

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Analýza profilu těkavých látek pivovarských sladů
s využitím vakuem asistované mikroextrakce tuhou
fází

Diplomová práce

2020

Bc. Lucie Jiroutková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Lucie Jiroutková**
Osobní číslo: **C18436**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Analýza profilu těkavých látek pivovarských sladů s využitím vakuum asistované mikroextrakce tuhou fází**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární řešení se zaměřením na analýzu profilu těkavých látek a jeho význam v potravinářství. Popište možnosti využití mikroextrakce tuhou fází v kombinaci s metodou plynové chromatografie pro daný účel a proveďte i princip uspořádání, kdy je při sorpci uplatňován snížený tlak. Zaměřte se především na využití uvedených metod pro analýzu těkavých složek a jejich zastoupení v pivovarských sladech různého druhu.
2. V experimentální části proveďte možnosti vzorkování metodou vakuum asistované headspace mikroextrakce tuhou fází (Vac-HSSPME) pro analýzu těkavých složek pivovarských sladů různých druhů. Porovnejte profily těkavých látek jednotlivých sladů a s využitím dostupných retenčních indexů a knihoven hmotnostních spekter identifikujte co největší počet složek. Navrženou metodu porovnejte s konvenční metodou HS-SPME.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Martin Adam, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **5. února 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2020**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30. 6. 2020

Bc. Lucie Jiroutková

Poděkování:

Ráda bych poděkovala doc. Ing. Martinu Adamovi, Ph.D. za veškerou pomoc, cenné rady a připomínky v průběhu vypracování této diplomové práce.

ANOTACE

Diplomová práce se zabývá využitím vakuem asistované mikroextrakce tuhou fází pro analýzu profilu těkavých látek v pivovarských sladech. Teoretická část diplomové práce obsahuje poznatky o pivovarských sladech, zaměřuje se na aromaprofil v potravinách, zejména ve sladu. Další část je soustředěna na izolaci těkavých látek z pivovarských sladů a jejich následnou chromatografickou analýzu. Experimentální část diplomové práce je věnována optimalizaci celého extrakčního postupu Vac-HSSPME. Dosažené výsledky byly srovnávány s klasickou HS-SPME. Optimalizované podmínky byly použity pro extrakci 18 vzorků pivovarských sladů. Extrahované látky byly analyzovány pomocí spojení GC-MS a GC-FID.

Klíčová slova:

Vac-HSSPME, slad, aromaprofil, plynová chromatografie

TITLE

Analysis of volatile profile of brewing malts using vacuum assisted solid phase microextraction

ANOTATION

This diploma thesis deals with the use of vacuum-assisted solid-phase microextraction for the analysis of the profile of volatile substances in brewing malts. Theoretical part of the diploma thesis contains knowledge of brewer's malts, it also focuses on the aromaprofile in food, especially malt samples. The next part is focused on the isolation of volatile substances from brewer's malts and their subsequent chromatographic analysis. The experimental part of the diploma thesis is devoted to optimization of the entire Vac-HSSPME extraction procedure. Obtained results were compared with conventional HS-SPME. Optimized conditions were applied to the extraction of 18 samples of brewing malts, which were analyzed by a combination of GC-MS and GC-FID.

Keywords:

Vac-HSSPME; Malt; Aromaprofil; Gas Chromatography

OBSAH

ÚVOD	15
1 TEORETICKÁ ČÁST	16
1.1 Sladařství	16
1.1.1 Slad	16
1.1.2 Sladovnický ječmen	17
1.1.3 Sladovnická pšenice	17
1.1.4 Sladování	19
1.1.5 Ječný slad	19
1.1.5.1 Příjem ječmene	19
1.1.5.2 Máčení	19
1.1.5.3 Klíčení	20
1.1.5.4 Hvozdění	20
1.1.6 Pšeničný slad	21
1.2 Aromaprofil potravin	22
1.2.1 Aromaprofil piva a sladu	23
1.2.2 Aromatické sloučeniny mléka	26
1.2.3 Alkoholické nápoje	27
1.3 Úprava vzorků před analýzou	29
1.3.1 Extrakce tuhou fází	29
1.3.2 Mikroextrakce tuhou fází	30
1.3.2.1 Stacionární fáze	31
1.3.2.2 Teplota a délka extrakce	33
1.3.2.3 Účinky soli a pH	34
1.3.2.4 Míchání	34
1.3.2.5 Sorpce analytů	34

1.3.2.6	Desorpce	35
1.3.2.7	Postup při mikroextrakci tuhou fází	36
1.3.3	Teoretické vztahy pro výpočet extrahovaného množství analytu.....	37
1.3.4	Vakuová mikroextrakce tuhou fází	39
1.4	Analytické techniky pro analýzu pivovarských surovin	44
1.4.1	Plynová chromatografie	44
1.4.2	Vyhodnocení výsledků	46
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	49
2.1	Přístroje a zařízení	49
2.2	Vzorky a chemikálie	50
2.2.1	Vzorky a jejich příprava	50
2.2.2	Chemikálie	50
2.3	Pracovní postup	51
2.3.1	Příprava vzorku před chromatografickou analýzou	51
2.3.2	Plynová chromatografie	51
2.3.3	Podmínky plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií	51
2.3.4	Podmínky plynové chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem	51
2.3.5	Vyhodnocování chromatografických dat	52
3	VÝSLEDKY A DISKUZE	53
3.1	Optimalizace podmínek	53
3.2	Vliv teploty	53
3.3	Doba extrakce	53
3.4	Vliv navážky	55
3.5	Vliv vakua	55
3.6	Centrálně kompozitní plánování	58
3.7	Analýza vzorků sladu a identifikace sloučenin	64

3.7.1	Skupina ječných sladů	64
3.7.1.1	Karamelový slad	65
3.7.1.2	Pražený slad	67
3.7.1.3	Bavorský slad	69
3.7.1.4	Tradiční světlý slad plzeňského typu	71
3.7.1.5	Český slad	72
3.7.1.6	Černý slad	73
3.7.1.7	Nakuřovaný slad z ječmene	76
3.7.1.8	Slad Caraaroma®	77
3.7.1.9	Slad Carafa® Special III	79
3.7.1.10	Slad Carahell®	81
3.7.1.11	Slad Caramunich®	83
3.7.1.12	Mnichovský slad II	85
3.7.1.13	Nakuřovaný slad	87
3.7.1.14	Pale Ale slad	88
3.7.1.15	Pražený ječmen	90
3.7.2	Skupina pšeničných sladů	92
3.7.2.1	Pšeničný slad I	92
3.7.2.2	Wheat Malt	93
3.7.2.3	Pšeničný slad II	95
3.8	Zhodnocení výsledků měření	96
4	ZÁVĚR	99
5	LITERATURA	101
6	PŘÍLOHY	110

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Blokové schéma výroby sladu	22
Obrázek 2 Chemická struktura <i>trans</i> -2-nonenalu	25
Obrázek 3 GC-FID chromatogram hlavních těkavých sloučenin ve vybraném vzorku	28
Obrázek 4 Postup při SPE	30
Obrázek 5 Extrakční mechanismy na vlákne – počátek sorpce	32
Obrázek 6 Extrakční mechanismy na vlákne – dosažení rovnovážného stavu	32
Obrázek 7 Znázornění extrakčních postupů při DI-SPME/ HS-SPME	35
Obrázek 8 SPME v manuálním uspořádání	37
Obrázek 9 Vliv teplotních režimů při extrakci 2-methylisoborneolu (MIB) a geosminu při Vac-HSSPME a při klasickém atmosférickém tlaku HS-SPME	40
Obrázek 10 Aparatura při Vac-HSSPME nikotinu z tabáku a lidských vlasů	43
Obrázek 11 Princip dělení směsi se dvěma složkami v chromatografické koloně	45
Obrázek 12 Chromatogramy ječného sladu Caramunich® II při extrakční teplotě 60 °C a 90 °C	54
Obrázek 13 Chromatogramy ječného sladu Caraaroma ® II při extrakční teplotě 60 °C a době sorpce 20 min a 40 min	54
Obrázek 14 Chromatogramy ječného sladu Caraaroma ® II při jedné extrakční teplotě 90 °C a různých navážkách	55
Obrázek 15 Chromatogramy ječném sladu Caramunich® II měřené za stejných extrakčních podmínek.	56
Obrázek 16 Vliv vakua na plochu píků	57
Obrázek 17 Vliv vakua na počet píků	57
Obrázek 18: Porovnání počtu píků pro DVB/CAR/PDMS (šedé sloupce) a PDMS/DVB (modré sloupce) vlákno	60
Obrázek 19 Porovnání ploch píků pro DVB/CAR/PDMS (šedé sloupce) a PDMS/DVB (modré sloupce) vlákno	60

Obrázek 20 Profily pro předpovědi a vhodnost pro optimalizaci Vac-HSSPME (šedé vlákno)	61
Obrázek 21 Metoda odezvové plochy pro optimalizaci Vac-HSSPME (šedé vlákno)	62
Obrázek 22 Paretův graf efektů znázorňující význam jednotlivých experimentálních proměnných pro DVB/CAR/PDMS vlákno - vyhodnoceno ze sumy ploch detekovaných píků	63
Obrázek 23 Paretův graf efektů znázorňující význam jednotlivých experimentálních proměnných pro DVB/CAR/PDMS vlákno - vyhodnoceno z počtu detekovaných píků	64

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Přehled vláken používaných pro SPME	33
Tabulka 2 Přehled analyzovaných vzorků	50
Tabulka 3 Retenční časy n-alkanů a jejich retenční indexy	52
Tabulka 4 Navržené podmínky podle CCD	58
Tabulka 5 Výsledky optimalizací Vac–HSSPME/GC-FID pro testovaná vlákna	59
Tabulka 6 Karamelový slad, výsledky GC-MS analýzy	65
Tabulka 7 Pražený slad, výsledky GC-MS analýzy	67
Tabulka 8 Bavorský slad, výsledky GC-MS analýzy	69
Tabulka 9 Tradiční světlý slad plzeňského typu, výsledky GC-MS analýzy	71
Tabulka 10 Český slad, výsledky GC-MS analýzy	72
Tabulka 11 Černý slad, výsledky GC-MS analýzy	73
Tabulka 12 Nakuřovaný slad z ječmene, výsledky GC-MS analýzy	76
Tabulka 13 slad z ječmene Caraaroma®, výsledky GC-MS analýzy	77
Tabulka 14 Slad Carafa® Special III, výsledky GC-MS analýzy	79
Tabulka 15 Slad Carahell®, výsledky GC-MS analýzy	82
Tabulka 16 Slad Caramunich®, výsledky GC-MS analýzy	83
Tabulka 17 Mnichovský slad II, výsledky GC-MS analýzy	85
Tabulka 18 Nakuřovaný slad, výsledky GC-MS analýzy	87
Tabulka 19 Pale Ale slad, výsledky GC-MS analýzy	88
Tabulka 20 Pražený ječmen, výsledky GC-MS analýzy	90
Tabulka 21 Pšeničný slad I, výsledky GC-MS analýzy	92
Tabulka 22 Wheat Malt, výsledky GC-MS analýzy	94
Tabulka 23 Pšeničný slad II, výsledky GC-MS analýzy	95

SEZNAM ZKRATEK

AEDA	Ředění extraktu vzorku (Aroma Extract Dilution Analysis)
BBP	Benzylbutyl ftalát
CAR	Carboxen
CAR/PDMS	Caboxen TM polydimethylsiloxan
CCD	Centrální kompozitní plán (Central Composite Design)
CW	Carbowax
CW/DVB	Carbowax TM /divinylbenzen
DEHP	Di-(2-ethylhexyl) ftalát
DI-SPME	Přímá mikroextrakce tuhou fází (Direct Immersing SPME)
DMS	Dimethylsulfid
DVB	Divinylbenzen
FID	Plamenový ionizační detektor (Flame Ionization Detector)
GC	Plynová chromatografie (Gas Chromatography)
GC-FID	Plynová chromatografie ve spojení s plamenově-ionizačním detektorem (Gas Chromatography-Flame Ionization Detector)
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)
HS	Izolace látek z parního prostoru nad vzorkem (Headspace)
HS-SPME	Headspace mikroextrakce tuhou fází (Headspace-Solid Phase Micro Extraction)
HPLC-MS	Vysokoučinná kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry)
HRGC	Vysokorozlišovací plynová chromatografie (High resolution gas chromatography)
LC-MS	Kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (Liquid chromatography-Mass spectrometry)
MS	Hmotnostní spektrometrie (Mass Spectrometry)
MIB	2-Methylisoborneol
PA	Polyakrylát
PAU	Polyaromatické uhlovodíky
PDMS	Polydimethylsiloxan
PDMS/DVB	Polydimethylsiloxan/divinylbenzen
PEG	Polyethylenglykol
PTFE	Polytetrafluorethylen
PVC	Polyvinylchlorid
RI	Retenční index
SPDE	Dynamická mikroextrakce na tuhou fází
SPE	Extrakce tuhou fází (Solid-phase extraction)
SPME	Mikroextrakce tuhou fází (Solid Phase Microextraction)
SPME-GC-MS	Mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií

TDSA	Automatizovaná termická desorpce (Thermal Desorption Autosampler)
TIC	Celkový iontový proud (Total Ion Current)
UHT	Vysokoteplotní úprava (Ultra-High Temperature Processing)
Vac-HSSPME	Vakuová mikroextrakce tuhou fází (Vacuum-Assisted Headspace Solid-Phase Microextraction)

ÚVOD

Jednou ze základních surovin pro výrobu piva je slad. Termín slad označuje naklíčené a usušené obilné zrnko. Slad se vyrábí ve sladovnářích několikadenním procesem, neboť samotná obilovina neobsahuje dostatek enzymů a aromatických látek potřebných pro výrobu piva. V České republice se pro jeho přípravu využívá především sladovnický ječmen, pouhý zlomek procenta tvoří slady připravené z pšenice. Celosvětově se vyrábějí zejména světlé slady plzeňského typu pro světlá piva a tmavé slady mnichovského typu pro piva tmavá. Speciální typy sladů slouží zejména pro zvýraznění konkrétních kvalitativních a specifických vlastností základních typů světlých a tmavých piv.

Aromaprofil sladu mapuje soubor sensoricky aktivních látek, tedy těch, které mají organoleptické vlastnosti. Jelikož se tyto látky vyskytují ve velice nízkých koncentracích, je třeba tyto látky před samotným stanovením zakoncentrovat. Dnes se k zakoncentrovávání často využívají mikroextrakční metody, přičemž mezi jednu z nejvýznamnějších patří headspace mikroextrakce na tuhou fázi (HS-SPME).

Cílem diplomové práce bylo ověřit, jak ovlivní extrakční proces snížený tlak při HS-SPME a následná optimalizace extrakčního procesu pro zmapování profilu těkavých látek ve vzorcích sladu. Stanovení těkavých látek z pivovarských sladů bylo prováděno pomocí vakuem asistované mikroextrakce tuhou fází. Látky obsažené v maticích byly identifikovány pomocí plynové chromatografie s plamenovou ionizací a hmotnostní detekcí.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Sladařství

Jak již název říká, toto průmyslové odvětví se zabývá výrobou sladu. Zhotovený slad se především používá jako hlavní surovina při výrobě piva a whisky [1].

Pivo neodmyslitelně patří k jednomu ze symbolů České republiky. Ve vyhlášce Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb. se definuje pivo jako pěnivý nápoj připravený zkvašením mladiny vyrobené ze sladu, vody, neupraveného chmele, upraveného chmele nebo chmelových produktů, který kromě alkoholu (ethylalkoholu) vzniklého kvasným procesem a oxidu uhličitého obsahuje i požadované množství neprokvašeného extraktu [2].

Malá část vyrobeného sladu se spotřebovává v ostatních odvětví potravinářského průmyslu. Ze sladu mohou být připraveny i sladové výtažky, které mají své uplatnění nejen v potravinářství, ale i v textilním a farmaceutickém průmyslu [1].

1.1.1 Slad

V České republice se k výrobě sladu využívá především sladovnický ječmen, pouhý zlomek procenta tvoří slady připravené z pšenice. Celosvětově se vyrábějí zejména světlé slady plzeňského typu pro světlá piva a tmavé slady mnichovského typu pro piva tmavá. Další různé typy speciálních sladů slouží zejména pro zvýraznění konkrétních kvalitativních a specifických vlastností základních typů světlých a tmavých piv i pro výrobky charakteristicky odlišných vlastností [3; 4].

Z ekonomických důvodů, nebo pro nedostatek ječmene a pšenice, se lze setkat s různými sladovými náhražky (surogáty). V tradičních pivovarských zemích se používají omezeně, a to zpravidla pro výrobu speciálních piv. V pivovarsky netradičních zemích je jejich použití rozšířeno [1; 3].

Tyto sladové alternativy mají nahradit extrakt sladu dostupnější surovinou. Tyto suroviny většinou neobsahují vlastní enzymy, nemění smyslové vlastnosti a výrazně nepodporují kvašení. Pro přípravu těchto sladových alternativ se využívají např. alternativní plodiny (proso, špalda), pseudocereálie (pohanka, quinoa a amarant), produkty ekologického zemědělství, luštěniny (hrách, čočka, fazol mungo) a okopaniny (brambory, cukrová řepa a čekana obecná) [5].

1.1.2 Sladovnický ječmen

K výrobě sladu se tradičně používá ječmen z čeledi lipnicovitých trav *Poaceae* a patří k jednomu z hospodářsky nejvýznamnějších rostlin na světě. Rod *Hordeum* zahrnuje mnoho forem, přičemž k těm významným se řadí ječmen setý *Hordeum vulgare* L. Obecně platí, že tato rostlina je schopná se pro svoji biologickou plastičnost přizpůsobit rozdílným růstovým podmínkám [4; 6].

V porovnání s jinými obilovinami má dnes tato plodina nejstabilnější místo v rostlinné produkci. Pro pěstování této rostliny je optimální průměrná roční teplota 8,5 °C a průměrné roční srážky 500-600 mm. Tyto podmínky jsou na našem území v oblasti Hané a povodí velkých řek, jako jsou Labe, Dyje a Morava [7; 8].

Odrůda sladovnického ječmene může být široce klasifikována. Pro výrobu sladu se využívají především dva hlavní kultivary ječmene: dvouřadý a víceřadý [4; 9].

Ječmen setý dvouřadý (*H. vulgare* convar. *distichom*) má plodný střední klásek, čili na větenu lichoklasu tvoří pouze dvě řady obilek. Obilky ječmene setého dvouřadého jsou baculatější, přičemž jejich škrobové endospermy jsou větší v poměru ke zbytku zrna, než je tomu u ječmene setého víceřadého. Dalším rozdílem od ječmene víceřadého je přítomnost zakrnělých pluch, plušek a postranních klásků, které jsou neplodné. Mezi významné a kvalitní odrůdy pro výrobu sladu patří například Rubín, Jubilant a Forum [3; 4].

Druhý hospodářsky významný typ kultivaru, ječmen setý víceřadý (*H. vulgare* convar. *vulgare*), má všechny tři klásky plodné. Na základě uspořádání obilek okolo větene lichoklasu lze ječmen setý víceřadý rozlišit na šestiřadý a čtyřřadý [3; 9].

1.1.3 Sladovnická pšenice

Pšenice taxonomicky přísluší rodu *Triticum*, který patří podobně jako ječmen do čeledi lipnicovitých trav *Poaceae*. Jedná se o jednu z nejrozsáhlejších a nejdůležitějších obilovin ve světě. Pšenice má několik botanických druhů a mnoho odrůd, přičemž mezi potravinářsky významné patří pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) a pšenice tvrdá (*Triticum durum* L.) [3; 5].

Dominantní úlohu má především v pekárenském průmyslu, kde je nejpoužívanější obilovinou. Technologický význam mají zásobní bílkoviny v zrna pšenice. Přesněji se tyto bílkoviny nachází v endospermu a jejich množství se pohybuje v rozmezí 6 až 20 % (v sušině). Množství těchto zásobních bílkovin lze ovlivnit agrotechnickými úpravami. Významnými zásobními bílkovinami jsou prolamin (gliadin) a glutenin, které se nachází v endospermu [1].

Tato obilovina má dlouhou tradici při výrobě sladu, nicméně z vědeckého hlediska jsou vlastnosti pšeničných piv prozkoumány v mnohem menší míře než u piv vyrobených z ječmenných sladů [10].

Český zákon č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích ve vyhlášce Ministerstva zemědělství č. 335/1997 Sb. definuje pšeničné pivo jako pivo s podílem extraktu z pšeničného sladu vyšším než jedna třetina hmotnosti celkově dodaného sladu [2].

Domovem pšeničných piv je zejména Belgie a Německo, kde se pšeničná piva označují jako tzv. Wit bier (bílá piva). Při výrobě belgických bílých piv se obvykle používá 60 % sladového ječmene a 40 % nesladové pšenice [4].

Ke kvašení těchto piv se využívají speciální svrchní druhy kvasinek, díky nimž vzniká mnoho aromatických látek – esterů, které dodávají pšeničnému pivu nezaměnitelné aroma. Slady z pšenice podporují pěnovost, a tak malým přídavkem k ječným sladům lze dosáhnout hodnotnější a stabilnější pěny [11].

Mezi hlavní faktory používané k rozlišení odrůd pšenice patří obsah bílkovin, tvrdost nebo měkkost zrna, a zda se jedná o zimní nebo jarní odrůdu [10].

Pro výrobu klasického piva se preferují měkké odrůdy s moučnatým endospermem a obsahem bílkovin kolem 11 %. Měkké odrůdy pšenice se snadno melou, což vede k získání vyššího výtěžku extraktu. Pro výrobu bílého piva by měla být použita odrůda tvrdé pšenice s vysokým obsahem bílkovin. To je založeno na předpokladu, že tvrdé odrůdy pšenice obsahují více aktivních bílkovin s vysokou molekulovou hmotností [10].

Další důležitou charakteristikou pšeničných sladů je absence pluch. Ve srovnání s ječmenem obsahují vyšší podíl neškrobových polysacharidových látek, jako jsou arabinoxylany a fruktosany, jejichž přítomnost zvýší viskozitu piva a sníží tak odtok tekutiny z pěny, čímž se zvýší stabilita pěny. Při zhotovení mikroskopického preparátu bylo zjištěno, že velikost bublin v pšeničném pivu byla mnohem menší než velikost bublin ječmenného piva [10; 12].

Složky koloidního zákalu v bílých pivech jsou bílkoviny vázané s polyfenoly a škrobem nebo degradovaným škrobem. Kvalita těchto piv se posuzuje na základě intenzity a stability vzniklého homogenního zákalu. Ovšem při použití velkého podílu pšenice se tyto částice stanou příliš velkými, usazují se, a to následně vede ke snížení intenzity zákalu [13].

1.1.4 Sladování

Bez zřetele na výrobní postup a typ výrobního zařízení lze tento proces rozdělit na pět hlavních kroků – příjem ječmene, máčení ječmene, klíčení ječmene, hvozdění zeleného sladu a skladování sladu. Cílem tohoto procesu je řízeným procesem klíčení a hvozdění vyrobit slad, který bude obsahovat potřebné enzymy, aromatické i barevné látky nezbytné pro výrobu konkrétního druhu piva [1].

Proces sladování lze rozdělit na dvě hlavní stádia. Nejprve dochází k vytvoření zeleného sladu a následně přeměně na hotový slad. V první fázi pro získání tzv. zeleného sladu se vytvoří optimální podmínky pro klíčení ječmene, přičemž se v zrně aktivují a tvoří důležité enzymy (cytolytické, proteolytické a amylolytické). V druhé fázi se zelený slad nechá hvozdit, přičemž dochází působením zvýšené teploty k vyvolání chemických reakcí, které jsou důležité pro tvorbu aromatických a barevných látek. Tím vzniká hotový slad [1].

1.1.5 Ječný slad

1.1.5.1 Příjem ječmene

Po přijmutí ječmene dochází k jeho třídění, čištění od prachu, nečistot, příměsí a následnému roztřídění dle jakostních znaků. K tomuto úkonu slouží aspirátory, triéry, magnety, jímače prachu a další. Vytříděný ječmen se skladuje v silech, která jsou vybavena provzdušňovacím zařízením, protože ječmen intenzivním dýcháním spotřebovává své bezdusíkaté organické látky. Tím dochází k produkci oxidu uhličitého, který je zapotřebí odvést, jelikož zplodiny jsou škodlivé pro klíček. V silech se kontroluje teplota a vlhkost, neboť právě tyto parametry mají vliv na intenzitu dýchání. Při vlhkosti do 15 % a teplotách do 20 °C je intenzita dýchání malá a nepředstavuje značné ztráty na zrně [1; 14].

1.1.5.2 Máčení

Cílem máčení je zvýšit obsah vody v zrně pro zahájení enzymových reakcí a pro klíčení zrna. Tento krok se považuje za nejdůležitější úsek výroby sladu, který rozhoduje o jeho budoucí kvalitě [5].

Máčení ječmene probíhá v náduvnících, které mohou být válcové nebo čtyřhranné se spádovým kónusem dna 45 °, aby ječmen mohl samovolně vytékat ven. V náduvnících nesmí být vysoká vrstva ječmene, to by totiž bránilo rovnoměrnému prostupu vzdušného kyslíku a prodlužovalo tak dobu potřebnou k máčení. Příjem vzdušného kyslíku se zajistí lehkým kropením vody s dodržováním vzdušných přestávek [9].

Na počátku zrna obsahuje nejméně 8-14 % vody, jelikož při dlouhodobém sladování by vyšší úroveň mohla mít nežádoucí účinky. Namočení na 35-38 % obsahu vody vede ke zvýšené citlivosti zrna na vodu. Při těchto hodnotách je ječmen schopen nejrychlejšího naklíčení. Pro rozpuštění endospermu a aktivaci enzymatického aparátu je nutné dodat další vodu (pro světlý slad 40-44 %, pro tmavý slad 45-48 %) [3; 15].

1.1.5.3 Klíčení

Při klíčení, a zároveň během celého sladování, je důležitá nová tvorba, aktivace enzymů a také vnitřní přeměna (rozluštění) zrna. S výjimkou α -amylázy, která není v ječmeni obsažena, jsou ostatní enzymy v malém množství již v ječmeni přítomny. Nárůst aktivity, resp. syntéza nových enzymů, je iniciována prostřednictvím činnosti fytohormonů. Tyto hormony se skládají z gibberelové kyseliny a dalších příbuzných látek, které putují přes endosperm do aleuronové vrstvy. V aleuronové vrstvě vznikají nové volné aminokyseliny a nové enzymy. Vzniklé enzymy následně degradují buněčnou stěnu endospermu a uvolňují z něj škrobové granule. K technologicky důležitým enzymům lze dále zařadit: β -amylázu, proteázu, β -glukanázu a další [9; 11; 16; 17].

Cílem tohoto kroku je dosáhnout dobrého tzv. rozluštění zrna, což představuje významné kritérium v kvalitě vyráběných druhů sladu. Při rozluštění zrna dochází k rozštěpení vysokomolekulárních látek na jiné štěpné produkty, např. rozluštění buněčných stěn, rozštěpení škrobových zrn a bílkovinných řetězců [3; 14].

Tento proces se odehrává v prostorných místnostech, které jsou nazývány humny. Namočený ječmen je zde rozprostřen tak, aby bylo zajištěno provzdušnění potřebné pro jeho aktivaci. Pro klíčení ječmene jsou vhodné nízké teploty, jelikož za těchto podmínek jsou ztráty vzniklé prodýcháním a růstem kořínků minimální. Fáze klíčení obvykle trvá 4-5 dní při teplotách v rozmezí 12-14 °C [3; 14].

Úpravami technologie máčení a klíčení dané obiloviny lze získat odlišné druhy sladů, které pak vykazují své typické vlastnosti. Těmito úpravami je možné regulovat biosyntézu a aktivitu sladových enzymů působících na určité složky extraktu. Především se jedná o míru degradace vysokomolekulárních látek, redoxní potenciál a aciditu sladu [6].

1.1.5.4 Hvozdění

Posledním krokem je hvozdění (sušení), při kterém dochází ke snížení obsahu vody v naklíčeném sladu. U světlých sladů se po hvozdění obsah vody sníží na 3-4 %, u tmavých

sladů až na 1,5-2 %. Zároveň v tomto kroku dochází k zastavení vegetačních procesů, redukcí enzymové aktivity, ale především k vytvoření chuťových (aromatických) a barevných (oxidoredukčních) látek. Aromatické látky vznikají při vyšších teplotách interakcemi štěpných produktů bílkovin a sacharidů, a to především aminokyselin a monosacharidů [3].

Tento proces lze rozdělit na dvě stádia – v prvním stádiu hvozdění se řízeným a velmi šetrným sušením sníží obsah vody v zeleném sladu. Ve druhém kroku dochází zvýšením teploty sušícího vzduchu k chemickým a fyzikálně chemickým reakcím mezi nově vznikajícími látkami [18].

Enzymatická fáze se pohybuje v intervalu teplot 45-70 °C, což vede ke zpomalení nebo úplnému zastavení enzymových reakcí v zrně. Při teplotě do 50 °C se aktivita endopeptidáz zvyšuje a neztrácí se zcela ani při dotahovacích teplotách sladu. Citlivěji na zvýšení teploty reaguje enzym exopeptidáza, kdy jeho aktivita nejprve výrazně vzrůstá, ale v hotovém sladu je přibližně stejná jako v zeleném sladu. Obsah endo- β -glukanázy a lipáz klesá během hvozdění jen málo, naopak aktivita fosfatáz klesá signifikantně, a to až o 50 %. Důležité jsou změny enzymů, které odbourávají škrob: aktivita α -amylázy je při dotahovacích teplotách zachována na úrovni předsoušeného sladu, při delším dotahování klesá až o 30 %. β -amyláza je na teplotu citlivější a při šetrném hvozdění se její aktivita snižuje až o 40 % ve srovnání s předsušeným sladem. Ve finální fázi hvozdění se při teplotách nad 60 °C zpomalují nebo úplně zastavují enzymové reakce v zrně [5; 18].

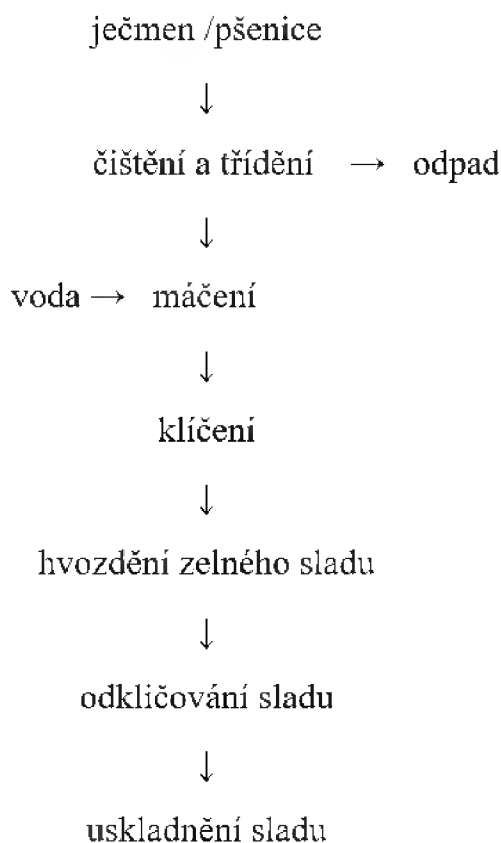
Nastavením příslušné sušící teploty lze získat typický druh sladu. Pro výrobu světlých sladů plzeňského typu se využívá dotahovacích teplot v rozmezí 80-85 °C. U tmavých sladů mnichovského typu se využívá o něco vyšších teplot, a to v rozmezí 100-105 °C. K získání speciálních sladů, které jsou typické vysokým obsahem aromatických a barevných látek, je nastavena dotahovací teplota až na 120-180 °C [3].

Jakmile skočí sušící proces, je třeba usušený slad přetřídít, zbavit poškozených zrn, kořínků a prachu. Následně se vytríděný slad přepravuje do sila, kde se nechá pro další zpracování uležet [4].

1.1.6 Pšeničný slad

Pšeničné slady se vyrábí obdobným způsobem. Jelikož pšenice obsahuje vyšší podíl lepku, pro výrobu sladu se využívají odrůdy s jeho nižším obsahem. Odlišností je například nejen stupeň domočení, ale i doba klíčení. Pšenice snadno přijímá vodu, jelikož je u ní patrná absence pluch. To znamená, že se musí pomaleji a méně máčet. Ve srovnání s ječmenem se pšenice slazuje obtížněji s nižší teplotou klíčení. Teplota se ke konci zvyšuje na 17-20 °C. Klíčící fáze

pšeničných sladů trvá obvykle v rozmezí 3-4 dnů. Při hvozdění se pšenice začíná sušit při teplotě 40 °C a končí při 60 °C. Dotahovací teploty se liší na základě druhu sladu - světlé slady se dotahují při teplotě 80 °C a slady tmavé při teplotách 100-110 °C. Obr. 1 popisuje blokové schéma výroby sladu [5; 13].



Obrázek 1 Blokové schéma výroby sladu

1.2 Aromaprofil potravin

Analýza potravin je důležitá pro hodnocení nutriční hodnoty, kontrolu kvality čerstvých potravin, zpracovaných produktů a sledování potravinářských aditiv a případných kontaminantů. I přesto, že se dnes často používá spojení GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*, Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií) i HPLC-MS (*High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry*, Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií), tyto metody zahrnují také procesy, jako je odběr a příprava vzorků (extrakce, zakoncentrování, frakcionace a izolace analytů z matrice) [19].

Postupem času bylo vyvinuto několik metod pro přípravu vzorků komplexnějších matic (např. potravin), konkrétně: destilace s vodní parou, extrakce organickým rozpouštědlem nebo nadkritickou tekutinou a extrakce tuhou fází. Výše zmíněné metody se však vyznačují hned několika nevýhodami (časová náročnost, velká spotřeba organických rozpouštědel aj.). Dnes je velice rozšířena metoda HS-SPME (*Headspace-Solid Phase Micro Extraction*, Headspace ve spojení s mikroextrakcí tuhou fází), která eliminuje tyto nevýhody a v kombinaci s GC-MS se uplatňuje pro analýzu mnoha druhů potravin, jako je káva, oves i slad. Spojení SPME (*Solid Phase Micro Extraction*, Mikroextrakce tuhou fází) s HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*, Vysokoučinná kapalinová chromatografie) případně LC-MS (*Liquid chromatography-Mass spectrometry*, kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií) se uplatňuje při stanovení méně těkavých nebo tepelně labilních sloučenin [19].

1.2.1 Aromaprofil piva a sladu

Dnes je nejen v České republice, ale i na celém světě, věnovaná zvýšená pozornost sensoricky aktivním látkám ovlivňujících kvalitu piva. Pro stanovení těkavých sensoricky aktivních látek v pivu se často používají metody plynové chromatografie v kombinaci s headspace technikou. Rozsah tvorby vonných a chuťových látek nebo jejich bezprostředních prekurzorů, které se transformují až na aromatické látky, závisí na kvalitě pivovarských surovin [20].

Za vznikem aroma sladů stojí zejména Maillardovy reakce. Tudíž za primární prekurzory aromatických látek sladu lze považovat redukující sacharidy a volné aminokyseliny. Při sladování působením proteolytických enzymů dochází ke štěpení bílkovin a zvýšení rozpustnosti dusíkatých látek zrna. Během rmutování se tyto bílkoviny uvolní a přispívají k plnosti chuti, ovlivňují charakter a stabilitu pěny [18].

Při hvozdnění sladu vznikají vysoce složité směsi nízkomolekulárních látek, které zodpovídají za charakteristickou chuť a vůni sladu. Některé tyto látky se sice vyskytují v koncentracích nižších, než je jejich prahová hodnota, ale jelikož se vyskytují a působí ve směsích, může být někdy obtížné posoudit jejich skutečný význam při projevu aroma. Koncentrace aromatických sloučenin závisí obecně na rychlostech jejich vzniku, transformaci a odpaření během hvozdnění. K chuti a vůni sladu přispívají kyseliny, alkoholy, estery a heterocyklické sloučeniny obsahující kyslík, dusík nebo síru a karbonylové sloučeniny, jejichž základ tvoří acetaldehyd [18].

Na aromaprofilu sladu se podílí i produkty jiných reakcí. Jedná se například o vonné apokarotenoidy s velmi nízkými podnětovými prahy ((E)- β -2,4-damascenon) nebo

β -dioxopiperaziny s hořkou nebo hořko-kovovou chutí vznikajících z lineárních dipeptidů nebo aminokyselin. Na výsledném aroma se podílí i lipidová frakce. Při hvozdění dochází k oxidaci a degradaci mastných kyselin lipidů za vzniku mnoha látek. Jedná se zejména o nenasycené aldehydy, ketony a nižší mastné kyseliny [18].

Uvádí se, že 3-methylbutanal patří mezi klíčové sloučeniny aroma sladu. Dong a kol. [21] ho detekovali s dalšími 46 sloučeninami, a to pomocí metody SPME kombinované s GC-MS. Zároveň potvrdili, že tato sloučenina může sloužit jako měřítko pro detekci těkavých látek během sladovacího procesu [21; 22].

Nejvyšší počet vonných látek je obsažen ve speciálních sladech. Tyto slady se používají zejména pro výrobu tmavých a speciálních piv [23; 24; 25].

V roce 2010 se Vandecan a kol. [26] zaměřili na obsah vonných látek ve speciálních sladech (barevný, karamelový a pečený). Po optimalizace podmínek extrakce stanovili pomocí SPME-GC-MS 14 významných vonných látek. (norfuraneol, maltol, 2-hydroxy-3-methyl-2-cyclopenten-1-on, 2-isopropyl-5-methyl-2-hexanal; 2-fenyl-2-butenal, 4-methyl-2-fenyl-2-pentenal, 5-methyl-2-fenyl-2-hexenal, 2,3,5-trimethylpyrazin, 2-ethyl-3,5-dimethylpyrazin, 2,3-diethyl-5-methylpyrazin, 2-acetylpyrrol, γ -nonalaktón, furaneol a (E)- β -2,4-damascenon).

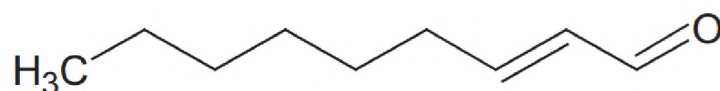
Dnes se celkový počet identifikovaných těkavých látek zvýšil téměř na 250. Nicméně i přes využití moderních technik, jako je např. vysokorozlišovací plynová chromatografie s olfaktometrickým detektorem HRGC/O, je stále nejasné, které sloučeniny se významně podílí na celkovém aroma (flavour) sladu. Fickert a kol. [27] přistoupili k propracovanějšímu postupu, který zahrnuje metodu ředění extraktu vzorku technikou Aroma Extract Dilution Analysis (technika zkoumající zředovací práh). Na základě referenčních vonných látek identifikovali v karamelovém sladu 39 odorantů. Detekovány byly například následující látky: 3-methylbutanal (slaná vůně), 1-okten-3-on (houbová vůně), methional (vařené brambory), vanilin (vanilka), 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3-(2H)-furanon (karamel) aj.

Významnou úlohu v kvalitě piva má zastoupení heterocyklických a sirných sloučenin, z nichž se některé vyznačují vysokou senzoryckou aktivitou i v extrémně nízkých koncentracích. U sladu, resp. u piva, se i stopové množství těchto látek hodnotí spíše nepříznivě. Jelikož se tyto senzorycky aktivní látky v analyzovaných maticích nacházejí ve velmi nízkých koncentracích ($\mu\text{g.kg/l-ng.kg/l}$), využívá se přímá analýza jen zřídka. Předmětem výzkumu [28], který probíhal v Brně ve Výzkumném ústavu pivovarském

a sladařském, a.s., bylo vybrat optimální podmínky k extrakci a následnému zakoncentrování sirných těkavých látek. Zároveň experimentálně porovnat dvě analytické metody: SPDE (*Solid Phase Dynamic Extraction*, Dynamická mikroextrakce na tuhou fázi) a TDAS (Thermal Desorption Autosampler, Automatizovaná termická desorpce). Pro vlastní analýzu sirných těkavých látek byla použita GC-FID (*Gas Chromatography-Flame Ionization Detector*, Plynová chromatografie ve spojení s plamenově-ionizačním detektorem). Při HS-SPDE bylo použito vlákno s kombinovaným typem stacionární fáze polydimethylsiloxan/aktivní uhlí. U dynamické metody byly porovnávány dva typy sorbentů - Tenax® TA a Carbotrap, více vyhovující byl sorbent Tenax® TA. Na základě dosažených výsledků se jako výhodnější metoda jeví dynamická headspace ve spojení s TDAS se sorbentem Tenax® TA. Metoda SPDE má sice také dobrou výtěžnost, ale musí být ovládána autosamplrem, jelikož při ruční manipulaci nedosahovala potřebné opakovatelnosti.

U chuťově čistých piv jsou určité těkavé látky v rovnováze. Při transportu piva k zákazníkovi a skladování dochází k sensorickému stárnutí. Obecně lze říci, že sensorické stárnutí se týká hlavně piva uskladněného v malých obalech (lahvích a plechovkách), zatímco sudové pivo se uchovává převážně v chlazených prostorách (do 5 °C) a jeho skladovací doba je stejně omezená [29].

Sensorické změny jsou způsobeny chemickými procesy projevujícími se nepříznivou chutí a vůní. Za vzniklé sensorické změny zodpovídají především karbonylové sloučeniny. Základní složkou podílející se na chuti žluklého másla v pivu je *trans*-2-nonenal (Obr. 2). Jejich vývoj lze ovlivnit například podmínkami skladování (přístup kyslíku, světla nebo otřesy) a teplotou skladování [29; 30].



Obrázek 2 Chemická struktura *trans*-2-nonenalu [30]

Olšovská a kol. [29] analyzovali v průběhu 6 měsíců ve dvouměsíčních intervalech (0., 2., 4., a 6. měsíc) ležáky vyrobené v ČR. Pro sledování stárnutí českého piva navrhli jako indikátory stárnutí čtyři sloučeniny: 2-methylpropanal, 2- a 3-methylbutanal, furfural a fenylacetaldehyd. Tyto látky mají nejen definované změny v obsahu během stárnutí piva, ale i korelaci se starou chutí piva.

Polyfenolové antioxidanty jsou významné z hlediska antioxidační aktivity, sensorického stárnutí piva, ale i z hlediska příznivého zdravotního dopadu na konzumenty. Antioxidační aktivita závisí jak na množství, tak i skladbě polyfenolů. Cílem studie Mikyška a kol. [31] bylo přinést poznatky o antioxidační aktivitě, obsahu a skladbě polyfenolových látek ve sladech z odrůd ječmene doporučených pro výrobu Českého piva. Výsledky ukázaly odrůdové rozdíly a významný vliv klimatických podmínek na sledované vlastnosti. U odrůdy Aksamit byly stanoveny nejvyšší hodnoty celkových polyfenolů, flavanoidů, a relativně nízký obsah anthokyanogenů. Odrůdy Blaník, Bojos a Advent byly z hlediska obsahu polyfenolových látek i redukčních vlastností srovnatelné.

1.2.2 Aromatické sloučeniny mléka

Syrové mléko nebo šetrně pasterované mléko se vyznačuje jemným charakteristickým aroma a nasládlou chutí. Mezi hlavní vonné látky patří dimethylsulfid, biacetyl, 2-methyl-butanol, (Z)-4-heptenal a (E)-2-nonenal, který se vyskytuje v nízkých koncentracích. Tzv. vařivé aroma, jehož nositelem je například sulfan nebo další sirné sloučeniny, se projevuje u mlék ošetřených vysokoteplotní úpravou (*Ultra-high temperature processing*, UHT) nebo pasterizovaných při vyšších teplotách. Významné jsou také 2-alkanony (methylketony) vznikající termickou dekarboxylací β -ketokyselin (hlavně 2-hexanon, 2-heptanon a 2-nonanon), γ -laktony a δ -laktony vznikající dehydratací γ -hydroxykyselin a δ -hydroxykyselin. Z karbonylových sloučenin je významný biacetyl, hexanal a výše zmiňované 2-methyl-butanol, (Z)-4-heptenal a (E)-2-nonenal [32].

Moid a kol. [33] se pomocí vysokorozlišovací plynové chromatografie zaměřili na detekci aroma u syrového, pasterizovaného a UHT mléka. Ve studii popsali 15 sloučenin, které představují silné odoranty pro všechny tři typy mlék. Ze všech aromatických aktivních sloučenin jsou pouze tři společné. Jedná se o dimethylsulfon, indol a jednu neznámou sloučeninu s retenčním indexem 1154, která vykazuje ovocný sladký zápach. Za nejsilnějšími odoranty syrového mléka je považován ethylbutanoát a ethylhexanoát, v pasterizovaném mléce dimethylsulfon a hexanal a v UHT mléce 2-heptanon a 2-nonanon. Tepelné zpracování mléka vede k výrazné modifikaci profilu chuti.

Ftaláty, neboli estery kyseliny ftalové, představují poměrně širokou skupinu chemických látek, které se používají především jako změkčovadla do plastů. Uvádí se, že jejich dlouhodobá expozice i nízkých dávek představuje závažné negativní účinky embryotoxické, teratogenní,

karcinogenní, hepatotoxické aj. Velice často používaným plastifikátorem na světě je di-(2-ethylhexyl) ftalát (DEHP) [34].

Problematikou uvolňování ftalátů z trubic polyvinylchloridu (PVC) do syrového kravského mléka během dojení se zabýval Yong-Lai Feng a kol. [35]. K jejich izolaci zvolili HS-SPME a následnou analýzu pomocí GC-MS. Výsledky této analýzy poukázaly na potenciální vyluhování DEHP z hadiček do syrového mléka, zároveň tato metoda byla dostatečně citlivá i k zachycení benzylbutyl ftalátu (BBP) a di-(2-ethylhexyl) ftalátu (DEHP) v odebraných kravských mlékách.

1.2.3 Alkoholické nápoje

I přesto, že k České republice neodmyslitelně patří výroba a konzumace piva, tak i výroba ovocných destilátů je velmi oblíbená, především na Moravě. Ovocným destilátem se podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 110/2008 ze dne 15. 1. 2008 označuje lihovina vyrobená alkoholovým kvašením a destilací dužnatého ovoce nebo moštu takového ovoce, bobulovin nebo zeleniny, s peckami nebo bez pecek [36].

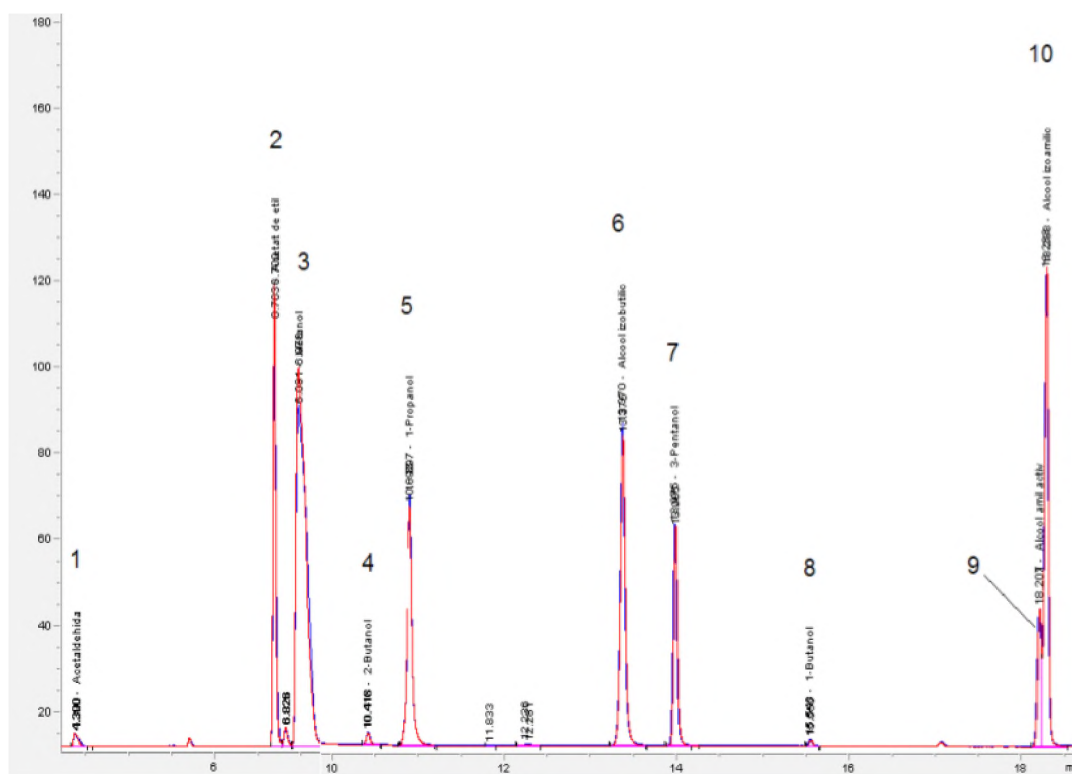
Hlavními složkami ovocných destilátů jsou ethanol a voda. Další podstatnou složku tvoří, jak již název říká, ovoce. Majoritně se k jejich výrobě využívají švestky. Lze použít i peckoviny (třešně, broskve, meruňky apod.), jádrové ovoce (hrušky a jablka) a drobné ovoce (různé druhy bobulí). Proto bývá aroma výsledného produktu velice pestré. Významnou roli v oblasti chuti a vůně čerstvého destilátu hrají aromaticky aktivní těkavé látky. Z chemického pohledu se jedná o alkoholy, aldehydy, estery, karboxylové kyseliny a těkavé fenoly [37].

Výsledná kvalita lihovin je ovlivněna hned několika faktory. Přírodní aroma ovlivňuje dané ovoce (primární chuť). Na přírodním aroma se podílí doba sklizně, zeměpisný původ, způsob pěstování a následně skladování. Na výsledné vůni se podílí i fermentace (sekundární příchut'), destilace (terciální příchut') a zrání nápoje (kvarterní příchut') [37].

Ve vybraných ovocných destilátech a likérech popsali Sliwinska a kol. [37] vhodné metody pro sledování procesu fermentace (pomocí HPLC), analýzu těkavých sloučenin (GC ve spojení s MS nebo FID detektorem), stanovení obsahu vybraných sloučenin (spektrofotometrická analýza) i určení organoleptických vlastností (senzorická analýza).

Rusu Coldea a kol. [38] identifikovali a kvantifikovali těkavé látky v ovocných destilátech (vyrobených ze švestek, jablek a hrušek) pomocí GC-FID. Této analýze bylo podrobeno 26 vzorků z různých míst Sedmihorska (Rumunsko). Hlavní detekované těkavé sloučeniny

kromě ethanolu byly acetaldehyd, ethylacetát, methanol, 1-propanol, 2-butanol, isobutylalkohol, amylalkohol, 1-butanol a furfural. Obr. 3 zobrazuje chromatogram jednoho z analyzovaných vzorků. Hodnoty nalezených těkavých látek byly průměrné v porovnání s údaji z ostatních evropských zemí (ČR, Slovinsko, Itálie, Řecko a Turecko). Acetaldehyd, ethyl-acetát a amylkohol uvolněný během fermentačního procesu byl následně zodpovědný za chuť a kvalitu těchto destilátů.



Obrázek 3 GC-FID chromatogram hlavních těkavých sloučenin ve vybraném vzorku [38]
 1) acetaldehyd; 2) ethyl-acetát; 3) methanol; 4) 2-butanol; 5) 1-propanol;
 6) iso-butylalkohol; 7) 3-pentanol; 8) 1-butanol; 9) amylalkohol; 10) isoamylalkohol.

Rozdíly v chemickém složení těkavých profilů ve vybraných ovocných destilátech se zabývali Bajer a kol. [36]. Vzorky pocházely z různých částí moravského regionu v České republice. Výsledky ukazují, že na základě znalosti těkavých profilů daných lihovin, které především ovlivňují chuť a kvalitu, lze zjistit jejich původ. Statickým hodnocením jednotlivých vzorků byly odhaleny některé charakteristické sloučeniny pro jednotlivé druhy lihovin. Například γ -decalacton dominuje v těkavých profilech ovocných destilátů připravených z meruněk, (E)- β -farnesen je typický pouze pro jablečné lihoviny.

1.3 Úprava vzorků před analýzou

Přímá analýza těkavých organických látek je možná jen zřídka, jelikož se pohybují v analyzovaných maticích ve velmi nízkých koncentracích (ng/l- μ g/l), tudíž příprava řady vzorků začíná zakoncentrováním. K často užívaným metodám pro přípravu vzorků k analýze sensoricky aktivních látek patří destilace s vodní parou, extrakce vhodným rozpouštědlem (může jít o systémy kapalina-kapalina nebo tuhá látka-kapalina). Zmíněné postupy se často vyznačují časovou náročností a používáním organických rozpouštědel, která navíc mohou být i zdraví škodlivá. Dnes stoupají požadavky na rychlost a zároveň spolehlivost analytických metod společně s ekonomickými aspekty [39].

1.3.1 Extrakce tuhou fází

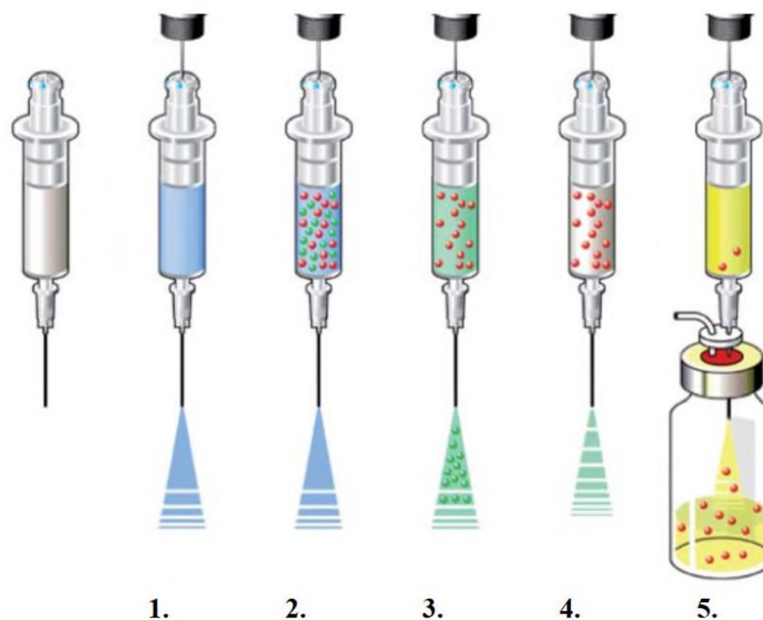
Jednou z dnes často využívaných technik, především pro její dobrou účinnost zakoncentrování, nízkou spotřebu organických rozpouštědel a časovou nenáročnost, je extrakce tuhou fází (SPE, *Solid-Phase Extraction*). Při SPE se uplatňuje rovnováha mezi tuhou fází a kapalnou fází, ve které jsou stanovované analyty včetně dalších obsažených látek v matici [39].

Princip spočívá v zachycení sledovaných analytů pomocí speciálních sorbentů díky silným, ale vratným, interakcím mezi analytem a povrchem stacionární fáze, přičemž by nemělo dojít k interakcím mezi stacionární fází a složkami matrice. Při extrakci se využívá chemických vlastností molekul, které v důsledku mezimolekulových interakcí ulpívají na sorbentu. Molekulárními interakcemi jsou: van der Waalsovy síly („nepolární“ interakce), vodíkové vazby a dipól-dipólové interakce („polární“ interakce) a kation-aniontové interakce [39; 40].

Při SPE přecházejí analyty z kapaliny nebo plynu na tuhý porézní sorbent. K jejich sorpci dochází často na polymerních materiálech, které jsou buď polární nebo nepolární, a vybírají se podle druhu analytu. Charakter sorbentu určují funkční skupiny v něm obsažené. V praxi se lze setkat s polymery trojího typu. Pro normální fáze (polární) se využívá silikagel, florisil, oxid hlinitý nebo polárně modifikovaný silikagel. U reverzních fází (nepolárních) je k dispozici nepolárně modifikovaný sorbent (oktadecyl C18, oktyl C8, fenyl apod.). K iontové výměně se využívá aminoskupiny (-NH₂), kvarterního aminu (N⁺), karboxylové skupiny (-COOH) apod. Sorbenty se mohou plnit kolonky, injekční stříkačky i trubice [39; 40].

Nejprve dochází ke kondicionaci sorbentu, čímž se SPE kolonka připraví na interakci se vzorkem. Následně se aplikuje vzorek, který je veden přes SPE kolonku a sloučeniny jsou zachyceny sorbentem v kolonce. Některé interferující látky z matrice mohou být následně odstraněny promytím vhodným rozpouštědlem do odpadu. Ve třetím kroku dochází k promytí

interferujících látek matrice z povrchu stacionární fáze. Žádoucí analyty jsou prostřednictvím vhodného elučního rozpouštědla eluovány. Průtok analytu přes kolonku se urychluje např. vakuem na výstupu z kolonky, tlakem na vstupu kolonky nebo centrifugací. Na Obr. 4 jsou zobrazeny jednotlivé kroky SPE extrakce [39; 40; 41].



Obrázek 4 Postup při SPE [42] 1.kondicionace 2. extrakce 3. promytí 4. sušení 5. eluce

1.3.2 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakci tuhou fází (SPME, *Solid Phase Microextraction*) poprvé představil Pawliszyn na Universty of Waterloo (Ontario, Kanada) na počátku 90. let 20. století. SPME je jednoduchá účinná sorpčně-desorpční technika pro zakoncentrování a izolaci těkavých analytů ze vzorku. Zpočátku se SPME využívala pro stanovení těkavých látek v životním prostředí, postupně se tento postup začal uplatňovat jak v biomedicíně, tak v analýze potravin. Tato technika je zcela bezrozpouštědlová a nevyžaduje složitou instrumentaci. Při mikroextrakci dochází k sorpci analytu na povrch křemenného vlákna dokud není dosaženo rovnováhy [39; 41; 43].

Stejně jako každý chemický děj i mikroextrakce dospívá do rovnovážného stavu. Rovnovážný stav je ovlivněn celou řadou faktorů (typ a tloušťka vlákna, iontová síla roztoku, pH, míchání, teplota atd.). Množství extrahovaného analytu závisí na hodnotě rozdělovacího koeficientu vzorek – vlákno. Až koncentrace analytu dosáhne distribuční rovnováhy mezi matricí vzorku

a sorpční vrstvou vlákna, lze považovat extrakci za ukončenou. Jakmile se dosáhne rovnováhy, naextrahované množství zůstává konstantní a s růstem extrakčního času se nemění [39; 43].

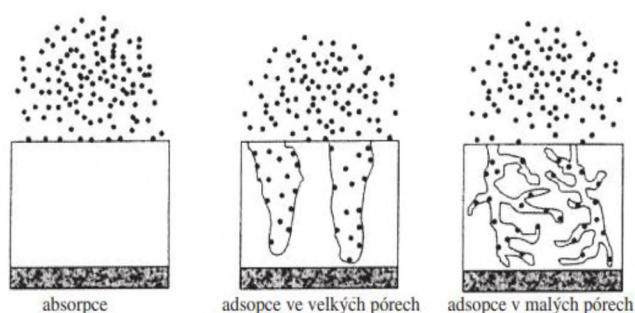
SPME se používá jak pro analýzu kvalitativní, tak kvantitativní. SPME také umožňuje získat lineární kalibrační křivku v širokém koncentračním rozmezí. Při výběru vhodného vlákna lze dosáhnout reprodukovatelných výsledků i pro nízké koncentrace analytů. Mezi významné znaky této techniky patří rychlost (resp. pohybovat se v časech, kde se drobné časové změny minimálně projeví na účinnosti extrakce), selektivita, citlivost, dobrá opakovatelnost, možnost automatizace, snadné spojení s vhodnou detekční metodou (zejména s plynovou chromatografií, vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií) a především finanční dostupnost [44].

1.3.2.1 Stacionární fáze

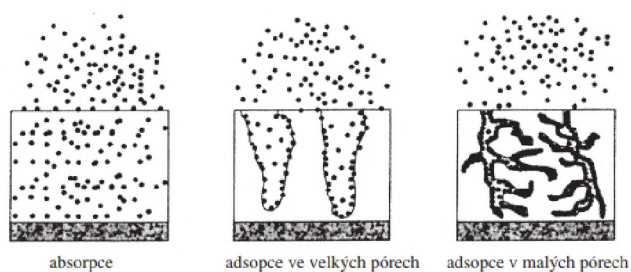
Volba vhodné stacionární fáze deponované na křemenném vlákne hraje zásadní roli při stanovení látek. Polymerní povlaky se navzájem liší polaritou a tloušťkou, přičemž selektivitu extrakčního postupu lze ovlivnit vhodně zvoleným typem stacionární fáze. Vlákna slouží pro opakované používání v závislosti na vlastnostech analyzovaného vzorku, na péči o vlákno a na typu aplikace. Analyty z matrice se zachytávají do vrstvy pokrývající vlákno, tudíž se na základě vlastností analytu vybere optimální vlákno. I zde se uplatňuje známé Liebigovo pravidlo - podobné se rozpouští v podobném. V praxi to znamená, že nepolární vlákna by se měla používat pro extrakci nepolárních analytů a naopak. Obecně platí, že těkavé látky vyžadují silnější vrstvu polymeru a slabší vrstva je zase účinnější pro sorpci a desorpci středně těkavých analytů [43].

Podle způsobu mechanismu lze stacionární fáze rozdělit do dvou hlavních kategorií. Do té první spadají tzv. homogenní čisté polymery, které obsahují polydimethylsiloxan (PDMS) nebo polyakrylát (PA), pro které je převládajícím mechanismem absorpce. V případě absorpce je analyt zachycen přímo ve vrstvě polymeru pokrývající křemenné vlákno. Pro tento typ vláken platí, že množství extrahovaného analytu je lineárně závislé na počáteční koncentraci, ovšem za předpokladu, že proměnné parametry, jako jsou doba extrakce, teplota a proces převodu hmoty, jsou udržovány konstantní. Vlákna s tímto typem stacionární fáze se používají především pro látky méně těkavé, jelikož nabízejí mnohem lepší citlivost než dále zmiňované směsné fáze [43; 45; 46].

Dominantním mechanismem pro druhý typ stacionární fáze je adsorpce. Tyto fáze obsahují polydimethylsiloxan/divinylbenzen (PDMS/DVB), CarbowaxTM/divinylbenzen (CW/DVB) nebo CaboxenTM polydimethylsiloxan (CAR/PDMS). Při adsorpci je analyt zachycen na povrchu porézních částic, které jsou naneseny ve vrstvě polymeru na povrchu vlákna. Tento děj je omezen velikostí povrchu stacionární fáze na vlákně. V praxi to znamená, že molekula s vyšší afinitou ke stacionární fázi může nahradit molekulu s afinitou nižší. Tento adsorpční typ stacionární fáze je vhodné použít zase u analytů těkavých. Schématické zobrazení absorptivní versus adsorptivní extrakce je zobrazen na Obr. 5 a 6 [43; 45; 47].



Obrázek 5 Extrakční mechanismy na vlákně – počátek sorpce [43]



Obrázek 6 Extrakční mechanismy na vlákně – dosažení rovnovážného stavu [43]

Významným parametrem stacionární fáze je i její tloušťka. Obecně platí, že těkavé látky vyžadují silnější vrstvu polymeru a slabší vrstva je zase účinnější pro sorpci a desorpci středně těkavých analytů. Tenká vrstvička nemá tak dobré extrakční vlastnosti jako vrstva silná, nicméně k termální desorpci u ní dochází rychleji. Výše vroucí složky ze vzorku extrahuje účinněji silná vrstva, kdežto desorpce je dlouhotrvajícím procesem, analyt tudíž může být přenášen až do další extrakce [43; 45].

V následující tabulce (Tab. 1) jsou uvedeny základní komerčně dostupná SPME vlákna, použité sorpční materiály, jejich tloušťka a doporučené použití:

Tabulka 1 Přehled vláken používaných pro SPME [43]

Stacionární fáze/tloušťka vrstvy	Zkratka názvu stacionární fáze	Určeno pro chromatografii	Doporučeno pro analýzu
polydimethylsiloxan 100 µm 30 µm 7 µm	PDMS	GC/HPLC	těkavé látky nepolární, středně těkavé látky
polydimethylsiloxan/divinylbenzen 65 µm 60 µm StableFlex™ 65 µm	PDMS/DVB	GC HPLC GC	polární těkavé látky obecné užití (pouze pro HPLC)
polyakrylát 85 µm	PA	GC/HPLC	polární, středně těkavé látky
Carboxen™/polydimethylsiloxan 75 µm StableFlex™ 85 µm	CAR™/PDMS	GC GC	stopové koncentrace těkavých látek
Carbowax™/divinylbenzen 65 µm StableFlex™ 70 µm	CW™/DVB	GC GC	polární látky
Carbowax™/pryskyřice 50 µm	CW™/TPR	HPLC	povrchově aktivní látky, (pouze HPLC)
Divinylbenzen/Carboxen™/polydimethylsiloxan 50 µm/ 30 µm	DVB/CAR™/PDMS	GC	těkavé a středně těkavé látky C3-C20

1.3.2.2 Teplota a délka extrakce

Délka sorpce se volí tak, aby bylo dosaženo co nejúčinnější extrakce. Za vhodnou dobu extrakce je považován čas, za který bude dosaženo rovnováhy mezi analytem ve vzorku a analytem zachyceným na sorpční vrstvě. Optimální doba se nejčastěji zjistí proměřením závislosti výtěžnosti analytu na době sorpce [46].

Zvýšením teploty se může významně zkrátit doba ekvilibrace i s celkovým postupem extrakce. Při vyšších teplotách dochází k zvýšení rychlosti extrakce, což znamená, že dochází k rychlejšímu ustanovování rovnovážného stavu. Tím je urychlena difúze analytu směrem k vláknu i snadnější uvolňování analytu z vlákna, čehož lze využít při zavádění vlákna do nástřikového prostoru detekční techniky [46].

Při výběru extrakční teploty je důležité zohlednit složení analyzovaného vzorku. Často se jedná o komplexní matrice, které se vyznačují různou polaritou a těkavostí. Pro látky těkavé se volí spíše nižší teplota, kdežto u látek méně těkavých roste jejich koncentrace v prostoru parní fáze (headspace) se zvyšující se teplotou. To platí do okamžiku ustanovení rovnováhy [45; 48].

1.3.2.3 Účinky soli a pH

Významný vliv na výsledek extrakce má i přidavek soli a úprava pH. Přidáním 25-30 % hmotnostních procent soli (nejčastěji NaCl nebo Na₂SO₄) nebo úpravou pH vzorku lze dospět ke zvýšení iontové síly roztoku a tím snížení rozpustnosti analytu. Zvýšením iontové síly roztoku po přidavku soli do vzorků se zvýší výtěžek extrakce pro řadu analytů, a to zejména u polárních a těkavých látek. Zvýšení iontové síly roztoku se nedoporučuje u vysoce polárních látek, jelikož pak dochází k vzniku mnoha interferujících píků. Další cesta k vyššímu výtěžku extrakce může být vhodnou úpravou pH vzorku. Tato úprava je důležitá především při extrakci kyselých a bazických složek, kdy se dbá na potlačení disociace látek, což znamená, že kyselé látky jsou lépe extrahovány v kyselém prostředí, kdežto bazické složky v prostředí bazickém [47].

1.3.2.4 Míchání

U těkavých analytů při HS-SPME nemá míchání tak velký význam jako u méně těkavých analytů, kdy dochází ke zrychlení transportu na vlákno. V případě přímé sorpce podpoří míchání rychlejší dosažení rovnováhy, a to především u látek s vyšší molekulovou hmotností a vysokými difuzními koeficienty. Měnit rychlost míchání během vzorkování není vhodné, jelikož to může vést k horším a nereprodukovatelným výsledkům. V praxi se lze setkat se čtyřmi způsoby míchání vzorku. Nejběžněji užívanou technikou je magnetické míchání, kde je ale nevýhodou vnášení magnetického tělíska, jelikož může dojít ke kontaminaci vzorku z vnějšího prostředí [47; 49].

Dalšími způsoby mohou být pohyb nádoby (vortexové míchání), míchání pomocí vibrace vlákna nebo ultrazvuk (sonikace). Oproti magnetickému míchání spočívá výhoda vortexového míchání a míchání pomocí vibrace vlákna v tom, že vnější objekt (magnetické míchadlo) nemusí být do lahviček se vzorkem přidáván manuálně, takže se zabrání možné kontaminaci vzorku. Zároveň se musí brát ohled i na objem vzorku, např. při použití vibrační vlákna, jelikož účinnější míchání bylo zaznamenáno při menších objemech. Při zavedení sonikace jsou použity ultrazvukové vlny, které podpoří sorpci analytu, což může způsobit odpaření vzorku do prostoru headspace a zkvalitnit tento způsob extrakce [46; 48].

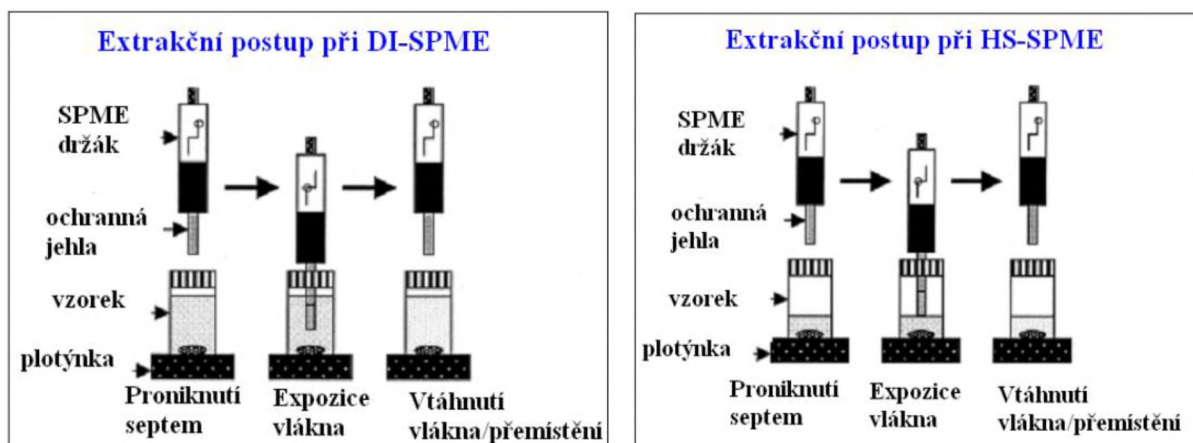
1.3.2.5 Sorpce analytů

Tato metoda umožňuje provádět dva způsoby sorpce analytu z analyzovaného prostředí. První způsob je tzv. přímý kontakt neboli přímá sorpce ze vzorku na vlákno. Tento způsob se často

označuje pod zkratkou DI-SPME (Direct Immersing SPME) a využívá se především pro netěkavé látky ať už z tuhého nebo kapalného skupenství [50].

Druhým častěji užívaným způsobem je headspace technika označovaná zkratkou HS-SPME (Headspace SPME). Při HS analýze dochází k ustanovení rovnováhy v třífázovém systému (vlákno - vzorek - prostor nad vzorkem). Tato metoda se uplatňuje především pro extrakci těkavých látek a látek s nízkým bodem varu, které snáze přechází do plynné fáze. Vytěsnění látek z kapalného vzorku do parního prostoru je možné podpořit dvěma způsoby: zvýšenou teplotou nebo zvýšenou iontovou silou vzorku pomocí vysolení. Ustanovení rovnováhy nastává v tomto třífázovém stavu rychleji než u DI-SPME, jelikož v plynu se molekuly analytu pohybují rychleji než v ostatních skupenstvích. Obr. 7 zobrazuje dva možné způsoby extrakčních postupů [20; 49, 50, 51].

Obě zmiňované techniky mohou být následně použity v kombinaci s GC, GC-MS nebo HPLC a HPLC-MS [48; 49; 50].



Obrázek 7 Znáornění extrakčních postupů při DI-SPME/HS-SPME [52]

1.3.2.6 Desorpce

Desorpce analytů z vlákna a jejich následná separace probíhá v GC nebo SPME-HPLC adaptéru. Tento proces je podřízený bodem varu analytu, tloušťkou povlaku vlákna a teplotou nástřikového portu [41].

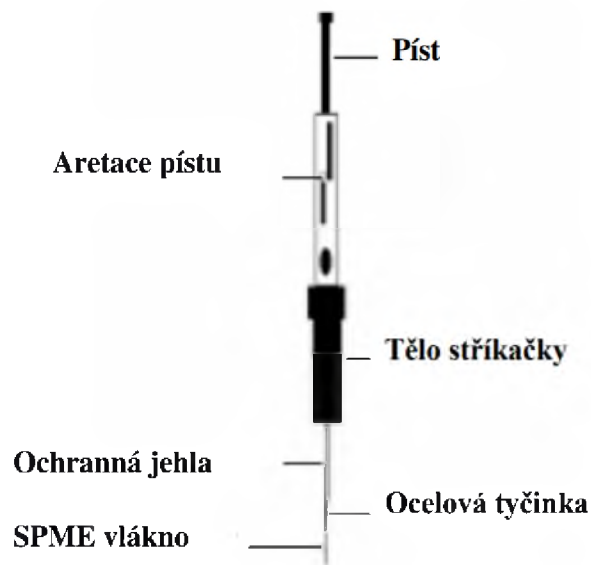
U plynové chromatografie je jehla zavedena do nástřikového portu, kde je analyt tepelně desorbován a nesen na GC kolonu. Běžně se používá tepelná desorpce se zvyšováním teploty, která může být postupná nebo skoková. Desorpci pomalu uvolňujících látek lze podpořit chlazením desorbovaných látek před jejich vstupem do kapilární kolony [49].

U kapalinové chromatografie je propojení s SPME umožněno prostřednictvím speciálního adaptéru. K uvolnění analytu z vlákna dochází v desorpční komoře. Podle síly sorpce analytu lze zvolit statickou desorpci nebo dynamickou desorpci. Při statické desorpci je desorpční komora naplněna desorpčním činidlem, vlákno je umístěno do desorpčního činidla a analyt z vlákna se zde ponechá určitou dobu desorbovat. Následně je skrz desorpční komoru v desorpčním činidle unášen v toku mobilní fáze na kolonu. Při dynamické desorpci je analyt z vlákna vymýván přímo proudem mobilní fáze a následně unášen na kolonu [49].

1.3.2.7 Postup při mikroextrakci tuhou fází

Nejdůležitější součástí SPME jednotky tvoří 1 cm nebo 2 cm dlouhé křemenné vlákno pokryté stacionární fází (viz Obr. 8), které je spojeno s ocelovým pístem. Aby se zamezilo mechanickému poškození, vlákno je zasunuto dovnitř duté ocelové jehly. Při opakovaném používání se vlákno před vlastní analýzou aktivuje zahřátím [20; 40; 43].

Proces SPME se skládá ze dvou hlavních kroků: z procesu extrakce a z procesu desorpce. Extrakční proces má několik jednoduchých kroků. Jehla s vláknem se zasune do prostoru a posunutím pístu se vlákno vysune do vzorku, popřípadě do prostoru nad jeho hladinou. Následně dochází k sorpci organických analytů do vrstvy pokrývající vlákno. Po dosažení sorpční rovnováhy (obvykle 2-30 min) se vlákno opět zatáhne dovnitř jehly a celá jehla se ze vzorkované matrice vytáhne. Poté se jehla zavede do nástřikového prostoru příslušné detekční techniky, kde dochází k desorpci [49].



Obrázek 8 SPME v manuálním uspořádání [53]

1.3.3 Teoretické vztahy pro výpočet extrahovaného množství analytu

Adsorpce představuje děj, při kterém jsou látky vázány na povrch sorbentu chemickými nebo fyzikálními silami. Průběh adsorpce lze popsat adsorpční rovnováhou, která určuje množství látky schopné se sorbovat na povrch, a adsorpční kinetikou, která stanovuje rychlost tohoto děje. Adsorpční rovnováha je charakterizována funkční závislostí naadsorbovaného množství analytu na koncentraci. Mnohdy se využívají adsorpční izotermy, především rovnice Freundlichovy a Langmuirovy izotermy [52].

Proces extrakce na vrstvu vlákna je možné popsat na základě Langmuirovi teorie adsorbce a je vyjádřen následující rovnicí (1).

$$n = C_{fA}^{\infty} V_f = \frac{K_A V_s V_f C_{0A} (C_{f\max} - C_{fA}^{\infty})}{V_s + K_A V_f (C_{f\max} - C_{fA}^{\infty})} \quad (1)$$

Kde n je látkové množství extrahovaného analytu, C_{fA}^{∞} je koncentrace analytu A na vlákne v rovnovážném stavu, V_f objem vrstvy na povrchu vlákna, K_A je adsorpční rovnovážná konstanta pro analyt A, V_s je objem vzorku, C_{0A} počáteční koncentrace analytu ve vzorku, $C_{f\max}$ je maximální dosažená koncentrace na vlákne [53].

Je-li C_{fmax} mnohem větší než C_{fA}^∞ , a nebo je-li afinita analytu k adsorpční vrstvě velmi malá, lze sledovat lineární závislost mezi počáteční koncentrací a extrahovaným množstvím. Pokud ovšem není množství analytu v adsorpční vrstvě zanedbatelné ve srovnání s celkovým povrchem adsorpční vrstvy, lineární závislost nebude pozorována [53].

Druhým možným dějem, který může nastat při SPME je **absorpce**. Během absorpce při SPME dochází k rozdělení analytu mezi maticí vzorku, která může být v plynném, kapalném nebo tuhém stavu, a vláknem SPME, které může být na povrchu opatřeno kapalnou nebo tuhovou vrstvou. Ve srovnání s adsorpcí nedochází k sorpci pouze na povrch sorbentu, ale dochází k sorpci do vrstvy sorbentu [49; 53].

Pro kapalně sorbenty SPME vláken je v rovnovážném stavu celkové množství analytu sorbovaného do sorpční vrstvy přímo úměrné koncentraci analytu ve vzorku. Pro dvoufázové systémy je množství analytu absorbovaného při extrakci v kapalně vrstvě na povrchu vlákna vyjádřeno pomocí rovnice (2) [49].

$$n = \frac{K_{fs}V_sV_fC_0}{V_s + K_{fs}V_f} \quad (2)$$

Kde K_{fs} je rozdělovací koeficient systému vlákno/vzorek, V_f je objem vrstvy na povrchu vlákna, V_s je objem vzorku, C_0 je počáteční koncentrace analytu ve vzorku, n je množství analytu extrahovaného absorpcí.

Z výše zmíněné rovnice vyplývá lineární vztah mezi počáteční koncentrací analytu ve vzorku a množstvím analytu sorbovaného na vlákne. Materiály uplatňované na SPME vlákna se vyrábí s ohledem na co nejvyšší hodnoty K_{fs} . Čím vyšší bude K_{fs} vlákna, tím se docílí vyšší sorpční schopnosti a selektivního efektu vlákna. V praxi hodnota K_{fs} nenabývá tak vysokých hodnot, aby se analyt úplně extrahoval z matrice, a proto je metoda SPME metodou rovnovážnou. (V případě kvantitativní analýzy je nutné použít externí kalibraci nebo vnitřní standard). Je-li hodnota objemu vzorku V_s vysoká, nemá množství extrahovaného analytu souvislost s objemem vzorku. Toto lze uplatnit v terénní analýze při odběru vzorků v terénu, ve vzduchu, z řeky apod. V případě, kdy hodnota V_s ve jmenovateli nabývá vyšších hodnot než K_{fs} , je možné rovnici zjednodušit a upravit do následujícího tvaru (3) [49; 53].

$$n = K_{fs}V_fC_0 \quad (3)$$

1.3.4 Vakuová mikroextrakce tuhou fází

Jedná se o jednu z nově vyvinutých analytických metod, která se snaží vylepšit HS-SPME dosažením nižších detekčních limitů. Tato metoda poskytuje nižší detekční limity při kratší době extrakce u méně těkavých analytů. Ukázalo se, že pomocí vakuové mikroextrakce tuhou fází (*Vacuum-Assisted Headspace Solid-Phase Microextraction*, Vac-HSSPME) docházelo i ke snížení křížové kontaminace vzorků z laboratorního vzduchu, což lze uplatnit pro identifikaci a kvantifikaci látek u látek v životním prostředí [54].

Při optimalizaci metod využívajících sníženého tlaku jsou důležité následující parametry: vhodná volba sorpční fáze SPME vlákna, doba potřebná k vytvoření vakua, teplota a doba extrakce, způsob míchání a poměr headspace prostoru ke vzorku [54].

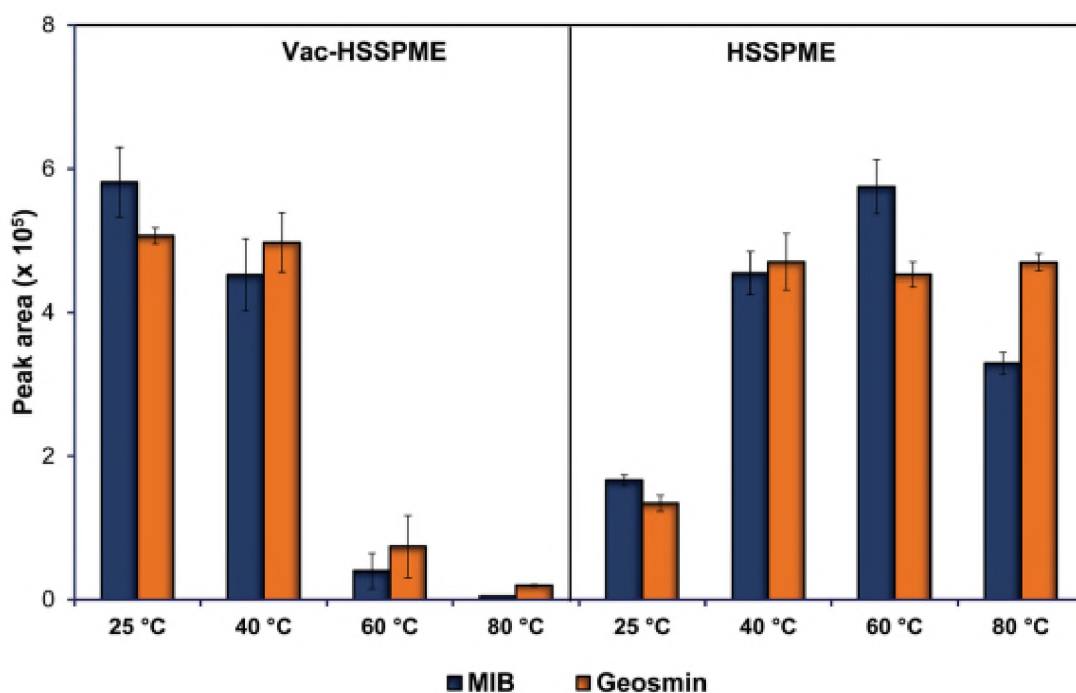
Sorpční fáze SPME vlákna by měla být blízká polaritě extrahovaných sloučenin, což platí i u klasické HS-SPME. Tím je pak hodnota distribuční konstanty K_{fs} dané sloučeniny (mezi stacionární fází a vzorkem) větší, přičemž se zvýší i citlivost metody. U Vac-HSSPME mají uplatnění porézní povlaky (adsorbenty), jelikož snížením tlaku uvnitř pór se zvýší efektivní difuzní koeficient analytu v pórech, a tím bude rychlejší transport složek vzorku (analytů) v porézních povlacích. Rychlejší extrakční kinetikou lze podpořit kompetici analytů na aktivních místech adsorbentu, což může vést k vyšší rychlosti extrakce [54].

Vhodnou volbou sorpční fáze a dalšími optimalizačními parametry se zabývali vědci ze Španělska, Řecka a USA [56], a to při určování těkavých volných mastných kyselin a fenolů v mléce a mléčných výrobcích pomocí Vac-HSSPME. Nejlepší výsledky byly dosaženy za použití CAR/PDMS vlákna. Extrakce na vláknu probíhala v rozmezí od 10 do 40 minut s následnou GC-MS analýzou. Při delších dobách extrakce byla zaznamenána snížená odezva u látek s nižší afinitou k povlaku. Na základě porovnávání ploch píků bylo zjištěno, že čím větší hodnota vytvořeného vakua, tím lepší odezva pro méně těkavé analyty. V porovnání s HS-SPME bylo zjištěno, že pro techniku se sníženým tlakem je vhodné volit mírnější podmínky extrakce (20 min a 35 °C). Pro dosažení maximální přesnosti se doporučuje pečlivá optimalizace a kontrola doby extrakce.

Podstatným parametrem během Vac-HSSPME je volba extrakční teploty [48]. Pomocí teploty lze ovlivnit odezvu analytů, zejména těch, které mají vysokou afinitu ke vzorku. Příkladem toho může být extrakce polárních látek z vody. Zároveň teplota může mít bilaterální účinek, neboť se zvyšováním teploty dochází k rychlejšímu ustanovování rovnovážného stavu vlivem zvýšených hodnot difuzních koeficientů, zároveň dochází ke snížení K_{fs} - distribuční konstanty

dané sloučeniny mezi stacionární fází a vzorkem, což může vést ke snížení citlivosti (extrakční účinnosti) [3].

Glykioti a kol. [57] potvrdili, že zvýšená teplota má při extrakci polárních látek z vody nežádoucí vliv na jejich extrakci. Pro stanovení geosminu a 2-methylisoborneolu (MIB) byly navrženy čtyři extrakční teploty 25 °C, 40 °C, 60 °C a 80 °C. V porovnání s HS-SPME byl při Vac-HS-SPME zaznamenán až pětinasobný pokles odezvy při 60 °C a 80 °C (viz Obr. 9). Výsledky ukázaly, že za sníženého tlaku není zapotřebí vzorek tak zahřívat. Na základě porovnání celkové plochy píků byla navržena optimální teplota 25 °C pro analýzu za sníženého tlaku.



Obrázek 9 Vliv teplotních režimů při extrakci 2-methylisoborneolu (MIB) a geosminu při Vac-HSSPME a při klasickém atmosférickém tlaku HS-SPME [57].

Při zvýšení teploty se v headspace prostoru tlak vodní páry zvýší, což může mít vliv na odezvu analytů z matrice, jelikož molekuly vody mohou změnit vlastnosti stacionární fáze a tím i jeho afinitu [54].

Yiantzi a kol. [57] extrahovali polyaromatické uhlovodíky (PAU) pomocí Vac-HSSPME z vlhkého písku. Zjistili, že zahříváním vlhkého písku docházelo k výraznému zvýšení vlhkosti

v headspace prostoru, což vedlo k nepříznivému ovlivnění vlastností PDMS vlákna. Zároveň potvrdili, že přítomnost vody podporuje uvolňování organických sloučenin do headspace prostoru. Za použití vyšších teplot ($>40\text{ }^{\circ}\text{C}$) odezva PAU klesla o 30-50 %. K získání dostatečné citlivosti navrhované metody postačí zahřívání vzorku při $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Psillakis a kol. [58]. zaznamenali při extrakční teplotě nad $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vzorcích vody při extrakci nízkomolekulárních polycyklických aromatických látek ještě nižší odezvu analytů, a to v rozmezí 70-90 %.

Prostřednictvím vakua se zvýší hodnoty difuzních koeficientů analytů v plynné fázi, což může zpomalit hromadný transport analytů ze vzorku na hranici mezi vzorkem a headspace prostorem. Tento transport lze urychlit například mícháním, což může působit až dvojnásobné zvýšení odezvy u analytů [48; 56; 59].

Z tohoto důvodu bývá Vac-HSSPME často doprovázena mícháním, je ovšem náročné zvolit vhodnou techniku míchání. K méně užívaným způsobům patří protřepávání (agitate) vzorku, jelikož tato možnost může vést k poškození zařízení. U tuhých vzorků, např. půdy, lze vzorek promíchat až v případě, že se do nádoby přidá přebytek vody. Dalšími možnostmi může být magnetické míchání nebo mechanické míchání, které poskytuje větší odezvy analytů než u magnetického míchání [57; 60].

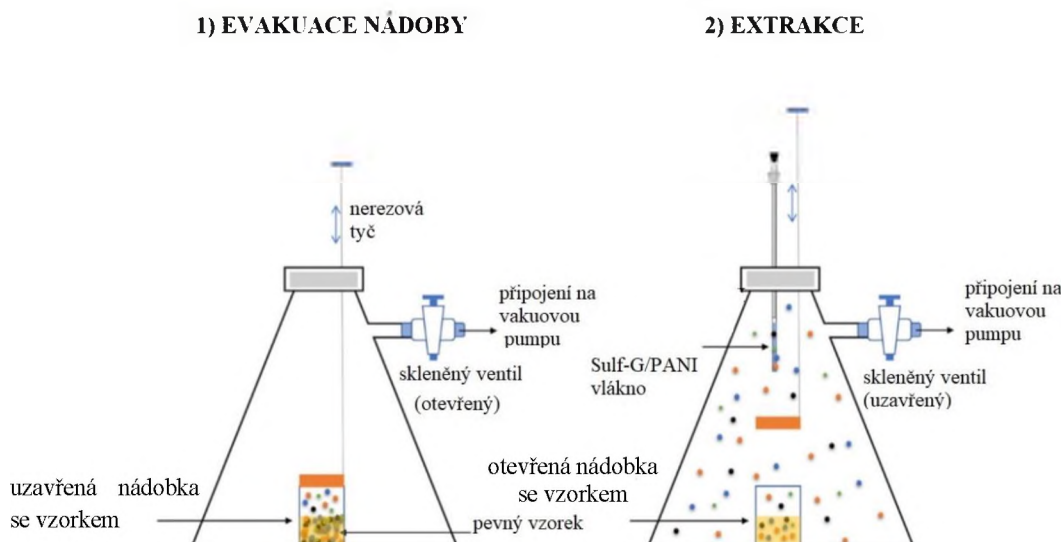
Při míchání vzorku se musí zvolit vhodný objem vzorku. Zvýšení poměru vzorku k headspace prostoru může vést ke zvýšení odezvy, a to především u analytů s dostatečnou afinitou k povlaku vlákna [56; 59].

Při míchání velkých objemů vodných vzorků nebo suspenzí (půda/voda) se mohou dostat kapičky vody na povrch vlákna, což může negativně ovlivnit celý extrakční proces a chromatografickou analýzu [61].

Jako příklad aplikace Vac-HSSPME lze uvést: Brunton a kol. [62] poprvé představili využití nižšího tlaku s pozitivními výsledky při získávání těkavých látek z vařeného a syrového krůtího masa. Homogenizovaný vzorek s ledem vpravili do 100 ml Erlenmayerovy baňky. Vakuum bylo vytvořeno pomocí injekční stříkačky přes polytetrafluorethylen (PTFE)/silikonové septum. Po vyjmutí injekční stříkačky bylo do Erlenmayerovy baňky umístěno CAR/PDMS SPME vlákno, na kterém probíhala sorpce vzorku po dobu 30 minut. Při porovnání s klasickou headspace analýzou zjistili, že při snížení tlaku se zvýšila odezva analytů až šestinásobně.

Analýzou těkavých složek z půdy se zabývali Beiranvand a kol. [63]. Oproti předchozímu experimentu Bruntona a kol. [62] využili pro vytvoření vakua vývěvu. Pro analýzu byla nádobka pro vzorek pomocí silikonového lepidla přilepena na dno Erlenmayerovy baňky o objemu 250 ml. Následně byla nádobka opatřena gumovou zátkou, která se otevírala a zavírala pomocí nerezové tyče přecházející přes gumovou zátku. Před provedením experimentu byla Erlenmayerova baňka propláchnuta dusíkem, aby došlo k odstranění kontaminace. Následně bylo do nádoby vpraveno 5 g kontaminované půdy. Poté byla celá aparatura uzavřena gumovými zátkami a propojena s vývěvou, která vytvářela vakuum v časovém rozmezí 10-300 s. Vývěva evakuovala komoru, zatímco vzorek zůstal při atmosférickém tlaku uvnitř nádoby. Po vypnutí vývěvy se drátkem otevřelo víčko lahvičky se vzorkem a v důsledku tohoto tlakového gradientu docházelo k uvolnění analytů z matrice a k rychlé disperzi v evakuované baňce. Následně probíhala extrakce na PDMS SPME vláknu po dobu 20 minut při 60 °C. Po extrakci byl vzorek podroben GC-FID analýze. Na základě získaných dat byla vyhodnocena optimální doba pro vytváření vakua 60 s.

S obdobnou aparaturou (Obr. 10) v roce 2018 Ghiasvand a kol. [65] kvantifikovali nikotin v tabáku a v lidských vlasech za využití nanokompozitního vlákna Sulf-G/PANI (sulfonovaný grafen/polyanilin). Součástí aparatury je upravená injekční stříkačka, která evakuuje daný objem a zároveň umožní vstup SPME vlákna do evakuovaného objemu. Na základě semikvantitativního porovnávání s vlákny PDMS a divinylbenzen/PMDS bylo vlákno Caboxen/PDMS významně efektivnější pro zachycení organofosforových sloučenin. Pomocí GC-MS zjistili, že po 30 minutách extrakce na 75 μm CAR/PDMS vláknu bylo shromážděno 0,1-10 % analytů. Pro lepší detekci by bylo vhodné použít dusíko-fosforový detektor. Jako optimální podmínky pro extrakci za sníženého tlaku byly nalezeny následující parametry: teplota extrakce 60 °C, čas extrakce 10 minut a navážka vzorku 1 g. Ghiasvand poukázal na fakt, že použití vyšších navážek u tuhých vzorků nemusí být vždy příznivé, jelikož může docházet k horšímu přestupu těkavých složek skrz vzorek do headspace prostoru.



Obrázek 10 Aparatura při Vac-HSSPME nikotinu z tabáku a lidských vlasů [65]

Groenewold a kol. [65] vytvořili jednoduchou aparaturu pro vytvoření vakua, která umožňuje sběr organofosforových sloučenin přímo ze skleněných povrchů nedestruktivním způsobem.

Pro sérii experimentů nebo rutinní analýzy není možné zatím Vac-HSSPME používat, jelikož je obtížné zapojit tvorbu sníženého tlaku do automatizovaného procesu. Při využití autosampleru je zapotřebí nejprve nádobky se vzorkem evakuovat. Takto předpřipravené vzorky mohou až několik hodin stát, než se začnou extrahovat, což může vést ke ztrátě vytvořeného vakua a tím i k nižší odezvě analytů [54].

Problémem ztráty vakua před samotnou analýzou se zabývala Orazbayeva a kol. [66]. K experimentu použili 20 ml lahvičky, které byly opatřeny polytetrafluorethylenovými septy s modifikovanými ventily Mininert. Nejprve lahvičky evakovali pomocí jednostupňového lamelového čerpadla po dobu 120 s a následně zavedli kapalnou vzorek pomocí injekční stříkačky do nádobky. Takto předpřipravené nádobky byly připraveny v autosampleru a následně proměřeny ve vybraných časových intervalech. Vyhodnocení optimálních podmínek bylo provedeno porovnáním počtu a sumy ploch všech píků v jednotlivých chromatogramech. Pokud cílové analyty byly ve vzorcích obsaženy ve středních koncentracích, jejich odpověď se pohybovala v rozmezí 78-120 % během prvních 24 h, po následujících 24 hodinách jejich odpověď klesla na 66-102 %. U nízkých koncentrací cílových analytů se odpovědi pohybovaly v rozsahu 72-115 %, po 24 h byl zaznamenán pokles na 70-113 % a po 48 h došlo k poklesu až na 61-107 %.

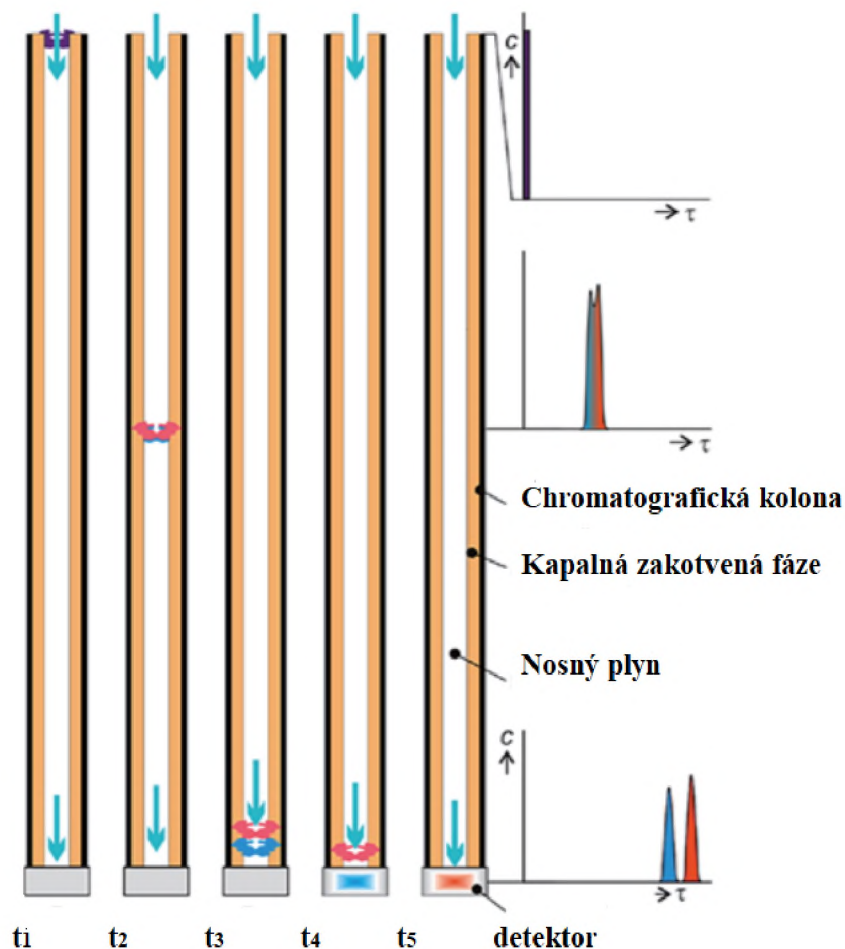
1.4 Analytické techniky pro analýzu pivovarských surovin

1.4.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (*Gas chromatography*, GC) je analytická a separační metoda, která má zásadní postavení i v pivovarském průmyslu. Plynově chromatografické postupy jsou součástí téměř všech oficiálních metodik pivovarských organizací jako European Brewery Convention, Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission, The Institute of Brewing nebo The American Society of Brewing Chemists [20; 67].

Předností plynové chromatografie je vysoké rozlišení (více než 200 000 pater/kolonu), výborná citlivost (limit detekce v pg), rychlé provedení analýzy a malé množství vzorku potřebné k analýze. Dnes se velmi často tato analytická metoda spojuje s extrakční technikami, které slouží pro izolaci látek z matrice a jejich zakoncentrování [68].

Princip separace látek pomocí plynové chromatografie je následující (viz Obr. 11). Vzorek se nastříkne do vyhřívaného bloku, kde se odpaří a ve formě par je unášen nosným plynem do kolony. Na chromatografické koloně se složky vzorku interagují se stacionární fází. Stacionární fáze může být kapalina nebo látka interagující se složkami vzorku unášeného proudem nosného plynu, který slouží jako mobilní fáze. Každá složka vzorku má svoji vlastní rychlost, která závisí na distribuční konstantě složky $K_D = c_s/c_m$, kde c_s a c_m jsou rovnovážné koncentrace složky ve stacionární a v mobilní fázi. Následně látky vycházejí z kolony v pořadí rostoucích distribučních konstant a vstupují do detektoru [69].



Obrázek 11 Princip dělení směsi se dvěma složkami v chromatografické koloně [70].

Tato technika umožňuje stanovení alkoholu, určení těkavých látek i stopových nečistot v pivovarském průmyslu. Analýza polárních a netěkavých látek může být provedena po předchozí derivatizaci, při které dochází ke snížení bodu varu, změně polarity látek a zlepšení stability separovaných látek [50; 68 ;70].

Pro stanovení těkavých sloučenin se dnes uplatňují kapilární kolony, a to především s málo až středně polární stacionární fází, např. difenyl dimethylpolysiloxan. Stejných výsledků lze dosáhnout i na vysoce polárních polyethylenových kolonách (PEG). Rychlost separačního procesu lze ovlivnit délkou, průměrem kolony a druhem stacionární fáze. Nejjednodušším způsobem, jak zkrátit čas analýzy, je zkrátit kolonu. Tento způsob je vhodné aplikovat pouze v případě, že je možné akceptovat nižší účinnost kolony, protože počet teoretických pater je přímo úměrný délce kolony. Obecně lze říci, že k lepší separaci píků dochází na delších kolonách a na kolonách s menším průměrem. K vyššímu rozlišení přispívá i přítomnost tenkého filmu stacionární fáze v úzkých kolonách, což vede k lepšímu přenosu hmoty mezi mobilní a stacionární fází [20; 68].

Pro analýzu těkavých senzoričky aktivních látek v pivovarském průmyslu se často používají kolony o délce 50 až 60 m s velmi vysokým počtem teoretických pater (200 000 a více). Horák a kol. [20] porovnávali vlastnosti dvou kapilárních kolon od výrobce J&W Scientific s fází typu DB-WAX s vnitřním rozměrem 0,18 mm, tloušťce filmu 0,18 μm a délce 20 m s klasickými kapilárními kolonami s vnitřním průměrem 0,32 mm, tloušťce filmu 0,25 μm a délce 60 m. Dokázali, že kapilární kolony s menším vnitřním rozměrem poskytly srovnatelné pracovní charakteristiky a vlastní čas analýzy zkrátily o 65 %.

V plynové chromatografii se nejčastěji k analýze těkavých látek používá především spojení s plamenovou ionizační detekcí a hmotnostní detekcí [41; 69].

Nejspolehlivější způsob kvalitativního vyhodnocení je spojení GC s hmotnostní spektrometrií (*Mass Spectrometry*, MS). Dnes se jedná o rutinní metodu, která se používá výhradně ve spojení s kapilárními kolonami. Hmotnostní spektrometr plní funkci strukturně selektivního nástroje, který umožní registraci zón látek eluovaných z kolony a jejich identifikaci na základě hmotnostního spektra. Prostřednictvím této kombinace je možné využívat specifickou detekci pro daný analyt a získání informace o struktuře neznámé látky. Předností tohoto spojení je možnost porovnávání získaných spekter se spektry tabelovanými [71].

Druhý velice rozšířený detektor, který dominuje vysokou citlivostí a širokým dynamickým rozsahem, je plamenový ionizační detektor (*Flame Ionization Detector*, FID) [69].

Detekce je založena na spalování a hydrogenaci látek vystupujících z kolony ve vodíkovém plameni za vzniku iontů a elektronů. Vzniklé ionty a elektrony způsobí vedení elektrického proudu mezi dvěma elektrodami s vloženým stejnosměrným napětím. Výsledný proud je pomocí vysokoimpedačního zesilovače zesílen a přes výstup z chromatografu je veden do vyhodnocovacího systému. Odezva detektoru je přímo úměrná koncentraci stanovované látky v nosném plynu. Tento detektor poskytuje odezvu téměř na všechny organické látky, pro uhlovodíky je odezva úměrná počtu uhlíkových atomů v molekule. Odezvu nedává většina anorganických plynů a par některých organických látek [69].

1.4.2 Vyhodnocení výsledků

Pro identifikaci pomocí plynové chromatografie lze použít několik postupů. V principu se identifikace provádí na základě srovnání retenčních dat látek a jejich hmotnostních spekter s databázemi [40].

Retenci (zadržení) lze charakterizovat nejčastěji pomocí retenčního času (t_R , doba, po níž se po nástřiku analyt eluuje), korigovaného retenčního času (t_R' , retenční čas zkrácený o dobu eluce látky, jež se při daných podmínkách na analytické koloně nezadržuje) nebo nejlépe retenčními indexy. Nejznámější metodou je Kovatsova metoda, která pracuje s tzv. Kovatsovým indexem. Retenční index (RI) vypovídá o charakteristice dané látky (retenční čas normalizovaný dle vztahu (4), kde z značí počet uhlíkových atomů příslušného n -alkanu). RI je za specifických podmínek pro danou látku konstantou a využívá se pro izotermální měření, jejichž výpočet uvádí rovnice (4) [40; 72].

$$RI = 100 \cdot \frac{\log(t'_x) - \log(t'_z)}{\log(t'_{z+1}) - \log(t'_z)} + 100 \cdot z \quad (4)$$

Kde t'_x , t'_z , t'_{z+1} charakterizují redukované retenční časy látky n -alkanu se z uhlíky a n -alkanu se $z+1$ uhlíky. Při stanovení RI platí, že retenční časy n -alkanů jsou vybrány tak, aby mezi nimi elulovala stanovovaná látka.

Obdobou jsou van den Doolovy a Kratzovy RI, které lze uplatnit při analýze komplexních směsí za použití programovaného teplotního režimu. Výpočet van den Doolových a Kratzových RI se provádí podle rovnice (5) [72].

$$RI = 100 \cdot \frac{t'_x - t'_z}{t'_{z+1} - t'_z} + 100 \cdot z \quad (5)$$

Pro identifikaci pomocí MS se uplatňuje tzv. full scan mód. Při tomto skenovacím režimu dochází k zaznamenání všech iontů ve vybraném rozsahu m/z , z něhož se získá celkový iontový proud (*Total Ion Current*, TIC). Následně lze ze záznamu hmotnostního spektra srovnáním s knihovnou spekter přímo určit, o jaký analyt se jedná. Ovšem pokud je velmi nízká procentuální shoda, je potřeba přistoupit k interpretaci spektra [71; 72].

Analýza těkavých látek ve sladech je popsána v řadě vědeckých publikací. Například Svoboda a kol. [30] využili spojení plynové chromatografie s plamenově-ionizační detekcí ke kvantitativní analýze aldehydu *trans*-2-nonenalu v ječném sladu a pivu. Měření doplňuje i GC-MS, která posloužila k jeho identifikaci. Pro izolaci tohoto aldehydu bylo porovnáno pět typů vláken: 100 μm PDMS, 65 μm PDMS/DVB, 85 μm CAR/PDMS 50/30 μm DVB/CAR/PDMS, 85 μm PA. Nejvyšší výtěžnosti bylo dosaženo vláknem PDMS/DVB při teplotě 60 °C a době extrakce 20 minut.

Studiem aroma profilů v různých typech odrůd ječmene a pšenice během sladování se zabývali Cramer a kol. [73]. K samotné extrakci bylo použito SPME vlákno 65 μm PDMS/DVB a následná desorpce probíhala v nástřiku GC-MS i GC-FID. Na základě výsledků identifikovali 26 těkavých složek a dospěli k závěru, že hlavními těkavými složkami ječného sladu jsou hexanal (46-1269 $\mu\text{g/l}$) a 1-pentanol (798-1811 $\mu\text{g/l}$). V pšeničném sladu byl vyhodnocen jako hlavní složkou 1-pentanol (723-748 $\mu\text{g/l}$).

Další obdobnou publikaci prezentovali Dong a kol. [74]. Pomocí SPME-GC-MS identifikovali 41 těkavých látek v deseti vzorcích sladového ječmene pocházejících z různých částí světa. Pro kvantifikaci těkavých látek byla použita GC-FID analýza. Ve srovnání s výše uvedenou studií [73], Dong a kol. detekovali o 15 těkavých sloučenin více. To může poukazovat na to, že vlákno DVB/CAR/PDMS, které bylo použit Dong a kol., je vhodnější pro analýzu těkavých látek kvůli jejich střední polaritě.

Beal a Mottram [75] identifikovali 35 těkavých sloučenin ve sladu ječmene. Vzorky byly odebírány ve fázi pražení a následně jejich identifikace byla provedena na olfaktometru spojeného s SPME-GC-MS. Za aroma s nejvyšším ředícím faktorem byl odpovědný 3-methylbutanal a 2-methylbutanal. 3-methylbutanal vykazoval kromě sladového a karamelového aroma i tóny čokoládové a mandlové. Aroma 2-methylbutanalu bylo popsáno jako sladové s tóny sýra a jablečných esterů.

Obecně lze ale vyvodit podobný závěr, tedy že dominantními složkami sladu jsou aldehydy, ketony alkoholy.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Analýza pivovarských sladů byla provedena za účelem extrakce sensoricky aktivních látek pomocí Vac-HSSPME. Vzorky sladu byly analyzovány spojením GC-FID a GC-MS detekce. Na základě GC-MS analýzy bylo zajištěno kvalitativní vyhodnocení získaného profilu těkavých látek vzorku porovnáním vypočtených retenčních indexů složek a porovnáním hmotnostních spekter daných látek s databázemi. Pomocí GC-FID měření byla zajištěna semi-kvantitativní analýza, čímž bylo i zjištěno relativní zastoupení daných složek v aromaprofilu.

2.1 Přístroje a zařízení

- Plynový chromatografu GC-2030 s FID detekcí a kombinací s MS-QP2020 NX detekcí (Shimadzu, Kyoto, Japonsko)
- Autosamplér AOC-6000 Plus (Shimadzu, Kyoto, Japonsko)
- Tlakové lahve s heliem (čistota 5.0), dusíkem (čistota 4.0), a vodíkem (čistota 5.0) (Linde Gas, Praha, ČR)
- Kapilární kolona SLB-5MS 30 m × 0,25 mm, tloušťka filmu 0,25 μm (Supelco Bellefonte, PA, USA)
- Sběr dat: GC Solution a GCMS Solution 4.20 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko),
- Interpretace hmotnostních spekter: knihovna spekter Národního institutu pro standardy a technologii (NIST 14 Mass Spectral library), knihovna FFNSC 2 (Flavour & Fragrance Natural & Synthetic Compounds GC/MS library)
- Software Statistica 12 (StatSoft, Inc., Praha, ČR)
- Mikroextrakční vlákna - 75 μm Carboxen/PDMS, 100 μm PDMS, 65 μm PDMS/DVB a 50/30 μm DVB/CAR/PDMS (Supelco Bellefonte, PA, USA)
- SPME držák (Supelco Bellefonte, PA, USA)
- Měřicí nádoby 20 ml (Fisher Scientific, Pardubice, ČR)
- Septa polytetrafluorethylen (PTFE) / silikon (Fisher Scientific, Pardubice, ČR)
- Analytické váhy Sartorius (Fisher Scientific, Pardubice, ČR)
- Plastová injekční stříkačka 50 ml (Fisher Scientific, Pardubice, ČR)
- Homogenizátor GRINDOMIX GM 200 (Fisher Scientific, Pardubice, ČR)

2.2 Vzorky a chemikálie

2.2.1 Vzorky a jejich příprava

Vzorky pivovarských sladů použité k analýzám byly nakoupené v obchodních řetězcích. Všechny vzorky byly skladovány za doporučených podmínek skladování (plastové uzavíratelné sáčky a temná místnost). Přehled použitých vzorků je uveden v následující tabulce (Tab. 2). Před navážením sladu byl obsah plastového uzavíratelného sáčku důkladně promíchán. Následně byl slad rozemlet na prášek pomocí homogenizátoru. Pro analýzy byly naváženy 3 g rozemletého sladu do měřicí nádoby o objemu 20 ml.

Tabulka 2 Přehled analyzovaných vzorků

Typ sladu	Název	Výrobce (místo, stát)
Ječný	Karamelový slad	humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Ječný	Pražený slad	humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Ječný	Bovorský slad	humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Ječný	Tradiční světlý slad plzeňského typu	Pivovar Primátor, Náchod (ČR)
Ječný	Český slad	humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Ječný	Černý slad	humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Ječný	Nakuřovaný slad z ječmene	humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Ječný	Caraaroma®	Weyermann®- Německo
Ječný	Carafa® Special III	Weyermann®- Německo
Ječný	Carahell®	Weyermann®- Německo
Ječný	Caramunich® II	Weyermann®- Německo
Ječný	Mnichovský slad II	Weyermann®- Německo
Ječný	Nakuřovaný slad	Weyermann®- Německo
Ječný	Pale Ale slad	Weyermann®- Německo
Ječný	Pražený ječmen	Weyermann®- Německo
Pšeničný	Pšeničný slad I	Pivovar Primátor, Náchod (ČR)
Pšeničný	Wheat Malt	humnová sladovna Záhlinice (ČR)
Pšeničný	Pšeničný slad II	humnová sladovna Záhlinice (ČR)

2.2.2 Chemikálie

Homologická řada *n*-alkanů C8-C40, *n*-pentan, *n*-hexan a *n*-heptan byly zakoupeny od Sigma-Aldrich (Praha, Česká republika).

2.3 Pracovní postup

2.3.1 Příprava vzorku před chromatografickou analýzou

Extrakce těkavých látek probíhala na základě výsledků z optimalizace. Slad byl před každou analýzou vždy upraven dle podmínek popsaných v kapitole 2.2.1. Po navážení 3 g vzorku do měřících nádobek byly nádobky uzavřeny víčky se septy pokrytým filmem teflonu/silikonu. Po propíchnutí septa byl ihned vytvářen podtlak pomocí plastové injekční stříkačky (50 ml) s jehlou nasátím 4× celého objemu stříkačky. Pro lepší údržnost vytvořeného podtlaku v měřících nádobkách byla septa měněna po každé extrakci. Extrakce látek byla zajištěna pomocí autosampleru, jehož součástí je i čistící jednotka. Izolace z headspace prostou byla provedena na vlákne 50/30 μm DVB/CAR/PDMS. Extrakce pobíhala při teplotě 90 °C po dobu 45 minut. Aby se zabránilo případné interferenci, bylo před zahájením další analýzy SPME vlákno tepelně čištěno při teplotě 250 °C po dobu 2 minut.

2.3.2 Plynová chromatografie

Desorpce látek probíhala v nástřikovém portu plynového chromatografu s plamenovým ionizačním detektorem nebo hmotnostním detektorem MS-QP2020 NX. Analyty byly separovány na nepolárních kapilárních kolonách SLB-5MS. Vzorky byly dávkovány pomocí automatického dávkovače. Veškeré optimalizované podmínky pro chromatografickou analýzu byly převzaty z diplomové práce D. Šuhajové [76].

2.3.3 Podmínky plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií

Teplota nástřiku vzorků byla při teplotě 250 °C, dávkování vzorků probíhalo při splitovacím poměru 1:10. Programovaný teplotní režim GC-MS analýzy byl následující: počáteční teplota kolony 55 °C (3 minuty), 6 °C/min \rightarrow 250 °C (10 minut). Hodnota ionizační energie byla nastavena na 70 eV. Pro měření byl použit scan mód, který proměřil všechny hodnoty m/z 19-600. Jako nosný plyn bylo použito helium 5.0 s nastavenou konstantní lineární rychlostí toku 30 cm/s.

2.3.4 Podmínky plynové chromatografie s plamenovým ionizačním detektorem

Teplota FID detektoru GC-2010 byla nastavena na 260 °C. Průtok vodíku byl nastaven na 32 ml/min a průtok vzduchu na 200 ml/min. Doplnkovým detektorovým plynem („make-up“) byl dusík s průtokem 24 ml/min. Dávkování vzorků probíhalo při splitovacím poměru 1:10 – 1:15 dle potřeby. Analytické podmínky jako jsou teplotní program, teplota nástřiku,

nosný plyn a typ kolony, byly stejné jako u GC-MS analýzy (viz kapitola 2.3.3).

2.3.5 Vyhodnocování chromatografických dat

K vyhodnocení získaných chromatogramů, tedy záznamů závislosti intenzity odezvy na retenčním čase, byl využit software GC Solution a GCMS Solution 4.20. Identifikace látek byla provedena pomocí hmotnostních spekter, které byly porovnávány s knihovnou spekter Národního institutu pro standardy a technologii NIST 14, knihovnou FFNSC 2 a online databázemi dat. K potvrzení identity sloučenin byly dopočteny RI pro programované teplotní měření dle van den Doola podle vztahu (viz kapitola 1.4.2). Pro výpočet RI byla proměřena směs *n*-alkanů (viz Tab. 3).

Tabulka 3 Retenční časy *n*-alkanů a jejich retenční indexy

Počet uhlíků	Název alkanu	Retenční čas (FID) [min]	Retenční čas (MS) [min]	Retenční index
5	<i>n</i> -pentan	2,55	2,15	500
6	<i>n</i> -hexan	2,91	2,48	600
7	<i>n</i> -heptan	3,75	3,16	700
8	<i>n</i> -oktan	5,44	4,68	800
9	<i>n</i> -nonan	7,89	7,04	900
10	<i>n</i> -dekan	10,66	9,78	1000
11	<i>n</i> -undekan	13,40	12,51	1100
12	<i>n</i> -dodekan	15,99	15,10	1200
13	<i>n</i> -tridekan	18,42	17,53	1300
14	<i>n</i> -tetradekan	20,70	19,81	1400
15	<i>n</i> -pentadekan	22,84	21,96	1500
16	<i>n</i> -hexadekan	24,87	23,98	1600
17	<i>n</i> -heptadekan	26,79	25,90	1700
18	<i>n</i> -oktadekan	28,61	27,71	1800
19	<i>n</i> -nonadekan	30,35	29,44	1900
20	<i>n</i> -ikosan	32,00	31,09	2000
21	<i>n</i> -henkosan	33,58	32,67	2100
22	<i>n</i> -dokosan	35,09	34,18	2200
23	<i>n</i> -trikosan	36,61	35,62	2300
24	<i>n</i> -tetrakosan	38,37	37,17	2400
25	<i>n</i> -pentakosan	40,51	39,03	2500
26	<i>n</i> -hexakosan	43,17	41,33	2600
27	<i>n</i> -heptakosan	45,23	44,22	2700

3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Optimalizace podmínek

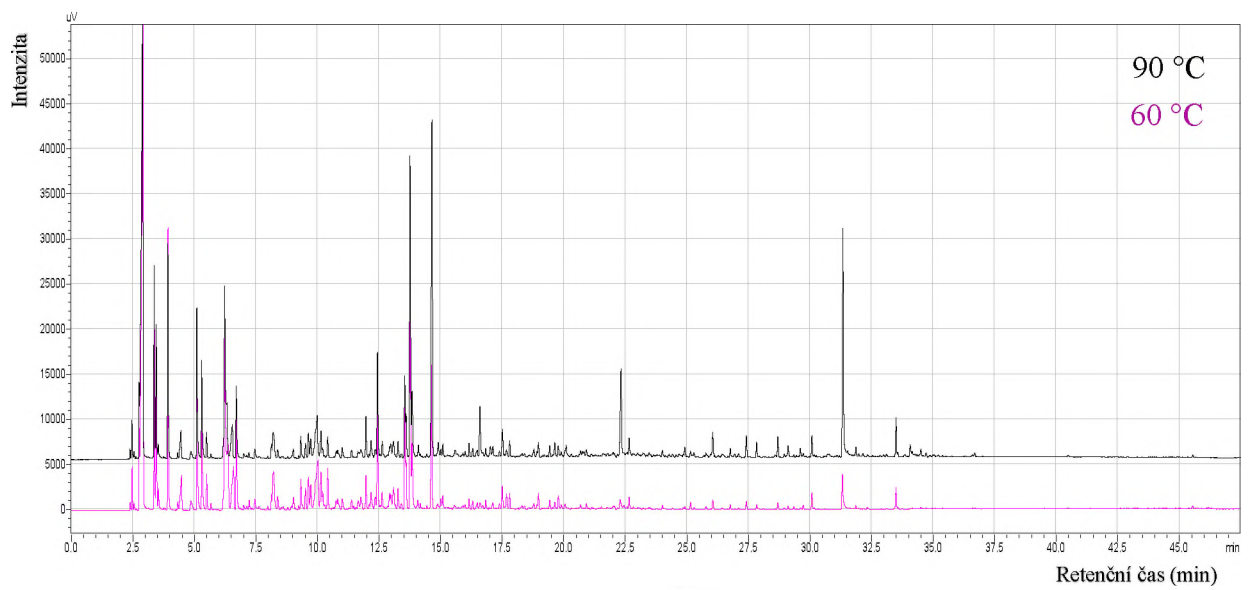
Na začátku předběžných experimentů byly vybrány parametry pro Vac-HSSPME, které ovlivňují extrakční proces senzory aktivních látek. Během předběžných experimentů byl pozorován nejen vliv extrakční teploty, ale i doba samotné extrakce a navážka vzorku. Dále bylo pozorováno, jaký vliv má vytvořené vakuum při extrakci látek a jak dlouho vytvořené vakuum přetrvává v měřicích nádobkách z důvodu následného měření pomocí autosampleru. Optimalizace byla prováděna přímo na vzorcích sladu z důvodu poskytnutí reálných informací o jeho chování během přípravy vzorku.

3.2 Vliv teploty

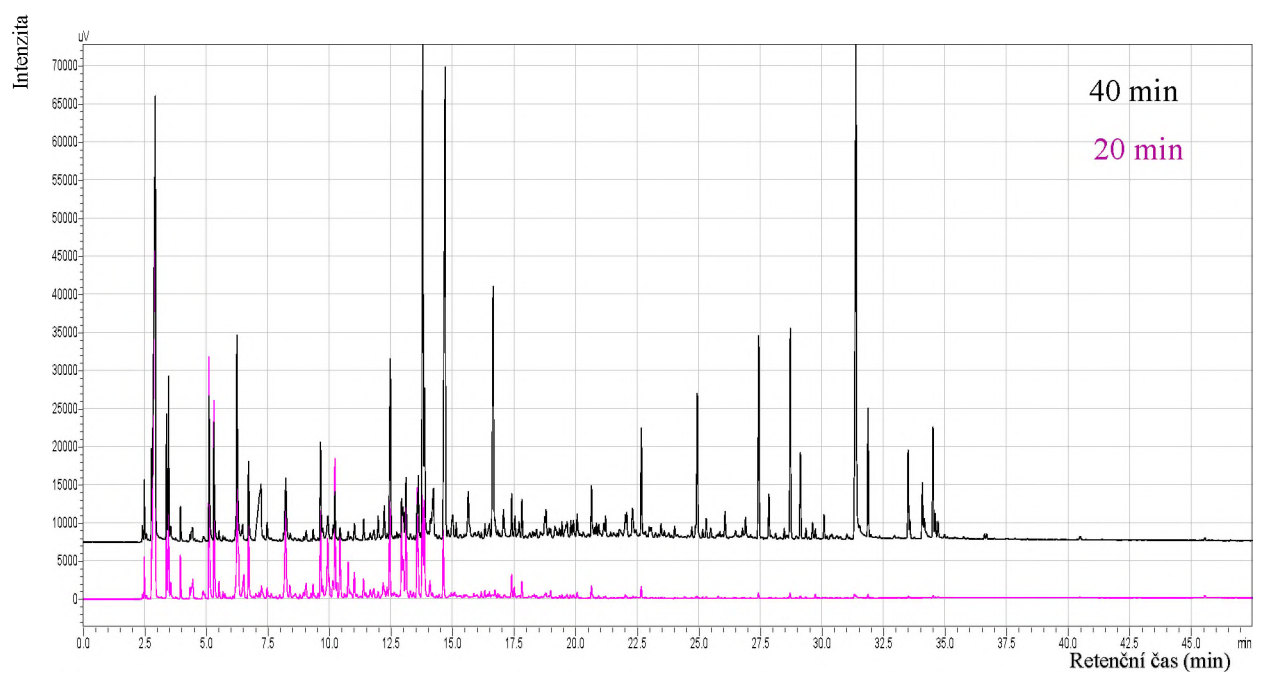
Prvním posuzovaným parametrem byla extrakční teplota. Dle literatury dochází při vyšších extrakčních teplotách k rychlejšímu postupu analytu směrem k vláknu i k snadnějšímu uvolňování analytu z vlákna [46]. Pro následující analýzy bylo použito několik nezávisle vybraných vzorků sladu. Obr. 12 znázorňuje porovnání chromatogramu ječného sladu Caramunich® II pro extrakci při 60 °C po dobu 10 min (růžové zobrazení) s chromatogramem téhož vzorku získaného pro extrakci při 90 °C po dobu 10 min (černé zobrazení). Na chromatogramech lze pozorovat vliv teploty při detekci těkavých látek. Látkám s kratším retenčním časem (růžové zobrazení) vyhovují nižší extrakční teploty, kdežto látkám, které se eluují později (černé zobrazení), vyhovují spíše vyšší extrakční teploty.

3.3 Doba extrakce

Dalším testovaným parametrem byl vliv doby extrakce. Pro následující analýzy bylo použito opět několik nezávisle vybraných vzorků sladu. Vliv doby extrakce vystihuje Obr. 13, na kterém jsou znázorněny dva chromatogramy ječného sladu Caraaroma® II., (Weyermann® - Německo). Měření v tomto případě probíhalo při extrakční teplotě 60 °C při různých dobách trvání sorpce analytu na vlákno. Z obrázku je viditelné, že doba sorpce má obdobný dopad jako teplota, kdy látky elující dříve (20 min, růžové zobrazení), tedy při kratší sorpci na vlákno, poskytují větší odezvu než při delší sorpci (40 min, černé zobrazení).



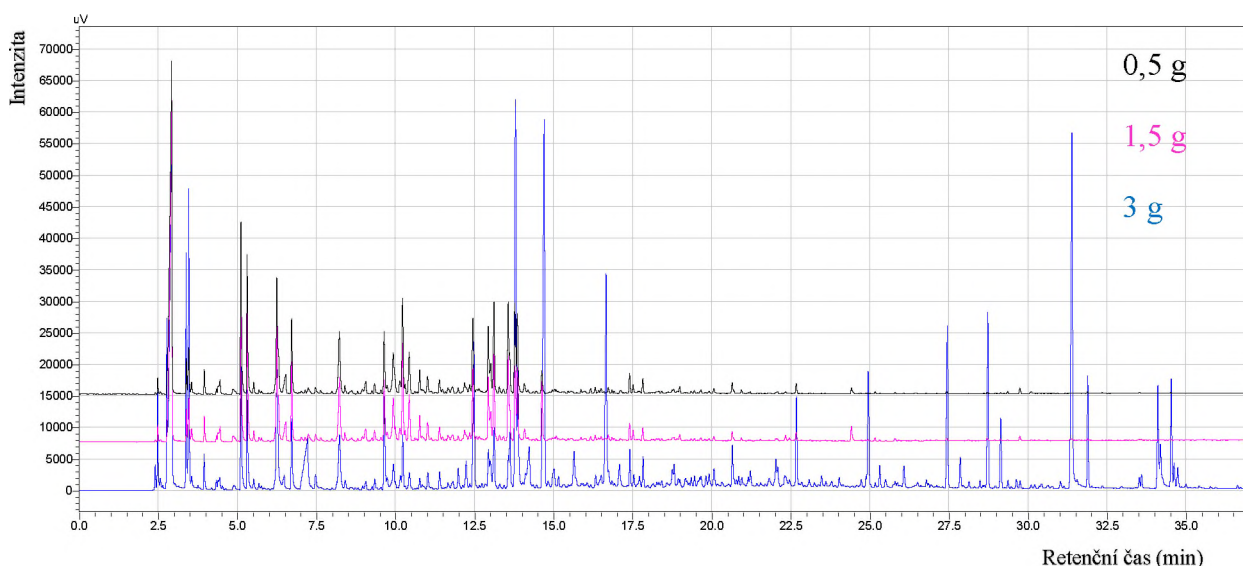
Obrázek 12 Chromatogramy ječného sladu Caramunich® II při extrakční teplotě 60 °C a 90 °C



Obrázek 13 Chromatogramy ječného sladu Caraaroma® II při extrakční teplotě 60 °C a době sorpce 20 min a 40 min

3.4 Vliv navážky

Dalším důležitým parametrem, který byl optimalizován, byla navážka vzorku. Jak je již zmíněno v teoretické části, Ghiasvand a kol. [65] tvrdili, že použití vyšších navážek u vzorků nemusí být vždy příznivé, jelikož může docházet k horšímu přestupu těkavých složek do headspace prostoru. Na Obr. 14 jsou porovnávány tři chromatogramy získané po extrakci ječného sladu Caraaroma® II při 90 °C po dobu 30 min, které se liší v množství navážky. Navážka 0,5 g přísluší černě označenému chromatogramu, růžově označený chromatogram charakterizuje navážku 1,5 g, modře značený chromatogram zobrazuje separaci těkavých látek při 3 g navážky sladu. Z těchto chromatogramů vyplývá, že pro detekci těkavých látek z namletého sladu budou lepší vyšší navážky.

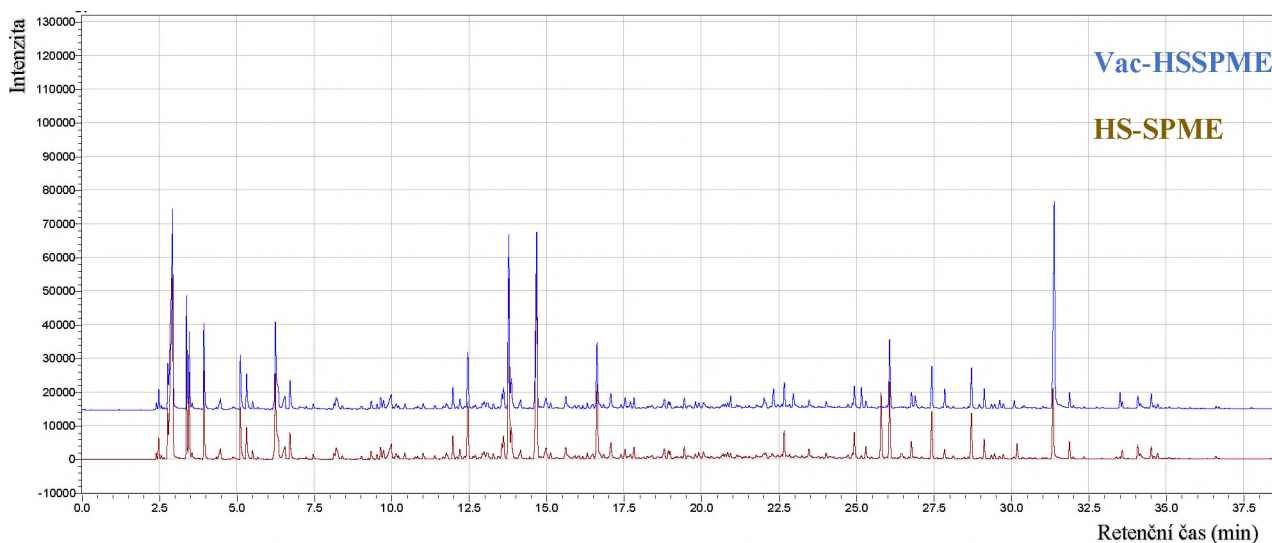


Obrázek 14 Chromatogramy ječného sladu Caraaroma® II při jedné extrakční teplotě 90 °C a různých navážkách

3.5 Vliv vakua

Pro zjištění nejvhodnějšího způsobu vytváření podtlaku v měřicích nádobkách byl porovnán podtlak vytvářený pomocí plastové injekční stříkačky s jehlou a podtlak vytvářený vývěvou. Na základě jednotlivých analýz byla pro další experimenty zvolena plastová injekční stříkačka o objemu 50 ml s jehlou. Na Obr. 15 jsou uvedeny dva chromatogramy, které porovnávají separaci těkavých látek v ječném sladu Caramunich® II, při extrakční teplotě 90 °C po dobu 30 min s navážkou 2 g. Hnědě značený chromatogram značí separaci bez využití podtlaku, tj. klasické HS-SPME, modře značený chromatogram znázorňuje separaci, při které byl

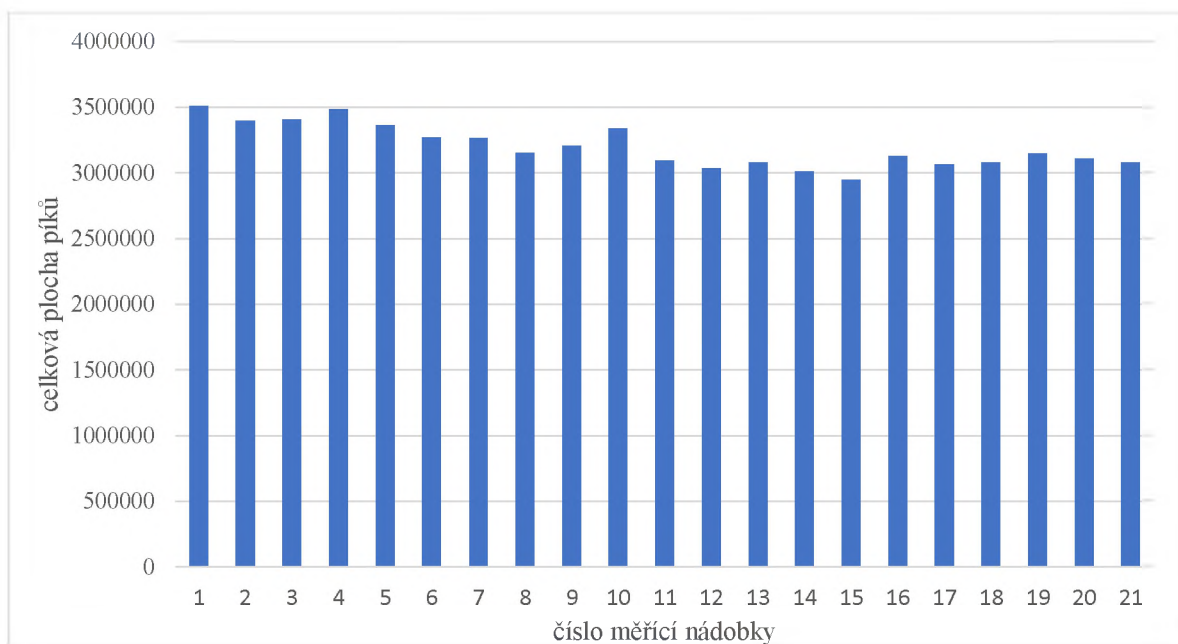
vytvořen podtlak, a to natažením celého objemu (4×) injekční stříkačky. Při porovnání těchto dvou chromatogramů lze pozorovat pozitivní vliv vakua při separaci látek.



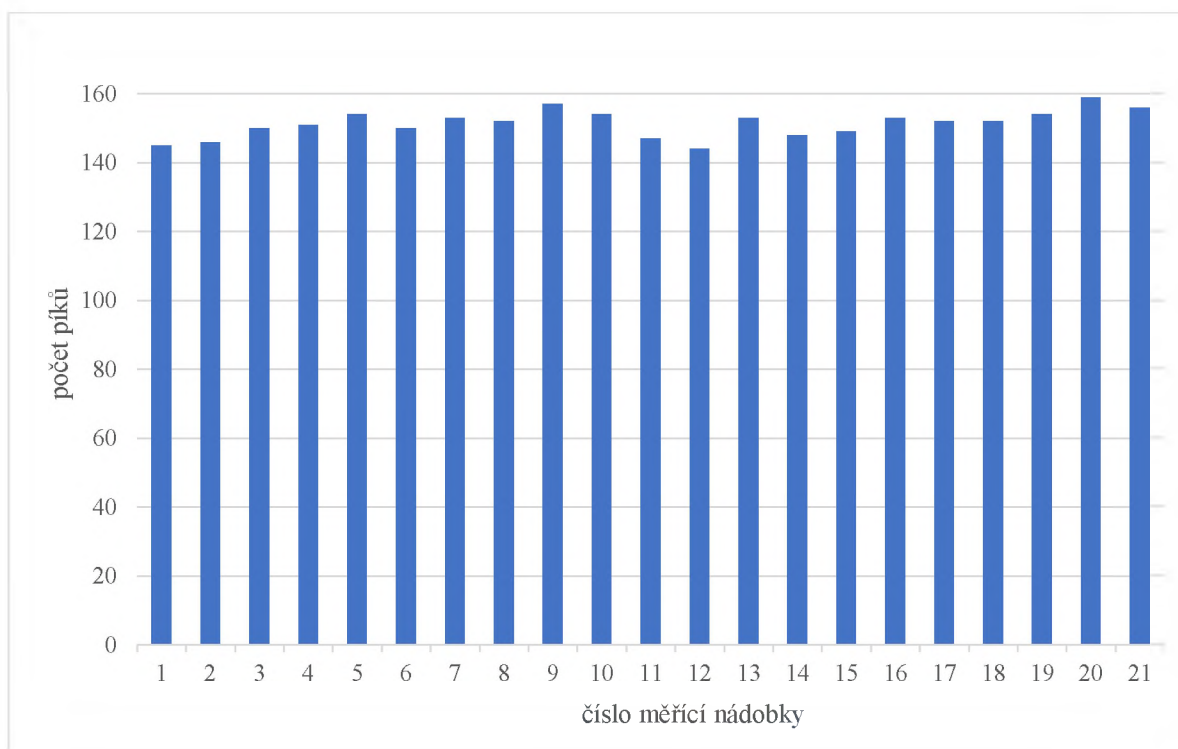
Obrázek 15 Chromatogramy ječném sladu Caramunich® II měřené za stejných extrakčních podmínek.

Dalším krokem bylo zjistit, jak se celý systém bude chovat v průběhu extrakce, tzn. jak dlouho zůstává vytvořené vakuum v měřicích nádobkách, případně jaký to bude mít vliv na celkovou plochu a počet píků. Stabilita vakua v měřicích nádobkách byla studována i pro možnost měření reálných vzorků pomocí autosampleru, kterým je vybaven plynový chromatograf. Doposud byly všechny předběžné experimenty (viz kapitoly 3.2 - 3.4) měřeny pomocí SPME manuálního držáku.

Pro tento experiment byl použit slad ječný černý z humnové sladovny Záhlinice. Do 21 měřicích nádobek byl navážen slad (3 g) a nádobky byly evakuovány jak je popsáno v kapitole 2.3.1. Následně byly vzorky dávkovány pomocí autosampleru do automatické jednotky pro HS-SPME, kde probíhala extrakce při teplotě 90 ° po dobu 40 min. Analýza nasorbovaných těkavých analytů probíhala pomocí GC-FID. Při porovnávání jednotlivých měření nebyla shledána signifikantní změna při počtu a ploše píků. Tento experiment vystihuje Obr. 16 a Obr. 17.



Obrázek 16 Vliv vakua na plochu píků



Obrázek 17 Vliv vakua na počet píků

3.6 Centrálně kompozitní plánování

K nalezení vhodných podmínek pro měření reálných vzorků byl vybrán centrálně kompozitní plán (*Central composite desing*, CCD). Experiment byl navržen v softwaru Statistika 12. Parametry podrobené optimalizaci pomocí tohoto plánu byly: teplota extrakce, doba extrakce a navážka vzorku.

Struktura centrálně kompozitních plánů se skládá ze tří částí. První část je tvořena faktorovým plánem (tvořící tzv. krychlové body), který se číselně vyjadřuje jako 2^k . Číslo 2 popisuje počet úrovní proměnných veličin, které jsou v úplném faktorovém plánu převáděny na binární (hodnoty 1 a - 1), písmeno k vyjadřuje počet proměnných ovlivňujících experiment. Další část tohoto návrhu tvoří hvězdicový plán (tvořící tzv. hvězdicové body), který je vyjádřen jako $2k$. Hvězdicový plán popisuje zakřivení plochy pomocí tří úrovní každého faktoru (- 1, 0 a + 1). Třetí částí CCD plánu jsou centrální body, tvořící tzv. opakování ve středu n_0 . Tyto body se také využívají pro výpočet odhadu variability experimentu (náhrada opakovaných pokusů) [77].

Výsledný počet experimentů se odvíjí od počtu zvolených faktorů dle následující rovnice (6).

$$N = 2^k + 2k + n_0 \quad (6)$$

Dosažením do rovnice (6) lze získat 20 experimentů (viz Tab. 4) s 6 (centrálními) kontrolními body ($2^k + 2k + n_0 = 2^3 + 2 \cdot 3 + 6 = 20$).

Tabulka 4 Navržené podmínky podle CCD

Pokus číslo	Navážka vzorku [g]	Teplota extrakce [°C]	Doba extrakce [min]	Pokus číslo	Navážka vzorku [g]	Teplota extrakce [°C]	Doba extrakce [min]
1	1,85	70	45	11	2,91	80	45
2	1,2	74	27	12	1,85	80	45
3	2,5	74	27	13	1,85	80	45
4	2,5	74	63	14	1,85	80	45
5	1,2	74	63	15	1,85	80	74
6	1,85	80	16	16	2,5	86	27
7	0,79	80	45	17	1,2	86	27
8	1,85	80	45	18	1,2	86	63
9	1,85	80	45	19	2,5	86	63
10	1,85	80	45	20	1,85	90	45

K sestavování profilu těkavých látek je podstatné vyextrahovat co nejvíce těkavých látek, ale zároveň je kladen i důraz na identifikaci látek, které se podílejí na celkovém profilu.

Pro úspěšnou izolaci látek je důležité zvolit i vhodný typ sorbentu SPME vlákna. Návrh optimalizace pomocí CCD byl proměřen na čtyřech typech SPME vláken, a to na 75 μm Carboxen/PDMS, 100 μm PDMS, 65 μm PDMS/DVB, 50/30 μm DVB/CAR/PDMS.

Pro zvolení vhodného vlákna byla provedena série experimentů dle Tab. 4. K těmto analýzám byl použit ječný černý slad pocházející z humnové sladovny Záhlinice (ČR), který byl připraven k analýze dle postupu popsaného v kapitole 2.3.1. Následná analýza extrahovaných analytů byla provedena pomocí systému GC-FID (viz kapitola 2.3.4). Výběr vhodného vlákna probíhal na základě porovnání počtu a sumy ploch všech detekovaných píků v jednotlivých chromatogramech a dle získaných odezvových profilů pro každé vlákno.

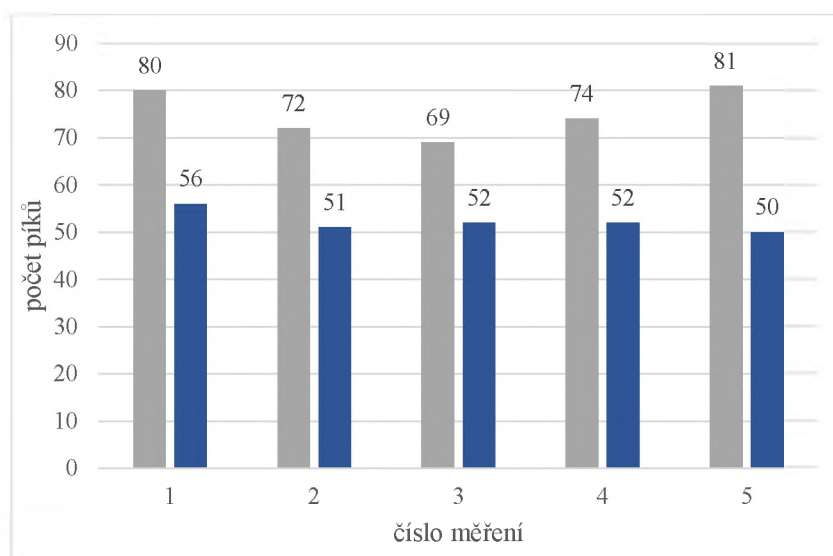
Srovnání testovaných vláken je zmíněno v Tab. 5. Z této tabulky je zřejmé, že PDMS/DVB a DVB/CAR/PDMS vlákna poskytovala nejvyšší počet píků. Zároveň obě vlákna mají stejnou navrženou extrakční teplotu (90 °C) a navážku sladu (3 g). Jelikož počty píků jsou velmi podobné, byla tato dvě vlákna podrobena dalším experimentům.

Tabulka 5 Výsledky optimalizací Vac–HSSPME/GC-FID pro testovaná vlákna

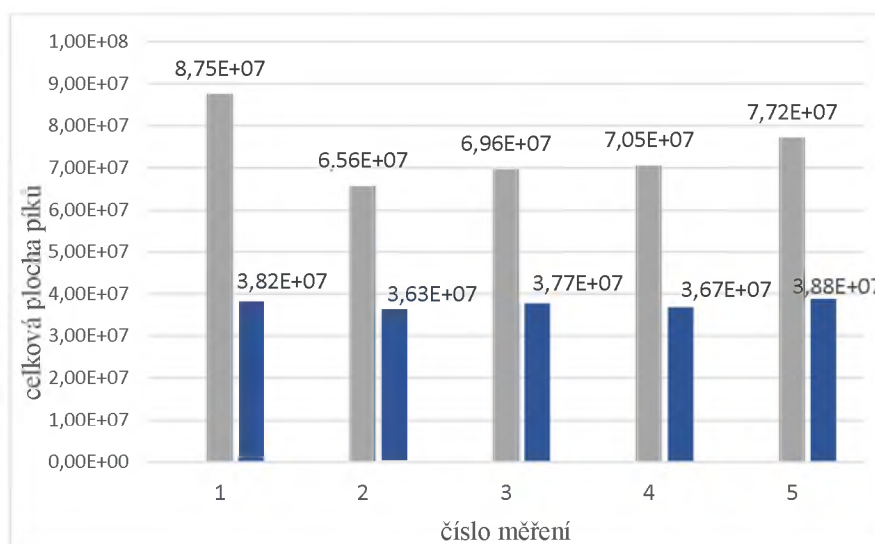
Druh vlákna	Počet píků	Hodnota odpovídající celkové ploše	Doba extrakce [min]	Teplota extrakce [°C]	Navážka vzorku [g]
DVB/CAR/PDMS	129	2 860 849	45	90	3
PDMS	74	190 811	75	90	1,2
Carboxen/PDMS	119	8 711 514	60	75	3
PDMS/DVB	136	1 896 679	75	90	3

Pozn: Doba extrakce, teplota extrakce a navážka vzorku byla odečtena z profilů pro předpověď a vhodnost daného vlákna (viz příloha)

Porovnání těchto dvou vláken proběhlo na ječném černém sladu, který pochází z humnové sladovny Záhlinice (ČR). Slad byl nejprve proměřen pětkrát pomocí jednoho a následně pomocí druhého vlákna. Měření probíhalo dle navržených optimálních podmínek uvedených v Tab. 5. Analýza nasorbovaných látek probíhala pomocí GC-MS (podmínky uvedeny v kapitole 2.3.3). Vyšší extrakční účinnost byla pozorována u DVB/CAR/PDMS vlákna (Obr. 18 a Obr. 19), proto bylo právě toto vlákno zvoleno k analýzám reálných vzorků. Šedé vlákno je vhodné k extrakci těkavých a středně těkavých látek v poměrně širokém rozsahu molekulových hmotností (MW 40-275).

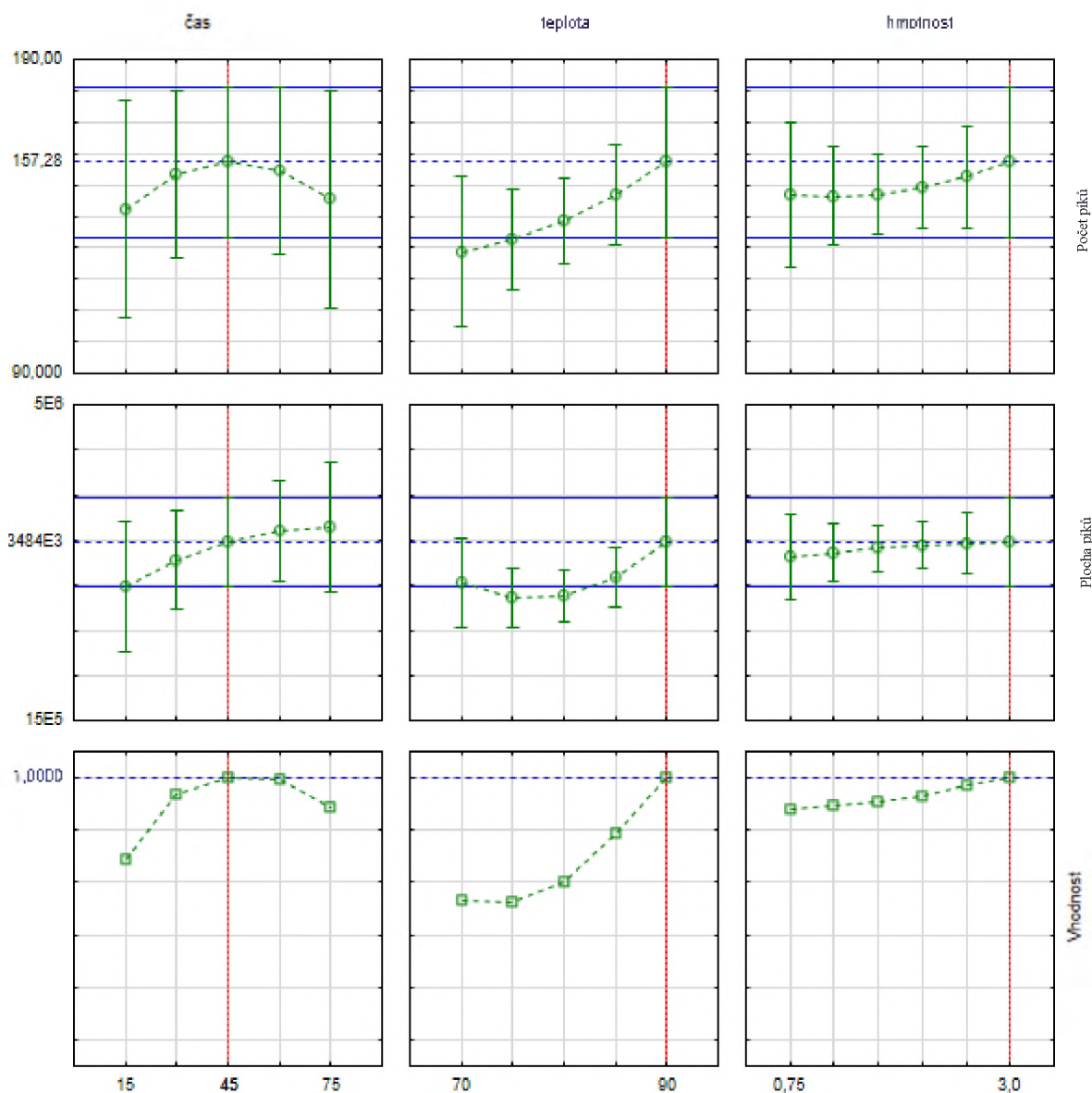


Obrázek 18: Porovnání počtu píků pro DVB/CAR/PDMS (šedé sloupce) a PDMS/DVB (modré sloupce) vlákno.



Obrázek 19 Porovnání ploch píků pro DVB/CAR/PDMS (šedé sloupce) a PDMS/DVB (modré sloupce) vlákno.

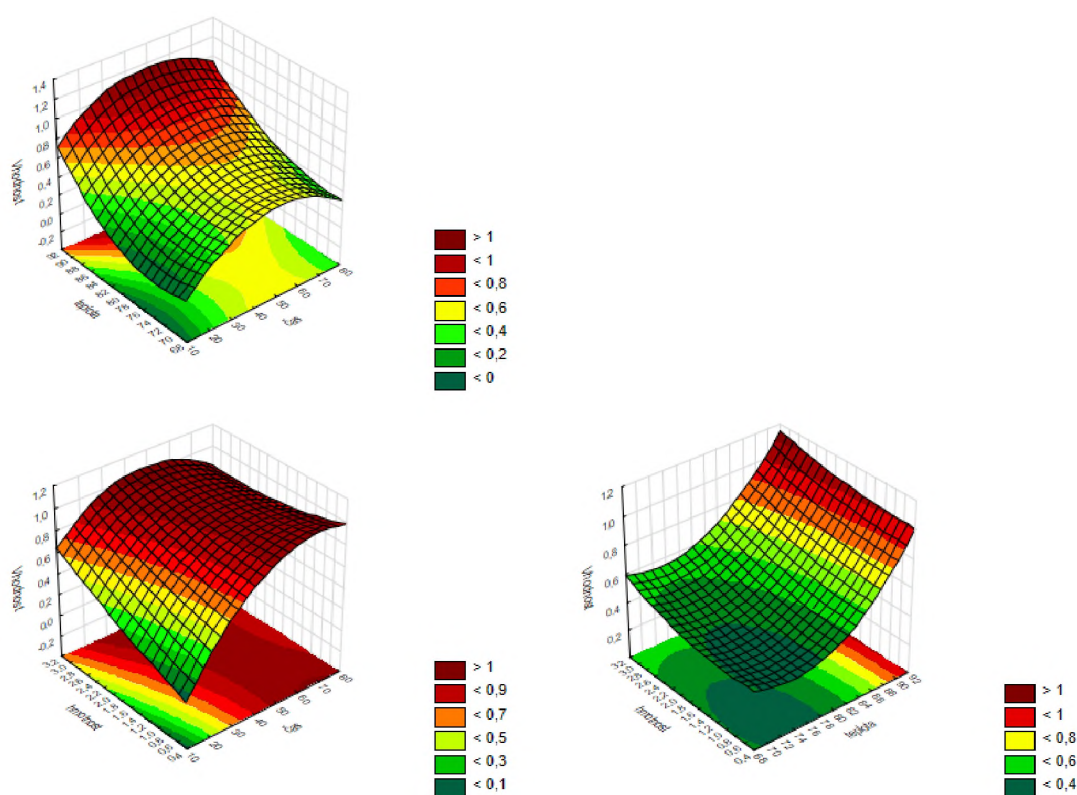
Odezvový profil pro šedé vlákno zobrazuje Obr. 20. Tento profil popisuje vhodnost optimalizovaných parametrů. Z výsledků lze konstatovat, že pro daný experiment tyto tři proměnné ovlivňují extrakci těkavých sloučenin. Profily pro předpověď a vhodnost pro modré, černé a červené vlákno ilustrují Obr. I/1 – Obr. I/3 v příloze.



Obrázek 20 Profily pro předpovědi a vhodnost pro optimalizaci Vac-HSSPME (šedé vlákno)

Pozn: Červená svíslá čára v grafech zobrazuje tu nejvhodnější hodnotu pro extrakci.

Vzhledem k optimalizaci 3 nezávislých proměnných byly v softwaru Statistika 12 získány celkem 3 odezvové plochy. Obr. 21 zobrazuje jejich vzájemnou korelaci testovaných proměnných. Z jednotlivých grafů uvedených v obrázku lze odečíst maximální hodnoty studovaných parametrů (tmavě červená). Z těchto hodnot lze usuzovat, že pro účinnou extrakci bude vhodné volit vyšší extrakční teploty, delší dobu extrakce i vyšší navážky. Pomocí Obr. 20 a Obr. 21 byly vyhodnoceny konečné podmínky pro extrakci těkavých látek z pivovarských sladů: extrakční teplota 90 °C, doba extrakce 45 min a navážka sladu 3 g. Odezvové plochy pro zbylá tři testovaná vlákna jsou uvedeny na Obr. I/4 – Obr. I/6 v příloze.



Obrázek 21 Metoda odezvové plochy pro optimalizaci Vac-HSSPME (šedé vlákno)

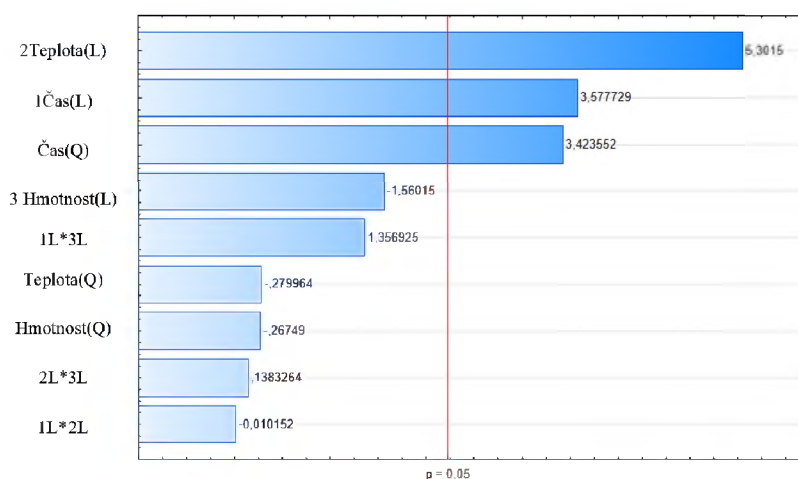
Odhad efektů pro optimalizaci lze vyjádřit rovnicí. Tato rovnice má kvadratickou formu, aby v modelu mohly být zahrnuty jak vzájemné interakce parametrů, tak i možná zakřivení odezvové plochy modelu. Odezvové plochy vyjadřují závislost doby extrakce (min; X_1), teploty ($^{\circ}\text{C}$; X_2) a navážky vzorku (g; X_3) na sobě navzájem a vymezují jejich určitou vhodnost. Odhad efektů při použití šedého vlákna vyjadřuje vztah (8) pro plochu s hodnotou spolehlivosti $R^2 = 0,8529$ a vztah (9) pro počet píků s hodnotou spolehlivosti $R^2 = 0,7932$. Tučně vyznačené parametry v rovnicích jsou statisticky významné členy (p -hodnota $< 0,05$).

Na základě porovnání hodnot R^2 byl pro stanovení optimálních podmínek použit model podle ploch píků. Koeficient R^2 ukazuje míru shody mezi modelem a naměřenými daty.

$$Y = 2819116 + 206961 X_1 + 139668 X_2 + 52972 X_3 - 61197 X_1^2 + 134290 X_2^2 - 10492 X_3^2 - 14110 X_1 X_2 + 6971 X_1 X_3 - 512 X_2 X_3 \quad (8)$$

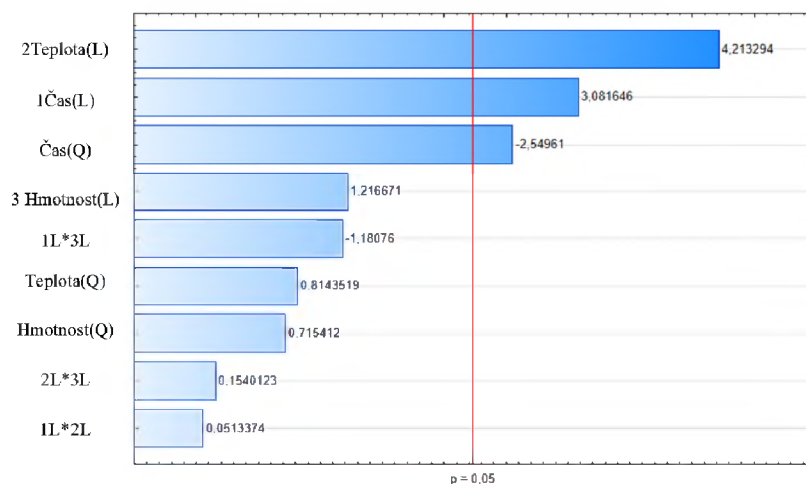
$$Y = 1303385 + 5,8121 X_1 + 7,9465 X_2 + 2,2947 X_3 - 4,8317 X_1^2 + 1,5433 X_2^2 + 1,3558 X_3^2 + 0,1250 X_1 X_2 - 2,8750 X_1 X_3 + 0,3750 X_2 X_3 \quad (9)$$

Paretovými grafy efektů lze znázornit význam jednotlivých experimentálních proměnných pro šedé vlákno. Z porovnání Paretových grafů (Obr. 22 a Obr. 23) vyplývá, že pro toto vlákno není navážka tak významným parametrem, zato teplota extrakce a doba extrakce jsou významnými faktory.



Standardizovaný odhad efektů (absolut.hodn.)

Obrázek 22 Paretův graf efektů znázorňující význam jednotlivých experimentálních proměnných pro DVB/CAR/PDMS vlákno - vyhodnoceno ze sumy ploch detekovaných píků



Standardizovaný odhad efektů (absolut.hodn.)

Obrázek 23 Paretoův graf efektů znázorňující význam jednotlivých experimentálních proměnných pro DVB/CAR/PDMS vlákno - vyhodnoceno z počtu detekovaných píků.

3.7 Analýza vzorků sladu a identifikace sloučenin

Cílem této práce bylo analyzovat profil a zjistit zastoupení těkavých látek ve sladu. Jednotlivé analyzované vzorky sladu jsou shrnuty v Tab. 2. Izolace těkavých látek byla provedena pomocí optimalizované Vac-HSSPME při extrakční teplotě 90 °C, době extrakce 45 min a s navázkou 3 g rozemletého sladu, podle postupu vysvětleného v kapitole v 2.3.1. Nasorbované látky byly následně uvolněny v nástřikovém prostoru plynového chromatografu a identifikovány pomocí GC-MS analýzy. Jejich relativní zastoupení bylo určeno pomocí GC-FID za podmínek měření které jsou zaznamenány v kapitolách 2.3.2-2.3.4.

Všechny detekované a identifikované sloučeniny pomocí GC-MS analýzy jsou uvedeny v níže příslušných tabulkách. Pro ilustraci jsou jednotlivé chromatogramy dostupné v příloze na obrázcích Obr. II/1 - Obr. II/18. Data ze všech GC-FID analýz (retenční indexy a plochy píků) jsou k dispozici také v příloze (Tab. II/1 - Tab. II/18).

3.7.1 Skupina ječných sladů

Do skupiny ječných sladů bylo zařazeno 15 vzorků, z toho 6 vzorků pochází z humnové sladovny Záhlinice (ČR), 1 vzorek sladu z Pivovaru Primátor Náchod (ČR) a 8 ze sladovny Weyermann® (Německo).

3.7.1.1 Karamelový slad

Tab. 6 shrnuje všechny detekované a identifikované sloučeniny v předloženém vzorku ječného karamelového sladu (humnová sladovna Záhlinice ČR). Prostřednictvím GC-MS analýzy se podařilo celkem detekovat 63 sloučenin, z nichž 26 nebylo identifikováno. Chromatogram této analýzy je umístěn v příloze jako Obr. II/1. Výsledky GC-FID měření zaznamenává Tab. II/1 umístěna také v příloze.

Tabulka 6 Karamelový slad, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			408!	
2	NI			502	
3	Kyselina mravenčí	64-18-6	87	531	531
4	1-Chlor-2-methylpropan	513-36-0	86	582	580
5	NI			623	
6	3-Methylbutanal	590-86-3	95	661	643
7	1-Ethylcyklopropanol	57872-31-8	86	671	671
8	Acetoin	513-86-0	95	716	716
9	2,2-Dimethyl-1-butanol	1185-33-7	81	771	776
10	2,3-Butandiol	513-85-9	87	791	788
11	Ethyl ester kyseliny mléčné	97-64-3	83	802	814
12	Hexanal	66-25-1	94	806	806
13	Methyl-dihydro-(2H)-furan-3-on	3188-00-9	86	813	821
14	Furfural	98-01-1	97	836	831
15	Furfurylalkohol	98-00-0	87	857	849
16	NI			887	
17	2-Acetyl furan	1192-62-7	89	915	913
18	5-Methyl-2-furan methanol	3857-25-8	93	957	975
19	Benzaldehyd	100-52-7	95	968	982
20	NI			984	
21	Kyselina kapronová	142-62-1	91	988	974
22	Fenylacetaldehyd	122-78-1	95	1050	1045
23	2-Acetylpyrrol	1072-83-9	92	1073	1074
24	NI			1076	
25	N-Methyl-2-furan hydroxamová kyselina	109531-96-6	83	1088	1082
26	NI			1092	
27	NI			1108	
28	2,2,4,4-Tetramethyl-1,3-cyklobutanediol	3010-96-6	87	1111	1125
29	Maltol	118-71-8	91	1121	1108
30	NI			1139	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 6 Karamelový slad, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
31	NI			1154	
32	NI			1165	
33	Kyselina kaprylová	124-07-2	83	1175	1173
34	3,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on	1073-96-7	91	1193	1193
35	Hydroxymethylfurfural	67-47-0	87	1234	1225
36	NI			1272	
37	2-Fenyl-2-butenal	4411-89-6	92	1277	1272
38	NI			1297	
39	2,4-Undekadien-1-al	30361-29-6	81	1324	1319
40	NI			1348	
41	γ -Dekalakton	706-14-9	83	1368	1383
42	NI	121-33-5	94	1406	1392
43	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	96	1463	1447
44	5-Methyl-2-fenyl-2-hexenal	21834-92-4	84	1493	1485
45	NI			1533	
46	NI			1605	
47	NI			1623	
48	NI			1650	
49	NI			1663	
50	NI			1736	
51	Kyselina myristová	544-63-8	91	1763	1769
52	NI			1774	
53	NI			1806	
54	NI			1830	
55	NI			1850	
56	Butyl isopropyl ester kyseliny ftalové	17851-53-3	86	1866	1873
57	NI			1891	
58	Kyselina palmitová	57-10-3	89	1966	1977
59	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	95	1994	1978
60	n-Henikosan	629-94-7	92	2099	2109
61	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2137	2139
62	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	85	2163	2176
63	n-Trikosan	638-67-5	93	2299	2300

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.2 Pražený slad

Ve vzorku ječného praženého sladu (humnová sladovna Záhlinice, ČR) bylo nalezeno 79 sloučenin, z nichž 37 nebylo identifikováno (viz Tab. 7). Chromatogram jako výsledek analýzy je uveden v příloze Obr. II/2. Tab. II/2 shrnuje výsledek GC-FID analýzy.

Tabulka 7 Pražený slad, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			457!	
2	Kyselina mravenčí	64-18-6	85	525	531
3	NI			604	
4	Allylacetát	591-87-7	85	670	676
5	NI			697	
6	1-Pentanal	110-62-3	94	705	707
7	Pyrazin	290-37-9	87	741	729
8	1-Pentanol	71-41-0	95	770	761
9	Hexanal	66-25-1	97	805	806
10	2-Methyl pyrazin	109-08-0	88	832	820
11	Furfural	98-01-1	97	836	836
12	Furfurylalkohol	98-00-0	88	857	849
13	1,1'-Diacetoxy-ethan	542-10-9	85	869	888
14	Kyselina valerová	109-52-4	87	891	911
15	Heptan-2-on	110-43-0	84	894	898
16	Heptanal	111-71-7	96	906	905
17	NI			915	
18	5-Methyl furfural	620-02-0	92	966	960
19	1-Okten-3-ol	3391-86-4	95	984	969
20	2-Pentylfuran	3777-69-3	94	992	991
21	3-Methylvalerová kyselina	105-43-1	84	1002	1002
22	NI			1006	
23	2-Formyl pyrrol	1003-29-8	86	1024	1043
24	(E)-3-Okten-2-on	1669-44-9	92	1043	1036
25	NI			1060	
26	2-Oktenal	2363-89-5	87	1063	1059
27	4-Nonanon	4485-09-0	80	1065	1052
28	3,5-Nonadien-2-on	80387-31-1	81	1075	1068
29	NI			1084	
30	NI			1098	
31	Nonanal	124-19-6	90	1107	1107
32	NI			1117	
33	Maltol	118-71-8	91	1121	1108
34	n-Pentyl-benzen	538-68-1	89	1161	1044
35	(2E)-Nonenal	18829-56-6	83	1165	1163
36	NI			1168	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 7 Pražený slad, výsledky GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
37	1-(2-Furfuryl) pyrrol	1438-94-4	89	1183	1199
38	NI			1192	
39	2-Pentyl pyridin	2294-76-0	83	1204	1185
40	NI			1216	
41	2,4-Nonadiena-1-al	5910-87-2	91	1222	1218
42	Hydroxymethylfurfural	67-47-0	86	1234	1225
43	NI			1250	
44	NI			1269	
45	NI			1272	
46	4-Ethylguajakol	2785-89-9	93	1281	1275
47	Pentyl ester kyseliny kapronové	540-07-8	95	1289	
48	NI			1311	
49	NI			1324	
50	NI			1348	
51	NI			1351	
52	Dodekan-3-on	1534-27-6	81	1359	1350
53	NI			1363	
54	NI			1368	
55	NI			1373	
56	2-Butyl-2-oktenal	13019-16-4	93	1375	1388
57	NI			1386	
58	3-Hydroxy-4methoxy benzaldehyd	621-59-0	83	1406	1392
59	NI			1422	
60	NI			1443	
61	NI			1452	
62	NI			1462	
63	NI			1473	
64	NI			1485	
65	1-Pentadekan	13360-61-7	85	1492	1502
66	NI			1563	
67	NI			1600	
68	NI			1611	
69	NI	193090-25-4	81	1616	
70	NI			1649	
71	NI			1663	
72	NI			1685	
73	n-Heptadekan	629-78-7	83	1700	1711
74	NI			1733	
75	n-Oktadekan	593-45-3	94	1799	1800
76	Butyl isopropyl ester kyseliny ftalové	17851-53-3	85	1866	1873
77	Trimethylsilyl ester kyseliny isokyanatové	1118-02-1	84	1891	
78	Methyl ester kyseliny palmitové	112-39-0	90	1926	1925
79	Kyselina palmitová	57-10-3	89	1965	1977

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.3 Bavorský slad

Dalším analyzovaným vzorkem z humnové sladovny Záhlinice byl slad bavorského typu. V tomto vzorku bylo nalezeno 65 sloučenin, z nichž 24 nebylo identifikováno (viz Tab. 8). Obr. II/3 v příloze zobrazuje chromatogram tohoto vzorku. Retenční indexy a plochy píků detekovaných látek po GC-FID analýze uvádí Tab. II/3.

Tabulka 8 Bavorský slad, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			461!	
2	NI			502	
3	Pentan	109-66-0	93	527	518
4	NI			549	
5	1-Chlor-2-methylpropan	513-36-0	86	582	580
6	NI			607	
7	2-Methyl-oxetan	2167-39-7	96	612	612
8	<i>o</i> -n-Propylhydroxyamin	602-38-3	82	635	638
9	3-Methylbutanal	590-86-3	96	662	643
10	NI			671	
11	Heptan	142-82-5	94	705	717
12	1-Chlorpentan	543-59-9	87	738	743
13	NI			741	
14	1-Pentanol	71-41-0	91	771	761
15	(2S)-Hexan-2-ol	52019-78-0	88	790	780
16	2,3-Butandiol	513-85-9	87	801	788
17	Hexanal	66-25-1	95	806	806
18	Furfural	98-01-1	84	836	845
19	Furfurylalkohol	98-00-0	86	857	849
20	1-Hexanol	111-27-3	87	873	867
21	Benzaldehyd	100-52-7	91	969	960
22	Kyselina kapronová	142-62-1	95	988	974
23	Fenylacetaldehyd	122-78-1	96	1050	1045
24	2-Acetylpyrrol	1072-83-9	91	1073	1074
25	NI			1092	
26	Nonanal	124-19-6	87	1107	1104
27	NI			1120	
28	NI			1138	
29	NI			1152	
30	Kyselina kaprylová	124-07-2	91	1175	1173
31	Dekanal	112-31-2	94	1209	1204
32	Hydroxymethylfurfural	67-47-0	86	1232	1225
33	Kyselina nonanová	112-05-0	93	1272	1272
34	NI			1297	
35	NI			1348	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 8 Bavorský slad, výsledky GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
36	γ -Dekalakton	706-14-9	89	1368	1368
37	2-Butyl-2-oktenal	13019-16-4	84	1375	1388
38	Dodekanal	112-54-9	90	1412	1402
39	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	95	1462	1447
40	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	21834-92-4	82	1492	1499
41	N,N,N,N-Tetramethyl-1,10-diaminodekan	1938-62-1	93	1507	1507
42	n-Hexadekan	544-76-3	94	1600	1600
43	NI			1605	
44	Tetradekan	124-25-4	97	1616	1601
45	NI			1623	
46	NI			1663	
47	n-Heptadekan	629-78-7	98	1700	1700
48	NI			1706	
49	NI			1735	
50	Kyselina myristová	544-63-8	86	1763	1773
51	NI			1773	
52	NI			1806	
53	NI			1829	
54	6,10,14-Trimethylpentadekan-2-on	502-69-2	88	1844	1841
55	NI			1918	
56	Kyselina palmitová	57-10-3	95	1966	1968
57	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	91	1993	1993
58	NI			2058	
59	n-Henikosan	629-94-7	93	2099	2100
60	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2137	2139
61	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	85	2162	2176
62	Ethyl ester kyseliny olejové	111-62-6	92	2169	2185
63	NI			2192	
64	n-Trikosan	638-67-5	93	2299	2300
65	NI			2323	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.4 Tradiční světlý slad plzeňského typu

Identifikované sloučeniny ve vzorku sladu plzeňského typu (Pivovar Primátor, Náchod, ČR) shrnuje Tab. 9. Celkem bylo nalezeno 49 sloučenin, z toho jich 15 nebylo identifikováno. V příloze Obr. II/4 je uveden chromatogram z měření. V Tab. II/4 jsou shrnuty výsledky GC-FID analýzy.

Tabulka 9 Tradiční světlý slad plzeňského typu, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			459!	
2	NI			478!	
3	NI			563	
4	<i>o</i> -n-Propylhydroxyamin	602-38-3	82	634	638
5	3-Methylbutanal	590-86-3	95	661	643
6	NI			727	
7	1-Chlorpentan	543-59-9	87	737	743
8	NI			740	
9	(2S)-Hexan-2-ol	52019-78-0	88	788	780
10	NI	513-85-9	87	800	788
11	Furfural	98-01-1	95	836	831
12	1-Hexanol	111-27-3	96	873	860
13	Kyselina kapronová	142-62-1	86	985	974
14	Fenylacetaldehyd	122-78-1	95	1049	1045
15	Guajakol	90-05-1	92	1091	1090
16	NI			1107	
17	Benzenethanol	60-12-8	92	1119	1136
18	NI			1164	
19	Kreasol	93-51-6	92	1195	1203
20	Kyselina nonanová	112-05-0	95	1271	1272
21	NI			1300	
22	4-Vinyl guajakol	7786-61-0	95	1318	1309
23	Syringol	91-10-1	89	1353	1347
24	Kyselina kaprinová	334-48-5	82	1368	1372
25	Dodekanal	112-54-9	95	1412	1402
26	4-Methyl syringol	6638--05-7	86	1448	1443
27	Isoeugenol	97-54-1	96	1456	1452
28	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	97	1462	1447
29	N,N,N,N-Tetramethyl-1,10-diaminodekan	1938-62-1	93	1505	1511
30	NI			1585	
31	n-Hexadekan	544-76-3	94	1599	1612
32	Tetradekan	124-25-4	97	1616	1601
33	NI			1623	
34	NI			1673	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 9 Tradiční světlý slad plzeňského typu, výsledky GC-MS analýzy – pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
35	n-Heptadekan	629-78-7	84	1699	1711
36	NI			1705	
37	Kyselina myristová	544-63-8	92	1762	1769
38	NI				
39	Ethyl ester kyseliny myristové	124-06-1	95	1793	1779
40	Hexadekanol	629-80-1	96	1820	1800
41	NI				
42	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1966	1968
43	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	91	1992	1993
44	n-Henikosan	629-94-7	94	2098	2109
45	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2137	2139
46	Chlorid kyseliny olejové	112-77-6	85	2142	2131
47	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	84	2161	2176
48	Ethyl ester kyseliny olejové	111-62-6	95	2167	2185
49	n-Trikosan	638-67-5	94	2298	2300

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.5 Český slad

Sloučeniny tvořící profil těkavých látek ječného českého sladu z humnové sladovny Záhlinice (ČR) shrnuje Tab. 10. Tabulka zaznamenává 40 sloučenin, z toho se jich 12 nepodařilo identifikovat. Chromatogram této analýzy je uveden příloze (viz Obr. II/5). Retenční indexy a plochy píků jednotlivých látek po GC-FID analýze uvádí Tab. II/5.

Tabulka 10 Český slad, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			459!	
2	NI			502	
3	NI			547	
4	NI			603	
5	<i>o</i> -n-Propylhydroxyamin	602-38-3	82	635	638
6	3-Methylbutanal	590-86-3	96	661	643
7	Isopentyl alkohol	123-51-3	83	737	729
8	n-Butyl isokynoacetát	17046-22-9	87	741	0
9	(2S)-Hexan-2-ol	52019-78-0	88	790	780
10	2,3-Butandiol	513-85-9	87	801	788
11	Hexanal	66-25-1	95	805	806
12	Furfural	98-01-1	96	837	831
13	1-Hexanol	111-27-3	97	873	860
14	Kyselina kapronová	142-62-1	97	989	974
15	Fenylacetaldehyd	122-78-1	96	1050	1045

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 10 Český slad, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
16	NI			1075	
17	NI			1099	
18	Nonanal	124-19-6	95	1107	1104
19	Benzenethanol	60-12-8	93	1120	1113
20	Dekamethylcyklopentasiloxan	541-02-6	86	1132	1135
21	NI			1151	
22	1-Nonanol	143-08-8	87	1175	1159
23	Kyselina nonanová	112-05-0	89	1272	1289
24	NI			1297	
25	γ -Dekalakton	706-14-9	85	1368	1383
26	NI			1375	
27	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	96	1462	1447
28	n-Hexadekan	544-76-3	96	1599	1612
29	Tetradekanal	124-25-4	97	1616	1601
30	NI			1623	
31	NI			1662	
32	n-Heptadekan	629-78-7	86	1699	1711
33	Kyselina myristová	544-63-8	93	1763	1769
34	NI			1773	
35	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1967	1968
36	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	96	1993	1978
37	n-Henikosan	629-94-7	93	2099	2100
38	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	83	2137	2139
39	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	84	2162	2176
40	n-Trikosan	638-67-5	94	2299	2300

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.6 Černý slad

Ve vzorku ječného černého sladu (humnová sladovna Záhlinice ČR) bylo celkem detekováno 74 sloučenin (Tab. 11), z toho se jich nepodařilo 25 identifikovat. V příloze je zobrazen chromatogram (viz Obr. II/6). Záznam GC-FID měření je shrnut v Tab. II/6.

Tabulka 11 Černý slad, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			461!	
2	Kyselina mravenčí	64-18-6	87	531	531
3	NI			527	
4	Butanon	78-93-3	84	612	602
5	3-Methylbutanal	590-86-3	93	661	643

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 11 Černý slad, výsledky GC-MS analýzy - pokračování 1

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
6	Allylacetát	591-87-7	84	670	676
7	Kyselina propionová	79-09-4	95	696	676
8	1-Pentanal	110-62-3	93	705	707
9	1-Pentanol	71-41-0	95	770	761
10	Hexanal	66-25-1	97	805	806
11	2-Methyl pyrazin	109-08-0	87	832	820
12	Furfural	98-01-1	97	836	831
13	4-Methyl-2-heptanon	6137-06-0	84	893	888
14	Heptanal	111-71-7	96	905	905
15	NI			923	
16	Cyklooktan	292-64-8	88	961	959
17	5-Methyl furfural	620-02-0	92	966	960
18	1-Okten-3-ol	3391-86-4	93	983	969
19	2-Pentylfuran	3777-69-3	93	992	991
20	Kyselina kapronová	142-62-1	91	997	979
21	E-3-Okten-2-on	18402-82-9	92	1043	1047
22	1,2,3,4,4a,8a-Hexahydronaftalen	62690-62-4	84	1060	1066
23	2-Oktenal	2363-89-5	87	1063	1059
24	1-Methylethyl ester kyseliny 4-oxo-valerové	21884-26-4	81	1065	1056
25	2-Acetylpyrrol	1072-83-9	89	1072	1074
26	3,5-Nonadien-2-on	80387-31-1	82	1075	1068
27	NI			1079	
28	Kyselina enanthová	111-14-8	81	1085	1073
29	Guajakol	90-05-1	90	1091	1090
30	NI			1097	
31	Nonanal	124-19-6	95	1107	1104
32	Maltol	118-71-8	90	1108	1108
33	n-Pentyl-benzen	538-68-1	93	1161	1156
34	(2E)-Nonenal	18829-56-6	88	1164	1163
35	NI			1198	
36	2-Pentyl pyridin	2294-76-0	90	1203	1196
37	(E,E)-2,4-Nonadienal	5910-87-2	88	1221	1218
38	Hydroxymethylfurfural	67-47-0	86	1234	1225
39	NI			1258	
40	NI			1263	
41	NI			1272	
42	4-Ethylguajakol	2785-89-9	92	1280	1275
43	NI			1283	
44	Pentyl ester kyseliny kapronové	540-07-8	92	1289	1282
45	NI			1297	
46	NI			1301	
47	(E,E)-2,4-Dekadienal	25152-84-5	88	1324	1322
48	NI			1334	
49	NI			1339	
50	NI			1348	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 11 Černý slad, výsledky GC-MS analýzy - pokračování 2

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
51	NI			1352	
52	NI			1363	
53	NI			1368	
54	2-Butyl-2-oktenal	13019-16-4	88	1375	1388
55	NI			1434	
56	NI			1453	
57	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	96	1462	1447
58	1-Pentadekan	13360-61-7	92	1492	1502
59	N,N,N,N-Tetramethyl-1,10-diaminodekan	1938-62-1	90	1507	1511
60	NI			1523	
61	NI			1583	
62	Tetradekan	124-25-4	97	1616	1601
63	NI			1674	
64	2-Pentadekanon	2345-28-0	84	1700	1697
65	Myristyltrimethylamonium bromid	1119-97-7	95	1706	
66	NI			1823	
67	Methyl ester kyseliny palmitové	112-39-0	90	1926	1925
68	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1965	1968
69	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	95	1993	1978
70	1-Methylethyl ester kyseliny palmitové	142-91-6	94	2022	2013
71	NI			2078	
72	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2136	2139
73	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	85	2162	2186
74	Ethyl ester kyseliny olejové	111-62-6	89	2168	2185

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.7 Nakuřovaný slad z ječmene

Tab. 12 shrnuje dle pořadí v chromatogramu celkem 54 detekovaných sloučenin vzorku ječného nakuřovaného sladu (humnová sladovna Záhlinice ČR), z toho 12 sloučenin se nepodařilo identifikovat. Příslušný chromatogram (viz Obr. II/7) je umístěný v příloze. Retenční indexy a procentuální zastoupení plochy jednotlivých sloučenin detekovaných pomocí GC-FID jsou shrnuty v Tab. II/7.

Tabulka 12 Nakuřovaný slad z ječmene, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			428!	
2	NI			467!	
3	NI			503	
4	2-Methyl-1-Propanol	78-83-1	82	584	597
5	NI			602	
6	<i>o</i> -n-Propylhydroxyamin	602-38-3	83	635	638
7	3-Methylbutanal	590-86-3	96	662	643
8	NI			671	
9	1-Chlorpentan	543-59-9	87	737	743
10	2,2-Dimethylhexan	590-73-8	81	741	732
11	(2S)-Hexan-2-ol	52019-78-0	88	789	780
12	Butan-2,3-diol	5132-85-9	87	800	788
13	Furfural	98-01-1	96	836	831
14	Furfurylalkohol	98-00-0	85	856	849
15	1-Hexanol	111-27-3	96	873	860
16	Kyselina kapronová	142-62-1	86	985	974
17	Fenylacetaldehyd	122-78-1	95	1049	1045
18	2-Acetylpyrrol	1072-83-9	90	1071	1074
19	Mequinol	150-76-5	91	1091	1090
20	Nonanal	124-19-6	95	1107	1104
21	Benzenethanol	60-12-8	90	1119	1136
22	NI			1153	
23	Kreasol	93-51-6	91	1195	1203
24	Kyselina nonanová	112-05-0	93	1271	1272
25	NI			1295	
26	4-Vinyl guajakol	7786-61-0	95	1318	1309
27	Syringol	91-10-1	89	1354	1347
28	Dodekanal	112-54-9	95	1412	1402
29	4-Methyl syringol	6638--05-7	86	1448	1443
30	Isoeugenol	97-54-1	95	1456	1452
31	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	96	1462	1447
32	Pentadekan	629-62-9	94	1499	1512
33	N,N,N,N-Tetramethyl-1,10-diaminodekan	1938-62-1	93	1506	1511

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 12 Nakuřovaný slad z ječmene, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
34	NI			1582	
35	n-Hexadekan	544-76-3	94	1599	1612
36	Tetradekan	124-25-4	97	1616	1601
37	NI			1648	
38	NI			1669	
39	n-Heptadekan	629-78-7	88	1699	1711
40	Myristyltrimethylamonium bromid	1119-97-7	94	1705	
41	Kyselina myristová	544-63-8	93	1762	1769
42	NI			1783	
43	Ethyl ester kyseliny myristové	124-06-1	95	1793	1779
44	Hexadekanol	629-80-1	96	1820	1800
45	6,10,14-Trimethylpentadekan-2-on	502-69-2	89	1843	1841
46	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1966	1968
47	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	95	1996	1987
48	NI			2063	
49	n-Henikosan	629-94-7	94	2098	2109
50	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2137	2139
51	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	84	2161	2176
52	Ethyl ester kyseliny olejové	111-62-6	94	2168	2185
53	n-Trikosan	638-67-5	94	2298	2300
54	n-Pentakosan	629-99-2	88	2498	2500

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.8 Slad Caraaroma®

Výsledky GC-MS analýzy vzorku Caraaroma® (Weyermann®, Německo) shrnuje Tab. 13. V tabulce je dohromady uvedeno 71 sloučenin, z nichž se 29 nepodařilo identifikovat. Zaznamenaný chromatogram je uveden v příloze pod označením Obr. II/8 Tabulka z GC-FID analýzy je zobrazena v příloze pod označením Tab. II/8.

Tabulka 13 slad z ječmene Caraaroma®, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			461!	
2	NI			479!	
3	NI			502	
4	Kyselina mravenčí	64-18-6	91	529	531
5	1-Chlor-2-methylpropan	513-36-0	86	582	580
6	Octan amonný	631-61-8	96	617	630
7	3-Methylbutanal	590-86-3	96	661	643
8	3,3-Dimethyl-2-butanon	75-97-8	85	669	671
9	Acetoin	513-86-0	92	715	717
10	2-Hexanol	626-93-7	86	789	780
11	2,3-Butandiol	513-85-9	87	801	788

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 13 slad z ječmene Caraaroma®, výsledky GC-MS analýzy - pokračování 1.

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
12	Furfural	98-01-1	96	836	831
13	Furfurylalkohol	98-00-0	88	856	849
14	NI			892	
15	2-Acetyl furan	1192-62-7	85	915	913
16	NI			917	
17	5-Methyl furfural	620-02-0	92	966	960
18	NI			975	
19	NI			984	
20	NI			987	
21	2-Pentylfuran	3777-69-3	93	992	991
22	3-Methyl-1,2-cyklopentadion	765-70-8	87	1033	1026
23	Fenylacetaldehyd	122-78-1	94	1050	1045
24	2-Acetylpyrrol	1072-83-9	90	1073	1074
25	NI			1085	
26	NI			1088	
27	NI			1092	
28	2-Isopropyl-5-methyl-2-hexanal	35158-25-9	87	1107	1104
29	2,2,4,4-Tetramethyl-1,3-cyklobutanediol	3010-96-6	87	1111	1125
30	Maltol	118-71-8	85	1120	1108
31	NI			1132	
32	NI			1142	
33	NI			1154	
34	3,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on	1073-96-7	92	1193	1193
35	NI			1215	
36	Hydroxymethylfurfural	67-47-0	86	1234	1225
37	2-Fenyl acetát	103-45-7	94	1260	1257
38	NI			1272	
39	2-Fenyl-2-butenal	4411-89-6	95	1277	1256
40	NI			1297	
41	4-Vinyl guajakol	7786-61-0	90	1318	1309
42	NI			1321	
43	NI			1341	
44	γ -Dekalakton	706-14-9	85	1368	1383
45	4-Methyl-2-fenyl-2-pentenal	26643-91-4	88	1373	1367
46	2-Methyl-2-fenyl ester propionové kyseliny	103-48-0	95	1398	1395
47	NI			1426	
48	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	97	1462	1447
49	NI			1465	
50	NI			1468	
51	5-Methyl-2-fenyl-2-hexenal	21834-92-4	95	1492	1485
52	n-Hexadekan	544-76-3	94	1600	1600
53	Maltol			1605	
54	NI			1623	
55	NI			1663	
56	Pentadekan-2-on	345-28-0	85	1700	1697
57	NI			1736	
58	Kyselina myristová	544-63-8	94	1763	1769
59	NI			1774	
60	Ethyl ester kyseliny myristové	124-06-1	94	1793	1779
61	NI			1807	
62	NI			1830	
63	6,10,14-Trimethylpentadekan-2-on	502-69-2	90	1844	1841
64	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1968	1968

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 13 slad z ječmene Caraaroma®, výsledky GC-MS analýzy - pokračování 2.

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
65	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	95	1994	1987
66	Henikosan	629-94-7	94	2099	2109
67	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2138	2139
68	2-Hydroxy-cyklopentadekanon	4727-18-8	87	2143	2158
69	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	84	2162	2176
70	Ethyl ester kyseliny olejové	11-62-6	93	2168	2185
71	NI			2173	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.9 Slad Carafa® Special III

Dalším vzorkem pocházejícím ze sladovny Weyermann® (Německo) byl ječný slad Carafa® Special III. Tabulka (viz Tab. 14) obsahuje 78 sloučenin, z nichž 35 nebylo identifikováno. Výstupem analýzy tohoto vzorku je chromatogram uveden v příloze (viz Obr. II/9). Tabulka z GC-FID analýzy je zobrazena v příloze pod označením Tab. II/9.

Tabulka 14 Slad Carafa® Special III, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			457!	
2	Kyselina mravenčí	64-18-6	82	525	531
3	NI			606	
4	NI			615	
5	Allylacetát	591-87-7	84	668	676
6	NI			697	
7	1-Pentanal	110-62-3	94	705	707
8	1-Pentanol	71-41-0	95	769	761
9	Hexanal	66-25-1	97	804	806
10	2-Methyl pyrazin	109-08-0	87	831	820
11	Furfural	98-01-1	84	835	845
12	Furfurylalkohol	98-00-0	86	856	856
13	1,1'-Diacetoxy-ethan	542-10-9	89	868	888
14	Heptan-2-on	110-43-0	87	893	898
15	NI			914	
16	2,6-Dimethyl pyrazin	108-50-9	88	921	929
17	Cyklooktan	292-64-8	86	961	959
18	5-Methyl furfural	620-02-0	92	965	960
19	1-Okten-3-ol	3391-86-4	84	983	983
16	2,6-Dimethyl pyrazin	108-50-9	88	921	929
17	Cyklooktan	292-64-8	86	961	959
18	5-Methyl furfural	620-02-0	92	965	960

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 14 Slad Carafa® Special III, výsledky GC-MS analýzy - pokračování 1.

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
19	1-Okten-3-ol	3391-86-4	84	983	983
20	2-Pentylfuran	3777-69-3	93	992	991
21	NI			1006	
22	E-3-Okten-2-on	18402-82-9	93	1043	1047
23	NI			1059	
24	2-Oktenal	2363-89-5	86	1063	1053
25	1-Methylethyl ester kyseliny 4-oxo-valerové	21884-26-4	84	1065	1056
26	Nona-2,4-dien-2-on	80387-21-1	94	1074	1068
27	NI			1082	
28	Guajakol	90-05-1	90	1091	1090
29	NI			1097	
30	Nonanal	124-19-6	96	1107	1104
31	NI			1117	
32	Maltol	118-71-8	91	1120	1108
33	n-Pentyl-benzen	538-68-1	89	1160	1156
34	(2E)-Nonenal	18829-56-6	86	1164	1163
35	NI			1168	
36	1-(2-Furfuryl) Pyrrol	1438-94-4	86	1183	1183
37	NI			1187	
38	NI			1191	
39	2-Pentyl pyridin	2294-76-0	93	1203	1196
40	Dekanal	112-31-2	92	1208	1208
41	(E,E)-2,4-Nonadienal	5910-87-2	90	1221	1218
42	Hydroxymethylfurfural	67-47-0	86	1233	1225
43	NI			1243	
44	NI			1250	
45	NI			1268	
46	NI			1272	
47	4-Ethylguajakol	2785-89-9	93	1280	1275
48	NI			1283	
49	Pentyl ester kyseliny kapronové	540-07-8	95	1288	1282
50	NI			1310	
51	4-Vinyl guajakol	7786-61-0	80	1318	1309
52	(E,E)-2,4-Dekadienal	25152-84-5	82	1323	1322
53	NI			1348	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 14 Slad Carafa® Special III, výsledky GC-MS analýzy - pokračování 2.

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
54	NI			1351	
55	NI			1358	
56	NI			1362	
57	NI			1368	
58	NI			1373	
59	2-Butyl-2-oktenal	13019-16-4	93	1375	1388
60	NI			1385	
61	Tetradekan	629-59-4	94	1399	1400
62	NI			1422	
63	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	90	1462	1447
64	NI			1472	
65	Pentadekan	629-62-9	85	1500	1500
66	NI			1563	
67	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentanediol diisobutyřát	6846-50-0	95	1591	1605
68	n-Hexadekan	544-76-3	85	1599	1612
69	NI			1610	
70	NI			1615	
71	NI			1623	
72	NI			1649	
73	NI			1684	
74	n-Heptadekan	629-78-7	87	1699	1711
75	Butyl isopropyl ester kyseliny řtalové	17851-53-3	87	1865	1873
76	NI			1890	
77	Methyl ester kyseliny palmitové	112-39-0	91	1926	1925
78	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1965	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.10 Slad Carahell®

U předloženého ječného sladu Carahell® (Weyermann®, Německo) bylo dohromady detekováno 53 sloučenin, z nichž 20 nebylo identifikováno (viz Tab. 15). V příloze je uveden chromatogram (Obr. II/10). Výčet retenčních indexů a ploch pík z GC-FID analýzy je v příloze v Tab. II/10.

Tabulka 15 Slad Carahell®, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			459!	
2	NI			490!	
3	Kyselina mravenčí	64-18-6	87	527	531
4	NI			547	
5	1-Chlor-2-methylpropan	513-36-0	86	580	580
6	n-Propyl-isopropyl éter	627-08-7	81	609	629
7	3-Methylbutanal	590-86-3	95	660	643
8	1-Ethylcyklopropanol	57872-31-8	86	670	671
9	Acetoin	513-86-0	96	714	717
10	2,3-Butandiol	513-85-9	87	788	788
11	NI			800	
12	Hexanal	66-25-1	94	805	806
13	Furfural	98-01-1	97	836	831
14	Furfurylalkohol	98-00-0	86	856	849
15	Benzaldehyd	100-52-7	95	986	982
16	Kyselina kapronová	142-62-1	84	984	974
17	Fenylacetaldehyd	122-78-1	95	1050	1045
18	2-Acetylpyrrol	1072-83-9	92	1072	1074
19	Nonanal	124-19-6	89	1107	1104
20	Maltol	118-71-8	89	1119	1108
21	NI			1134	
22	3,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on	1073-96-7	91	1192	1193
23	Hydroxymethylfurfural	67-47-0	86	1232	1225
24	NI			1300	
25	4-Vinyl guajakol	7786-61-0	93	1318	1309
26	Tetradekan	629-59-4	93	1399	1413
27	Dodekanal	112-54-9	93	1412	1402
28	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	96	1462	1447
29	NI			1483	
30	5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal	21834-92-4	95	1492	1485
31	Pentadekan	629-62-9	94	1500	1512
32	NI			1507	
33	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentandiol diisobutyát	6846-50-0	96	1592	1605
34	n-Hexadekan	544-76-3	95	1599	1612
35	NI			1623	
36	NI			1625	
37	NI			1643	
38	NI			1664	
39	NI			1683	
40	NI			1700	
41	Myristyltrimethylamonium bromid	1119-97-7	93	1706	1734
42	NI			1723	
43	Kyselina myristová	544-63-8	94	1763	1769
44	NI			1801	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 15 Slad Carahell®, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
45	NI			1829	
46	NI			1836	
47	6,10,14-Trimethylpentadekan-2-on	502-69-2	90	1843	1841
48	NI			1890	
49	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1965	1968
50	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	95	1993	1978
51	NI			2001	
52	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2136	2139
53	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	84	2162	2176

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.11 Slad Caramunich®

Ve vzorku ječného sladu Caramunich® (Weyermann®, Německo) bylo GC-MS analýzou nalezeno 75 sloučenin, které jsou uvedeny v Tab. 16. Ze 75 detekovaných sloučenin bylo 25 látek neidentifikováno. Obr. II/11 v příloze je výstupem této analýzy. Souhrn retenčních indexů a ploch píků po GC-FID analýze je uveden v Tab. II/11.

Tabulka 16 Slad Caramunich®, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			459!	
2	NI			500	
3	NI			525	
4	2-Methyl-1-Propanol	78-83-1	81	582	597
5	n-Propyl-isopropyl éter	627-08-7	80	616	629
6	3-Methylbutanal	590-86-3	95	660	643
7	3,3-Dimethyl-2-butanon	75-97-8	85	670	669
8	3-Hydroxy-2-butanon	513-86-0	92	714	716
9	Kyselina isomáselná	79-31-2	87	755	774
10	2,3-Butandiol	513-85-9	87	788	788
11	(2S)-Hexan-2-ol	52019-78-0	88	800	780
12	Hexanal	66-25-1	94	805	806
13	Furfural	98-01-1	97	836	831
14	Kyselina 3-Methylbutanová	503-74-2	88	848	824
15	Furfuryl alkohol	98-00-0	82	856	849

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 16 Slad Caramunich®, výsledky GC-MS analýzy - pokračování 1.

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
16	NI			884	
17	NI			886	
18	Methional	3268-49-3	87	911	909
19	2-Acetyl furan	1192-62-7	86	915	913
20	5-Methyl-2-furan methanol	3857-25-8	94	956	975
21	5-Methyl furfural	620-02-0	91	966	960
22	Benzaldehyd	100-52-7	93	968	960
23	Kyselina kapronová	142-62-1	84	986	979
24	2-Pentyl furan	3777-69-3	93	992	991
25	Fenylacetaldehyd	122-78-1	96	1049	1045
26	2-Acetyl pyrrol	1072-83-9	92	1072	1074
27	NI			1091	
28	2-Isopropyl-5-methyl-2-hexanal	35158-25-9	86	1107	1104
29	2,2,4,4-Tetramethyl-1,3-cyklobundiol	3010-96-6	88	1110	1125
30	Maltol	118-71-8	89	1119	1108
31	NI			1138	
32	NI			1153	
33	3,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on	1073-96-7	92	1192	1193
34	NI			1215	
35	5-Hydroxymethyl furfural	67-47-0	87	1233	1225
36	Kyselina fenylcová	103-82-2	92	1254	1261
37	NI			1271	
38	2-Fenyl-2-butenal	4411-89-6	96	1276	1265
39	NI			1297	
40	4-Vinyl guajakol	7786-61-0	92	1318	1309
41	NI			1323	
42	NI			1347	
43	γ-Dekalakton	706-14-9	84	1367	1383
44	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	96	1462	1447
45	NI			1465	
46	5-Methyl-2-fenyl-2-hexenal	21834-92-4	94	1492	1499
47	N,N,N,N-Tetramethyl-1,10-diaminodekan	1938-62-1	93	1507	1511
48	Kyselina laurová	143-07-7	90	1532	1570
49	n-Hexadekan	544-76-3	95	1564	1612
50	NI			1599	
51	NI			1604	
52	Tetradekan	124-25-4	96	1616	1601
53	NI			1623	
54	NI			1662	
55	2-Pentadekanon	2345-28-0	92	1700	1697
56	NI			1706	
57	NI			1735	
58	Kyselina myristová	544-63-8	94	1763	1763
59	NI			1773	
60	NI			1806	
61	NI			1829	
62	6,10,14-Trimethyl-2-pentadekanon	502-69-2	89	1843	1841
63	NI			1849	
64	Kyselina pentadekanová	1002-84-2	91	1862	1869

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 16 Slad Caramunich®, výsledky GC-MS analýzy - pokračování 2.

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
65	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1966	1968
66	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	95	1993	1978
67	1-Methylethyl ester kyseliny palmitové	142-91-6	94	2022	2013
68	NI			2096	
69	(9Z,12Z)-9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8		2137	
70	2-Hydroxy-cyklopentadekanon Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester	4727-18-8	89	2142	2158
71	kyseliny octové	53120-27-7	84	2161	2176
72	Isopropyl-stearát	112-10-7	91	2221	2212
73	(Tributyl)acetylacitrát	77-90-7	84	2248	2254
74	Trikosan	638-67-5	94	2298	2300
75	n-Pentakosan	629-99-2	81	2498	2500

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.12 Mnichovský slad II

Sloučeniny tvořící profil těkavých látek ječného sladu mnichovského typu II (Weyermann®, Německo) shrnuje Tab.17. Tabulky zaznamenávají 56 sloučenin, z toho se jich 17 nepodařilo identifikovat. Získaný chromatogram je uveden příloze (viz Obr. I/12). Tab. II/12 je výstupem GC-FID měření.

Tabulka 17 Mnichovský slad II, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			457!	
2	NI			500	
3	NI			545	
4	2,3-Dimethyl pentan	565-59-3	80	580	589
5	NI			605	
6	3-Methylbutanal	590-86-3	95	660	643
7	NI			670	
8	Acetoin	513-86-0	96	715	717
9	3-Methylbutan-1-ol	123-51-3	82	737	729
10	(2S)-Hexan-2-ol	52019-78-0	88	788	780
11	2,3-Butandiol	513-85-9	87	800	788
12	Hexanal	66-25-1	94	805	806
13	Furfural	98-01-1	97	836	831
14	Benzaldehyd	100-52-7	96	968	982
15	Kyselina kapronová	142-62-1	85	984	974
16	Fenylacetaldehyd	122-78-1	96	1049	1045
17	2,5-Dimethyl-3,4(2H,5H)-furanone	68755-49-7	89	1069	1053
18	2-Acetyl pyrrol	1072-83-9	92	1072	1074
19	Nonanal	124-19-6	90	1107	1106
20	NI			1119	
21	NI			1152	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 17 Mnichovský slad II, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
22	(2E)-Nonenal	18829-56-6	90	1164	1163
23	3,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on	1073-96-7	92	1191	1193
24	Dekanal	112-31-2	95	1208	1204
25	5-Hydroxymethyl furfural	67-47-0	86	1231	1225
26	Kyselina nonanová	112-05-0	95	1271	1272
27	2-Fenyl-2-butenal	4411-89-6	94	1276	1265
28	NI			1297	
29	4-Vinyl guajakol	7786-61-0	91	1318	1309
30	NI			1323	
31	γ-Dekalakton	706-14-9	88	1367	1383
32	Tetradekan	629-59-4	97	1399	1413
33	Dodekanal	112-54-9	88	1412	1402
34	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	98	1462	1447
35	5-Methyl-2-fenyl-2-hexenal	21834-92-4	94	1492	1499
36	Pentadekan	629-62-9	95	1499	1512
37	NI			1532	
38	n-Hexadekan	544-76-3	95	1599	1612
39	NI			1604	
40	Tetradekan	124-25-4	96	1616	1601
41	NI			1623	
42	NI			1662	
43	NI			1706	
44	NI			1735	
45	Kyselina myristová	544-63-8	94	1762	1763
46	NI			1805	
47	NI			1829	
48	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1966	1968
49	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	95	1993	1978
50	1-Methylethyl ester kyseliny palmitové	142-91-6	94	2022	2013
51	n-Henikosan	629-94-7	94	2099	2109
52	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8		2137	
53	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	84	2162	2176
54	(Tributyl)acetylitrát	77-90-7	84	2248	2254
55	n-Trikosan	638-67-5	94	2298	2300
56	n-Pentakosan	629-99-2	81	2498	2500

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.13 Nakuřovaný slad

Tab. 18 shrnuje všechny detekované a identifikované sloučeniny v předloženého vzorku ječného nakuřovaného sladu (Weyermann®, Německo). Prostřednictvím GC-MS analýzy se podařilo celkem detekovat 55 sloučenin, z toho se 18 nepodařilo identifikovat. Zaznamenaný chromatogram z GC-MS analýzy je uveden v příloze (viz Obr. II/13). Výsledek GC-FID analýzy je umístěn v příloze v příslušné tabulce (viz Tab. II/13).

Tabulka 18 Nakuřovaný slad, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			459!	
2	NI			502	
3	NI			547	
4	2-Methyl-1-Propanol	78-83-1	83	584	597
5	NI			604	
6	3-Methylbutanal	590-86-3	95	661	643
7	NI			671	
8	1-Chlorpentan	543-59-9	86	738	743
9	2,3-Butandiol	513-85-9	87	789	788
10	Ethyl ester kyseliny borité	4433-63-0	86	801	799
11	Hexanal	66-25-1	94	805	806
12	2-Methyl pyrazin	109-08-0	87	833	820
13	1-Hexanol	111-27-3	96	873	860
14	Fenylacetaldehyd	122-78-1	94	1049	1045
15	Guajakol	90-05-1	94	1091	1090
16	Nonanal	124-19-6	90	1107	1107
17	Benzenethanol	60-12-8	89	1120	1136
18	Dekamethylcyklopentasiloxan	541-02-6	87	1132	1135
19	NI			1151	
20	Kreasol	93-51-6	88	1194	1203
21	NI			1264	
22	Kyselina nonanová	112-05-0	89	1271	1271
23	NI			1297	
24	4-Vinyl guajakol	7786-61-0	89	1318	1309
25	NI			1323	
26	Syringol	91-10-1	89	1354	1347
27	Kyselina kaprinová	334-48-5	89	1368	1372
28	Tetradekan	629-59-4	94	1399	1400
29	Dodekanal	112-54-9	92	1412	1410
30	4-Methyl syringol	6638-05-7	86	1449	1443
31	Isoeugenol	97-54-1	96	1456	1452
32	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	95	1462	1447
33	1-Dodekanol	112-53-8	93	1477	1457
34	Pentadekan	629-62-9	93	1499	1512
35	N,N,N,N-Tetramethyl-1,10-diaminodekan	1938-62-1	93	1506	1511

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 18 Nakuřovaný slad, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
36	NI			1526	
37	Kyselina laurová	143-07-7	90	1564	1570
38	NI			1568	
39	2,2,4-Trimethyl-1,3-pentandiol diisobutyrát	6846-50-0	95	1591	1605
40	n-Hexadekan	544-76-3	94	1599	1600
41	NI	20675-95-0	91	1602	1599
42	Tetradekan	124-25-4	97	1616	1601
43	NI			1622	
44	NI			1649	
45	n-Heptadekan	629-78-7	84	1699	1711
46	NI			1705	
47	NI			1773	
48	Hexadekanol	629-80-1	95	1820	1800
49	Butyl isopropyl ester kyseliny ftalové	17851-53-3	88	1865	1873
50	NI			1886	
51	NI			1890	
52	Kyselina palmitová	57-10-3	89	1964	1964
53	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	95	1992	1978
54	n-Henikosan	629-94-7	86	2098	2109
55	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	84	2161	2176

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.14 Pale Ale slad

Dalším analyzovaným vzorkem byl ječný slad Pale Ale (Weyermann®, Německo). Ve vzorku bylo celkem nalezeno 49 sloučenin (Tab. 19), z toho jich nebylo 18 identifikováno. Zaznamenaný chromatogram z GC-MS analýzy je uveden v příloze (viz Obr. II/14). V Tab. II/14 je uvedeno shrnutí GC-FID měření.

Tabulka 19 Pale Ale slad, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			459!	
2	NI			523	
3	NI			547	
4	1-Chlor-2-methylpropan	513-36-0	85	582	580
5	NI			501	
6	3-Methylbutanal	590-86-3	95	661	643
7	NI			671	
8	(2S)-Hexan-2-ol	52019-78-0	86	790	780
9	2,3-Butandiol	513-85-9	87	801	788
10	Hexanal	66-25-1	96	805	806
11	Furfural	98-01-1	96	836	831
12	1-Hexanol	111-27-3	95	873	860

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 19 Pale Ale slad, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
13	Benzaldehyd	100-52-7	96	968	982
14	Kyselina kapronová	142-62-1	88	984	974
15	Fenylacetaldehyd	122-78-1	96	1050	1045
16	2-Acetylpyrrol	1072-83-9	91	1071	1074
17	2,6-Diethylpyrazin	13067-27-1	89	1083	1093
18	Nonanal	124-19-6	94	1107	1104
19	Benzenethanol	60-12-8	86	1120	1136
20	Dekamethylcyklopentasiloxan	541-02-6	88	1132	1135
21	NI			1187	
22	Dekanal	112-31-2	96	1209	1204
23	NI			1294	
24	NI			1304	
25	NI			1323	
26	Tetradekan	629-59-4	96	1400	1413
27	Dodekanal	112-54-9	95	1412	1402
28	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	96	1462	1447
29	Dodekanol	112-53-8	89	1478	1476
30	Pentadekan	629-62-9	94	1500	1512
31	N,N,N,N-Tetramethyl-1,10-diaminodekan	1938-62-1	93	1506	1511
32	Tridekan-1-ol	112-70-9	94	1579	1580
33	n-Hexadekan	544-76-3	94	1600	1612
34	Tetradekan	124-25-4	97	1616	1601
35	NI			1623	
36	NI			1674	
37	NI			1699	
38	NI			1705	
39	NI			1778	
40	Hexadekanal	629-80-1	96	1820	1800
41	Butyl isopropyl ester kyseliny ftalové	17851-53-3	88	1866	1873
42	NI			1872	
43	NI			1890	
44	NI			1901	
45	Kyselina palmitová	57-10-3	93	1963	1968
46	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	95	1993	1978
47	NI			2011	
48	n-Henikosan	629-94-7	90	2099	2109
49	n-Trikosan	638-67-5	95	2299	2300

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.1.15 Pražený ječmen

Vzorek ječného praženého sladu od značky Weyermann® pocházejícího z Německa byl podroben GC-MS měření. Všechny detekované sloučeniny shrnuje Tab. 20. Celkem bylo nalezeno 72 sloučenin, z toho se jich nepodařilo 29 identifikovat. Zaznamenaný chromatogram z GC-MS analýzy je uveden v příloze (viz Obr. II/15). Souhrn retenčních indexů a ploch píků po GC-FID analýze je uveden v Tab. II/15.

Tabulka 20 Pražený ječmen, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			461!	
2	NI			506	
3	2,3-Epoxy-2-methylbutan	5076-19-7	81	527	544
4	1-Chlor-2-methylpropan	513-36-0	83	586	580
5	NI			607	
6	NI			616	
7	3-Methyl Butanal	590-86-3	95	662	643
8	3-Methyl-2-pentanon	565-61-7	87	671	690
9	Kyselina propionová	79-09-4	95	696	676
10	1-Pentanal	110-62-3	93	706	707
11	Pyrazin	290-37-9	85	741	729
12	1-Pentanol	71-41-0	93	770	761
13	Hexanal	66-25-1	96	805	806
14	2-Methyl pyrazin	109-08-0	87	831	820
15	Furfural	98-01-1	97	836	831
16	Furfurylalkohol	98-00-0	85	856	849
17	1,1'-Diacetoxy-ethan	542-10-9	85	868	888
18	Kyselina valerová	109-52-4	93	887	875
19	4-Methyl-2-heptanon	6137-06-0	89	893	888
20	2-Acetyl furan	1192-62-7	86	915	913
21	2,6-Dimethyl pyrazin	108-50-9	89	920	929
22	Cyklooktan	292-64-8	88	961	959
23	5-Methyl furfural	620-02-0	92	966	960
24	1-Okten-3-ol	3391-86-4	89	983	962
25	2-Pentyl-furan	3777-69-3	93	992	991
26	Kyselina kapronová	142-62-1	91	995	979
27	2-Ethyl-6-methyl pyrazin	13925-03-6	92	1004	994
28	NI			1022	
29	(E)-3-Okten-2-on	1669-44-9	90	1043	1036
30	NI			1059	
31	2-Oktenal	2363-89-5	87	1063	1059
32	1-Methylethyl ester kyseliny 4-oxo-valerové	21884-26-4	81	1065	1056
33	2-Acetyl pyrrol	1072-83-9	92	1071	1063
34	3,5-Nonadien-2-on	80387-31-1	86	1074	1068
35	NI			1082	
36	Mequinol	150-76-5	84	1091	1090

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 20 Pražený ječmen, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
37	NI			1097	
38	Nonenal	124-19-6	90	1107	1104
39	1-oxid-pyridin	694-59-7		1116	1168
40	Maltol	118-71-8	89	1119	1108
41	1-(2-Furfuryl) Pyrrol	1438-94-4	89	1183	1199
42	NI			1187	
43	2-Pentyl pyridin	2294-76-0	91	1203	1196
44	(E,E)-2,4-Nonadienal	5910-87-2	90	1221	1218
45	5-Hydroxymethyl furfural	67-47-0	86	1232	1225
46	NI			1250	
47	NI			1271	
48	4-Ethylguajakol	2785-89-9	93	1280	1275
49	NI			1283	
50	NI			1310	
51	4-Vinyl guajakol	7786-61-0	87	1318	1309
52	NI			1323	
53	NI			1347	
54	NI			1358	
55	NI			1362	
56	NI			1365	
57	NI			1368	
58	NI			1373	
59	NI			1385	
60	Tetradekan	629-59-4	97	1399	1413
61	NI			1422	
62	NI			1443	
63	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	98	1462	1447
64	NI			1482	
65	NI			1563	
66	n-Hexadekan	544-76-3	95	1599	1612
67	NI			1622	
68	NI			1773	
69	NI			1886	
70	Methyl ester kyseliny palmitové	112-39-0	90	1925	1925
71	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1964	1968
72	NI			2095	

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.2 Skupina pšeničných sladů

Do skupiny pšeničných sladů byly zařazeny celkem 3 vzorky, 2 vzorky pochází z humnové sladovny Záhlinice a 1 vzorek sladu z Pivovaru Primátor (Náchod, ČR).

3.7.2.1 Pšeničný slad I

V Tab. 21 je dle pořadí v chromatogramu uvedeno celkem 62 detekovaných sloučenin ve vzorku pšeničného sladu z Pivovaru Primátor (Náchod, ČR). Z toho se 16 sloučenin nepodařilo identifikovat. Chromatogram této analýzy je zobrazen v příloze (viz Obr. II/16). Tab. II/16 je výstupem GC-FID měření.

Tabulka 21 Pšeničný slad I, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			4611	
2	NI			502	
3	NI			602	
4	o-N-Propylhydroxylamin	627-38-3	81	633	638
5	3-Methylbutanal	590-86-3	95	660	643
6	NI			670	
7	1-Chlorpentan	543-59-9	87	737	743
8	2,4-Dimethyl-1-hexanal	16746-87-5	84	740	720
9	1-Pentanol	71-41-0	94	770	761
10	(2S)-Hexan-2-ol	52019-78-0	88	788	780
11	NI			800	780
12	Hexanal	66-25-1	96	805	806
13	Furfural	98-01-1	97	836	831
14	Kyselina 3-Methylbutanová	503-74-2	87	842	842
15	1-Hexanol	111-27-3	96	872	860
16	Benzaldehyd	100-52-7	97	968	982
17	Kyselina kapronová	142-62-1	97	990	974
18	2-Pentylfuran	3777-69-3	92	992	991
19	Benzylalkohol	100-51-6	96	1041	1036
20	Fenylacetaldehyd	122-78-1	96	1049	1045
21	2-Acetylpyrrol	1072-83-9	89	1071	1074
22	NI			1075	
23	Kyselina enanthová	111-14-8	92	1079	1073
24	NI			1085	
25	Nonanal	124-19-6	94	1104	1107
26	Benzenethanol	60-12-8	87	1120	1113
27	Dekamethylcyklopentasiloxan	541-02-6	87	1132	1135
28	NI			1143	
29	Kyselina kaprylová	124-07-2	92	1175	1173
30	2-(2-Butoxyethoxy)ethanol	112-34-5	93	1191	1211
31	Kyselina nonanová	112-05-0	95	1272	1272
32	NI			1283	
33	NI			1321	
34	γ -Dekalakton	706-14-9	87	1367	1383
35	NI			1400	
36	Dodekanal	112-54-9	92	1412	1410

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 21 Pšeničný slad I, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
36	Dodekanal	112-54-9	92	1412	1410
37	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	96	1462	1447
38	1-Dodekanol	112-53-8	92	1477	1457
39	NI			1506	
40	Kyselina laurová	143-07-7	89	1563	1570
41	n-Tridekanol	112-70-9	93	1579	1580
42	n-Hexadekan	544-76-3	95	1599	1612
43	Tetradekan	124-25-4	93	1616	1614
44	NI			1627	
45	NI			1673	
46	n-Heptadekan	629-78-7	91	1699	1711
47	Myristyltrimethylamonium bromid	1119-97-7	93	1705	
48	Kyselina myristová	544-63-8	93	1763	1769
49	NI			1783	
50	n-Oktadekan	593-45-3	96	1799	1810
51	Hexadekanol	629-80-1	95	1820	1800
52	Kyselina pentadekanová	1002-84-2	91	1862	1869
53	Butyl isopropyl ester kyseliny ftalové	17851-53-3	87	1865	1873
54	NI			1900	
55	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1967	1968
56	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	91	1993	1993
57	n-Henikosan	629-94-7	95	2099	2109
58	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2137	2139
59	Chlorid kyseliny olejové	112-77-6	86	2142	2131
60	Methyl ester kyseliny sterkulové	3220-60-8	82	2162	2179
61	n-Trikosan	638-67-5	94	2298	2300
62	n-Pentakosan	629-99-2	88	2498	2500

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.2.2 Wheat Malt

Detekované sloučeniny tvořící profil těkavých látek pšeničného sladu typu Wheat Malt z humnové sladovny Záhlinice (ČR) shrnuje Tab. 22. Dohromady zaznamenává 46 sloučenin, z toho se jich 8 nepodařilo identifikovat. Chromatogram této analýzy je uveden příloze (viz Obr. II/17). Tab. II/17 zobrazuje data z GC-FID měření.

Tabulka 22 Wheat Malt, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			546	
2	1,2-Dimethylhydrazin	540-73-8	82	601	617
3	3-Methylbutanal	590-86-3	93	643	661
4	1-Chlor-2-methyl-butan	616-13-7	82	670	679
5	1-Chlorpentan	543-59-9	84	738	742
6	1-Pentanol	71-41-0	93	770	761
7	(2S)-Hexan-2-ol	52019-78-0	88	789	780
8	2,3-Butandiol	513-85-9	87	800	788
9	1-Hexanol	111-27-3	97	873	860
10	Benzaldehyd	100-52-7	96	968	982
11	Kyselina kapronová	142-62-1	97	988	974
12	2-Pentylfuran	3777-69-3	93	992	991
13	Benzylalkohol	100-51-6	96	1041	1036
14	Fenylacetaldehyd	122-78-1	95	1050	1045
15	2-Acetylpyrrol	1072-83-9	83	1071	1074
16	Oktan-1-ol	111-87-5	91	1075	1059
17	Kyselina enanthová	111-14-8	94	1079	1073
18	Nonanal	124-19-6	96	1107	1104
19	Benzenethanol	60-12-8	94	1136	1120
20	Dekamethylcyklopentasiloxan	541-02-6	86	1132	1135
21	1-Nonanol	143-08-8	84	1175	1159
22	NI			1203	
23	Kyselina nonanová	112-05-0	96	1272	1272
24	NI			1345	
25	γ -Dekalakton	706-14-9	85	1368	1383
26	NI			1423	
27	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	96	1462	1447
28	Kyselina laurová	143-07-7	90	1563	1581
29	n-Hexadekan	544-76-3	95	1599	1612
30	NI			1601	
31	NI			1645	
32	n-Heptadekan	629-78-7	92	1699	1711
33	Kyselina myristová	544-63-8	86	1762	1773
34	NI			1784	
35	n-Oktadekan	593-45-3	96	1799	1810
36	Butyl isopropyl ester kyseliny ftalové	17851-53-3	86	1865	1873
37	Kyselina palmitová	57-10-3	94	1966	1968
38	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	94	1992	1978
39	1-Methylethyl ester kyseliny palmitové	142-91-6	95	2022	2013
40	NI			2089	
41	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2137	2139
42	2-Hydroxy-cyklopentadekanon	4727-18-8	87	2142	2158
43	5-Nonadekan-1-ol	1454-84-8	82	2162	2161
44	2-Oktyl-1-dodekanol	5333-42-6	93	2199	2188
45	Isopropyl-stearát	112-10-7	90	2221	2212
46	2-Oktyl ester kyseliny palmitové	55194-81-5	93	2498	2510

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.7.2.3 Pšeničný slad II

Posledním analyzovaným vzorkem z pšeničných sladů byl pšeničný slad II z humnové sladovny Záhlinice (ČR). Detekované sloučeniny shrnuje Tab. 23. V tomto sladu bylo celkem nalezeno 43 sloučenin, z toho jich bylo 29 identifikováno. Separace látek v tomto vzorku je zaznamenána na Obr. II/18, který se nachází v příloze. Výsledky z GC-FID měření uvádí Tab. II/18.

Tabulka 23 Pšeničný slad II, výsledky GC-MS analýzy

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
1	NI			459!	
2	NI			502	
3	NI			547	
4	NI			604	
5	<i>o</i> -n-Propylhydroxyamin	602-38-3	82	635	638
6	3-Methylbutanal	590-86-3	95	662	643
7	1-Chlorpentan	543-59-9	83	737	729
8	NI			741	
9	2,3-Butandiol	513-85-9	87	790	788
10	Ethyl ester kyseliny borité	4433-63-0	86	801	799
11	Hexanal	66-25-1	95	806	806
12	Furfural	98-01-1	97	837	831
13	1-Hexanol	11-27-3	97	873	860
14	Kyselina kapronová	142-62-1	97	989	974
15	Fenylacetaldehyd	122-78-1	95	1050	1045
16	NI			1075	
17	NI			1099	
18	Nonanal	124-19-6	89	1107	1107
19	Benzenethanol	60-12-8	93	1120	1113
20	Dekamethylcyklopentasiloxan	541-02-6	86	1132	1135
21	NI			1151	
22	1-Nonanol	143-08-8	88	1175	1159
23	Dekanal	112-31-2	95	1209	1204
24	Kyselina nonanová	112-05-0	95	1272	1272
25	NI			1297	
26	γ -Dekalakton	706-14-9	84	1368	1383
27	NI			1375	
28	Tetradekamethyl-cykloheptasiloxan	107-50-6	95	1462	1447
29	NI			1497	
30	n-Hexadekan	544-76-3	95	1600	1612
31	Tetradekan	124-25-4	92	1616	1614
32	NI			1623	
33	NI			1663	
34	n-Heptadekan	629-78-7	85	1700	1700

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

Tabulka 23 Pšeničný slad II, výsledky GC-MS analýzy - pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	CAS	Shoda [%]	RI ^a	RI ^b
35	Kyselina myristová	544-63-8	93	1763	1769
36	NI		84	1774	
37	Kyselina palmitová	57-10-3	89	1967	1977
38	Ethyl ester kyseliny palmitové	628-97-7	90	1993	1993
39	n-Henikosan	629-94-7	94	2099	2109
40	9,12-Oktadekadienol chlorid	7459-33-8	84	2137	2139
41	Oktadeka-(3,13)-dien-1-yl ester kyseliny octové	53120-27-7	84	2162	2176
42	n-Trikosan	638-67-5	94	2299	2300
43	n-Pentakosan	629-99-2	89	2498	2500

!mimo homologickou řadu alkanů, NI - nebylo identifikováno, RI^a – retenční index vypočítaný dle van den Doola, RI^b - retenční index nalezený

3.8 Zhodnocení výsledků měření

Cílem měření bylo analyzovat profil těkavých látek a zjistit zastoupení jednotlivých těkavých látek ve vzorcích sladu. Profil byl studován u 15 ječných sladů a 3 pšeničných sladů.

Při porovnávání všech GC-MS analýz z pohledu identifikovaných látek bylo nejvíce látek identifikovaných v ječném sladu Caramunich® II (51), v ječném sladu typu Caraaroma® (49) a v ječném sladu černém (49). V pšeničných sladech bylo nejvíce identifikovaných látek u sladu s označením Pšeničný slad I (46), který pochází z pivovaru Primátor.

Při mezidruhovém porovnání z hlediska profilů těkavých látek bylo zjištěno, že profily sladů tmavých a speciálních obsahují bohatší směsi aromatických látek oproti klasickým světlým sladům.

Ve většině sladech tvoří významný podíl identifikovaných látek ketony, aldehydy, alkoholy, kyseliny a estery. Méně jsou pak zastoupeny heterocyklické sloučeniny, které obsahují kyslík, dusík nebo síru.

Nejvíce opakovanou sloučeninou v analyzovaných profilech byl acetoin. Tato karbonylová sloučenina byla nalezena v 16 vzorcích. Acetoin se sice nevyznačuje výraznými organoleptickými vlastnostmi, ale je prekurzorem mnoha důležitých vonných a chuťových sloučenin, zejména heterocyklických, které vznikají při Maillardových reakcích a uplatňují se v mnoha redoxních a adičních reakcích.

Druhou nejčastěji vyskytovanou sloučeninou byl fenylacetaldehyd. Pro tento aldehyd je charakteristické květinové až medové aroma. Fenylacetaldehyd nebyl nalezen pouze ve 4 sladech, a to ve světlém tradičním sladu plzeňského typu, praženém sladu, černém sladu a sladu Carafa® Special III.

Dalším hojně zastoupeným karbonylovým derivátem byl 3-methylbutanal, který vykazuje kromě sladového a karamelového aroma i tóny čokoládové a mandlové. Při porovnávání jednotlivých aromaprofilů byla tato sloučenina identifikována ve 14 vzorcích. 3-Methylbutanal nebyl nalezen u Pšeničného sladu I, sladu Wheat Malt (oba poskytovány sladovnou ze Záhlinic), u sladu nakuřovaného a u sladu typu Carafa® Special III (oba poskytovány sladovnou Weyermann®- Německo).

Významnými identifikovanými látkami ve některých sladech byla trojice sloučenin, konkrétně guajakolu, 4-ethylguajakolu a 4-vinyl guajakolu. Sloučenina guajakol byla obsažena ve sladu pod označením tradiční světlý slad plzeňského typu, v nakuřovaném sladu a sladu černém. 4-Ethylguajakol byl nalezen ve sladu černém, sladu praženém a sladu typu Carafa® Special III. 4-Vinyl guajakol byl identifikován ve sladu pod označením tradiční světlý slad plzeňského typu, nakuřovaný slad z ječmene, Carafa® Special III, Carahell®, nakuřovaný slad, Caraaroma® a Caramunich® II. Pro tyto látky je společné, že kondenzují na povrchu sladu a využívají se při přípravě sladů používaných pro výrobu nakuřovaných piv.

Další významnou detekovou skupinou jsou deriváty pyrazinu, které jsou nositeli charakteristického praženého, oříškového aroma. 2-Methyl pyrazin byl detekován ve sladu černém, ve sladu praženém ječmene, ve sladu Carafa® Special III a ve sladu nakuřovaného typu. Sloučenina 2,6-diethylpyrazin byla nalezena v ječném sladu typu Pale Ale. 2,6-Dimethyl pyrazin byl identifikován v profilech sladu praženého ječného sladu a sladu Carafa® Special III.

Mezi další vyskytující se těkavé látky patří např. maltol. Ten se vyznačuje karamelovým aroma a byl detekován v 7 vzorcích, a to v profilu sladů Caraaroma®, Caramunich® II, praženého ječmenného sladu, černého sladu, sladu Carahell®, karamelového sladu a sladu Carafa® Special III. Zatuchlé aroma je typické pro kyselinu 3-methylbutanovou, která byla detekována v pšeničném sladu. Mezi látky, pro které je typické sirné aroma patří např. methanthiol, který byl detekován v ječném sladu Caramunich® II.

Analyzované těkavé látky mají ve většině případů pozitivní sensorické vlastnosti, zároveň byly mezi nimi detekovány i látky mající negativní vliv na lidské zdraví. Jako zajímavost lze uvést přítomnost furfuralu, který se využívá k výrobě furanových pryskyřic (složky termosetových kompozitů, cementů a lepidel). Dalšími identifikovanými látkami byly dekamethylcyklopentasiloxan, který se řadí do kategorie látek vysoce perzistentních a vysoce

bioakumulativních, nebo sloučenina 1-chlor-2-methylpropan, což je halogenovaný uhlovodík s negativním dopadem na životního prostředí.

Při porovnání chromatogramů z GC-FID a GC-MS analýz nebyly nalezeny markantní rozdíly z hlediska počtu detekovaných látek, nelze tudíž jednoznačně určit, kterou analýzou lze detekovat více sloučenin ve sladech. U některých sloučenin byla pozorována shoda retenčních indexů z GC-FID a GC-MS měření. Na základě shody RI lze konstatovat, že se jedná o stejné sloučeniny.

4 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývala analýzou profilu těkavých látek pivovarských sladů a zastoupení jednotlivých těkavých látek ve vzorcích.

V teoretické části byly uvedeny druhy sladu a podrobně popsány jednotlivé technologické kroky výroby sladu. Pozornost byla věnována analýze profilu látek ze sladu, ale i uplatnění znalosti aromaprofilu v potravinářství. Další část práce se zabývala úpravou vzorku před analýzou, kontrétně extrakcí tuhou fází a mikroextrakcí tuhou fází. Detailně je zde popsána i možnost vakuem asistované headspace mikroextrakce tuhou fází. V experimentální části je kromě samotné analýzy reálných vzorků řešena i optimalizaci podmínek pro extrakci těkavých látek.

Cílem experimentální části diplomové práce bylo prověřit možnosti vzorování metodou Vac-HSSPME a analyzovat profily těkavých látek ve vzorcích sladu pomocí plynové chromatografie s plamenovou ionizační a hmotnostní detekcí.

Před započítím experimentální fáze byl v předběžných experimentech prověřován také vhodný způsob evakuace měrné nádoby. Bylo prokázáno, že ve srovnání s čerpadlem je plastová injekční stříkačka efektivnějším při evakuaci nádoby. Při porovnání s klasickou HS-SPME, metoda Vac-HSSPME efektivněji ovlivňuje extrakci těkavých složek ve sladech. Za podmínek vakua byl shledán nejen vyšší počet vyextrahovaných látek, ale i jejich celková plocha na chromatogramu.

Následně byly v rámci práce optimalizovány extrakční podmínky, které vedou k vyextrahování co největšího množství těkavých látek tvořících celkový profil. Vzhledem k různorodému chemickému složení sladů byly zvoleny pro extrakci čtyři typy vláken. Jejich účinnost extrakce byla porovnávána z pohledu počtu píků a celkové plochy píků. Na základě tohoto vyhodnocení bylo pro analýzu těkavých látek ve vzorcích sladu vybráno vlákno DVB/CAR/PDMS. Pomocí statistické metody odezvoových ploch bylo při Vac-HSSPME dosaženo nejefektivnější extrakce při extrakční teplotě 90 °C, extrakční době 45 min a navážce sladu 3 g.

Za takto optimalizovaných podmínek byly analyzovány jednotlivé vzorky pivovarských sladů. Ze získaných profilů lze vyčíst, že na zastoupení těkavých látek má zásadní vliv jeho technologická příprava. To se prokázalo na vyšším počtu identifikovaných látek u sladů tmavých a sladů speciálních.

Při porovnání retenčních indexů sloučenin z GC-FID a GC-MS byla nalezena podobnost, tudíž lze usuzovat, že se jednalo o stejnou sloučeninu.

Závěrem lze konstatovat, že u metody Vac-HSSPME byla prokázána vyšší extrahovatelnost těkavých látek za optimalizovaných podmínek oproti konvenční metodě HS-SPME. Při tvorbě podtlaku pro Vac-HSSPME zatím nebylo možné využití plné automatizace, což může být bráno jako velký nedostatek pro rutinní analýzy.

5 LITERATURA

- [1] KADLEC, Pavel, Karel MELZOCH a Michal VOLDŘICH. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2009. ISBN 978-80-7418-051-4.
- [2] ČR. *Zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích: PIVO A NÁPOJE NA BÁZI PIVA*. Sbírka zákonů ČR, 1997.
- [3] BASAŘOVÁ, Gabriela. *Sladařství: teorie a praxe výroby sladu*. Praha: Havlíček Brain Team, 2015. ISBN 978-80-87109-47-2.
- [4] KUNATH, Brian. *Pivní bible*. Praha: Mladá fronta, 2012. ISBN 978-80-204-2665-9.
- [5] MOŠTEK, Josef. *Sladařství: Biochemie a technologie sladu*. Praha: SNTL, 1975.
- [6] BASAŘOVÁ, Gabriela. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [7] MRÍZOVÁ, Katarína, Edita HOLASKOVÁ, M. ÖZ, Eva JISKROVÁ, Ivo FRÉBORT a Petr GALUSZKA. Transgenic barley: A prospective tool for biotechnology and agriculture. *Biotechnology Advances*. 2014, **32**(1), 137-157
- [8] CHLÁDEK, Ladislav. *Pivovarnictví*. Praha: Grada, 2007. Řemesla, tradice, technika. ISBN 978-80-247-1616-9.
- [9] KOK, Yee, Lijuan YE, Jeroen MULLER, Dave OW a Xuezhi BI. Brewing with malted barley or raw barley: what makes the difference in the processes?. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2019, **103**(3), 1059-1067
- [10] DEPRAETERE, Sofie, Filip DELVAUX, Stefan COGHE a Freddy DELVAUX. Wheat Variety and Barley Malt Properties: Influence on Haze Intensity and Foam Stability of Wheat Beer. *Journal of the Institute of Brewing* 2004, **110**(3), 200-206

- [11] NOVOTNÝ, Petr. *Pivařka: tajemství domácího pivovarství*. Jota, 2017, ISBN 978-80-7565-108-2.
- [12] GUO, Mengmeng, Kang XU a Zhenlin WANG. Effect of kilning on the composition of protein and arabinoxylan in wheat malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 2019, **125**(3), 288-293
- [13] DELVAUX, F., F. DELVAUX a J. DELCOUR. Characterisation of the Colloidal Haze in Commercial and Pilot Scale Belgian White Beers. *Journal of the Institute of Brewing*, 2000, **106**(4), 221-228
- [14] KADLEC, Pavel, Karel MELZUCH a Michal VOLDŘICH. *Přehled tradičních potravinářských výrob: technologie potravin*. Ostrava: Key Publishing, 2012, ISBN 978-80-7418-145-0.
- [15] BROOKES, P., D. LOVETT a I. MACWILLIAM. The steeping of barley. A review of the metabolic consequences of water uptake, and their practical implications. *Journal of the Institute of Brewing*. 1976, **82**(1), 14-26.
- [16] DE KEUKELEIRE, Denis. Fundamentals of beer and hop chemistry. *Química Nova*. 2000, **23**(1), 108-112
- [17] KHOKONOVA, Madina, KARASHAEVA, Aida, ZAVALIN, Andrey. Quality of brewing malt depending on the storage conditions of barley. *Russian Agricultural Sciences*. 2015, **41**(6), 508-511
- [18] CEJPEK, Karel. Vůně a chuť sladů: Vůně a chuť sladů. *Chemické listy*. 2014, **108**(5), 426–435. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2014_05_426-435.pdf
- [19] KATAOKA, Hiroyuki, Heather LORD a Janusz PAWLISZYN. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Journal of Chromatography*. 2000, **880**(1-2), 35-62

- [20] HORÁK, Tomáš, Jiří ČULÍK, Marie JURKOVÁ, Pavel ČEJKA, Vladimír KELLNER, Josef DVOŘÁK a Danuša HAŠKOVÁ. Faster gas chromatography and its use in brewing. Part 2. - The determination of high volatile beer flavours after headspace extraction. *Kvasný Průmysl*, 2009, **55**(10), 268-272
- [21] DONG, Liang, Yongzhe PIAO, Xiao ZHANG, Changxin ZHAO, Yingmin HOU a Zhongping SHI. Analysis of volatile compounds from a malting process using headspace solid-phase micro-extraction and GC-MS. *Food Research International*, 2013, **51**(2), 783-789
- [22] BUXTON, Ian a Paul HUGHES. *The science and commerce of whisky*. Cambridge: RSC, 2014. ISBN 978-1-84973-150-8.
- [23] WOFFENDEN, Helen, Jennifer AMES a Sachin CHANDRA. Relationships between Antioxidant Activity, Color, and Flavor Compounds of Crystal Malt Extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, **49**(11), 5524-5530
- [24] BASAŘOVÁ, Gabriela. Význam těkavých látek v pivovarské výrobě. *Kvasný průmysl* 1967, **13**(2), 26-30 . Dostupné: <http://www.kvasnyprumysl.net/pdfs/kpr/1967/02/01.pdf>
- [25] VELÍŠEK, Jan. *Chemistry of Food*. 1st. United States: John Wiley & Sons, 2014. ISBN 1118383818.
- [26] VANDECAN, Sem, Daan SAISON, Nina SCHOUPPE, Filip DELVAUX a Freddy DELVAUX. Optimisation of specialty malt volatile analysis by headspace solid-phase microextraction in combination with gas chromatography and mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 2010, **671**(1-2), 55-60
- [27] FICKERT, B. a Peter SCHIEBERLE. Identification of the key odorants in barley malt (caramalt) using GC/MS techniques and odour dilution analyses. *Molecular Nutrition*, 1998, **42**(06), 371-375.
- [28] MIKULÍKOVÁ, Renata, Zdeněk SVOBODA, Karolína BENEŠOVÁ a Sylvie BĚLÁKOVÁ. Use of modern analytical SPDE and TDAS methods for the analysis of sulphur volatile flavors. *Kvasný Průmysl* , 2011, **57**(7-8), 231-235

- [29] OLŠOVSKÁ, Jana, Karel ŠTĚRBA, Tomáš VRZAL, Marie JURKOVÁ a Pavel ČEJKA. Sensory Beer Aging. *Kvasný Průmysl*. 2016, **62**(9), 250-257
- [30] SVOBODA, Zdeněk, Renata MIKULÍKOVÁ, Sylvie BĚLÁKOVÁ, Karolína BENEŠOVÁ, Ivana MÁROVÁ a Zdeněk NESVADBA. Determination of Trans-2-Nonenal in Barley Grain, Malt and Beer. *Kvasný Průmysl*, 2010, **56**(11-12), 428-432
- [31] MIKYŠKA, Alexandr, Ivo HARTMAN a Danuša HAŠKOVÁ. Polyphenol compounds and antioxidative properties of barley varieties recommended for Czech beer. *Kvasný Průmysl*, 2011, **57**(7-8), 182-189
- [32] JANŠTOVÁ, Bohumíra a Pavlína NAVRÁTILOVÁ. *Návody do cvičení z technologie a hygieny mléka a mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2014. ISBN 978-80-7305-714-5.
- [33] MOID, Luigi, Patrick ETIEVANT, Dominique LANGLOIS, Jocelyne DEKIMPE a Francesco ADDEO. Detection of powerful odorants in heated milk by use of extract dilution sniffing analysis. *Journal of Dairy Research*, 1994, **61**(3), 385-394
- [34] Ftaláty. *Bezpečnost potravin: A-Z termíny*. Těšnov 65/17: Ministerstvo zemědělství. Dostupné z: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92243.aspx>
- [35] FENG, Yong-Lai, Jiping ZHU a Robert SENSENSTEIN. Development of a headspace solid-phase microextraction method combined with gas chromatography mass spectrometry for the determination of phthalate esters in cow milk. *Analytica Chimica Acta*, 2005, **538**(1-2), 41-48
- [36] BAJER, Tomáš, Petra BAJEROVÁ, Silvie SURMOVÁ, Daniel KREMR, Karel VENTURA a Aleš EISNER. Chemical profiling of volatile compounds of various home-made fruit spirits using headspace solid-phase microextraction. *Journal of the Institute of Brewing*, 2017, **123**(1), 105-112

- [37] ŚLIWIŃSKA, Magdalena, Paulina WIŚNIEWSKA, Tomasz DYMERSKI, Waldemar WARDENCKI a Jacek NAMIEŚNIK. The flavour of fruit spirits and fruit liqueurs: a review. *Flavour and Fragrance Journal*, 2015, **30**(3), 197-207
- [38] RUSU COLDEA, Teodora, Carmen SOCACIU, Maria PARV a Dan VODNAR. Gas-Chromatographic Analysis of Major Volatile Compounds Found in Traditional Fruit Brandies from Transylvania, Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2011, **39**(2), 109-116
- [39] HORÁK, Tomáš, Jiří ČULÍK, Marie JURKOVÁ, Pavel ČEJKA a Vladimír KELLNER. Application of SPE and SPME in Analysis of Beer. *Kvasný Průmysl*, 2006, **52**(3), 78-82
- [40] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [41] SKOOG, Douglas A., F. James HOLLER a Stanley R. CROUCH. *Principles of instrumental analysis*. 6th ed. Belmont: Thomson Brooks/Cole, c2007. ISBN 978-0-495-01201-6..
- [42] *Joint Efforts - efficient automated THC determination: Drug screening Joint Efforts* Gerstel. Dostupné z: http://www.gerstel.com/pdf/GST_GSW_13_3-5_en.pdf
- [43] PROCHÁZKOVÁ Dana, Mikroextrakce a tuhou fází a stanovení obsahu analytů, *Chemické listy* - 2002, **96**, 827–852
- [44] HORÁK Tomáš, ČULÍK Jiří, JURKOVÁ Marie, ČEJKA Pavel a KELLNER Vladimír. New trends in sample preparation methods for the determination of flavour compound in beers. *Kvasný Průmysl*. 2002, **48**(7), 186-188
- [45] PAWLISZYN, Janusz. *Applications of Solid Phase Microextraction*. Great Britain. Royal Society of Chemistry, 1999, ISBN 978-0-85404-525-9.
- [46] ZHANG, Zhouyao. a Janusz. PAWLISZYN. Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 2002, **65**(14), 1843-1852

- [47] GANGFENG, Ouyang a Jiang RUIFEN, 2016. *Solid Phase Microextraction: Recent Developments and Applications*. Springer-Verlag Berlin and Heidelberg GmbH & Co. ISBN 3662535963.
- [48] PAWLISZYN, Janusz. *Handbook of Solid Phase Microextraction*. First edition. 225 Wyman Street: Walham, 2012 [cit. 2020-03-30]. ISBN 9780123914491.
- [49] *Sigma-Aldrich: SPME Applications Guide*. 2001, 1-8
Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Supelco/Bulletin/4547.pdf>
- [50] JABALI, Yasmine., Maurice. MILLET a Mervat El-HOZ. Optimization of a DI-SPME-GC-MS/MS method for multi-residue analysis of pesticides in waters. *Microchemical Journal*. 2019, 147, 83-92
- [51] POUSTKA, Jan. *Mikroextrakce tuhu fázi: Typické laboratorní provedení sorpce*
Dostupné z: https://web.vscht.cz/~poustkaj/ISM%20PIGA%20Cz2%20SPME_SBSE_MEPS-JP2018.pdf
- [52] BRANSKÝ, Václav. *Analýza aromatických látek obsažených v zeleném čaji*. Pardubice, 2019. Diplomová práce. Univerzita Pardubice
- [53] MEYERS, Robert A., 2000. *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*. Wiley. ISBN 978-0470973332.
- [54] ZHAKUPBEKOVA, Aray, Nassiba BAIMATOVA a Bulat KENESSOV. A critical review of vacuum-assisted headspace solid-phase microextraction for environmental analysis. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*. 2019, **22**.
- [55] TRUJILLO-RODRÍGUEZ, María, Verónica PINO, Elefteria PSILLAKIS, Jared ANDERSON, Juan AYALA, Evangelia YIANTZI a Ana AFONSO. Vacuum-assisted headspace-solid phase microextraction for determining volatile free fatty acids and phenols. Investigations on the effect of pressure on competitive adsorption phenomena in a multicomponent system. *Analytica Chimica Acta* 2017, **962**, 41-51

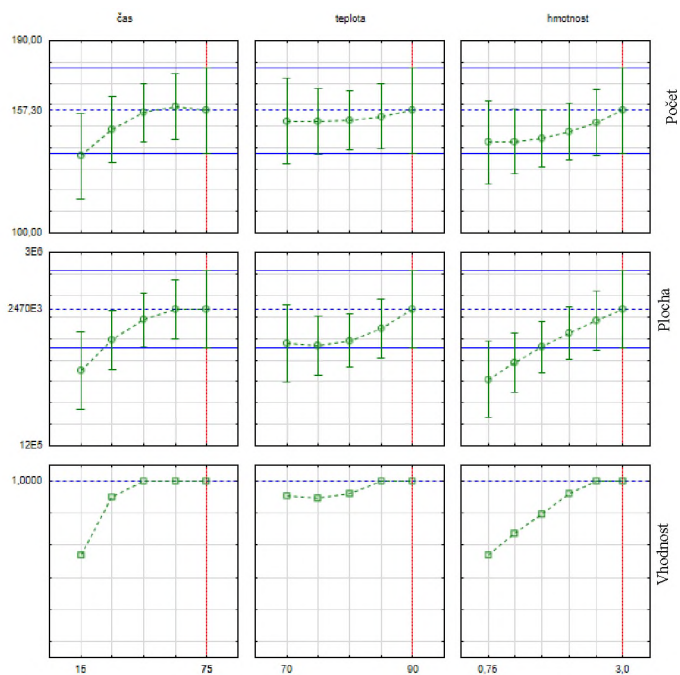
- [56] GLYKIOTI, Maria-Lito, Evangelia YIANTZI a Elefteria PSILLAKIS. Room temperature determination of earthy-musty odor compounds in water using vacuum-assisted headspace solid-phase microextraction. *Analytical Methods* 2016, **8**(45), 8065-8071
- [57] YIANTZI, Evangelia, Nicolas KALOGERAKIS a Elefteria PSILLAKIS. Vacuum-assisted headspace solid phase microextraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in solid samples. *Analytica Chimica Acta* 2015, **890**, 108-116
- [58] PSILLAKIS, Elefteria, Evangelia YIANTZI a Nicolas KALOGERAKIS. Downsizing vacuum-assisted headspace solid phase microextraction. *Journal of Chromatography A* 2013, **1300**, 119-126
- [59] PSILLAKIS, Elefteria, Antonia MOUSOURAKI, Evangelia YIANTZI a Nicolas KALOGERAKIS. Effect of Henry's law constant and operating parameters on vacuum-assisted headspace solid phase microextraction. *Journal of Chromatography A* 2012, **1244**, 55-60
- [60] DARROUZÈS, Jérôme, Maité BUENO, Christophe PÉCHEYRAN, Michel HOLEMAN a Martine POTIN-GAUTIER. New approach of solid-phase microextraction improving the extraction yield of butyl and phenyltin compounds by combining the effects of pressure and type of agitation. *Journal of Chromatography A* 2005, **1072**(1)
- [61] RISTICEVIC, Sanja, Heather LORD, Tadeusz GÓRECKI, Catherine ARTHUR a Janusz PAWLISZYN. Protocol for solid-phase microextraction method development. *Nature Protocols* 2010, **5**(1), 122-139
- [62] BRUNTON, Nigel., Denis. CRONIN a Frank. MONAHAN. The effects of temperature and pressure on the performance of Carboxen/PDMS fibres during solid phase microextraction (SPME) of headspace volatiles from cooked and raw turkey breast. *Flavour and Fragrance Journal* 2001, **16**(4), 294-302

- [63] BEIRANVAND, Mohammad a Alireza GHIASVAND. Simple, Low-Cost and Reliable Device for Vacuum-Assisted Headspace Solid-Phase Microextraction of Volatile and Semivolatile Compounds from Complex Solid Samples. *Chromatographia* 2017, **80**(12), 1771-1780
- [64] GHIASVAND, Alireza, Samira KOONANI, Fatemeh YAZDANKHAH a Saeid FARHADI. A comparison study on a sulfonated graphene-polyaniline nanocomposite coated fiber for analysis of nicotine in solid samples through the traditional and vacuum-assisted HS-SPME. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2018, **149**, 271-277
- [65] GROENEWOLD, Gary, Jill SCOTT a Catherine RAE. Recovery of phosphonate surface contaminants from glass using a simple vacuum extractor with a solid-phase microextraction fiber. *Analytica Chimica Acta* 2011, **697**(1-2), 38-47
- [66] ORAZBAYEVA, Dina, Bulat KENESSOV, Elefteria PSILLAKIS, Dayana NASSYROVA a Marat BEKTASSOV. Determination of transformation products of unsymmetrical dimethylhydrazine in water using vacuum-assisted headspace solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A* 2018, **1555**, 30-36
- [67] HORÁK, Tomáš, Jiří ČULÍK, Marie JURKOVÁ, Pavel ČEJKA, Vladimír KELLNER, Josef DVOŘÁK a Danuša HAŠKOVÁ. Main gas chromatographic detectors used in brewing analytics. *Kvasný Průmysl* 2011, **57**(6), 138-142
- [68] KREJČÍKOVÁ, Klára. *Analýza ovocných destilátů*. Pardubice, 2019.. Diplomová práce. Univerzita Pardubice
- [69] KROFTA, Jiří. *Návody pro laboratorní cvičení z analytické chemie II*. Vyd. 5. přeprac. a rozšíř. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1997. ISBN 80-708-0301-0.
- [70] BARTOVSKÝ, Tomáš. Provozní plynové chromatografy. *AUTOMA*. 2017, **2017**(4), 24-29 Dostupné z: https://automa.cz/Aton/FileRepository/pdf_articles/10151.pdf

- [71] JANDERA, Pavel. *Atomová a molekulová spektroskopie se zaměřením na stopovou analýzu kontaminantů* Vyd. 3. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2011 ISBN 978-80-7395-392-8.
- [72] KUFA, Pavel. *Identifikace vonných látek v bylinných likérech*. Olomouc, 2010 Bakalářská práce. Univerzita Palackého v Olomouci.
- [73] CRAMER, Anne-Chrystelle, D. MATTINSON, John FELLMAN a Byung-Kee BAIK. Analysis of Volatile Compounds from Various Types of Barley Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, **53**(19), 7526-7531
- [74] DONG, Liang, Yingmin HOU, Feng LI, Yongzhe PIAO, Xiao ZHANG, Xiaoyu ZHANG, Cheng LI a Changxin ZHAO. Characterization of volatile aroma compounds in different brewing barley cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2015, **95**(5), 915-921
- [75] BEAL, Andrew a Donald MOTTRAM. Compounds contributing to the characteristic aroma of malted barley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1994, **42**(12), 2880-2884
- [76] ŠUHAJOVÁ, Dominka. *Využití mikroextrakce tuhou fází pro analýzu aromaprofilu piva*. Pardubice, 2016. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická.
- [77] ADÁMKOVÁ, Karolína. *Využití mikroextrakce tuhou fází pro analýzu aromaprofilu ječného a pšeničného sladu*. Pardubice, 2015. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická.

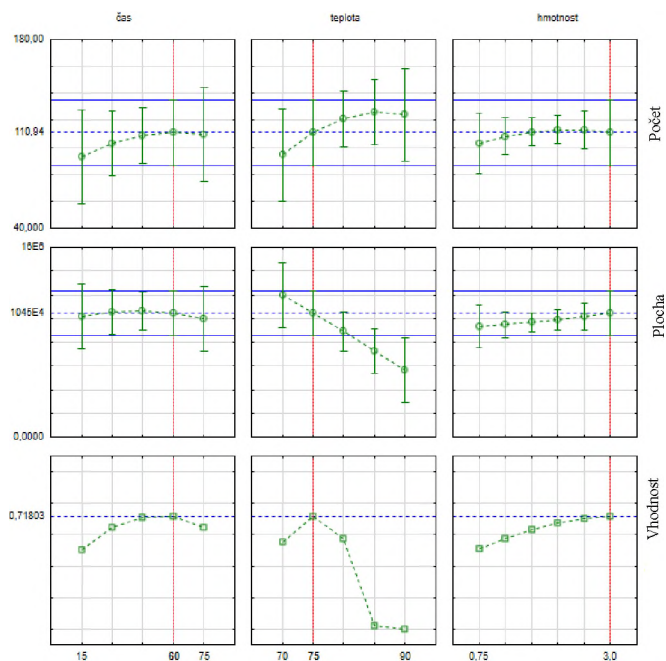
6 PŘÍLOHY

Příloha 1: obsahuje Obr. I/1-Obr. I/ 6. Tyto obrázky ilustrují optimalizační proces.



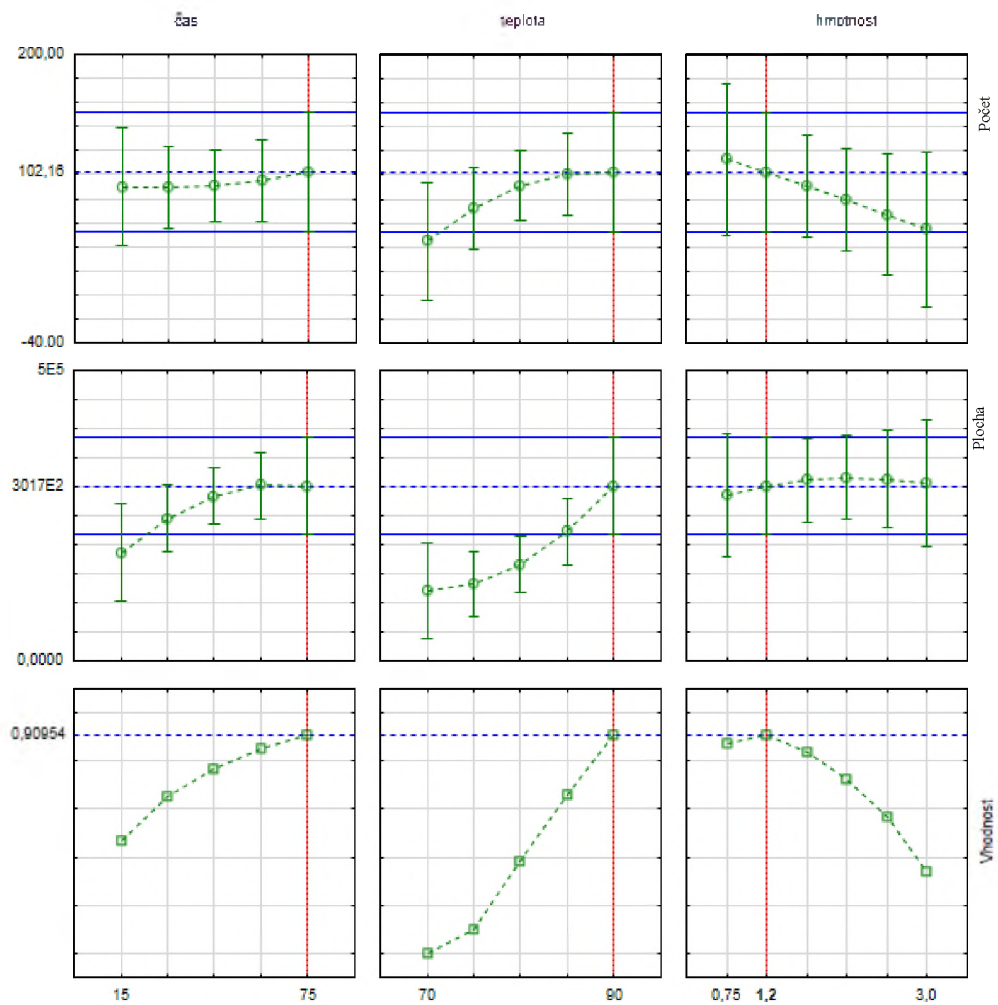
Obrázek I/1 Profily pro předpovědi a vhodnost pro optimalizaci Vac-HSSPME (modré vlákno)

Pozn: Červená svislá čára v grafech zobrazuje optimální hodnotu pro extrakci.



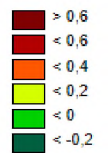
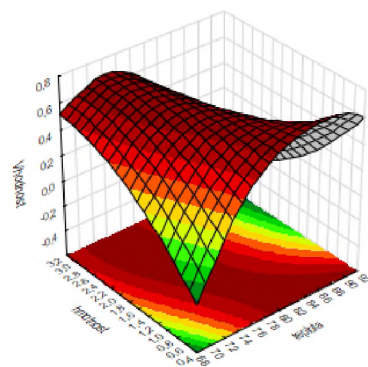
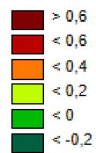
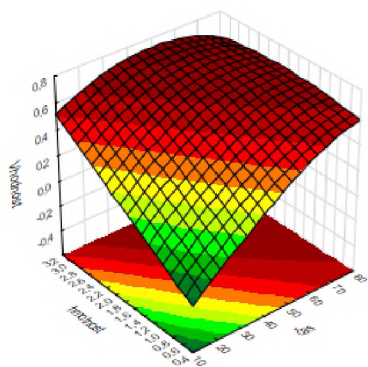
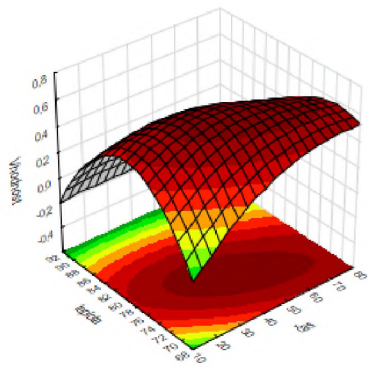
Obrázek I/2 Profily pro předpovědi a vhodnost pro optimalizaci Vac-HSSPME (černé vlákno)

Pozn: Červená svislá čára v grafech zobrazuje optimální hodnotu pro extrakci.



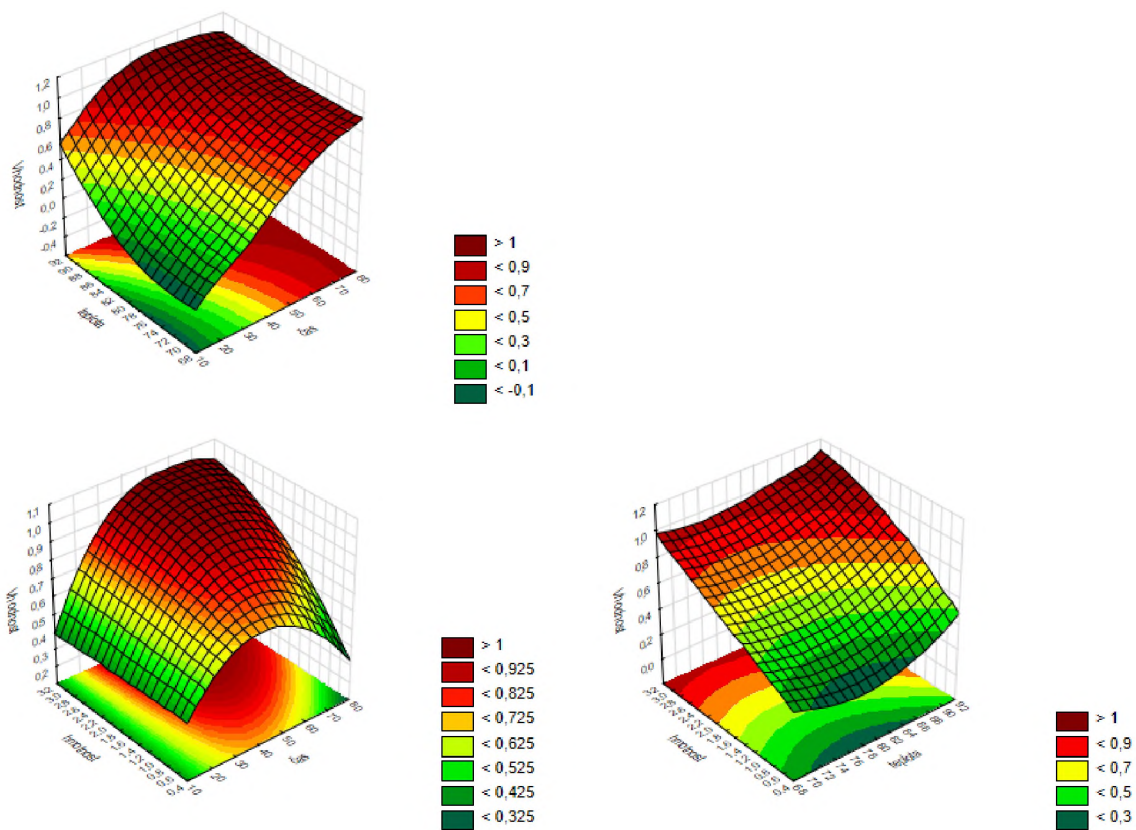
Obrázek I/3 Profily pro předpovědi a vhodnost pro optimalizaci Vac-HSSPME (červené vlákno)

Pozn: Červená svislá čára v grafech zobrazuje optimální hodnotu pro extrakci.



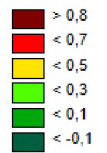
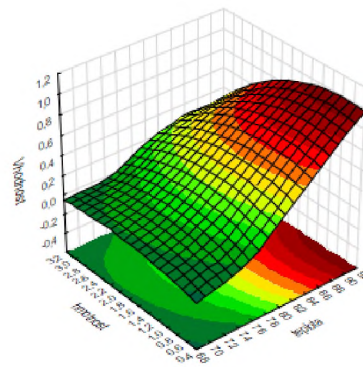
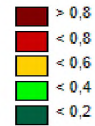
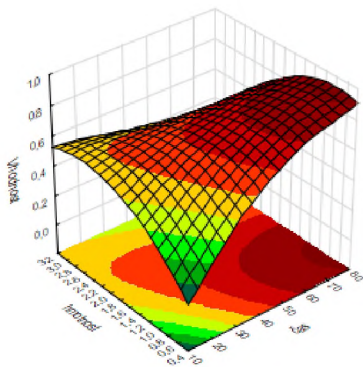
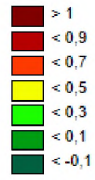
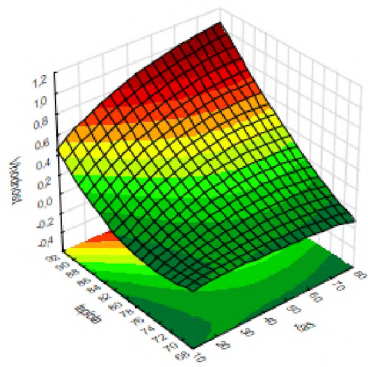
Obrázek I/4 Metoda odezvodé plochy pro optimalizaci Vac-HSSPME (černé vlákno)

Pozn: Maximální hodnota studovaných parametrů je v grafech zobrazena nejtmaší barvou (tmavě červená).



Obrázek I/5 Metoda odezvy plochy pro optimalizaci Vac-HSSPME (modré vlákno)

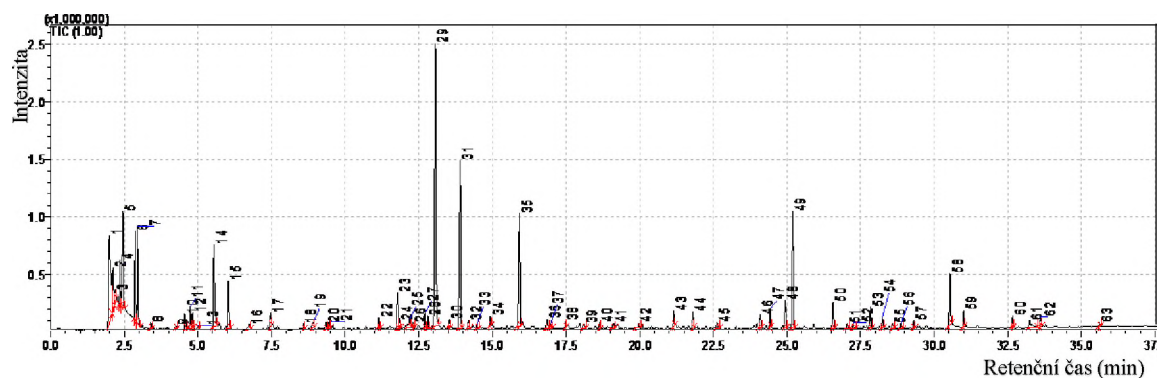
Pozn: Maximální hodnota studovaných parametrů je v grafech zobrazena nejtmaší barvou (tmavě červená).



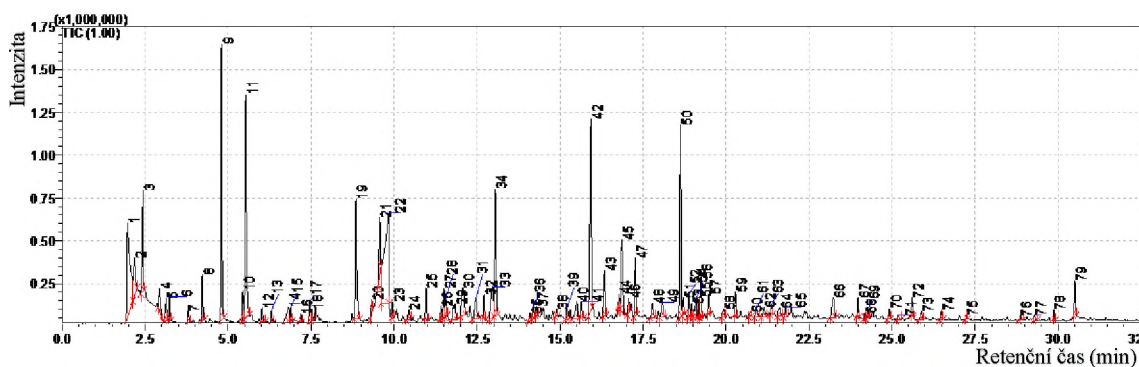
Obrázek I/6 Metoda odezvvé plochy pro optimalizaci Vac-HSSPME (červené vlákno)

Pozn: Maximální hodnota studovaných parametrů je v grafech zobrazena nejtmaší barvou (tmavě červená).

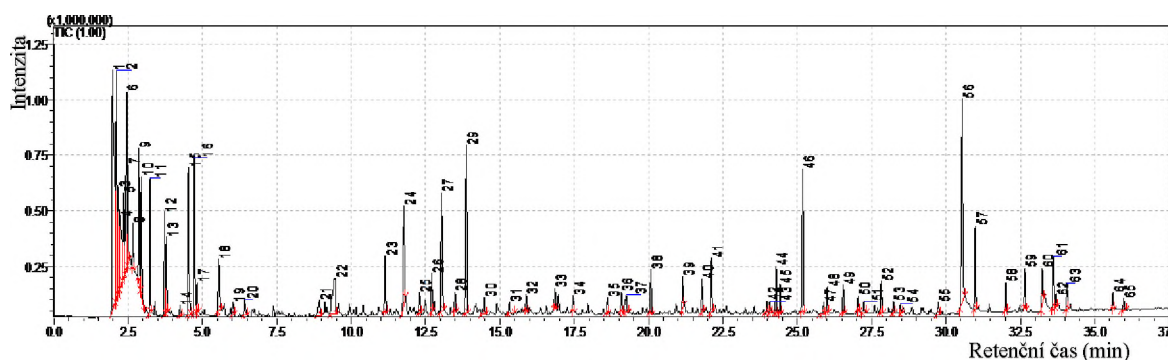
Příloha 2: obsahuje Obr. II/ 1 – Obr. II/ 18, a Tab. II/ 1 – Tab. II/ 18. Obrázky ilustrují chromatogramy z měření reálných vzorků. Tabulky shrnují výsledky z GC-FID analýzy reálných vzorků.



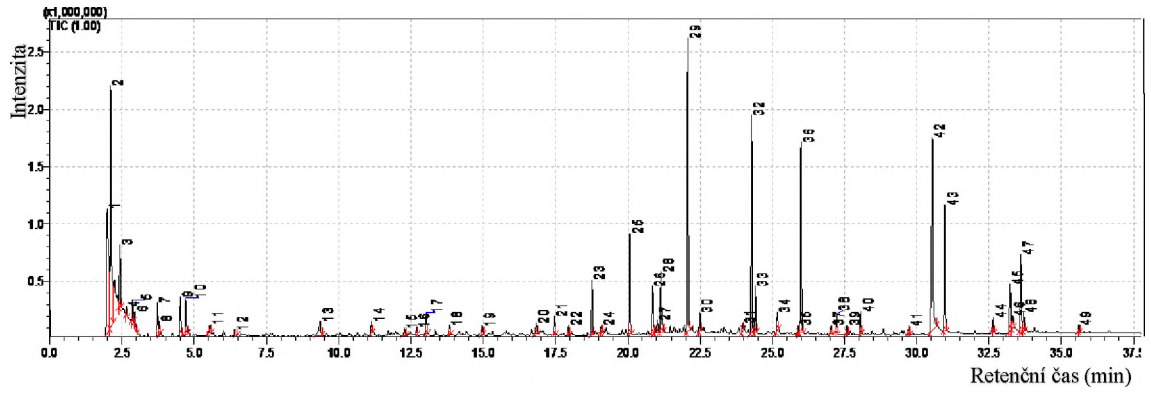
Obrázek II/ 1 Karamelový slad, GC-MS záznam



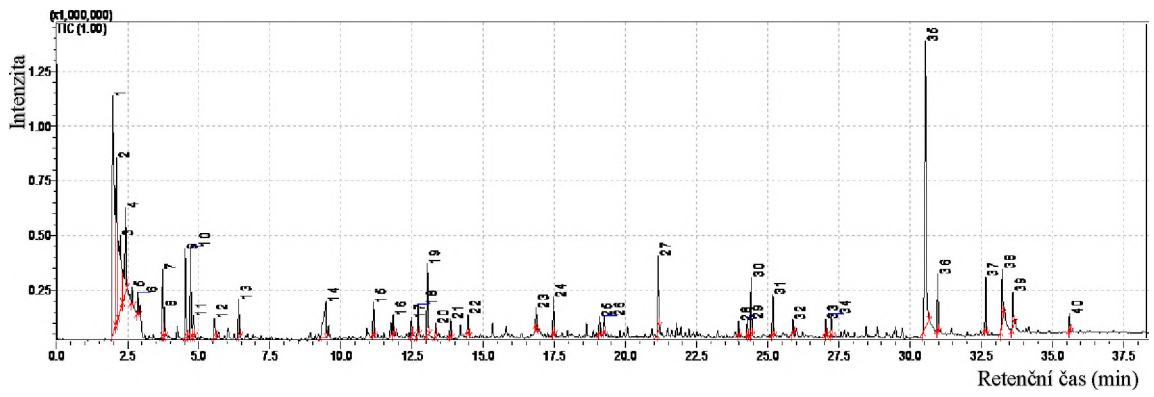
Obrázek II/ 2 Pražený slad, GC-MS záznam



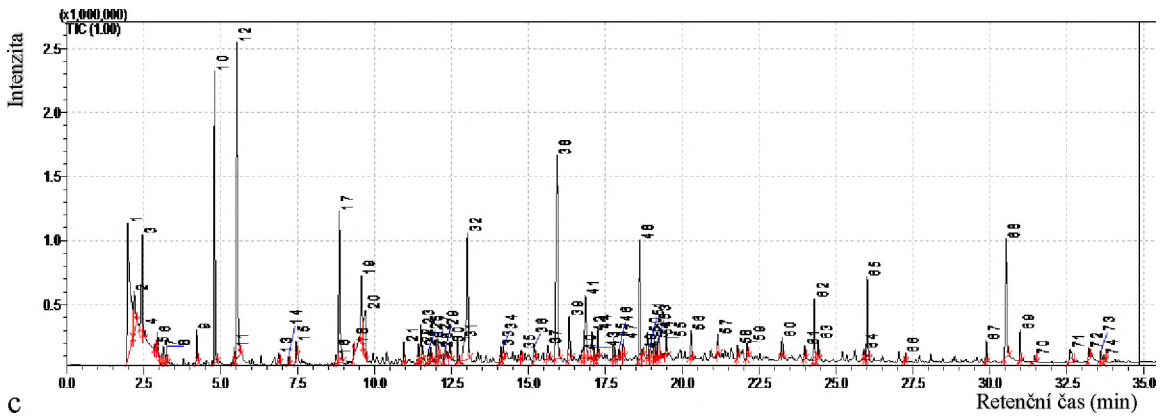
Obrázek II/ 3 Bavorský slad, GC-MS záznam



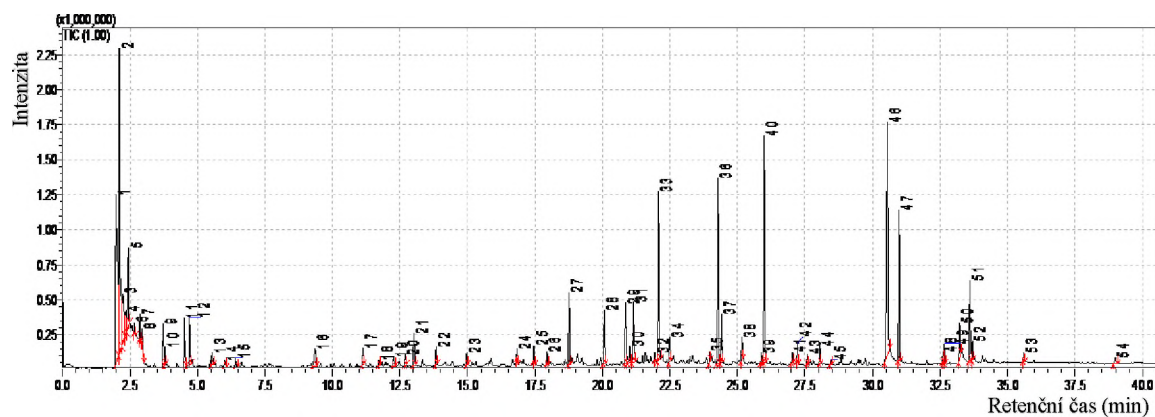
Obrázek II/ 4 Tradiční světlý slad plzeňského typu, GC-MS záznam



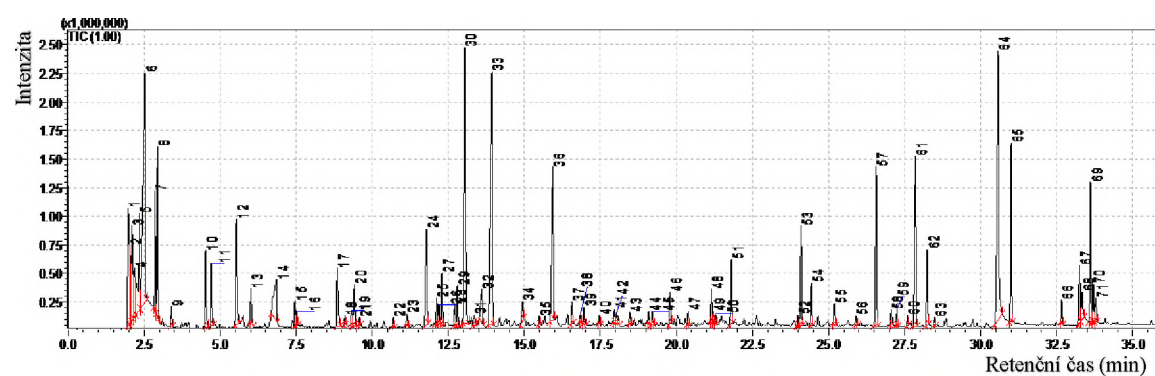
Obrázek II/ 5 Český slad, GC-MS záznam



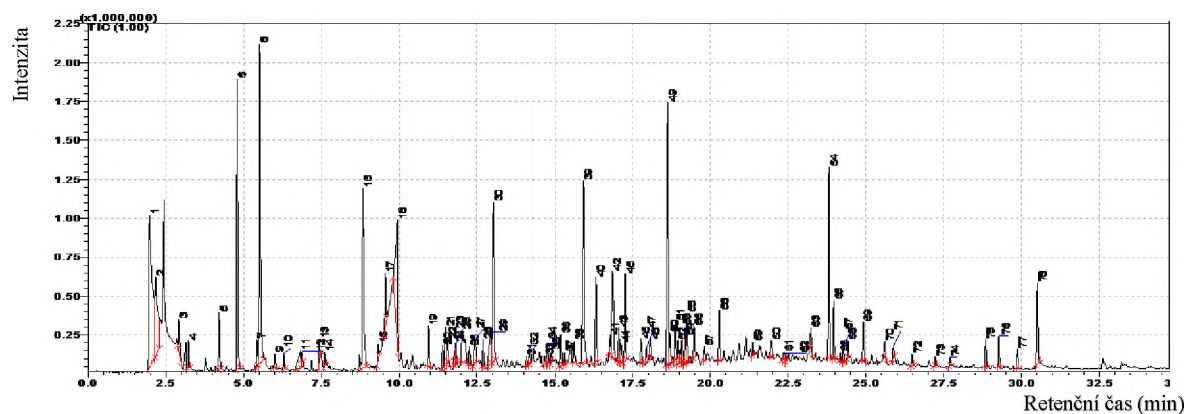
Obrázek II/ 6 Černý slad, GC-MS záznam



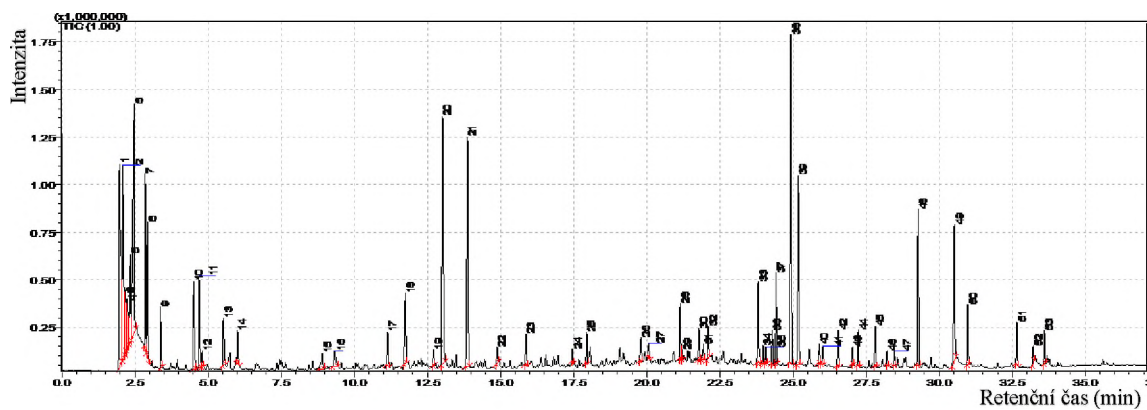
Obrázek II/ 7 Nakuřovaný slad, GC-MS záznam



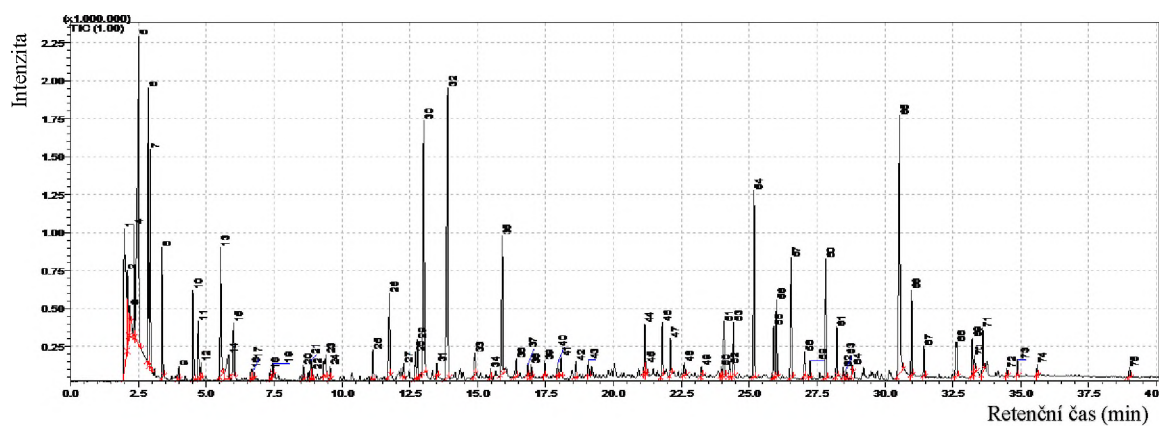
Obrázek II/ 8 Slad Caraaroma®, GC-MS záznam



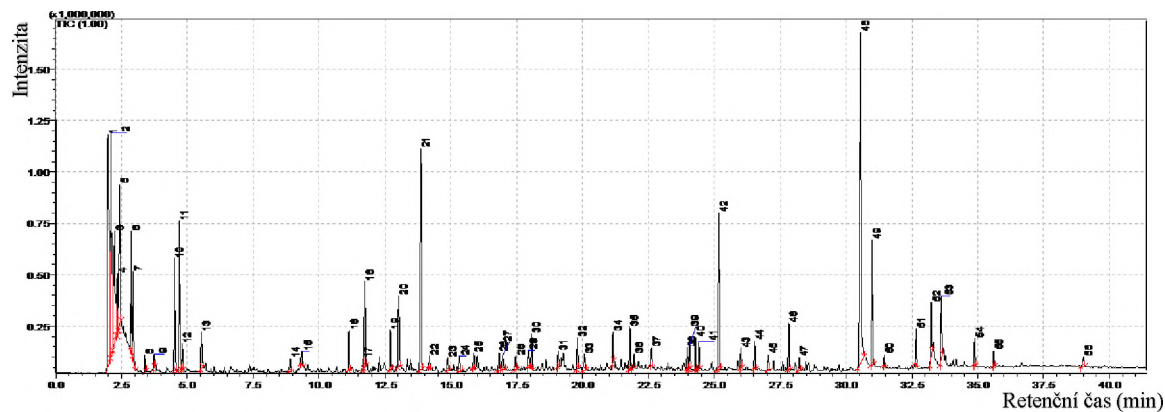
Obrázek II/ 9 Slad Carafa® Special III, GC-MS záznam



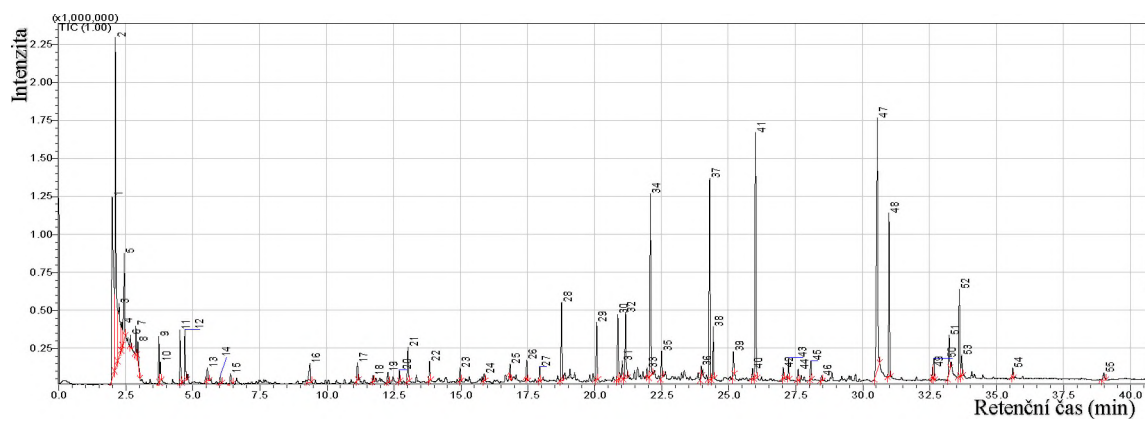
Obrázek II/ 10 Slad Carahell®, GC-MS záznam



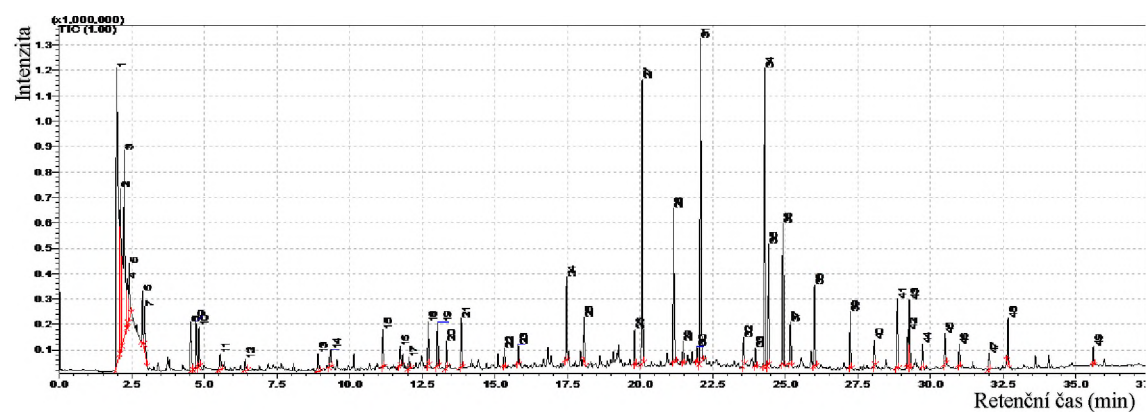
Obrázek II/ 11 Slad, Caramunich® II, GC-MS záznam



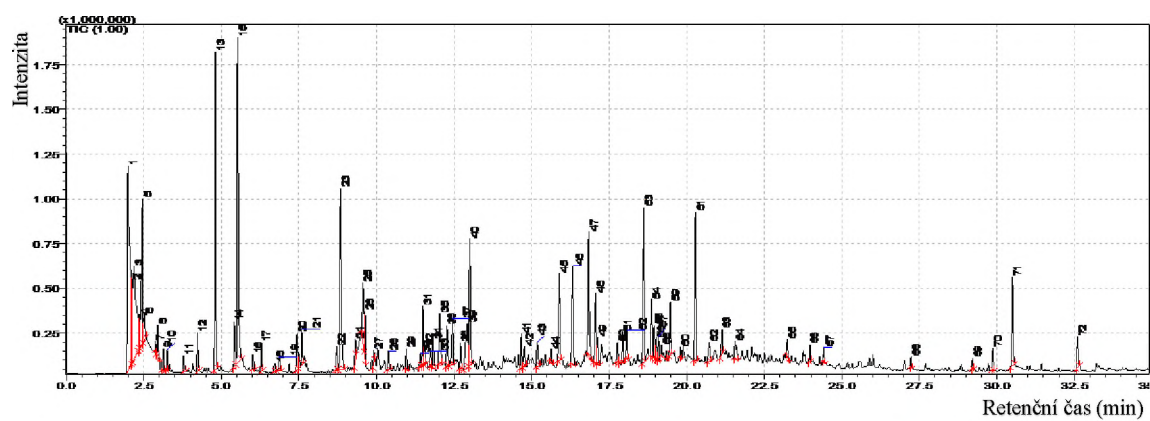
Obrázek II/ 12 Mnichovský slad II, GC-MS záznam



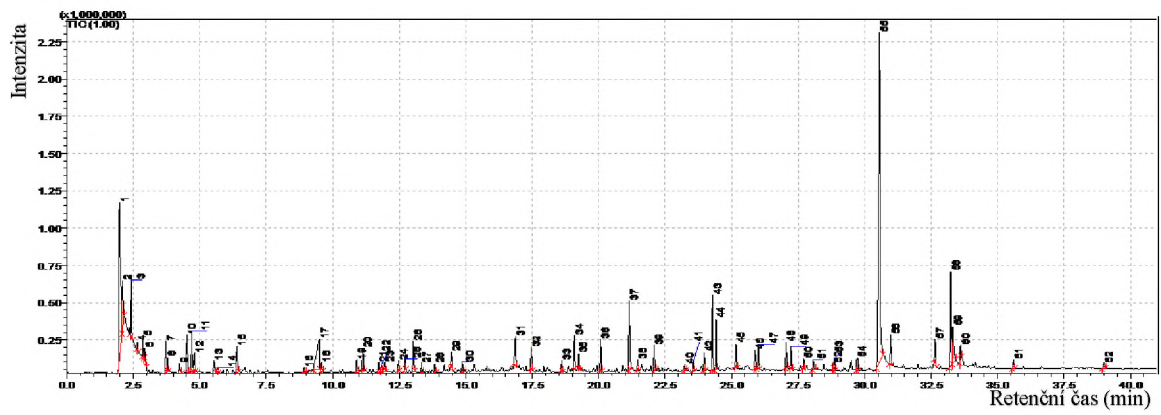
Obrázek II/ 13 Nakuřovaný slad, GC-MS záznam



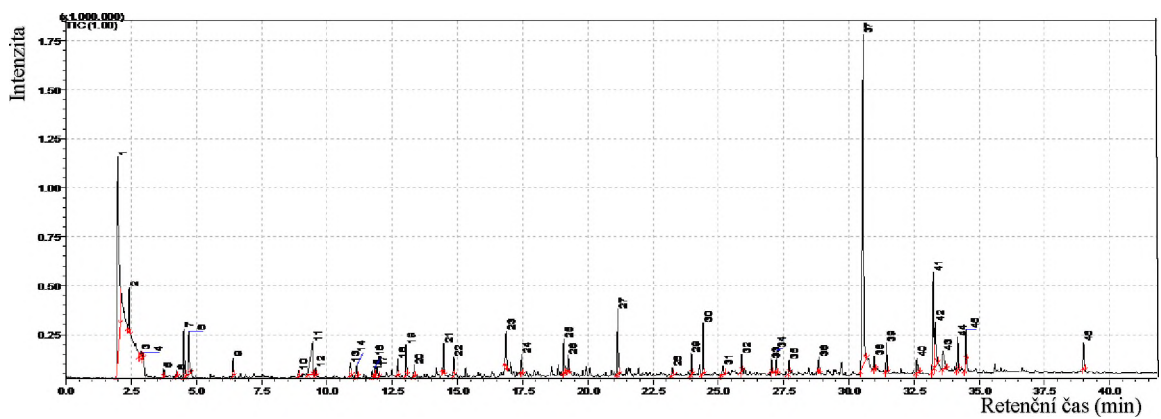
Obrázek II/ 14 Pale Ale slad, GC-MS záznam



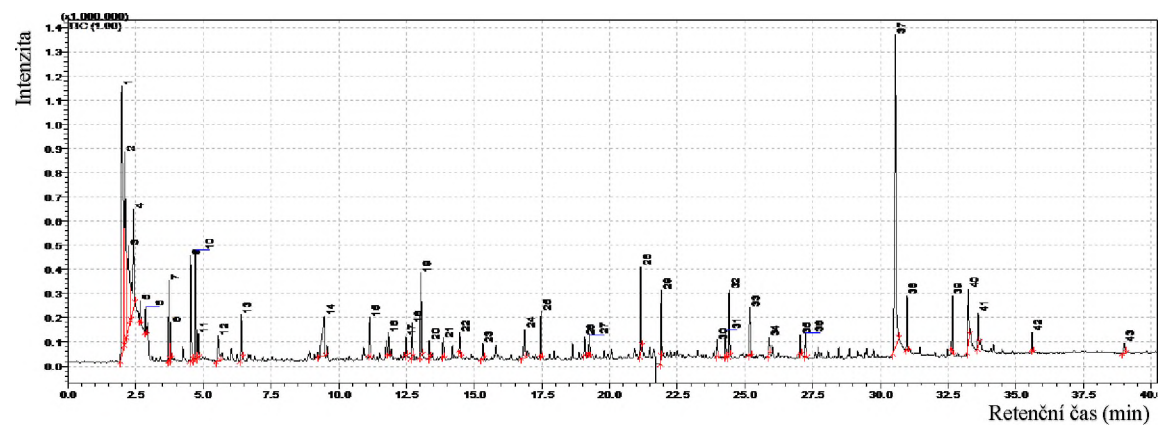
Obrázek II/ 15 Pražený ječmen, GC-MS analýza



Obrázek II/ 16 Pšeničný slad I, GC-MS analýza



Obrázek II/ 17 Wheat Malt, GC-MS analýza



Obrázek II/ 18 Pšeničný slad II, GC-MS analýza

Tabulka II/ 1 Karamelový slad, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	461!	0,8	23	1073	1,3	45	1405	3,4
2	483!	1,2	24	1081	0,3	46	1412	3,6
3	507	2,6	25	1089	2,6	47	1445	1,8
4	595	0,6	26	1094	4,6	48	1504	0,4
5	726	0,4	27	1098	1,1	49	1507	0,4
6	753	5,3	28	1105	4,5	50	1536	5,8
7	808	0,8	29	1112	0,9	51	1575	0,8
8	819	0,3	30	1118	3,2	52	1650	0,3
9	827	5,6	31	1123	0,6	53	1670	0,8
10	836	2,3	32	1130	0,6	54	1695	0,7
11	843	1,2	33	1141	1,0	55	1710	1,7
12	867	1,4	34	1143	2,8	56	1785	0,9
13	876	4,4	35	1189	0,4	57	1808	0,2
14	887	5,6	36	1197	2,5	58	1858	0,3
15	901	3,5	37	1202	0,5	59	1882	0,4
16	916	0,9	38	1281	0,2	60	1902	0,3
17	950	0,8	39	1284	0,8	61	1911	2,1
18	984	0,4	40	1301	0,6	62	2050	0,5
19	996	0,8	41	1308	0,3	63	2161	0,5
20	999	0,9	42	1313	0,7	64	2200	0,3
21	1006	0,6	43	1339	0,3	65	2224	0,9
22	1013	1,7	44	1356	0,4			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 2 Pražený slad, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	462!	0,1	19	944	1,3	37	1203	1,1	55	1463	1,5
2	508	0,4	20	949	0,5	38	1226	0,5	56	1608	0,8
3	591	2,7	21	991	0,3	39	1232	0,6	57	1645	0,3
4	620	0,4	22	995	3,3	40	1238	0,5	58	1662	0,1
5	716	0,1	23	999	0,5	41	1245	1,9	59	1670	0,5
6	719	0,4	24	1013	4,2	42	1256	0,7	60	1684	1,0
7	730	0,9	25	1024	14,5	43	1265	7,1	61	1711	0,5
8	743	0,7	26	1048	0,8	44	1284	1,6	62	1733	0,4
9	781	0,6	27	1073	1,1	45	1292	0,3	63	1749	0,6
10	802	0,2	28	1094	1,5	46	1303	2,2	64	1768	0,4
11	808	1,8	29	1099	0,8	47	1308	2,2	65	1781	0,1
12	835	7,4	30	1105	0,5	48	1318	1,4	66	1808	0,2
13	861	0,8	31	1111	2,2	49	1325	1,5	67	1896	0,1
14	867	6,6	32	1119	0,5	50	1346	0,8	68	1912	0,1
15	887	0,5	33	1124	0,6	51	1385	4,7	69	1918	0,1
16	912	0,9	34	1130	0,8	52	1394	0,3	70	1946	0,1
17	923	0,4	35	1140	2,0	53	1401	0,3	71	1981	0,1
18	935	0,2	36	1197	1,6	54	1425	0,5	72	1996	0,1

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 3 Bavorský slad, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	461!	0,4	19	935	0,1	37	1130	0,6	55	1749	1,0
2	483!	4,1	20	945	0,8	38	1149	5,1	56	1768	0,1
3	530	0,5	21	950	0,2	39	1162	1,0	57	1785	0,8
4	567	1,9	22	996	0,3	40	1182	5,4	58	1808	1,0
5	695	1,4	23	999	0,7	41	1201	1,4	59	1858	0,6
6	715	3,7	24	1009	3,8	42	1262	1,0	60	1882	0,2
7	777	3,0	25	1013	0,4	43	1301	1,3	61	1918	0,4
8	781	2,7	26	1017	0,5	44	1313	0,5	62	2016	4,9
9	808	0,4	27	1024	0,5	45	1335	0,5	63	2050	1,2
10	819	4,0	28	1036	0,2	46	1356	0,5	64	2160	0,4
11	827	4,4	29	1046	0,8	47	1405	0,5	65	2194	1,2
12	836	1,1	30	1060	0,1	48	1415	1,0	66	2224	0,8
13	846	0,1	31	1071	0,9	49	1442	0,1	67	2364	0,2
14	867	3,2	32	1081	2,2	50	1536	1,0			
15	875	0,4	33	1088	0,3	51	1550	0,8			
16	887	0,6	34	1098	4,3	52	1602	0,3			
17	904	0,5	35	1105	1,2	53	1623	0,6			
18	907	0,3	36	1124	0,7	54	1663	1,0			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI – retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 4 Tradiční světlý slad pšenišského typu vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	482!	0,3	18	1149	0,4	35	1493	0,6	52	1918	2,9
2	577	0,7	19	1152	0,2	36	1504	0,4	53	1940	2,5
3	715	0,2	20	1182	0,2	37	1519	0,2	54	2050	0,5
4	721	2,1	21	1192	2,6	38	1525	0,4	55	2156	0,2
5	777	6,7	22	1197	2,4	39	1549	0,4	56	2161	0,8
6	781	2,3	23	1201	0,5	40	1603	1,3	57	2195	0,6
7	819	3,5	24	1238	0,9	41	1623	0,7	58	2201	9,6
8	867	0,5	25	1244	3,5	42	1639	0,8	59	2224	7,3
9	904	1,6	26	1302	0,9	43	1647	0,4	60	2230	2,3
10	907	1,1	27	1308	0,9	44	1662	7,1			
11	1010	0,4	28	1313	1,2	45	1669	0,8			
12	1071	1,9	29	1335	0,3	46	1695	0,4			
13	1081	0,8	30	1356	3,0	47	1710	0,4			
14	1098	1,1	31	1364	0,2	48	1755	1,6			
15	1102	0,2	32	1384	0,8	49	1808	1,0			
16	1130	0,9	33	1393	0,2	50	1824	0,4			
17	1140	12,3	34	1400	0,6	51	1852	0,5			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 5 Český slad, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	462	1,3	19	1017	1,7	37	1313	0,3	55	1858	3,6
2	484	0,3	20	1024	0,2	38	1335	0,2	56	1882	2,1
3	508	2,6	21	1036	0,3	39	1405	0,4	57	1911	0,2
4	531	0,6	22	1046	0,6	40	1414	0,5	58	1918	2,5
5	588	0,4	23	1071	5,7	41	1453	1,7	59	2017	0,4
6	753	1,4	24	1073	2,1	42	1492	4,5	60	2161	6,0
7	781	1,6	25	1081	0,3	43	1504	2,5	61	2195	5,8
8	808	1,8	26	1088	3,4	44	1519	3,5			
9	836	0,9	27	1105	0,7	45	1525	1,9			
10	867	3,6	28	1117	0,7	46	1536	0,3			
11	875	1,0	29	1123	0,3	47	1544	2,1			
12	887	0,5	30	1130	2,1	48	1603	2,1			
13	904	5,7	31	1152	2,3	49	1647	0,2			
14	942	1,4	32	1162	2,4	50	1650	2,5			
15	945	1,6	33	1182	1,4	51	1662	0,3			
16	996	0,2	34	1193	0,8	52	1670	3,0			
17	999	1,6	35	1197	0,4	53	1755	0,7			
18	1013	1,8	36	1201	0,7	54	1785	0,4			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 6 Černý slad, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	508	0,3	21	1073	0,6	41	1256	0,7	61	1537	0,6
2	588	2,3	22	1085	0,6	42	1264	6,9	62	1544	1,6
3	719	0,4	23	1093	2,1	43	1284	1,6	63	1565	0,4
4	728	0,6	24	1105	0,9	44	1292	0,2	64	1571	0,2
5	743	0,4	25	1112	1,0	45	1302	1,5	65	1576	0,3
6	808	0,8	26	1118	0,5	46	1308	1,6	66	1603	1,2
7	835	6,0	27	1123	0,4	47	1317	1,1	67	1623	0,4
8	862	0,5	28	1130	0,6	48	1325	0,9	68	1646	0,5
9	867	10,1	29	1138	2,4	49	1335	0,4	69	1662	1,2
10	909	0,4	30	1149	3,9	50	1346	0,7	70	1733	0,5
11	944	1,1	31	1165	0,6	51	1355	0,3	71	1749	1,0
12	991	0,3	32	1196	1,3	52	1362	0,7	72	1808	0,4
13	995	3,6	33	1202	0,5	53	1384	2,3	73	1852	0,3
14	998	0,5	34	1208	0,2	54	1393	1,0	74	1919	0,1
15	1013	4,6	35	1214	0,3	55	1400	0,5	75	2018	6,7
16	1017	2,3	36	1221	0,5	56	1405	1,6	76	2051	0,3
17	1024	1,1	37	1226	0,3	57	1425	1,1	77	2156	0,4
18	1037	0,7	38	1232	0,4	58	1453	2,2	78	2194	1,4
19	1047	0,5	39	1238	0,5	59	1515	1,0	79	2224	0,4
20	1069	0,3	40	1242	0,8	60	1525	0,4			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 7 Nakuřovaný slad vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	462!	0,4	16	953	0,7	31	1489	0,7	46	1852	0,8
2	483!	14,0	17	1010	0,3	32	1497	0,7	47	1872	0,9
3	531	5,6	18	1039	0,3	33	1525	0,3	48	1918	2,9
4	584	2,1	19	1081	6,7	34	1544	6,7	49	1940	3,9
5	697	0,8	20	1123	0,6	35	1549	2,3	50	2017	0,3
6	715	1,8	21	1182	0,7	36	1569	0,7	51	2050	0,5
7	721	0,8	22	1230	0,9	37	1602	0,9	52	2156	1,1
8	777	4,5	23	1262	0,8	38	1612	0,3	53	2161	0,3
9	819	0,9	24	1300	1,0	39	1639	1,0	54	2194	0,7
10	827	3,2	25	1356	0,9	40	1647	2,1	55	2224	1,1
11	836	0,6	26	1384	0,4	41	1662	0,4	56	2230	0,3
12	864	0,6	27	1391	3,4	42	1669	7,1	57	2364	2,5
13	867	6,7	28	1399	0,7	43	1710	0,7			
14	887	0,5	29	1441	0,3	44	1749	0,6			
15	904	0,5	30	1445	0,2	45	1755	0,9			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI- retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 8 Slad Caraaroma®, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	461!	0,2	21	984	0,2	41	1184	7,3	61	1537	1,6
2	483!	0,9	22	995	1,3	42	1190	0,2	62	1552	0,5
3	507	0,1	23	999	0,2	43	1196	0,5	63	1575	0,1
4	566	1,5	24	1006	0,7	44	1202	0,2	64	1603	0,1
5	614	8,7	25	1017	1,0	45	1222	1,0	65	1651	2,1
6	715	1,9	26	1024	0,3	46	1250	0,3	66	1662	0,3
7	721	2,8	27	1036	0,1	47	1258	0,4	67	1679	0,1
8	727	0,2	28	1046	0,2	48	1264	4,8	68	1695	0,6
9	752	0,4	29	1059	0,3	49	1281	0,7	69	1710	0,4
10	819	1,5	30	1069	0,2	50	1295	0,6	70	1749	0,4
11	827	1,3	31	1075	0,2	51	1301	0,2	71	1785	2,8
12	836	0,1	32	1081	0,3	52	1313	0,8	72	1809	0,6
13	867	3,3	33	1090	0,5	53	1354	0,8	73	1859	3,0
14	876	0,3	34	1099	2,6	54	1362	0,4	74	1883	1,1
15	887	1,0	35	1116	1,4	55	1391	0,5	75	1938	0,6
16	907	2,3	36	1123	1,0	56	1405	0,6	76	2018	7,2
17	916	0,3	37	1141	1,4	57	1439	1,9	77	2196	3,0
18	944	1,3	38	1150	8,0	58	1463	0,7	78	2225	1,9
19	950	0,1	39	1166	1,4	59	1506	0,8	79	2230	0,9
20	974	0,1	40	1176	0,1	60	1518	0,7			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 9 Slad Carafa® Special III, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	504	0,5	26	1098	0,6	51	1414	0,3
2	585	2,9	27	1105	0,7	52	1425	0,5
3	718	0,5	28	1109	1,0	53	1463	1,6
4	728	0,6	29	1113	1,3	54	1484	0,5
5	742	0,6	30	1119	0,5	55	1514	0,5
6	780	0,4	31	1123	0,6	56	1543	0,1
7	807	1,3	32	1130	0,9	57	1603	0,3
8	835	6,0	33	1137	2,7	58	1608	0,5
9	861	0,9	34	1149	4,6	59	1637	2,2
10	866	8,6	35	1195	1,1	60	1646	0,7
11	887	0,4	36	1202	0,5	61	1695	0,6
12	911	1,0	37	1237	0,3	62	1733	0,5
13	922	0,3	38	1244	0,8	63	1918	0,4
14	935	0,2	39	1256	0,8	64	1945	0,2
15	943	1,3	40	1264	4,0	65	1980	0,2
16	948	0,4	41	1284	2,1	66	2016	2,0
17	991	0,4	42	1302	1,0	67	2155	0,1
18	995	3,8	43	1308	2,3	68	2194	0,3
19	998	0,5	44	1325	1,5	69	2199	0,2
20	1013	4,7	45	1346	0,3			
21	1024	14,9	46	1361	0,3			
22	1047	0,8	47	1364	0,2			
23	1072	1,1	48	1384	5,1			
24	1088	0,5	49	1389	0,8			
25	1093	1,6	50	1393	0,5			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI- retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 10 Slad Carahell®, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	459!	0,8	20	1046	0,4	39	1400	0,3	54	1749	0,3
2	482!	3,7	21	1073	0,6	40	1405	0,3	55	1755	1,4
3	507	0,3	22	1081	1,2	41	1412	0,8	56	1785	0,6
4	529	0,3	23	1088	0,5	42	1442	0,8	57	1808	0,7
5	595	10,6	24	1098	2,2	43	1445	0,2	58	1858	0,6
6	715	4,2	25	1119	0,3	44	1453	1,2	59	1872	0,5
7	721	3,1	26	1123	0,4	45	1494	0,5	60	1882	0,3
8	752	1,7	27	1141	0,7	46	1497	0,2	61	1896	0,3
9	785	0,4	28	1149	7,2	47	1504	1,3	62	1919	0,3
10	809	0,2	29	1152	2,1	48	1536	7,8	63	1940	7,9
11	819	2,4	30	1162	0,3	49	1544	0,2	64	1946	0,5
12	827	2,4	31	1183	6,0	50	1591	2,8	65	2016	2,8
13	887	1,3	32	1221	5,3	51	1624	0,4	66	2050	0,7
14	945	0,8	33	1263	0,9	52	1637	0,3	67	2156	0,3
15	984	0,3	34	1280	0,2	53	1647	1,2	68	2161	0,3
16	999	0,7	35	1295	0,3						
17	1006	0,8	36	1300	0,5						
18	1011	0,3	37	1309	0,2						
19	1013	0,2	38	1313	0,4						

!mimo homologickou řadu alkanů, RI- retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka I/ 11 Slad Caramunich® II, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	461!	0,3	17	995	0,4	33	1263	3,8	49	1604	0,3
2	483!	0,7	18	999	0,4	34	1282	0,9	50	1650	1,1
3	507	0,2	19	1008	1,0	35	1295	0,2	51	1670	0,3
4	566	2,1	20	1024	2,3	36	1300	0,3	52	1710	2,9
5	615	10,7	21	1046	1,4	37	1308	0,4	53	1749	0,6
6	715	4,8	22	1059	0,2	38	1313	0,3	54	1785	1,8
7	721	3,5	23	1081	0,7	39	1339	2,1	55	1808	0,5
8	787	0,5	24	1107	0,2	40	1362	0,5	56	2018	9,5
9	819	1,6	25	1118	0,9	41	1384	0,5	57	2050	0,7
10	827	1,1	26	1123	0,4	42	1393	0,3	58	2156	0,4
11	836	0,4	27	1130	3,4	43	1400	0,9	59	2196	3,9
12	867	4,8	28	1141	1,4	44	1405	2,5	60	2224	0,9
13	880	0,8	29	1149	7,0	45	1413	0,3	61	2230	0,2
14	887	1,1	30	1163	0,6	46	1463	1,4	62	2241	0,3
15	916	0,2	31	1184	6,8	47	1482	0,4			
16	943	0,9	32	1196	0,7	48	1505	0,8			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI- retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 12 Mnichovský slad II, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	483!	3,5	21	1123	0,5	41	1400	0,6	61	1872	0,3
2	531	1,5	22	1130	0,3	42	1405	0,4	62	1882	0,4
3	585	5,2	23	1141	1,2	43	1412	0,8	63	1902	0,4
4	715	2,4	24	1149	1,9	44	1442	0,5	64	1912	0,4
5	721	1,6	25	1152	1,4	45	1453	0,4	65	1996	0,4
6	753	0,4	26	1162	0,4	46	1493	0,6	66	2019	23,2
7	777	0,3	27	1183	6,0	47	1504	1,5	67	2051	2,1
8	782	0,3	28	1192	0,3	48	1525	0,3	68	2161	0,7
9	819	2,9	29	1197	0,3	49	1536	0,9	69	2195	4,6
10	827	3,6	30	1221	0,5	50	1545	0,3	70	2200	1,8
11	836	0,6	31	1237	0,4	51	1575	0,5	71	2224	1,5
12	867	1,8	32	1244	0,3	52	1639	0,3			
13	999	0,5	33	1262	0,7	53	1662	0,6			
14	1005	0,6	34	1300	0,8	54	1670	0,4			
15	1024	0,3	35	1307	0,4	55	1695	0,3			
16	1073	0,3	36	1313	0,5	56	1710	3,3			
17	1081	1,4	37	1335	0,5	57	1756	0,5			
18	1088	0,6	38	1356	0,7	58	1785	0,6			
19	1098	2,8	39	1364	0,7	59	1808	1,0			
20	1119	0,4	40	1384	0,3	60	1858	1,1			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI- retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 13 Nakuřovaný slad, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	511	0,3	19	1081	0,7	37	1299	1,1	51	1554	1,4
2	524	4,3	20	1086	0,3	38	1307	0,4	52	1569	1,6
3	530	2	21	1093	0,4	39	1313	0,3	53	1576	1,1
4	580	2,3	22	1098	0,2	40	1317	0,5	54	1590	3,5
5	715	0,8	23	1105	0,6	41	1335	0,6	55	1602	0,8
6	721	1,3	24	1108	0,4	42	1339	0,4	56	1612	1,4
7	781	1,8	25	1130	0,5	43	1364	1,4	57	1662	1,2
8	827	1,6	26	1152	1,0	44	1391	3,7	58	1695	1,7
9	835	6,6	27	1165	5,4	45	1399	8,3	59	1710	0,7
10	863	0,4	28	1175	0,2	46	1405	0,5	60	1918	3,8
11	867	0,8	29	1182	2,3	47	1411	1,2	61	2017	8,6
12	887	0,3	30	1192	7,2	48	1453	1,1	62	2050	1,1
13	904	0,5	31	1220	0,2	49	1476	0,6	63	2161	0,7
14	999	0,4	32	1230	1,4	50	1481	0,3	64	2194	2,1
15	1006	1,4	33	1237	0,6						
16	1015	0,5	34	1244	0,4						
17	1023	0,4	35	1256	0,3						
18	1037	0,3	36	1262	1,5						

!mimo homologickou řadu alkanů, RI- retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 14 Pale Ale slad, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	460!	0,4	15	1046	1,1	29	1361	0,3	43	1756	0,7
2	482!	2,0	16	1071	0,9	30	1364	1,6	44	1767	2,9
3	530	4,0	17	1081	1,9	31	1384	0,4	45	1808	0,7
4	574	2,0	18	1087	0,4	32	1400	0,6	46	1825	3,8
5	715	1,8	19	1098	0,9	33	1411	0,8	47	1872	0,9
6	753	5,2	20	1105	0,9	34	1442	0,9	48	1946	3,3
7	781	0,4	21	1123	0,7	35	1494	1,2	49	2016	5,3
8	808	4,6	22	1130	0,7	36	1504	2,9	50	2051	0,6
9	819	2,0	23	1135	0,3	37	1519	0,7	51	2156	1,2
10	827	3,0	24	1141	2,1	38	1525	0,6	52	2161	2,3
11	835	2,1	25	1182	2,3	39	1532	0,3			
12	867	7,0	26	1198	2,4	40	1662	8,7			
13	904	2,8	27	1220	1,4	41	1670	1,1			
14	1006	1,8	28	1332	0,8	42	1695	2,2			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 15 Pražený ječmen I, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	482!	0,7	22	1256	1,4	43	1662	4,3
2	577	2,0	23	1262	3,2	44	1669	0,7
3	695	0,2	24	1284	0,2	45	1695	4,9
4	777	0,6	25	1308	0,6	46	1749	0,4
5	781	0,5	26	1313	0,4	47	1755	0,9
6	819	2,8	27	1332	0,2	48	1808	6,8
7	827	2,2	28	1335	0,4	49	1824	0,3
8	867	0,7	29	1384	0,4	50	1858	0,1
9	904	0,5	30	1393	1,3	51	1872	0,4
10	1010	4,0	31	1405	0,7	52	1895	0,3
11	1024	0,2	32	1414	0,8	53	1902	0,1
12	1071	0,4	33	1445	0,4	54	1911	0,4
13	1081	3,7	34	1453	7,1	55	1918	0,5
14	1102	0,4	35	1468	0,8	56	1945	1,7
15	1130	2,5	36	1481	0,2	57	1970	7,6
16	1140	0,5	37	1493	0,4	58	1996	2,5
17	1149	0,7	38	1504	1,6	59	2019	20,1
18	1152	1,1	39	1519	1,0	60	2050	0,5
19	1182	0,4	40	1525	0,4	61	2156	0,3
20	1197	0,4	41	1603	0,5			
21	1201	0,9	42	1623	0,3			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 16 Pšeničný slad I, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	482	1,3	24	1193	0,5	47	1662	6,9
2	506	0,3	25	1197	0,4	48	1692	0,2
3	579	2,6	26	1202	1,3	49	1710	1,2
4	715	0,6	27	1238	0,4	50	1749	0,4
5	721	0,4	28	1244	0,2	51	1808	1,7
6	781	0,7	29	1280	0,2	52	1872	0,7
7	819	1,6	30	1302	2,6	53	1918	0,3
8	827	1,8	31	1308	2,4	54	1940	0,6
9	835	0,9	32	1313	0,5	55	1958	5,7
10	865	3,6	33	1325	0,9	56	1970	2,1
11	904	1,0	34	1384	3,5	57	1996	0,3
12	907	2,8	35	1400	0,9	58	2019	19,0
13	999	0,4	36	1405	0,9	59	2201	2,9
14	1011	5,1	37	1414	1,2			
15	1024	3,5	38	1445	0,3			
16	1046	0,9	39	1453	3,0			
17	1071	1,1	40	1481	0,2			
18	1081	1,2	41	1504	0,8			
19	1105	0,8	42	1544	0,2			
20	1130	0,9	43	1549	1,9			
21	1140	0,6	44	1558	0,3			
22	1152	1,7	45	1564	0,2			
23	1182	0,4	46	1603	0,5			

!mimo homologickou řadu alkanů, RI- retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka II/ 17 Slad Wheat Malt, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	484	0,3	16	1197	0,5	31	1544	0,2	41	2019	25,2
2	577	2	17	1201	1,5	32	1549	1,1	42	2080	0,5
3	716	0,8	18	1208	0,6	33	1603	0,8	43	2195	8,2
4	809	0,6	19	1302	3,6	34	1662	2,8	44	2201	4,6
5	819	2,4	20	1308	1,3	35	1710	0,7	45	2285	0,5
6	827	2,5	21	1356	0,4	36	1749	0,7	46	2432	0,3
7	836	0,5	22	1364	0,2	37	1755	1,7	47	2565	0,9
8	904	0,9	23	1384	0,5	38	1808	1,8			
9	999	0,5	24	1393	9,5	39	1824	4,7			
10	1009	4,7	25	1400	1,4	40	1995	1,0			
11	1102	0,7	26	1453	1,6						
12	1105	0,5	27	1481	0,2						
13	1130	0,4	28	1504	1,6						
14	1140	0,7	29	1518	1,8						
15	1152	1,7	30	1525	0,5						

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola

Tabulka I/ 18 Pšeničný slad II, vyhodnocení GC-FID analýzy

Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]	Pořadí	RI	Plocha [%]
1	460!	0,8	14	999	0,8	27	1307	1,4	39	1808	0,5
2	483!	2,2	15	1007	2	28	1356	2,9	40	1895	0,8
3	507	0,2	16	1013	0,3	29	1405	2,5	41	1938	2,4
4	531	0,4	17	1024	0,2	30	1414	0,5	42	2148	3,4
5	623	5,3	18	1081	0,6	31	1434	0,2	43	2156	3,6
6	697	0,8	19	1101	3,6	32	1453	0,8	44	2195	1,8
7	715	0,3	20	1105	2,1	33	1504	0,6	45	2201	0,4
8	721	0,2	21	1130	0,2	34	1537	13,4	46	2565	0,9
9	777	0,7	22	1141	2,5	35	1581	7,3			
10	819	1,7	23	1192	0,2	36	1586	2,3			
11	867	0,4	24	1238	9,0	37	1662	2,1			
12	887	4,4	25	1244	4,5	38	1671	0,3			
13	904	5,6	26	1256	0,8						

!mimo homologickou řadu alkanů, RI - retenční index vypočítaný dle van den Doola