

UNIVERZITA PARDUBICE  
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2025

Bc. Jan Zouhar

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Analýza profilu těkavých látek chmele a chmelových výrobků s využitím  
mikroextrakce tuhou fází

Diplomová práce

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

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Jan Zouhar**  
Osobní číslo: **C23272**  
Studijní program: **ND531A130030 Hodnocení a analýza potravin**  
Téma práce: **Analýza profilu těkavých látek chmele a chmelových výrobků s využitím mikroextrakce tuhou fází**  
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

## Zásady pro vypracování

1. Vypracujte iterární řešení zaměřenou na analýzu těkavých látek v potravinách s důrazem na profilování těkavých látek. Zaměřte se především na analýzu těkavých složek chmele a chmelových výrobků. Pro tento účel popište možnosti využití různých modifikací mikroextrakce tuhou fází (SPME) ve spojení s metodou plynové chromatografie (GC) s různými detekčními systémy. Prezentujte i možnosti uplatnění pesticidů při ošetření chmele.

2. V experimentální části proveďte možnosti vzorkování SPME metodou ve vhodném uspořádání s následnou separací sloučenin metodou GC s hmotnostním (MS), případně plamenovým ionizačním (FID) detektorem. Porovnejte profily těkavých látek jednotlivých vzorků chmelů a chmelových výrobků a s využitím dostupných retenčních indexů a knihoven hmotnostních spekter identifikujte co největší počet složek.

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: **7. února 2025**  
Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

L.S.

---

**prof. Ing. Petr Němec, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. Ing. Petr Česla, Ph.D.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Analýza profilu těkavých látek chmele a chmelových výrobků s využitím mikroextrakce tuhou fází jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen 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:

Bc. Jan Zouhar

Děkuji vedoucímu diplomové práce panu doc. Ing. Martinu Adamovi, Ph.D. za jeho solidní a profesionální přístup, cenné rady a trpělivost při vypracování diplomové práce.

Dále děkuji mé rodině a blízkým přátelům za jejich psychickou a finanční podporu během celého studia.

## **ANOTACE**

Tato diplomová práce je zaměřena na analýzu těkavých látek ve chmelu a chmelových výrobcích za pomoci headspace mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií. V teoretické části jsou shrnuty základní poznatky o chmelu otáčivém. Je zde popsáno složení chmele, oblasti pěstování chmele, české, německé a americké odrůdy chmele a chmelovar. Dále je zde popsána analýza důležitých parametrů chmele, aromaprofil chmele a plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií a plamenovou ionizační detekcí. V praktické části byla provedena optimalizace extrakčních podmínek, jako jsou teplota a doba extrakce a navážka vzorku, za účelem extrakce co největšího počtu těkavých látek. Dále byla měřena konduktometrická hodnota chmele jako důkaz úbytku  $\alpha$ -kyselin.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Chmel, těkavé látky, mikroextrakce tuhou fází, GC-MS, konduktometrická hodnota

## **TITLE**

Analysis of the volatile profile of hops and hop products using solid phase microextraction

## **ANNOTATION**

This thesis focuses on the analysis of volatiles in hops and hop products using headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry. The theoretical part summarizes the basic knowledge about hops. It describes the composition of hops, hop growing areas, Czech, German and American hop varieties and hop production. Furthermore, the analysis of important hop parameters, the hop aroma profile and gas chromatography with mass spectrometry and flame ionisation detection are described. In the practical part, the optimization of extraction conditions, such as temperature and extraction time and sample weight, was carried out in order to extract as many volatiles as possible. Furthermore, the conductometric value of hops was measured as evidence of alpha acids loss.

## **KEY WORDS**

Hops, volatiles, solid-phase microextraction, GC-MS, conductometric value

# OBSAH

ÚVOD .....	15
1 TEORETICKÁ ČÁST .....	16
1.1 Chmel otáčivý.....	16
1.2 Chemické složení chmele.....	17
1.2.1 Chmelové pelety typu 90 (normální chmelové pelety).....	19
1.2.2 Chmelové pelety typu 45 (pelety obohacené lupulinem).....	19
1.3 Žatecký poloraný červeňák a další odrůdy.....	19
1.3.1 Německé odrůdy chmele.....	21
1.3.2 Americké odrůdy chmele .....	22
1.4 Chmelovar .....	24
1.5 Pesticidy .....	27
1.5.1 Klasifikace podle způsobu vstupu do organismu .....	27
1.5.2 Klasifikace na základě funkce pesticidů a škůdců, které hubí .....	28
1.5.3 Klasifikace na základě chemického složení pesticidů .....	30
1.5.4 Zdravotní rizika a dopad pesticidů na životní prostředí.....	31
1.5.5 Pesticidy používané k ošetření chmele a jeho škůdci (patogeny) .....	33
1.6 Analýza důležitých parametrů chmele.....	35
1.7 Aromaprofil chmele .....	37
1.8 Mikroextrakce tuhou fází .....	40
1.9 Plynová chromatografie .....	43
1.9.1 Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií.....	44
1.9.2 Plynová chromatografie s plamenovou ionizační detekcí.....	46
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	48
2.1 Vzorky.....	48
2.2 Chemikálie.....	49

2.3	Instrumentace a nádobí .....	50
2.4	Pracovní postupy .....	51
2.4.1	Podmínky pro mikroextrakci tuhou fází .....	51
2.4.2	Podmínky separace na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí a kvalitativní analýza .....	51
2.4.3	Stanovení konduktometrické hodnoty chmele .....	52
3	VÝSLEDKY A DISKUZE .....	53
3.1	Optimalizace podmínek extrakce .....	53
3.2	Optimalizace parametrů dle principu plánování experimentů .....	53
3.3	Vliv vakua .....	66
3.4	Analýza sérií Žateckého poloraného červeňáku .....	68
3.5	Stanovení konduktometrické hodnoty chmele .....	69
3.6	Analýza vzorků chmele a identifikace látek.....	74
4	ZÁVĚR .....	75
5	LITERATURA.....	76
6	PŘÍLOHY.....	83

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Chmel otáčivý .....	16
Obrázek 2: Oblasti pěstování chmele v České republice .....	20
Obrázek 3: Oblasti pěstování chmele v Německu .....	22
Obrázek 4: Oblasti pěstování chmele v USA .....	23
Obrázek 5: Měděný mladinový kotel .....	24
Obrázek 6: Mechanismus izomerace $\alpha$ -kyseliny na iso- $\alpha$ -kyseliny .....	26
Obrázek 7: Strukturní vzorec DDT .....	32
Obrázek 8: Strukturní vzorec TCDD .....	33
Obrázek 9: Chmel napadený plísní chmelovou .....	34
Obrázek 10: Napadený list sviluškou chmelovou .....	35
Obrázek 11: Tvar titračních křivek při konduktometrickém stanovení $\alpha$ -kyselin ve chmelu .....	36
Obrázek 12: Režimy SPME: a) DI-SPME, b) HS-SPME, c) SPME s membránovou ochranou .....	41
Obrázek 13: Schéma plynového chromatografu .....	44
Obrázek 14: Obecné schéma hmotnostního spektrometru .....	45
Obrázek 15: Schéma plamenového ionizačního detektoru .....	47
Obrázek 16: Zkoušené vzorky chmele .....	48
Obrázek 17: Odezvové profily pro předpovědi a vhodnost (5 let starý chmel) .....	54
Obrázek 18: Odezvové profily pro předpovědi a vhodnost (1 rok starý Sládek) .....	55
Obrázek 19: Odezvové profily pro předpovědi a vhodnost (ŽPČ, Saaz Special a Premiant) ..	56
Obrázek 20: Odezvové profily pro předpovědi a vhodnost (ŽPČ, Saaz Special a Premiant za použití vakua) .....	57
Obrázek 21: Vennův digram srovnání počtu identifikovaných sloučenin chmele ŽPČ a ŽPČ BIO .....	61
Obrázek 22: Vennův diagram srovnání počtu identifikovaných sloučenin chmele Premiant a Premiant BIO .....	61

Obrázek 23: Bublinový graf chmele ŽPČ a ŽPČ BIO .....	64
Obrázek 24: Bublinový graf Premiantu a Premiantu BIO.....	65
Obrázek 25: Porovnání jednotlivých parametrů s vlivem vakua u ŽPČ (Metoda 1).....	66
Obrázek 26: Porovnání jednotlivých parametrů s vlivem vakua u ŽPČ (Metoda 2).....	66
Obrázek 27: Porovnání jednotlivých parametrů s vlivem vakua u Premiantu (Metoda 1) .....	67
Obrázek 28: Porovnání jednotlivých parametrů s vlivem vakua u Premiantu (Metoda 2) .....	67

## SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Průměrné chemické složení chmele .....	18
Tabulka 2: Klasifikace pesticidů podle typu cílových škůdců.....	29
Tabulka 3: Počet piků a identifikovaných sloučenin ve chmelech ŽPČ a Premiant v obou metodách .....	60
Tabulka 4: Porovnání identifikovaných sloučenin v ŽPČ a ŽPČ BIO.....	62
Tabulka 5: Porovnání identifikovaných sloučenin v Premiantu a Premiantu BIO .....	63
Tabulka 6: Výsledky statistických testů metody 1 .....	68
Tabulka 7: Výsledky statistických testů metody 2.....	68
Tabulka 8: Srovnání počtu bezkyslíkatých sloučenin starého a surového chmele 1. série .....	69
Tabulka 9: Naměřené hodnoty získané homogenizací na magnetické míchačce .....	72
Tabulka 10: Naměřené hodnoty získané homogenizací na třepačce.....	72
Tabulka 11: Naměřené hodnoty 1. série .....	72
Tabulka 12: Naměřené hodnoty 2. série .....	73
Tabulka 13: Naměřené hodnoty 3. série .....	73
Tabulka 14: Naměřené hodnoty 4. série .....	73
Tabulka 15: Naměřené hodnoty 5. série .....	73

## SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

2,4-D – kyselina 2,4-dichlorfenoxycetová

2,4-T – kyselina 2,4,5-trichlorfenoxycetová

APA – American Pale Ale

APCI – chemická ionizace za atmosférického tlaku (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization*)

APPI – fotoionizace za atmosférického tlaku (*Atmospheric Pressure Photoionization*)

BPC – chromatogram základního píku (*Base Peak Chromatogram*)

CAR – carboxene

CCD – centrální kompozitní plánování (*Central Composite Design*)

CI – chemická ionizace

DDT – dichlordifenyltrichlorethan

DI-SPME – mikroextrakce tuhou fází při přímém ponoření do roztoku (*Direct Immersion Solid Phase Microextraction*)

DVB – divinylbenzen

EBC – evropská pivovarská úmluva (*European Brewery Convention*)

EI – elektronová ionizace

EIC – extrahovaný iontový chromatogram (*Extracted Ion Chromatogram*)

ESI – ionizace elektrosprejem (*Electrospray Ionization*)

FT-ICR – iontová cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací

GC – plynová chromatografie (*Gas Chromatography*)

GC-FID – plynová chromatografie s plamenovou ionizační detekcí (*Gas Chromatography – Flame Ionization Detector*)

GC-MS – plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*)

HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie (*High Performance Liquid Chromatography*)

HSI – index skladování chmele (*Hops Storage Index*)

HS-SPME – mikroextrakce tuhou fází se sorpcí z plynné fáze nad roztokem – v headspace prostoru (*Headspace Solid Phase Microextraction*)

IPA – Indian Pale Ale

KH – konduktometrická hodnota

LCV – vodivostní hodnota chmele (*Lead Conductance Value*)

MALDI – ionizace/desorpce za účasti matrice (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization*)

MS/MS – tandemová hmotnostní spektrometrie

NIST – národní institut pro standardy a technologie (*National Institute of Standards and Technology*)

PDMS – polydimethylsiloxan

PEG – polyethylenglykol

PES – polyethersulfon

POP – perzistentní organické polutanty

PP – polypropylen

PSU – polysulfon

PTFE – polytetrafluorethylen

PVC – polyvinylchlorid

PVDF – polyvinylidendifluorid

PVPP – polyvinylpolypyrrolidon

QqQ – trojitý kvadrupólový hmotnostní analyzátor

RI – retenční index

SPME – mikroextrakce tuhou fází (*Solid-Phase Microextraction*)

TCDD – tetrachlordibenzo-*p*-dioxin

TFM – 3-trifluormethyl-4-nitrofenol

TIC – chromatogram celkového iontového proudu (*Total Ion Current*)

TOF – doba letu (*Time of Flight*)

ŽPČ – Žatecký poloraný červeňák

## ÚVOD

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus* L.) je jednou z nejdůležitějších pěstovaných rostlin v České republice. Český chmel patří mezi ty nejkvalitnější na světě, především odrůda Žatecký poloraný červeňák (ŽPČ). Chmel je nedílnou součástí piva, dává pivu nahořklou chuť, působí jako konzervant, má antioxidační vlastnosti, a také propůjčuje pivu jedinečné aroma. Každá chmelová odrůda má své unikátní aroma.

Chmel se skládá ze 3 hlavních skupin látek – chmelové pryskyřice, polyfenoly a chmelové silice (esenciální oleje). Chmelové pryskyřice se při chmelovaru izomerizují na iso- $\alpha$ -hořké kyseliny, a tím pivo získá hořkou chuť a je zakonzervováno. Polyfenoly fungují jako antioxidanty a srážedla bílkovin. A chmelové silice propůjčují pivu jedinečné aroma, které může být rozmanité.

Chmelové silice jsou těkavé látky a pro jejich stanovení je třeba je extrahovat a zakonzentrovat. Tyto požadavky splňuje mikroextrakce tuhou fází (SPME). Hlavními výhodami jsou její jednoduchost, rychlost a minimální spotřeba rozpouštědel. Na těkavé látky je používána nejčastěji mikroextrakce v headspace prostoru (HS-SPME), kde se látky zachytí na sorbent, a poté je možné je nadávkovat do plynového chromatografu ve spojení s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) nebo plamenovou ionizační detekcí (GC-FID).

Hlavním cílem této diplomové práce je optimalizovat extrakční podmínky mikroextrakce tuhou fází pro získání co největšího množství detekovaných a identifikovaných látek chmele a chmelových výrobků a po optimalizaci analyzovat série chmele ŽPČ. Dalším cílem je stanovení konduktometrické hodnoty chmele pro porovnání obsahu  $\alpha$ -kyselin v jednotlivých vzorcích chmele.

# 1 TEORETICKÁ ČÁST

## 1.1 Chmel otáčivý

Chmel otáčivý (*Humulus lupulus* L.) je vytrvalá dvoudomá pravotočivá liána z čeledi *Cannabaceae*, jejíž květy jsou hlavní složkou v pivovarnictví (viz Obrázek 1). Dodává pivu chuť, hořkost a vůni a také napomáhá stabilizaci pěny. Kromě toho hraje důležitou roli při konzervaci piva díky svým antimikrobiálním a antioxidačním vlastnostem. Chmel je využíván i při výrobě kosmetiky a je považován za zdravou potravinu [1,2].



Obrázek 1: Chmel otáčivý [3]

Samičí chmelové hlávky tohoto typu chmele se pěstují výhradně pro pivovarnictví. Asi 97 % celosvětově pěstovaného chmele je určeno k pivovarským účelům. Světové produkci chmele dominuje Německo a USA, přičemž v Německu je největší pěstitelskou oblastí Hallertau a v USA jsou to státy Washington, Oregon a Idaho. Produkce chmele v obou zemích představuje asi 75–80 % celkové produkce chmele. Úspěšné pěstování chmele vyžaduje optimální růstové podmínky, zejména s ohledem na přítomnost denního světla, letní teplotu, roční srážky a úrodnost půdy. Chmel se pěstuje v nejmírnějších oblastech světa. Více než 60 % pěstované plochy chmele se nachází v Německu a USA. Dalšími pěstitelskými zeměmi jsou Česká republika, Polsko, Slovinsko, Velká Británie, Ukrajina, Čína, Jižní Afrika, Austrálie a Nový Zéland [2].

## 1.2 Chemické složení chmele

Složení chmele je připisováno sekundárním metabolitům produkovaným během procesů vaření piva. Sekundární metabolity lze rozdělit do 3 hlavních tříd: hořké kyseliny a jejich deriváty, polyfenoly a složky esenciálních olejů. Hořké kyseliny jsou odvozeny z pryskyřic, které jsou kategorizovány jako tvrdé a měkké podle jejich rozpustnosti v *n*-hexanu. Hořké kyseliny odvozené z měkkých pryskyřic se dělí na  $\alpha$ - a  $\beta$ -kyseliny.  $\alpha$ -kyseliny, také nazývané  $\alpha$ -lupulové kyseliny neboli humulony, tvoří velkou část měkkých pryskyřic. Minoritní části jsou složeny z  $\beta$ -kyselin, nazývaných také  $\beta$ -lupulové kyseliny neboli lupulony [4,5].

Nejvýznamnějšími zástupci  $\alpha$ -kyselin jsou humulon (35–70 % celkových  $\alpha$ -kyselin), kohumulon (20–65 % celkových  $\alpha$ -kyselin) a adhumulon (10–15 % celkových  $\alpha$ -kyselin). Protože jejich chemické struktury jsou velmi podobné, názvy a množství reprezentativních  $\beta$ -kyselin jsou analogické. Jedná se o lupulon (30–55 % celkových  $\beta$ -kyselin), kolupulon a adlupulon. Mezi minoritní zástupce hořkých kyselin patří posthumulon/postulupulon, prehumulon/predlupulon a adprehumulon. Množství obou typů kyselin a jejich homologů se však může značně lišit, protože závisí na odrůdě chmele, klimatu a kultivačních podmínkách [5]. Hořké kyseliny mají antibakteriální a mírně sedativní vlastnosti [6]. Jako hlavní funkční složky chmele lze chmelové hořké kyseliny využít nejen jako přísady do pivovarnictví, ale také jako farmaceutické přísady [7].

Mezi nejvýznamnější polyfenolické látky patří flavonoidy, jako jsou flavan-3-oly, flavonoly, flavanoly, proanthokyanidiny a prenylflavonoidy [8]. Mnoho chmelových polyfenolů se hojně vyskytuje i v jiných rostlinách. Avšak třída prenylflavonoidů je do určité míry (množství) přítomna pouze v rostlině chmele [5]. Polyfenoly přispívají k hořkosti, barvě, tělu a svíravosti v pivu a dalších nápojích, jako jsou čaj a víno. Svíravý pocit je vnímán jako vysychání, svraštění nebo drsný pocit v ústech. Tento pocit je výsledkem vysrážení proteinů bohatých na prolin ve slinách polyfenoly. V pivu působí jako antioxidanty, zabraňují oxidační degradaci piva a zároveň poskytují potenciální zdravotní přínosy spotřebitelům prostřednictvím své inhibiční aktivity na určité mutageny a karcinogeny. Pro pivovarníky jsou především zajímavé flavanoly, protože tvoří komplexy bílkovina-polyfenol, což vede k tvorbě zákalu v pivu. Pivovarníci jej následně odstraňují filtrací za studena nebo polyvinylpolypyrrolidinem (PVPP) [9].

Stejně jako chmelové pryskyřice jsou silice (esenciální oleje) sekundární metabolity chmelové rostliny vylučované v lupulinových žlázách. Frakce chmelového oleje je ta část, která je těkává. Tyto těkávé aromatické sloučeniny jsou považovány za nezbytné, protože dodávají chmelu jeho charakteristickou vůni. Zatímco chmelové pryskyřice dodávají pivu hořkost, esenciální oleje dodávají pivu vůni a chuť. Sušený chmel obsahuje 0,5–3 % silic <sup>[2,10]</sup>.

Chmel může ovlivnit vůni piva z hlediska květinových, kořenitých, bylinných, dřevitých a ovocných charakterů. Existuje velké množství komerčně dostupných odrůd chmele s výraznými pachovými vlastnostmi, které lze přičíst odlišnému složení jejich silic. Tato kompozice je komplexní, potenciálně obsahuje až 1000 sloučenin z široké škály chemických tříd. V čerstvé silici převažují terpenové uhlovodíky, převážně myrcen,  $\alpha$ -humulen a  $\beta$ -karyofylen. Díky svému množství je myrcen důležitý pro vůni čerstvé chmelové silice. Linalool a geraniol jsou určeny jako důležité vonné látky přispívající ke květinovému charakteru chmelové silice a piva. Další sloučeniny, jako například geranial, nonanal a kyselina isovalerová, jsou považovány za silné vonné látky v chmelových silicích. Složení se liší v závislosti na vnitřních a vnějších faktorech během růstu, podmínkách zpracování a metodě extrakce použité k izolaci esenciálního oleje. Chmelové aroma v pivu stále není zcela rozluštěno kvůli fyzikálním, biochemickým a chemickým změnám, ke kterým dochází během vaření a kvašení <sup>[11]</sup>.

Chmel také obsahuje doprovodné látky, jako jsou sacharidy (celulóza), dusíkaté látky (bílkoviny), vosky a lipidy a voda. Jejich procentuální zastoupení je uvedeno v Tabulka 1 <sup>[2]</sup>.

Tabulka 1: Průměrné chemické složení chmele <sup>[2]</sup>

Složka	Obsah (%)
Celulóza	43
Chmelové pryskyřice	15–30
Dusíkaté látky (bílkoviny)	15
Voda	10
Minerální látky	8
Polyfenoly	4
Vosky a lipidy	3
Monosacharidy	2
Silice (esenciální oleje)	0,5–3

### **1.2.1 Chmelové pelety typu 90 (normální chmelové pelety)**

Jedná se o nejpoužívanější formu zpracovaného chmele. Prvním krokem při výrobě tohoto typu pelet (i typu 45) je ochlazení sušených šišek (vlhkost do 5 % m/m) na  $-30\text{ °C}$  a drcení kladivovým mlýnem. Dále se chmelový prášek (velikost částic 2–8 mm) homogenizuje a lisuje do chmelových pelet. Pelety se balí do sáčku spolu s inertní atmosférou pro co nejlepší konzervaci a zachování pivovarsky cenných látek. Výsledný produkt je prakticky shodný s hlávkovým chmelem. Má však oproti němu řadu výhod, například delší trvanlivost, menší objem, snazší skladování a lepší využití všech pivovarsky cenných látek při výrobě piva [12,13].

### **1.2.2 Chmelové pelety typu 45 (pelety obohacené lupulinem)**

První krok při výrobě chmelových pelet tohoto typu je shodný s typem 90. Rozdíl je v získání lupulinové frakce, která se získává separací pomocí speciálního prosévacího systému chlazeného na  $-30\text{ °C}$ . Na základě průběžných analýz lupulinové frakce lze opětovným smícháním s přesně stanoveným množstvím rostlinné části získat koncentrovaný produkt o požadovaném obsahu  $\alpha$ -hořkých kyselin. Zbytek procesu je totožný s peletami typu 90. Přednostmi pelet typu 45 jsou hlavně vyšší koncentrace chmelových pryskyřic, dlouhodobá trvanlivost, a ještě větší snížení objemu produktu při manipulaci, dopravě a skladování [12,13].

## **1.3 Žatecký poloraný červeňák a další odrůdy**

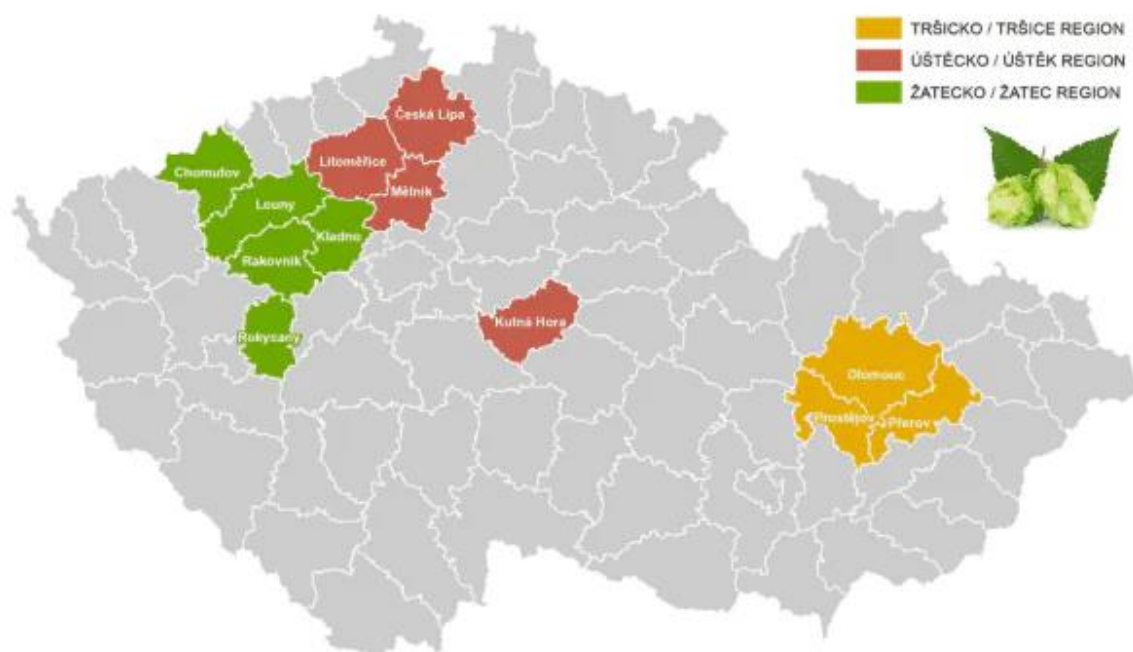
Žatecký poloraný červeňák má v pivovarnictví nezastupitelné místo díky svým výjimečným vlastnostem, které ovlivňují charakteristiku piva. Tento chmel je zvláště oblíben pro výrobu typů piva, jako jsou ležáky plzeňského typu, kde jeho jedinečné aromatické profily přidávají požadovanou hloubku chuti [14].

Charakteristické aroma Žateckého poloraného červeňáku je často popisováno jako mírně bylinné s náznaky květin, citrusů a jemných kořeněných tónů. Tyto složky se harmonicky prolínají a přispívají k čisté, osvěžující a dobře vyvážené chuti piva. Tento chmel je také ceněn pro své nízké až střední úrovně hořkosti, což umožňuje pivovarům vytvořit piva, která jsou přístupná široké paletě spotřebitelů bez přemíry hořkosti. Ačkoliv je Žatecký poloraný červeňák hluboce zakotven v české pivovarské tradici, jeho popularita přesahuje hranice České republiky a proniká do globálního pivovarského průmyslu. Díky své schopnosti přidat jedinečný

charakter k pivům je tento chmel vyhledáván pivovary po celém světě. To umožňuje mezinárodním konzumentům ochutnat esenci pivovarského umění [14].

Chmel se v České republice pěstuje ve třech oblastech, a to v oblasti Žatecké, Ústěcké a Tršické (viz Obrázek 2). Mimořádné klimatické a půdní podmínky přispívají k výjimečnému aromatickému charakteru českých chmelů. Mimo Žateckého poloraného červeňáku se v polovině devadesátých let začaly pěstovat také další české odrůdy. V roce 1995 byly do Listiny povolených odrůd ČR zařazeny odrůdy Bor a Sládek. V roce 1996 to pak byla odrůda Premiant, v roce 2001 Agnus, v roce 2004 odrůda Harmonie a v roce 2007 odrůda Rubín. Tyto odrůdy splňují podmínku vyššího obsahu  $\alpha$ -hořkých kyselin a vyššího výnosu, přičemž v ostatních znacích se kvalitativně blíží klasickému žateckému chmelu [15].

V roce 2010 byly zaregistrovány odrůdy Saaz Late a Bohemia. Odrůda Saaz Late je jemně aromatického typu a vykazuje vlivem původu z Žateckého poloraného červeňáku velmi podobné pivovarské vlastnosti jako zmíněný Žatecký poloraný červeňák, avšak vyššího výnosu. Odrůda Bohemie patří do skupiny aromatických chmelů. Aroma chmelových hlávek je slabě kořenité. Všechny české odrůdy lze nalézt v atlasu odrůd Chmelařského institutu [15].



Obrázek 2: Oblasti pěstování chmele v České republice [15]

### 1.3.1 Německé odrůdy chmele

Pěstování chmele v Německu je soustředěno do několika oblastí. Klimatické a pěstitelské podmínky jsou zde typické pro centrální Evropu s tím, že oproti českým pěstitelským oblastem zde převládá více srážek a všeobecně lehčí půdy. Pěstování chmele v Německu je soustředěno do 5 hlavních pěstitelských oblastí (viz Obrázek 3) a to: Hallertau, Elbe-Saale, Tett nang, Spalt a Hersbruck <sup>[16,17]</sup>.

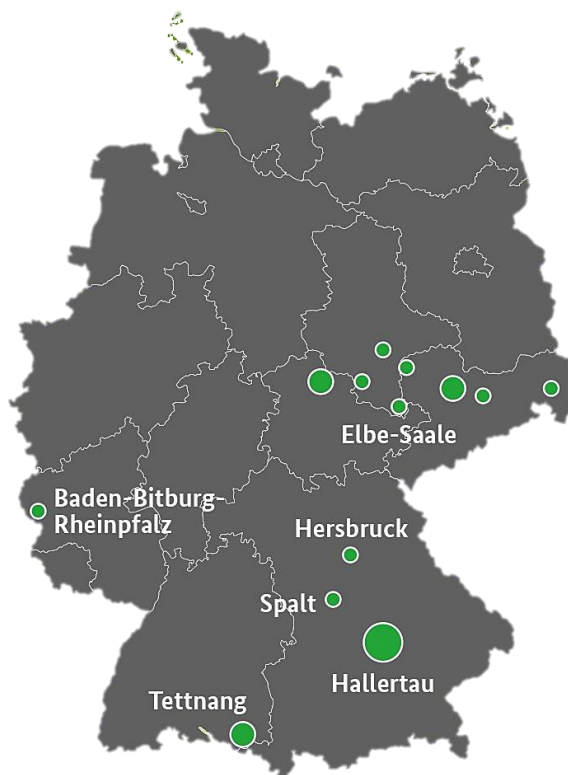
Oblast Hallertau v Bavorsku je největší oblastí pěstování chmele na světě s více než 15 000 ha a více než 1300 chmelnicemi. Produkuje více než pětinu roční výroby chmele na světě. Centrum oblasti je město Volnzach/Mainburg. Z pěstovaných odrůd jsou zde nejvíce zastoupeny Hallertauer Magnum, Taurus, Perle, Hersbrucker a Herkules <sup>[16]</sup>.

Oblast Elbe-Saale je druhou největší pěstitelskou oblastí v Německu. Zahrnuje více než 50 chmelařských podniků v dnešních spolkových německých zemích Saska, Saska-Anhaltska a Durynska situovaných okolo dvou řek Labe a Saale. I zde má produkce chmele dlouhou tradici sahající až do 11. století. Tato oblast zaznamenala velký rozvoj po roce 1950 v období východního Německa, kdy se výroba soustředila do velkých výrobních podniků. V tuto dobu se celá tato oblast specializovala zejména na pěstování vysokokobsažných „hořkých“ odrůd a na moderní velkovýrobní způsob výroby chmele. Celková plocha této oblasti představuje cca 1400 ha chmelnic a převládající pěstované odrůdy jsou Hallertauer Magnum, Herkules a Perle <sup>[16]</sup>.

Oblast Tett nang je třetí největší oblastí pěstování chmele. Nachází se v Bádensku-Württembersku, severně od Bodamského jezera a je soustředěna kolem města Tett nang. Oblast Tett nang zaujímá přibližně 8 % celkové německé výroby chmele (výměra chmelnic je zde přibližně 1300 ha) z hlediska rozlohy. Ale je jedním z předních výrobců velmi jemného aromatického chmele na světě. Z pěstovaných odrůd chmele zde převládají odrůdy Tett nanger a Hallertauer <sup>[16]</sup>.

Oblast Spalt je druhou nejmenší oblastí pěstování chmele v Německu. Nachází se kolem města Spalt a má mimořádně bohatou chmelovou tradici. Celá oblast má specifické mikroklima pro pěstování chmele. Vyznačuje se nízkými srážkami s mnoha hodinami slunečního svitu a velmi hlubokými bohatými půdami, které dodávají nejlepší kvalitu a aroma zde pěstovaným odrůdám. Celková výměra zaujímá cca 400 ha a nejvíce pěstované odrůdy jsou Spalter, Hallertauer a Spalter Select. Nejmenší oblastí je oblast Hersbruck, s centrem v okolí stejnojmenného města. Vzhledem ke své poloze a rozsahem výroby chmele je již zahrnována

do oblasti Hallertau <sup>[16]</sup>. Chmel se také pěstuje v oblastech Baden, Bitburg a Rheinpfalz, všechny v blízkosti řeky Rýn <sup>[18]</sup>.



Obrázek 3: Oblasti pěstování chmele v Německu <sup>[19]</sup>

### 1.3.2 Americké odrůdy chmele

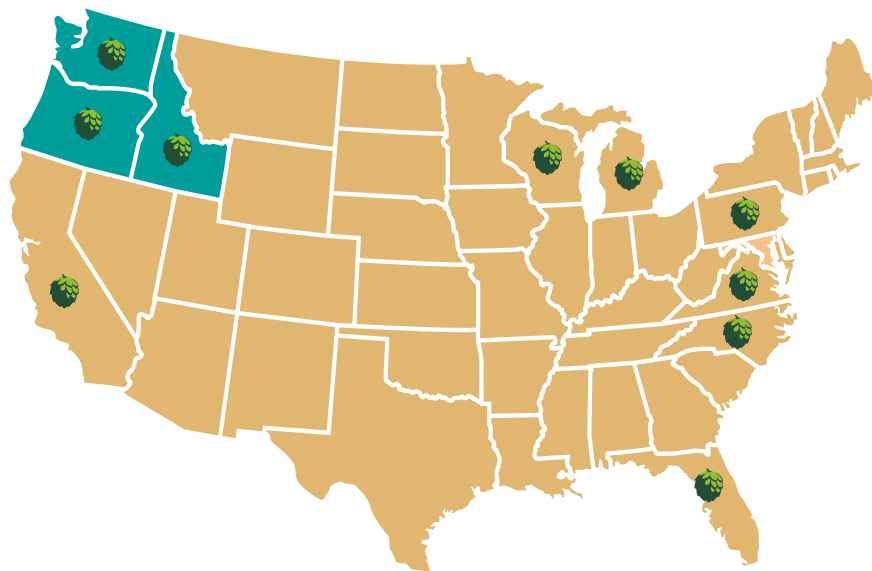
Americké chmelové odrůdy jsou známé svou silnou chutí a výraznými aromaty, která často přinášejí do piva tropické, citrusové nebo jehličnaté tóny. Mezi nejoblíbenější odrůdy patří Citra, která se proslavila svou vysokou koncentrací citrusového ovoce, zejména grapefruitu, a tropických ovocných tónů, jako jsou mango a liči. Tento chmel je ideální pro moderní piva jako IPA (Indian Pale Ale), kde dodává silnou chuť a aroma. Další známou odrůdou je Simcoe, která má komplexní aroma s citrusovými, jehličnatými a ovocnými tóny, které se hodí jako pro hořkou, tak pro aromatickou složku piva. Odrůda Simcoe je oblíbená pro své bohaté, ale vyvážené aroma, které je ideální pro americké stylové APA (American Pale Ale) <sup>[20]</sup>.

Další americkou odrůdou je Amarillo, která je známá svým pomerančovým, květinovým a tropickým ovocem, což ji činí ideální pro chmelení ve stylu Pale Ale nebo IPA, kde přidává ovocné a květinové tóny. Americké chmely, jako Cascade, jsou zase synonymem pro americkou

APA s výraznými citrusovými a květinovými tóny, které odrážejí tradiční americké pivovarnické trendy a nabízejí pivo výraznou, ale zároveň harmonickou hořkost. Tato rozmanitost v aromatech a chutích dělá americké chmely nepostradatelné pro širokou škálu pivních stylů [20].

Podmínky pro pěstování chmele v USA jsou klimaticky velmi rozdílné. Celková plocha pro pěstování chmele v USA je více než 20 000 ha. Největší pěstitelské plochy jsou soustředěny ve státě Washington (více než 72 % celkové plochy) okolo města Yakima v Yakima Valley, kde převládá suché klima s nedostatečnými sezónními dešťovými srážkami. Proto je nutné chmel pěstovat pod závlahovým systémem [16].

Druhá největší pěstitelská oblast je ve státě Oregon (asi 15 % ploch), kde jsou oproti Yakimě pěstitelské podmínky mírnější. Převládá zde oceánské vlhčí a chladnější klima. Je zde více srážek a charakter průběhu počasí zde připomíná západoevropské podmínky. Třetí oblastí pěstování chmele v USA je v oblasti státu Idaho (asi 10 %) <sup>1</sup>. Klimatické podmínky jsou zde velmi podobné jako v oblasti Yakima. V posledních letech se chmel v USA začal pěstovat i v dalších státech (viz Obrázek 4), jako např. Kalifornie, Colorado, Michigan, Severní Karolína a Ohio <sup>2</sup> na celkové výměře 3 % [16].



Obrázek 4: Oblasti pěstování chmele v USA [21]

<sup>1</sup> Státy Washington, Oregon a Idaho jsou na Obrázku 4 zabarveny tyrkysově

<sup>2</sup> Značky chmelů na Obrázku 4 znázorňují pěstitelské oblasti

## 1.4 Chmelovar

Vyčeřená sladina se obvykle shromažďuje přímo v mladinovém kotli nebo se před převedením do mladinového kotle přivádí do nádoby na příjem mladiny. Mladinový kotel je vybaven ohřevem, a to buď přímým spalováním paliva, nebo nepřímo pomocí páry. Sladina se v kotli nejprve zahřeje z rmutovacích teplot, které se pohybují mezi 65 °C a 78 °C, na teplotu varu (obvykle těsně nad 100 °C při atmosférickém tlaku kvůli rozpuštěným látkám). Poté se obsah kotle vaří 30 až 120 minut. Vaření mladiny má vysokou energetickou náročnost a představuje až 40 % spotřeby energie pivovaru [22].

Při vaření mladiny probíhá mnoho složitých reakcí. Při zahřívání mladiny se inaktivují zbytky amyláz a dalších enzymů, čímž se ukončí proces rmutování a zafixuje se sacharidové složení mladiny. Při varu je mladina sterilizována a mikroflóra sladu, chmele a dalších použitých příměsí je zničena. Během varu dochází ke koagulaci některých bílkovin a některé z nich spolu s jednoduššími dusíkatými složkami interagují se sacharidy nebo polyfenoly (taniny). Nerozpustná sraženina, která je výsledkem těchto interakcí, je „zlom“ nebo „kal“. Část zákalu se oddělí od vařící mladiny (horký zákal) a další část se vysráží při ochlazení mladiny (studený zákal). Současně se chmelové látky extrahují do roztoku a podléhají přeměně nebo interakci s dalšími složkami mladiny [23].

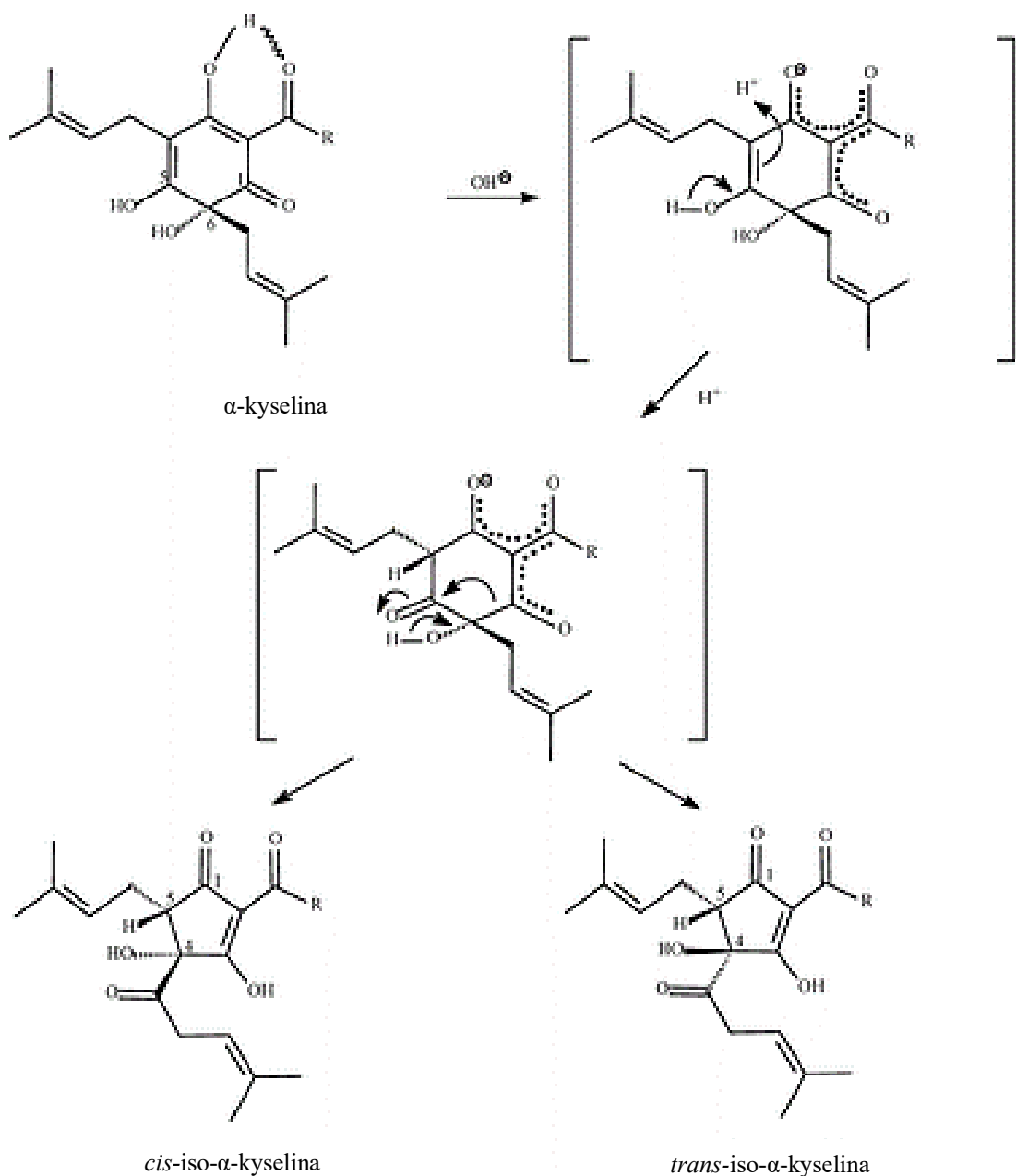
V otevřených měděných kotlích (viz Obrázek 5) se během hodinového varu odpaří asi 10 % objemu, takže se vyrovná část ředění způsobeného přeplňováním. Současně se ztratí většina chmelové silice, která je těkavá v páře. Je nutné, aby se tímto způsobem odstranila převážná část silice, jinak by byla chuť chmelové silice příliš výrazná. Pokud se v obilném šrotu použije zelený slad, ztratí se „rostlinná“ příchut', která vzniká během varu [23].



Obrázek 5: Měděný mladinový kotel [24]

Chmel se tradičně přidává na začátku nebo během varu mladiny v procesu vaření piva. Během varu mladiny jsou z chmele extrahovány  $\alpha$ -kyseliny, rozpuštěny a následně přeměněny na iso- $\alpha$ -kyseliny. Tyto kyseliny jsou hlavní hořké složky v pivu. Silně přispívají ke stabilitě pěny a inhibují růst G<sup>+</sup> bakterií, zejména rod *Lactobacillus* [25].

Jak už bylo zmíněno, tak nejdůležitější chemickou přeměnou, ke které dochází během varu mladiny, je tepelná izomerace  $\alpha$ -kyselin na iso- $\alpha$ -kyseliny prostřednictvím kontrakce kruhu acyloinového typu (viz Obrázek 6). Izomerace  $\alpha$ -kyselin zahrnuje acidobazickou reakci (tvorba požadovaného aniontu v  $\beta$ -triketo systému), následovanou stereoselektivní ketonizací zbývající enolové funkce v kruhu (tvorba acyloinové jednotky) a nakonec nestereoselektivní kontrakce kruhu, vedoucí k *trans*- a *cis*- iso- $\alpha$ -kyselinám, v daném pořadí. V důsledku toho je v pivu přítomno 6 hlavních iso- $\alpha$ -kyselin (*trans*-isohumulon a *cis*-isohumulon, *trans*-isokohumulon a *cis*-isokohumulon, *trans*-isoadhumulon a *cis*-isoadhumulon). Tyto kyseliny jsou výsledkem konverze 3 hlavních chmelových  $\alpha$ -kyselin, humulonu, kohumulonu a adhumulonu, v daném pořadí. *Trans*- a *cis*- iso- $\alpha$ -kyseliny nejsou snadno převáděny jedna na druhou [26].



R=	Název řetězce	$\alpha$ -kyselina	<i>trans</i> -/ <i>cis</i> -iso- $\alpha$ -kyselina
-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	isobutyryl	kohumulon	isokohumulon
-CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	isovaleryl	humulon	isohumulon
-CH(CH <sub>3</sub> )C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	2-methylbutyryl	adhumulon	isoadhumulon

Obrázek 6: Mechanismus izomerace  $\alpha$ -kyseliny na iso- $\alpha$ -kyseliny <sup>[27]</sup>

## 1.5 Pesticidy

Pesticidy jsou chemické nebo biologické látky určené k hubení plevelů, hmyzu, hub, hlodavců, bakterií a dalších škůdců. Chrání potravinářské plodiny a dobytek, regulují domácí škůdce, podporují produktivitu zemědělství a chrání veřejné zdraví. Přibližně 95 % vyrobených pesticidů se používá pouze v zemědělství na ochranu plodin [28,29].

Pesticid je společný termín, který charakterizuje několik skupin insekticidů, herbicidů, fungicidů, rodenticidů, konzervačních prostředků na dřevo, zahradních chemikálií a dezinfekčních prostředků pro domácnost, které se používají buď k hubení škůdců, nebo k ochraně před nimi [30]. Tyto pesticidy se v jednotlivých třídách liší svými fyzikálními, chemickými a identickými vlastnostmi. Proto je vhodné je klasifikovat na základě jejich vlastností a studovat je v rámci příslušných skupin. Pesticidy jsou chemické látky vyrobené člověkem a v přírodě se nevyskytují. Pesticidy se dělí do 3 klasifikačních tříd na základě způsobu vstupu do organismu, funkce pesticidu a škůdce, kterého hubí, a na základě chemického složení pesticidu [31].

### 1.5.1 Klasifikace podle způsobu vstupu do organismu

Způsoby, kterými pesticidy přicházejí do kontaktu s cílem nebo do něj vstupují, se nazývají způsoby vstupu. Patří mezi ně systémové a kontaktní pesticidy, žaludeční jedy, fumiganty a repelenty [32].

Systémové pesticidy jsou pesticidy, které jsou absorbovány rostlinami nebo zvířaty a přenášejí se do neošetřených tkání. Systémový herbicid se pohybuje rostlinou a může se dostat do neošetřených oblastí listů, stonků nebo kořenů. Jsou schopny ničit plevely při částečném pokrytí postřikem. Dokážou účinně pronikat do rostlinných tkání a pohybovat se cévním systémem rostlin, aby hubily konkrétní škůdce. Některé systémové insekticidy se používají také k hubení škůdců, jako jsou svílušky, vši nebo blechy, a pohybují se prostřednictvím živočichů. Pesticidy se v rostlinných tkáních mohou pohybovat jedním směrem nebo více směry. Některé pesticidy se mohou v rostlině pohybovat pouze jedním směrem, a to buď nahoru nebo dolů, zatímco jiné pesticidy se mohou pohybovat pouze nahoru. Pokud je pesticid aplikován do kořenové zóny, pohybuje se po celé rostlině. Pokud je však aplikován na listy, nepohybuje se po celé rostlině. Kromě toho je jen málo pesticidů považováno za lokálně systémové a pohybují se v rostlině pouze na krátkou vzdálenost od místa kontaktu. Mezi systémové pesticidy patří například kyselina 2,4-dichlorfenoxycetová a glyfosát [32].

Nesystémové pesticidy se také nazývají kontaktní pesticidy, protože působí na cílové škůdce při kontaktu s nimi. Pesticidy musí přijít do fyzického kontaktu se škůdcem, aby byly účinné. Pesticid se při kontaktu dostává do těla škůdce přes jeho pokožku a způsobuje smrt otravou. Tyto pesticidy nemusí nutně pronikat do rostlinných tkání, a proto se nepřenášejí cévním systémem rostlin. Příklady kontaktních pesticidů jsou paraquat a diquat dibromid <sup>[33]</sup>.

Žaludeční jed se dostává do těla škůdce ústy a trávicím ústrojím a způsobuje smrt otravou. Žaludeční jedy získávají škůdci při krmení, když pozřou insekticid aplikovaný v listech a dalších částech rostliny. Žaludeční jedy mohou do těla hmyzu pronikat také ústy a trávicím traktem, kde se vstřebávají do těla hmyzu. To je vhodnější zejména v případě kontroly přenašečů, kdy se bakterie nebo jejich toxiny aplikují do vody, kde se larvy komárů nebo much živí filtrem a jed spotřebují. Tyto insekticidy usmrcují přenašeče tím, že ničí střední část střeva (nebo žaludek) larev. Příkladem takového insekticidu (žaludečního jedu) je malathion <sup>[33]</sup>.

Fumiganty jsou takové pesticidy, které působí nebo mohou hubit cílové škůdce tvorbou výparů. Tyto pesticidy se ve formě výparů dostávají do těla škůdců přes jejich dýchací cesty a způsobují smrt otravou. Některé z jejich účinných látek jsou při balení pod vysokým tlakem kapalné, ale při uvolnění se mění na plyny. Fumiganty se používají k odstraňování škůdců skladovaných produktů z ovoce, zeleniny a obilovin. Jsou také velmi užitečné při regulaci škůdců v půdě. Repelenty nezabíjejí, ale jsou dostatečně odpudivé, aby škůdce od ošetřených ploch/produktů odradily. Narušují také schopnost škůdců vyhledávat plodiny <sup>[33]</sup>.

### **1.5.2 Klasifikace na základě funkce pesticidů a škůdců, které hubí**

V rámci této klasifikace jsou pesticidy klasifikovány podle cílového organismu škůdce a pesticidům jsou přiřazeny specifické názvy, které odrážejí jejich aktivitu. Názvy skupin těchto pesticidů pocházejí z latinského slova *caedo* (což znamená bít, zabít nebo ničit), které se používá jako přípona za příslušným názvem škůdce, kterého hubí (viz Tabulka 2). Některé pesticidy se také klasifikují podle své funkce, například regulátory růstu, které stimulují nebo zpomalují růst škůdců. Dále pak defolianty, které způsobují opadávání listů u rostlin, nebo desikanty, které urychlují vysychání rostlin pro mechanickou sklizeň nebo způsobují vysychání a úhyn hmyzu. Patří sem i repelenty, atraktanty, které lákají škůdce, obvykle past a chemosterilanty, které sterilizují škůdce <sup>[34]</sup>.

Tabulka 2: Klasifikace pesticidů podle typu cílových škůdců <sup>[34]</sup>

Druh pesticidu	Funkce pesticidu	Příklad pesticidu
Insekticidy	Hubí hmyz a další členovce	Aldikarb
Fungicidy	Ničí houby (včetně plísní a hnilob)	Azoxystrobin
Baktericidy	Hubí bakterie nebo působí proti bakteriím	Měďnaté komplexy
Herbicidy	Ničí plevel a jiné rostliny, které rostou tam, kde jsou nežádoucí	Atrazin
Akaricidy	Hubí roztoče, kteří se živí rostlinami a živočichy	Bifenazat
Rodenticidy	Hubí myši a další hlodavce	Warfarin
Algicidy	Regulují nebo znemožňují růst řas	Síran měďnatý
Larvicidy	Inhibují růst larev	Methopren
Repelenty	Odpuzují škůdce svou chutí nebo vůní	Methiokarb
Desikanty	Ničí rostliny vysušováním jejich tkání	Kyselina boritá
Ovicidy	Brání růstu vajíček hmyzu a roztočů	Benzoxazin
Virucidy	Působí proti virům	Scytovirin
Moluskocidy	Hubí měkkýše	Metaldehyd
Nematicidy	Ničí hád'átka, která parazitují na rostlinách	Aldikarb
Avicidy	Hubí ptáky	Avitrol
Lampricidy	Hubí larvy mihulí	TFM (3-trifluormethyl-4-nitrofenol)
Piscicidy	Hubí ryby	Rotenon
Termiticidy	Hubí termity	Fipronil

Existují také pesticidy, které zabíjí více než jednu třídu škůdců a mohou být zařazeny do více než jedné třídy pesticidů. Aldikarb, který se hojně používá při pěstování citrusů na Floridě, lze považovat za akaricid, insekticid nebo nematocid, protože hubí roztoče, hmyz a hád'átka. Dalším běžným příkladem je kyselina 2,4-dichlorfenoxyoctová, která se používá jako herbicid k hubení širokolistých plevelů, ale při nízkých dávkách je regulátorem růstu rostlin. Atraktanty a repelenty jsou považovány za pesticidy, protože se používají k regulaci škůdců <sup>[34]</sup>.

### 1.5.3 Klasifikace na základě chemického složení pesticidů

Nejběžnější a nejužitečnější způsob klasifikace pesticidů je založen na jejich chemickém složení a povaze účinných látek. Právě tento druh klasifikace poskytuje vodítko o účinnosti, fyzikálních a chemických vlastnostech příslušných pesticidů. Informace o chemických a fyzikálních vlastnostech pesticidů jsou velmi užitečné při určování způsobu aplikace, bezpečnostních opatření, které je třeba dodržovat při aplikaci a aplikačních dávek. Na základě chemického složení se pesticidy dělí do 4 hlavních skupin, a to na: organochlorové, organofosfátové, karbamátové a pyrethrinové a pyrethroidní <sup>[32]</sup>.

Organochlorové pesticidy (známé také jako chlorované uhlovodíky) jsou organické sloučeniny s 5 nebo více atomy chloru. Představují první skupinu pesticidů, které kdy byly syntetizovány a používány v zemědělství a ve zdravotnictví. Většina z nich byla široce používána jako insekticidy k hubení široké škály hmyzu a mají dlouhodobý účinek v životním prostředí. Tyto insekticidy mohou narušit nervový systém hmyzu, což může vést ke křečím a paralýze s následnou smrtí. Mezi nejběžnější příklady těchto pesticidů patří DDT (dichlordifenyltrichlorethan), lindan, endosulfan, aldrin, dieldrin a chlordan. Ačkoli byla výroba a aplikace DDT ve většině vyspělých zemí včetně Spojených států amerických zakázána již před mnoha lety, ve většině tropických rozvojových zemích se stále používá, a to zejména tam, kde se vyskytuje malárie <sup>[35]</sup>.

Organofosfátové pesticidy jsou považovány za jedny ze širokospektrálních pesticidů, které díky svým mnohostranným funkcím potlačují širokou škálu škůdců. Působí jako nervové jedy. Tyto pesticidy jsou také biologicky odbouratelné, životní prostředí znečišťují minimálně a škůdci se proti nim nestanou jen tak odolní <sup>[35]</sup>. Organofosfátové insekticidy jsou pro obratlovce a bezobratlé toxické, protože fungují jako inhibitory cholinesterázy. To vede k trvalému překrytí neurotransmiteru acetylcholinu v synapsi. V důsledku toho se nervové impulsy nedokážou přes synapsi přenést a způsobují rychlé záškuby svalů, což vede k ochrnutí a smrti. Mezi široce používané organofosfátové insekticidy patří parathion, malathion, diazinon a glyfosát <sup>[31]</sup>.

Karbamáty jsou strukturně podobné organofosfátům. Liší se však svým původem. Organofosfáty jsou deriváty kyseliny fosforečné, zatímco karbamáty jsou odvozeny od kyseliny karbamové. Princip účinku karbamátových pesticidů je podobný jako u organofosfátových pesticidů, neboť ovlivňují přenos nervových signálů, což vede k úhynu škůdce otravou <sup>[31]</sup>.

Někdy se používají také jako žaludeční nebo kontaktní jedy nebo jako fumiganty. V přírodním prostředí se snadno rozkládají s minimálním znečištěním životního prostředí. Mezi široce používané insekticidy této skupiny patří karbaryl, karbofuran, propoxur a aminokarb<sup>[33]</sup>.

Pyrethroidní pesticidy jsou skupinou organických pesticidů, které lze syntetizovat duplikací struktury přírodních pyrethrinů. Jsou relativně stabilnější a mají delší reziduální účinek než pyrethriny přírodní. Pyrethriny se rozměňují za účelem získání účinných složek. Hlavními účinnými složkami jsou pyrethrin I a pyrethrin II a menší množství příbuzných cinerinů a jasmolinů. Pyrethroidní pesticidy jsou vysoce toxické pro hmyz a ryby, ale mírně toxické pro savce a ptáky. Většina insekticidů není perzistentní a snadno se rozkládá při vystavení světlu. Jsou považovány za jedny z nejbezpečnějších insekticidů pro ochranu plodin. Cypermethrin a permethrin jsou nejpoužívanější pyrethroidní pesticidy<sup>[33]</sup>.

#### **1.5.4 Zdravotní rizika a dopad pesticidů na životní prostředí**

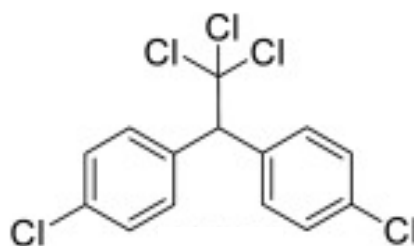
Vystavení pesticidům může být extrémně nebezpečné pro lidi a jiné živé organismy, protože jsou navrženy tak, aby byly jedovaté. Mohou být také škodlivé pro lidi, kteří jsou vystaveni pesticidům při pracovním (nebo domácím) používání, konzumaci potravin nebo tekutin obsahujících rezidua pesticidů nebo vdechování vzduchu kontaminovaného pesticidy. I velmi nízké úrovně expozice mohou mít nepříznivé zdravotní účinky<sup>[36,37]</sup>.

Pesticidy mohou souviset s různými nemocemi včetně rakoviny, leukémie a astmatu. Zdravotní rizika v důsledku expozice pesticidům závisí nejen na toxicitě složek, ale také na úrovni expozice. Navíc někteří lidé, jako jsou děti, těhotné ženy nebo stárnoucí populace, mohou být na účinky pesticidů citlivější než ostatní<sup>[36,38]</sup>.

Ukázalo se, že pesticidy aplikované do životního prostředí mají dlouhodobé reziduální účinky. Jiné mají při nesprávném zacházení akutní smrtelné účinky. Například organochlorové pesticidy jsou v životním prostředí perzistentní, v důsledku čehož kontaminují podzemní a povrchové vody, potraviny, ovzduší, půdu a také mohou ovlivnit člověka přímým kontaktem. Pesticidy snižují druhovou rozmanitost v živočišné říši a přispívají k úbytku populací zvířat a rostlin tím, že ničí životní prostředí, snižují zásoby potravin a zhoršují reprodukci<sup>[39]</sup>.

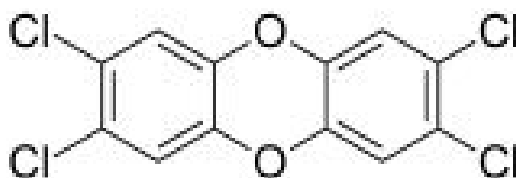
Jedním z nejznámějších případů rozsáhlého používání pesticidů, které mělo velké dopady na životní prostředí, bylo používání DDT (viz Obrázek 7). Ve 40. letech 20. století byl tento chemický prostředek použit jako první moderní syntetický insekticid k hubení hmyzu v zemědělství, v obytných domech a k boji proti lidským chorobám přenášeným hmyzem. Nicméně, lidé si začali uvědomovat, že je toxické pro reprodukci a přibývalo důkazů o jeho nepříznivých účincích <sup>[40]</sup>.

Mezi negativní dopady DDT na lidské zdraví patří akutní a trvalé poškození nervového systému, poškození plic, poškození reprodukčních orgánů, poruchy imunitního a endokrinního systému, vrozené vady a rakovina. DDT může být dlouhodobě toxické a zůstává dlouho v životním prostředí. Konzumací potravin a kontaktem s půdou, vodou a vzduchem jsou proto lidé potenciálně vystaveni nadměrnému množství pesticidů. Přes všechny negativní účinky DDT se i v současnosti používá v Africe v boji proti malárii. Jeho velkou výhodou (i nevýhodou) je obrovská reziduální účinnost. Při postřiku stěn nebo stropů vydrží tento prostředek působit 6–12 měsíců <sup>[40]</sup>.



Obrázek 7: Strukturální vzorec DDT <sup>[41]</sup>

Dalším velmi známým případem bylo použití herbicidu Agent Orange během války ve Vietnamu v letech 1961–1971. Agent Orange se používá jako označení pro všechny fenoxypyreny herbicidy. Nejpoužívanější byla směs kyseliny 2,4-dichlorfenoxyoctové (2,4-D) a kyseliny 2,4,5-trichlorfenoxyoctové (2,4,5-T). Agent Orange byl kontaminován dioxiny jako vedlejšími produkty výrobního procesu. Dioxiny jsou skupinou biologicky aktivních chlorovaných aromatických sloučenin vznikajících při spalování materiálů obsahující chlor, výrobě papírů a dalších procesech. Řadí se mezi perzistentní organické polutanty (POP), protože v životním prostředí přetrvávají roky. Agent Orange obsahoval konkrétně 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-*p*-dioxin (TCDD), který je extrémně toxický (viz Obrázek 8) <sup>[42]</sup>.



Obrázek 8: Strukturální vzorec TCDD <sup>[43]</sup>

Agent Orange je vzhledem k jeho extrémní toxicitě spojován s řadou zdravotních problémů. Nejčastěji se jedná o různé typy rakoviny (hrtanu, prostaty, plic nebo močového měchýře), Parkinsonovu chorobu, hypertenzi nebo poruchu metabolismu lipidů. Dále jsou to četné reprodukční abnormality a vrozené deformity, jako jsou rozštěp rtu, rozštěp patra, hydrocefalus, srostlé prsty, svalová malformace a paralýza a některá vývojová postižení <sup>[44]</sup>.

### 1.5.5 Pesticidy používané k ošetření chmele a jeho škůdci (patogeny)

Nejčastějším rostlinným patogenem chmele je plíseň chmelová (*Pseudoperonospora humuli*). Tato plíseň způsobuje nemoc zvanou padlí, která patří mezi nejvýznamnější choroby chmele ve většině produkční oblasti severní polokoule. Možnost přímého i nepřímého poškození výnosu a kvality šišek vystavuje pěstitele riziku úplné neúrody, pokud se choroba neléčí. Patogen může způsobit lokální a systémové infekce nadzemních pletiv, oddenků a korunních pupenů. K poškození plodin může dojít v důsledku systémových infekcí výhonků, které brání výhonům ve šplhání a vývoji. Poškození plodin se dále týká ztrátě postranních větví nesoucí šišky, přímé infekci šišek a u některých náchylných kultivarů progresivní odumírání kořenového systému (viz Obrázek 9). Chronická infekce rostlin může také snížit vitalitu rostlin kvůli rychlejší ztrátě zásob sacharidů během podzimu a zimy <sup>[45,46]</sup>.

Fungicidy jsou ústřední složkou systémů managementu peronospor. Léčba onemocnění chmele se stala komplikovanější kvůli rozvoji rezistence vůči fenylamidovým fungicidům, např. metalaxylu, a snížené citlivosti na fosfonátové fungicidy (fosfonáty draselné). Léčba onemocnění chmele také využívá fungicidy patřící do mnoha dalších skupin, včetně amidů karboxylových kyselin, chinonových vnějších inhibitorů a měděných přípravků <sup>[46]</sup>.



Obrázek 9: Chmel napadený plísní chmelovou <sup>[47]</sup>

Další patogen způsobující padlí chmele je padlí chmelové (*Podosphaera macularis*). Na rozdíl od plísně chmelové je výskyt padlí na chmelu nepravidelný. V našich podmínkách se jedná o fakultativní patogen gradačního charakteru, což dokládá i jeho škodlivý výskyt na některých chmelnicích na přelomu tisíciletí. U nás se ojediněle objevovalo v polovině 70. let na Žatecku. Poslední hospodářsky významný výskyt tohoto patogenu byl českých a moravských chmelnicích zaznamenán v letech 1997–1999. V současné době je jeho výskyt v ČR omezen pouze na některé lokality a ani zde se každoročně neobjevuje. Proti padlí chmelovému se používají fungicidy chinoxifen, tebukonazol, boskalid + pyraclostrobin a azoxystrobin (používaný i proti plísní chmelové) <sup>[45]</sup>.

Jedním z nejvýznamnějších hmyzích škůdců je mšice chmelová (*Phorodon humuli*). Způsobuje značné ztráty na výnosech a snižuje kvalitu a ekonomickou hodnotu chmele. Chmel je proti nim ošetřován převážně insekticidy jako jsou imidakloprid, pymetrozin, acetamiprid, flonikamid anebo spirotetramat <sup>[48]</sup>.

Dalším významným hmyzím škůdcem je sviluška chmelová (*Tetranychus urticae*). S prvními příznaky poškození chmele sviluškou se lze setkat zpravidla v červnu. Tyto první příznaky působí jako bílý krupičkovitý požerek viditelný na svrchní straně chmelových listů (viz Obrázek 10). Silně napadené listy zasychají a opadávají. Svilušky poté přecházejí do vyšších listových pater, kde později v době tvorby generativních orgánů napadají květ a hlávky. Časně napadené hlávky se nevyvíjejí, zbarvují se červenohnědě a postupně zasychají. Později napadené hlávky jsou zbarveny cihlově červeně <sup>[45]</sup>.

Poškozením hlávek sviluškou se značně snižuje kvalita chmele. Silně napadené hlávky se nesklízejí, což se drasticky promítne na výnosu takto napadeného chmele. K ochraně proti sviluškám se používají insekticidní (akaricidní) přípravky jako jsou hexythiazox, spirotetramat, fenpyroximát nebo abamektin [45].



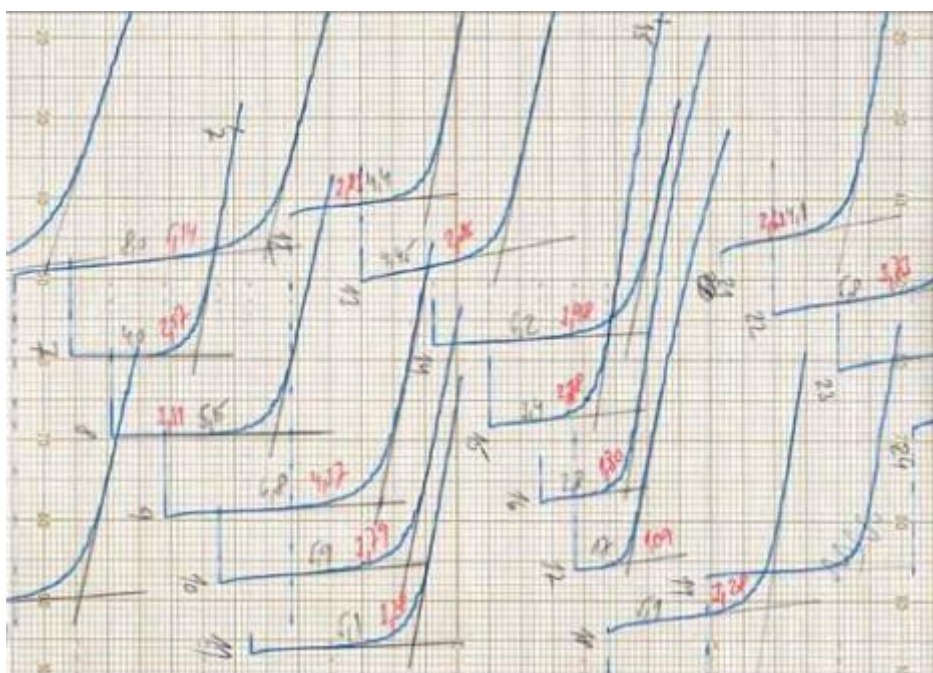
Obrázek 10: Napadený list sviluškou chmelovou [45]

## 1.6 Analýza důležitých parametrů chmele

Nejvýznamnějším evropským předpisem, který obsahuje analytické metody pro chmel, je evropská pivovarská úmluva Analytica EBC (European Brewery Convention), část 7 – Chmel a chmelové výrobky. Mezi nejdůležitější analýzy chmele patří stanovení obsahu hořkých kyselin a index skladování chmele (HSI) [49].

$\alpha$ -kyseliny, které společně s  $\beta$ -kyselinami patří ke specifickým složkám chmelových pryskyřic, jsou z pivovarského hlediska nejdůležitější složkou chmele. Analytické metody stanovení  $\alpha$ -kyselin lze obecně rozdělit na skupinové a specifické. Struktura  $\alpha$ -kyselin poskytuje fyzikální základ řadě metod jejich analytického stanovení. Například dvojná vazba v šestičlenném cyklickém jádru způsobují silnou absorpci UV záření. Spektrofotometrické stanovení se výhodně spojuje s předseparací složek (např. hořkých kyselin) metodou kapalinové chromatografie nebo kapilární elektroforézy. Určitá skupina měkkých pryskyřic se sráží solemi dvojmocného olova za vzniku žluté sraženiny. Tato srážecí reakce je podstatou titračních metod stanovení  $\alpha$ -kyselin [49].

Prvními typy metod stanovení  $\alpha$ -kyselin jsou titrační a gravimetrické. Jejich princip je založen na srážecí reakci  $\alpha$ -kyselin s ionty dvojmocného olova ve formě methanolického roztoku octanu olovnatého, při níž se vylučuje žlutá sraženina humulonátu olovnatého. Původně se množství sraženiny stanovovalo vážkově. Později byl tento zdlouhavý a pracný způsob nahrazen konduktometrickou titrací. Výsledek titračního stanovení, označovaný jako konduktometrická hodnota chmele (KH), se vyjadřuje v hmotnostních %. Typický průběh titračních křivek je uveden na Obrázku 11. Délka vodorovné větve je úměrná obsahu  $\alpha$ -kyselin ve zkoumaném vzorku [49].



Obrázek 11: Tvar titračních křivek při konduktometrickém stanovení  $\alpha$ -kyselin ve chmelu [49]

Podstatou stanovení konduktometrické hodnoty chmele je nadrcení hlávkového chmele nebo chmelových granulí, následná extrakce hořkých látek organickým rozpouštědlem a konduktometrická titrace odměrným roztokem methanolického octanu olovnatého. Nejpoužívanějšími metodami stanovení konduktometrické hodnoty chmele jsou metody EBC 7.4 a 7.5. Metoda EBC 7.4 používá k extrakci toluen a zahrnuje pouze výše zmíněné operace. Metoda EBC 7.5 používá k extrakci směs diethylether-methanol okyselenou přísadkou roztoku kyseliny chlorovodíkové. Tato metoda je mnohem složitější, protože navíc zahrnuje ještě odpaření na rotační vakuové odparce, oddestilování rozpouštědel a filtraci [49].

Druhým typem metody stanovení hořkých kyselin je spektrofotometrické stanovení. Základem spektrofotometrického stanovení hořkých kyselin je schopnost chmelových pryskyřic absorbovat světlo v UV oblasti. Při vlastním stanovení se proměřují absorbance toluenového extraktu při vlnových délkách 325 nm ( $\lambda_{\max}$ . pro  $\alpha$ -kyseliny), 355 nm ( $\lambda_{\max}$ . pro  $\beta$ -kyseliny) a 275 nm ( $\lambda_{\min}$ . pro  $\alpha$ - a  $\beta$ -kyseliny). Naměřené hodnoty se dosazují do regresních rovnic. Metoda je vhodná především pro čerstvé chmele. U starších chmelů přesnost stanovení klesá, protože se mění tvar absorpčních spekter chmelových pryskyřic [49].

Dalším důležitým parametrem je index skladování chmele (HSI). HSI je bezrozměrné číslo, které se vypočítá vydělením hodnoty absorbance alkalického methanolického extraktu chmele při vlnové délce 275 nm hodnotou absorbance při 325 nm ze spektrofotometrického měření. Během skladování chmele koncentrace  $\alpha$ -kyselin klesá. Na základě hodnoty HSI lze chmel třídit do různých kategorií. První kategorie je čerstvá, s hodnotami HSI do 0,32. Chmel s hodnotami HSI od 0,41 do 0,50 spadá do kategorie starší. A chmel s hodnotami HSI vyššími než 0,61 je starý [50,51].

## 1.7 Aromaprofil chmele

Aroma piva získaného z chmele je velmi důležité pro kvalitu piva. Největší vliv na aromatický profil chmele mají silice, jejichž složení se může u různých kultivarů chmele lišit. Chmelové silice mají několik stovek sloučenin, které jsou rozděleny do 3 skupin: uhlovodíky, kyslíkaté sloučeniny (aldehydy, ketony, estery a např. alkoholy) a sloučeniny obsahující síru (3-merkapt-1-hexanol). Nejhojněji obsažené sloučeniny v chmelových silicích jsou monoterpenové uhlovodíky s myrcenem jako hlavní složkou a seskviterpenové uhlovodíky, jako jsou  $\alpha$ -humulen,  $\beta$ -karyofylen a  $\beta$ -farnesen [6,52].

Sušené chmelové hlávky obsahují v průměru 0,5–3 % chmelového oleje obsahujícího aromatické a chuťově aktivní sloučeniny, které patří do několika chemických tříd, jako jsou terpeny, alkoholy, estery, aldehydy a ketony. Množství i složení chmelové silice do značné míry závisí na genetických faktorech, stáří chmelové rostliny nebo podnože, podmínkách pěstování včetně půdy, pH, obsahu uhlíku, dusíku a vlhkosti, mikrobiální hmotě atd. Dále závisí na klimatických podmínkách (teplota, vlhkost, hodiny slunečního svitu a době sklizně). Jak je výše zmíněno, složení a množství silice se u jednotlivých odrůd liší [53].

Například množství a složení oxidů, epoxidů a alkoholů v seskviterpenové frakci se mezi odrůdami chmele výrazně liší. Chmely Hallertauer Mittelfrüh a Hersbrucker obsahují oproti jiným odrůdám velký podíl oxidovaných nebo seskviterpenových derivátů. Koncentrace jednotlivých sloučenin ve specifických frakcích chmelového oleje se také liší mezi odrůdami chmele. Geraniol je ukázkovým příkladem odrůdově specifické sloučeniny, kterou nelze nalézt v každé odrůdě chmele v detekovatelných koncentracích [53].

V závislosti na procesu vaření a technice chmelení probíhají fyzikální, chemické a biochemické změny v těkavých frakcích chmele, u kterých bylo zjištěno, že ovlivňují vnímání chuti. Nejčastěji se přidává chmel během varu mladiny, aby se zajistilo, že chmelové  $\alpha$ -kyseliny jsou izomerovány na iso- $\alpha$ -kyseliny, které jsou hlavně zodpovědné za hořkost piva. Je nutné, aby se až 85 % sloučenin chmelového oleje, zejména uhlovodíků včetně nejhojnějších terpenových uhlovodíků myrcen, humulen a karyofylen, při použití této techniky odpařilo z kotle nebo se přeměnilo na oxidované terpeny a seskviterpeny. Oxidační produkty s větší pravděpodobností přežijí proces vaření piva kvůli jejich rozpustnosti ve vodě. Kromě některých hydrofobních těkavých látek z chmele se většina sloučenin chmelového oleje nenachází v mladině v jejich nativní formě a jen několik je jich v pivu nezměněno. Stupeň hydrolýzy a biotransformace sloučenin závisí na několika faktorech a účincích matrice, včetně doby kontaktu, teploty, pH a expozice kvasinkám, což ztěžuje předpovědi konečného množství těkavých látek v pivu [53].

Odpařování těkavých látek z chmele lze omezit, když se chmel přidává ke konci procesu varu použitím techniky pozdního chmelení. Snížená tepelná expozice podporuje retenci polárních oxidovaných sloučenin, terpenových derivátů, volných alkoholů, aldehydů, ketonů a cyklických esterů. Čím později je chmel přidán, tím nižší je přeměna  $\alpha$ -kyselin na iso- $\alpha$ -kyseliny. V důsledku toho se intenzita hořkosti v pivu nezvýší tak, jako při přidávku v dřívější době a kvalita hořkosti se mění. Finální pivo obsahuje nemodifikované sloučeniny chmelového oleje včetně některých uhlovodíků. Pokud jsou kvasinky přidány do primární nebo sekundární fermentace, mohou stále přeměňovat sloučeniny získané z chmele. Bylo také zjištěno, že kvasinky transformují geraniol na  $\beta$ -citronellol nebo linalool a nerol na  $\alpha$ -terpineol prostřednictvím svého metabolismu. Kromě transformačních reakcí mohou kvasinky adsorbovat sloučeniny chmelového oleje, jak bylo pozorováno u několika monoterpenových alkoholů, jako jsou linalool a geraniol [53,54,55].

Jedním z nejzávažnějších problémů, který ovlivňuje aroma (složení) piva, je jeho stárnutí. Nestabilita chuti nebo zatuchnutí piva je vysoce složitý proces kvůli četným různým oxidačním a neoxidačním reakcím, které probíhají během skladování piva. Může se objevit široká škála chutí v závislosti na typu piva a také na podmínkách skladování. Průběh zrání ležákových piv je dobře známý, protože je zvláště náchylný k chemickým změnám po 3–6 měsících skladování při pokojové teplotě [56].

Výskyt změn v chemickém složení a chuti piva během skladování je způsoben především vývojem aldehydů, esterů, vyšších alkoholů a dalších sloučenin vznikajících v několika krocích procesu vaření piva. Aldehydy jsou skupinou sloučenin s vysokým podílem na zatuchnutí piva. Tyto sloučeniny jsou produkovány především Maillardovými reakcemi nebo oxidací lipidů. Zvýšení jejich koncentrace ve starých pivech může výrazně zvýšit výskyt nepříjemných chutí, jako jsou mastné, kartonové a chlebové příchutě. Estery mastných kyselin s krátkým a rozvětveným řetězcem, které jsou nejvíce aromatické, jsou pravděpodobně nejdůležitějšími těkavými sloučeninami v pivu. Mají pozitivní vliv na celkovou chuť piva, zejména aroma. Nadměrné množství však může vést k příliš ovocným a fermentovaným pachům. Estery, stejně jako vyšší alkoholy, jsou produkovány metabolismem kvasinek během fermentace. Kromě ethanolu jsou vyšší alkoholy hlavní alkoholy, které pivu propůjčují sensorické vlastnosti [56].

Bylo zjištěno, že i běžné sušení chmele při teplotě 55–60 °C vede k nevratným přeměnám a ztrátám silic, které snižují kvalitu produktu. Ukázalo se, že při teplotě sušení 55–60 °C se celkové množství silic snižuje o 15–25 % ve srovnání s obsahem silic před sušením. Podobně to platí i u teploty skladování chmele. U piv skladovaných při 37 °C se ukázalo, že tato teplota je vysoce škodlivá, pokud jde o vývoj sloučenin způsobující zatuchlé aroma. Teplota urychluje nárůst množství aldehydů a esterů. Ve srovnání mezi pivy, která jsou skladována při 37 ± 1 °C a 4 ± 1 °C byla objevena u piv skladovaných při vyšší teplotě 70× vyšší tvorba aldehydů a 15× vyšší tvorba esterů. Odhad trvanlivosti piva umožnil ověřit, že vyšší skladovací teploty jsou škodlivé pro trvanlivost piva, a naopak nižší skladovací teploty pomáhají prodloužit trvanlivost piva. Skladovaná piva při 37 ± 1 °C po dobu 12 dnů napodobují dopad na stabilitu piv skladovaných při 20 ± 2 °C po dobu 6 měsíců [56,57].

Dalším faktorem ovlivňujícím aromaprofil chmele je použití pesticidů. Bylo zjištěno, že aplikace fungicidů na bázi mědi může negativně ovlivnit kvalitu aroma chmele snížením koncentrací odrůdových thiolů. Dvojmocná měď může přímo oxidovat thioly na disulfidy, což vede ke ztrátě jejich aromatické aktivity. Je možné, že aplikace mědi na listy může mít za následek tuto ztrátu před sklizní. Avšak, nepodařilo se prokázat, zda tato ztráta thiolů koreluje s hladinou mědi aplikované na chmel. Pochopení tohoto vztahu by mohlo umožnit pěstitelům chmele efektivněji využívat měděné fungicidy, aby se zachoval obsah thiolů. Měď také negativně ovlivňuje stabilitu piva. Zatímco fenolické látky získané z chmele představují v pivu relativně malou hmotnostní složku, tvoří téměř 30 % obsahu fenolů v pivu. Tyto fenolické sloučeniny přispívají k antioxidační kapacitě piva. Zpomalují oxidaci pivních složek, které vedou k tvorbě nežádoucích pachů a vůní a ztrátě těch žádoucích [58].

## 1.8 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) je moderní technika přípravy vzorků, která má integrované vzorkování, zakoncentrování a extrakci v jednom kroku. Zachycené analyty lze přímo zavést do analytických přístrojů, jako jsou chromatografické systémy. Mezi výhody této techniky patří jednoduchost, rychlost a nízká spotřeba organických rozpouštědel (nebo dokonce nulová spotřeba rozpouštědla). Tato technika se používá v široké škále oborů, od zemědělství po medicínu [59,60].

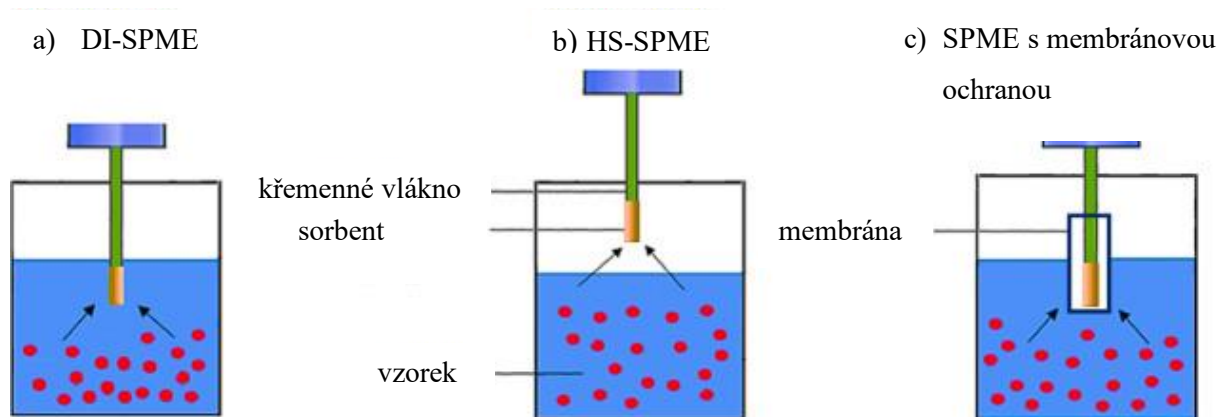
Zařízení SPME je sestaveno z tenkého křemenného vlákna potaženého vrstvou sorbentu jako extrakční fáze. Při této technice je extrakční fáze vystavena matici vzorku po stanovenou dobu a po dosažení rovnováhy jsou sorbované sloučeniny analyzovány umístěním vlákna do nástřikového prostoru chromatografu. Obecně platí, že doba potřebná k dosažení rovnováhy závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech cílových analytů [59].

SPME lze provádět ve třech režimech: přímé ponoření do roztoku, v headspace prostoru nebo s membránovou ochranou (viz Obrázek 12). Při přímém ponoření do roztoku (DI-SPME) se vlákno potažené sorbentem ponoří do matrice vzorku a analyty jsou přeneseny přímo ze vzorku do extrakční fáze (viz Obrázek 12a) [59,61].

Mikroextrakce tuhou fází v headspace prostoru (HS-SPME) je preferována pro těkavé sloučeniny a komplexní vzorky, jako jsou biologické vzorky (moč, plná krev, plazma a vlasy). V HS-SPME je vlákno potažené sorbentem umístěno v headspace prostoru nad vzorkem.

Těkavé a polotěkavé sloučeniny jsou pak distribuovány mezi vzorek, headspace prostor a sorbent (viz Obrázek 12b). V tomto režimu jsou těkavé a polotěkavé sloučeniny, které jsou v rovnováze mezi vzorkem a headspace prostorem, zachyceny na vlákne. Z tohoto důvodu může použití HS-SPME vést k větší selektivitě. Navíc, protože matrice vzorku není v přímém kontaktu se sorbentem, tak se prodlužuje životnost vlákna. Režim HS-SPME lze použít ke stanovení některých skupin látek (např. pesticidů) v komplexních maticích, jako například ve vzorcích potravin, vzorcích půd a biologických tekutinách [59,61].

Použití DI-SPME je omezeně použitelné pro netěkavé a vysokomolekulární sloučeniny, jakou jsou např. bílkoviny. Pro komplexní matrice, znečištěné vzorky nebo suspenze je vhodnější použití SPME s membránovou ochranou (viz Obrázek 12c). Tato membránová ochrana zamezuje průnik velkých molekul do extrakční fáze a zároveň umožňuje přenos sledovaných analytů [59].



Obrázek 12: Režimy SPME: a) DI-SPME, b) HS-SPME, c) SPME s membránovou ochranou [59]

Nejpoužívanějšími sorbenty jsou polydimethylsiloxan (PDMS), polyethylenglykol (PEG), polyakrylát, divinylbenzen (DVB), carboxene (CAR) a jejich směsi. Mezi další materiály zkoumané jako sorbenty SPME patří oxidy kovů, molekulárně vtištěné polymery, materiály na bázi uhlíku, iontové kapaliny, monolity a kovově-organické struktury [61].

V posledních letech bylo jedním z trendů pro zachování principů zelené analytické chemie zavedení přírodních materiálů jako sorbentů nebo přísad pro přípravu sorbentů v (mikro)extrakčních technikách. Přímo lze použít biopolymery, jako jsou chitosan, agaróza, alginát, celulóza, škrob nebo cyklodextrin. Často je však nutné zvýšit jejich selektivitu vůči vybraným skupinám analytů nebo zlepšit jejich sorpční kapacitu chemickou modifikací. Dalším oblíbeným řešením je použití biopolymerů ve směsích se sorbenty. Jedná se o oxid grafenu, uhlíkové nanotrubičky, molekulárně vtištěné polymery a kovově-organické struktury. Zavedení těchto modifikací snižuje ekologickou šetrnost analytických postupů, ale dopad na životní prostředí je stále nižší ve srovnání s klasickými sorbenty <sup>[62]</sup>.

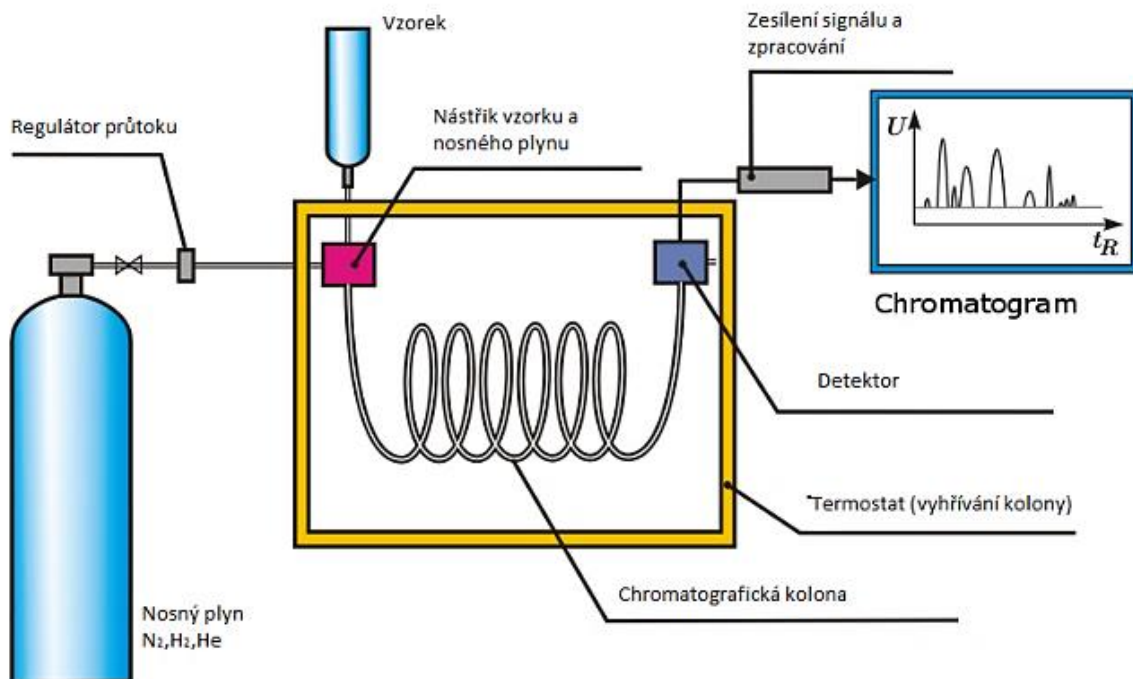
Co se týče membrán, tak důležitými morfologickými charakteristikami membrány jsou množství, velikost a distribuce pórů ve struktuře membrány. Membrány, které nemají ve své struktuře žádné póry, jsou označovány jako neporézní. Membrány, které mají póry, jsou označovány jako porézní. Velikost, tvar a distribuce pórů v membráně jsou do značné míry závislé na procesech, kterými jsou vytvořeny, a hrají významnou roli v jejich způsobu separace. Vybrané molekuly procházejí otvory v porézních membránách a tyto membrány zachycují molekuly, které jsou větší než póry membrány. Proto jsou tyto membrány užitečné v aplikacích, jako jsou nanofiltrace a dialýza. Neporézní membrány mají pevnou (bez pórů) strukturu a molekuly se skrz ně pohybují difúzí <sup>[63]</sup>.

S ohledem na chemickou povahu a druh analytu lze membrány klasifikovat na základě jejich hydrofobní nebo hydrofilní povahy. Hydrofilní membrány jsou vhodné pro izolaci iontových nebo polárních látek z vodných nebo organických roztoků. Mezi ně patří acetát celulózy, regenerovaná celulóza, polysulfon (PSU), polykarbonát, polyamid, polyethersulfon (PES) a iontoměničové membrány. Na druhé straně jsou hydrofobní membrány, mezi které patří polytetrafluorethylen (PTFE), polypropylen (PP), silikonový kaučuk, latex, polyvinylchlorid (PVC) nebo polyvinylidendifluorid (PVDF). Tyto membrány jsou běžně využívány pro selektivní separaci plynů a těkavých anorganických nebo organických sloučenin <sup>[63]</sup>.

## 1.9 Plynová chromatografie

V plynové chromatografii (GC) jsou analyzovaným vzorkem plynné vzorky, kapalné roztoky nebo soubor molekul adsorbovaných na povrchu, např. systém mikroextrakce tuhou fází (SPME). Při přenosu do plynového chromatografu se vzorek odpaří v nástřikovém prostoru udržovaném při relativně vysoké teplotě (200–300 °C) a smísí se s proudem nosného plynu (helium, dusík nebo vodík – viz Obrázek 13). Vzniklá plynná směs vstupuje do separační části, chromatografické kolony, která je v současném provedení tvořena trubicovou kapilárou z taveného křemene, zvenku potaženou tenkou vrstvou polyimidu, kvůli její pružnosti. Molekuly analytu se při průchodu kolonou rozdělí mezi proud nosného plynu (mobilní fáze) a polymerní povlak (stacionární fáze) na základě jejich distribučních konstant ( $K_D$ ). Distribuční konstanta je poměr koncentrace analytu ve stacionární fázi ku koncentraci v mobilní fázi. Na konci separační části se molekuly dostanou do detekčního systému, v němž specifická fyzikální vlastnost (tepelná vodivost) nebo fyzikálně-chemický proces (ionizace v plameni nebo záchyt elektronů) vyvolá signál, který je úměrný množství molekul dané látky <sup>[64]</sup>.

Jednou z nejdůležitějších vlastností chromatografické kolony je její rozlišovací schopnost. Jedná se o schopnost oddělit složky s velmi podobnými distribučními konstantami ( $K_D$ ) mezi mobilní a stacionární fázi. Rozlišovací schopnost závisí především na účinnosti kolony (počtu teoretických pater), selektivitě, retenčním faktoru, teplotě kolony, průtoku nosného plynu, typu stacionární fáze a délce a průměru kolony. Jak se počet složek ve směsi zvyšuje a strukturní podoba mezi jejími složkami roste, jsou pro úplnou separaci sloučenin zapotřebí delší kolony. Pro stejný účel lze použít kolony s menším vnitřním průměrem. Je však zřejmé, že větší délka kolony výrazně prodlužuje dobu analýzy <sup>[64]</sup>.

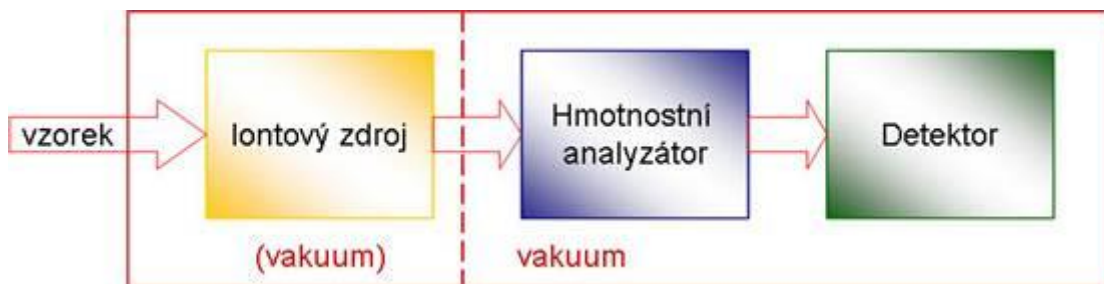


Obrázek 13: Schéma plynového chromatografu <sup>[65]</sup>

### 1.9.1 Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

V chromatografických metodách, jako jsou plynová nebo kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostním spektrometrem, je cílem identifikovat sloučeniny a určit jejich koncentrace ve vzorcích. K dosažení tohoto cíle musí zpracování dat splňovat dvě kritéria. Za prvé musí správně určit hmotnostní spektrum jednotlivých sloučenin pro identifikaci. Za druhé musí přesně zobrazit součet intenzit všech iontů odpovídajících těmto sloučeninám ve vzorku. Většina tradičních softwarů kvantifikuje sloučeniny na základě plochy nebo výšky píku pomocí chromatogramu celkového iontového proudu (TIC), chromatogramu základního píku (BPC) nebo z extrahovaného iontového chromatogramu (EIC) výběrem hodnot  $m/z$  typických pro danou sloučeninu <sup>[66]</sup>.

Hmotnostní spektrometr měří poměr hmotnosti k náboji ( $m/z$ ) iontů v plynné fázi. Skládá se z iontového zdroje, hmotnostního analyzátoru a detektoru (viz Obrázek 14). Iontový zdroj převádí molekulu analytu na ionty v plynné fázi, hmotnostní analyzátor separuje ionizovaný analyt podle jejich  $m/z$  a detektor zaznamenává počet iontů při každé hodnotě  $m/z$  <sup>[67]</sup>.



Obrázek 14: Obecné schéma hmotnostního spektrometru <sup>[68]</sup>

Mezi nejpoužívanější ionizační techniky u GC-MS patří elektronová ionizace (EI). Používá se zejména pro analýzu plynů a těkavých organických molekul, ve kterých vysokoenergetické elektrony interagují s atomy nebo molekulami v plynné fázi za vzniku iontů. Obvykle se využívá napětí 70 eV, které poskytuje hmotnostní spektra s podrobnými informacemi o fragmentových iontech, které jsou přístupné pro vyhledávání v knihovných spekter a identifikaci pomocí názvů a struktur na úrovni izomerů. Signál molekulárního iontu při použití EI je obvykle slabý kvůli srážce s vysokou energií. Proto byla vyvinuta chemická ionizace (CI), aby se vytvořily snadno identifikovatelné molekulární ionty, ve kterých jsou ionty produkovány srážkou analytu s ionty reagenčního plynu s nižší energií, které jsou přítomny v iontovém zdroji <sup>[69,70]</sup>.

Dalšími používanými ionizačními technikami jsou ionizace elektrosprejem (ESI) a laserová desorpční ionizace za účasti matrice (MALDI). ESI spoléhá na tvorbu nabitých kapiček uvolňujících ionty z povrchu (model iontového odpařování) nebo prostřednictvím úplného odpařování rozpouštědla (model zbytkového náboje). Navzdory širokému použití nemůže ESI účinně ionizovat nepolární sloučeniny. Pro takové úkoly se lépe hodí chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI) a fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI). Všechny tyto ionizační techniky jsou určeny pro spojení s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) <sup>[71]</sup>.

Hmotnostní analyzátoři mají schopnost oddělovat různé molekulární ionty, generovat fragmentové ionty z vybraného iontu, a pak změřit jejich hmotnost. Fragmentové ionty se používají ke strukturnímu určení původních molekulárních iontů. Hlavními charakteristikami hmotnostních analyzátorů jsou rozlišení (schopnost hmotnostního analyzátoru oddělit sousední ionty), přesnost určení hmotnosti (schopnost hmotnostního analyzátoru přiřadit hmotnost iontu blízkou jeho skutečné hmotnosti), hmotnostní rozsah (obvykle definován dolní a horní hodnotou  $m/z$  sledovanou hmotnostním analyzátořem),

citlivost (schopnost konkrétního přístroje reagovat na dané množství analytu) a rychlost skenování (rychlost, s jakou lze získat hmotnostní spektrum, obvykle udávaná v hmotnostních jednotkách za jednotku času). Existuje 5 obecných typů hmotnostních analyzátorů, které lze použít pro separaci iontů v hmotnostní spektrometrii. Jedná se o kvadrupólový hmotnostní analyzátor, hmotnostní analyzátor s magnetickým a elektrostatickým sektorem, hmotnostní analyzátor doby letu (TOF), kvadrupólový hmotnostní analyzátor s iontovou pastí a hmotnostní analyzátor s iontovou cyklotronovou rezonancí s Fourierovou transformací (FT-ICR) [72].

Běžně se používají jak kvadrupólové hmotnostní analyzátory, tak hmotnostní analyzátory doby letu a lze je konfigurovat společně jako tandemové hmotnostní analyzátory Q-TOF. Tandemová hmotnostní spektrometrie (MS/MS) je výsledkem provádění dvou nebo více sekvenčních separací iontů, obvykle spojování dvou nebo více hmotnostních analyzátorů. Spojení těchto dvou hmotnostních analyzátorů vedlo k výrobě hmotnostních spektrometrů s vysokým rozlišením. Další možností využití tandemové hmotnostní spektrometrie je pomocí trojitého kvadrupólového analyzátoru (QqQ). Tato technika je používána k analýze reziduí pesticidů v různých matricích vzorků potravin a životního prostředí [73,74].

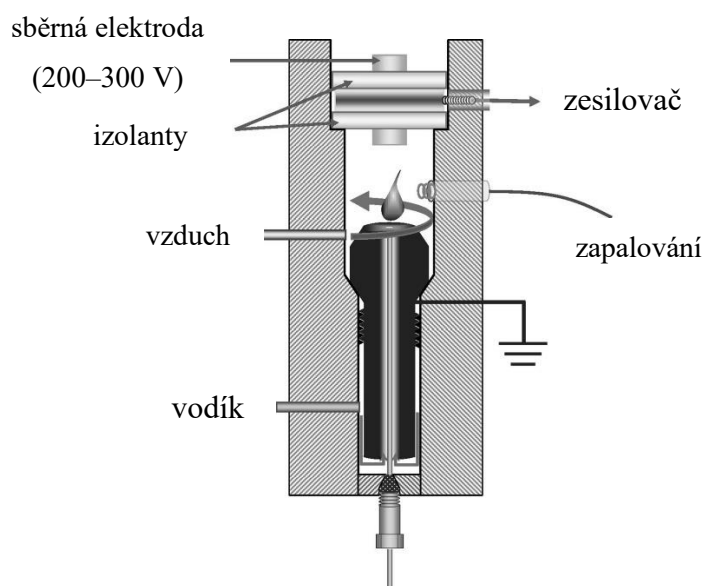
Hmotnostní detektor detekuje signál generovaný procházejícími nebo dopadajícími ionty. Nejlepší detektory jsou definovány na základě vysokého zesílení, rychlé časové odezvy, nízkého šumu, vysokého sběru dat, účinnosti, velkého dynamického rozsahu, dlouhé životnosti a co nejnižší pořizovací ceny. Mezi používané detektory patří elektronový násobič, Faradayova klec, fotografické desky, kanálové elektronové násobiče a scintilátor [75].

### **1.9.2 Plynová chromatografie s plamenovou ionizační detekcí**

Plamenový ionizační detektor je jeden z nejpoužívanějších detektorů pro plynovou chromatografii (viz Obrázek 15). Poskytuje téměř univerzální odezvu na organické sloučeniny, nízké detekční limity, dlouhodobou stabilitu, jednoduchost provozu, nízký mrtvý objem, rychlou odezvu a lineární rozsah odezvy. Detektor je někdy popisován jako uhlíkově selektivní detektor s téměř stejnou molární odezvou pro uhlovodíky na základě počtu atomů uhlíku a relativní odezvou pro sloučeniny obsahující uhlík s několika atomy uhlíku jen slabě závislými na struktuře. To umožňuje použít jednu sloučeninu pro kalibraci složitých směsí. Informace o procentuálním složení pro směsi lze získat přímo ze součtu odezev detektoru pro všechny pozorované píky, pokud je určitá ztráta absolutní přesnosti analýzy přijatelná [76].

Odezva detektoru je výsledkem spalování organických sloučenin v malém difúzním plameni vodík-vzduch. Nosný plyn z kolony je smíchán s vodíkem a případně dalším plynem v oblasti pod tryskou s úzkým otvorem a spalován v komoře, kterou proudí přebytečný vzduch. Žhavicí svíčka, která se na okamžik zapne při spuštění, slouží jako zapalovač. Válcová sběrná elektroda umístěná kousek nad plamenem shromažďuje částice náboje působením napětí (200–300 V) mezi špičkou trysky a sběrnou elektrodou. Potenciál je dostatečně velký, aby zajistil kompletní sběr nabitých částic. Tryska nebo sběrná elektroda jsou obvykle uzemněny. Malé iontové proudy, obvykle v řádu pA, jsou převedeny na napětí a zesíleny přesným elektrometrem. Nejběžnější zesilovače jsou invertující zesilovače proudu na napětí [76].

Limit detekce malých proudů je výsledkem tepelného šumu, který je funkcí zátěžového odporu zesilovače, změn toku nabitých částic a nestíněných elektromagnetických signálů prostředí. Rychlost odezvy je omezena především elektronickými součástkami obvodů pro měření signálu a sběr dat, protože tvorba nabitých částic a jejich migrace na sběrnou elektrodu je rychlá [76].



Obrázek 15: Schéma plamenového ionizačního detektoru [76]

## 2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 2.1 Vzorky

Na optimalizaci podmínek extrakce a separace byl využit starý chmel z roku 2019 z Univerzity Pardubice skládající se z odrůd Cascada, Kazbek a Mandarina. Dále pak byl pro tento účel, tj. analýzu těkavých látek chmele a stanovení konduktometrické hodnoty, použit chmel získaný od společnosti V. F. Humulus (Hořesedly, Česká republika). Jednalo se celkem o 5 různých vzorků, z nichž dvě odrůdy byly i ve dvojici s BIO chmelem, a poté o 5 sad Žateckého poloraného červeňáku (ŽPČ) sestávající ze surového chmele, chmelového prášku, chmelových granulí typu 45 a chmelového odpadu. Všechny vzorky byly sklizeny v roce 2024. Dále byl použit pro optimalizaci podmínek a analýzu těkavých látek 1 vzorek chmele Sládek ze sklizně roku 2023 z firmy Pivotéka (Olomouc, Česká republika). Vzorky byly poskytnuty v množství asi 100 g a byly uchovávány po celou dobu v mrazáku při teplotě  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vzhled a označení vzorků je uveden na Obrázku 16.



Starý chmel



Saaz Special



Sládek



ŽPČ



ŽPČ BIO



Premiant

Obrázek 16: Zkoušené vzorky chmele



Premiant BIO



Surový chmel



Chmelové granule



Chmelový prášek



Chmelový odpad

Obrázek 16: Zkoušené vzorky chmele – pokračování

## 2.2 Chemikálie

- Destilovaná voda (centrální rozvod Univerzita Pardubice, Česká republika)
- Homologická řada C8–C40 (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika)
- *n*-pentan, *n*-hexan a *n*-heptan (Sigma-Aldrich, Praha, Česká republika)
- Methanol, CHROMASOLV<sup>®</sup> pro HPLC (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo)
- Toluén, CHROMASOLV<sup>®</sup> pro HPLC (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo)
- Hydroxid sodný, p. a. (PENTA, Praha, Česká republika)
- Kyselina sírová, 96 % p. a. (PENTA, Praha, Česká republika)
- Trihydrát octanu olovnatého, p. a. (PENTA, Praha, Česká republika)
- Dihydrát kyseliny šťavelové, p. a. (PENTA, Praha, Česká republika)
- Indikátor fenolftalein
- Indikátor Tashiro
- Kyselina octová, 99 % p. a. (PENTA, Praha, Česká republika)

## 2.3 Instrumentace a nádobí

- Automatická pipeta 100–1000  $\mu$ l (Fisherbrand Elite, Helsinky, Finsko)
- Keramická třecí miska s tloučkem
- Skleněná láhev 100 a 200 ml (Fisher Scientific, Pardubice, Česká republika)
- Skleněná pipeta 10, 25 a 50 ml
- Plastová injekční stříkačka s jehlou 20 ml (Chirana, Stará Turá, Slovensko)
- Vzorovací nádobky o objemu 20 ml s víčky se silikonovým septem (Supelco, Bellefonte, PA, USA)
- Analytické váhy Kern ABT 220-4M (Kern&Sohn, Balingen, Německo)
- Plynový chromatograf GC-2030 s MS-QP2020 NX detekcí a možností FID detekce (Shimadzu, Kyoto, Japonsko)
- Autosampler AOC-6000 (Shimadzu, Kyoto, Japonsko)
- Nepolární kapilární kolona SLB-5MS (30 m  $\times$  0,25 mm, tloušťka filmu 0,25  $\mu$ m), (Supelco, Bellefonte, PA, USA)
- SPME vlákno 50/30  $\mu$ m DVB/CAR/PDMS (Supelco, Bellefonte, PA, USA)
- Nosný plyn helium o čistotě 4.6 (Linde Gas, Praha, Česká republika)
- Software: GC Solution, GCMS Solution 4.20 a LabSolution (Shimadzu, Kyoto, Japonsko)
- Třepačka Heidolph Vibramax 100 s horizontálním kruhovým a vibračním pohybem (Heidolph Instruments & Co. KG, Schwabach, Německo)
- Laboratorní konduktometr Orion Star A112 s dvouelektrodovou vodivostní sondou 011050MD (Thermo Scientific, Jakarta, Indonésie)
- Magnetické míchadlo Color Squid White (IKA-Werke, Staufen im Breisgau, Německo)
- Interpretace MS spekter: knihovna spekter Národního institutu pro standardy a technologii (NIST 17 Mass Spectral Library) a knihovna FFNSC 2 (Flavour & Fragrance Natural & Synthetic Compounds GC/MS Library)
- Software Statistica 14 (Statsoft, Inc., Praha, Česká republika)

## 2.4 Pracovní postupy

### 2.4.1 Podmínky pro mikroextrakci tuhou fází

Před prvním použitím bylo mikroextrakční vlákno 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS o délce 1 cm kondicionováno při 270 °C po dobu 30 min. Do nádoby bylo naváženo 1,00 g vzorku s přesností 0,01 g, uzavřeno víčkem se silikonovým septem, vloženo do autosampleru a podrobena extrakci při teplotě 90 °C po dobu 45 min ve vyhřívaném bloku. Po extrakci byla provedena desorpce v nástřikovém prostoru GC při teplotě 250 °C po dobu 1 min a vlákno bylo dočištěno při 200 °C po dobu 5 min v proudu dusíku.

V případě metody využívající vakua byl vzorek navážen do nádoby, uzavřen víčkem s dosud nepropíchnutým septem a pomocí 20ml plastové stříkačky byl z nádoby odsát vzduch nasátím 3 $\times$  celého objemu stříkačky. Další postup byl stejný, jako v případě metody bez využití vakua.

### 2.4.2 Podmínky separace na plynovém chromatografu s hmotnostní detekcí a kvalitativní analýza

Před každou analýzou byla provedena aktivace vlákna při 200 °C po dobu 1 min. Desorpce analytů probíhala v nástřikovém prostoru při 250 °C po dobu 1 min. Separace analytů probíhala na nepolární kapilární koloně SLB-5MS (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$ ). Po každé analýze bylo vlákno dočištěno při teplotě 200 °C po dobu 5 min, aby se zabránilo nežádoucím interferencím.

Režim dávkování vzorků byl realizován ve splitovacím poměru 1:50. Teplota v nástřikovém prostoru byla 250 °C. Teplotní program začínal na 55 °C, kdy byla tato teplota udržována po dobu 3 min. Následně byla teplota lineárně zvyšována o 6 °C/min až do 250 °C. Maximální teplota byla udržována po dobu 10 min. Celková doba analýzy činila u všech vzorků 45,5 min. Použitým nosným plynem bylo helium s konstantní lineární rychlostí 30 cm/s.

Teplota iontového zdroje byla nastavena na 200 °C. Pro zaznamenání všech látek ve spektru byl použit SCAN mód. Získané chromatogramy v závislosti intenzity odezvy na retenčním čase byly vyhodnoceny pomocí programu GCMS Solution 4.20. Pro výpočet retenčních indexů (RI) podle van den Doola, které byly použity na identifikaci jednotlivých látek obsažených ve vzorcích chmele, byla proměřena homologická řada alkanů C5–C40<sup>[77]</sup>. Společně s RI byla k identifikaci použita hmotnostní spektra, která byla porovnána s knihovnamí NIST 17 a FFNSC 2, kdy jako nejmenší přijatelná shoda byla 85 %. K potvrzení identifikace byla použita i online databáze, jako např. NIST WebBook<sup>[78]</sup>.

### 2.4.3 Stanovení konduktometrické hodnoty chmele

Optimalizovanou metodou byla zvolena metoda dle Analytica EBC 7.4 [79]. Do 200ml skleněné lahve bylo naváženo 10 g rozetřeného vzorku chmele, přidáno 100 ml toluenu a následně intenzivně třepáno po dobu 6 min. Zhomogenizovaná suspenze byla nechána po dobu 15 minut v klidu, aby se tuhý podíl usadil u dna. Čirý extrakt byl dekantován do 50ml kádinky a zfiltrován přes skládaný papír. Následně bylo do 100ml kádinky odměřeno 15 ml filtrátu a přidáno 50 ml methanolu. Roztok byl titrován odměrným roztokem octanu olovnatého v methanolu. Vodivost byla zaznamenávána po každém přidavku 0,25 ml octanu olovnatého laboratorním konduktometrem Orion Star A112 s dvouelektrodovou vodivostní sondou 011050MD. Před prvním a po každém následujícím měření byla sonda vyčištěna v roztoku koncentrované kyseliny octové a methanolu. Z naměřených hodnot byla vynesena titrační (konduktometrická) křivka. Její ramena byla proložena přímkami a z průsečíků přímek byl vyhodnocen bod ekvivalence.

## 3 VÝSLEDKY A DISKUZE

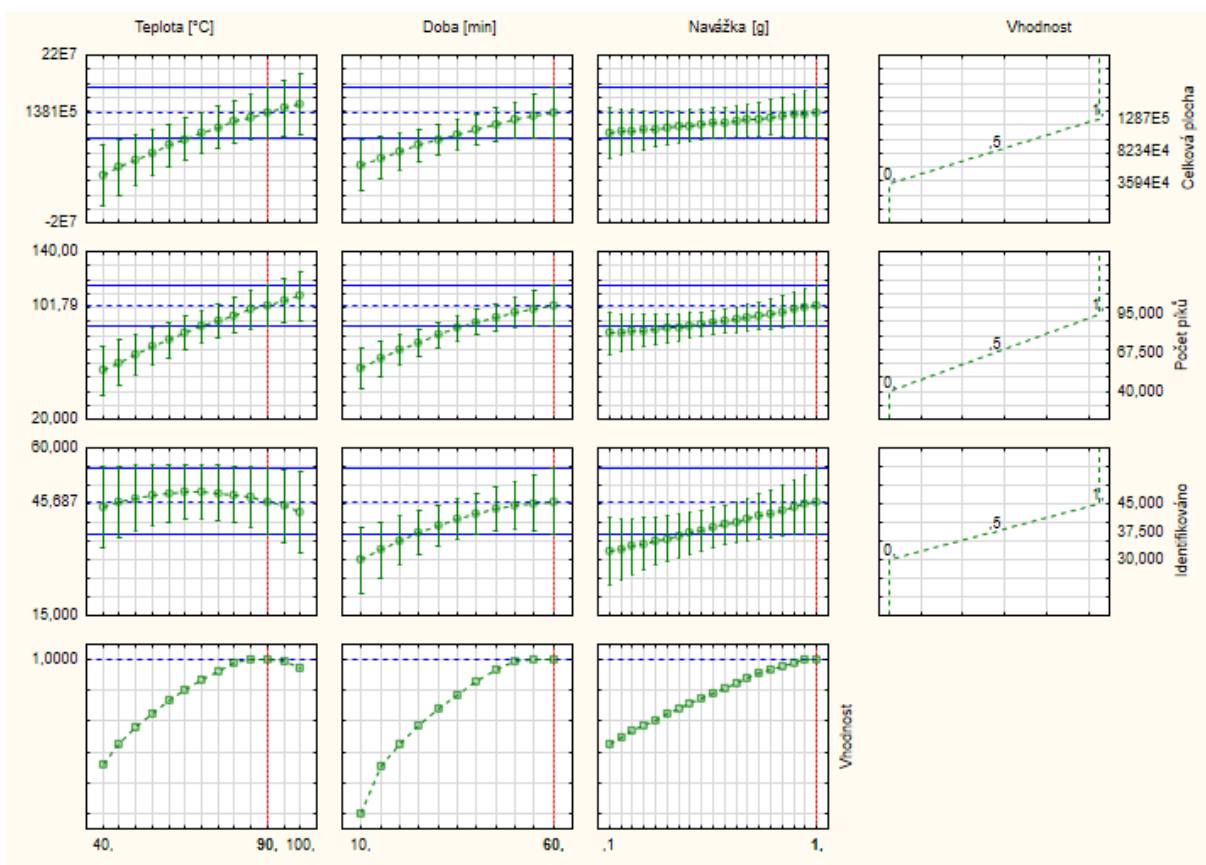
### 3.1 Optimalizace podmínek extrakce

Při měření vzorků chmele byly měněny tři parametry, které mají výrazný vliv na průběh extrakce. Prvním významným parametrem byla teplota extrakce, druhým parametrem byla doba extrakce a třetí parametr byla navážka vzorku. K optimalizaci byla nejdříve použita směs 5 let starého chmelu skládající se z odrůd Cascada, Kazbek a Mandarina z roku 2019. Poté byly použity odrůdy Sládek, Saaz Special, ŽPČ a Premiant, tj. čerstvé chmely ze sklizně 2024. Chromatografické podmínky byly převzaty z diplomové práce Hany Štefanové [80].

### 3.2 Optimalizace parametrů dle principu plánování experimentů

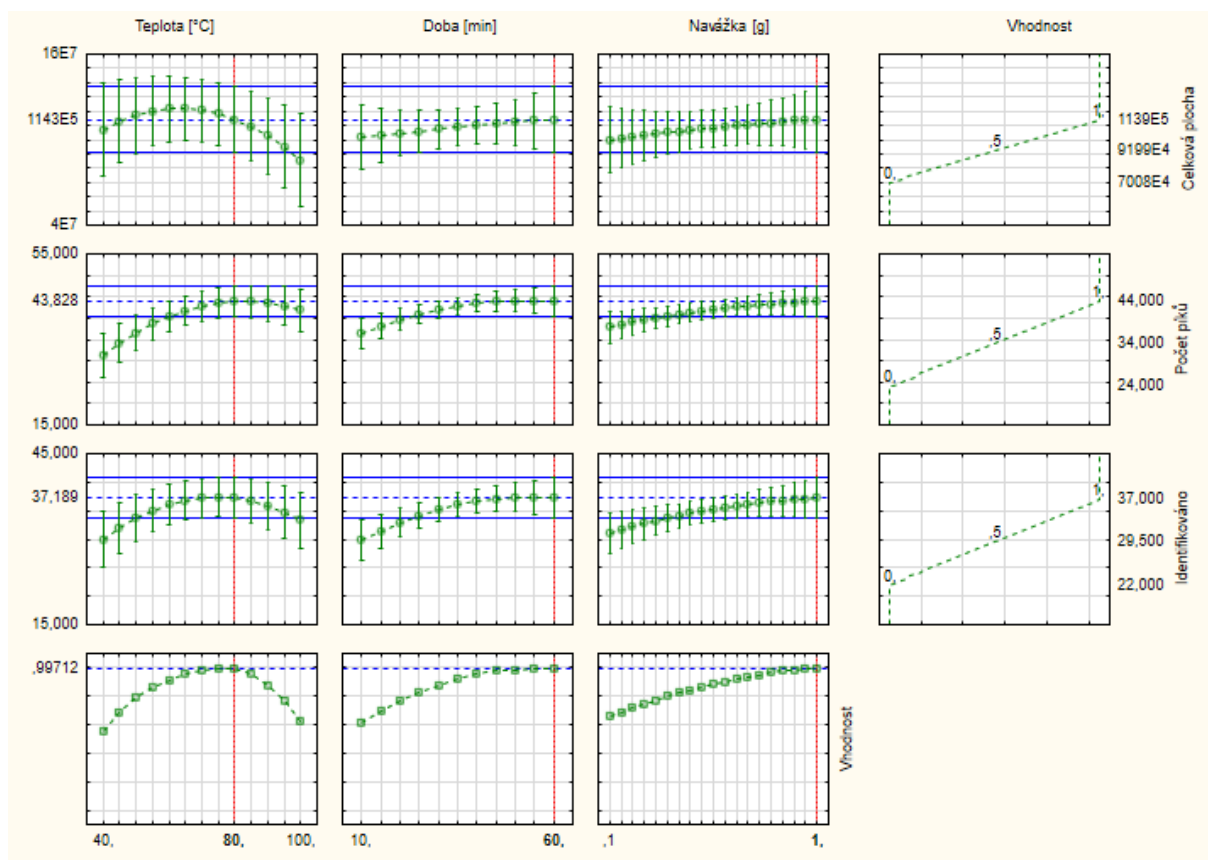
Pro určení optimálních podmínek extrakce byl použit statistický software Statistica 14 (Statsoft, Inc., Praha, Česká republika), ve kterém byl navržen experiment centrálního kompozitního plánování (CCD). Z plánování experimentu metodou CCD byly vygenerovány podmínky optimalizačních pokusů, viz Tabulka I/1 v příloze. Celkem bylo provedeno 20 extrakcí pro každý chmel. Následně byl sledován počet detekovaných píků, počet identifikovaných píků a celková plocha s cílem určit vhodnou teplotu extrakce, dobu extrakce a navážku pro navazující experimenty související s identifikací látek. Optimalizační experimenty probíhaly v agitátoru při definované teplotě.

Jako první byl do vzorkovací nádoby navážen 1,00 g s přesností na 0,01 g nadrceného 5 let starého chmelu. Následně byla nádobka umístěna do držáku autosampleru. Pomocí něj byla provedena extrakce v agitátoru (vyhřívaném bloku) a poté spuštěna analýza. Na Obrázku 17 jsou uvedeny profily pro předpovědi parametrů pro 5 let starý chmel. Na základě odezvových profilů lze vyčíst, že jako vhodná teplota extrakce byla určena 90 °C, doba extrakce 60 min a navážka 1 g. Celkový odezvový profil pro starý chmel je uveden v příloze II obrázek II/1.



Obrázek 17: Odezvové profily pro předpovědi a vhodnost (5 let starý chmel)

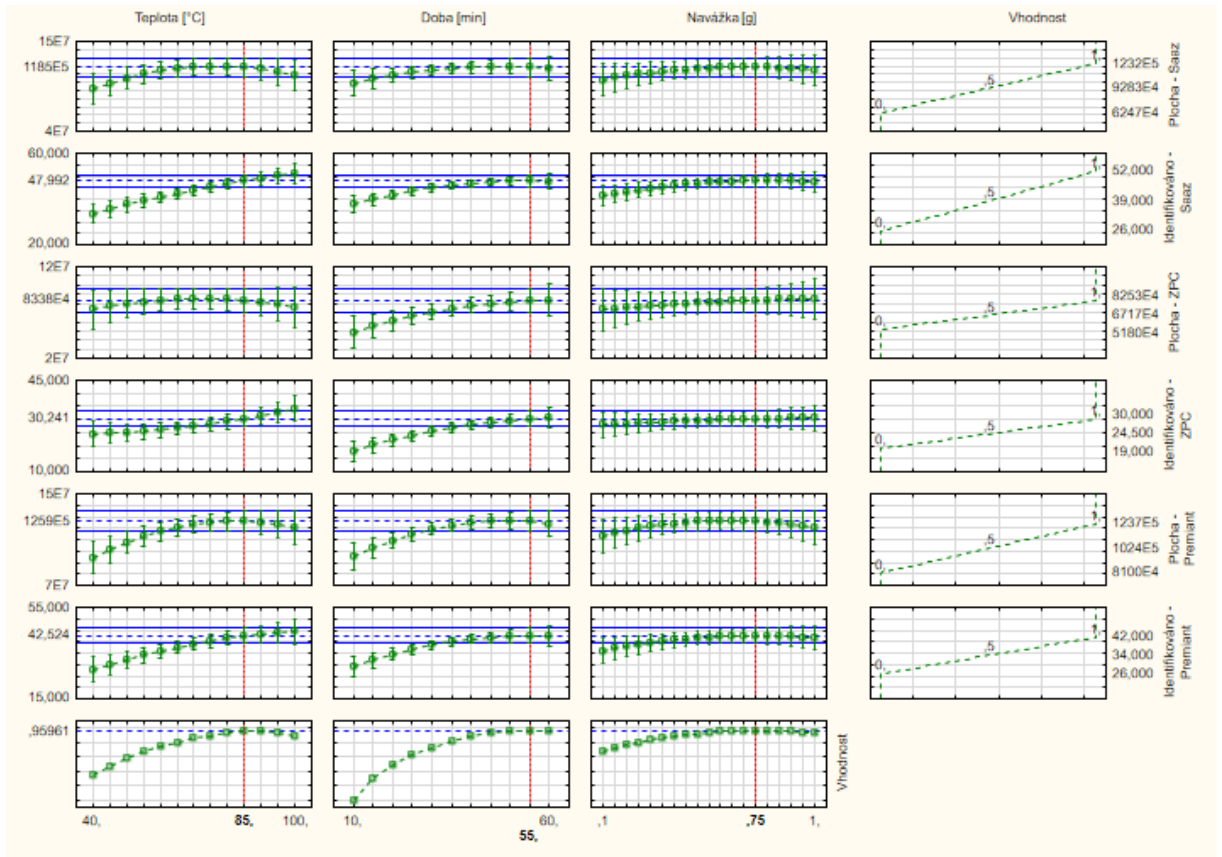
Na dalším obrázku 18 jsou uvedeny odezvové profily pro předpovědi a vhodnost pro odrůdu 1 rok starého chmele Sládek. Z obrázku lze vyčíst vhodné parametry extrakce: teplota extrakce 80 °C, doba extrakce 60 min a navážka 1 g. Celkový odezvový profil je uveden v příloze II obrázek II/2.



Obrázek 18: Odezvové profily pro předpovědi a vhodnost (1 rok starý Sládek)

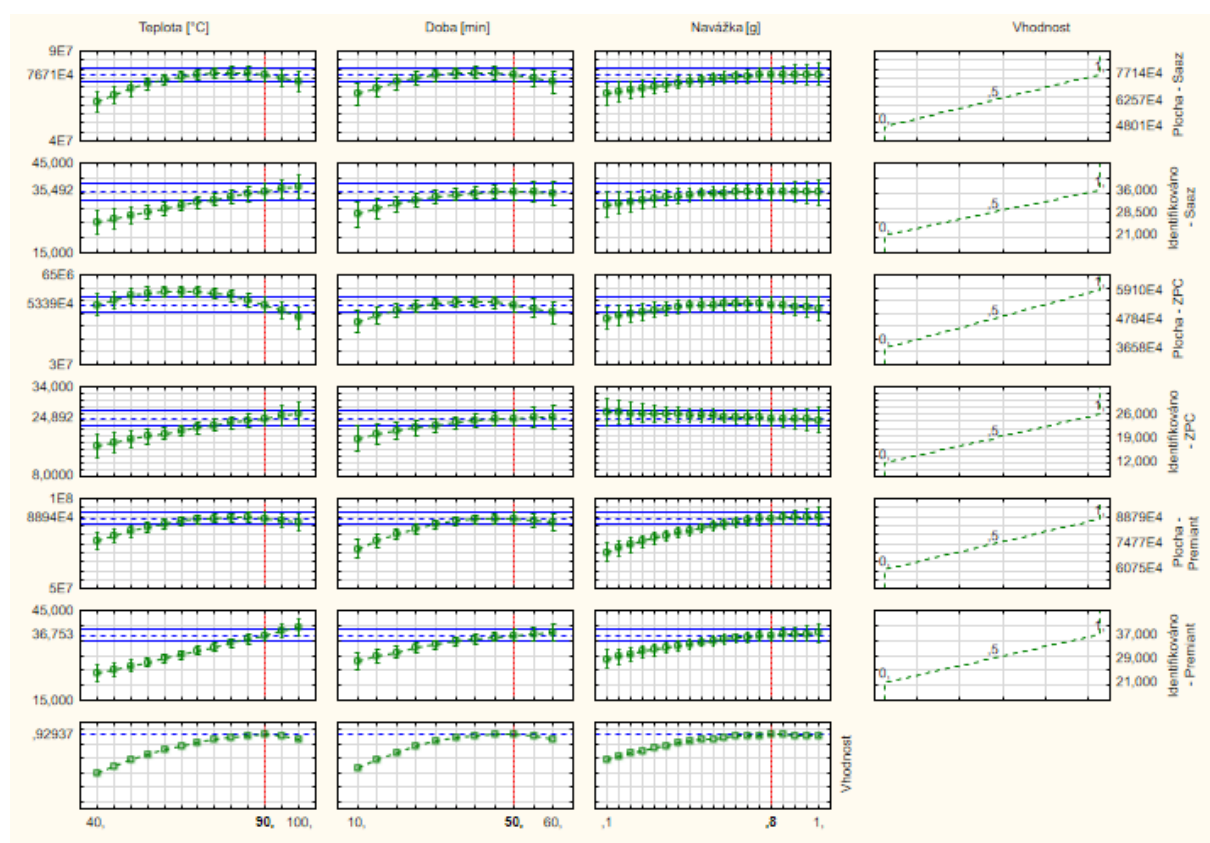
Srovnáním 5 let starého chmele a 1 rok starého chmele lze pozorovat stejné doby extrakce, stejné navážky vzorku, ale odlišné nižší teploty extrakce. Z toho vyplývá, že na extrakci látek 5 let starého chmele je potřeba vyšších teplot extrakce, přičemž na 1 rok starého chmele stačí nižší teplota extrakce.

Na Obrázku 19 jsou uvedeny odezvové profily pro předpovědi a vhodnost pro 3 odrůdy chmele: ŽPČ, Saaz Special a Premiant. Lze vyčíst, že vhodná teplota extrakce je 85 °C, doba extrakce 55 min a navážka 0,75 g (Metoda 1). Celkový odezvoový profil je uveden v příloze II obrázek II/3.



Obrázek 19: Odezvové profily pro předpovědi a vhodnost (ŽPČ, Saaz Special a Premiant)

Na Obrázku 20 jsou uvedeny odezvové profily pro předpovědi a vhodnost pro stejné 3 odrůdy chmele, ale měřené za použití vakua pro možnou identifikaci více sloučenin. V nádobce se vzorkem bylo pod uzávěr umístěno nové silikonové septum, které bylo propíchnuto 20ml injekční stříkačkou. Následně byl pomocí stříkačky z nádoby vysát vzduch, a tím vytvořen podtlak, který plnil funkci vakua. Podtlak byl kontrolován opakovaným stlačením a vysátím vzduchu. Pokud bylo opětovné stlačení vzduchu obtížné, byl vytvořen podtlak v nádobce. Takto připravené nádoby byly připraveny k analýze. Z Obrázku 20 lze vyčíst, že vhodná teplota extrakce je 90 °C, doba extrakce 50 min a navážka 0,8 g (Metoda 2). Celkový odezvový profil je uveden v příloze II obrázek II/4.



Obrázek 20: Odezvové profily pro předpovědi a vhodnost (ŽPČ, Saaz Special a Premiant za použití vakua)

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 teploty extrakce (min;  $X_1$ ), doby extrakce (°C;  $X_2$ ) a navážky vzorku (g;  $X_3$ ) na sobě navzájem a vymezují jejich určitou vhodnost.

Odhad efektů chmele Saaz při měření bez použití vakua vyjadřuje rovnice (1) pro plochu píků s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9149$  a rovnice (2) pro počet identifikovaných sloučenin s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9730$ . Tučně vyznačené parametry v rovnicích jsou statisticky významné členy ( $p$ -hodnota  $< 0,05$ ).

$$Y = \mathbf{111351009} + \mathbf{13320329} X_1 + \mathbf{7968169} X_2 + \mathbf{4703511} X_3 - \\ - \mathbf{7060349} X_1^2 - 3374803 X_2^2 - 3057096 X_3^2 - 4346672 X_1 X_2 - \\ - 3702373 X_1 X_3 + 1430101 X_2 X_3 \quad (1)$$

$$Y = \mathbf{40,93976} + \mathbf{6,68948} X_1 + \mathbf{3,15195} X_2 + \mathbf{1,27251} X_3 - \\ - 0,65753 X_1^2 - \mathbf{1,21514} X_2^2 - \mathbf{1,01440} X_3^2 - 0,75000 X_1 X_2 - \\ - 0,50799 X_1 X_3 + 0,74724 X_2 X_3 \quad (2)$$

Odhad efektů chmele ŽPČ při měření bez použití vakua vyjadřuje rovnice (3) pro plochu píků s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,7113$  a rovnice (4) pro počet identifikovaných sloučenin s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,8690$ . Koeficienty determinace jsou nízké, protože dané parametry nejsou tímto modelem dostatečně popsány.

$$Y = \mathbf{77046898} + 2301908 X_1 + \mathbf{7852381} X_2 + 622532 X_3 - \\ - 4149299 X_1^2 - 3143433 X_2^2 - 887148 X_3^2 + 270345 X_1 X_2 - \\ - 2569789 X_1 X_3 + 3799034 X_2 X_3 \quad (3)$$

$$Y = \mathbf{24,76544} + \mathbf{2,03629} X_1 + \mathbf{2,70865} X_2 + 0,25711 X_3 + \\ + 0,74842 X_1^2 - 0,93906 X_2^2 - 0,20152 X_3^2 + 0,87500 X_1 X_2 - \\ - 0,36884 X_1 X_3 + 0,62802 X_2 X_3 \quad (4)$$

Odhad efektů chmele Premiant při měření bez použití vakua vyjadřuje rovnice (5) pro plochu píků s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9359$  a rovnice (6) pro počet identifikovaných sloučenin s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9271$ .

$$Y = 118517738 + 6070578 X_1 + 11509963 X_2 + 4640660 X_3 - \\ - 5957780 X_1^2 - 4812112 X_2^2 - 3511541 X_3^2 + 25713 X_1 X_2 - \\ - 2665007 X_1 X_3 - 3782789 X_2 X_3 \quad (5)$$

$$Y = 37,01929 + 3,69238 X_1 + 3,67037 X_2 + 1,14792 X_3 - \\ - 1,11972 X_1^2 - 1,67671 X_2^2 - 1,11214 X_3^2 + 0,62500 X_1 X_2 + \\ + 0,86014 X_1 X_3 - 0,12128 X_2 X_3 \quad (6)$$

Odhad efektů chmele Saaz při měření s použitím vakua vyjadřuje rovnice (7) pro plochu píků s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9672$  a rovnice (8) pro počet identifikovaných sloučenin s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9334$ .

$$Y = 72644906 + 6205250 X_1 + 5891540 X_2 + 3362572 X_3 - \\ - 3631887 X_1^2 - 3027836 X_2^2 - 1135460 X_3^2 - 3120545 X_1 X_2 + \\ + 404972 X_1 X_3 - 475588 X_2 X_3 \quad (7)$$

$$Y = 30,32945 + 3,88322 X_1 + 2,50195 X_2 + 0,43446 X_3 - \\ - 0,24890 X_1^2 - 1,18444 X_2^2 - 1,11214 X_3^2 - 0,62500 X_1 X_2 + \\ + 0,38849 X_1 X_3 + 0,36815 X_2 X_3 \quad (8)$$

Odhad efektů chmele ŽPČ při měření s použitím vakua vyjadřuje rovnice (9) pro plochu píků s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9653$  a rovnice (10) pro počet identifikovaných sloučenin s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9439$ .

$$Y = 55171358 + 2275588 X_1 + 4792825 X_2 + 2165986 X_3 - \\ - 2873555 X_1^2 - 2160822 X_2^2 - 1305805 X_3^2 - 3192047 X_1 X_2 - \\ - 795739 X_1 X_3 - 231044 X_2 X_3 \quad (9)$$

$$Y = 20,10687 + 3,74621 X_1 + 2,69485 X_2 + 0,08869 X_3 - \\ - 0,19003 X_1^2 - 0,56229 X_2^2 - 0,00648 X_3^2 - 0,50000 X_1 X_2 - \\ - 0,49539 X_1 X_3 - 0,25809 X_2 X_3 \quad (10)$$

Odhad efektů chmele Premiant při měření s použitím vakua vyjadřuje rovnice (11) pro plochu píků s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9743$  a rovnice (12) pro počet identifikovaných sloučenin s hodnotou spolehlivosti  $R^2 = 0,9614$ .

$$Y = 82589229 + 4504518 X_1 + 5736853 X_2 + 3866858 X_3 - 2569715 X_1^2 - 2962740 X_2^2 - 1726287 X_3^2 - 2121628 X_1 X_2 + 916506 X_1 X_3 + 1161883 X_2 X_3 \quad (11)$$

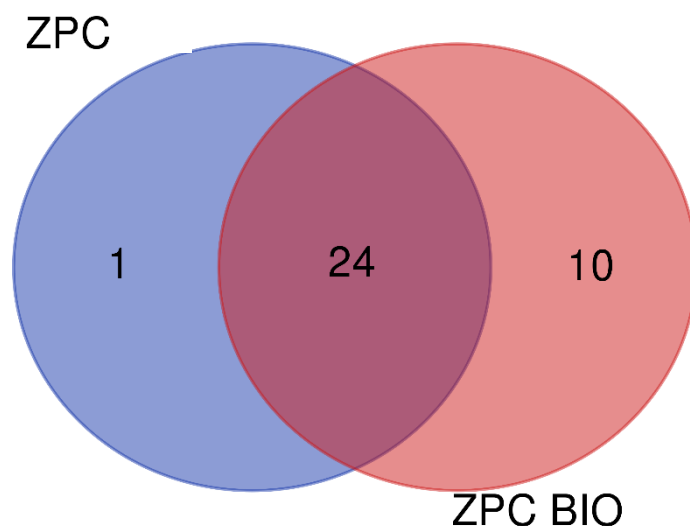
$$Y = 29,10078 + 3,55867 X_1 + 2,16200 X_2 + 1,29890 X_3 + 0,07973 X_1^2 - 0,66855 X_2^2 - 0,66438 X_3^2 + 0,37500 X_1 X_2 + 0,88075 X_1 X_3 + 0,37887 X_2 X_3 \quad (12)$$

Obě metody byly srovnány podle počtu píků a počtu identifikovaných sloučenin. Vybrána byla metoda s vyšším počtem píků a vyšším počtem identifikovaných sloučenin. Výsledky byly vybrány pouze z chmelů ŽPČ a Premiant, protože byly ve dvojici s BIO chmelem. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 3. Obě metody se týkají pouze optimalizovaných parametrů, nikoliv použití vakua.

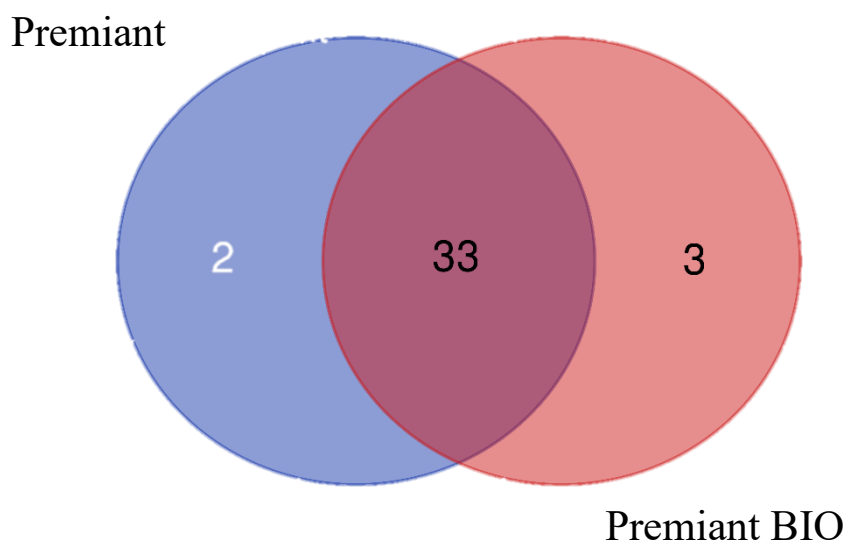
Tabulka 3: Počet píků a identifikovaných sloučenin ve chmelech ŽPČ a Premiant v obou metodách

	Metoda 1		Metoda 2	
	Počet píků	Identifikováno	Počet píků	Identifikováno
ŽPČ	32	23	35	27
Premiant	41	34	44	35

Z Tabulky 3 lze vyčíst, že pomocí metody 2 bylo detekováno více píků a identifikováno více sloučenin u obou chmelů než u metody 1. Z tohoto důvodu byla vybrána metoda 2. Pomocí této metody byly proměřeny a srovnány vzorky běžně pěstovaných chmelů s chemickým ošetřením ŽPČ a Premiant a vzorky chmelů bez chemického ošetření ŽPČ BIO a Premiant BIO. Z výsledků byly vytvořeny Vennovy diagramy (viz Obrázky 21 a 22).



Obrázek 21: Vennův digram srovnání počtu identifikovaných sloučenin chmele ŽPČ a ŽPČ BIO



Obrázek 22: Vennův diagram srovnání počtu identifikovaných sloučenin chmele Premiant a Premiant BIO

Z Obrázku 21 lze zjistit, že oba vzorky mají 24 společných identifikovaných sloučenin. Dále pak, ŽPČ má 1 vlastní sloučeninu a ŽPČ BIO 10 vlastních sloučenin. Je tedy jasné, že ŽPČ bez chemického ošetření je mnohem bohatší, co se týče rozmanitosti sloučenin, a tím pádem aroma jako takového.

Z Obrázku 22 lze zjistit, že oba vzorky mají 33 společných sloučenin, dále pak Premiant 2 vlastní a Premiant BIO 3 vlastní sloučeniny. U Premiantu lze konstatovat, že nezáleží na typu pěstování, protože jsou zde minimální rozdíly v počtu identifikovaných sloučenin a výsledné aroma chmele tím není ovlivněno. Všechny zmíněné sloučeniny jsou uvedeny v Tabulkách 4 a 5.

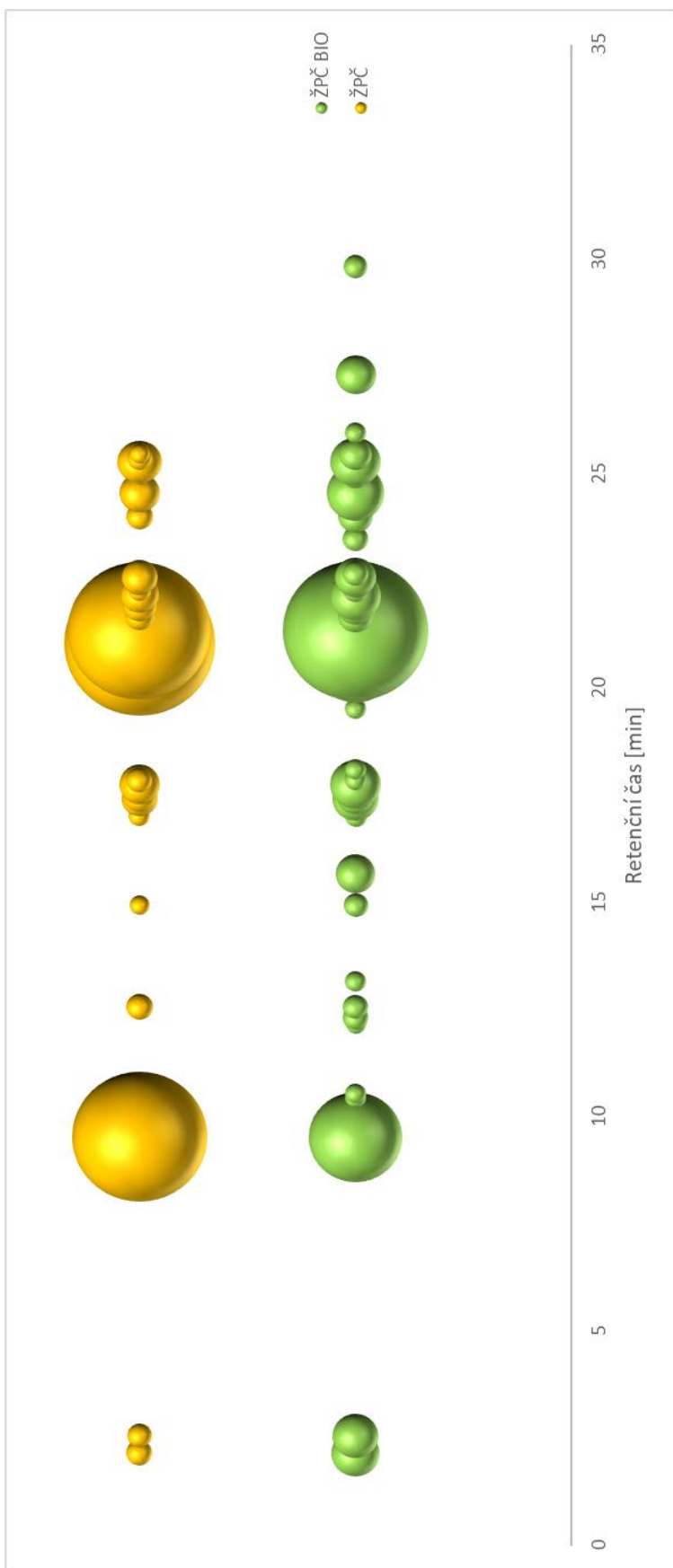
Vzorky byly také porovnány pomocí bublinových grafů, které se nacházejí na Obrázcích 23 a 24. Zobrazují látky dle jejich retenčních časů a zároveň podle velikosti bubliny jejich zastoupení ve vzorcích. Vzorky jsou v grafu řazeny do skupin na ose y. V Obrázku 23 lze vidět výrazné rozdíly, zatímco v Obrázku 24 jsou jen nepatrné. Chromatogramy jednotlivých chmelů jsou uvedeny v Příloze III.

Tabulka 4: Porovnání identifikovaných sloučenin v ŽPČ a ŽPČ BIO

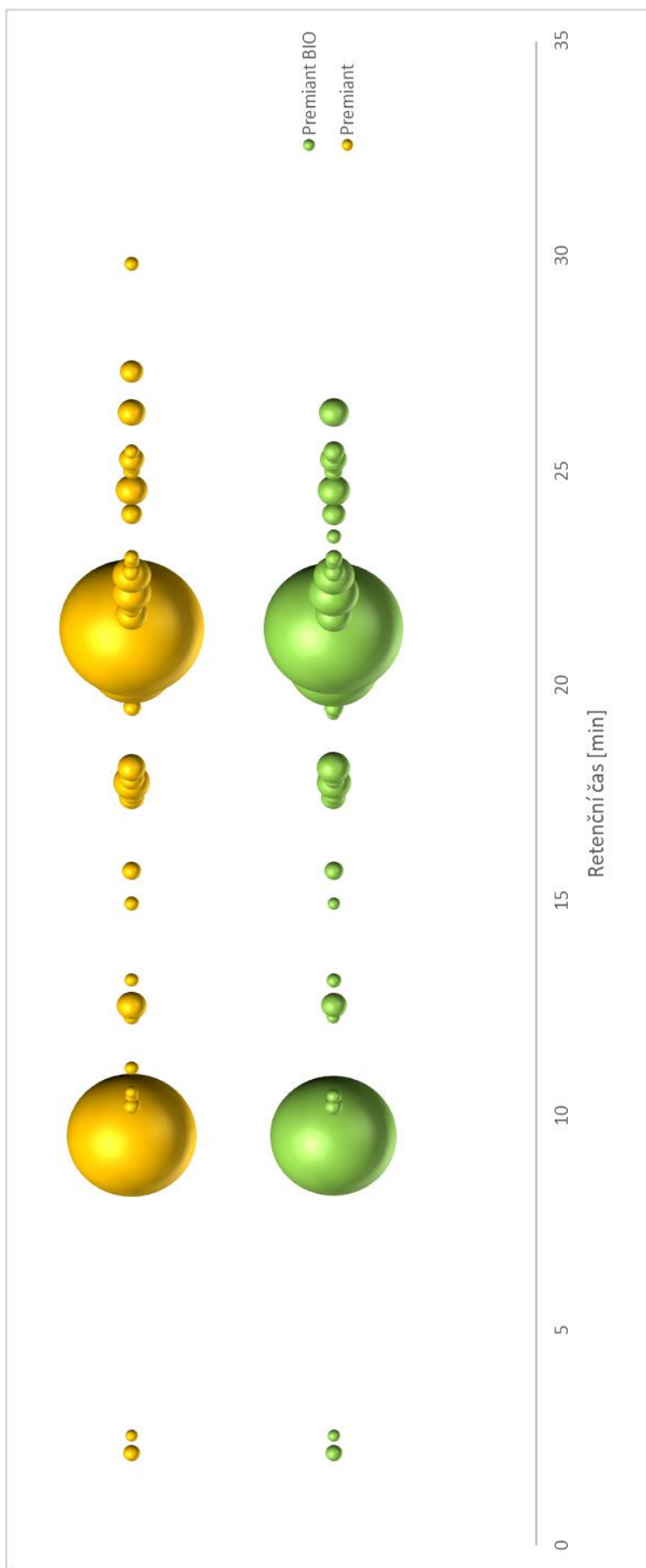
ŽPČ	ŽPČ BIO	Společné
4,11-Selinadien	Methyl 3,6-dodekadienoát	Methyl 4-decenoát
	2-Pentadekanon	Dimethylvinylkarbinol
	Methyl kaprinát	2-Tridekanon
	Humulen oxid I	Humulen oxid II
	Methyl kaprylát	$\gamma$ -Muurolen
	Kalamenen	$\gamma$ -Kadinén
	$\alpha$ -Kopaen	Hexadecamethylcyklooktasiloxan
	2-Nonanon	(E)- $\beta$ -Famesen
	Methyl heptanoát	Karyofylen
	Methyl oktanoát	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten
		(Z)-Undec-6-en-2-on
		(Z)-Pentadec-6-en-2-on
		Aceton
		Linalool
		$\beta$ -Bisabolen
		$\delta$ -Kadinén
		2-Dodekanon
		$\beta$ -Myrcen
		Tetradecamethylcykloheptasiloxan
		$\alpha$ -Bulnesen
		(Z)-Tetradec-6-en-2-on
		2-Undekanon
		2-Dekanon

Tabulka 5: Porovnání identifikovaných sloučenin v Premiantu a Premiantu BIO

Premiant	Premiant BIO	Společné
Kyselina	$\alpha$ -Selinen	Methyl 4-decenoát
2-methylkapronová	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	Dimethylvinylkarbinol
Valencen	Methyl heptanoát	$\beta$ -Pinen
		2-Tridekanon
		Humulen oxid II
		$\gamma$ -Muurolen
		$\gamma$ -Kadinén
		Hexadecamethylcyklooktasiloxan
		(E)- $\beta$ -Famesen
		Methyl pelargonát
		Karyofylen
		<i>trans</i> -kadina-1,4-dien
		(Z)-Pentadec-6-en-2-on
		Aceton
		Linalool
		Isopentyl butyrát
		Farnesol
		$\delta$ -Kadinén
		$\alpha$ -Kopaen
		$\beta$ -Kopaen
		Methyl kaprylát
		$\alpha$ -Kadinén
		$\alpha$ -Farnesen
		<i>trans</i> -Kalamenen
		$\alpha$ -Humulen
		$\beta$ -Myrcen
		2-Nonanon
		Tetradecamethylcyklohepasiloxan
		$\alpha$ -Bulnesen
		2-Undekanon
		2-Dekanon
		$\alpha$ -Muurolol



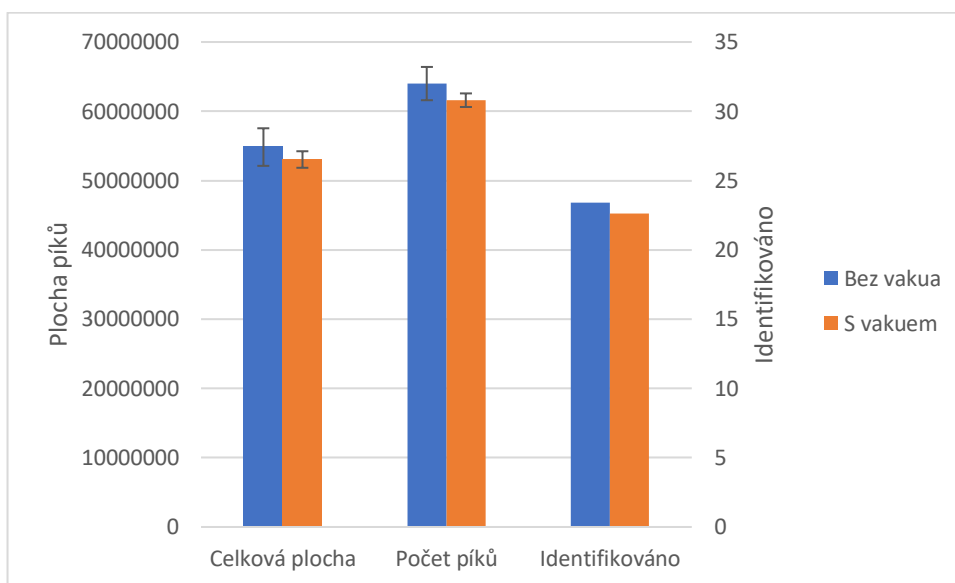
Obrázek 23: Bublinový graf chmele ŽPČ a ŽPČ BIO



Obrázek 24: Bublinový graf Premiantu a Premiantu BIO

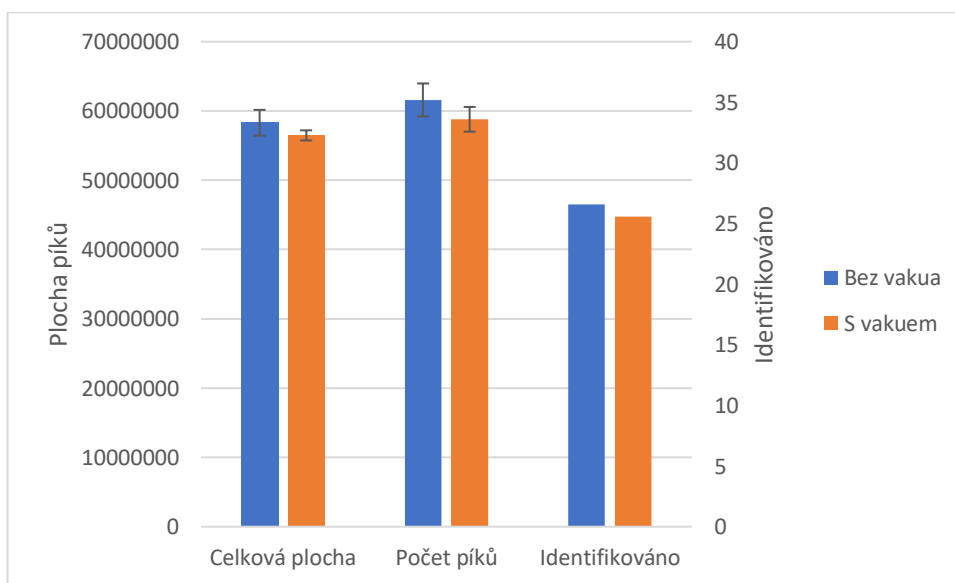
### 3.3 Vliv vakua

Pro možnou identifikaci co nejvíce sloučenin ve chmelu byl testován vliv vakua. Jednalo se o vytvoření podtlaku ve vzorkovacích nádobkách pomocí 20ml plastové injekční stříkačky. Vliv vakua byl testován výše zmíněnými dvěma metodami 5 analýzami Premiantu bez vakua, 5 analýzami s vakuem a stejně 5 analýzami ŽPČ bez vakua a 5 analýzami s vakuem. Výsledky jsou znázorněny formou grafů na Obrázcích 25 až 28.



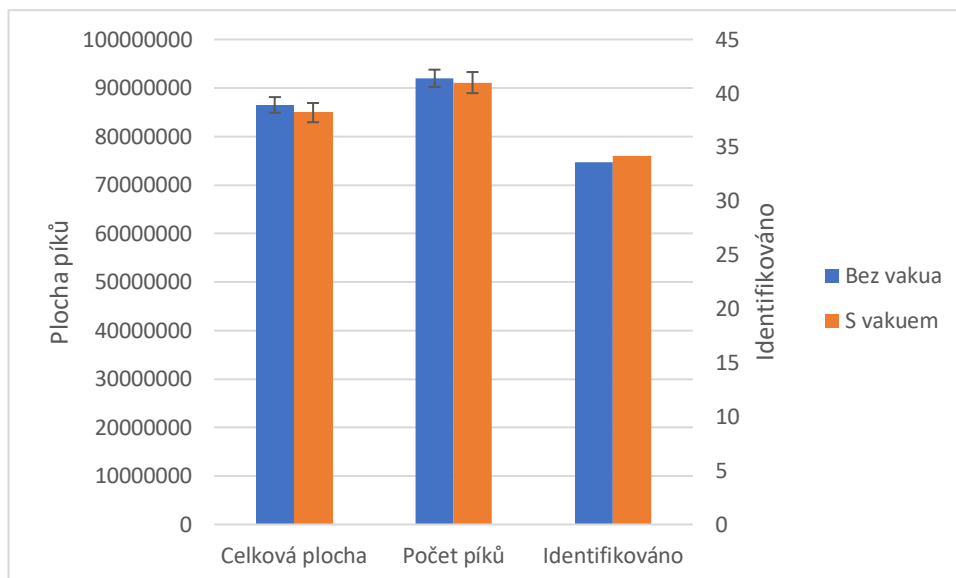
Obrázek 25: Porovnání jednotlivých parametrů s vlivem vakua u ŽPČ (Metoda 1)

Z Obrázku 25 je zřejmé, že na žádný parametr nemá vakuum pozitivní vliv.



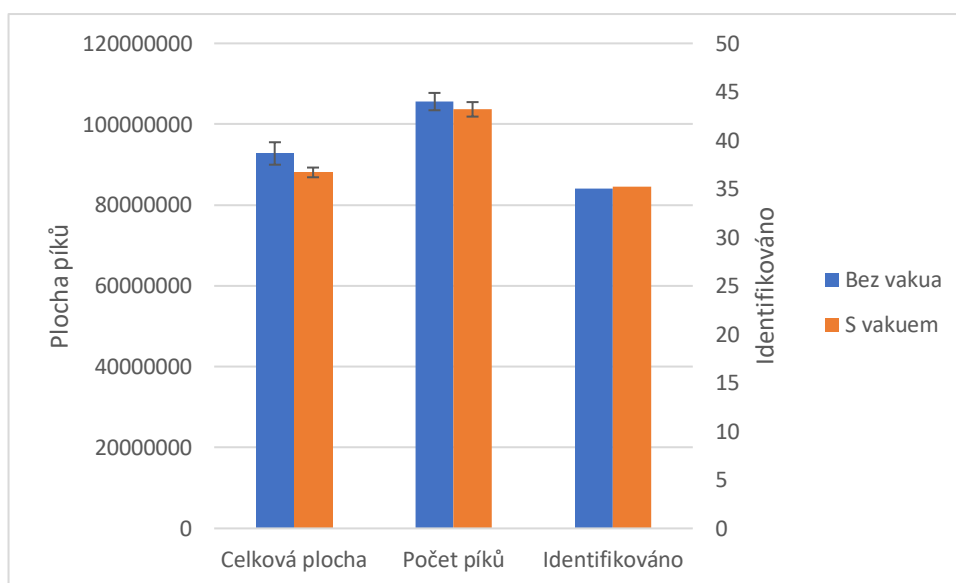
Obrázek 26: Porovnání jednotlivých parametrů s vlivem vakua u ŽPČ (Metoda 2)

Z Obrázku 26 je opět zřejmé, že na žádný parametr nemá vakuum pozitivní vliv.



Obrázek 27: Porovnání jednotlivých parametrů s vlivem vakua u Premiantu (Metoda 1)

Z Obrázku 27 lze vyčíst, že na celkovou plochu a počet píků nemá vakuum pozitivní vliv, ale v tomto případě má mírný pozitivní vliv na počet identifikovaných sloučenin.



Obrázek 28: Porovnání jednotlivých parametrů s vlivem vakua u Premiantu (Metoda 2)

Z Obrázku 28 lze opět vyčíst, že na celkovou plochu a počet píků nemá vakuum pozitivní vliv, ale má mírný pozitivní vliv na počet identifikovaných sloučenin.

Vliv vakua byl vyhodnocen i statisticky použitím parametrických a neparametrických testů. Statisticky významné parametry jsou zvýrazněny červeně ( $p$ -hodnota  $< 0,05$ ).

Tabulka 6: Výsledky statistických testů metody 1

	Hodnota $p$ ( $n = 5$ )		
	Celková plocha	Počet píků	Identifikováno
ŽPČ	0,157	1,000	0,773
Premiant	0,251	0,572	0,180

Tabulka 7: Výsledky statistických testů metody 2

	Hodnota $p$ ( $n = 5$ )		
	Celková plocha	Počet píků	Identifikováno
ŽPČ	<b>0,046</b>	<b>0,043</b>	0,272
Premiant	<b>0,015</b>	0,308	0,740

Z Tabulky 6 lze potvrdit s grafy na Obrázcích 25 a 27, že použití vakua u metody 1 nemá žádný pozitivní vliv na analýzu. V Tabulce 7 (Metoda 2) jsou u ŽPČ statisticky významnými parametry celková plocha a počet píků a u Premiantu pouze celková plocha. U těchto zmíněných parametrů lze zpozorovat mírný pozitivní vliv vakua. Vzhledem k tomu, že vakuum nemá výrazný přínos pro výše uvedené parametry, ale hlavně pro počet identifikovaných látek, tak vakuum nebylo dále používáno.

### 3.4 Analýza sérií Žateckého poloraného červeňáku

Po vyřazení možnosti využití vakua byly analyzovány série ŽPČ (celkem 5 sérií). Každá série se skládala ze surového chmele, chmelových granulí typu 45, chmelové prášku a chmelového odpadu. Analýza byla provedena se 3 vzorky od každého typu chmelového výrobku a 3 vzorky starého chmele, pro porovnání množství kyslíkatých sloučenin. Na analýzu jedné série tedy připadalo celkem 15 vzorků. Vzorky byly analyzovány již vybranou metodou 2 (teplota extrakce 90 °C, doba extrakce 50 min a navážka 0,8 g). Sloučeniny všech 5 sérií jsou uvedeny v příloze IV.

Tabulka 8: Srovnání počtu bezkyslíkatých sloučenin starého a surového chmele 1. série

	Celkový počet sloučenin	Počet bezkyslíkatých sloučenin
Starý chmel	44	12
Surový chmel 1. série	30	15

Z Tabulky 8 lze vyčíst, že starý chmel neobsahuje v poměru celkového počtu sloučenin a počtu bezkyslíkatých sloučenin ani třetinu bezkyslíkatých sloučenin, zatímco surový chmel 1. série v tomto poměru obsahuje polovinu bezkyslíkatých sloučenin. Toto zjištění je důkazem, že stárnutím chmele vzniká více kyslíkatých sloučenin (aldehydy, ketony, estery atd.) a ubývá bezkyslíkatých sloučenin (terpenových uhlovodíků).

### 3.5 Stanovení konduktometrické hodnoty chmele

Nejdříve byla testována metoda EBC 7.4 dle Karla Krofity <sup>[49]</sup>. Metoda zahrnovala homogenizaci s použitím magnetického míchadla nebo třepačky s navážkou 10 g a objemem toluenu 100 ml. Tato metoda byla testována dodatečně s navážkou 5 g a objemem toluenu 50 ml. Tímto způsobem byly proměřeny vzorky chmele Premiant, Premiant BIO a ŽPČ BIO. Poté byly proměřeny zbylé vzorky chmele ŽPČ a Saaz, a nakonec i všech 5 sérií s navážkou 5 g a objemem 50 ml toluenu s použitím třepačky.

Nejprve bylo provedeno stanovení titru odměrného roztoku octanu olovnatého v methanolu (standardizace) s použitím 0,1 M hydroxidu sodného, 0,05 M kyseliny sírové a indikátorů fenolftalein a Tashiro. Do 100ml kádinky byly odměřeny 4 ml 0,05 M kyseliny sírové a přidáno 40 ml methanolu. Tento roztok byl titrován odměrným roztokem octanu olovnatého v methanolu a z bodu ekvivalence s byl vypočítán titr. Výpočet pro titr octanu olovnatého je uveden ve vztahu (13). Hodnota titru činila 0,5392.

$$T = 2 \cdot 1,897/S \quad (13)$$

$S$  = objem titračního činidla v bodě ekvivalence (ml)

1,897 = stechiometrická konstanta

Po stanovení titru octanu olovnatého bylo naváženo do skleněné lahve o objemu 100 (200) ml 5 (10) g rozetřeného chmele a přidáno 50 (100) ml toluenu. Suspenze byla homogenizována na magnetické míchače nebo na třepače po dobu 15 min. Po ukončení homogenizace byl obsah skleněných lahví po dobu 15 minut nechán v klidu, aby se tuhý podíl usadil u dna. Pipetou bylo do 100ml kádinky odebráno 15 ml čirého extraktu a přidáno 50 ml methanolu. Do kádinky bylo vloženo magnetické míchadlo a roztok byl na magnetické míchače důkladně promíchán. Do roztoku byla vnořena dvouelektrodová vodivostní sonda tak, aby se mezi elektrody nedostávaly bublinky vzduchu. Následně započala titrace odměrným roztokem octanu olovnatého v methanolu, který byl přidáván automatickou pipetou po 0,25 ml. Z naměřených hodnot byla vynesena titrační (konduktometrická) křivka. Její ramena byla proložena přímkami a z průsečíku přímek byl vyhodnocen bod ekvivalence. Pomocí bodu ekvivalence, titru octanu olovnatého, navážky vzorku a stechiometrické konstanty byla vypočítána konduktometrická hodnota chmele (KH), jejíž výsledek byl uveden v procentech. Vztah pro výpočet KH je uveden v rovnici (14), přičemž hodnota navážky je pro vyšší přesnost vztažena na 1 ml toluenu.

$$KH (\% \text{ hm.}) = 12,60 \cdot V \cdot T / (100 \cdot m_{\text{vzorek}} / V_{\text{toluen}}) \quad (14)$$

$V$  = objem titračního činidla v bodě ekvivalence (ml)

$T$  = titr octanu olovnatého

$m_{\text{vzorek}}$  = navážka vzorku (g)

$V_{\text{toluen}}$  = objem toluenu pro extrakci (ml)

12,60 = stechiometrická konstanta

Nakonec byla testována i metoda dle Analytica EBC 7.4 u chmele Saaz<sup>[79]</sup>. Standardizace byla totožná s metodou dle Karla Krofty, jen se lišila ve výpočtu koncentrace octanu olovnatého. Výpočet zahrnuje výpočet stechiometrické konstanty, který je uveden ve vztahu (15) a následný výpočet koncentrace octanu olovnatého, který je uveden ve vztahu (16).

$$75,88 = V_{\text{kyselina sírová}} \cdot c_{\text{kyselina sírová}} \cdot M_{\text{octan olovnatý}} \quad (15)$$

$V_{\text{kyselina sírová}}$  = objem kyseliny sírové na titraci (ml)

$c_{\text{kyselina sírová}}$  = koncentrace kyseliny sírové (mol/l)

$M_{\text{octan olovnatý}}$  = molární hmotnost trihydrátu octanu olovnatého (379,4 g/mol)

$$c_{\text{octan olovnatý}} = 75,88/V_{\text{bod ekvivalence}} \quad (16)$$

$V_{\text{bod ekvivalence}}$  = spotřeba octanu olovnatého v bodu ekvivalence (ml)

Po standardizaci bylo naváženo 10 g rozetřeného vzorku chmele do 200ml skleněné lahve, přidáno 100 ml toluenu a následně intenzivně třepáno po dobu 6 min. Zhomogenizovaná suspenze byla nechána po dobu 15 minut v klidu, aby se tuhý podíl usadil u dna. Čirý extrakt byl poté dekantován do 50ml kádinky a zfiltrován přes skládaný filtrační papír. Následně bylo do 100ml kádinky odměřeno 15 ml filtrátu a přidáno 50 ml methanolu. Roztok byl titrován standardizovaným odměrným roztokem octanu olovnatého v methanolu. Výsledky KH získané touto metodou i metodou dle Karla Krofty byly přepočítány na vodivostní hodnotu chmele (LCV), která se uvádí také v procentech. Výpočet hodnoty LCV je uveden ve vztahu (17). Výše uvedená hodnota stechiometrické konstanty je pro koncentraci uvedenou v g/l, avšak pro tento výpočet je nutno ji podělit 10, aby koncentrace byla uvedena v jednotkách g/100 ml. Tyto hodnoty byly porovnány s již naměřenými hodnotami LCV metodami EBC 7.4 a 7.5, které byly dodány společně se vzorky chmelů. Výsledky jsou uvedeny v Tabulkách 9 a 10.

$$\text{LCV (\%)} = \frac{M_{\alpha\text{-kyselin}} \cdot V_{\text{toluen}} \cdot c_{\text{octan olovnatý}} \cdot V_{\text{bod ekvivalence}}}{M_{\text{octan olovnatý}} \cdot m_{\text{vzorek}} \cdot V_{\text{extrakt}}} \quad (17)$$

$M_{\alpha\text{-kyselin}}$  = molární hmotnost  $\alpha$ -kyselin (358 g/mol)

$V_{\text{toluen}}$  = objem toluenu pro extrakci (ml)

$c_{\text{octan olovnatý}}$  = koncentrace octanu olovnatého (g/100 ml)

$V_{\text{bod ekvivalence}}$  = spotřeba octanu olovnatého v bodu ekvivalence (ml)

$M_{\text{octan olovnatý}}$  = molární hmotnost trihydrátu octanu olovnatého (379,4 g/mol)

$m_{\text{vzorek}}$  = navážka vzorku (g)

$V_{\text{extrakt}}$  = alikvotní podíl extraktu (ml)

Tabulka 9: Naměřené hodnoty získané homogenizací na magnetické míchačce

	ŽPČ BIO		Premiant BIO		Premiant	
$m_{vz}$ [g]	10,0076	5,0087	10,0055	5,0021	10,0085	5,0051
$V_{toluen}$ [ml]	100	50	100	50	100	50
$V_{extrakt}$ [ml]	15	15	15	15	15	15
$V_{octan}$ [ml]	3,892	3,664	5,323	5,331	4,665	4,747
KH [%]	2,64	2,48	3,61	3,62	3,17	3,22
LCV [%]	4,64	4,36	6,34	6,35	5,56	5,65
LCV [%] (dodané dle 7.4)	6,66		7,15		6,87	

$m$  – navážka vzorku,  $V$  – objem, KH – konduktometrická hodnota, LCV – vodivostní hodnota chmele

Tabulka 10: Naměřené hodnoty získané homogenizací na třepačce

	Saaz		ŽPČ BIO		ŽPČ	Premiant BIO		Premiant	
$m_{vz}$ [g]	10,0098	5,0083	10,0063	5,0053	5,0055	10,0007	5,0035	10,0045	5,0005
$V_{toluen}$ [ml]	100	50	100	50	50	100	50	100	50
$V_{extrakt}$ [ml]	10	15	15	15	15	15	15	15	15
$V_{octan}$ [ml]	2,406	3,623	4,549	4,794	1,671	5,005	5,196	6,179	5,851
KH [%]	2,45	2,46	3,09	3,25	1,13	3,40	3,53	4,20	3,97
LCV [%]	4,30	4,31	5,42	5,71	1,99	5,97	6,19	7,36	6,97
LCV [%] (dodané dle 7.5)	5,78		7,02		3,13	7,15		7,57	

$m$  – navážka vzorku,  $V$  – objem, KH – konduktometrická hodnota, LCV – vodivostní hodnota chmele

Z Tabulek 9 a 10 lze zpozorovat, že konduktometrické hodnoty jsou výrazně nižší než vodivostní hodnoty chmele. Vodivostní hodnoty chmele lze porovnat s dodanými hodnotami LCV, a proto byla metoda dle Analytica EBC 7.4 zvolena jako optimalizovaná, jen s navážkou 5 g a objemem toluenu 50 ml. Výsledky 5 sérií ŽPČ jsou uvedeny v LCV (%) v Tabulkách 11 až 15.

Tabulka 11: Naměřené hodnoty 1. série

	Chmel	Granule	Prášek	Odpad
$m_{vzorek}$ [g]	5,0091	5,0047	5,0084	5,0075
$V_{octan}$ [ml]	1,597	3,146	3,009	n. s.
LCV [%]	1,90	3,75	3,58	n. s.
LCV [%] (dodané dle 7.5)	3,24	4,96	5,08	0,75

$m$  – navážka vzorku,  $V$  – objem, n. s. – nebylo stanoveno, LCV – vodivostní hodnota chmele

Tabulka 12: Naměřené hodnoty 2. série

	Chmel	Granule	Prášek	Odpad
$m_{\text{vzorek}}$ [g]	5,0097	5,0022	5,0031	5,0044
$V_{\text{octan}}$ [ml]	2,139	2,357	2,265	n. s.
LCV [%]	2,54	2,81	2,70	n. s.
LCV [%] (dodané dle 7.5)	2,56	3,99	2,79	0,78

$m$  – navážka vzorku,  $V$  – objem, n. s. – nebylo stanoveno, LCV – vodivostní hodnota chmele

Tabulka 13: Naměřené hodnoty 3. série

	Chmel	Granule	Prášek	Odpad
$m_{\text{vzorek}}$ [g]	5,0096	5,007	5,0015	5,0015
$V_{\text{octan}}$ [ml]	1,944	3,112	3,465	n. s.
LCV [%]	2,31	3,70	4,13	n. s.
LCV [%] (dodané dle 7.5)	3,36	4,90	5,26	0,70

$m$  – navážka vzorku,  $V$  – objem, n. s. – nebylo stanoveno, LCV – vodivostní hodnota chmele

Tabulka 14: Naměřené hodnoty 4. série

	Chmel	Granule	Prášek	Odpad
$m_{\text{vzorek}}$ [g]	5,0017	5,0019	5,0079	5,0062
$V_{\text{octan}}$ [ml]	1,379	3,090	3,333	n. s.
LCV [%]	1,64	3,68	3,97	n. s.
LCV [%] (dodané dle 7.5)	3,24	5,17	5,21	0,64

$m$  – navážka vzorku,  $V$  – objem, n. s. – nebylo stanoveno, LCV – vodivostní hodnota chmele

Tabulka 15: Naměřené hodnoty 5. série

	Chmel	Granule	Prášek	Odpad
$m_{\text{vzorek}}$ [g]	5,0096	5,0086	5,0047	5,0064
$V_{\text{octan}}$ [ml]	1,616	3,270	3,289	n. s.
LCV [%]	1,92	3,89	3,92	n. s.
LCV [%] (dodané dle 7.5)	2,78	4,94	5,18	0,66

$m$  – navážka vzorku,  $V$  – objem, n. s. – nebylo stanoveno, LCV – vodivostní hodnota chmele

Srovnáním naměřených a dodaných hodnot LCV lze zjistit, že naměřené hodnoty jsou viditelně nižší. Pokles hodnoty LCV značí pokles  $\alpha$ -kyselin ve chmelu, a tím i jeho nižší kvalitu. Z tohoto měření lze usoudit, že stárnutím chmele se snižuje obsah  $\alpha$ -kyselin.

### 3.6 Analýza vzorků chmele a identifikace látek

Z předchozích experimentů byly získány optimální podmínky extrakce (metoda 2 – teplota extrakce 90 °C, doba extrakce 50 min a navážka 0,8 g) tak, aby bylo dosaženo sorpce co největšího množství látek. Následovala analýza 5 sérií ŽPČ. Každá odrůda chmele byla podrobena extrakci za optimalizovaných podmínek, a to na SPME vlákno 50/30 µm DVB/CAR/PDMS.

Při desorpci na GC-MS byl získán chromatogram s příslušným množstvím píků, jejichž hmotnostní spektra byla porovnána s knihovnamí spekter NIST 17 a FFNSC 2 a na základě tohoto porovnání byly identifikovány chemické látky ve chmelu. Identifikace byla následně potvrzena pomocí lineárních retenčních indexů. Všechny identifikované sloučeniny jednotlivých chmelů a sérií jsou uvedeny v příloze Tabulek IV/1 – IV/11.

Pomocí analýzy aromaprofilu bylo zjištěno, že chmelové silice mají rozmanité složení. Obsahují převážně kyslíkaté látky (aldehydy, ketony, kyseliny nebo estery) a bezkyslíkaté látky (terpenové uhlovodíky). Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.4, staré chmely obsahují více kyslíkatých látek z důvodu oxidace terpenových uhlovodíků. Analýzou 5 sérií ŽPČ bylo zjištěno, že nejméně sloučenin obsahuje chmelový odpad a nejvíce sloučenin obsahuje chmelový prášek. Ukázkové chromatogramy 1. série jsou uvedeny v Příloze III/8 – III/11.

## 4 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo najít vhodné podmínky pro mikroextrakci tuhou fází ve spojení s metodou GC-MS pro získání a identifikaci co největšího množství těkavých látek chmele a chmelových výrobků. Experimentálně byly optimalizovány tři parametry extrakce, a to: teplota extrakce, doba extrakce a navážka vzorku. Dále byl testován vliv vakua na možné zvýšení počtu identifikovaných látek a konduktometrická hodnota chmele, jako důkaz úbytku  $\alpha$ -kyselin.

Optimalizací bylo zjištěno, že nejvhodnější teplota extrakce je 90 °C, doba extrakce 50 min a navážka vzorku 0,8 g bez použití vakua. Nižší teploty extrakce poskytovaly méně detekovaných a identifikovaných píků u 5 let starého chmele, ale u novějších nižší teploty dostačovaly. Provedením parametrických a neparametrických statistických testů bylo zjištěno, že vakuum nemá na analýzu, a hlavně na větší počet identifikovaných látek významný pozitivní vliv. Z toho důvodu vakuum nebylo v analýze 5 sérií ŽPČ využito.

Po optimalizaci bylo analyzováno 5 sérií ŽPČ, které byly sestaveny ze surového chmele, chmelových granulí typu 45, chmelového odpadu a chmelového prášku. Nejméně sloučenin bylo identifikováno v chmelovém odpadu a nejvíce sloučenin ve chmelovém prášku. Identifikace proběhla na základě vypočtených lineárních retenčních indexů dle van den Doola a zaznamenaných hmotnostních spekter.

Provedením metody stanovení konduktometrické hodnoty chmele dle EBC 7.4 dle Karla Krofity a metody dle Analytica EBC 7.4 bylo zjištěno, že ke zjištění úbytku  $\alpha$ -kyselin ve chmelu a chmelových výrobcích je více vyhovující metoda dle Analytica EBC 7.4. Naměřené vodivostní hodnoty chmele byly porovnány s hodnotami dodanými společně se vzorky.

## 5 LITERATURA

- [1] CASTRO, Pedro; LUZ, Eduardo; MOREIRA, Gladston. Dataset for Hop varieties classification. *Data in Brief*. **2021**, 38, 107312.
- [2] MAGUER, Cynthia; SCHÖNBERGER, Christina; GASTL, Martina; ARENDT, Elke K.; BECKER, Thomas. *Humulus lupulus* – a story that begs to be told. A review. *Journal of the Institute of Brewing*. **2014**, 120 (4), 289–314.
- [3] Chmel otáčivý – rostlina nejen k výrobě piva. *Vitamíny bez cenzury* [online]. ©2017. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: [Chmel otáčivý – rostlina nejen k výrobě piva – Vitamíny bez cenzury](#).
- [4] ABIKO, Yoshihiro; PAUDEL, Durga; UEHARA, Osamu. Hops components and oral health. *Journal of Functional Foods*, **2022**, 92, 105035.
- [5] KNEZ HRNČIČ, Maša; ŠPANIGER, Eva; KOŠIR JOŽE, Iztok; KNEZ, Željko; BREN, Urban. Hop compounds: Extraction techniques, chemical analyses, antioxidative, antimicrobial, and anticarcinogenic effects. *Nutrients*. **2019**, 11 (2), 257.
- [6] PISTELLI, L.; FERRI, B.; CIONI, P. L.; KOZIARA, M.; AGACKA, M.; SKOMRA, U. Aroma profile and bitter acid characterization of hop cones (*Humulus lupulus* L.) of five healthy and infected Polish cultivars. *Industrial Crops and Products*. **2018**, 124, 653–662.
- [7] ZHANG, Guoqing; ZHANG, Nan; YANG, Anran; HUANG, Jingling; REN, Xueni; XIAN, Mo; ZOU, Huibin. Hop bitter acids: Resources, biosynthesis, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **2021**, 105 (11), 4343–4356.
- [8] ALONSO-ESTEBAN, José Ignacio; PINELA, José; BARROS, Lillian; ĆIRIĆ, Ana; SOKOVIĆ, Marina; CALHELHA, Ricardo C.; ESPERANZA, Torija-Isasa; SANCHÉZ-MATA, María de Cortes; FERREIRA C. F. R.; Isabel. Phenolic composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic properties of hop (*Humulus lupulus* L.) Seeds. *Industrial Crops and Products*. **2019**, 134, 154–159.
- [9] OLADOKUN, Olayide; TARREGA, Amparo; JAMES, Sue; SMART, Katherine; HORT, Joanne; COOK, David. The impact of hop bitter acid and polyphenol profiles on the perceived bitterness of beer. *Food Chemistry*. **2016**, 205, 212–220.
- [10] RUTNIK, Ksenija; KNEZ HRNČIČ, Maša; JOŽE KOŠIR, Iztok. Hop essential oil: Chemical composition, extraction, analysis, and applications. *Food Reviews International*. **2022**, 38 (1), 529–551.

- [11] EYRES, Graham; DUFOUR, Jean-Pierre. Hop essential oil: Analysis, chemical composition and odor characteristics. In: *Beer in health and disease prevention*. Academic Press. 2009, s. 239–254. ISBN: 978-0-12-373891-2.
- [12] JELÍNEK, Lukáš; KARABÍN, Marcel; KOTLÍKOVÁ, Blanka; HUDCOVÁ, Tereza; DOSTÁLEK, Pavel. Application of a hop by-product in brewing: Reduction in the level of haze-active prolamines and improved antioxidant properties of the beer. *Journal of the Institute of Brewing*. **2014**, 120 (2), 99–104.
- [13] Produkty a služby. *Bohemia Top Hop* [online]. TOP HOP spol. s r. o., ©2025. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://www.hop.cz/produkty-a-sluzby/>.
- [14] Žatecký poloraný červeňák. *Domáci pivotéka* [online]. ©2025. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://www.domaci-pivoteka.cz/pivni-blog/zatecky-polorany-cervenak/>.
- [15] Chmel, kvalitní zdroj vitamínů B a hořčíku, který je velmi prospěšný pro vaše tělo. *Receptia.cz* [online]. Affiliate Agency s.r.o., ©2025. [cit. 2025-04-14]. Dostupné z: <https://www.receptia.cz/p/chmel/>.
- [16] Odrůdy – Německo. *Hop products – chmel je náš svět* [online]. Hop products, s.r.o., ©2021. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://hopproducts.cz/varieties/kat/6>.
- [17] RUGGERI, Roberto; ROSSINI, Francesco; ROBERTO R., Sergio; SATO J., Alessandro; LOUSSERT, Perrine; RUTTO K., Laban; AGEHARA, Shinsuke. Development of hop cultivation in new growing areas: The state of the art and the way forward. *European Journal of Agronomy*. **2024**, 161, 127335.
- [18] German hops. *Craft Beer & Brewing* [online]. ©2025. [cit. 2025-04-22]. Dostupné z: <https://beerandbrewing.com/dictionary/e02KFPB7Ey/>.
- [19] Hopfenanbaugebiete in Deutschland. *Bundesamt für Kartographie und Geodäsie* [online]. ©2025. [cit. 2025-04-22]. Dostupné z: [https://x.com/BKG\\_Bund/status/1423566632702644227](https://x.com/BKG_Bund/status/1423566632702644227).
- [20] Americké chmelové odrůdy. *Táborská pivotéka* [online]. Táborská pivotéka Craft Beer, ©2025. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://www.pivoteka-tabor.cz/usa/>.
- [21] Our Regions. *USA Hops – Hop growers of America* [online]. U.S. Department of Agriculture. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://hopgrowersofamerica.org/our-regions>.
- [22] O'ROURKE, Tim. The function of wort boiling. *Brewer International*. **2002**, 2 (2), 17–19.
- [23] HOUGH, James Shanks; BRIGGS, Dennis Edward; STEVENS, Roger; YOUNG, Tom William. Chemistry of wort boiling and hop extraction. *Malting and Brewing Science: Volume II Hopped Wort and Beer*. Boston: Springer, 1982, s. 456–498. Vol. 2. ISBN: 978-1-4613-5727-8.

- [24] *Pixers* [online]. PIXERS, ©2025. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://pixers.cz/fototapety/medeny-kotel-na-pivo-50128123>.
- [25] STEENACKERS, Bart; DE COOMAN, Luc; DE VOS, Dirk. Chemical transformations of characteristic hop secondary metabolites in relation to beer properties and the brewing process: A review. *Food Chemistry*. **2015**, *172*, 742–756.
- [26] JASKULA-GOIRIS, Barbara; AERTS, Guido; DE COOMAN, Luc. Izomerizace a využití chmelových  $\alpha$ -kyselin: experimentální přehled. *Cerevisia*. **2010**, *35* (3), 57–70.
- [27] DE KEUKELEIRE, Denis; VERZELE, Maurice. The absolute configuration of the isohumulones and the humulinic acids. *Tetrahedron*. **1971**, *27* (20), 4939–4945.
- [28] WONG, Joseph M. Treatment of pesticide industry wastes. In: *Handbook of industrial and hazardous wastes treatment*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. 2004, s. 1103–1153. ISBN: 9780429216350.
- [29] INDU; BAGHEL SINGH, Anurag; BHARDWAJ, Arpit; IBRAHIM, Wubshet. Optimization of pesticides spray on crops in agriculture using machine learning. *Computational Intelligence and Neuroscience*. **2022**, *2022* (1), 9408535.
- [30] MAHMOOD, Isra; SAMEEN, Ruqia Imadi; SHAZADI, Kanwal; GUL, Alvina; HAKEEM, Khalid Rehman. Effects of pesticides on environment. *Plant, soil and microbes: volume 1: implications in crop science*. 2016, s. 253-269. Vol. 1. ISBN: 9783319801452.
- [31] KIRK, Raymond Eller; OTHMER, Donald Frederick. Soil Chemistry of Pesticides. *Encyclopedia of Chemical Technology*. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., 1983, s. 515–540. Vol. 18. ISBN: 978-0471526872.
- [32] Chemistry of Pesticides [online]. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA, ©1983. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://oa.mg/work/85263200>.
- [33] YADAV, Ishwar Chandra; DEVI, Ningombam Linthoingambi. Pesticides classification and its impact on human and environment. *Environmental Science and Engineering*. **2017**, *6* (7), 140–158.
- [34] HASSAAN, Mohamed A.; EL NEMR, Ahmed. Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. **2020**, *46* (3), 207–220.
- [35] Pesticides manual. *Open library* [online]. British Crop Protection Council, London, UK, ©1968. Last Revised: 2009 [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: [https://openlibrary.org/books/OL19516793M/Pesticide\\_manual](https://openlibrary.org/books/OL19516793M/Pesticide_manual).

- [36] KIM, Ki-Hyun; KABIR, Ehsanul; JAHAN, Shamin Ara. Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*. **2017**, 575, 525–535.
- [37] DAMALAS, Christos A.; ELEFTHEROHORINOS, Ilias G. Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. **2011**, 8 (5), 1402–1419.
- [38] MOSTAFALOU, Sara; ABDOLLAHI, Mohammad. Pesticides: an update of human exposure and toxicity. *Archives of Toxicology*. **2017**, 91 (2), 549–599.
- [39] ZACHARIA, James Tano. Ecological effects of pesticides. *Pesticides in the modern world-Risks and Benefits*. IntechPublisher. 2011, s. 129–142. ISBN: 978-953-307-458-0.
- [40] THUY, Thieu Thi. Effects of DDT on environment and human health. *Journal of Education and Social Sciences*. **2015**, 2 (1), 14–108.
- [41] AFRIN, Mst Farhana; KABIR, Emranul; NOYON, M. R. O. Khan; AKTER, Nurjahan; SULTANA, Tamanna; NAYEEM, Jannat Un; UZZAMAN, Monir. Spectrochemical, biological, and toxicological studies of DDT, DDD, and DDE: An in-silico approach. *Informatics in Medicine Unlocked*. **2023**, 39, 101254.
- [42] FRUMKIN, Howard. Agent Orange and cancer: an overview for clinicians. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. **2003**, 53 (4), 245–255.
- [43] 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-*p*-dioxin (2,3,7,8-TCDD). *Arnika* [online]. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://arnika.org/en/toxicke-latky/databaze-latek/2378-tetrachlordibenzo-p-dioxin-2378-tcdd>.
- [44] LE, Duong Trung; PHAM, Thanh Minh; POLACHEK, Šalamoun. Dlouhodobý dopad Agent Orange: Důkazy z války ve Vietnamu na zdraví. *Světový rozvoj*. **2022**, 155, 105813.
- [45] KROFTA, Karel a kolektiv. *Integrovaný systém pěstování chmele*. Žatec: Chmelařský institut s. r. o., 2012. 2/12. ISBN 978–80–86836–82–9.
- [46] GENT, David H.; TWOMEY, Megan C.; WOLFENBARGER, Sierra N.; WOODS, Joanna L. Pre-and postinfection activity of fungicides in control of hop downy mildew. *Plant Disease*. **2015**, 99 (6), 858–865.
- [47] Plíseň chmelová. *BASF – We create chemistry* [online]. BASF SE, ©2025. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://www.agro.basf.cz/cs/Pripravky/P%C5%99%C3%ADpravky-DDD/Pest-Guide/Houbov%C3%A9-choroby/Choroby-na-cel%C3%A9-rostlin%C4%9B/Pl%C3%ADse%C5%88-chmelov%C3%A1/>.

- [48] UNDAS, Anna K.; WEIHRAUCH, Florian; LUTZ, Anton; VAN TOL, Rob; DELATTE, Thierry; VERSTAPPEN, Francel; BOUWMEESTER, Harro. The use of metabolomics to elucidate resistance markers against damson-hop aphid. *Journal of Chemical Ecology*. **2018**, *44*, 711–726.
- [49] KROFTA, Karel. *Hodnocení kvality chmele*. Žatec: Chmelařský institut s. r. o., 2008. 4/08. ISBN 978–80–86836–84–3.
- [50] COCUZZA, Sandro; LUTZ, Anton; MÜLLER-AUFFERMANN, Konrad. Influence of picking date on the initial hop storage index of freshly harvested hops. *Technical quarterly published by the Master Brewers Association of the Americas*. **2013**, *2*, 66–71.
- [51] RUTNIK, Ksenija; OCVIRK, Miha; KOŠIR, Iztok Jože. The stability of hop (*Humulus lupulus* L.) resins during long-period storage. *Plants*. **2023**, *12* (4), 936.
- [52] INUI, Takako; TSUCHIYA, Fumihiko; ISHIMARU, Mariko; OKA, Kaneo; KOMURA, Hajime. Different beers with different hops. Relevant compounds for their aroma characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2013**, *61* (20), 4758–4764.
- [53] DIETZ, Christina; COOK, David; HUISMANN, Margaux; WILSON, Colin; FORD, Rebecca. The multisensory perception of hop essential oil: A review. *Journal of the Institute of Brewing*. **2020**, *126* (4), 320–342.
- [54] OLADOKUN, Olayide; SAMNER, James; COWLEY, Trevor; SMART, Katherine; HORT, Joanne; COOK, David. Dry-hopping: The effects of temperature and hop variety on the bittering profiles and properties of resultant beers. *Brewing Science*. **2017**, *70*, 187–196.
- [55] CASTRO, Remedios, DÍAZ BELÉN, Ana; DURÁN-GUERRERO, Enrique; LASANTA, Cristina. Influence of different fermentation conditions on the analytical and sensory properties of craft beers: Hopping, fermentation temperature and yeast strain. *Journal of Food Composition and Analysis*. **2022**, *106*, 104278.
- [56] FERREIRA, Inês M.; FREITAS, Flávia; PINHEIRO, Sara; MOURAO, Maria Filipa; GUIDO FERREIRA, Luis; GOMES DA SILVA, Marco. Impact of temperature during beer storage on beer chemical profile. *Food Science and Technology*. **2022**, *154*, 112688.
- [57] RYBKA, Adolf; KROFTA, Karel; HEŘMÁNEK, Petr; HONZÍK, Ivo; POKORNÝ, Jaroslav. Effect of drying temperature on the content and composition of hop oils. *Plant Soil Environment*. **2018**, *10*, 512–516.

- [58] KREITMAN, Gal Y.; DANILEWICZ, John C.; JEFFERY, David W.; ELIAS, Ryan John. Reaction mechanisms of metals with hydrogen sulfide and thiols in model wine. Part 1: copper catalyzed oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2016**, *64*, 4095–4104.
- [59] JALILI, Vahid; BARKHORDARI, Abdullah; GHIASVAND, Alireza. A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews. *Microchemical Journal*. **2020**, *152*, 104319.
- [60] SPIETELUN, Agata; MARCINKOWSKI, Łukasz; DE LA GUARDIA, Miguel; NAMIEŚNIK, Jacek. Recent developments and future trends in solid phase microextraction techniques towards green analytical chemistry. *Journal of Chromatography A*. **2013**, *1321*, 1–13.
- [61] HUSSAIN, Dilshad; NAQVI RAZA TAYYEB, Sayed; ASHIQ NAEEM, Muhammad; NAJAM-UL-HAQ, Muhammad. Analytical sample preparation by electrospun solid phase microextraction sorbents. *Talanta*. **2020**, *208*, 120413.
- [62] WERNER, Justyna; ZGOŁA-GRZEŚKOWIAK, Agnieszka; GRZEŚKOWIAK, Tomasz; FRANKOWSKI, Robert. Biopolymers-based sorbents as a future green direction for solid phase (micro) extraction techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. **2024**, *173*, 117659.
- [63] CARASEK, Eduardo; MERIB, Josias. Membrane-based microextraction techniques in analytical chemistry: A review. *Analytica Chimica Acta*. **2015**, *880*, 8–25.
- [64] STASHENKO, Elena; MARTÍNEZ, Jairo René. Gas chromatography-mass spectrometry. *Advances in Gas Chromatography*. 2014, s. 1–38. ISBN: 978-953-51-227-3.
- [65] Alcohol by Volume. *Vinmetrica* [online]. Vinmetrica – Sulfite (SO<sub>2</sub>), Malic, Alcohol & pH/TA tests for Wine, Beer & Kombucha, ©2025. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://vinmetrica.com/product/percent-alcohol-determination/>.
- [66] JOHNSEN, Lea G.; SKOU, Peter B.; KHAKIMOV, Bekzod; BRO, Rasmus. Gas chromatography–mass spectrometry data processing made easy. *Journal of Chromatography A*. **2017**, *1503*, 57–64.
- [67] HOSSAIN, Mahmud; HOSSAIN, Mahmud. The Mass Spectrometer and Its Components. *Selected Reaction Monitoring Mass Spectrometry (SRM-MS) in Proteomics: A Comprehensive View*. Springer. 2020, s. 17–52. ISBN: 978-3-030-53433-2.
- [68] Hmotnostní spektrometrie [online]. [cit. 2025-03-27]. Dostupné z: <https://ciselniky.dasta.mzcr.cz/hypertext/201030/hypertext/JVATE.htm>.

- [69] LI, Lin; HAN, Juanjuan; WANG, Zhenpeng; LIU, Jian'an; WEI, Jinchao; XIONG, Shaoxiang; ZHAO, Zhenwen. Mass spectrometry methodology in lipid analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. **2014**, *15* (6), 10492–10507.
- [70] AMIRAV, Aviv; FIALKOV, B. Alexander; GORDIN, Alexander; ELKABETS, Oneg; EREN, Ksenia J. Margolin. Cold electron ionization (EI) is not a supplementary ion source to standard EI. It is a highly superior replacement ion source. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. **2021**, *32* (11), 2631–2635.
- [71] AWAD, Hanan; KHAMIS, Mona M.; EL-ANEED, Anas. Mass spectrometry, review of the basics: ionization. *Applied Spectroscopy Reviews*. **2015**, *50* (2), 158–175.
- [72] AGARWAL, Princy; GOYAL, Anju. A review on analyzers for mass spectrometry. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. **2017**, *8* (4), 139–151.
- [73] EL-ANEED, Anas; COHEN, Aljandro; BANOUB, Joseph. Mass spectrometry, review of the basics: electrospray, MALDI, and commonly used mass analyzers. *Applied Spectroscopy Reviews*. **2009**, *44* (3), 210–230.
- [74] HERNANDEZ, Felix; CERVERA, Maria Inés; PORTOLÉS, Tania; BELTRÁN, Joaquin; PITARCH, Elena. The role of GC-MS/MS with triple quadrupole in pesticide residue analysis in food and the environment. *Analytical Methods*. **2013**, *5* (21), 5875–5894.
- [75] MEDHE, Sharad. Mass spectrometry: detectors review. *Chemical and Biomolecular Engineering*. **2018**, *3* (4), 51–58.
- [76] POOLE, Colin F. Ionization-based detectors for gas chromatography. *Journal of Chromatography A*. **2015**, *1421*, 137–153.
- [77] VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D.. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of chromatography*. **1963**, *11*, 463–471.
- [78] NIST WebBook Chemie. *National Institute of Standards and Technology*. [online]. U.S. Secretary of Commerce on behalf of the United States of America, ©2025. [cit. 2025-05-02]. Dostupné z: <https://webbook.nist.gov/chemistry/>.
- [79] Analytica EBC. *Brew Up* [online]. [cit. 2025-04-01]. Dostupné z: <https://brewup.eu/ebc-analytica/hops-and-hop-products/lead-conductance-value-of-hops-powders-and-pellets/7.4>.
- [80] ŠTEFANOVÁ Hana. *Využití mikroextrakce tuhou fází pro analýzu profilu těkavých látek chmele*, Pardubice, 2019. Diplomová práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická. Vedoucí práce doc. Ing. Martin Adam, Ph.D.

## 6 PŘÍLOHY

**Příloha I:** Podmínky optimalizačních pokusů vygenerovaných pro extrakci

**Příloha II:** Celkové odezvové profily chmelů

**Příloha III:** Chromatogramy získané metodou GC-MS

**Příloha IV:** Detekované sloučeniny metodou GC-MS

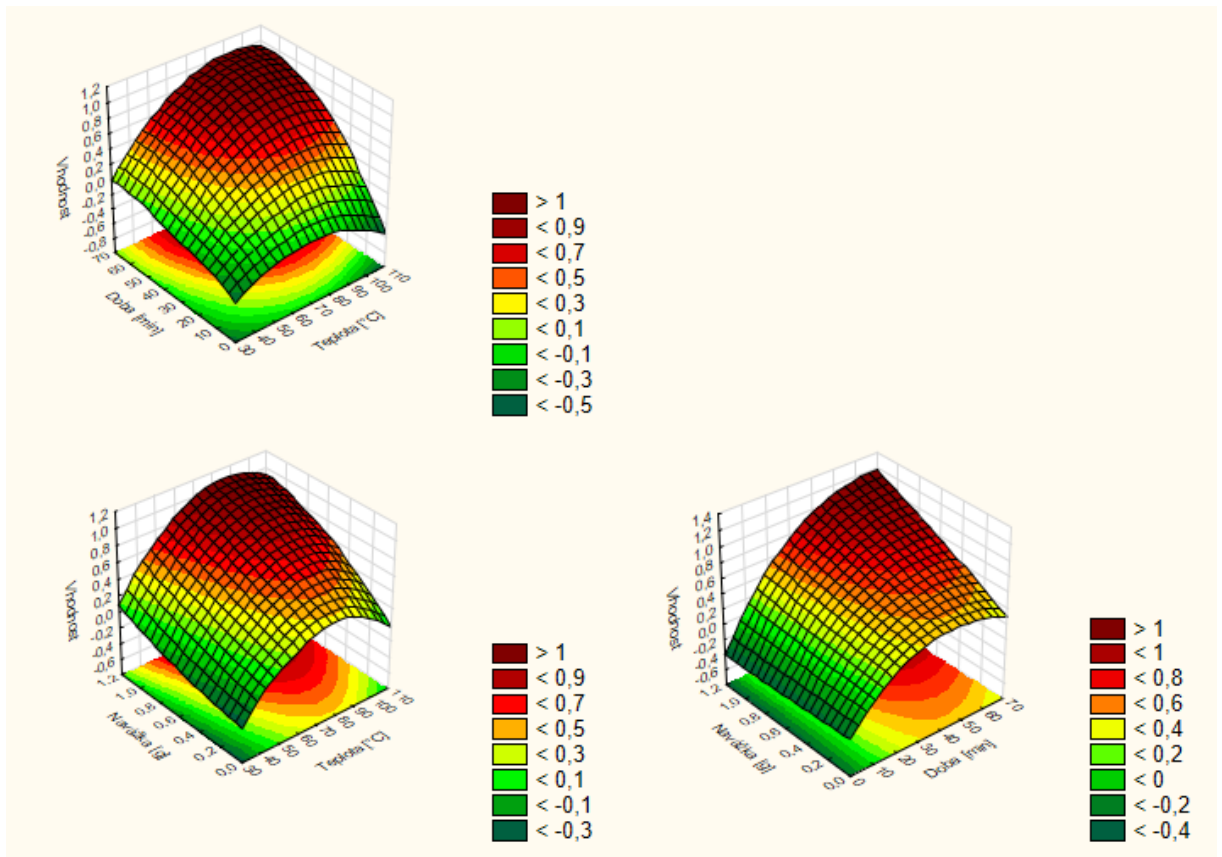
## **Příloha I:** Podmínky optimalizačních pokusů vygenerovaných pro extrakci

Tabulka I/1: Podmínky optimalizačních pokusů vygenerovaných pro extrakci

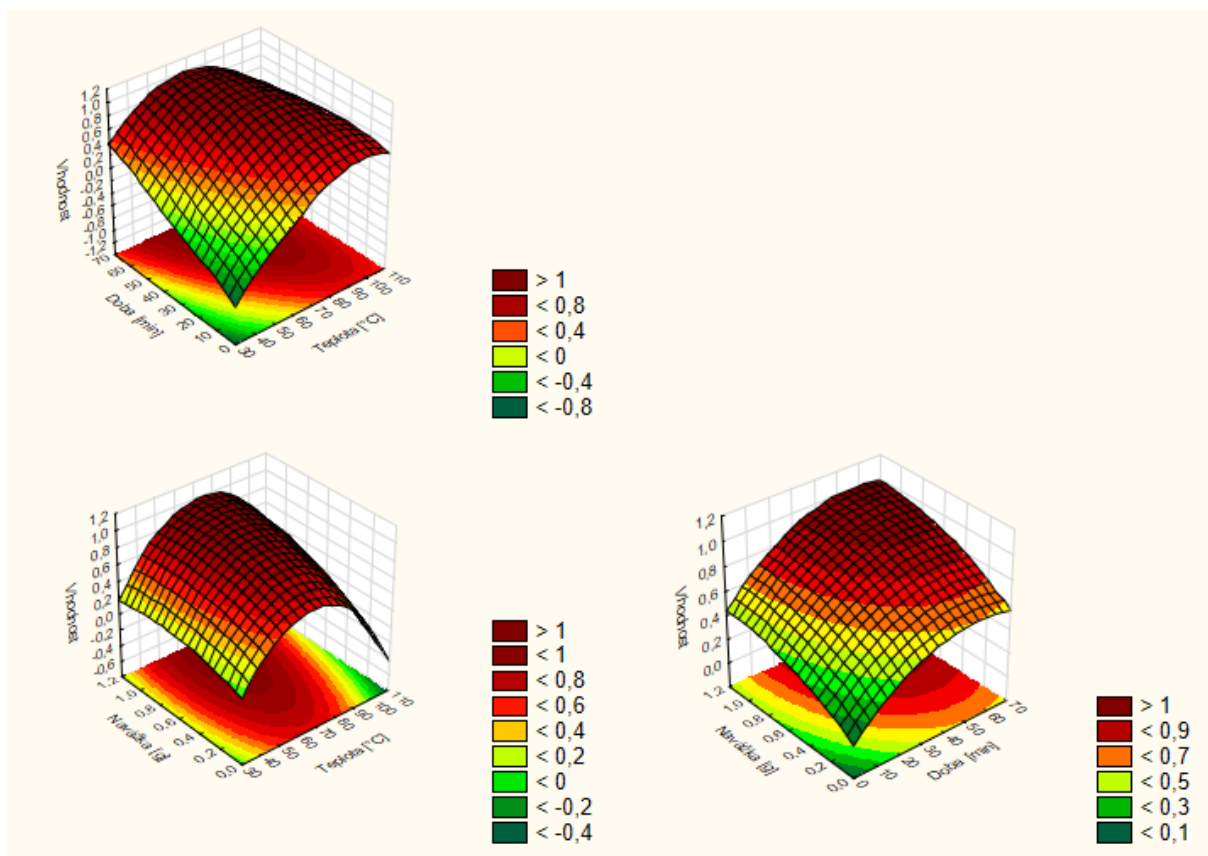
Pokus č.	Teplota [°C]	Doba [min]	Navážka [g]	Pozice nádoby
1	51,6	19,7	0,28	2
2	51,6	50,3	0,83	4
3	88,4	19,7	0,83	16
4	88,4	50,3	0,28	18
5 C	70	35	0,55	8
6 C	70	35	0,55	9
7	51,6	19,7	0,83	3
8	51,6	50,3	0,28	5
9	88,4	19,7	0,28	17
10	88,4	50,3	0,83	19
11 C	70	35	0,55	10
12 C	70	35	0,55	11
13	40	35	0,55	1
14	100	35	0,55	20
15	70	10	0,55	6
16	70	60	0,55	15
17	70	35	0,1	7
18	70	35	1	14
19 C	70	35	0,55	12
20 C	70	35	0,55	13

C – centrální bod

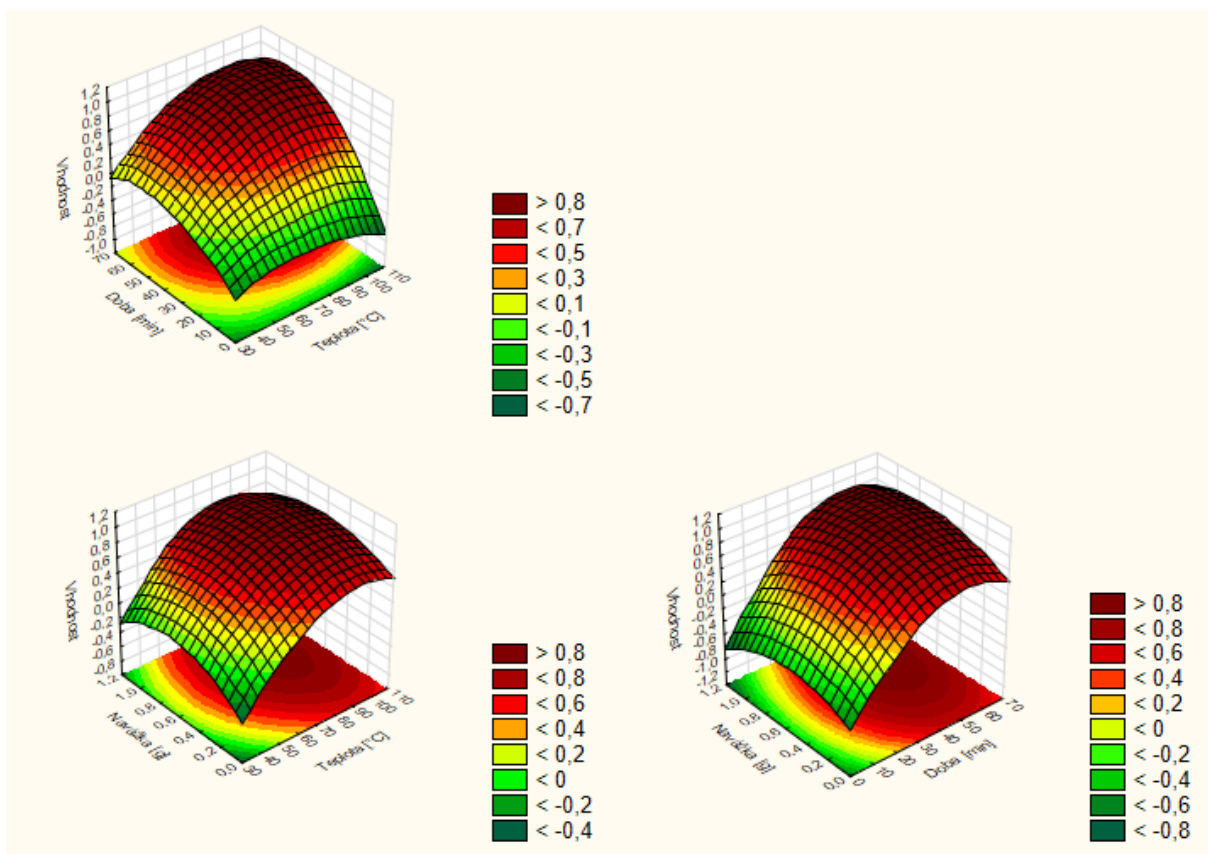
## Příloha II: Celkové odezvoové profily chmelů



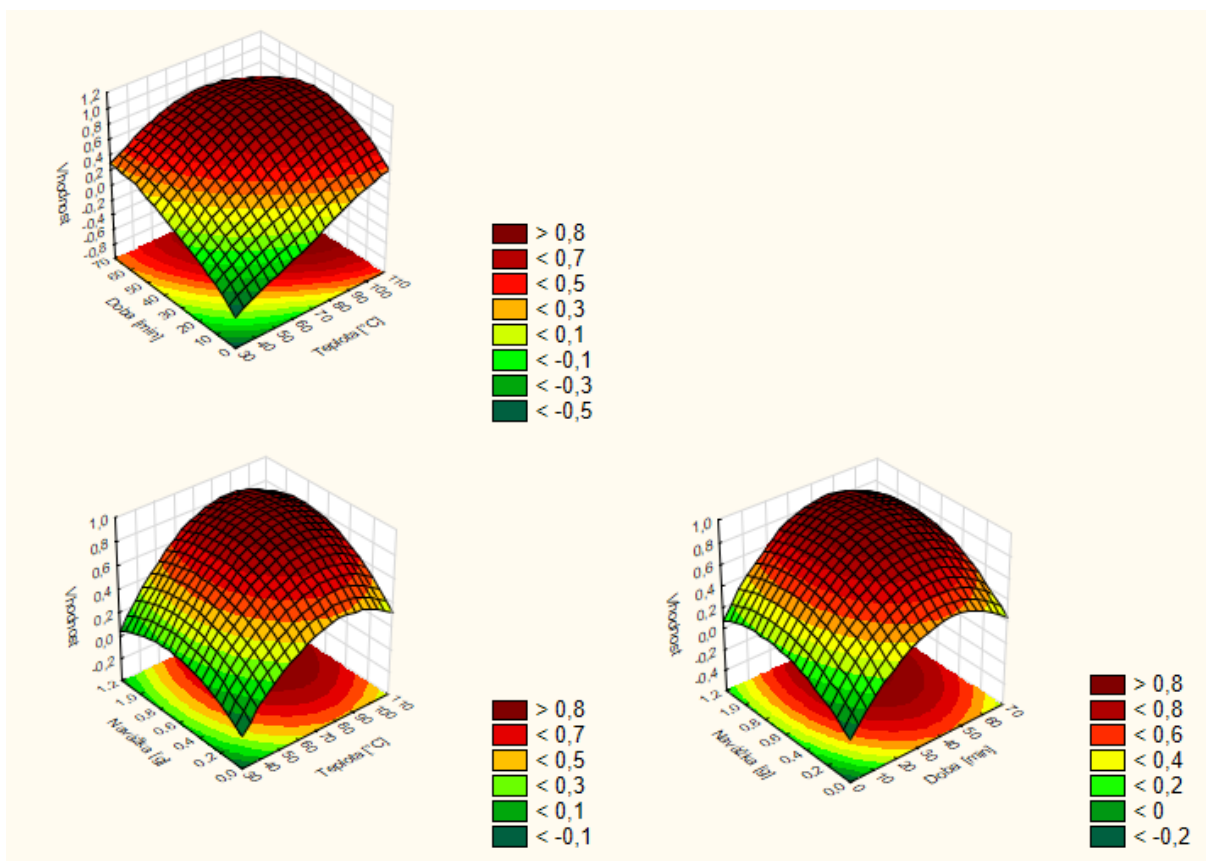
Obrázek II/ 1: Celkový odezvoový profil 5 let starého chmele



Obrázek II/ 2: Celkový odezvoový profil pro 1 rok starý Sládek

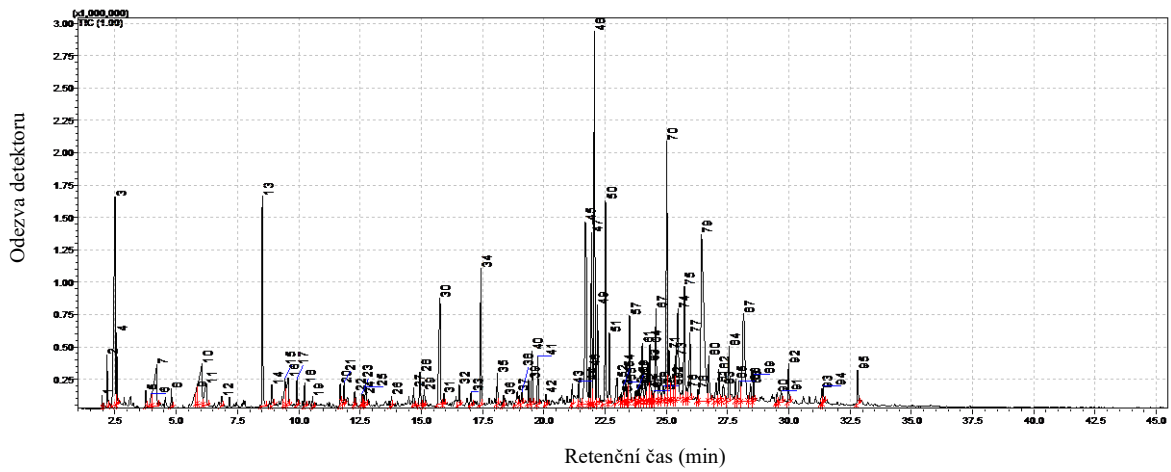


Obrázek II/ 3: Celkový odezvoový profil pro Žatecký polarovaný červeňák, Premiant a Saaz bez využití vakua

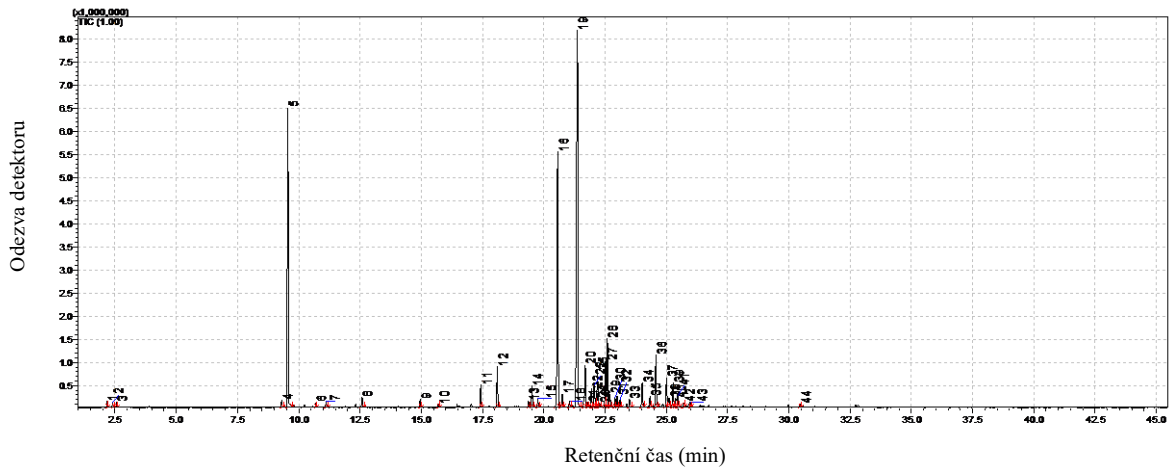


Obrázek II/ 4: Celkový odezvoový profil pro Žatecký poloraný červeňák, Premiant a Saaz s využitím vakua

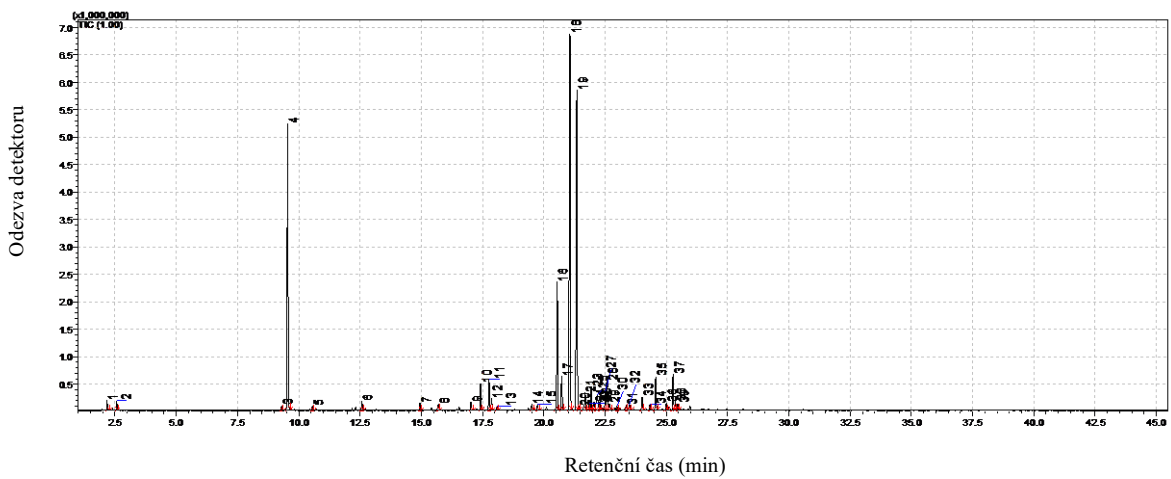
### Příloha III: Chromatogramy získané metodou GC-MS



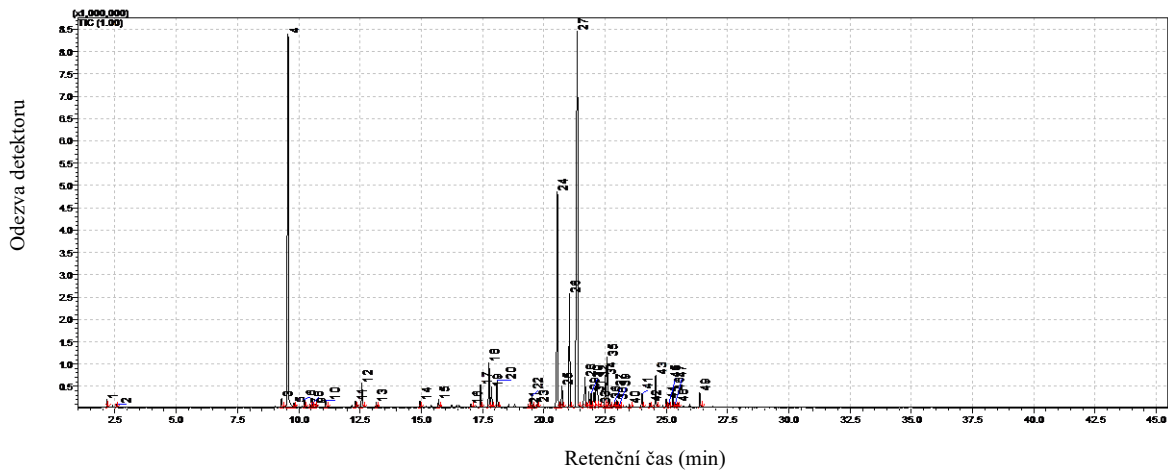
Obrázek III/ 1: GC-MS chromatogram 5 let starého chmele  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/1)



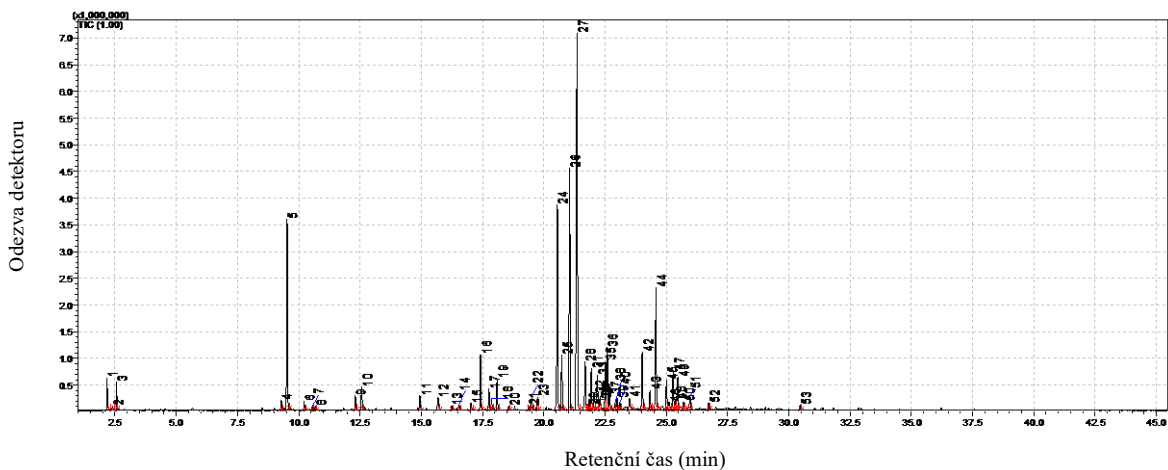
Obrázek III/ 2: GC-MS chromatogram 1 rok starého chmele Sládek  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/2)



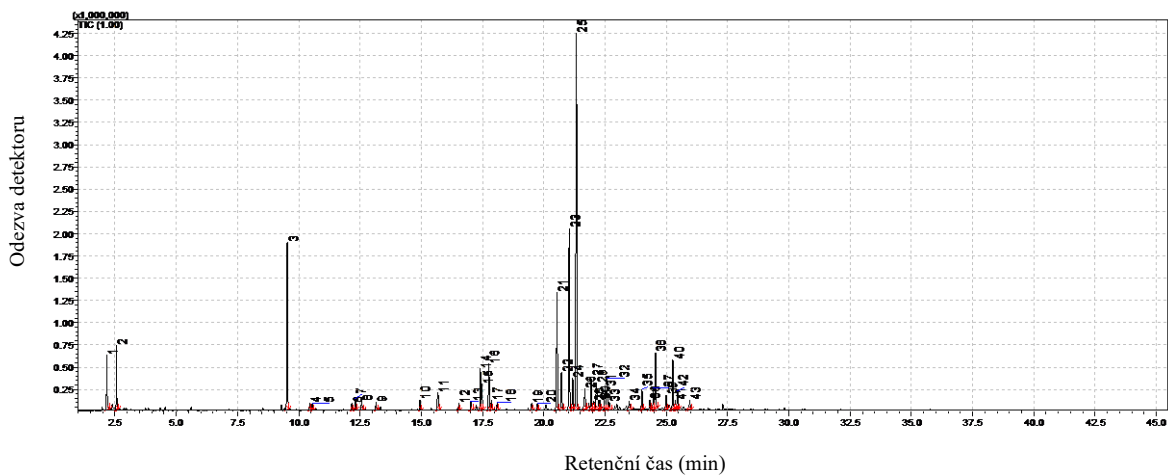
Obrázek III/ 3: GC-MS chromatogram chmele Žateckého poloraného červeňáku  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/3)



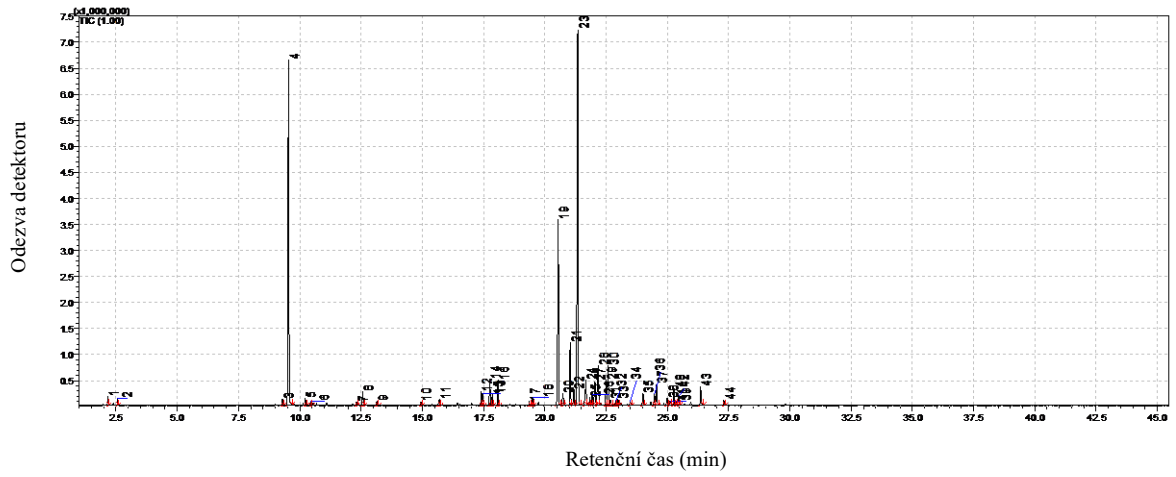
Obrázek III/ 4: GC-MS chromatogram chmele Premiant  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/4)



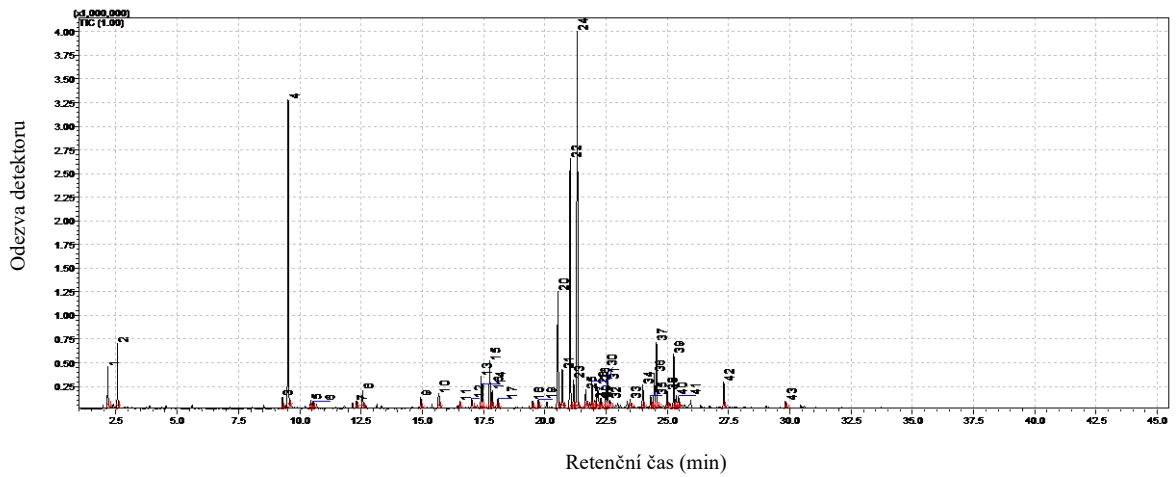
Obrázek III/ 5: GC-MS chromatogram chmele Saaz  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/5)



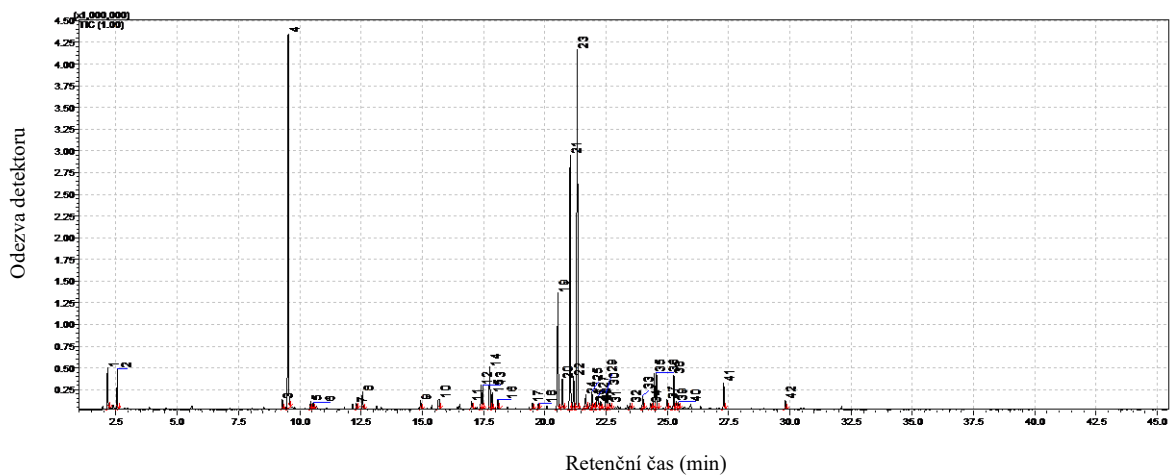
Obrázek III/ 6: GC-MS chromatogram Žateckého poloraného červeňáku BIO  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/6)



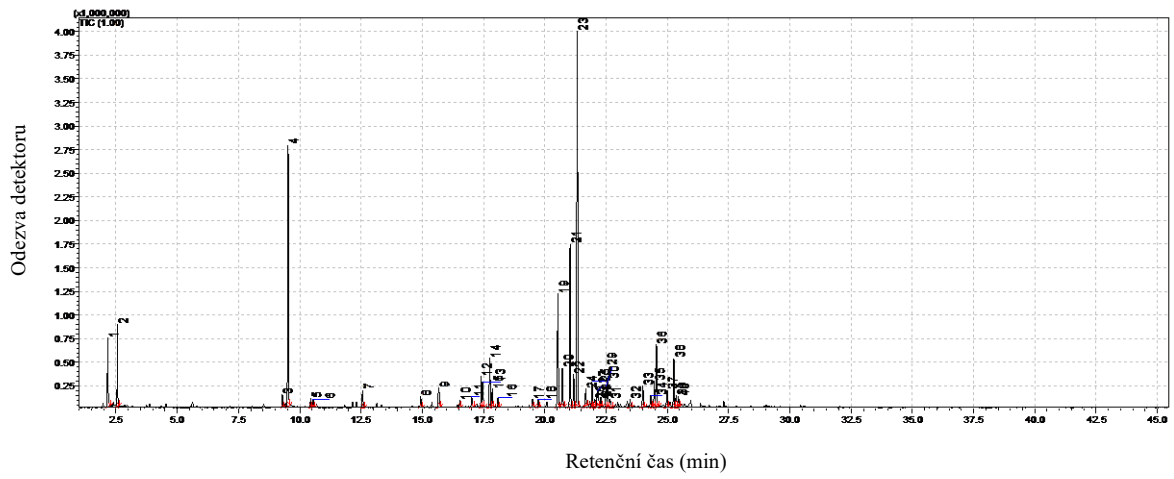
Obrázek III/ 7: GC-MS chromatogram chmele Premiant BIO  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/7)



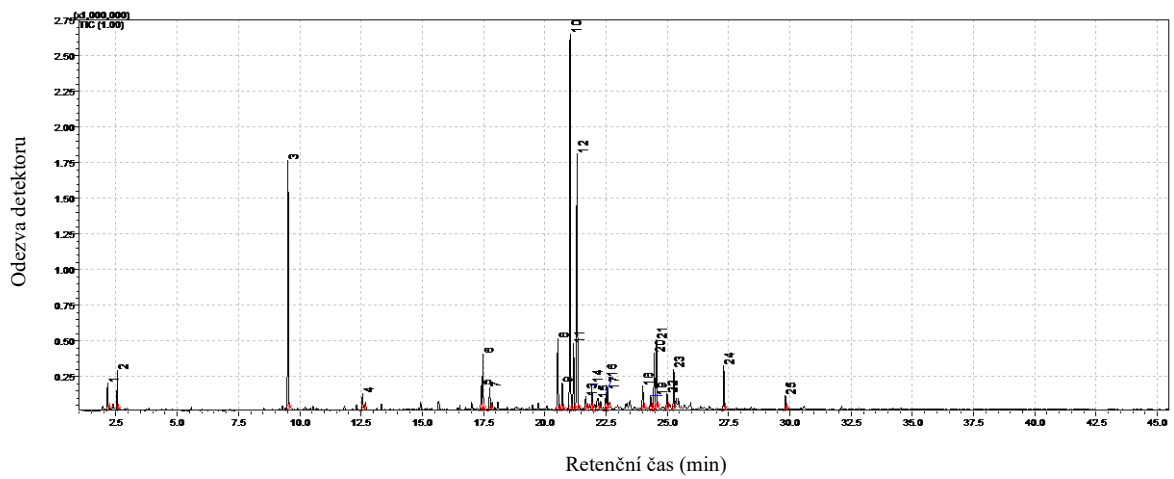
Obrázek III/ 8: GC-MS chromatogram surového chmele 1. série  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/8)



Obrázek III/ 9: GC-MS chromatogram chmelových granulí typu 45 1. série  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/9)



Obrázek III/ 10: GC-MS chromatogram chmelového prášku 1. série  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/10)



Obrázek III/ 11: GC-MS chromatogram chmelového odpadu 1. série  
(Identifikace látek viz Tabulka IV/11)

**Příloha IV: Detekované sloučeniny metodou GC-MS**

Tabulka IV/1: Identifikace látek 5 let starého chmele

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda [%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
1		NI		428!		0,15
2	67-64-1	Aceton	96	492!	455	0,72
3	64-19-7	Kyselina octová	97	598	576	5,07
4	115-18-4	Dimethylvinylkarbinol	97	609	600	0,76
5	591-78	2-Hexanon	93	735	754	0,24
6	600-14-6	2,3-Pentanedion	85	748	790	0,24
7	108-60-1	2-Chlor-1-isopropoxypropan	88	764	770	2,07
8	66-25-1	Hexanal	96	803	806	0,26
9	503-74-2	Kyselina isovalerová	97	856	811	2,21
10	97-61-0	Kyselina 2-methylvalerová	87	863	910	0,77
11	113-43-0	2-Heptanon	96	890	853	0,17
12	20019-64-1	5,5-Dimethyl-2(5H)-furanon	96	952	942	3,41
13	100-52-7	Benzaldehyd	97	966	982	0,43
14	110-93-0	Sulkaton	85	986	938	0,79
15	142-62-1	Kyselina kapronová	88	990	974	0,77
16	106-27-4	Isopentyl butyrát	96	1015	1019	0,35
17	1072-83-9	2-Acetylpyrrol	97	1068	1035	0,32
18	60047-17-8	<i>cis</i> -Linalool oxid	87	1074	1123	0,32
19		NI		1090		0,2
20	78-70-6	Linalool	92	1101	1082	0,15
21	55590-83-5	2-Methylbutyl valerát	88	1108	1118	0,45
22		NI		1198		0,3
23		NI		1225		2,85
24		NI		1257		0,4
25	38372-49-5	(Z)-Undec-6-en-2-on	92	1277	1259	0,29
26	112-12-9	2-Undekanon	97	1293	1294	1,99
27		NI		1322		0,45
28	72636-53-4	2,5-Dibutylfuran	85	1333	1328	0,17
30	79120-98-2	Cedrén	86	1378	1398	0,37
31	3856-25-5	$\alpha$ -Kopaen	87	1384	1375	0,82
32	6175-49-1	2-Dodekanon	97	1394	1393	0,73
33	593-08-8	2-Tridekanon	93	1459	1449	0,32
34		NI		1471		0,44
35	30021-74-0	$\gamma$ -Muurolen	95	1484	1478	5,65
36	13360-61-7	1-Pentadecen	94	1491	1502	0,58
37		NI		1495		2,59
38	3691-11-0	$\alpha$ -Bulnesen	90	1501	1505	6,48
39	4630-07-3)	Valencen	88	1507	1474	1,79
40	1460-97-5	$\gamma$ -Kadinén	93	1523	1512	3,6

Tabulka IV/1: Identifikace látek 5 let starého chmele – pokračování

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda		A	
			[%]	RI <sup>a</sup>		
41	483-77-2	Kalamenen	95	1531	1537	1,2
42		NI		1555		0,14
43	146955-45-5	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	96	1571	1557	1,42
44	532-65-0	Turmeron	94	1583	1578	0,18
45	6222-02-2)	Tetradecyl trifluoroacetát	93	1591	1613	0,23
46		NI		1597		1,05
47	109-20-6	Geranyl isovalerát	87	1604	1604	0,36
48	19888-34-7	Humulen oxid II	91	1626	1592	2,05
49	5945-72-2	Neointermedeol	86	1632	1613	0,42
50	19912-67-5	Epikubenol	94	1641	1631	0,42
51		NI		1648		4,93
52	19431-80-2	Karyofyla-4(12),8(13)-dien-5 $\alpha$ -ol	96	1653	1677	1,33
53	8007-24-7	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	88	1672	1656	2,88
54	483-78-3	Kadalén	94	1686	1706	2,31
55		NI		1739		0,95
56		NI		1771		0,49
57		NI		1785		1,01
58		NI		1799		0,4
59		NI		1818		3,69
60		NI		1841		0,45
61		NI		1906		0,32
62	112-39-0	Methylester kyseliny palmitové	95	1924	1878	0,59
63	84713-06-4	Isooktyl laurát	88	2097	2112	0,62

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/2: Identifikace látek 1 rok starého chmele Sládek

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda [%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
1	67-64-1	Aceton	97	492!	455	0,21
2	64-19-7	Kyselina octová	98	567	576	0,28
3	115-18-4	Dimethylvinylkarbinol	96	608	600	0,15
4	18172-67-3	$\beta$ -Pinen	96	981	943	0,36
5	123-35-3	$\beta$ -Myrcen	96	990	958	17,07
6	138-86-3	Limonen	94	1032	1030	0,25
7	13466-78-9	3-Karen	93	1047	1009	0,3
8	78-70-6	Linalool	93	1101	1082	0,57
9	693-54-9	2-Dekanon	97	1192	1196	0,38
10		NI		1222		0,25
11	112-12-9	2-Undekanon	97	1293	1294	1,08
12		NI		1322		1,99
13	3856-25-5	$\alpha$ -Kopaen	91	1378	1375	0,35
14	17699-14-8	$\alpha$ -Kubeben	95	1384	1349	1,1
15	6175-49-1	2-Dodekanon	97	1393	1393	0,45
16	87-44-5	Karyofylen	95	1431	1424	15,91
17	18252-44-3	$\beta$ -Kopaen	96	1440	1433	0,75
18	18794-84-8	(E)- $\beta$ -Famesen	96	1454	1440	0,3
19	6753-98-6	$\alpha$ -Humulen	95	1469	1454	29,69
20	30021-74-0	$\gamma$ -Muurolen	96	1484	1478	2,73
21	20085-19-2	$\alpha$ -Amorfen	96	1488	1440	0,28
22	593-08-8	2-Tridekanon	98	1495	1449	0,93
23	3691-11-0	$\alpha$ -Bulnesen	90	1500	1505	1,55
24	4630-07-3)	Valencen	89	1507	1474	2,12
25	6980-46-7	$\gamma$ -Amorfen	91	1511	1490	0,29
26	1460-97-5	$\gamma$ -Kadinén	92	1523	1512	2,44
27	483-76-1	$\delta$ -Kadinén	93	1527	1518	3,71
28	483-77-2	Kalamenen	94	1531	1537	1,04
29	38758-02-0	<i>trans</i> -kadina-1,4-dien	97	1542	1536	0,55
30	24406-05-1	$\alpha$ -Kadinén	96	1547	1538	0,63
31	21391-99-1	$\alpha$ -Kalakorén	98	1552	1544	0,42
32	146955-45-5	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	96	1571	1557	0,5
33		NI		1597		1,45
34	19888-33-6	Humulen oxid I	97	1613	1592	0,54
35	19888-34-7	Humulen oxid II	97	1626	1592	3,04
36		NI		1648		1,7
37	19435-97-3	$\alpha$ -Muurolol	88	1653	1651	0,87
38		NI		1662		1,29
39	8007-24-7	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	97	1672	1656	0,66
40	2345-28-0	2-Pentadekanon	94	1698	1648	0,24
41	20016-73-3	<i>m</i> -Kamforen	92	1952	1946	0,18

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/3: Identifikace látek Žateckého poloraného červeňáku

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda [%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
1	67-64-1	Aceton	96	493!	455	0,46
2	115-18-4	Dimethylvinylkarbinol	97	609	600	0,31
3	18172-67-3	β-Pinen	95	981	943	0,29
4	123-35-3	β-Myrcen	96	990	958	16,46
5		NI		1027		0,23
6	78-70-6	Linalool	96	1100	1082	0,66
7	693-54-9	2-Dekanon	98	1192	1196	0,41
8	1731-84-6	Methyl pelargonát	86	1222	1183	0,56
9	38372-49-5	(Z)-Undec-6-en-2-on	94	1276	1259	0,52
10	112-12-9	2-Undekanon	97	1293	1294	1,42
11	1191-02-2	Methyl 4-decenoát	94	1307	1290	1,86
12		NI				0,66
13		NI		1322		0,3
14	3856-25-5	α-Kopaen	94	1384	1375	0,4
15	6175-49-1	2-Dodekanon	97	1394	1393	0,34
16	87-44-5	Karyofylen	95	1431	1424	7,81
17	13474-59-4	<i>trans</i> -α-Bergamoten	95	1439	1430	2,12
18	18794-84-8	(E)-β-Famesen	95	1455	1452	25,13
19	6753-98-6	α-Humulen	95	1468	1454	22,37
20		NI		1471		0,2
21	30021-74-0	γ-Muurolen	96	1483	1478	1,4
22	15438-94-5	<i>trans</i> -β-Bergamoten	90	1491	1483	0,49
23	593-08-8	2-Tridekanon	98	1495	1449	1,27
24	3691-11-0	α-Bulnesen	91	1500	1505	0,8
25	6813-21-4	Selina-3,7(11)-dien	88	1507	1507	1,81
26	495-61-4	β-Bisabolen	93	1512	1508	0,59
27	1460-97-5	γ-Kadinén	93	1523	1512	1,14
28	483-76-1	δ-Kadinén	94	1526	1518	1,67
29	483-77-2	Kalamenen	95	1531	1537	0,65
30	24406-05-1	α-Kadinén	96	1546	1538	0,32
31		NI				0,29
32	146955-45-5	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	96	1571	1557	0,5
33		NI				0,81
34	19888-33-6	Humulen oxid I	95	1613	1592	0,33
35	19888-34-7	Humulen oxid II	97	1625	1592	2,03
36		NI		1648		0,47
37		NI		1662		2
38		NI		1667		0,57
39	8007-24-7	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	97	1672	1656	0,39

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/4: Identifikace látek chmele Premiant

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda			
			[%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
1	67-64-1	Aceton	97	493!	455	0,26
2	115-18-4	Dimethylvinylkarbinol	97	609	600	0,1
3	18172-67-3	$\beta$ -Pinen	96	981	943	0,46
4	123-35-3	$\beta$ -Myrcen	96	990	958	23,18
5		NI		999		0,16
6	106-27-4	3-methylbutyl butyrát	99	1015	1019	0,35
7	106-73-0	Methyl heptanoát	97	1023	1025	0,18
8		NI		1027		0,21
9	138-86-3	Limonen	92	1032	1030	0,17
10	13466-78-9	3-Karen	93	1047	1009	0,33
11	821-55-6	2-Nonanon	97	1091	1052	0,35
12	78-70-6	Linalool	97	1100	1082	1,22
13	111-11-5	Methyl kaprylát	97	1123	1083	0,23
14	693-54-9	2-Dekanon	97	1192	1196	0,32
15	1731-84-6	Methyl pelargonát	95	1222	1183	0,42
16	38372-49-5	(Z)-Undec-6-en-2-on	93	1276	1259	0,2
17	112-12-9	2-Undekanon	97	1292	1294	1
18	1191-02-2	Methyl 4-decenoát	95	1307	1290	2,18
19		NI				0,92
20		NI		1322		1,32
21	3856-25-5	$\alpha$ -Kopaen	90	1377	1375	0,17
22	17699-14-8	$\alpha$ -Kubeben	95	1383	1349	0,57
23	6175-49-1	2-Dodekanon	97	1394	1393	0,18
24	87-44-5	Karyofylen	95	1431	1424	12,2
25	18252-44-3	$\beta$ -Kopaen	96	1440	1433	1,16
26	18794-84-8	(E)- $\beta$ -Famesen	96	1454	1440	5,16
27	6753-98-6	$\alpha$ -Humulen	95	1468	1454	28,37
28	30021-74-0	$\gamma$ -Muurolen	96	1483	1478	1,88
29	495-60-3	$\alpha$ -Zingiberen	87	1490	1496	0,73
30	593-08-8	2-Tridekanon	98	1495	1449	0,62
31	3691-11-0	$\alpha$ -Bulnesen	89	1500	1505	1,05
32	473-13-2	$\alpha$ -Selinene	88	1507	1474	2,58
33	189165-79-5	$\delta$ -Amorphene	86	1511	1506	0,26
34	1460-97-5	$\gamma$ -Kadinén	93	1523	1512	1,6
35	483-76-1	$\delta$ -Kadinén	93	1526	1518	2,49
36	73209-42-4	<i>trans</i> -Kalamenen	96	1531	1527	0,63
37	38758-02-0	<i>trans</i> -kadina-1,4-dien	97	1542	1536	0,33
38	24406-05-1	$\alpha$ -Kadinén	97	1546	1538	0,41
39	21391-99-1	$\alpha$ -Kalakorén	97	1552	1544	0,24
40	146955-45-5	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	93	1571	1557	0,23
41		NI		1596		0,7
42	19888-33-6	Humulen oxid I	97	1613	1592	0,23

Tabulka IV/4: Identifikace látek chmele Premiant – pokračování

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda [%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
43	19888-34-7	Humulen oxid II	97	1625	1592	1,71
44		NI		1648		0,47
45	19435-97-3	$\alpha$ -Muurolol	86	1653	1651	0,31
46		NI		1662		0,78
47	19912-62-0	$\tau$ -Muurolol	86	1667	1645	0,31
48	8007-24-7	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	96	1671	1656	0,27
49	4602-84-0	Farnesol	97	1719	1710	0,78

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/5: Identifikace látek chmele Saaz

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda [%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
1	67-64-1	Aceton	97	493!	455	1,1
2	64-19-7	Kyselina octová	96	567	576	0,19
3	115-18-4	Dimethylvinylkarbinol	97	608	600	0,66
4	18172-67-3	$\beta$ -Pinen	96	980	943	0,4
5	123-35-3	$\beta$ -Myrcen	96	989	958	8,1
6	106-27-4	3-methylbutyl butyrát	95	1014	1019	0,36
7	138-86-3	Limonen	96	1031	1030	0,17
8	821-55-6	2-Nonanon	97	1091	1052	0,6
9	78-70-6	Linalool	96	1100	1082	1,27
10	693-54-9	2-Dekanon	97	1192	1196	0,64
11		NI		1221		0,7
12	2349-13-5	Heptylester kyseliny isomáselné	96	1244	1218	0,17
13		NI		1257		0,24
14	38372-49-5	(Z)-Undec-6-en-2-on	93	1276	1259	0,31
15	112-12-9	2-Undekanon	93	1293	1294	2,26
16	1191-02-2	Methyl 4-decenoát	98	1307	1290	0,94
17		NI		1322		1,3
18	109-15-9	Oktylester kyseliny isomáselné	97	1342	1317	0,17
19	3856-25-5	$\alpha$ -Kopaen	90	1377	1375	0,22
20	17699-14-8	$\alpha$ -Kubeben	95	1384	1349	0,65
21	6175-49-1	2-Dodekanon	97	1394	1393	0,49
22	87-44-5	Karyofylen	95	1431	1424	10,02
23	13474-59-4	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten	95	1439	1430	2,76
24	18794-84-8	(E)- $\beta$ -Famesen	96	1454	1440	10,63
25	6753-98-6	$\alpha$ -Humulen	95	1468	1454	21,87
26	30021-74-0	$\gamma$ -Muurolen	95	1483	1478	2,52
27	20085-19-2	$\alpha$ -Amorfen	90	1488	1440	0,19
28	15438-94-5	<i>trans</i> - $\beta$ -Bergamoten	91	1491	1483	0,47
29	593-08-8	2-Tridekanon	98	1495	1449	1,69
30	3691-11-0	$\alpha$ -Bulnesen	90	1500	1505	1,02
31	495-61-4	$\beta$ -Bisabolen	93	1512	1508	0,72
32	1460-97-5	$\gamma$ -Kadinén	93	1523	1512	2,2
33	483-76-1	$\delta$ -Kadinén	93	1527	1518	2,77
34	483-77-2	Kalamenen	96	1531	1537	0,89
35	38758-02-0	<i>trans</i> -kadina-1,4-dien	95	1542	1536	0,33
36	24406-05-1	$\alpha$ -Kadinén	97	1546	1538	0,58
37	21391-99-1	$\alpha$ -Kalakorén	97	1552	1544	0,36
38	146955-45-5	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	95	1571	1557	0,7
39		NI		1597		2,72
40	19888-33-6	Humulen oxid I	97	1613	1592	0,84

Tabulka IV/5: Identifikace látek chmele Saaz – pokračování

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda [%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
41	19888-34-7	Humulen oxid II	97	1626	1592	5,92
42		NI		1648		1,38
43	19435-97-3	$\alpha$ -Muurolol	87	1653	1651	0,55
44		NI		1662		1,68
45		NI		1667		0,51
46	8007-24-7	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	97	1672	1656	1,59
47	2345-28-0	2-Pentadekanon	97	1698	1648	0,68
48		NI		1739		0,28
49	20016-73-3	<i>m</i> -Kamforen	94	1952	1982	0,19

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/6: Identifikace látek Žateckého poloraného červeňáku BIO

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda [%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
1	67-64-1	Aceton	97	489!	455	2,35
2	115-18-4	Dimethylvinylkarbinol	97	607	600	2,21
3	123-35-3	$\beta$ -Myrcen	96	989	991	9,16
4	106-73-0	Methyl heptanoát	97	1023	1025	0,36
5		NI				0,38
6	111-11-5	Methyl kaprylát	90	1085	1083	0,45
7	821-55-6	2-Nonanon	97	1091	1052	0,68
8	78-70-6	Linalool	95	1100	1082	0,64
10	693-54-9	2-Dekanon	97	1192	1151	0,62
11		NI				1,69
12	38372-49-5	(Z)-Undec-6-en-2-on	92	1276	1259	0,52
13	112-12-9	2-Undekanon	98	1292	1294	2,23
14		NI				1,43
15	1191-02-2	Methyl 4-decenoát	94	1307	1290	2,82
16		NI				0,49
17	110-42-9	Methyl kaprinát	88	1322	1282	0,43
18	3856-25-5	$\alpha$ -Kopaen	93	1383	1375	0,46
19	6175-49-1	2-Dodekanon	97	1393	1393	0,39
20	87-44-5	Karyofylen	96	1430	1424	6,8
21	13474-59-4	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten	96	1438	1430	2,33
22	18794-84-8	(E)- $\beta$ -Famesen	96	1453	1440	10,59
23	107-50-6	Tetradekamethylcykloheptasiloxan	91	1460	1447	1,92
24	25532-79-0	$\alpha$ -Bisabolene	89	1467	1503	23,31
25	30021-74-0	$\gamma$ -Muurolen	96	1483	1478	1,29
26	593-08-8	2-Tridekanon	98	1495	1449	1,73
27	3691-11-0	$\alpha$ -Bulnesen	89	1500	1505	0,53
28	16106-01-7	Methyl 3,6-dodekadienoát	88	1505	1497	2,71
29	495-61-4	$\beta$ -Bisabolen	93	1512	1508	0,65
30	1460-97-5	$\gamma$ -Kadinén	94	1523	1512	1,37
31	483-76-1	$\delta$ -Kadinén	94	1526	1518	1,8
32	483-77-2	Kalamenen	94	1530	1537	0,7
33	146955-45-5	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	95	1571	1557	0,69
34		NI				1,24
35	19888-33-6	Humulen oxid I	96	1613	1592	0,6
36	556-68-3	Hexadekamethylcyklooktasiloxan	92	1620	1654	2
37	19888-34-7	Humulen oxid II	96	1625	1592	3,65
38		NI				0,94
39		NI				2,72
40		NI				0,67
41	8007-24-7	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	97	1671	1656	1,1
42	2345-28-0	2-Pentadekanon	94	1697	1648	0,46

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/7: Identifikace látek chmele Premiant BIO

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda [%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
1	67-64-1	Aceton	97	490!	455	0,38
2	115-18-4	Dimethylvinylkarbinol	97	608	600	0,24
3	18172-67-3	$\beta$ -Pinen	96	980	943	0,39
4	123-35-3	$\beta$ -Myrcen	96	990	958	21,92
5	106-27-4	3-methylbutyl butyrát	95	1015	1019	0,41
6	106-73-0	Methyl heptanoát	96	1023	1025	0,26
7	821-55-6	2-Nonanon	96	1091	1052	0,26
8	78-70-6	Linalool	97	1100	1082	0,88
9	111-11-5	Methyl kaprylát	97	1123	1125	0,29
10	693-54-9	2-Dekanon	96	1191	1151	0,24
11	1731-84-6	Methyl pelargonát	93	1222	1183	0,51
12	112-12-9	2-Undekanon	98	1292	1294	0,83
13		NI				0,62
14	1191-02-2	Methyl 4-decenoát	95	1307	1290	1,63
15		NI				0,65
16	2733-88-2	Methyl nerát	89	1321	1276	1,57
17		NI				0,26
18	3856-25-5	$\alpha$ -Kopaen	93	1383	1375	0,52
19	87-44-5	Karyofylen	96	1430	1424	12,43
20	18252-44-3	$\beta$ -Kopaen	96	1439	1433	0,84
21	18794-84-8	(E)- $\beta$ -Famesen	96	1453	1440	3,56
22	107-50-6	Tetradekamethylcykloheptasiloxan	90	1460	1447	0,9
23	6753-98-6	$\alpha$ -Humulen	96	1468	1454	28,65
24	30021-74-0	$\gamma$ -Muurolen	96	1483	1478	1,92
25	502-61-4	$\alpha$ -Farnesen	89	1490	1458	0,45
26	593-08-8	2-Tridekanon	98	1495	1449	0,62
27	3691-11-0	$\alpha$ -Bulnesen	91	1500	1505	1,85
28	473-13-2	$\alpha$ -Selinen	92	1507	1501	3,68
29	1460-97-5	$\gamma$ -Kadinén	93	1523	1512	1,63
30	483-76-1	$\delta$ -Kadinén	94	1526	1518	2,48
31	73209-42-4	<i>trans</i> -Kalamenen	97	1531	1527	0,61
32	38758-02-0	<i>trans</i> -kadina-1,4-dien	98	1542	1536	0,36
33	24406-05-1	$\alpha$ -Kadinén	97	1546	1538	0,41
34	146955-45-5	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	95	1571	1557	0,3
35		NI				0,77
36	556-68-3	Hexadekamethylcyklooktasiloxan	91	1620	1654	0,63
37	19888-34-7	Humulen oxid II	97	1625	1592	1,48
38		NI				0,53
39	19435-97-3	$\alpha$ -Muurolol	87	1647	1651	0,4
40		NI				1,05

Tabulka IV/7: Identifikace látek Premiant BIO – pokračování

Pořadí	CAS	Název sloučeniny	Shoda [%]	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	A [%]
41		NI				0,39
42	8007-24-7	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	96	1653	1656	0,66
43	4602-84-0	Farnesol	97	1662	1710	1,23

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/8: Identifikace látek surového chmele

Pořadí	Název sloučeniny	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	1. série	2. série	3. série	4. série	5. série
1	Aceton	489!	455	67-64-1	1,52	2,27	1,98	1,97	1,58
2	Dimethylvinylkarbinol	607	600	115-18-4	1,93	2,43	2,33	2,64	2,23
3	β-Pinen	980	943	18172-67-3	0,62	0,77	0,66	0,47	0,56
4	β-Myrcen	989	958	123-35-3	15,39	18,01	15,96	11,53	14,13
5	Methyl heptanoát	1023	1025	106-73-0	0,39	0,51	ND	ND	ND
6	2-Nonanon	1091	1052	821-55-6	0,39	ND	ND	ND	ND
7	Linalool	1100	1082	78-70-6	1,19	1,22	1,13	1,06	1,09
8	2-Dekanon	1191	1151	693-54-9	0,58	0,57	0,54	0,6	0,54
9	NI	1221			ND	ND	ND	ND	ND
10	NI	1256			ND	ND	ND	ND	ND
11	(Z)-Undec-6-en-2-on	1276	1259	38372-49-5	0,58	0,59	0,57	0,61	0,51
12	2-Undekanon	1292	1294	112-12-9	1,59	1,61	1,59	1,74	1,64
13	NI	1295			ND	ND	ND	ND	ND
14	Methyl 4-decenoát	1307	1290	1191-02-2	2,67	ND	2,72	2,43	2,39
15	NI	1321			ND	ND	ND	ND	ND
16	α-Kopaen	1383	1375	3856-25-5	0,45	ND	ND	ND	ND
17	2-Dodekanon	1393	1393	6175-49-1	0,41	0,4	0,43	0,45	ND
18	Karyofylen	1430	1424	87-44-5	6,49	6,16	6,4	6,55	6,63
19	<i>trans</i> -α-Bergamoten	1438	1430	13474-59-4	2,22	2,09	2,21	2,25	2,19
20	(E)-β-Famesen	1453	1440	18794-84-8	12,6	9,8	11,12	10,96	13,38
21	Tetradekamethylcykloheptasiloxan	1460	1447	107-50-6	1,35	1,96	1,85	1,97	1,75
22	NI	1467			ND	ND	ND	ND	ND
23	γ-Muurolen	1483	1478	30021-74-0	0,92	0,91	0,98	1,09	0,96

Tabulka IV/8: Identifikace látek surového chmele – pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	1. série	2. série	3. série	4. série	5. série
24	2-Tridekanon	1494	1449	593-08-8	1,28	1,28	1,28	1,42	1,23
25	$\alpha$ -Bulnesen	1500	1505	3691-11-0	0,51	0,47	ND	0,76	0,38
26	Valencen	1506	1474	4630-07-3)	1,78	ND	1,62	1,66	1,52
27	$\beta$ -Bisabolen	1511	1508	495-61-4	0,56	0,52	0,54	0,56	0,52
28	$\gamma$ -Kadinén	1522	1512	1460-97-5	1,14	1,09	1,15	1,31	1,15
29	$\delta$ -Kadinén	1526	1518	483-76-1	1,52	1,46	1,5	1,6	1,53
30	Kalamenen	1530	1537	483-77-2	0,64	0,49	0,67	0,75	0,66
31	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	1570	1557	146955-45-5	0,56	0,61	0,57	0,64	0,54
32	NI	1596			ND	ND	ND	ND	ND
33	Humulen oxid I	1612	1592	19888-33-6	0,67	0,71	0,75	0,86	0,71
34	Hexadecamethylcyklooktasiloxan	1620	1654	556-68-3	1,62	1,55	1,67	1,66	2,18
35	Humulen oxid II	1624	1592	19888-34-7	3,81	3,78	4,14	4,73	4,16
36	NI	1647			ND	ND	ND	ND	ND
37	NI	1661			ND	ND	ND	ND	ND
38	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	1671	1656	8007-24-7	0,67	0,62	0,68	0,81	0,6
39	NI	1770			ND	ND	ND	ND	ND

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/9: Identifikace látek chmelových granulí typu 45

Pořadí	Název sloučeniny	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	1. série	2. série	3. série	4. série	5. série
1	Aceton	486!	455	67-64-1	1,63	1,68	1,71	1,61	1,23
2	Dimethylvinylkarbinol	606	600	115-18-4	1,28	1,96	2,15	2,11	1,48
3	β-Pinen	980	943	18172-67-3	0,57	0,47	0,6	0,49	0,43
4	β-Myrcen	989	958	123-35-3	20,53	14,82	18,05	16,73	19,14
5	Methyl heptanoát	1023	1025	106-73-0	0,44	0,38	0,37	ND	ND
6	2-Nonanon	1091	1052	821-55-6	0,35	ND	ND	ND	ND
7	Linalool	1100	1082	78-70-6	1,15	1,17	1,02	1	0,9
8	2-Dekanon	1191	1151	693-54-9	0,53	0,57	0,49	0,52	0,47
9	Methyl pelargonát	1222	1183	1731-84-6	1,07	ND	ND	ND	ND
10	(Z)-Undec-6-en-2-on	1276	1259	38372-49-5	0,48	0,51	0,51	0,51	0,45
11	2-Undekanon	1292	1294	112-12-9	1,31	1,54	1,4	1,42	1,28
12	NI	1295			ND	ND	ND	ND	ND
13	Methyl 4-decenoát	1307	1290	1191-02-2	2,53	2,91	2,53	2,33	2,04
14	NI	1321			ND	ND	ND	ND	ND
15	α-Kopaen	1383	1375	3856-25-5	0,39	0,44	0,42	0,43	0,33
16	2-Dodekanon	1393	1393	6175-49-1	0,29	0,35	ND	0,33	ND
17	Karyofylen	1430	1424	87-44-5	6,9	7,36	6,85	6,75	6,61
18	<i>trans</i> -α-Bergamoten	1438	1430	13474-59-4	1,88	2,22	2,15	2,11	1,89
19	(E)-β-Famesen	1453	1440	18794-84-8	13,75	14,51	13,97	15,1	18,67
20	Tetradekamethylcykloheptasiloxan	1460	1447	107-50-6	1,65	1,31	1,3	1,47	1,44
21	NI	1467			ND	ND	ND	ND	ND
22	γ-Muurolen	1483	1478	30021-74-0	0,94	0,86	1,07	0,88	0,96
23	2-Tridekanon	1494	1449	593-08-8	0,89	1,11	1,04	1,05	0,92

Tabulka IV/9: Identifikace látek chmelových granulí typu 45 – pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	1. série	2. série	3. série	4. série	5. série
24	$\alpha$ -Bulnesen	1500	1505	3691-11-0	0,39	0,44	0,68	0,7	0,67
25	Valencen	1506	1474	4630-07-3)	1,53	ND	1,62	1,55	1,41
26	$\beta$ -Bisabolen	1511	1508	495-61-4	0,51	0,52	0,52	0,5	0,43
27	$\gamma$ -Kadinén	1522	1512	1460-97-5	0,97	1,11	1,12	1,12	0,98
28	$\delta$ -Kadinén	1526	1518	483-76-1	1,38	1,54	1,5	1,46	1,34
29	Kalamenen	1530	1537	483-77-2	0,43	ND	ND	ND	ND
30	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	1570	1557	146955-45-5	0,41	0,52	ND	0,53	ND
31	Humulen oxid I	1612	1592	19888-33-6	0,36	0,54	0,48	0,54	0,42
32	Hexadecamethylcyklooktasiloxan	1620	1654	556-68-3	1,79	1,24	1,39	1,18	1,4
33	Humulen oxid II	1624	1592	19888-34-7	2,19	2,77	2,67	2,91	2,31
34	NI	1647			ND	ND	ND	ND	ND
35	NI	1661			ND	ND	ND	ND	ND
36	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	1671	1656	8007-24-7	0,43	0,51	0,5	0,53	0,44
37	NI	1770			ND	ND	ND	ND	ND

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/10: Identifikace látek chmelového prášku

Pořadí	Název sloučeniny	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	1. série	2. série	3. série	4. série	5. série
1	Aceton	486!	455	67-64-1	2,87	3,13	2,99	2,54	2,11
2	Dimethylvinylkarbinol	606	600	115-18-4	2,51	2,23	2,83	2,94	2,73
3	5,5-Dimethyl-2(5H)-furanon	942	952	20019-64-1	ND	0,55	ND	ND	ND
4	$\beta$ -Pinen	980	943	18172-67-3	0,68	0,42	0,82	0,7	0,58
5	$\beta$ -Myrcen	989	991	123-35-3	15,14	9,49	14,7	13,36	11,96
6	NI	1026			ND	ND	ND	ND	ND
7	Linalool	1100	1082	78-70-6	1,21	1,28	1,25	1,2	1,15
8	2-Dekanon	1192	1151	693-54-9	0,61	0,68	0,62	0,62	0,62
9	NI	1221			ND	ND	ND	ND	ND
10	NI	1256			ND	ND	ND	ND	ND
11	(Z)-Undec-6-en-2-on	1276	1259	38372-49-5	0,61	0,6	0,62	0,64	0,59
12	2-Undekanon	1292	1294	112-12-9	1,59	1,88	1,59	1,64	1,67
13	NI	1295			ND	ND	ND	ND	ND
14	Methyl 4-decenoát	1307	1290	1191-02-2	2,94	3,05	2,94	2,78	2,49
15	NI	1321			ND	ND	ND	ND	ND
16	$\alpha$ -Kopaen	1383	1375	3856-25-5	0,49	0,49	0,5	0,49	0,47
17	2-Dodekanon	1393	1393	6175-49-1	0,41	0,43	0,4	0,42	0,42
18	Karyofylen	1430	1424	87-44-5	6,62	7,59	6,99	6,8	6,98
19	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamoten	1439	1430	13474-59-4	2,36	2,44	2,44	2,33	2,41
20	(E)- $\beta$ -Famesen	1453	1440	18794-84-8	8,89	6,74	7,52	9,39	11,61
21	Tetradekamethylcykloheptasiloxan	1460	1447	107-50-6	1,87	1,86	1,72	1,74	1,54
22	$\alpha$ -Humulen	1467		6753-98-6	ND	25,77	ND	ND	ND
23	$\gamma$ -Muurolen	1483	1478	30021-74-0	0,94	1,29	1,05	0,96	1,03

Tabulka IV/10: Identifikace látek chmelového prášku – pokračování

Pořadí	Název sloučeniny	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	1. série	2. série	3. série	4. série	5. série
24	2-Tridekanon	1495	1449	593-08-8	1,32	1,37	1,3	1,25	1,24
25	$\alpha$ -Bulnesen	1500	1505	3691-11-0	0,49	0,77	ND	ND	0,71
26	Valencen	1506	1474	4630-07-3)	1,8	1,92	1,83	1,62	1,56
27	$\beta$ -Bisabolen	1512	1508	495-61-4	0,59	0,59	0,58	0,59	0,55
28	$\gamma$ -Kadinén	1523	1512	1460-97-5	1,22	1,29	1,28	1,21	1,24
29	$\delta$ -Kadinén	1526	1518	483-76-1	1,64	1,72	1,69	1,59	1,65
30	Kalamenen	1530	1537	483-77-2	0,72	0,74	0,71	0,71	0,68
31	(Z)-Tetradec-6-en-2-on	1571	1557	146955-45-5	0,53	0,52	0,56	0,59	0,57
32	NI	1596			ND	ND	ND	ND	ND
33	Humulen oxid I	1613	1592	19888-33-6	0,63	0,63	0,76	0,72	0,7
34	Hexadecamethylcyklooktasiloxan	1620	1654	556-68-3	1,56	2,15	1,41	1,57	1,34
35	Humulen oxid II	1625	1592	19888-34-7	3,62	3,54	4,08	3,97	3,93
36	NI	1647			ND	ND	ND	ND	ND
37	NI	1662			ND	ND	ND	ND	ND
38	(Z)-Pentadec-6-en-2-on	1671	1656	8007-24-7	0,67	0,71	0,65	0,62	0,65
39	2-Pentadekanon	1697	1648	2345-28-0	ND	0,66	ND	ND	ND
40	NI	1771			ND	ND	ND	ND	ND

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo

Tabulka IV/11: Identifikace látek chmelového odpadu

Pořadí	Název sloučeniny	RI <sup>a</sup>	RI <sup>b</sup>	CAS	1. série	2. série	3. série	4. série	5. série
1	Aceton	488!	455	67-64-1	1,32	1,42	0,92	0,79	0,9
2	Dimethylvinylkarbinol	606	600	115-18-4	1,48	1,56	1,05	1,11	1,36
3	β-Myrcen	989	991	123-35-3	14,95	17,2	18,39	13,72	18,87
4	Linalool	1100	1082	78-70-6	1,21	1,35	1,29	1,19	1,34
5	2-Undekanon	1292	1294	112-12-9	1,44	1,5	1,64	1,7	1,5
6	NI	1295			ND	ND	ND	ND	ND
7	Methyl 4-decenoát	1307	1290	1191-02-2	1,59	1,71	1,79	1,52	1,65
8	Karyofylen	1430	1424	87-44-5	4,69	4,41	5,41	5,89	5,01
9	<i>trans</i> -α-Bergamoten	1438	1430	13474-59-4	1,83	1,68	1,69	1,87	1,76
10	(E)-β-Famesen	1453	1440	18794-84-8	23,54	20,67	21,06	24,97	23,12
11	Tetradekamethylcykloheptasiloxan	1460	1447	107-50-6	3,8	4,68	3,34	3,21	3,91
12	NI	1466			ND	ND	ND	ND	ND
13	γ-Muurolen	1483	1477	30021-74-0	0,92	0,72	0,81	0,86	0,6
14	2-Tridekanon	1494	1449	593-08-8	1,45	1,26	1,05	1,17	1,05
15	Valencen	1506	1474	4630-07-3)	1,39	ND	ND	ND	ND
16	γ-Kadinén	1522	1512	1460-97-5	1,04	0,95	0,9	0,96	0,88
17	δ-Kadinén	1526	1518	483-76-1	1,21	1,07	1,04	1,19	1,03
18	NI	1596			ND	ND	ND	ND	ND
19	Humulen oxid I	1612	1592	19888-33-6	0,93	0,97	0,72	0,79	0,76
20	Hexadekamethylcyklooktasiloxan	1620	1654	556-68-3	3,1	3,86	4,15	3,82	3,27
21	Humulen oxid II	1624	1592	19888-34-7	4,74	4,91	3,8	4,25	4,14
22	NI	1647			ND	ND	ND	ND	ND
23	NI	1661			ND	ND	ND	ND	ND
24	NI	1770			ND	ND	ND	ND	ND

! Mimo homologickou řadu, NI – nebylo identifikováno, RI<sup>a</sup> – retenční index vypočtený dle van den Doola, RI<sup>b</sup> – retenční index nalezený, A – relativní plocha, CAS – registrační číslo