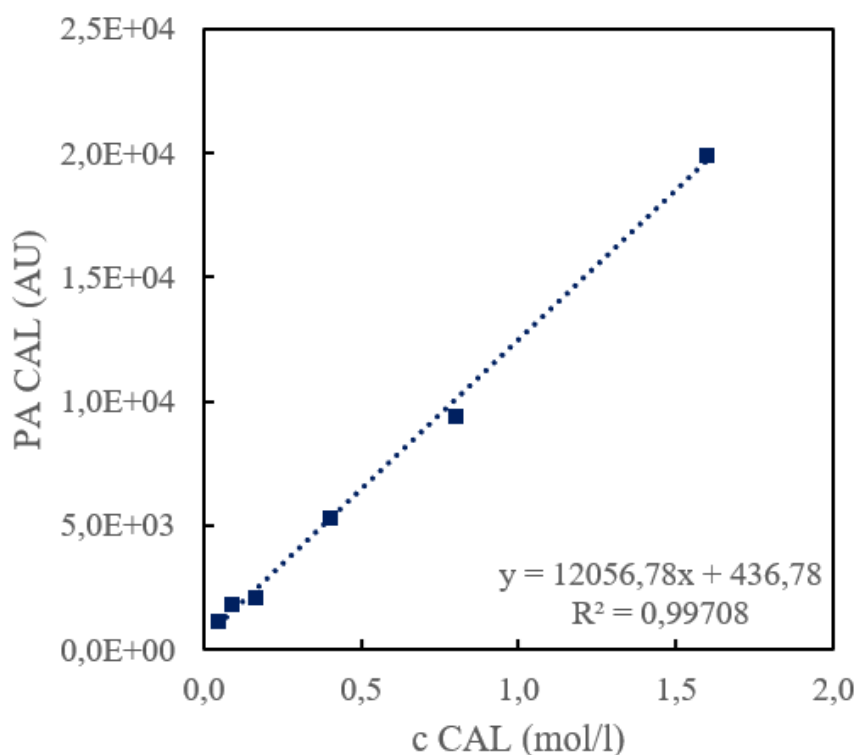
Díky vysoké kvalitě získaných dat bylo možné stanovit klíčové analytické parametry metody, konkrétně mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ) pro cinnamaldehyd. Pro výpočet byly použity následující vztahy.

$$LOD = \frac{3 \cdot SE - b}{a}$$
$$LOQ = \frac{10 \cdot SE - b}{a}$$

kde SE je standardní chyba, b je absolutní člen rovnice lineární regrese a a je lineární člen této rovnice. a základě těchto výpočtů byla stanovena mez detekce metody 0,09 mol/l

a mez stanovitelnosti 0,30 mol/l, což potvrzuje dostatečnou citlivost metody pro sledování koncentračních změn během hydrogenační reakce.

Pro Ramanovu spektroskopii byla měření realizována výhradně v konfiguraci s průtočnou celou, což umožnilo přímou analýzu bez nutnosti dodatečné optimalizace experimentálních podmínek. Pro kvantifikaci cinnamaldehydu byl vybrán charakteristický pík v oblasti 1630 cm^{-1} odpovídající valenční vibraci C=C vazby, který nevykazuje interferenci s píky rozpouštědla ani potenciálních hydrogenačních produktů.



Obr. 5.22 Kalibrační křivka CAL, naměřeno na Raman iX5 s průtočnou celou

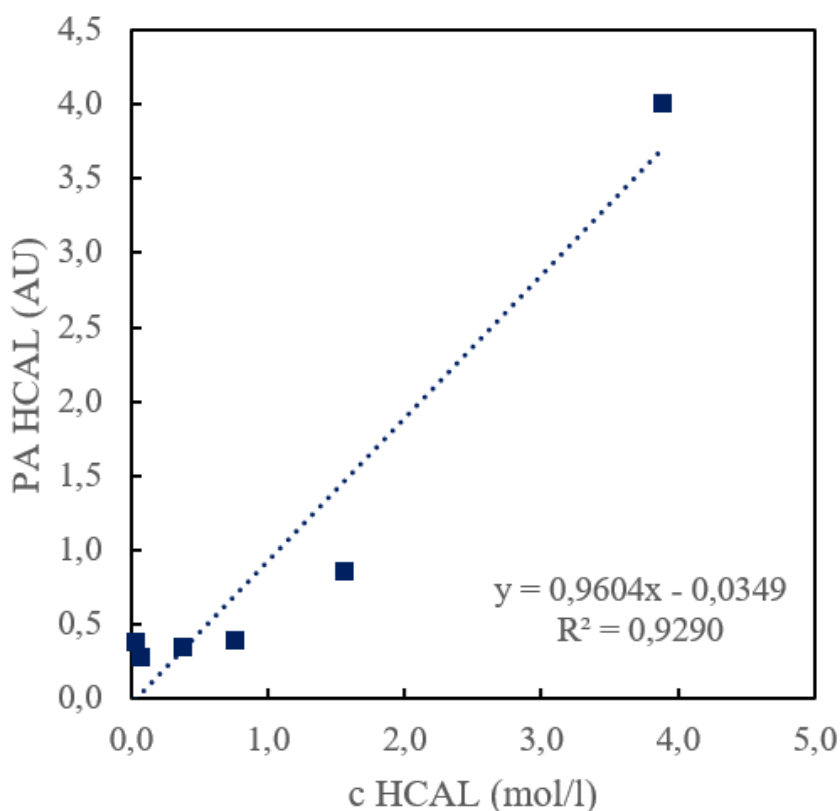
Kalibrační křivka získaná na Ramanově spektrometru (Obr. 5.22) poskytla rovnici lineární regrese $y = 12056,78x + 436,78$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,9971$, což potvrzuje vysokou linearitu metody v celém studovaném koncentračním rozsahu. Na základě těchto výsledků byla pro tuto metodu stanovena mez detekce *LOD*, 0,07 mol/l a mez kvantifikace *LOQ*, 0,32 mol/l. Ve srovnání s FTIR-ATR s průtočnou celou je mez detekce mírně nižší a mez kvantifikace mírně vyšší, ale meze jsou pro obě metody velmi podobné.

Optimalizovaný postup s využitím průtočné cely byl následně aplikován pro všechny další kalibrační řady i pro analýzu reálných vzorků z hydrogenačních reakcí.

5.2.4. Hydrocinnamaldehyd

Dále byly pro analýzu vzorků získaných z hydrogenačních reakcí vytvořeny kalibrační řady hydrogenačních produktů. Nejprve byla provedena kvantitativní analýza hydrocinnamaldehydu (HCAL), jednoho z hlavních produktů hydrogenace cinnamaldehydu. Pro tuto látku byla připravena kalibrační řada v koncentračním rozsahu 0,04-3,89 mol/l, která byla analyzována pomocí obou spektroskopických metod – FTIR-ATR s průtočnou celou a Ramanovy spektroskopie.

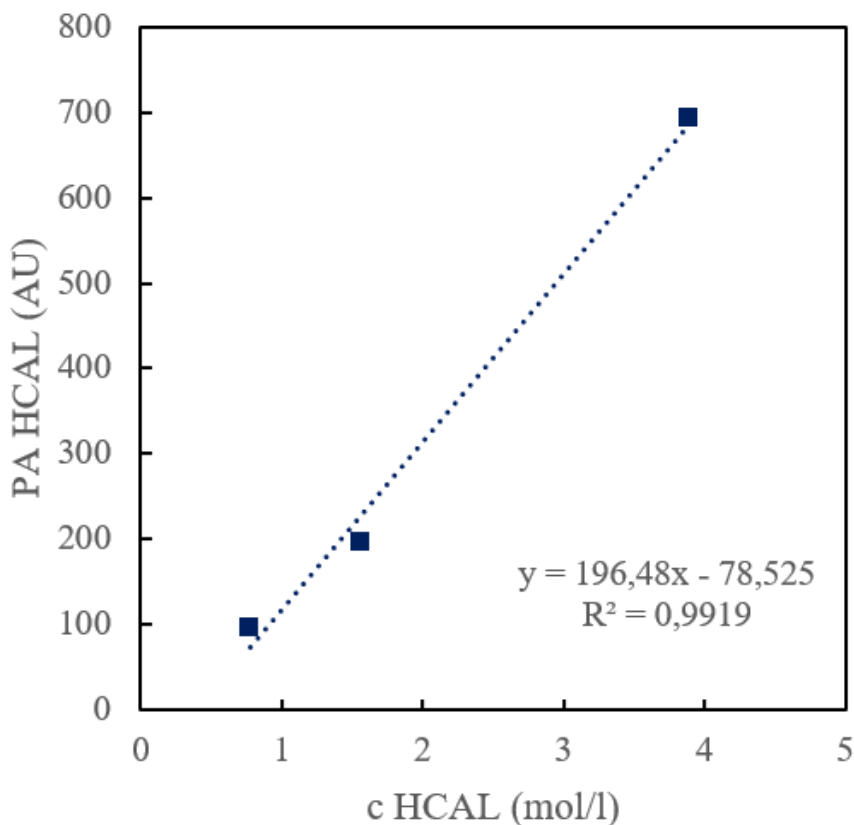
Pro kvantifikaci HCAL metodou FTIR-ATR byl vybrán charakteristický pík v oblasti 1720 cm^{-1} , odpovídající valenční vibraci C=O vazby. Tento pík byl zvolen proto, že nevykazuje interferenci s píky rozpouštědla ani s charakteristickými píky CAL (kde je valenční vazba C=O v oblasti 1667 cm^{-1}) a COL, takže umožňuje spolehlivou kvantifikaci HCAL. U nízkých koncentrací (0,037-0,772 mol/l) je však kvantifikace problematická, jelikož intenzita vybraného píku je slabá.



Obr. 5.23 Kalibrační křivka HCAL, naměřeno na FTIR-ATR Nicolet iS5 s průtočnou celou

Vzhledem k nízké linearitě výsledků v oblasti nižších koncentrací (viz. Obr. 5.23) byla pro analýzu dat zvolena oblast vyšších koncentrací (0,772-3,891 mol/l), která

poskytla rovnici $y = 1,2005x - 0,7421$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,9836$, což potvrzuje vyšší linearitu metody v tomto koncentračním rozsahu. Na základě těchto výsledků byly stanoveny také mez detekce (*LOD*) 0,29 mol/l a mez stanovitelnosti (*LOQ*) 2,80 mol/l.



Obr. 5.24 Kalibrační křivka HCAL, naměřeno na Raman iS5 spektrometru

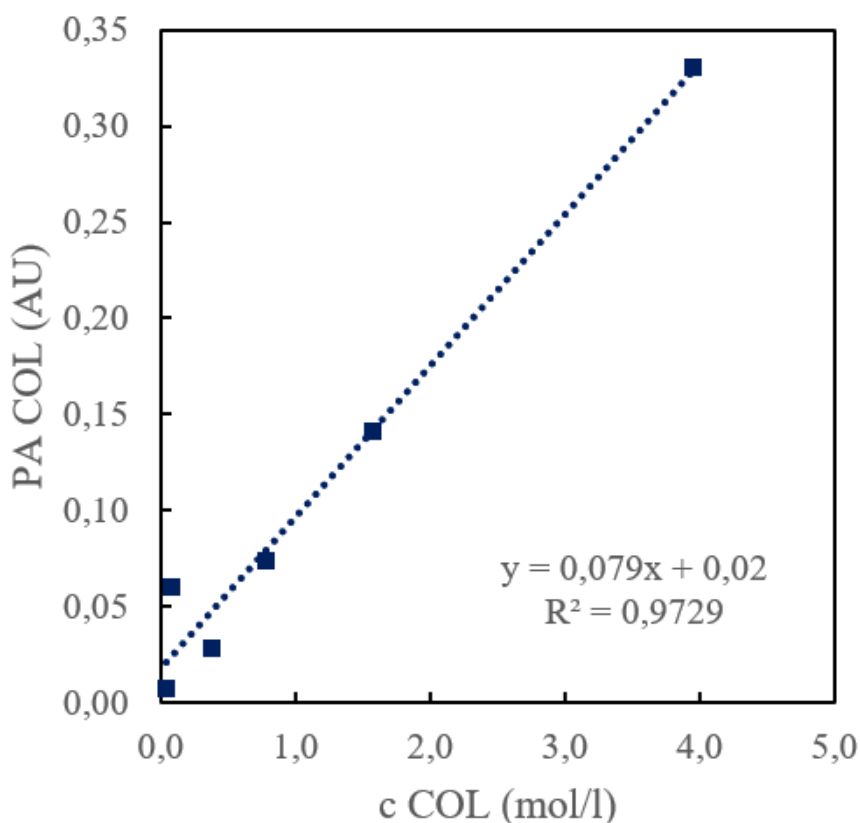
Pro Ramanovu spektroskopii byl pro kvantifikaci HCAL vybrán charakteristický pík v oblasti 1723 cm^{-1} , který odpovídá valenční vibraci C=O vazby. Tento pík byl vybrán na základě spektrální analýzy čistých látek, kde vykazoval minimální interferenci s ostatními složkami reakční směsi, jelikož u CAL je tato valenční vibrace v oblasti 1670 cm^{-1} . Tento pík má ve spektru velmi nízkou intenzitu, což komplikuje jeho kvantifikaci v nižších koncentracích, jak je zobrazeno na Obr. 5.24. Pro účely kvantitativní analýzy byla proto opět zvolena oblast vyšších koncentrací (0,772-3,891 mol/l). Kalibrační křivka získaná pro tuto oblast koncentrací poskytla rovnici lineární regrese $y = 196,48x - 78,525$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,9919$, což indikuje dobrou linearitu metody v tomto koncentračním rozsahu. Na základě těchto výsledků byly stanoveny mez detekce 0,60 mol/l a mez stanovitelnosti 2,24 mol/l, což odpovídá vizuální analýze spektra, kde u nižších koncentrací pík splývá se základní linií. Tyto hodnoty jsou mírně vyšší než u

metody FTIR-ATR, což naznačuje, že pro kvantifikaci HCAL v daném experimentálním uspořádání poskytuje FTIR-ATR lepší citlivost.

5.2.5. Cinnamylalkohol

Dalším produktem hydrogenační reakce cinnamaldehydu, který byl podroben kvantitativní analýze, je cinnamylalkohol (COL). Jedná se o žádaný produkt selektivní hydrogenace, kde dochází k redukci karbonylové skupiny při zachování dvojné vazby C=C. Pro stanovení COL byla připravena kalibrační řada v koncentračním rozsahu 0,04-3,95 mol/l, která byla analyzována pomocí obou spektroskopických metod.

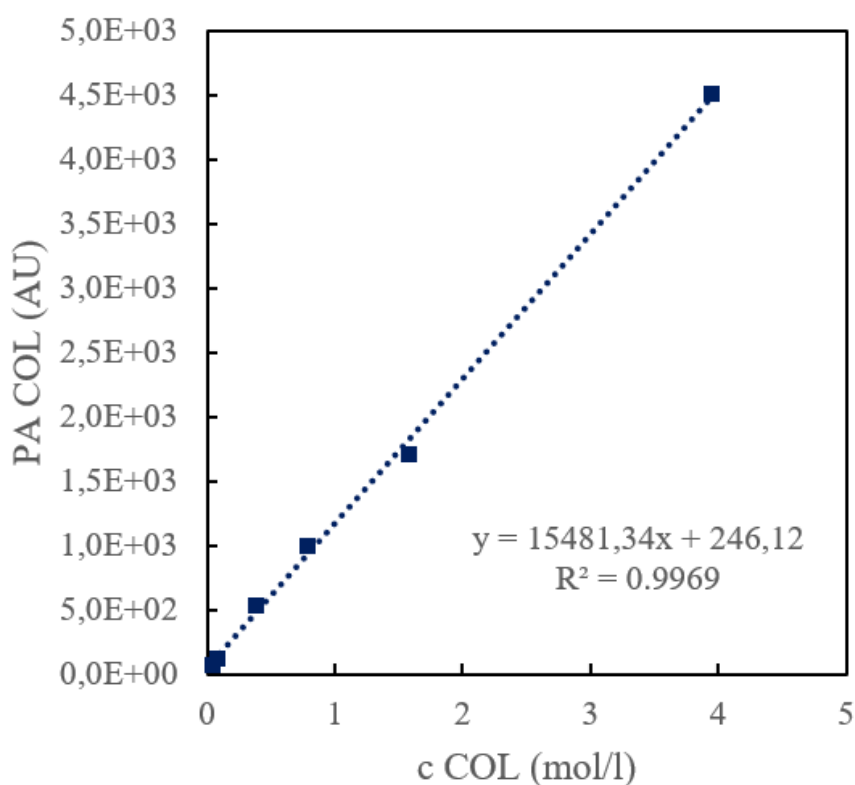
Pro kvantifikaci COL metodou FTIR-ATR byl vybrán charakteristický pík v oblasti 1069 cm^{-1} , který odpovídá kombinaci C-O valenční vibrace alkoholové skupiny a C-C valenčních vibrací aromatického jádra. Pro analýzu směsí obsahujících CAL je tento pík složité kvantifikovat, vzhledem k blízkosti intenzivního píku CAL ve vlnové délce 1071 cm^{-1} , byl však vybrán, protože se jedná o nejintenzivnější pík COL, kde nedochází k plnému překryvu s píky ostatních studovaných látek.



Obr. 5.25 Kalibrační křivka COL, naměřeno na FTIR-ATR Nicolet iS5 s průtočnou celou

U nižších koncentrací je opět pozorovaná jistá nelinearita, pro účely kvantitativní analýzy byla provedena však lineární regrese celého koncentračního rozsahu. Lineární regrese kalibrační křivky (Obr. 5.25) poskytla rovnici $y = 0,079x + 0,02$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,9729$. Následně byly na základě těchto dat vypočítány meze detekce ($LOD = 0,61 \text{ mol/l}$) a mez kvantifikace ($LOQ = 2,56 \text{ mol/l}$).

Pro Ramanovu spektroskopii byl pro kvantifikaci COL vybrán charakteristický pík v oblasti 328 cm^{-1} , který odpovídá skeletálním vibracím molekuly, konkrétně OH torzní vibraci. Přestože se jedná o pík s relativně nižší intenzitou v absolutních hodnotách, byl také vybrán z důvodu minimální interference s charakteristickými píky ostatních složek reakční směsi.



Obr. 5.26 Kalibrační křivka COL, naměřeno na Raman iXR s průtočnou celou

Tyto výsledky zobrazené na Obr. 5.26 vykazují výrazně lepší linearitu než v případě FTIR-ATR analýzy. Všechny body sledují očekávaný rostoucí trend s koncentrací, což je důležité zejména v oblasti nízkých koncentrací, kde metoda FTIR-ATR vykazovala větší variabilitu. Lineární regresní analýza poskytla rovnici $y = 15481,34x - 246,12$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,9969$, což představuje lepší linearitu v celém měřeném koncentračním rozsahu než FTIR-ATR metoda. Na základě těchto výsledků byly

stanoveny mez detekce 0,15 mol/l a mez stanovitelnosti 0,59 mol/l. Tyto hodnoty jsou výrazně lepší než u metody FTIR-ATR a ukazují na vynikající citlivost Ramanovy spektroskopie pro stanovení COL. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že pro kvantitativní stanovení COL v hydrogenačních reakčních směsích je Ramanova spektroskopie preferovanou metodou, poskytující vynikající linearitu i citlivost. FTIR-ATR však stále představuje použitelnou alternativu, zejména pro vyšší koncentrace analytu, kde dosahuje dostatečné přesnosti pro praktické aplikace. Vzhledem k blízkosti intenzivního píku cinnamaldehydu však může i u vyšších koncentrací být kvantifikace cinnamylalkoholu ve směsi komplikovaná.

Provedené kalibrační experimenty poskytují důležité poznatky pro optimalizaci monitorování hydrogenačních reakcí metodami Ramanovy a FTIR-ATR spektroskopie. Vytvořené kalibrační modely umožnily stanovení klíčových analytických parametrů pro sledované látky a identifikovat optimální podmínky pro jejich kvantifikaci. Tyto výsledky jsou důležité pro optimalizaci sledování selektivní hydrogenace cinnamaldehydu, kde jsou COL i HCAL významnými produkty.

Ramanova spektroskopie prokázala vynikající výsledky při stanovení cinnamylalkoholu s vysokou linearitou ($R^2 = 0,9969$) a citlivostí ($LOD = 0,15$ mol/l), což umožňuje sledování tvorby tohoto žádaného produktu selektivní hydrogenace již od počátečních fází reakce. Naproti tomu kvantifikace hydrocinnamaldehydu se ukázala být problematická zejména v oblasti nižších koncentrací, přičemž spolehlivé stanovení bylo možné pouze od koncentrací přibližně 0,8 mol/l u obou metod. Nejvyšší citlivost obou spektroskopických metod byla dosažena při stanovení cinnamaldehydu jako výchozí látky, s mezemi detekce 0,09 mol/l (FTIR-ATR) a 0,10 mol/l (Ramanova spektroskopie). Toto zjištění naznačuje, že sledování úbytku koncentrace cinnamaldehydu během reakce představuje spolehlivý přístup pro monitoring konverze. Nejvyšší citlivost obou spektroskopických metod byla dosažena při stanovení cinnamaldehydu jako výchozí látky, s mezemi detekce 0,09 mol/l (FTIR-ATR) a 0,10 mol/l (Ramanova spektroskopie). Toto zjištění naznačuje, že sledování úbytku koncentrace cinnamaldehydu během hydrogenační reakce představuje spolehlivý přístup pro monitoring konverze.

Z hlediska praktické využitelnosti je důležité zvážit i časovou náročnost jednotlivých analytických metod. Ramanova spektroskopie s průtočnou celou umožňuje analýzu jednoho vzorku během 45 vteřin, včetně proplachování systému vzduchem mezi vzorky pak 1-2 minut. FTIR-ATR spektroskopie s průtočnou celou vyžaduje 6 minut na jeden vzorek, s proplachem pak 7-8 minut, zatímco měření bez průtočné cely vyžaduje pečlivé

čištění krystalu mezi vzorky, což zvyšuje časovou náročnost metody na 10-13 minut. Naproti tomu GC-MS analýza jednoho vzorku trvá přibližně 25, k čemuž je nutné přičíst čas potřebný pro přípravu vzorků včetně ředění a přidavku interního standardu.

Pro online monitorování hydrogenačních reakcí jsou tedy spektroskopické metody výrazně výhodnější, umožňují častější odběr vzorků a poskytují téměř okamžitou informaci o průběhu reakce.

5.3. Hydrogenační reakce

Pro studium vhodnosti Ramanovy spektrometrie a FTIR-ATR s průtočnou celou jako analytických metod pro sledování hydrogenačních reakcí bylo provedeno několik experimentů s postupnou optimalizací reakčních podmínek. Jako modelová sloučenina byl nejprve zvolen 1-okten-3-ol, který umožnil ověření metodiky hydrogenace a následné analytické postupy. Tyto poznatky byly dále aplikovány na pro praxi významnější hydrogenaci cinnamaldehydu.

5.3.1. Hydrogenace 1-okten-3-olu

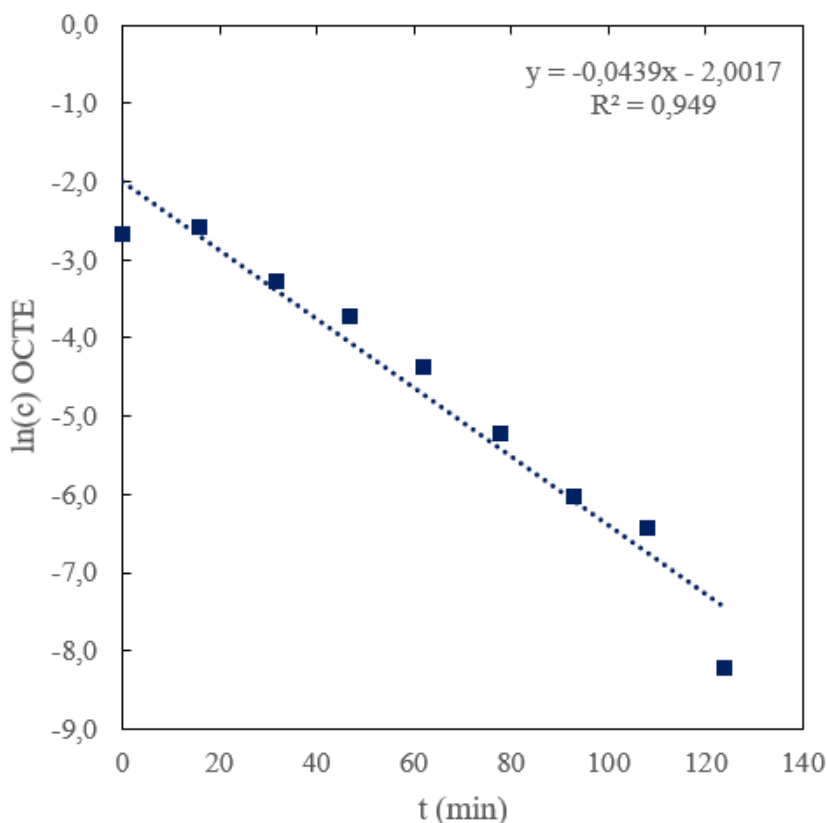
Optimalizace experimentálních podmínek probíhala v několika krocích. První hydrogenační experiment byl zaměřen na hydrogenaci 1-okten-3-olu v propan-2-olu za použití Pd/C jako katalyzátoru. Pro tuto reakci byla použita koncentrace Pd 1% z látkového množství analytu. Katalyzátor byl aktivován po dobu 85 minut při teplotě 40°C a tlaku 26-30 bar. Následná spektroskopická analýza odebíraných vzorků však ukázala, že hydrogenační reakce proběhla velmi rychle, již před odebráním prvního vzorku. Na spektrech vzorků nebyly pozorovány signály odpovídající dvojně vazbě, což indikovalo úplnou konverzi výchozí látky. Tento výsledek vedl k úpravě experimentálních podmínek, především ke snížení množství katalyzátoru v následujících experimentech. V dalším experimentu bylo množství katalyzátoru sníženo na 10% původní hodnoty a jako interní standard byl zvolen na základě předchozích experimentů hexanol, který vykazuje optimální chromatografické chování. Aktivace katalyzátoru probíhala po dobu jedné hodiny při 40°C a následně byla reakce sledována odběrem vzorků v pravidelných intervalech.

Získaná data z tohoto experimentu umožnila sledování kinetiky hydrogenační reakce pomocí GC-MS analýzy, kde byl jako interní standard využit hexanol s faktorem interního standardu $F = 1,53$ stanoveným z kalibrační řady.

Pro hydrogenační reakce byl faktor interního standardu vypočítaný na základě výsledků z kalibračních řad využit pro výpočet koncentrace analytu ve vzorcích pomocí následující rovnice

$$c_a = PA_a / (F \cdot (PA_{IS} / c_{IS}))$$

Průběh reakce ukazuje rychlý pokles koncentrace 1-okten-3-olu v prvních 30 minutách reakce, následovaný pomalejší konverzí zbývajících substrátu. Již po 16 minutách od začátku reakce byla pozorována významná redukce obsahu 1-okten-3-olu, kdy koncentrace klesla z počátečních 0,162 mol/l na 0,068 mol/l, což odpovídá konverzi přibližně 58%. Po 32 minutách konverze dosáhla 77%, po 62 minutách už 92% a po přibližně 124 minutách byla téměř úplná, dosahující 99,8%.

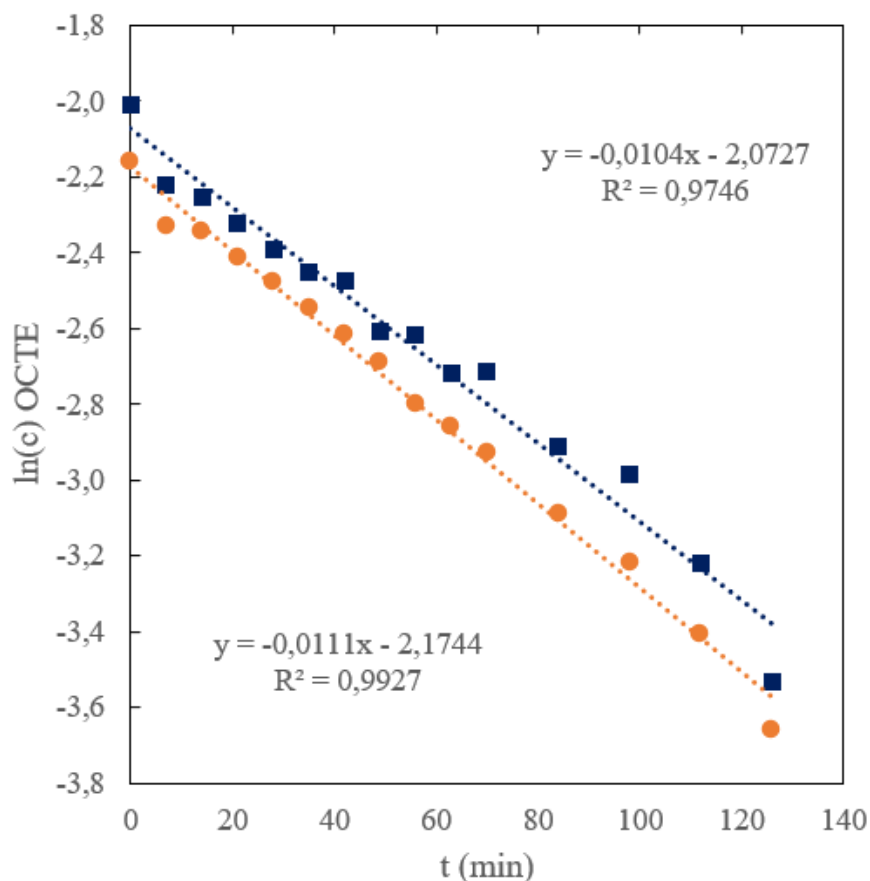


Obr. 5.27 Časová závislost koncentrace ($\ln(c)$) na čase (min) pro hydrogenační reakci OCTE, zpracované výsledky z GC-MS

Kinetická křivka na Obr. 5.27 vykazuje charakteristický exponenciální pokles, což potvrzuje i lineární závislost logaritmu koncentrace na čase s koeficientem determinace $R^2 = 0,949$ a rovnicí regrese $y = -0,0439x - 2,0017$, indikující kinetiku prvního řádu. První vzorek, který byl odebrán vykazuje větší odchylku od lineární regrese, což může být

způsobeno nerovnoměrným rozložením reakční směsi, jelikož byl odebrán ihned po sloučení obou částí reakční směsi, bez předchozího míchání obsahu reaktoru. Větší odchylka u posledního bodu měření, v čase 124 minut může být způsobena nízkou koncentrací sledovaného analytu v této fázi měření. Pro výpočet rychlostní konstanty a poločasu reakce byly tedy tyto hodnoty vyloučeny. Hodnota rychlostní konstanty ($k = 0,0431 \text{ min}^{-1}$) odpovídá poločasu reakce přibližně 16 minut, což potvrzuje pozorování rychlého průběhu hydrogenace v počáteční fázi reakce.

Pro detailnější pochopení kinetiky hydrogenace 1-okten-3-olu byl proveden další experiment s optimalizovanými podmínkami. Experiment byl proveden za obdobných reakčních podmínek jako předchozí reakce, s použitím Pd/C jako katalyzátoru, ale množství katalyzátoru bylo oproti předchozí reakci sníženo na polovinu (0,05% mol Pd vůči látkovému množství OCTE). Aktivace katalyzátoru i následná reakce probíhaly při teplotě 40°C a tlaku 25-28 bar. Vzorky byly odebírány v pravidelných intervalech a pro GC-MS analýzu byly připraveny dvěma metodami, pro srovnání výsledků. V první metodě byly vzorky nejprve naředěny a poté byl do každého vzorku přidán hexanol jako interní standard. V této metodě byla množství rozpouštědla i hexanolu zaznamenávána pomocí analytických vah. V druhé metodě byl pro snížení možnosti experimentálních chyb v rámci přípravy vzorků a pro zrychlení procesů připraven zásobní roztok propan-2-olu s hexanolem o známých množstvích, ze kterého byly následně odebírány konstantní množství do každého vzorku.



Obr. 5.28 Závislost koncentrace ($\ln(c)$) na čase (min) pro hydrogenační reakci OCTE, zpracované výsledky z GC-MS, modrá křivka odpovídá hodnotám metody zásobního roztoku pro přidavek IS, oranžová odpovídá hodnotám metody navážky IS přímo do ředěných vzorků

Kinetické křivky zpracované z výsledků GC-MS analýzy pro obě metody jsou znázorněny na Obr. 5.28. Metoda zásobního roztoku poskytla lineární regresní rovnici $y = -0,0104x - 2,0727$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,9746$, zatímco metoda přímé navážky vedla k rovnici $y = -0,0111x - 2,1744$ s mírně lepší korelací $R^2 = 0,9927$. Tyto výsledky potvrzují, že obě metody poskytují konzistentní data s vysokou korelací, přičemž metoda přímé navážky vykazuje nepatrně lepší linearitu. Z těchto dat byly vypočteny rychlostní konstanty pro obě metody ($k_1 = 0,0104 \text{ min}^{-1}$ a $k_2 = 0,0111 \text{ min}^{-1}$), které odpovídají poločasům reakce přibližně 67 a 62 minut. Ve srovnání s prvním experimentem hydrogenace 1-okten-3-olu ($k = 0,0431 \text{ min}^{-1}$, $t_{1/2} = 16 \text{ min}$) je patrný výrazný rozdíl v reakční rychlosti, kdy aktuální experiment vykazuje přibližně čtyřikrát pomalejší průběh. Tento významný rozdíl v reakční rychlosti může být vysvětlen hlavně snížením poměru množství katalyzátoru a analytu. Důležitým zjištěním je, že navzdory nižší reakční rychlosti druhý experiment stále vykazuje kinetiku prvního řádu, což potvrzuje předpokládaný mechanismus reakce. Nižší reakční rychlost v tomto případě

poskytuje výhodu v podobě možnosti detailnějšího sledování průběhu reakce a přesnějšího stanovení kinetických parametrů.

Paralelní analýza vzorků pomocí Ramanovy spektroskopie a FTIR-ATR s průtočnou celou neposkytla kvantifikovatelné výsledky. Koncentrace sledovaných látek ve vzorcích byly pod mezí detekce obou spektroskopických metod, což je v souladu s předchozím stanovením *LOD* a *LOQ* pro tyto analytické techniky. Tento výsledek potvrzuje limity spektroskopických metod pro sledování hydrogenačních reakcí při nízkých koncentracích analytů a zdůrazňuje potřebu optimalizace experimentálních podmínek (zejména koncentrace reaktantů) pro jejich úspěšné využití v online monitoringu.

5.3.2. Hydrogenace cinnamaldehydu

Po úspěšné optimalizaci podmínek hydrogenace 1-okten-3-olu byly získané poznatky využity pro hydrogenaci cinnamaldehydu. Stejně jako u 1-okten-3-olu byla provedena hydrogenace cinnamaldehydu v propan-2-olu za přítomnosti Pd/C jako katalyzátoru.

Koncentrace cinnamaldehydu byla pro první experiment stanovena na 0,163 mol/l a množství katalyzátoru bylo, stejně jako u optimalizované reakce OCTE, 0,05 % mol Pd vůči látkovému množství CAL. Hydrogenační reakce probíhala při teplotě 22°C (z důvodu poruchy topení reaktoru) a tlaku 30 bar.

Průběh reakce byl sledován odběrem vzorků v pravidelných intervalech po dobu 115 minut. Pro analytickou charakterizaci byly vzorky zředěny v poměru 100 µl analytu + 1 ml propan-2-olu a analyzovány pomocí GC/MS pro stanovení zastoupení jednotlivých sloučenin a pomocí FTIR-ATR pro monitorování charakteristických vibračních módů.

GC/MS analýza odhalila, že v reakční směsi docházelo k tvorbě dvou hlavních produktů – hydrocinnamaldehydu (HCAL) a hydrocinnamylalkoholu (HCOL). Výchozí látka cinnamaldehyd byla v chromatogramech zaznamenána ve dvou formách, jako majoritní E-izomer a minoritní Z-izomer. Na počátku reakce byla konverze trans cinnamaldehydu relativně rychlá, s nejvyšší pozorovanou rychlostí konverze 3,08 %/min v prvních 7 minutách reakce. Po této počáteční fázi však rychlost konverze značně kolísala, což je patrné z nekonzistentních hodnot ploch píků E-CAL v průběhu času. Průměrná konverze cinnamaldehydu dosáhla po 115 minutách pouze 13 % s vysokou směrodatnou odchylkou 8 %, což naznačuje významné výkyvy v naměřených hodnotách.

Selektivita reakce mírně favorizovala tvorbu HCAL (59 %) oproti hydrocinnamylalkoholu (40 %). Tato selektivita je významná z mechanistického hlediska, neboť ukazuje, že hydrogenace dvojných vazeb probíhá přednostně před redukcí

karbonylové skupiny, což je v souladu s očekávaným chováním palladiových katalyzátorů. Hydrocinnamylalkohol vzniká následnou hydrogenací hydrocinnamaldehydu, kdy po hydrogenaci dvojně vazby dochází i k redukcí karbonylové skupiny.

Celková hmotnostní bilance reakce získaná porovnáním součtů ploch píků všech zaznamenaných látek byla stanovena na 91 % (± 7 %), což potvrzuje vysokou spolehlivost analytických metod při sledování všech hlavních komponent reakční směsi a naznačuje, že reakce neprodukuje významné množství nedetekovaných vedlejších produktů.

Souběžně s GC/MS byla provedena analýza vzorků pomocí FTIR spektroskopie, kde byl sledován charakteristický pík v oblasti 1667 cm^{-1} odpovídající valenční vibraci C=O vazby cinnamaldehydu. Ve všech vzorcích byl tento pík přítomen, což potvrzuje přítomnost CAL, kvantitativní analýza však neposkytla směrodatné výsledky, což odpovídá očekáváním, protože studovaná koncentrace CAL je nad mezí detekce, ale pod mezí kvantifikace pro tuto metodu. Pro kvantitativní stanovení selektivity a konverze se tedy GC/MS jeví jako vhodnější metoda vzhledem k lepšímu rozlišení jednotlivých složek reakční směsi.

Významným zjištěním je praktická absence cinnamylalkoholu (COL) v reakční směsi, což ukazuje na silnou preferenci hydrogenace dvojně vazby před redukcí karbonylové skupiny na použitém Pd/C katalyzátoru. Toto pozorování je v souladu s termodynamickými předpoklady, kdy hydrogenace C=C vazby je energeticky výhodnější než hydrogenace C=O vazby. Za použitých mírných reakčních podmínek (22°C , 30 bar) tedy katalyzátor Pd/C vykazuje vysokou regioselektivitu pro redukcí olefinické části molekuly. Tvorba hydrocinnamylalkoholu jako druhého hlavního produktu pak představuje následnou hydrogenaci hydrocinnamaldehydu, kdy po nasycení dvojně vazby je karbonylová skupina přístupnější pro hydrogenaci. Poměr hydrocinnamaldehydu a hydrocinnamylalkoholu (přibližně 59:41) odráží relativní rychlosti těchto dvou po sobě jdoucích kroků v reakčním mechanismu.

Pro komplexnější pochopení kinetiky a mechanismu hydrogenace cinnamaldehydu byl proveden systematický experiment s optimalizovanými reakčními podmínkami. Hydrogenační reakce probíhala ve vsádkovém autoklávu s následujícími parametry: koncentrace CAL $0,815\text{ mol/l}$, množství katalyzátoru Pd/C $0,55\text{ g}$ (odpovídající $0,05\%$ molárního množství Pd vzhledem k látkovému množství CAL), celkový objem reakční směsi 250 ml , při teplotě 40°C a tlaku $21,5\text{ bar}$.

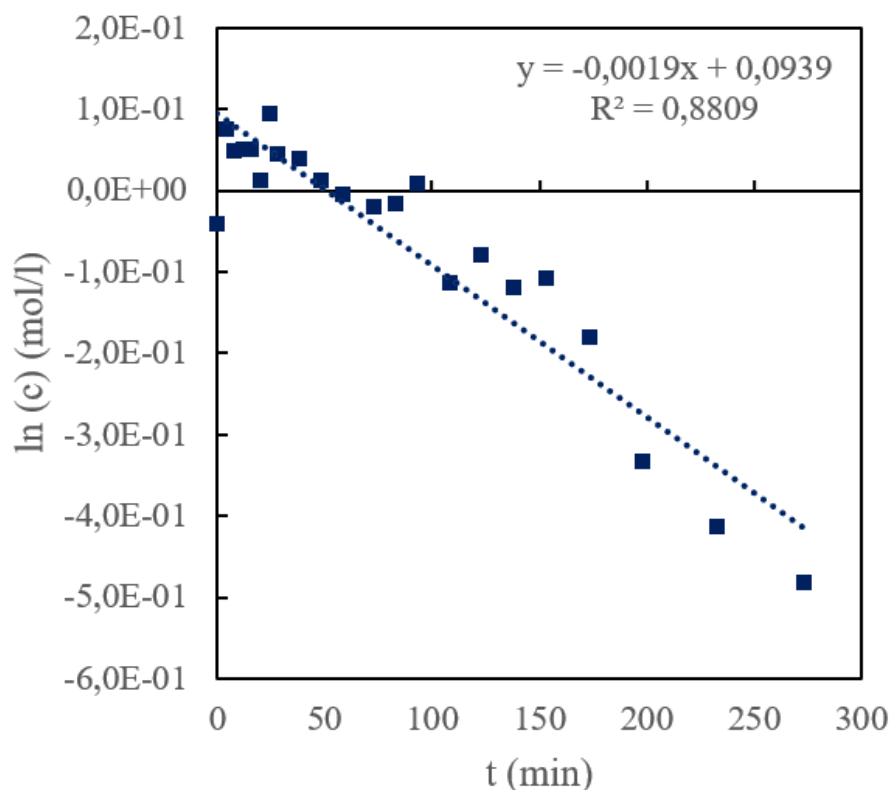
Po aktivaci katalyzátoru, která probíhala po dobu 65 minut, byla zahájena samotná hydrogenační reakce. Vzorky byly odebírány zpočátku v 4-minutových intervalech, které byly postupně prodlužovány. Vzorky byly po odběru měřeny na Ramanově spektrometru pro získání informací o složení reakční směsi v reálném čase. V průběhu prvních 83 minut reakce při 40°C nebyly pozorovány výrazné změny ve spektrálních charakteristikách vzorků, což naznačovalo velmi pomalý průběh hydrogenace. Proto byla teplota zvýšena na 60°C, což vedlo k významnému urychlení reakce. Celkem bylo během 4,5 hodin odebráno 22 vzorků.

Pro kvantitativní stanovení koncentrace cinnamaldehydu byl v Ramanově spektru sledován charakteristický pík v oblasti 1670 cm^{-1} , odpovídající C=O valenční vibraci. Plochy píků byly přepočteny na molární koncentrace pomocí kalibrační rovnice $y = 12056,78x + 436,78$, získané z předchozích kalibračních experimentů.

Již při vizuálním hodnocení spekter během reakce bylo patrné, že při počáteční teplotě 40°C nedochází k významným změnám intenzity sledovaného píku, což naznačovalo velmi pomalý průběh hydrogenace. Tento závěr byl potvrzen následnou kvantitativní analýzou, která ukázala pouze minimální pokles koncentrace cinnamaldehydu během prvních 73 minut reakce.

Pro kinetickou analýzu byla sledována závislost logaritmu relativní koncentrace ($\ln(c)$) na čase (Obr. 5.29).

Pro studium kinetiky hydrogenace CAL byly použity hodnoty koncentrací vypočítané pomocí kalibrační křivky, ačkoliv absolutní hodnoty těchto koncentrací neodpovídají realitě (vypočítaná koncentrace ve většině vzorků přesahuje reálnou koncentraci v původní reakční směsi). Jelikož kinetická analýza pracuje s relativními změnami koncentrace v čase, a ne s absolutními hodnotami, platnost kinetických parametrů jako rychlostní konstanta (k) a poločas reakce ($t_{1/2}$) není tímto posunem ovlivněna.



Obr. 5.29 Závislost koncentrace ($\ln(c)$) na čase (min) pro hydrogenační reakci CAL, zpracované z výsledků získaných na Ramanově iXR spektrometru

Následně byly pro detailnější analýzu průběhu hydrogenace, s ohledem na změnu reakční teploty v průběhu experimentu, kinetická analýza rozdělena na dvě fáze: první fáze při 40 °C (0–73 min) a druhá fáze při 60 °C (83–273 min). V prvním vzorku je koncentrace cinnamaldehydu zdánlivě nižší než v následujících vzorcích, což může být způsobeno nehomogenitou reakční směsi při odběru ihned po sloučení obou jejích částí.

V první fázi reakce, po odstranění prvního bodu při 40°C byla stanovena rychlostní konstanta $k_{40} = 0,0012 \text{ min}^{-1}$ ($R^2 = 0,5243$), což odpovídá poločasu reakce 579,9 minut, tedy přibližně 9,7 hodiny. Nízký koeficient determinace odráží značnou variabilitu dat v této fázi, která může být způsobena minimálními změnami koncentrace v této fázi, pod hranicí kvantifikaci této metody.

Po zvýšení teploty na 60°C (druhá fáze reakce) došlo k výraznému zrychlení reakčního procesu, což se projevilo více než dvojnásobným nárůstem rychlostní konstanty na $k_{60} = 0,0026 \text{ min}^{-1}$ ($R^2 = 0,9329$) a odpovídajícím poklesem poločasu reakce na 262,6 minut, tedy přibližně 4,4 hodiny. Výrazně vyšší koeficient determinace po zvýšení teploty a rychlosti reakce naznačuje, že se v druhé fázi koncentrace

cinnamaldehydu snižovala již v kvantifikovatelných mezích. Z těchto výsledků vychází, že se rychlost reakce po zvýšení teploty výrazně zvýšila, což odpovídá očekáváním.

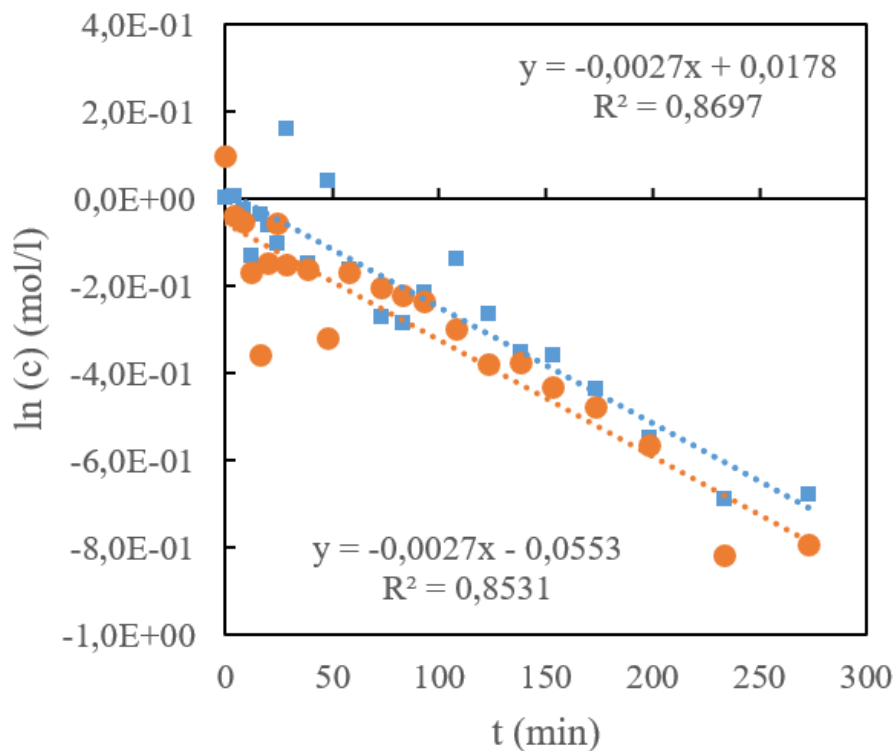
Za 273 minut reakce bylo dosaženo konverze přibližně 43 % výchozí látky, kde byla pro začáteční koncentraci po vyloučení odlehlých bodů, mezi které patří i první měření, zvolena koncentrace v druhém odebraném vzorku.

Z průběhu závislosti $\ln(c)$ na čase je patrné, že hydrogenace cinnamaldehydu na Pd/C katalyzátoru sleduje kinetiku prvního řádu, což je v souladu s teoretickými předpoklady pro katalytické hydrogenační reakce. Absence indukční periody na počátku reakce naznačuje, že aktivace katalyzátoru proběhla úspěšně během přípravné fáze experimentu.

Odebrané vzorky byly následně analyzovány pomocí FTIR-ATR spektrometrie s průtočnou celou, přičemž pro každý vzorek byla provedena dvě nezávislá měření pro zajištění reprodukovatelnosti výsledků. Ve spektrech byl sledován charakteristický pík v oblasti 1670 cm^{-1} , odpovídající také valenční vibraci C=O skupiny cinnamaldehydu.

Pro každý časový bod byly vypočítány koncentrace c_1 a c_2 odpovídající dvěma nezávislým měřením, a následně byla stanovena průměrná koncentrace c_{avg} . Pro kinetickou analýzu byly hodnoty koncentrací transformovány na přirozený logaritmus ($\ln(c_1)$ a $\ln(c_2)$), což umožnilo aplikaci modelu kinetiky prvního řádu (Obr. 5.30).

Podobně jako u Ramanovy spektrometrie, i v případě FTIR-ATR byly pozorovány systematicky vyšší hodnoty vypočítaných koncentrací ve srovnání s nominální počáteční koncentrací reakční směsi. Pro účely kinetické analýzy byly pro přepočet naměřených ploch píků na koncentraci využity parametry rovnice $y = 2,31x - 0,02$, získané z předchozích kalibračních experimentů, jelikož kinetické parametry (rychlostní konstanta, poločas reakce) nejsou ovlivněny systematickým posunem v absolutních hodnotách koncentrací.



Obr. 5.30 Závislost koncentrace ($\ln(c)$) na čase (min) pro hydrogenační reakci CAL, první měření je zobrazené modře, druhé oranžově, zpracované z výsledků získaných na FTIR-ATR Nicolet iS5

Přes relativně vysokou variabilitu dat ($R^2_1 = 0,8697$ a $R^2_2 = 0,8531$), zejména v první fázi reakce, byla získaná rychlostní konstanta u obou měření stejná ($k_1 = k_2 = 0,0027 \text{ min}^{-1}$). Z rychlostní konstanty byl stanoven poločas reakce $t_{1/2} = 260 \text{ min}$, tedy přibližně 4,3 hodiny.

Získaná data vykazovala značné výkyvy, proto byly pro zlepšení spolehlivosti kinetického modelu z analýzy vyloučeny odlehlé body, včetně prvního vzorku.

Stejně jako v případě analýzy Ramanových spekter byla kinetická data rozdělena na dvě fáze odpovídající různým teplotním režimům (40°C do 73 min, 60°C od 73 min).

Lineární regresní analýza závislosti $\ln(c_{avg})$ na čase pro první fázi reakce poskytla následující výsledky, rovnici regrese: $y = -0,0032x + 0,002$, rychlostní konstantu: $k_{40} = 0,0032 \text{ min}^{-1}$ a koeficient determinace: $R^2 = 0,8873$. Poločas reakce byl pro tuto fázi vypočten na 217 min, tedy přibližně 3,6 hodiny.

Pro druhou fázi reakce byla provedena stejná regresní analýza, ze které byly získány následující výsledky: rovnice regrese $y = -0,0027x + 0,0071$, rychlostní konstanta: $k_{60} = 0,0027 \text{ min}^{-1}$ a koeficient determinace: $R^2 = 0,987$. Poločas reakce v druhé fázi odpovídá

poločasu stanoveném pro celou reakci, tedy přibližně 4,3 hodiny. Vysoká hodnota koeficientu determinace značí, že v druhé fázi reakce vykazuje lepší korelaci s kinetikou prvního řádu než první fáze.

Z těchto výsledků vychází, že je rychlostní konstanta při 60 °C mírně nižší než při 40 °C, což je v rozporu s očekávaným trendem podle Arrheniovy rovnice. Tento jev může být způsoben několika faktory, například částečnou deaktivací katalyzátoru v průběhu první fáze reakce nebo sníženým množstvím cinnamaldehydu na začátku druhé fáze, vzhledem k hydrogenaci a snížení celkového množství reakční směsi odběrem vzorků.

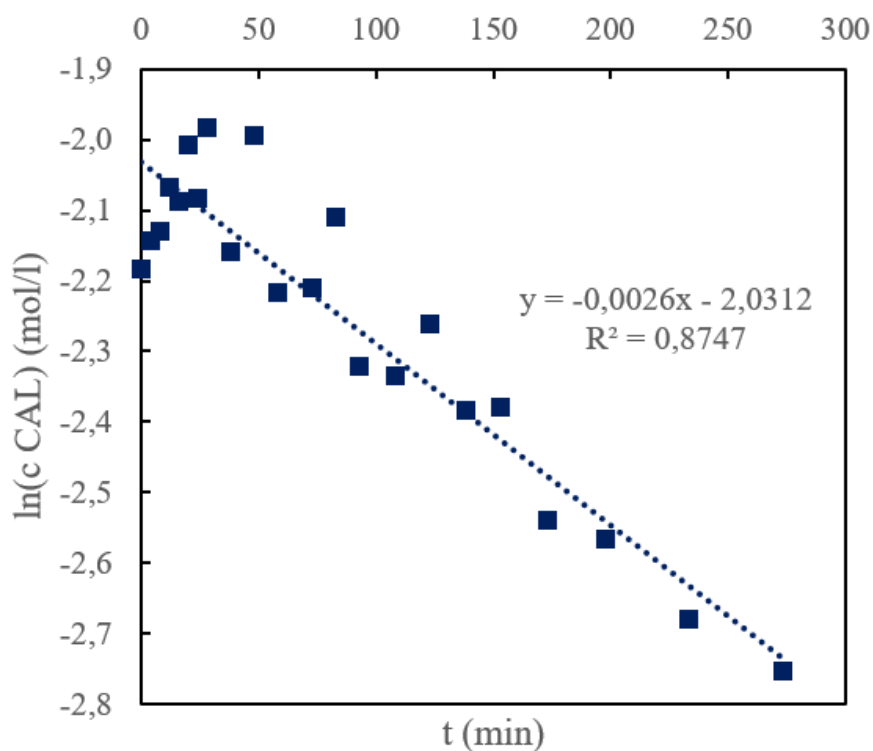
Na konci reakce bylo dosaženo průměrné konverze cinnamaldehydu 51 %, přičemž byla pro začáteční koncentraci použita i u tohoto výpočtu hodnota koncentrace z druhého vzorku. Dosažená konverze po více než 4,5 hodinách reakce naznačuje, že hydrogenace cinnamaldehydu na Pd/C katalyzátoru za daných podmínek probíhá relativně pomalu ve srovnání s hydrogenací 1-okten-3-olu, kde byla za podobných podmínek dosažena téměř úplná konverze již po 2 hodinách.

Zajímavým zjištěním je rozdíl v konverzi stanovené oběma metodami po 273 minutách reakce: 43 % podle Ramanovy spektrometrie oproti 51 % podle FTIR-ATR. Tento rozdíl může být způsoben několika faktory, jako například rozdílné citlivosti obou metod pro monitorování C=O valenční vibrace a rozdílů v kalibračních modelech, zejména v oblasti nižších koncentrací. Přestože obě metody potvrzují kinetiku prvního řádu a poskytují konzistentní hodnoty rychlostních konstant zejména ve druhé fázi reakce, tyto rozdíly zdůrazňují potřebu validace spektroskopických metod pomocí nezávislé analytické techniky.

Přestože obě spektroskopické metody – Ramanova spektroskopie i FTIR-ATR – prokázaly svou užitečnost při sledování úbytku cinnamaldehydu během hydrogenační reakce, významnou limitací těchto technik se ukázala být nedostatečná citlivost pro kvantifikaci vznikajících produktů. Během analýzy spekter v klíčových oblastech charakteristických pro hydrogenační produkty nebyly pozorovány kvantifikovatelné změny, které by jednoznačně poukázaly na jejich přítomnost nebo umožnily spolehlivý výpočet jejich koncentrací. U Ramanovy spektroskopie byl pro HCAL sledován charakteristický pík v oblasti 1723 cm^{-1} a pro COL pík v oblasti 328 cm^{-1} . U FTIR-ATR spektroskopie byly sledovány píky v oblasti 1720 cm^{-1} pro HCAL a 1069 cm^{-1} pro COL. Tento výsledek je v souladu s předchozím stanovením mezí detekce a kvantifikace pro tyto analyty, které jsou výrazně vyšší než předpokládané koncentrace produktů v reakční směsi.

Pro validaci výsledků získaných spektroskopickými metodami a pro více informací o složení reakční směsi se zaměřením na produkty byla tedy následně provedena analýza vzorků pomocí GC-MS. Vzorky byly analyzovány za stejných podmínek jako předchozí kalibrační vzorky, za použití hexanolu jako interního standardu. Pro analýzu byly vzorky ředěny v poměru 1:10 propan-2-olem s přidavkem interního standardu. Koncentrace byly vypočteny za pomoci metody faktoru interního standardu, stanoveného na základě vzorků se známými koncentracemi.

Počáteční analýza dat ukázala zajímavý jev v podobě fluktuace koncentrace cinnamaldehydu v prvních vzorcích, kde docházelo k mírnému nárůstu koncentrace namísto očekávaného poklesu (jak je vidět na Obr. 5.31, koncentrace zdánlivě stoupá do 48. minuty reakce).



Obr. 5.31 Závislost koncentrace ($\ln(c)$) na čase (min) pro hydrogenační reakci CAL, zpracované z výsledků získaných na GC-MS

Stejně jako u výsledků z Ramanovy a FTIR spektrometrie vypočítaná koncentrace v některých vzorcích překračovala teoretickou hodnotu počáteční koncentrace (0,0899 mol/l), takže byl pro charakterizaci reakce použit stejný postup jako u předchozích měření, tedy použití relativních hodnot pro výpočty kinetických parametrů.

Pro objektivní vyhodnocení těchto parametrů byla analýza dat rozdělena na dvě fáze: první fáze při teplotě 40°C (0-73 min) a druhá fáze při zvýšené teplotě 60°C (83-273 min).

V první fázi reakce při 40°C byla závislost logaritmu koncentrace na čase charakterizována regresní rovnicí $y = -0,0008x - 2,0843$ s koeficientem determinace $R^2 = 0,0474$. Nízká hodnota koeficientu determinace odráží značnou variabilitu dat v této fázi. Vypočtená rychlostní konstanta $k_{40} = 0,0008 \text{ min}^{-1}$ odpovídá poločasu reakce přibližně 883,8 minut (14,7 hodin), což naznačuje velmi pomalý průběh hydrogenace při této teplotě.

Po zvýšení teploty na 60°C došlo k výraznému zrychlení reakce, což se projevilo statisticky významnějším poklesem koncentrace cinnamaldehydu. Kinetická analýza druhé fáze poskytla regresní rovnicí $y = -0,003x - 1,9525$ s výrazně vyšším koeficientem determinace $R^2 = 0,9146$. Stanovená rychlostní konstanta $k_{60} = 0,0030 \text{ min}^{-1}$ odpovídá poločasu reakce 227,5 minut (3,8 hodiny), což představuje téměř čtyřnásobné zvýšení reakční rychlosti oproti nižší teplotě.

Celková konverze cinnamaldehydu po 273 minutách reakce byla stanovena na 46 % při výpočtu vztaženém k druhému vzorku (odebraném po 4 minutách). Tento výsledek je v dobré shodě s konverzí stanovenou pomocí FTIR-ATR spektroskopie (51 %) i Ramanovy spektroskopie (43 %).

Srovnání rychlostních konstant získaných jednotlivými analytickými metodami ukazuje, že hodnota stanovená pomocí GC-MS ($k_{60} = 0,0030 \text{ min}^{-1}$) je velmi blízká hodnotě získané FTIR-ATR ($k_{60} = 0,0027 \text{ min}^{-1}$) i Ramanovou spektroskopií ($k_{60} = 0,0026 \text{ min}^{-1}$). Tato shoda potvrzuje, že obě spektroskopické metody poskytují validní výsledky pro studium kinetiky hydrogenačních reakcí a jsou tedy vhodné pro online monitoring těchto procesů.

Výsledky GC-MS analýzy rovněž potvrzují kinetiku prvního řádu u hydrogenace cinnamaldehydu, což je v souladu s teoretickými předpoklady pro katalytické hydrogenace a s výsledky získanými spektroskopickými metodami. Mírné rozdíly v naměřených rychlostních konstantách lze přičíst odlišným analytickým principům jednotlivých metod a experimentálním faktorům, jako je odběr vzorků a jejich příprava pro analýzu.

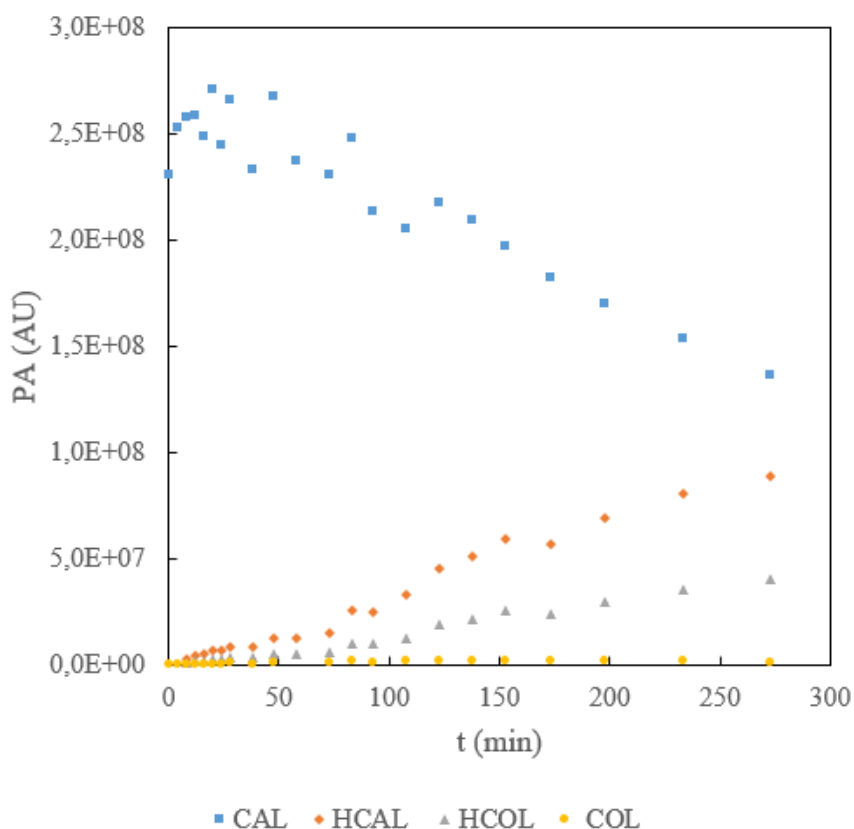
GC-MS analýza vzorků z hydrogenační reakce cinnamaldehydu odhalila přítomnost řady produktů, včetně primárních i vedlejších produktů a meziproductů. Identifikace těchto látek poskytuje důležité informace o mechanismu a selektivitě hydrogenační

reakce. V reakční směsi bylo detekováno celkem 8 sloučenin: trans-cinnamaldehyd (E-CAL) jako výchozí látka, cinnamylalkohol (COL), hydrocinnamaldehyd (HCAL), hydrocinnamylalkohol (HCOL), cis-cinnamaldehyd (Z-CAL), 3-propoxypropylbenzen, 3-propoxy-1-propenylbenzen a kyselina skořicová.

Zajímavým aspektem reakce byla přítomnost cis-cinnamaldehydu (Z-CAL), což naznačuje, že v reakčním systému docházelo k izomerizaci dvojně vazby. Tato izomerizace probíhá pravděpodobně podle mechanismu Horiuti-Polanyi, kdy po adsorpci C=C vazby na povrchu katalyzátoru a částečné hydrogenaci vzniká meziproduktem, který může při desorpci poskytnout buď původní E-izomer, nebo Z-izomer. Množství Z-CAL bylo výrazně nižší než E-CAL, což odpovídá nižší termodynamické stabilitě Z-izomeru.

Etherické deriváty, konkrétně 3-propoxypropylbenzen a 3-propoxy-1-propenylbenzen vznikají pravděpodobně reakcí intermediátů hydrogenace s IPA. Kyselina skořicová byla zaznamenána i u vzorku obsahujícího pouze CAL a IPA před hydrogenací, což naznačuje, že k její tvorbě může docházet během samotné analýzy GC-MS.

Primárními produkty byly podle očekávání HCAL vznikající hydrogenací C=C vazby (se selektivitou 62,3 % na konci reakce) a HCOL (selektivita 28,0 %) vznikající úplnou hydrogenací molekuly. Nízké množství cinnamylalkoholu v reakční směsi (selektivita na konci reakce dosáhla pouze 0,9 %) dále poukazuje na silnou preferenci hydrogenace dvojně vazby před redukcí karbonylové skupiny za použitých reakčních podmínek. Z hlediska výtěžků jednotlivých produktů dosáhl HCAL na konci reakce výtěžku 38,7 %, HCOL 17,4 %, a COL 0,5 %. Pro vizualizaci průběhu hydrogenační reakce byly plochy píků těchto produktů a výchozí látky zobrazeny na Obr. 5.32. Hodnoty selektivity a výtěžku korelují se stanovenými selektivitami a potvrzují distribuci produktů hydrogenace.



Obr. 5.32 Vizualizace průběhu hydrogenační reakce CAL v závislosti na čase, zobrazená plochami píků hlavních analytů (CAL – modře, HCOL – oranžově, HCOL – šedě a COL – žlutě) z GC-MS

Celková hmotnostní bilance reakce činila 91 % (± 7 %), což potvrzuje spolehlivost analytických metod při sledování všech hlavních komponent reakční směsi.

Na základě provedených experimentů lze konstatovat, že obě studované spektroskopické metody – Ramanova spektrometrie a FTIR-ATR s průtočnou celou – představují vhodné nástroje pro online monitoring hydrogenačních reakcí, avšak s určitými limitacemi.

Ramanova spektroskopie prokázala vynikající přesnost a rychlost při sledování úbytku výchozích látek, zejména cinnamaldehydu, s dobrou linearitou kalibrační křivky ($R^2 = 0,9971$) a přijatelnou citlivostí ($LOD = 0,07$ mol/l). Z kinetických studií vyplývá, že rychlostní konstanty stanovené pomocí Ramanovy spektroskopie ($k_{60} = 0,0026$ min⁻¹) velmi dobře korelovaly s hodnotami získanými referenční metodou GC-MS ($k_{60} = 0,0030$ min⁻¹). Výhodou této metody byla především krátká doba analýzy (cca 2 minuty včetně proplachu) a minimální interference vody, což umožňuje její využití i v systémech s vodnou fází.

FTIR-ATR s průtočnou celou taktéž poskytla spolehlivé výsledky s vynikající linearitou kalibrace ($R^2 = 0,9981$) a srovnatelnou citlivostí ($LOD = 0,09$ mol/l). Rychlostní konstanty získané touto metodou ($k_{60} = 0,0027$ min⁻¹) vykazovaly výbornou shodu s výsledky GC-MS.

Časová náročnost analýzy (7-8 minut včetně proplachu) byla vyšší než u Ramanovy spektroskopie, ale stále výrazně nižší než u GC-MS (cca 25 minut).

Hlavní limitací obou spektroskopických metod byla nedostatečná citlivost pro kvantifikaci produktů hydrogenace, zejména při nízkých konverzích. Z tohoto důvodu tyto metody neposkytovaly úplnou informaci o selektivitě reakce, pro jejíž stanovení bylo nutné využít GC-MS.

Z praktického hlediska se Ramanova spektroskopie jeví jako vhodnější pro rychlé online monitorování hydrogenačních reakcí díky kratší době analýzy a lepší citlivosti pro detekci dvojných vazeb. FTIR-ATR naproti tomu poskytuje komplexnější spektrální informace o přítomných funkčních skupinách a je výhodnější pro sledování karbonylových skupin.

Pro komplexní charakterizaci hydrogenačních reakcí je optimální kombinace spektroskopických metod pro online monitoring průběhu reakce s periodickou validací pomocí GC-MS pro přesnou kvantifikaci produktů a stanovení selektivit.

6. Závěr

V rámci této diplomové práce byla systematicky posouzena vhodnost Ramanovy spektrometrie a FTIR-ATR s průtočnou celou jako analytických metod pro online sledování hydrogenačních reakcí. Obě metody byly nejprve charakterizovány pomocí detailní spektrální analýzy výchozích látek a hydrogenačních produktů, následně kalibrovány a aplikovány na reálné hydrogenační reakce.

Spektrální analýza čistých látek, především 1-okten-3-olu, cinnamaldehydu a jejich hydrogenačních produktů prokázala, že obě metody poskytují komplementární informace o molekulární struktuře. V souladu s teoretickými poznatky Ramanova spektroskopie vykazovala vyšší citlivost pro detekci dvojných vazeb, zatímco FTIR-ATR poskytovala lepší výsledky pro analýzu karbonylových skupin a hydroxylových skupin. Validace spektrálních dat srovnáním s literárními hodnotami prokázala vysokou spolehlivost obou metod.

Kalibrační experimenty dále potvrdily vysokou linearitu obou metod při kvantifikaci sledovaných analytů známých koncentrací. Citlivost metod byla pro většinu analytů srovnatelná, avšak v případě cinnamylalkoholu Ramanova spektroskopie poskytovala výrazně lepší meze detekce a kvantifikace, což potvrzuje její výhodu při selektivní analýze této sloučeniny v reakčních směsích.

Praktická aplikace těchto metod na hydrogenační reakce potvrdila jejich potenciál pro online monitoring, ale také odhalila několik limitací. Hlavní výzvou bylo sledování produktů v reakčních směsích, zejména při nízkých koncentracích. Strukturní podobnost reaktantů a produktů hydrogenace vedla k překryvům spektrálních píků, což komplikovalo kvantifikaci jednotlivých složek, obzvláště u nízkých konverzí. Toto je v souladu s teoretickými poznatky, které předpokládají obtížnější detekci minimálních strukturních změn způsobených hydrogenací, zejména v komplexních směsích. Přestože spektroskopické metody nebyly schopny přesně kvantifikovat produkty při nízkých koncentracích, poskytly cenné informace o kinetice reakcí.

Kinetické studie hydrogenace cinnamaldehydu odhalily, že rychlostní konstanty stanovené pomocí obou spektroskopických metod vykazují velmi dobrou shodu s hodnotami získanými referenční metodou GC-MS, což potvrzuje spolehlivost těchto metod pro sledování kinetiky hydrogenačních reakcí. Ačkoliv variabilita absolutních hodnot koncentrací mezi jednotlivými měřeními stejných vzorků limitovala možnosti

stanovení přesného složení reakčních směsí, neměla vliv na kinetické parametry, které vycházejí z relativních změn koncentrace.

Z praktického hlediska se Ramanova spektroskopie jeví jako vhodnější pro rychlé online monitorování hydrogenačních reakcí díky kratší době analýzy a lepší citlivosti pro detekci dvojných vazeb. FTIR-ATR naproti tomu poskytuje komplexnější spektrální informace o přítomných funkčních skupinách a je vhodnější pro sledování karbonylových a hydroxylových skupin. Pro komplexní charakterizaci hydrogenačních reakcí, zejména s ohledem na selektivitu, je však optimální kombinace spektroskopických metod pro online monitoring s periodickou validací pomocí GC-MS.

7. Seznam použité literatury

- (1) Anekwe, I. M. S.; Akpasi, S. O.; Enemu, E. M.; Ashiegbu, D.; Mustapha, S. I.; Isa, Y. M. Innovations in Catalytic Understanding: A Journey through Advanced Characterization. *Materials Today Catalysis* **2024**, *7*, 100061. <https://doi.org/10.1016/j.mtcata.2024.100061>.
- (2) Philippaerts, A.; Jacobs, P. A.; Sels, B. F. Is There Still a Future for Hydrogenated Vegetable Oils? *Angew Chem Int Ed* **2013**, *52* (20), 5220–5226. <https://doi.org/10.1002/anie.201209731>.
- (3) Molinet-Chinaglia, C.; Shafiq, S.; Serp, P. Low Temperature Sabatier CO₂ Methanation. *ChemCatChem* **2024**, *16* (24), e202401213. <https://doi.org/10.1002/cctc.202401213>.
- (4) Normann, W. Process for Converting Unsaturated Fatty Acids or their Glycerides into Saturated Compounds. 141029, May 4, 1903.
- (5) Morton, R. A. Thomas Percy Hilditch, 1886-1965. *Biogr. Mem. Fell. R. Soc.* **1966**, *12*, 259–289. <https://doi.org/10.1098/rsbm.1966.0012>.
- (6) Shurtleff, W.; Aoyagi, A. *History of Hydrogenation, Shortening and Margarine (1860-2020)*; Soyinfo Center, 2020.
- (7) Smith, C. *Journal Of The Chemical Society (1923) Vol.124, Pt.1, 2*; 1923.
- (8) Bukhtiyarova, M. V.; Nuzhdin, A. L.; Bukhtiyarova, G. A. Comparative Study of Batch and Continuous Flow Reactors in Selective Hydrogenation of Functional Groups in Organic Compounds: What Is More Effective? *IJMS* **2023**, *24* (18), 14136. <https://doi.org/10.3390/ijms241814136>.
- (9) Patil, K. N.; Manikanta, P.; Srinivasappa, P. M.; Jadhav, A. H.; Nagaraja, B. M. State-of-the-Art and Perspectives in Transition Metal-Based Heterogeneous Catalysis for Selective Hydrogenation of Cinnamaldehyde. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **2023**, *11* (1), 109168. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.109168>.
- (10) Sun, Z.; Wang, S.; Chen, W. Metal Single-Atom Catalysts for Selective Hydrogenation of Unsaturated Bonds. *J. Mater. Chem. A* **2021**, *9* (9), 5296–5319. <https://doi.org/10.1039/D1TA00022E>.
- (11) Zhang, L.; Zhou, M.; Wang, A.; Zhang, T. Selective Hydrogenation over Supported Metal Catalysts: From Nanoparticles to Single Atoms. *Chem. Rev.* **2020**, *120* (2), 683–733. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00230>.
- (12) Augustine, R. L. Whither Goest Thou, Catalysis. *Catal Lett* **2016**, *146* (12), 2393–2416. <https://doi.org/10.1007/s10562-016-1865-8>.
- (13) Gong, W.; Ma, J.; Chen, G.; Dai, Y.; Long, R.; Zhao, H.; Xiong, Y. Unlocking the Catalytic Potential of Heterogeneous Nonprecious Metals for Selective Hydrogenation Reactions. *Chem. Soc. Rev.* **2024**, 10.1039/D4CS01005A. <https://doi.org/10.1039/D4CS01005A>.
- (14) *One Hundred Years at the Intersection of Chemistry and Physics: The Fritz Haber Institute of the Max Planck Society, 1911-2011*; James, J., Ed.; De Gruyter: Berlin; Boston, 2011.
- (15) Prins, R. Eley–Rideal, the Other Mechanism. *Top Catal* **2018**, *61* (9–11), 714–721. <https://doi.org/10.1007/s11244-018-0948-8>.
- (16) *1-Octen-3-ol, 98%*, Thermo Scientific Chemicals | Fisher Scientific. <https://www.fishersci.be/shop/products/1-octen-3-ol-98-thermo-scientific-1/11489982> (accessed 2025-02-01).

- (17) Chiron, N.; Michelot, D. Odeurs Des Champignons : Chimie et Rôle Dans Les Interactions Biotiques - Une Revue. *Cryptogamie, Mycologie* **2005**, *26*, 299–364.
- (18) Pennerman, K. K.; Yin, G.; Bennett, J. W. Eight-Carbon Volatiles: Prominent Fungal and Plant Interaction Compounds. *Journal of Experimental Botany* **2022**, *73* (2), 487–497. <https://doi.org/10.1093/jxb/erab438>.
- (19) 1-Octen-3-ol = 98, FCC, FG 3391-86-4. <https://www.sigmaaldrich.com/CZ/en/product/aldrich/w280518> (accessed 2025-02-01).
- (20) Matsui, K.; Sasahara, S.; Akakabe, Y.; Kajiwara, T. Linoleic Acid 10-Hydroperoxide as an Intermediate during Formation of 1-Octen-3-Ol from Linoleic Acid in *Lentinus Decadetes*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **2003**, *67* (10), 2280–2282. <https://doi.org/10.1271/bbb.67.2280>.
- (21) Tonks, A. J.; Roberts, J. M.; Midthassel, A.; Pope, T. Exploiting Volatile Organic Compounds in Crop Protection: A Systematic Review of 1-octen-3-ol and 3-octanone. *Annals of Applied Biology* **2023**, *183* (2), 121–134. <https://doi.org/10.1111/aab.12846>.
- (22) Xu, P.; Zhu, F.; Buss, G. K.; Leal, W. S. 1-Octen-3-Ol – the Attractant That Repels. *F1000Res* **2015**, *4*, 156. <https://doi.org/10.12688/f1000research.6646.1>.
- (23) Herrera, J. M.; Gañán, N. A.; Goñi, M. L.; Zygadlo, J. A.; Martini, R. E. Active LDPE Films Loaded with Biopesticides by Supercritical CO₂-Assisted Impregnation for Stored Grain Protection. *Food Packaging and Shelf Life* **2018**, *18*, 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.03.001>.
- (24) Wnuk, S.; Kinastowski, S.; Kaminski, E. Synthesis and Analysis of L-octen-3-ol, the Main Flavour Component of Mushrooms. *Nahrung* **1983**, *27* (5), 479–486. <https://doi.org/10.1002/food.19830270523>.
- (25) Tsuji, J.; Tsuruoka, K.; Yamamoto, K. Preparation of Matsutake Alcohol (1-Octen-3-Ol) from a Butadiene Telomer. *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1976**, *49* (6), 1701–1702. <https://doi.org/10.1246/bcsj.49.1701>.
- (26) Kim, J. W.; Koike, T.; Kotani, M.; Yamaguchi, K.; Mizuno, N. Synthetic Scope of Ru(OH)_x/Al₂O₃-Catalyzed Hydrogen-Transfer Reactions: An Application to Reduction of Allylic Alcohols by a Sequential Process of Isomerization/Meerwein–Ponndorf–Verley-Type Reduction. *Chemistry A European J* **2008**, *14* (13), 4104–4109. <https://doi.org/10.1002/chem.200701917>.
- (27) Lomeli-Rosales, D. A.; Delgado, J. A.; Díaz de los Bernardos, M.; Pérez-Rodríguez, S.; Gual, A.; Claver, C.; Godard, C. A General One-Pot Methodology for the Preparation of Mono- and Bimetallic Nanoparticles Supported on Carbon Nanotubes: Application in the Semi-hydrogenation of Alkynes and Acetylene. *Chemistry A European J* **2019**, *25* (35), 8321–8331. <https://doi.org/10.1002/chem.201901041>.
- (28) Rao, P. V.; Gan, S. H. Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2014**, *2014* (1), 642942. <https://doi.org/10.1155/2014/642942>.
- (29) Jaramillo Jimenez, B. A.; Awwad, F.; Desgagné-Penix, I. Cinnamaldehyde in Focus: Antimicrobial Properties, Biosynthetic Pathway, and Industrial Applications. *Antibiotics* **2024**, *13* (11), 1095. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13111095>.
- (30) Dumas, J.-B.; Peligot, E.-M. Sur l’Huile de Cannelle, l’Acide Hippurique, et l’Acide Sébacique. *Annales de Chimie et de Physique* **1834**, *57* (2), 305–334.
- (31) Sharma, P. Cinnamic Acid Derivatives: A New Chapter of Various Pharmacological Activities; 2011.

- (32) Morrissey, S.; Beadham, I.; Gathergood, N. Selective Hydrogenation of Trans-Cinnamaldehyde and Hydrogenolysis-Free Hydrogenation of Benzyl Cinnamate in Imidazolium ILs. *Green Chem.* **2009**, *11* (4), 466–474. <https://doi.org/10.1039/B815566F>.
- (33) Koppadi, K. S.; Chada, R. R.; Gurram, V. R. B.; Kancharakuntla, S. R.; Kamaraju, S. R. R.; Burri, D. R. Synthesis of Hydrocinnamaldehyde via Vapor Phase Dehydrogenation of Hydrocinnamyl Alcohol over Rice-Derived MgO-Supported Copper Catalysts. *ChemistrySelect* **2018**, *3* (11), 3079–3086. <https://doi.org/10.1002/slct.201702980>.
- (34) Muller, A. J.; Bowers, J. S., Jr.; Eubanks, J. R. I.; Geiger, C. C.; Santobianco, J. G. Processes for Preparing Hydrocinnamic Acid. 5,939,581, 17 1999. <https://patents.google.com/patent/US5939581A/>.
- (35) Kumar, S.; Kumari, R.; Mishra, S. Pharmacological Properties and Their Medicinal Uses of *Cinnamomum*: A Review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **2019**, *71* (12), 1735–1761. <https://doi.org/10.1111/jphp.13173>.
- (36) Yang, L.; Wu, Q.-Q.; Liu, Y.; Hu, Z.-F.; Bian, Z.-Y.; Tang, Q.-Z. Cinnamaldehyde Attenuates Pressure Overload-Induced Cardiac Hypertrophy. *Int J Clin Exp Pathol* **2015**, *8* (11), 14345–14354.
- (37) Guo, J.; Yan, S.; Jiang, X.; Su, Z.; Zhang, F.; Xie, J.; Hao, E.; Yao, C. Advances in Pharmacological Effects and Mechanism of Action of Cinnamaldehyde. *Front. Pharmacol.* **2024**, *15*, 1365949. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1365949>.
- (38) Momtaz, S.; Hassani, S.; Khan, F.; Ziaee, M.; Abdollahi, M. Cinnamon, a Promising Prospect towards Alzheimer's Disease. *Pharmacological Research* **2018**, *130*, 241–258. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.12.011>.
- (39) Doyle, A. A.; Stephens, J. C. A Review of Cinnamaldehyde and Its Derivatives as Antibacterial Agents. *Fitoterapia* **2019**, *139*, 104405. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.104405>.
- (40) Liu, J.; Zhu, J.; Jiang, H.; Wang, W.; Li, J. Pd-Catalyzed Cascade Heck–Saegusa: Direct Synthesis of Enals from Aryl Iodides and Allyl Alcohol. *Chem. Commun.* **2010**, *46* (3), 415–417. <https://doi.org/10.1039/B922351G>.
- (41) Doyle, A. A.; Krämer, T.; Kavanagh, K.; Stephens, J. C. Cinnamaldehydes: Synthesis, Antibacterial Evaluation, and the Effect of Molecular Structure on Antibacterial Activity. *Results in Chemistry* **2019**, *1*, 100013. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2019.100013>.
- (42) Cairns, G. R.; Cross, R. J.; Stirling, D. Hydrogenation of Cinnamaldehyde Using Catalysts Prepared from Supported Palladium Phosphine Complexes. *Journal of Catalysis* **1997**, *166* (1), 89–97. <https://doi.org/10.1006/jcat.1997.1491>.
- (43) Jiménez, S.; López, J. A.; Ciriano, M. A.; Tejel, C.; Martínez, A.; Sánchez-Delgado, R. A. Selective Hydrogenation of Cinnamaldehyde and Other α,β -Unsaturated Substrates Catalyzed by Rhodium and Ruthenium Complexes. *Organometallics* **2009**, *28* (11), 3193–3202. <https://doi.org/10.1021/om900223p>.
- (44) Padmanaban, S.; Lee, Y.; Yoon, S. Chemoselective Hydrogenation of α,β -Unsaturated Carbonyl Compounds Using a Recyclable Ru Catalyst Embedded on a Bisphosphine Based POP. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2021**, *94*, 361–367. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2020.11.007>.
- (45) Chandra, A.; Kumar, V.; Garnaik, U. C.; Dada, R.; Qamar, I.; Goel, V. K.; Agarwal, S. Unveiling the Molecular Secrets: A Comprehensive Review of Raman Spectroscopy in Biological Research. *ACS Omega* **2024**, *9* (51), 50049–50063. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c00591>.

- (46) Smith, E.; Dent, G. *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*, Second edition.; Wiley: Hoboken, NJ Chichester, West Sussex, UK, 2019.
- (47) Orlando, A.; Franceschini, F.; Muscas, C.; Pidkova, S.; Bartoli, M.; Rovere, M.; Tagliaferro, A. A Comprehensive Review on Raman Spectroscopy Applications. *Chemosensors* **2021**, *9* (9), 262. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9090262>.
- (48) Staveley, L. A. K. *The Characterization of Chemical Purity: Organic Compounds*; Elsevier Science: Burlington, 1971.
- (49) Fang, S.; Wu, S.; Chen, Z.; He, C.; Lin, L. L.; Ye, J. Recent Progress and Applications of Raman Spectrum Denoising Algorithms in Chemical and Biological Analyses: A Review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2024**, *172*, 117578. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117578>.
- (50) Hyer, A.; Gregory, D.; Kay, K.; Le, Q.; Turnage, J.; Gupton, F.; Ferri, J. K. Continuous Manufacturing of Active Pharmaceutical Ingredients: Current Trends and Perspectives. *Adv Synth Catal* **2024**, *366* (3), 357–389. <https://doi.org/10.1002/adsc.202301137>.
- (51) Edwards, H. G. M.; Jehlička, J.; Culka, A. Portable Raman Spectroscopy in Field Geology and Astrobiology Applications. In *Portable Spectroscopy and Spectrometry*; Crocombe, R., Leary, P., Kammrath, B., Eds.; Wiley, 2021; pp 377–400. <https://doi.org/10.1002/9781119636489.ch39>.
- (52) Reggio, D. Testing, Validation and Optimization of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) Sensors for the Detection of Small Molecules in Cultural Heritage Materials. **2021**.
- (53) Ikan, R.; Crammer, B. Organic Chemistry, Compound Detection. In *Encyclopedia of Physical Science and Technology*; Elsevier, 2003; pp 459–496. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227410-5/00541-X>.
- (54) Barnes, R. B.; Bonner, L. G. The Early History and the Methods of Infrared Spectroscopy. *American Journal of Physics* **1936**, *4* (4), 181–189. <https://doi.org/10.1119/1.1999112>.
- (55) Bunaciu, A. A.; Aboul-Enein, H. Y.; Hoang, V. D. *Vibrational Spectroscopy Applications in Biomedical, Pharmaceutical and Food Sciences*; Elsevier: Amsterdam Kidlington, Oxford Cambridge, MA, 2020. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-04768-4>.
- (56) Iqtiaar Md Siddique. Exploring Functional Groups and Molecular Structures: A Comprehensive Analysis Using FTIR Spectroscopy. **2024**. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.11281698>.
- (57) Smith, B. C. *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, 0 ed.; CRC Press, 2011. <https://doi.org/10.1201/b10777>.
- (58) Blum, M.; John, H. Historical Perspective and Modern Applications of Attenuated Total Reflectance – Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR). *Drug Testing and Analysis* **2012**, *4* (3–4), 298–302. <https://doi.org/10.1002/dta.374>.
- (59) Al Azri, N.; Clifford, C.; Enick, R. M.; Vesper, G. Impact of Flow Configurations on Response Time and Data Quality in Real-Time, In-Line Fourier Transform Infrared (FTIR) Monitoring of Viscous Flows. *Org. Process Res. Dev.* **2024**, *28* (5), 1657–1667. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.3c00299>.
- (60) Webster, G. K.; Mankani, B.; Mozharov, S.; Marquardt, B. Opportunities and Challenges: Process Raman for the Real-Time Release Testing (RTRT) of Extended-Release Formulations. *Applied Spectroscopy Practica* **2024**, *2* (2), 27551857241248477. <https://doi.org/10.1177/27551857241248477>.
- (61) Miyai, Y.; Formosa, A.; Armstrong, C.; Marquardt, B.; Rogers, L.; Roper, T. PAT Implementation on a Mobile Continuous Pharmaceutical Manufacturing System:

- Real-Time Process Monitoring with In-Line FTIR and Raman Spectroscopy. *Org. Process Res. Dev.* **2021**, *25* (12), 2707–2717. <https://doi.org/10.1021/acs.oprd.1c00299>.
- (62) Yu, X.; Yuan, X.; Li, J.; Cai, Z.; Li, L.; Zhang, Y.; Wang, X. Unveiling the Mysteries of Catalytic Processes of CO₂ Hydrogenation: A Journey through in Situ/Operando Spectroscopy. *Sci. China Chem.* **2024**. <https://doi.org/10.1007/s11426-024-2398-3>.
- (63) Ferchichi, S.; Sheibat-Othman, N.; Boyron, O.; Bonnin, C.; Norsic, S.; Rey-Bayle, M.; Monteil, V. *In Situ* Dissolved Polypropylene Prediction by Raman and ATR-IR Spectroscopy for Its Recycling. *Anal. Methods* **2024**, *16* (19), 3109–3117. <https://doi.org/10.1039/D4AY00667D>.
- (64) Rokhsfid, N.; Shishehbore, M. R. Synthesis and Characterization of an Au Nanoparticles/Graphene Nanosheet Nanocomposite and Its Application for the Simultaneous Determination of Tramadol and Acetaminophen. *Anal. Methods* **2019**, *11* (40), 5150–5159. <https://doi.org/10.1039/C9AY01497G>.
- (65) Liu, H.; Chen, Y.; Shi, C.; Yang, X.; Han, D. FT-IR and Raman Spectroscopy Data Fusion with Chemometrics for Simultaneous Determination of Chemical Quality Indices of Edible Oils during Thermal Oxidation. *LWT* **2020**, *119*, 108906. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108906>.
- (66) Helgers, H.; Schmidt, A.; Lohmann, L. J.; Vetter, F. L.; Juckers, A.; Jensch, C.; Mouellef, M.; Zobel-Roos, S.; Strube, J. Towards Autonomous Operation by Advanced Process Control—Process Analytical Technology for Continuous Biologics Antibody Manufacturing. *Processes* **2021**, *9* (1), 172. <https://doi.org/10.3390/pr9010172>.
- (67) Badawi, H. M.; Förner, W. Vibrational Spectra and Assignments of 3-Phenylprop-2-En-1-ol (Cinnamyl Alcohol) and 3-Phenyl-1-Propanol. *Journal of Molecular Structure* **2011**, *1003* (1–3), 62–66. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.07.021>.